Genética I:

BIOLOGIA MOLECULAR

AULA 4 - HISTÓRICO E ESTRUTURA DO DNA

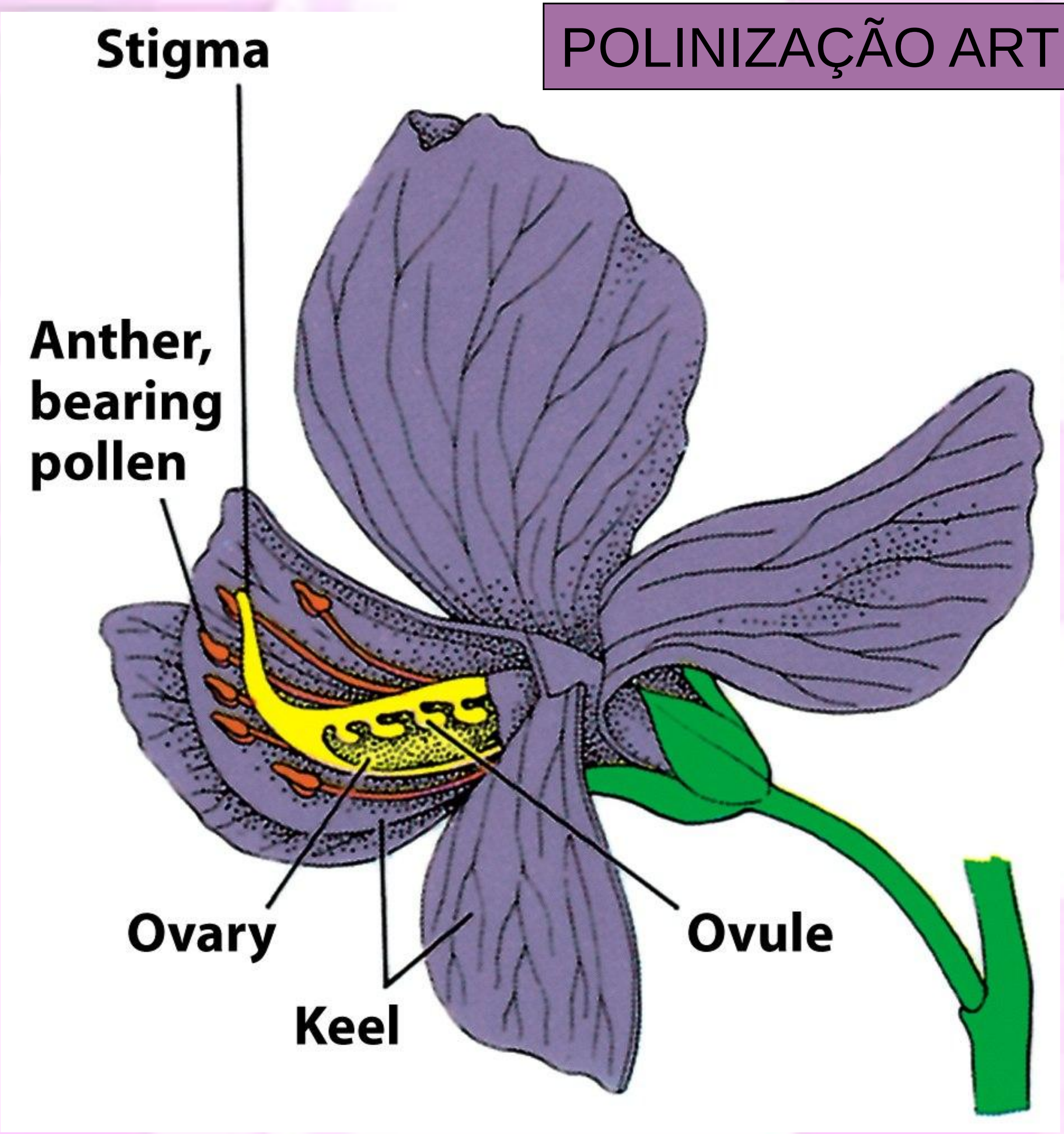
ILÍADA RAINHA DE SOUZA
Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética
Centro de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Santa Catarina

GREGOR MENDEL
1866

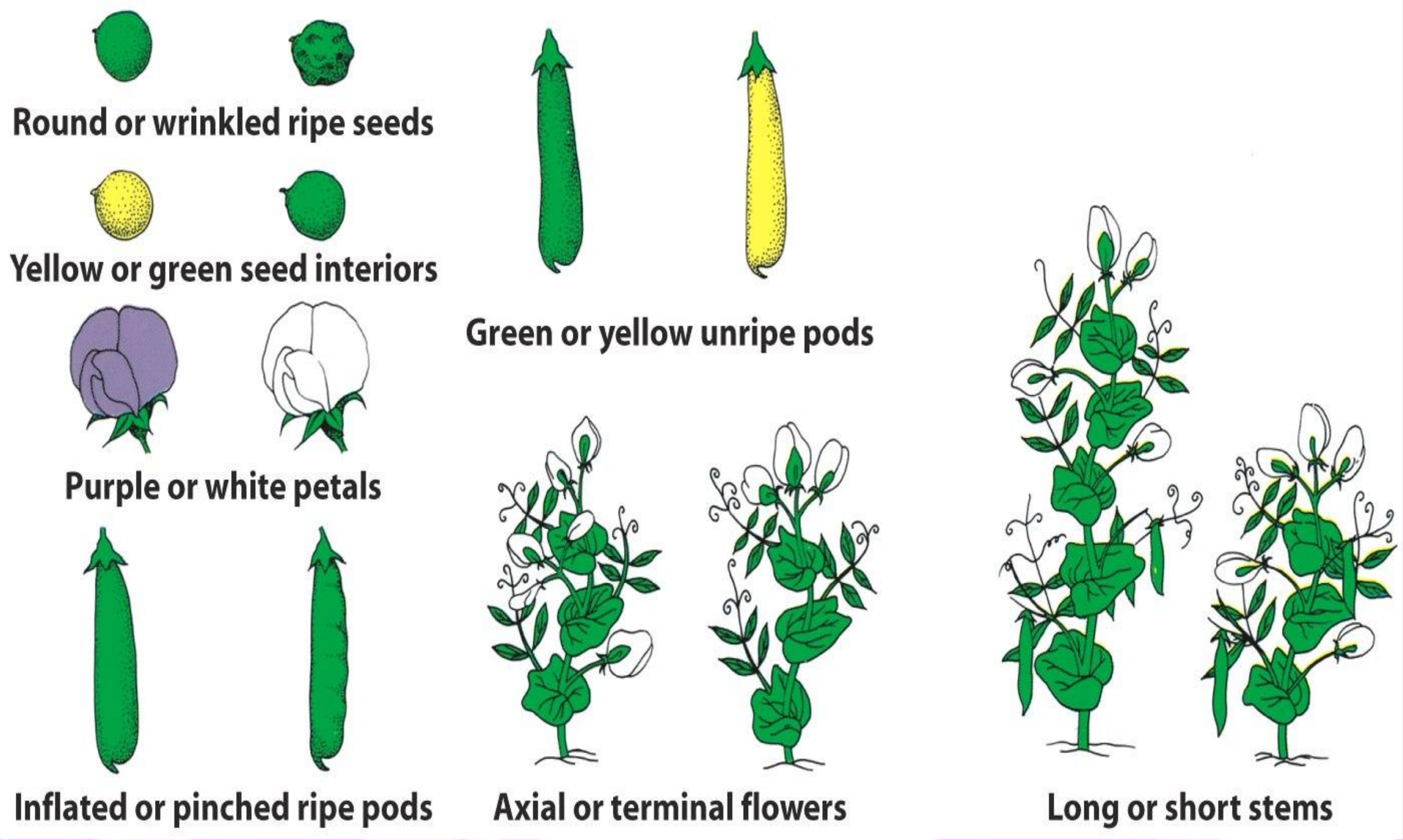
O que fez Mendel para contribuir para a Ciência?

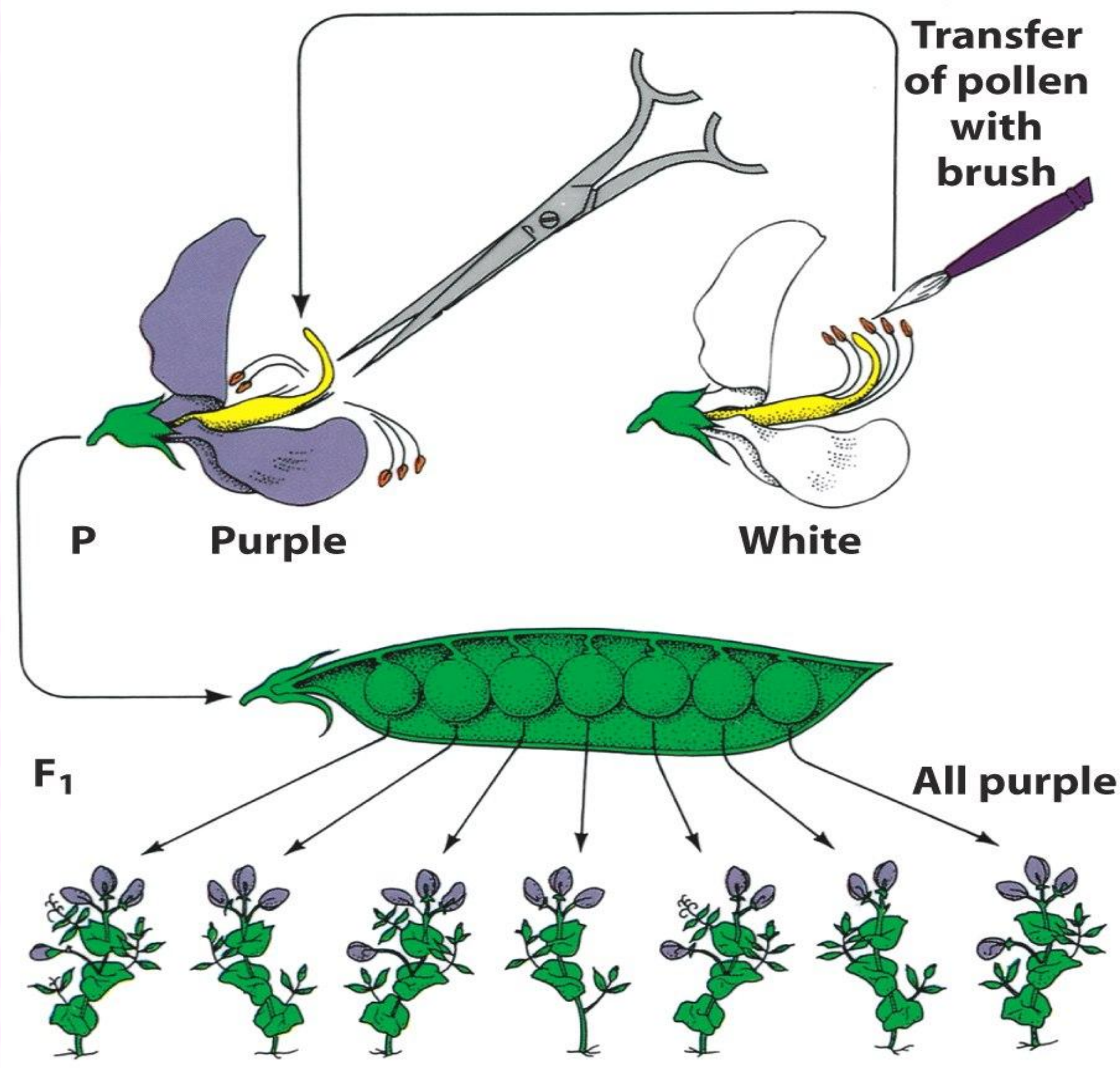

Ciência experimental
jardim do monastério

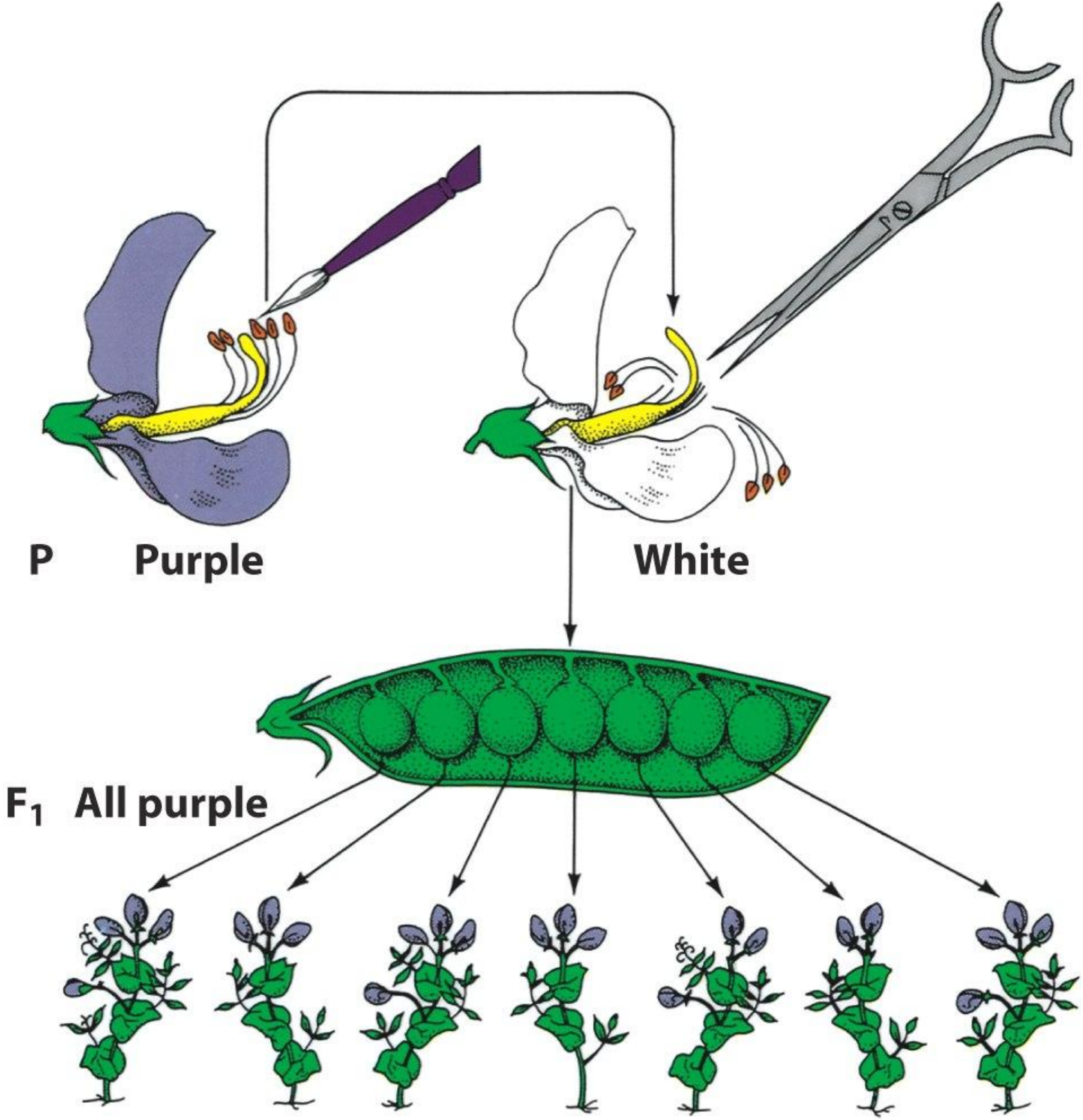
POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL

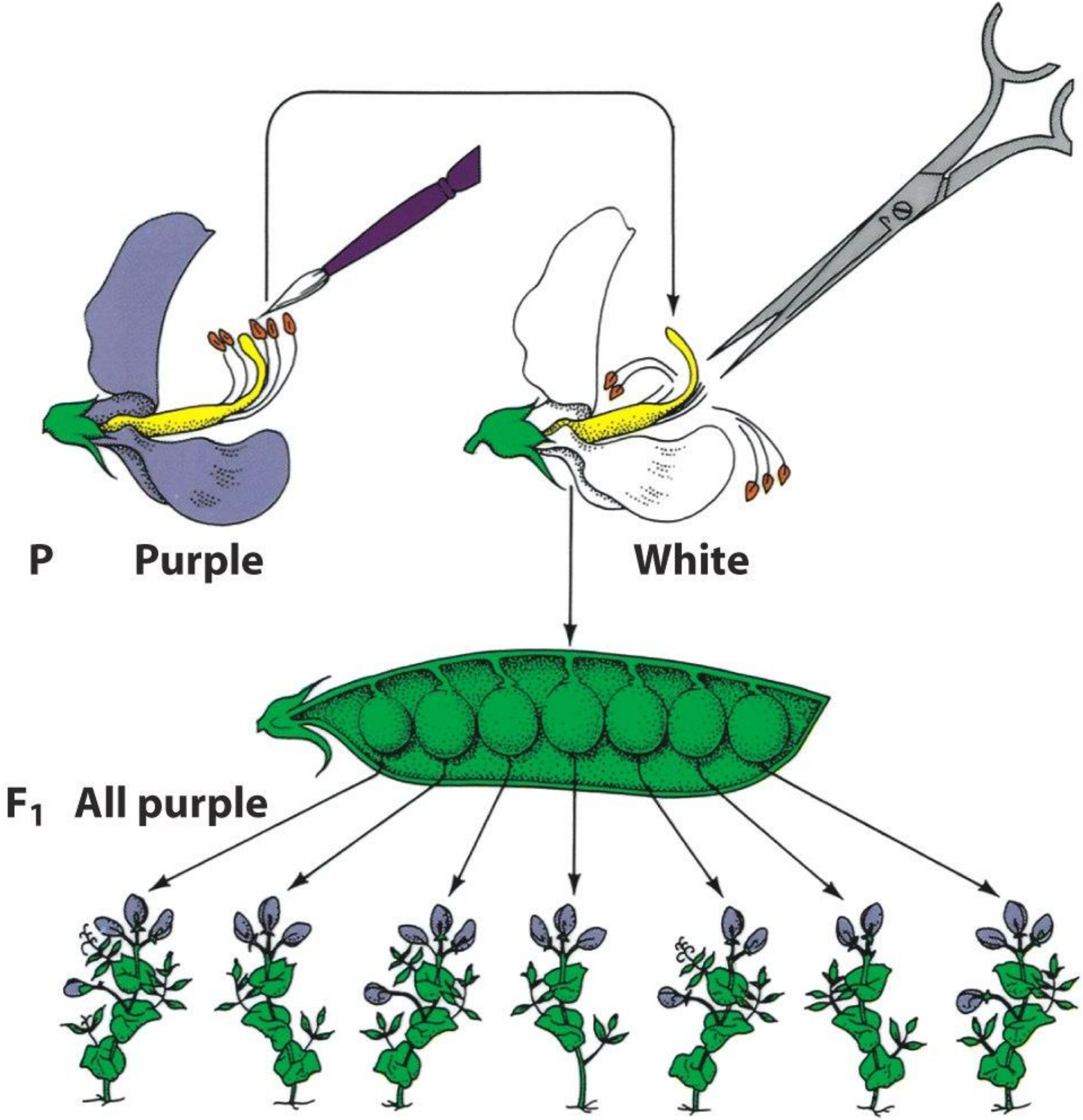


CARACTERÍSTICAS TESTADAS




Transfer of pollen with brush
P
Purple
White
F1
All purple

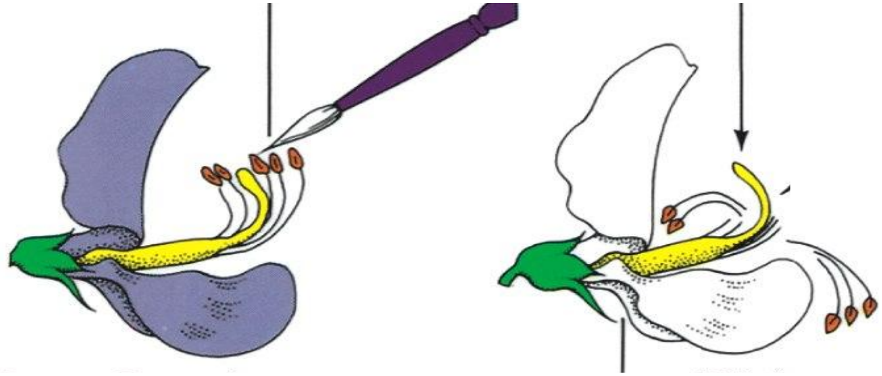

P
Purple
White
F_1 All purple


P
Purple
White
F_1 All purple

RESULTADO DE **F1** X **F1** = **F2**

Proporção de F2 :

3 púrpuras : 1 branca



Fatores que determinam as características não se misturam, são mantidos como *bits* discretos de informação hereditária, imutáveis durante gerações.

A que se refere o mendelismo?

transmissão das características hereditárias

Enunciado da 1ª. lei de Mendel:

Durante a gametogênese os fatores que determinam as características biológicas segregam-se, indo para gametas diferentes e voltam a se encontrar após a fecundação.

GREGOR MENDEL
1866

PROPORÇÕES MENDELIANAS

Compatíveis com a distribuição binomial

$$(p + q)^2 = \quad p^2 + 2pq + q^2$$

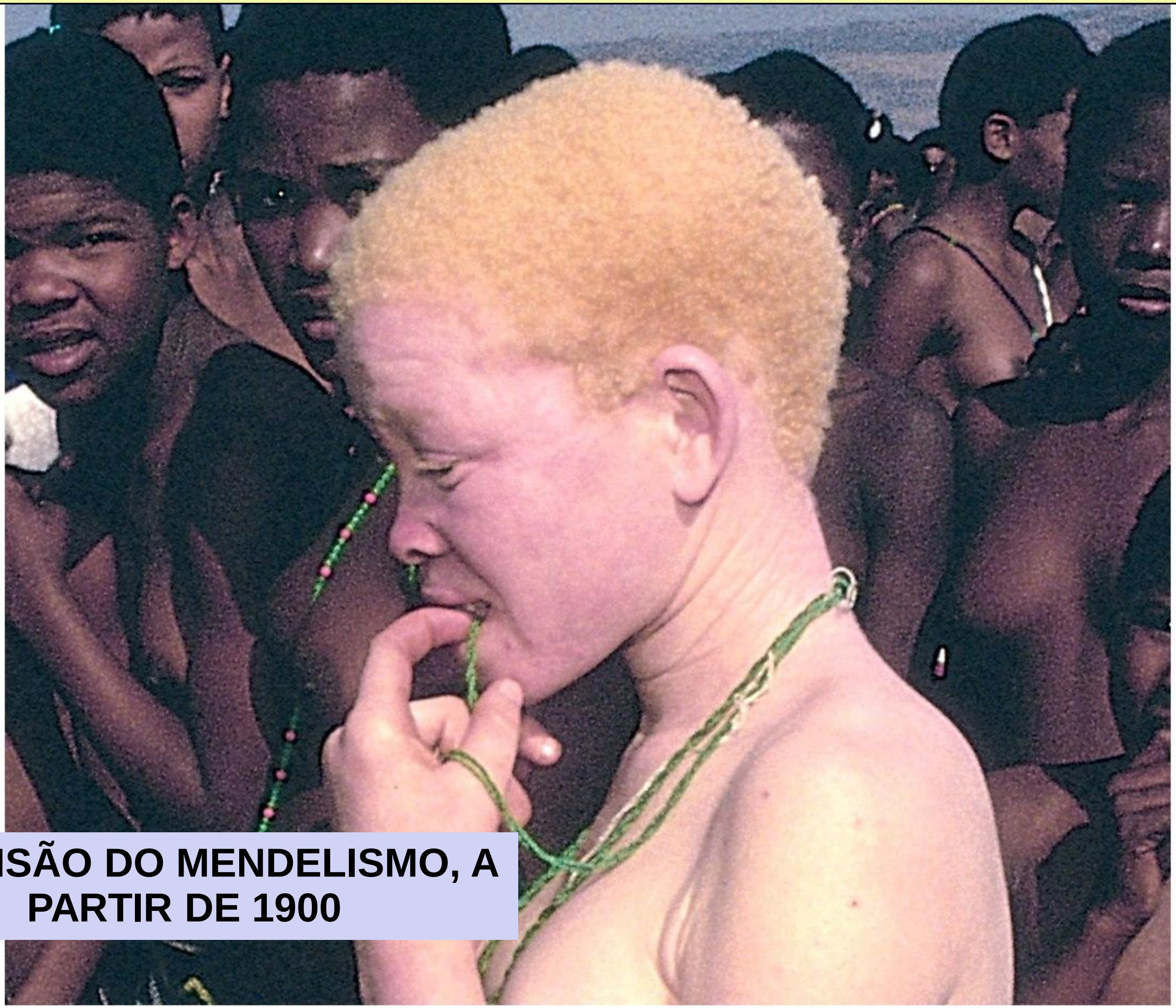
PROPORÇÕES MENDELIANAS

Compatíveis com a distribuição binomial

$$(p + q)^2 = \quad p^2 + 2pq + q^2$$

	p	q
p	p^2	pq
q	pq	q^2

Características com Herança mendeliana- MONOHIBRIDISMO ou MONOFATORIAL



EXPANSÃO DO MENDELISMO, A PARTIR DE 1900

Características com Herança Mendeliana – MONOFATORIAL - acondroplasia

Friedrich Miescher- 1869

Descoberta da “nucleína” =

Ácido desoxirribonucleico (DNA)

http://www.cefeteq.br/dna/historia/biomiescher.htm

QUAL A NATUREZA DO MATERIAL HEREDITÁRIO?

Frederick Griffith
1928

Experimentos com

Streptococcus pneumoniae

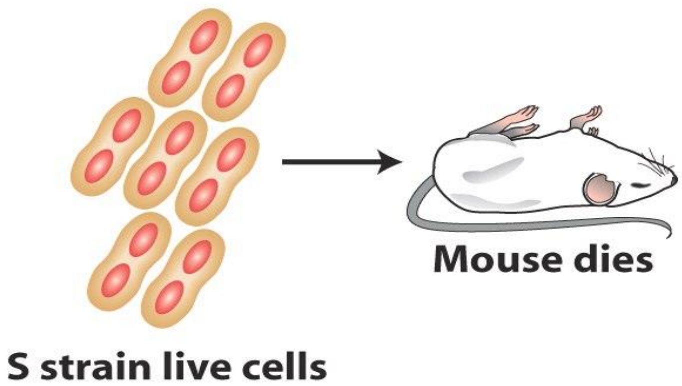
Transformação bacteriana

Experimento de transformação de GRIFFITH:

com pneumococos de cepa lisa (S), virulenta e

com cepa rugoso (R), não-virulenta.

(a)

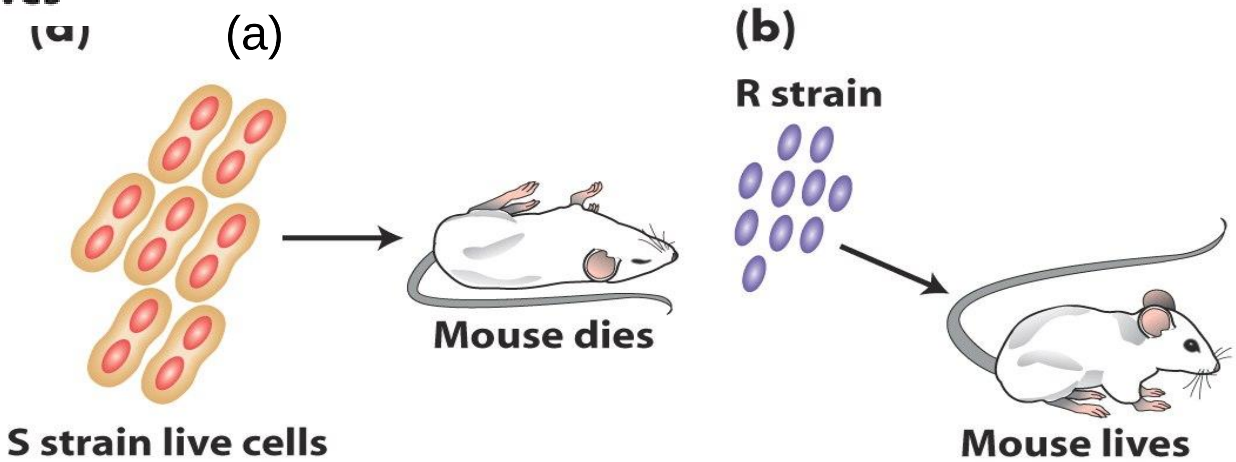


Experimento de transformação de GRIFFITH:

com pneumococos de cepa lisa (S), virulenta e

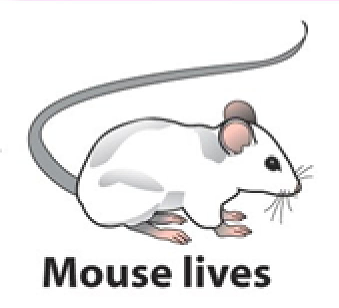
com cepa rugoso (R), não-virulenta.

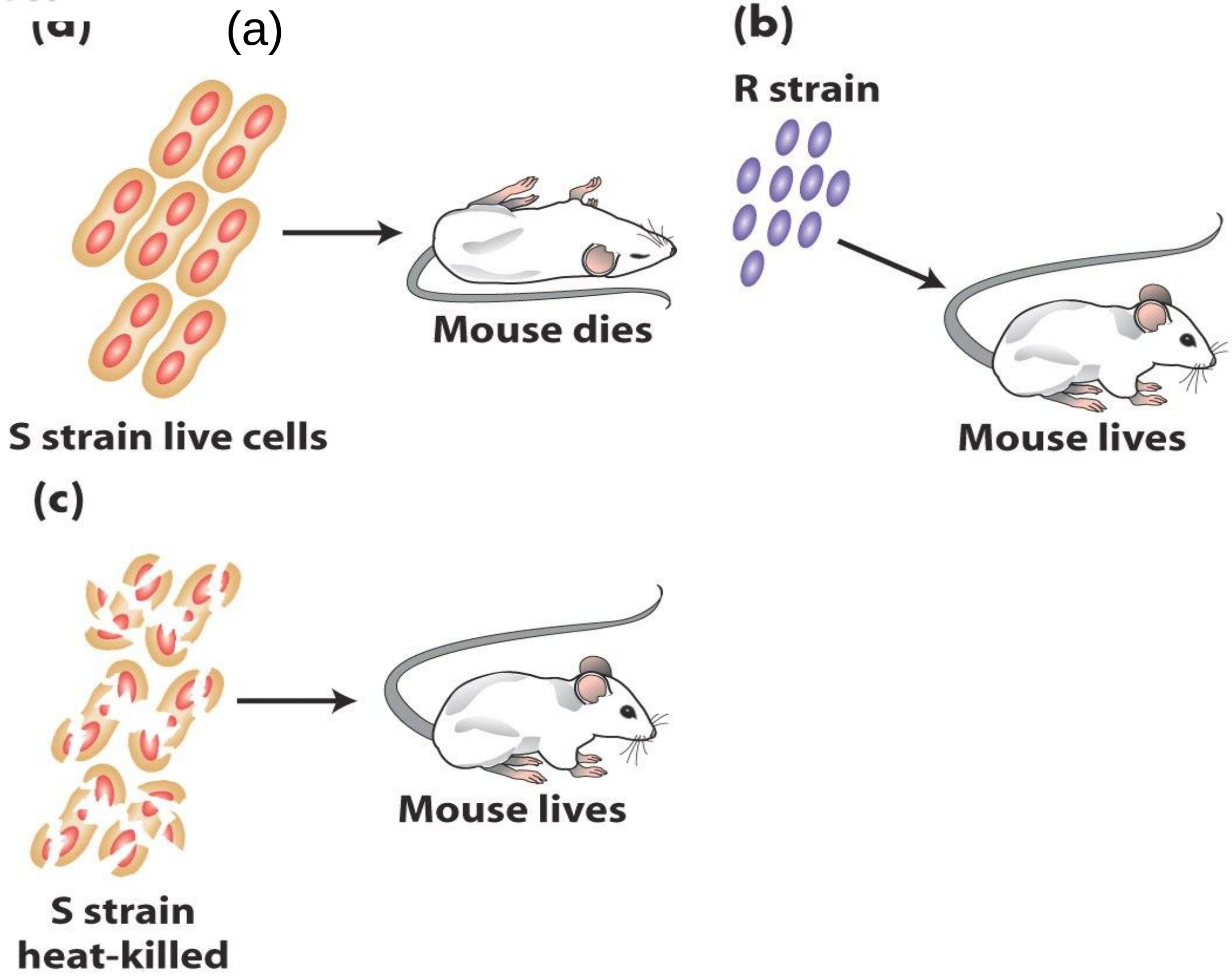
(a)



Experimento de transformação de GRIFFITH: com pneumococos de cepa lisa (S), virulenta e com cepa rugoso (R), não-virulenta.

(a)



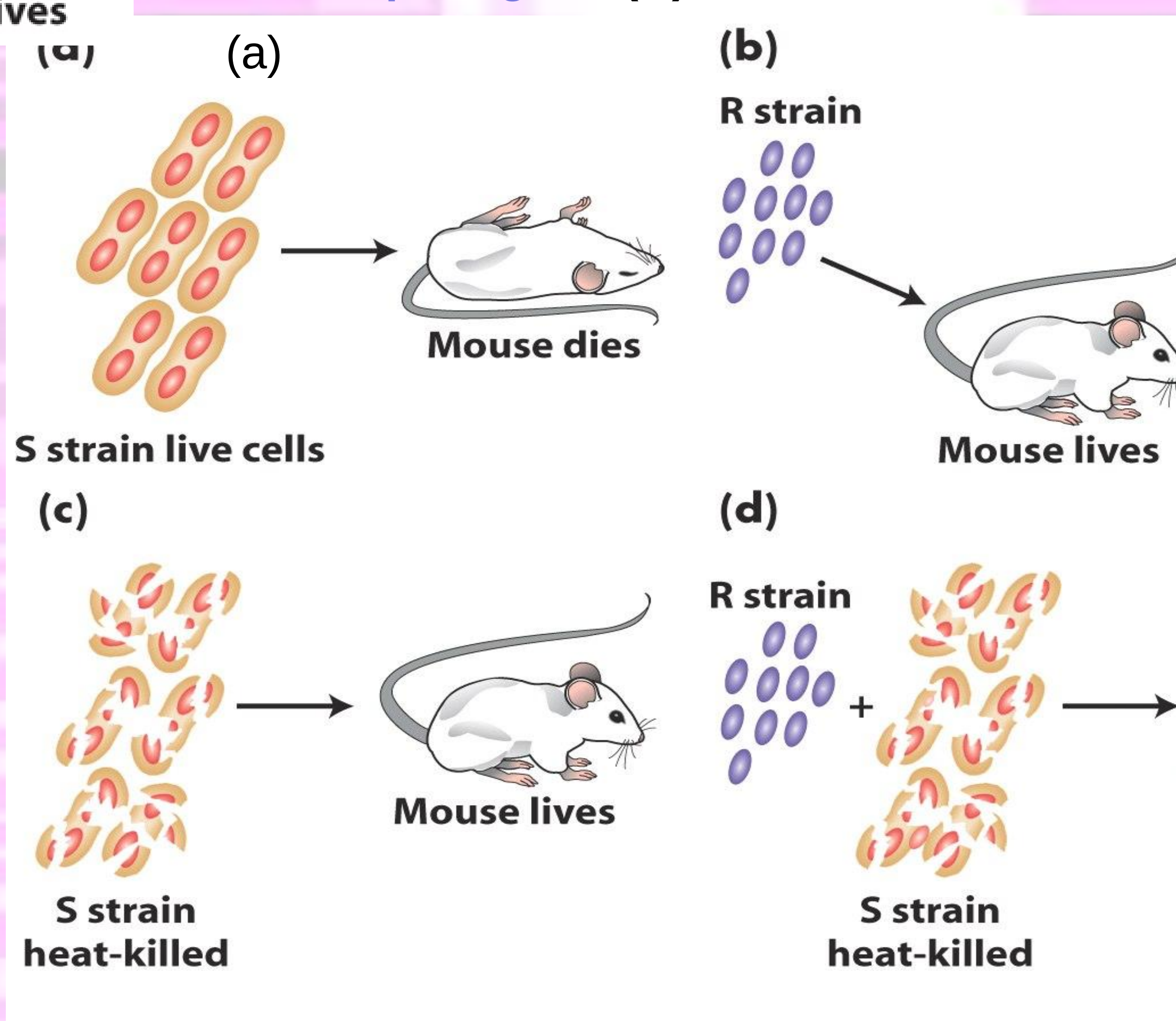


Experimento de transformação de GRIFFITH:

com pneumococos de cepa lisa (S), virulenta e

com cepa rugoso (R), não-virulenta.

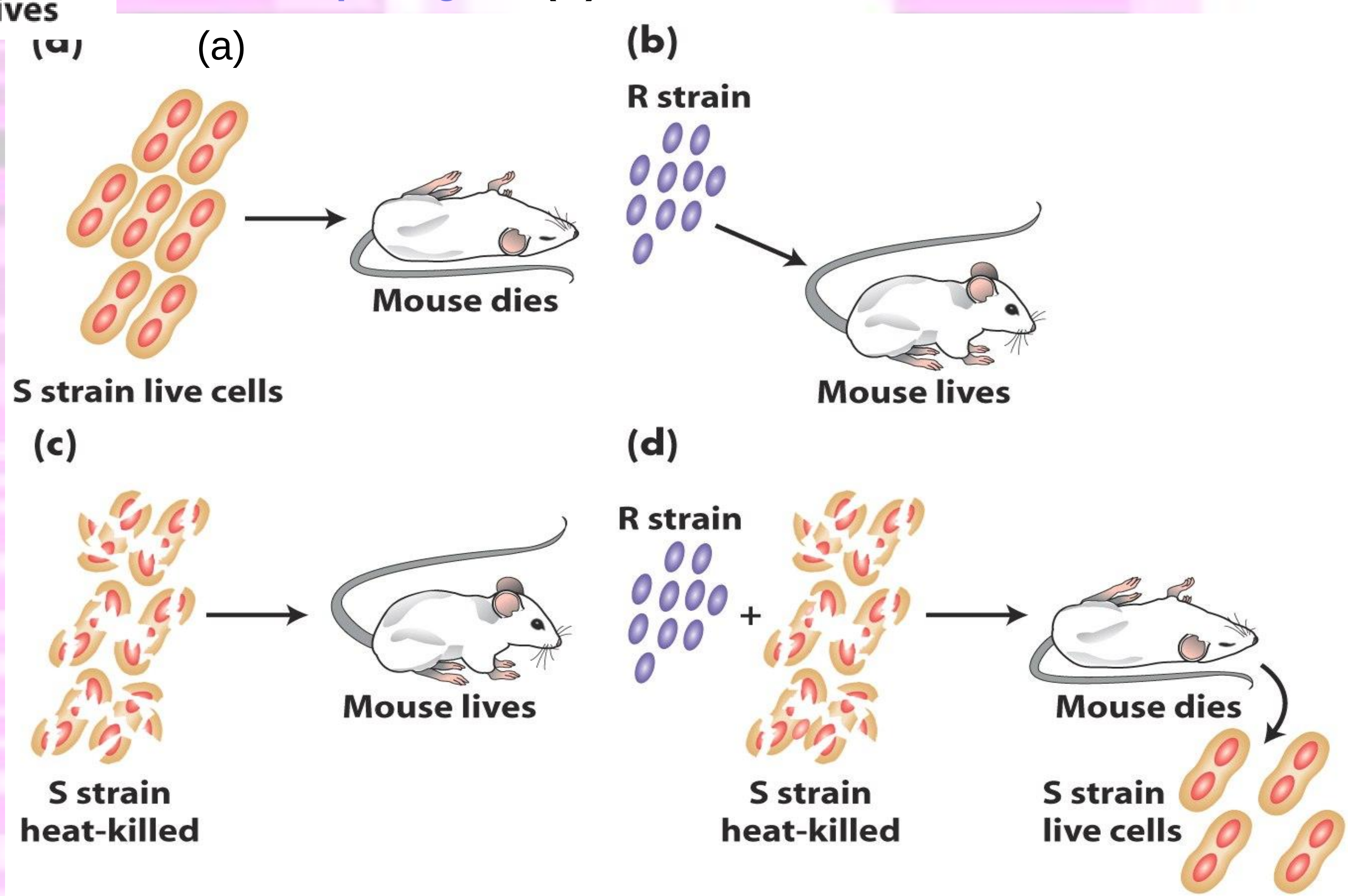
(a)



?

Experimento de transformação de GRIFFITH: com pneumococos de cepa lisa (S), virulenta e com cepa rugoso (R), não-virulenta.

(a)



Experimento de transformação de GRIFFITH: com pneumococos de cepa lisa (S), virulenta e com cepa rugoso (R), não-virulenta.

(a)

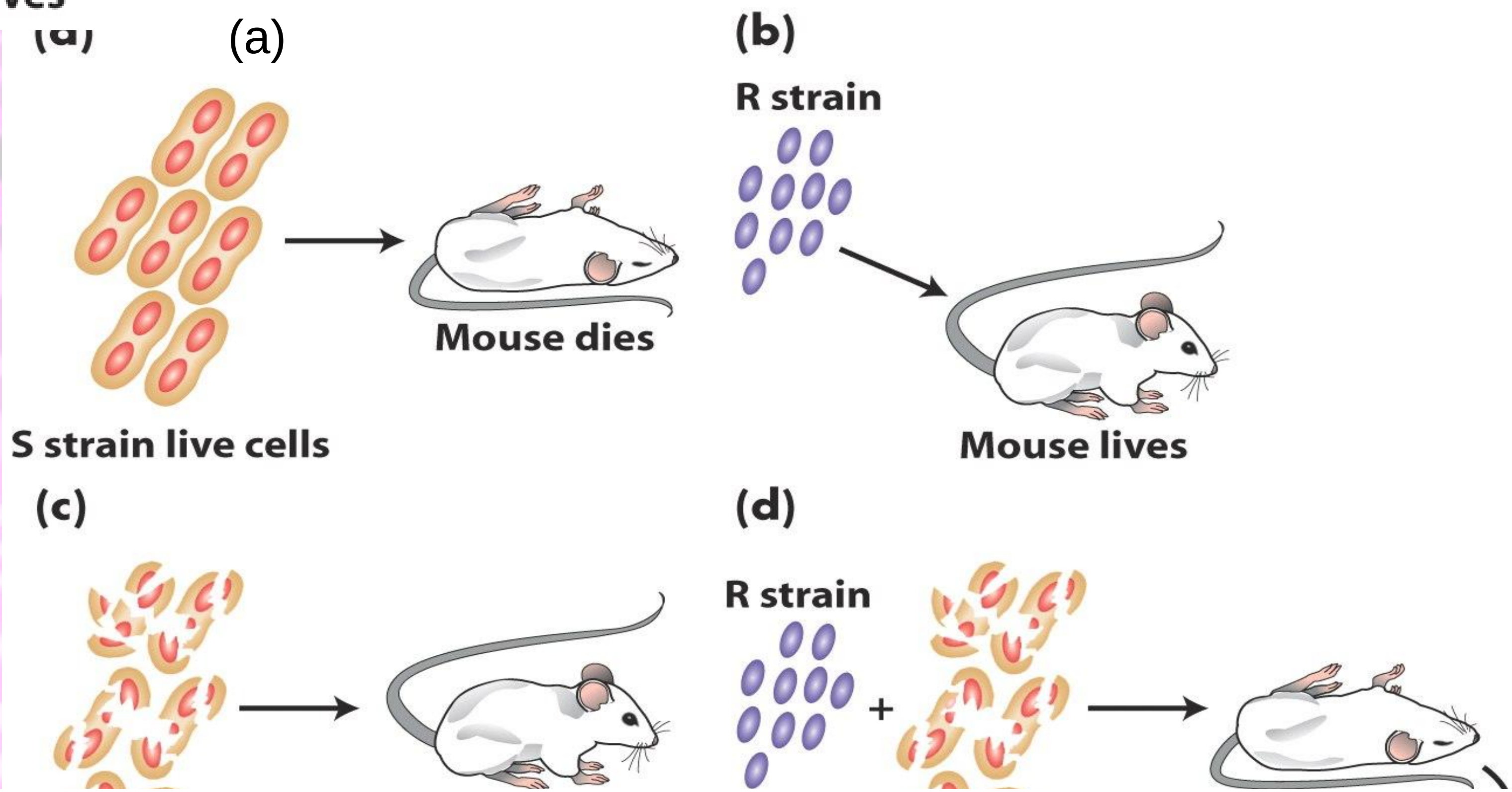


FIGURA Bactérias do tipo S mortas pelo calor, ou bactérias vivas do tipo R não matam os camundongos, mas a injeção simultânea de ambas pode matar os camundongos tão eficientemente quanto células do tipo S vivas.

CONCLUSÃO:

Nas células mortas está presente um elemento capaz de modificar as células vivas:

PRINCÍPIO TRANSFORMANTE

Oswald Avery
1944

Oswald Avery e cols. 1944

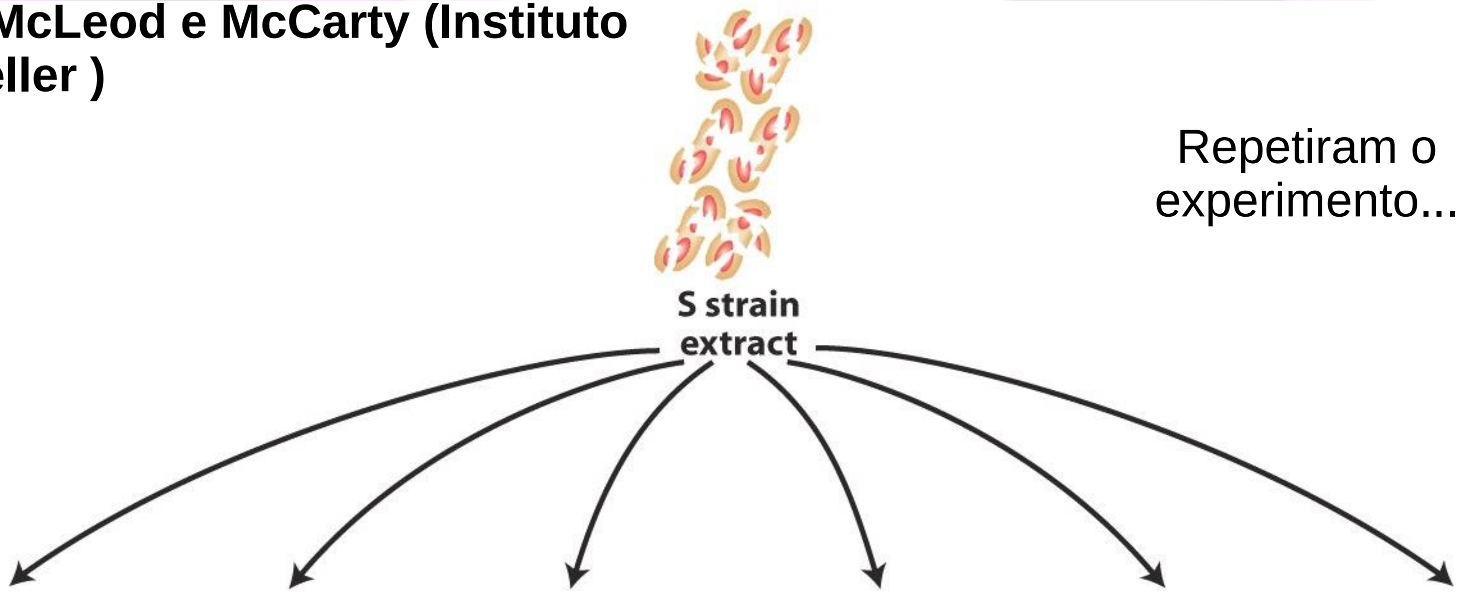
publicaram que haviam purificado

natureza química

do princípio transformante

Colaboradores = McLeod e McCarty
(Instituto Rockefeller)

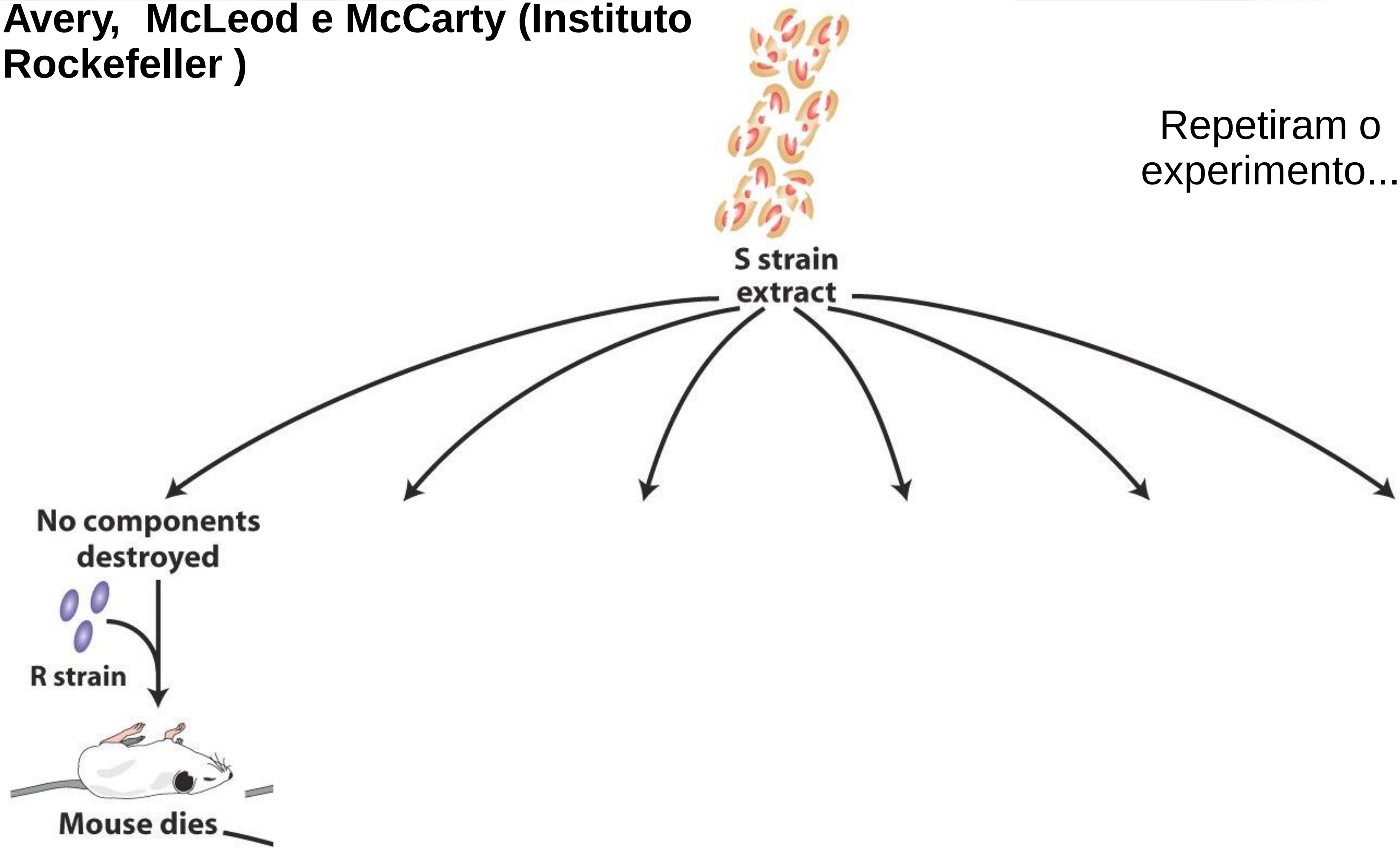
Avery, McLeod e McCarty (Instituto Rockefeller)



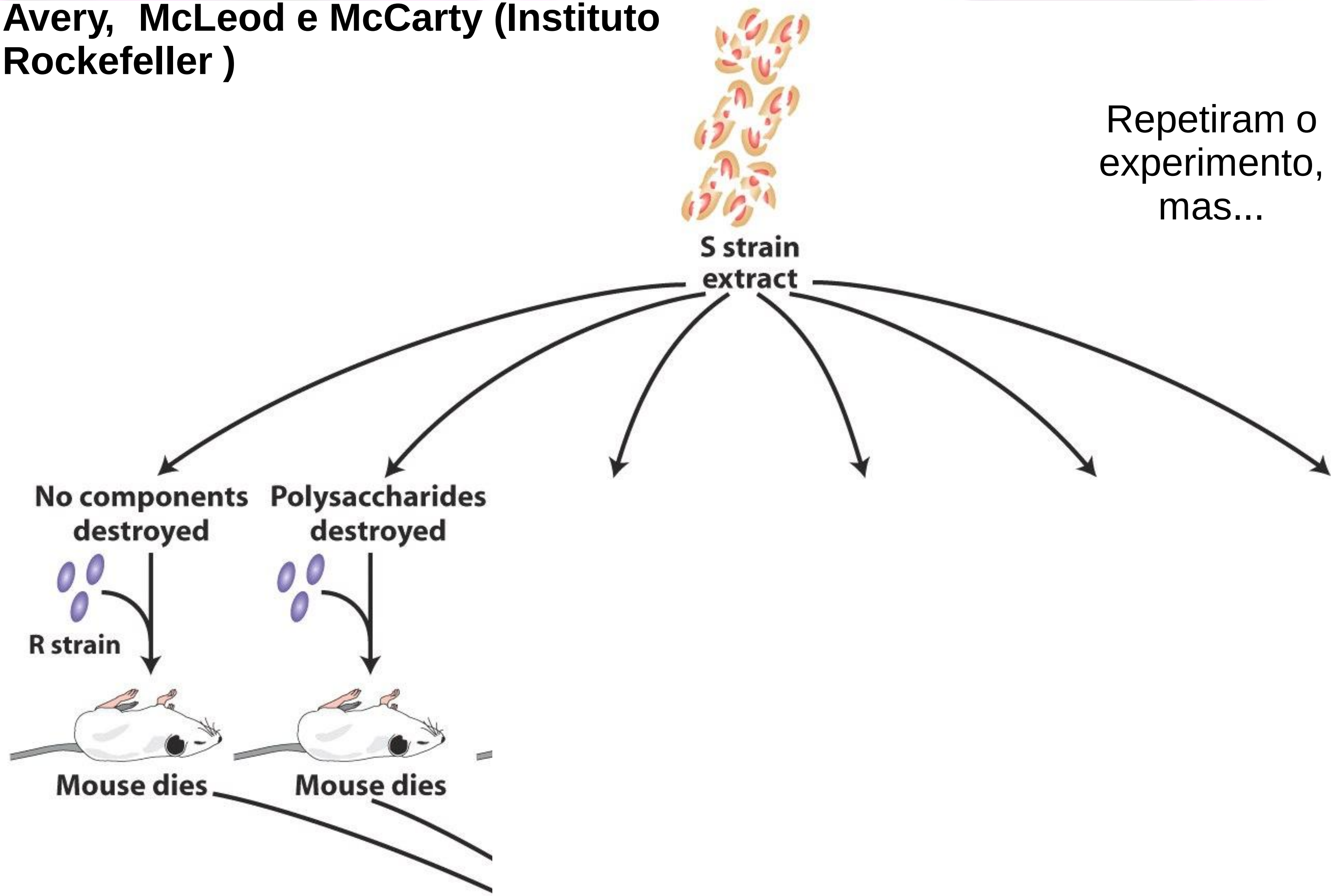
Repetiram o experimento...

Avery, McLeod e McCarty (Instituto Rockefeller)

Repetiram o experimento...

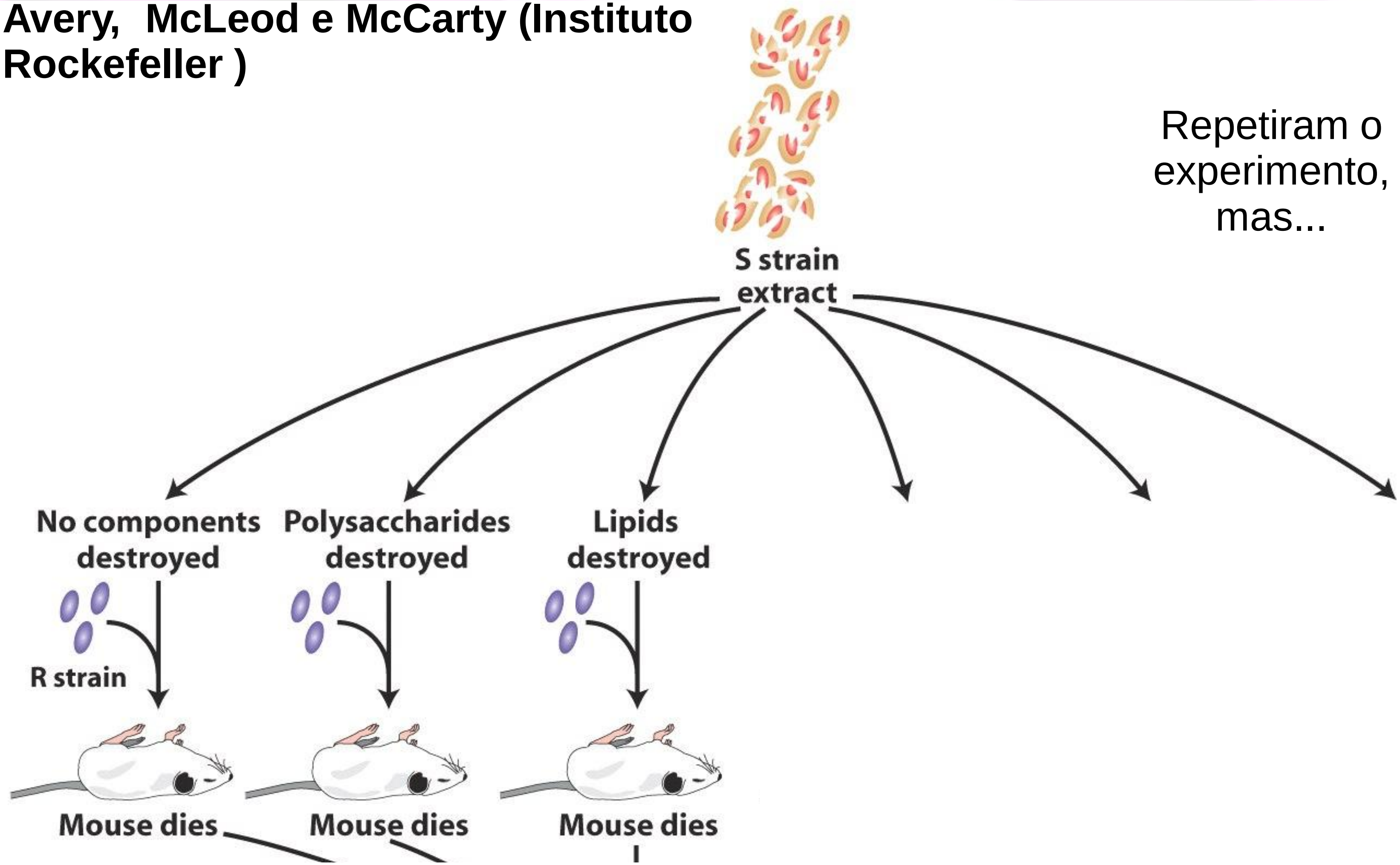


Avery, McLeod e McCarty (Instituto Rockefeller)



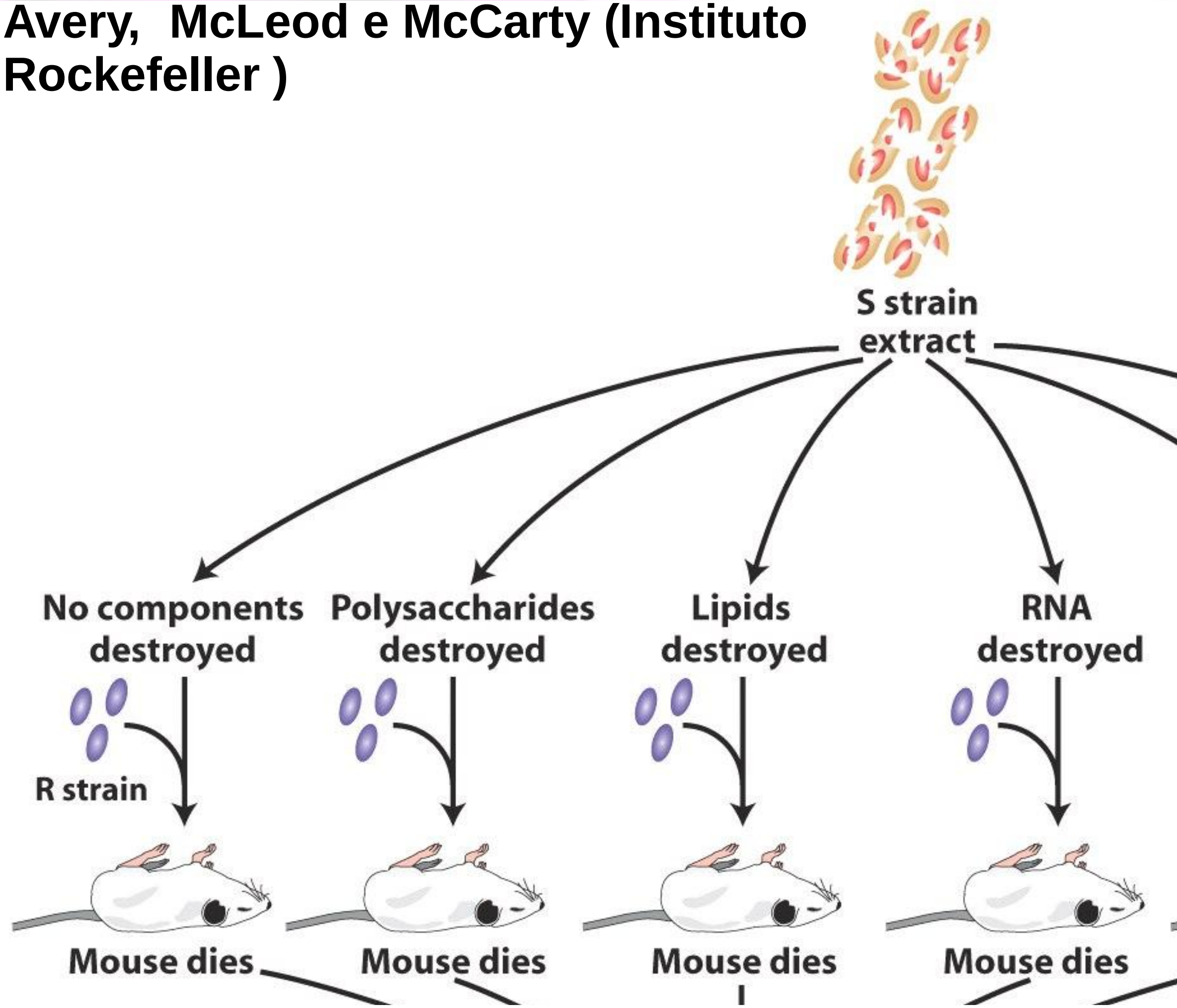
Repetiram o experimento, mas...

Avery, McLeod e McCarty (Instituto Rockefeller)



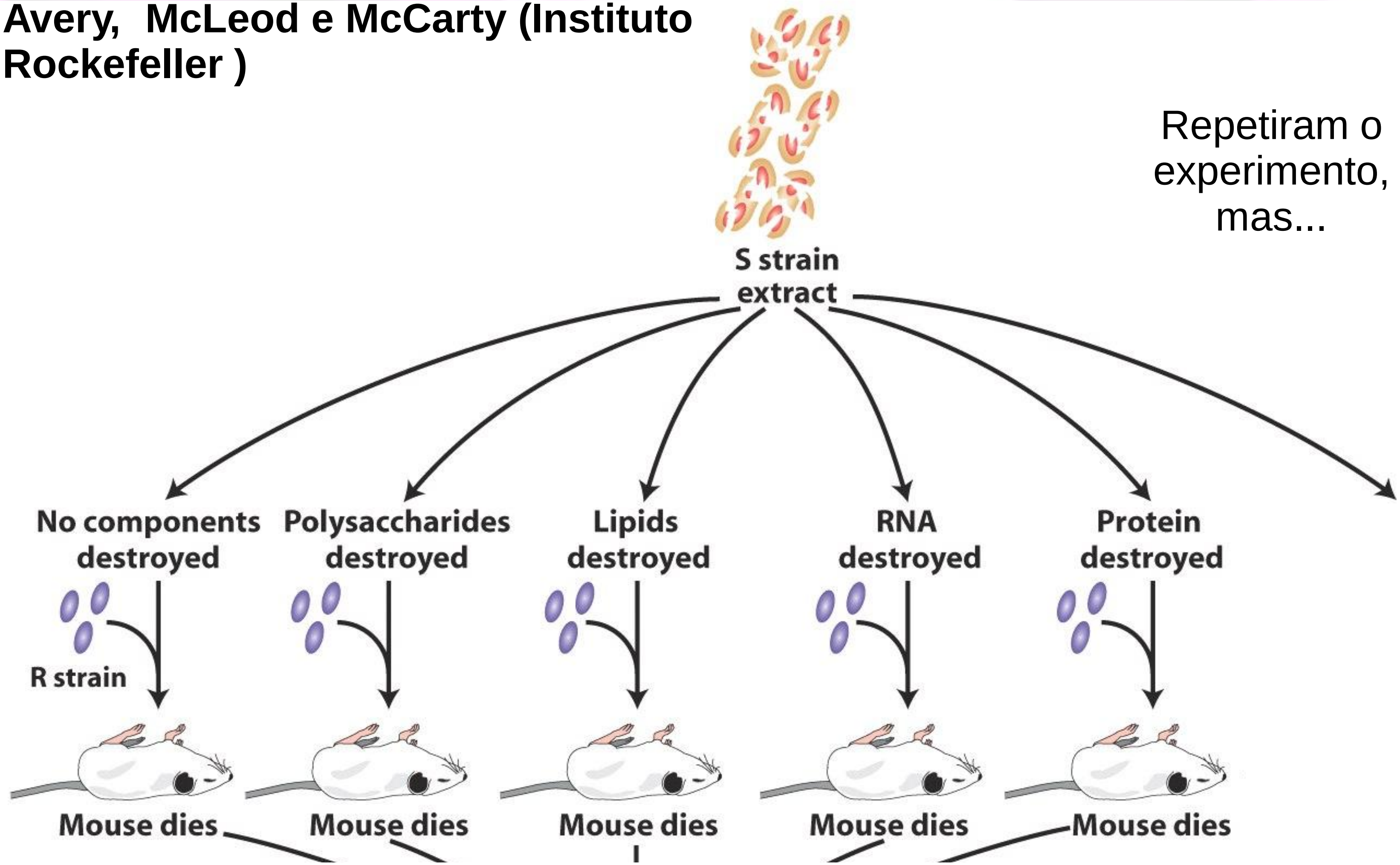
Repetiram o experimento, mas...

Avery, McLeod e McCarty (Instituto Rockefeller)



Repetiram o experimento, mas...

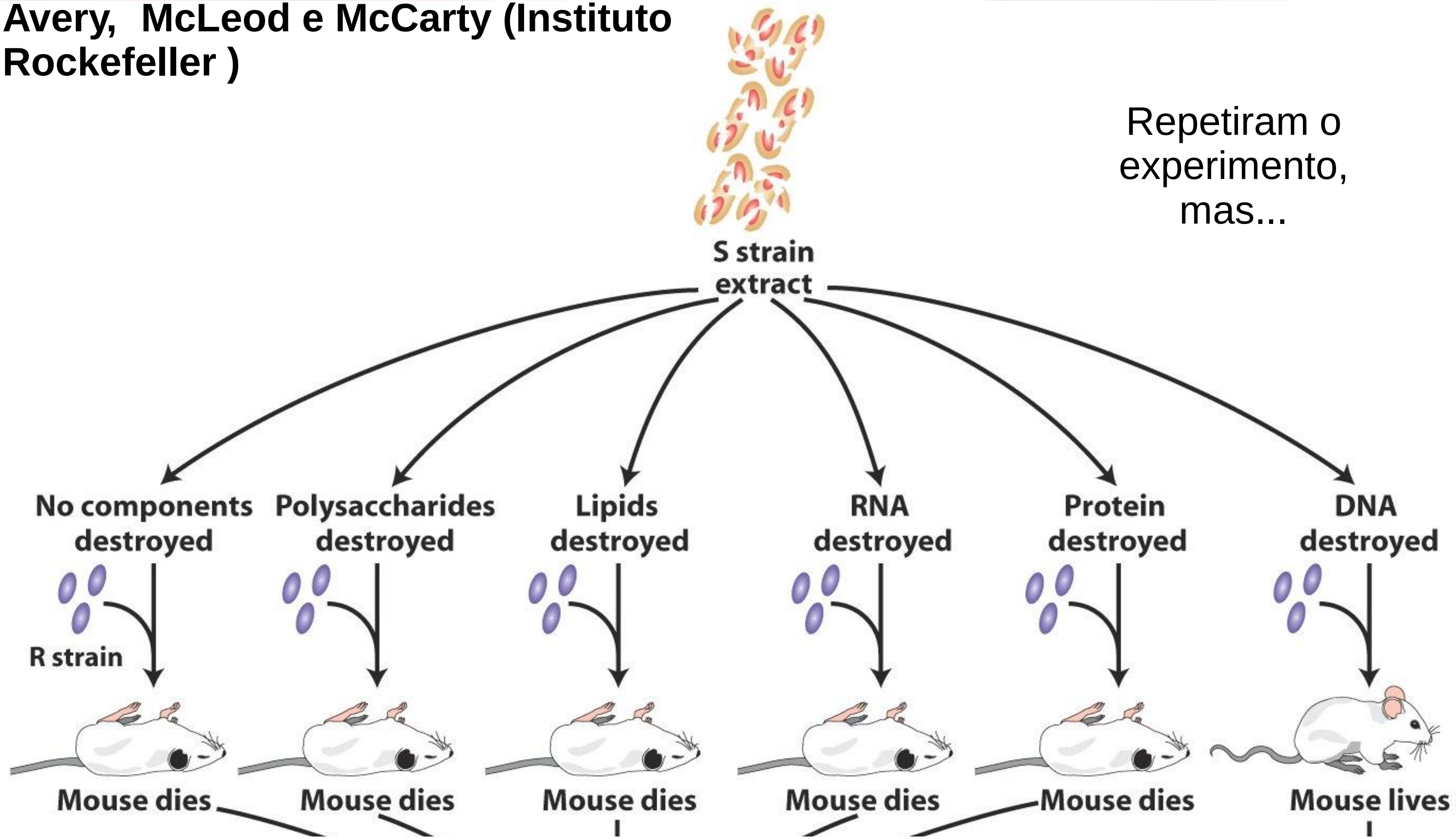
Avery, McLeod e McCarty (Instituto Rockefeller)



Repetiram o experimento, mas...

Avery, McLeod e McCarty (Instituto Rockefeller)

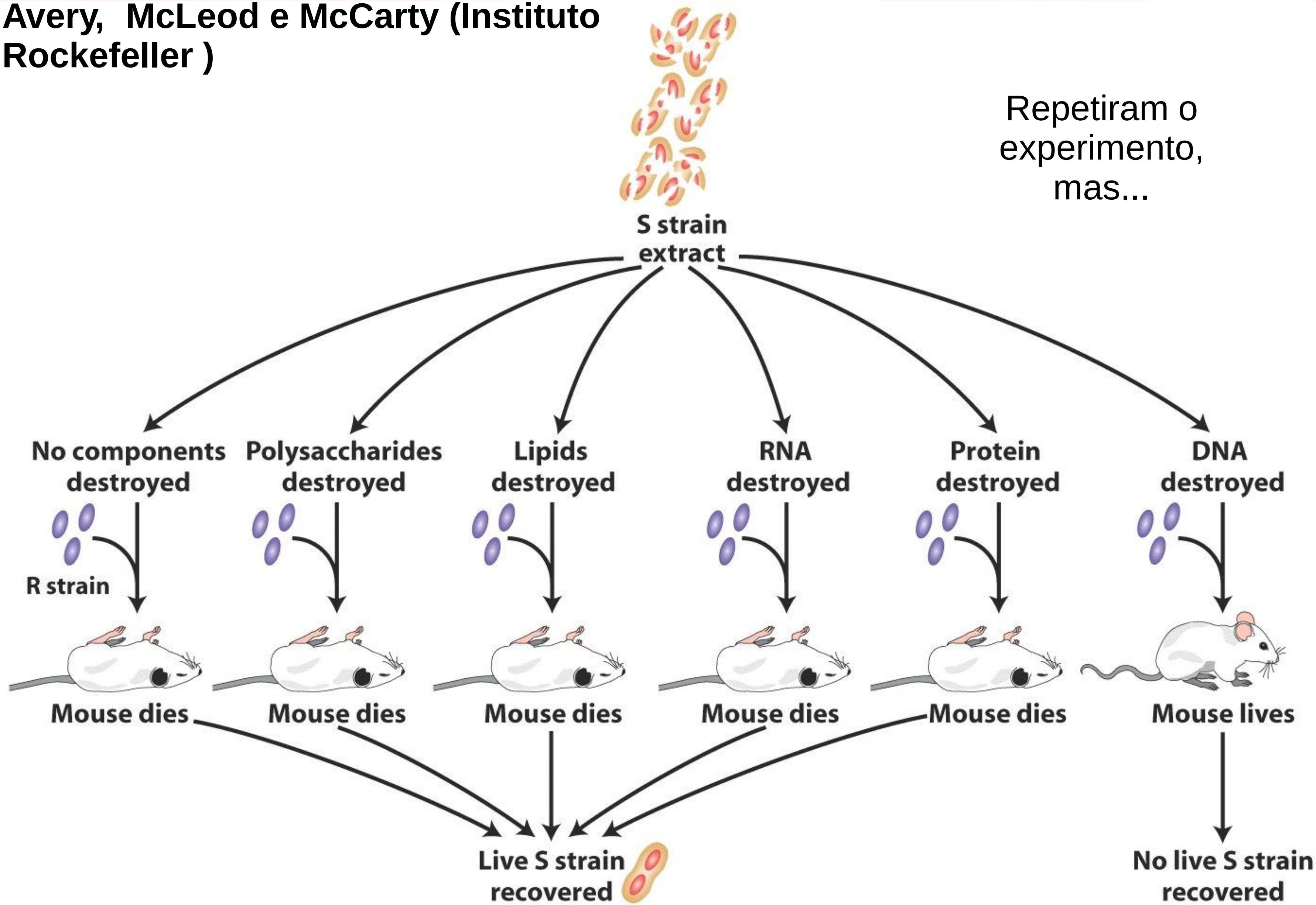
Repetiram o experimento, mas...



QUAL A CONCLUSÃO ?

Avery, McLeod e McCarty (Instituto Rockefeller)

Repetiram o experimento, mas...



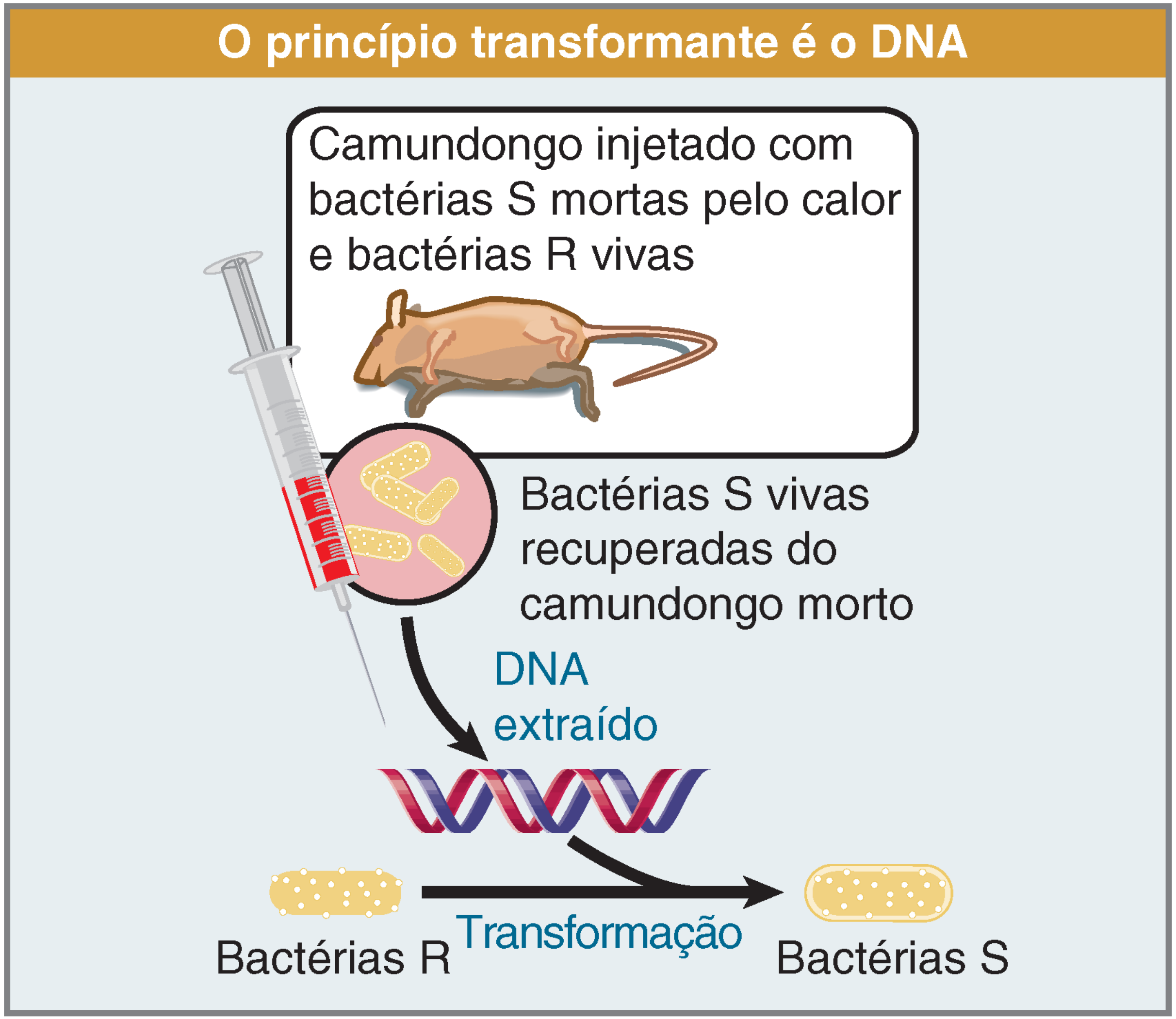


FIGURA O DNA das bactérias do tipo S pode transformar as bactérias do tipo R em bactérias do mesmo tipo S.

CONCLUSÃO:

DNA É O PRINCÍPIO TRANSFORMANTE

Enquanto isso...

- Dúvida continuava....
- Será que uma molécula mais simples que a proteína conseguiria armazenar tanta informação genética?
- DNA não parecia ser tão “inteligente” ...

Hershey e Chase- 1952

Experimento com isótopos radioativos P e S

PROTEÍNAS contém aminoácidos, que contém enxofre – S

Ácidos Nucléicos contém nucleotídeos que contém fósforo - P

Pesquisa para a próxima aula:

Experimento de Hershey - Chase

CONCLUSÃO:

DNA é o material hereditário

Biologia Molecular e Bioquímica

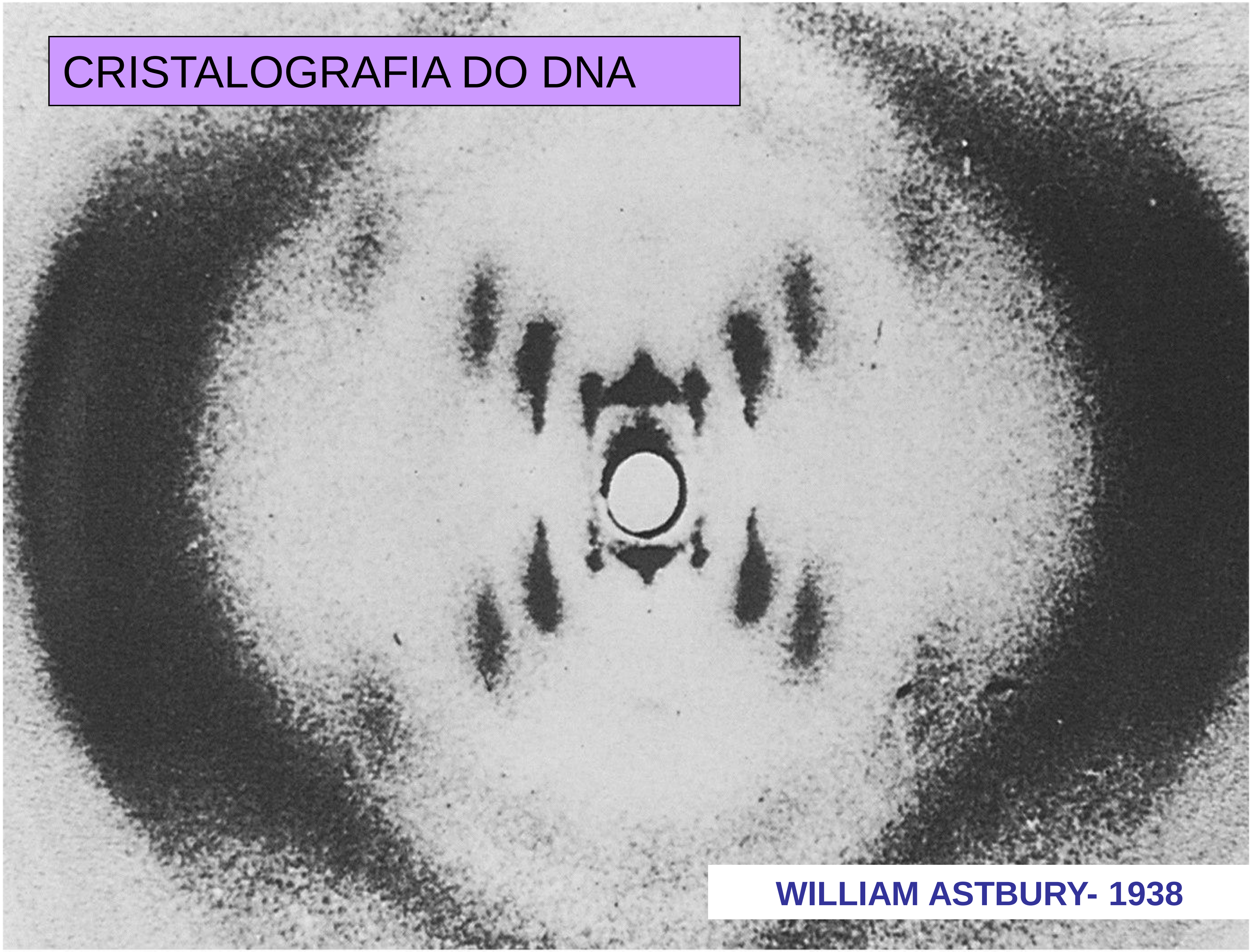
- núcleo composto de DNA e proteínas
- DNA material hereditário
- molécula polimérica- nucleotídeos/ monômeros
- proporcionalidade das bases A/T e C/G

Microbiologia

- material genético é universal
- fagos -genoma próprio
- DNA é o princípio transformante
- recombinação em bactérias

1- Qual a estrutura do DNA?
2- Qual a natureza do código genético

CRISTALOGRAFIA DO DNA



WILLIAM ASTBURY- 1938

LEVENE (1931): determinação da composição química dos ácidos nucleicos

Componentes básicos:

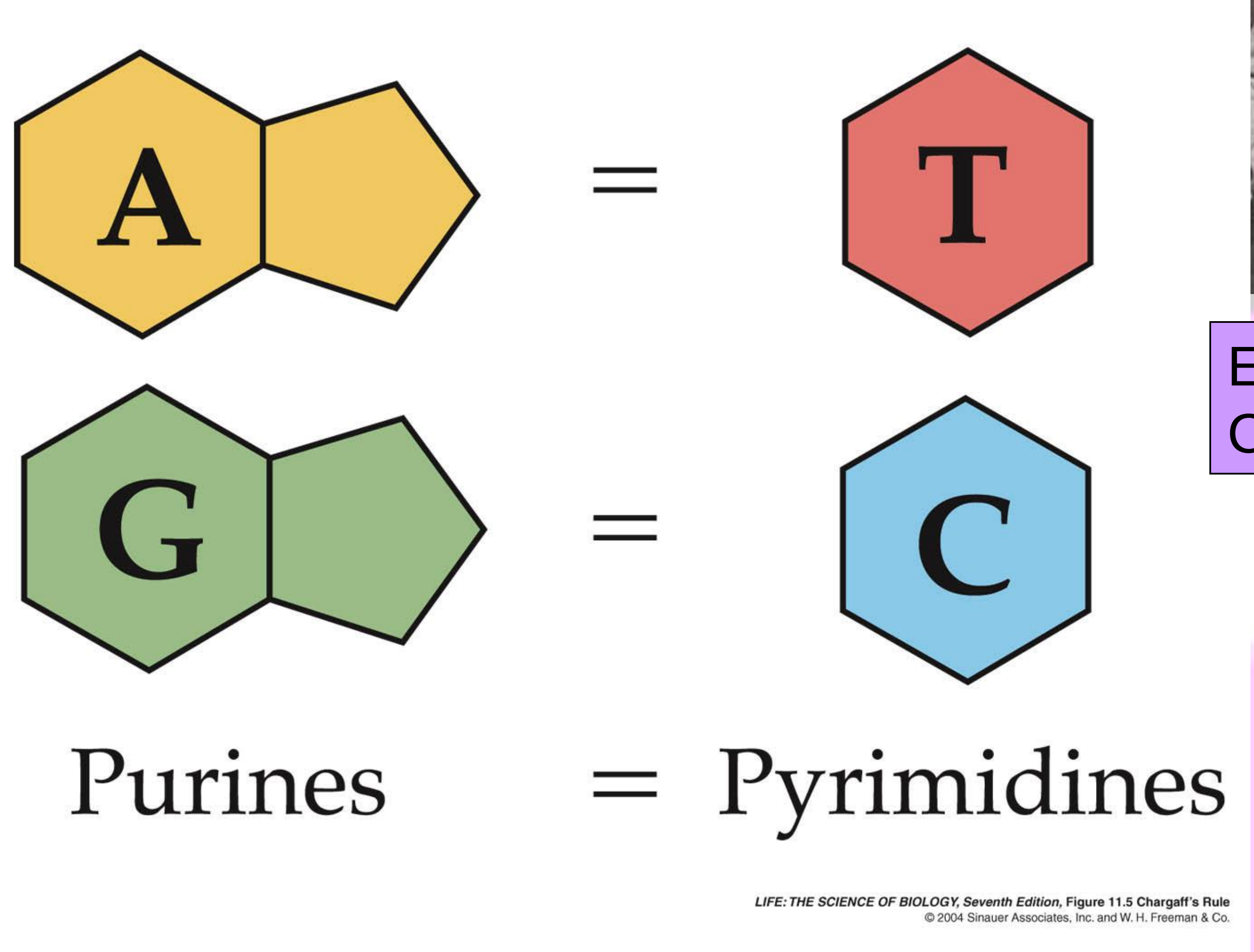
Bases nitrogenadas

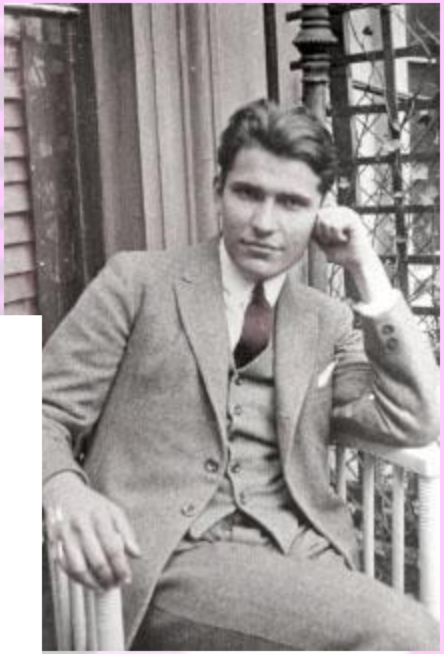
Açúcar

Fosfato

Estabeleceu a diferença química entre o DNA e RNA

Relação quantitativa entre as bases do DNA





ERWIN CHARGAFF

Table 7-1 Molar Properties of Bases* in DNAs from Various Sources

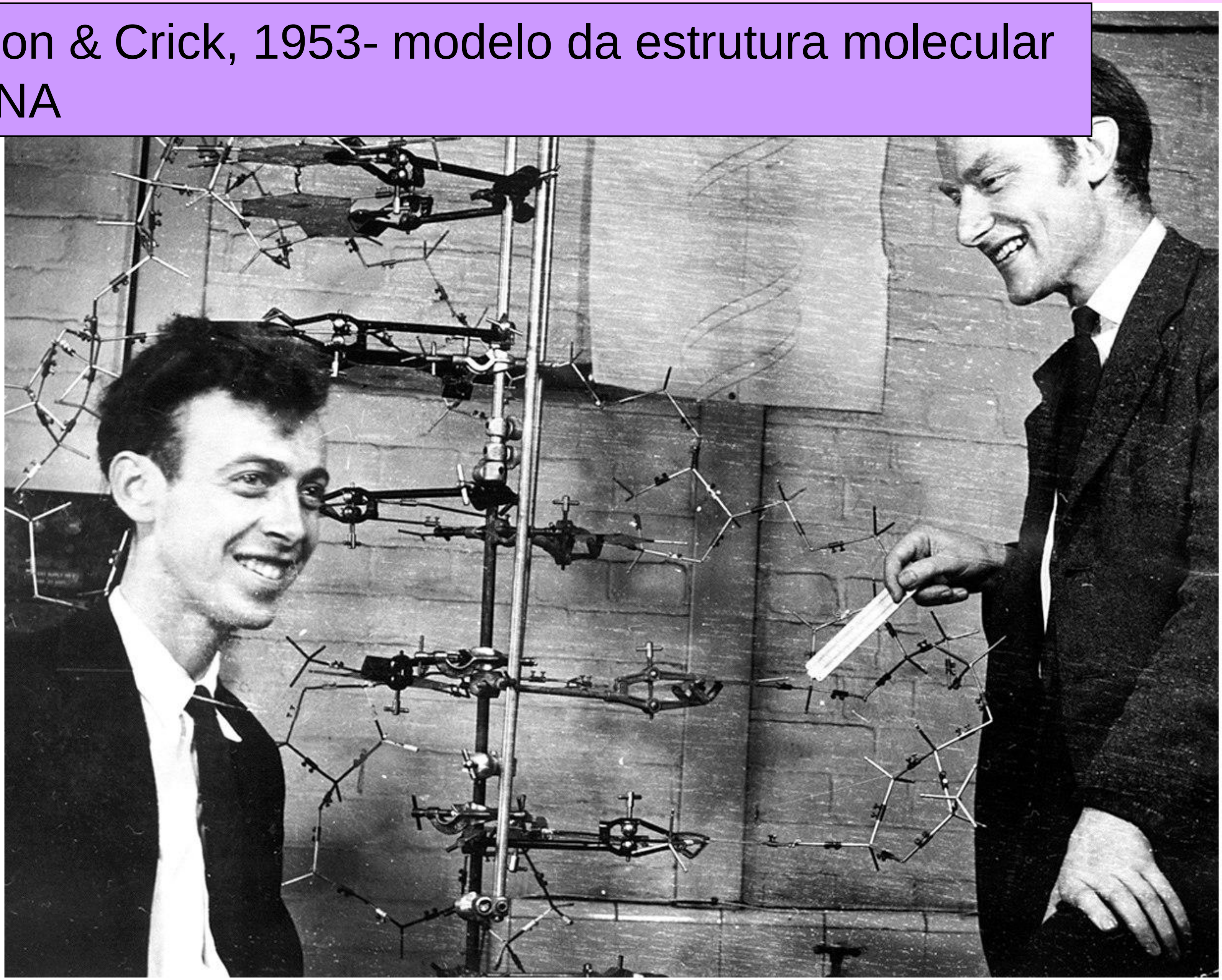
Organism	Tissue	Adenine	Thymine	Guanine	Cytosine	$\frac{A+T}{G+C}$
Escherichia coli (K12)	—	26.0	23.9	24.9	25.2	1.00
Diplococcus pneumoniae	—	29.8	31.6	20.5	18.0	1.59
Mycobacterium tuberculosis	—	15.1	14.6	34.9	35.4	0.42
Yeast	—	31.3	32.9	18.7	17.1	1.79
Paracentrotus lividus (sea urchin)	Sperm	32.8	32.1	17.7	18.4	1.85
Herring	Sperm	27.8	27.5	22.2	22.6	1.23
Rat	Bone marrow	28.6	28.4	21.4	21.5	1.33
Human	Thymus	30.9	29.4	19.9	19.8	1.52
Human	Liver	30.3	30.3	19.5	19.9	1.53
Human	Sperm	30.7	31.2	19.3	18.8	1.62

*Defined as moles of nitrogenous constituents per 100 g-atoms phosphate in hydrolysate.

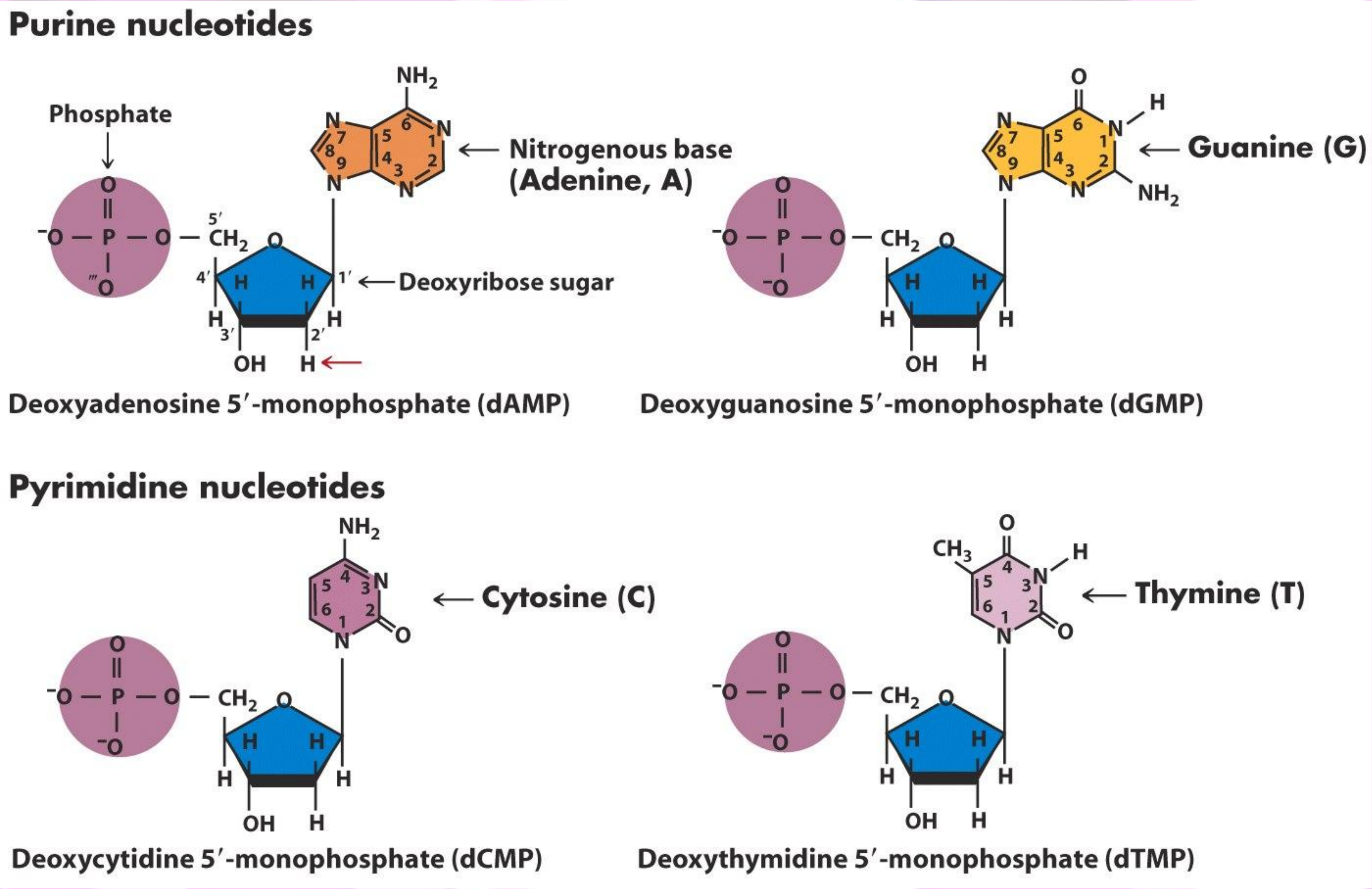
Source: E. Chargaff and J. Davidson, eds., *The Nucleic Acids.* Academic Press, 1995.

Rosalyn Franklin – determinação das medidas cristalográficas

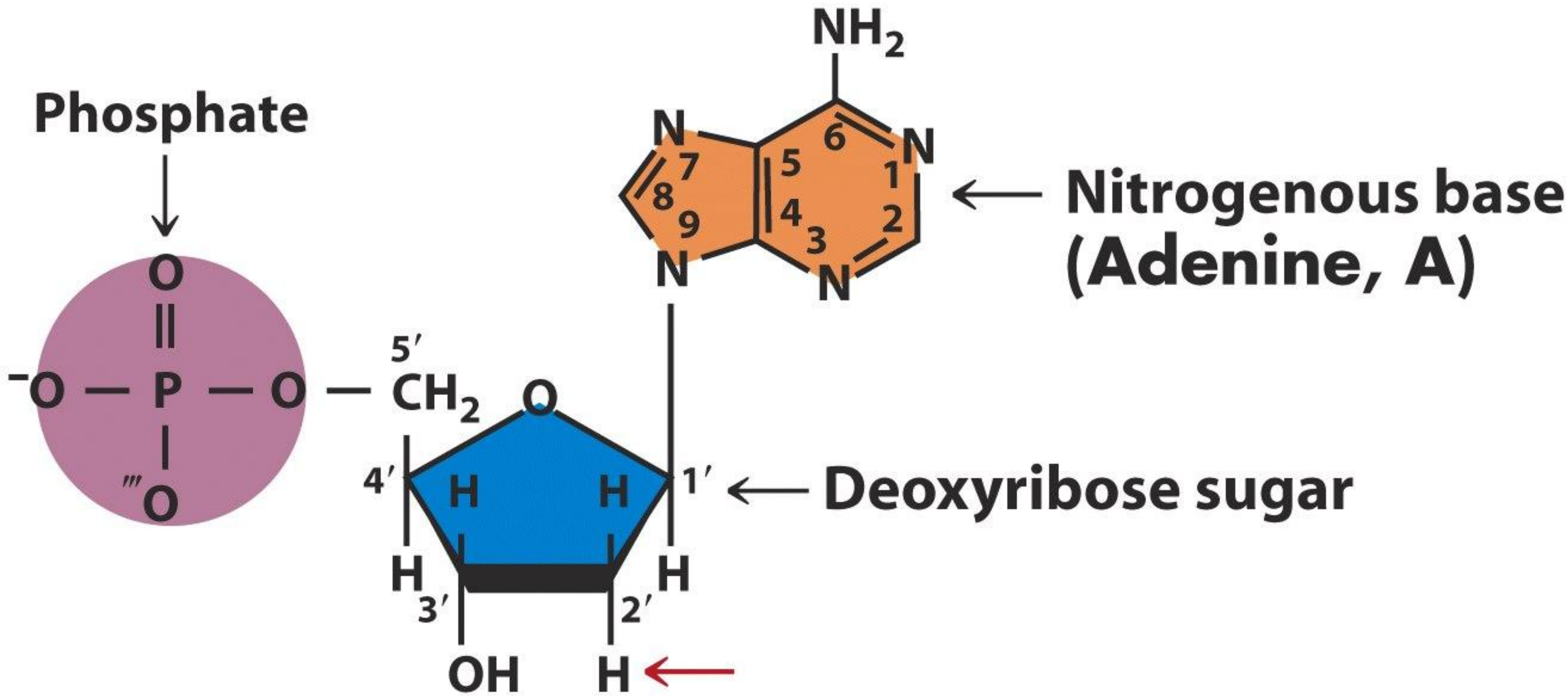
Watson & Crick, 1953- modelo da estrutura molecular do DNA



NUCLEOTÍDEOS- MONÔMEROS

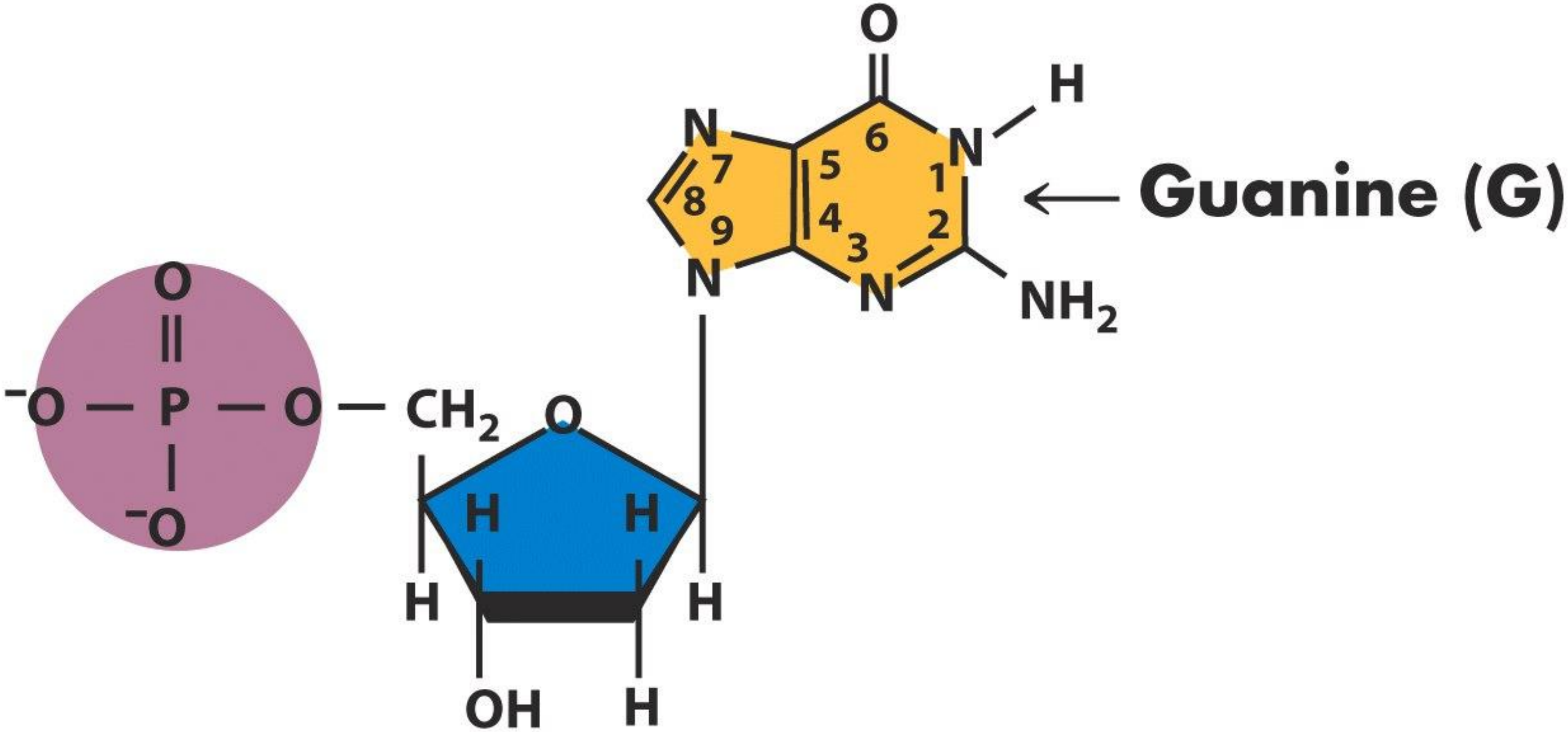


Purine nucleotides



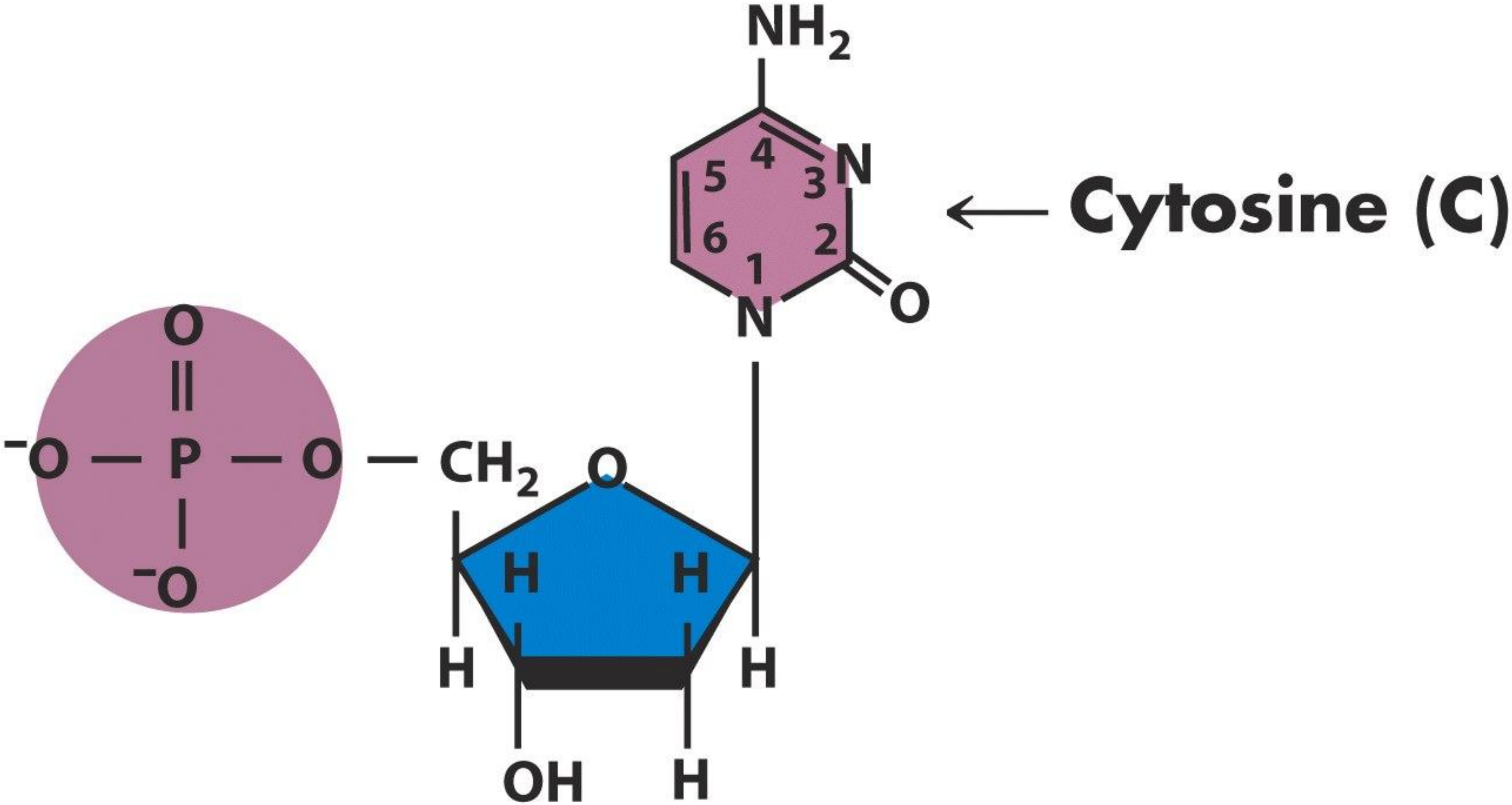
Deoxyadenosine 5′-monophosphate (dAMP)

Purine nucleotides



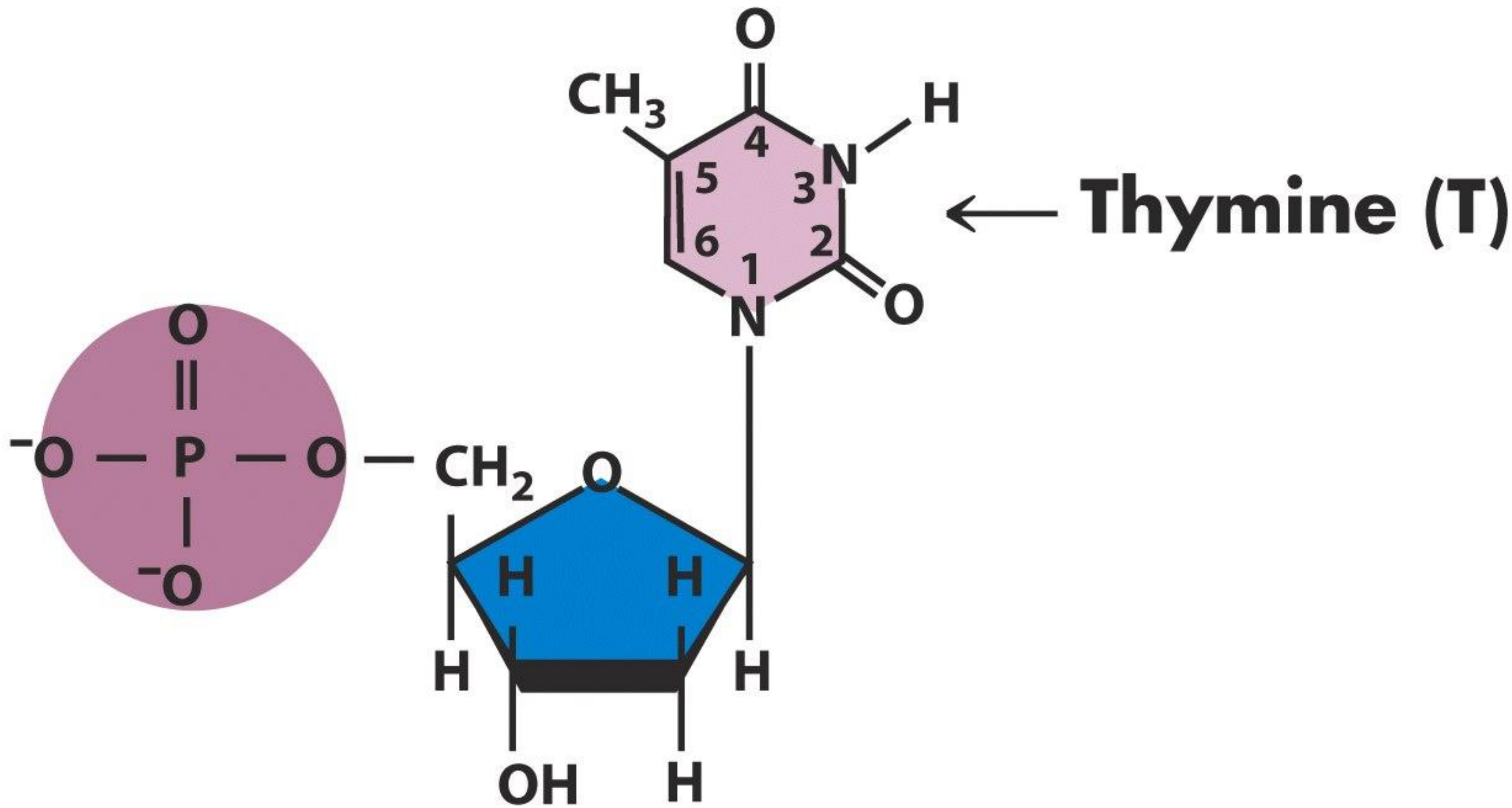
Deoxyguanosine 5′-monophosphate (dGMP)

Pyrimidine nucleotides



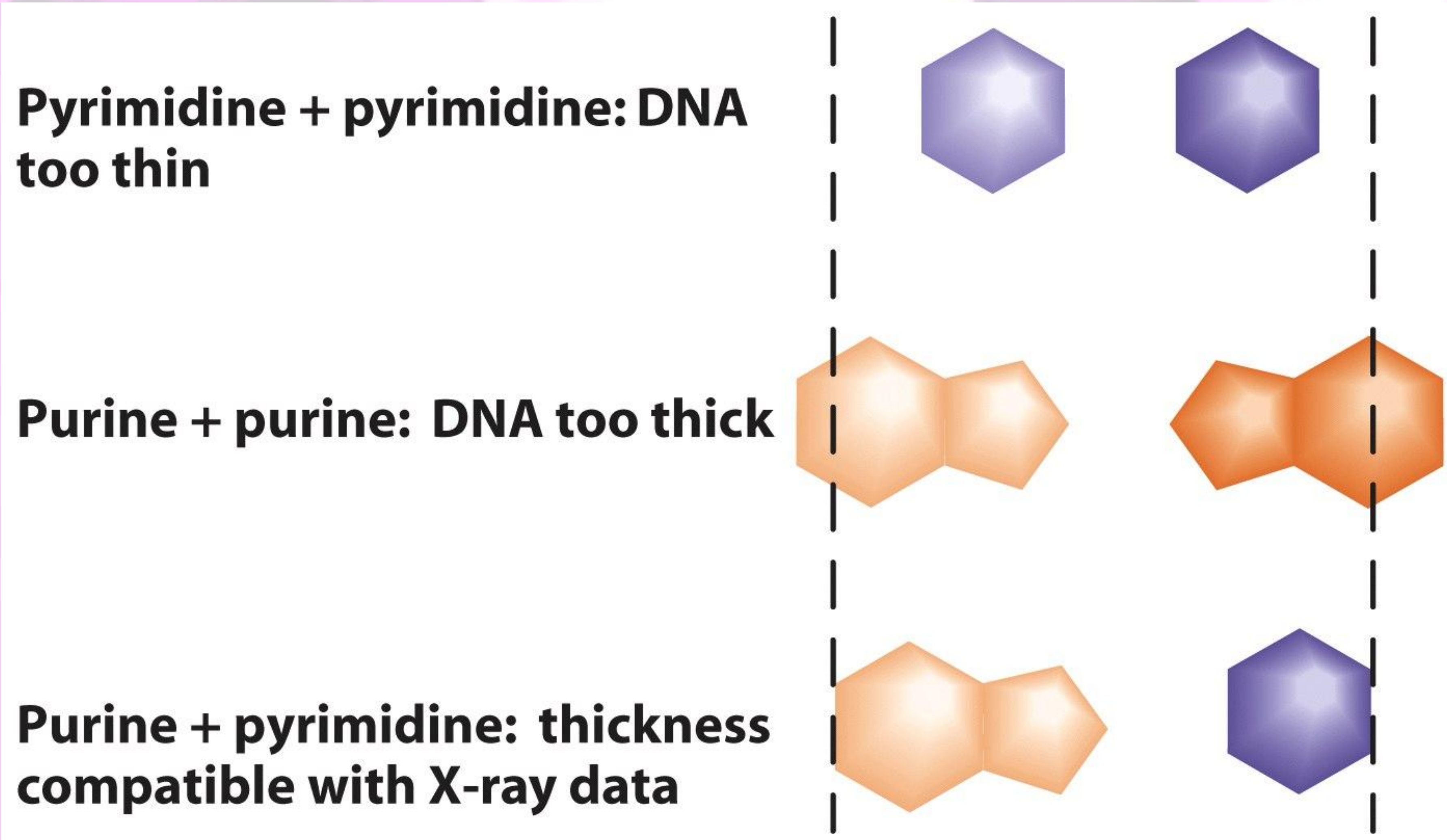
Deoxycytidine 5′-monophosphate (dCMP)

Pyrimidine nucleotides



Deoxythymidine 5′-monophosphate (dTMP)

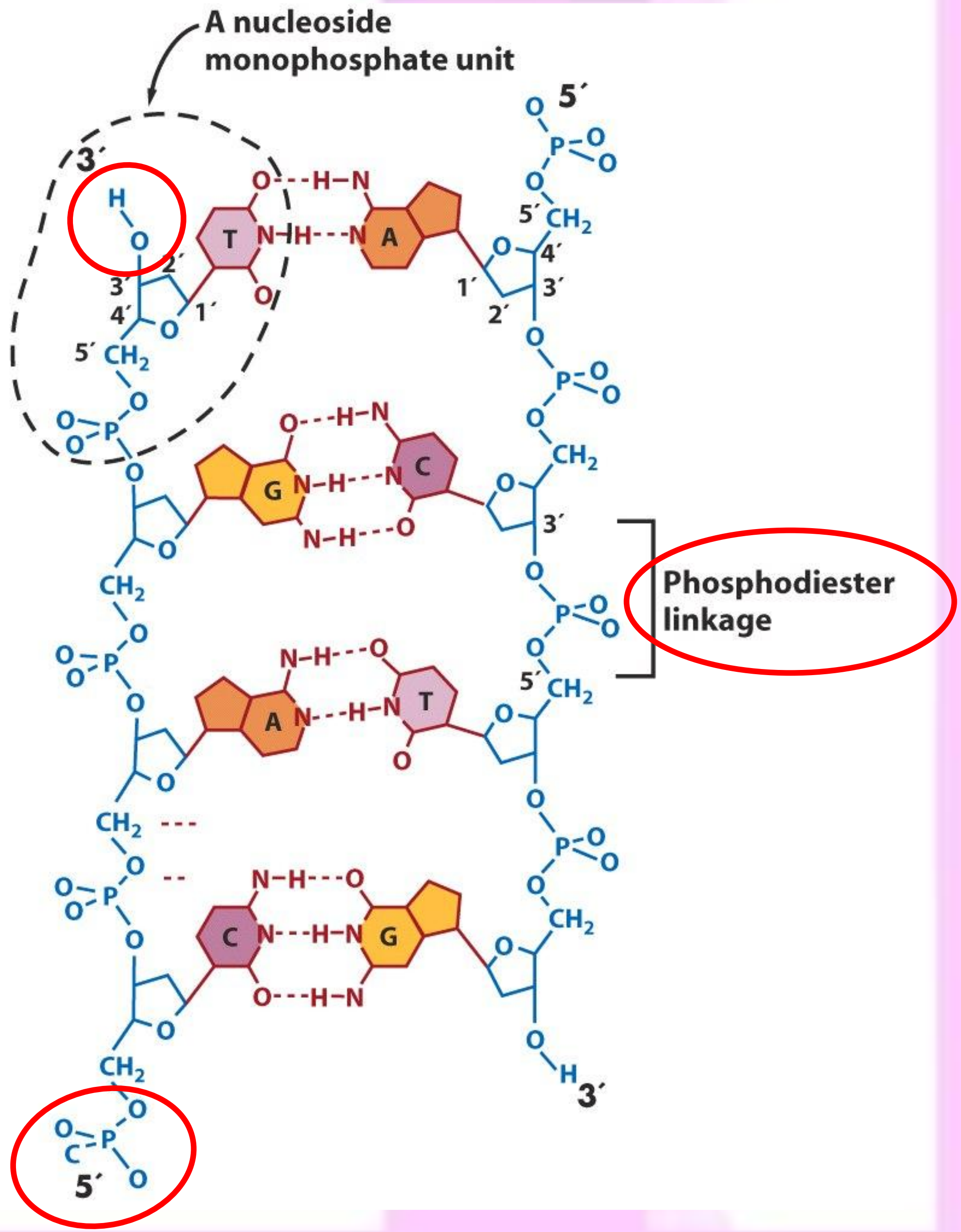
DISTÂNCIA ENTRE AS CADEIAS= 20 ANGSTRONS



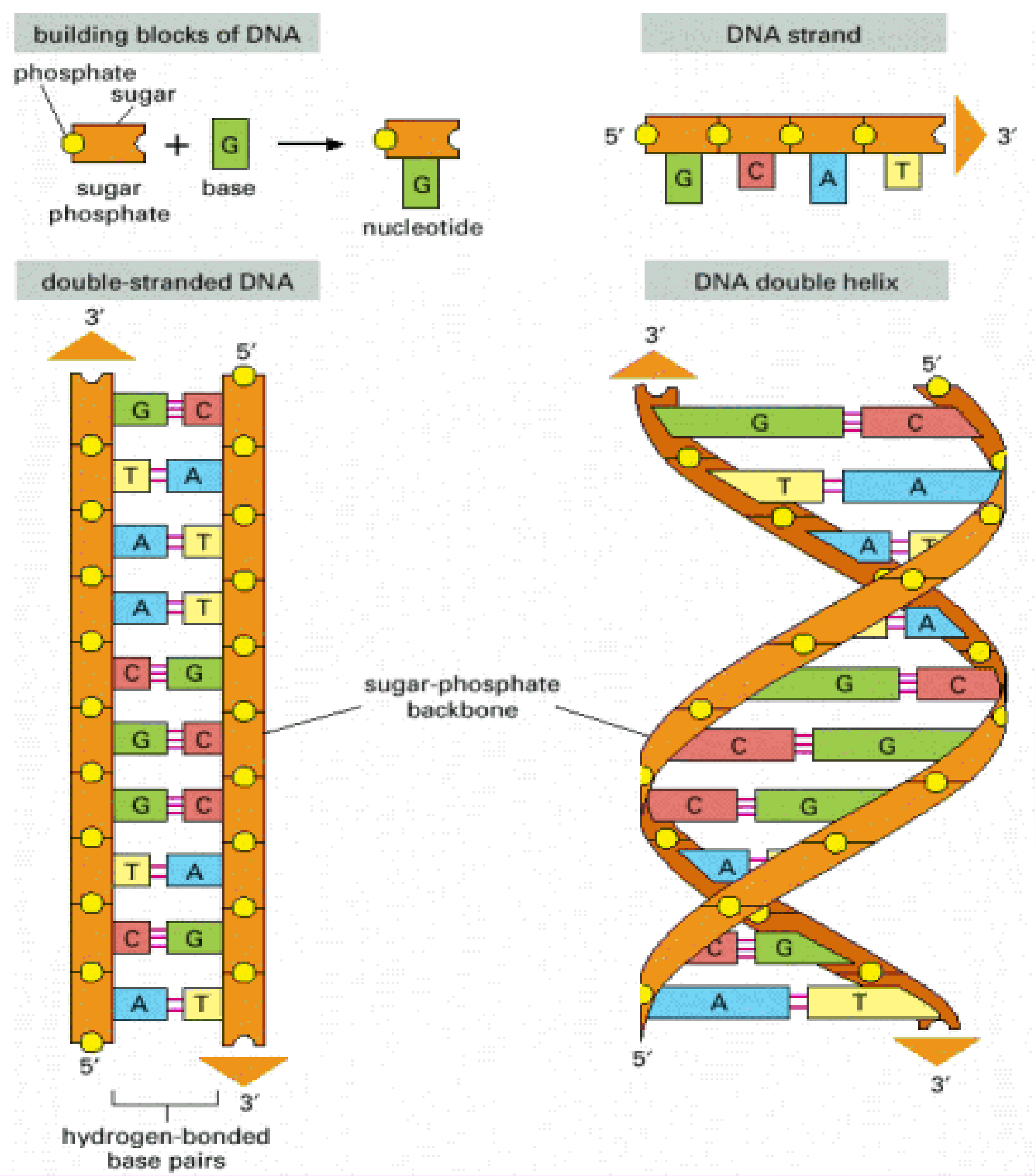
Ligação fosfodiester entre os nucleotídeos

Fosfato- extremidade 5’

Grupo OH- extremidade 3’

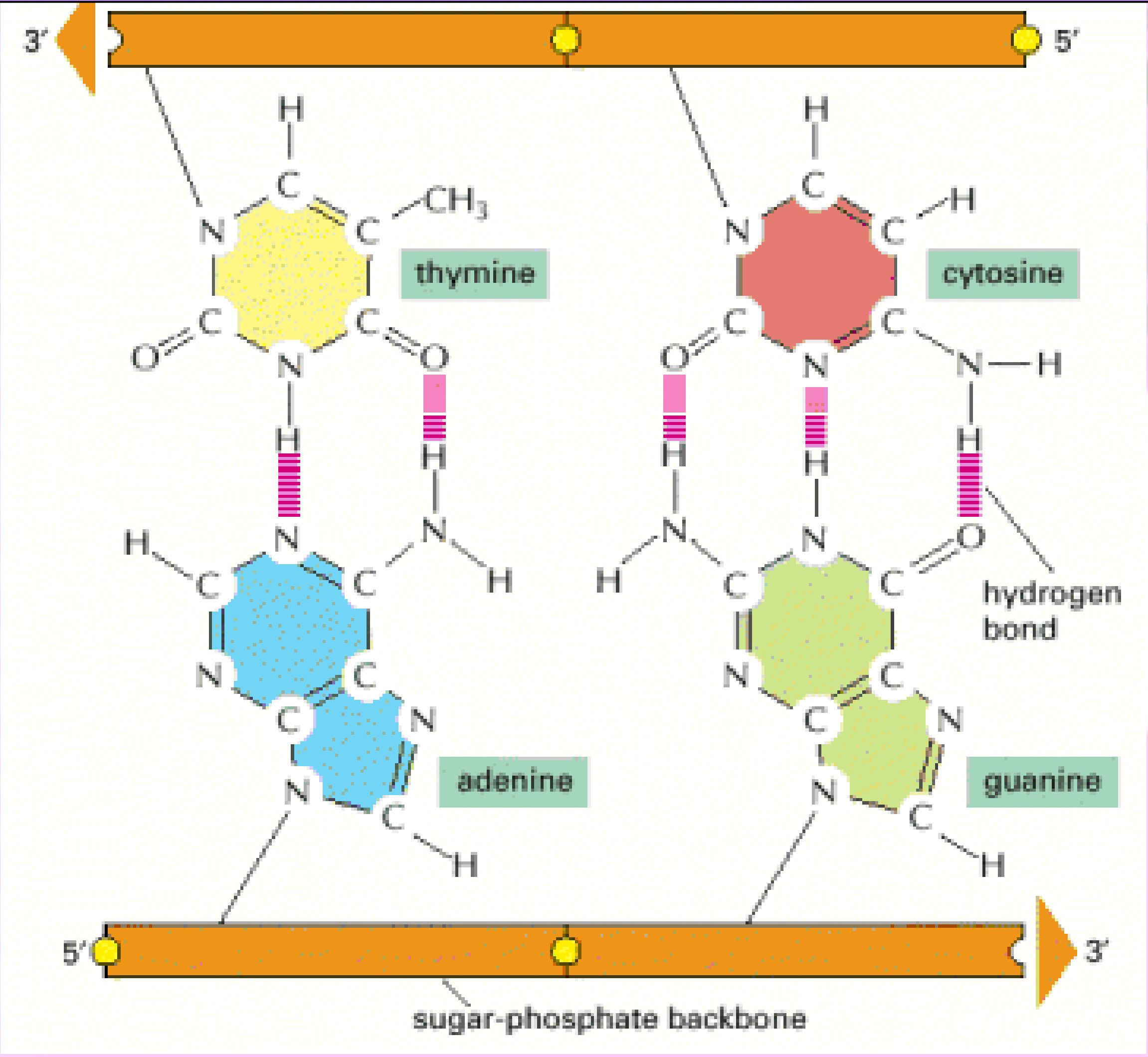


Cadeias antiparalelas



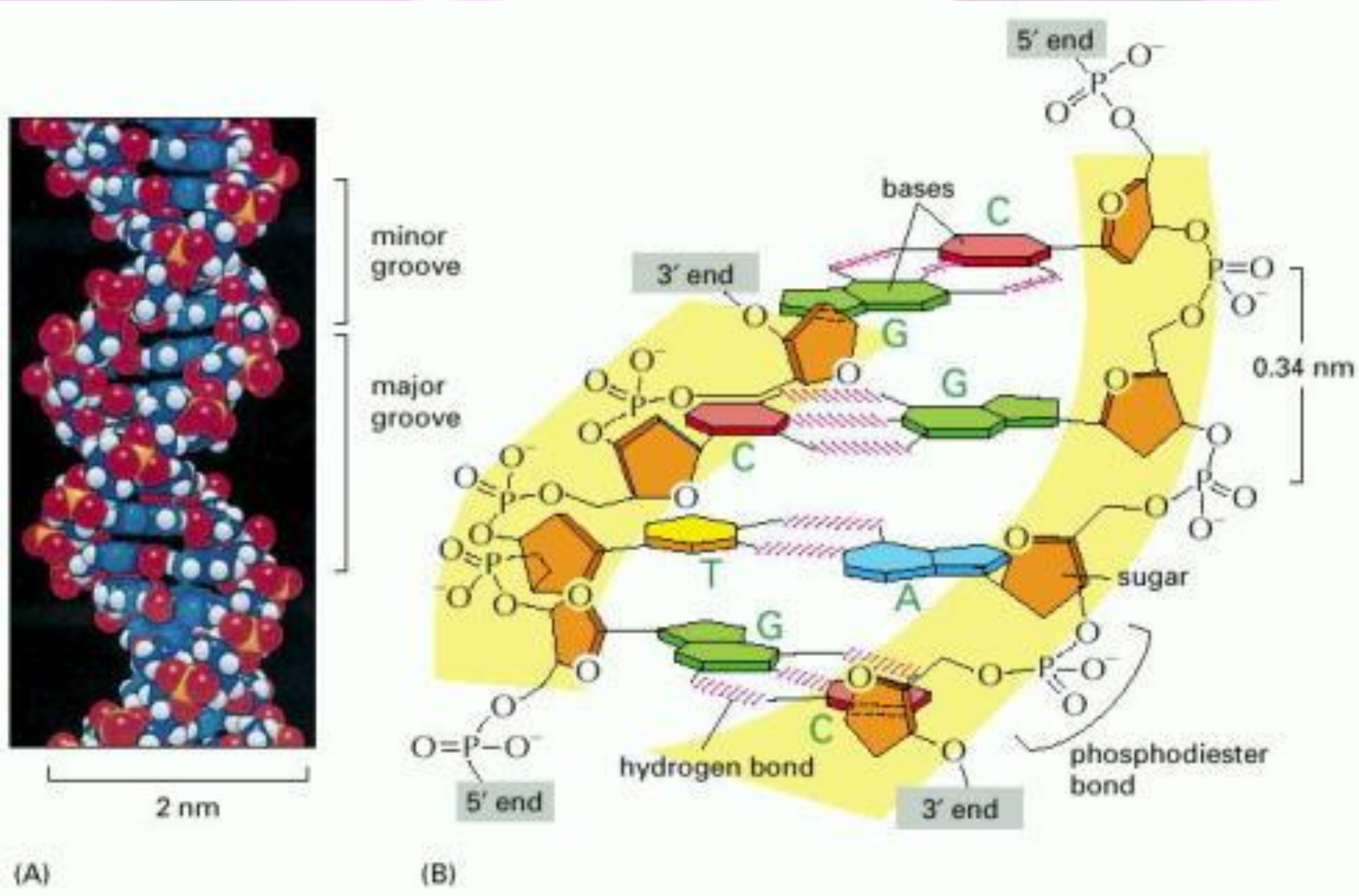
PAREAMENTO DE BASES ENTRE AS DUAS CADEIAS

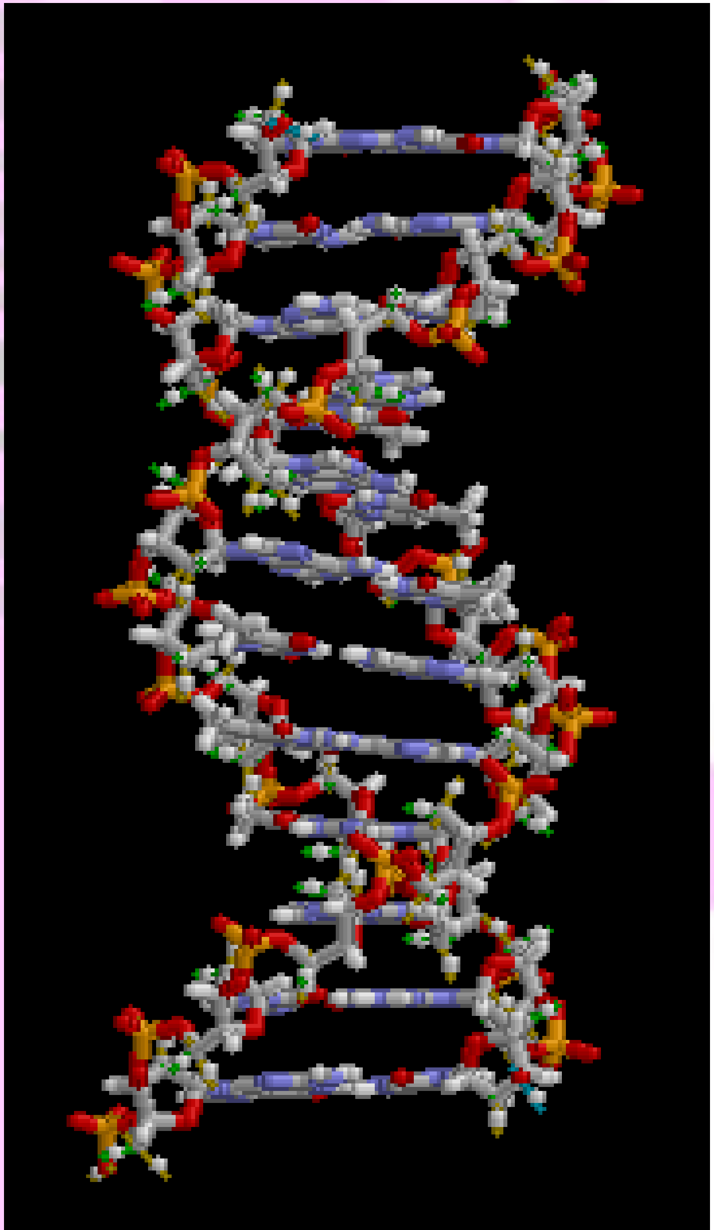
Ligação por pontes de hidrogênio

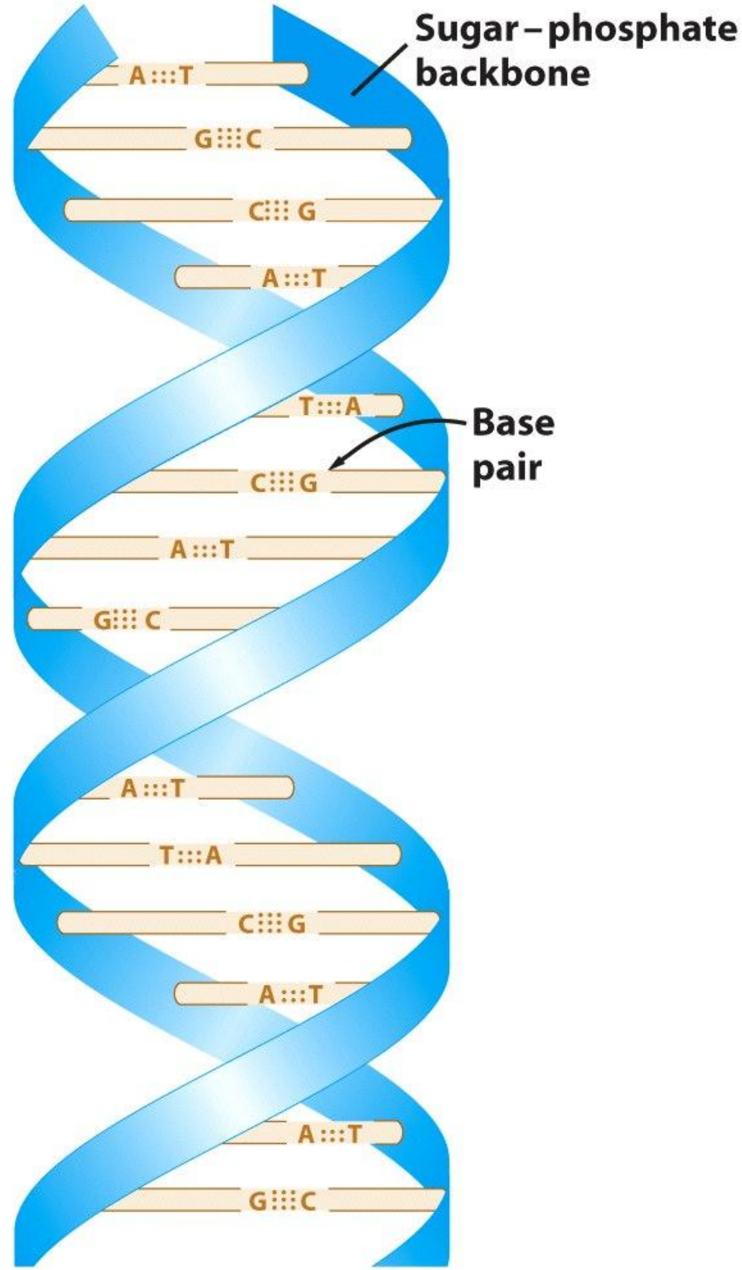


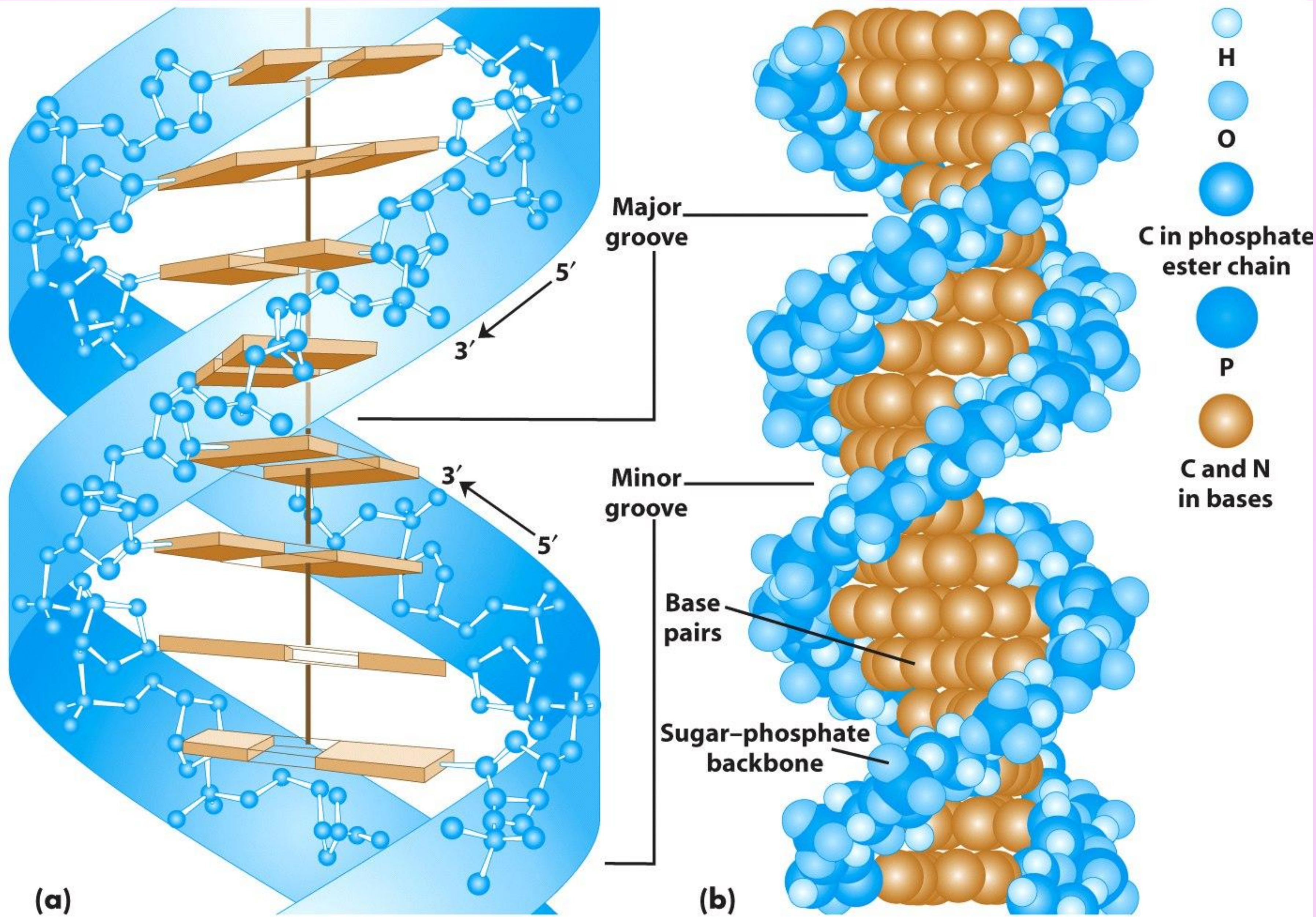
Cada volta 34 Angstrons

10 pares de bases

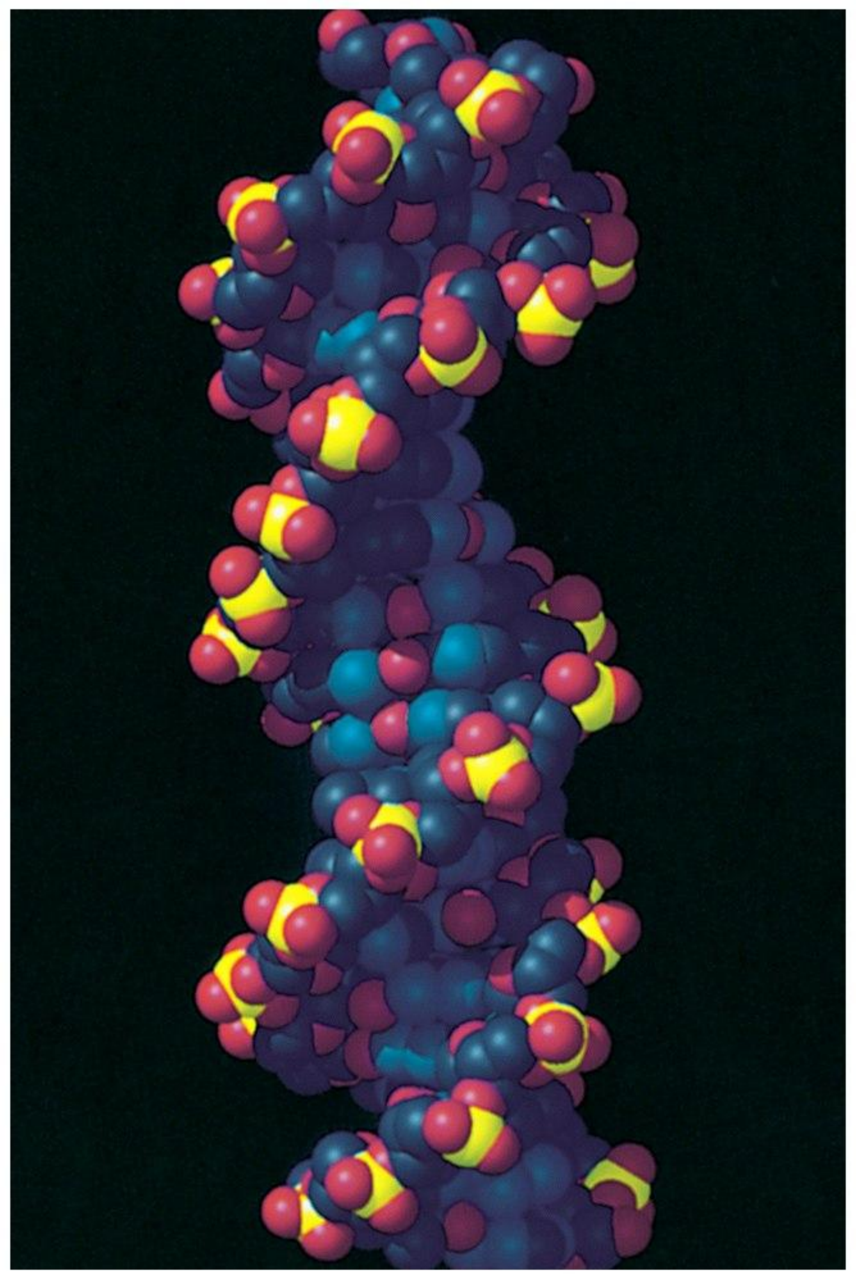





Sugar–phosphate backbone
Base pair
A:::T
G:::C
C:::G
A:::T
T:::A
C:::G
A:::T
G:::C
A:::T
T:::A
C:::G
A:::T
A:::T
G:::C



Major groove
Minor groove
5′
3′
3′
5′
H
O
C in phosphate ester chain
P
C and N in bases
Base pairs
Sugar–phosphate backbone
(a)
(b)



http://biomodel.uah.es/model1j/dna/inicio.htm

Os genomas apresentam uma grande variação de tamanho

Genoma	Número de genes	Pares de bases
Organismos		
Plantas	<50.000	$<10^{11}$
Mamíferos	30.000	$\sim 3 \times 10^{9}$
Vermes	14.000	$\sim 10^{8}$
Moscas	12.000	$1{,}6 \times 10^{8}$
Fungos	6.000	$1{,}3 \times 10^{7}$
Bactérias	2–4.000	$<10^{7}$
Micoplasmas	500	$<10^{6}$
Vírus de fdDNA		
Varíola	<300	187.000
Papovavírus (SV40)	~6	5.226
Fago T4	~200	165.000
Vírus de fsDNA		
Parvovírus	5	5.000
Fago φX174	11	5.387
Vírus de fdRNA		
Reovírus	22	23.000
Vírus de fsRNA		
Coronavírus	7	20.000
Influenza	12	13.500
TMV	4	6.400
Fago MS2	4	3.569
STNV	1	1.300
Viróides		
RNA PSTV	0	359

AULA PRÁTICA – MODELO ESTRUTURAL DO DNA

I- MATERIAL: peças plásticas representando:

-Bases nitrogenadas – em quatro diferentes cores, representando Adenina, Guanina, Timina e Citosina.

-Açúcar e fosfato – 1 peça de uma única cor (a escolher, cor do grupo)

-Ligação de pontes de hidrogênio – peças transparentes representando duas ou três ligações.

II - PROCEDIMENTO:

1-Realizar uma legenda, relacionado as peças plásticas, conforme cor e forma, à sua representação na molécula.

2- Ligar as peças manualmente, de acordo com o modelo proposto por Watson e Crick.

3- Fazer um esquema da ligação das partes dos nucleotídeos, indicando o que representa cada uma e um esquema da molécula do DNA. Fotografar o resultado final.

AULA PRÁTICA – MODELO ESTRUTURAL DO DNA

- Realizar um relatório, não esquecendo de colocar bibliografia consultada.