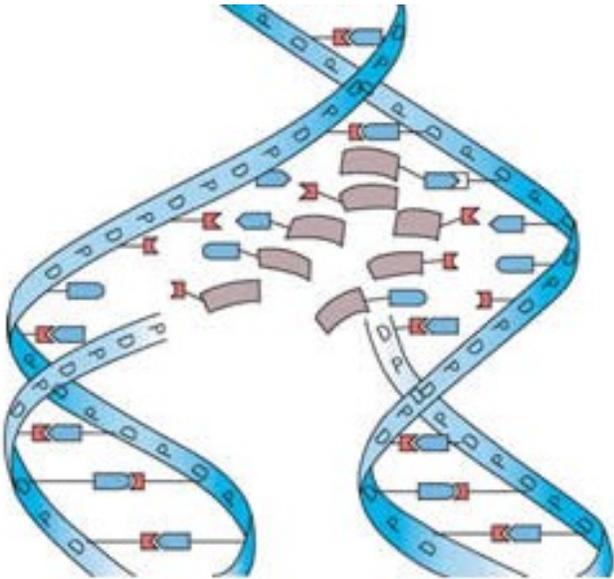


LGN0114 – Biologia Celular

Estrutura dos Ácidos Nucleicos e Replicação do DNA



Aula 4

Antonio Figueira
figueira@cena.usp.br

Função do Material Genético

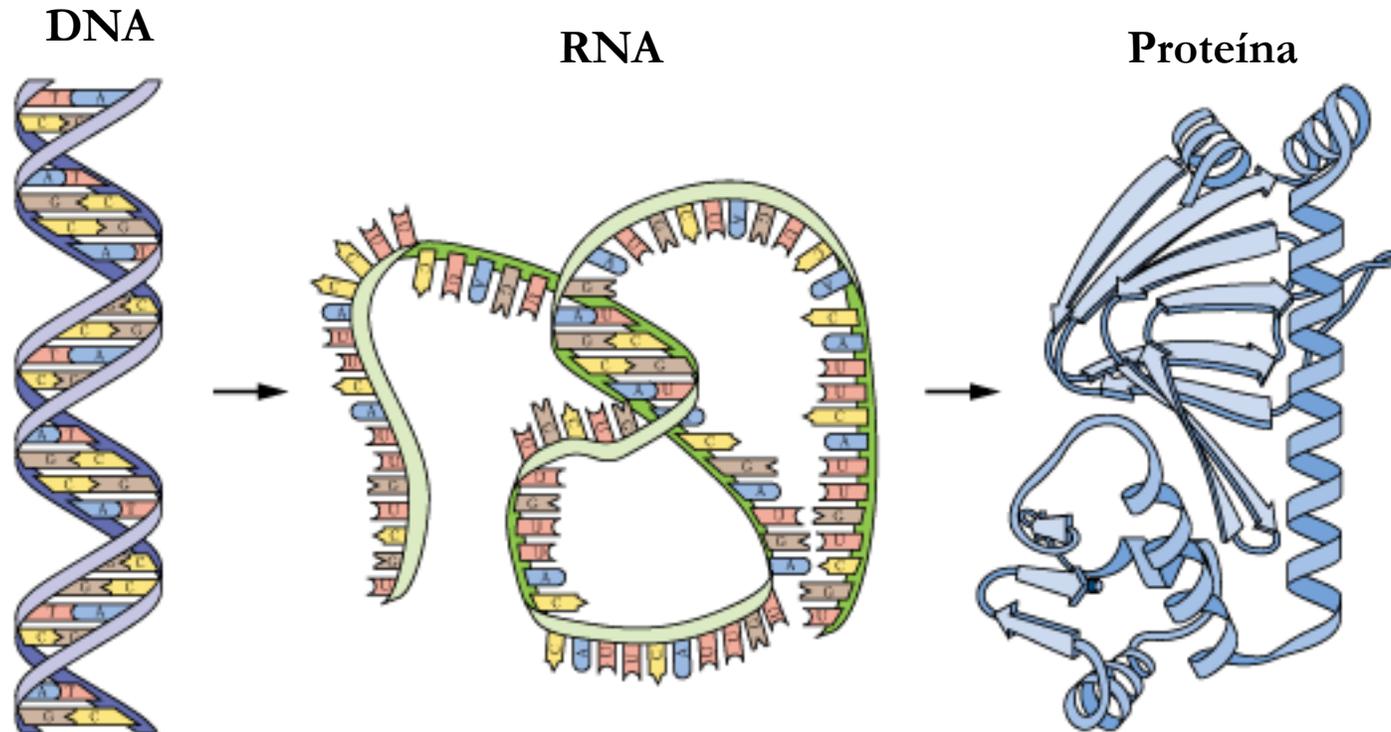
1. Função genotípica: replicação

2. Função fenotípica: expressão gênica

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

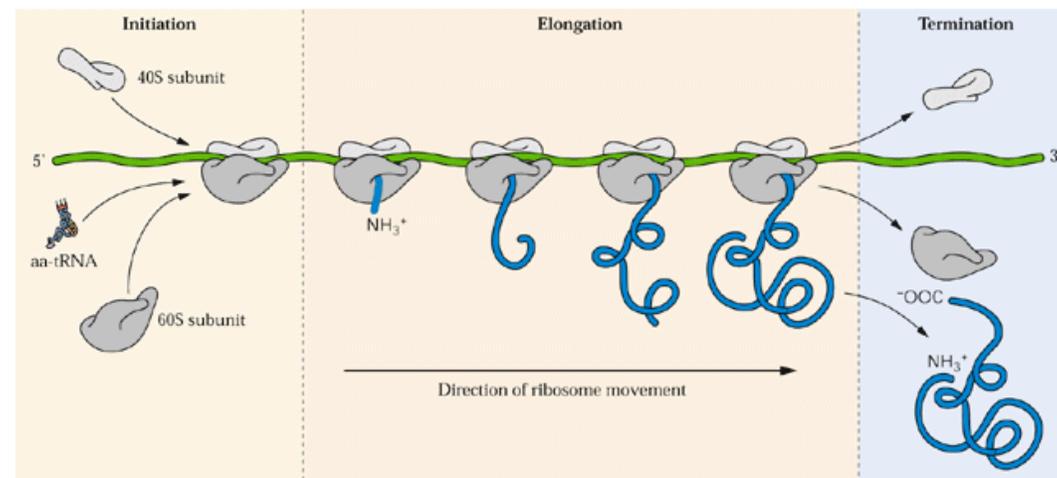
DOGMA CENTRAL DA BIOLOGIA

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 (**proteínas**)



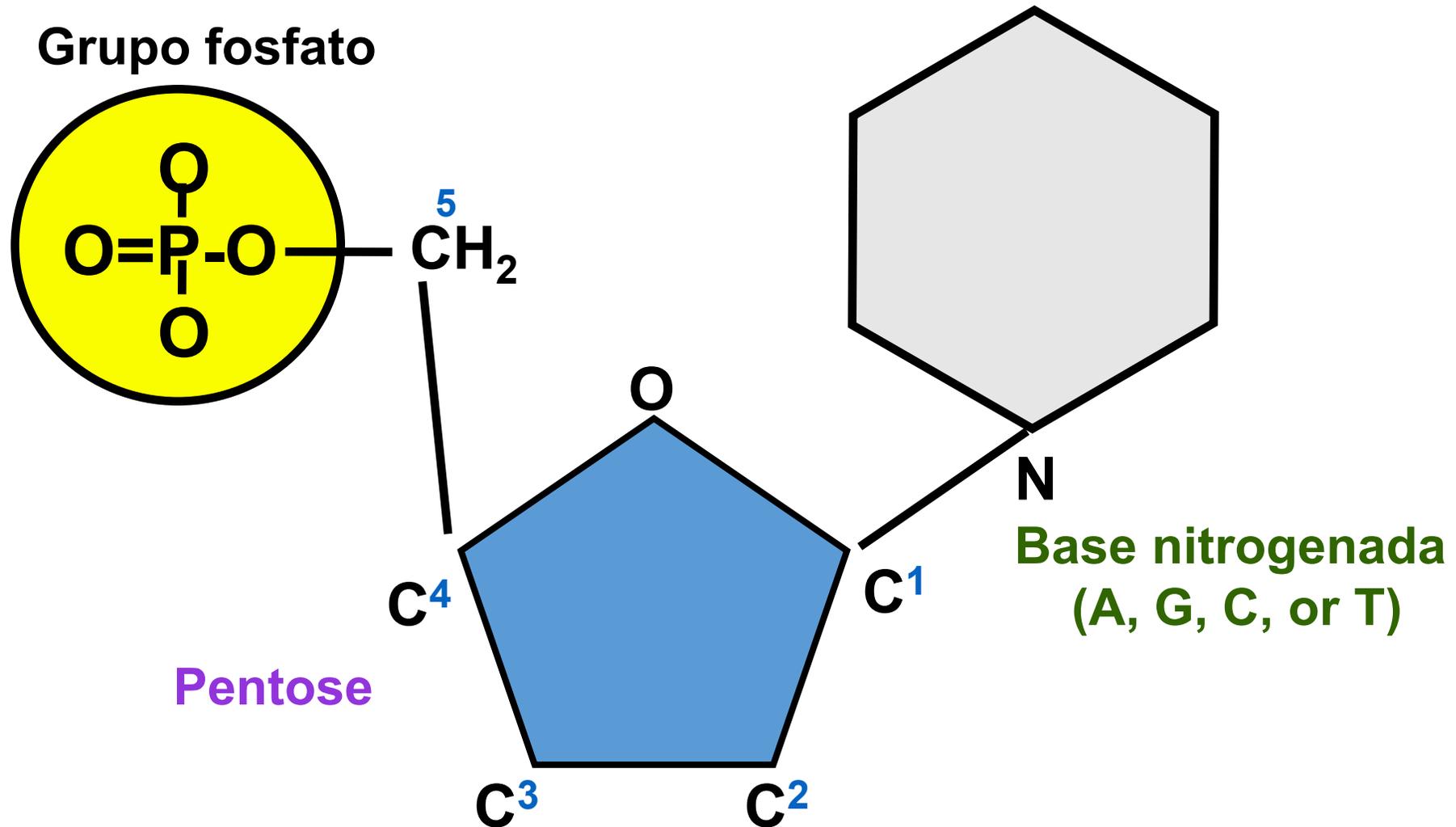
Ácidos Nucleicos

- **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 transferência (tRNA)** - identifica e transporta os aminoácidos até o ribossomo
 - **snRNA, microRNA, ncRNA, etc.**



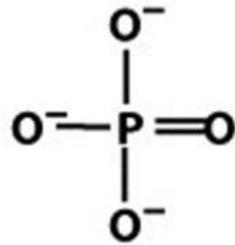
ÁCIDOS NUCLEICOS

São polímeros de nucleotídeos



Componentes dos Nucleotídeos

(1)
Um
grupo
fosfato:

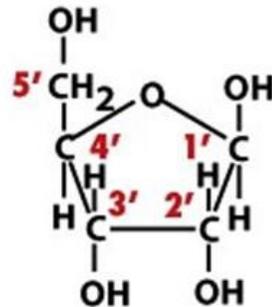


Carbono 5'

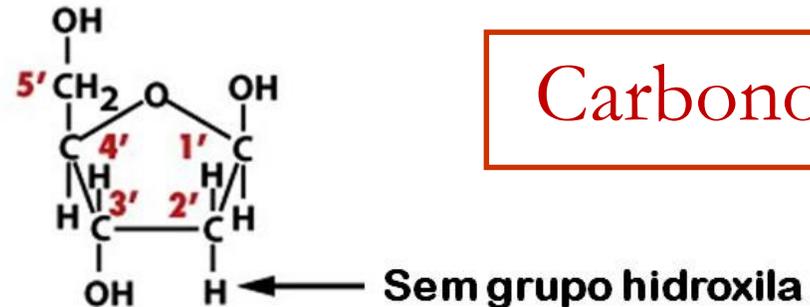
Nucleotídeo sem fosfato é nucleosídeo!!!

(2)
pentoses
(açúcares
de 5
carbonos)

(a) RNA:
Ribose



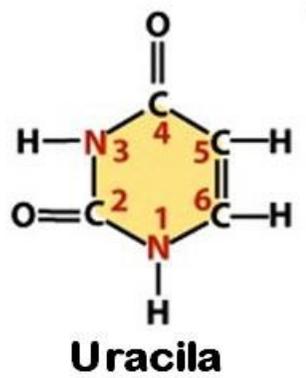
(b) DNA:
2-Desoxirribose



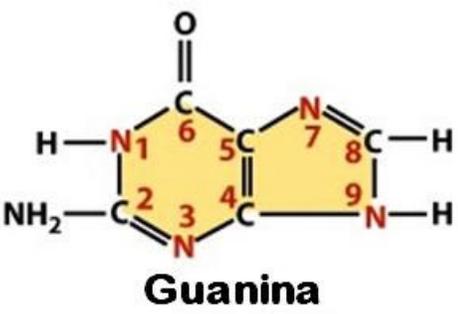
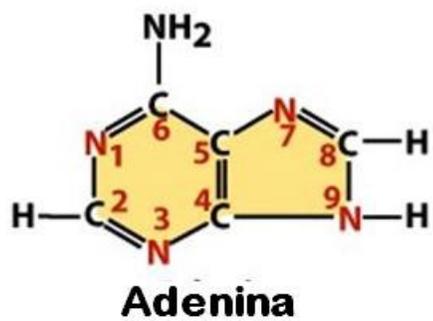
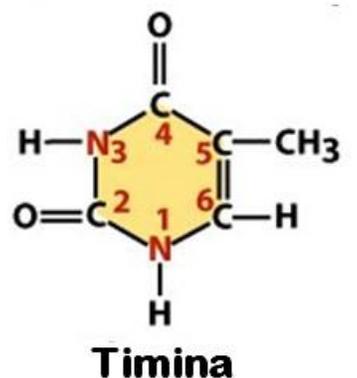
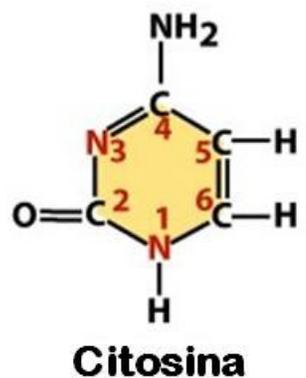
Carbono 2'

(3)
Uma base
cíclica
contendo
Nitrogênio

(a) RNA



(b) DNA e RNA (c) DNA



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

DNA e RNA – Moléculas de Informação

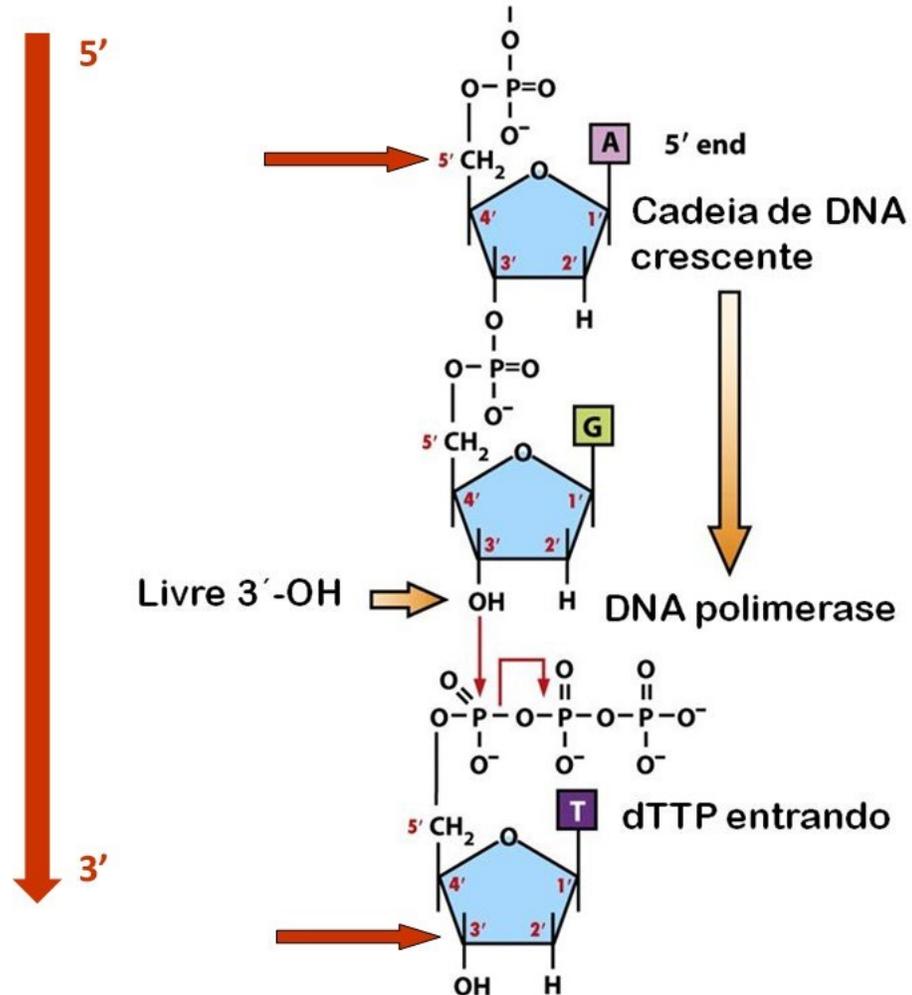
DNA – Descoberto pelo bioquímico alemão Johann Friedrich Miescher (1869)

RNA - Descoberto em levedura (1890)



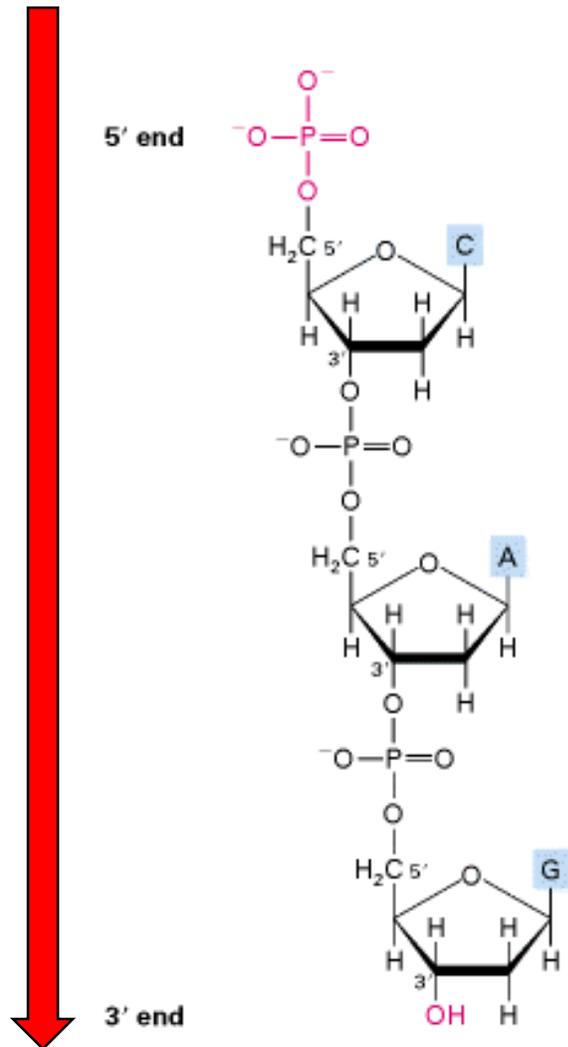
Diferenças estruturais

Ácidos Nucleicos são formados por ligações fosfodiester

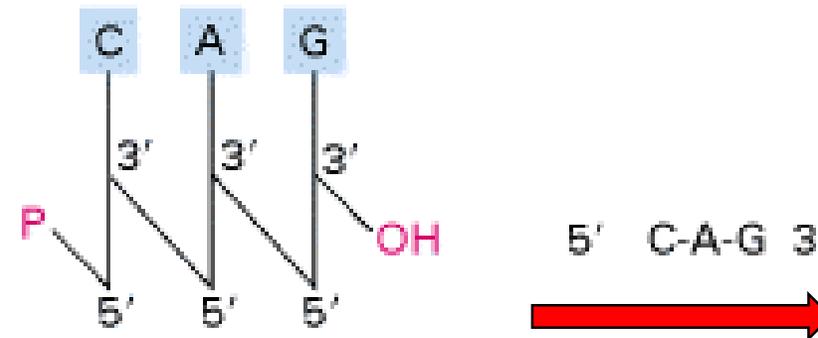
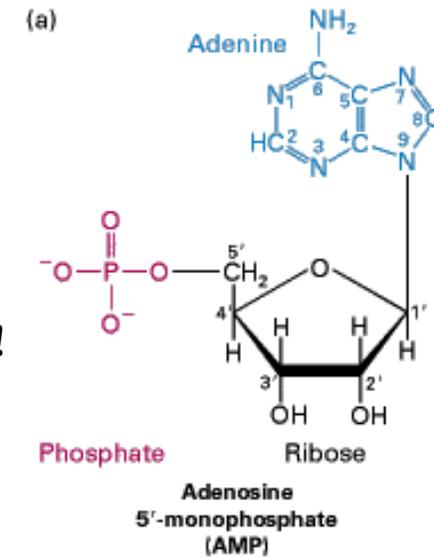


Todo nucleotídeo livre está na forma de **trifosfato!!**

Ligações fosfodiéster - polarização 5' – 3'

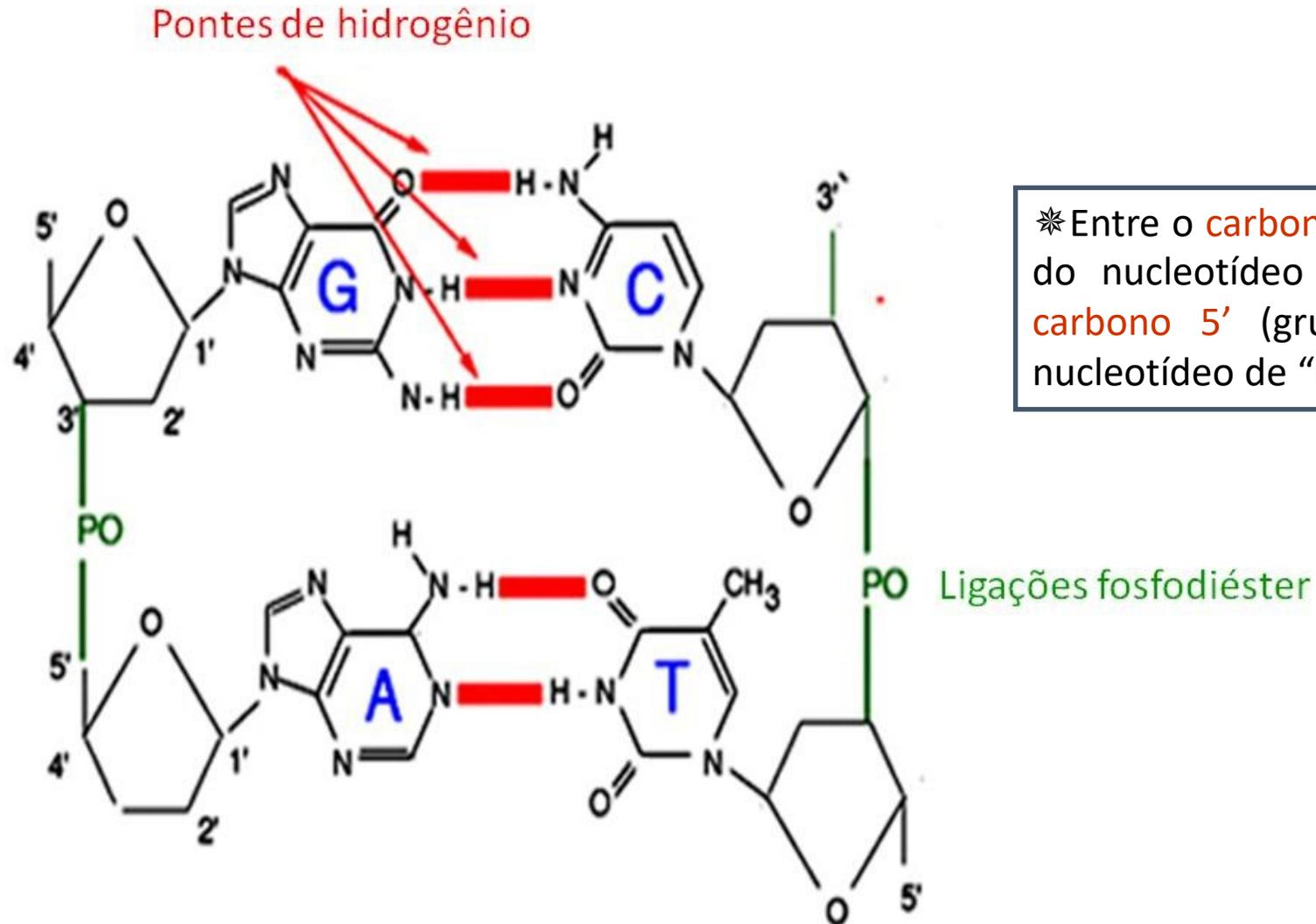


Adenosina trifosfato!!!
SIM ATP!!!!



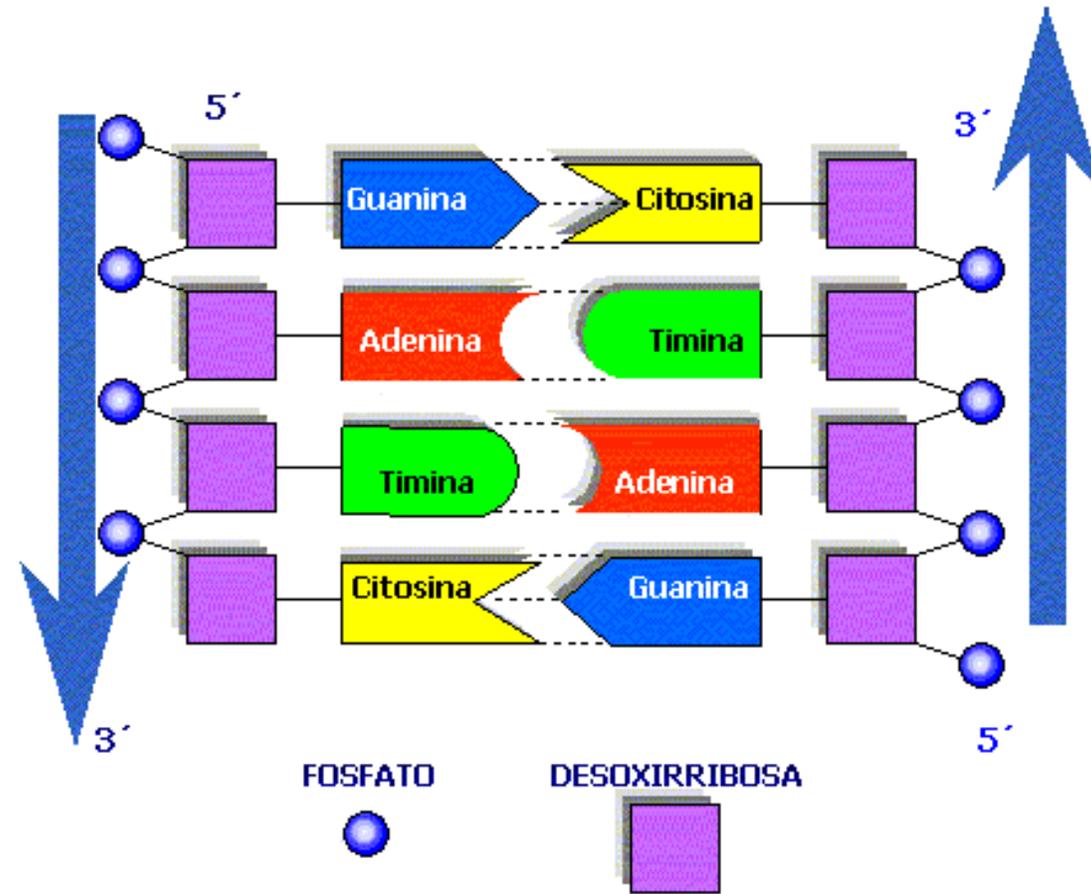
- entre o carbono 3' do nucleotídeo de “cima” e o carbono 5' do nucleotídeo de “baixo”

DNA – Fita Dupla Antiparalelas



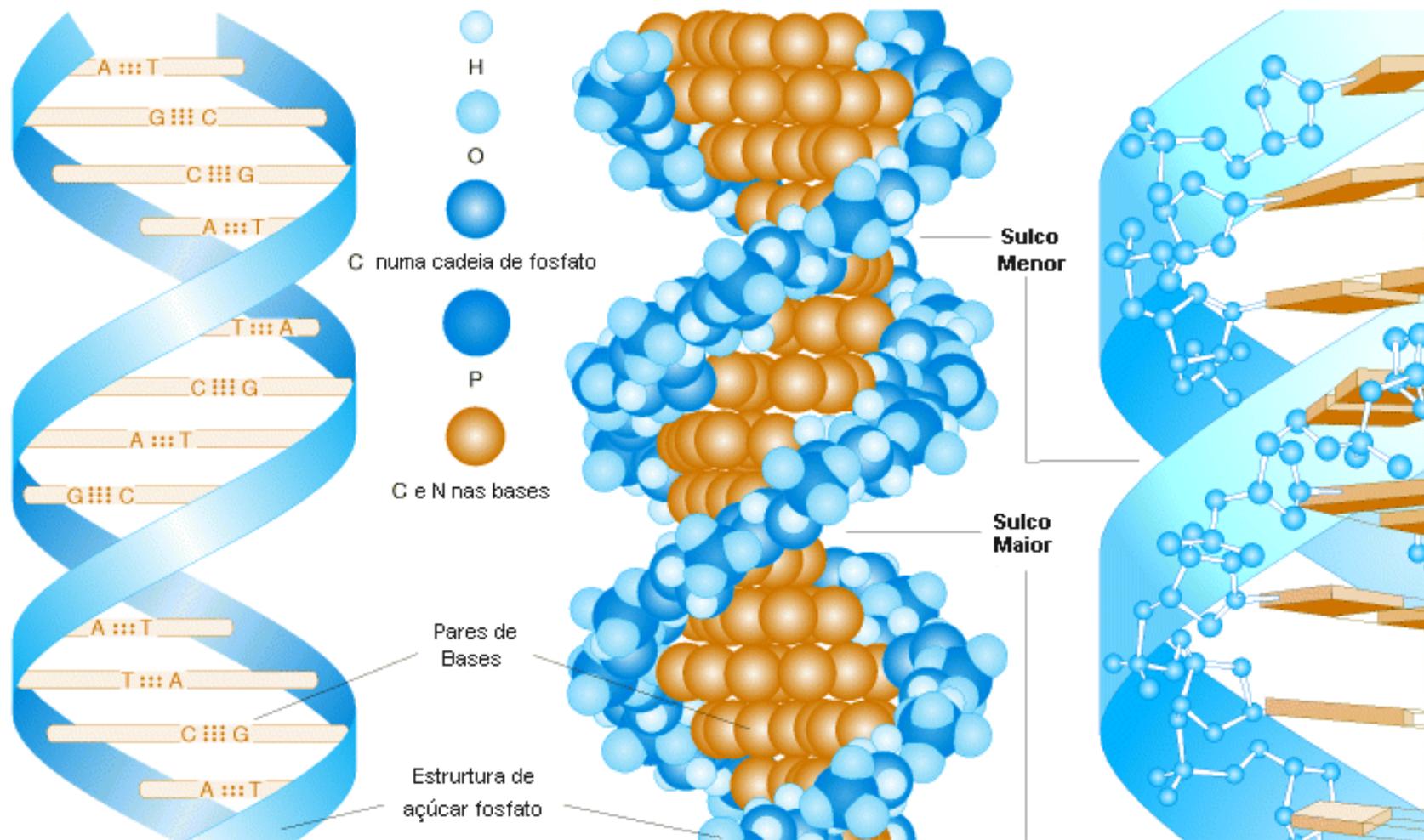
* Entre o **carbono 3'** (grupo OH-) do nucleotídeo de “cima” e o **carbono 5'** (grupo fosfato) do nucleotídeo de “baixo”.

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”), onde 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 transferência (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

Molde

5' T A T T C C G T G A C T T A A C T T 3'

3' A T A A G G C A C T G A A T T G A A 5'

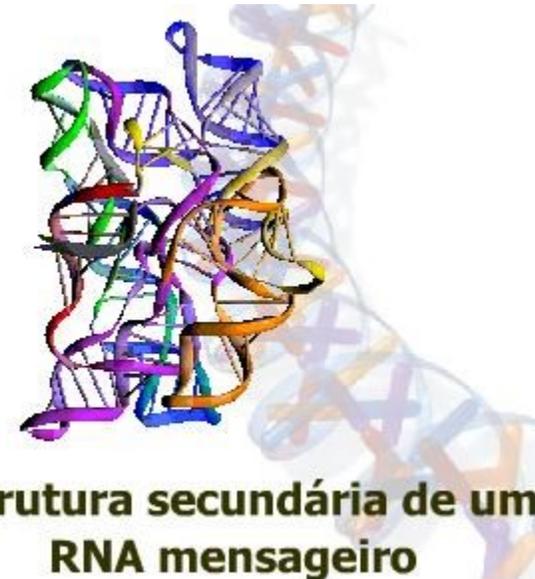
5' U A U U C C G U G A C U U A A C U U 3'

DNA

RNA

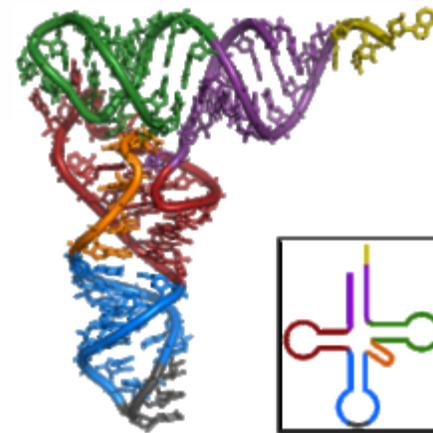
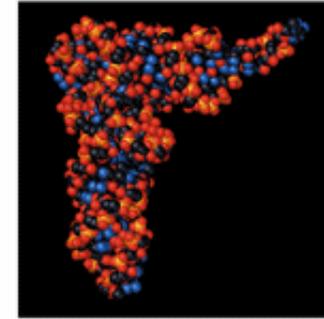
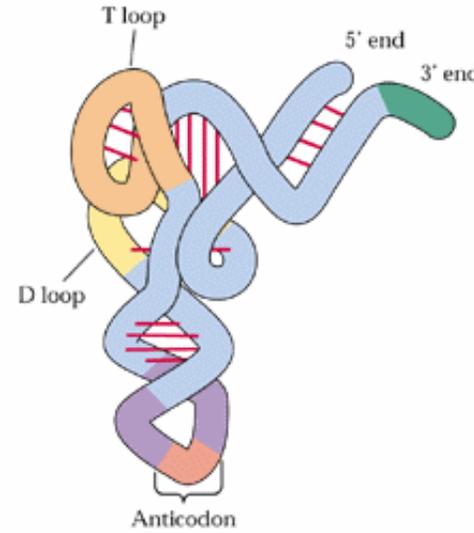
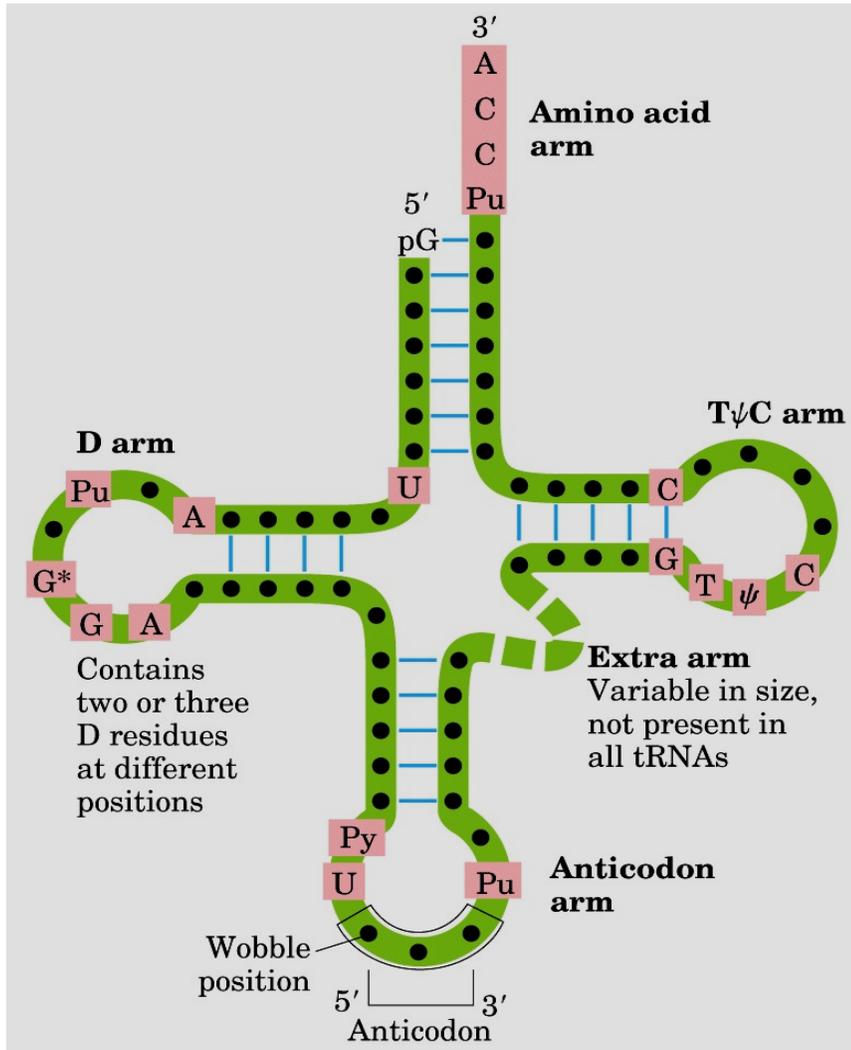
Sentido da transcrição

		Segunda Base					
		U	C	A	G		
Primeira Base	U	UUU } Fenil-alanina UUC } UUA } Leucina UUG }	UCU } Serina UCC } UCA } UCG }	UAU } Tirosina UAC } UAA } Stop codon UAG } Stop codon	UGU } Cysteine UGC } UGA } Stop codon UGG } Tryptophan	U	C
	C	CUU } Leucina CUC } CUA } CUG }	CCU } Prolina CCC } CCA } CCG }	CAU } Histidina CAC } CAA } Glutamina CAG }	CGU } Arginina CGC } CGA } CGG }	U	C
	A	AUU } Isoleucina AUC } AUA } AUG } Metionina start codon	ACU } Treonina ACC } ACA } ACG }	AAU } Asparagina AAC } AAA } Lisina AAG }	AGU } Serina AGC } AGA } Arginina AGG }	U	C
	G	GUU } Valina GUC } GUA } GUG }	GCU } Alanina GCC } GCA } GCG }	GAU } Ácido Aspártico GAC } Ácido Glutâmico GAA } GAG }	GGU } Glicina GGC } GGA } GGG }	U	C
						Terceria Base	

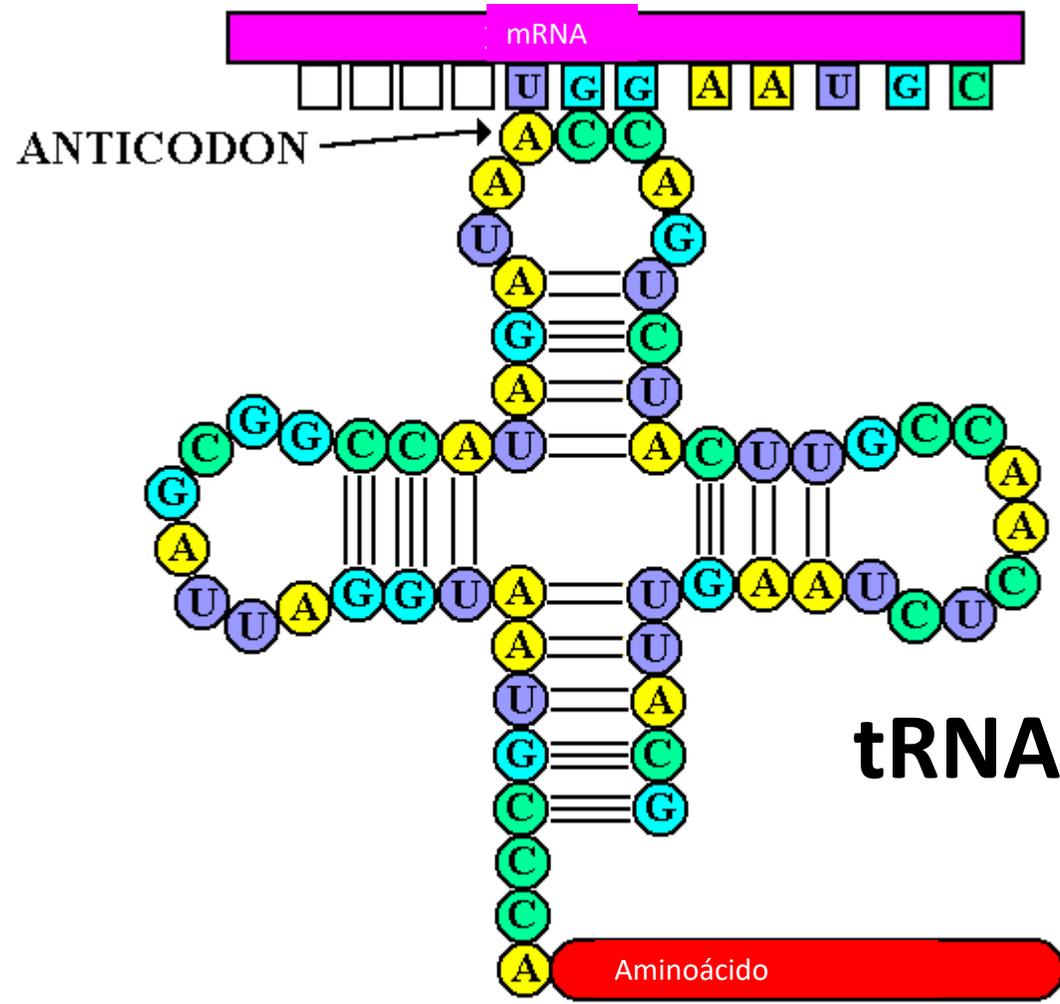


Estrutura secundária de um RNA mensageiro

RNA transportador - tRNA

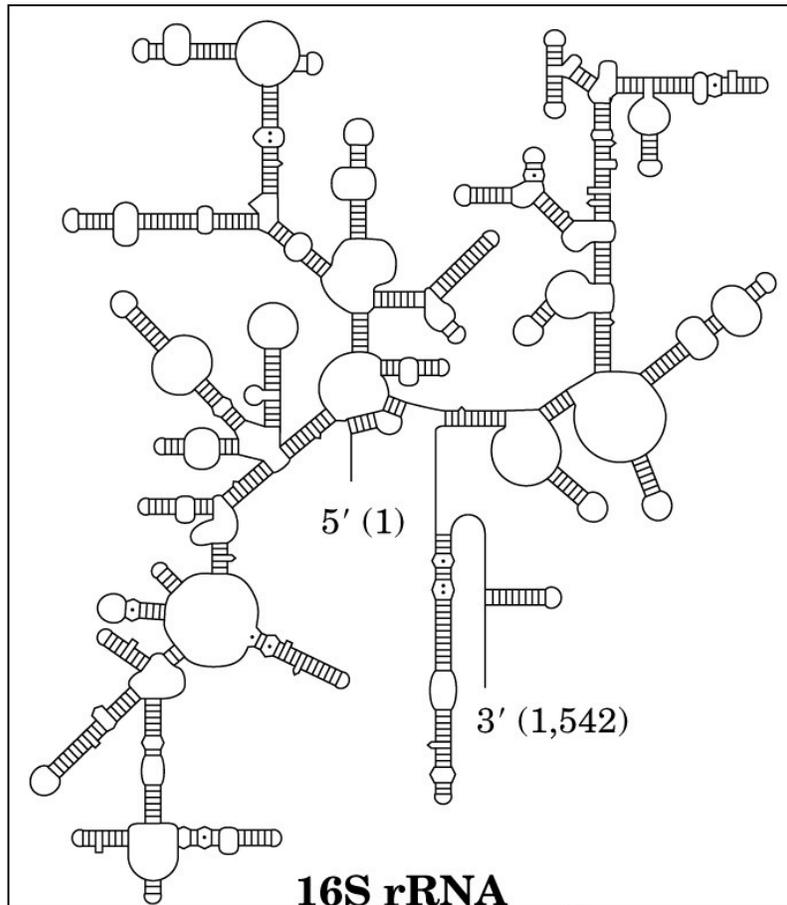


Reconhece códons em mRNA - anticódon



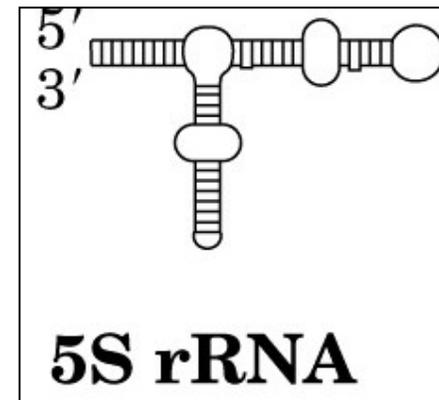
RNA ribossômico - rRNA

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

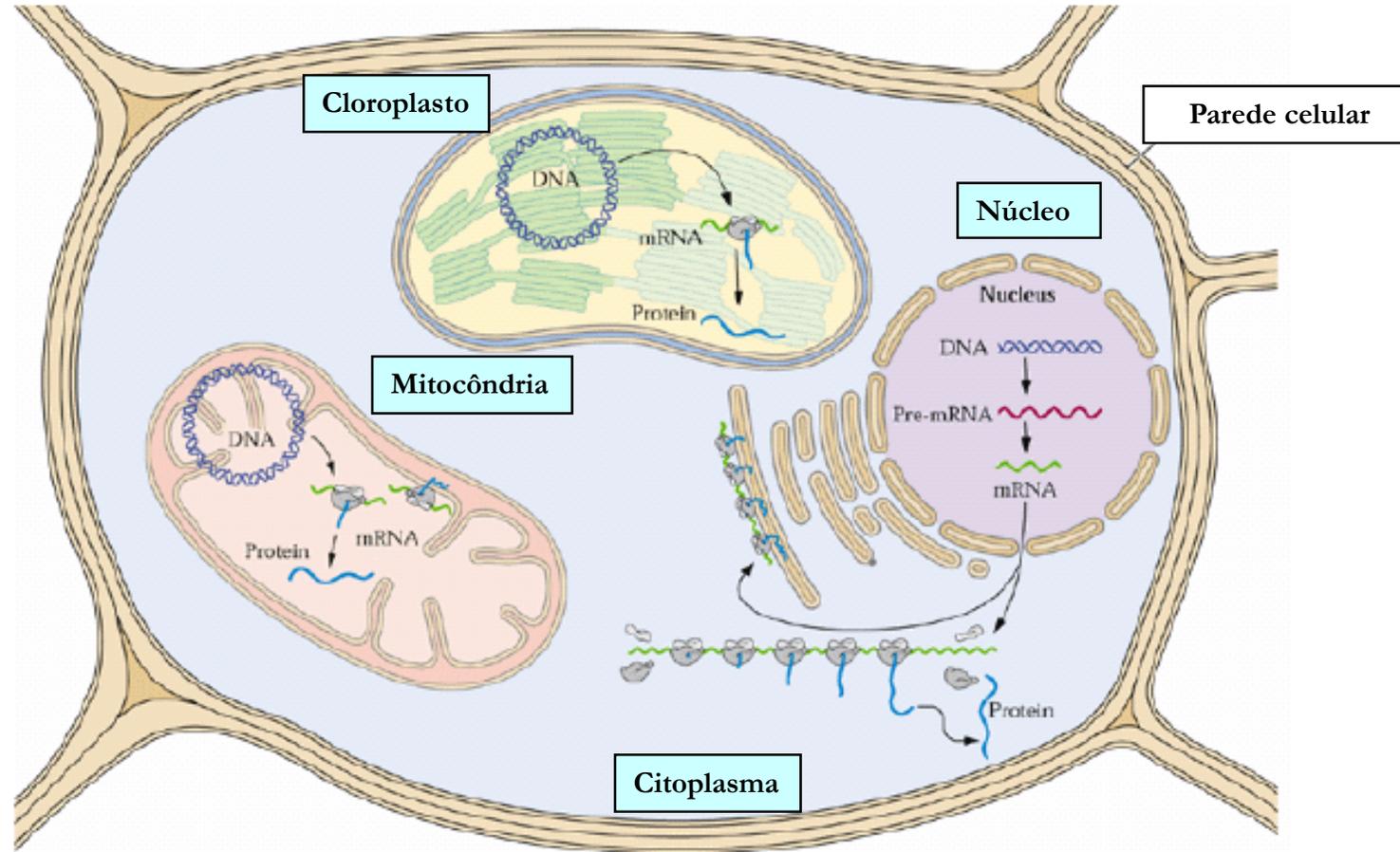


Exemplos de rRNAs:

- Estrutura secundária com grampos e alças

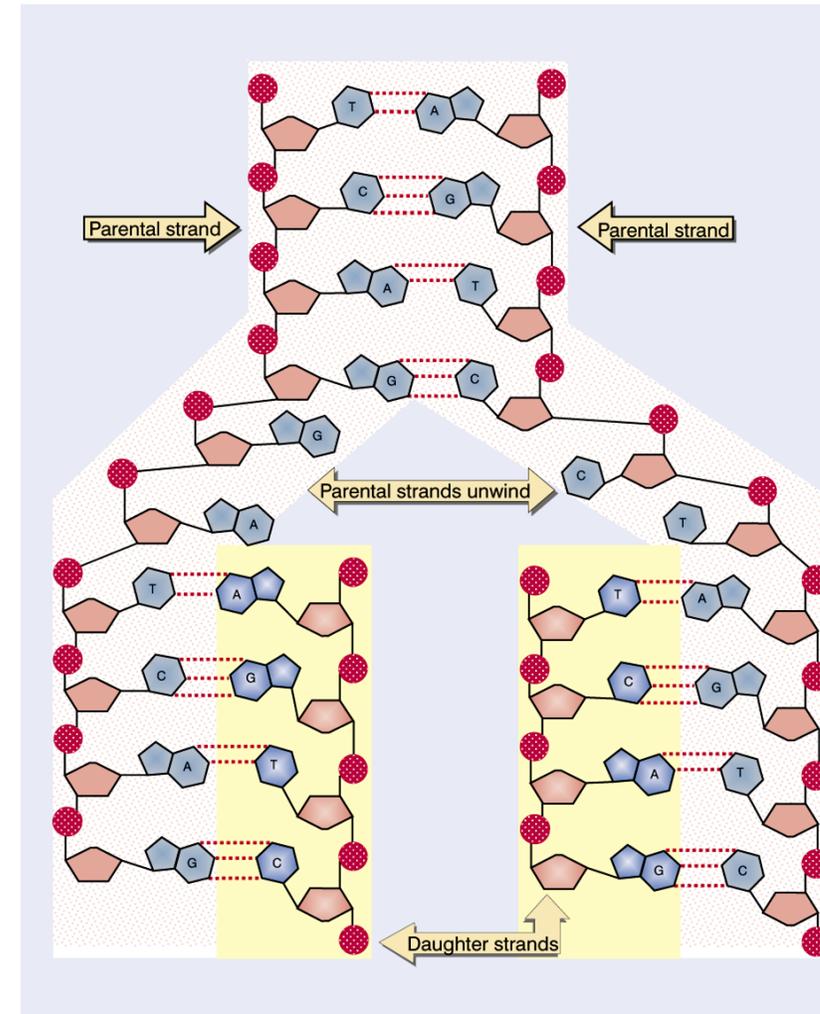


Três genomas em plantas: cromossomal, plastidial e mitocondrial

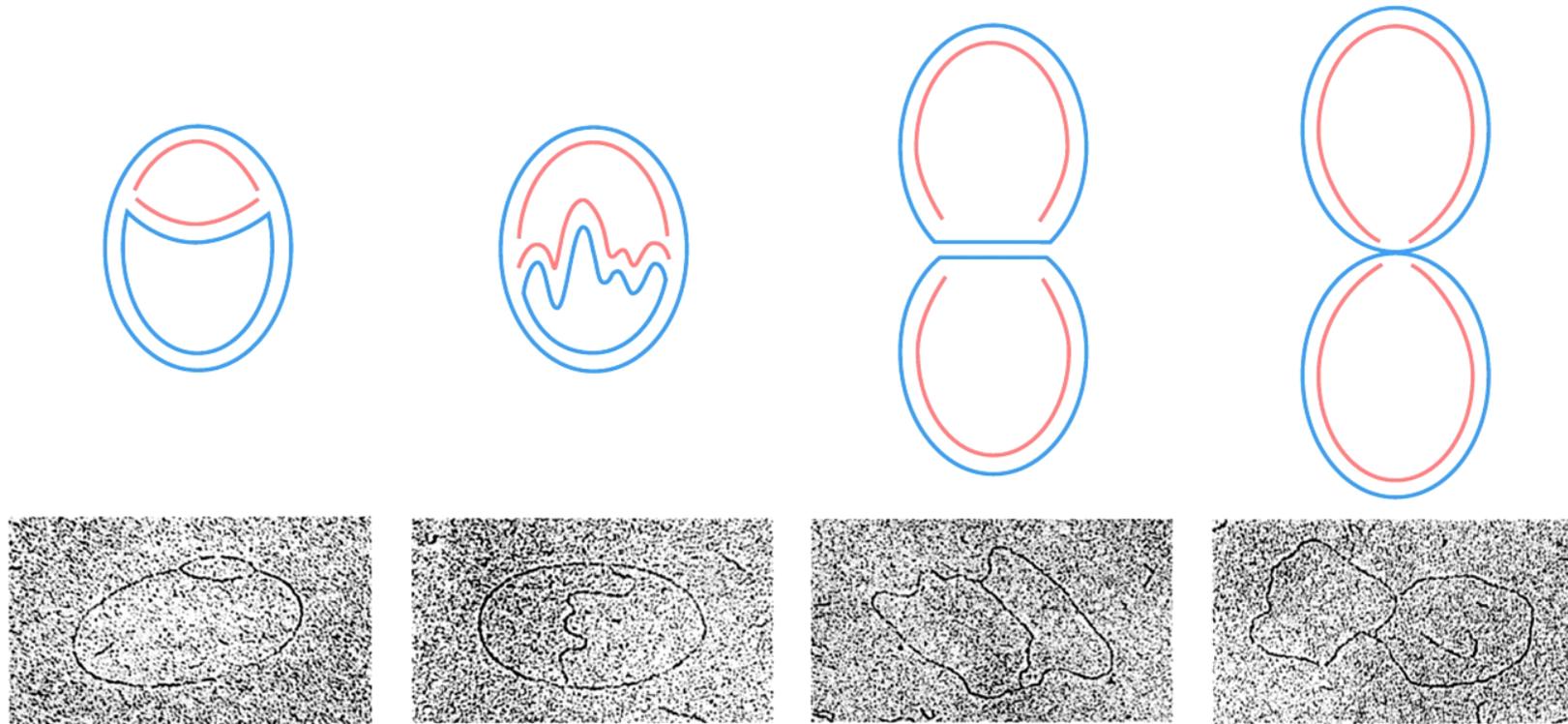


Replicação do DNA

- A replicação do DNA é 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



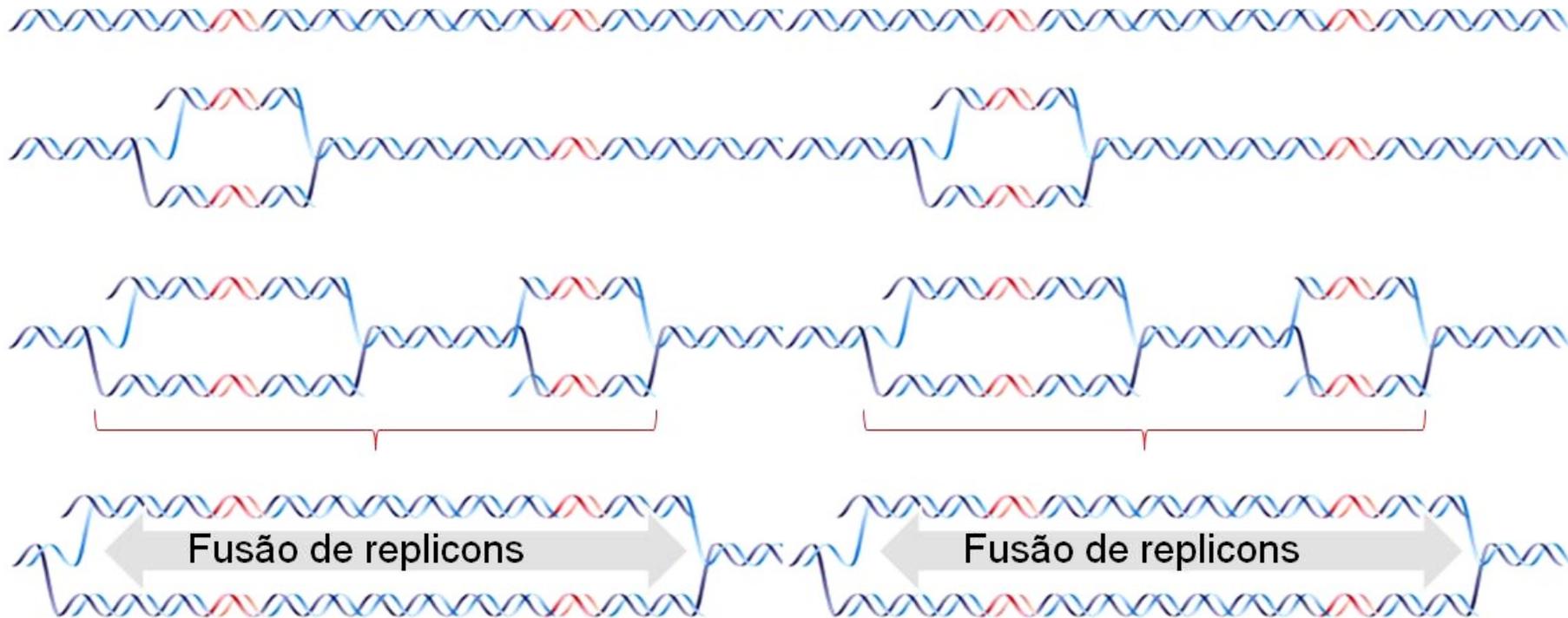
Replicação de Cromossomo Circular



A replicação é bidirecional

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

Replicação de 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 na Replicação

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

Pontos importantes sobre as DNA Polimerases

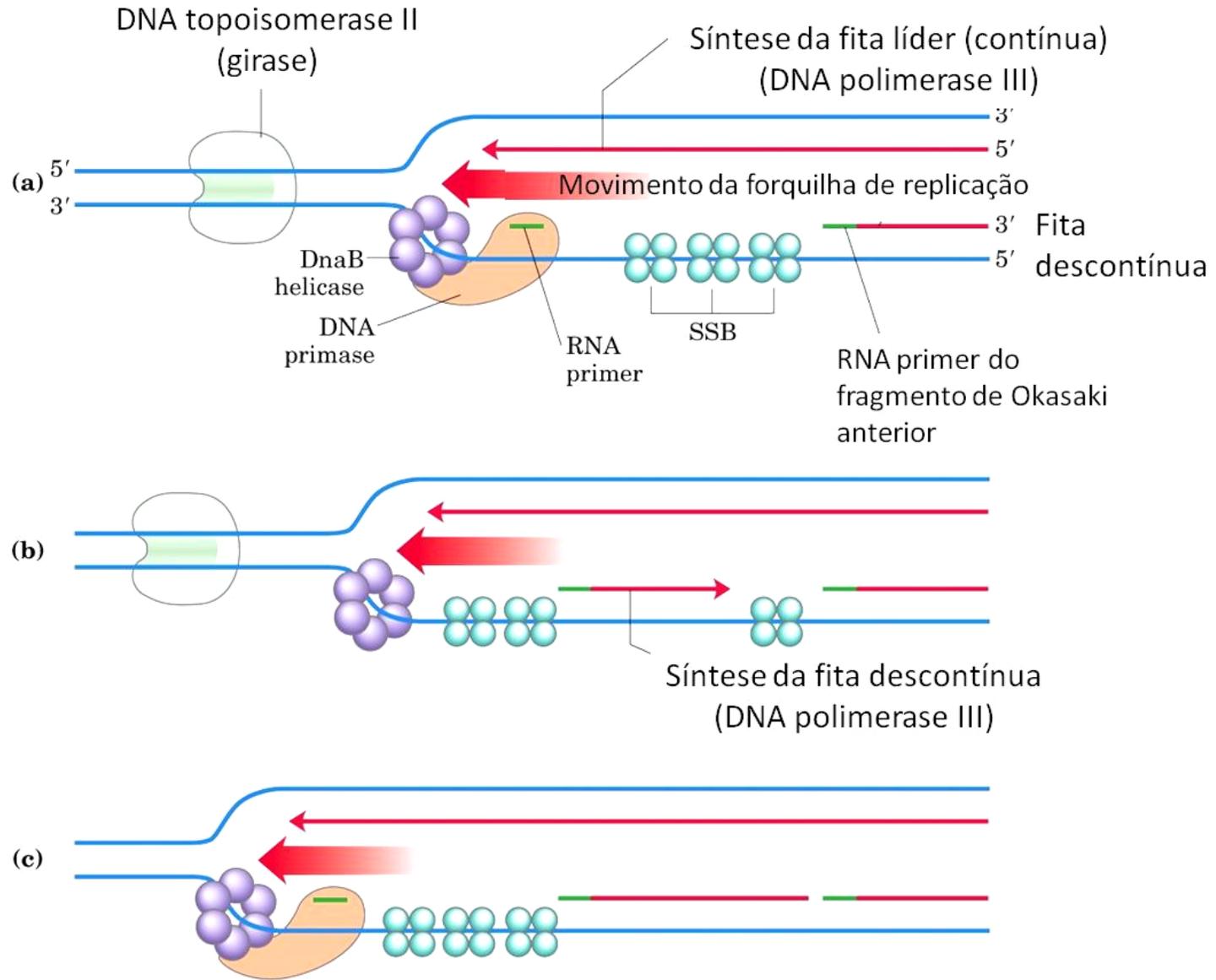
- A síntese de DNA é catalisada por enzimas chamadas **DNA polimerases**
- Todas as DNA polimerases precisam de um oligonucleotídeo (*primer*) para servir de ponto de origem de onde uma fita é sintetizada
- Todas as DNA polimerases tem necessidade absoluta de uma 3'-OH livre do oligonucleotídeo (*primer*), e toda a síntese de DNA ocorre no sentido 5' → 3'
- Atividades de **exonuclease** 3' → 5' das DNA polimerases revisam as fitas nascentes à medida que eles são sintetizados, removendo quaisquer nucleotídeos mal pareados nas pontas 3' da fitas novas

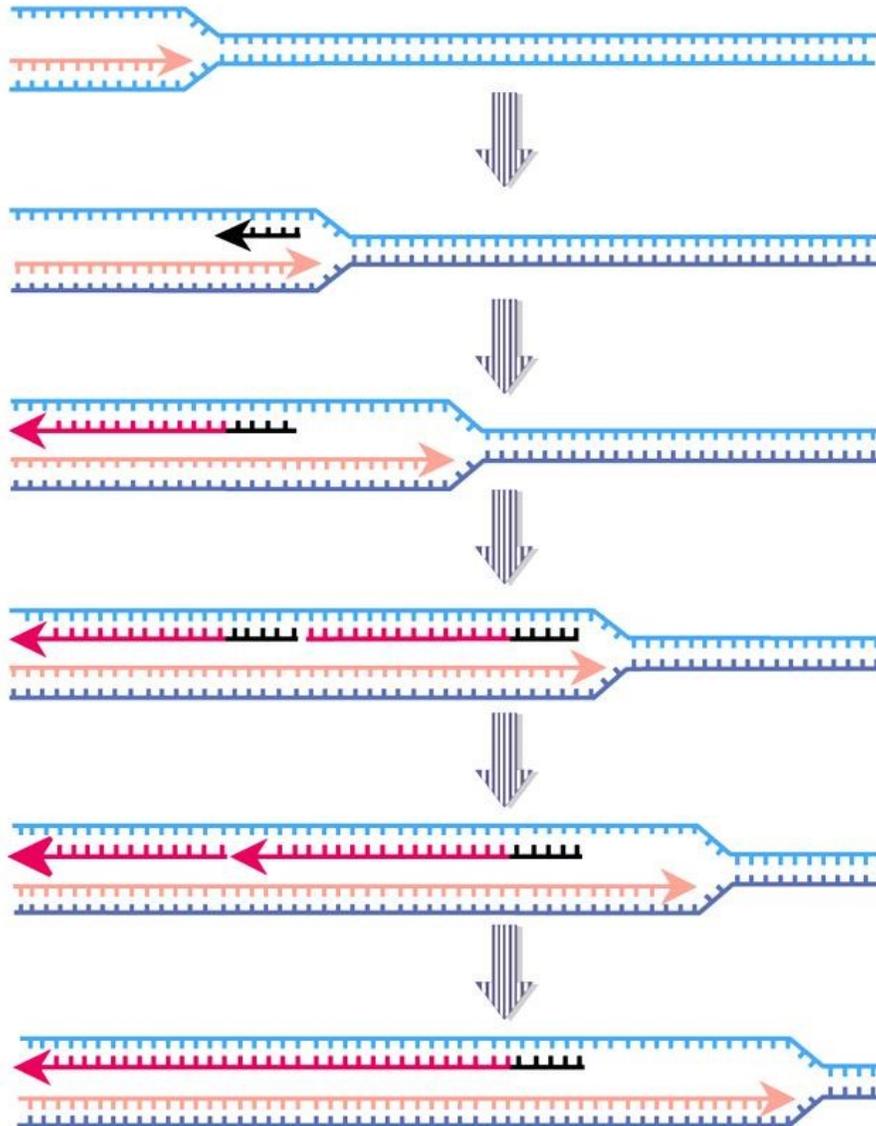
Proteínas presentes na origem de replicação

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

Replicação do DNA

- Se a replicação é semiconservativa 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?





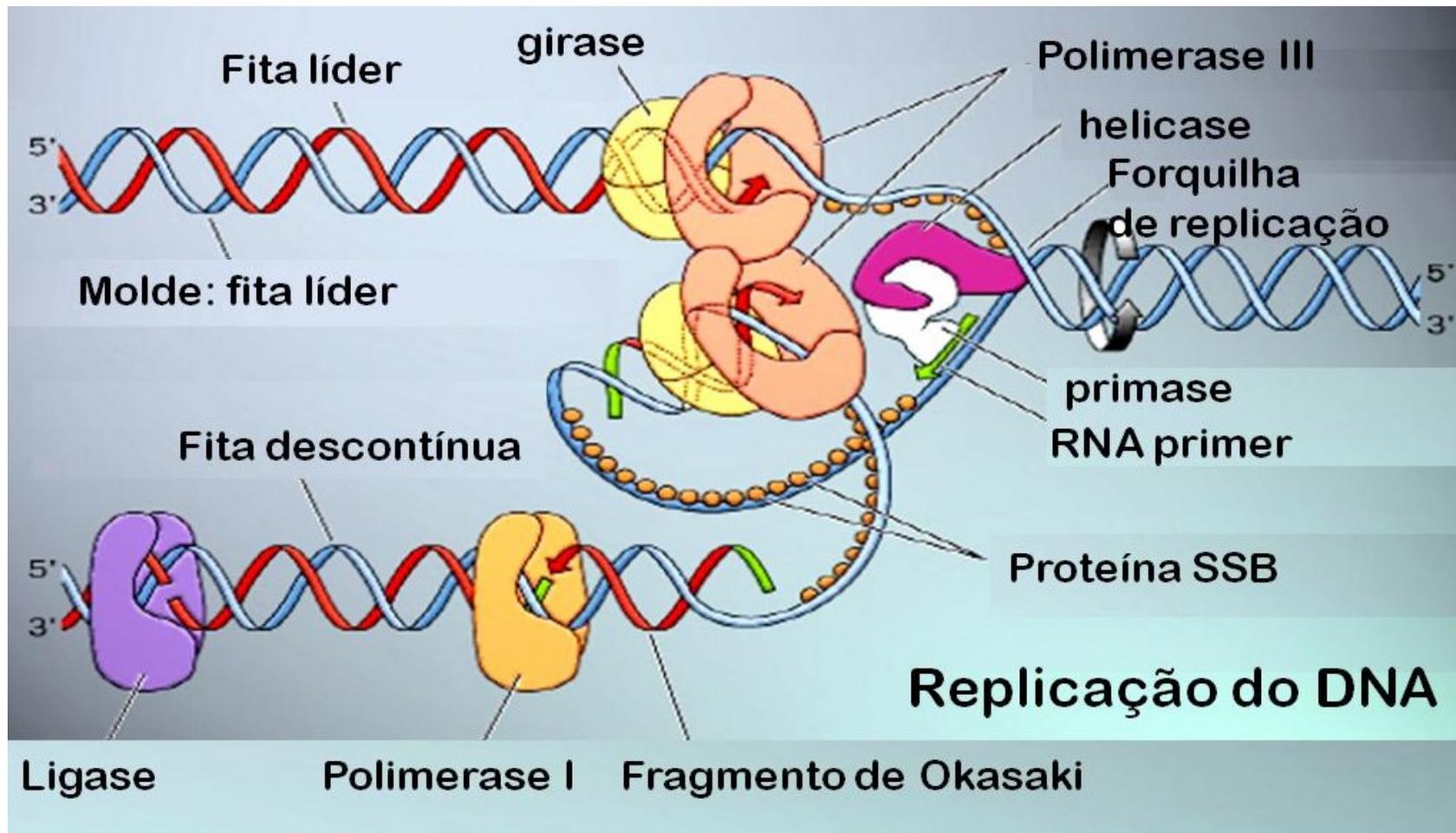
● Fragmentos de Okasaki ocorrem na fita descontínua

● 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

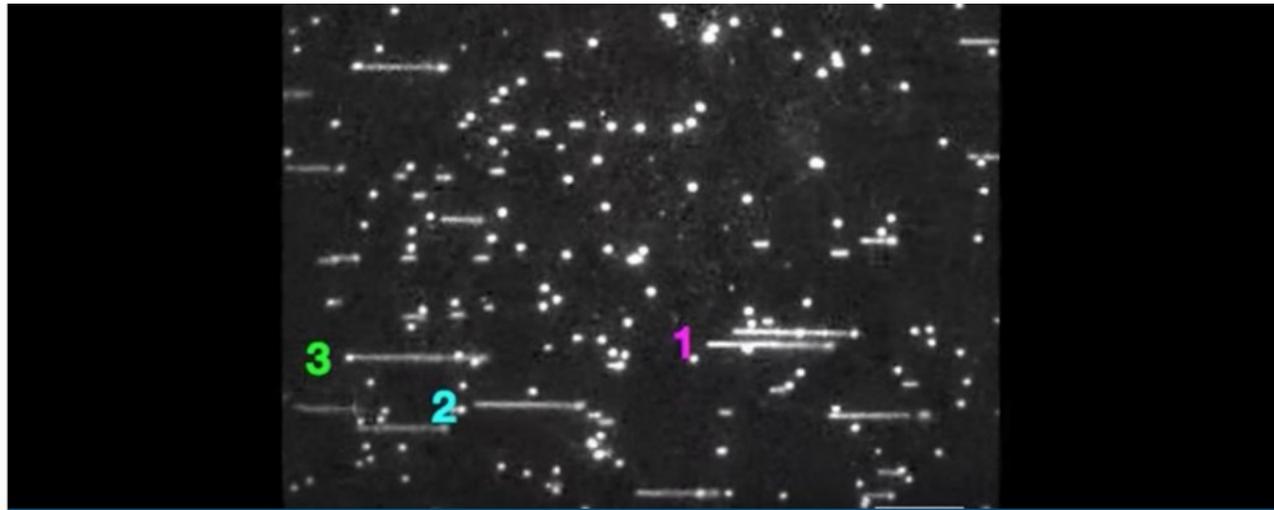
● A DNA ligase sela as quebras

Síntese das fitas contínua e descontínua é independente



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

<https://www.dnalc.org/resources/3d/04-mechanism-of-replication-advanced.html>



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>

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 Okasaki, 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 dos Cromossomos

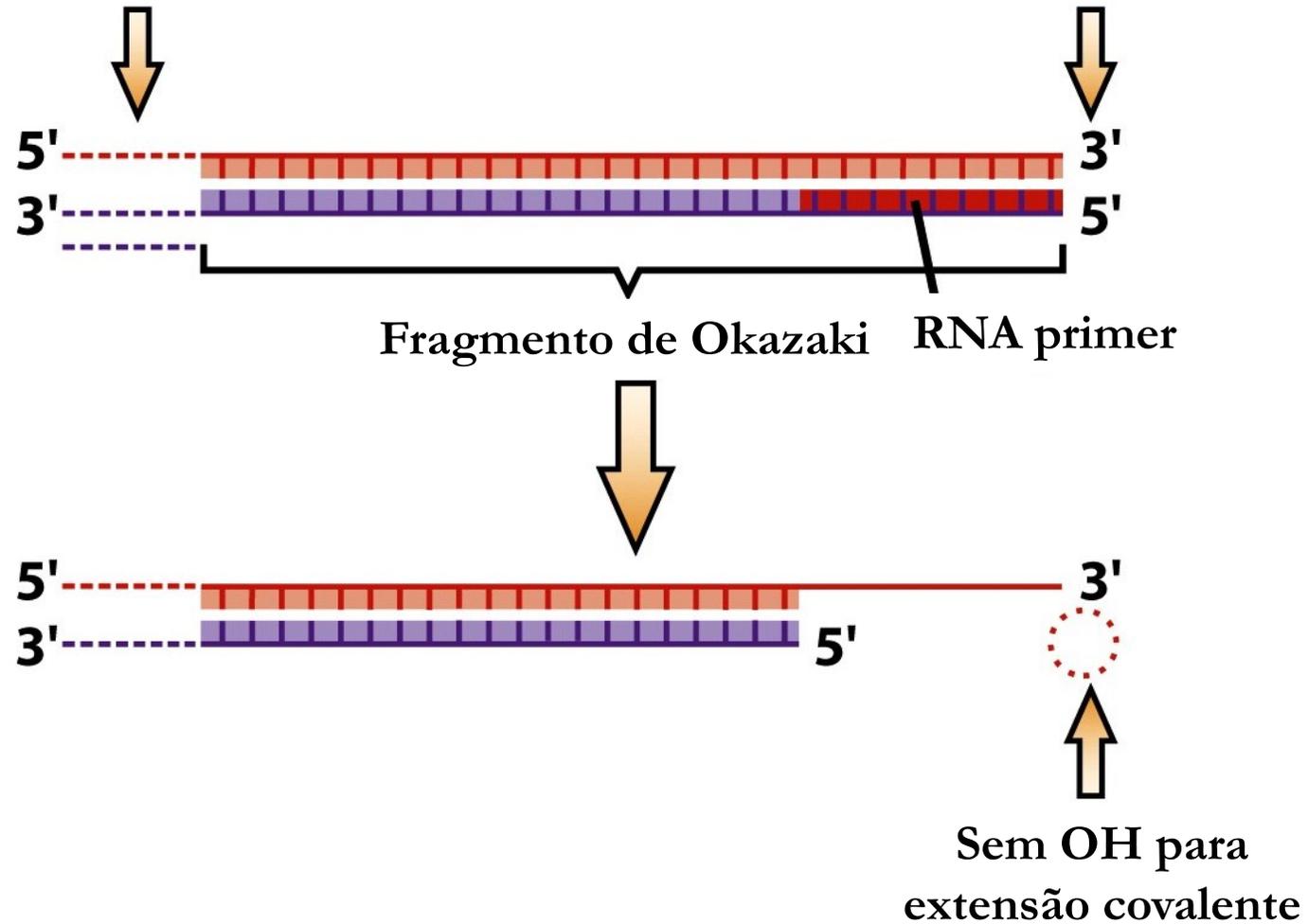
- DNA polimerase **não** pode replicar o segmento terminal do DNA do filamento descontínuo de um cromossomo linear
- TELÔMERO: tem uma estrutura única que favorece um mecanismo simples para a adição de telômeros feita pela enzima **Telomerase** contendo RNA

Repetições dos telômeros de humanos

TTAGGG

Próximo ao centrômero

Fim do cromossomo



Telomerase resolves the terminal primer problem.

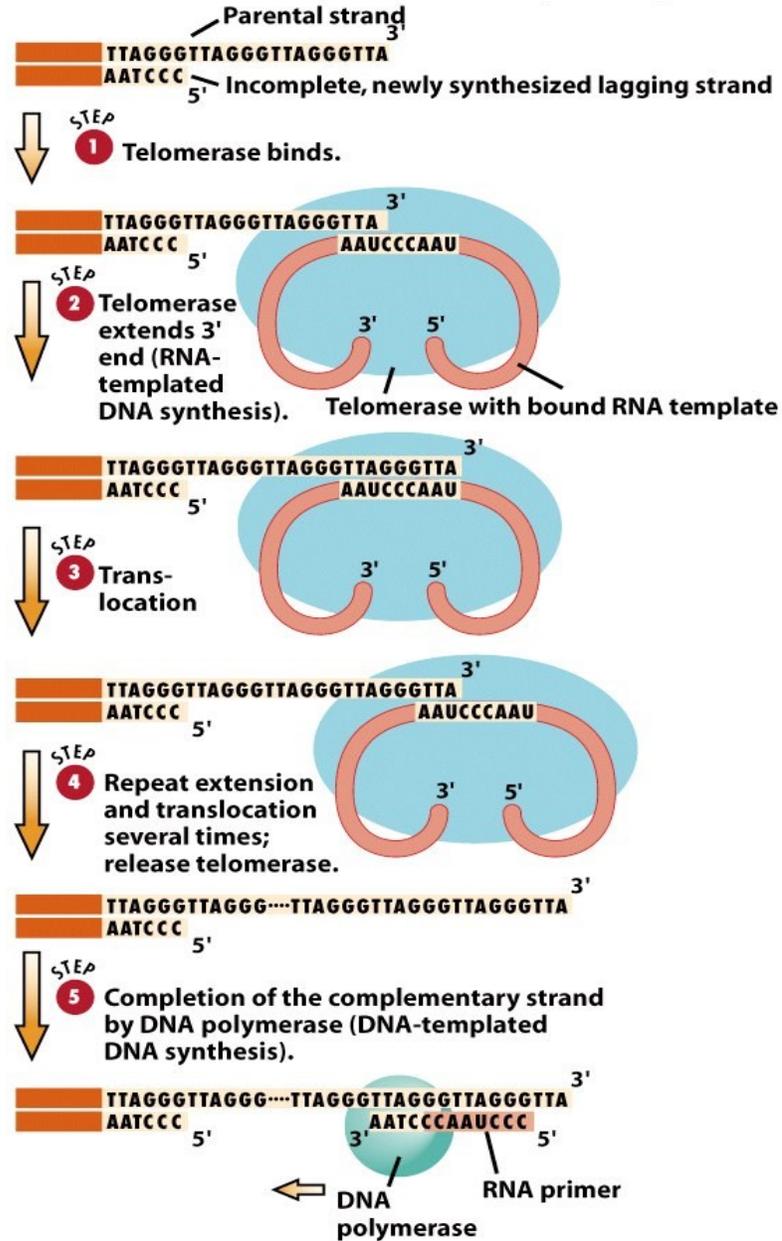
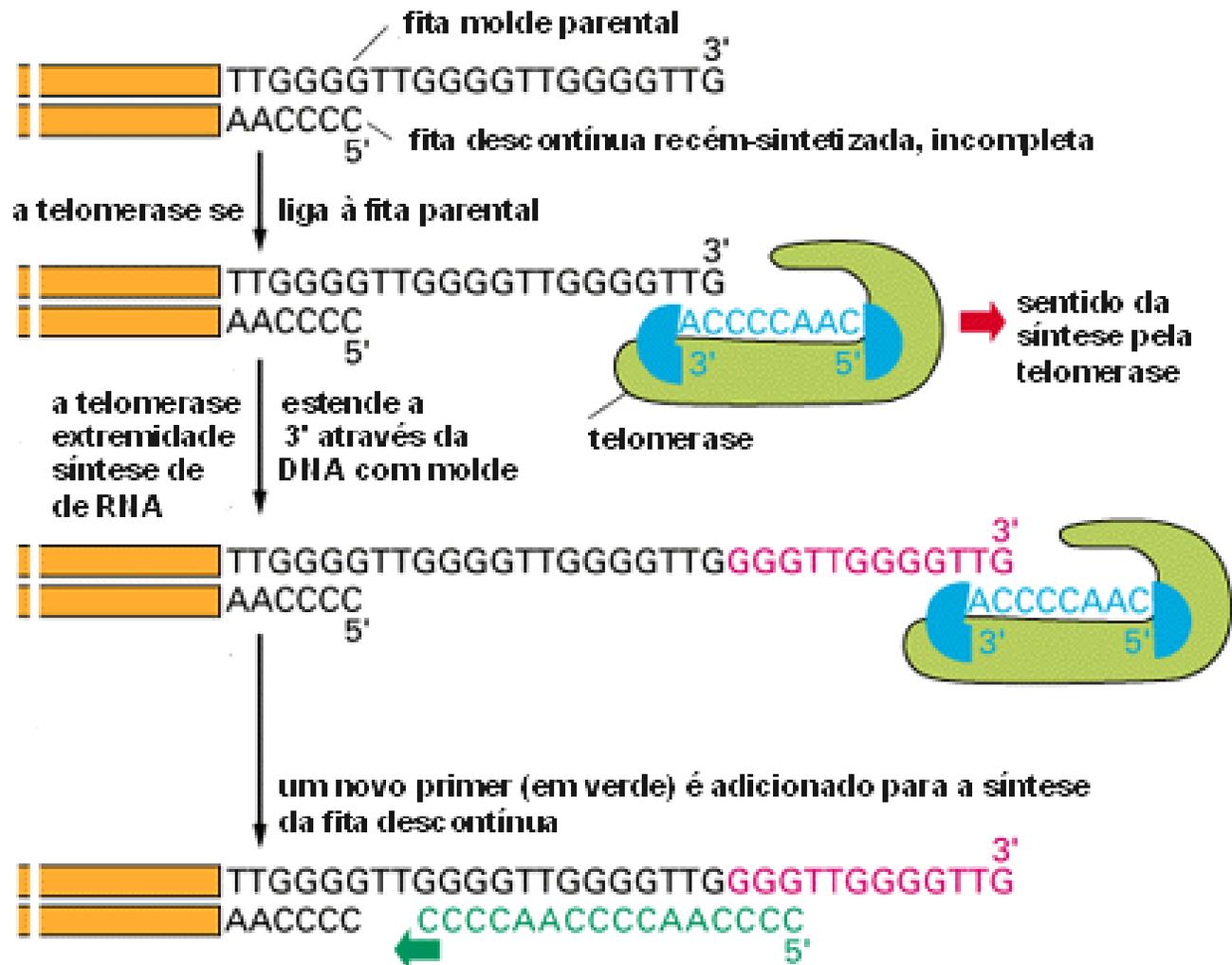


Figure 10-33b Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons



Progeria (envelhecimento prematuro)

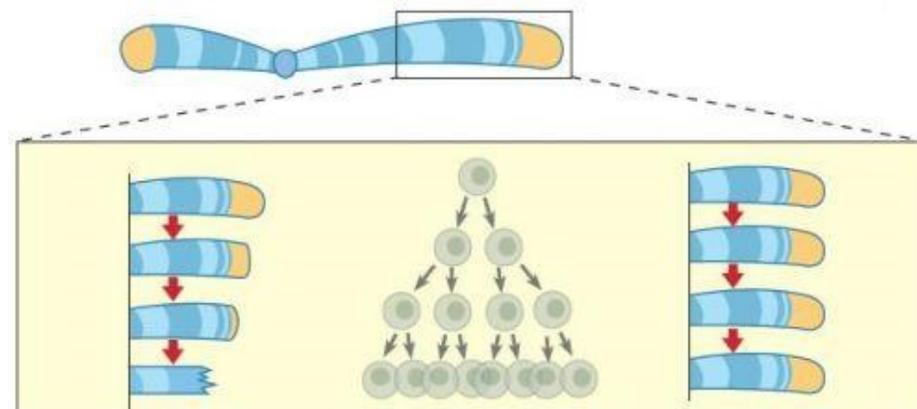
Síndrome de Hutchinson-Gilford: inicia-se imediatamente ao nascimento, morte na adolescência.

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



Figure 10-34 Principles of Genetics, 4/e

John Tacket, 15 anos



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

