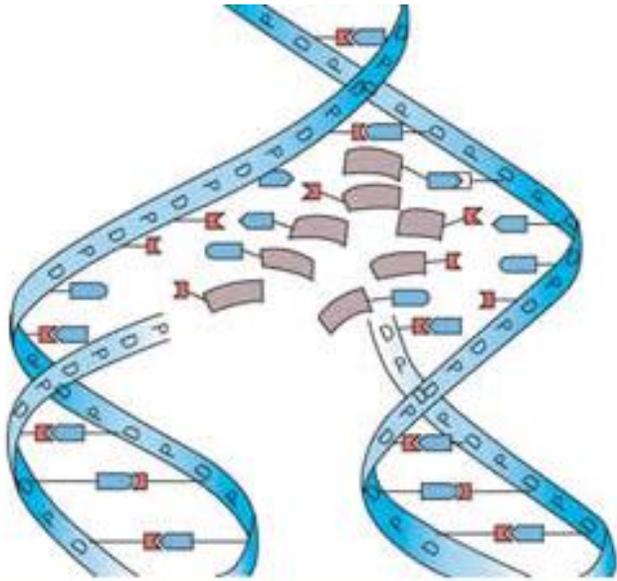


LGN0114 – Biologia Celular

Conservando a informação Replicação do DNA



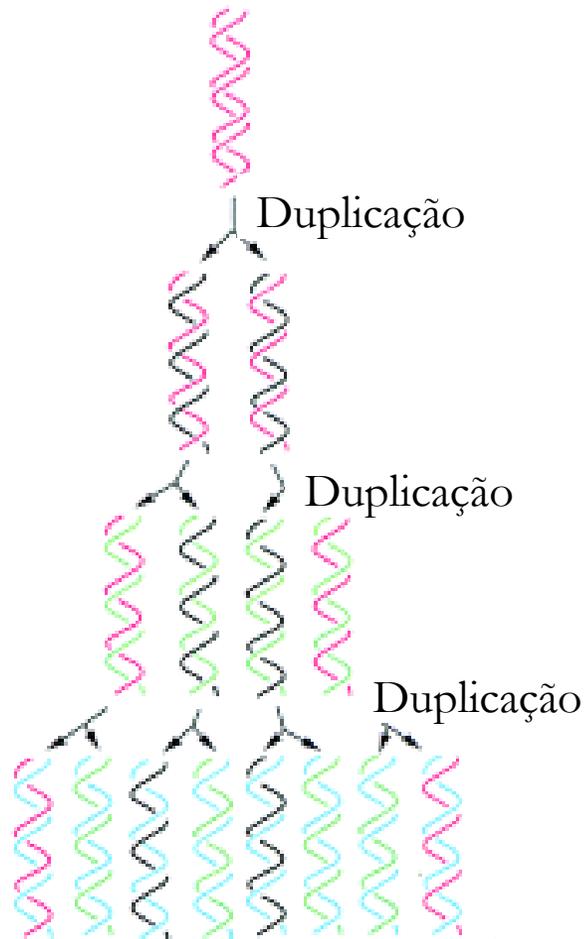
Aula 5

Antonio Figueira
figueira@cena.usp.br

Replicação de DNA

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Watson & Crick 1953



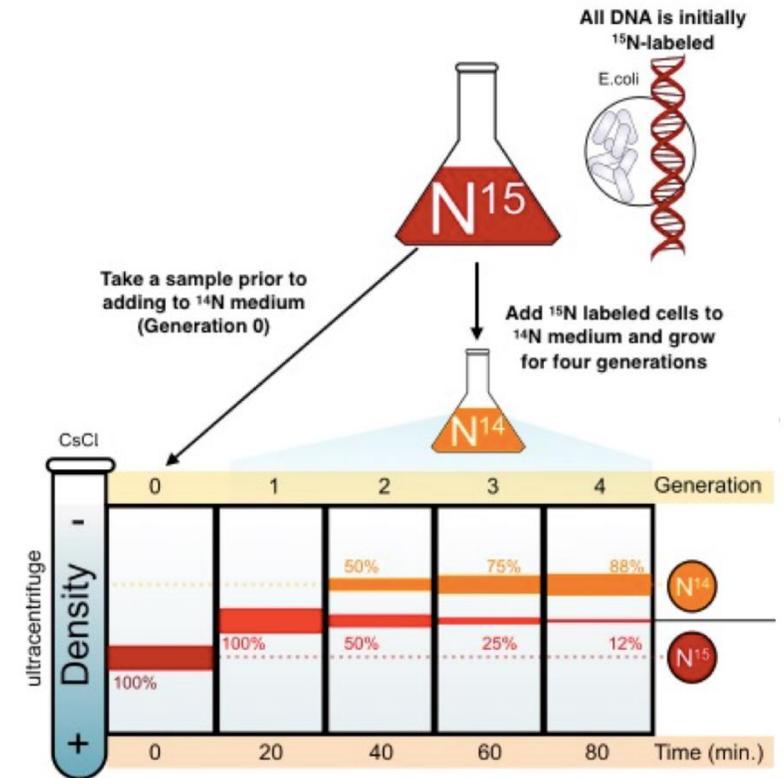
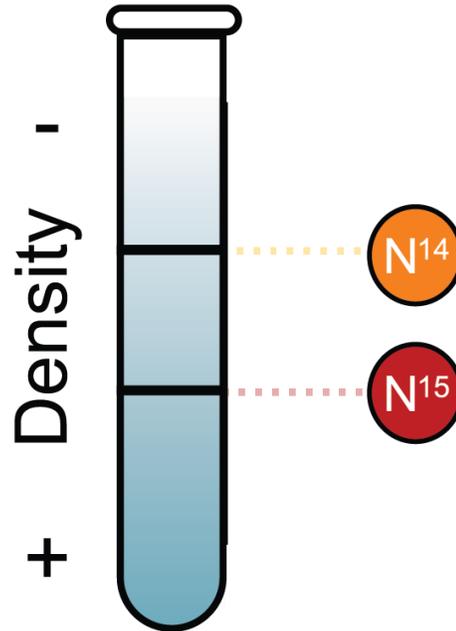
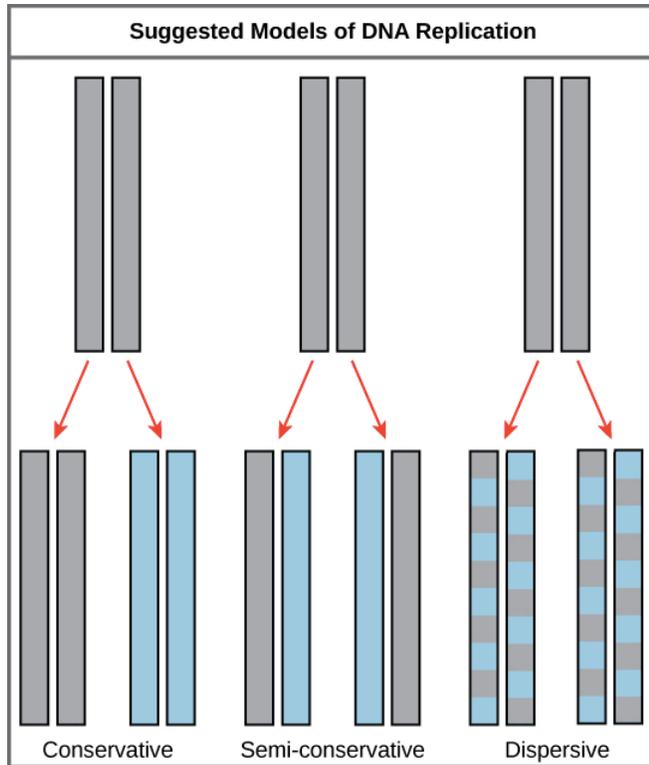
Conservativo, Semiconservativo ou Dispersivo??

Meselson & Stahl 1958: replicação semiconservativa do DNA

Kronenberg 1958: DNA polimerase

Replicação de DNA

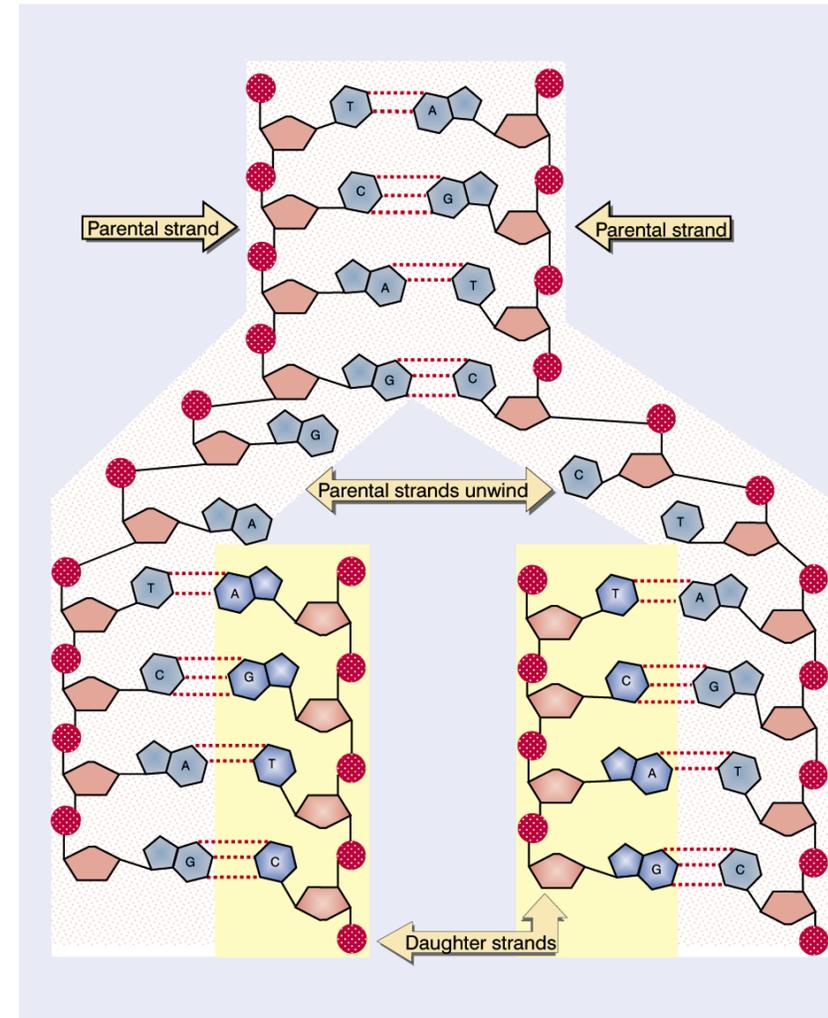
Conservativo, Semiconservativo ou Dispersivo??



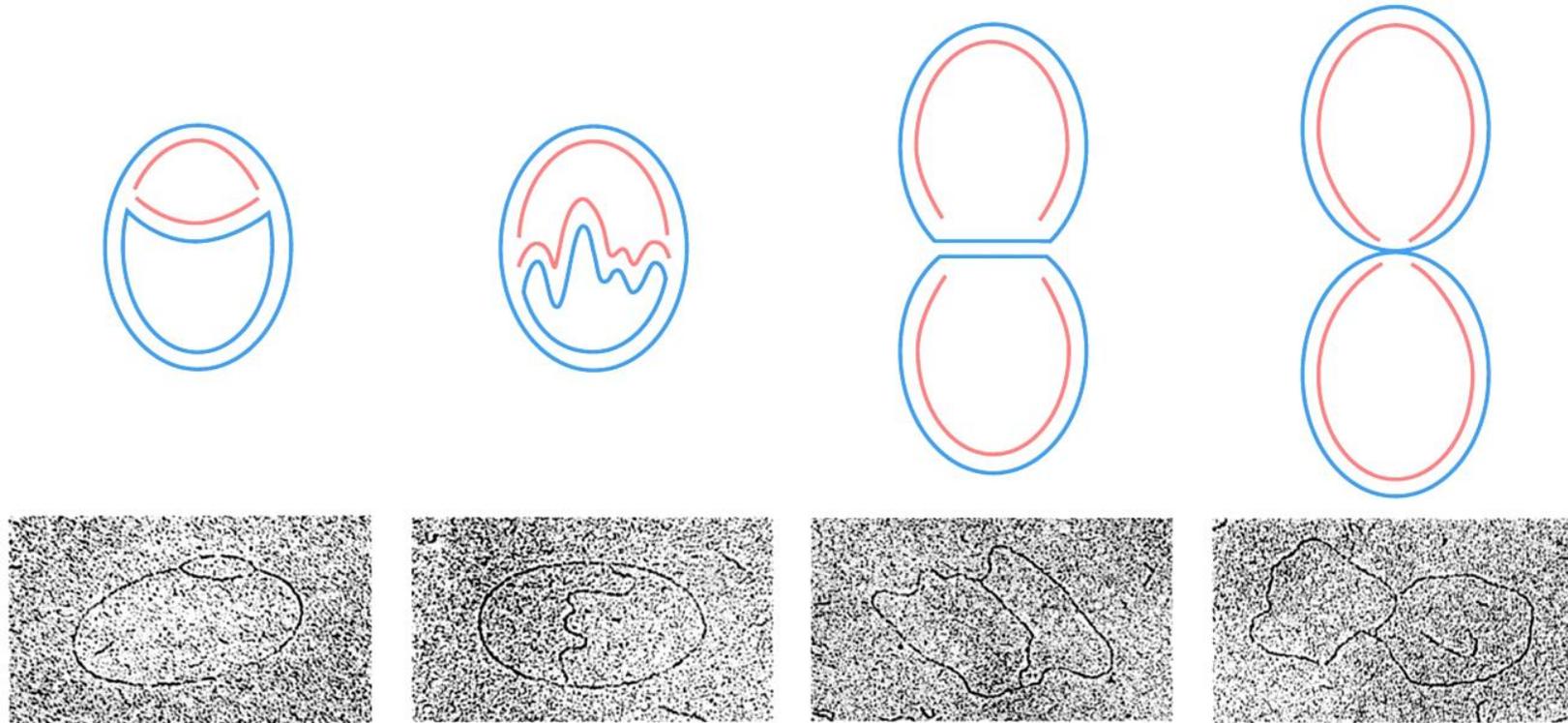
Meselson & Stahl 1958: replicação semiconservativa do DNA

Replicação de DNA

- A replicação do DNA é um mecanismo **semiconservativo**: a medida que as duas fitas complementares de uma dupla hélice parental se desenrolam e se separam, cada uma serve como um molde para a síntese de nova fita complementar
- Os potenciais de ligação das bases das fitas moldes especificam as sequências de bases complementares nas fitas de DNA nascentes
- A **replicação** é iniciada em **origens únicas** e em geral continua **bidirecionalmente** a partir de cada origem



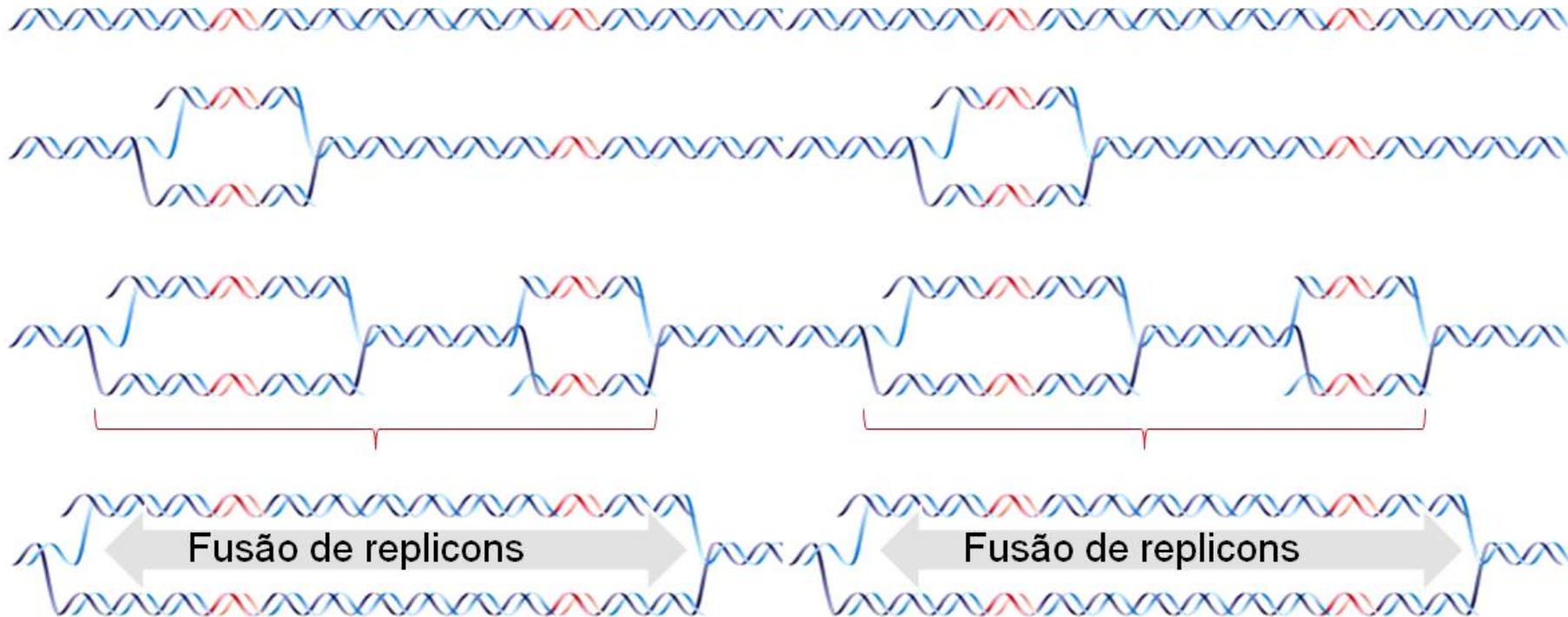
Replicação de Cromossomo Circular



A replicação é bidirecional

- A velocidade da **forquilha** de replicação de **procarioto** é cerca de 1.000 pb/ segundo
- 1 único replicon

Replicação de cromossomo linear de eucarioto



- A velocidade da forquilha de replicação de **eucarioto** é cerca de 100 pb/ segundo
- Os **replicons** de eucariotos têm cerca de 40-100 kb e são iniciados em tempos diferentes. (não conhecemos 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)

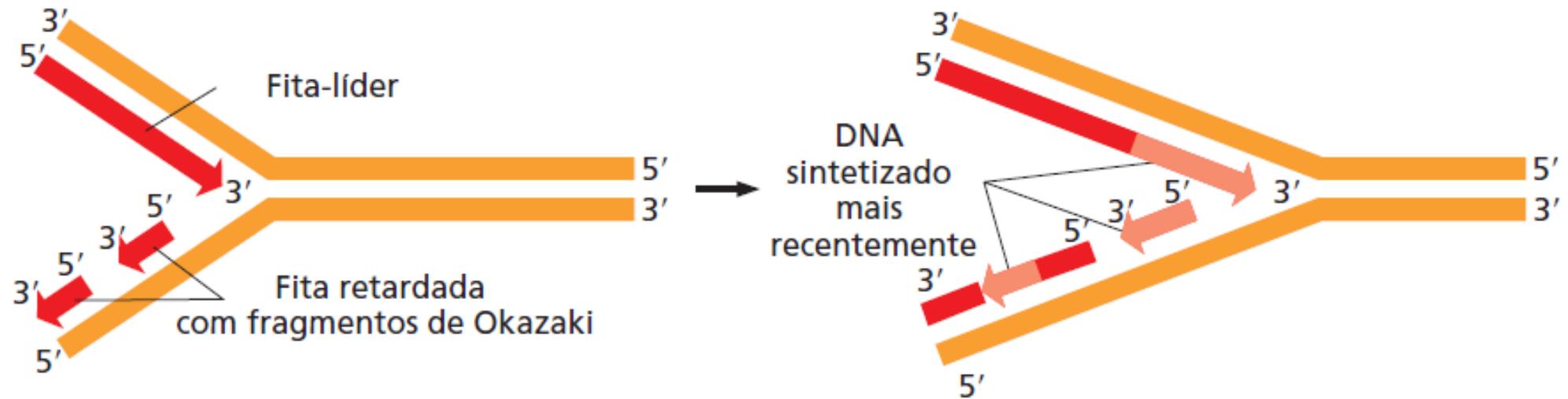
Principais Enzimas Envolvidas na Replicação

1. **DNA Polimerases** – síntese de DNA
2. **Helicases** – abrem a fita dupla
3. **Topoisomerases (girases)** – liberam tensão da fita
4. **Primases** – síntese de iniciadores
5. **Telomerasas** – síntese das terminações

Replicação de 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?**

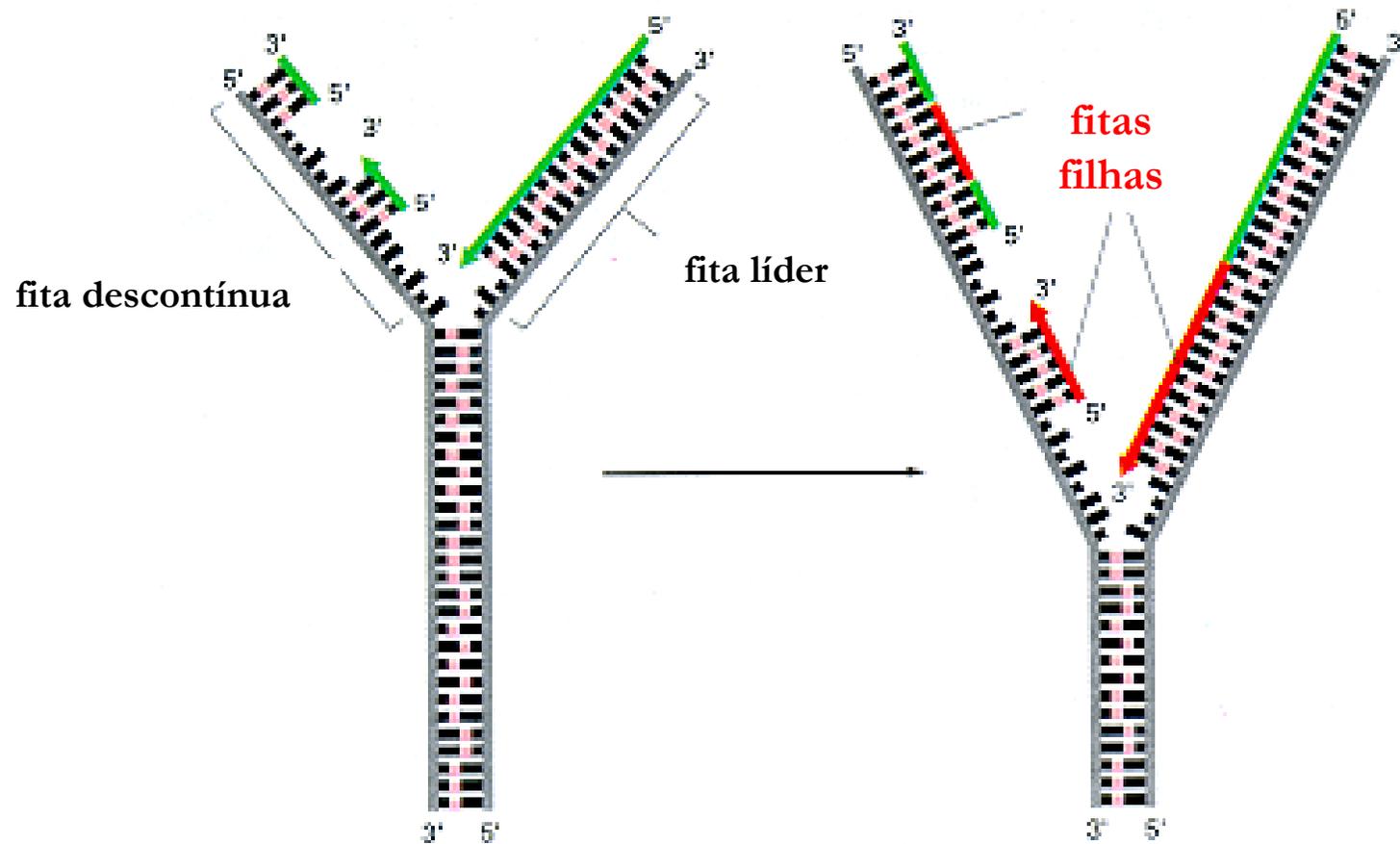
Forquilha de duplicação de DNA

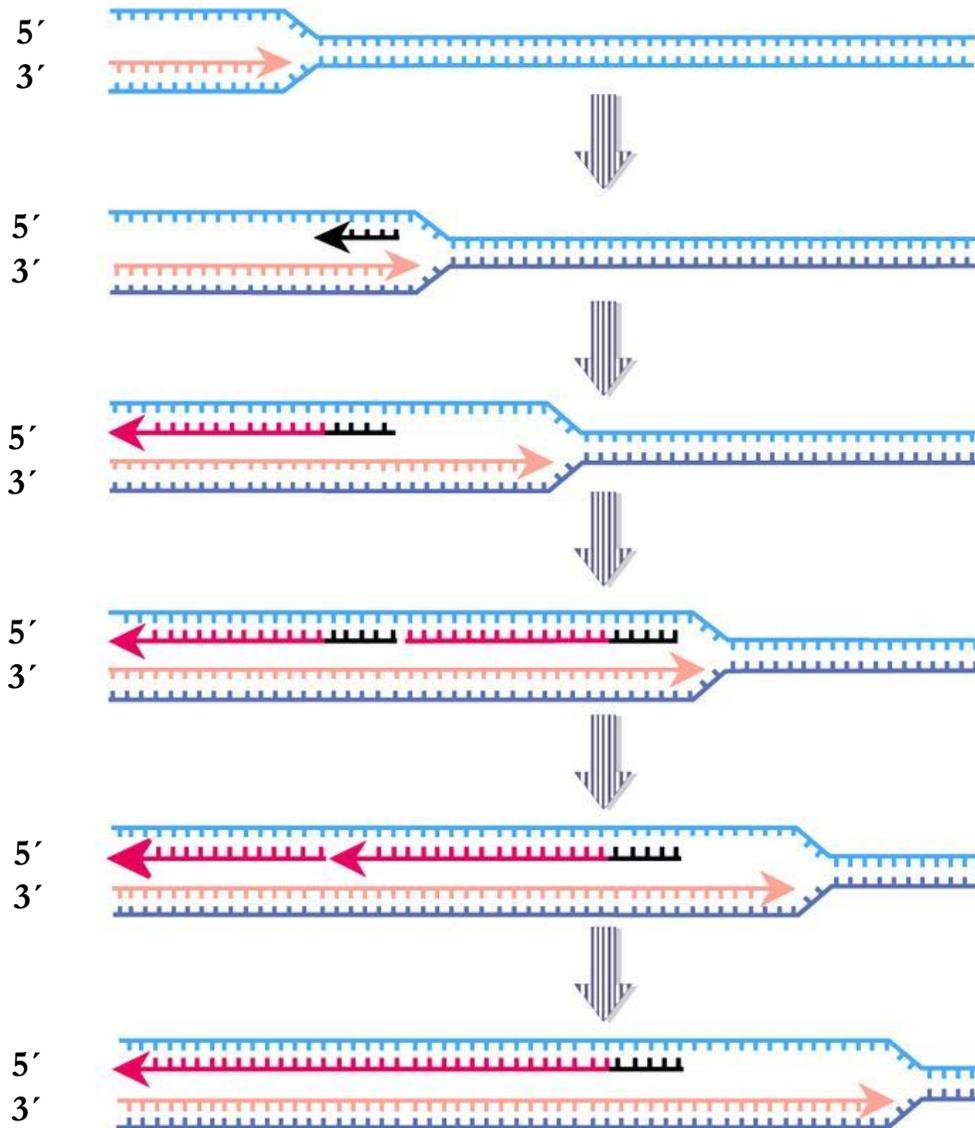


Pontos importantes sobre as DNA Polimerases

- 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

Forquilha de duplicação de DNA





● Fragmentos de Okasaki ocorrem na fita descontínua

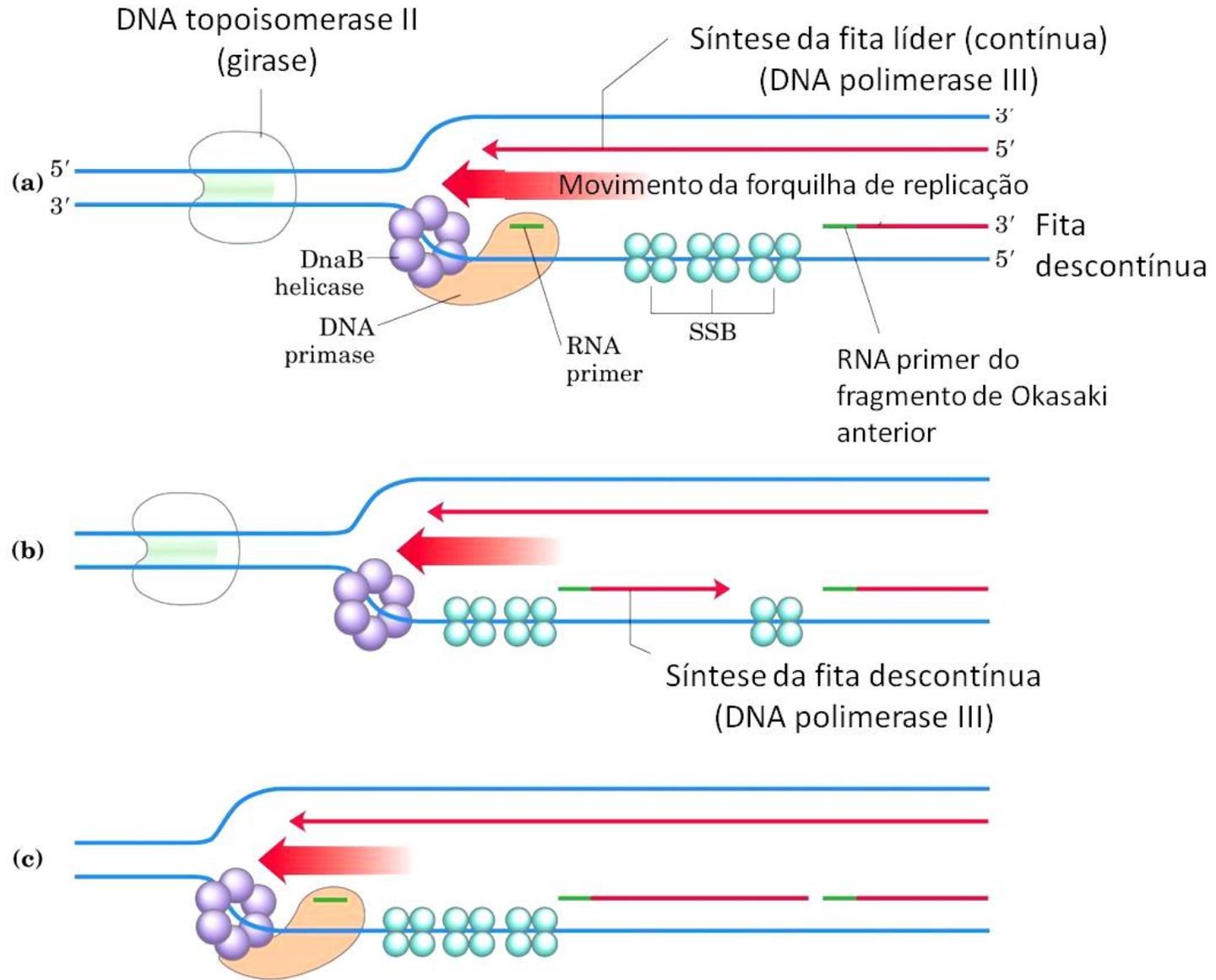
● A DNA polimerase III é responsável pela síntese da maior parte do DNA

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

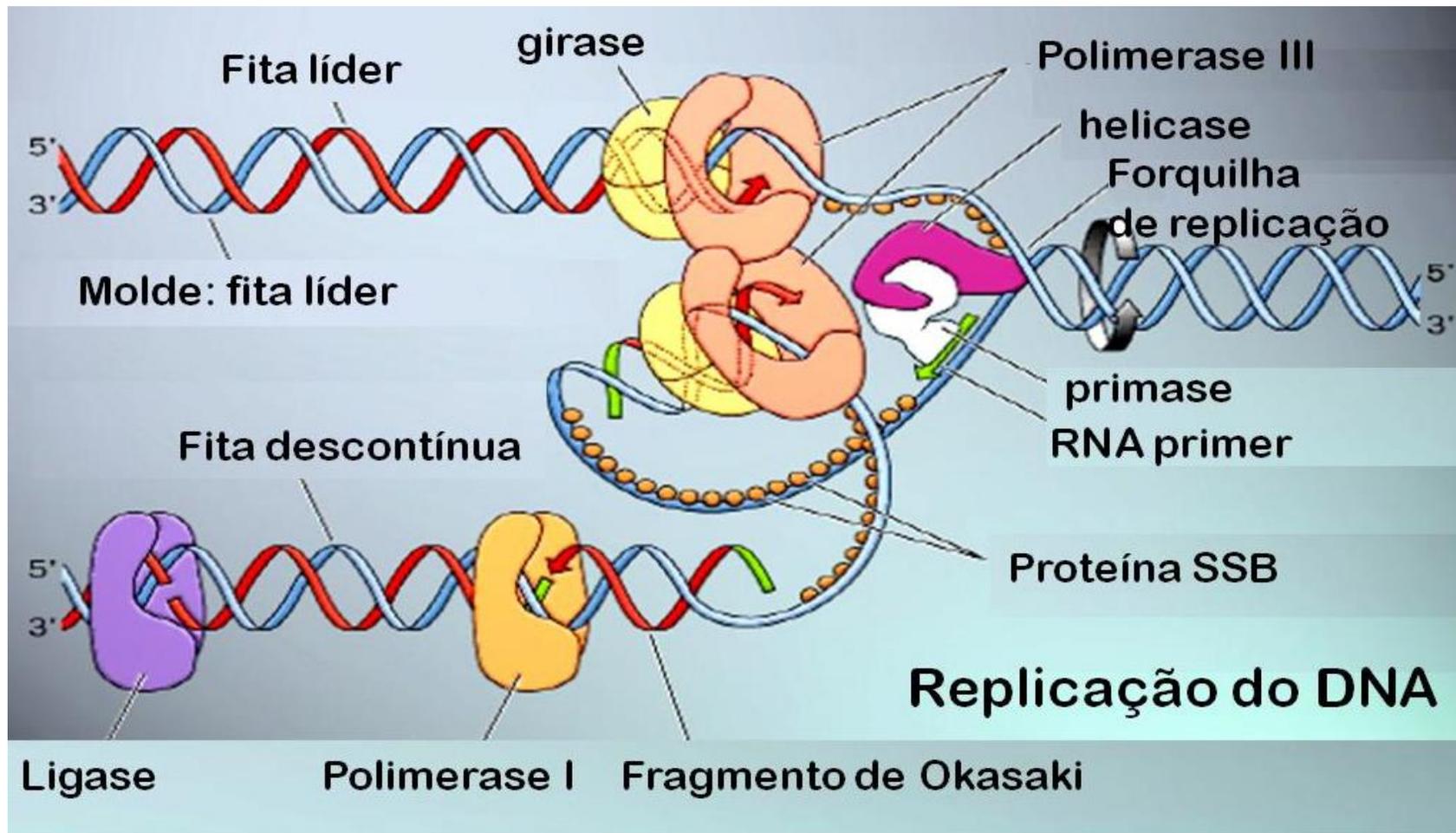
● A DNA ligase sela as quebras

Proteínas presentes na origem de replicação

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



Síntese das fitas contínua e descontínua é independente



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

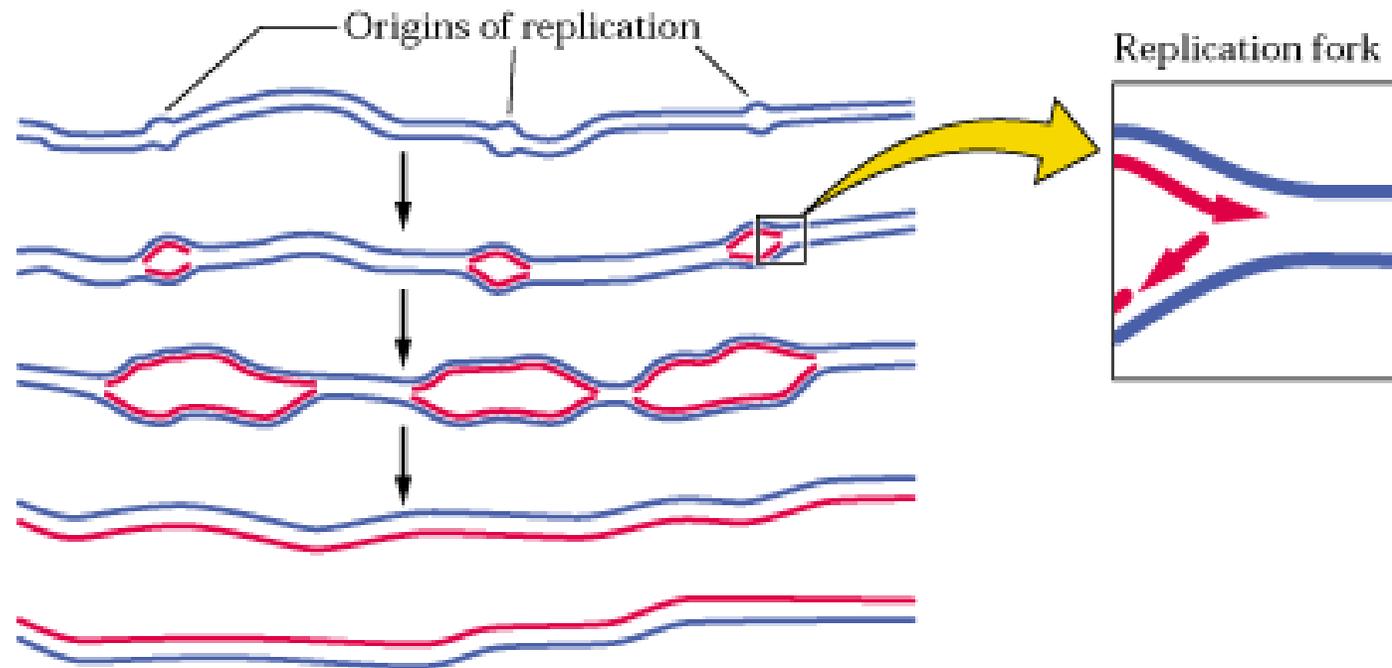
<https://www.dnalc.org/resources/3d/04-mechanism-of-replication-advanced.html>

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**

Origem de replicação em Eucariotos



Replicação das Pontas dos Cromossomos

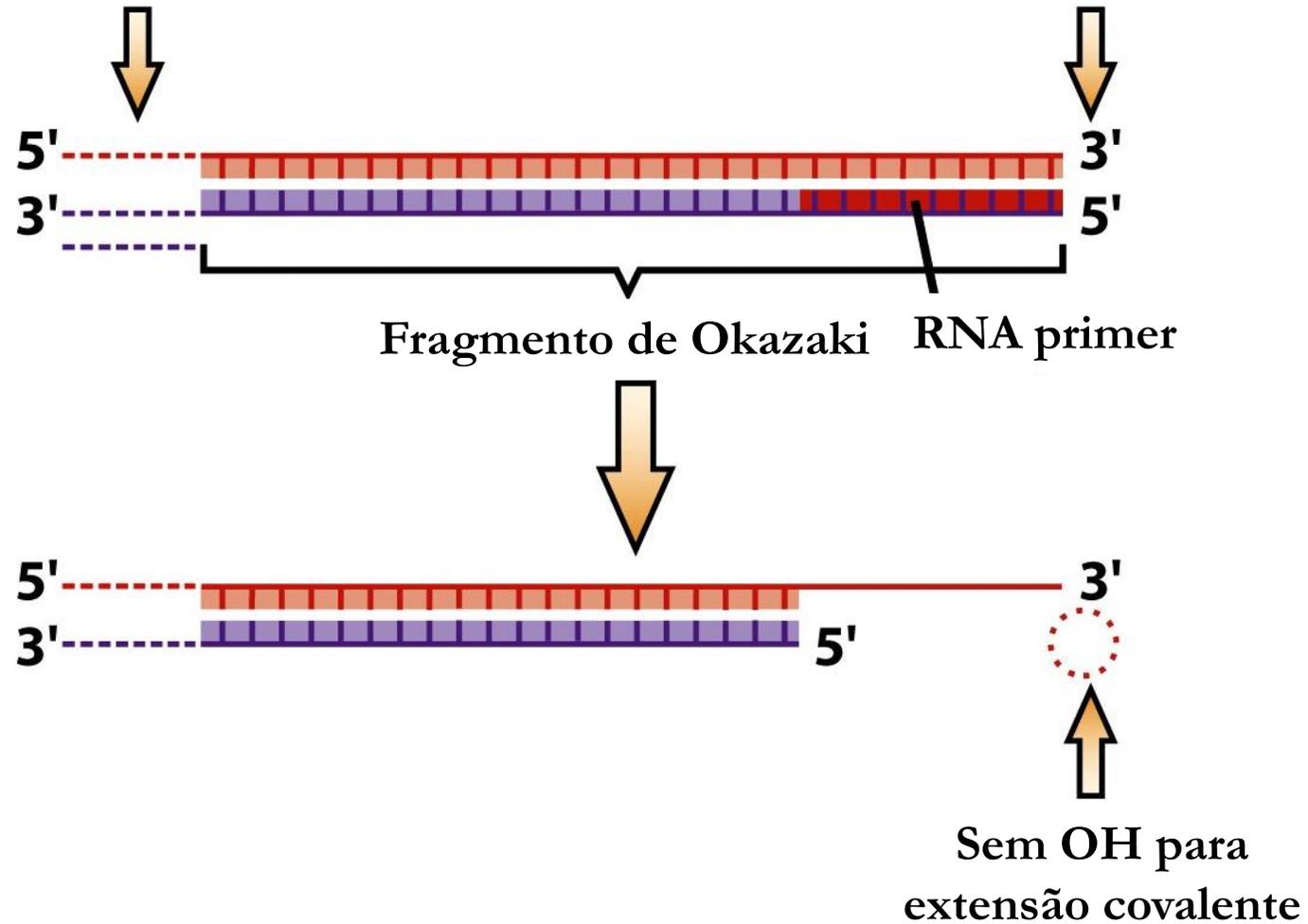
- DNA polimerase **não** pode replicar o segmento terminal do DNA do filamento descontínuo de um cromossomo linear
- TELÔMERO: tem uma estrutura única que favorece um mecanismo simples para a adição de telômeros feita pela enzima **Telomerase** contendo RNA

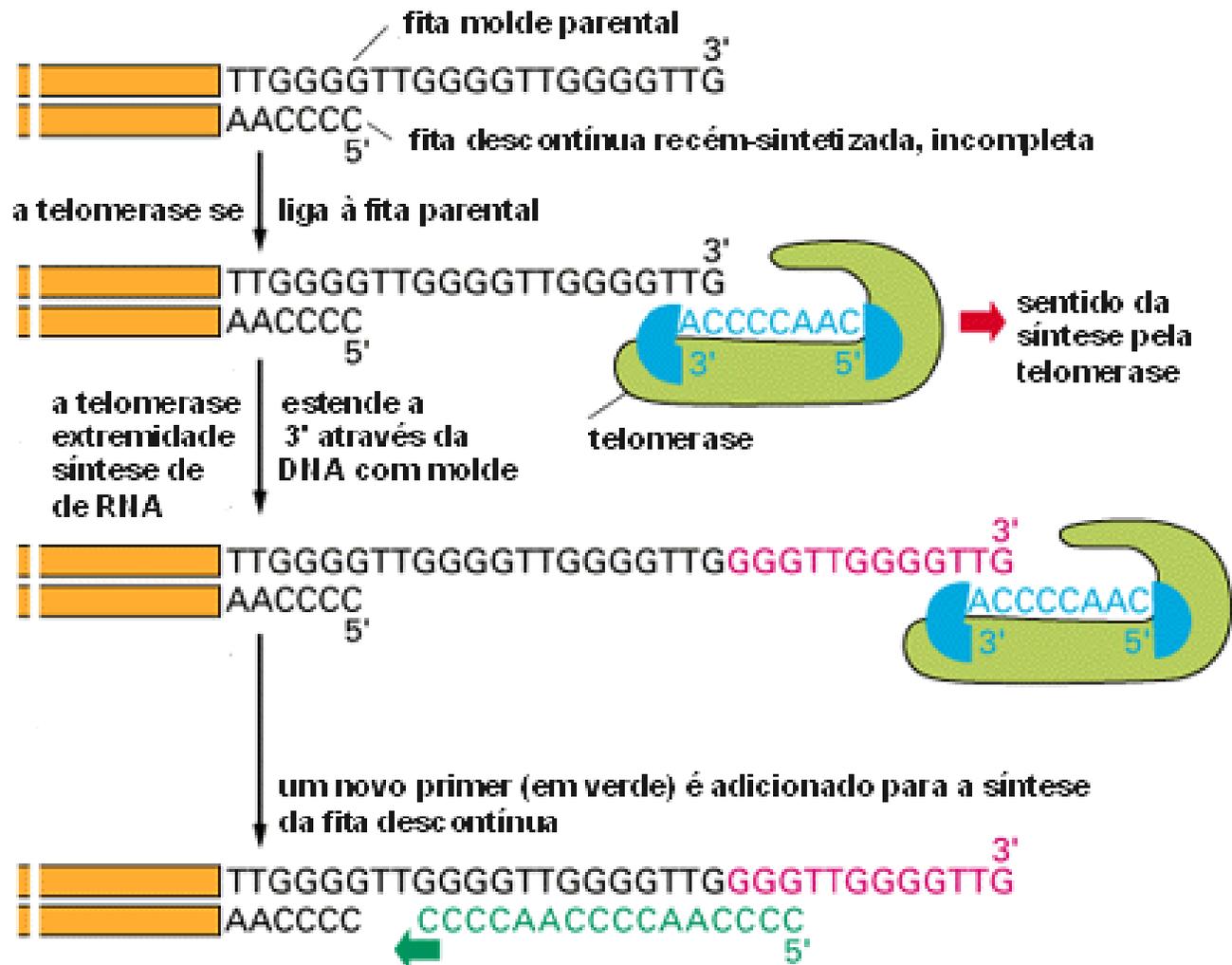
Repetições dos telômeros de humanos

TTAGGG

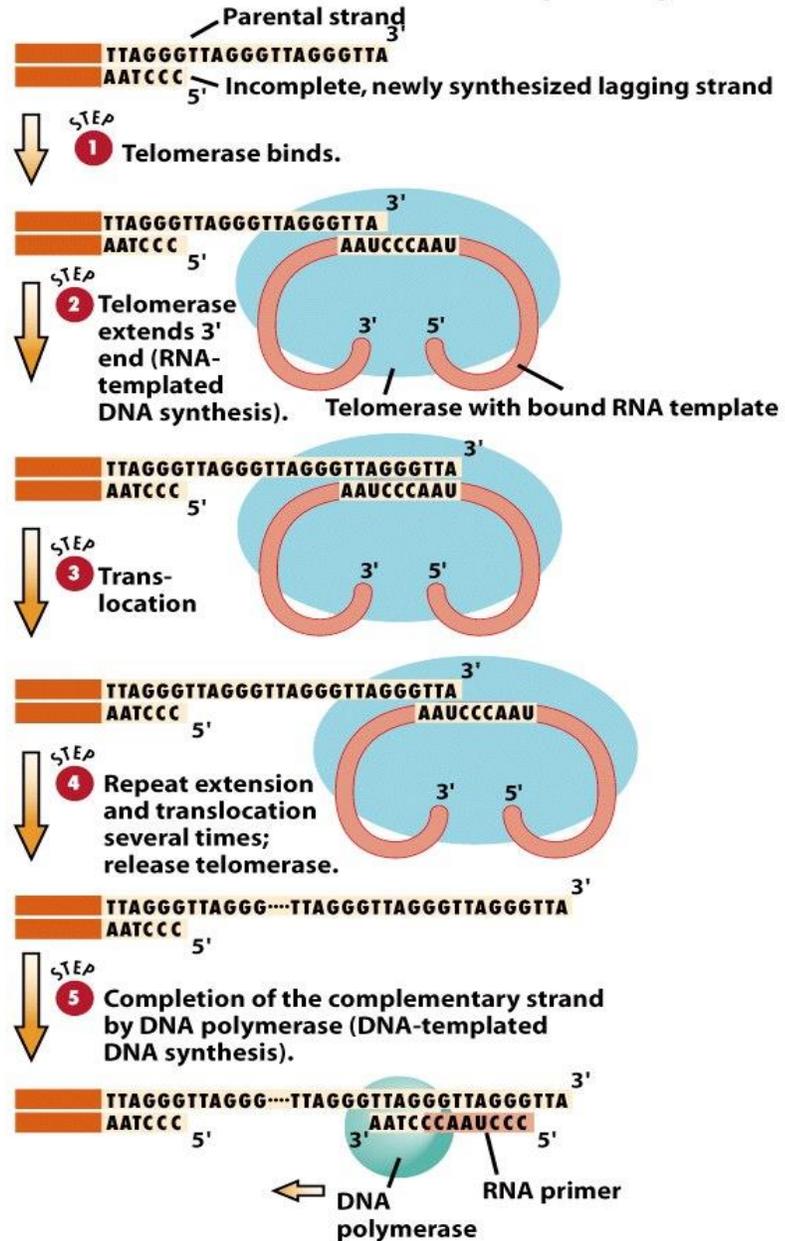
Próximo ao centrômero

Fim do cromossomo





Telomerase resolves the terminal primer problem.



Elizabeth Blackburn
 Nobel 2009
 Carol Greider

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

Estudo Dirigido

1. Processo de replicação
2. Enzimas envolvidas na replicação de DNA
3. Telomerase

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

