

## FUNDAMENTOS BIOQUÍMICOS DA HEREDITARIEDADE — I NATUREZA DO MATERIAL GENÉTICO (\*)

Paulo A. Otto (\*\*)

### INTRODUÇÃO

O presente trabalho constitui uma revisão sumária dos principais aspectos bioquímicos ligados diretamente à Genética e está moldado sobre uma série de palestras proferidas pelo autor no Serviço de Pesquisas e Experimentação do Instituto Nacional do Câncer (Seção de Imunologia e Seleção de Animais de Laboratório) durante os meses de agosto e setembro de 1966.

Essencialmente, no estudo dos fundamentos bioquímicos da hereditariedade, devem ser abordados três aspectos principais, quais sejam:

1) A natureza da substância responsável pelo aparecimento e pela transmissão dos caracteres biológicos (estrutura e função do DNA ou material hereditário);

2) O modo de transmissão desse material de um organismo a outro:

- a) A duplicação do DNA;
- b) As mutações a nível molecular;

3) O modo de ação desse material, isto é, como o DNA promove o aparecimento das características biológicas:

- a) As enzimas;
- b) O controle qualitativo da síntese protéica;
- c) O controle quantitativo da síntese protéica.

É fornecida, no fim de cada uma das seis seções (1, 2a, 2b, 3a, 3b e 3c), uma bibliografia de referências, contendo obras ou artigos de revisão geral e artigos originais selecionados; no final do trabalho é dada uma bibliografia geral; tanto uma como outra servirão aos interessados para um aprofundamento teórico, complementando os diversos assuntos expostos.

Este trabalho é para M.M.B.: "Also prangt die Natur in hoher, voller Erscheinung, und sie zeigt, gereiht, Glieder an Glieder gestuft". (Goethe).

(\*) — Trabalho do Serviço de Pesquisas e Experimentação do Instituto Nacional do Câncer — Seção de Imunologia e Seleção de Animais de Laboratório (Chefe: Dr. Sylvio Thales Torres).

(\*\*) — Professor Conferencista de Genética da Faculdade de Ciências Médicas da U.E.G. — Médico do Serviço de Pediatria do Hospital de Aeronáutica do Galeão.

## 1) NATUREZA DO MATERIAL HEREDITÁRIO

Inúmeras experiências realizadas de 40 anos para cá vêm demonstrando cabalmente que a substância responsável pelo aparecimento e pela transmissão dos caracteres biológicos na quase totalidade dos organismos vivos é o ácido desoxirribonucleico (DNA). Duas experiências que objetivam admiravelmente esse fato são as de Griffith e de Hershey & Chase.

Em 1928, Griffith descobriu que uma mistura de pneumococos (*Diplococcus*

algum constituinte, ainda ativo, das células virulentas mortas. Em 1944 Avery, MacLeod & Mc Carthy identificaram o "princípio da transformação bacteriana" como sendo o ácido desoxirribonucleico.

Em 1952, Hershey & Chase realizaram a sua famosa experiência: parasitaram bactérias *Escherichia coli* com bacteriófagos específicos T<sub>2</sub> marcados com P<sup>32</sup> e S<sup>35</sup>. Como o bacteriófago T<sub>2</sub> só possui DNA (cêrca de 40%) e cápsula protéica (cêrca de 60%), o fósforo marcado estava integrado na molécula do DNA e o enxôfre radioativo na molécula da proteína. An-

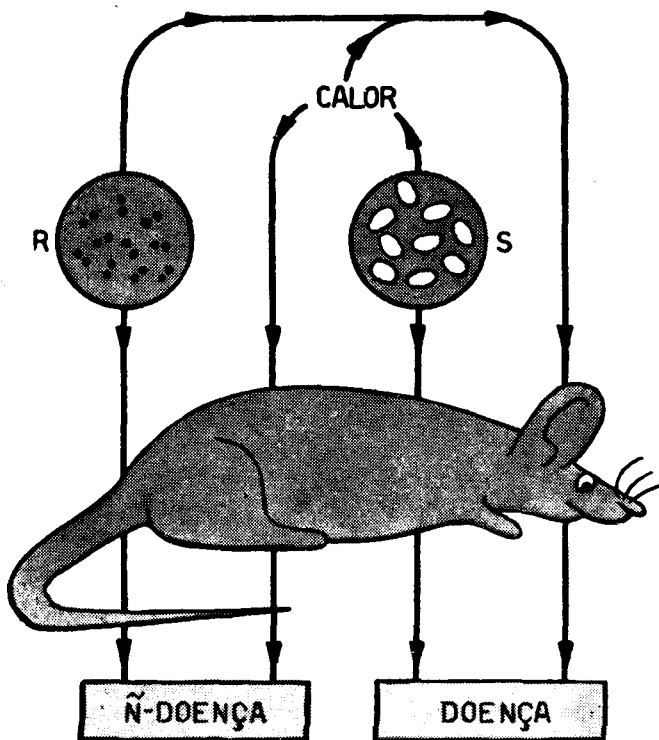


Fig. 1

*pneumoniae*, acapsulados (avirulentos) R vivos e capsulados (virulentos) S mortos pelo calor causava uma septicemia fatal quando inoculada em camundongos (fig. 1).

Evidentemente, a transformação, no organismo dos camundongos, dos pneumococos acapsulados em pneumococos virulentos capsulados deveria ser causada por

tes de ocorrer a lise bacteriana, o meio contendo as bactérias infectadas foi submetido a uma agitação com liquidificador ("waring blender") e, após, a uma centrifugação. Por meio de contadores Geiger-Müller foi determinado que no sobrenadante (que deveria conter os fagos) só havia praticamente S<sup>35</sup>, enquanto que praticamente todo o P<sup>32</sup> estava no sedimento (bactérias). Embora a experiência tenha

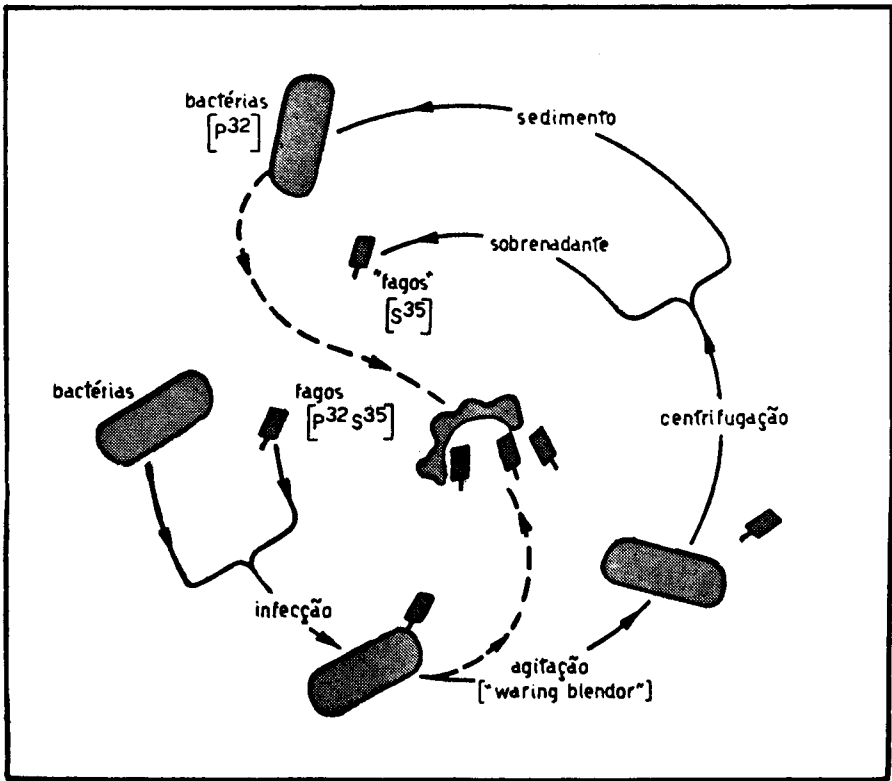


Fig. 2

side realizada em duas etapas (infecção de bactérias com fagos P<sup>32</sup> e infecção de bactérias com fagos S<sup>35</sup>), ela pode ser representada pelo esquema da fig. 2.

Nesse esquema, a primeira linha interrompida da seqüência indica a lise bacteriana (com o aparecimento de novas partículas de fagos) que ocorre normalmente e antes da qual foram realizadas a agitação e a centrifugação descritas. A palavra "fagos" do fim da seqüência está entre aspas porque estes já não são capazes de se replicarem (falta o DNA). A última linha interrompida da seqüência indica que as bactérias infectadas com P<sup>32</sup> (DNA dos fagos) são capazes de lisarem, dando origem a novas partículas infectantes de bacteriófagos. Com esta experiência ficou provado que o vírus bacteriano T<sub>2</sub> reproduz-se exclusivamente às custas do seu DNA.

A hidrólise do ácido desoxirribonucléico fornece as seguintes substâncias (fig. 3):

		<i>fosfato</i>	<chem>O=P(O)(O)O</chem>
		<i>D-2-desoxirribose</i>	<chem>C1=CC(=O)NC(=O)N1</chem>
<i>bases nitrogenadas</i>	<i>purinas</i>	<i>adenina</i>	<chem>C1=NC2=C(N1)N=CN=C2N</chem>
		<i>guanina</i>	<chem>C1=NC2=C(N=CN2)C(=O)N1</chem>
	<i>pirimidinas</i>	<i>citosina</i>	<chem>C1=NC(=O)NC=C1N</chem>
		<i>timina</i>	<chem>CC1=CNC(=O)NC1=O</chem>

Fig. 3

Chargaff, em 1951, analisando o DNA do esperma do salmão, conseguiu determinar que na molécula dessa substância havia uma equimolaridade na concentração das bases nitrogenadas purínicas e pirimidínicas:

A	0,280 ± 0,005
G	0,196 ± 0,004
C	0,192 ± 0,006
T	0,274 ± 0,005

relação A/G	1,43
relação T/C	1,43
relação A/T	1,02 ≅ 1
relação G/C	1,02 ≅ 1
relação (A+G) / (T+C)	1,02 ≅ 1

Embora as relações A/T, G/C e Pu/Py se mantenham constantes e iguais à unidade qualquer que seja a fonte do DNA, as relações A/G, T/C e (A+T) / (G+C) variam e seriam características para cada espécie animal ou vegetal:

fonte de DNA	A + T	A	T	G	C
	G + C				
bacteriófago lambda	1,06	25,7	25,7	24,4	24,2
bacteriófago T <sub>1</sub>	1,08	27,0	25,0	23,0	25,0
bacteriófago T <sub>2</sub>	1,86	32,5	32,5	18,2	16,8
bacteriófago T <sub>4</sub>	1,92	32,3	33,3	18,1	16,1
bacteriófago T <sub>6</sub>	1,92	32,4	33,4	17,7	16,5
bacteriófago T <sub>7</sub>	1,08	26,0	26,0	24,0	24,0
Bos taurus, timo	1,27	28,2	27,8	21,5	22,5
Bos taurus, esperma	1,26	28,7	27,2	22,2	22,0
Clostridium perfringens	2,24	34,1	35,0	15,8	15,1
Escherichia coli	0,92	23,9	23,9	26,0	26,2
Gallus domesticus	1,38	28,8	29,2	20,5	21,5
Homo sapiens, baço	1,51	29,9	29,8	19,5	20,1
Homo sapiens, fígado	1,53	30,3	30,3	19,5	19,9
Homo sapiens, esperma	1,66	31,0	31,5	19,1	18,4
Mycobacterium phlei	0,48	16,2	16,4	33,7	33,7
Mycobacterium tuberculosis	0,48	16,5	16,0	34,2	33,3
Pseudomonas aeruginosa	0,49	16,8	16,2	33,0	34,0
Proteus vulgaris	1,47	30,1	29,4	19,8	20,7
Saccharomyces cerevisiae	1,79	31,3	32,9	18,7	17,1
Scenedesmus caudatus	0,64	20,2	18,8	30,8	30,2
Staphylococcus aureus	1,88	32,3	33,0	17,3	17,4
Streptomyces griseus	0,37	13,4	13,4	36,1	37,1
Triticum vulgare	1,14	26,9	26,5	23,2	23,5
Vírus da vaccinia	1,46	29,5	29,9	20,6	20,2

Estudos de difração com raios-X, iniciados por Furberg e continuados (e praticamente concluídos) por Wilkins e outros pesquisadores, demonstrando que a molécula do DNA possui uma estrutura espacial helicoidal e o achado da Escola de Chargaff (equimolaridade na concentração das purinas e primidinas) levaram Watson & Crick, em 1953, à proposição de um modelo estrutural para o DNA, modelo esse que até hoje vem resistindo às críticas.

A estrutura provável do ácido desoxirribonucléico consiste fundamentalmente numa hélice formada por duas hemimacromoléculas "complementares": dois filamentos de açúcar-fosfato (R'P)<sub>n</sub>, a cada molécula de açúcar se prendendo uma base nitrogenada (A, C, G ou T); as bases presas a um dos filamentos estão pareadas com as bases do outro filamento mediante ligações de baixo potencial energético (pontes de hidrogênio cu ligações de ressonância de Van der Waals) que se es-

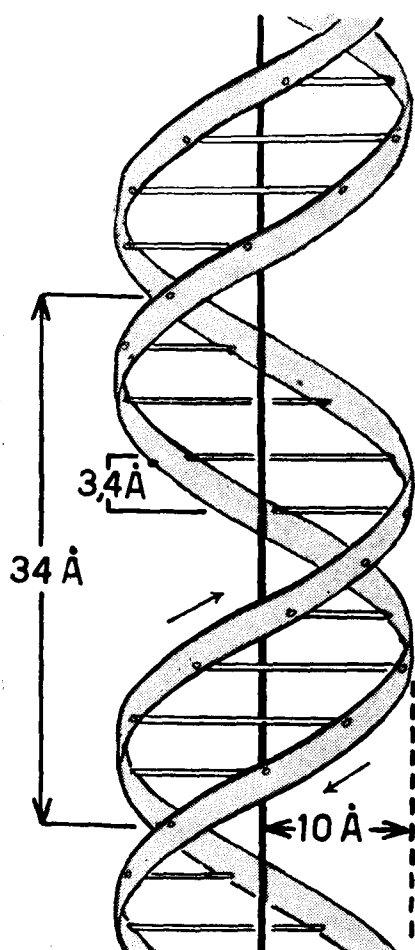


Fig. 4

tabelecem entre as bases nitrogenadas com grupamentos aminicos ligados ao átomo de carbono de posição 6 (adenina e guanina) e com grupamentos cetônicos de posição 6 (timina e citosina), de tal modo que só são possíveis os pareamentos entre adenina e timina e entre guanina e citosina. Como PR'A, PR'C, PR'G e PR'T são 5'-nucleotídicos ( respectivamente ácido 5'-desoxiadenilico, ácido 5'-desoxicitidilico, ácido 5'-desoxiguanilico e ácido 5'-desoxitimidilico), o ácido desoxirribonucléico é considerado um polidesoxirribonucleotidio de estrutura dupla. (Fig. 4).

Cada hemimolécula pode ser representada pela fórmula  $(PR'X)_n$ , onde X é qualquer uma das bases nitrogenadas (A, C, G, ou T). (Fig. 5).

No esquema da página seguinte (Fig. 6) está representada uma porção hipotética da cadeia estirada do DNA.

Na parte superior do desenho estão representados dois pares de residuos de nucleotídios "complementares" segundo uma convenção arbitrária que será observada em alguns esquemas do presente trabalho.

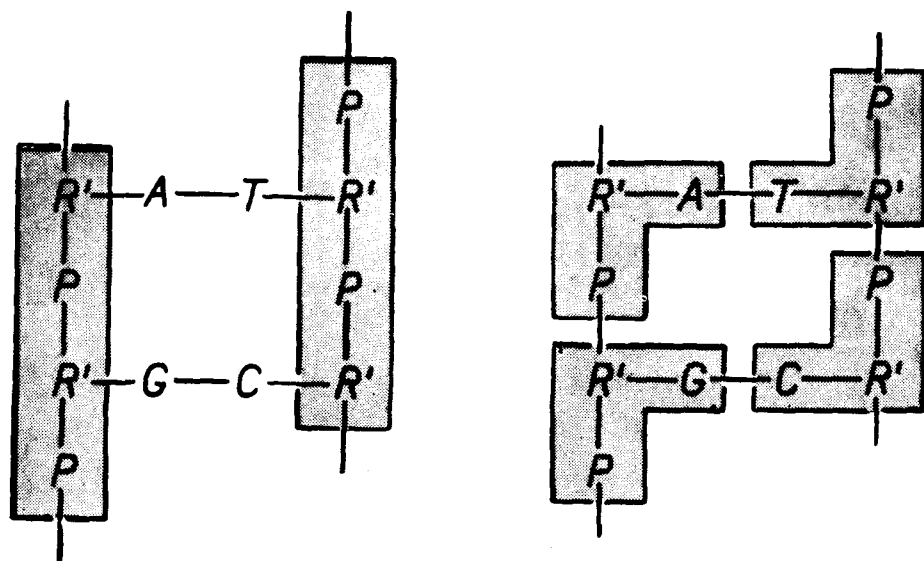


Fig. 5

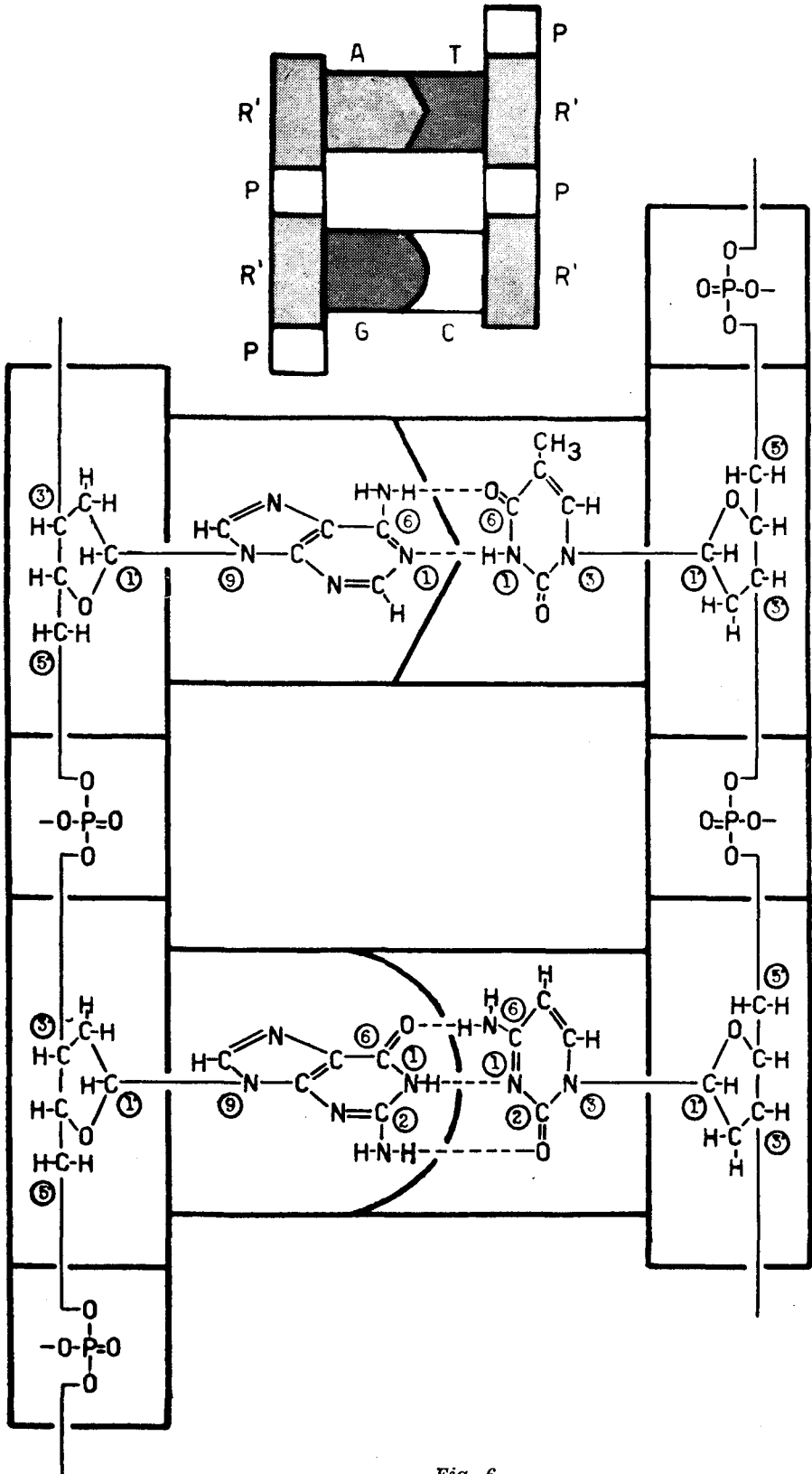


Fig. 6

Na parte inferior tem-se uma ampliação do esquema superior, mostrando a estrutura química do DNA. Os fosfatos unem-se às moléculas de pentose pelos átomos de carbono 3' e 5'; as pentoses ligam-se ao nitrogênio da posição 9 dos anéis purínicos cu ao nitrogênio da posição 3 dos anéis pirimidínicos através de seu carbono 1'. Finalmente, as purinas parecem-se com as pirimidinas mediante ligações de ressonância que se estabelecem entre: átomo de hidrogênio do grupamento amínico ligado ao carbono 6 da adenina e átomo de oxigênio do grupamento cetônico 6 da timina; átomo de nitrogênio de posição 1 da adenina e átomo de hidrogênio do grupamento imínico 1 da timina; átomo de oxigênio do grupamento cetônico 6 da guanina e átomo de hidrogênio do grupamento amínico ligado ao átomo de carbono 6 da citosina; átomo de hidrogênio do grupamento imínico 1 da guanina e átomo de nitrogênio 1 da citosina; átomo de hidrogênio do grupamento amínico ligado ao carbono 2 da guanina e átomo de oxigênio do grupamento cetônico 2 da citosina.

O raio da molécula do ácido desoxirribonucléico é da ordem de  $10 \text{ \AA}$  e a distância entre dois pares de bases subsequentes equivale a  $3,4 \text{ \AA}$ ; um passo completo da hélice contém 10 pares de resíduos de nucleotídios. O DNA do bacteriófago T<sub>2</sub> de *Escherichia coli* possui um comprimento de 47 microns, um peso molecular de  $1,3 \times 10^8$ , equivalendo a uma seqüência de  $2,0 \times 10^8$  pares de resíduos de desoxirribonucleotídios. O DNA contido num complemento cromossomial diplóide (8 cromossomas) da môsca *Drosophila melanogaster* teria um comprimento total de 2,7 cm, equivalendo a uma seqüência de  $2,5 \times 10^8$  pares de resíduos de desoxirribonucleotídios.

Apesar da aparente pequena capacidade de armazenar informações, por causa de sua composição um tanto pobre e monótona, admite-se que a seqüência linear dos resíduos de nucleotídios (ou, como estes diferem entre si apenas pelas bases nitrogenadas, a seqüência destas) na molécula do DNA (estrutura primária do ácido desoxirribonucléico) é o que condiciona o aparecimento dos caracteres biológicos hereditários dos organismos.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — AVERY, O. T., MACLEOD, C. M., MCCARTHY, M. — "Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types", *J. Exper. Med.*, 79: 237-158, 1944.
- 2 — BRESCH, C. — "Klassische und Molekulare Genetik", Springer Verlag, Berlin, 1965.
- 3 — CHARGAFF, E., LIPSHITZ, R., GREEN, C., HODES, M. E. — "The Composition of the Desoxyribonucleic Acid of Salmon Sperm", *J. Biol. Chem.*, 192: 223-230, 1951.
- 4 — GRIFFITH, F. — "The Significance of Pneumococcal Types", *J. Hyg.*, 27: 113-159, 1928.
- 5 — GURGEL, J. T. A. — "Genética de Microrganismos", in Pavan, C., Cunha, A.B., "Elementos de Genética", Companhia Editora Nacional, São Paulo, 1966, Pp. 67-93.
- 6 — HERSHEY, A.D., CHASE, M.D. — "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage", *J. Gen. Physiol.*, 36: 39-56, 1952.
- 7 — HERSKOWITZ, I. H. — "Genetics", Little, Brown & Co., Boston, 1965.
- 8 — HOFSCHEIDER, P. H. — "La Herencia a Nivel Molecular", in Documenta Geigy, "Genética y Medicina", Basel, 1964, Pp. 2-4.
- 9 — LARA, F. J. S., MIRANDA, M. — "Bases Químicas da Hereditariedade", in Pavan, C., Cunha, A.B., "Elementos de Genética", Companhia Editora Nacional, São Paulo, 1966, Pp. 18-36.
- 10 — MEDOFF, G., SWARTZ, M.N. — "DNA — Structure and Enzymatic Synthesis", *New Eng. J. Med.*, 276: 728-737, 1967.
- 11 — SILVER, S. — "Molecular Genetics of Bacteria and Bacteriophages", *Progr. Biophys. Molec. Biol.*, 16: 193-240, 1966.
- 12 — STAHL, F. W. — "The Mechanics of Inheritance", Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, 1965.
- 13 — WATSON, J. D., CRICK, F. H. C. — "A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid", *Nature*, 171: 737-738, 1953.
- 14 — WILKINS, M. H. F., STOKES, A. R., WILSON, H.R. — "Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids", *Nature*, 171: 738-740, 1953.