

# Crescimento e renovação celular

## Replicação do DNA

Jorge Oliveira & Catarina Coelho

Departamento de Zootecnia, Engenharia Rural e Veterinária



# Introdução

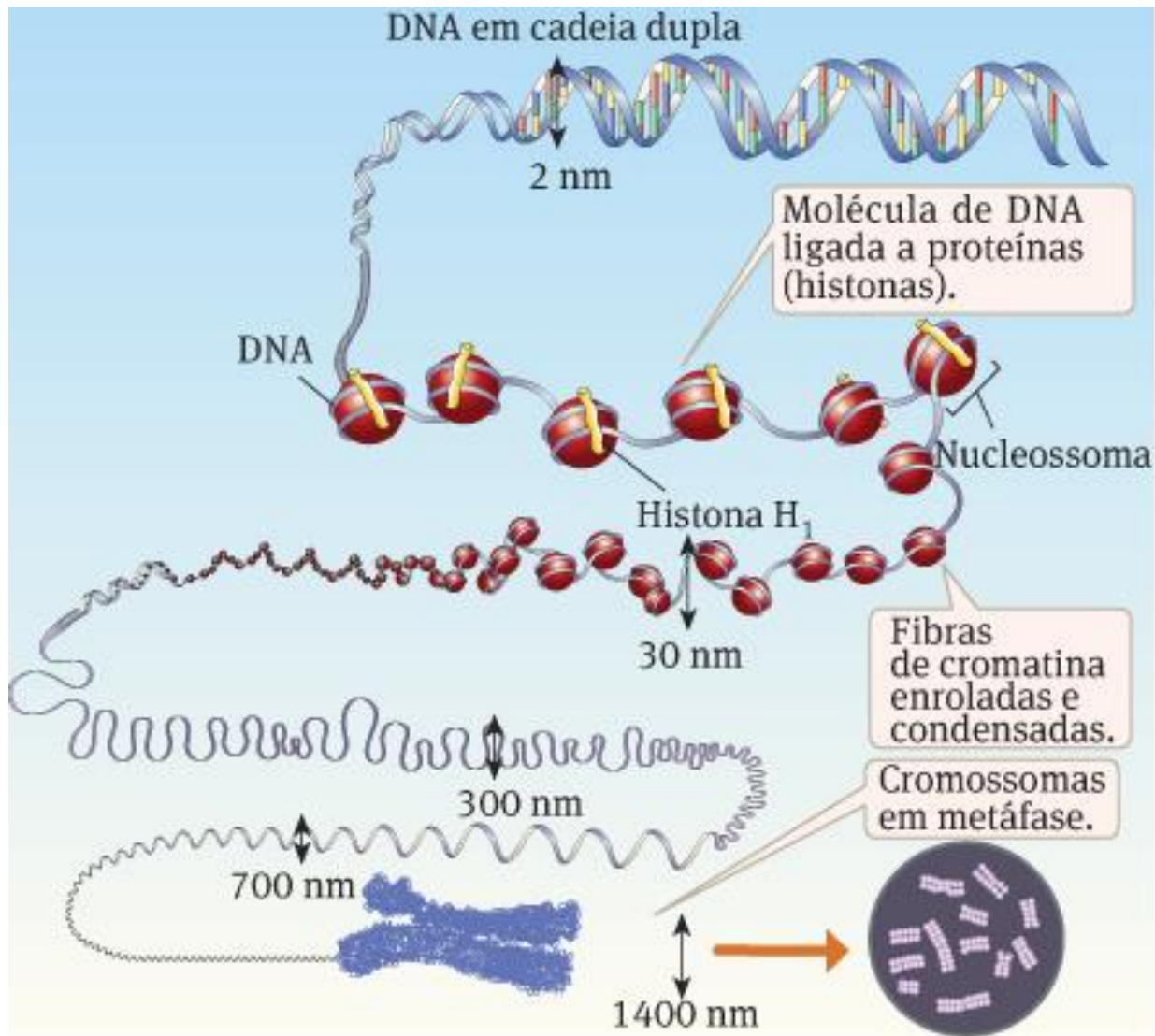
Uma das características de todos os organismos vivos é a sua capacidade de reprodução, através da qual transmitem à descendência as suas características próprias.

O conjunto de características transmitidas pelos progenitores aos seus descendentes constitui a sua herança genética.

Todas as células vivas provêm de outras preexistentes que, em cada divisão celular, transmitem o material genético às células filhas, assegurando que as funções que executam serão perpetuadas na sua descendência.

Na base deste princípio está a capacidade do material genético se replicar no momento da divisão celular e assim poder ser transmitido à descendência.

# Introdução

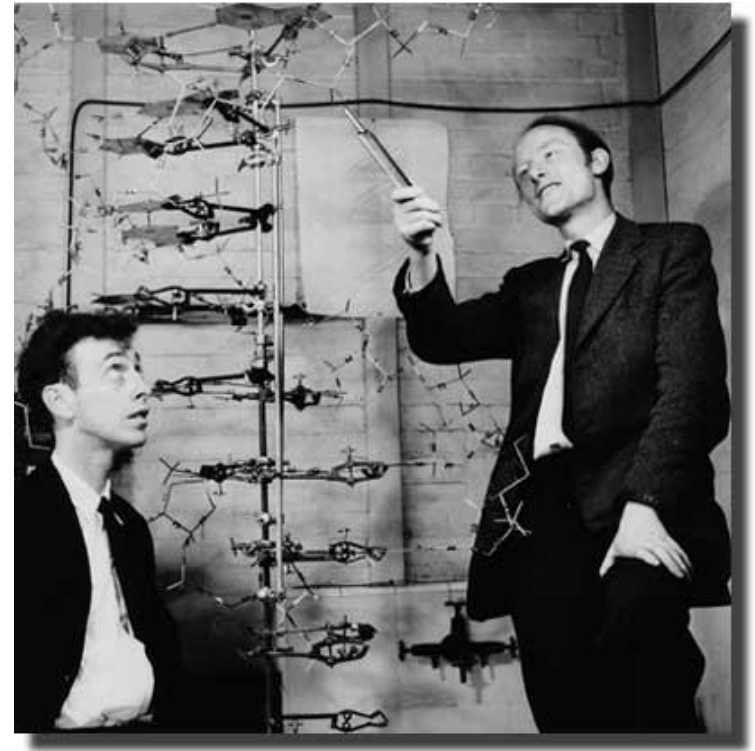


# Bases moleculares da replicação

Na primeira metade do século 20 foi estabelecido que tanto em eucariotas como em procariotas, o DNA era a molécula responsável pela passagem das características genéticas entre gerações, através de experiências clássicas como as de Avery, MacLeod e McCarthy em 1944 e de Hershey e Chase em 1952.

# Bases moleculares da replicação

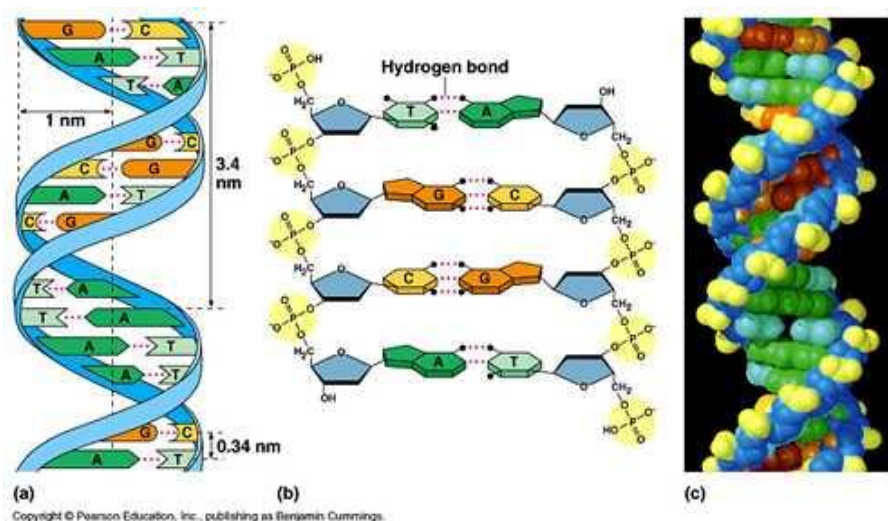
O mecanismo molecular através do qual se efectuava esta transmissão continuou por esclarecer até ao desenvolvimento de um modelo da estrutura em hélice dupla do DNA por Watson e Crick em 1953, talvez inspirado na estrutura secundária em hélice alfa das proteínas, descrita havia pouco tempo por Pauling e apoiado nos resultados obtidos por Franklin e Wilkins partir de estudos de difracção aos raios X da molécula de DNA.



# Bases moleculares da replicação

No modelo proposto por Watson e Crick, a molécula de DNA era constituída por uma dupla hélice antiparalela formada por:

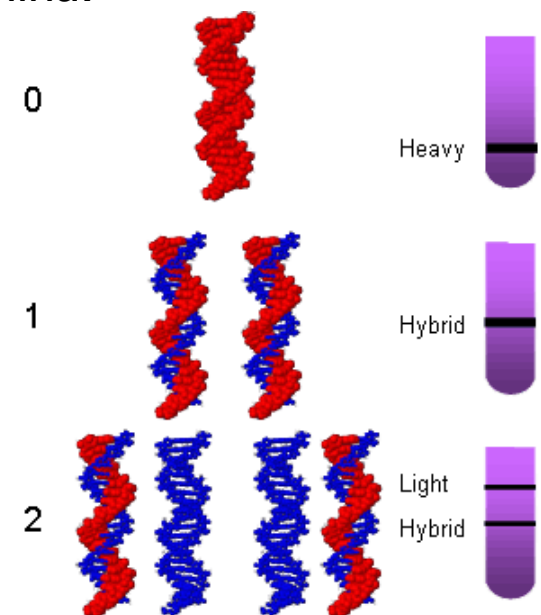
- 1) Na parte externa da molécula um esqueleto de grupos fosfato e açúcar;
- 2) Na parte interna da molécula as duas cadeias ligadas entre si por pontes de hidrogénio estabelecidas entre bases azotadas complementares.
- 3) O emparelhamento faz-se sempre entre uma base purina e uma pirimidina



# Mecanismo de replicação do DNA

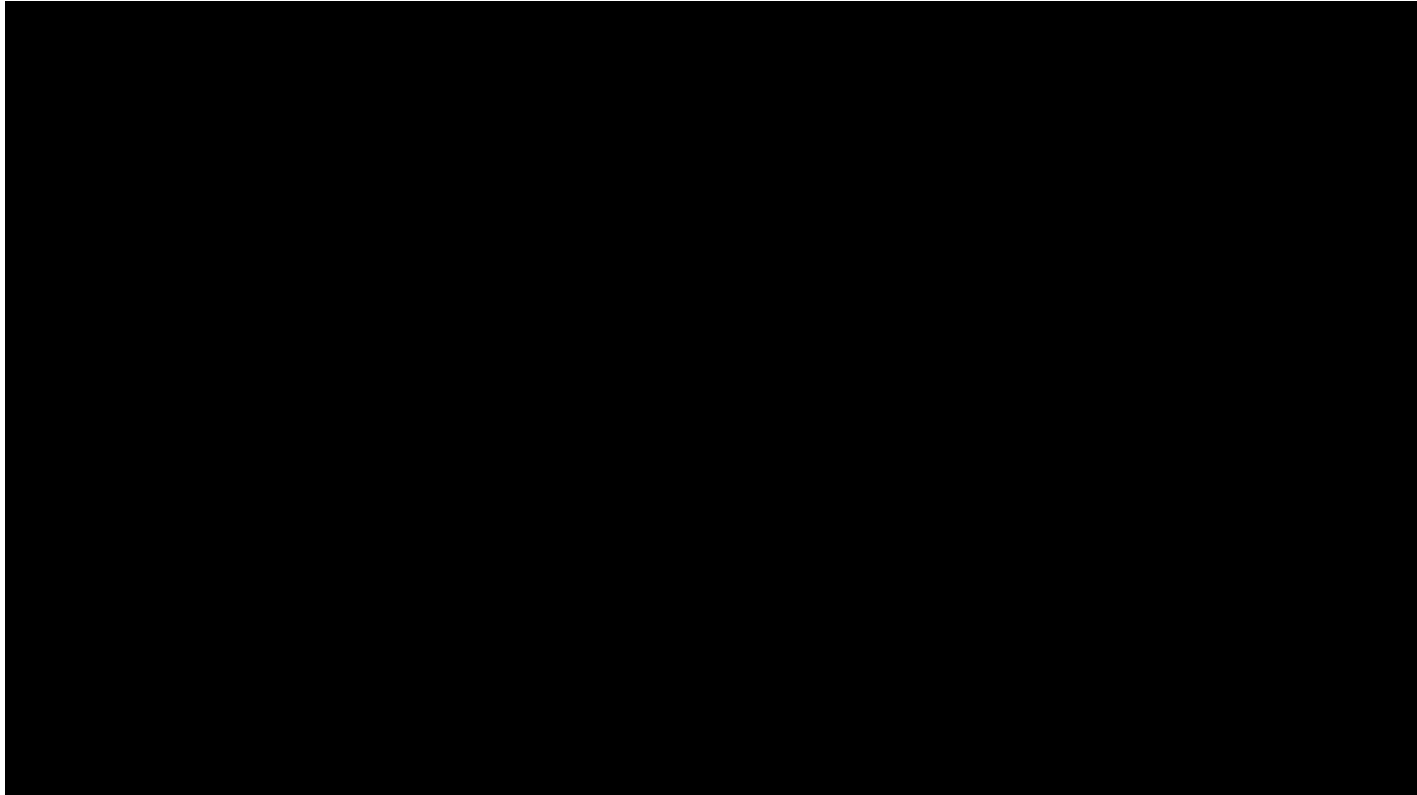
O emparelhamento regular e complementar das bases azotadas entre duas cadeias de mecanismo simples para a sua replicação, cada uma das duas cadeias da molécula de DNA parental seria utilizada como modelo para a síntese de uma nova cadeia que lhe fosse complementar, dando assim origem à formação de uma hélice dupla idêntica à parental. DNA na estrutura da hélice dupla sugeriu a Watson e Crick um em cada célula filha.

Este modelo implicava teoricamente um **mecanismo de replicação semiconservativo**, o que veio a ser comprovado em 1958 pela experiência clássica de Meselson e Stahl.



# Mecanismo de replicação do DNA

Embora nem todos os detalhes propostos para o mecanismo de replicação da cadeia dupla de DNA (também chamada de *duplex*) por Watson e Crick estivessem correctos, os conceitos fundamentais da hipótese mantiveram-se conforme originalmente descritos por aqueles autores.

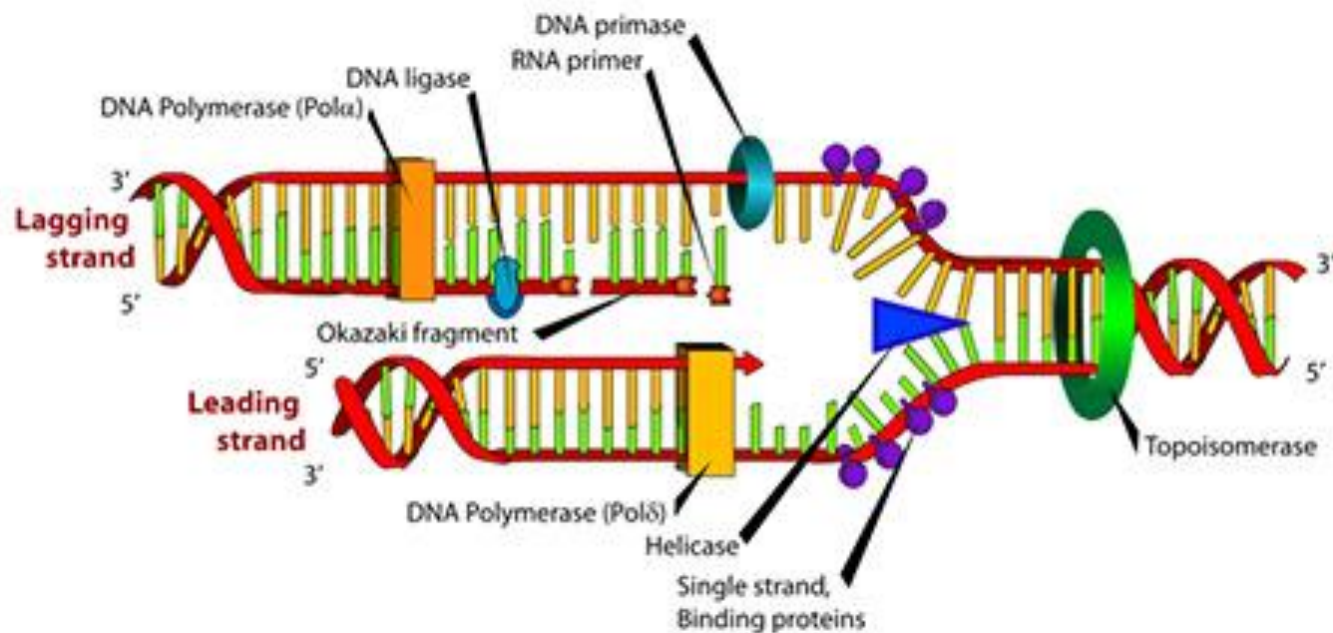


<https://www.youtube.com/watch?v=pin3569QfgI>

# Enzimas envolvidas na replicação

O processo de replicação é complexo e envolve a formação de estruturas multiproteicas que se associam e dissociam, de modo sequencial, à molécula do DNA no decorrer deste processo.

A enzima chave é a DNA polimerase que catalisa a incorporação de desoxirribonucleósidos 5'-trifosfato (dNTP) na cadeia nascente de DNA.



# Enzimas envolvidas na replicação

A DNA polimerase:

- ✓ Sintetiza DNA no sentido 5' para 3'
  - só pode adicionar um novo dNTP na extremidade da cadeia em crescimento, o que obriga à existência de dois tipos de replicação, uma contínua e outra descontínua.
  - A contínua ocorre na cadeia cujo sentido de replicação de 5' para 3' coincide com a direcção de crescimento da cadeia filha sintetizada *de novo*,
  - A descontínua ocorre na cadeia cujo sentido de replicação de 5' para 3' é contrário à direcção de crescimento da cadeia filha em formação.
- ✓ Corrige os erros que possam existir

# Mecanismo geral de replicação

De um modo geral, o processo de replicação inicia-se a partir de uma origem de replicação reconhecida por um complexo de reconhecimento da origem (ORC, *Origin Recognition Complex*),

A DNA Topoisomerase é a enzima que permite o desenrolamento da cadeia.

A DNA Helicase quebra as ligações entre as duas cadeias.

Estas enzimas desenrolam as duas cadeias que compõem a dupla hélice, quebrando as ligações hidrogénio estabelecidas entre as bases azotadas complementares de cada cadeia.

# Mecanismo geral de replicação

Às duas cadeias simples assim obtidas, associam-se proteínas específicas que as vão manter numa estrutura adequada ao seu reconhecimento pelo complexo da DNA polimerase, permitindo que possam servir de modelo à síntese das duas cadeias filhas que lhes serão complementares.

Este conjunto de proteínas e DNA, localizado na zona da origem de replicação, vai originar a constituição de uma dupla forquilha de replicação, que se estende em direcções opostas para os dois lados da origem no caso mais comum da replicação bidireccional.

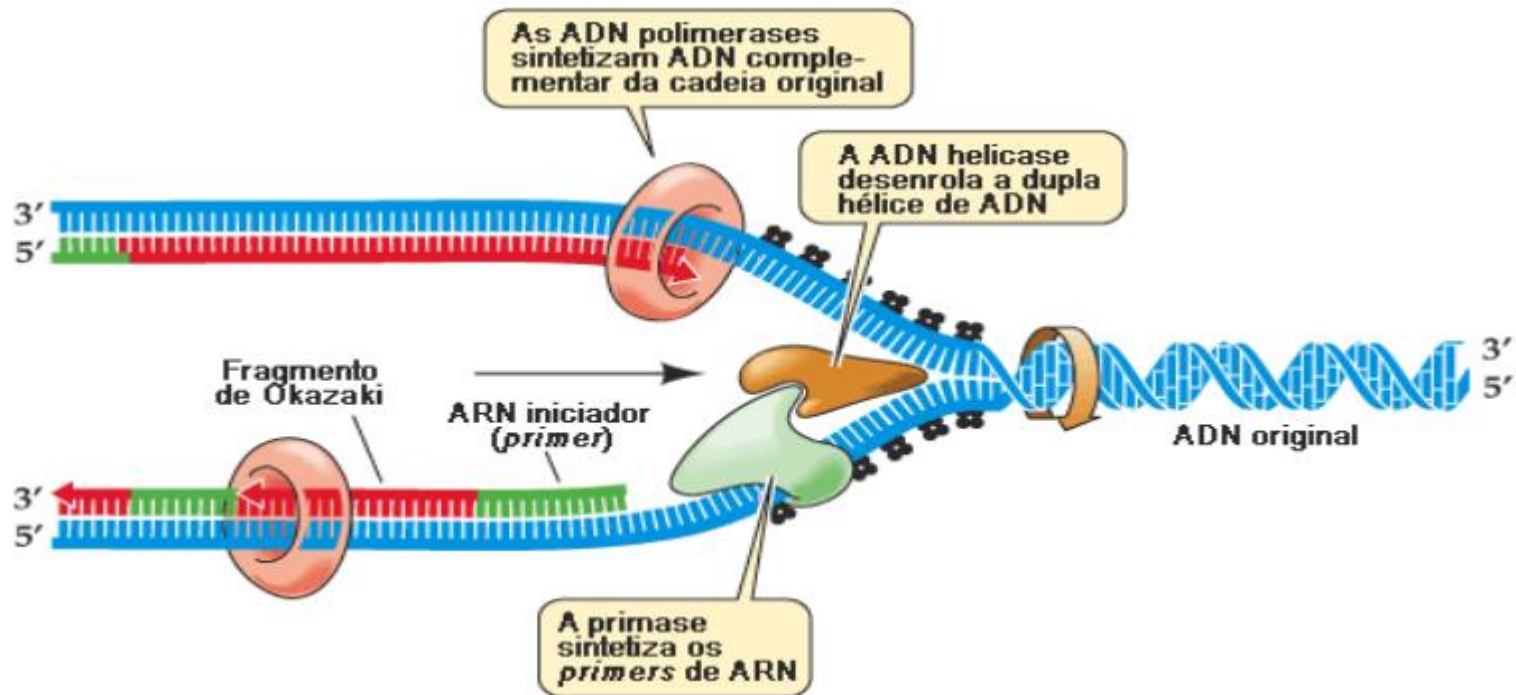
# Mecanismo geral de replicação

De modo a iniciar a síntese de cada cadeia filha, e devido à impossibilidade de esta ser efectuada pelas DNA polimerases, um novo complexo enzimático denominado primase irá sintetizar um fragmento de RNA, o fragmento iniciador ou RNA iniciador, a partir da extremidade 5' de cada uma das novas cadeias a sintetizar.

Este fragmento iniciador tem como função permitir a ligação à cadeia nascente das enzimas que constituem o complexo da DNA polimerase, para que este continue a síntese da cadeia filha na direcção 5' para 3'.

Devido ao antiparalelismo da cadeia de DNA parental, das duas cadeias filhas a sintetizar, só uma poderá ser feita de modo contínuo na direcção 5' para 3' a partir da região da cadeia parental imediatamente adjacente à origem de replicação.

# Mecanismo de replicação do DNA



Cada cadeia-mãe serve de molde para a replicação, sendo os nucleótidos adicionados por complementaridade de bases e sempre inseridos no sentido 5 – 3.

# Mecanismo geral de replicação

A outra cadeia filha não poderá ser sintetizada de forma contínua, pois estará condicionada pelo facto da DNA polimerase ter uma única direcção de síntese (5' para 3').

Esta cadeia atrasada irá ser sintetizada na direcção oposta ao avanço da forquilha de replicação, através da síntese e posterior ligação de múltiplos segmentos de DNA, todos iniciados por um pequeno fragmento de RNA iniciador colocado pela primase. Estes fragmentos de DNA contendo de forma temporária um RNA iniciador são denominados fragmentos de Okazaki.

O processo de junção de dois fragmentos de Okazaki implica a remoção do RNA iniciador existente no fragmento de Okazaki a partir da sua extremidade 5' por uma enzima de tipo RNase com actividade exonucleásica 5'-3'.

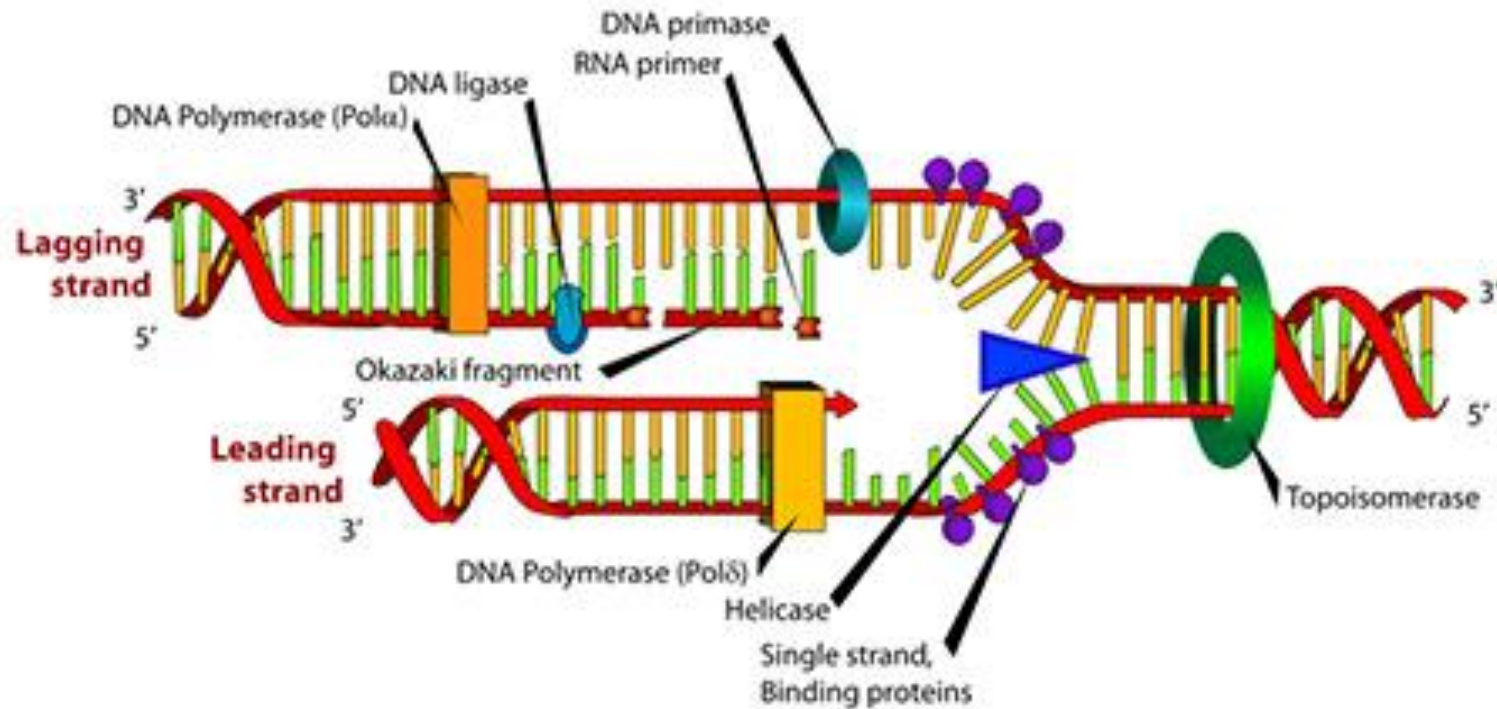
# Mecanismo geral de replicação

Ao mesmo tempo, para preencher esse espaço, são adicionados novos nucleótidos na extremidade 3' do fragmento de DNA que lhe fica adjacente, com a ajuda de uma das DNA polimerases que constituem o complexo de replicação.

Os dois fragmentos DNA são finalmente ligados um ao outro por DNA ligase, que estabelece a ligação o ultimo nucleótido do primeiro fragmento de Okazaki e o que acabou de ser sintetizado.

De modo a aliviar a tensão de torsão das cadeias durante o seu desenrolar pela helicase, enzimas de tipo topoisomerase vão igualmente actuar neste processo. Estas enzimas associam-se com a cadeia dupla parental a montante de cada uma das helicases e removem a tensão provocada pela torção da cadeia dupla através de uma série de cortes pontuais nas ligações.

# Enzimas envolvidas na replicação



A replicação do DNA assegura que todas as células somáticas de um ser vivo pluricelular tenham a mesma informação genética.

- <https://www.youtube.com/watch?v=G40701DeCc4>
- <https://www.youtube.com/watch?v=dRBgmZ8lozc>