

Descoberta da estrutura do DNA e Função: Watson e Crick

Por: Leslie A. Ore, Ph.D. © 2008 Nature Education

Citação: Pray, L. (2008) descoberta da estrutura do DNA e função: Watson e Crick. Nature Education 1 (1)

As ideias chave de Watson e Crick contaram com o trabalho de outros cientistas. O que a dupla realmente descobriu?

Muitas pessoas acreditam que o biólogo americano James Watson e Inglês físico Francis Crick descobriram o DNA em 1950. Na realidade, não foi o que aconteceu. Em vez disso, o DNA foi identificado pela primeira vez no final dos anos 1860 pelo químico suíço Friedrich Miescher. Depois, nas décadas seguintes a descoberta de Miescher, outros cientistas - notadamente, Phoebus Levene e Erwin Chargaff - realizaram uma série de pesquisa que revelaram mais detalhes sobre a molécula de DNA, incluindo os seus componentes químicos primários e as formas como eles juntaram um com o outro. Sem o fundamento científico prestado por esses pioneiros, Watson e Crick poderiam nunca ter alcançado a sua conclusão inovadora em 1953 sobre a forma de uma dupla hélice tridimensional na molécula de DNA.

A primeira peça do quebra-cabeça: Miescher descobre ADN

Embora poucas pessoas percebam isso, 1869 foi um ano marcante na pesquisa genética, porque foi o ano em que o suíço fisiólogo e químico, Friedrich Miescher, identificou primeiro o que chamou de "nucleína" dentro do núcleo dos glóbulos brancos do sangue. (O termo "nuclein" foi mais tarde mudado para "ácido nucleico" e, eventualmente, a "ácido desoxirribonucleico", ou "DNA".) O plano de Miescher, consistia em isolar e caracterizar os componentes proteicos de leucócitos (glóbulos brancos) e não a nucleína (que ninguém naquele momento percebeu existir). Miescher, ele planeou filtrar os leucócitos, e extrair e identificar as várias proteínas dentro das células brancas do sangue. Mas quando ele se deparou com uma substância do núcleo das células que tinha propriedades químicas diferentes de qualquer proteína, incluindo um teor de fósforo muito mais elevado e resistência à proteólise (digestão de proteínas), Miescher percebeu que tinha descoberto uma nova substância (Dahm, 2008). Percebendo a importância de suas descobertas, Miescher escreveu: "Parece-me provável que uma família inteira de tais substâncias ligeiramente diferentes de fósforo contendo aparecerá, como um grupo de nucleínas, o equivalente a proteínas" (Wolf, 2003).

Mais de 50 anos se passaram antes que o significado da descoberta dos ácidos nucleicos de Miescher fosse apreciado pela comunidade científica. Por exemplo, em um ensaio de 1971, a história da pesquisa do ácido nucleico, Erwin Chargaff observou que em 1961 um relato histórico da ciência do século XIX, Charles Darwin foi mencionado 31 vezes, Thomas Huxley 14 vezes, mas Miescher nem sequer uma vez. Esta omissão é ainda mais notável tendo em conta que, tal como Chargaff também observado, a descoberta dos ácidos nucleicos de Miescher era única entre as descobertas dos quatro componentes celulares principais (isto é, proteínas, lípidos, polissacarídeos e ácidos nucleicos), dado que pode ser " datado precisamente ... [a] um homem, um lugar, uma data. "

Preparando o terreno: Levene investiga a estrutura do DNA

Entretanto, mesmo que o nome de Miescher caiu no esquecimento por volta do século XX, outros cientistas continuaram a investigar a natureza química da molécula conhecida anteriormente como nucleína. Um desses outros cientistas era bioquímico russo Phoebus Levene. Um médico virou químico, Levene era um pesquisador muito ativo, tendo publicado mais de 700 artigos sobre a química de moléculas biológicas ao longo de sua carreira. Levene é creditado com muitas novidades. Por exemplo, ele foi o primeiro a descobrir a ordem dos três principais componentes de um único (-açúcar-base de fosfato) de nucleotídeo, o primeiro a descobrir o componente carboidrato de RNA (ribose), o primeiro a descobrir o componente carboidrato do DNA (desoxirribose), e o primeiro a identificar corretamente a forma como as moléculas de RNA e DNA são colocados juntos.

Durante os primeiros anos da carreira de Levene, nem ele, nem qualquer outro cientista do tempo soube que os componentes individuais de nucleótidos de DNA foram arranjados no espaço; descoberta da estrutura açúcar-fosfato da molécula de DNA foi ainda anos de distância. O grande número de grupos moleculares disponibilizados para a ligação por cada componente de nucleótidos significa que houve numerosas formas alternativas que poderiam combinar os componentes. Vários cientistas apresentaram sugestões de como isso pode ter ocorrido, mas era modelo "polinucleotídeo" de Levene, que provou ser o correto. Com base em anos de trabalho utilizando a hidrólise para quebrar e analisar ácidos nucleicos de leveduras, Levene propôs que os ácidos nucleicos foram compostas de uma série de nucleotídeos e que cada nucleotídeo foi, por sua vez composto por apenas uma das quatro bases azotadas, uma molécula de açúcar, e um grupo fosfato. Levene fez a sua proposta inicial em 1919, desacreditando outras sugestões que tinham sido formuladas sobre a estrutura dos ácidos nucleicos. Nas palavras do próprio Levene, "Novos fatos e novas evidências podem causar sua alteração, mas não há dúvida quanto à estrutura polinucleotídeo do ácido nucleico da levedura " (1919).

De facto, muitos factos novos e muito em breve novas evidências surgiram e provocaram alterações à proposta de Levene. Uma descoberta chave durante este período envolveu a maneira em que os nucleótidos são ordenados. Levene proposto que chamou tetranucleotídeo uma estrutura, na qual os nucleótidos foram sempre ligados na mesma ordem (isto é, GCTAGCTA e assim por diante). No entanto, os cientistas eventualmente percebeu que a estrutura proposta tetranucleotídeo Levene era demasiado simplista e que a ordem de nucleótidos ao longo de um segmento de ADN (ou ARN) é, de facto, altamente variável. Apesar dessa constatação, a estrutura polinucleotídeo proposta de Levene foi preciso em muitos aspectos. Por exemplo, sabe-se agora que o ADN é, de facto, constituído por uma série de nucleótidos e de que cada nucleótido tem três componentes: um grupo fosfato, uma ribose ou (no caso de ARN) ou de uma desoxirribose (no caso do ADN) de açúcar, e de uma única base que contém azoto. Sabemos também que existem duas categorias básicas de bases nitrogenadas: as purinas (adenina [A] e guanina [G]), cada um com dois anéis fundidos, e as pirimidinas (citosina [C], timina [T] e uracilo [U]), cada um com um único anel. Além disso, é

agora amplamente aceite que o ARN contém apenas A, G, C e U (sem T), enquanto o DNA contém apenas A, G, C e T (sem U) (Figura 1).

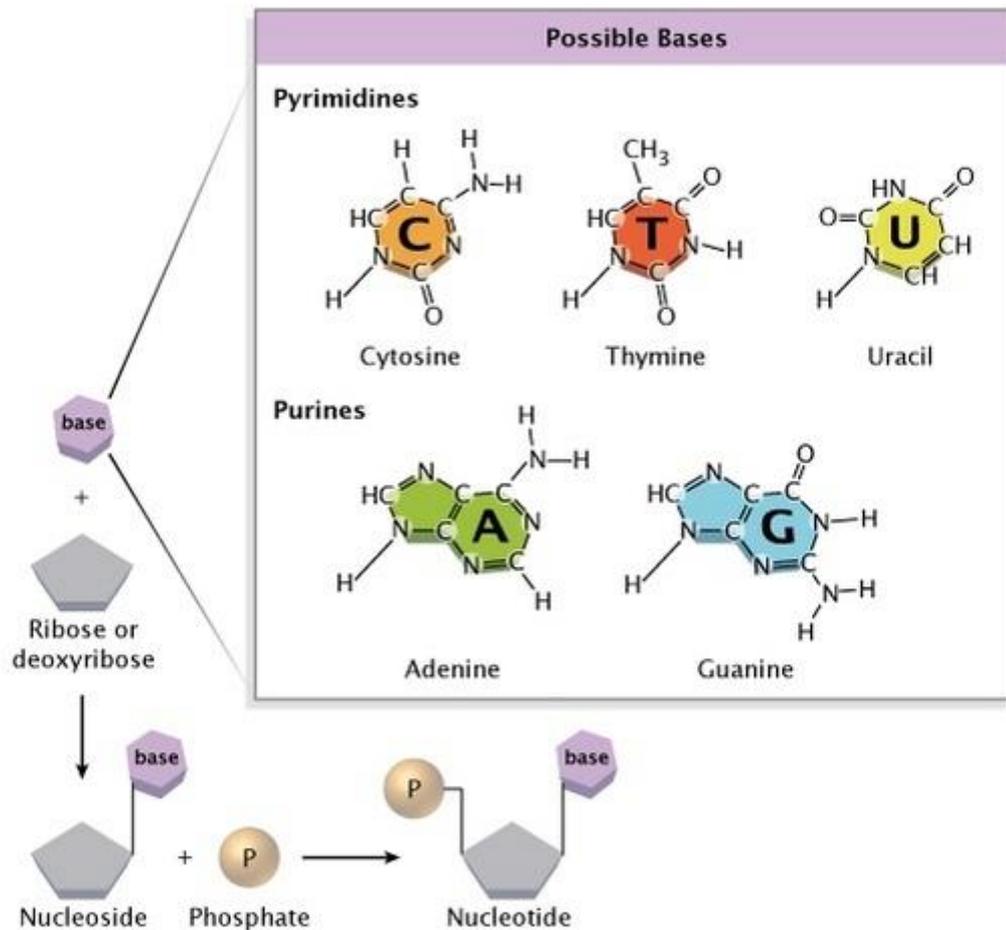


Figura 1: A estrutura química de um nucleótido.

Fortalecimento da Fundação: Chargaff formula sua "Regras"

Erwin Chargaff foi um dos poucos cientistas que expandiram o trabalho de Levene descobrindo mais detalhes da estrutura do ADN, abrindo, assim, ainda mais o caminho para Watson e Crick. Chargaff, um bioquímico austríaco, tinha lido o famoso papel 1944 por Oswald Avery e seus colegas da Universidade de Rockefeller, que demonstrou que as unidades hereditárias, ou genes, são compostos de ADN. Este trabalho teve um impacto profundo em Chargaff, inspirando-o a lançar um programa de pesquisa que girava em torno da química dos ácidos nucleicos. Do trabalho de Avery, Chargaff (1971) escreveu o seguinte:

"Esta descoberta, quase abruptamente, apareceu para pressagiar a química da hereditariedade e, além disso, fez provável o carácter de ácido nucleico do gene ... Avery

apresentou o primeiro texto de uma nova linguagem, ou melhor, ele mostrou onde procurar. Ou seja, resolvi procurar este texto. "

Como o primeiro passo nessa busca, Chargaff definiu para ver se havia diferenças no DNA entre espécies diferentes. Após o desenvolvimento de um novo método de cromatografia de papel para a separação e identificação de pequenas quantidades de material orgânico, Chargaff atingiu duas conclusões importantes (Chargaff, 1950). Em primeiro lugar, ele observou que a composição de nucleotídeos do DNA varia entre as espécies. Em outras palavras, os mesmos nucleotídeos não repetem na mesma ordem, tal como proposto por Levene. Em segundo lugar, Chargaff concluiu que a quase totalidade do DNA - não importa qual organismo ou tipo de tecido que vem - mantém certas propriedades, assim como a sua composição varia. Em particular, a quantidade de adenina (A) é geralmente semelhante à da quantidade de timina (T), e a quantidade de guanina (G) geralmente se aproxima a quantidade de citosina (C). Em outras palavras, a quantidade total de purinas (A + G) e a quantidade total de pirimidinas (C + T) são normalmente quase iguais. (Esta segunda conclusão importante é agora conhecido como. "Regra de Chargaff"), a pesquisa de Chargaff foi vital para o trabalho posterior de Watson e Crick, mas se Chargaff não conseguia imaginar a explicação dessas relações - mais especificamente, que um limite de T e C ligado a G dentro da estrutura molecular de ADN (Figura 2).

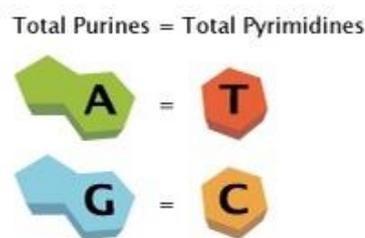


Figura 2: O que é a regra de Chargaff?

Todos os ADN segundo a regra de Chargaff, que refere que o número total de purinas de uma molécula de ADN é igual ao número total de pirimidinas.

© 2013 Nature Education Todos os direitos reservados. Fortalecimento da Fundação: Chargaff formula sua "Regras"

Juntando as provas: Watson e Crick propuseram a Dupla Hélice

Realização de Chargaff que $A = T$ e $C = G$, juntamente com alguns trabalhos de cristalografia de raios-X, foram realizados pelo Inglês Rosalind Franklin e Maurice Wilkins, e tiveram crucial importância no contributo para Watson e Crick perceberem o modelo tridimensional, dupla hélice para a estrutura do ADN. A descoberta de Watson e Crick também foi possível graças a recentes avanços na construção do modelo, ou a montagem de possíveis estruturas tridimensionais com base em distâncias moleculares conhecidas e ângulos de ligação, uma técnica avançada pelo bioquímico americano Linus Pauling. Na verdade, Watson e Crick estavam preocupados com o modelo proposto por Pauling, que era um modelo diferente para a estrutura tridimensional do ADN. No final, no entanto, a previsão de Pauling estava incorreta.

Usando recortes de papelão que representam os componentes químicos individuais das quatro bases e outras subunidades de nucleotídeos, Watson e Crick montaram moléculas em torno de suas áreas de trabalho, como se estivesse montando um quebra-cabeça. Eles foram enganados por um tempo por uma compreensão errada de como os diferentes elementos em timina e guanina (especificamente, o carbono, nitrogénio, hidrogénio, oxigénio e os anéis) foram configurados. Somente após a sugestão do cientista americano Jerry Donohue tinha Watson decidir fazer novos recortes de papelão das duas bases, para ver se talvez uma configuração atômica diferente iria fazer a diferença. Ele fez. Não só as bases complementares agora se encaixam perfeitamente (ie, A com T e C com G), com cada par mantido junto por ligações de hidrogénio, mas a estrutura também reflete a regra de Chargaff (Figura 3).

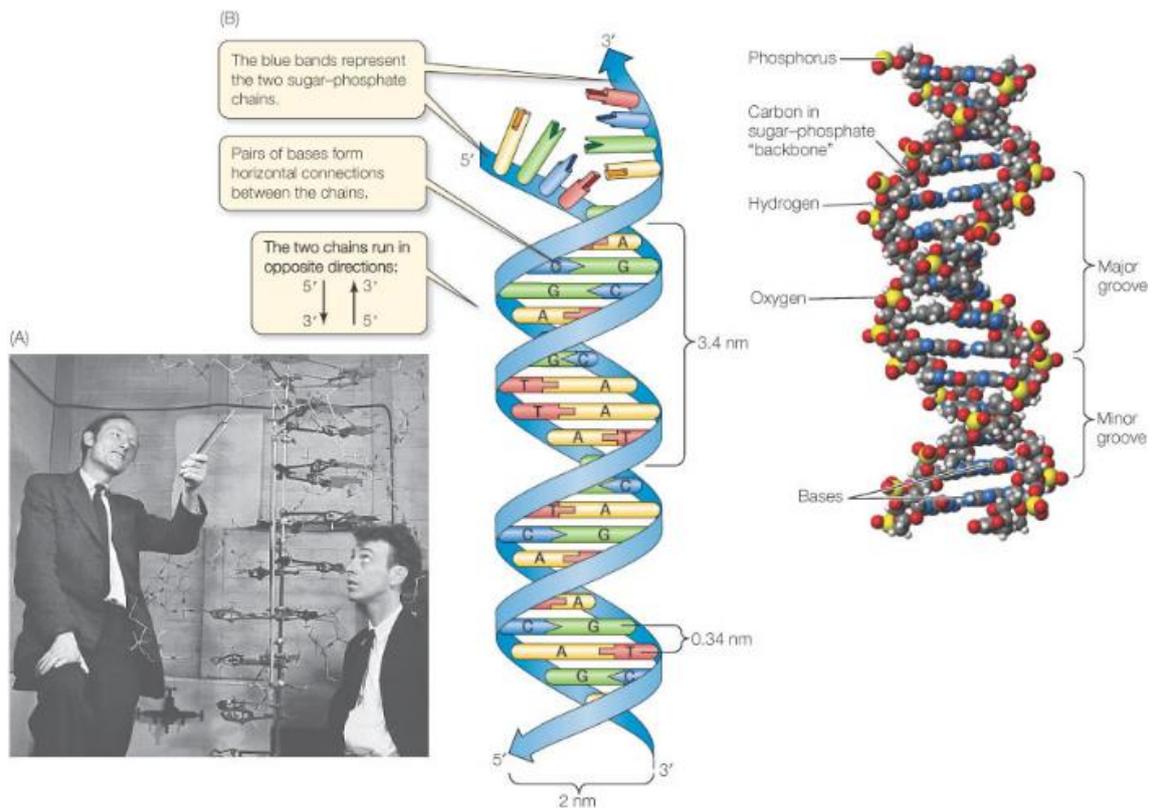


Figura 3: O DNA é uma dupla hélice.

(A) Francis Crick (à esquerda) e James Watson (direita) propôs que a molécula de DNA tem uma estrutura de dupla hélice. (B) Os bioquímicos podem agora identificar a posição de cada átomo de uma molécula de ADN. Para ver que as características essenciais do modelo de Watson-Crick original foram verificados, siga com os olhos as cadeias de dupla hélice de grupos de açúcar-fosfato e observe os degraus horizontais das bases.

© 2008 by Sinauer Associates, Inc. Todos os direitos reservados. Usado com permissão.

Embora os cientistas fizessem pequenas alterações ao modelo de Watson e Crick, desde a sua criação em 1953, as quatro principais características do modelo permanecem ainda hoje. Estas características são as seguintes:

O ADN é uma hélice de cadeia dupla, as duas cadeias ligadas por pontes de hidrogénio. As bases são sempre emparelhadas: Ts e Cs são sempre emparelhados com Gs, o que é consistente com e representa a regra de Chargaff.

A maioria das hélices duplas de ADN é destro, ou seja, se você segurar a sua mão direita para fora, com o polegar apontado para cima e seus dedos se enroscarem em torno de seu polegar, o dedo representaria o eixo da hélice e os dedos representariam a estrutura açúcar-fosfato. Apenas um tipo de ADN, chamado Z-DNA, é inverso.

O ADN de hélice dupla é anti-paralela, o que significa que o extremo 5' de uma cadeia está emparelhado com a extremidade 3' da sua cadeia complementar (e vice versa). Como mostrado na Figura 4, os nucleótidos estão ligados uns aos outros pelos seus grupos fosfato, que se ligam à extremidade 3' de um açúcar com a extremidade 5' do açúcar próximo.

Não são apenas os pares de bases de ADN ligadas através de pontes de hidrogénio, mas as bordas exteriores das bases contendo azoto estão expostas e disponíveis para o potencial de ligação de hidrogénio. Estas ligações de hidrogénio servem para proporcionar um acesso fácil para o ADN de outras moléculas, incluindo as proteínas que desempenham um papel vital na replicação e expressão de ADN (Figura 4).

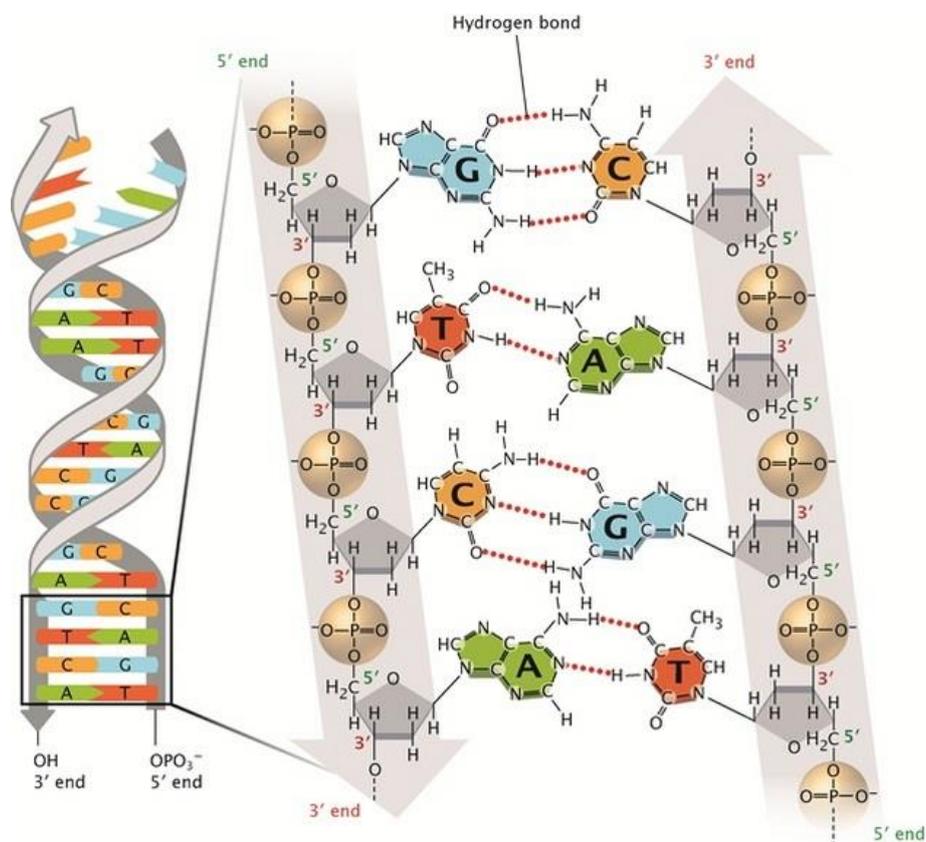


Figura 4: o emparelhamento de bases do ADN.

Duas ligações de hidrogénio ligam T para A; três ligações de hidrogénio ligam G para C. Os esqueletos de açúcar-fosfato (cinzento) correm anti-paralelos um ao outro, de modo que as extremidades 3' e 5' das duas cadeias estão alinhadas.

© 2013 Nature Education Todos os direitos reservados.

Figura Detalhe

No modelo de Watson e Crick acrescentaram-se aspectos através da identificação de três conformações diferentes de dupla hélice do ADN. Por outras palavras, as geometrias e dimensões exactas da dupla hélice podem variar. A conformação mais comum na maioria das células vivas (que é o representado na maioria dos diagramas da dupla hélice, e o proposto por Watson e Crick) é conhecida como B-DNA. Há também duas outras conformações: A-ADN, uma forma mais curta e mais larga que foi encontrado em amostras de ADN desidratadas e raramente sob circunstâncias fisiológicas normais, e Z-ADN, uma conformação canhoto. Z-ADN é uma forma transitória de ADN, existindo apenas ocasionalmente, em resposta a certos tipos de actividade biológica (figura 5). Z-ADN foi descoberto pela primeira vez em 1979, mas sua existência foi amplamente ignorado até recentemente. Os cientistas descobriram que certas proteínas se ligam muito fortemente a Z-ADN, sugerindo que o Z-ADN desempenha um papel biológico importante na protecção contra a doença viral (Rich & Zhang, 2003).

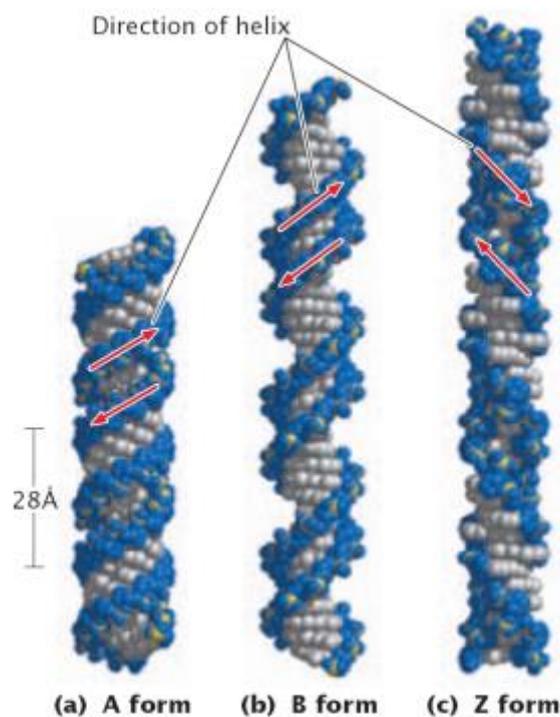


Figura 5: O ADN pode assumir várias estruturas secundárias diferentes.

Estas estruturas dependem da sequência de bases do ADN e as condições em que é colocado.

© 2005 por W. H. Freeman and Company. Todos os direitos reservados. Usado com permissão.

Resumo

Watson e Crick não foram os descobridores do DNA, mas os primeiros cientistas a formular uma descrição precisa da complexa estrutura dessa molécula de dupla hélice. Além disso, o trabalho de Watson e Crick foi diretamente dependente da investigação de inúmeros cientistas, antes deles, incluindo Friedrich Miescher, Phoebus Levene, e Erwin Chargaff. Graças a investigadores como estes, agora sabemos muita coisa sobre a estrutura genética, e continuamos a fazer grandes progressos na compreensão do genoma humano e na importância de DNA para a vida e para a saúde.

Referências e leitura recomendada

- Chargaff, E. especificidade química dos ácidos nucleicos e do mecanismo da sua degradação enzimática. *Experientia* 6, 201-209 (1950)
- . Prefácio a uma gramática da biologia. *Ciência* 171, 637-642 (1971)
- Dahm, R. Descobrir DNA: Friedrich Miescher e os primeiros anos da pesquisa do ácido nucleico. *Genética Humana* 122, 565-581 (2008)
- Levene, PA A estrutura de ácido nucleico de leveduras. IV. Hidrólise da amônia. *Journal of Biological Chemistry* 40, 415-424 (1919)
- Rich, A., & Zhang, S. Z-DNA: O longo caminho para a função biológica. *Nature Reviews Genetics* 4, 566-572 (2003) ([link para o artigo](#))
- Watson, JD, & Crick, FHC A estrutura do ácido desoxirribonucléico. *Nature* 171, 737-738 (1953) ([link para o artigo](#))
- Wolf, G. Friedrich Miescher: O homem que descobriu o DNA. *Chemical Heritage* 21, 10-11, 37-41 (2003)