

Introdução à Biologia Molecular

QBQ102 2018s1

Prof. João Carlos Setubal



Universidade de São Paulo
Instituto de Química

Tipos de aulas

- Aulas expositivas nesta sala
- Aulas de laboratório no LBBM
 - com monitor Savio Ferreira
- Aula de bioinformática na sala multimidia

Salas

- **LBBM** é a primeira sala à direita do bloco 7 superior
- **Sala multimidia** é a primeira sala à esquerda do bloco 1 superior, de quem entra pela marquise

Site desta parte da disciplina

<http://www.iq.usp.br/setubal/qbq102/2018>

Tudo que é preciso saber para a P3 está no material disponibilizado neste site

Formato da minha parte da disciplina

- Aulas expositivas de 2h com intervalo de 15 min
Após a aula, estarei à disposição para responder dúvidas
- É bom fazer perguntas em aula
 - durante a prova não responderei perguntas
- Para falar comigo fora da aula:
 - marcar hora, mandando email para setubal@iq.usp.br

O que vou cobrar em prova?

- Consultar **lista de questões** no site
- São questões **genéricas**; na prova haverá questões **mais específicas**
- Exemplos
 - Genérica: O que é transcrição?
 - Específica: o que faz a principal enzima no processo de transcrição?
- A ideia é que vocês aprendam os **conceitos** e os **processos**; sem decoreba!
- Conteúdo de aulas práticas cai na prova!

Toda aula prática tem relatório para entregar

- 3 relatórios
- aulas no LBBM
 - 1 semana de prazo
- aula na sala MM
 - entregar no final da aula

fórmula da nota da disciplina

- nota = $(p1 + p2 + p3 + \text{extra})/4$
- onde **extra** tem duas metades
- metade Glauçia: 5 pontos
- metade Setubal: 5 pontos
 - nota combinada dos relatórios das 3 aulas práticas

Cronograma desta parte

Dia	local	conteúdo
25/5	LBBM	Aula prática: lab 1
5 de junho	s2	Noções gerais de biomol; DNA
8	s2	Replicação de DNA
12	s2	Sequenciamento de DNA e PCR
15	LBBM	Aula prática : lab 2
19	s2	Genes e proteínas; código genético
22	s2	Transcrição e Tradução
26	s2	expressão gênica; bioinformática
29	MM	Aula prática de bioinformática
3 de julho		P3
6/7		Substitutiva

Questionário Inicial de Conhecimentos

O que é biologia molecular?

- Estudo da vida ao nível das moléculas
 - DNA
 - RNA
 - Proteínas

Por que aprender **biologia molecular?**

- É a base comum de todos os seres vivos do planeta



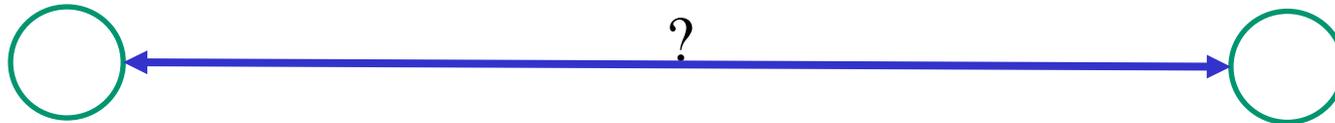
- Biologia molecular é um assunto importante numa **formação abrangente**
- **DNA, genes, genomas, ...**

Identificação por DNA

Esclarecimento de um crime por identificação de DNA

DNA da cena do crime

DNA do suspeito



E se não há suspeito?

O caso do assassino de Sacramento

- Um desconhecido matou cerca de 12 pessoas nas décadas de 70 e 80 na região de Sacramento (Califórnia)
- Não havia nenhuma pista sobre o criminoso
- mas seu DNA foi coletado

operações

- coletar amostra contendo DNA de dono desconhecido
- comparar esse DNA com DNAs de um banco de genomas
 - resultado: hits
- descobrir ancestral comum mais próximo (UAC) dos hits [genealogia]
- descobrir descendentes do UAC [genealogia]
- refinar a lista com base em metadados [“cadastros”]
 - resultado: alguns poucos candidatos
- pegar amostra “pública” do DNA dos candidatos
- comparar com amostra original

O mundo das moléculas

- Qual é a **escala**?
- Quais são **as forças dominantes**?
- Qual é **a consistência dos objetos**?
- Como se dá **o movimento dos objetos**?
- **Quantos** desses objetos existem?

Noções da **escala** do mundo molecular

- Que tamanho tem as moléculas?

Uma montanha é ~1000 vezes maior do que uma pessoa

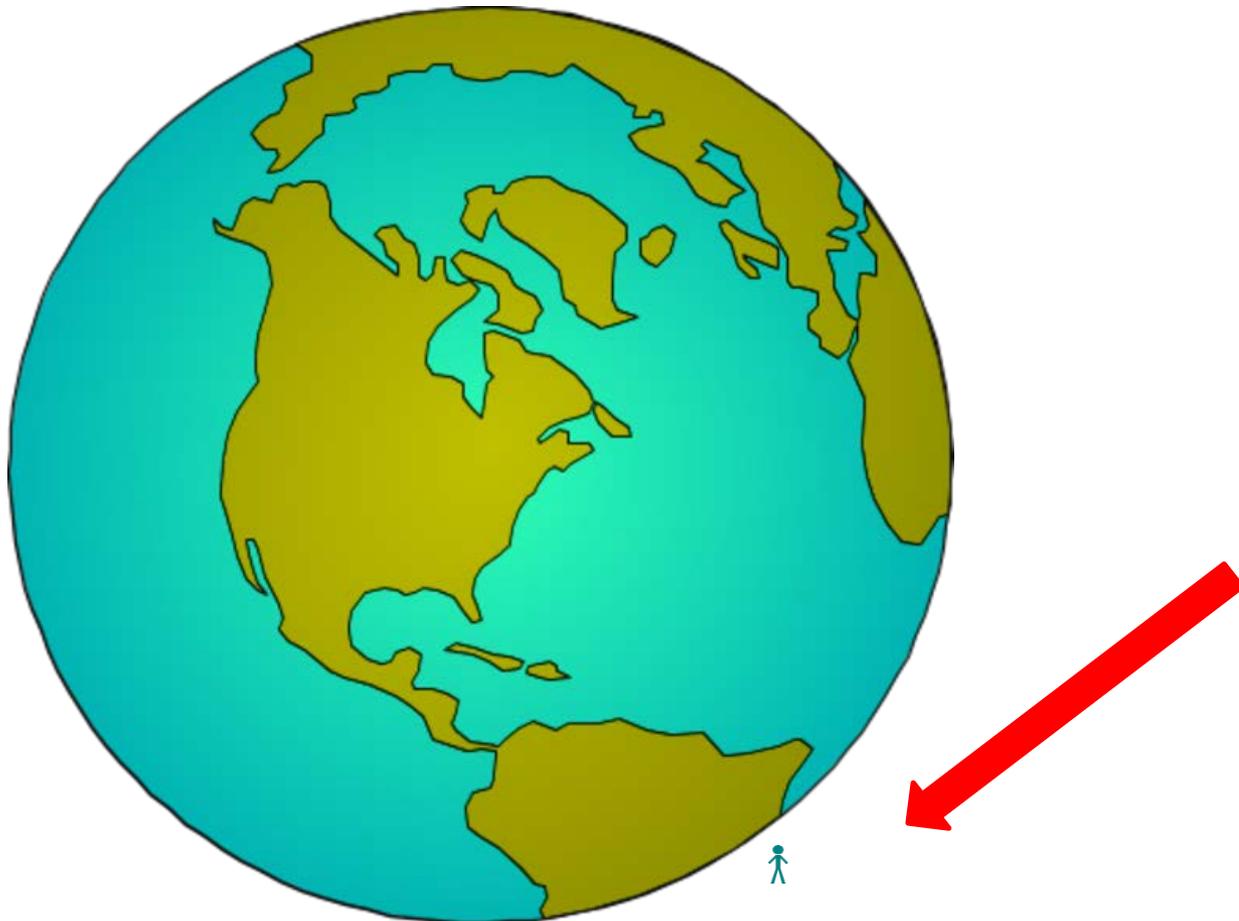


Vista lateral do maciço do Pico do Marins -- Foto: Jurandir Lima/ Trilhas &Trilhas

A Terra é ~1000 vezes maior do que uma montanha



Portanto uma pessoa é **~1 milhão de vezes**
menor que a Terra



Células e moléculas

- Uma célula é ~1000 vezes menor do que uma pessoa
- Uma molécula é ~1000 vezes menor do que uma célula
- Portanto...

Nós estamos para a Terra assim como...

... as moléculas estão para nós

As **forças** que operam numa escala molecular são diferentes das que operam na nossa escala

- Nossa escala
 - Gravidade, atrito
- Escala molecular
 - **Atração e repulsão entre átomos**

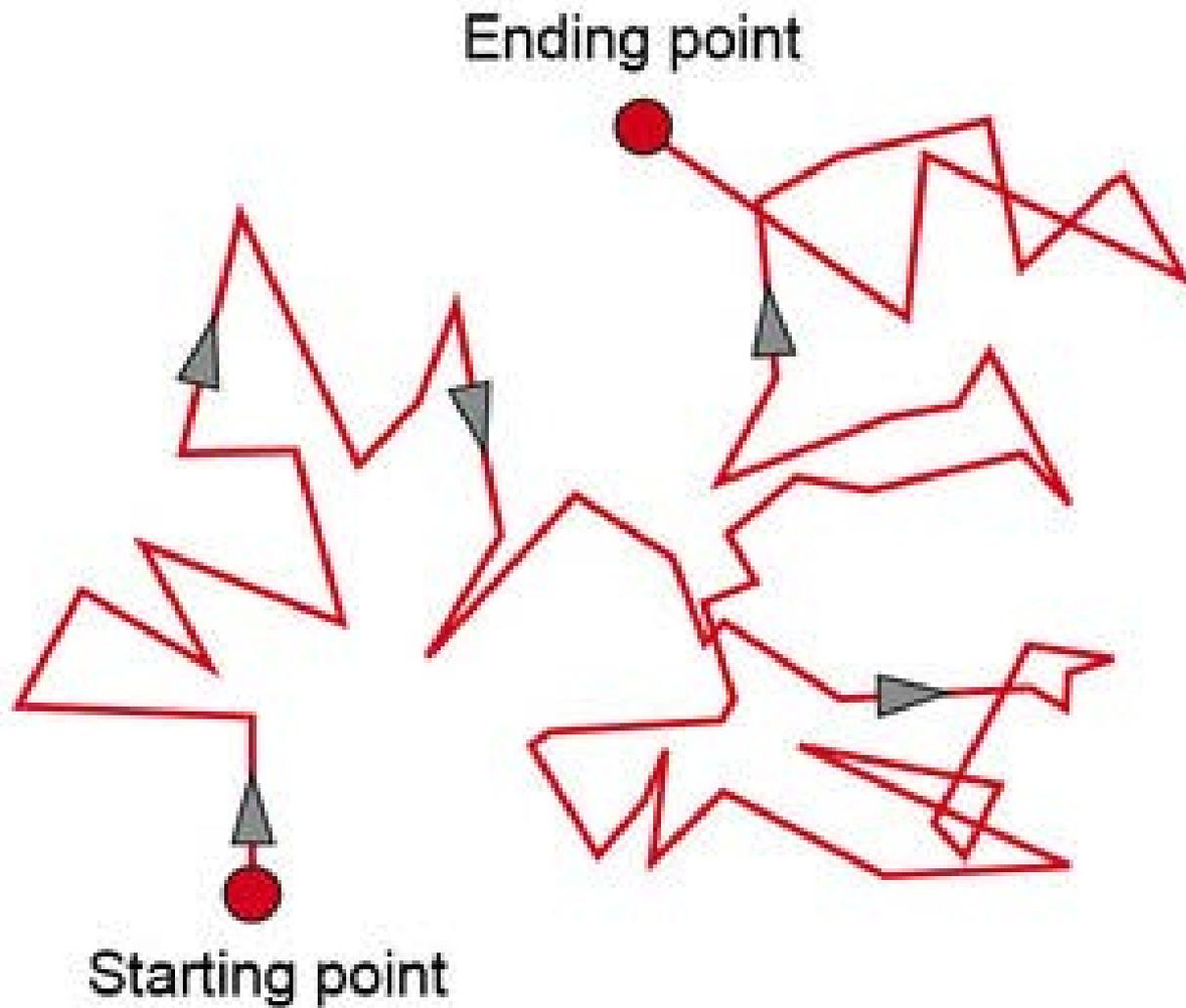
“Consistência” das moléculas

- Podemos tratar as moléculas como se fossem **objetos sólidos**, tais como blocos e esferas sólidos
- **Propriedade importante:**
 - Moléculas podem se encaixar umas nas outras como **chaves em fechaduras**



Movimento molecular

- É predominantemente **aleatório** (sujeito às forças já mencionadas)
- Não há “**controle central**” e muito menos “**vontade própria**”
- As moléculas dentro de uma célula estão **continuamente colidindo** umas nas outras



Apesar de aleatório, o movimento é **rápido** (frações de segundo)

Quantas moléculas existem?

- O número é variável conforme a molécula e conforme a situação
- Em geral é impossível saber exatamente quantas
- Mas o que importa é que esse número está na escala de **milhões, bilhões ou trilhões** (dependendo da situação)

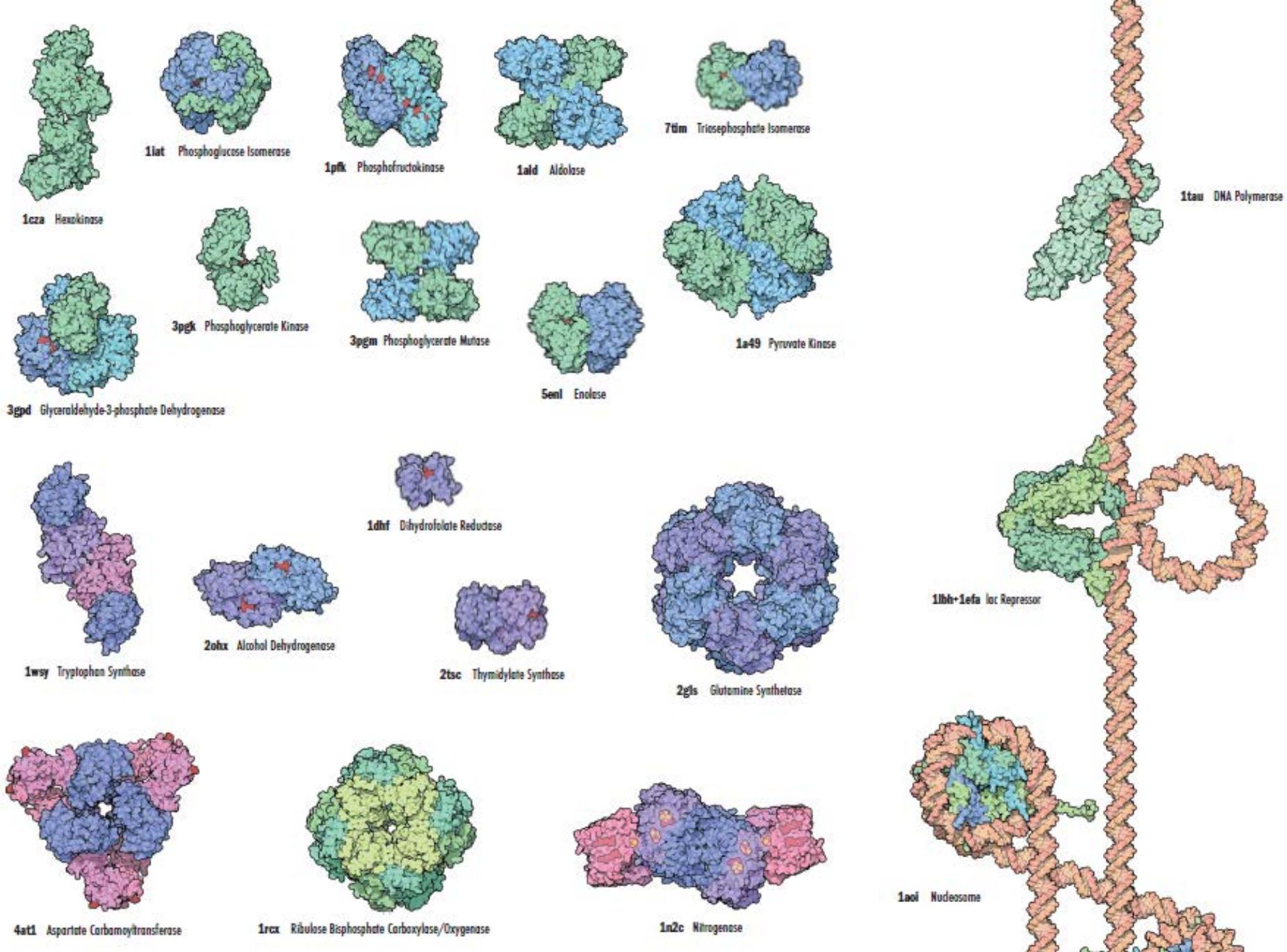
Estimativa recente

- numa célula de levedura num dado instante existem aproximadamente
 - 42 milhões de proteínas

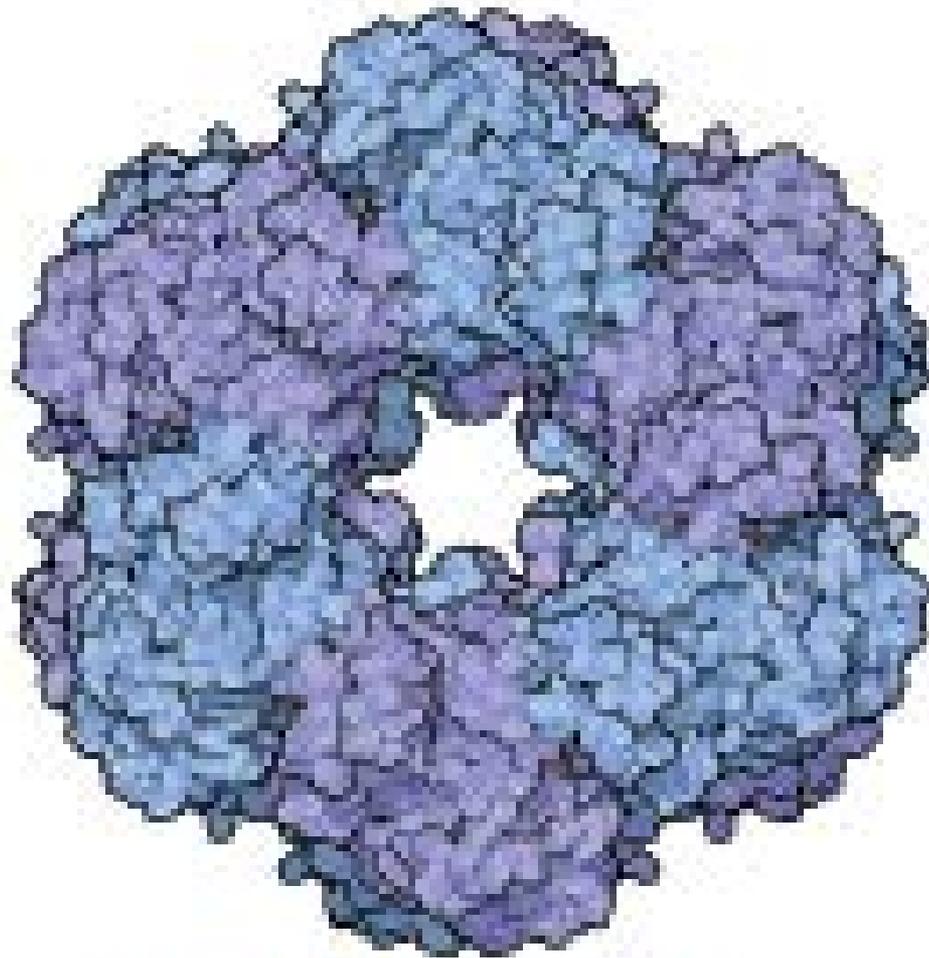
Ho, Baryshnikova, Brown. Cell Systems, 2018

Para ensinar biologia molecular...

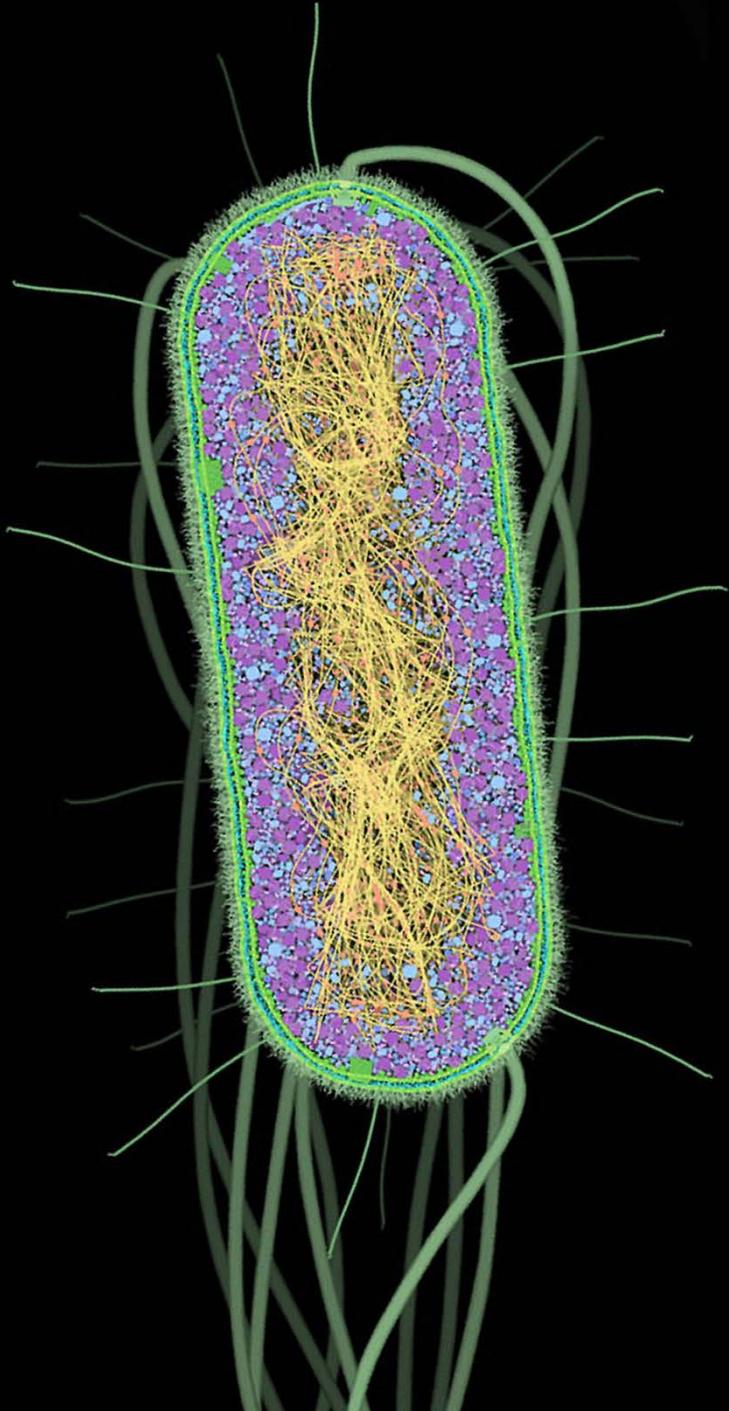
- É preciso **representar** moléculas
- Vou usar **diferentes representações** ao longo das aulas
- Um exemplo



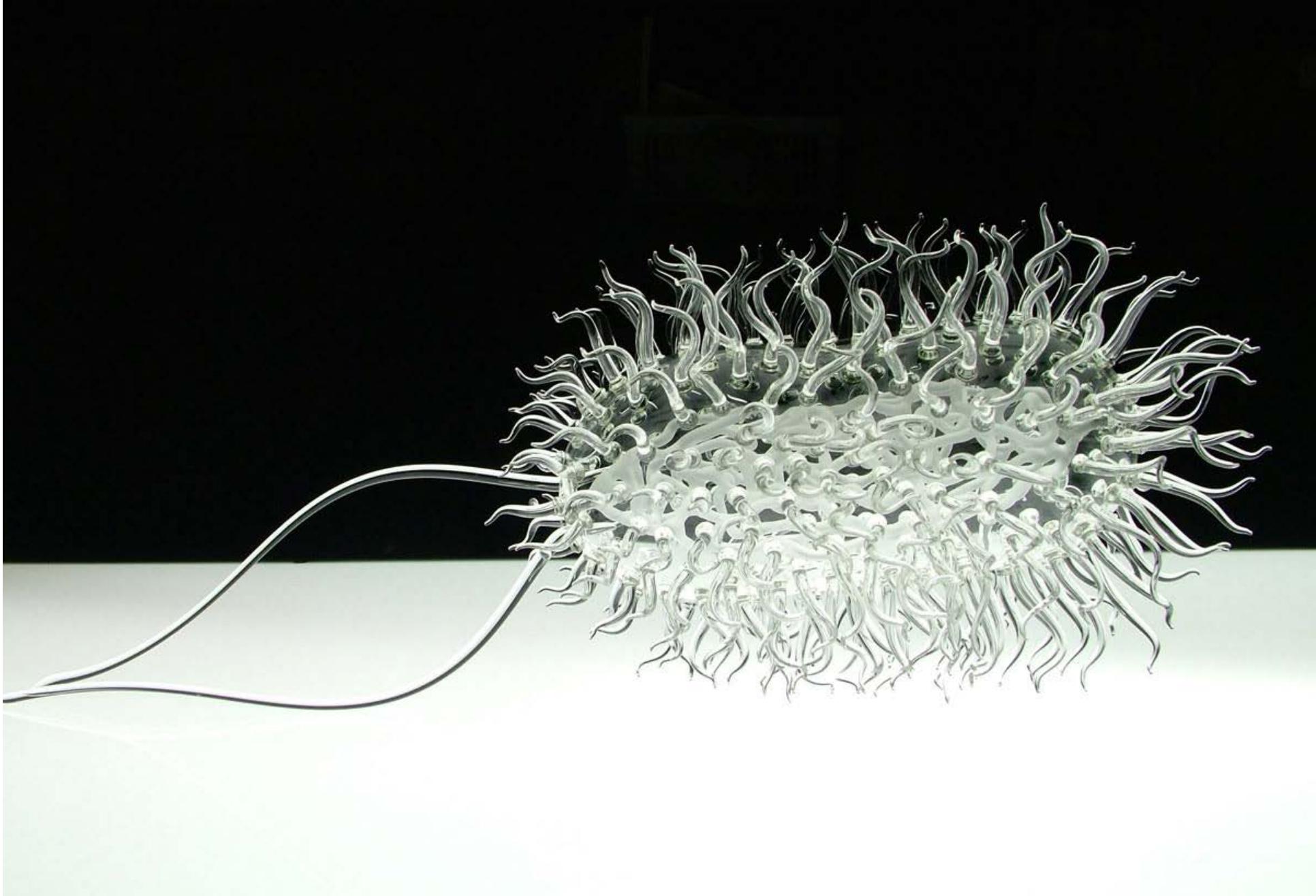
Imagens de David Goodsell



Gls Glutamine Synthetase



<https://www.pinterest.com/dlyakove/david-goodsell/>



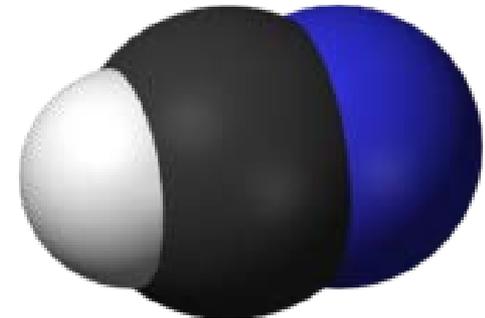
http://seedmagazine.com/slideshow/luke_jerram/

Como surgiu a vida na terra?

- Qual foi o processo que levou moléculas **inorgânicas** para moléculas **orgânicas**?

Fase 1

- elementos químicos reagem entre si e produzem os componentes das moléculas orgânicas
 - P.ex: $\text{CHN} + \text{H}_2\text{S} + \text{H}_2\text{O} + \text{luz UV} \Rightarrow$ componentes de **RNA**, proteínas, lipídeos
 - CHN: cianeto de hidrogênio



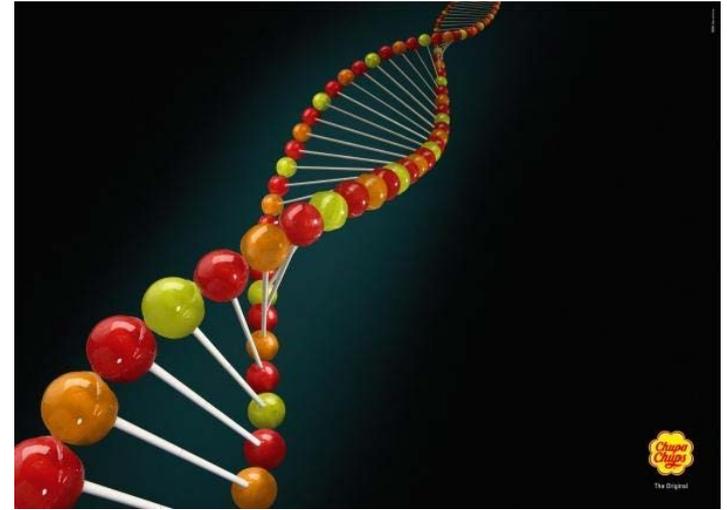
Fases 2 e 3

- Fase 2: vida com base em **RNA** apenas
 - Capaz de se **auto-replicar** e com atividade **catalítica**
- Fase 3: vida com base em **DNA, RNA, e proteínas**

1 → ? 2 → ? 3

DNA





O que é DNA?

- É a molécula onde está a **informação genética**
 - A “**essência da hereditariedade**”
- Ácido desoxiribonucleico
- Onde se encontra?
 - Dentro do **núcleo** de cada célula
- Estrutura de **fita dupla**
 - Em espiral (ou **hélice**)
- É uma **macromolécula**

Analogias para o DNA

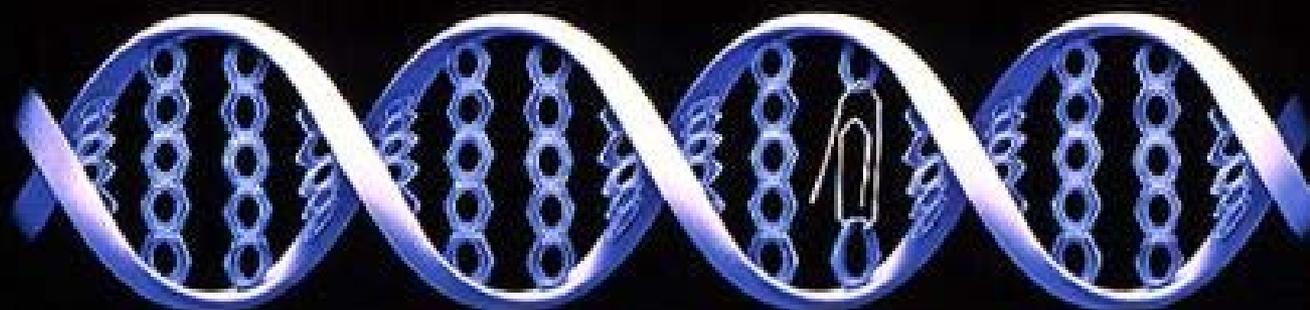




DNA como metáfora

- Hoje em dia tornou-se metáfora para **essência** de alguma coisa
 - Às vezes essa “coisa” nem sequer é um ser vivo

Vorsprung durch Technik www.audi.com

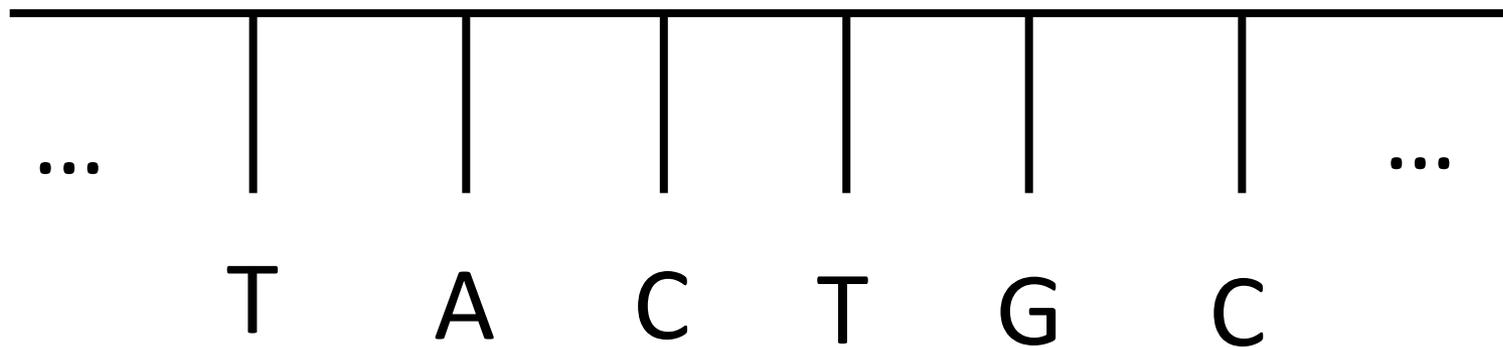


Without original parts,
your Audi is no longer an Audi.

Componentes do DNA

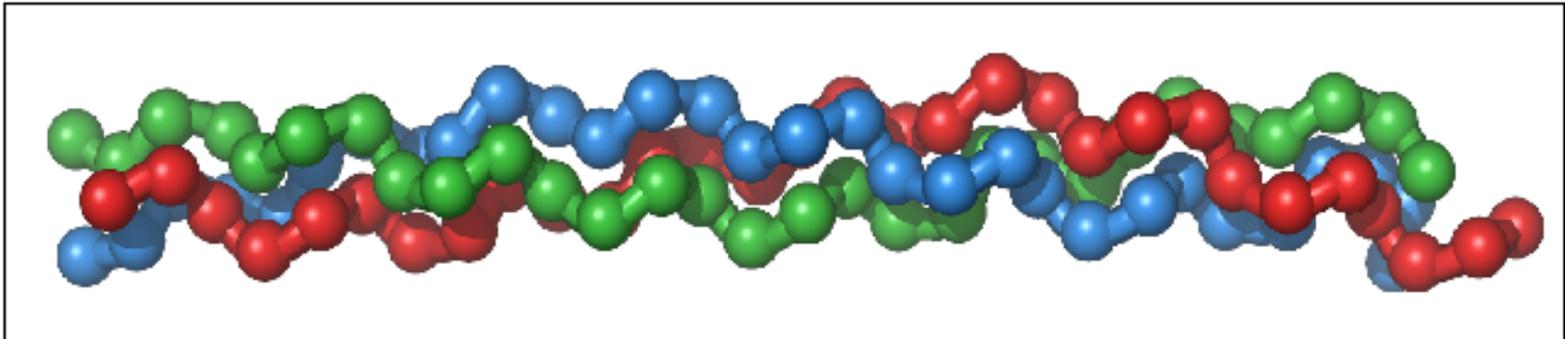
DNA tem uma “**espinha dorsal**” que é um **açúcar** (desoxiribose) + um grupo fosfato (PO_4)
sempre o mesmo!

O que **varia** ao longo da cadeia são as **bases** ligadas às moléculas de açúcar

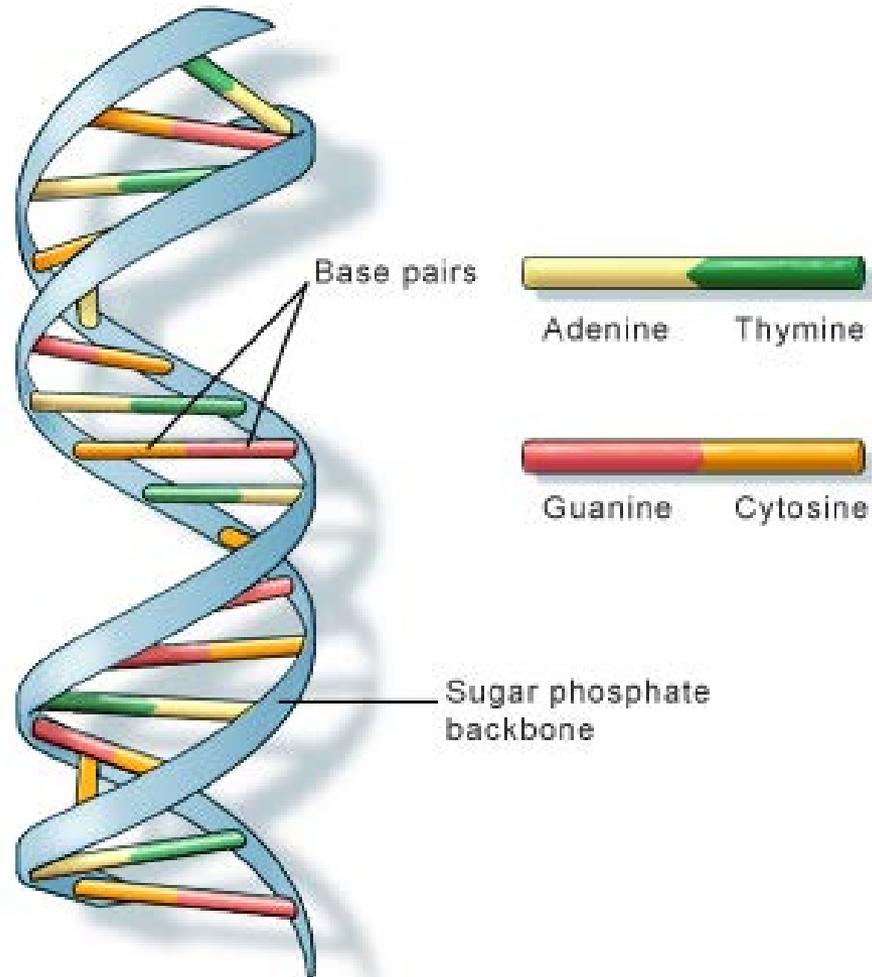


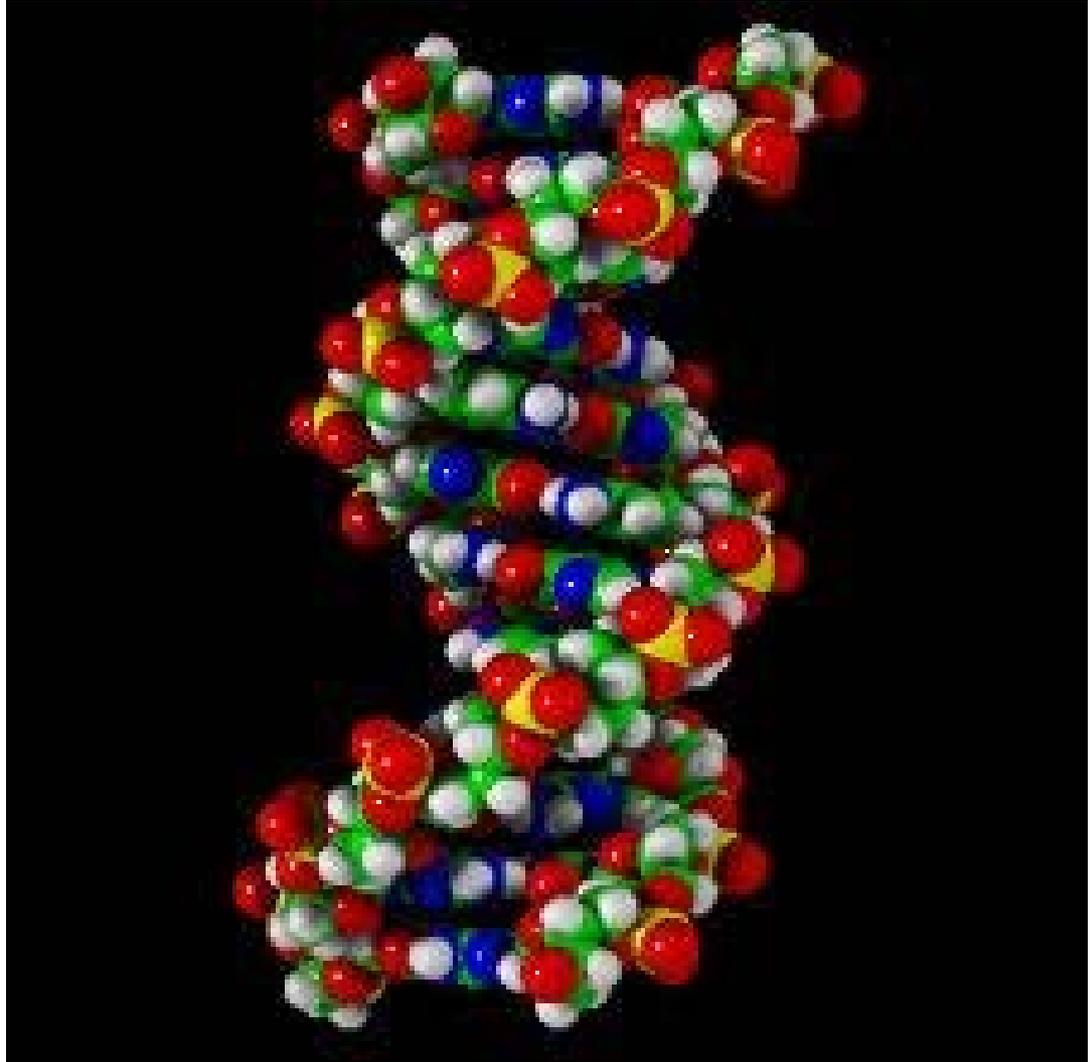
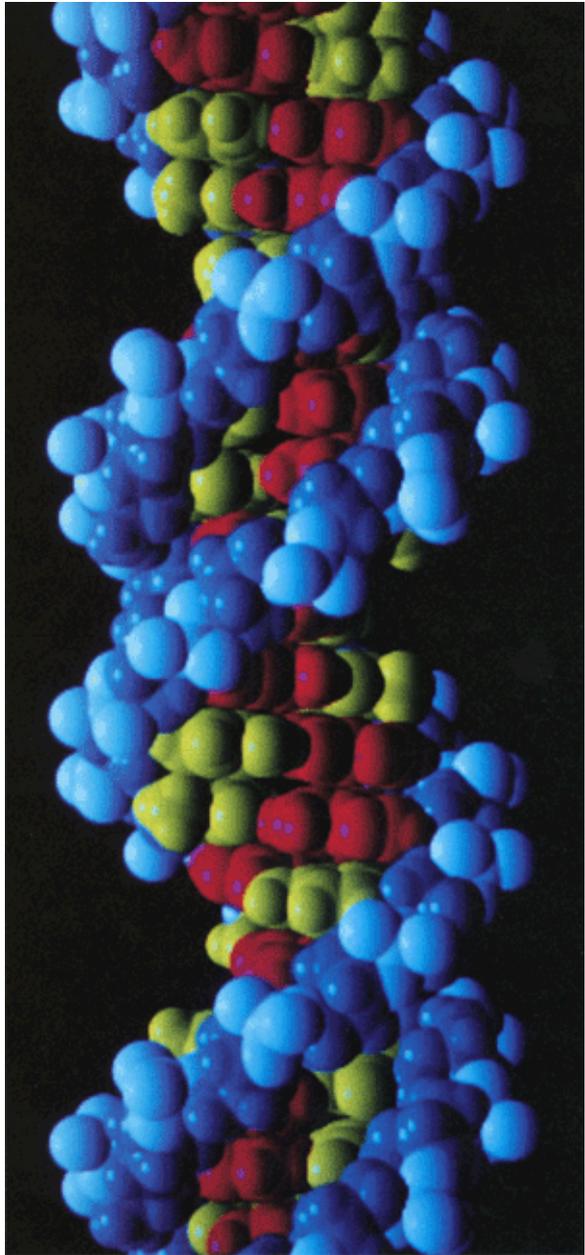
A analogia do colar seria melhor se as pérolas viessem em 4 cores

Exemplo de uma molécula que
não varia

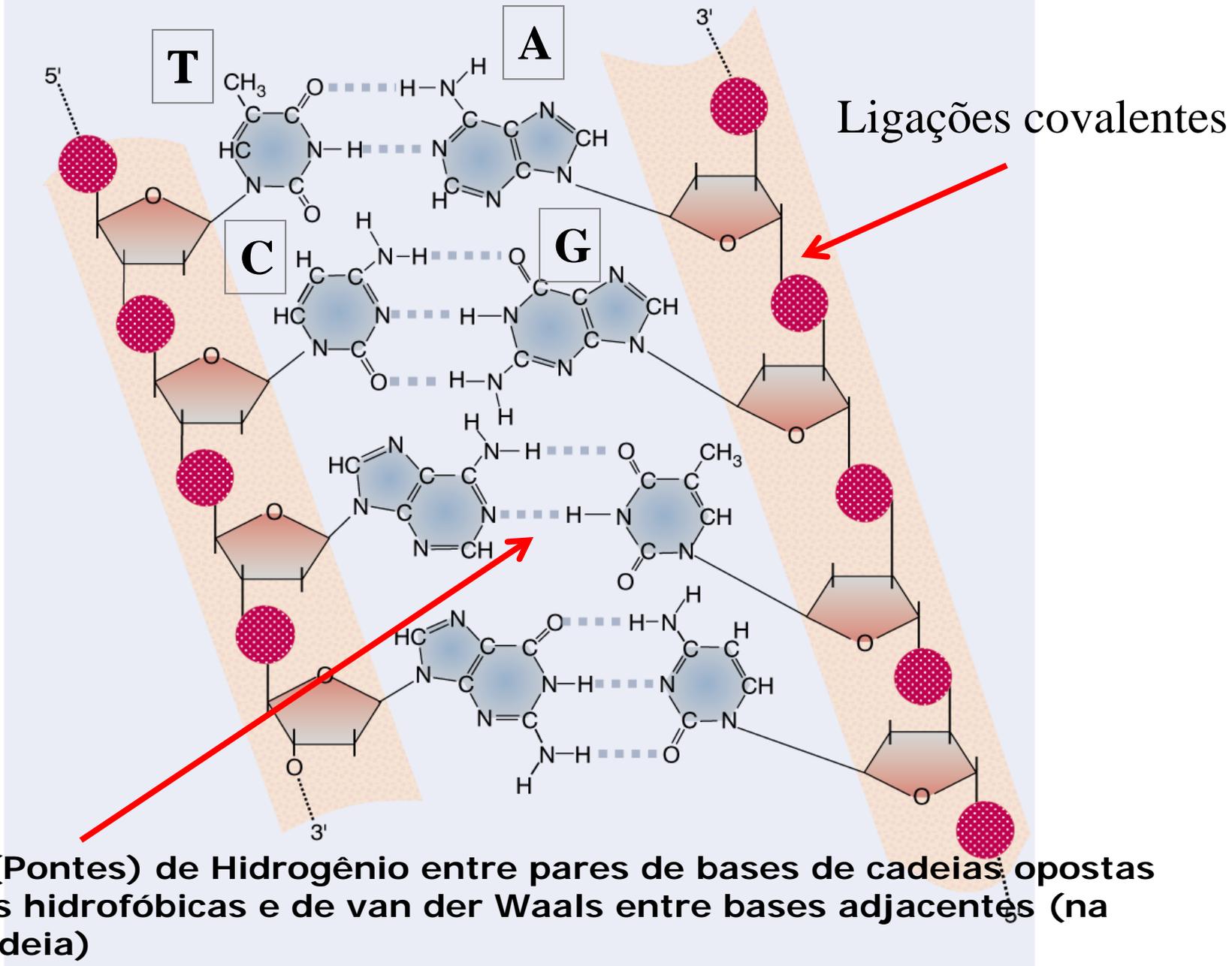


Hélice dupla do DNA

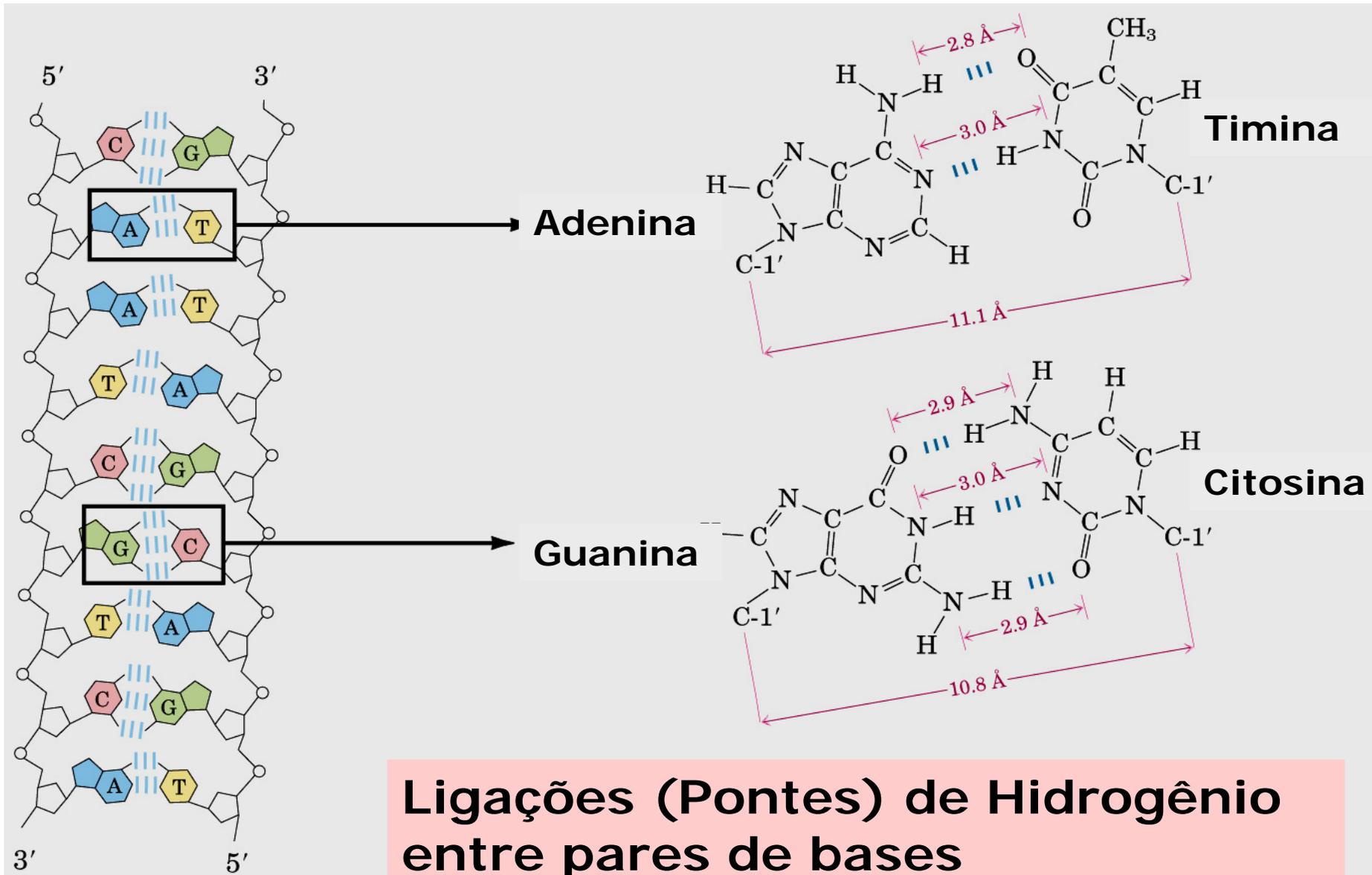


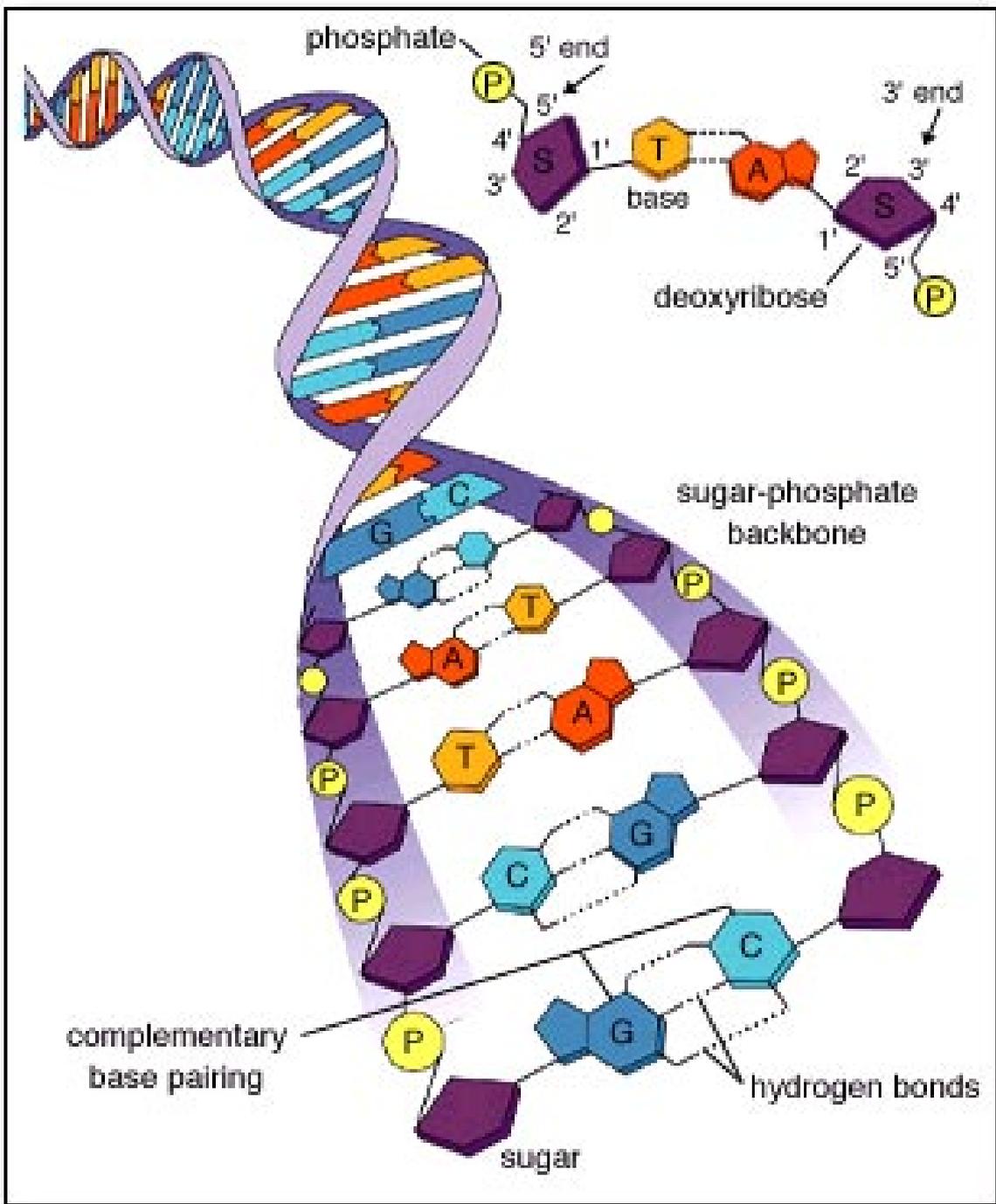


DNA fita dupla: cadeias antiparalelas



DNA fita dupla: cadeias antiparalelas



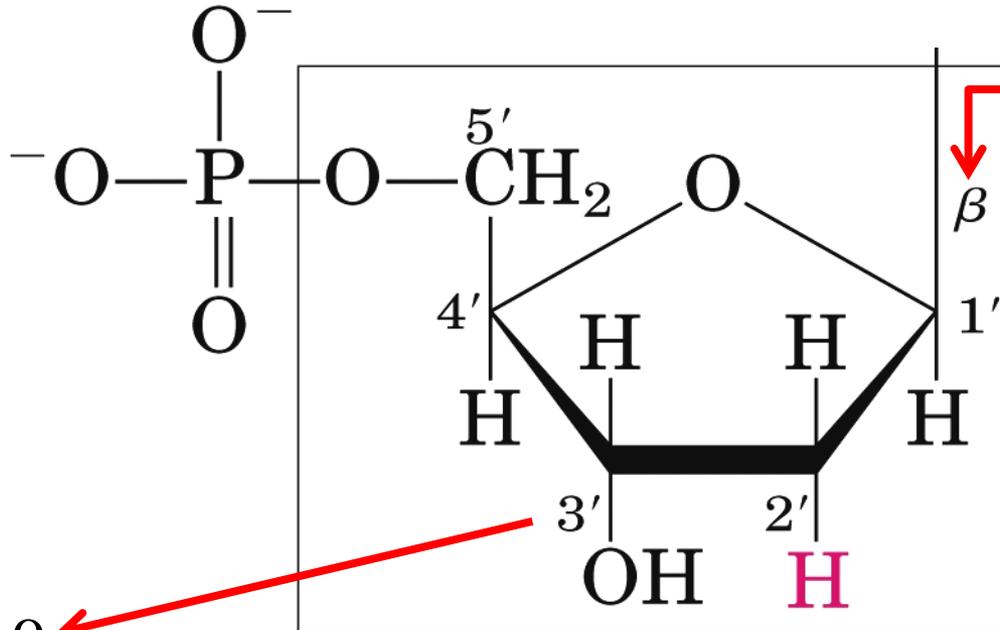


DNA

Ligação glicosídica β

Ligação com o nucleotídeo anterior

Fosfato



Continua para o próximo grupo fosfato

Desoxirribonucleotídeo

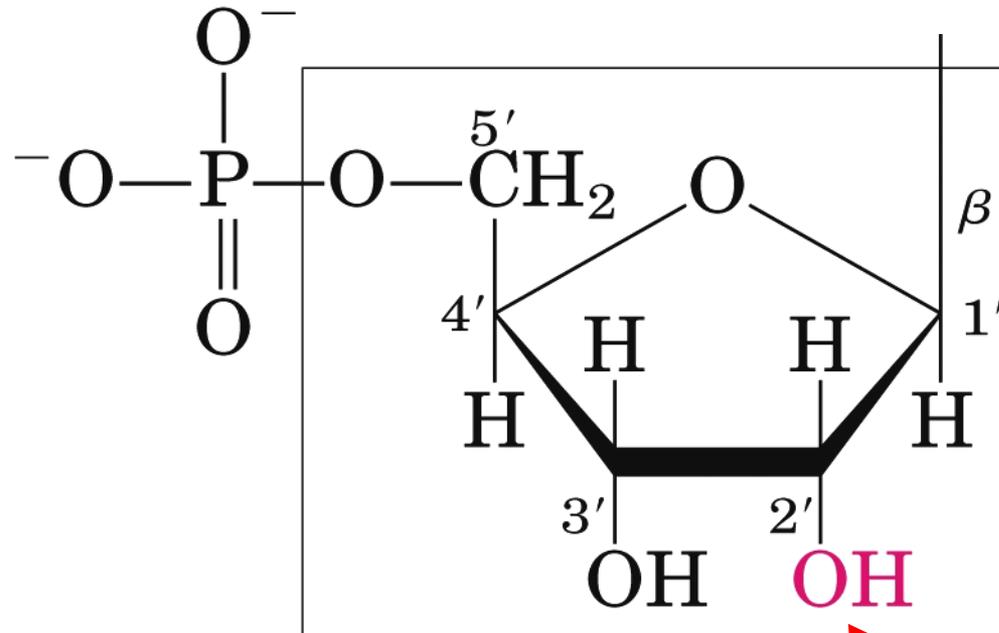
Projeção de Haworth

Existe também RNA

- Ácido **ribonucleico**
- Desempenha variadas funções na célula
 - Constituinte do **ribossomo**
 - Moléculas de mRNA (**mensageiro**)
 - Moléculas de tRNA (**transportador**)
 - Pequenos RNAs com funções regulatórias

RNA

Fosfato



Ribose

Um oxigênio a mais

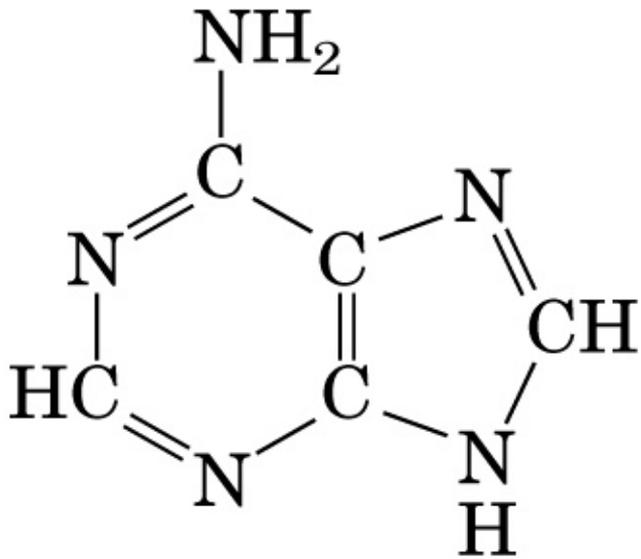
Ribonucleotídeo

Bases ou (ribo)nucleotídeos

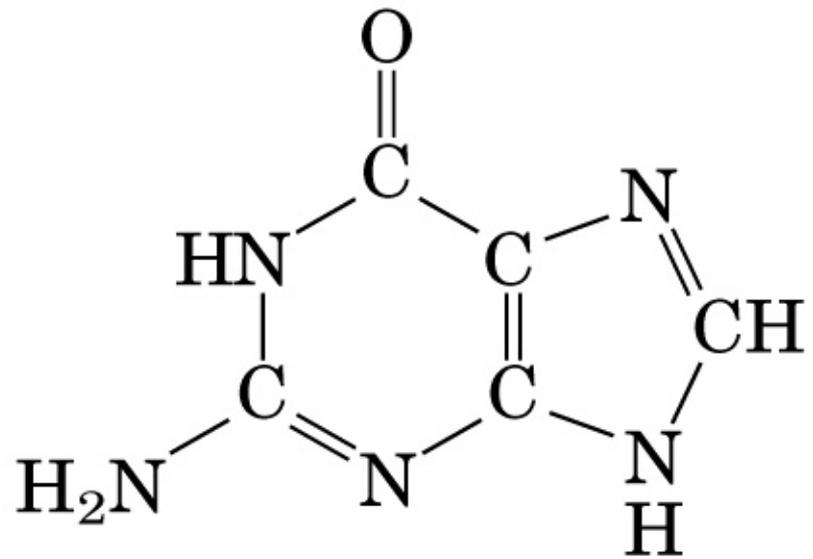
- Adenina
 - Guanina
- } purinas

- Citosina
 - Timina (Uracil em RNA)
- } pirimidinas

Purinas

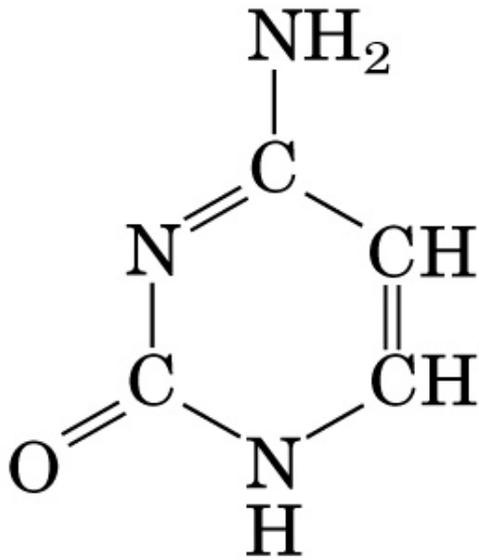


Adenina

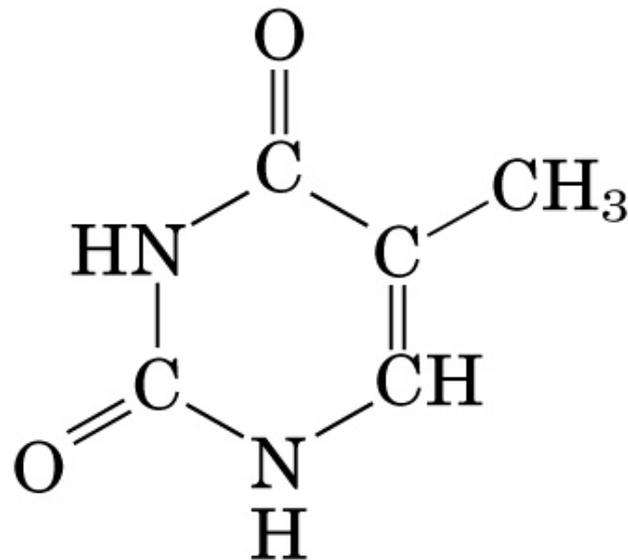


Guanina

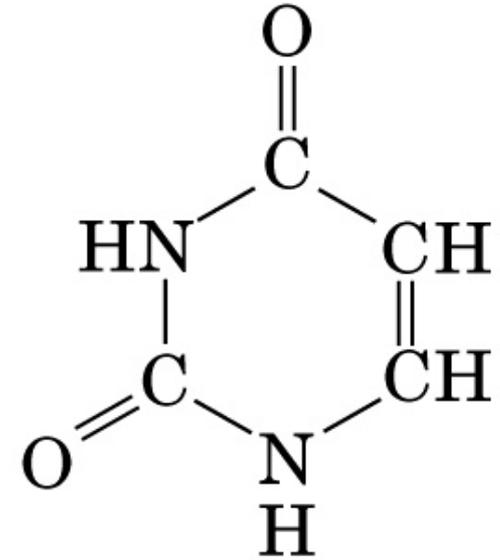
Pirimidinas



Citosina



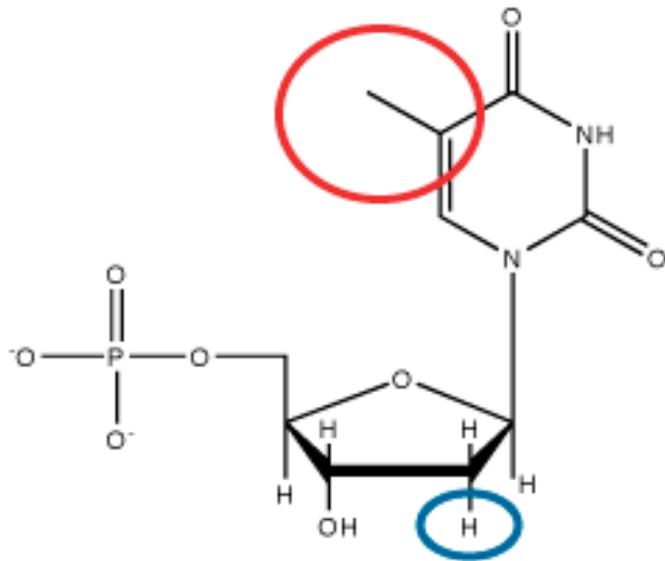
**Timina
(DNA)**



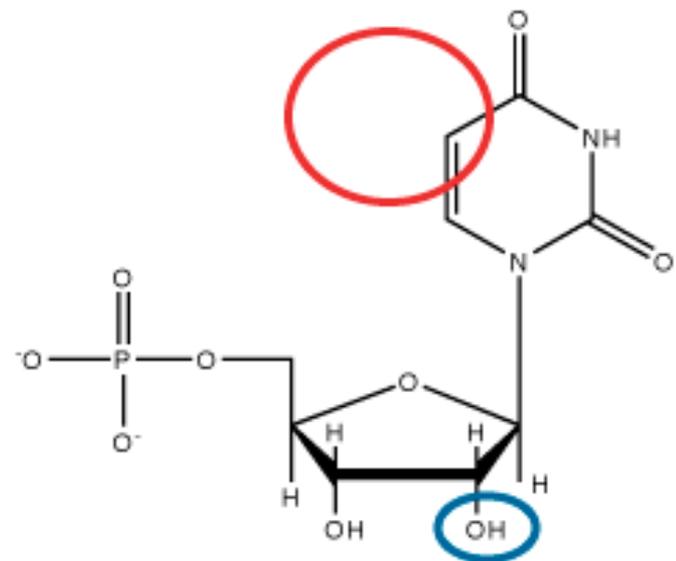
**Uracila
(RNA)**

DNA e RNA

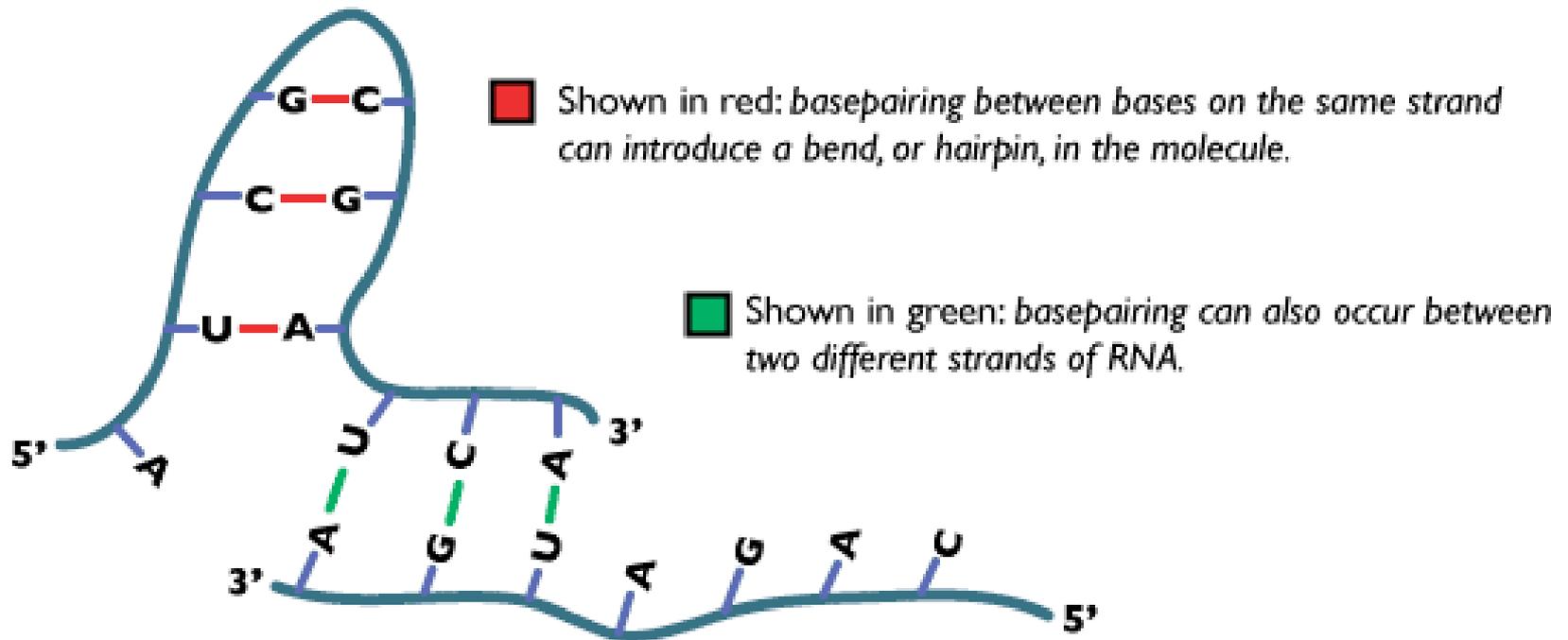
DNA



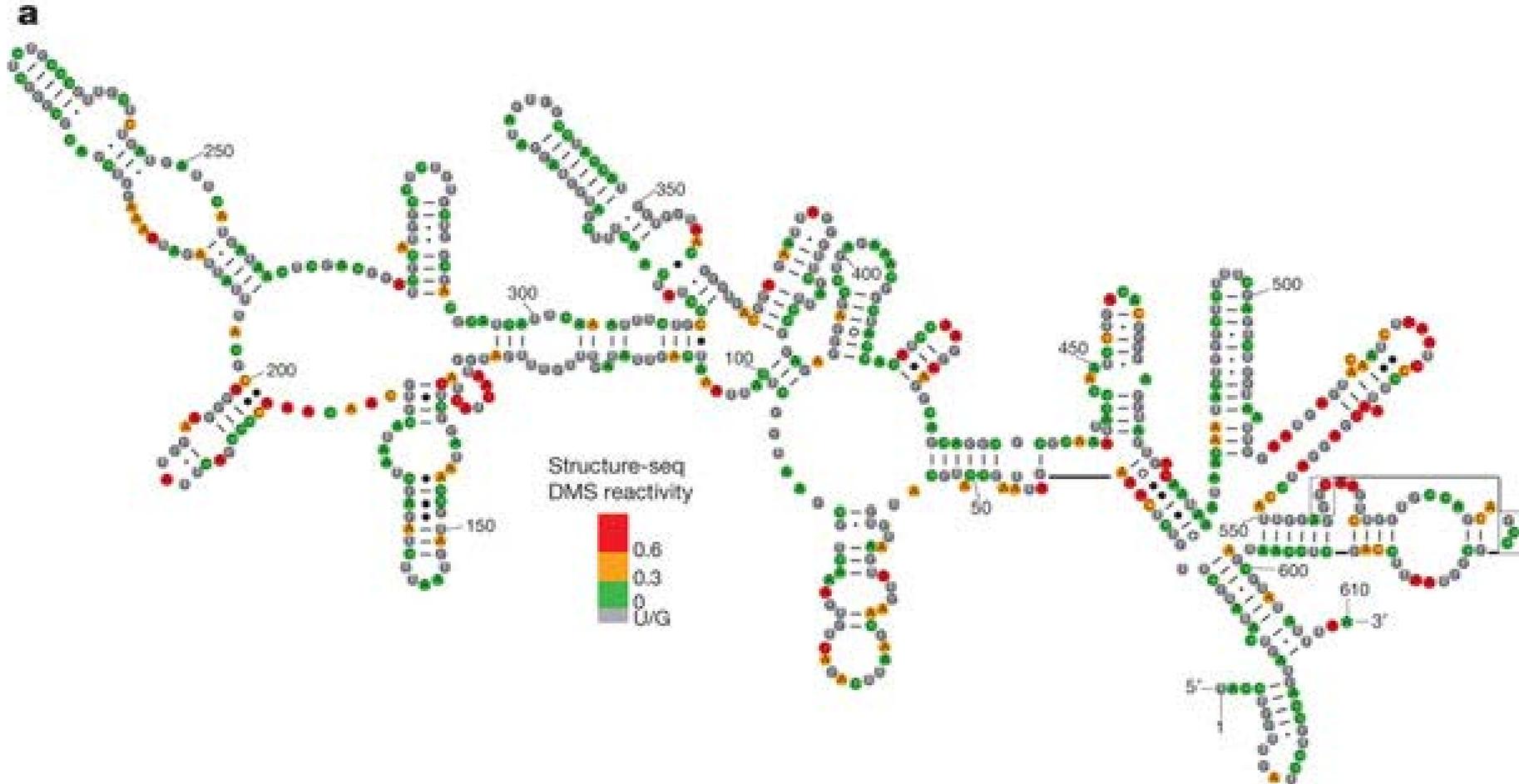
RNA

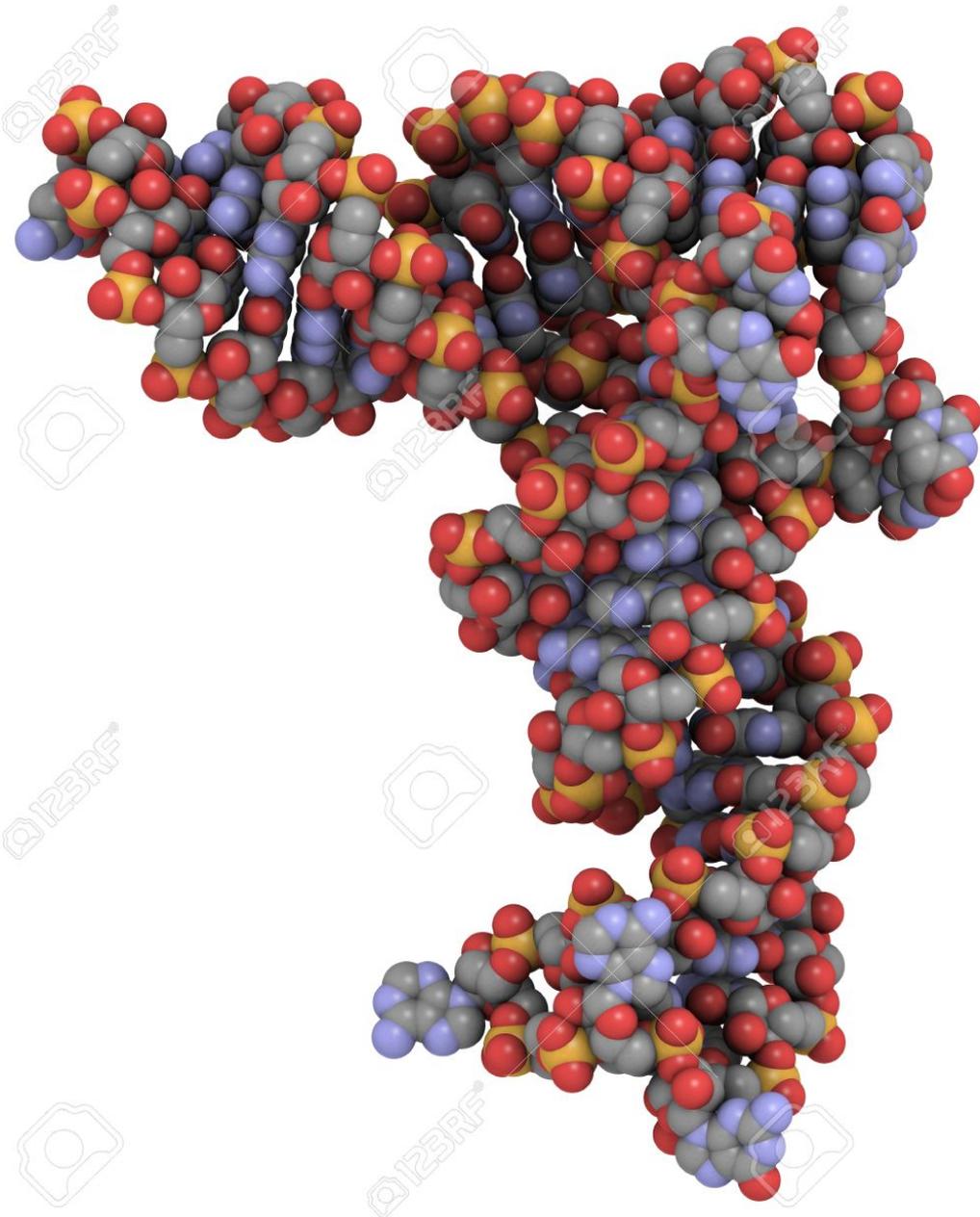


RNA geralmente está em **fita simples**, ou tem apenas pequenos trechos em fita dupla



Representação de um tRNA

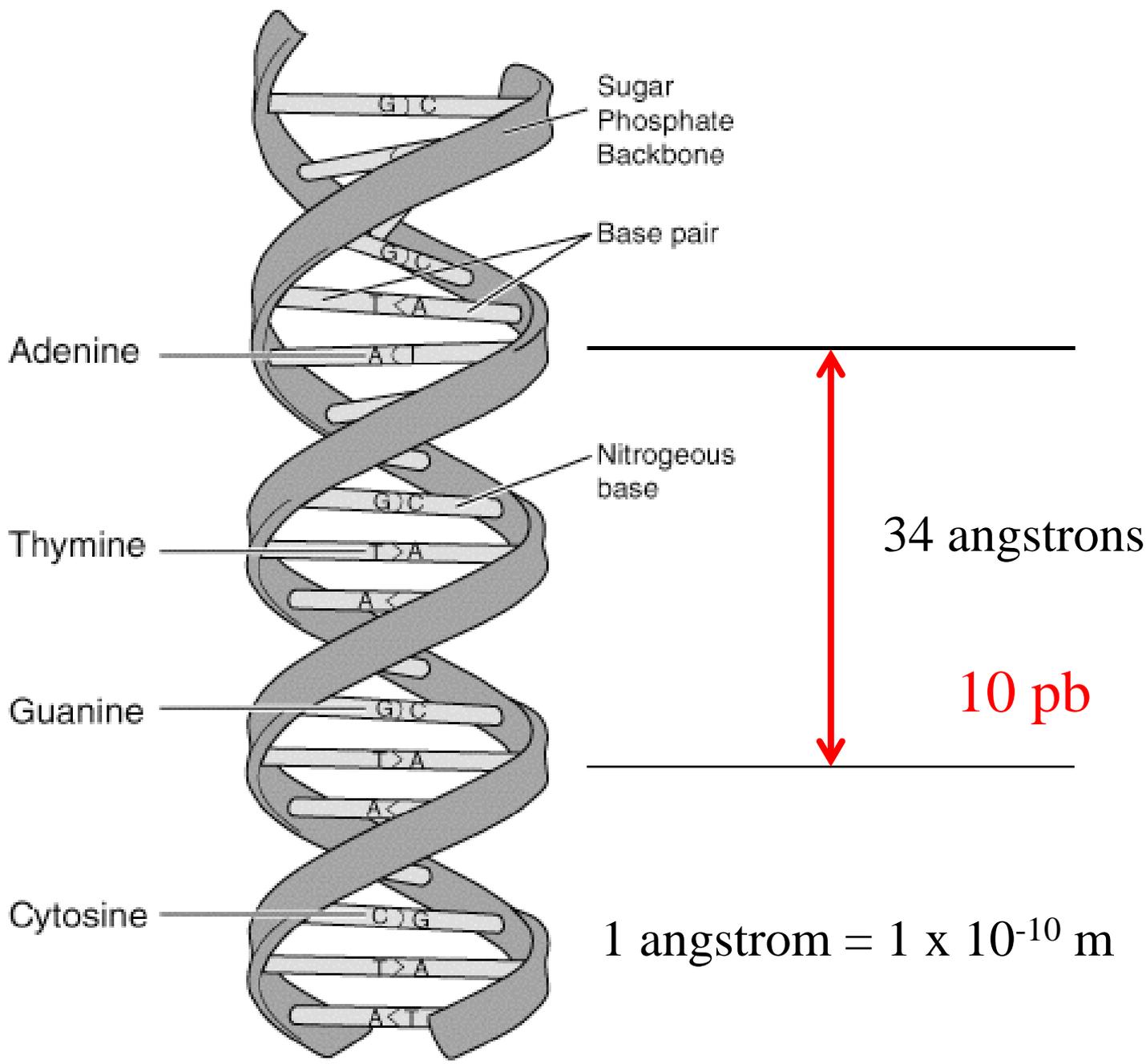




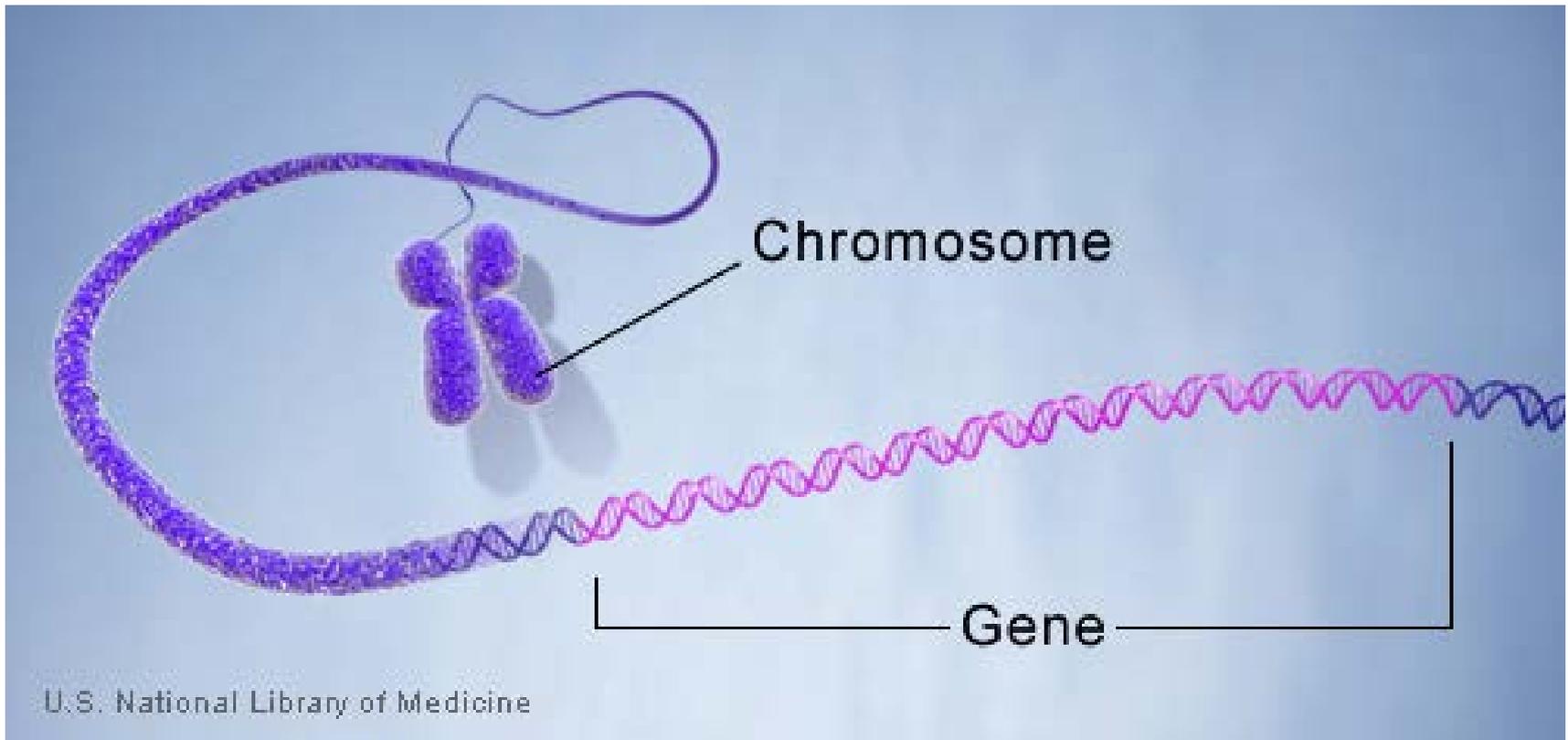
Por que RNA se comporta diferentemente de DNA?

Por que **A e U** não se ligam tão fortemente quanto **A e T**

Que comprimento tem uma
molécula de DNA?



DNA é a substância do qual são feitos os **cromossomos**



Então podemos perguntar que comprimento tem um cromossomo humano típico

- Um cromossomo típico tem **100 milhões de pb**
- $100 \text{ milhões} \times 0,1 \times 34 \text{ angstroms} =$
 $= 100 \times 10^6 \times 0,1 \times 34 \times 10^{-10} \text{ m} =$
 $= 3400 \times 10^{-5} = 0,034 \text{ m} = \mathbf{3,4 \text{ cm}}$

Se 1 angstrom = 1 mm

- Um cromossomo de 100.000.000 bp teria 340 km de comprimento
- Uma proteína típica teria 3 metros

DNA tem **vida longa**

- **Meia-vida**: tempo para que metade das ligações de uma molécula se quebre
 - 521 anos [Allentoft, Bunce et al. 2012]
- Já foi possível extrair DNA (fragmentado) de amostras congeladas com **500 mil anos**
- Por isso que foi possível **sequenciar o genoma de homens de Neandertal** (a partir de DNA encontrado em ossos)

Por outro lado...

- Máximo estimado de vida de um DNA
 - até 1,5 milhões de anos
- **Não dá** para recuperar DNA de dinossauros
 - Extintos há 65 milhões de anos
- Parque Jurássico é **impossível!**



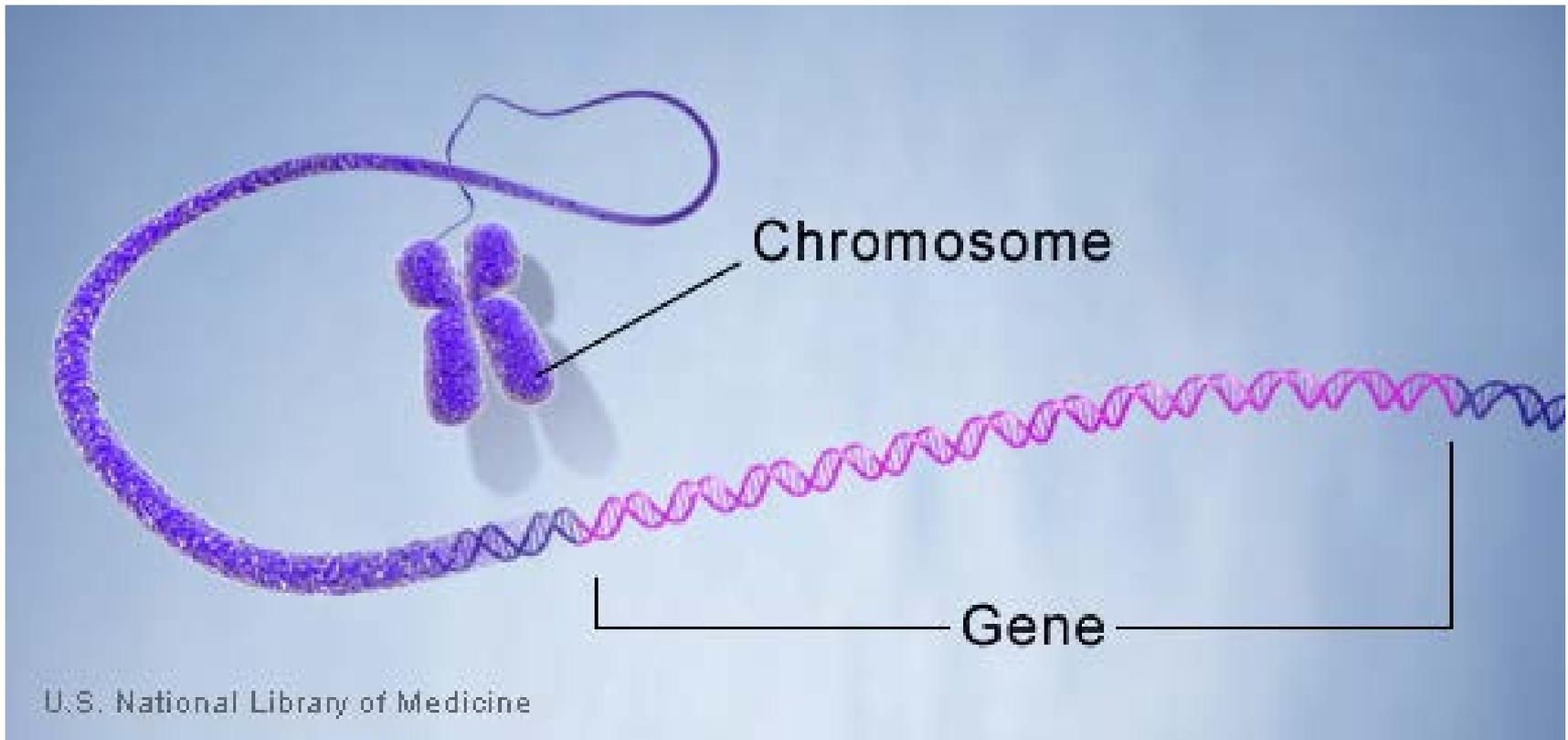
Mas pode ser que um dia
recuperemos mamutes

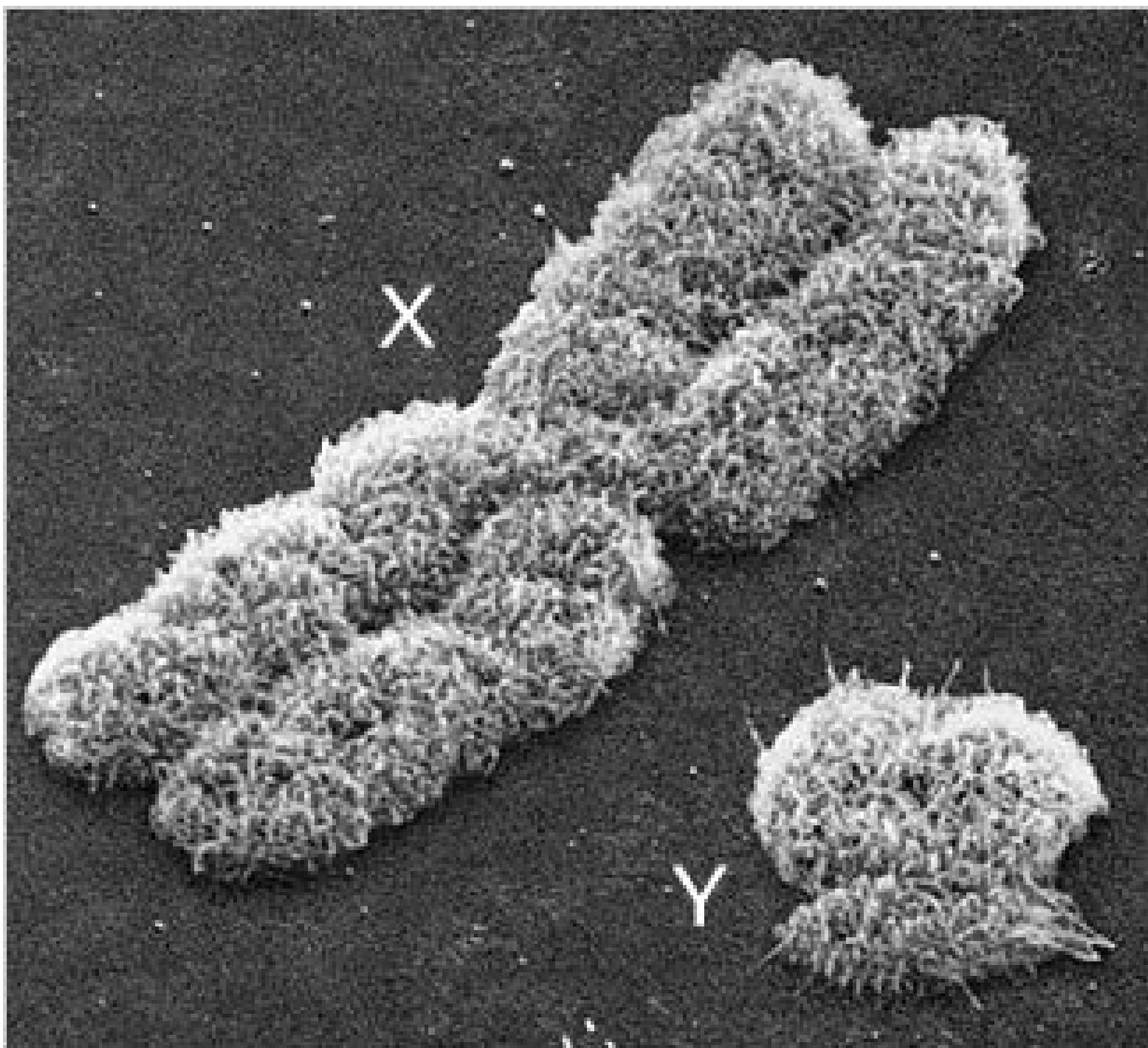


questionário

- a grande maioria escreveu pouco
- DNA/RNA/proteína
 - componentes
 - estrutura
 - função
 - quase ninguém abordou estes 3 aspectos
- quase todo mundo não sabe o que é “código genético” (ou sabe sem saber)

DNA é a substância do qual são feitos os **cromossomos**





Representação **em cadeia de caracteres** de uma sequência de DNA

AGCTCGCGCTCCGCATCCATCCAGTAGGGTTCGGTGTGACGAGCGTGCC
GTCCATATCCCAGAAGACGGCGGCCGGCATCGCGTGCGGAGTCAGTTCGG
TCACGGCTGACAAGTCTATCCCGGCGGCCCGGGCCTATTCTTGAGGGAC
GGCGTCCTGACCGGTGCGCGGATGAAAGGACCAGAACGCCCCGTGACTGA
CGCGAACAGCATCCTCGGAGGGCGCATCCTCGTGGTGGCCTTCGAAGGGT
GGAACGACGCTGGCGAGGCCGCGCAGCGGGGCCGTCAAGACGCTCAAGGAC
CAGCTGGATGTCGTCCCGGTGCGCGAGGTGATCCCGAGCTGTACTIONCGA
CTTCCAGTTCAACCGGCCGGTTCGTGCGGACGACGACGGCCGCGCGGCC
TCATCTGGCCGTCCGCGGAGATCCTGGGCCAGCTCGCCCCGGCGACACC
GGCGATGCGCGCCTGGACGCCACCGGCCCAACGCGGGCAATATCTTCCT
TCTCCTCGGCACCGAGCCGTGCGCGAGCTGGCGCAGCTTACCGCGGAGA
TCATGGATGCGGCCCTGGCCTCCGACATCGGCGCCATCGTCTTCCTCGGT
GCGATGCTGGCGGACGTACCGCACACCCGCCCATCTCCATCTTCGCTTC
GAGCGAGAACGCGGCCGTCCGTGCGGAGCTCGGCATCGAACGCTCTTCGT
ACGAGGGGCCGGTTCGGTATCCTGAGCGCGCTCGCCGAAGGGGGCGGAGGAC
GTGGGCATTCCGACCATCTCCATCTGGGCGTTCGGTTCGCACTATGTCCA
CAATGCGCCCAGCCCAGGCGGTGCTCGCACTGATCGACAAGCTCGAAG
AGCTGGTGAATGTCACCATCCCGCGTGGCTCGCTGGTGGAGGAGGCCACG
GCCTGGGAAGCCGGGATCGACGCGCTGGCTCTGGACGACGACGAGATGGC
TACGTACATCCAGCAGCTGGAGCAGGCACGCGACACCGTGGACTCCCCTG
AGGCCAGCGGCGAGGCGATCGCCAGGAGTTCGAGCGCTACCTCCGCCGC
CGCGACGGCCGCGCCGGCGATGACCCCCGCGTGGCTGACGTCACCCCCT
CTCTGCGTCCGCGTCTCTGTTCCCCCGCTCGGCCTCCCCTGAGGCCG
AGGAGTCGCGCCCACATGCCGAAACTCCTCCTTTCTGACTTTCTGGAG

Para representar DNA como cadeia,
precisamos de uma **convenção**

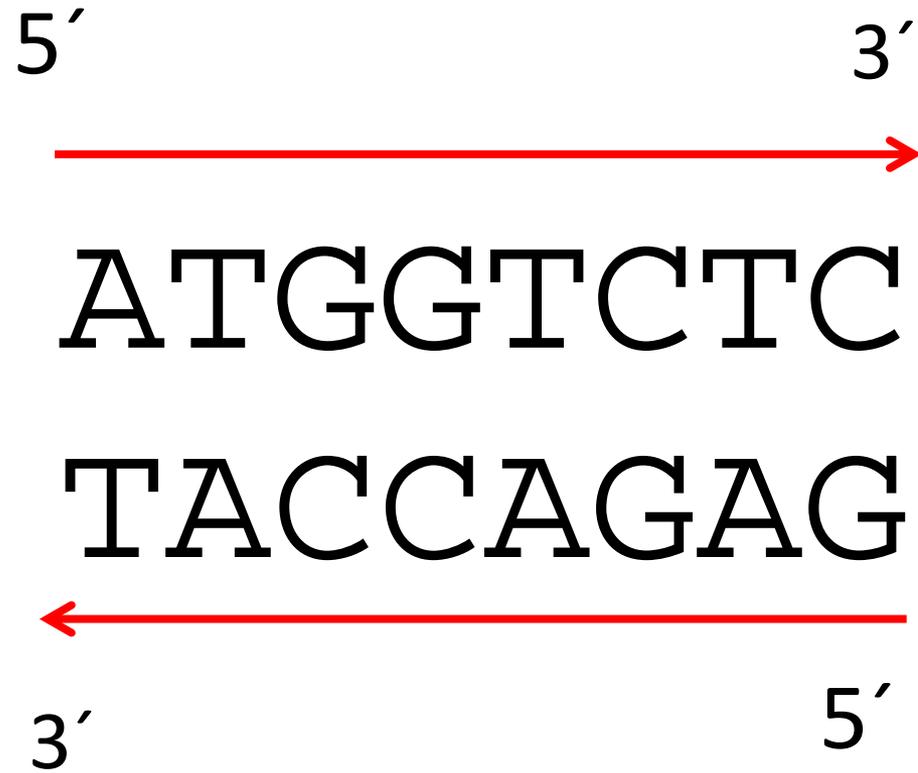
- Onde começa?
- Qual das fitas?

Convenção

- Conteúdo de uma das fitas do DNA deve ser representado como uma cadeia de letras para ser lida da esquerda para a direita ($5' \rightarrow 3'$)
- Qual das fitas?
- Não importa! (em geral)
- Dada uma das fitas, é possível saber a outra
- **Complementar e inverter**

Complemento reverso

- ATGGTCTC
- Qual é a outra fita?
- Complementar
 - TACCAGAG
- Inverter
 - GAGACCAT



Exercício

- Escreva uma cadeia de DNA com pelo menos 6 bases, usando pelo menos 1 vez cada base, tal que o complemento reverso dela é **ela mesma**

Palíndromos

Socorram-me Subi no ônibus em Marrocos

Rir o breve verbo rir

- Palíndromos “biológicos” ocorrem em genomas
- Eles tem função biológica
- O exercício pede que você invente um palíndromo biológico