

CBPF-MO-002/85

EVOLUÇÃO MOLECULAR E A ORIGEM DA VIDA\*

por

Ricardo Ferreira\*\*

Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas - CBPF/CNPq  
Rua Dr. Xavier Sigaud, 150  
22290 - Rio de Janeiro, RJ - Brasil

\*Conferência realizada em 18 de outubro de 1984, na Academia Brasileira de Ciências.

\*\*Pesquisador, Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, Rio de Janeiro e Professor (licenciado) do Departamento de Química Fundamental, UFPE, Recife.

## 1 INTRODUÇÃO

Sem cometer a temeridade de definir o conceito de *vida*, podemos contudo precisar as características dos *sistemas vivos*. Um sistema capaz de se *autoreplicar* e, ao longo do tempo, *evoluir*, é um sistema vivo. Esta harmoniosa combinação de *permanência e mudança* é possivelmente a mais notável propriedade dos sistemas vivos. A *autoreplicação* significa que, em ambientes de considerável desordem, tanto molecular como macroscópica (temperaturas em torno de 300°K, sistemas polifásicos) *Escherichia colli* reproduz *Escherichia colli*, e *Homo sapiens* reproduz *Homo sapiens*. A *autoreplicação*, porém, deve estar associada a uma taxa apropriada de *erros*, produzidos pela agitação térmica das moléculas, pela interação com substâncias químicas, por radiações ionizantes, etc. Taxas menores, ou nula, de erros na replicação reduziria a oportunidade de evolução; seu ritmo seria menor, ou nulo, e bactérias como a *E. colli*, se existissem, poderiam ser os mais evoluídos dos seres vivos.

No processo de crescimento que antecede a replicação, o sistema vivo reordena materiais que são incorporados do meio ambiente, diminuindo sua entropia. Nisto não vai violação alguma ao 2º Princípio da Termodinâmica, pois os sistemas vivos são abertos, com troca constante de materiais e energia com o meio, do qual são em geral separados por membranas semipermeáveis. Seja  $S_t$  a entropia do Universo; podemos escrever:

$$S_t = S_s + S_a \quad (1)$$

onde os índices  $s$  e  $a$  indicam, respectivamente, o *sistema* e o *ambiente*. O 2º Princípio é expresso pela condição:

$$\Delta S_t = \Delta S_s + \Delta S_a \geq 0 \quad (2)$$

Se a entropia de um sistema diminui,  $\Delta S_s < 0$ , necessariamente a entropia do ambiente aumenta,  $\Delta S_a > 0$ . Isto pode ocorrer de duas maneiras: se  $|\Delta S_s| = |\Delta S_a|$ , então  $\Delta S_t = 0$  e o sistema está em equilíbrio com o meio. Se alguma mudança está ocorrendo com o sistema, como durante o crescimento e a replicação celulares, neste caso  $|\Delta S_a| > |\Delta S_s|$  e  $\Delta S_t > 0$ . Dizemos que a mudança, ou modificação, é *irreversível*.

Os processos que ocorrem nos seres vivos, levando ao seu crescimento e duplicação, indicam que *esses sistemas estão fora do equilíbrio*. A morte, ao contrário, inicia processos que levam o antigo sistema vivo a ficar em equilíbrio com o ambiente. A pergunta sobre quão longe do equilíbrio estão em geral os sistemas vivos é muito importante e não foi ainda completamente respondida. Assumiremos aqui a posição conservadora, de que os sistemas vivos estão *perto do equilíbrio*, de maneira que mesmos os fenômenos que ocorram numa escala de tempo bastante curta ( $\tau \geq 10^{-12}$  seg) podem ser analisados por métodos de termodinâmica de equilíbrio, aplicados a etapas sucessivas. Contudo, a evolução, como um todo, não corresponde a um processo de minimização do potencial químico de Gibbs dos sistemas e, portanto, não é um problema de equilíbrio.

A vida na Terra, apesar de nos parecer estonteantemente multiforme, apresenta uma notável *unicidade* quando analisada nos seus níveis moleculares mais fundamentais. Assim é que todas as espécies vivas possuem 1) a mesma bioquímica

dos processos básicos, 2) o mesmo código genético e, 3) a mesma quiralidade molecular. Tudo isto sugere fortemente uma origem única para a vida na Terra, ou, pelo menos, o predomínio em eras remotas de uma das formas de vida originais. Esta parece ser a opinião da maioria dos biólogos hoje, o que não impede de mencionarmos duas questões relacionadas com o problema. Primeiro, devemos inquirir sobre a possibilidade da vida ter se originado em outras regiões do espaço interestelar e transportada para a Terra. A outra questão refere-se à possibilidade de existir vida, mesmo vida inteligente, ou mais inteligente que a nossa, em outras regiões do espaço, em particular em outros sistemas planetários. A resposta positiva a esta questão é altamente provável, mas a *experiência crucial* ainda não foi realizada.

## 2 O APARECIMENTO DA VIDA COMO PARTE DA EVOLUÇÃO GERAL DO UNIVERSO

O diagrama da Figura 1 procura situar a origem e a evolução da vida no grande panorama de evolução do Universo. De acordo com a teoria cosmológica padrão, a do Big Bang, a origem do Universo (técnicamente, uma discontinuidade no espaço-tempo) ocorreu em torno de  $- 20 \times 10^9$  anos (tomamos o zero do tempo como o presente; tempos passados são negativos). Como chegamos a esse valor para a idade do Universo? As galáxias mais afastadas que se conhece apresentam um deslocamento Doppler-Fizeau que corresponde a uma velocidade radial de  $140.000 \text{ km} \cdot \text{seg}^{-1}$ . Se tomarmos para a constante de

Hubble o valor de  $50 \text{ km. seg}^{-1}$   $\text{Megaparsec}^{-1}$ , o mais aceito atualmente, essas galáxias devem estar a  $12 \times 10^9$  anos-luz de nós. É razoável, portanto, atribuir uma idade desta ordem ( $\sim 15 \times 10^9$  anos) às galáxias; por extrapolação, o Big Bang teria ocorrido há -  $20 \times 10^9$  anos.

Os astrofísicos estão razoavelmente seguros que os planetas e os meteoritos formaram-se ao mesmo tempo que o protosol se condensava do gás inter-estelar resultante do Big Bang. As evidências são que esse processo ocorreu cerca de  $\sim 5 \times 10^9$  anos. Vários métodos de datação baseados no teor de isótopos radioativos dão aos meteoritos uma idade de  $4.6 \times 10^9$  anos, e esta deve ser também a idade da nossa Terra. Grande parte da primitiva geologia foi modificada por acontecimentos tectônicos posteriores. Contudo, em rochas sedimentárias das mais antigas, como as formações Fig Tree e Onverwacht da Africa Meridional, foram encontrados microfósseis que lembram bactérias (Figura 2).

Essas rochas, datadas com várias técnicas de análise isotópica, têm a idade de 3.2 e 3.4 bilhões de anos, respectivamente. Com bases em dados deste tipo podemos concluir que formas simples de vida apareceram na Terra 1 bilhão de anos depois de sua formação, isto é, há -  $3.5 \times 10^9$  anos. O período que vai de - 4.5 bilhões de anos (formação da Terra) e - 3.5 bilhões de anos (aparecimento de sistemas vivos) é o período prebiótico, sobre o qual falaremos com algum detalhe na Seção 4. No momento gostaríamos de apresentar uma visão panorâmica da Evolução terrestre, começando com a evolução da atmosfera primitiva, há -  $4.5 \times 10^9$  anos, até o aparecimento de homídeos, há poucos milhões de anos atrás.

- 5 -

A Figura 3 mostra algumas etapas na evolução da Terra nos seus primeiros 500 milhões de anos. Note-se em particular as modificações sofridas pela atmosfera. As Figuras 4 e 5 são representações simplificadas da escala de tempo geológico. Vemos assim que durante 2 bilhões de anos (entre  $-3.5 \times 10^9$  e  $-1.5 \times 10^9$  anos), a vida na Terra se resume a seres unicelulares, primeiro bactérias anaeróbicas, e, a partir de  $-2.5 \times 10^9$  anos, bactérias fotosintéticas. Estas últimas, e as algas que se lhes seguiram, deram origem a quase todo oxigênio molecular contido na atmosfera, uma grande mudança na natureza química da nossa atmosfera. Há - 1.5 bilhões de anos houve uma grande modificação neste cenário, com o aparecimento de *células eucarióticas*, isto é, células com núcleos diferenciados contendo o material genético (genes) concentrado em *cromossomas* bem definidos. Essa divisão dos seres vivos em eucariotas e procariotas (células sem núcleo) é a mais fundamental da Evolução (Figura 6).

Pelo fim do Pre-Cambriano (-650 bilhões de anos) aparecem os primeiros metazoários, animais multicelulares. Como esses animais não tinham ainda carapaças, os fósseis continuam raros. A partir do Cambriano, porém (entre - 570 e -500 milhões de anos), há uma verdadeira explosão de seres cada vez mais complexos, que caracterizam a era Fanerozoica

Esquemáticamente, portanto, podemos representar as etapas da biogênese no seguinte quadro.

## ETAPAS DA BIOGÊNESE

	TEMPO (em $10^9$ anos)
1. Formação da Terra com atmosfera redutora ( $H_2, NH_3, H_2O, CH_4$ , etc.)	-4.5
2. Formação de moléculas orgânicas simples ( $NH_2, CH_2, COOH$ , etc.)	-4.5 a -3.5
3. Formação de polímeros autoreplicáveis	-3.5
4. Aparecimento de células procarióticas (com membranas)	-3.3
5. Aparecimento de cianobactérias (fotossíntese)	-3.0
6. Aparecimento de eucariotas	-1.5
7. Aparecimento de seres multicelulares	-0.65

Embora falte ainda um grande número de detalhes sobre a Evolução Biológica, as linhas gerais propostas por Darwin e Wallace, e por Mendel e Morgan, foram firmemente estabelecidas por estudos envolvendo várias disciplinas biológicas: bacteriologia, citologia, virologia, genética e bioquímica. Os esforços de cientistas nessas áreas se fundiram nos últimos 50 anos com idéias e informações vindas de físicos e químicos como Astbury, Bernal, Watson, Crick, Pauling, Wilkins e Perutz, dando origem à *biologia molecular*. Surgiu

então uma percepção importante, e correta nas suas linhas mestras: a de que, essencialmente, as *funções* nos seres vivos, são exercidas por *proteínas*, e o *projeto* está contido nos *ácidos nucleicos*.

Uma proteína é um polímero linear cujas unidades estruturais são aminoácidos. Quimicamente conhece-se centenas de diferentes aminoácidos, mas apenas 20 deles formam proteínas. A substância dos cromossomas, o ácido desoxiribonucleico (DNA), é responsável pela especificação das proteínas do organismo. O DNA é também um polímero, mas suas unidades são os nucleotídios, em número de apenas 4, geralmente designados pelas iniciais dos seus nomes químicos, adenina (A), citosina (C), timina (T) e guanina (G). Nos RNAs, que servem de intermediários entre o DNA e as proteínas, a timina está substituída pela uracila (U). A sequência dos nucleotídios no DNA de um gene é colinear com respeito à sequência de aminoácidos na proteína correspondente. Três nucleotídios consecutivos codificam para cada aminoácido. Desde que 4 diferentes nucleotídios, agrupados 3 a 3, podem formar 64 sinais, e só é necessário codificar para 20 diferentes aminoácidos, pode haver até 6 diferentes tripletes de bases nucleotídicas codificando para o mesmo aminoácido (dizemos que o código genético é degenerado). O código, que é o mesmo para todas as espécies conhecidas, está representado na Figura 7. Cada triplete de nucleotídios constitui um *codon*; além dos codons correspondentes aos aminoácidos, três deles correspondem ao sinal de parar a síntese da cadeia polipeptídica (stop). O sinal de começar (start) envolve combinações bastante grandes de vários codons.

Cada uma das células de um organismo contem a informação genética completa, exceto que nos organismos sexualmente dimorfos, as células germinais, espermatozoides e óvulos, contêm metade do número de genes das outras células do organismo (as células geminais são *haploides*, as outras células são *diploides*). Cada vez que duas novas células são formadas pela divisão de uma célula diploide, o conjunto completo dos genes (trechos do DNA) é copiado e duplicado. O processo da cópia do DNA na mitose é de grande fidelidade, mas eventualmente ocorrem erros. Se esses erros ocorrem nas células geminais (ou nas células diploides de seres sem diferenciação sexual), essas modificações são transmitidas à próxima geração. Se essas mudanças aumentarem as chances de sobrevivência frente ao meio físico, a *mutação* passará para as sucessivas gerações. Caso contrário, isto é, se a modificação é desfavorável ou letal, a mutação não terá longo curso.

Na tradução da informação do DNA para a proteína também ocorrem erros. Esses erros são menores do que o esperado caso a síntese proteica fosse fixada pela minimização da energia-livre, isto é, se ela ocorresse através de reações químicas em equilíbrio. O organismo na realidade gasta uma certa quantidade de energia (por exemplo, em forma de moléculas de ATP) para garantir uma fidelidade maior. Um aminoácido errado para cada  $10^4$  certos é em geral tolerável, mas erros maiores que  $1/10^4$  produzem proteínas defeituosas, dando origem a *doenças moleculares*.

Qual então o quadro geral da Evolução do Universo? Começando há -  $20 \times 10^9$  anos com uma discontinuidade no espaço-

-tempo, caracterizada por temperaturas e densidades infinitas, o Universo entrou em expansão. Inicialmente ( $t=0$  segundos) as quatro forças conhecidas (força nuclear forte, eletromagnetismo, força nuclear fraca e gravitação) eram idênticas. Em cerca de 3 minutos, enquanto a temperatura média "baixava" para  $10^7$ °K, houve uma quebra de simetria, primeiro entre as forças nucleares fortes e as eletrofracas, depois entre as forças fracas e as eletromagnéticas. Foram criados os *barions* e os *mesons*, e começou a nucleossíntese dos elementos leves.

Atualmente, as regiões centrais de muitas estrelas estão a temperaturas de  $10^7$ °K, mas a radiação de fundo do Universo é apenas de 2.7°K. A medida que a temperatura de muitas regiões do Cosmos (como nos planetas, meteoritos, cometas e gases inter-estelar) diminuía, elétrons e núcleos se ligavam em átomos, que se condensavam em moléculas e mesmo em fases sólidas. Na Tabela 1 estão indicadas temperaturas típicas de diferentes processos que levam a estruturas progressivamente mais complicadas da matéria.

### 3 ATITUDES EM RELAÇÃO AOS PROBLEMAS DA ORIGEM DA VIDA

Do ponto de vista de um físico os sistemas vivos são terrivelmente complicados. Schrödinger, no seu livro "What is Life?" (1944) chamou a atenção para o fato de que substâncias como as proteínas e ácidos-nucleicos têm características de sólidos *amorfos*, ou *desordenados*. Neles não existe a isotropia tridimensional dos cristais. Assim, a transferên-

cia de informação do DNA dos cromossomas para as proteínas é de grande complexidade. A leitura da sequência de nucleotídeos no DNA ocorre em pequenas estruturas organizadas do citoplasma das células, os *ribosomas*. Como intermediários nesta tradução aparecem macromoléculas como o RNA mensageiro (m-RNA) e o RNA de transferência (t-RNA), além de um complexo sistema de enzimas, que são, por sua vez, proteínas. Em todas as células conhecidas, proteínas são necessárias para a síntese de outras proteínas! Situações como essa têm levado alguns físicos, como Bohr, Wigner e Elsasser, a duvidar da possibilidade da "redução" da Biologia à Física.

Nos nossos dias um dos destacados opositores do reducionismo é o conhecido astrofísico Fred Hoyle. Um dos argumentos anti-reducionista de Hoyle refere-se ao problema da conformação das proteínas, que são formadas por longas cadeias de diferentes aminoácidos. Cada proteína, no meio em que ela atua, adota uma dada *conformação*, aquela que corresponde ao mínimo da energia-livre de Gibbs (se a proteína possuir duas ou mais configurações com energias livre próximas da mínima, em relação ao  $k_B T$  do meio, haverá uma distribuição boltzmaniana de conformações). Consideremos uma proteína das menores, digamos com 100 resíduos de amino-ácidos. Começando com uma conformação escolhida ao acaso, quanto tempo levaria a proteína para encontrar sua conformação mais estável? Cada resíduo de aminoácido pode existir em várias conformações.

Por exemplo, o grupo  $-CH_3$  da alanina não tem rotação livre em torno da ligação C-C; ao contrário apresenta conformações de energia mínima separadas de outras onde a energia é máxima. Supondo que cada resíduo

pode assumir apenas 3 conformações diferentes, o número de conformações possíveis para a nossa proteína é  $3^{100}$ , que é igual a  $5 \times 10^{47}$ . A frequência com que uma conformação se converte em outra é da ordem de  $10^{13} \text{ seg}^{-1}$ . Se a proteína buscase sua conformação de mínima energia-livre tentando uma a uma todas as conformações possíveis para cada aminoácido, gastaria  $5 \times 10^{47} \times 10^{-13}$  segundos, ou seja,  $5 \times 10^{34}$  segundos, ou  $1.6 \times 10^{27}$  anos! Vimos que, de acordo com a cosmologia do *Big Bang*, nosso Universo tem apenas  $20 \times 10^9$  anos, um tempo pequeno demais para que uma simples molécula de proteína se amolde na sua configuração de mínima energia-livre. Para Hoyle, aqui está uma prova de que nosso Universo não pode ser "tão jovem", o que está de acordo com a própria teoria cosmológica preferida de Hoyle, a do *estado estacionário*, segundo a qual o Universo existe a um tempo infinito.

Acontece que, uma vez sintetizada, cada proteína assume sua conformação mais estável em alguns minutos, ou mesmo segundos! Não sabemos ainda com detalhes como isto acontece, mas trata-se de um processo cooperativo, semelhante ao de mudança de fase. Trechos inteiros da cadeia polipeptídica, contendo 20 ou 30 resíduos, servem de intermediários no processo de amoldagem das cadeias. Cada uma dessas conformações parciais move-se por difusão e estabiliza trechos cada vez maiores das cadeias.

Uma das características mais importantes da Evolução é que a mesma é *oportunistica*. O 1º Princípio da Termodinâmica, que Clausius expressou como "A energia do Universo é constante", tem menor significado, para a Evolução, do que o 2º Princípio, "A entropia do Universo tende a crescer".

Pois o negativo da entropia (negentropia) mede a informação contida num sistema, e informação (saber) é poder. Como exemplo do caráter oportunístico da Evolução consideremos a produção de energia nas células a partir da D-glicose, em condições *aeróbicas*.

Na primeira etapa do processo, que ocorre também nos organismos anaeróbicos, a glicose ( $C_6$ ) é convertida em ácido pirúvico ( $2C_3$ ), que é decarboxilado oxidativamente a acetil-coenzima A. Formam-se também duas moléculas de ATP, e esse é o ATP que produz energia nos processos anaeróbicos. No metabolismo aeróbico, porém, o radical acetila ( $C_2$ ) do acetil-coenzima A é completamente oxidado a  $CO_2$  através de um ciclo de reações conhecido como o ciclo de Krebs, que ocorre nas *mitocôndrias* das células. O ciclo de Krebs está representado na Figura 8. Sua grande importância reside no fato de que este é o *caminho final comum* para a oxidação de todos os combustíveis celulares; não apenas glicídios, mas aminoácidos, lipídios, etc., são oxidados *via* o ciclo de Krebs.

O ciclo de Krebs envolve nove substâncias: ácidos: D-citríco, D-succínico, D-málico, etc. Esses metabolitos não foram escolhidos depois de testadas todas as moléculas possíveis, e não representam uma situação de mínima energia-livre, *i.e.*, de equilíbrio. Não há impedimento algum para que existam sistemas análogos de produção de energia, abrangendo moléculas diferentes dessas. Talvez isso ocorra, por exemplo, em outro sistema planetário. Nos seres vivos *terrestres* estamos vendo o mecanismo do ciclo de Krebs tal como se nos apresenta *como produto da Evolução*. É este o sen-

tido do termo *oportunistico*, quando nos referimos à Evolução.

Os notáveis progressos da Bioquímica, exemplificados pela elucidação do chamado metabolismo intermediário, encontraram no passado oposição por parte dos *vitalistas*. Um século e meio atrás eles negavam a possibilidade da síntese *in vitro* dos metabolitos, (esses somente seriam sintetizados *in vivo*), ideia ultrapassada pela experiência crucial de Wöhler, com a síntese da uréia (1828). Criaram depois o conceito de protoplasma, "o material vivo das células"; na realidade "uma abstração bioquímica" (F.G. Hopkins, 1913). Com respeito à origem da vida, há empecilhos filosóficos da mesma natureza do vitalismo.

Há, em primeiro lugar, a crença na *Criação Especial*, segundo a qual um ser divino criou o Cosmos, inclusive a vida na Terra. Esta é uma idéia tão abrangente que sobre ela não se pode aplicar os testes de *prova e refutação*, essenciais ao método científico.

Vêm em seguida as teorias da *geração espontânea*, segundo a qual a vida se origina na Terra, nas mais variadas e peculiares circunstâncias, e a qualquer momento. Refutada experimentalmente nos séculos XVII e XVIII por cientistas como Huygens, Redi e Spallanzani, ficou totalmente desacreditada depois das experiências cruciais de Pasteur, por volta de 1860.

Nas teorias da *Panspermia*, por outro lado, a vida se originou em outro lugar do Universo e foi transportada até o nosso planeta por "esporos" ou "germes". Essas idéias têm contra si o fato de que a radiação ultravioleta e o alto vá

cuo do espaço interestelar são extremamente letais às formas conhecidas de vida. Mas há ainda uma objeção mais séria às várias teorias da Panspermia, pois, mesmo supondo que "esporos" chegassem vivos à Terra, teríamos que perguntar: "E como a vida começou nesses outros lugares do espaço?". A Panspermia evita responder questões básicas sobre a origem da vida e não é portanto uma teoria aceitável.

Temos finalmente a *teoria da Evolução*, começando com o *Big Bang*, a formação dos átomos dos elementos nas estrelas, inclusive no Sol, a síntese de moléculas orgânicas no espaço inter-estelar e na Terra, o crescimento de macromoléculas autoreplicáveis, o aparecimento das primeiras células separadas do meio por membranas, e, finalmente, o que chamamos de *Evolução Biológica*.

É, portanto, com base na *Evolução Cosmológica* que encaramos hoje o problema da origem da vida.

#### 4. EVOLUÇÃO QUÍMICA (PREBIÓTICA)

O peso das experiências de Pasteur, demonstrando que a geração espontânea de seres vivos simplesmente não ocorre, dissuadiu os bioquímicos, durante sessenta anos, a considerar a origem da vida como um problema cientificamente legítimo. Em 1924, porém, I.A. Oparin na União Soviética, publicou um livro "Proishozhdenie Zhizni" (Origens da vida), no qual levantava este problema dentro de uma nova perspectiva. Uma coisa, afirmava Oparin, era supor que a vida surgia de materiais inanimados nas condições de hoje - como propunha a teoria de geração espontânea - outra muito dife-

rente era indagar como a vida teria se originado desses materiais *nas condições prevalentes da Terra primitiva*, em particular sem a competição de outros seres vivos. Independente de Oparin, idéias semelhantes foram propostas por J.B. S. Haldane em 1929, e as concepções de Oparin-Haldane constituem o ponto de partida para os estudos modernos sobre o problema da origem da vida.\*

O primeiro passo a considerar é a natureza química dos materiais nas condições primitivas da Terra. Começamos há 5 bilhões de anos, com uma nuvem de gas e pequenas partículas em rotação, comprimida pela gravitação em torno de um núcleo central, ou *proto-sol*. A energia de gravitação e aquela associada à radioatividade de alguns elementos pesados aqueceu a nuvem, que desenvolveu, além do sol, heterogeneidades a distâncias variáveis do centro, dando origem aos planetas. Os grandes planetas exteriores, Jupiter, Saturno, Urânio e Netuno, são constituídos principalmente de  $H_2$ , He,  $CH_4$ ,  $NH_3$  e  $H_2O$ , e representam uma amostra razoável da composição da nuvem de gas oriunda do Big Bang. Uma gravidade menor e temperaturas mais altas fizeram com que a Terra, junto com Mercúrio, Venus e Marte, tenham perdido muito dos seus gases leves iniciais, em particular  $H_2$  e He. Como indicado na Figura 3, na medida em que a Terra estratificou-se em um núcleo central, uma manta basáltica e uma crosta, os gases do interior escaparam por vulcanismo, dando origem a uma atmosfera (nesse sentido secundária) contendo pouco  $H_2$ , vapor de água,  $CH_4$ , CO,  $CO_2$ ,  $NH_3$  e  $N_2$ ,  $H_2S$ . Grande parte do

\*Em fevereiro de 1871, com sua admirável presciência, Charles Darwin escreveu uma carta a Hooker, na qual propõe, resumidamente, idéias semelhantes às de Oparin. A carta, descoberta por Olby e Gantrey, permaneceu inédita por quase 100 anos. Veja-se Calvin, "Chemical Evolution", Oxford, 1969, pp 4-6.

oxigênio foi fixado na forma de silicatos e fosfatos não voláteis. Foi a partir desta *atmosfera redutora* que se supõe que nasceu a vida. O oxigênio livre, que representa 20% da nossa atmosfera atual, é posterior a essa época e proveniente da decomposição fotosintética da água por organismos vivos primitivos.

Em 1953 Harold Urey propôs a Stanley Miller, seu aluno na Universidade de Chicago, realizar experiências com a finalidade de verificar a possibilidade de se obter substâncias orgânicas a partir de uma mistura de gases contendo  $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $NH_3$  e  $H_2O$ . Usando descargas elétricas como fonte de excitação dos gases, Miller realizou com êxito uma série dessas experiências. Nos últimos 30 anos as experiências de Miller foram reproduzidas dezenas de vezes em muitos laboratórios, tendo-se feito modificações na composição do gas e na fonte de excitação. A Figura 9 mostra um diagrama do aparelho usado por Miller para a síntese de moléculas orgânicas em condições que simulam a atmosfera da Terra primitiva. A Figura 10 mostra os resultados obtidos em uma dessas experiências, enquanto a Figura 11 mostra as fórmulas estruturais das moléculas reagentes e de alguns dos produtos. Foram sintetizados assim glicina, alanina, ácido aspártico e outros aminoácidos típicos de proteínas. Fazendo-se variações na composição da "atmosfera primitiva" (por exemplo, incluindo-se gas cianídrico,  $HCN$ ), e na fonte de excitação (usando-se luz ultravioleta, raios  $\gamma$ , ondas de choque, etc.), foi possível obter um largo espectro de compostos orgânicos, inclusive bases nitrogenadas como adenina, guanina, timina e citosina, componentes do DNA.

Experiências do tipo de Miller são consideradas bem sucedidas exatamente quando se obtêm substâncias formadoras de biopolímeros, ou produzidas no metabolismo celular. Na realidade, nessas experiências são em geral obtidas muitas substâncias que não pertencem à biosfera atual. A Figura 11 ilustra muito bem este fato.

Vemos, por exemplo, que além da  $\alpha$ -alanina, um dos aminoácidos componentes das proteínas, formam-se também seus isômeros sarcosina e  $\beta$ -alanina, que não são utilizados pelos seres vivos de hoje. Isto parece indicar que mesmo neste nível pré-biótico a evolução seguiu linhas oportunísticas. Assim, a escolha dos 20 aminoácidos formadores de proteínas não foi determinada, pelo menos unicamente, pela maior estabilidade de um dado conjunto de moléculas nas condições primitivas da Terra. Deve ter havido outros começos, com outras moléculas formadoras de polímeros, em linhas potenciais de evolução que não se realizaram, ou que cedo se extinguiram.

Os compostos indicados na Figura 11 não são os únicos obtidos nessa classe de experiências. Já nos referimos às bases púricas e pirimídicas, importantes constituintes do RNA e do DNA, e que foram também sintetizadas.

A presença de oxigênio livre ( $O_2$ ) interfere sensivelmente com os resultados dessas experiências. Isto porque o  $O_2$  é um oxidante poderoso e nas condições da descarga elétrica reage com a maioria das moléculas orgânicas produzindo  $CO_2$ ,  $H_2O$ ,  $N_2O$ , etc. Sabemos que o oxigênio livre presente hoje na atmosfera terrestre originou-se pela decomposição fotossintética de moléculas de  $H_2O$  nos cloroplastos de

cianobacterias, algas e, depois, de plantas superiores. É possível, contudo, que houvesse algum oxigênio livre na atmosfera há -  $4 \times 10^9$  anos. Isto porque o sol era então uma estrela jovem, e emitia radiação UV muito mais intensas do que hoje. Esses fotons UV podem decompor moléculas como  $H_2O$ , CO e  $CO_2$ , formando-se algum oxigênio livre. Este é um ponto da nossa história que não está devidamente esclarecido.

Nas condições em que são feitas essas experiências, bem como nas sínteses orgânicas comuns, obtem-se, sempre que se trata de uma molécula quiral, uma mistura racêmica: 50% do isômero D e 50% do isômero L. Os aminoácidos encontrados em alguns meteoritos também são racêmicos. As contrário, os aminoácidos obtidos de proteínas são todos L; os açucares de todos os organismos, inclusive a ribose do RNA e a desoxiribose do DNA são todos D; e assim por diante. Esta dissimetria ou *homoquiralidade*, da matéria viva é tão notável que, segundo Pasteur, representa a mais profunda diferença entre a matéria viva e a matéria inanimada. Como se originou esta homoquiralidade molecular, porque ela é conservada através da Evolução, e o que acontece com ela quando os organismos morrem? Tentaremos responder estas questões na Seção 7. Agora, porem, cabe outra indagação.

## 5 A VIDA ORIGINOU-SE NO NOSSO PLANETA?

As experiências realizadas pelas missões lunares, bem como as missões Viking a Marte, indicaram ausência completa de vida nesses corpos celestes. É também praticamente impos

sível existir vida em Mercúrio, onde a temperatura na sua superfície rochosa oscila entre 500°K na face iluminada e 150°K na face oculta; ou em Venus, com uma densa atmosfera de gás carbônico a 750°K. Os grandes planetas exteriores e alguns dos seus satélites possuem condições físico-químicas semelhantes as da Terra na fase abiótica; temperaturas baixíssimas, resultantes das grandes distâncias do Sol, parecem condena-los a permanecer sem vida.

Não se pode esquecer, contudo, que somente nossa galáxia contém 200 bilhões(!) de estrelas. De acordo com as teorias hoje aceitas sobre a formação de sistemas solares, ~1% dessas estrelas, isto é,  $2 \times 10^9$  estrelas, devem ter sistemas planetários. Uma fração não desprezível desses planetas possuem condições físicas parecidas com as da Terra, em particular temperaturas entre 250 e 350°K, água em abundância e compostos de carbono. E a Via Lactea é apenas uma entre bilhões de galáxias conhecidas! Certamente que a vida não é um fenômeno exclusivo da Terra. Cabe-nos perguntar, contudo, se a vida que encontramos hoje na Terra originou-se aqui ou foi transportada para cá.

Mesmo na nossa galáxia as distâncias interestelares são enormes, e a transferência de seres vivos de um sistema planetário para outro levaria um tempo muito longo. Durante este tempo seres vivos "desnudos" estariam expostos a um vácuo altíssimo. A densidade da matéria no espaço é de ~1 átomo/cm<sup>3</sup>, isto é,  $10^{-24}$  g/cm<sup>3</sup>. Mesmo nas "nuvens" mais espessas de gás interestelar, esta densidade não passa de  $10^4$  átomos/cm<sup>3</sup>. Nessas condições de baixíssimas densidades, fica difícil se definir uma temperatura, mas sabemos que a radiação de fundo

do Universo corresponde, pela equação de Planck, a uma temperatura de  $\sim 2.7^{\circ}\text{K}$ . Nessas condições não é possível que sistemas vivos tenham se transferido de um bionta para outro, o que torna inaceitável a teoria da panspermia, mas devemos considerar alternativas.

Conseguiu-se isolar em meteoritos carbonáceos toda uma gama de compostos orgânicos. Para dar um exemplo recente, este ano (1984) Ponnampereuma relatou a descoberta de pequeníssimas quantidades de adenina, timina, guanina e citosina no meteorito Murchinson. Descobertas como essas provam que a *evolução química* ocorreu em outras partes do sistema solar. Na realidade, a síntese de moléculas orgânicas é um processo ubíquo no Universo, que se reflete em uma grande diversidade de moléculas detectadas no espaço interestelar da nossa galáxia. A Figura 12 mostra uma relação das 50 moléculas descobertas até 1979. Hoje este número está acima de 60, e a lista tende a crescer\*

Nos últimos dez anos Hoyle e Wickramasinghe vêm interpretando os espectros de gases interestelares nas regiões do ultravioleta, visível e infravermelho como indicando a presença no espaço de macromoléculas biológicas que estariam adsorvidas em vírus, bactérias e até fragmentos de insetos! Essas atribuições espectroscópicas são feitas dentro de uma visão do cosmos que inclui um Universo infinitamente velho. A grande maioria dos astrofísicos e astroquímicos não concordam com as interpretações de Hoyle. Recentemente (*Nature*

---

\* No número de 12 de julho de 1984 da revista *Nature* vêm relatadas as descobertas de  $\text{C}_3\text{O}$  (na "nuvem escura" da constelação do Touro) e de  $\text{S}_2$  (no cometa IRAS-Araki-Alcock).

ture, 311,748(1984) Davies, Dellusa e Koch publicaram uma crítica devastadora das interpretações espectroscópicas de Hoyle.

Apesar do peso dessas críticas, não se pode descartar inteiramente a possibilidade de existir polímeros no espaço. Foi possível sintetizar polímeros no laboratório, em condições de baixas temperaturas e altas densidades de radiação, possivelmente semelhantes às existentes em algumas regiões das galáxias. Por exemplo, um grupo de investigadores da Universidade de Catania, na Itália, conseguiu obter um polímero pelo bombardeio de metano sólido (4°K) com protons de 1.5 MeV (Foti, Calcagno, Sheng e Strazzulla, *Nature*, 310, 126(1984))

Nossa resposta à pergunta sobre a possível origem terrestre da vida deve permanecer qualificada. Sem dúvida a síntese de moléculas orgânicas ocorreu em larga escala na Terra, entre -4.5 e -3.5 bilhões de anos. Por outro lado essas moléculas existem (em baixas concentrações) no espaço e podem atingir nosso planeta. Possivelmente os dois processos ocorreram no passado, com resultado que nos oceanos e lagos, ou adsorvidas em argilas (proposta de Bernal), concentravam-se moléculas orgânicas cada vez mais complexas. Veremos em seguida como essas moléculas poderiam ter se combinado dando origem aos polímeros.

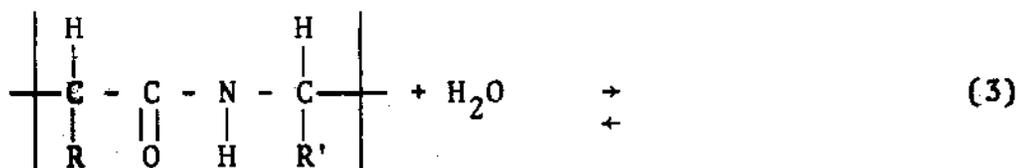
## 6 SINTESE DE POLÍMEROS AUTOREPLICAVEIS

Os seres vivos estão programados nos genes, isto é, em

segmentos da hélice dupla de DNA enovelados nos cromossomas dos núcleos celulares - caso dos eucariotas - ou, de maneira menos compacta, no citoplasma dos procariotas. O número de "bits" de informação contido no conjunto de genes (genótipo) de um ser vivo, mesmo dos mais simples, é muito grande. Seria impossível codificar essa programação em moléculas pequenas. Esta é a razão básica da existência de polímeros como o DNA & RNA. Mas os polímeros também são necessários para o funcionamento dos organismos: as membranas celulares, as fibras musculares, a celulose das plantas, são todos materiais construídos com polímeros.

Na Figura 13 está esquematizada uma cadeia polipeptídica e indicado como elas se formam pela condensação de  $\alpha$ -aminoácidos com perda de água. Nas células vivas a informação para construir uma proteína com uma sequência definida de resíduos de aminoácidos - como a ribonuclease bovina representada na Figura 14 - é *transcrita* do DNA ao RNA e *traduzida* do RNA para a sequência de aminoácidos nos *ribossomas*. Estas operações, indicadas de maneira simplificada na Figura 15, ocorrem sob o controle de um complexo sistema enzimático, isto é, de proteínas. Como então se formavam as primeiras macromoléculas? Teriam sido polímeros do tipo proteína ou do tipo DNA?

Essa etapa da biogênese permanece mais obscura que a fase "química" antecedente. Tanto no caso das proteínas como no DNA e RNA, a *hidrólise* dos polímeros é favorecida do ponto de vista termodinâmico.





luto do que  $\Delta G^\circ$ ; neste caso ( $\Delta G < 0$ ) a síntese do polímero seria espontânea. Se a concentração de água é removida de algum modo do sítio da reação,  $C_{H_2O} \approx 0$  e teremos uma situação favorável à síntese do polímero. Uma das maneiras de remover a água que se forma na polimerização é por *evaporação*. Se os radicais R, R' da equação 3 forem grandes e hidrófobos como os da valina, leucina, isoleucina e fenilalanina, as moléculas de  $H_2O$  serão impedidas de atacar as ligações peptídicas, uma vez estas estabelecidas. Na realidade não se sabe exatamente como esses polímeros poderiam ter se formado em condições prebióticas.\*

Uma característica dos biopolímeros como as proteínas e o DNA é a fidelidade com que ocorrem as duplicações sucessivas. Embora não exista ainda um modelo teórico inteiramente satisfatório da gênese, crescimento - sujeito a certa taxa de erro - e duplicação das macromoléculas biológicas, há varias teorias bastante promissoras. Uma delas é a teoria dos hiperciclos que Eigen vem desenvolvendo desde 1971. Mais recentemente Anderson (1983) propôs um programa para um cálculo tipo Monte Carlo de sistemas autoreplicáveis usando um Hamiltoniano com características do utilizado para descrever os vidros de spin (spin-glasses). Finalmente, Constantino Tsallis e o autor examinaram a possibilidade de descrever um polímero autoreplicável, com manutenção da sequência dos monômeros, como um fenômeno crítico, tratado pela teoria do grupo de renormalização (*Phys. Letters*, 99A, 461 (1983) *et seq.*). Não entraremos nos detalhes desses modelos,

\* Diante dessas dificuldades Cairns-Smith propõe uma solução radical: a vida teria se originado nos silicatos (fase sólida), e depois os compostos de carbono teriam "tomado conta" (A.G. Cairns-Smith, "Genetic Takeover", Hutchinson, London, 1984)

exceto para afirmar que, em todos os três, a *complementariedade* entre pares de monômeros é um ingrediente, essencial das teorias. Esta conclusão seria, até certo ponto, uma indicação de que polímeros tipo DNA (com bases complementares como A e T, e C e G) são mais primitivos do que polímeros como as proteínas (cujos aminoácidos não formam pares complementares).

## 7 MEMBRANAS BIOLÓGICAS E O INÍCIO DO METABOLISMO CELULAR.

As células vivas devem ter aparecido na água e precisam estar separadas do meio ambiente por uma superfície limite, sob pena de morrerem por difusão, ou diluição, das suas moléculas. Esta superfície limite constitui uma *membrana*. As membranas biológicas de hoje são sistemas organizados de lipídios e proteínas, com uma espessura situada em 50 e 100 Å. Os lipídios, tipicamente representados pelos ions palmitato e oleato, são formados de uma cadeia hidrocarbônica (hidrofóbica) com 16 ou 18 carbonos ( $H_3C-CH_2-CH_2- \dots$ ), terminando com um grupo polar,  $-COO^-$ . As membranas biológicas são basicamente constituídas por uma *dupla camada lipídica*, que lhes definem a fluidez e flexibilidade, e na qual estão inseridas moléculas proteicas que realizam diferentes funções em diferentes células (sensibilidade à luz; papel enzimático, etc.) (Figura 16).

Uma estrutura deste tipo permite a existência de *canais*, que tornam as membranas *semipermeáveis* seletivamente, isto é, a passagem de certas moléculas ou ions através das membranas ocorre rapidamente, enquanto que outras moléculas (ou ions) ocorre muito lentamente (Figura 17). As membranas celulares atuais são estruturas muito complicadas, com canais específicos, controle alostérico, etc., e embora te-

nha havido muitos estudos com membranas reconstituídas, não se conseguiu sintetizar membranas com toda a complexidade das biológicas. Contudo, a segregação de soluções de polímeros em gotículas bem diferenciadas do meio foi conseguida por Oparin em Moscou, Sidney Fox na Florida, e outros pesquisadores. Oparin em particular obteve essas gotículas, que ele chamou de *coacervados*, pela mistura de diferentes biopolímeros: histonas (proteína) com goma-arábica (polisacarídeo), histonas com DNA, histonas com albuminas, etc. As gotas de coacervados possuem diâmetros que variam 1 e 500  $\mu\text{m}$ , e em geral têm uma vida de algumas horas, terminando por se aglutinarem numa fase distinta (Figura 18). Oparin mostrou que é possível estabilizar os coacervados fazendo com que eles dêem início a um processo metabólico primitivo. Ao juntar à solução um enzima como a fosforilase, esta se concentra no coacervado. Se fornecermos glicose-1-fosfato ao sistema, essa moléculas difundem para dentro dos coacervados e se convertem, pela ação da fosforilase, em amido. Desta maneira o coacervado cresce de tamanho e pode se dividir em dois ou mais fragmentos. Em presença de mais glicose-1-fosfato, os fragmentos também crescem, porém mais lentamente, porque a fosforilase inicial está agora dividida entre os novos coacervados. A Figura 19 mostra de forma diagramática o que ocorre com um coacervado "metabolizante".

Os coacervados (Figura 18) possuem uma forma rudimentar de membrana. O transporte de substâncias através dessas membranas só ocorre por osmose. Por exemplo, a glicose-1-fosfato só passa para dentro do coacervado se sua concentração fora for maior do que dentro: é o *transporte passivo*, ou

osmótico. Com as membranas biológicas, porém, o interior da célula pode se enriquecer de uma espécie química mesmo quando a concentração desta espécie no meio ambiente é menor do que dentro da célula. O processo requer energia-livre, que é fornecida por uma reação exergônica que ocorre na membrana e que lhe é acoplada: é o *transporte ativo*, ou contraosmótico.

Tanto nos coacervados "metabolizantes" como nas macromoléculas autoreplicáveis é o meio ambiente que fornece as moléculas que servirão ou como "combustível" ou como "tijolos de construção". Na Terra primitiva essas moléculas proviam, como vimos, da ação de descargas elétricas, de radiação solar, etc., sobre os gases da atmosfera redutora. Isto ocorreu ao longo de, talvez, 1 bilhão de anos (entre -3.5 e -2.5 bilhões de anos). Eventualmente as reações fotoquímicas, dependentes da abundante energia do Sol, tornaram-se dominantes. Algumas *arqueobactérias* desenvolveram no seu citoplasma organelas especiais, os *cloroplastos*, um material complexo contendo a clorofila e capaz de realizar o que chamamos de *fotossíntese*. Este processo pode ser representado pelo seguinte esquema (Fig. 20).

A reação primária da fotossíntese consiste na decomposição de moléculas de  $H_2O$ , sendo o oxigênio libertado como  $O_2$ , e o hidrogênio utilizado para a redução de  $CO_2$  a uma série de substâncias orgânicas, um metabolismo oxidativo às avessas. Dado a constância e intensidade da radiação solar, a fotossíntese de moléculas orgânicas é realizada de maneira mais eficiente do que nas sínteses dependentes de descargas elétricas, por exemplo. Com essa vantagem evolutiva ocorreu

uma verdadeira explosão de organismos capazes de fotossíntese: cianobactérias, algas e, depois, plantas. Nesse processo, que ocorreu entre  $-3.5$  e  $-2.5 \times 10^9$  anos, a composição da atmosfera terrestre sofreu uma mudança radical, com crescente proporção de  $O_2$ . Foi esse oxigênio, na atmosfera e dissolvido na água dos oceanos, que permitiu por sua vez o aparecimento de seres aeróbicos, cerca de sete vezes mais eficientes na produção de energia por oxidação dos metabólitos do que as bactérias anaeróbicas então existentes. (Fig.8). Dai em diante começou a fase que podemos chamar de biológica da evolução, a qual, riquíssima em formas de vida, terminou de saguando no *Homo sapiens*, com um sistema nervoso central capaz de pensar sobre suas próprias origens.

## 8. ORIGEM E SIGNIFICADO DA HOMO-QUIRALIDADE MOLECULAR

Considere-se uma molécula de benzeno. (Figura 21). Os seis átomos de hidrogênio são *equivalentes*, porque se interconvertem por uma operação de simetria do grupo de ponto ao qual pertence o benzeno,  $D_{6h}$ . Assim, uma rotação de  $60^\circ$  em torno do eixo  $C_6$  converte cada H no seu adjacente. Também podemos dizer que os hidrogênios são equivalentes porque estão todos na mesma vizinhança química; por exemplo o espectro de NMR do benzeno é formado de *um único* sinal, correspondente ao próton da ligação C-H. A equivalência dos hidrogênios do benzeno também fica demonstrada porque só obtemos um monoderivado de substituição do benzeno, por exemplo, um único monocloro-benzeno. Considere-se agora uma molécula de glicina, que representamos como na Figura 22.

Os dois átomos de hidrogênio ligados diretamente ao carbono são equivalentes? Por exemplo, esta molécula contém um plano de reflexão, plano que bissecta o ângulo sólido  $H-C-H$  e contém as ligações C-COOH e C-NH<sub>2</sub>. Por reflexão neste plano, os átomos de hidrogênio se interconvertem. São portanto equivalentes, e, realmente, dão um sinal único num espectrômetro de NMR. Apesar disto, se substituirmos um átomo de H por outro qualquer, X, obteremos duas classes de moléculas (Figura 22). As moléculas I e II, ao contrário dos monoclorobenzenos, *não são superponíveis* e, portanto, são distintas. Na realidade, (I) e (II) estão entre si como um objeto quiral e sua imagem especular. Um par de objetos comuns deste tipo são as nossas mãos direita e esquerda (a palavra quiral, introduzida por Lord Kelvin, significa mão em grego). Objetos quirais e suas imagens especulares não são superponíveis; não há operação alguma de rotação, reflexão ou inversão que transforme (I) em (II), ou *vice-versa*.

Dois *enantiômeros* como (I) e (II) possuem a mesma energia-livre de formação e portanto, as mesmas propriedades físicas (ponto de fusão, densidade, ponto de ebulição, etc.) Contudo, eles podem ser distinguidos pela sua interação com um feixe de luz polarizada plana: se um deles gira o plano de polarização para a esquerda, o outro gira do mesmo ângulo ( $\alpha$ ) para a direita. Substâncias com essa propriedade são *oticamente ativas*, e dizemos que um dos enantiômeros é L (levogiro) e o outro D (dextrógiro). Uma mistura 1:1 dos dois antípodas óticos, isto é, uma *mistura racêmica*, não é oticamente ativa.

Presumivelmente, então, quando substâncias quirais como a alanina (Figura 22) foram sintetizadas em condições

prebióticas, deve ter se formado sempre misturas racêmicas. Isto é o que acontece nas experiências de Miller e da mesma maneira, aminoácidos e outras moléculas orgânicas encontradas em meteoritos *são sempre racêmicos*. É portanto notável que a alanina de todas as proteínas conhecidas seja exclusivamente L - alanina.

Não apenas alanina, mas todos os outros 18 aminoácidos proteicos (a glicina faz exceção porque não é quiral) são da série L; e da mesma maneira, todos os glicídios, como a deoxiribose do DNA, e a glicose, são da série D. Em poucas palavras, há uma quiralidade privilegiada nas biomoléculas que, por isso, são opticamente ativas. Esta é uma das grandes descobertas de Pasteur e cabe-nos perguntar como se originou esta dissimetria molecular, e porque ela permanece com caráter universal na biosfera?

A maioria dos químicos estão convencidos que a mon-quiralidade originou-se por uma flutuação estatística, durante, por exemplo, uma cristalização a partir de solução racêmica. Como indicado na Figura 23 "sementes" de cristais contendo poucas moléculas possuem uma razoável probabilidade de terem somente moléculas D, ou somente L. Cristais que crescem a partir dessas "sementes" dissimétricas, fixam vantajosamente moléculas da mesma quiralidade. Em outras palavras, as "sementes" contendo, por flutuação estatística, excesso de moléculas D (ou L) são estruturas quirais e diferenciam entre as moléculas D e L ao incorporá-las no seu crescimento. Tanto assim que um adsorvente quiral, por exemplo D-lactose em pó, pode ser usado para a resolução (separação dos componentes) de uma solução racêmica (por exemplo de (D + L) ascorbato). Em 1972, R.E. Pincock, testou esta

hipótese em experiências nas quais deixou cristalizar centenas de amostras de 1,1' - bisdifenil racêmico, a partir da fase líquida, que é atingida a uma temperatura conveniente. A atividade ótica dessas centenas de amostras segue uma distribuição gaussiana (Fig. 23), simétrica em torno de  $(\alpha) = 0$ .

Os enzimas, proteínas globulares formadas por cadeias de aminoácidos quirais e enrolados em longos trechos em hélices -  $\alpha$ , que são também objetos quirais, discriminam entre os substratos D e L. Suponhamos que uma mistura de (I) e (II) entre em contacto com um enzima que possua três sítios de ligação. Fácil mostrar que somente a molécula (II) poderia interagir de maneira apropriada com o enzima em questão. Para cada par de antípodas óticas, um enantiômero não seria metabolizado e portanto seria eliminado do processo evolucionário. Na realidade, os enzimas podem discriminar entre 2 átomos pro-quirais, como mostrou A. Ogston em 1948. Assim, considere-se uma molécula de glicina ligada a três sítios enzimáticos diferentes (Figura 24).

O átomo assinalado  $H_a$  pode, por exemplo, sofrer uma substituição química. Qualquer outra molécula de glicina só pode-se ligar ao enzima dessa mesma maneira (se fizermos a permutação  $H_a \rightleftharpoons H_b$ , ocorrerá a permutação  $NH_2 \rightleftharpoons COOH$ , e a glicina não permanece adsorvida ao enzima).

Se a dissimetria molecular dos atuais seres vivos originou-se de flutuações estatísticas, é possível que num estágio primitivo da evolução, talvez antes do aparecimento das

cianobactérias fotossintetisantes, existissem populações de diferentes antípodos óticos. Essas populações rejeitariam-se mutuamente, numa competição sem possibilidades de entendimento. Uma das populações antípodos eventualmente atingiu nítida vantagem e acabou tomando conta da biosfera terrestre. Em outros sistemas planetários contudo, é possível que a monquiralidade molecular seja oposta a nossa\*

Uma mistura racêmica é mais provável do que os enantiômeros separados; sua entropia é maior de  $R \ln 2$  cal. mole<sup>-1</sup> °K<sup>-1</sup>. Se começarmos com uma solução de um dos antípodos óticos puros, o sistema eventualmente racemisa. No caso dos aminoácidos, a velocidade de racemização é tal que fosseis com mais de 100.000 anos possuem aminoácidos praticamente 100% racemizados. Pela fórmula de Arrhenius a constante específica de velocidade de racemização é uma função exponencial da temperatura:

$k \sim e^{-\frac{E}{RT}}$  (E é a energia de ativação). Quando um ser vivo morre, a racemização das suas moléculas quirais começa. Conhecendo-se o valor de E para um dado metabolito e supondo-se que a temperatura não tenha variado muito é possível se calcular a idade de fosseis, ou de sedimentos a eles associados, pela porcentagem de racemização do metabolito. Fazendo uso de dados relativos a aminoácidos J.L. Bada conseguiu assim determinar as idades de fosseis marinhos.

O fato de que a energia-livre de formação dos isômeros D e L de uma substância é a mesma decorre fundamentalmente de que as forças electromagnéticas são invariantes com respeito à paridade. Desde 1956 que se sabe (Lee e Yang; Wu)

\* Alguns se lembrarão que em "Through the Looking Glass" Alice pergunta se no país do espelho o leite também alimenta. A resposta é não, pois a lactose lá será L-lactose, e nossos enzimas não teriam ação sobre suas moléculas.

que a força responsável pela desintegração  $\beta$ , chamada de força nuclear fraca, viola a conservação de paridade. Além disso, na teoria de Weinberg e Salam, as duas forças são componentes de uma só entidade, a *interação eletrofraca*. Usando-se um Hamiltoniano que inclui os termos da interação fraca pode-se mostrar que o isômero L de um aminoácido é mais estável do que o D em  $10^{-11}$  kcal. mol<sup>-1</sup>. Disto resultaria na síntese de aminoácidos com um excesso de  $10^6$  moléculas L por mol (1 parte em  $10^{17}$ ). Alguns físicos acreditam que esse efeito foi o responsável pela dissimetria inicial, ampliada depois pelas razões estereoquímicas que analisamos (Mason, *Nature*, 311, 19 (1984)). Entretanto, desde que o efeito foi proposto por Ulbricht em 1959, não foi possível demonstrá-lo experimentalmente. Deve-se assinalar que no caso do efeito ser real a homoquiralidade hoje observada na bioquímica terrestre seria dominante no Universo de matéria como o nosso. Num contra-universo de antimatéria predominariam moléculas de D-aminoácidos com positrons de valência e anti-protons nos núcleos.

Vimos que uma solução racêmica de, por exemplo, glicose, tem uma entropia maior do que uma solução equimolar de D-glicose ou de L-glicose. Por que então uma vez estabelecida a homoquiralidade original foi ela conservada? Mais uma vez, um princípio de minimização da energia parece não ter sido obedecido pela evolução. As vantagens evolutivas de monômeros monoquirais parecem residir na estrutura dos polímeros. George Wald (1957), com auxílio de modelos em larga escala de moléculas, mostrou que as pontes de hidrogênio que conferem estabilidade à helice- $\alpha$  das proteínas - um tipo de

estrutura muito importante - não se formariam a partir de aminoácidos de quiralidades diferentes porque os grupos CO e NH<sub>2</sub> das cadeias polipeptídicas não estariam corretamente alinhados. Wald também mostrou que as pontes de hidrogênio entre A e T, e C e G do DNA, necessárias para formar a hélice dupla de Watson e Crick, requerem que a desoxiribose seja D, ou L. A sutil importância da quiralidade nas interações moleculares fica exemplificada com a descoberta do DNA-Z por Rich e colaboradores. O DNA comum, chamado DNA-B, é uma hélice dupla direita. O DNA-Z, ao contrário, é uma hēlice dupla esquerda. Em ambos os casos a desoxiribose é D. O resultado (Fig. 25) é que o DNA-Z expõe mais os pares de base para o exterior da molécula do que o DNA-B. Em princípio o DNA-Z seria mais sensível a um ataque de reagentes químicos aos pares de Watson-Crick do que o DNA-B, mas a importância genética do DNA-Z ainda não está esclarecida.

O DNA-Z não tem relação com os *introns*, segmentos de DNA de um cromossoma sem significado aparente para o código genético.

## 9 EVOLUÇÃO MOLECULAR: O CASO DA HEMOGLOBINA

Temos insistido em que a Evolução é oportunística. Ela é também *cumulativa*, no sentido de que vantagens adquiridas num certo nível não são desprezadas necessariamente ao se atingir níveis mais complexos de evolução.

Neste capítulo trataremos da evolução de proteínas de vertebrados cuja função é o transporte de O<sub>2</sub> das interfaces respiratórias (guelras e pulmões) para os tecidos, bem como sua armazenagem nesses últimos.

Devemos destacar que a *estrutura primária* de uma proteína, uma particular sequência de aminoácidos, está codificada nos genes. Anfinsen demonstrou em experiências realizadas a partir de 1964, que toda a informação essencial para determinar a complicada estrutura tridimensional de uma proteína está contida na sua estrutura primária. Em uma proteína, segmentos de cadeia polipeptídica se arranjam em estruturas bem definidas como a hélice- $\alpha$ , ou em *novelos aleatórios* (random coils), que constituem a *estrutura secundária*. Finalmente, esses trechos de cadeias polipeptídicas se arranjam numa *estrutura terciária* da proteína. Há ainda proteínas constituídas por um certo número de unidades monoméricas, conectadas entre si por ligações iônicas e pontes de hidrogênio, numa *estrutura quaternária*.

Há grandes vantagens energéticas para um organismo se ele pode oxidar seus combustíveis moleculares usando oxigênio molecular. Na glicólise anaeróbica há uma produção de 2 moléculas de ATP por molécula de glicose utilizada. Se a glicólise continua no ciclo de Krebs e finalmente no sistema do citocromo-oxidase, cujo oxidante final é a molécula de  $O_2$ , obtem-se mais 12 moléculas de ATP, isto é, um total de 14 ATPs por molécula de glicose\*. Como o ATP representa verdadeiramente uma unidade de energia - sua hidrólise libera  $7.3 \text{ kcal. mol}^{-1}$  - podemos concluir que o metabolismo aeróbico produz 7 vezes mais energia do que o anaeróbico. Animais, com grande mobilidade e força muscular, não poderiam existir se não fossem aeróbicos.

A massa de um animal é proporcional ao seu volume, que por sua vez, cresce com o cubo da sua dimensão linear

\* Como indicado na Figura 8, na realidade são 13 ATPs e 1 GTP.

A área da superfície de um animal cresce, por outro lado, com o quadrado da sua dimensão linear. Este fato introduz complicações no uso de oxigênio pelas células animais. Em seres pequenos, como são a maioria dos insetos, vermes, etc., a relação área/volume é grande bastante para que o oxigênio a tinja todas as células por *difusão*, dissolvido nos fluidos intercelulares (a linfa). De fato, a 25°C 1 litro de água dissolve  $2 \times 10^{-4}$  moles de  $O_2$ , o equivalente a  $5 \text{ cm}^3$  do gas a 1 atmosfera de pressão. Nos moluscos e crustáceos, com uma relação área/volume mais desfavorável, esta quantidade de oxigênio dissolvido fisicamente na linfa não é suficiente para manter o necessário metabolismo. Estes animais possuem, dissolvidos na sua linfa, uma proteína capaz de se combinar reversivelmente com  $O_2$ . Nesses invertebrados a pro teína que desempenha este papel é a hemocianina, uma substância azul clara com peso molecular que pode chegar a  $10^6$  e contendo, ligados diretamente a alguns resíduos de amino-ácidos, ions  $\text{Cu}^+$ , agrupados em pares (a cor da hemocianina é produzida por estes ions  $\text{Cu}^{++}_2$ ). Podemos representar da seguinte maneira a reação do oxigênio com uma hemocianina:



Como indicado pelo carater reversível da reação, a hemocianina combina-se com o oxigênio nas regiões de pressão parcial de  $O_2$  altas ( $P_{O_2} = 150 \text{ mmHg}$  na atmosfera) mas perde as moléculas de  $O_2$  nos tecidos, onde o oxigênio é consumido e, portanto, onde  $P_{O_2}$  é baixa.

Como disse Sir Joseph Barcroft, se nos contentássemos

em ser lagostas não haveria nada contra a hemocianina. Nos vertebrados, contudo, essa proteína no curso da evolução foi substituída por outra, muito mais eficiente. Na realidade a hemocianina foi substituída por *duas* proteínas, uma que armazena  $O_2$  nos tecidos e outra que transporta  $O_2$  das superfícies respiratórias para os tecidos.

Hoje sabemos, com certo grau de confiabilidade, como se processou essa modificação. As informações básicas vieram das áreas de fisiologia comparada, genética, bioquímica, biologia molecular e, em particular, da *paleontologia molecular*, isto é, o estudo da evolução das macromoléculas biológicas através da análise filogenética das suas modificações. Discutiremos mais adiante, com certo detalhe, os resultados paleontologia molecular, mas descreveremos primeiro como pensamos que ocorreu a evolução das proteínas respiratórias.

Nos vertebrados de hoje, do celacanto ao homem, o armazenamento de  $O_2$  é feito pela *mioglobina*, e o transporte de  $O_2$  é realizado pela *hemoglobina*. Como ocorre com todas as proteínas, em maior ou menor grau, a sequência dos aminoácidos na mioglobina e na hemoglobina - suas estruturas primárias - é diferente para cada espécie, mas as variações não são drásticas e sim gradativas, de maneira que é sempre possível se reconhecer a presença dessas proteínas como espécies moleculares bem caracterizadas. Cerca de - 600 milhões de anos, nos mares do pré-Cambriano, uma classe primitiva de vertebrados, os peixes sem mandíbula (*Agnatha*; são ancestrais das lampreias de hoje) desenvolveu uma proteína relativamente pequena ( $PM \approx 16.000$ ), uma *globina* primitiva. No início esta globina ancestral deveria ter atuado como arma-

zenadora e transportadora de  $O_2$ . Por volta de -500 milhões de anos, o gene que codificava para esta globina foi duplicado e em seguida esses genes divergiram. Um deles passou a codificar para uma proteína armazenadora de  $O_2$ , a mioglobina e o outro gene passou a codificar para uma proteína especializada no transporte de  $O_2$ , a hemoglobina (Figuras 26 e 27). As mioglobinas de hoje descendem diretamente da globina ancestral, e em termos gerais o comportamento dessa última em relação ao oxigênio deve ter sido semelhante ao da mioglobina. Esta combina-se reversivelmente com  $O_2$ , de acordo com a equação química



As mioglobinas estão hoje entre as proteínas melhor conhecidas. Graças a Kendrew e colaboradores sabemos hoje a posição dos seus 1260 átomos não-hidrogênicos com uma resolução de  $2\text{\AA}$ . Um modelo de alta resolução da mioglobina de baleia está representado na Fig. 28. Vemos que a mioglobina contém um íon de  $Fe^{2+}$ , pentacoordenado. Na presença de oxigênio, uma molécula de  $O_2$  liga-se na sexta posição em torno do  $Fe(II)$ , *sem oxidá-lo*.

Se lançarmos num gráfico a *fração de mioglobina saturada*  $\bar{Y}$ , definida como

$$\bar{Y} = \frac{|My \cdot O_2|}{|My \cdot O_2| + |My|} \quad (7)$$

em função da pressão parcial de oxigênio  $P_{O_2}$ , encontraremos a curva a da Fig. 29. A análise da curva mostra que a mioglobina não é um transportador eficiente de  $O_2$ . Assim, entre os pontos P ( $p_{O_2}$  nos pulmões) e T ( $p_{O_2}$  nos tecidos) a

fração de oxigênio libertado,  $\Delta Y_a$ , é muito pequena. Somente quando  $p_{O_2}$  atinge valores muito baixos (anorexia) é que a oximioglobina perde uma fração considerável do oxigênio ao qual está ligado.

A curva a da Fig. 29 resulta do equilíbrio  $My + O_2 \rightleftharpoons My \cdot O_2$ ; ela tem uma forma hiperbólica:

$$Y = \frac{K \cdot p_{O_2}}{1 + K \cdot p_{O_2}} \quad (8)$$

onde  $K$  é a constante de formação da oximioglobina:

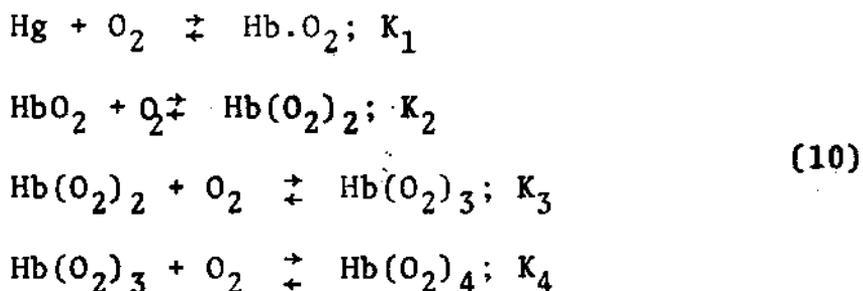
$$K = \frac{|MyO_2|}{|My| \cdot |O_2|} \quad (9)$$

O segundo gene proveniente da duplicação daquele codificador da globina ancestral sofreu também uma mutação, isto é, divergiu. Isto deve ter ocorrido há 450 ou 500 milhões de anos, e o novo gene passou a codificar para uma globina com a capacidade de se agrupar formando uma proteína tetramérica, a hemoglobina.

A simples combinação de 4 (ou mais) cadeias globínicas não pode modificar a curva de saturação fracionada  $\bar{Y}$  em função da pressão parcial de oxigênio, que permanece hiperbólica. A variação da constante  $K$  consegue apenas deslocar a curva para a esquerda ou direita, sem modificar seu formato. Um efeito muito diferente porém é conseguido se aparece um mecanismo molecular pelo qual os sítios de ligação com  $O_2$  (isto é, os ions  $Fe(II)$  contidos nos hemes) deixem de ser independentes. Foi isto que aconteceu com a hemoglobina.

A curva b da Figura 29 representa a saturação fracionada da hemoglobina em função de  $P_{O_2}$ . Curvas como essa foram

obtidas no começo do século por Bohr, Hasselbach e Krogh (1904) para sangue de cachorro e confirmadas para hemoglobina humana por Barcroft em 1914. Em 1925 Gilbert Adair mediu osmometricamente o peso molecular da hemoglobina humana, encontrando o valor 66680. Como Zinoffsky tinha encontrado (1885) um conteúdo de 0.335% de ferro na hemoglobina de cavalo, Adair concluiu que cada molécula de hemoglobina (Hb) contém 4 ions de Fe(II), e que é, na realidade, um tetramero. Adair repetiu cuidadosamente as experiências de Barcroft com hemoglobina humana purificada, confirmando o caráter sigmoide das curvas de saturação fracionada. Note-se que, para hemoglobina mantida a  $\bar{p}H$  constante, como é o caso da curva b,  $\Delta\bar{Y}_b = 0.30$ , o que significa que entre os pulmões e os tecidos a hemoglobina entrega 30% do oxigênio combinado. A curva sigmoide é reproduzida por uma equação derivada por Adair supondo que a oxigenação da hemoglobina se dá por etapas, cada uma delas caracterizada por uma constante de equilíbrio diferente:



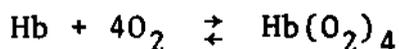
A partir da curva b (Figura 29) obtem-se as constantes, encontrando-se que  $K_4 > K_3 > K_2 > K_1$ . Isto significa que a afinidade dos quatros sítios de ligação (os hemes contendo Fe(II)) da hemoglobina cresce à medida que os sítios são oxigenados. Tomando como exemplo a hemoglobina humana, a proba

bilidade de que uma molécula de  $O_2$  se ligue a uma molécula de  $Hb(O_2)_3$ , com um único heme livre, é entre 30 e 50 vezes maior do que para ela se ligar a uma molécula de Hb, com quatro sítios livres. Isto também significa que se  $Hb(O_2)_4$  perde uma molécula de  $O_2$  com certa dificuldade, caracteriza da pelo valor de  $1/K_4$ , os oxigênios seguintes são dissociados cada vez mais facilmente. Dizemos que a interação Hb/ $O_2$  é *cooperativa*, e esta cooperatividade é refletida na curva sigmoide b da Figura 29 e, portanto, na eficiência da hemoglobina como transportadora de oxigênio.

Devemos a Perutz o conhecimento detalhado da estrutura da hemoglobina. Segundo Perutz a cooperatividade do seu funcionamento é devido ao fato que, quando uma molécula de  $O_2$  se liga ao Fe(II) de um heme, o íon de  $Fe^{2+}$  se desloca um pouco na direção do plano do anel tetrapirrólico do heme; como o  $Fe^{2+}$  está ligado a um nitrogênio da histidina, ocorrem modificações nas cadeias polipeptídicas. Em particular, algumas ligações das interfaces entre as unidades globinicas são rompidas, facilitando a entrada de uma segunda molécula de  $O_2$  em outro heme.

Quando a constante de ligação de um sítio numa molécula é afetada pelo estado de ocupação de outro sítio, dizemos que ocorreu uma *interação alostérica* (Monod, Wyman e Changeux, 1965). A oxigenação da hemoglobina é um caso típico de homaloesteria, pois o mesmo ligante ( $O_2$ ) afeta a capacidade de ligação dos outros sítios com respeito ao próprio  $O_2$ . Algum tempo depois da sua aparição a hemoglobina sofreu modificações que permitem que sua eficiência fique aumentada

por interações hetero-alostéricas. Uma das mais importantes dessas é a que corresponde ao *efeito Bohr* (C. Bohr, pai do famoso físico N. Bohr). Quando se aumenta a acidez de uma solução contendo oxihemoglobina, esta perde parte do seu  $O_2$  ligados, isto é, a acidez desloca o equilíbrio



para a esquerda. Como o pH das células onde ocorrem as oxidações biológicas é menor do que o pH do sangue arterial, disto resulta que a perda de  $O_2$  entre os pontos P e T (curva c da Figura 29) é ainda maior do que no caso da hemoglobina a pH constante (curva b da mesma Figura). Trata-se de uma ação hetero-alostérica, pois os ions  $H^+$  ligam-se a certos resíduos de aminoácidos, não nos hemes, e alteram as constantes de Adair que se referem às ligações  $Fe-O_2$ .

Insistimos em dizer que a evolução não é somente oportunística, mas também cumulativa. A vantagem de se ter um transportador de  $O_2$  como a hemoglobina, adquirida por peixes primitivos há 450 bilhões de anos, permaneceu nos peixes superiores, anfíbios, reptéis, pássaros e mamíferos. Nesses últimos, por volta de -200 milhões de anos (período carbonífero) ocorreu outra modificação na molécula de hemoglobina, condicionada ao aparecimento dos mamíferos com placenta. As hemoglobinas tetraméricas são, sem excessão, formadas de 2 pares de globinas diferentes, podendo ser descritas como  $\alpha_2\beta_2$ . As diferenças na estrutura primária das cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  são pequenas. Com o aparecimento dos mamíferos placentários, houve uma duplicação e divergência no gene codificando para cadeias  $\beta$ , aparecendo outro codificando para uma cadeia  $\gamma$  de maior afinidade com o oxigênio. A hemoglobina fetal,  $\alpha_2\gamma_2$ ,

tendo maior afinidade para  $O_2$  do que a de adulto, possui uma curva sigmoide deslocada para a esquerda, em relação a b ou c (Figura 29). Desta maneira o oxigênio do sangue materno numa dada  $P_{O_2}$  passa para o feto onde é ligado à hemoglobina  $\alpha_2\gamma_2$  e transportada. A evolução do aparelho placentário ocorreu mão-a-mão com o desenvolvimento da bioquímica necessária e que inclui a inibição do gene codificando para a globina  $\beta$  durante a gestação. Depois que o animal jovem passa para a vida extraplacentária, o gene globina  $\gamma$  é inibido na sua expressão, e o gene  $\beta$  volta a funcionar. Por este exemplo se pode ver como a oncogênese (i.e., o desenvolvimento do embrião) é ligada, de maneira complexa, com a filogênese (i.e., o desenvolvimento das espécies).

Uma molécula como a da hemoglobina, na sua interação com o oxigênio, ions de  $H^+$ , etc., do meio, armazena e processa informação (um heme "sabe" se os outros estão livres ou ocupados). Neste sentido a alosteria é uma forma de *inteligência molecular*, que foi mantida, por sua utilidade, no curso da evolução. Os primeiros vertebrados com hemoglobina eram poikilotermios e a temperatura do sangue variava com as mudanças de temperatura dos oceanos. De que maneira uma molécula alostérica mantém a sua inteligência entre, digamos, 0 e 50°C? A pergunta faz sentido porque a cooperatividade resulta de pequenas diferenças nas energias livre de ligação das moléculas de  $O_2$ , que podem ser alteradas por uma variação de temperatura.

A Figura 30 mostra uma lula gigante (*Architeuthis monachus*) que foi capturada moribunda nas costas da Noruega em agosto de 1982 e cujo sangue foi estudado por Ole Brix, da Universidade de Bergen (*Nature*, 303, 422(1983))

Esses cefalópodos do Mar do Norte comumente morrem quando encontram correntes "quentes", isto é, temperaturas de 10 ou 15°C. As lulas vivem em águas com temperaturas em torno de 5°C e movem-se vagarosamente, sendo predadores muito pouco ativos (ao contrário do espécimen criado pela imaginação de Victor Hugo em "Os Trabalhadores do Mar"). Sua proteína respiratória é uma hemocianina que apresenta um pequeno efeito alostérico. Quando a temperatura sobe para 15°C a hemocianina diminui de tal maneira sua afinidade por oxigênio (Fig. 31) que o animal fica sufocado por desoxigenação arterial. Isto não ocorre nos peixes e em outros vertebrados com hemoglobina, porque a cooperatividade é praticamente independente da temperatura no intervalo de 0 a 40°C. (Acima desta temperatura a hemoglobina, como a maioria das proteínas, sofre desnaturação e deixa de funcionar completamente). É possível que esta termoregulação da alosteria na hemoglobina esteja condicionada à presença de duas cadeias diferentes,  $\alpha$  e  $\beta$ , na hemoglobina (Ferreira e Jacchieri, J. Th.B. 108,191 (1984)).

## 10. PALEONTOLOGIA MOLECULAR

A evolução das moléculas biológicas, em particular das proteínas, está hoje bem estabelecida. Tudo começou em 1955 quando F. Sanger, depois de 10 anos de trabalho, determinou a primeira estrutura primária completa de uma proteína, a insulina. O trabalho de Sanger foi importante porque demonstrou que uma proteína tem uma sequência de aminoácidos rigidamente definida. Foi depois verificado que as insulinas

dê boi, porco, carneiro, cachorro, etc. possuem sequências diferentes de aminoácidos. Conhecem-se hoje as estruturas primárias de centenas de proteínas das mais variadas espécies. A estrutura primária das proteínas é determinada geneticamente, havendo uma correspondência biunívoca entre a sequência de nucleotídeos do DNA e a sequência de aminoácidos das proteínas (Figura 32).

A medida que se acumulou informações sobre a estrutura primária de várias proteínas - mioglobina, ribonuclease, citocromo c, fibrina, etc. - em diversas espécies, foi possível estabelecer mapas filogenéticos dessas moléculas. Mais uma vez, aqui como em tantas outras áreas, o pioneiro foi Pauling. Na Figura 32 vemos a "árvore genealógica" do citocromo c, uma proteína que funciona como transportadora de elétrons. O citocromo humano difere em 1 único aminoácido do citocromo do macaco rhesus; do cavalo difere em 12 aminoácidos, 13 do pinguim, 23 da tuna e 51 do fungo *Candida Krusei*. Em alguns casos pode-se também determinar a estrutura primária de proteínas de fósseis de espécies extintas. Fazendo-se extrapolações é possível chegar aos resultados discutidos na Seção anterior, por exemplo, sobre a idade da hemoglobina (450 a 500 milhões de anos).

A paleontologia molecular tem uma fonte complicadora no fato de que a taxa de evolução não é a mesma para todas as proteínas. A passagem de uma estrutura primária para outra depende de uma mutação no gene codificando para a proteína, que será mantida se a modificação for vantajosa ou neutra. Numa proteína como o citocromo c, que atua como enzima para uma reação fundamental no metabolismo celular, a maioria

das modificações na sua estrutura será deletéria e sua taxa de evolução é vagarosa. Uma proteína menos fundamental, como a fibrina (ligada à coagulação sanguínea) tem uma taxa de evolução muito mais rápida. Essas diferenças na taxa média de evolução de três proteínas estão ilustradas na Figura 33.

O fato de que modificações na sequência de aminoácidos de proteínas pode levar a resultados desastrosos tem grande importância médica. Pois há muitas doenças cujas origens residem numa proteína codificada de maneira defeituosa. A primeira síndrome reconhecida como uma doença molecular foi a *anemia falciforme* descrita em 1904 por J. Herrich, um médico de Chicago. Ela se caracteriza pelo fato de que as hemácias dos pacientes adquirem no sangue venoso a forma de uma foice. Quando as hemácias falciformes se acumulam nos capilares, estes ficam entupidos e ocorrem hemorragias dolorosas e até fatais. Em 1949 Pauling, Itano e Singer descobriram que a hemoglobina desses pacientes tinha uma mobilidade eletroforética diferente da hemoglobina normal. Os portadores da anemia falciforme possuem um gene mutante (heterozigoto) ou, se homozigotos, um par de genes mutantes codificando para a hemoglobina, dando origem às manifestações clínicas da anemia. Ingram, em 1958, mostrou que a hemoglobina-S e a hemoglobina-A diferem em um único aminoácido na cadeia  $\beta$  do tetrâmero: a Hb-S contem uma Valina na posição 6, no lugar de um glutamato nesta mesma posição na Hb-A. Um único resíduo errado entre os 600 da hemoglobina pode significar a diferença entre uma vida plena e a morte prematura.

## LEGENDAS DAS FIGURAS

- Fig. 1 - Representação diagramática do cenário da evolução cósmica
- Fig. 2 - Fotomicrografias de microfósseis em lâmina delgada de sílex preto do precambriano; b: bilhões de anos, m.a: milhões de anos
- Fig. 3 - Etapas da evolução primitiva da Terra. Estão representados os primeiros 500 milhões de anos do planeta
- Fig. 4 - Escala de tempo geológico
- Fig. 5 - Outra visão da escala de tempo, a partir da era Paleozoica ( $-570 \times 10^6$  anos)
- Fig. 6 - Diagrama mostrando as principais diferenças entre procariotas e eucariotas. Todos os eucariotas necessitam de oxigênio livre para o seu metabolismo.
- Fig. 7 - O código genético, relacionando a sequência de nucleotídeos no DNA dos genes à sequência dos aminoácidos nas proteínas
- Fig. 8 - Diagrama simplificado do ciclo de Krebs. Na glicólise anaeróbica D-glicose converte-se em piruvato com formação de 2 moléculas de ATP, verdadeiras unidades de energia, utilizadas no metabolismo celular. O radical acetila, proveniente do piruvato, condensa-se com o ion oxalacetado, entrando no ciclo. Ao longo das diversas etapas deste são produzidas 3 moléculas de NADH, 1 de  $FADH_2$  e 1 de GTP (semelhante ao ATP). As moléculas de NADH e  $FADH_2$  serão oxidadas no sistema da citocromo oxidase, cujo acceptor final

de eletrons é o oxigênio molecular. Cada NADH produz 3 moléculas de ATP, e cada  $FADH_2$  produz 2 ATPs. Cada molécula de glicose, então, na glicólise aeróbica, produz 13ATPs e 1 GTP, contra apenas 2ATPs na glicólise anaeróbica.

- Fig. 9 - Esquema do aparelho usado por Miller para sintetizar moléculas orgânicas a partir de gases presumivelmente presentes na atmosfera da Terra na fase pre-biótica.
- Fig. 10 - Relação de compostos obtidos numa das experiências do tipo de Miller, a partir de  $CH_4$ ,  $NH_3$ ,  $H_2O$  e  $H_2$
- Fig. 11 - Fórmulas estruturais de gases reagentes e de alguns produtos obtidos em experiências do tipo de Miller.
- Fig. 12 - Moléculas bastante complexas existem no espaço inter-estelar, tendo sido detectadas espectroscopicamente.
- Fig. 13 - Esquema mostrando como os  $\alpha$ -aminoácidos condensam-se formando cadeias polipeptídicas que por sua vez se conectam por fontes de hidrogênio e de disulfeto.
- Fig. 14 - Estrutura primária (isto é, a sequência de aminoácidos) de uma proteína, a ribonuclease bovina
- Fig. 15 - Transição e tradução de informação do DNA ao RNA e deste às proteínas nos ribosomas.
- Fig. 16 - Esquema de uma membrana biológica. As proteínas participantes da membrana (a, b e c) interagem fortemente com a dupla camada. d é uma proteína periférica, que pode ter funções específicas

- Fig. 17 - Coeficientes de permeabilidade de algumas substâncias para membranas de dupla camada lípídica
- Fig. 18 - Microfotografia mostrando coacervados (gotas coloidais ricas em proteínas) obtidos por Oparin
- Fig. 19 - Esquema mostrando um coacervado "metabolizante" contendo proteína e polissacarídeos
- Fig. 20 - A fotossíntese pode ser imitada com coacervados contendo clorofila. Nas plantas verdes de hoje o processo é de grande eficiência e complexidade.
- Fig. 21 - Molécula do benzeno,  $C_6H_6$ . Seus átomos de hidrogênio são equivalentes: a) dão o mesmo sinal na espectroscopia RNM, e b) a interconversão de um em outro corresponde a uma operação de simetria feita sobre a molécula. Além disso, pela substituição de um H por outro átomo, X, obtemos um único derivado.
- Fig. 22 - Os dois átomos de hidrogênio,  $H_A$  e  $H_B$  são equivalentes pelos critérios a) e b) descritos na legenda da figura anterior. Por substituição por X obtemos neste caso um par de antípodas óticas, não superponíveis e, portanto, diferentes. Os átomos  $H_A$  e  $H_B$  são proquirais.
- Fig. 23 - Uma semente de cristal com 4 moléculas tem uma probabilidade igual a  $1/6$  de conter 4 moléculas D (ou L); uma com 8 tem uma probabilidade  $1/70$  disto ocorrer,  $1/252$  para 10 moléculas,  $1/924$  para 12 moléculas, etc. Os resultados experimentais de Pincock estão de acordo com essas expectativas, a atividade ótica seguindo uma curva de Gauss.

- Fig. 24 - Os átomos  $H_A$  e  $H_B$  não são mais equivalentes se a molécula se ligar a um enzima em 3 pontos (sítios) diferentes (p. 296)
- Fig. 25 - Diferenças entre as formas B e Z do DNA. A hélice esquerda do Z-DNA expõe mais as bases nitro-genadas do que a hélice direita do B-DNA, a mais comum.
- Fig. 26 - Estágios na evolução das globinas. O gene que codificava para uma globina ancestral duplicou se e depois se diferenciou, um codificando para um armazenador de  $O_2$  (mioglobina), o outro codificando para um transportador de  $O_2$  (hemoglobi-na)
- Fig. 27 - Relação entre a evolução da hemoglobina e a evolução dos grandes grupos de espécies (phylae), na escala de tempo geológico.
- Fig. 28 - Modelo da mioglobina obtida por difração de raios-X de alta resolução
- Fig. 29 - Fração de  $O_2$  ligado, Y, em função da pressão parcial de  $O_2$ , para a mioglobina (curva a) e a hemoglobina (curvas b e c)
- Fig. 30 - Lula gigante capturada na Noruega. Os tentáculos tinham cerca de 7 metros de comprimento e a lula pesava 220 kilos.
- Fig. 31 - Curvas de dissociação do oxigênio do sangue da lula gigante. A hemocianina perde seu oxigênio com o aumento da temperatura. Compare com as curvas da Fig. 29.
- Fig. 32 - Arvore filogenética dos citocromos c. As diferenças nas estruturas primárias dos citocromos, mostradas na Tabela da esquerda, levam a "árvo-re genealógica" à direita.

Fig. 33 - As taxas de mudanças evolucionárias são diferentes para diferentes proteínas. Quanto mais fundamental é a função da proteína, menor a sua taxa de evolução.

TABELA 1

<u>Processo</u>	<u>Transição</u>	<u>Temperatura*</u>
1. Ionização de átomos	Plasma → gas monoatômico	30.000°K
2. Formação de moléculas	Gás monoatômico + gás molecular	2.000°K
3. Formação de macromoléculas	Polimerização	370°K
4. Formação de líquidos	Condensação	350°K

\* Valores típicos.

(Processos em equilíbrio; temperaturas calculadas pelo princípio da equipartição da energia de Boltzmann ( $\frac{1}{2} k_B T$  por grau de liberdade)).

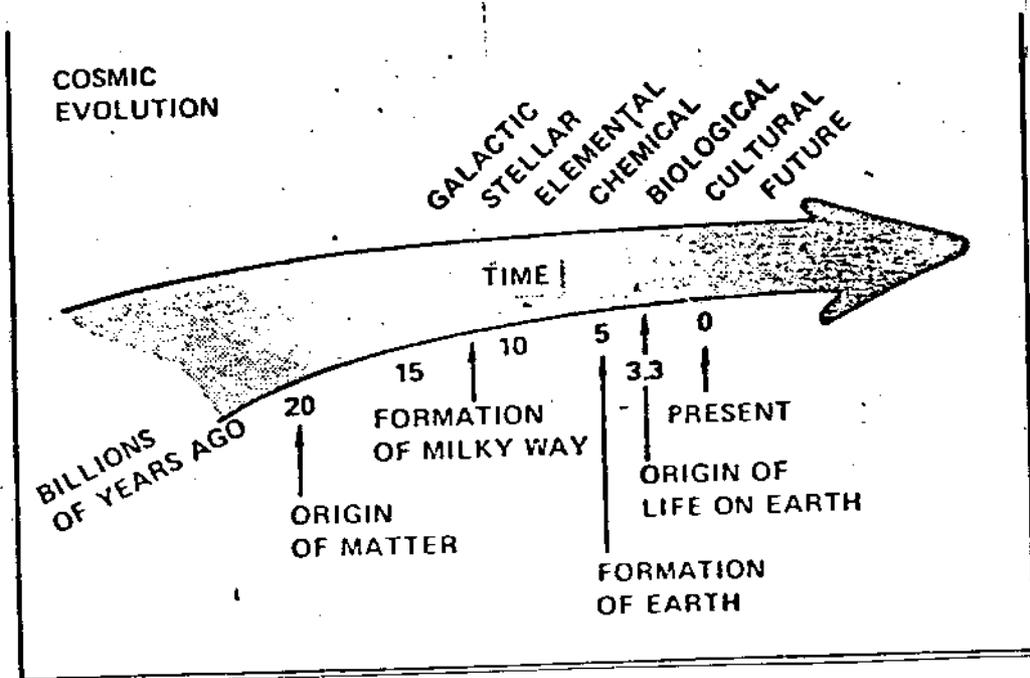


Fig. 1

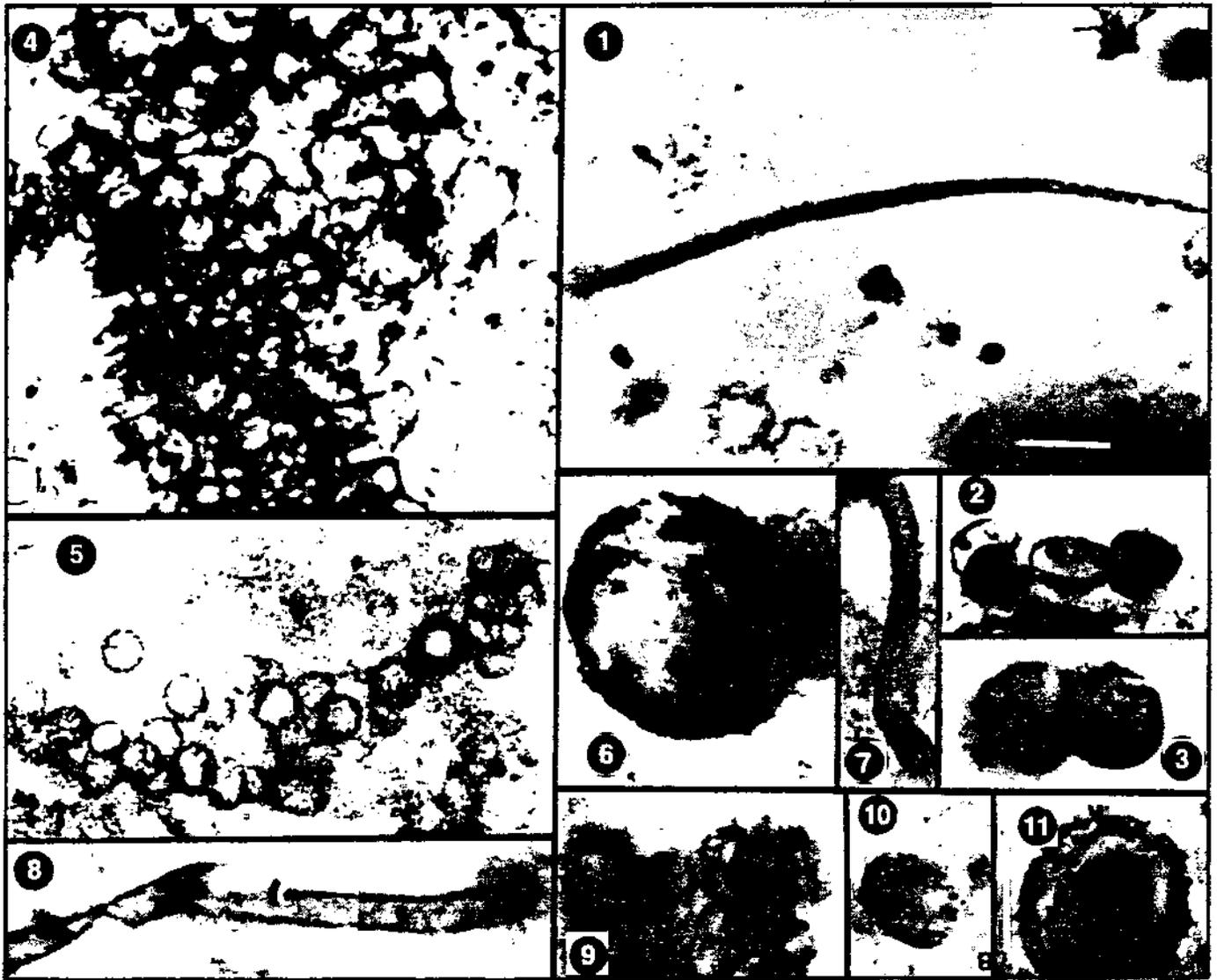


Fig. 2

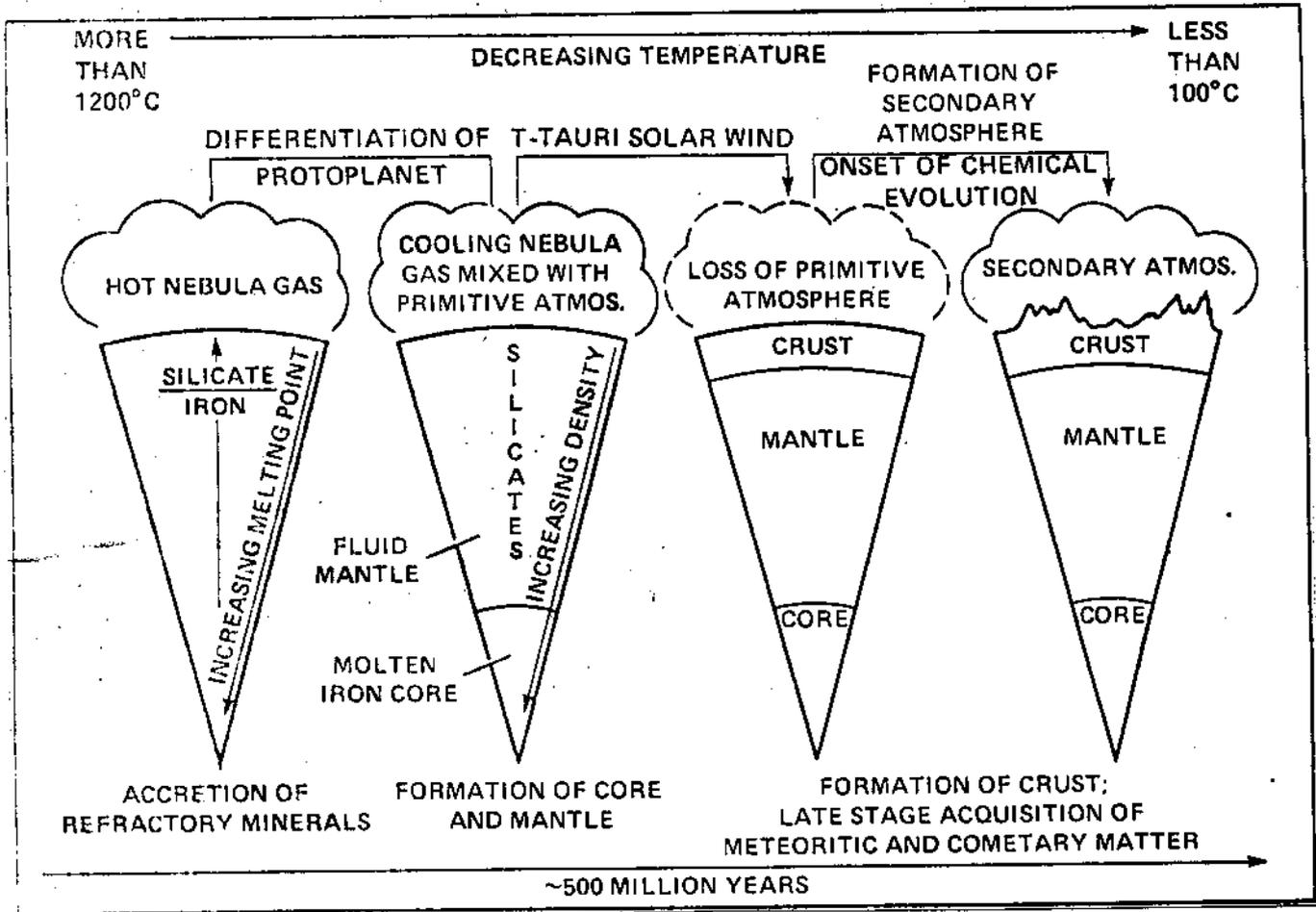


Fig. 3

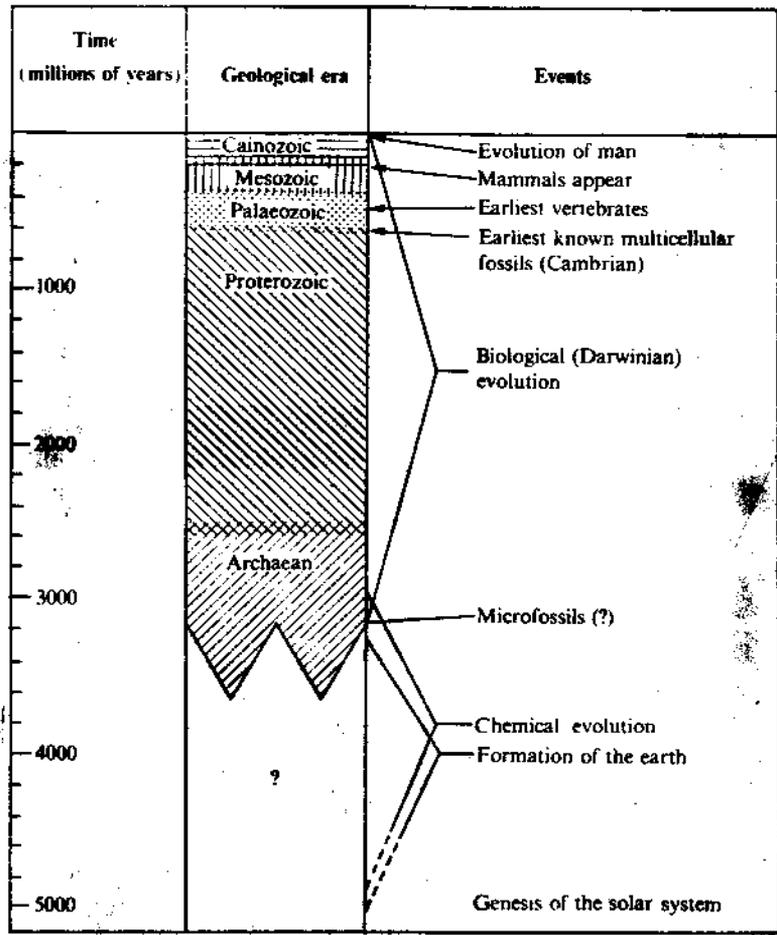


Fig. 4

VIEW FROM THE PRESENT TOWARDS THE PAST

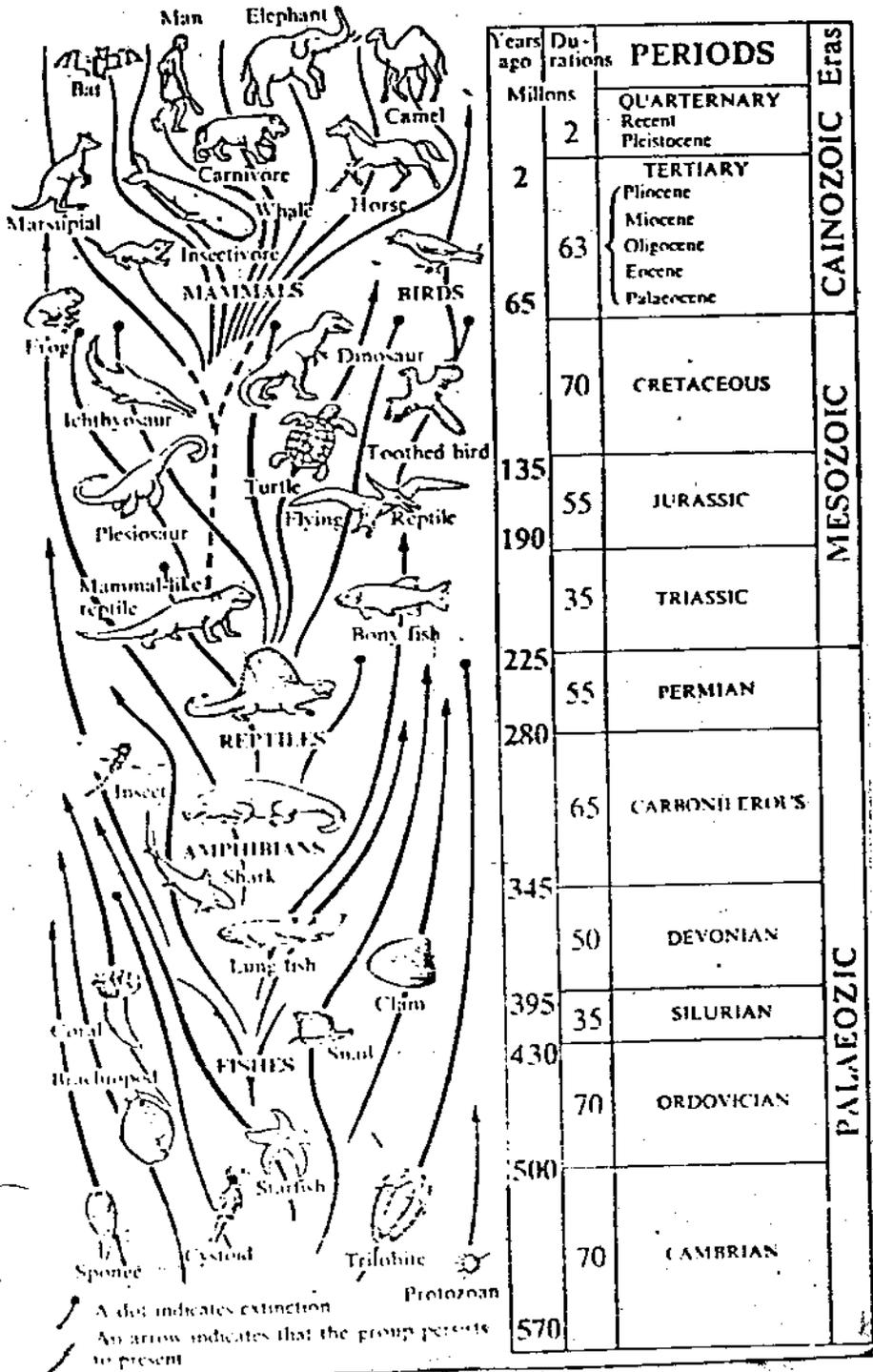
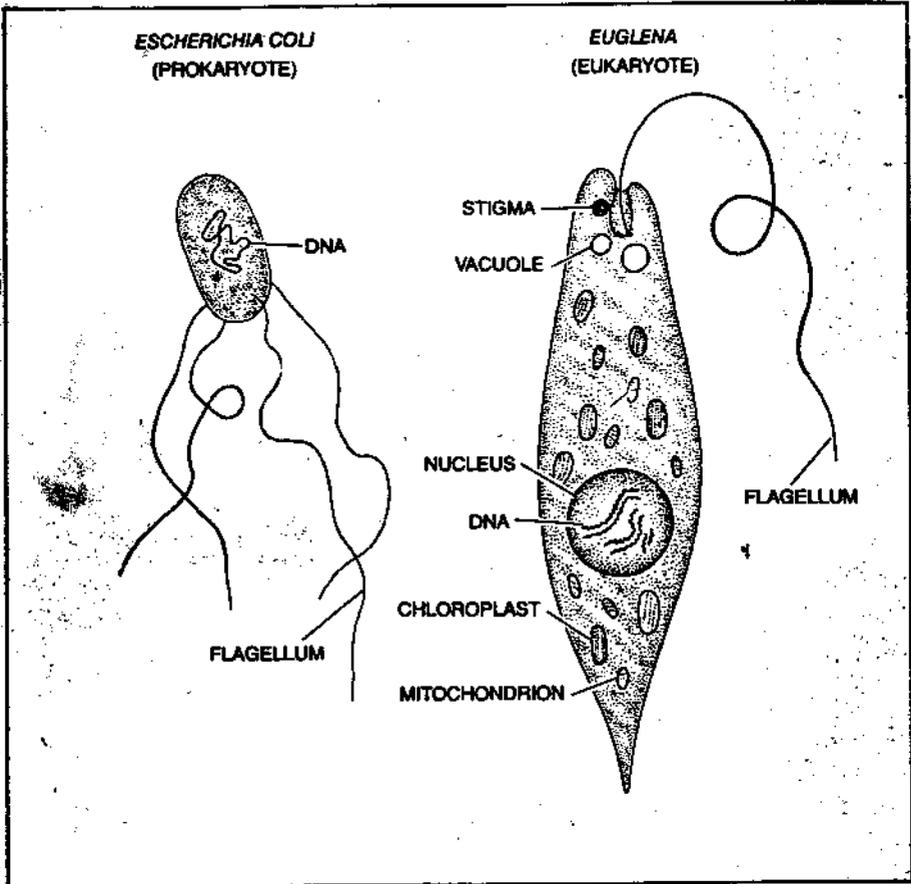


Fig. 5



	PROKARYOTES	EUKARYOTES
ORGANISMS REPRESENTED	BACTERIA AND CYANOBACTERIA	PROTISTS, FUNGI, PLANTS AND ANIMALS
CELL SIZE	SMALL, GENERALLY 10 TO 100 MICROMETERS	LARGE, GENERALLY 1 TO 10 MICROMETERS
METABOLISM AND PHOTOSYNTHESIS	ANAEROBIC OR AEROBIC	AEROBIC
MOTILITY	NONMOTILE OR WITH FLAGELLA MADE OF THE PROTEIN FLAGELLIN	USUALLY MOTILE, CILIA OR FLAGELLA CONSTRUCTED OF MICROTUBULES
CELL WALLS	OF CHARACTERISTIC SUGARS AND PEPTIDES	OF CELLULOSE OR CHITIN, BUT LACKING IN ANIMALS
ORGANELLES	NO MEMBRANE-BOUNDED ORGANELLES	MITOCHONDRIA AND CHLOROPLASTS
GENETIC ORGANIZATION	LOOP OF DNA IN CYTOPLASM	DNA ORGANIZED IN CHROMOSOMES AND BOUNDED BY NUCLEAR MEMBRANE
REPRODUCTION	BY BINARY FISSION	BY MITOSIS OR MEIOSIS
CELLULAR ORGANIZATION	MAINLY UNICELLULAR	MAINLY MULTICELLULAR, WITH DIFFERENTIATION OF CELLS

Fig. 6

- 59 -

1st base	2nd base	3rd base	Amino Acids
1st base	U	G	Leu, Leu', Phe, Phe
		A	Ser, Ser, Ser, Ser
		C	stop, stop, Tyr, Tyr
		U	Trp, stop, Cys, Cys
	C	G	Leu, Leu, Leu
		A	Pro, Pro, Pro, Pro
		C	Gln, Gln, His, His
		U	Arg, Arg, Arg, Arg
	A	G	Met, Ile, Ile, Ile
		A	Thr, Thr, Thr, Thr
		C	Lys, Lys, Asn, Asn
		U	Arg, Arg, Ser, Ser
	G	G	Val, Val, Val, Val
		A	Ala, Ala, Ala, Ala
		C	Glu, Glu, Asp, Asp
		U	Gly, Gly, Gly, Gly

Fig. 7

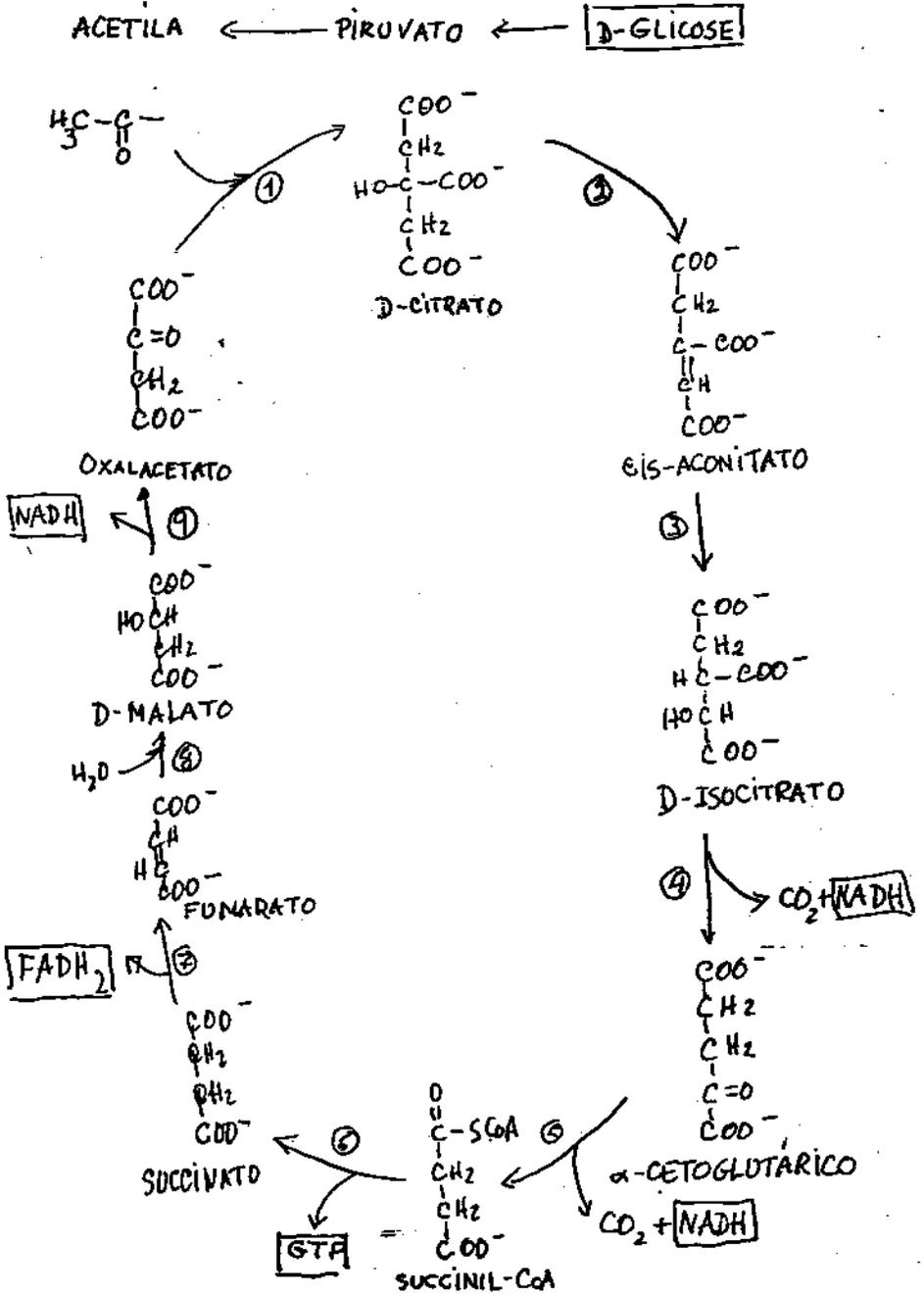


Fig. 8

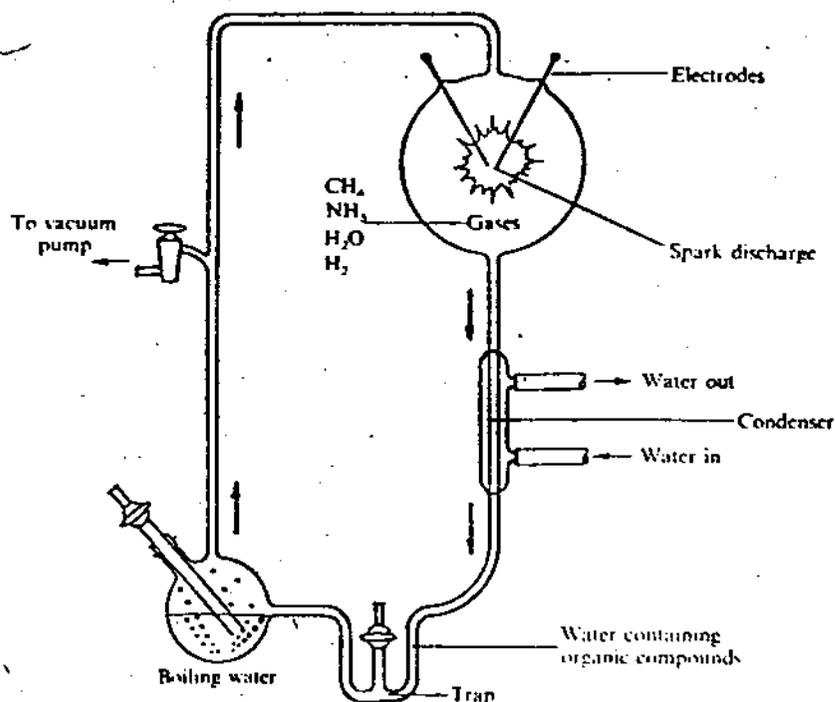


Fig. 9

*Yields from sparking a mixture of CH<sub>4</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, and H<sub>2</sub>;  
710 mg of carbon added as CH<sub>4</sub>*

Compound	Yield moles ( $\times 10^6$ )
Glycine	63
Glycolic acid	56
Sarcosine	5
Alanine	34
Lactic acid	31
N-Methylalanine	1
$\alpha$ -Amino-n-butyric acid	5
$\alpha$ -Aminoisobutyric acid	0.1
$\alpha$ -Hydroxybutyric acid	5
$\beta$ -Alanine	15
Succinic acid	4
Aspartic acid	0.4
Glutamic acid	0.6
Iminodiacetic acid	5.5
Iminoacetic-propionic acid	1.5
Formic acid	233
Acetic acid	15
Propionic acid	13
Urea	2.0
N-Methyl urea	1.5

Fig. 10

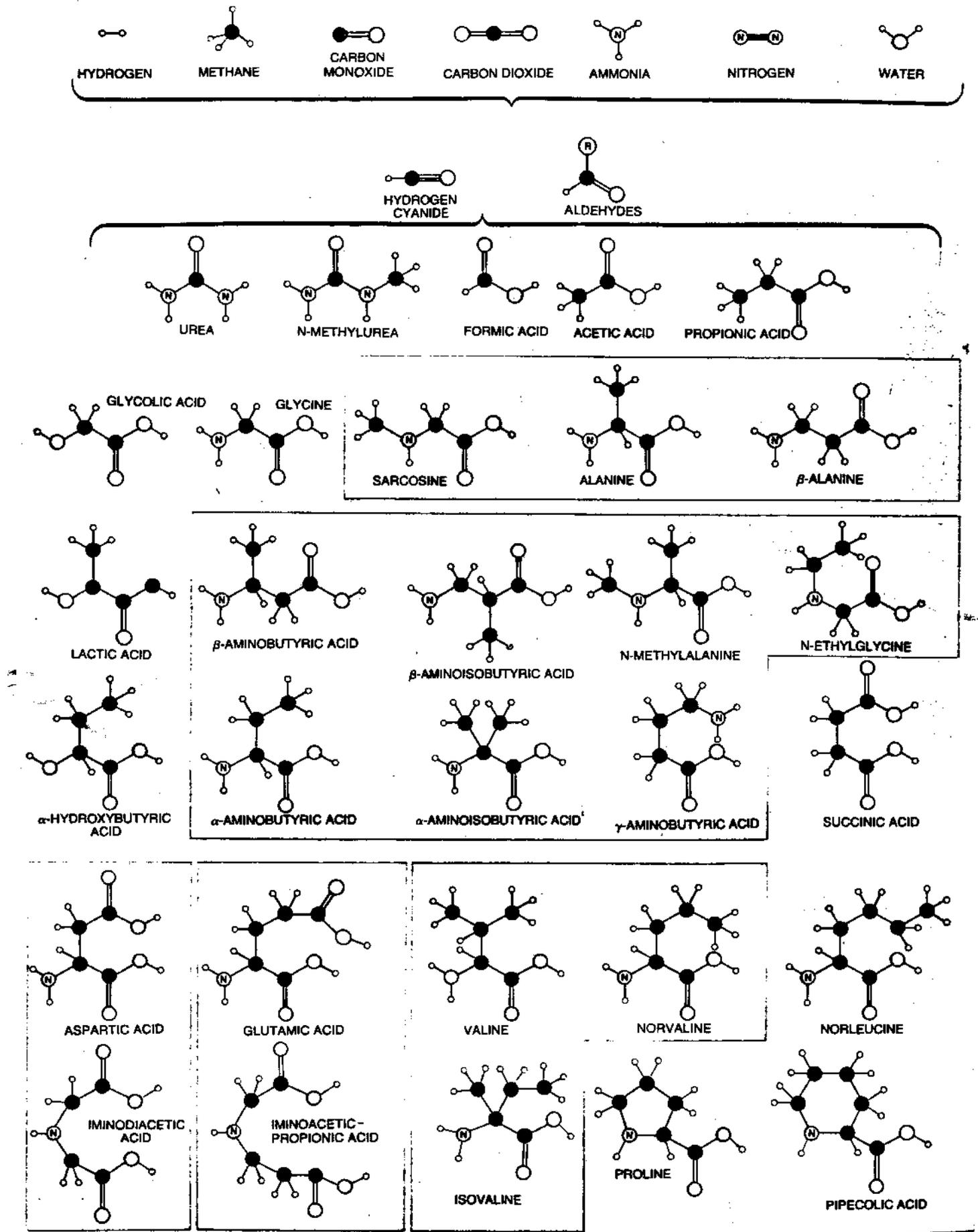
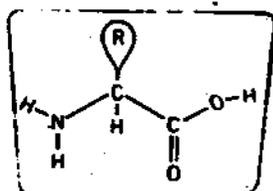


Fig. 11

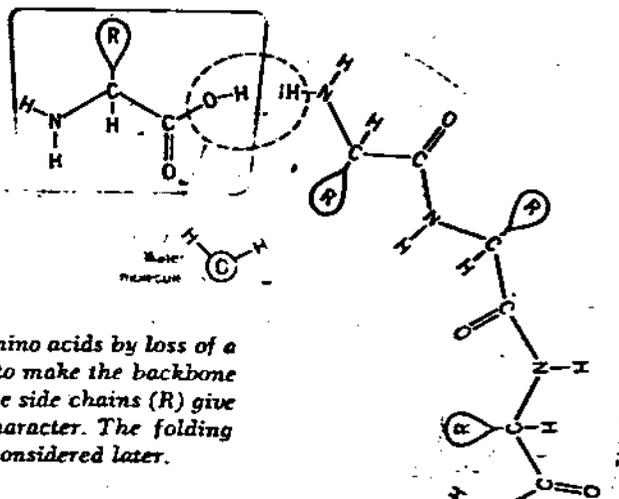
TABLE 2.— INTERSTELLAR MOLECULES (1979)

Inorganic			Organic	
H <sub>2</sub>	Hydrogen	Diatomic	CH	Methylidine
OH	Hydroxyl radical		CH <sup>+</sup>	Methylidine ion
NO	Nitric oxide		CN	Cyanide radical
NS	Nitrogen sulfide		CO	Carbon monoxide
SiO	Silicon monoxide		CS	Carbon monosulfide
SiS	Silicon sulfide			
SO	Sulfur monoxide			
H <sub>2</sub> O	Water	Triatomic	HC <sub>2</sub>	Ethynyl radical
HNO	Hyponitrous acid		HCN	Hydrogen cyanide
N <sub>2</sub> H <sup>+</sup>			HNC	Hydrogen isocyanide
H <sub>2</sub> S	Hydrogen sulfide		HCO <sup>+</sup>	Formyl ion
SO <sub>2</sub>	Sulfur dioxide		HCO	Formyl radical
			OCS	Carbonyl sulfide
NH <sub>3</sub>	Ammonia	4-Atomic	HC <sub>2</sub> H	Acetylene
			C <sub>2</sub> CN	Cyanoethynyl radical
			H <sub>2</sub> CO	Formaldehyde
			HNCO	Isocyanic acid
			H <sub>2</sub> CS	Thioformaldehyde
		5-Atomic	CH <sub>4</sub>	Methane
			HC <sub>4</sub>	Butadiynyl radical
			H <sub>2</sub> CNH	Methanimine
			H <sub>2</sub> NCN	Cyanamide
			HC <sub>2</sub> CN	Cyanoacetylene
			HCO <sub>2</sub> H	Formic acid
			H <sub>2</sub> CCO	Ketene
		6-Atomic	CH <sub>3</sub> CN	Methyl cyanide
			CH <sub>3</sub> OH	Methyl alcohol
			HCONH <sub>2</sub>	Formamide
		7-Atomic	CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H	Methylacetylene
			CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	Methylamine
			H <sub>2</sub> CCHCN	Vinyl cyanide
			H(C <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CN	Cyanodiacetylene
			CH <sub>3</sub> CHO	Acetaldehyde
		8-Atomic	HCO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Methyl formate
		9-Atomic	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CN	Ethyl cyanide
			H(C <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CN	Cyanotriacetylene
			CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	Ethyl Alcohol
			(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> O	Dimethyl ether
		11-Atomic	H(C <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CN	Cyanotetracetylene

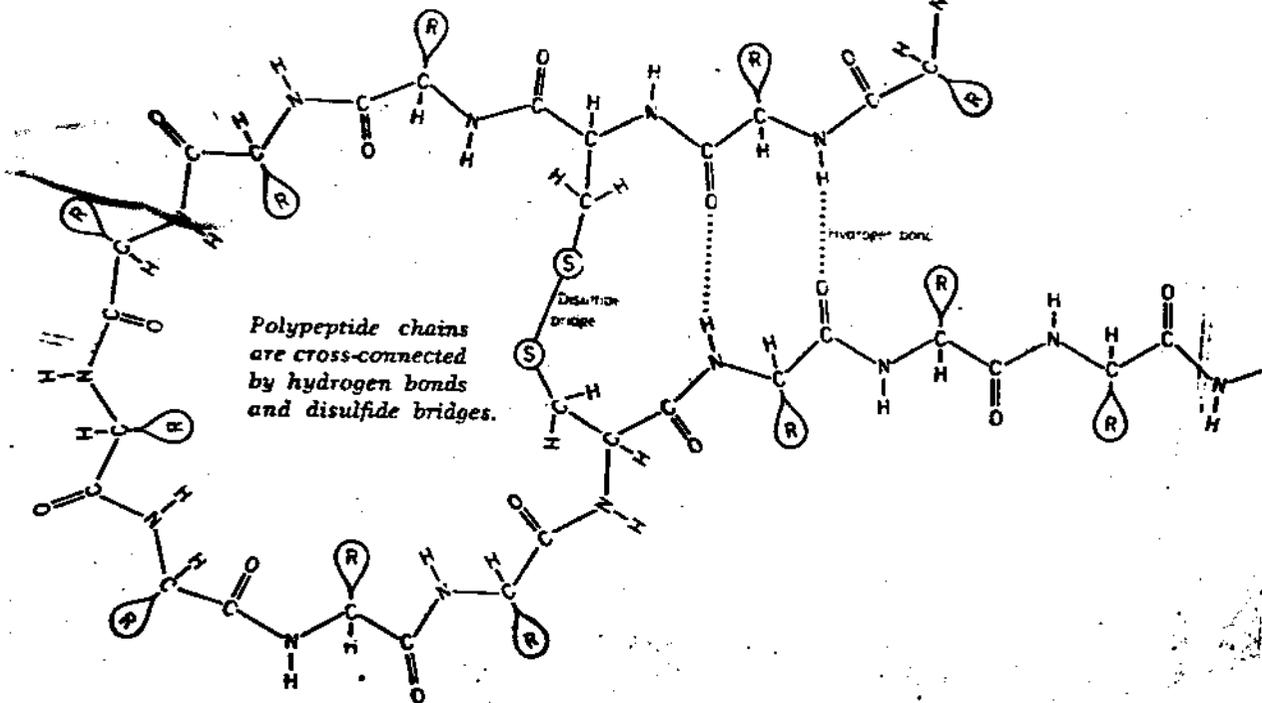
Fig. 12



THE AMINO ACID MONOMER



The peptide bond formed between amino acids by loss of a water molecule joins identical units to make the backbone of the polypeptide chain. The variable side chains (R) give each protein chain its distinctive character. The folding of the chain in three dimensions is considered later.



Polypeptide chains are cross-connected by hydrogen bonds and disulfide bridges.

Fig. 13

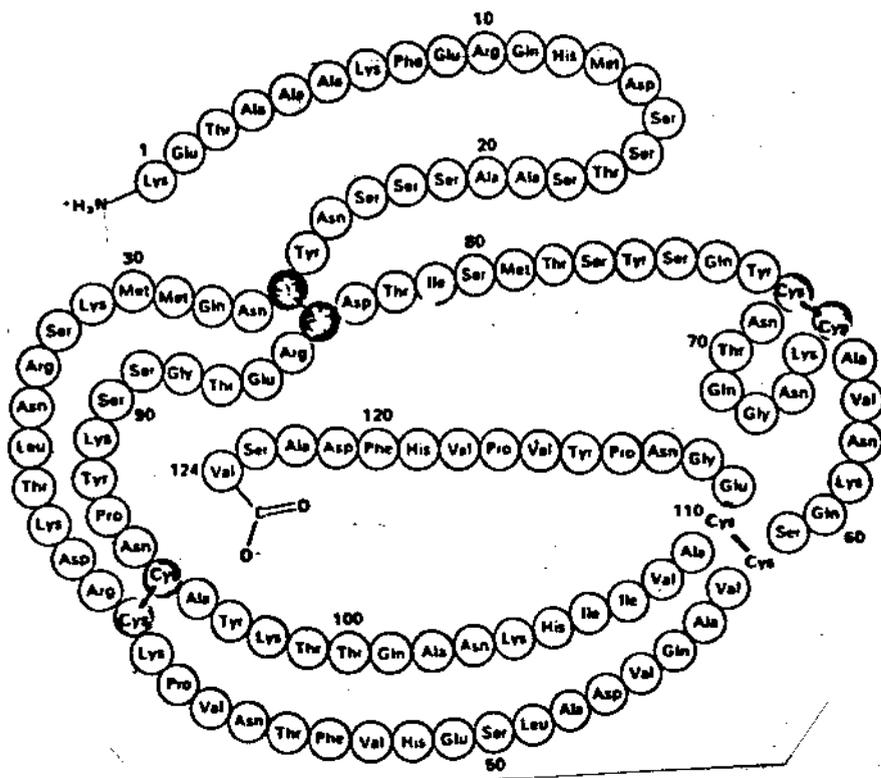


Fig. 14



- 67 -

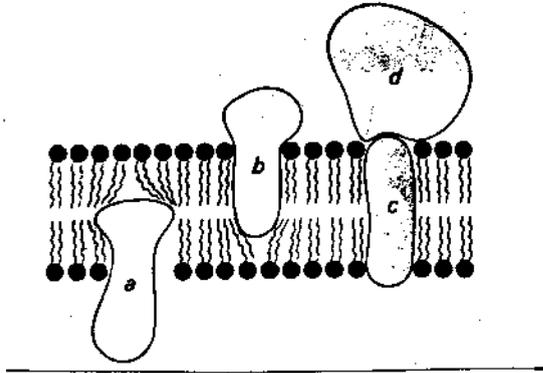


Fig. 16

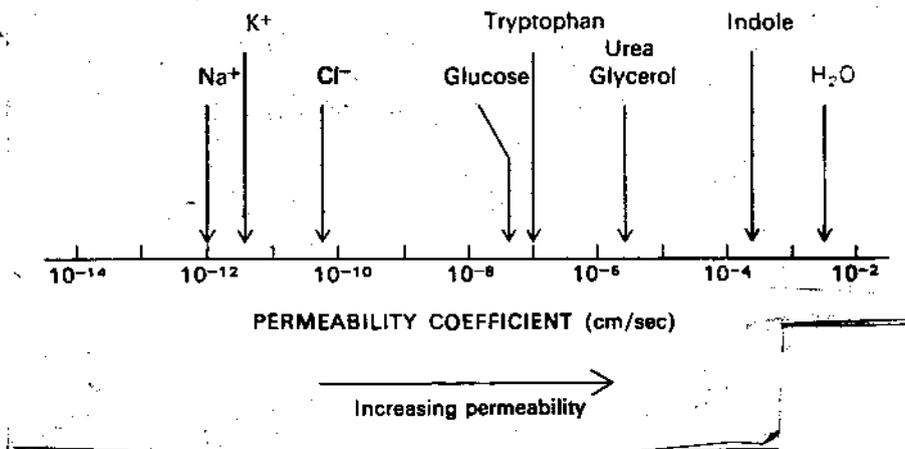


Fig. 17



Fig. 18

- 69 -

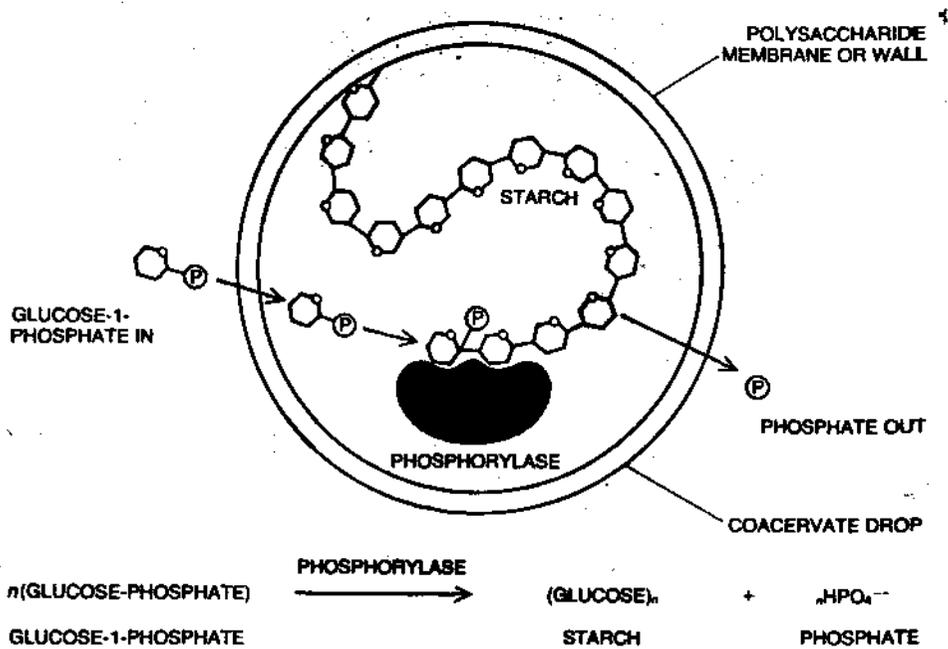


Fig. 19

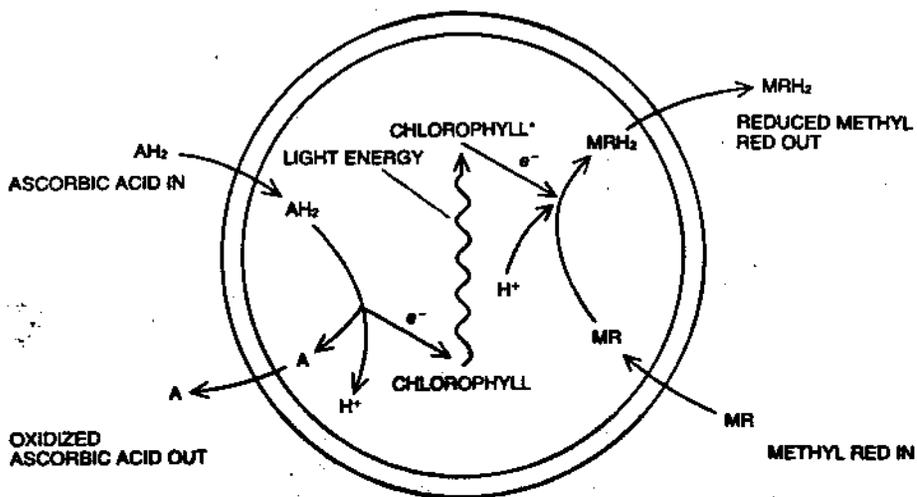


Fig. 20

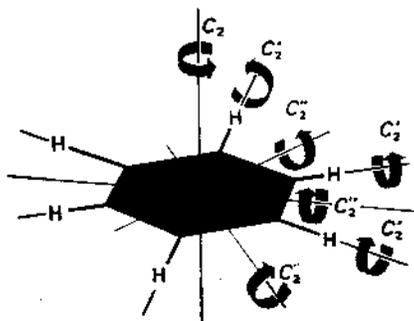


Fig. 21

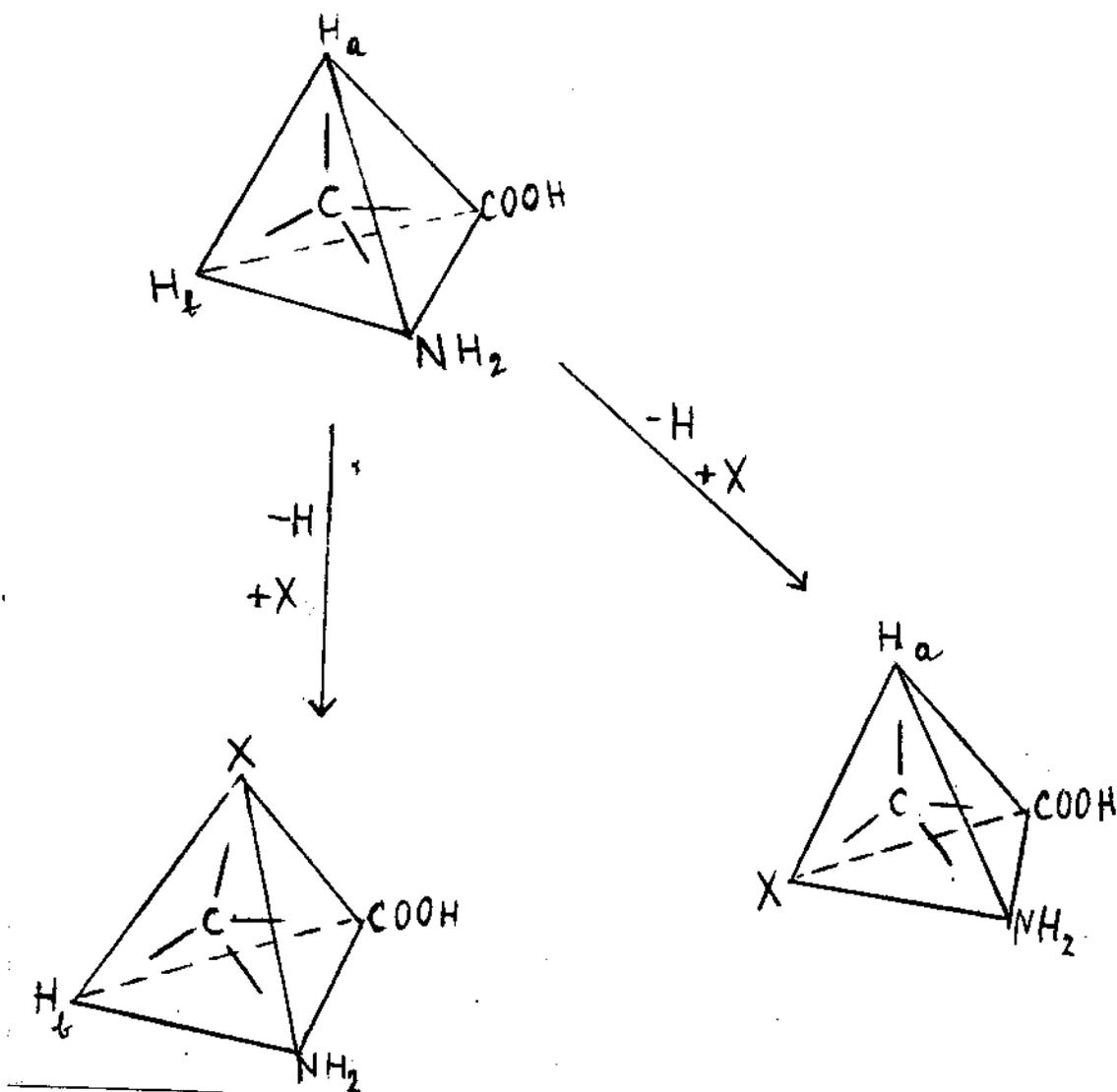


Fig. 22

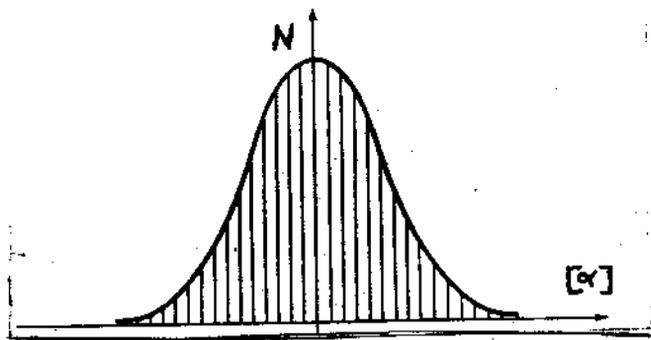


Fig. 23

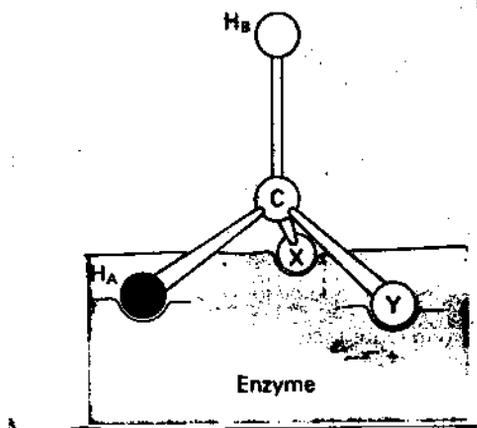


Fig. 24

Left-handed, or Z, form of DNA exposes  
base pairs more than does right-handed, or  $\Sigma$ , helix

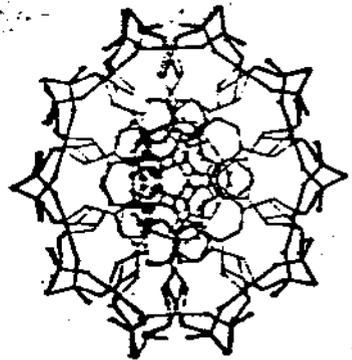
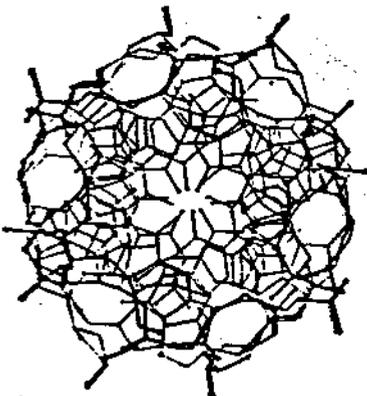
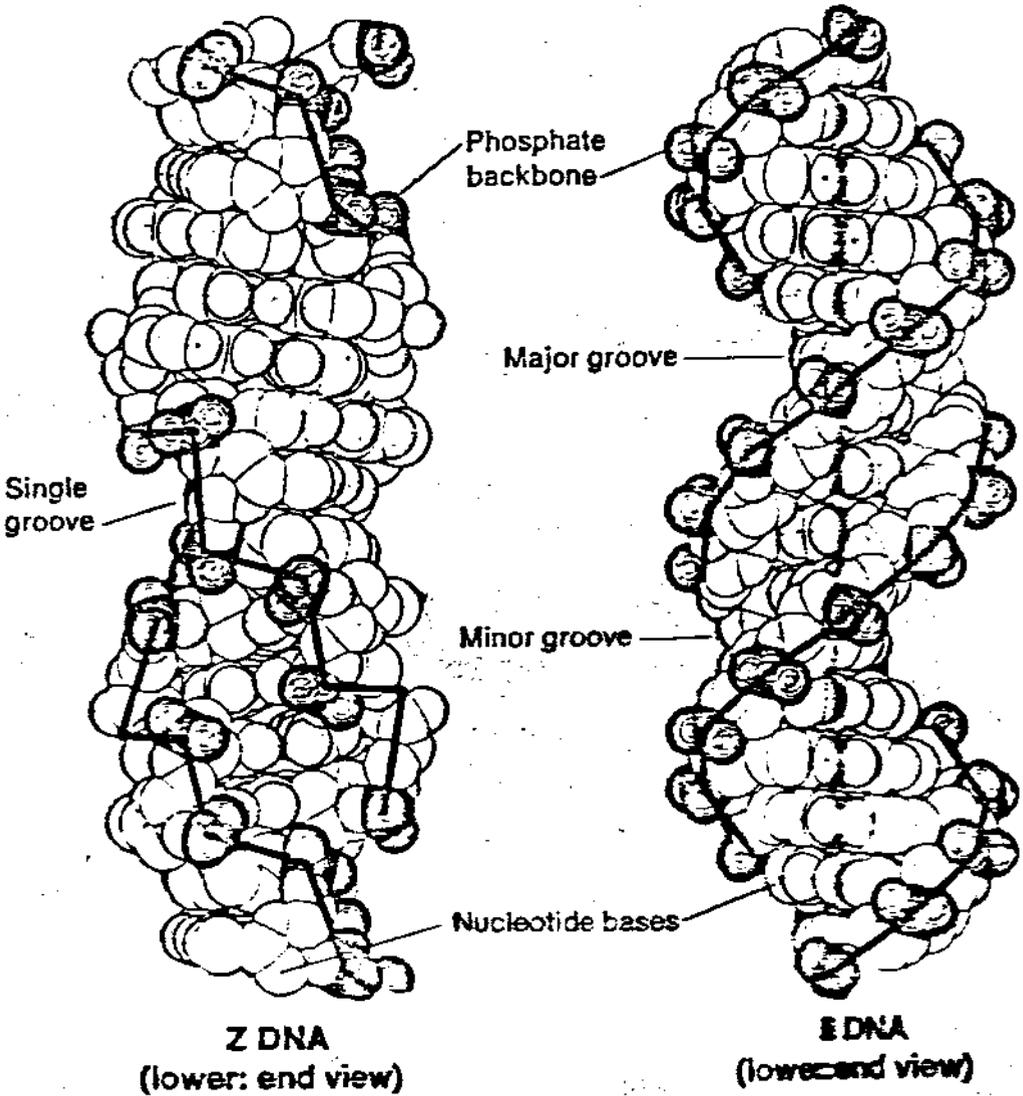


Fig. 25

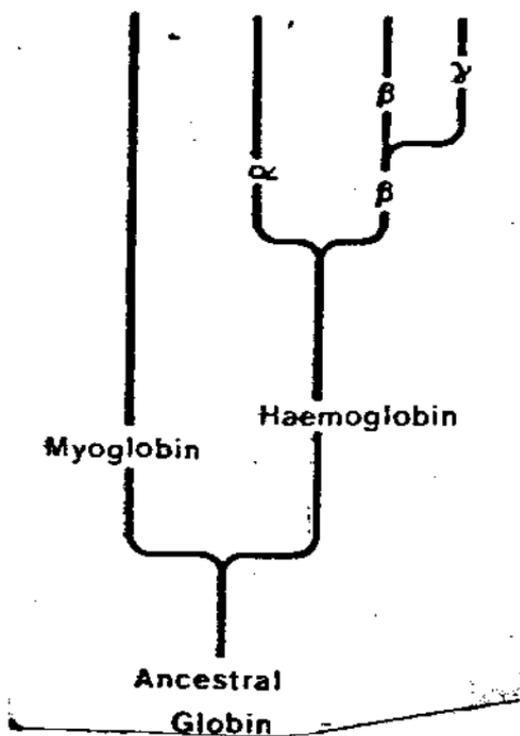


Fig. 26

The evolution of biological macromolecules

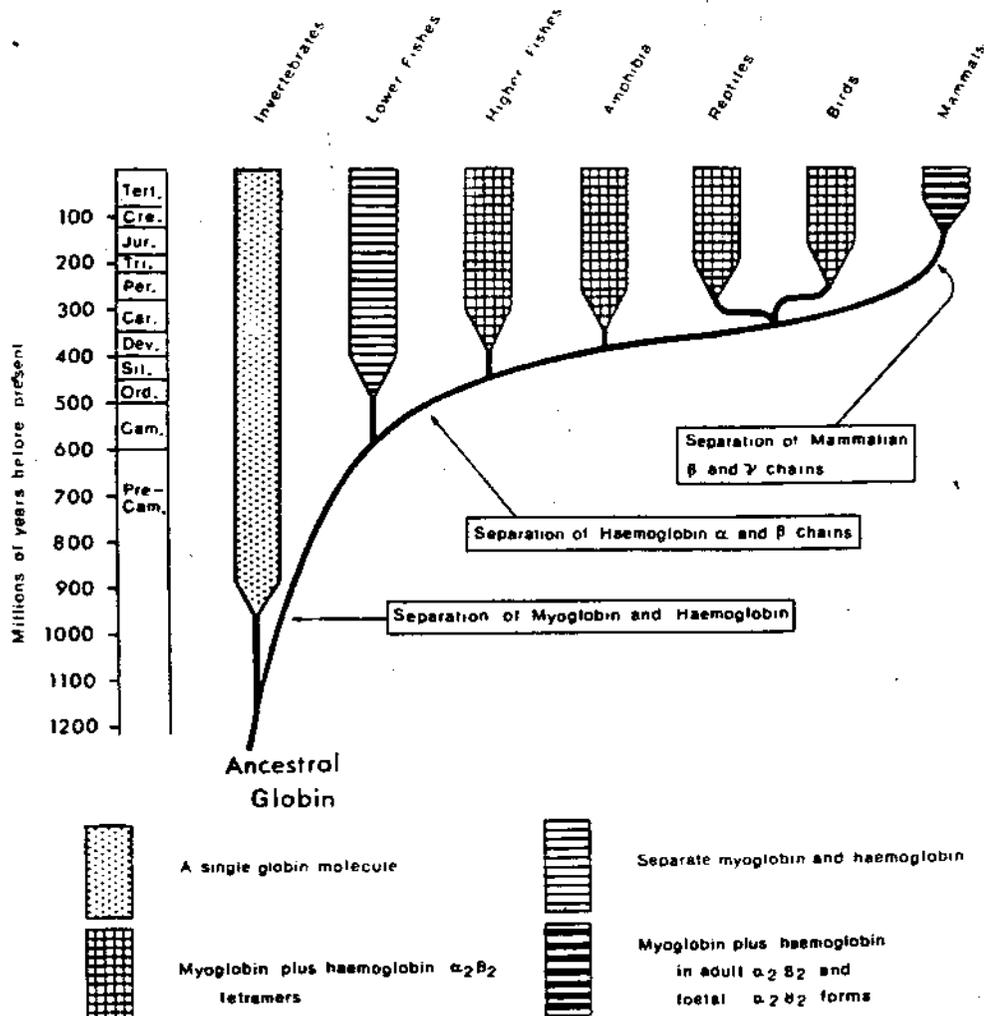


Fig. 27

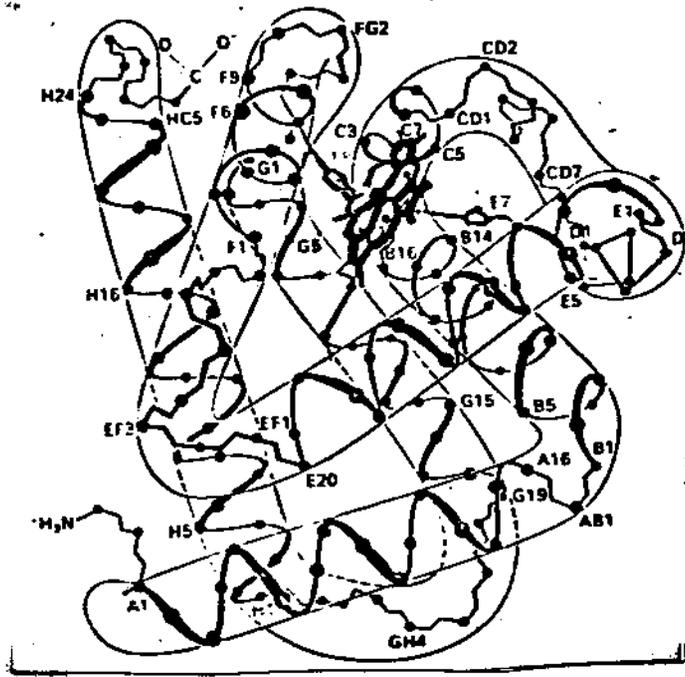


Fig. 28

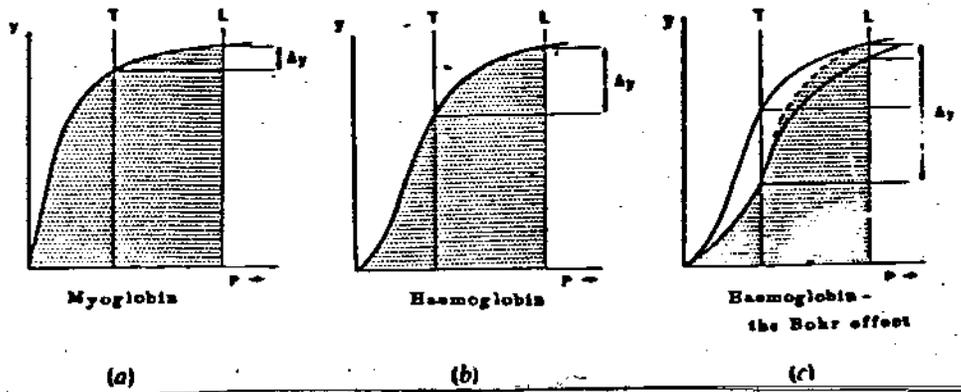


Fig. 29



Fig. 30

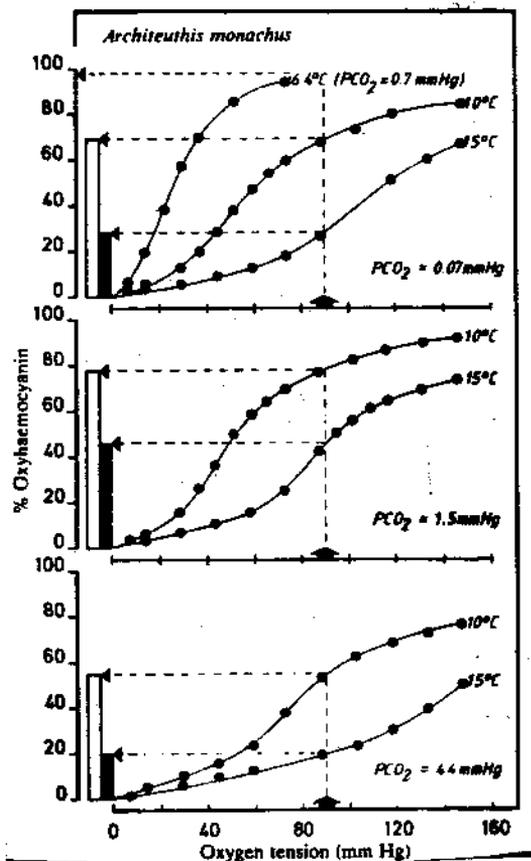


Fig. 31



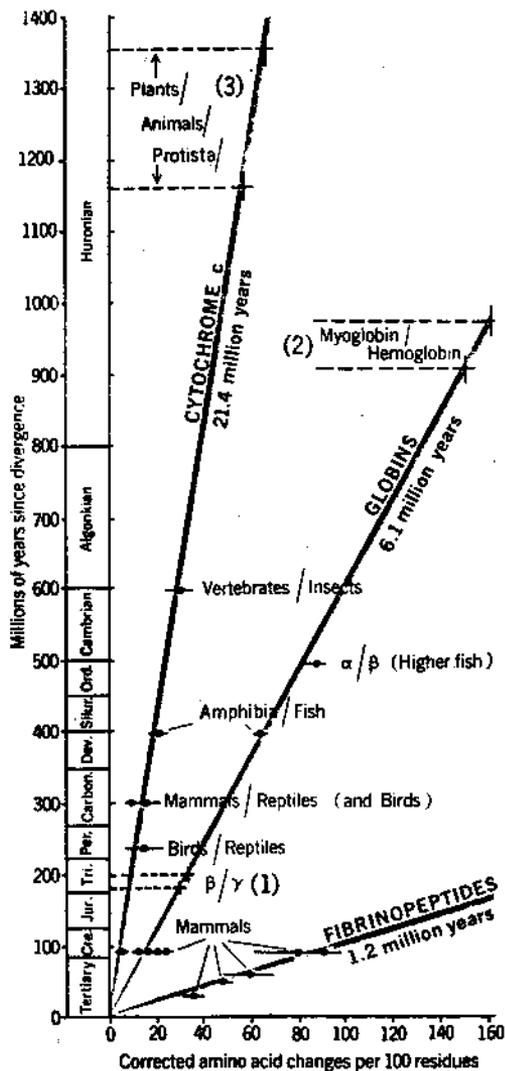


Fig. 33

## BIBLIOGRAFIA SUMÁRIA

- 1 - Astronomia e Cosmologia: D. Goldsmith, "The Universe", Benjamin, 1976.
- 2 - Biofísica: M. Volkenstein, "Biophysics", Mir, 1981.
- 3 - Bioquímica: L. Stryer, "Biochemistry", Freeman (2a. Edição), 1981.
- 4 - Evolução Molecular: F.J. Ayala (editor) "Molecular Evolution", Sinauer, 1976.
- 5 - Teoria da Evolução: Scientific American, vol. 239, nº 3, September, 1978.
- 6 - Genética: La Recherche, nº 155, Mai, 1984.
- 7 - J. Billingham, "Life in the Universe", The MIT Press, 1981.
- 8 - J. Keosian, "The Origin of Life", Reinhold, 1964
- 9 - M. Calvin, "Chemical Evolution" Oxford 1969
- 10 - A.I. Oparin, "The Origin of Life on Earth", Macmillan, 1938; Dover Reprints, 1953