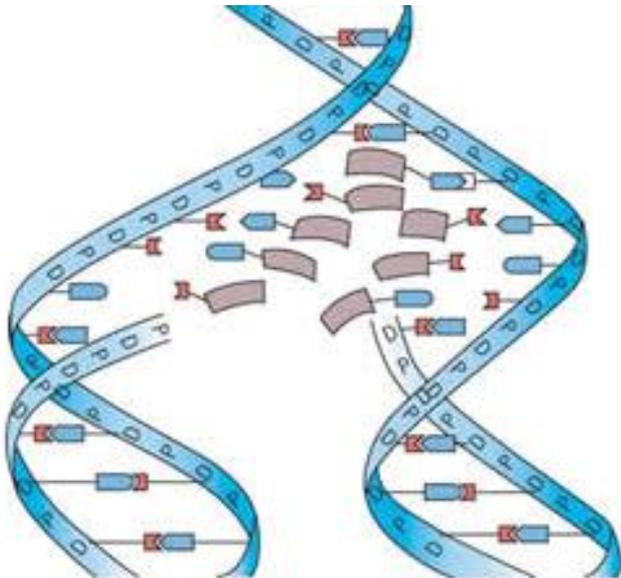


# ESTRUTURA DOS ÁCIDOS NUCLEICOS E REPLICAÇÃO DO DNA

## Aula teórica 4

LGN0114 – Biologia Celular



Maria Carolina Quecine  
Departamento de Genética  
mquecine@usp.br

# **FUNÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO**

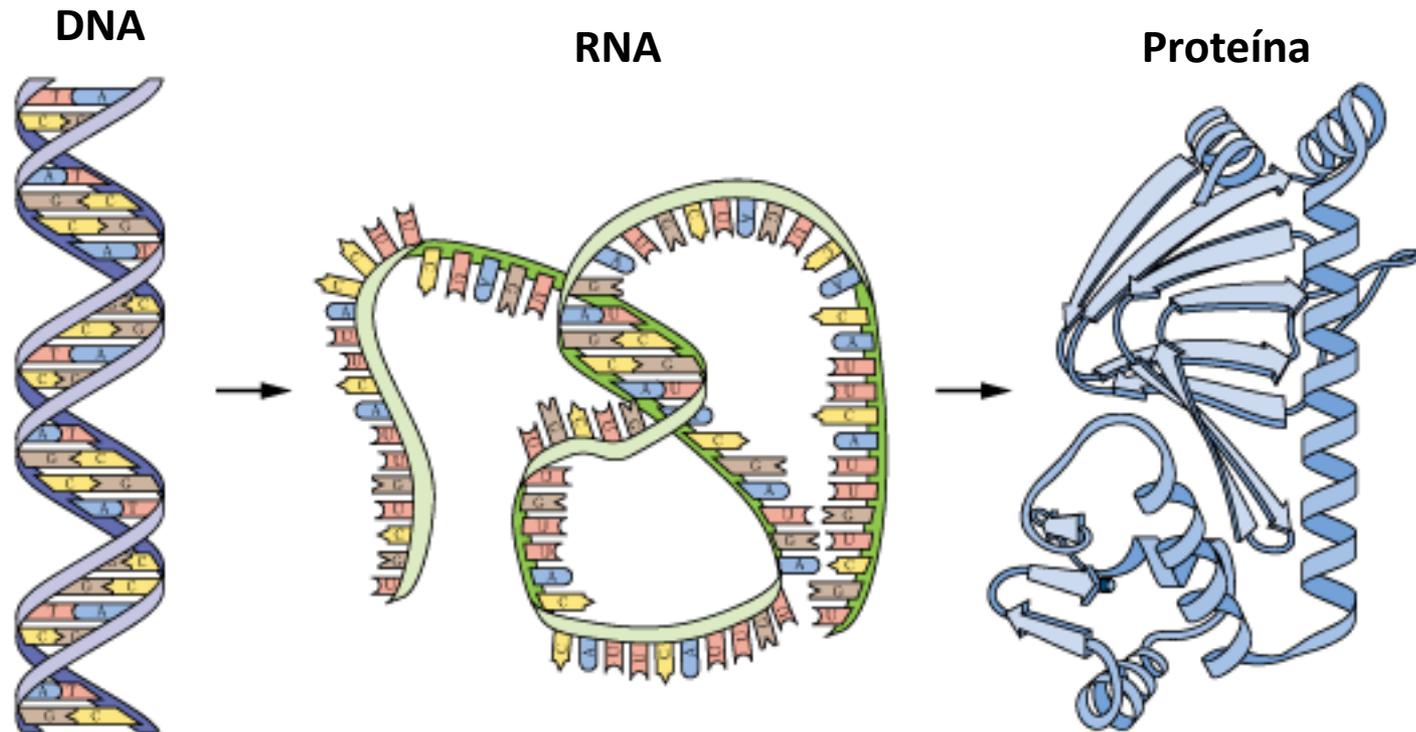
**1. Função genotípica: replicação**

**2. Função fenotípica: expressão gênica**

**3. Função evolutiva: variabilidade  
(mutações, transferência horizontal de genes ....)**

# DOGMA CENTRAL DA BIOLOGIA

A informação genética, armazenada nos cromossomos, é transferida às células filhas através da **replicação do DNA**, sendo expressa através da **transcrição em mRNA** e **traduzida** subsequentemente em cadeias polipeptídicas.

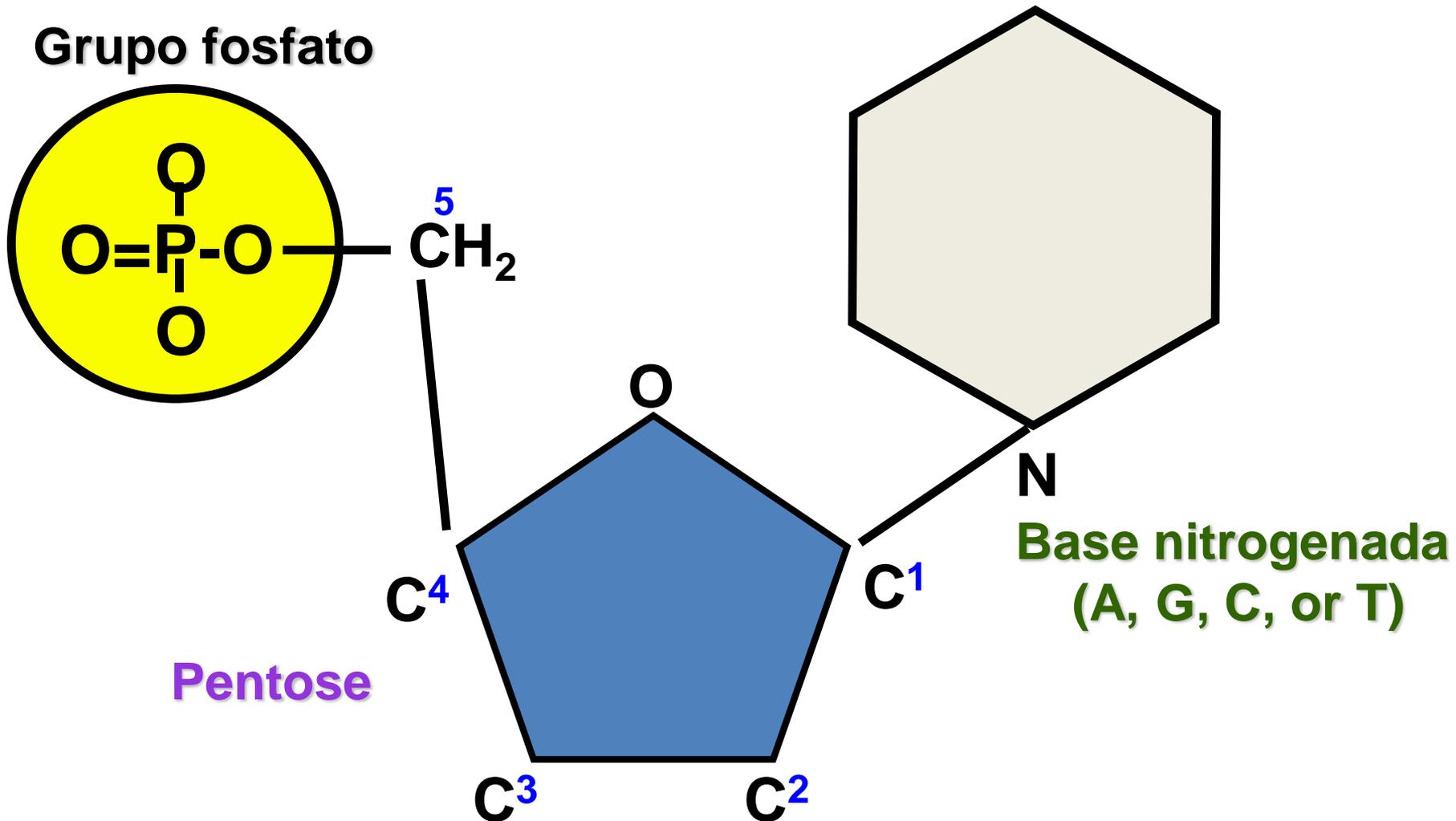


# ÁCIDOS NUCLEICOS

- **DNA:** Armazenamento da informação genética
  - Estabilidade
- **RNA:** síntese de macromoléculas - várias funções
  - **RNA ribossomal (rRNA)** - componentes estruturais de ribossomos
  - **RNA mensageiro (mRNA)** - contém a informação genética para a sequência de aminoácidos das proteínas
  - **RNA transportador (tRNA)** - identifica e transporta os aminoácidos até o ribossomo
  - snRNA, microRNA, etc.

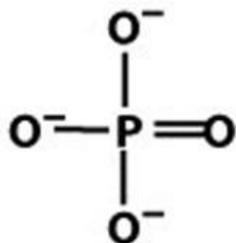
# ÁCIDOS NUCLEICOS

São polímeros de nucleotídeos



# COMPONENTES DOS NUCLEOTÍDEOS

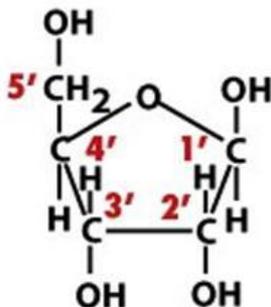
(1)  
Um  
grupamento  
fosfato:



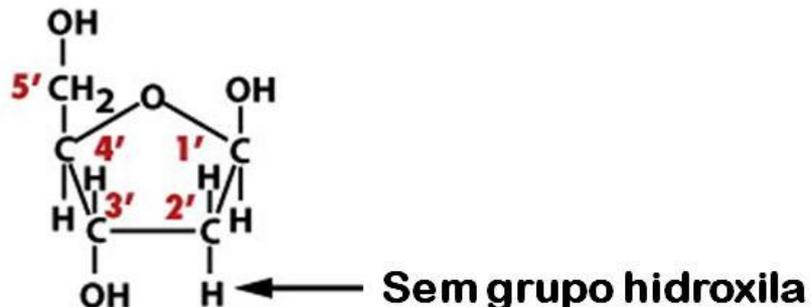
Carbono 5

(2)  
pentoses  
(açúcares  
de 5  
carbonos)

(a) RNA:  
Ribose



(b) DNA:  
2-Desoxirribose

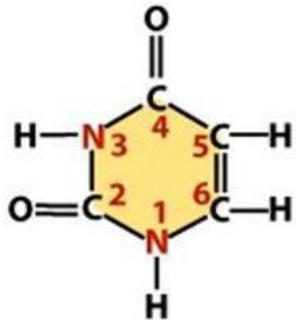


Carbono 2

# COMPONENTES DOS NUCLEOTÍDEOS

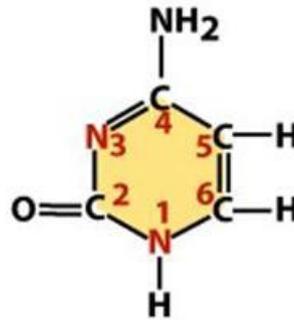
(3)  
Uma base  
cíclica  
contendo  
Nitrogênio

(a) RNA

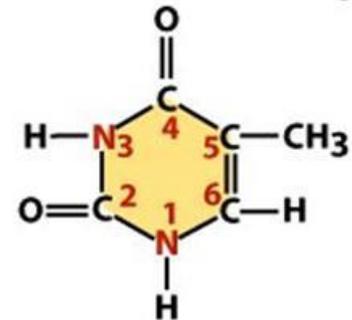


Uracila

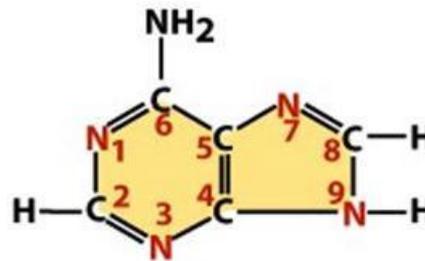
(b) DNA e RNA (c) DNA



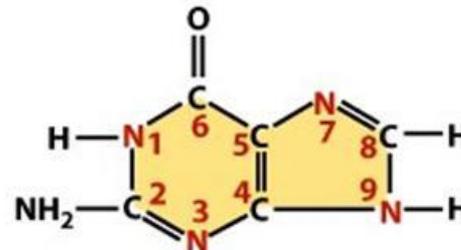
Citosina



Timina



Adenina



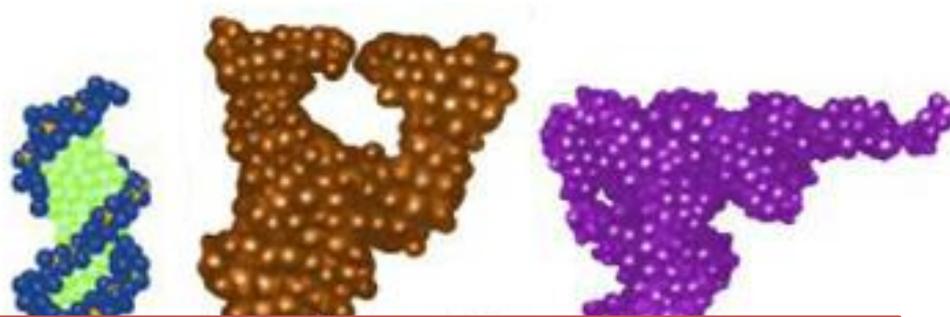
Guanina

Purinas: A, G  
Pirimidinas: U, T, C

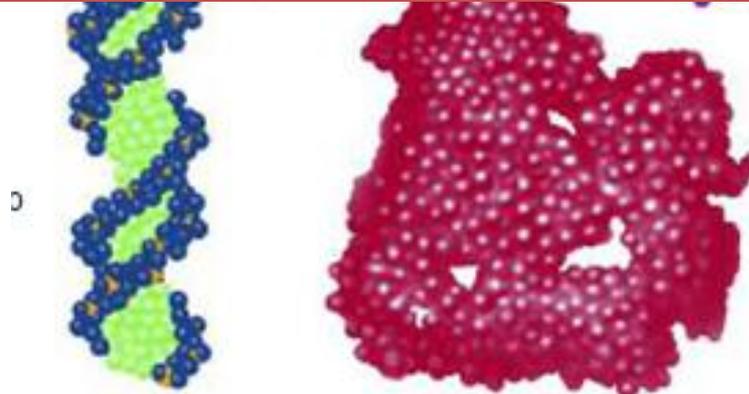
# DNA E RNA – MOLÉCULAS DE INFORMAÇÃO

DNA – Descoberto pelo bioquímico alemão Johann Friedrich Miescher (1869);

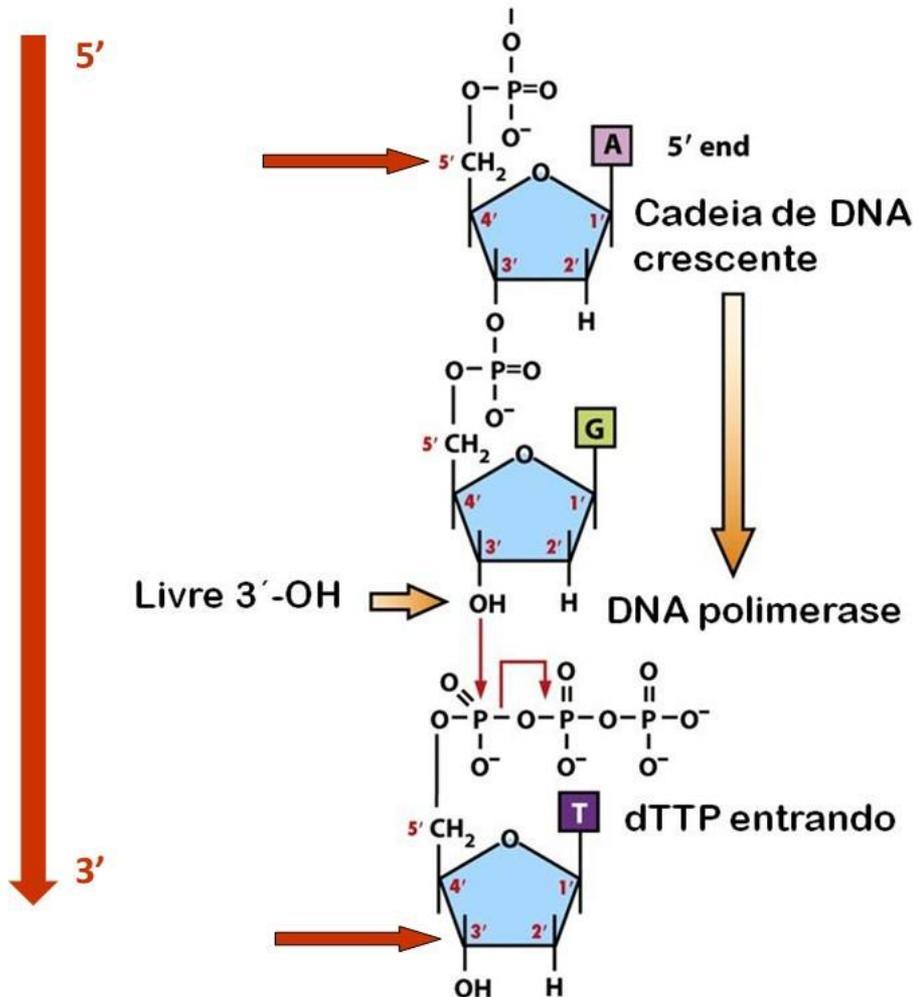
RNA - Descoberto em levedura (1890).



**Diferenças estruturais**

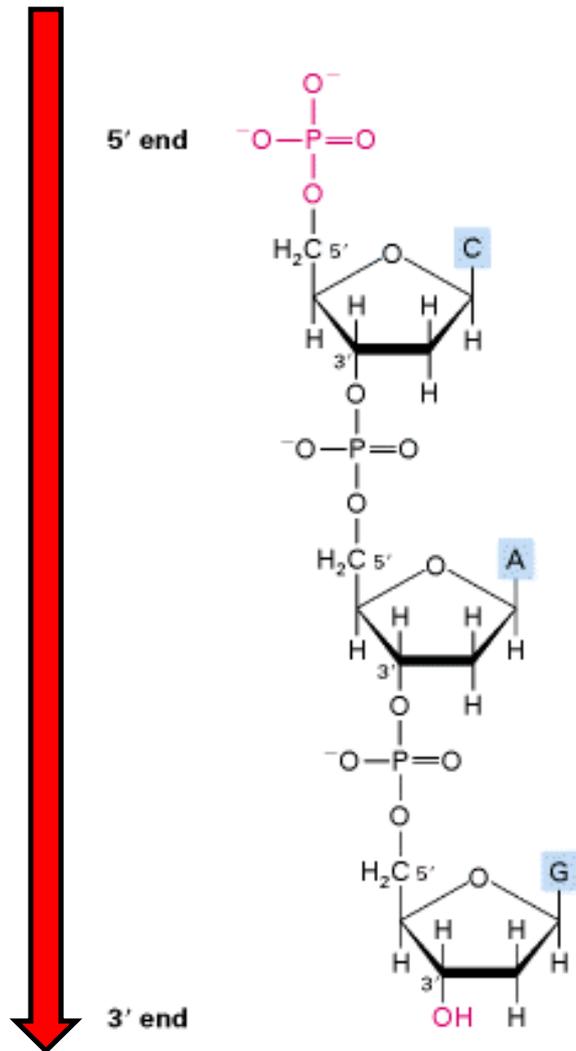


# ÁCIDOS NUCLEÍCOS SÃO FORMADOS POR LIGAÇÕES FOSFODIÉSTER

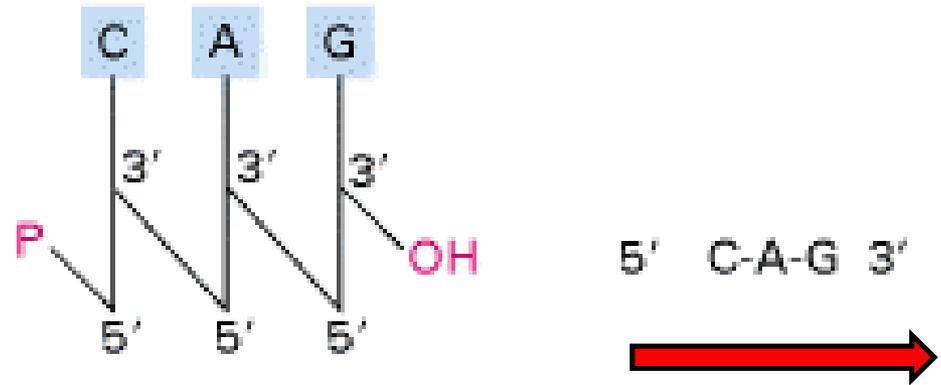
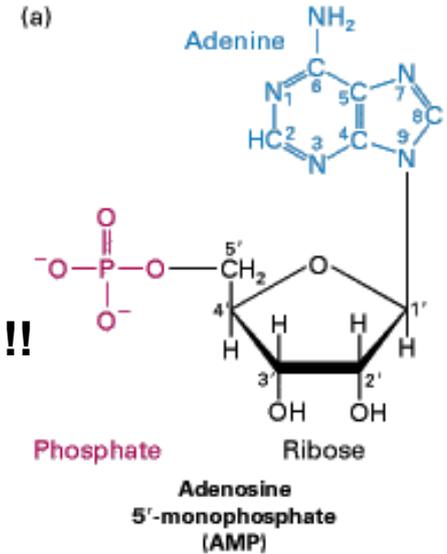


**Todo nucleotídeo livre esá na forma de tri-fosfato!!**

# Ligações fosfodiéster - polarização 5' – 3'



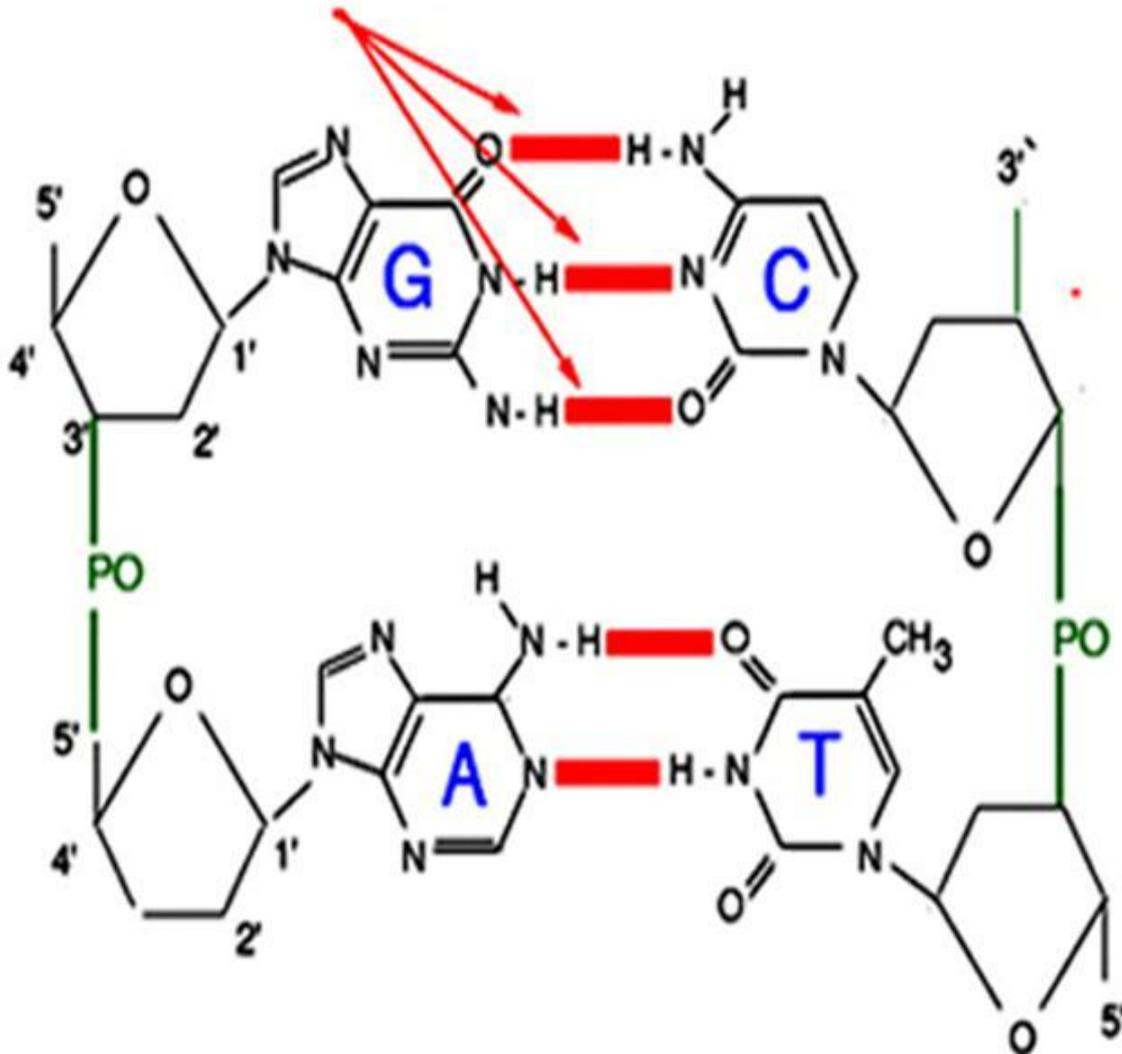
**Adenosina trifosfato!!!  
SIM ATP!!!!**



- entre o carbono 3' do nucleotídeo de "cima" e o carbono 5' do nucleotídeo de "baixo".

# DNA – FITA DUPLA!

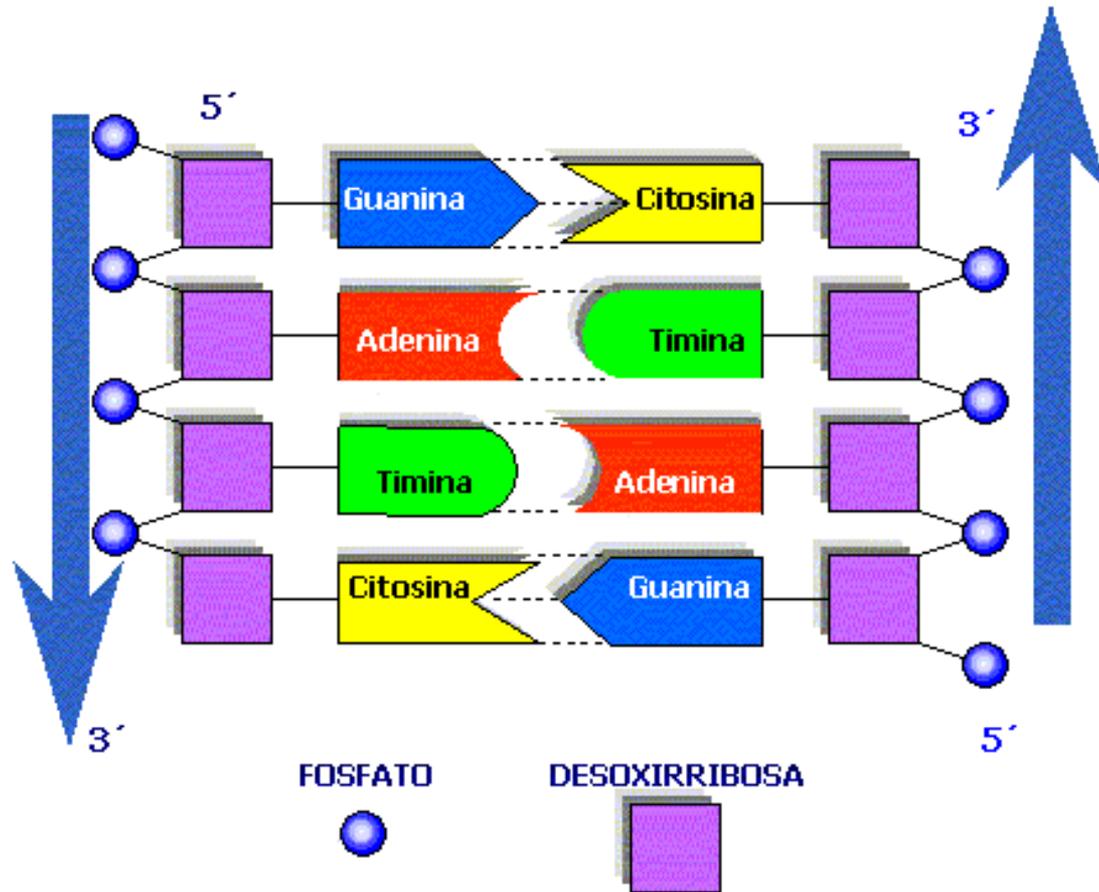
Pontes de hidrogênio



\* Entre o **carbono 3'** (grupo OH-) do nucleotídeo de “cima” e o **carbono 5'** (grupo fosfato) do nucleotídeo de “baixo”.

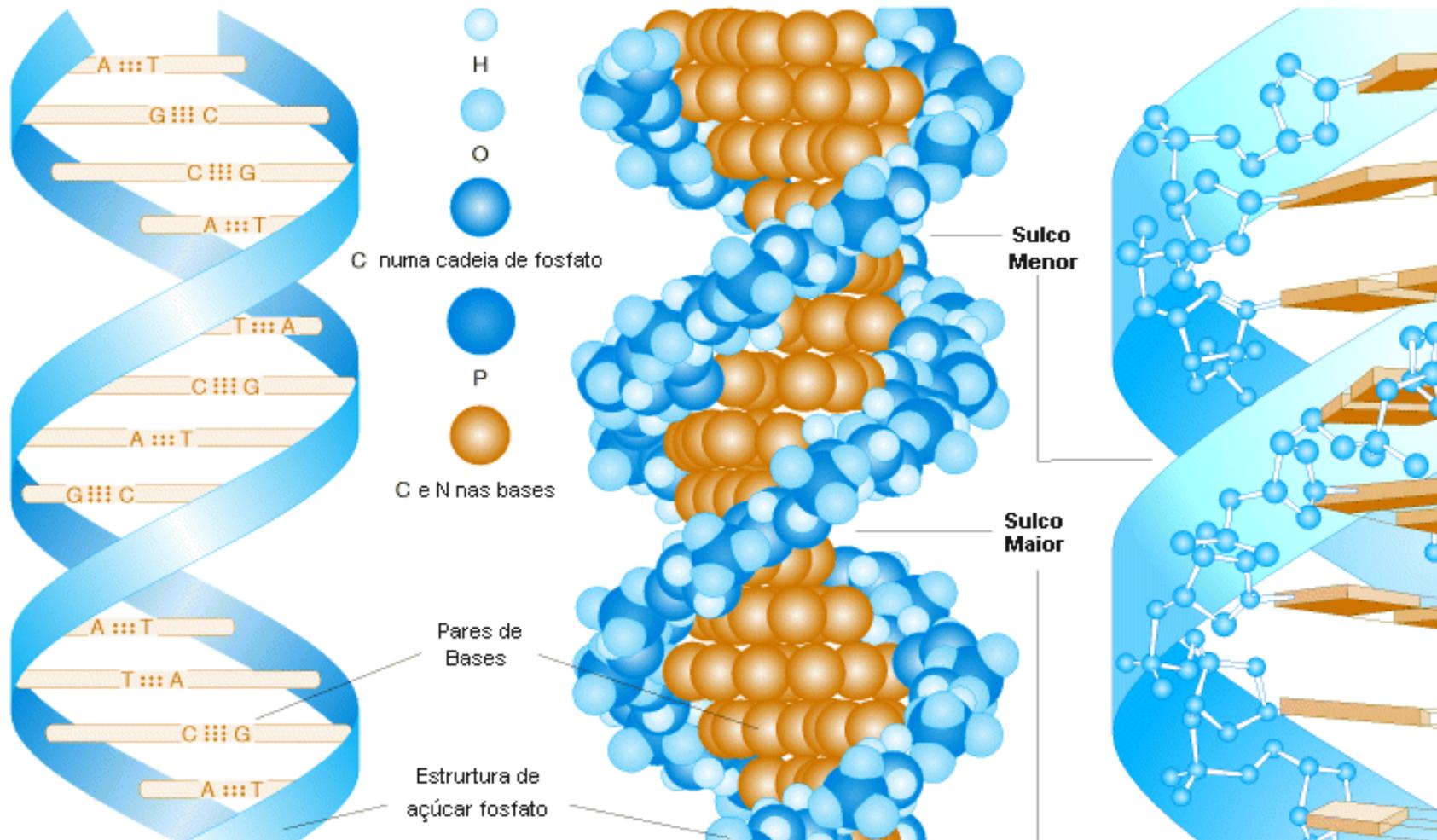
Ligações fosfodiéster 3' – 5'

# DNA – FITA DUPLA!



# CARACTERÍSTICAS DA DUPLA HÉLICE

- ✓ Contém duas fitas de polinucleotídeos (“corrimão”) antiparalelas;
- ✓ O esqueleto de cada fita é formado por desoxirribose e fosfato;
- ✓ O grupo fosfato ligado ao carbono 5’ de uma desoxirribose se liga **covalentemente** ao terminal hidroxila do carbono 3’ da próxima unidade;
- ✓ As purinas e pirimidinas estão voltadas para dentro da hélice;
- ✓ Cada base forma **pontes de H** com uma base oposta a ela, formando um par de bases;
- ✓ 3,4 Å separam os planos (“degraus”), aos quais bases adjacentes estão localizadas;
- ✓ A dupla hélice faz uma volta completa com 10 nucleotídeos (34 Å);
- ✓ Existem em média 25 pontes de H dentro de cada volta completa da hélice, promovendo uma estabilidade de ligação tão forte como uma ligação covalente;
- ✓ O diâmetro da hélice é cerca de 20 Å;



# PRINCIPAIS TIPOS DE RNA

RNAs ocorrem no núcleo e citoplasma

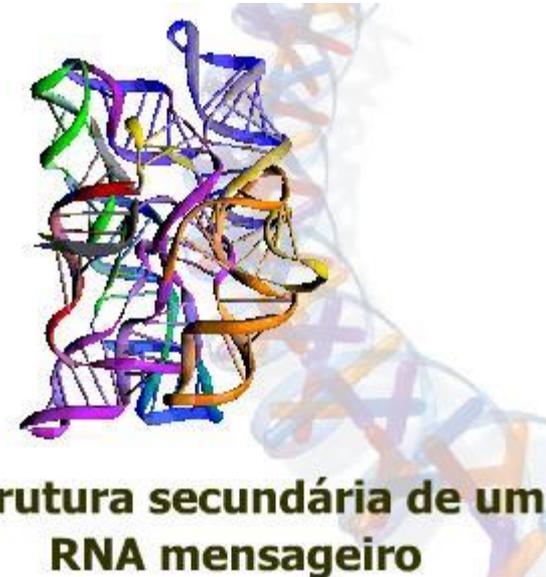
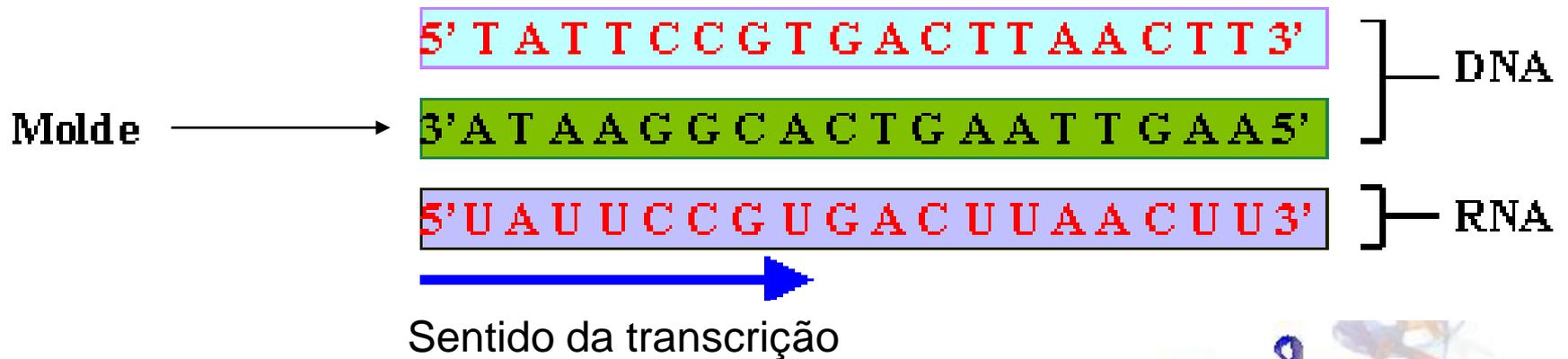
**RNA mensageiro (mRNA):** contém a informação genética para a sequência de aminoácidos das proteínas

**RNA transportador (tRNA):** identifica e transporta os aminoácidos até o ribossomo

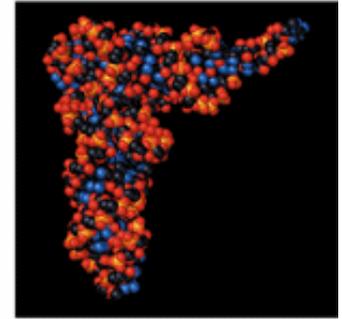
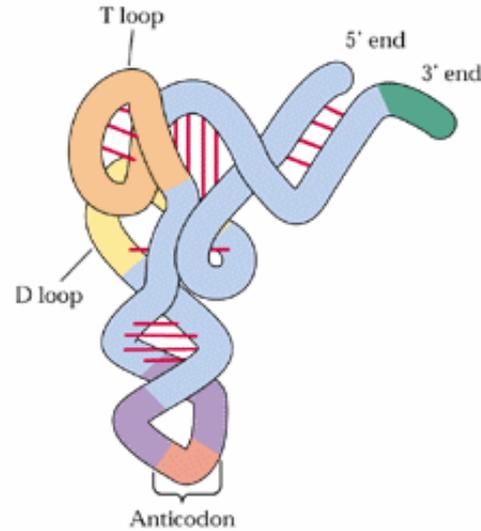
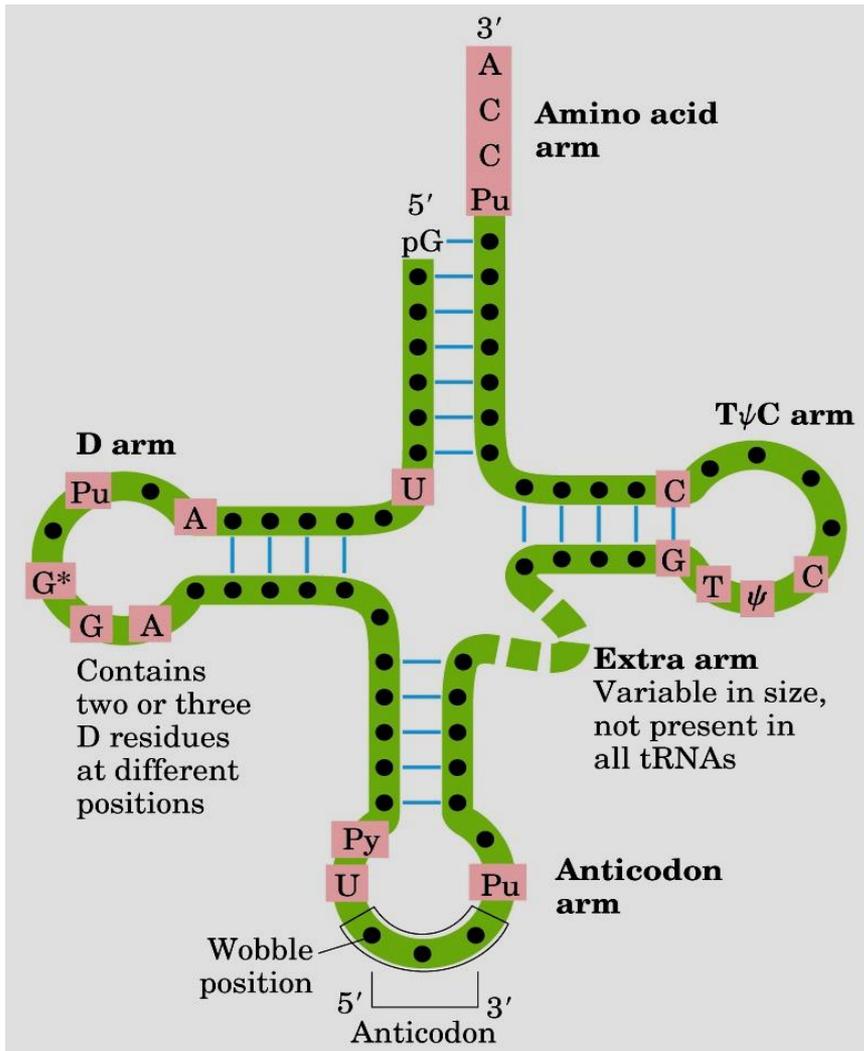
**RNA ribossômico (rRNA):** constituinte dos ribossomos

# RNA mensageiro - mRNA

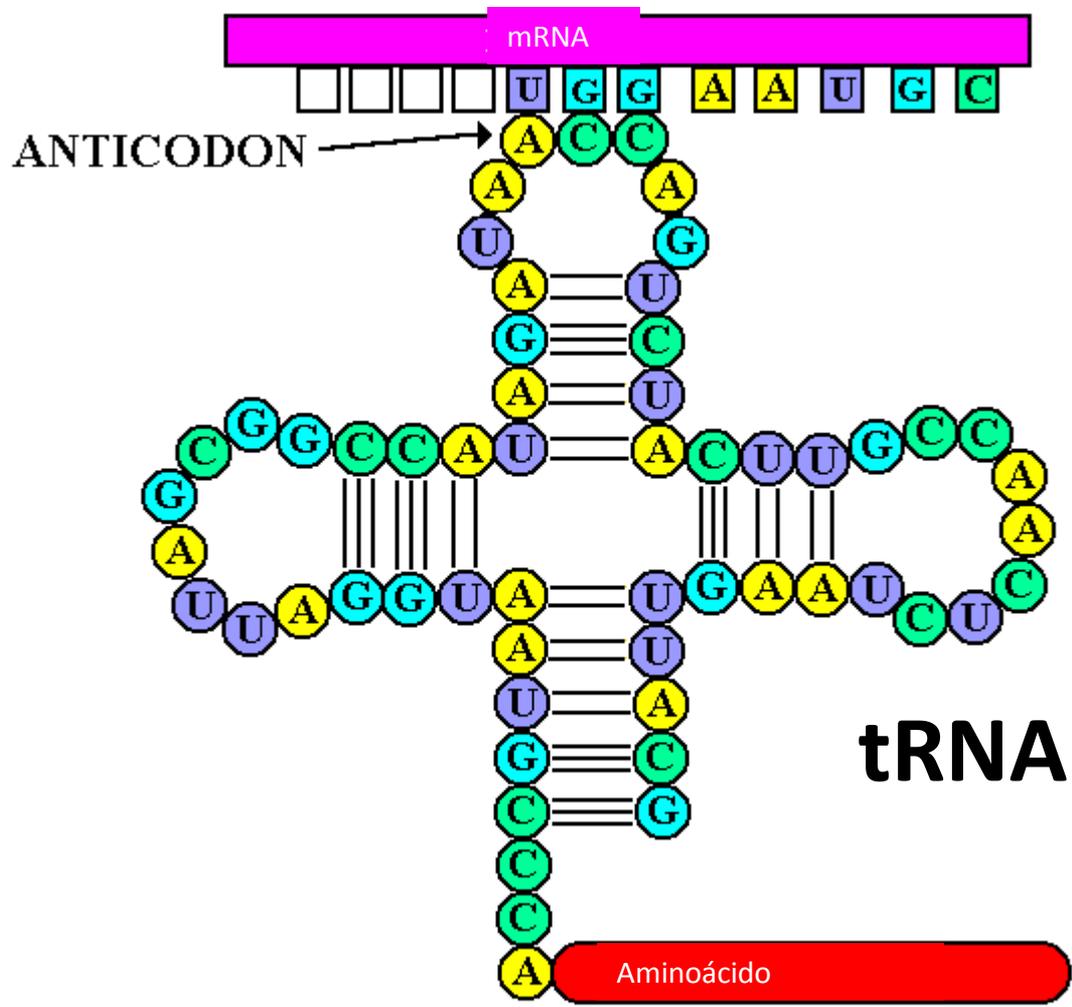
1 trinca de bases nitrogenadas = 1 códon



# RNA transportador - tRNA

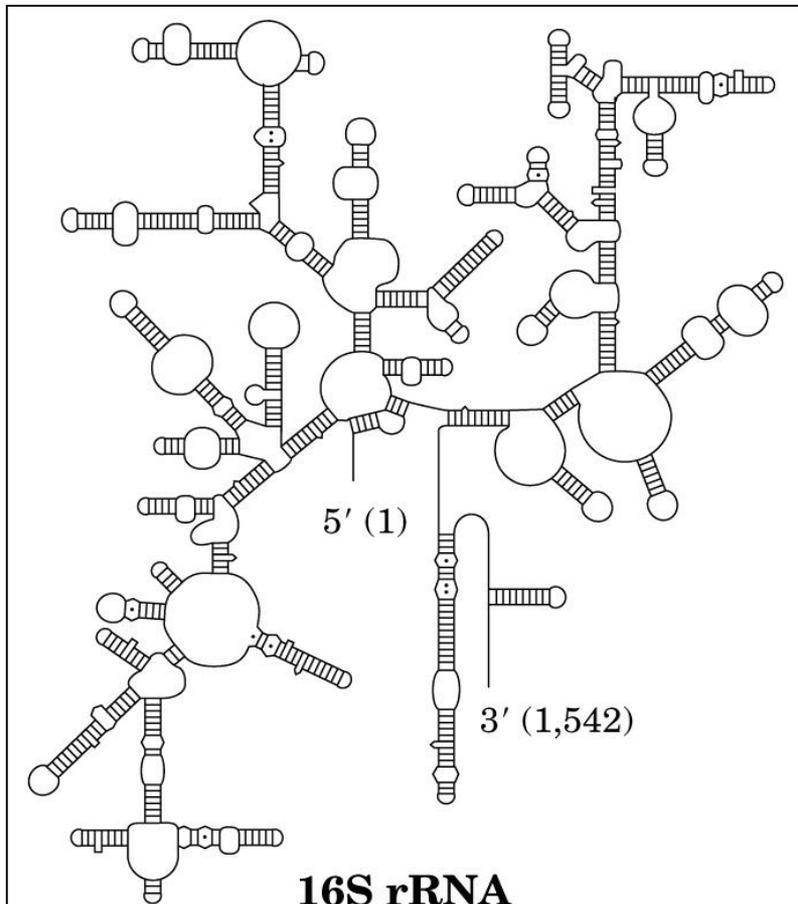


Reconhece códons em mRNA - anticódon



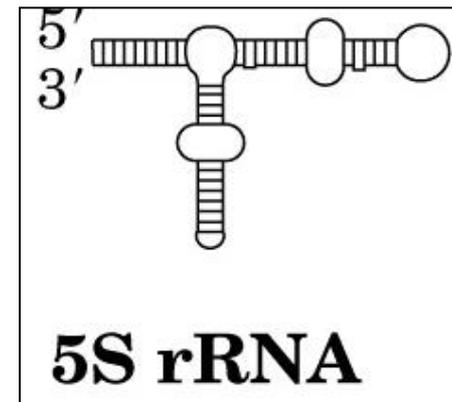
# RNA ribossômico - rRNA

Possuem estrutura tridimensional específica visando promover a estabilidade e atividade catalítico nos ribossomos.

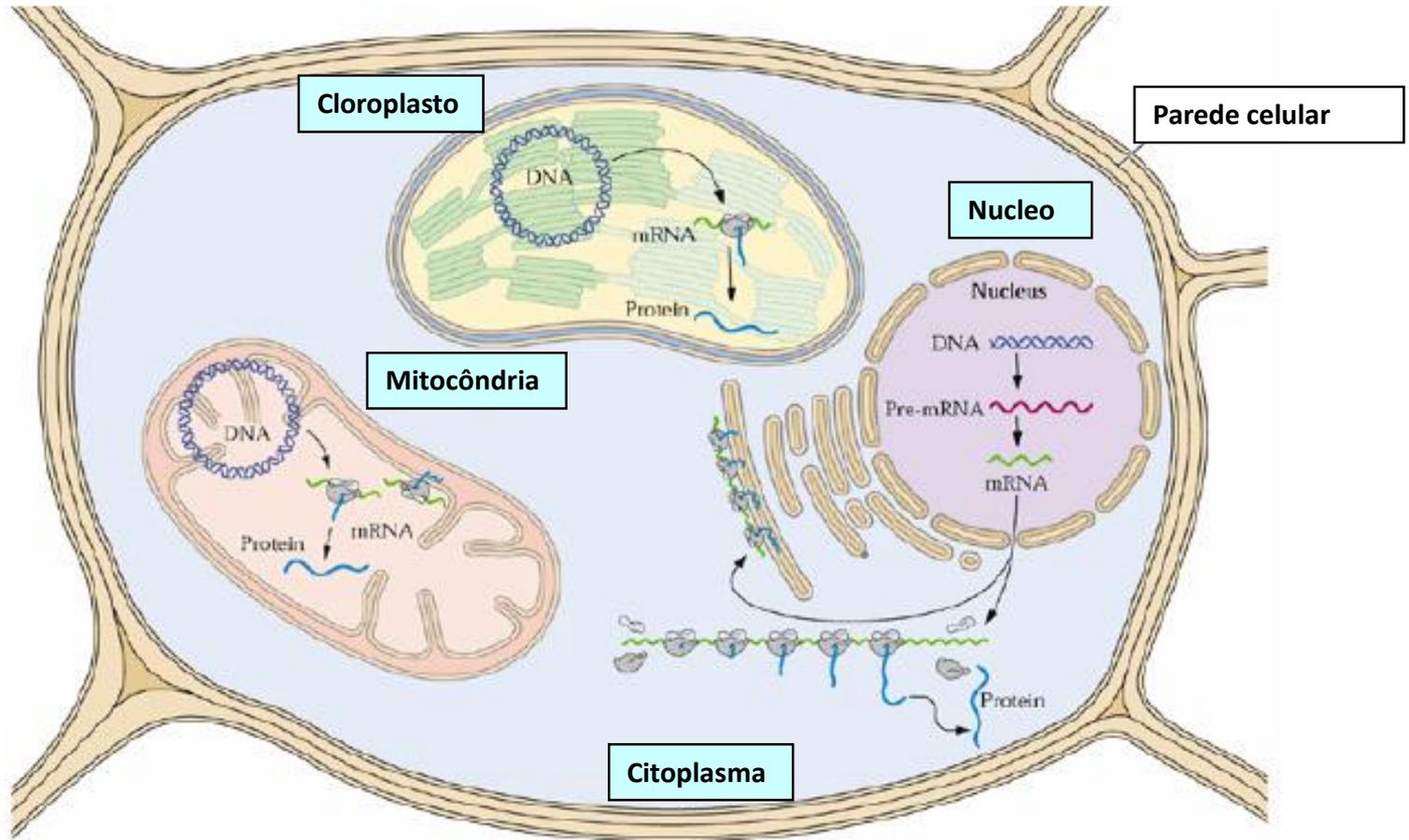


Exemplos de rRNAs:

- Estrutura secundária com grampos e alças

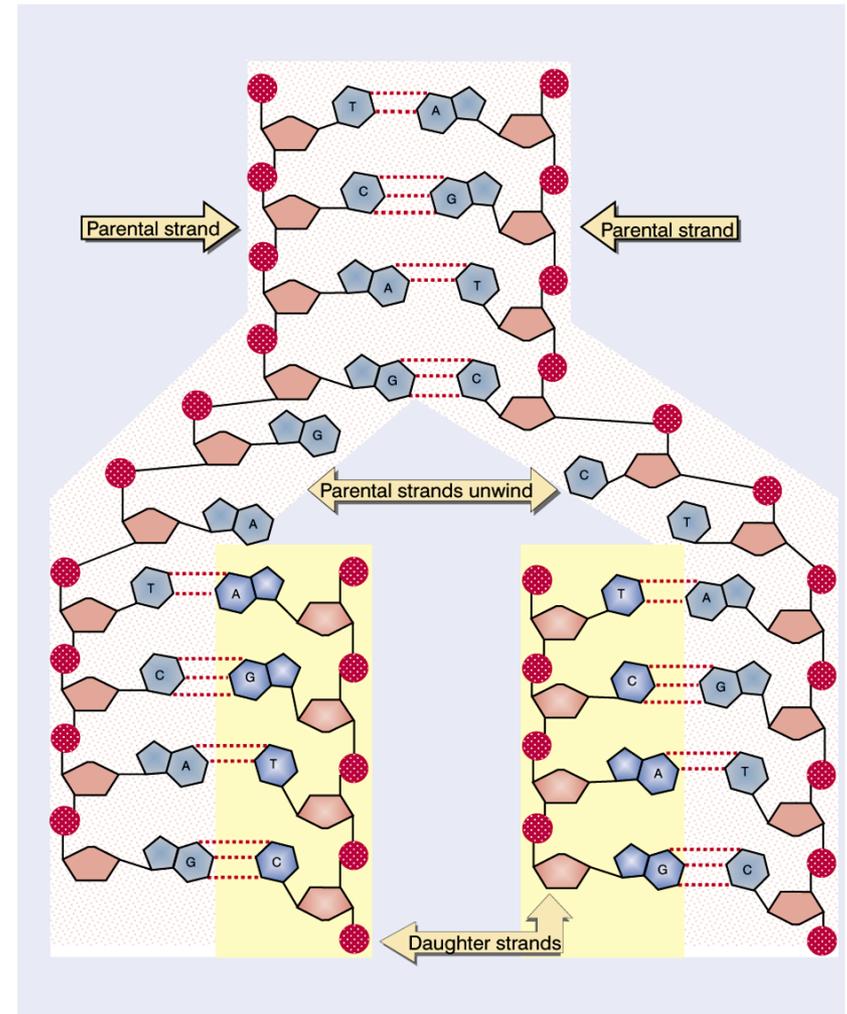


# 3 Genomas em planta: cromossomal, plastidial e mitocondrial

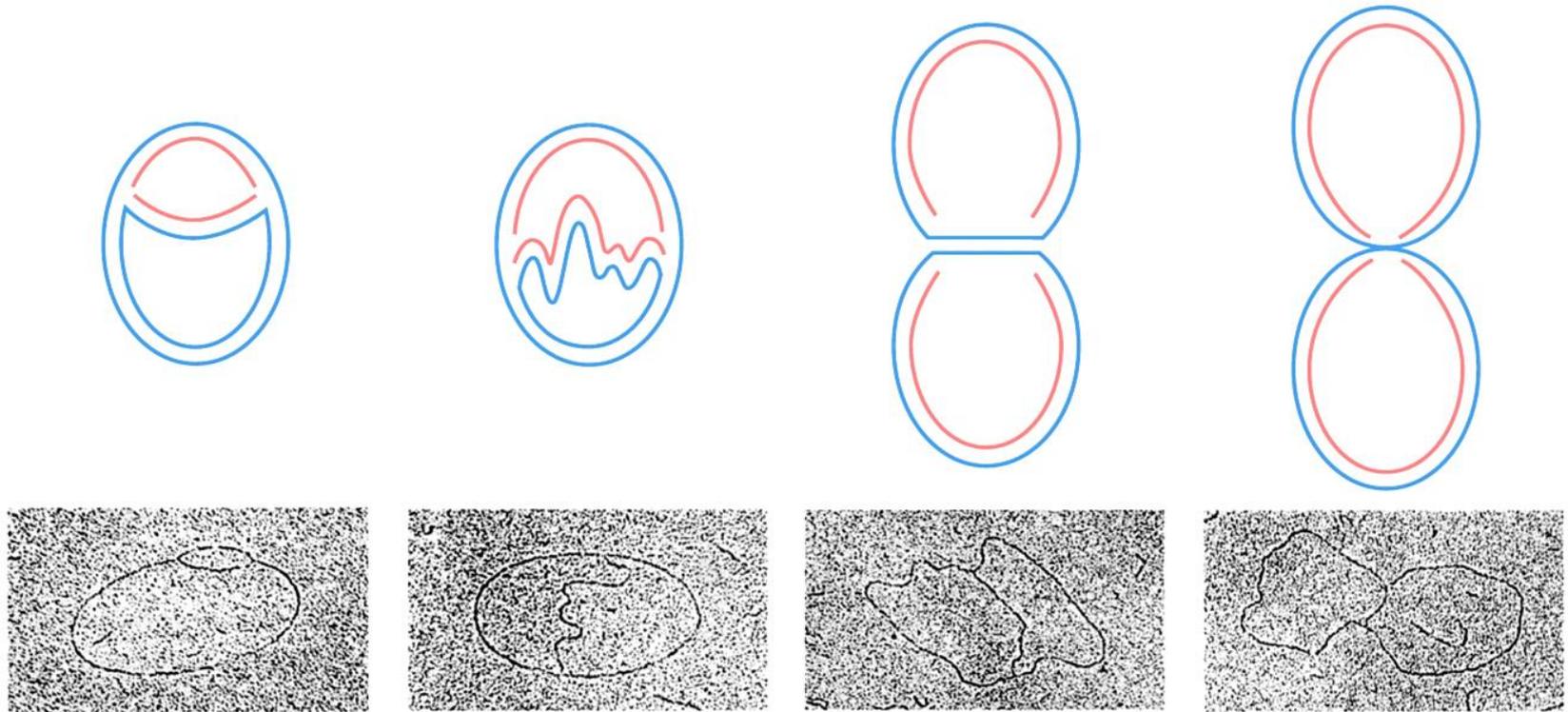


# REPLICAÇÃO DO DNA

- ✓ O DNA replica-se por um mecanismo **semiconservativo**: a medida que os dois filamentos complementares de uma dupla hélice parental se desenrolam e se separam, cada um serve como um molde para a síntese de um novo filamento complementar;
- ✓ Os potenciais de ligações das bases dos filamentos moldes especificam as sequências de bases complementares nos filamentos de DNA nascentes;
- ✓ A replicação é iniciada em origens únicas e em geral continua bidirecionalmente a partir de cada origem.



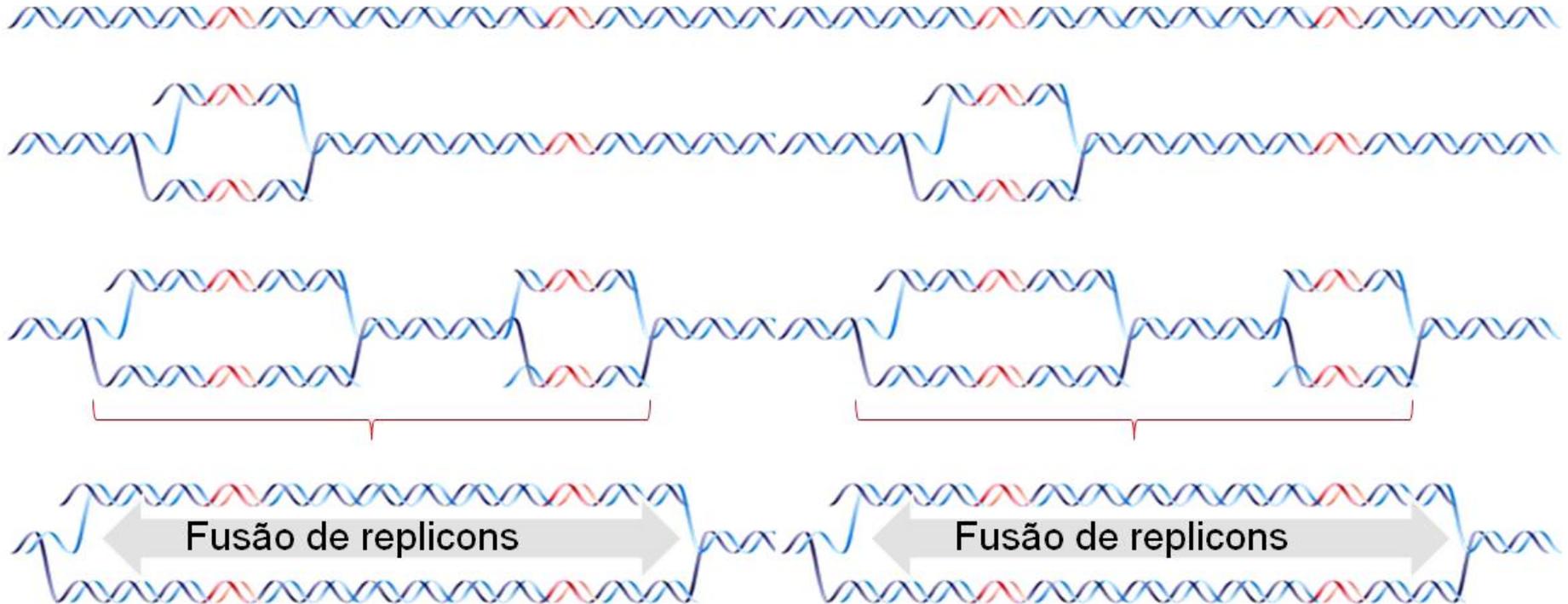
# A REPLICAÇÃO DO CROMOSSOMO CIRCULAR



## A replicação é bidirecional

- A velocidade da forquilha de replicação de procarioto é cerca de 30.000 pb/min
- 1 único replicon

# A replicação do cromossomo linear de eucarioto



- A velocidade da forquilha de replicação de eucarioto é cerca de 3.000 pb/min;
- Os replicons de eucariotos têm cerca de 40-100 kb e são iniciados em tempos diferentes. (não sabemos todos os fatores que determinam qual origem e em que momento ela fica ativa - O *timing* da replicação pode, por ex. ser determinado pela atividade do gene: genes mais transcritos são replicados primeiro).

# PRINCIPAIS ENZIMAS ENVOLVIDAS

1. DNA Polimerases
2. Helicases
3. Topoisomerases (girases)
4. Primases
5. Telomerasas

# PONTOS IMPORTANTES SOBRE AS DNA POLIMERASES

- ✓ A síntese de DNA é catalisada por enzimas chamadas DNA-polimerases;
- ✓ Todas as DNA-polimerases precisam de um filamento primer, que é ampliado, e um filamento molde que é copiado;
- ✓ Todas as DNA-polimerases tem necessidade absoluta de uma 3'-OH livre do filamento primer, e toda a síntese de DNA ocorre no sentido 5' → 3';
- ✓ As atividades de exonuclease 3' → 5' das DNA-polimerases revisam filamentos nascentes à medida que eles são sintetizados, removendo quaisquer nucleotídeos malpareados nas pontas 3' dos filamentos primer.

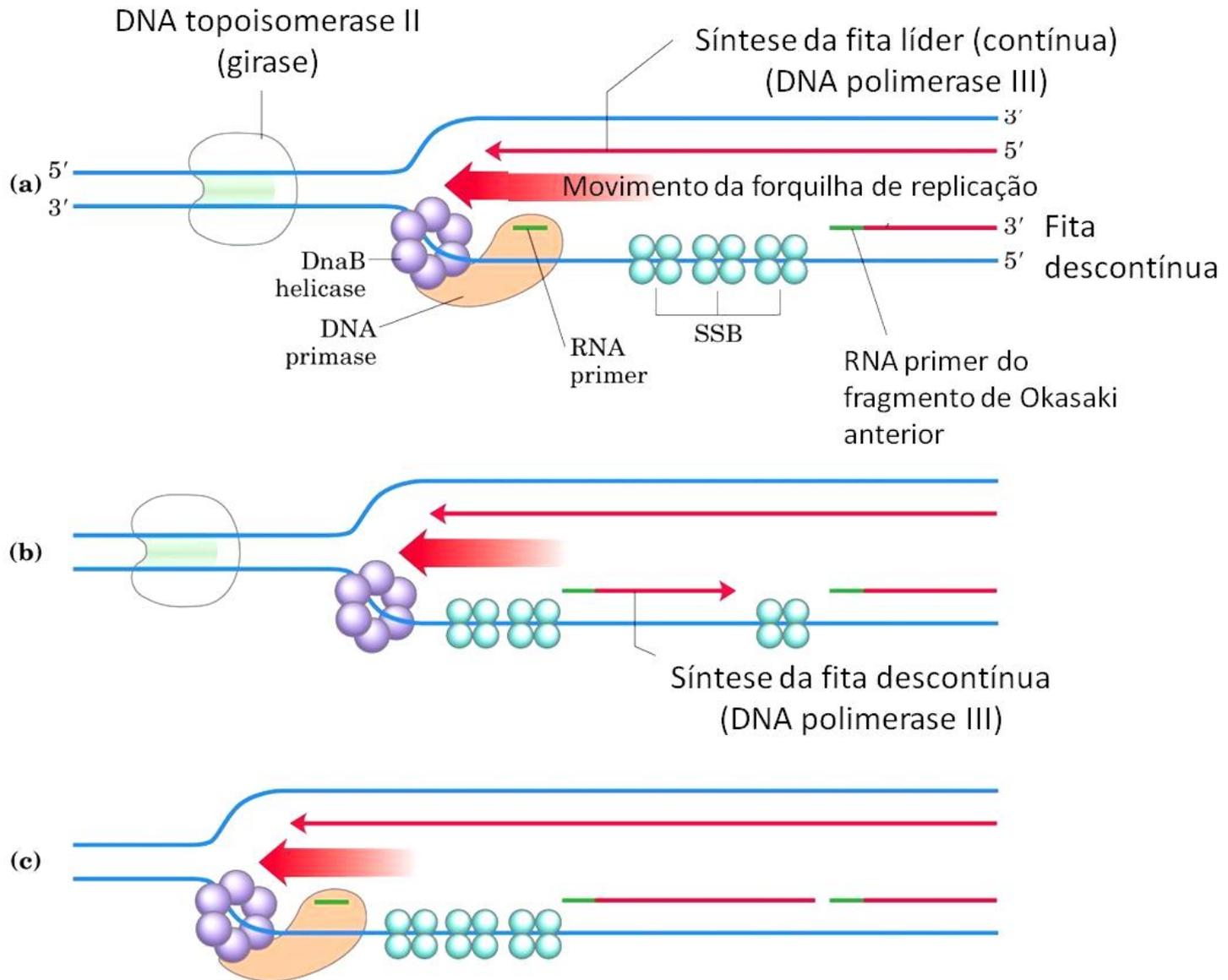
# PROTEÍNAS PRESENTES NA ORIGEM DE REPLICAÇÃO

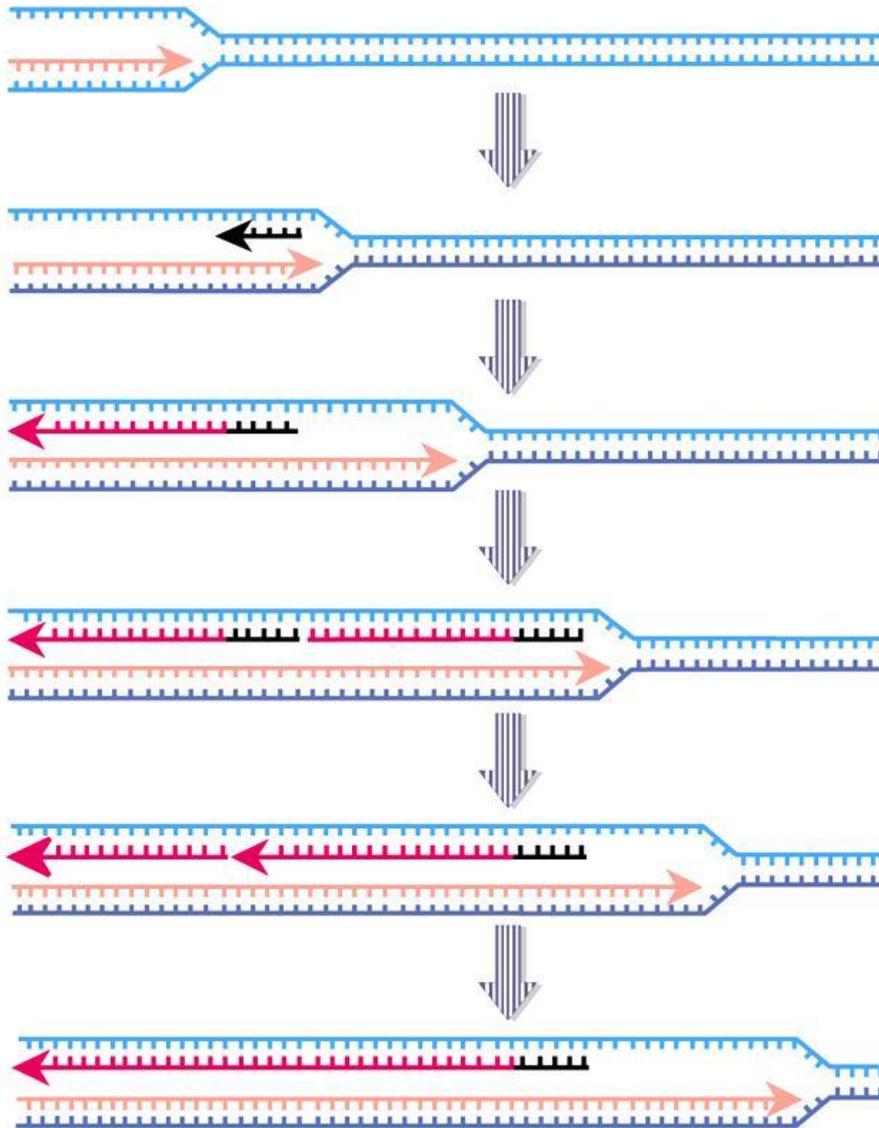
Helicase	Desenrola o DNA
DNA girase (topoisomerase)	Alivia a tensão de torção gerada pela abertura da dupla-fita
Primase	Sintetiza os primers de RNA
DNA polimerases	Polimerização do DNA, retirada dos primers e reparo do DNA
Single strand binding (SSB)	Liga a fita simples de DNA
DNA ligase	Une os fragmentos de Okasaki

# REPLICAÇÃO DO DNA

- Se a replicação é semi-conservativa e a polimerização deve ser sempre no sentido  $5' \rightarrow 3'$
- Mas o DNA é antiparalelo ou seja, uma fita ocorre no sentido  $5' \rightarrow 3'$  e a outra no sentido  $3' \rightarrow 5'$
- Como ocorre então a replicação nos dois sentidos?







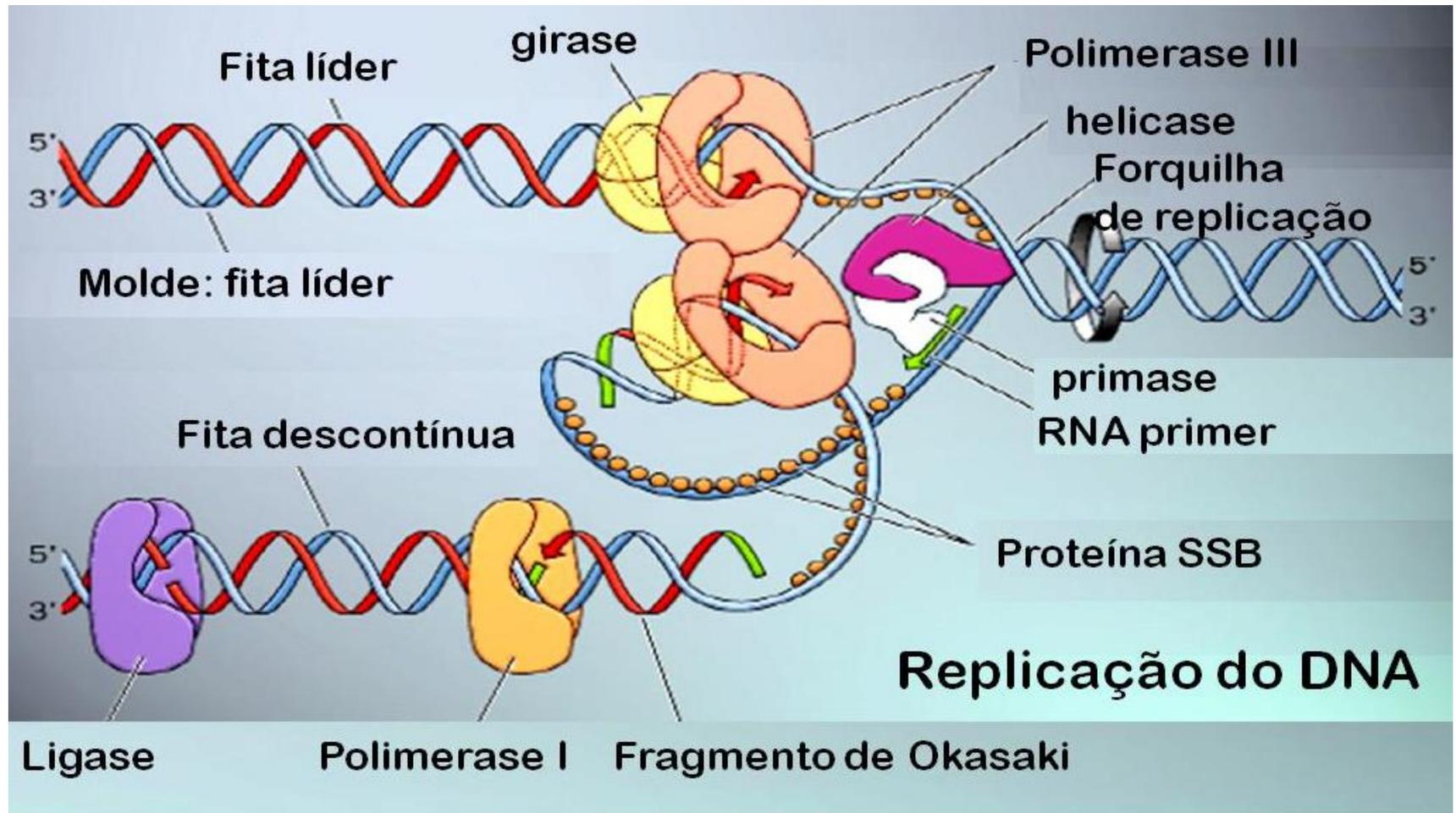
● Fragmentos de Okasaki ocorrem na fita descontínua

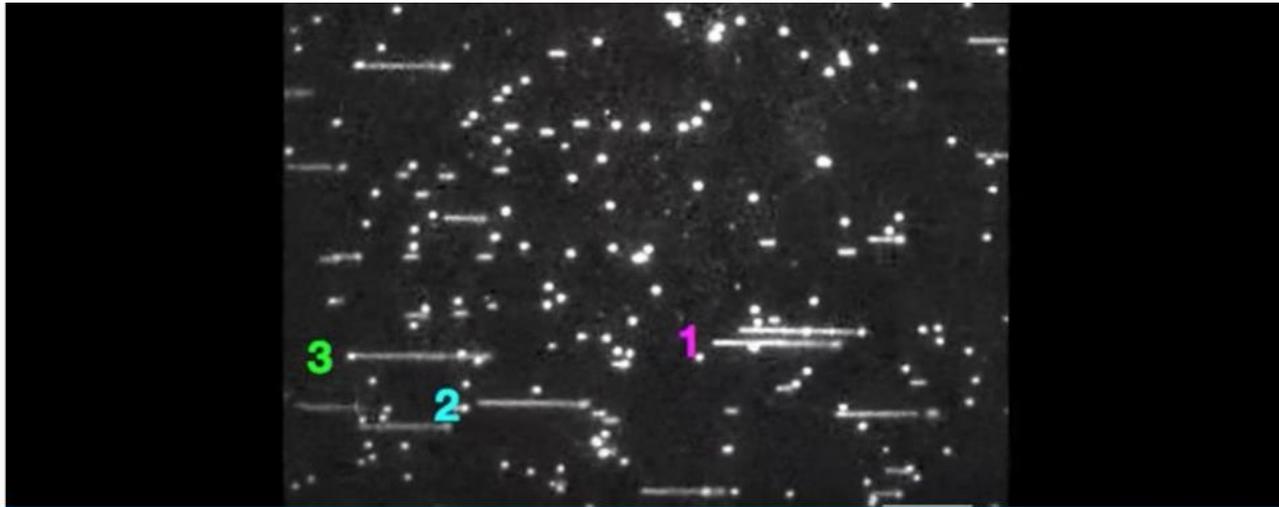
● A DNA polimerase III é responsável pela síntese da maior parte do DNA

● A DNA polimerase I remove o primer de RNA e preenche as lacunas

● A DNA ligase sela as quebras

# Síntese das fitas contínua e descontínua é independente





James Graham/UC Davis

## DNA Replication Has Been Filmed For The First Time, And It's Not What We Expected

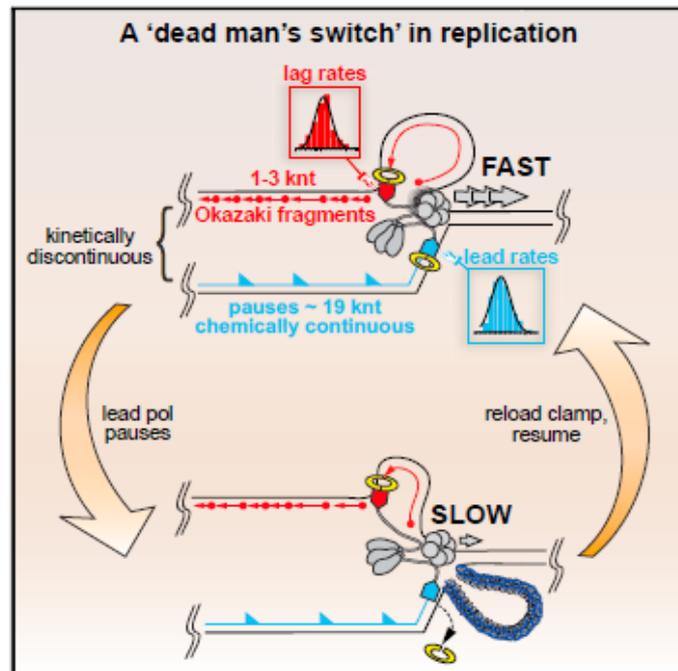
"It undermines a great deal of what's in the textbooks."

BEC CREW 19 JUN 2017

<http://www.sciencealert.com/dna-replication-has-been-filmed-for-the-first-time-and-it-s-stranger-than-we-thought>

# Independent and Stochastic Action of DNA Polymerases in the Replisome

## Graphical Abstract



## Authors

James E. Graham, Kenneth J. Marians,  
Stephen C. Kowalczykowski

## Correspondence

kmarians@sloankettering.edu (K.J.M.),  
sckowalczykowski@ucdavis.edu (S.C.K.)

## In Brief

Polymerases within the replisome operate independently and discontinuously, and they are not coordinated.

# **A replicação em eucariotos**

# REPLICAÇÃO DO DNA EM EUCARIOTOS

- ✓ É similar a procariotos, semiconservativa e bidirecional. Existe uma fita LÍDER e outra DESCONTÍNUA com fragmentos de Okazaki. Se inicia nas bolhas de replicação (MÚLTIPLAS FORQUILHAS);
- ✓ Várias origens de replicação (genoma de humanos e outros mamíferos contêm cerca de 10.000 mil origens de replicação distribuídas pelos cromossomos a intervalos de 30.000 a 300.000 pares de bases);
- ✓ Atuam enzimas similares as das células de procariotos;
- ✓ Nos fragmentos de Okasaky, os *primers* de RNA são removidos por uma Rnase e não por uma DNA polimerase de reparo;
- ✓ A finalização da replicação é feita com a formação de estruturas nas terminações do cromossomo, os telômeros;
- ✓ Os telômeros são replicados com a ajuda das telomerasas .

# REPLICAÇÃO DAS PONTAS DO CROMOSSOMO

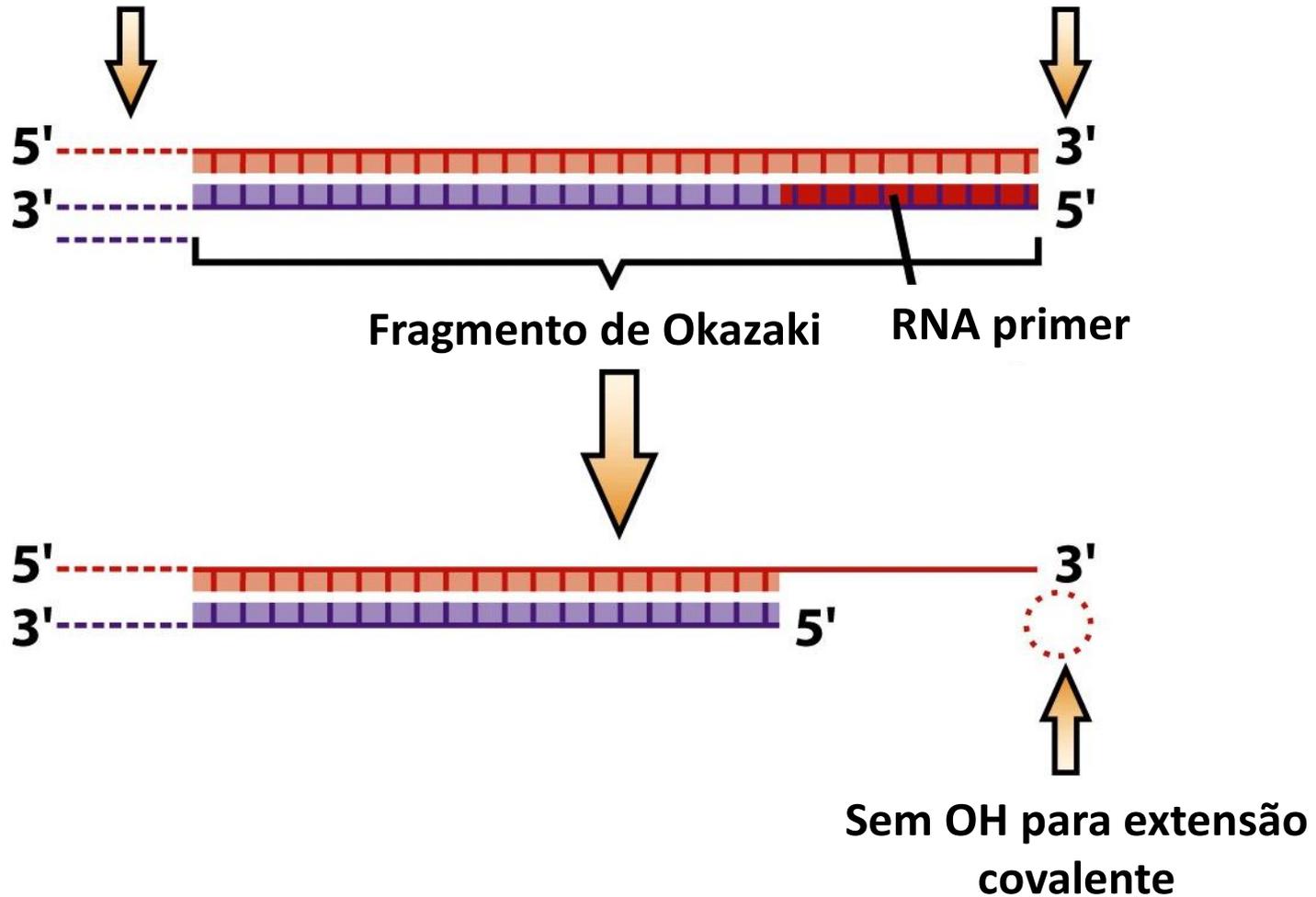
- DNA polimerase não pode replicar o segmento terminal do DNA do filamento descontínuo de um cromossomo linear;
- TELOMERO: tem uma estrutura única que favorece um mecanismo simples para a adição de telômeros feita pela enzima **telomerase** contendo RNA

Repetições dos telômeros de humanos:

**TTAGGG**

Próximo ao centrômero

Fim do cromossomo



## Telomerase resolves the terminal primer problem.

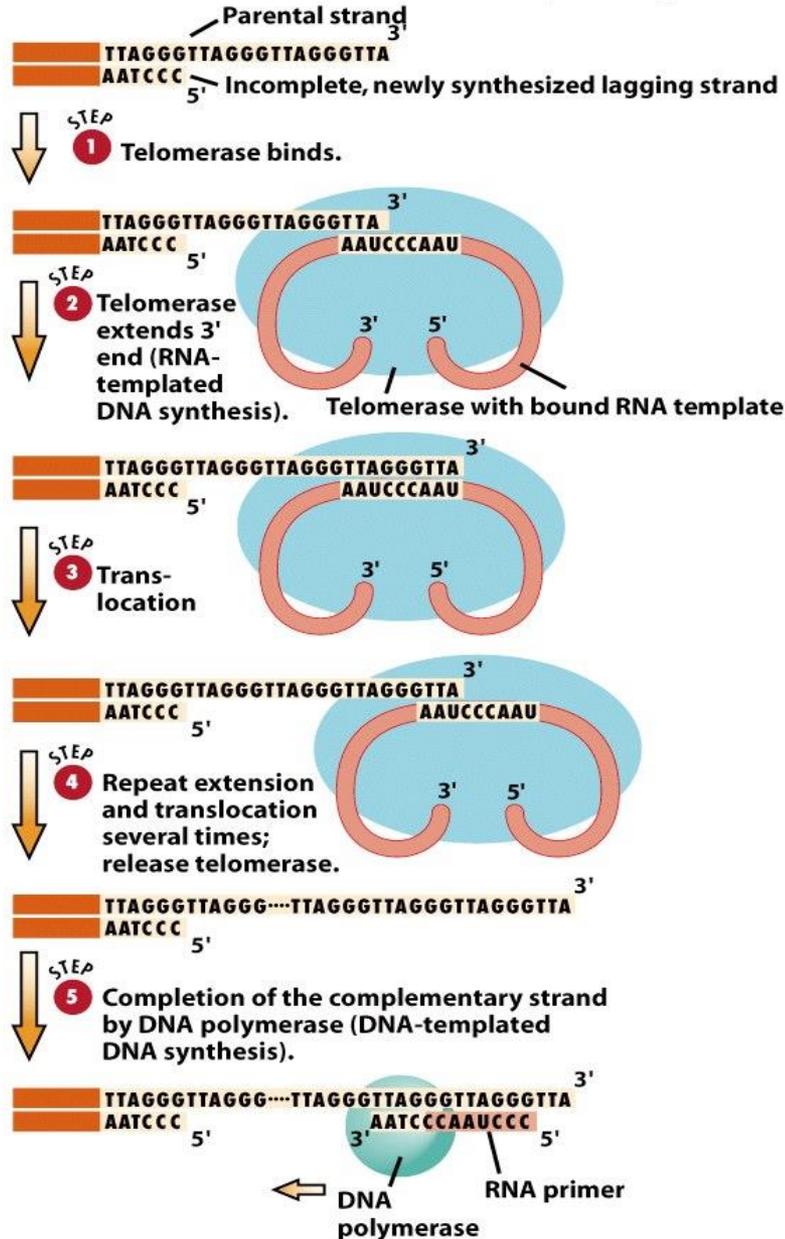
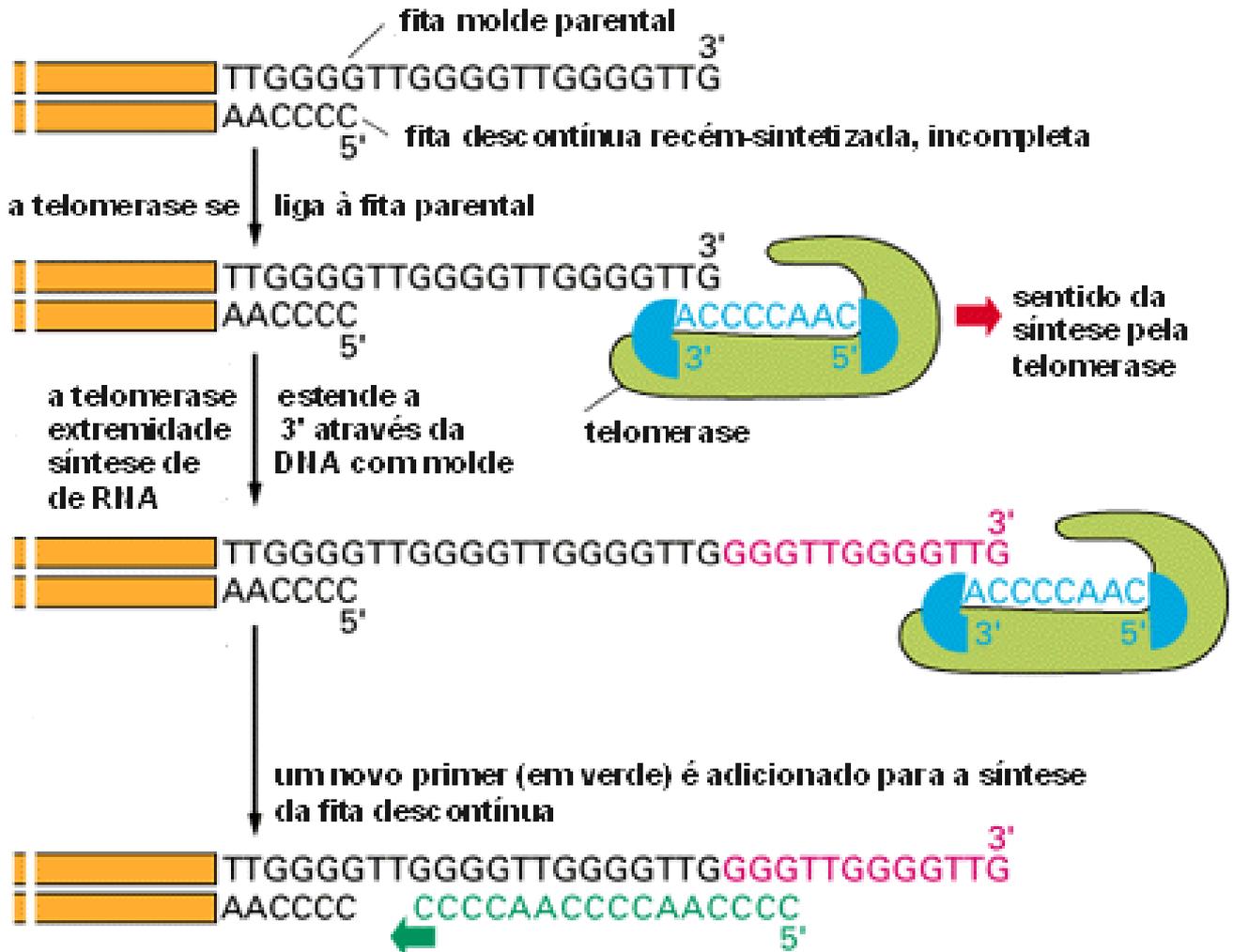


Figure 10-33b Principles of Genetics, 4/e  
© 2006 John Wiley & Sons

# AGORA ENTENDEU?



Progeria (envelhecimento prematuro):

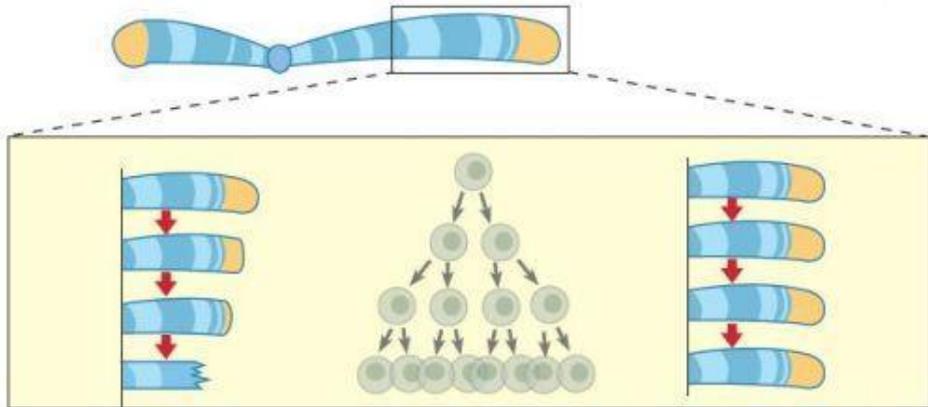
Síndrome de Hutchinson-Gilford: inicia-se imediatamente ao nascimento, morte na adolescência.

Síndrome de Werner: inicia-se na adolescência e morte aos 40 anos

John Tacket, 15 anos



Figure 10-34 Principles of Genetics, 4/e



# A replicação de DNA

<http://www.youtube.com/watch?v=4PKjF7OumYo>

<https://www.youtube.com/watch?v=84aNPB9mSMM>



# ESTUDO DIRIGIDO

1. Diferenças fundamentais entre DNA e RNA;
2. Estrutura e função do DNA;
3. Principais características da dupla hélice do DNA;
4. Principais tipos e funções dos RNAs.
5. Processo de replicação
6. Enzimas envolvidas na replicação de DNA

## Capítulo 6 – Replicação, reparo e recombinação de DNA (páginas 197 a 215)

Alberts, B.; Bray, D.; Hopkin, K.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. 2011. ***Fundamentos da Biologia Celular***. 3ª Edição brasileira. Artmed, Porto Alegre

