

Fábio Rodrigues Silva

Modelo Matemático para um Plasmídeo de Bactéria

Ituiutaba, MG

2013

Fábio Rodrigues Silva

Modelo Matemático para um Plasmídeo de Bactéria

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Matemática da FACIP-
UFU como parte dos requisitos necessários para
obtenção do grau de Bacharel em Matemática.

Universidade Federal de Uberlândia – UFU
Faculdade de Ciências Integradas do Pontal – FACIP
Curso de Graduação em Matemática

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Moreira

Ituiutaba, MG

2013

Fábio Rodrigues Silva

Modelo Matemático para um Plasmídeo de Bactéria

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Matemática da FACIP-
UFU como parte dos requisitos necessários para
obtenção do grau de Bacharel em Matemática.

Trabalho aprovado. Ituiutaba, MG, 26 de setembro de 2013.

Prof. Dr. João Carlos Moreira
Orientador

Prof. Dr. Marcelo Gonçalves Oliveira Vieira
Docente Curso de Matemática - FACIP–UFU

**Profa. Dra. Tânia Maria Machado de
Carvalho**
Docente Curso de Matemática - FACIP–UFU

Ituiutaba, MG
2013

*Este trabalho é dedicado às crianças adultas que,
quando pequenas, sonharam em se tornar cientistas.*

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pelos dons em mim dispensados, pelas oportunidades que Ele proporcionou em minha vida, pelas inúmeras vezes em que recorri a Ele às súplicas para o bom desenvolvimento deste trabalho e de toda a minha trajetória na graduação.

Agradeço ao Prof. Dr. João Carlos Moreira pela paciência e compreensão de minhas dificuldades com esta pesquisa, assim como agradeço por sua intervenção, ainda em 2008, para que eu fizesse graduação em Matemática na FACIP–UFU. Sem sua intervenção eu provavelmente não teria chegado onde cheguei hoje.

Agradeço aos meus pais Francisco Rodrigues da Silva e Maria Aparecida Vitor da Conceição, que me auxiliaram muito para minha manutenção no curso superior. Agradeço, em especial, à minha querida mãe que sempre me apoiou nas minhas decisões, prestou apoio moral e consolo em diversos momentos difíceis da minha graduação.

Agradeço à tutora do PET Matemática Pontal, Profa. Dra. Tânia Maria Machado de Carvalho, que em seus esforços, suas orientações, proporcionou para mim aprendizado junto ao PET. Seu trabalho, esforço e conselhos me inspiraram e me motivaram a continuar nesta trajetória. Verdadeira mãe para os petianos!

Agradeço aos petianos que conviveram e convivem comigo no PET Matemática Pontal. Formamos uma verdadeira família, em que cada um absorve as dificuldades do outro e juntos nos apoiamos e superamos muitas dificuldades. Que a família continue sempre unida.

Agradeço ao MEC/SESu pelo suporte financeiro desta pesquisa, junto ao PET Matemática Pontal.

Agradeço, ainda, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

*“Não vos amoldeis às estruturas deste mundo,
mas transformai-vos pela renovação da mente,
a fim de distinguir qual é a vontade de Deus:
o que é bom, o que Lhe é agradável, o que é perfeito.”
(Bíblia Sagrada, Romanos 12, 2)*

Resumo

Diversas pesquisas em Biofísica Molecular têm sido apresentadas para descrever propriedades de biomoléculas como o DNA. A importância da molécula de DNA passou a tomar magnitude com a descoberta de sua forma tridimensional em 1953 por Watson e Crick. Diversos estudos têm sido realizados visando compreender o processo de transmissão da informação genética, bem como o desenvolvimento de modelos matemáticos que apresentem fielmente as propriedades da molécula. As bactérias tomaram lugar central neste cenário, uma vez que sua estrutura simplificada permite o estudo com elementos mais reduzidos se comparados ao material genético de outros organismos. Neste trabalho apresentamos um histórico da descoberta do DNA e das bactérias, bem como propriedades químicas e físicas do material genético. Escolhemos como objeto de estudo os plasmídeos de bactérias. Apresentamos um modelo matemático para descrever as propriedades geométricas dos plasmídeos, com ênfase na curvatura e na torção de uma curva denominada toróide espiral. Estes elementos fornecem as características iniciais para modelos físicos de estudo.

Palavras-chaves: Bactéria. DNA. Modelo Matemático. Plasmídeo.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Os fatores de Mendel em ervilhas	27
Figura 2 – A divisão celular	28
Figura 3 – Estrutura química das bases ligadas à pentose	30
Figura 4 – A cristalografia de raios X	31
Figura 5 – Estrutura do DNA - ordem das ligações	32
Figura 6 – Parâmetros das ligações de hidrogênio	34
Figura 7 – Purina	36
Figura 8 – Pirimidina	36
Figura 9 – Segmento da Cadeia polinucleotídica de DNA	37
Figura 10 – Os pares de base do DNA ligados por pontes de hidrogênio	38
Figura 11 – Estrutura Tridimensional do DNA	39
Figura 12 – Fitas Complementares de DNA	39
Figura 13 – Esquema do modelo de primeiro nível	42
Figura 14 – Esquema do modelo de segundo nível	42
Figura 15 – Esquema do modelo de terceiro nível	43
Figura 16 – Esquema do modelo de quarto nível	43
Figura 17 – Esquema do modelo de quinto nível	44
Figura 18 – Estruturas de uma célula bacteriana típica	47
Figura 19 – Gráfico do Helicíde adaptado aos parâmetros do DNA	52
Figura 20 – Representação de um DNA	53
Figura 21 – Toro	54
Figura 22 – Toroide Espiral adaptado aos parâmetros do DNA plasmidal para 100 pares de base	55
Figura 23 – Representação do DNA plasmidal para 100 pares de base	55

Lista de tabelas

Tabela 1 – Energias de empilhamento (em <i>eV</i>) por tipos de pares de base de DNA	40
Tabela 2 – Tamanho de diferentes moléculas de DNA	41

Lista de abreviaturas e siglas

DNA	Ácido Desoxirribonucleico
RNA	Ácido Ribonucleico
atm	Atmosfera (unidade de medida de pressão)
SPE	Substâncias Poliméricas Extracelulares
kb	<i>kilo</i> pares de base (1000 pares de base)

Lista de símbolos

Å	Ângstrom (unidade de medida)
C	Carbono
H	Hidrogênio
N	Nitrogênio
O	Oxigênio
P	Fósforo
PO_3^-	Íon Fosfato

Sumário

	Introdução	23
1	A MOLÉCULA DE DNA - ESTRUTURA E INTERAÇÕES	25
1.1	Histórico da descoberta da estrutura do DNA	25
1.2	A estrutura do DNA - Aspectos químicos	36
1.3	A estrutura do DNA - Aspectos físicos	39
2	BACTÉRIAS	45
2.1	Histórico da descoberta das bactérias	45
2.2	Estrutura das bactérias	46
2.3	Genética bacteriana	48
3	UM MODELO MATEMÁTICO PARA O PLASMÍDEO	51
3.1	O desenvolvimento	51
3.2	Propriedades matemáticas	55
	Considerações Finais	59
	REFERÊNCIAS	61

Introdução

O Ácido Desoxirribonucleico (DNA) é uma biomolécula que se apresenta na forma de uma cadeia dupla com milhares de elementos que se repetem, chamados nucleotídeos. Esta molécula possui a forma helicoidal a qual é chamada de dupla hélice de DNA. Em bactérias, existem vários filamentos de DNA e um deles é chamado de plasmídeo. Alguns plasmídeos apresentam genes que conferem propriedades seletivas às bactérias que os contém, como resistência a antibióticos. O estudo das propriedades dos plasmídeos surge para tomar proveito dessas biomoléculas, como usos na limpeza do lixo ambiental, produção de novos produtos e desenvolvimento de novas drogas que sejam capazes de inibir a ação de superbactérias.

A base para o estudo das propriedades dos plasmídeos está na construção de modelos que permitam extrair informações de sua estrutura, bem como interações com o meio externo, dinâmica molecular e desnaturação. Desta forma, o objetivo principal deste trabalho é o estudo de um modelo matemático que melhor descreva um plasmídeo de bactéria. A inquietação para esta pesquisa surgiu da curiosidade em saber se é possível descrever matematicamente uma biomolécula, com propósitos de se obter propriedades da própria biomolécula.

Somada esta inquietação com a experiência do docente orientador deste trabalho e a formação do discente orientado, culminou o projeto que pretende descrever *computacionalmente uma biomolécula, incluindo sua dinâmica, propriedades mecânicas e termodinâmicas*¹. Como início das tarefas de pesquisa, foi desenvolvido este trabalho que pretende descrever matematicamente a biomolécula plasmídeo de bactéria.

No capítulo 1 deste trabalho, apresentamos um histórico da descoberta da estrutura do DNA, bem como algumas propriedades químicas e físicas que surgem para o estudo da molécula.

No capítulo 2 é apresentado um resumo da história da descoberta das bactérias, assim como sua estrutura, com foco na genética bacteriana e no plasmídeo, como pode ser observado na última seção.

No capítulo 3 é finalmente apresentada a construção de um modelo que descreve matematicamente o plasmídeo, bem como são calculadas suas propriedades geométricas como curvatura e torção, que fornecem dados importantes para uma configuração inicial do DNA em diversos modelos que incluem determinação de propriedades físicas.

¹ A Tânia sugere a retirada desta frase, uma vez que o TCC não abrange a simulação.

1 A molécula de DNA - Estrutura e interações

A descoberta de que o DNA é a molécula genética primordial que contém toda a informação hereditária nos cromossomos atraiu imediatamente a atenção dos cientistas para a sua estrutura. A expectativa era de que com o conhecimento da estrutura do DNA houvesse a revelação de como ocorre o transporte de mensagens genéticas durante o processo de replicação quando o cromossomo se divide produzindo duas cópias idênticas (WATSON et al., 2006).

1.1 Histórico da descoberta da estrutura do DNA

Até o fim do século XVIII, a ideia de que os seres vivos existiam em um número fixo de espécies imutáveis era dominante e praticamente unânime entre os grandes estudiosos da época, chamados naturalistas (ou fixistas). Os fixistas defendiam essa opinião dizendo que *os seres vivos são como são porque sempre foram assim e o serão. Deus assim os criou*. No final do século XVIII surgiu a afirmação de que *os seres vivos sofrem alterações ao longo dos tempos*, como oposição ao fixismo. Estas afirmações foram desenvolvidas até que se chegasse ao patamar de uma discussão mais elaborada sobre a evolução das espécies (FERREIRA, 1995).

Alguns estudiosos naturalistas procuravam demonstrar, já na segunda metade do século XVIII, que os caracteres das espécies não são imutáveis, sofrem alterações ao longo dos séculos. Entre os pioneiros desses estudos encontram-se os naturalistas Lazzaro Spallanzani (1729-1799) e Francesco Redi (1626-1698), e o francês Étienne Geoffrey Saint-Hilaire (1772-1844). O naturalista francês Jean-Baptiste Pierre Antoine de Monet (1744-1829) publicou em 1809, sob o pseudônimo de *Cavalheiro de Lamarck*, o livro *Filosofia Zoológica*. Nesta obra, o naturalista admitia que os seres vivos sofriam alterações no decorrer dos tempos, em especial porque as espécies modificam para se adaptar a novos ambientes. Afirmava, desta forma, que o agente propulsor da evolução era a natureza. Para tanto, elaborou duas leis:

1. Primeira Lei de Lamarck (Lei do Uso e do Desuso): Qualquer órgão, quando usado em excesso, tende a hipertrofiar-se; e os pouco ou não solicitados tendem à atrofia e podem inclusive desaparecer.
2. Segunda Lei de Lamarck (Lei da Herança dos Caracteres Adaptativos Adquiridos): Essas características por força do uso ou desuso são transmitidas às gerações futuras.

O enunciado da primeira lei de Lamarck está correto no que diz respeito à capacidade dos seres vivos de adaptar-se ao meio onde vivem por meio de mutações. Porém, hoje sabemos

que as mutações fenotípicas (na aparência) não são transmitidas hereditariamente, apenas as mutações genotípicas (mutações no código genético). Atualmente, a segunda lei de Lamarck não possui respaldo científico.

Durante duas décadas o inglês Charles Robert Darwin (1809-1882) coletou dados que pudessem explicar porque as pessoas conseguiam criar novas variedades de animais e plantas. Esses dados acabaram por sugerir a mutabilidade das espécies. Darwin transpôs para a natureza o esquema da seleção artificial (isolamento de uma determinada espécie e reprodução somente entre as espécies isoladas) e conseguiu comprovar a seleção natural. Paralelamente aos seus estudos, o naturalista inglês Alfred Russel Wallace (1823-1913) reuniu dados semelhantes que também apontavam para a mutabilidade das espécies, apontando o meio ambiente como causa principal da seleção natural.

Em julho de 1858, Darwin apresentou os primeiros enunciados de uma teoria da evolução baseada na seleção natural e, em 1859, publicou o livro *A Origem das Espécies por meio da Seleção Natural*, onde sistematizou seus dados recolhidos durante vinte anos de pesquisa. Ele havia constatado que a natureza vive em contínua transformação, que as espécies evoluem e que o aparecimento de novas espécies provém de uma prole com modificações, sendo que os seres dotados de novos caracteres favoráveis à adaptação sobreviveriam (FERREIRA, 1995).

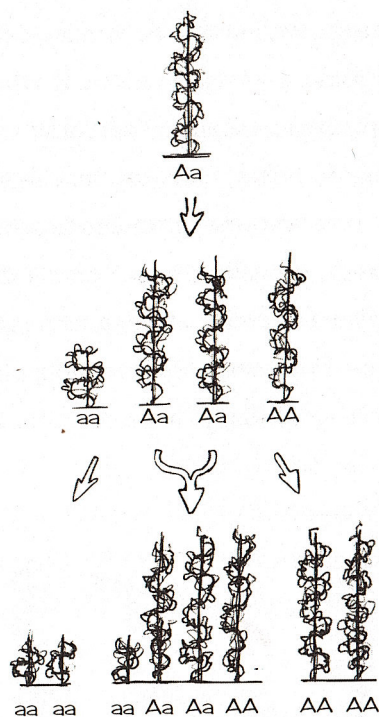
A seleção natural é um processo muito lento que permite a transformação gradual de espécies preexistentes em outras espécies, e a eventual extinção daquelas menos adaptadas a possíveis mudanças ambientais. Os indivíduos mais adaptados ao meio ambiente sobrevivem, deixando mais descendentes com suas características (FERREIRA, 2003, p. 20).

De 1857 a 1865, o monge Gregor Mendel (1822-1884), a fim de explicar o mecanismo da hereditariedade, realizou experimentos com plantas cultivadas, especialmente hibridização de ervilhas (*Pisum sativum*) e estudou as diferenças fenotípicas surgidas no cruzamento das espécies cultivadas. Mendel descobriu que as características das variedades não se misturam (cruzando-se plantas altas com plantas baixas não se obtém plantas de porte médio) e concluiu que existem fatores dominantes e recessivos (não dominantes) nas células germinativas, para cada característica fenotípica. Ele percebeu também que estes fatores, mais tarde chamados de genes, existem em dois tipos (ou alelos) e que estes são transmitidos de geração a geração. Com base nesses experimentos, Gregor Mendel elaborou as chamadas *Leis de Mendel* (FERREIRA, 1995):

1. Primeira Lei de Mendel (Lei da Segregação dos Alelos): Os fatores que determinam uma característica separam-se na formação das células reprodutivas, de maneira que estas recebem um fator de cada par.
2. Segunda Lei de Mendel (Lei da Segregação Independente): Os fatores que determinam diferentes caracteres são diferentes e recombina-se nas células reprodutivas segundo

todas as possibilidades.

Figura 1 – Os fatores de Mendel em ervilhas



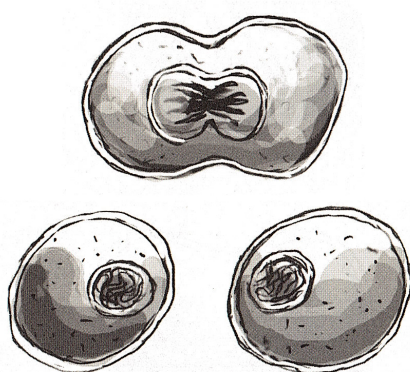
Fonte: Ferreira (2003, p. 27)

Mendel publicou seu trabalho em 1865 em uma revista pouco lida pelos cientistas, o que fez com que seu trabalho não tivesse sido reconhecido naquela época. O mérito de Mendel consiste no mapeamento, com absoluta precisão, do índice dos caracteres surgidos, assim como na formulação de uma hipótese para explicar os fatos que observou e na nomeação dos fatores como os responsáveis pelas alterações. Somente em 1900 seu trabalho foi redescoberto por três cientistas europeus (o holandês Hugo de Vries, o alemão Carl Correns e o austríaco Erich von Tschermak), que deram prioridade ao monge. A descoberta de que novas espécies podem surgir a partir de modificações nos genes só foi concebida em 1902 por William Bateson e outros biólogos, que perceberam que essas modificações geram mutantes (FERREIRA, 2003).

Paralelamente a estes estudos, com o avanço das técnicas de microscopia, Theodor Schwann (1810-1872) e Matheus Schleiden (1804-1882) estabeleceram que todo ser vivo é formado por células, que estas são muito pequenas e que são diferentes para cada tecido. Descobriu-se, ainda, que existem seres unicelulares e que em alguns desses seres (especificamente as bactérias) essa célula é desprovida de núcleo, chamando-os de organismos procaríotos. Com técnicas apropriadas de microscopia, descobriu-se que, nas células eucariotas (as que possuem núcleo diferenciado do citoplasma), o núcleo adquiria uma aparência estranha,

com agrupamento de pequenas estruturas em formato de espiral (posteriormente chamadas de cromossomos) para, assim, se dividirem, dando origem a novas células.

Figura 2 – A divisão celular



Fonte: Ferreira (2003, p. 30)

Das observações realizadas, mostrou-se que estas estruturas se subdividem em dois conjuntos antes da divisão celular e que existem duas maneiras desse processo acontecer: um processo chamado de mitose (na qual as células fenotípicas, ou diplóides, se dividem e os cromossomos se duplicam, gerando duas novas células com o mesmo número de cromossomos da célula-mãe) e um processo chamado de meiose (que dá origem às células da reprodução, ou gametas; estes se unem, resultando num ovo que contém, novamente, o mesmo número de cromossomos da espécie em questão). Em 1887, o alemão Theodor Boveri (1862-1915) vinculou os cromossomos à hereditariedade e, no mesmo ano, Edward van Beneden (1845-1910) demonstrou que o número de cromossomos nas células de um mesmo organismo era constante e que cada espécie teria um número específico deles (FERREIRA, 1995).

Em torno de 1910, Thomas Morgan (1866-1945) descobriu que as moscas das frutas, a *Drosophila melanogaster*, era um excelente animal para pesquisas, devido ao número reduzido de cromossomos (sete) e ao fato de que em uma população de *Drosophilas* há grande incidência de mutantes, que diferem entre si pela cor dos olhos, tamanho e forma das asas, entre outras características fenotípicas fáceis de perceber a olho nu. Em análises microscópicas, Morgan descobriu que os fatores de Mendel (os genes) correspondiam a diferentes regiões dos cromossomos e que o processo de variação biológica não se deve apenas a mutações significativas, mas também à recombinação dos genes (FERREIRA, 2003).

Erwin Schrödinger (1887-1961) reuniu em um único livro intitulado *What is Life?* uma série de conferências que abordavam sobre os caminhos de uma interpretação dos processos dos seres vivos em termos de moléculas e quanta¹. Divulgou, também um trabalho que havia sido

¹ Marcelo sugere uma definição ou explicação sucinta.

publicado por três cientistas alemães, Delbrück, Timoféeff e Zimer, em 1934, onde os autores mostravam que os genes teriam o tamanho de uma macromolécula, a partir de análises de mutantes de moscas do gênero *Drosophila*, produzidos a partir de incidências de raios X. Concluiu, assim, que os genes seriam proteínas, devido ao fato de que as mesmas são moléculas muito grandes e desempenham variadas funções nos organismos. Ainda em seu trabalho, Schrödinger propôs que os genes possuem um código que, atuando em nível molecular, controlam a transmissão de informações na reprodução molecular (FERREIRA, 1995; FERREIRA, 2003).

No início dos anos 1940, Salvador Edward Luria (1912-1991), juntamente com Max Ludwig Henning Delbrück (1906-1981), descobriram que as bactérias seguem a genética Mendeliana, mesmo sem possuírem núcleo. Já no final da mesma década, George Beadle e Edward Tatum demonstraram, usando o fungo *Neurospora crassa*, que os genes controlam a produção de enzimas. Desta forma, ficou estabelecido que o genótipo era capaz de controlar o fenótipo. Em 1944, Oswald Avery (1877-1955), do instituto de Rockefeller, em Nova York, publicou, juntamente com MacLeod e McCarty, um trabalho que revelava a natureza química do material genético.

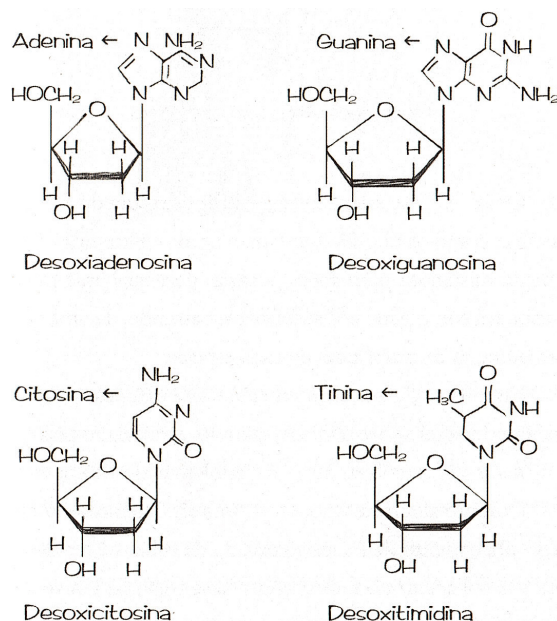
Para esta descoberta da natureza do material genético, foram usados os resultados do patologista inglês Frederick Griffith (1877-1941) que, em 1923, descobriu que existem dois tipos de bacilos da pneumonia, o *Pneumococcus S* (bacilos quase esféricos, lisos e mais virulentos) e o *Pneumococcus R*. Griffith descobriu, ainda, que injetando bacilos do tipo R em ratos, esses adquiriam a pneumonia em sua forma mais branda. Mas se forem injetados nos mesmos ratos bacilos do tipo S mortos por aquecimento, os ratos adquiriam a pneumonia fatal. Nesses ratos mortos podiam ser encontrados bacilos do tipo S vivos. Assim, Griffith concluiu que existia uma substância presente nos bacilos S que transformavam os bacilos R em S, e que essa substância seria os genes dos bacilos (FERREIRA, 2003).

O DNA já havia sido descoberto em 1869 pelo bioquímico alemão Johann Friedrich Miescher, quando buscava determinar os componentes químicos do núcleo celular. Miescher batizou inicialmente o DNA com o nome de nucleína. Em 1880 Albrecht Kossel mostrou que a nucleína continha bases nitrogenadas em sua estrutura molecular. Em 1889 Richard Altmann, que era aluno de Miescher, obteve a nucleína com alto grau de pureza, comprovando a sua natureza ácida e começou a chamá-la de ácido nucleico (MOREIRA; DICKSTEIN, 1997).

Na mesma época, foi observado que o ácido nucleico era composto de bases nitrogenadas de cadeias cíclicas, sendo elas do grupo das purinas (que continham um anel, como citosina e timina) e do grupo das pirimidinas (que continham dois anéis, como adenina, guanina e uracila) e composto, também, de um glicídio (pentose) e de fosfato. Em 1890, foi descoberto um outro ácido nucleico que possuía uracila ao invés de timina e ribose ao invés de desoxirribose. Esses ácidos foram chamados de ácido ribonucleico (RNA) e ácido desoxirribonucleico (DNA).

Em 1912, Phoebus Levine (1869 – 1940) e Walter Jacob (1883-1967) observaram que os ácidos nucleicos eram uma estrutura composta por uma unidade que se constituía numa base

Figura 3 – Estrutura química das bases ligadas à pentose



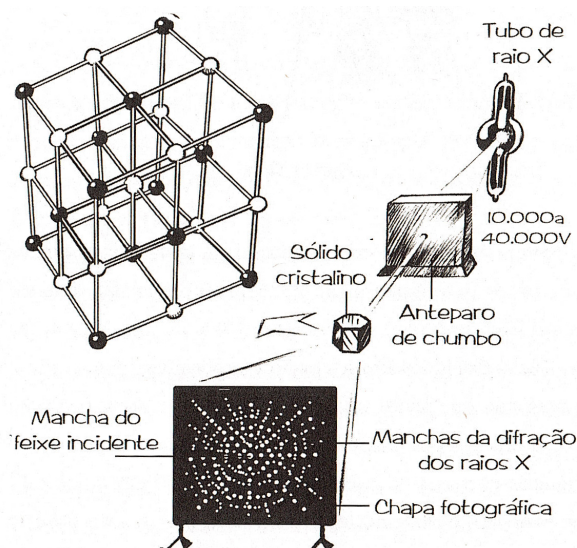
Fonte: Ferreira (2003, p. 41)

nitrogenada ligada a uma pentose, e esta por sua vez, ligada a um fosfato. Esta unidade foi chamada de nucleotídeo. A estrutura constituída pela base nitrogenada ligada à pentose foi denominada de nucleosídeo. A base nitrogenada se apresentava em cinco tipos diferentes, sendo eles adenina, citosina, guanina, timina e uracila. Um ácido nucleico seria então uma molécula composta por vários nucleotídeos ligados entre si, ou seja, um polinucleotídeo. Em torno de 1920, duas formas de ácidos nucleicos foram diferenciadas em virtude de sua composição de pentose: Ácido Ribonucleico (RNA) e Ácido Desoxirribonucleico (DNA). Esta distinção ocorreu através da observação da presença de timina em exclusividade no DNA, enquanto a uracila é encontrada apenas no RNA.

Conhecimentos sobre o arranjo físico tridimensional dos átomos da molécula de DNA só foram possíveis após o desenvolvimento da cristalografia de raios X, em 1913, pelo físico Lawrence Bragg (1890-1971), que inventou este método para determinar a estrutura atômica de cristais (distribuição espacial dos átomos que formam um determinado cristal). Por volta de 1950, sabia-se mais sobre as proteínas do que ácidos nucleicos. No início do século XX, o químico alemão Emil Fischer (1825-1919) havia descoberto que as proteínas eram constituídas por cadeias peptídicas compostas por aminoácidos, possuindo, assim, altos pesos moleculares. Para decifrar a estrutura molecular de substâncias, tais como as proteínas e os ácidos nucleicos, era relativamente difícil, começando na obtenção de cristais de tamanho suficiente (alguns milímetros) para se obter boas figuras de difração (FERREIRA, 2003).

Essas eram as informações que o físico Francis Crick (1916-2004) poderia ter sobre o DNA, mas nada sabia sobre sua estrutura. Resolveu, então, estudar problemas de biologia,

Figura 4 – A cristalografia de raios X



Fonte: Ferreira (2003, p. 44)

impulsionado pela leitura de *What is Life?*, em 1944, durante os intervalos de seus trabalhos durante a guerra. Em 1949, Crick havia sido aceito no Laboratório Cavendish da Universidade de Cambridge, na Inglaterra, que, naquela época, estava sobre o comando do físico Lawrence Bragg. À época em que Crick voltou sua atenção para o problema da estrutura do DNA, já se haviam conseguido algumas figuras de difração de algumas proteínas.

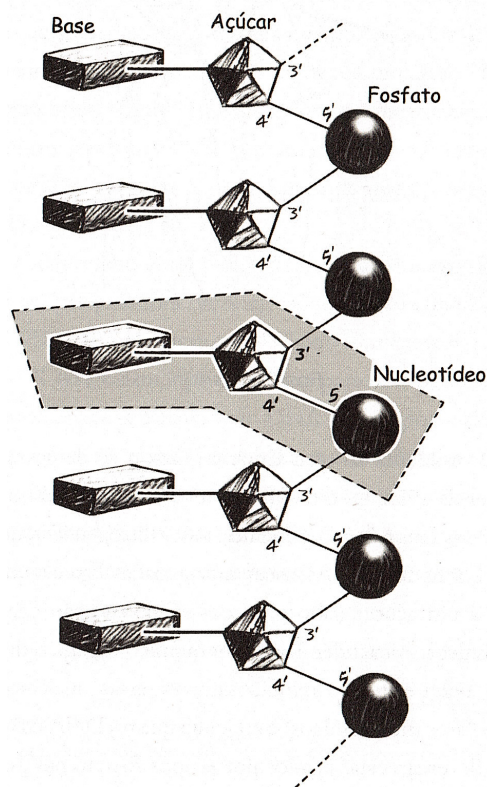
James Watson (1928-), que se diplomou em biologia pela Universidade de Chicago, aos 19 anos, e aos 22 já era PhD pela Universidade de Indiana, também havia lido o livro *What is Life?*, empolgando-se no estudo de Genética. Ele havia viajado para a Itália, em função de um estágio no Instituto de Zoologia Marinha de Nápoles, e assistiu a uma conferência do cristalógrafo Maurice Wilkins, ficando bastante motivado a trabalhar com cristalografia de ácidos nucléicos. Para tanto, viajou para Cambridge e chegou ao Laboratório de Cavendish, em 1951, encontrando-se com Francis Crick.

Obter cristais de DNA, à época dos anos 1950 era uma tarefa muito difícil, mas já era de conhecimento que existiam em duas formas, DNA-A e DNA-B. O primeiro não permite bons resultados em cristalografia de raios X, contendo 72% de água de cristalização, e suas figuras de difração foram obtidas pelo cristalógrafo Maurice Wilkins, a partir de DNA-A extraído da glândula timo de bezerros. Sabia-se que DNA-B possuía mais água de cristalização (92%), o que facilitava a obtenção de cristais melhores para difração. Rosalind Franklin (1920-1958), que trabalhava com Wilkins, obteve, em 1952, figuras de difração de DNA-B, melhores que a de DNA-A, as quais revelaram boa parte das provas necessárias para desvendar a estrutura do DNA. Os padrões de difração sugeriram fortemente uma molécula helical com uma repetição com comprimento de 34 Å (Ângstroms) a cada 10 pares de nucleotídeos e uma largura de 20 Å.

Em 1950, Erwin Chargaff havia descoberto uma proporção consistente de um para um de adenina-timina e citosina-guanina em amostras de DNA, a partir da medição da quantidade desses elementos em cada amostra. Em 1951-1952, Linus Pauling (1901-1994) descobriu que as cadeias peptídicas das proteínas se enrolam de três maneiras diferentes, hélices α , fitas β e hélices randômicas. As hélices α não se desenrolam pois se mantêm em posição por ligações de hidrogênio (pontes de hidrogênio).

Já era sabido, a partir dos estudos do químico Alexander Todd, que, no DNA, os nucleossídeos deveriam estar ligados por grupos fosfato nas posições 3' e 5' das moléculas de desoxirribose, compondo longas cadeias de desoxirribose-fosfato-desoxirribose-fosfato-desoxirribose..., com as bases nitrogenadas ligadas aos átomos de carbono 1' das desoxirriboses.

Figura 5 – Estrutura do DNA - ordem das ligações



Fonte: Ferreira (2003, p. 60)

Watson e Crick, então, se dedicariam a propor uma estrutura para o DNA a partir de suas três unidades (bases nitrogenadas, desoxirribose e íons fosfato). Watson, ao analisar as figuras de difração de Rosalind Franklin, em 1952, logo concluiu que correspondiam a uma estrutura em hélice. Concluiu, ainda, que seria possível calcular quantas cadeias de fosfato de desoxirribose formariam essa hélice.

Watson e Crick, inspirados nas estruturas usadas por Pauling para visualizar proteínas,

começaram a montar a estrutura do DNA usando chapinhas de metal (moléculas da base) e varetas de arame (ligações químicas). Concordeu que as fitas formadas pelas cadeias de fosfato-5'-desoxirribose-3'-fosfato-5'-desoxirribose-3'-fosfato-... deveriam estar enoveladas em forma de hélice. A partir de novas informações obtidas das figuras de difração de Rosalind, em 1953, Watson concluiu, a partir do diâmetro atribuído à hélice, que deveria se tratar de uma hélice dupla, ou seja, duas fitas de fosfato-desoxirribose enroladas ao longo do eixo da hélice.

Dois novos problemas surgiam sobre a estrutura helical: as bases ligadas às moléculas de desoxirribose estariam apontadas para dentro ou para fora da hélice? As duas fitas da hélice dupla seriam paralelas?

Fosfato-5'-Desoxirribose-3'-Fosfato-5'-Desoxirribose-3'-Fosfato-5'-Desoxirribose-3'-...
Fosfato-5'-Desoxirribose-3'-Fosfato-5'-Desoxirribose-3'-Fosfato-5'-Desoxirribose-3'-...

Ou seriam anti-paralelas?

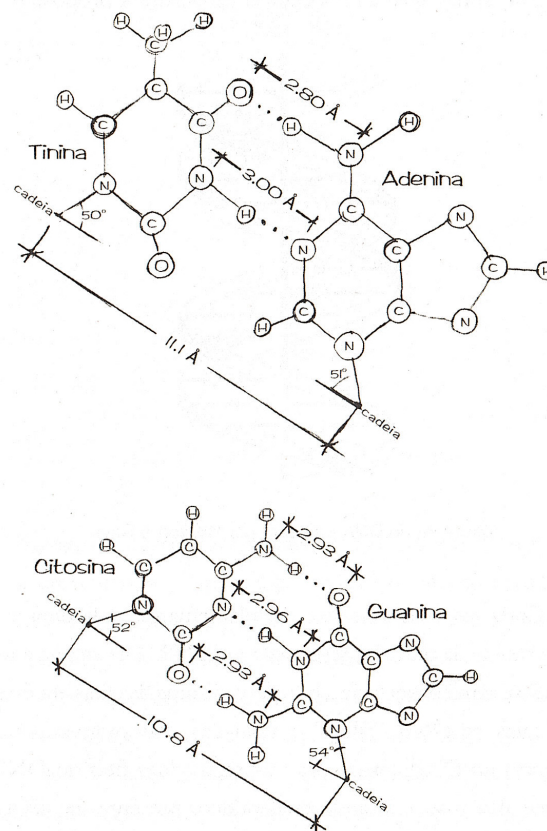
Fosfato-5'-Desoxirribose-3'-Fosfato-5'-Desoxirribose-3'-Fosfato-5'-Desoxirribose-3'-...
Fosfato-3'-Desoxirribose-5'-Fosfato-3'-Desoxirribose-5'-Fosfato-3'-Desoxirribose-5'-...

Watson e Crick concluíram que os grupos fosfato, que possuem cargas negativas, deveriam estar apontando para o lado de fora da hélice, ligando-se às moléculas de água existentes nos cristais de DNA-B. Assim, as bases nitrogenadas estariam apontando para o lado de dentro da hélice. Quanto à orientação das duas cadeias de fosfato-desoxirribose, Rosalind e Wilkins perceberam que havia uma reflexão muito nítida quando o feixe incidia perpendicularmente aos cristais, reflexão esta que se repetia ao girar o cristal 180° em torno do eixo perpendicular da hélice, correspondendo a uma simetria de ordem 2. Isso fez com que Watson e Crick concluíssem que as cadeias no DNA são anti-paralelas.

Para finalizar a elucidação da estrutura do DNA, Watson e Crick (respectivamente, biólogo e físico) precisavam de conhecimentos maiores sobre química, para ajustar as fórmulas e ligações dos elementos. Jerry Donohue, cristalógrafo americano, em visita a Cambridge, revelou aos dois cientistas as verdadeiras fórmulas dos elementos. Revelou, ainda, informações sobre as ligações químicas entre as bases. Essas informações foram utilizadas por Watson e Crick para iniciarem os cálculos matemáticos finais, descobrindo a maneira ideal de emparelhar as bases duas a duas, por pontes de hidrogênio. Estava formada, em 1953, a estrutura final do DNA. O trabalho de Watson e Crick foi publicado na revista *Nature*, uma das mais importantes do mundo, cabendo reconhecimento rápido ao seu trabalho.

A estrutura do DNA possui enorme importância para a Genética. Como as fitas são complementares, cada uma age como molde da outra na replicação do DNA. A replicação é semiconservativa, pois uma das fitas de cada molécula filha é uma fita do DNA original (inicial). Na mitose, as duas fitas do DNA original se abrem e, usando nucleotídeos presentes na

Figura 6 – Parâmetros das ligações de hidrogênio



Fonte: Ferreira (2003, p. 66)

célula, cada uma delas serve de molde para uma nova fita, dando origem a moléculas de DNA idênticas à molécula original, na sequência (emparelhamento) de suas bases. Para qualquer erro na duplicação, uma mutação é originada, a qual vai se refletir em algum ponto de fenótipo da espécie, como a mudança na cor dos olhos de moscas do gênero *Drosophila*.

A descoberta da estrutura do DNA abriu margem para uma série de outras descobertas em Genética e Biologia Molecular a partir da análise dos genes, possibilitando a leitura e interpretação do código genético de qualquer organismo. Watson e Crick redefiniram os genes como sendo segmentos da molécula de DNA.

Utilizando a síntese protéica, os genes controlam o fenótipo dos organismos. As proteínas são compostas unicamente por aminoácidos e a estrutura das proteínas é descrita em três níveis, sendo eles o primário, o secundário e o terciário. A estrutura primária corresponde à sequência dos aminoácidos que compõem a cadeia da proteína, sequência esta que define a forma específica dobrada e enovelada da estrutura terciária, o que permite que cada tipo diferente de proteína execute uma função específica. A estrutura das proteínas contém cerca de 100 aminoácidos. Embora existam apenas 20 aminoácidos, repetições de sequências permitem combinações de aminoácidos que proporcionam a formação de grandes variedades de proteí-

nas. Estas proteínas servem como catalisadores biológicos (enzimas) e controlam o fenótipo dos organismos.

Técnicas de sequenciamento de DNA foram concebidas em 1975 por Walter Gilbert, em Harvard, e por Fred Sanger, em Cambridge. Tanto o DNA quanto as proteínas não possuem cadeias ramificadas, tornando-se possível enumerar os aminoácidos das cadeias protéicas e as bases das fitas de DNA.

A replicação do DNA dá início à duplicação celular. Em 1956, descobriu-se que esse processo de replicação necessita de uma enzima, a DNA-polimerase e, em 1957, Arthur Kornberg conseguiu sintetizar DNA em tubos de ensaio, utilizando uma solução contendo quatro nucleotídeos correspondentes às bases nitrogenadas, Adenina (A), Citosina (C), Guanina (G) e Timina (T), à qual adicionou DNA-polimerase e um fragmento de DNA natural. Assim, o DNA controla a síntese protéica, mas necessita de uma proteína para se multiplicar.

O processo de transmissão das informações contidas nas sequências das bases do DNA, onde cada tripleto de bases forma um códon (correspondente a um aminoácido na proteína) é complexo e requer três tipos de RNA, sendo eles m-RNA, t-RNA e o r-RNA. Sem muitos detalhes, o m-RNA copia a sequência de bases do DNA (transcrição) e a difunde até os corpúsculos existentes no citoplasma (ribossomos), onde as proteínas são sintetizadas.

O RNA difere do DNA, pois forma ligações simples (e não duplas, como o DNA), sua pentose é uma ribose (e não desoxirribose como no DNA) e possui Uracila (U) no lugar de Timina. Os três tipos de RNA envolvidos na síntese de proteínas diferem no peso molecular e no enovelamento de suas cadeias.

Existem quatro bases no DNA e vinte aminoácidos nas proteínas. Sabe-se que três bases codificam para cada aminoácido. Assim, existiriam 64 aminoácidos, mas existem, de fato, apenas 20. Assim, o código genético é redundante, ou seja, vários códons codificam para o mesmo aminoácido e existem códons que não codificam para aminoácido algum, mas que correspondem a sinais moleculares para interromper a mensagem de síntese protéica nos ribossomos.

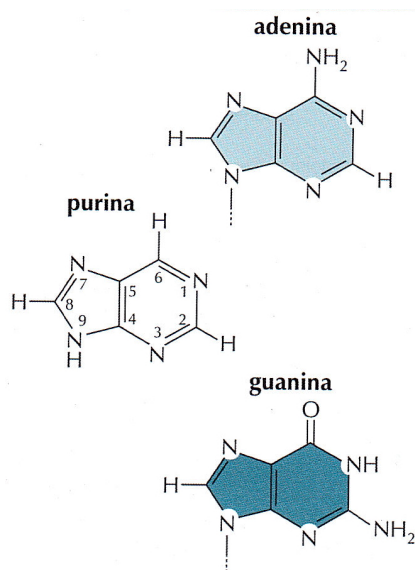
Em 1965, Crick definiu como Dogma Central da Biologia Molecular a concepção de que, nos seres vivos, a informação percorre uma cadeia unidirecional, descrita como DNA → RNA → Proteína. Este dogma é válido somente com a exceção dos retrovírus que contêm uma enzima (a transcriptase reversa) que sintetiza DNA a partir de uma fita de RNA, conforme descoberto por Howard Temin, em 1964.

Após o acúmulo destas informações, o código genético pôde ser decifrado em 1965. Outra descoberta de grande importância foi a de que o código genético é único em todo o planeta (FERREIRA, 2003).

1.2 A estrutura do DNA - Aspectos químicos

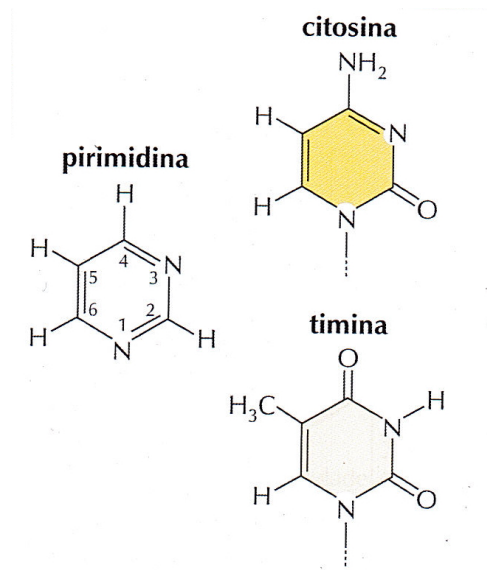
O DNA (Ácido Desoxirribonucleico) é uma estrutura polimérica, não ramificada, de cadeia dupla, que forma uma dupla hélice, ou dupla fita de DNA, formada por monômeros chamados de nucleotídeos. Polímeros são macromoléculas que apresentam uma estrutura de repetição de pequenas unidades denominadas monômeros ou meros, ligados covalentemente. Nucleotídeos são unidades compostas por uma base nitrogenada, uma pentose (açúcar) e um fosfato, sendo que esta mesma unidade sem o grupo fosfato é denominada nucleosídeo. Estas bases nitrogenadas são derivadas de dois compostos denominados purinas (Adenina e Guanina; derivam da estrutura de dois anéis) e pirimidinas (Citosina e Timina; derivam da estrutura de um anel) e, assim como a pentose, são compostos heterocíclicos. No caso do DNA, a pentose é uma desoxirribose (2'-desoxirribose) e as bases nitrogenadas podem ser Adenina, Citosina, Guanina ou Timina. A pentose é uma 2'-desoxirribose porque não possui um grupo hidroxila na posição 2' (apenas dois hidrogênios) (WATSON et al., 2006; LEHNINGER; NELSON; COX, 2002).

Figura 7 – Purina



Fonte: Watson et al. (2006, p. 100)

Figura 8 – Pirimidina

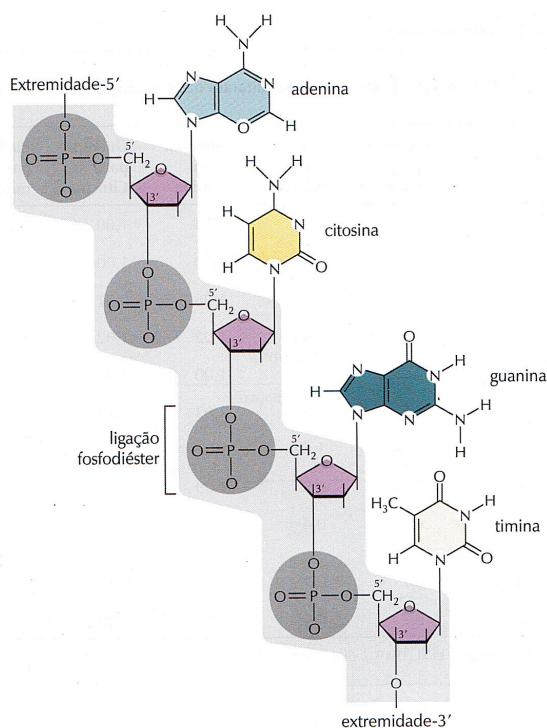


Fonte: Watson et al. (2006, p. 100)

Podemos imaginar a ligação entre a 2'-desoxirribose e as bases considerando a remoção de uma molécula de água entre o grupo hidroxila do carbono 1' da pentose e a hidroxila do nitrogênio das bases, nas posições 1' das pirimidinas ou posição 9' das purinas. Desta forma, temos uma ligação glicosídica entre a pentose e a base. De forma análoga é a ligação entre o fosfato e a 2'-desoxirribose, desta vez com a formação de uma molécula de água entre o grupo hidroxila do carbono 5' da pentose e o fosfato, obtendo, assim, um 5'-fosfo-monoéster a partir de uma ligação fosfoéster. Assim, temos a formação dos nucleotídeos. Por sua vez, os nucleotídeos estão ligados entre si, formando a cadeia nucleotídica, por meio de ligações

fosfodiéster, através do grupo 3'-hidroxila de um nucleotídeo ao fosfato ligado ao grupo 5'-hidroxila do outro nucleotídeo. Um esquema ilustrativo pode ser visto na Figura 9.

Figura 9 – Segmento da Cadeia polinucleotídica de DNA



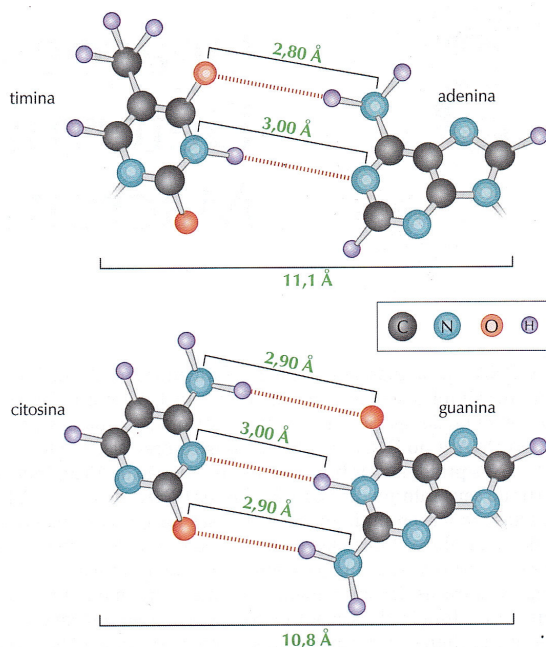
Fonte: Watson et al. (2006, p. 23)

Através do fosfato, as desossirriboses ligam-se umas às outras, formando uma cadeia polimérica da qual sobressaem-se as bases nitrogenadas. Uma cadeia preexistente serve como molde para a síntese da outra e consequente a formação da fita dupla, sendo que as bases nitrogenadas da cadeia preexistente ligam-se às bases nitrogenadas da cadeia que está sendo sintetizada, por meio de uma regra definida pela sua estrutura química: Adenina liga-se com Timina (A-T) e Citosina liga-se com Guanina (C-G). Esta correlação serve para controlar a ordem de adição dos monômeros à nova estrutura de fita dupla. Esta, por sua vez, sofre torção, uma em relação à outra, formando a estrutura de dupla hélice do DNA.

As ligações entre as bases nitrogenadas (pontes de hidrogênio) são mais fracas do que as ligações entre as desossirriboses e os fosfatos. Assim, a replicação do DNA descrita acima pode ser realizada sem danos à cadeia polimérica pentose-fosfato, pois as cadeias que formam a dupla hélice podem ser separadas. Existem duas ligações de ponte de hidrogênio para A-T e três para C-G. Por esta razão é mais difícil a ruptura das ligações C-G do que as ligações A-T. O pH e a temperatura são fatores que determinam a quebra das pontes de hidrogênio: em altas temperaturas ou pH extremo ocorre o processo de desnaturação do DNA, que é a quebra das pontes de hidrogênio (mais fracas) sem comprometimento das ligações covalentes. Um

esquema ilustrativo das ligações de hidrogênio pode ser visto na Figura 10.

Figura 10 – Os pares de base do DNA ligados por pontes de hidrogênio



Fonte: Watson et al. (2006, p. 70)

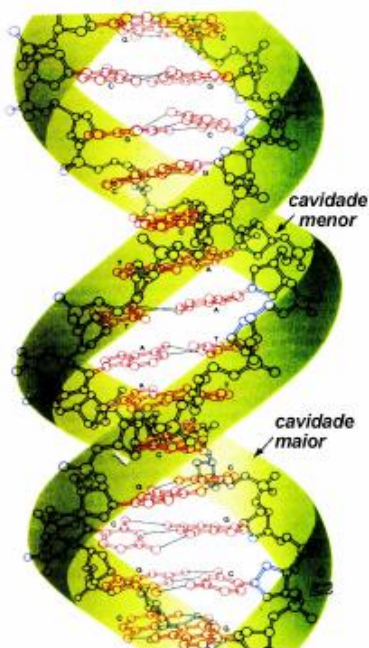
A estrutura tridimensional da molécula de DNA, sugerida por Watson e Crick, mostra que o DNA está conformado em uma estrutura de dupla hélice, onde as cadeias contendo os grupos fosfato e a pentose estão localizadas na parte externa da molécula, sendo que as bases nitrogenadas estão localizadas na parte interna, segundo características estruturais e de hidrofoobicidade da molécula. Além disso, o diâmetro da molécula é de 20 Å, com repetição a cada 10 pares de bases (ou 34 Å)², sendo que as bases adjacentes distam uma da outra aproximadamente 3,4 Å (SILVA, 2008).

Dependendo do ambiente (umidade relativa), das espécies de cátions presentes e da quantidade de sal retida, podemos encontrar a molécula de DNA disposta em várias conformações, sendo que a mais comum delas, a DNA-B (com pares de base quase perpendiculares ao eixo da hélice) se apresenta nas condições próprias das células. A partir do modelo proposto por Watson e Crick podemos, também, verificar que a superfície da dupla hélice forma dois sulcos de largura desigual, conhecidos como a cavidade maior e a cavidade menor. A Figura 11 e a Figura 12 ilustram estas informações.

A estabilidade da molécula de DNA não depende somente dos aspectos químicos da molécula. Aspectos físicos como as forças de interação intra e intermoleculares também definem a estrutura tridimensional do DNA e sua estabilidade, assim como fornecem dados para a

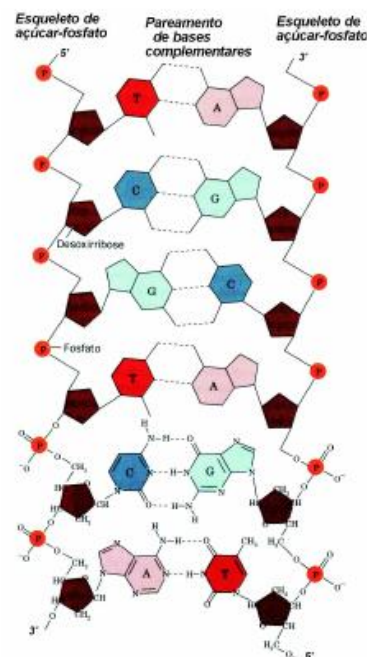
² Marcelo sugere explicitar o que está se repetindo

Figura 11 – Estrutura Tridimensional do DNA



Fonte: Rocha (2010, p. 16)

Figura 12 – Fitas Complementares de DNA



Fonte: Rocha (2010, p. 16)

confecção de modelos para interações com outras moléculas como, por exemplo, fármacos. O estudo da dinâmica do DNA é baseado nas suas propriedades físicas e químicas.

1.3 A estrutura do DNA - Aspectos físicos

A estabilidade da molécula de DNA depende de algumas forças, tais como as ligações covalentes entre os átomos, efeitos hidrofóbicos que estabilizam o pareamento das bases, forças de Van der Waals entre os anéis aromáticos (empilhamento das bases no interior da hélice), ligações de hidrogênio e interações entre os íons negativos dos grupos fosfato com cátions em solução (RIBEIRO, 2009).

As interações denominadas ligações de hidrogênio possuem a forma $X - H \cdots Y$, onde os átomos X e Y são átomos de alta eletronegatividade. No caso das ligações de hidrogênio da molécula de DNA, as mesmas possuem a forma $N - H \cdots N$ e $N - H \cdots O$, ligações estas que são bastante flexíveis e direcionáveis, o que tornam-nas mais suscetíveis a torções e estiramentos. De acordo com Silva (2008), existem três forças que contribuem para a formação das ligações, a saber dispersão, polarização e eletrostática. O autor revela, ainda, que a energia total de um par A-T e um par C-G é de 7 kcal/mol e 16,79 kcal/mol, respectivamente. Esta diferença se deve à quantidade de ligações de hidrogênio (2 e 3, respectivamente).

Silva (2008) traz, ainda, os valores calculados para a energia total nas ligações de hidrogênio das bases, sendo de $E_{A-T} = 0,304 \text{ eV}$ (elétron-volt) para um par A-T e de $E_{C-G} = 0,73 \text{ eV}$

para um par C-G. Estes valores são consideravelmente reduzidos se comparados aos valores encontrados para as ligações covalentes. As ligações de hidrogênio são, então, mais vulneráveis às perturbações fisiológicas causadas por agentes físicos e químicos em diferentes concentrações (GONZÁLEZ, 2009).

Outro tipo de força que contribui para a manutenção da estabilidade da estrutura da molécula de DNA é a interação de empilhamento, que mantém uma base sobre a outra formando uma pilha destas. Fatores internos e externos ao DNA, como interações dipolo-dipolo, sistemas de elétrons π , forças de dispersão de London, forças hidrofóbicas, além dos estados de protonação das bases, constantes dielétricas locais, sequência de bases, temperatura, entre outros, influenciam o valor das interações de empilhamento. No entanto, análises quânticas já realizadas fornecem a energia total de empilhamento das bases, levando em conta as combinações C-G e A-T, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Energias de empilhamento (em *eV*olt) por tipos de pares de base de DNA

Tipos de pares de base	Energias de Empilhamento	Tipos de pares de base	Energias de Empilhamento
C-G	14,59	A-T	6,57
G-C		C-G	
C-G	10,51	G-C	6,78
A-T		T-A	
T-A	10,51	T-A	6,78
G-C		C-G	
C-G	9,81	A-T	3,82
T-A		T-A	
A-T	9,81	A-T	5,37
G-C		A-T	
G-C	9,69	T-A	5,37
C-G		T-A	
T-A	6,57	G-C	8,26
A-T		G-C	
G-C	6,57	C-G	8,26
T-A		C-G	

Fonte: Yakushevich (2004, p. 7)

Em geral, podemos descrever as hélices segundo alguns parâmetros:

1. O *passo* P é determinado pela fórmula $P = nh$, onde n é o número de nucleotídeos por volta e h é a distância entre os nucleotídeos adjacentes ao longo da cadeia.
2. O ângulo de rotação da hélice pode ser determinado pela fórmula $t = \frac{360^\circ}{n}$.

No caso do DNA, a hélice possui os seguintes parâmetros: $n = 10$, $h = 3,4 \text{ \AA}$, $P = 34 \text{ \AA}$ e $t = 36^\circ$. Além disso, se observarmos o interior do DNA a partir de um ponto de vista paralelo ao eixo de torção, concluiremos que a hélice *se afasta*³ no sentido horário de rotação. O com-

³ Marcelo sugere explicitar de quem/onde/quê

primento de uma molécula de DNA varia de alguns μm a vários cm. Podemos encontrá-lo no interior de vírus, de células procariotas e do núcleo de células eucariotas. Tamanhos diferentes para as moléculas de DNA, em diferentes organismos, são exibidos na Tabela 2 (YAKUSHEVICH, 2004).

Tabela 2 – Tamanho de diferentes moléculas de DNA

Organismos	Número de Bases	Comprimento (Å)
Vírus:		
Fago λ	$4,86 \times 10^4$	$1,7 \times 10^5$
Fago T2	$1,66 \times 10^5$	$5,6 \times 10^5$
Bactérias:		
Mycoplasma	$7,6 \times 10^5$	$2,6 \times 10^6$
<i>E.coli</i>	4×10^6	$1,36 \times 10^6$
Eucariotos:		
Drosophila	$1,65 \times 10^8$	$5,6 \times 10^8$
Humano	$2,9 \times 10^9$	$9,9 \times 10^9$

Fonte: Yakushevich (2004, p. 11)

Quando construímos modelos aproximados para a molécula de DNA, geralmente não são incluídos todos os detalhes da estrutura do DNA, somente as propriedades mais importantes (informações essenciais) como (YAKUSHEVICH, 2004):

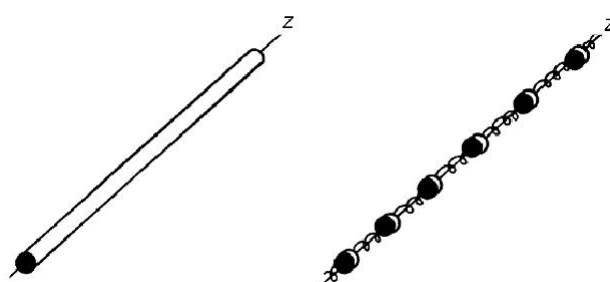
- A molécula de DNA é constituída por longas cadeias de átomos.
- Essas cadeias tem estrutura quase normal, ou seja, a molécula de DNA possui um esqueleto (cadeia açúcar-fosfato) com um padrão de repetição exato de átomos na cadeia.
- A molécula de DNA é um sistema flexível.
- A molécula de DNA possui elementos de estrutura irregular. Portanto, se queremos melhorar o modelo, devemos levar em consideração a irregularidade como um pequeno distúrbio do padrão regular do esqueleto da molécula de DNA e usar a teoria das perturbações para o tratamento matemático.

Podemos listar mais propriedades, descrevendo outros detalhes da estrutura. Na construção do modelo, podemos nos restringir a um número reduzido e bastante limitado dessas propriedades. Logo, diferentes modelos podem ser desenvolvidos, com base em diferentes objetivos. Por exemplo, se estivermos interessados na mobilidade da molécula de DNA, como um todo, em uma solução, ou a penetração da molécula através de alguns canais, ou o mecanismo de formação de uma molécula de DNA superhelical, é suficiente considerarmos a molécula como um filamento elástico. Se, no entanto, estivermos interessados no problema do reconhecimento de DNA-proteína ou transcrição é preciso levar em consideração alguns detalhes da estrutura interna.

Para descrever diferentes modelos estruturais da molécula de DNA, diferentes níveis de complexidade podem ser utilizados. Podemos classificar estes níveis em uma hierarquia (YAKUSHEVICH, 2004):

1. *Modelo de primeiro nível.* É o mais simples, onde a molécula de DNA parece ser um filamento elástico fino, com uma seção circular. Uma analogia ao modelo de bastonetes consiste em uma cadeia de discos acoplados, cada disco representando uma parte muito pequena do DNA que contém um par de base. A Figura 13 ilustra este modelo.

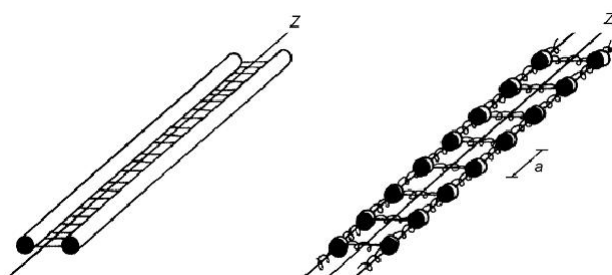
Figura 13 – Esquema do modelo de primeiro nível



Fonte: Yakushevich (2004, p. 13)

2. *Modelo de segundo nível.* Este modelo considera o fato de que a molécula consiste em duas cadeias de polinucleotídeos que interagem um com o outro por pontes de hidrogênio e que são enroladas uma em volta da outra. No caso contínuo, cada uma das cadeias é simulada por uma haste elástica uniforme, ou por uma cadeia de discos acoplados para o caso discreto. A Figura 14 ilustra este modelo.

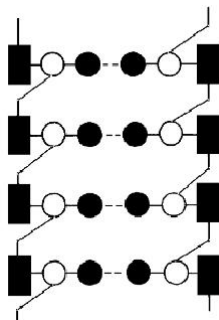
Figura 14 – Esquema do modelo de segundo nível



Fonte: Yakushevich (2004, p. 14)

3. *Modelo de terceiro nível.* Neste modelo, cada cadeia de nucleotídeos é considerada como um conjunto de subgrupos atômicos mutuamente e rigidamente ligados. A Figura 15 ilustra este modelo.

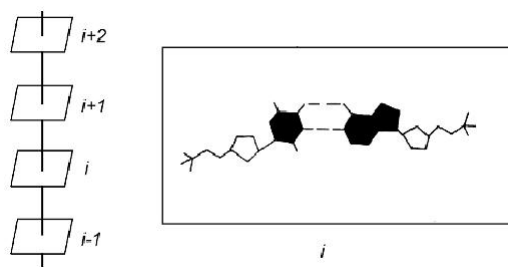
Figura 15 – Esquema do modelo de terceiro nível



Fonte: Yakushevich (2004, p. 15)

4. *Modelo de quarto nível.* Neste modelo, um conjunto finito de átomos (nucleotídeos) forma uma célula unitária que se repete quase periodicamente ao longo da molécula de DNA. A Figura 16 ilustra este modelo.

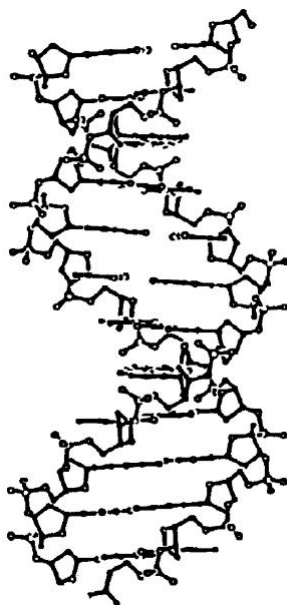
Figura 16 – Esquema do modelo de quarto nível



Fonte: Yakushevich (2004, p. 15)

5. *Modelo de quinto nível.* Este modelo é o mais realístico até então, pois leva em consideração as posições de todos os átomos da molécula. A Figura 17 ilustra este modelo.

Figura 17 – Esquema do modelo de quinto nível



Fonte: Yakushevich (2004, p. 16)

2 Bactérias

Para fins experimentais, as bactérias são seres relativamente simples e podem ser multiplicadas e manipuladas com facilidade. São seres unicelulares onde todos os componentes necessários para a síntese de DNA estão contidos em uma mesma estrutura molecular (as bactérias não tem núcleo), além de apresentar um número muito menor de componentes do que em células superiores. Desde o início da biologia molecular, as bactérias ocuparam lugar central dos estudos bioquímicos sobre os componentes necessários para a replicação do DNA, transferência de informação e regulação gênica (WATSON et al., 2006).

As bactérias apresentam um tempo de geração muito curto (o ciclo celular pode ter apenas 20 minutos) e é possível produzir facilmente uma população de células geneticamente homogênea (clones) a partir de uma única célula. Elas também são convenientes para o estudo genético porque elas são haplóides (o que significa que o fenótipo de mutações se manifesta rapidamente) e porque o material genético pode ser convenientemente permutado entre as bactérias.

2.1 Histórico da descoberta das bactérias

Em 1673, Antony van Leeuwenhoek (1632-1723) enviou uma comunicação ao então secretário da Royal Society de Londres, Henry Oldenburg, sobre suas observações em microscopia de fungos e a picada de uma abelha. Iniciava-se um processo de documentação de uma das descobertas mais notáveis e importantes em toda a literatura científica. Foram elaboradas cerca de 200 cartas para a Royal Society de Londres e outras organizações e pessoas notáveis. Muitas destas comunicações abordavam a descoberta de microorganismos, especialmente bactérias (PORTER, 1976).

Apesar das poucas informações a respeito das técnicas de construção dos microscópios de Leeuwenhoek, sabe-se que eles consistiam de uma lente convexa dupla altamente polida montada em aberturas furadas e chanfradas entre duas pequenas placas (cerca de 2 cm × 4 cm) de bronze, prata ou até mesmo de ouro, que ficavam fixos em conjunto. A habilidade especial de Leeuwenhoek estava no polimento e montagem das lentes entre as placas de metal, na obtenção da fonte adequada de luz e no foco do objeto. Seus microscópios tinham alto poder de ampliação (alguns chegavam a ampliar 275 ×) e tinham resolução média de 1 μm .

As cartas de Leeuwenhoek geralmente abordavam novas descobertas, muitas vezes em campos completamente diferentes. Suas investigações aparecem como peças isoladas de informações e não como estudos sistematicamente organizados e extensos sobre alguns assuntos. Suas investigações abrangem questões botânicas, químicas, microbiológicas, físicas, fisiológi-

cas, médicas e zoológicas.

Em 1674, Leeuwenhoek começou a escrever seus estudos sobre protozoários e no ano seguinte ele observou diversos tipos de água de canal e de infusões de pimenta e outras especiarias. Em 9 de outubro de 1676, Leeuwenhoek enviou uma de suas cartas para Oldenburg em Londres delineando suas observações engenhosas sobre os *animalculos* (fungos de carne, protozoários, bactérias e leveduras, em água e em vários tipos de infusões e microorganismos em raspagens de dentes). Todas as autoridades concordam que as observações contidas nesta carta constituem a descoberta original das bactérias.

Em uma outra carta, datada de 14 de junho de 1680 e destinada a Thomas Gale, mesmo sem ser capaz de apreciar o significado completo de seu estudo, Leeuwenhoek demonstrou que os organismos vivem e se multiplicam sob condições anaeróbicas ou facultativas. Outra carta, datada de 17 de setembro de 1683 continha uma conta dos tipos de *animalculos* vistos na saliva e raspas de dente, bem como uma especulação sobre como os organismos ficam dentro da boca.

Existem poucas informações sobre a vida de Leeuwenhoek. Ele nasceu em Delft, Holanda, em 24 de outubro de 1632 e ali morreu em 26 de agosto de 1723. Tinha alguma escolaridade e viveu por um tempo com o tio que era advogado e secretário municipal de Benthuisen, uma cidade próxima a Delft. Não há nenhuma indicação de que Leeuwenhoek planejava ser um advogado. Aos 16 anos ele foi para Amsterdã como aprendiz de comerciante de linho e após sua qualificação ele se tornou guarda-livros e caixa na loja onde trabalhava. Tempos depois, já em Delft e casado, comprou uma casa e uma loja e instalou-se como um armarinho. Quando e por que Leeuwenhoek começou a moer e montar lentes não é conhecido (PORTER, 1976).

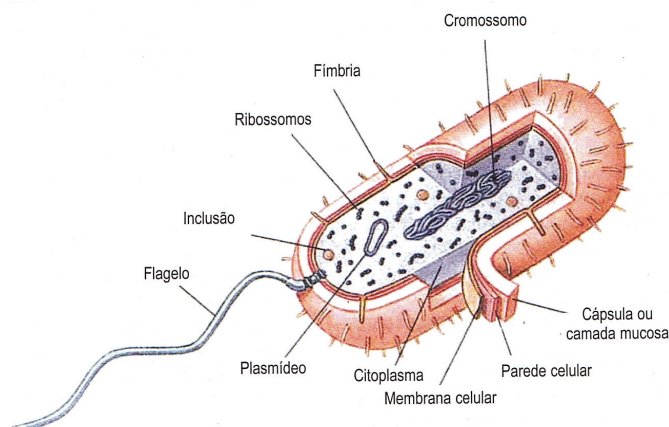
2.2 Estrutura das bactérias

As bactérias podem apresentar as formas esférica, chamada de cocos, cilíndrica ou bacilos e espiral. A célula bacteriana apresenta várias estruturas. A Figura 18 ilustra esquematicamente uma célula bacteriana típica e suas estruturas interna e externa à membrana citoplasmática (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Uma descrição breve de alguns dos constituintes das bactérias é feita abaixo:

1. Membrana citoplasmática: é uma estrutura de aproximadamente 8 nm de espessura e forma uma barreira responsável pela separação do meio interno (citoplasma) e externo, sendo vital para a célula. É composta de proteínas (60%) imersas em uma bicamada de lipídeos (40%);
2. Parede celular: a manutenção da forma bacteriana é devido a esta estrutura. Além disso, é devido a esta estrutura que as bactérias não estouram, uma vez que a pressão osmótica no interior da célula é muito superior à do meio externo (entre 15 a 20 atm). Sua estrutura

Figura 18 – Estruturas de uma célula bacteriana típica



Fonte: Trabulsi e Alterthum (2008, p. 9)

química é distinta entre as bactérias Gram-positivas e as bactérias Gram-negativas¹. O conhecimento das diferenças entre as paredes de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas é da mais alta relevância para o estudo dos mecanismos de ação dos antibióticos.

3. Cápsula ou Camada mucosa: o termo cápsula é restrito a uma camada que fica ligada à parede celular como um revestimento externo de extensão limitada e estrutura definida. No entanto, as SPEs² podem formar uma massa amorfa mais dispersa, parcialmente desligada da célula e chamada, então, camada mucosa.
4. Flagelos: o flagelo bacteriano confere movimento à célula e é formado por uma estrutura basal, um gancho e um longo filamento externo à membrana, filamento este composto exclusivamente pela proteína flagelina.
5. Fímbrias: são apêndices filamentosos protéicos que não são flagelos. Podem ser usadas como condutores de material genético durante a conjugação bacteriana. Outras funções englobam a fixação em tecidos dos quais obtém seus nutrientes.
6. Ribossomos: partículas citoplasmáticas onde ocorre a síntese protéica.
7. Plasmídeos: são moléculas de DNA circulares, menores que o cromossomo, cujos genes podem conferir vantagens seletivas às bactérias. São capazes de autoduplicação independente da replicação cromossômica e podem existir em número variável.

¹ A coloração de Gram é devido a Christian Gram que, em 1884, desenvolveu um método de coloração que permite dividir as bactérias em dois grupos. A parede das bactérias Gram-negativas apresenta grande quantidade de lipídeos, que aumenta a permeabilidade aos solventes orgânicos permitindo a descoloração (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

² As Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPEs) são polímeros orgânicos sintetizados por alguns procariotos e depositados para fora da parede. Podem desempenhar papéis muito importantes para as bactérias, como reservatório de água e nutrientes, aumento da capacidade invasiva de bactérias patogênicas, aumento da resistência microbiana a biocidas, entre outros (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

2.3 Genética bacteriana

Nas bactérias, o DNA é uma macromolécula que possui a forma de uma dupla fita circular, com cerca de 1,1 mm de comprimento, e que é altamente empacotada e dobrada para se manter dentro da célula, que mede aproximadamente 1,5 μm de comprimento (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

As alterações na estrutura química ou física do DNA são chamadas de *mutações* e podem ser ocasionadas por mutagênicos (agentes físicos ou químicos) ou por agentes genotóxicos. Esta alteração pode ou não causar alterações no produto codificado por aquele gene. O tipo mais comum de mutação envolvendo um único par de bases é a substituição de bases. Existem, ainda, mutações de troca de fase de leitura, em que alguns pares de nucleotídeos são deletados ou inseridos no DNA. Variações fenotípicas ou utilização de processos bioquímicos ou biofísicos podem identificar os mutantes (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008; TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Essas mutações espontâneas aparentemente ocorrem na ausência de intervenção de agentes causadores de mutações. Os agentes no ambiente, como certos produtos químicos e a radiação, que produzem mutações direta ou indiretamente, são denominados mutagênicos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005, p. 226).

As mutações são fonte de grande variabilidade genética que viabilizam os processos de adaptação ao meio. Elas podem ocorrer de forma espontânea, devido a erros no processo de replicação do DNA *ou exposição a influências extracelulares como radiação*³, mas também podem ocorrer de forma induzida, através de um agente genotóxico. Quando a mutação permanece estável ela pode ser transferida de uma geração para outra. Entre as principais variações fenotípicas consequentes das mutações destaca-se a resistência a drogas, onde os mutantes exibem diferentes tolerâncias a drogas como antibióticos e quimioterápicos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

A recombinação genética é o processo de permuta de fragmentos de material genético entre duas moléculas de DNA para fornecer novas combinações de genes em um cromossomo. Trata-se de um processo que contribui para a variabilidade genética de uma população e possui vantagens em relação ao processo de mutação pois “a recombinação genética tem menos chance de destruir a função de um gene e pode unir combinações de genes que permitem ao organismo realizar uma importante nova função” (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005, p. 226). Esta transferência genética pode ocorrer de forma vertical (quando os genes são passados de um organismo para seus descendentes) ou de forma horizontal (quando os genes são passados a organismos da mesma geração). A célula receptora que recebe material da célula doadora e o incorpora ao seu DNA é chamada de recombinante (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

³ Marcelo identificou inconsistência deste exemplo com a definição de mutação espontânea. Precisa ser alterado.

Três são os processos mais comuns de transferência genética em bactérias:

- Na *transformação* os genes são transmitidos de um organismo para o outro como um DNA *nu* em solução;
- Na *conjugação*, que requer contato direto entre as células doadora e receptora, um plasmídeo é replicado durante a transferência de uma cópia do filamento simples do DNA do plasmídeo para o receptor, onde o filamento complementar é sintetizado;
- A *transdução* é mediada por um vírus (o bacteriófago ou fago) onde este se fixa à parede celular da bactéria e a infecta com seu DNA. Este DNA serve com molde para a síntese de novos DNAs de fagos. O cromossomo bacteriano é fragmentado pelas enzimas do fago e alguns fragmentos de DNA bacteriano são erroneamente empacotados no revestimento proteico do fago. Assim, quando as partículas do fago forem liberadas e infectarem novas bactérias transferirão os genes bacterianos às células hospedeiras receptoras. Este processo pode ocorrer, também, para genes específicos.

Os plasmídeos são fragmentos de DNA, auto-replicantes, circulares, contendo genes e com cerca de 5% do tamanho de um cromossomo bacteriano. “Embora os plasmídeos geralmente sejam dispensáveis, em certas condições os genes transportados pelos plasmídeos podem ser cruciais para a sobrevivência da célula e seu crescimento” (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005, p. 240).

Podemos citar os plasmídeos conjugativos, que transportam os genes dos *pili* sexuais (projeções da superfície da célula doadora que entram em contato com a receptora e auxiliam a unir as duas células em contato direto para a conjugação) e da transferência do plasmídeo para outra célula. Os plasmídeos de dissimilação codificam enzimas que ativam o catabolismo de algumas substâncias tais como açúcares e hidrocarbonetos. Outros plasmídeos codificam proteínas que aumentam a patogenicidade de uma bactéria. Existem plasmídeos que codificam para a síntese de bacteriocinas, proteínas tóxicas que matam outras bactérias. Os fatores R (fatores de resistência) são plasmídeos que transportam genes que conferem à célula hospedeira resistência a antibióticos, metais pesados ou toxinas celulares. Alguns destes plasmídeos possuem dois grupos de genes: o fator de transferência de resistência (inclui genes para a replicação do plasmídeo e conjugação) e o r-determinante (contém os genes de resistência) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

3 Um modelo matemático para o Plasmídeo

Neste capítulo, abordaremos o desenvolvimento de um modelo matemático para descrever o plasmídeo e algumas propriedades intrínsecas ao modelo¹.

3.1 O desenvolvimento

Conforme Al-Zhour, Aqel e Ibrahim (2008), a molécula de DNA pode ser considerada como uma haste elástica com uma seção transversal circular de raio r , que geralmente pode ser tratada como homogênea e linearmente elástica. No caso do DNA plasmidal, a estrutura é de um toróide espiral, que pode ser obtido de forma semelhante à obtenção da hélice que descreve o DNA.

Como vimos anteriormente, os parâmetros necessários para descrever a hélice do DNA são: *passo* (P), número de nucleotídeos por volta (n), distância entre os nucleotídeos adjacentes ao longo da cadeia (h) e ângulo de rotação da hélice (t). Para o estudo do DNA obtemos os seguintes resultados: $n = 10$, $h = 3,4 \text{ Å}$, $P = 34 \text{ Å}$ e $t = 36^\circ$. Antes de prosseguirmos com a construção do modelo, analisemos a construção da hélice e suas propriedades em relação às propriedades apresentadas por Yakushevich (2004).

A curva parametrizada

$$\alpha(t) = (r \cos t, r \sin t, bt) \quad (3.1)$$

$t \in \mathbb{R}$, $b \neq 0$, é uma hélice circular de raio r centrada na origem do espaço euclidiano. Neste caso, t representa o parâmetro da hélice. Se dois pontos $\alpha(t_1)$ e $\alpha(t_2)$ são tais que as duas primeiras coordenadas são respectivamente iguais, então as terceiras coordenadas diferem por um múltiplo de $2\pi b$, o passo da hélice (TENENBLAT, 2008).

Agora, precisamos colocar os dados obtidos de Yakushevich (2004) para descrever a hélice do DNA. Como o diâmetro do DNA é de 20 Å , o raio é de 10 Å . Temos que o passo é de 34 Å . Logo, $b = \frac{34}{2\pi}$. Assim, temos a nossa primeira equação para a hélice do DNA, descrita por

$$\alpha(t) = \left(10 \cos t, 10 \sin t, \frac{17}{\pi} t \right) \quad (3.2)$$

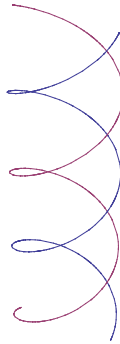
¹ Tânia sugere que seja feita uma seção contendo os pré-requisitos de Matemática (Definição de curva parametrizada, curvatura, torção, triedro de Frenet, passo de uma hélice e toróide espiral). Eu fiz esta seção em 3 folhinhas de rascunho e acho que não há problema algum em realmente existir esta seção. Acredito que vá contribuir ainda mais com o trabalho.

Como o DNA é uma estrutura de dupla hélice, será necessária uma hélice complementar à hélice dada. A dupla hélice de DNA é descrita, então, por duas equações:

$$\begin{cases} \alpha_1(t) = \left(10 \cos t, 10 \operatorname{sent}, \frac{17}{\pi} t \right) \\ \alpha_2(t) = \left(-10 \cos t, -10 \operatorname{sent}, \frac{17}{\pi} t \right) \end{cases}^2 \quad (3.3)$$

A Figura 19 mostra o gráfico destas curvas.

Figura 19 – Gráfico do Helicóide adaptado aos parâmetros do DNA



Fonte: Produzido pelo autor com o auxílio do software Mathematica

Como a cada volta completa do DNA existem 10 pares de base ligados por pontes de hidrogênio, uma imagem que melhor representaria a situação que abordamos até então é a Figura 20.

Para o caso específico de um DNA plasmidal, sabemos que sua estrutura se assemelha a de um toro. Precisamos de uma nova construção, onde o objetivo é construir uma curva que descreva uma hélice, mas no toro e não mais no cilindro. Nossa situação inicial, agora, é a de uma circunferência $\alpha(u) = (R + r \cos u, 0, \operatorname{senu})$, $u \in \mathbb{R}$, onde $0 < r < R$, que é a curva que descreve a circunferência contida no plano $x \circ z$, centrada no ponto $(R, 0, 0)$, de raio r . Considerando a rotação de α em torno do eixo z , obtemos a superfície de rotação

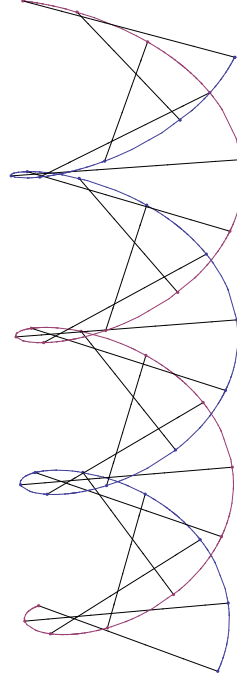
$$X(u, v) = ((R + r \cos u) \cos v, (R + r \cos u) \operatorname{senv}, r \operatorname{senu}), \quad (3.4)$$

$(u, v) \in \mathbb{R}^2$, que descreve o toro, como na Figura 21.

Temos, então, que os termos $R + r \cos u$ e $r \operatorname{senu}$ são as funções coordenadas da circunferência que foi rotacionada. Porém, queremos que a hélice tenha a *orientação de mão direita*

² Tânia sugere explicar porque uma nova cadeia.

Figura 20 – Representação de um DNA



Fonte: Produzido pelo autor com o auxílio do software Mathematica

(*hélice direita*)³. Logo, a equação que descreve a *hélice inscrita no toro*⁴, a que chamaremos de *toróide espiral* será descrita por

$$\beta_1(t) = ((R - r \cos nt) \cos t, (R - r \cos nt) \sin t, r \operatorname{sen} nt), \quad (3.5)$$

Mas como queremos a cadeia dupla, temos que

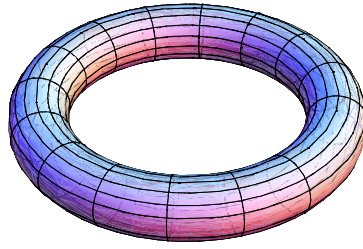
$$\begin{cases} \beta_1(t) = ((R - r \cos nt) \cos t, (R - r \cos nt) \sin t, r \operatorname{sen} nt) \\ \beta_2(t) = ((R + r \cos nt) \cos t, (R + r \cos nt) \sin t, -r \operatorname{sen} nt), \end{cases} \quad (3.6)$$

$t \in \mathbb{R}$, $b \neq 0$ e n indicando o número de voltas completas. Novamente como exposto anteriormente, queremos o modelo para o DNA plasmidal. Como n indica a quantidade de voltas, torna-se necessário fazer o cálculo de quantas voltas a dupla hélice de DNA realiza para cada plasmídeo. Também torna-se necessário saber qual o valor do raio do plasmídeo para completar a informação em R .

³ Tânia sugere esclarecer o que vem a ser uma orientação de mão direita

⁴ Tânia sugere que não se use esta nomenclatura e sugere, ainda, que seja feita uma figura do toro com as representações das espirais (se for fazer a figura, fazer também uma figura da circunferência centrada em $(R, 0, 0)$ de raio r , para o parágrafo “Para o caso específico de um DNA plasmidal”

Figura 21 – Toro



Fonte: Produzido pelo autor com o auxílio do software Mathematica

Se encararmos o DNA plasmidal como uma circunferência, podemos calcular o raio R , desde que saibamos o comprimento da circunferência, ou seja, o tamanho da molécula. Porém, em geral, são fornecidos apenas os dados da quantidade de pares de base que uma molécula de DNA plasmidal possui. Contudo, sabemos que os pares de base se distanciam uns dos outros por 3,4 Å. Daí, chamando de x o número de pares de base de uma molécula, o raio R será dado por

$$R = \frac{3,4x}{2\pi} \quad (3.7)$$

Além disso, a quantidade de voltas n pode ser calculada também: sabemos que uma volta completa do DNA contém 10 pares de base. Com uma conta simples, encontramos que

$$n = \frac{x}{10} \quad (3.8)$$

sendo x^5 a quantidade de pares de base da molécula.

Agora, podemos descrever as equações das hélices duplas da cadeia de DNA plasmidal incluindo os dados de DNA expostos acima

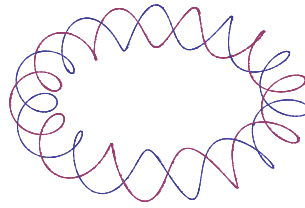
$$\begin{cases} \beta_1(t) = \left(\left(\frac{1,7x}{\pi} - 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \cos t, \left(\frac{1,7x}{\pi} - 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \sin t, 10 \sin\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \\ \beta_2(t) = \left(\left(\frac{1,7x}{\pi} + 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \cos t, \left(\frac{1,7x}{\pi} + 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \sin t, -10 \sin\left(\frac{x}{10}t\right) \right), \end{cases} \quad (3.9)$$

onde x indica a quantidade de pares de base da molécula de DNA plasmidal. A Figura 22 ilustra estas curvas.

Para completar a visualização, sabemos que a cada volta completa do DNA existem 10 pares de base e que ambos estão ligados por pontes de hidrogênio. Utilizando um software, podemos plotar uma imagem representativa de um modelo de DNA com os parâmetros acima citados, utilizando as equações descritas e as características da molécula. Chegamos, então à Figura 23.

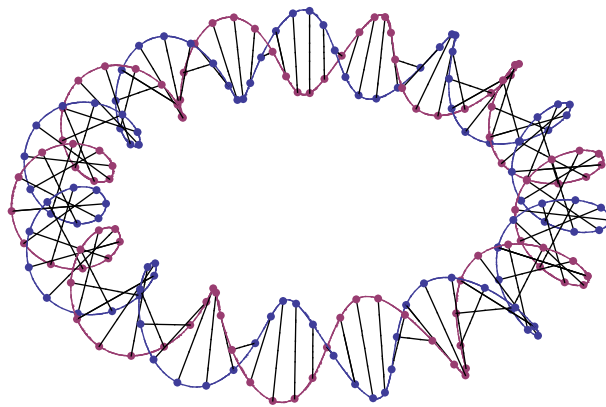
⁵ Tânia sugere usar x_0 ou outra notação mais adequada

Figura 22 – Toroide Espiral adaptado aos parâmetros do DNA plasmidal para 100 pares de base



Fonte: Produzido pelo autor com o auxílio do software Mathematica

Figura 23 – Representação do DNA plasmidal para 100 pares de base



Fonte: Produzido pelo autor com o auxílio do software Mathematica

3.2 Propriedades matemáticas

Agora nós podemos apresentar as propriedades matemáticas do modelo desenvolvido para o plasmídeo de bactéria, mais especificamente a curvatura e a torção da curva que descreve o toróide espiral. Para tanto, torna-se necessário calcular as derivadas de ordem até 3 de $\beta(t)$, além dos produtos vetoriais envolvidos e das normas apresentadas, com suas respectivas potências. Conforme Tenenblat (2008), dada uma curva regular (com qualquer parâmetro) podemos calcular o *Triedro de Frenet*, a *curvatura* e a *torção* sem a necessidade de uma reparametrização pelo comprimento de arco, utilizando a Equação 3.10 e a Equação 3.11.

$$\kappa(t) = \frac{|\beta'(t) \times \beta''(t)|}{|\beta'(t)|^3} \quad (3.10)$$

$$\tau(t) = \frac{\langle \beta'(t) \times \beta'''(t), \beta''(t) \rangle}{|\beta'(t) \times \beta''(t)|^2} \quad (3.11)$$

Para tanto, é necessário calcular as derivadas de ordem até 3 de $\beta(t)$, além dos produtos vetoriais envolvidos e das normas apresentadas, com suas respectivas potências. A curva utilizada para estes cálculos é a dada na Equação 3.12.

$$\beta(t) = \left(\left(\frac{1,7x}{\pi} - 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \cos t, \left(\frac{1,7x}{\pi} - 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \text{sent}, 10 \sin\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \quad (3.12)$$

As derivadas de ordem até três seguem abaixo.

$$\begin{aligned} \beta'(t) = & \left(\left(-\frac{1,7x}{\pi} + 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \text{sent} + x \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t \right) \vec{i} \\ & + \left(\left(\frac{1,7x}{\pi} - 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \cos t + x \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \text{sent} \right) \vec{j} + \left(x \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \vec{k} \end{aligned} \quad (3.13)$$

$$\begin{aligned} \beta''(t) = & \left(\left(-\frac{1,7x}{\pi} + 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \cos t - 2x \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \text{sent} + \frac{x^2}{10} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t \right) \vec{i} \\ & + \left(\left(-\frac{1,7x}{\pi} + 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \text{sent} + 2x \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t + \frac{x^2}{10} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \text{sent} \right) \vec{j} \\ & + \left(-\frac{x^2}{10} \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \vec{k} \end{aligned} \quad (3.14)$$

$$\begin{aligned} \beta'''(t) = & \left(\left(\frac{1,7x}{\pi} - 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \text{sent} - 3x \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t - \frac{3x^2}{10} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \text{sent} \right. \\ & - \frac{x^3}{100} \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t \left. \right) \vec{i} + \left(\left(-\frac{1,7x}{\pi} + 10 \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \cos t - 3x \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \text{sent} \right. \\ & + \frac{3x^2}{10} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t - \frac{x^3}{100} \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \text{sent} \left. \right) \vec{j} + \left(-\frac{x^3}{100} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \vec{k} \end{aligned} \quad (3.15)$$

Os produtos vetoriais necessários para os cálculos da curvatura e da torção seguem abaixo.

$$\begin{aligned} \beta'(t) \times \beta''(t) = & \left(\frac{1,7x^2}{\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \text{sent} - \frac{1,7x^3}{10\pi} \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t - 10x \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) \text{sent} \right. \\ & - x^2 \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t - \frac{x^3}{10} \text{sent} \left. \right) \vec{i} + \left(-\frac{1,7x^2}{\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t \right. \\ & - \frac{1,7x^3}{10\pi} \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \text{sent} - 10x \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t \\ & - x^2 \text{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \text{sent} + \frac{x^3}{10} \cos t \left. \right) \vec{j} + \left(\frac{2,89x^2}{\pi^2} \right. \\ & - \frac{34x}{\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) - \frac{1,7x^3}{10\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) + 100 \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) \\ & + x^2 \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) + 2x^2 \text{sen}^2\left(\frac{x}{10}t\right) \left. \right) \vec{k} \end{aligned} \quad (3.16)$$

$$\begin{aligned}
\beta'(t) \times \beta'''(t) = & \left(\frac{1,7x^2}{\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t - \frac{1,7x^4}{100\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t \right. \\
& - 10x \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t + 3x^2 \operatorname{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \operatorname{sent} \\
& - \frac{2x^3}{10} \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t \Big) \vec{i} + \left(\frac{1,7x^2}{\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \operatorname{sent} \right. \\
& - \frac{1,7x^4}{100\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \operatorname{sent} - 10x \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) \operatorname{sent} \\
& - 3x^2 \operatorname{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \cos t - \frac{2x^3}{10} \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) \operatorname{sent} \Big) \vec{j} \\
& + \left(\frac{3,4x^2}{\pi} \operatorname{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) + \frac{1,7x^4}{100\pi} \operatorname{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) - 20x \operatorname{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right. \\
& \left. + \frac{2x^3}{10} \operatorname{sen}\left(\frac{x}{10}t\right) \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \right) \vec{k}
\end{aligned} \tag{3.17}$$

O produto interno envolvido no cálculo da torção segue abaixo.

$$\begin{aligned}
\langle \beta'(t) \times \beta'''(t), \beta''(t) \rangle = & -\frac{1,7x^6}{100\pi} - \frac{2,89x^3}{\pi^2} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) + \frac{2,89x^5}{100\pi^2} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \\
& + \frac{34x^2}{\pi} \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) - 100x \cos^3\left(\frac{x}{10}t\right) - 3x^3 \cos^3\left(\frac{x}{10}t\right) \\
& - \frac{2x^5}{100} \cos^3\left(\frac{x}{10}t\right) - 4x^3 \operatorname{sen}^3\left(\frac{x}{10}t\right) \cos\left(\frac{x}{10}t\right) \\
& - \frac{2x^5}{100} \operatorname{sen}^2\left(\frac{x}{10}t\right) \cos\left(\frac{x}{10}t\right)
\end{aligned} \tag{3.18}$$

As normas envolvidas nos cálculos, com suas respectivas potências seguem abaixo.

$$|\beta'(t)| = \sqrt{-\frac{2,89x^2}{\pi^2} + x^2 + 100 \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) - \frac{34x}{\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right)} \tag{3.19}$$

$$|\beta'(t)|^3 = \sqrt{\left(-\frac{2,89x^2}{\pi^2} + x^2 + 100 \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) - \frac{34x}{\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right)\right)^3} \tag{3.20}$$

$$\begin{aligned}
|\beta'(t) \times \beta''(t)| = & \left(-\frac{2,89x^4}{\pi^2} \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) + \frac{2,89x^6}{100\pi^2} \operatorname{sen}^2\left(\frac{x}{10}t\right) + 100x^2 \cos^4\left(\frac{x}{10}t\right) \right. \\
& + x^4 \operatorname{sen}^2\left(\frac{x}{10}t\right) \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) + \frac{x^6}{100} - \frac{34x^3}{\pi} \cos^3\left(\frac{x}{10}t\right) \\
& \left. - \frac{3,4x^5}{10\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) + \frac{3,4x^5}{10\pi} \operatorname{sen}^2\left(\frac{x}{10}t\right) \cos\left(\frac{x}{10}t\right) + 2x^4 \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) \right)^{\frac{1}{2}}
\end{aligned} \tag{3.21}$$

$$\begin{aligned}
|\beta'(t) \times \beta''(t)|^2 = & -\frac{2,89x^4}{\pi^2} \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) + \frac{2,89x^6}{100\pi^2} \operatorname{sen}^2\left(\frac{x}{10}t\right) + 100x^2 \cos^4\left(\frac{x}{10}t\right) \\
& + x^4 \operatorname{sen}^2\left(\frac{x}{10}t\right) \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right) + \frac{x^6}{100} - \frac{34x^3}{\pi} \cos^3\left(\frac{x}{10}t\right) \\
& - \frac{3,4x^5}{10\pi} \cos\left(\frac{x}{10}t\right) + \frac{3,4x^5}{10\pi} \operatorname{sen}^2\left(\frac{x}{10}t\right) \cos\left(\frac{x}{10}t\right) + 2x^4 \cos^2\left(\frac{x}{10}t\right)
\end{aligned} \tag{3.22}$$

Portanto, a curvatura do toróide espiral é dado pela Equação 3.10, onde os termos $|\beta'(t) \times \beta''(t)|$ e $|\beta'(t)|^3$ são dados pela Equação 3.21 e pela Equação 3.20, respectivamente. Além disso, a torção é dada pela Equação 3.11 e os termos $\langle \beta'(t) \times \beta'''(t), \beta''(t) \rangle$ e $|\beta'(t) \times \beta''(t)|^2$ são dados pela Equação 3.18 e pela Equação 3.22, respectivamente.⁶

⁶ Tânia sugere que sejam simplificados os termos ao máximo e sugere, ainda, reescrever as equações da curvatura e torção nesta página, mas com os respectivos valores

Considerações Finais

A construção coletiva do conhecimento sobre o arranjo físico tridimensional da molécula de DNA foi impulsionada por pesquisas que, em sua maioria, utilizavam seres microscópicos para análises, como bactérias. Estes seres ocuparam lugar central nas discussões, o que credibiliza o uso destes organismos para o estudo das propriedades do DNA, além do fato de serem mais simples de estudar. Este processo de descoberta foi bastante demorado e reuniu os trabalhos de diversos cientistas do mundo, fato que não é observado na descoberta das bactérias e de alguns seres microscópicos, cuja descoberta tem mérito reconhecido a Antony van Leeuwenhoek e suas cartas e pesquisas com microscópios.

A estrutura química linear da cadeia dupla de DNA (não há ramificações) somada a fatores como a intensidade das forças das ligações de hidrogênio e covalentes, além da relação de emparelhamento das bases com suas respectivas intensidades de ligações de hidrogênio permitem a construção de modelos capazes de descrever diversas propriedades da biomolécula. Ainda, devido à estrutura da molécula, diferentes modelos podem ser desenvolvidos de acordo com o interesse de pesquisa.

Para o presente trabalho, podemos verificar que a construção do modelo e os cálculos das propriedades matemáticas levaram em consideração a posição dos nucleotídeos ao longo da cadeia, além de suas ligações de hidrogênio, o que caracteriza um modelo de nível 2, conforme classificação de Yakushevich (2004).

Como o DNA plasmidal é circular e a biomolécula apresenta estrutura helicoidal, obtém-se uma figura geométrica denominada toróide espiral duplo. Sua simplicidade permite construir um modelo que melhor representa um plasmídeo de bactéria, a partir de informações conhecidas de um plasmídeo, por meio do número de pares de base que compõem a estrutura.

Neste trabalho foi apresentado um modelo matemático tridimensional para o plasmídeo de uma bactéria que utiliza expressões algébricas “simples” para descrever a forma da estrutura molecular do objeto em questão. Este modelo tem como entrada o número de pares de base que compõe o plasmídeo e prevê propriedades geométricas como curvatura e torção. É natural se perguntar quais outras propriedades matemáticas (e até químicas e mecânicas) podem ser obtidas a partir deste modelo.

As propriedades aqui estudadas fornecem informações de um estado estacionário da molécula (ou configuração inicial), que pode ser adotada, principalmente, para análise de modelos de dinâmica molecular.

Referências

- AL-ZHOUR, Z.; AQEL, A. A.; IBRAHIM, A. Mathematical properties of DNA structure in 3-dimensional space. *International Journal of Open Problems in Computer Science and Mathematics. IJOPCM*, Irbid National University, Irbid, v. 1, n. 3, p. 214–221, 2008. Disponível em: <<http://eudml.org/doc/225662>>. Acesso em: 26 ago 2013.
- FERREIRA, M. d. F. O. Contribuições da Genética à Teoria da Evolução. In: *Engenharia Genética: o sétimo dia da criação*. São Paulo: Editora Moderna, 1995. cap. 3, p. 32–43.
- FERREIRA, R. *Watson e Crick: a História da Descoberta da Estrutura do DNA*. São Paulo: Editora Odysseus, 2003. (Imortais da Ciência). ISBN 85-88023-26-21.
- GONZÁLEZ, C. J. P. *Localização de Modos Vibracionais em Sistemas de Baixa Dimensionalidade: uma Aplicação ao DNA*. 139 p. Dissertação (Mestrado) — UNICAMP, Campinas, 2009. Disponível em: <<http://webbif.ifi.unicamp.br/tesesOnline/teses/IFI67.pdf>>. Acesso em: 18 set 2013.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de Bioquímica*. 3. ed. São Paulo: Artmed, 2002. ISBN 85-7378-125-4.
- MOREIRA, J. C.; DICKSTEIN, F. *Um Modelo Matemático para o DNA*. Dissertação (Mestrado) — UFRJ, Rio de Janeiro, 1997.
- PORTER, J. R. Antony van Leeuwenhoek: Tercentenary of His Discovery of Bacteria. *Bacteriological Reviews*, v. 40, n. 2, p. 260–269, June 1976. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC413956>>. Acesso em: 2 ago 2013.
- RIBEIRO, N. F. *Uso de uma Rede Unidimensional Harmônica com Potencial de Rosen-Morse on site para modelar o DNA*. 38 p. Dissertação (Mestrado) — UNESP, São José do Rio Preto, 2009. Disponível em: <http://athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/brp/33004153068P9/2009/ribeiro_nf_me_sjrp.pdf>. Acesso em: 18 set 2013.
- ROCHA, A. S. L. da. *Modelo de Sistema de Comunicações Digital para o Mecanismo de Importação de Proteínas Mitocondriais Através de Códigos Corretores de Erros*. 165 p. Dissertação (Mestrado) — Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação - Departamento de Telemática, Campinas, 2010. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000480527&opt=4>>. Acesso em: 18 set 2013.
- SILVA, R. A. d. S. *Modelo Vibro-Rotacional para a Molécula de DNA*. 65 p. Tese (Doutorado) — UNESP, São José do Rio Preto, 2008. Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/brp/33004153068P9/2008/silva_ras_dr_sjrp.pdf>. Acesso em: 18 set 2013.
- TENENBLAT, K. *Introdução à Geometria Diferencial*. 2. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2008. ISBN 978-85-212-0467-1.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. ISBN 978-85-363-0488-5.
- TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. 5. ed. São Paulo: Ateneu, 2008. ISBN 978-85-7379-981-1.

WATSON, J. D. et al. *Biologia Molecular do Gene*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

YAKUSHEVICH, L. V. *Nonlinear Physics of DNA*. 2. ed. Germany: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2004. ISBN 3-527-40417-1.