

Replicação de DNA

QBQ 204 – Aula 2 (biomol)

Prof. João Carlos Setubal



Universidade de São Paulo
Instituto de Química

Site da disciplina

<http://www.iq.usp.br/setubal/qbq204/2016>

Trabalho para entrega

- Grupos de 6 alunos
- Temas: processos bioquímicos relacionados à odontologia
- Data de entrega: ?
- Modelo de trabalho: ?
- Critérios de avaliação: ?
 - Respostas nas próximas aulas e/ou no TIDIA
- Monitores poderão ajudar

Uma lei da natureza

- Os seres vivos **não são imortais**
- A vida tem um final, que chamamos de **morte**
- Então, para que “a vida continue”, seres vivos tem que se **reproduzir**

Vida significa basicamente duas coisas

1. Uma entidade que “vive”

Está por aí fazendo alguma coisa e não inerte como uma pedra

2. Uma entidade que se reproduz

É capaz de, sozinha ou com parceiros, produzir cópias de si mesma

Problema resolvido pela mãe natureza

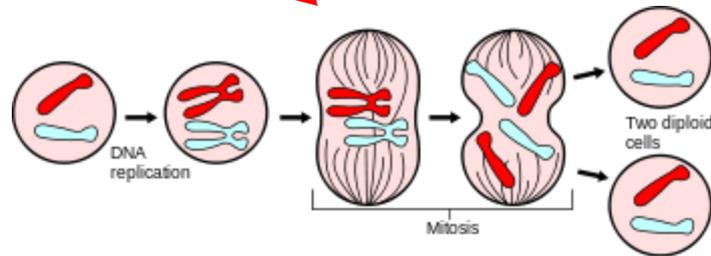
- Uma **substância** que permite que os seres vivos
 - Vivam
 - Se reproduzam
- **A mesma** substância desempenha **os dois papéis**
- Que substância é essa?
- DNA

Como DNA permite...

- A atividade da vida?
- A reprodução da vida?
- Hoje vamos ver a parte da **reprodução**

Níveis da reprodução

- Macroscópico →
- Celular
- Molecular



Replicação do DNA

Como o DNA consegue se
reproduzir?

Graças à **duplicidade** da hélice e à
complementaridade das bases

Dada uma fita, consigo saber a
outra

Replicação de DNA

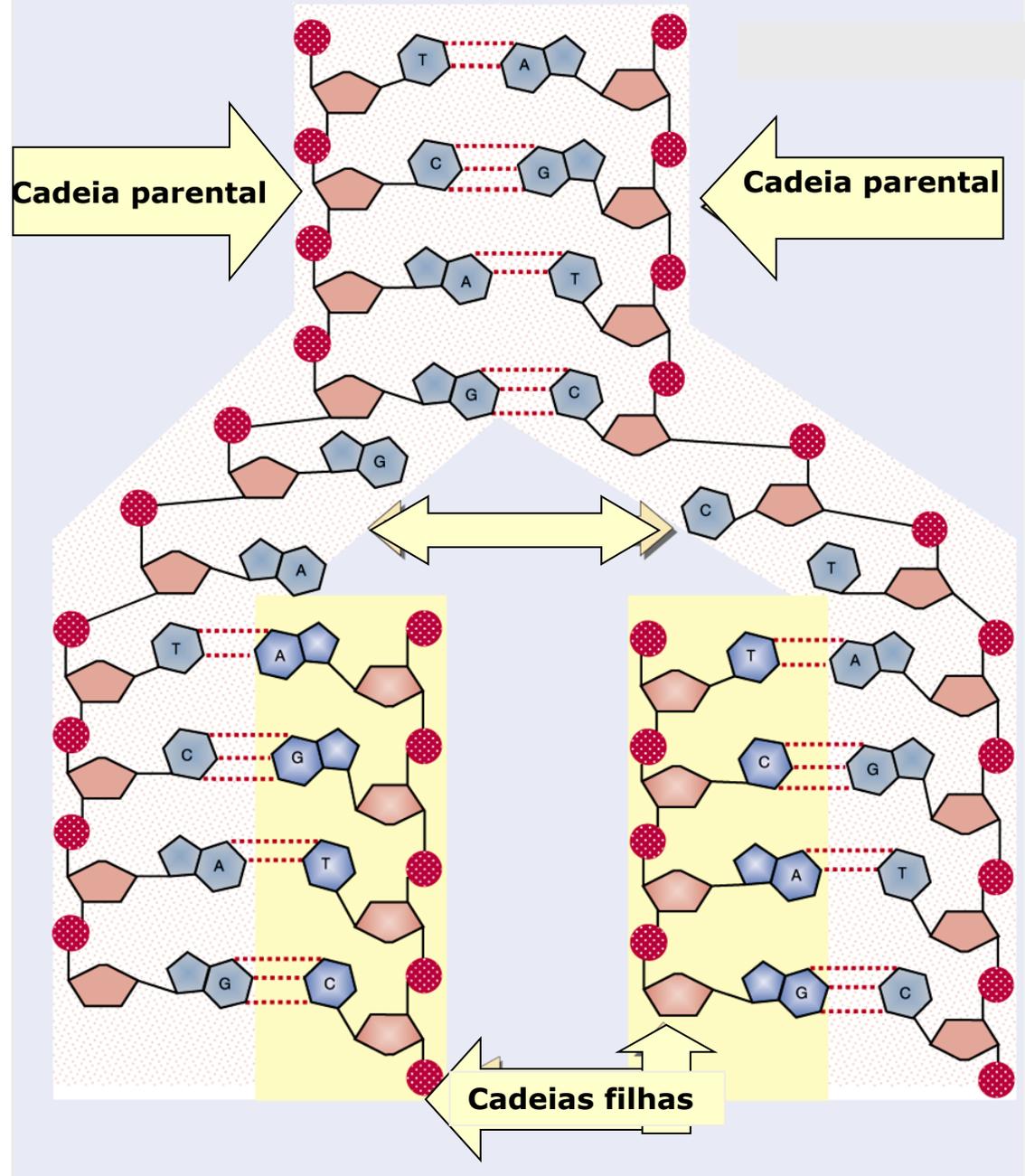
- Informacionalmente é **simples!**
 - De **uma** molécula resultam **duas**
- Mas mecanicamente (ou molecularmente) é um processo **complicado**
 - Há diversas enzimas participantes

Filme

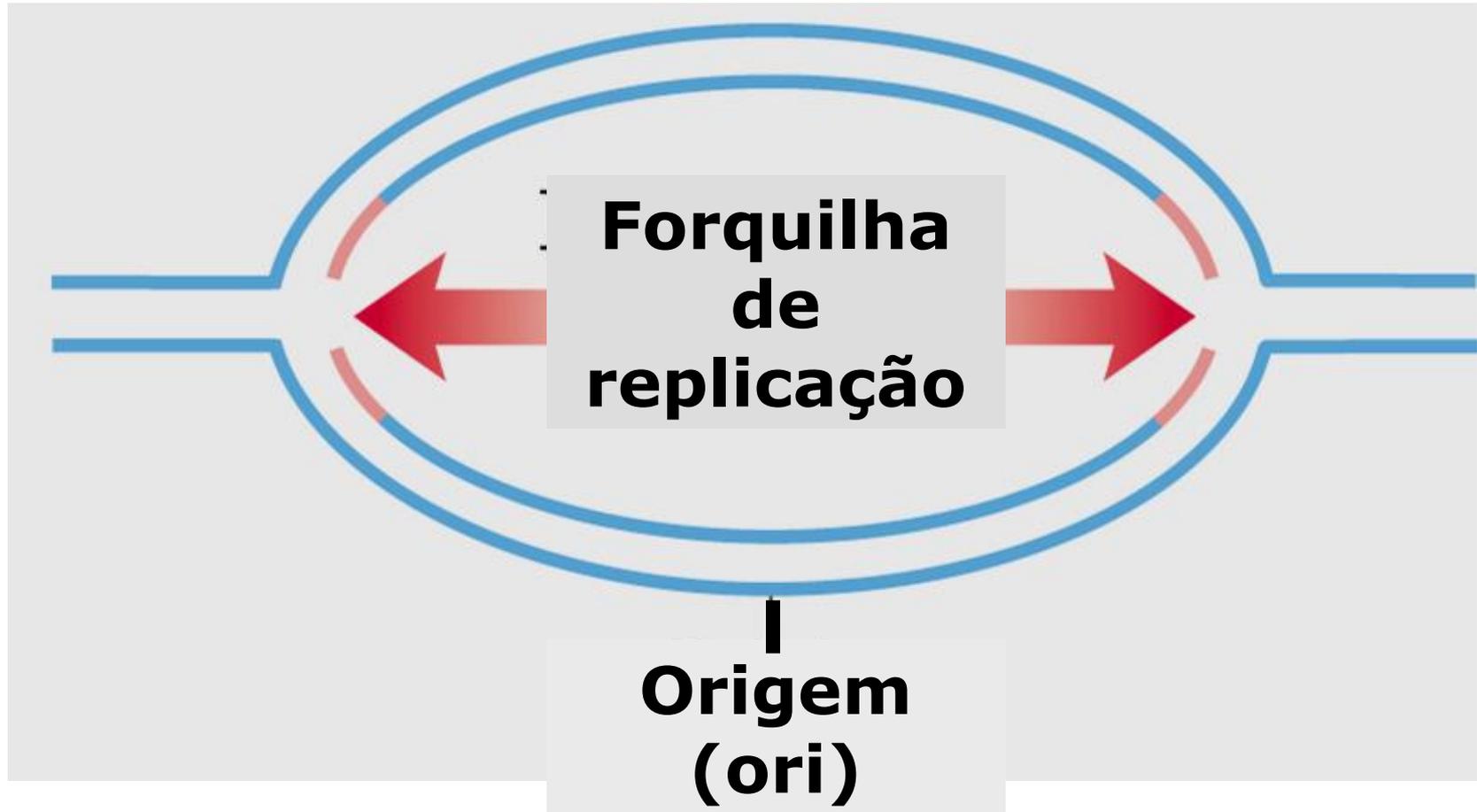
Replicação do DNA

O mecanismo de replicação está baseado no pareamento das bases da dupla hélice do DNA.

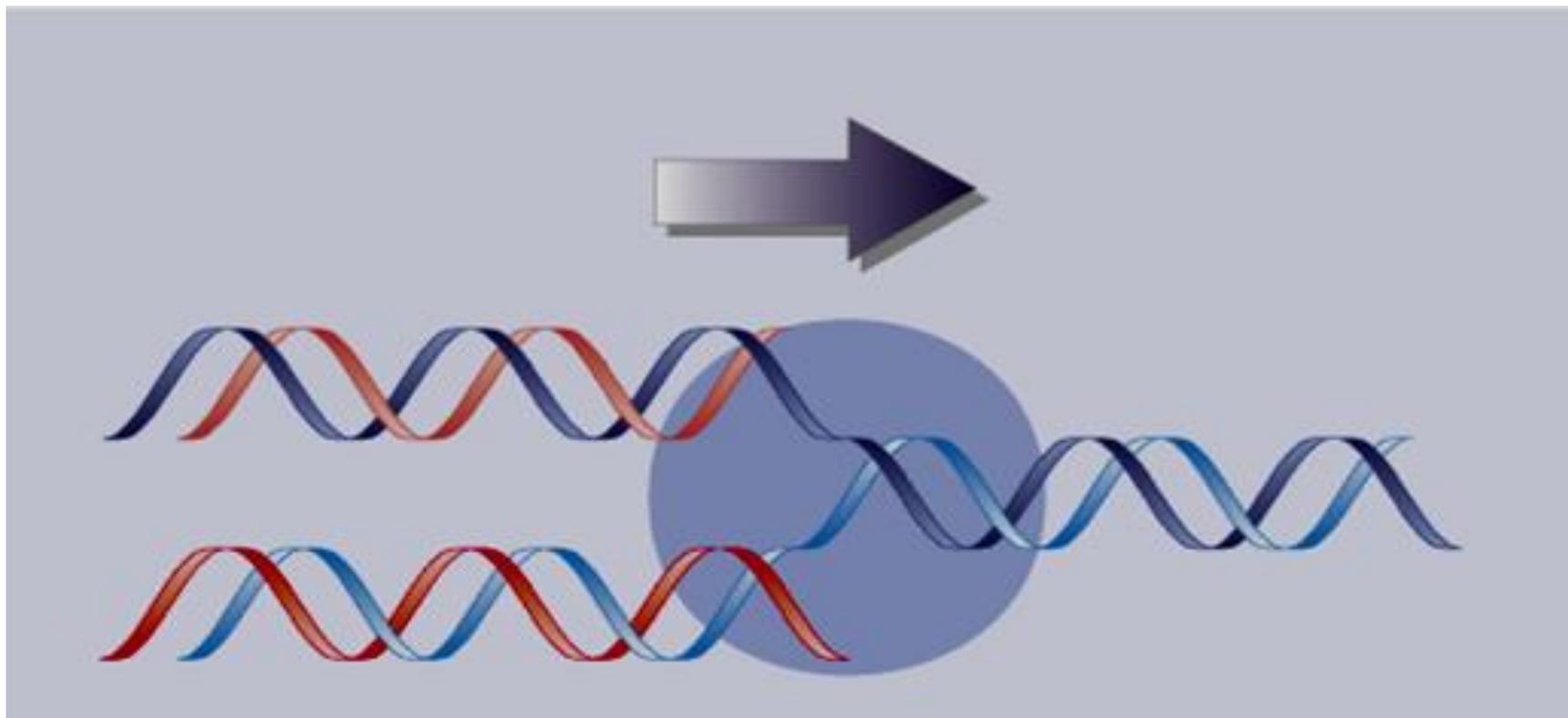
A estrutura do DNA contém a informação necessária para perpetuar sua sequência de bases



A replicação é bidirecional



Forquilha de replicação: Região do DNA onde ocorre a transição do DNA parental fita dupla para as novas fitas duplas filhas



Quem é o agente principal?

DNA polimerase

Polimerases de DNA: As enzimas que sintetizam DNA

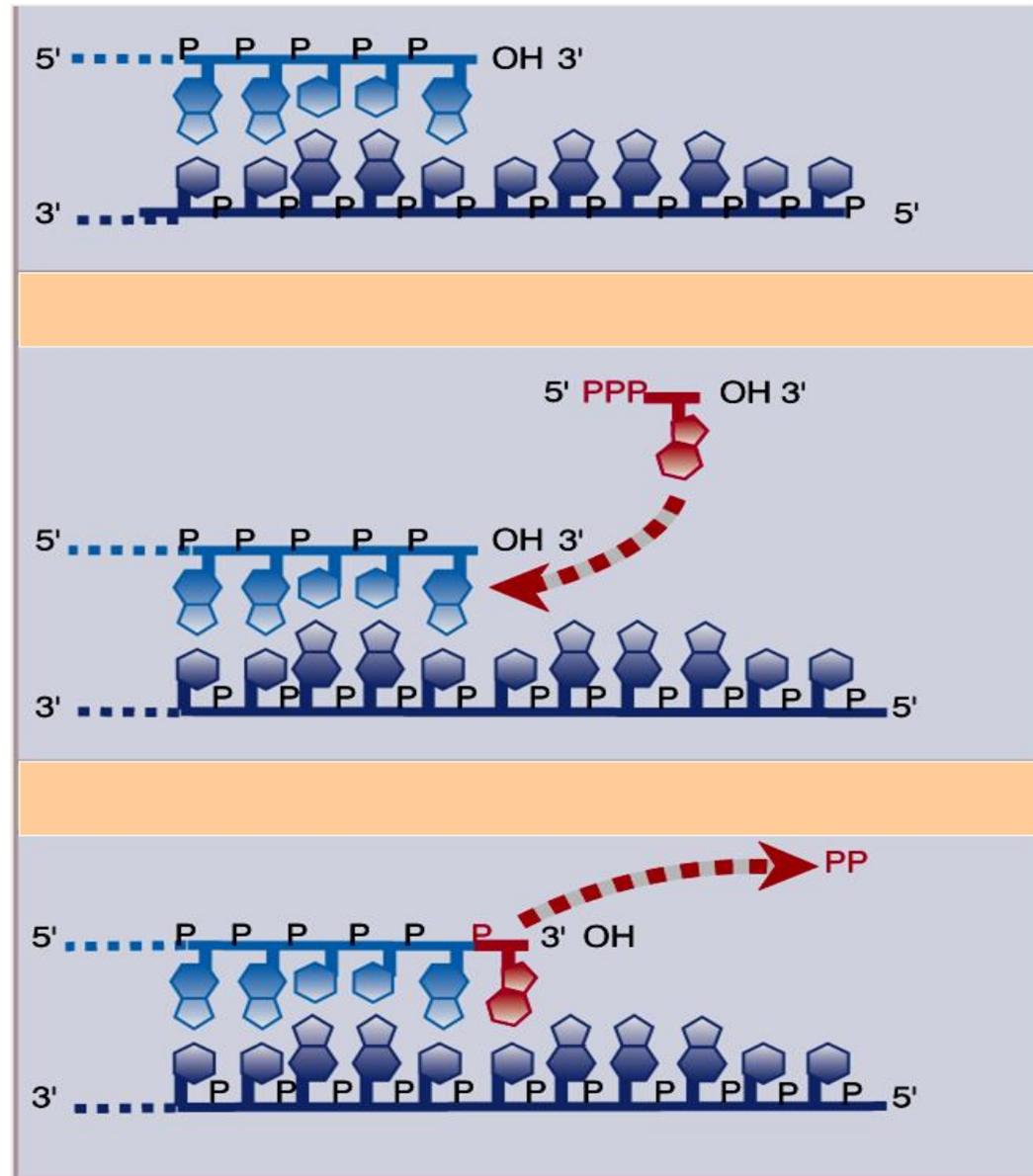
- A síntese de DNA ocorre pela adição de nucleotídeos a extremidade 3'OH da cadeia em crescimento.

- A DNA polimerase requer um *primer* (iniciador) e um molde

- O precursor da síntese é desoxirribonucleosídeo 5' trifosfato

- Sentido da síntese sempre é 5' → 3'

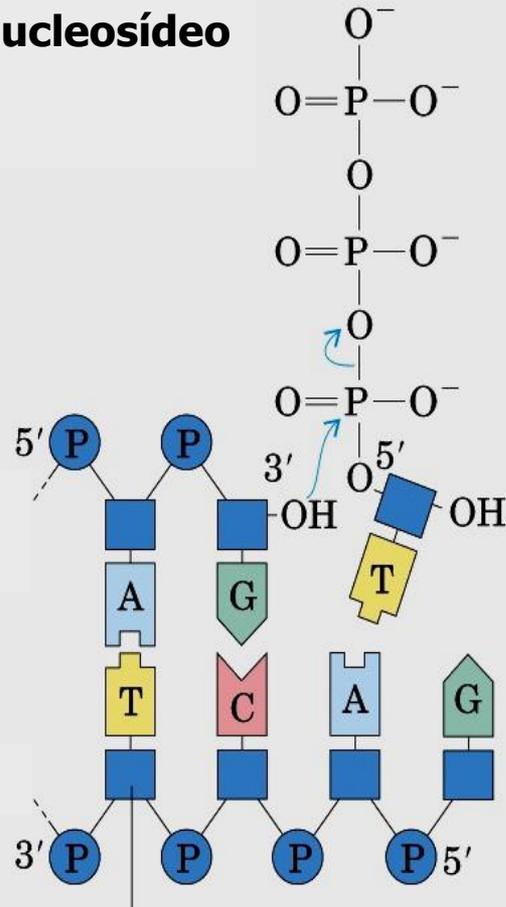
- A replicação é um processo extremamente fiel. As DNA-polimerases tem atividade revisora



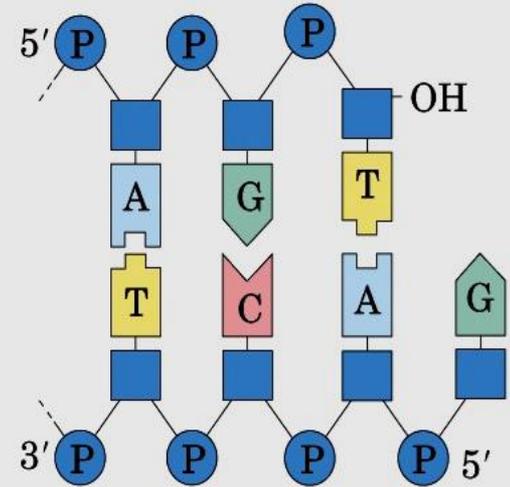
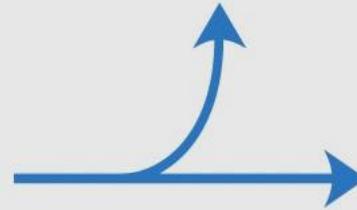
**Desoxiribonucleosídeo
5' trifosfato
(precursor)**

**Fita sendo
polimerizada**

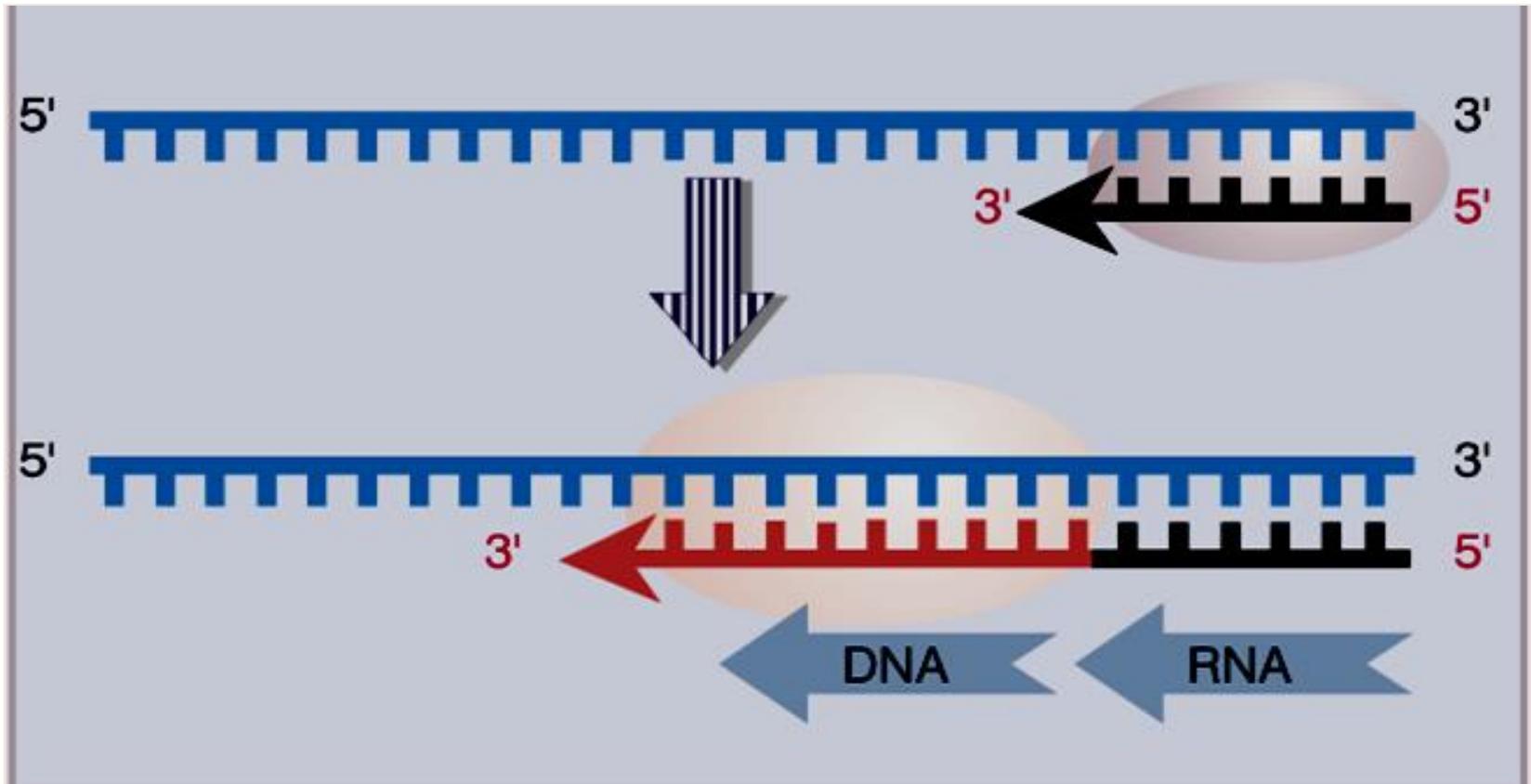
Fita molde



Desoxirribose

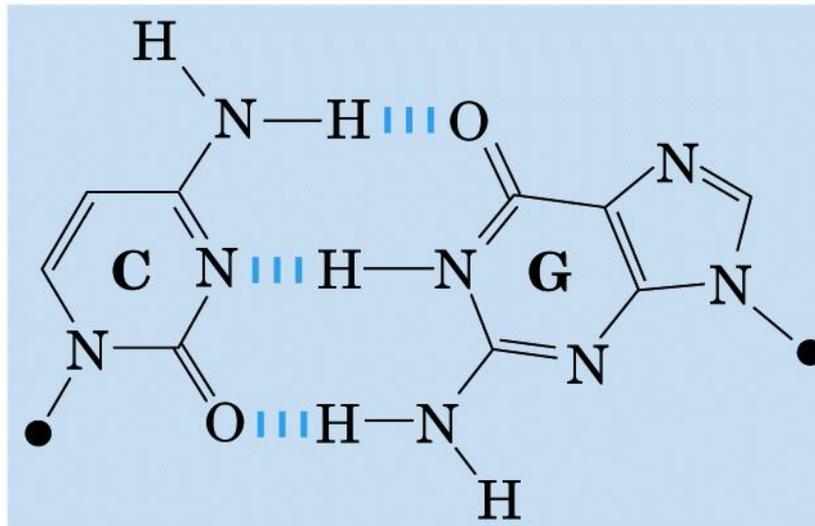
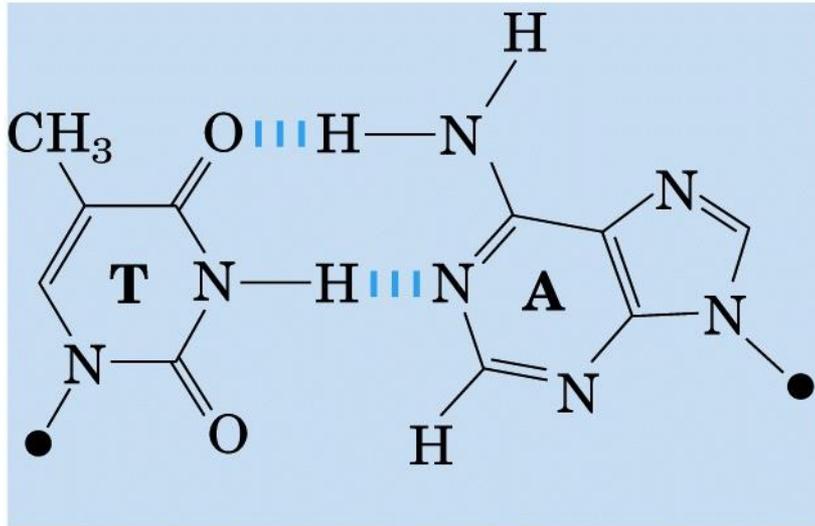


As DNA-polimerases sempre requerem um iniciador ou *primer* (segmento de DNA ou RNA) previamente pareado ao molde que será copiado

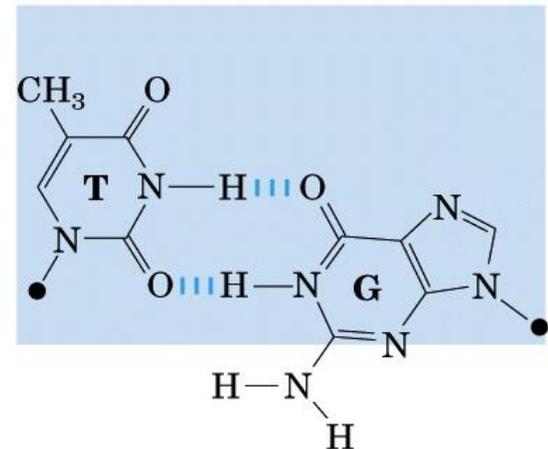
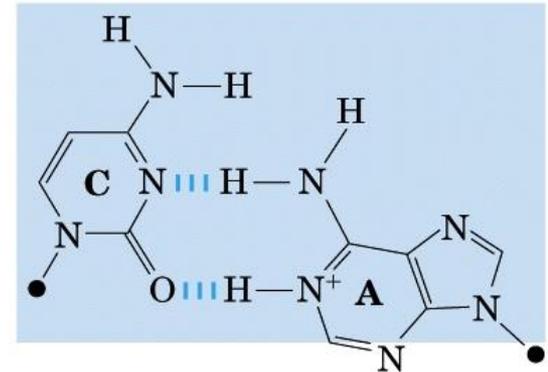
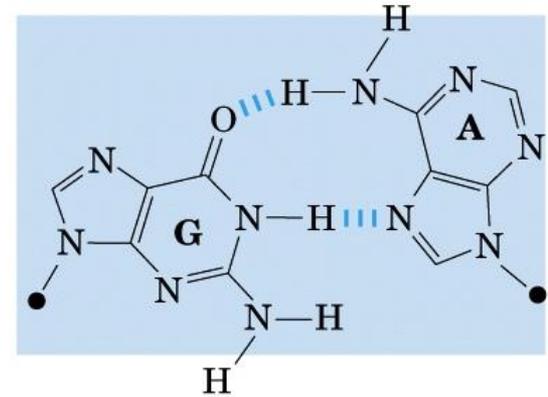


Pareamento de bases

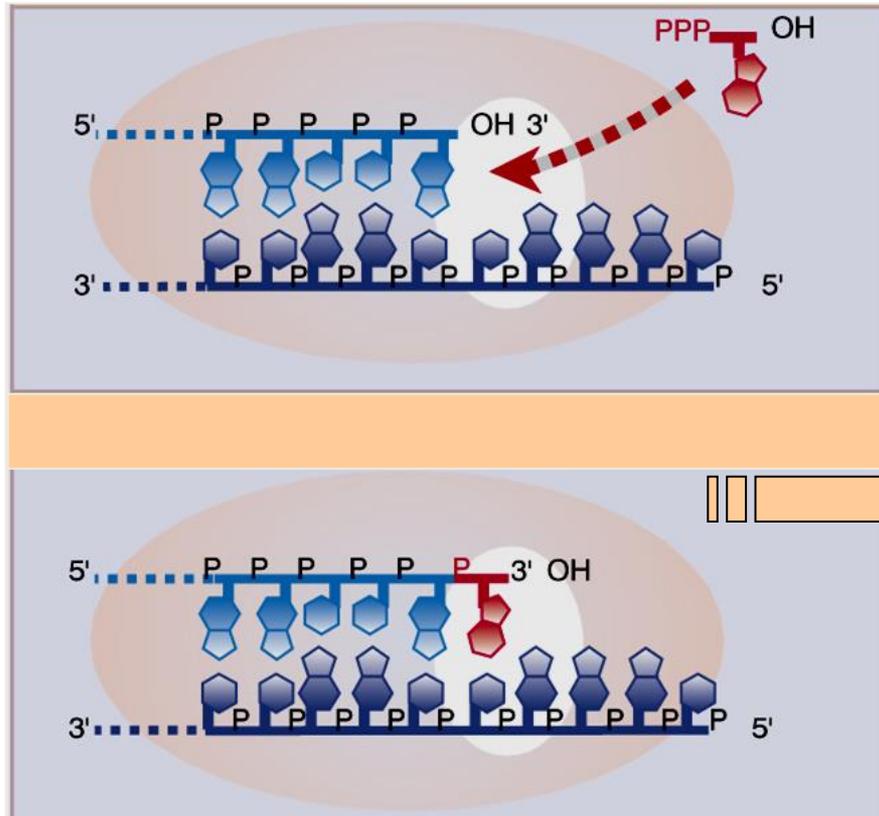
correto



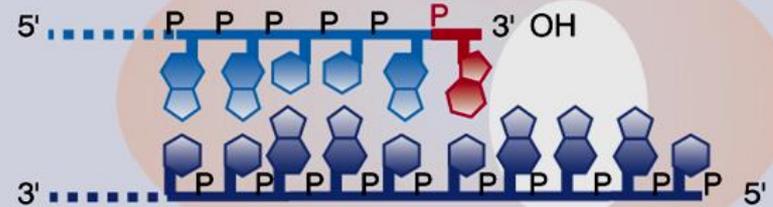
incorreto



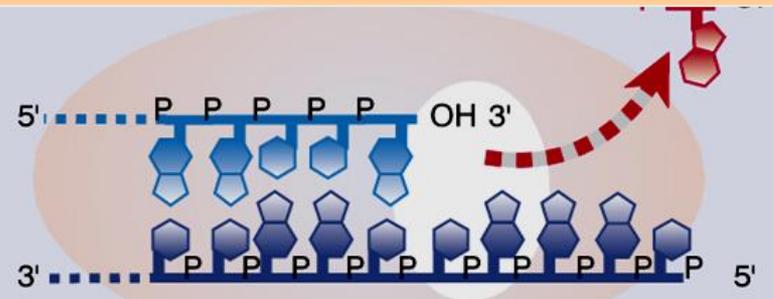
Atividade revisora do sítio de exonuclease 3' → 5' presente nas DNA polimerases garante a fidelidade da replicação



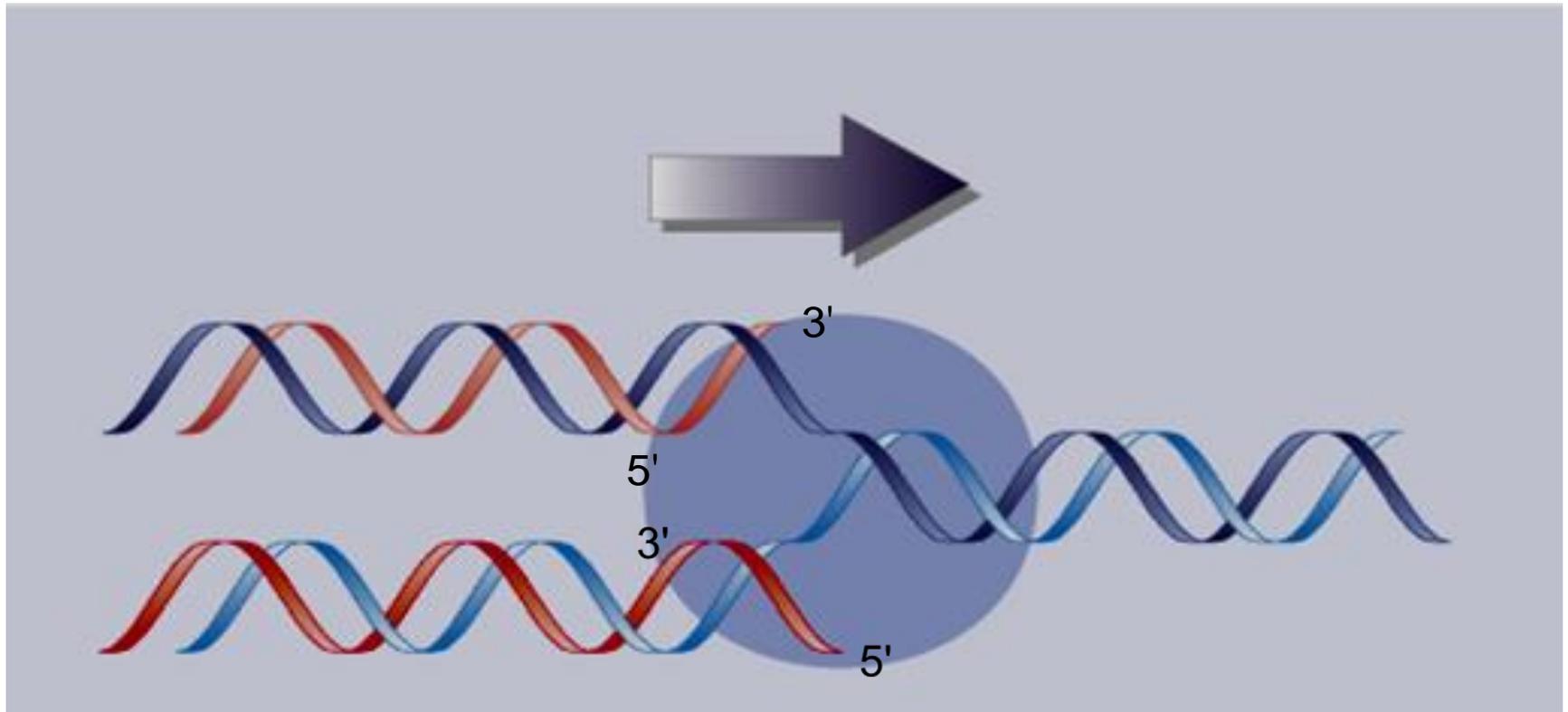
A enzima avança 1 nucleotídeo

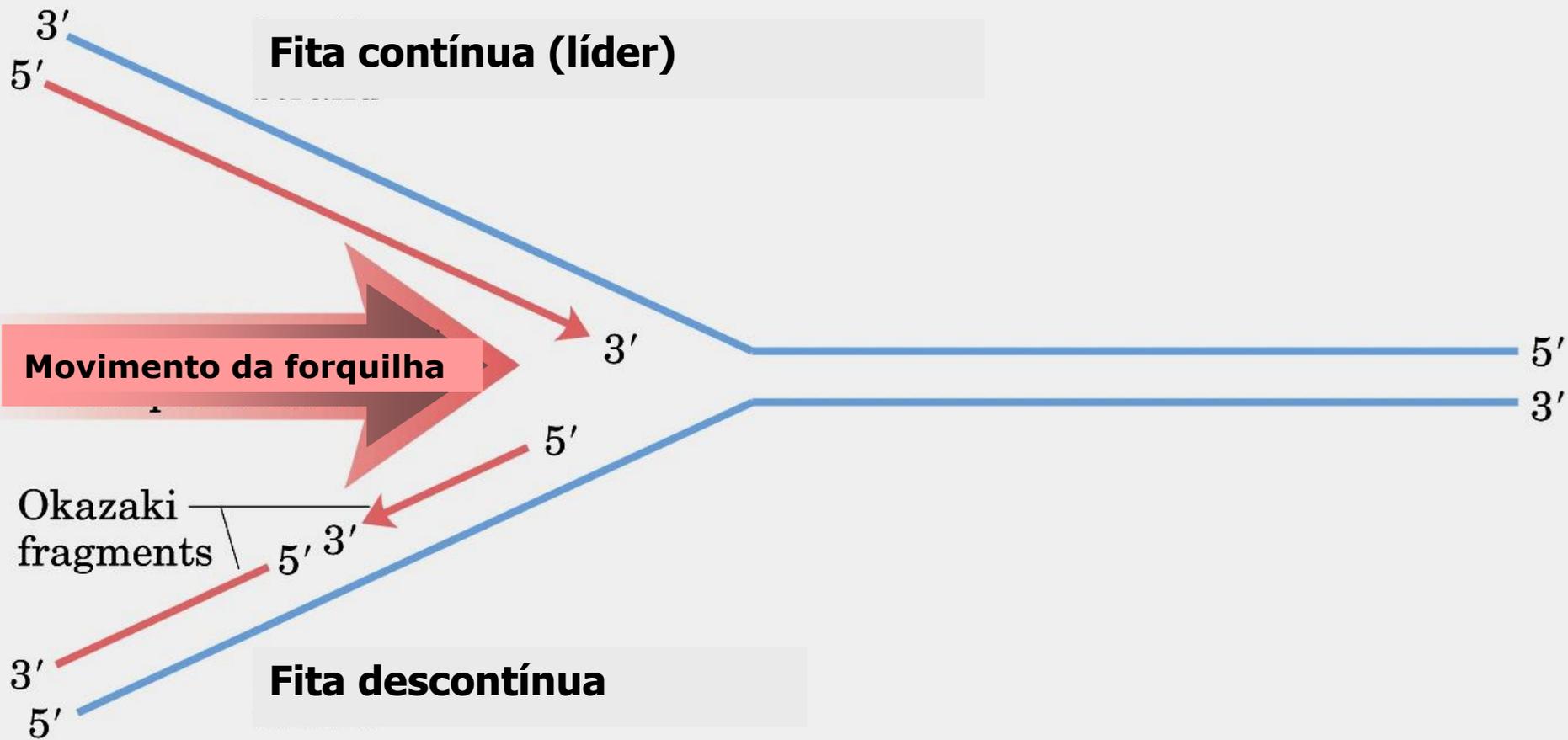


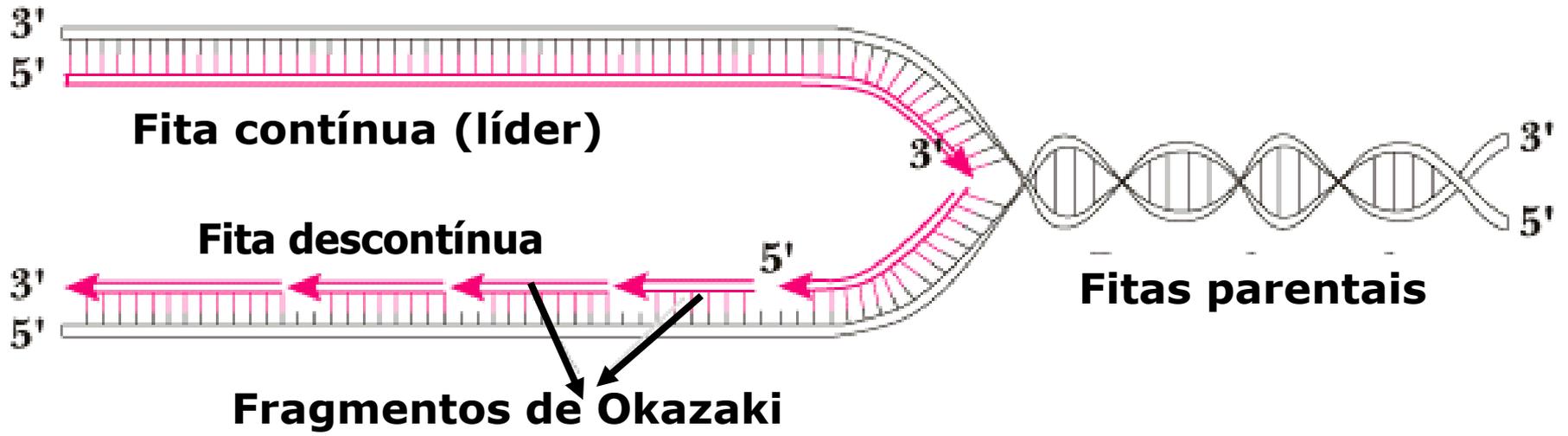
Pareamento incorreto causa remoção do nucleotídeo



A replicação numa das fitas apresenta um “problema”



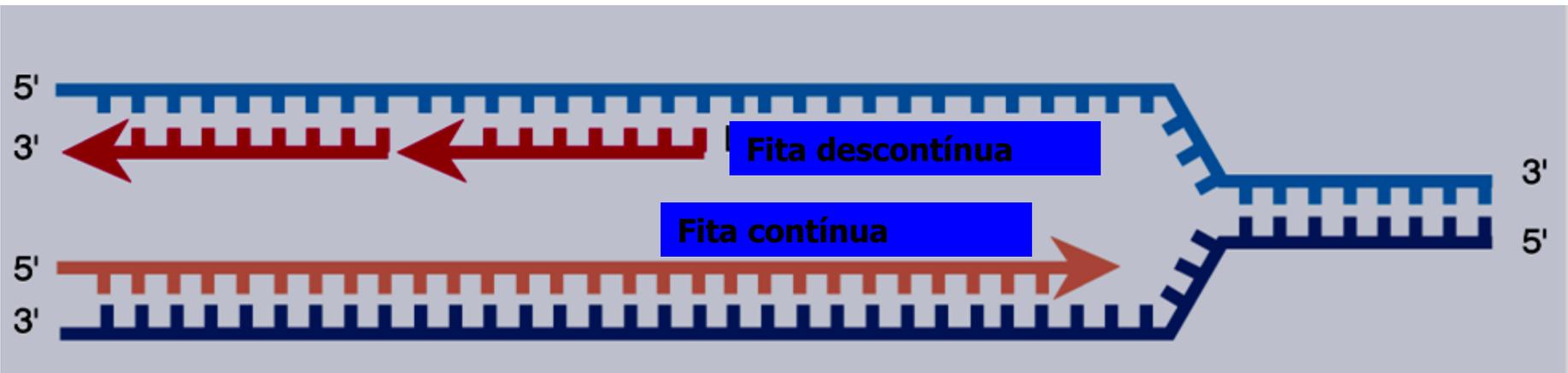




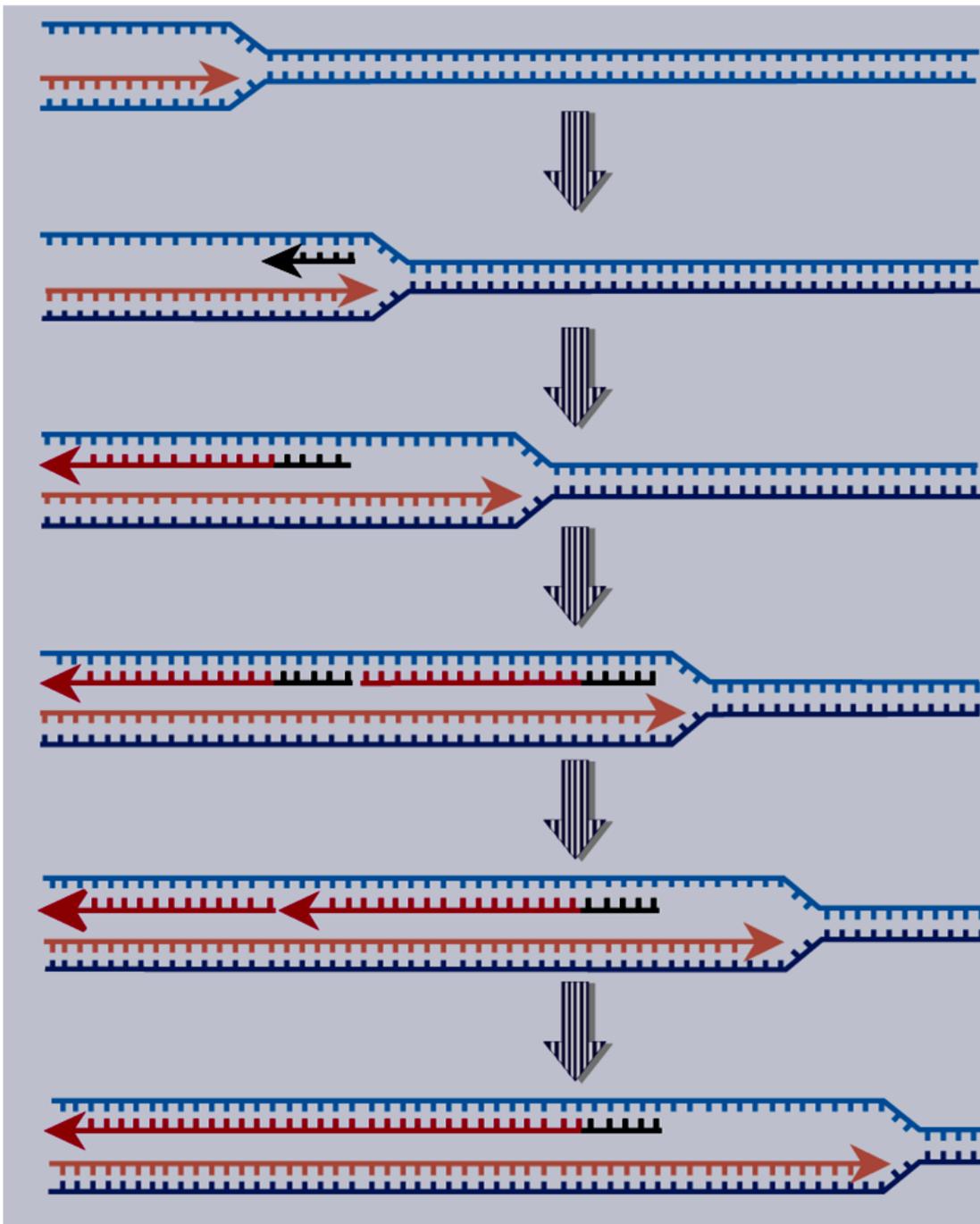
**Movimento da
Forquilha de
Replicação**

A síntese do DNA é semi-descontínua e requer vários iniciadores (primers) de RNA para síntese da fita descontínua

Síntese da Fita descontínua



Síntese da Fita Contínua



- 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

Primer de RNA

Síntese da Fita descontínua



rNMPs
dNTPs

DNA polymerase I

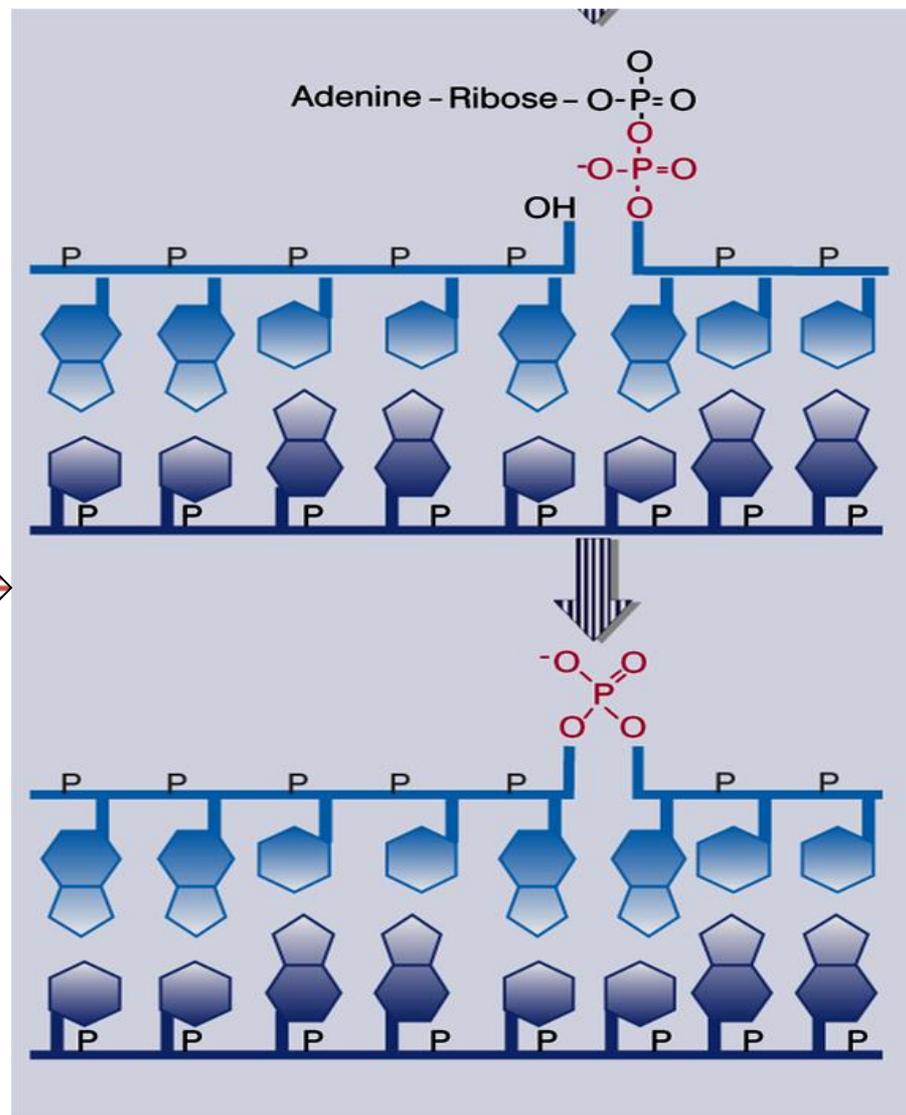
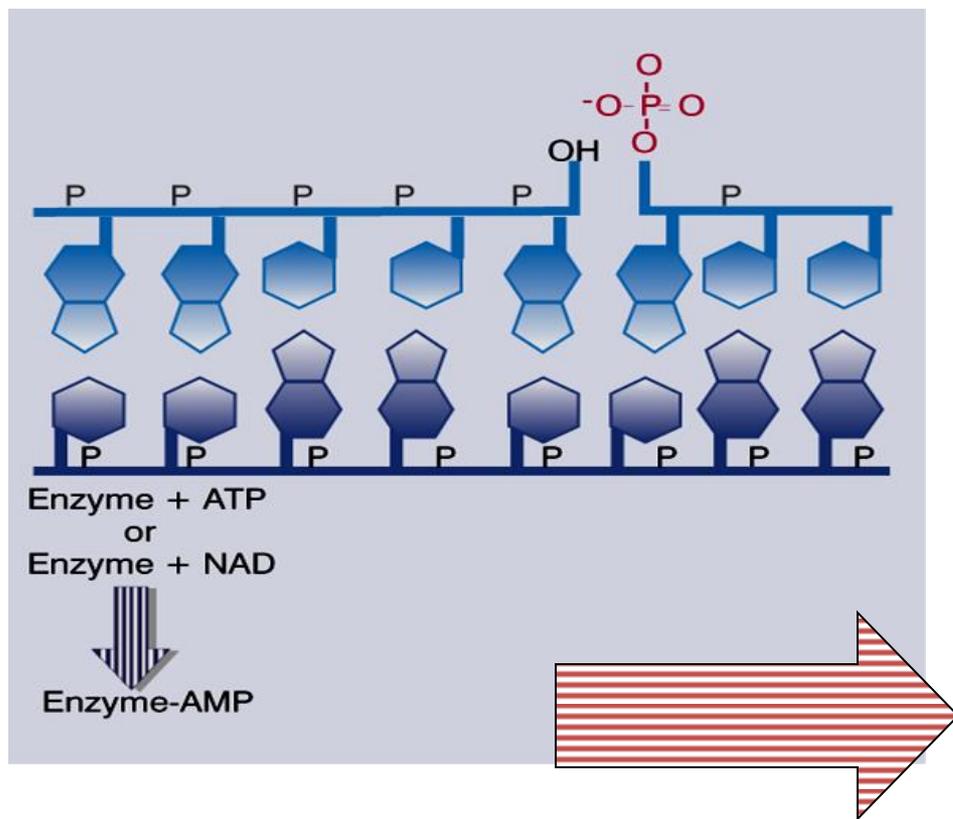
**Remoção do Primer de RNA
Preenchimento da lacuna**

ATP (or NAD^+)
AMP + PP_i (or NMN)

DNA ligase

Une os dois fragmentos de DNA

A DNA ligase sela as quebras

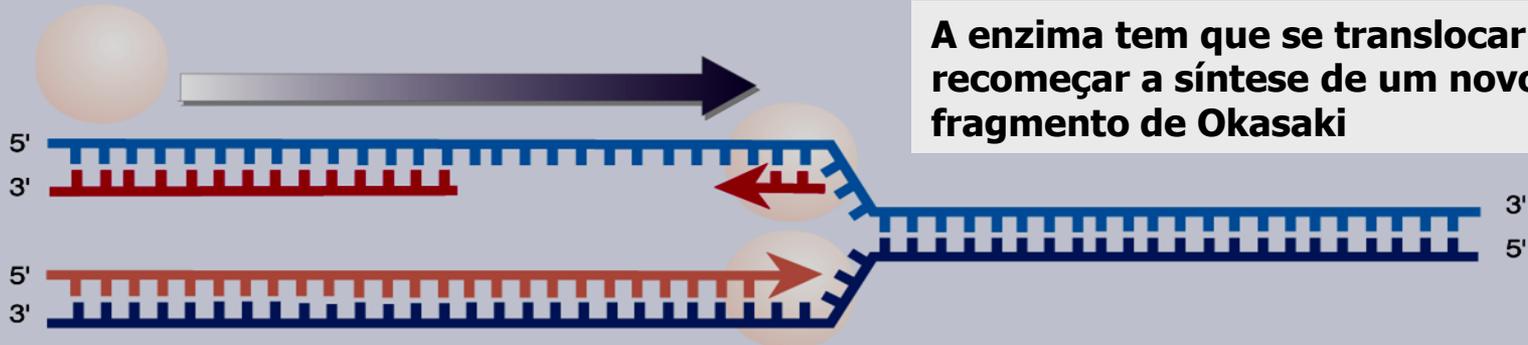
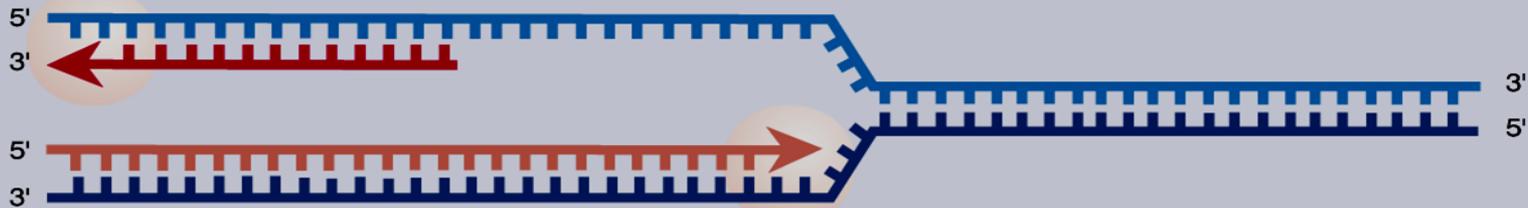


Síntese das fitas contínua e descontínua é independente

Fita descontínua



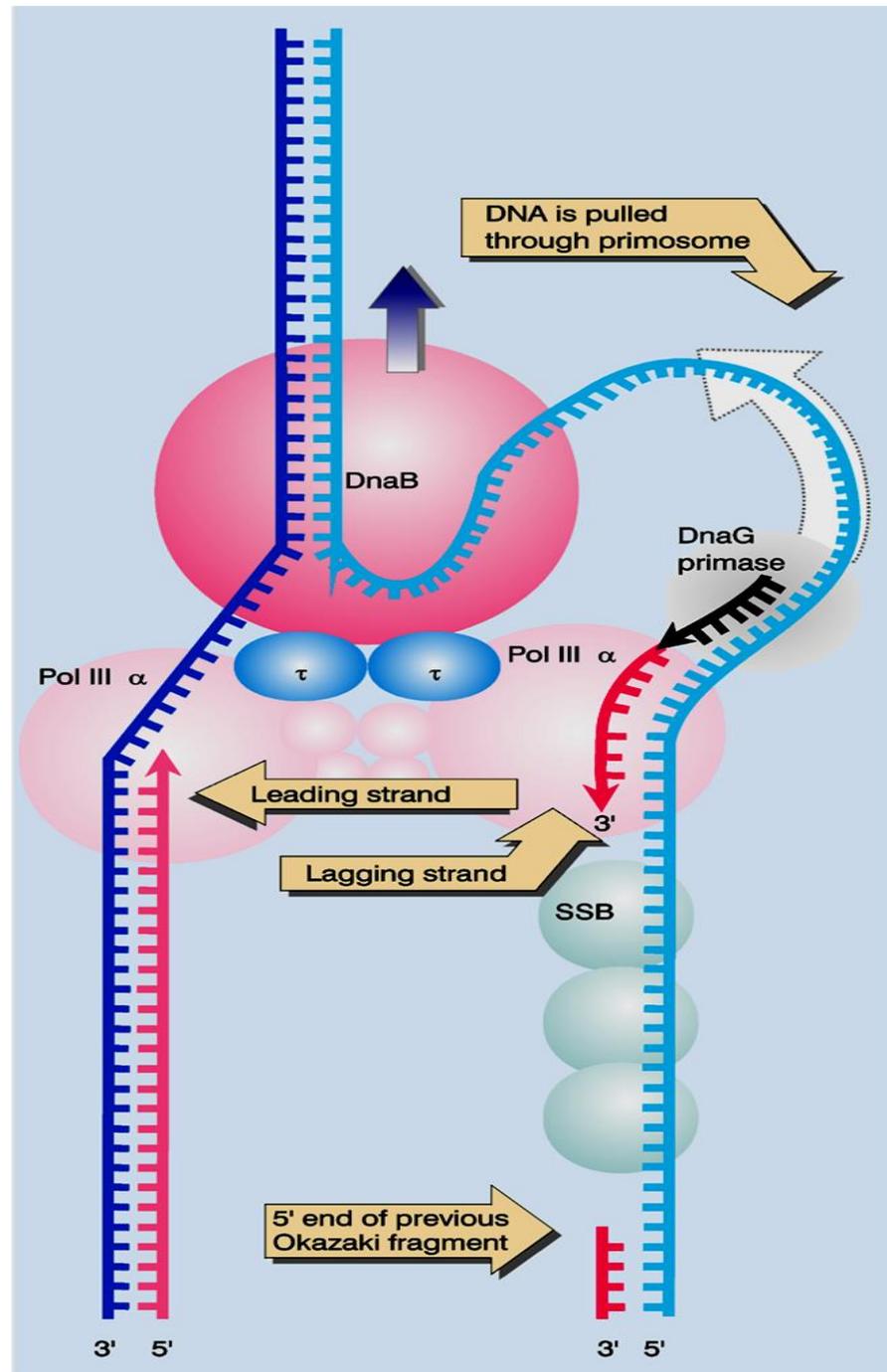
Fita contínua (líder)



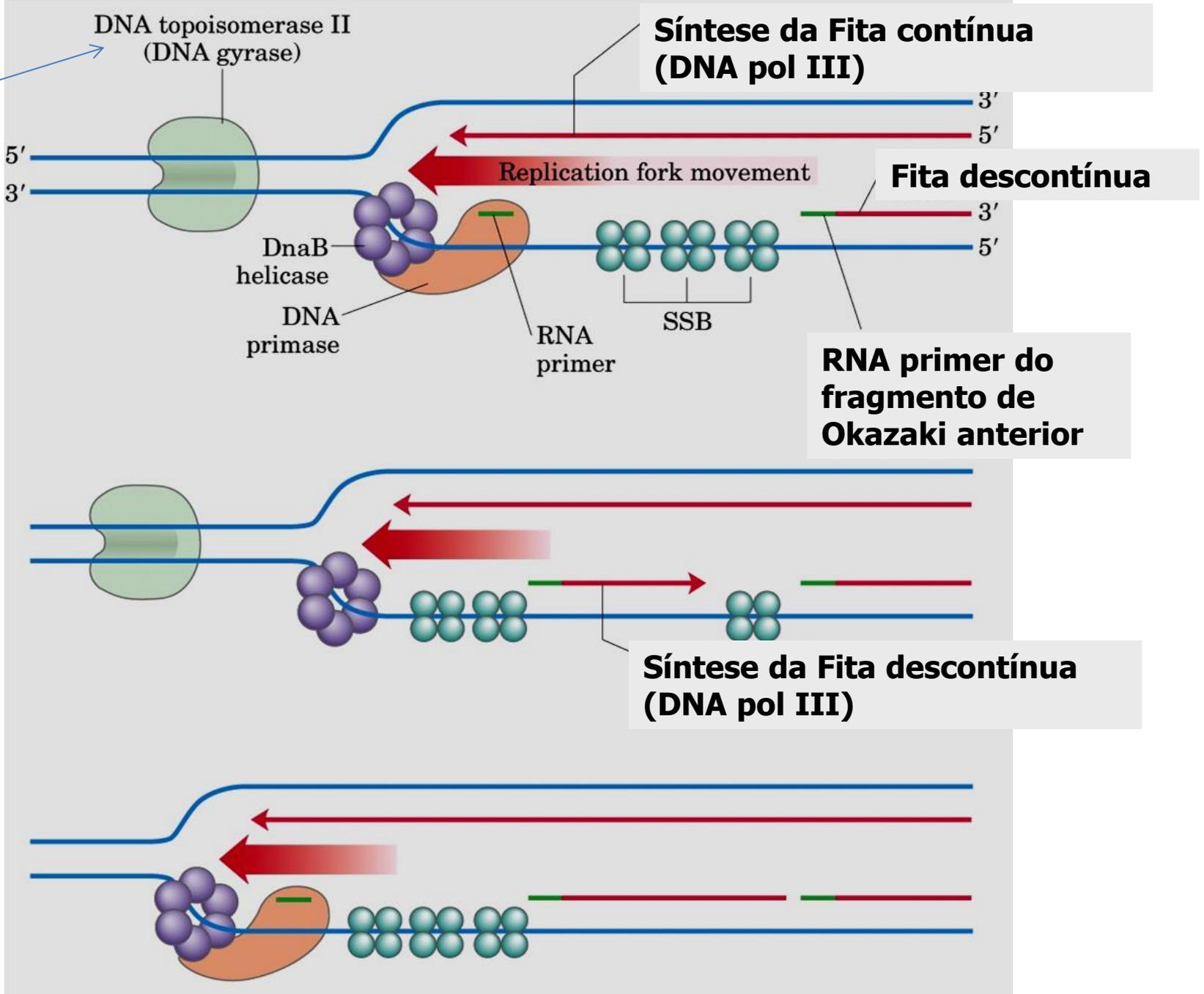
A enzima tem que se translocar para recomençar a síntese de um novo fragmento de Okasaki

O complexo de replicação

- A proteína DNA B (helicase) é responsável pelo movimento para frente da forquilha
- Cada cerne catalítico da DNA Pol III sintetiza uma das fitas-filhas
- Uma das fitas molde é afastada do primossomo
- Proteínas SSB mantêm as fitas parentais separadas



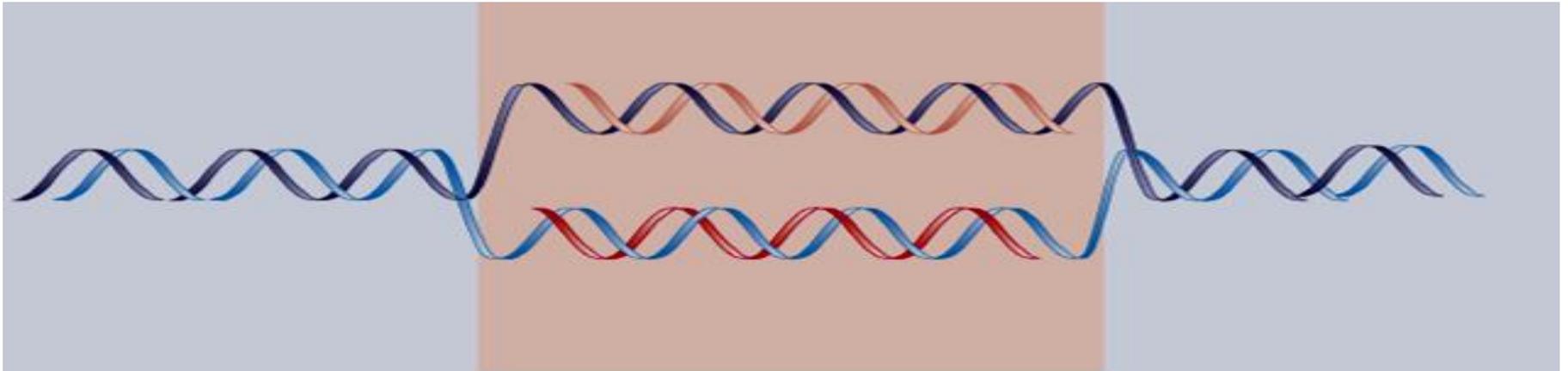
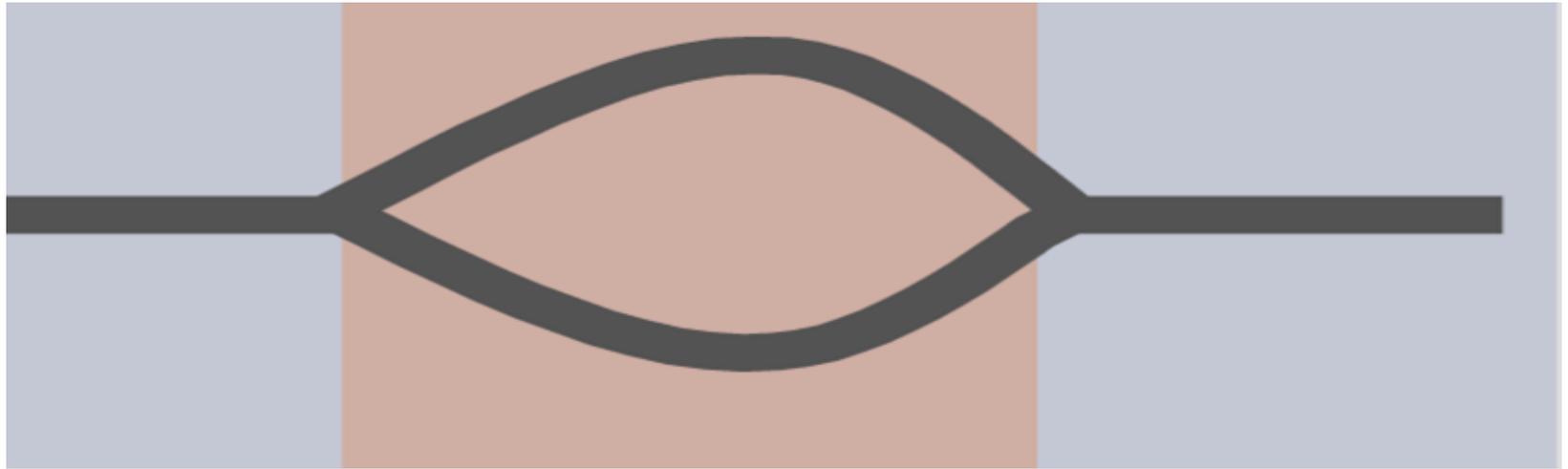
Prepara a dupla hélice para ser desenrolada



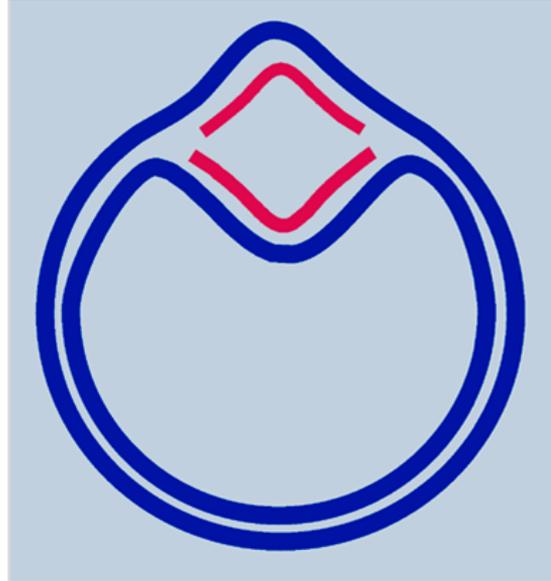
Proteínas presentes na forquilha de Replicação de *E.coli*

SSB	Liga a fita simples de DNA
DnaB (helicase)	Desenrola o DNA
Primase (DnaG)	Sintetiza os primers de RNA
DNA Polimerase III	Síntese da fita nova
DNA Polimerase I	Preenche as lacunas e excisa os primers
DNA Ligase	Liga os fragmentos
DNA girase	Prepara a hélice para a helicase; lida com superenrolamento do DNA

A replicação é vista como um “olho” flanqueado por DNA não replicado

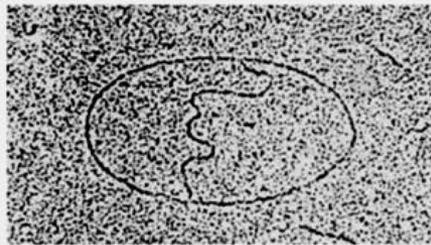
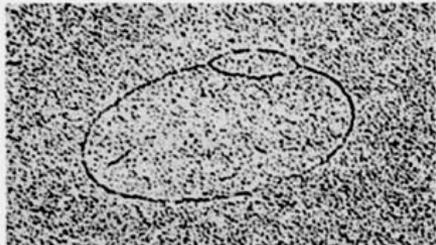
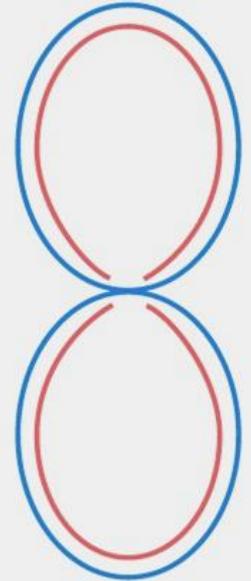
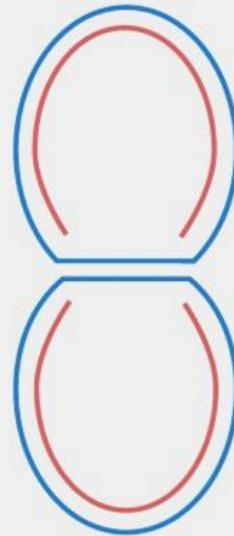
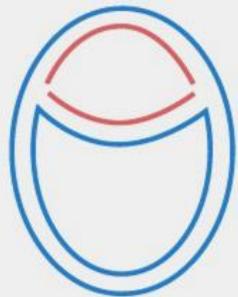


O genoma bacteriano circular constitui um único replicon



- A velocidade da forquilha de replicação bacteriana é 50.000 pb/min

A replicação do cromossomo circular

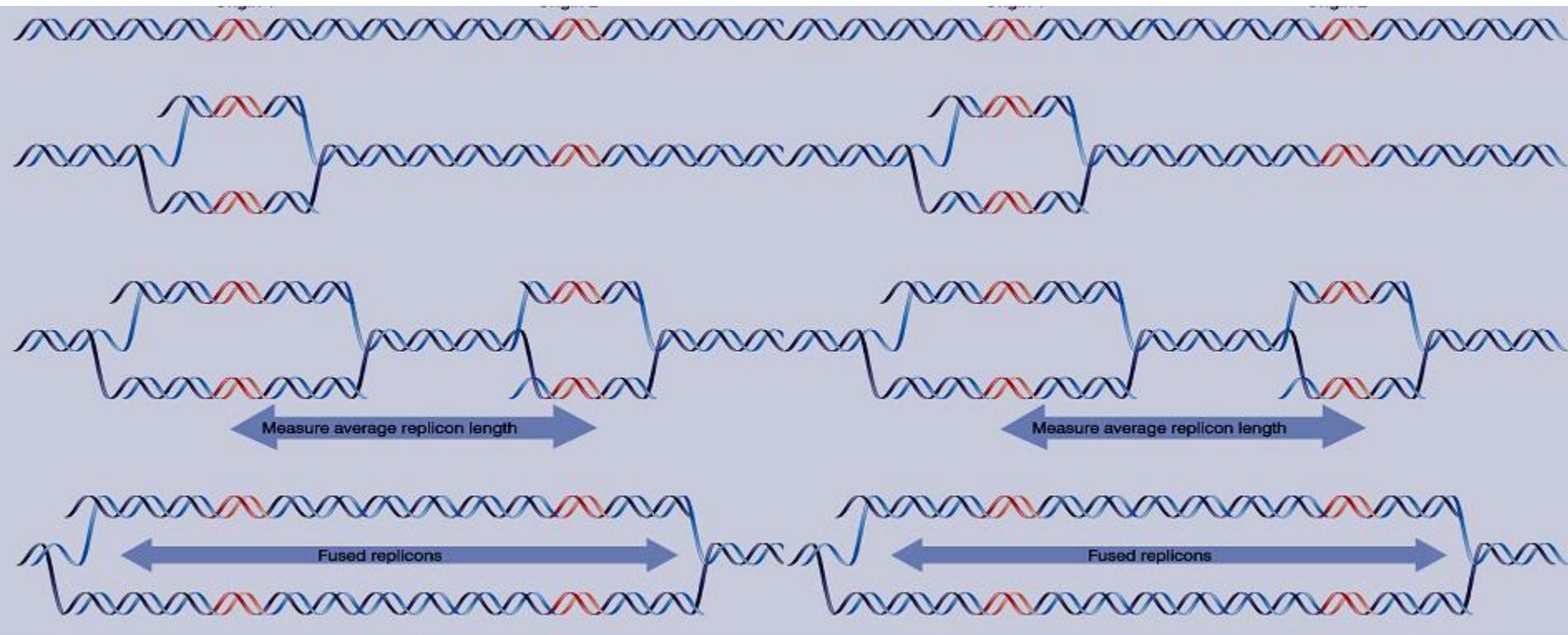


Replicon: Unidade do DNA onde está ocorrendo um evento de replicação

Replicon:

- 1. Origem + Término**
- 2. Ativados apenas uma única vez em cada ciclo celular**
- 3. O genoma de uma célula procariótica em geral constitui um único replicon**
- 4. Cada cromossomo eucariótico constitui vários replicons e todos são ativados uma única vez no ciclo celular ainda que não simultaneamente**

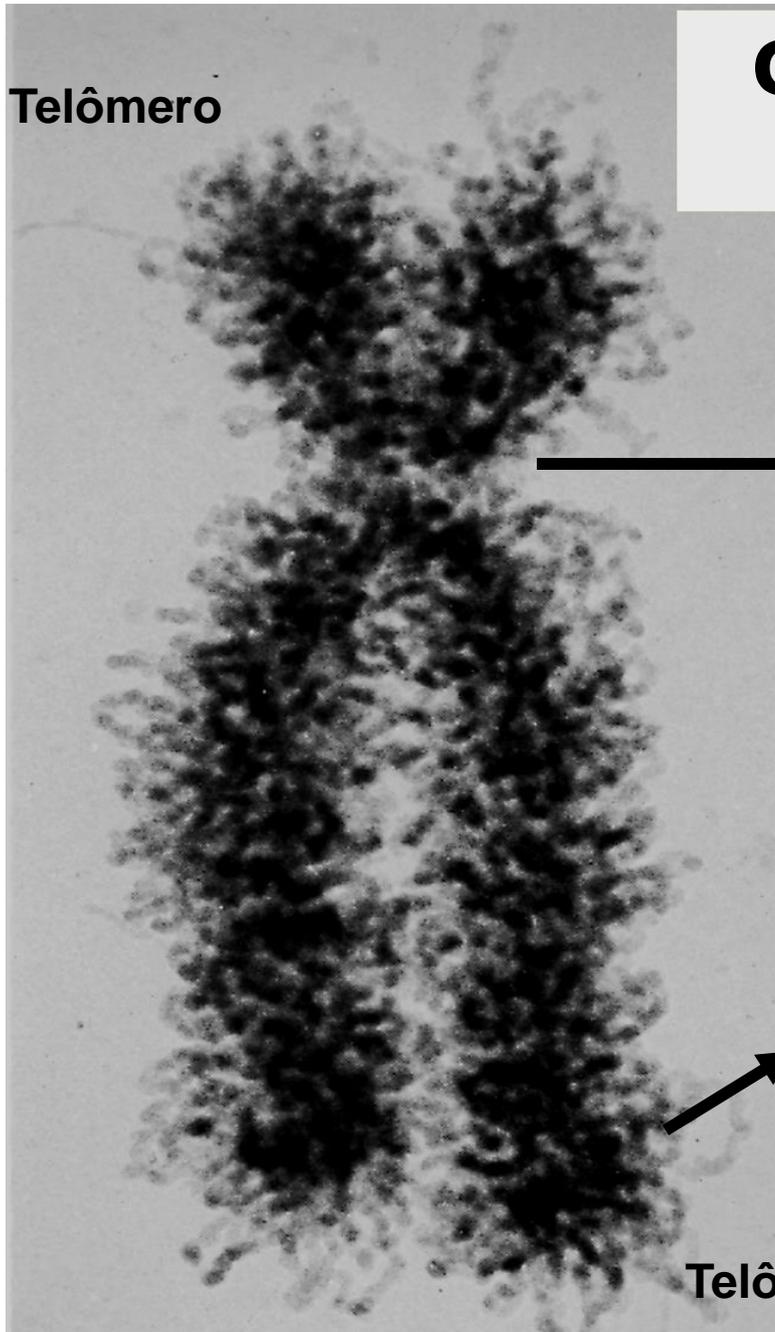
O genoma eucariótico constitui-se de vários replicons



- A velocidade da forquilha de replicação eucariótica é 2.000pb/min
- Os replicons eucarióticos são iniciados em tempos diferentes
- Fase S demora \sim 6hrs em uma célula somática

Cromossomo mitótico

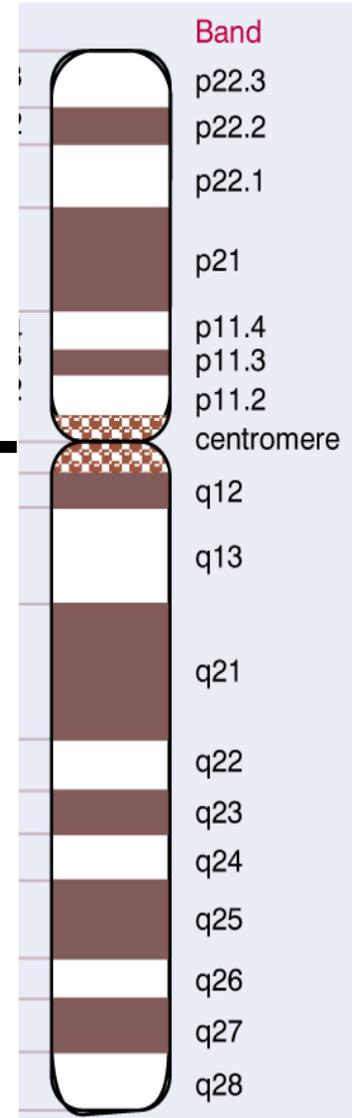
Telômero



Centrômero

Cromátides irmãs

Telômero



telômero

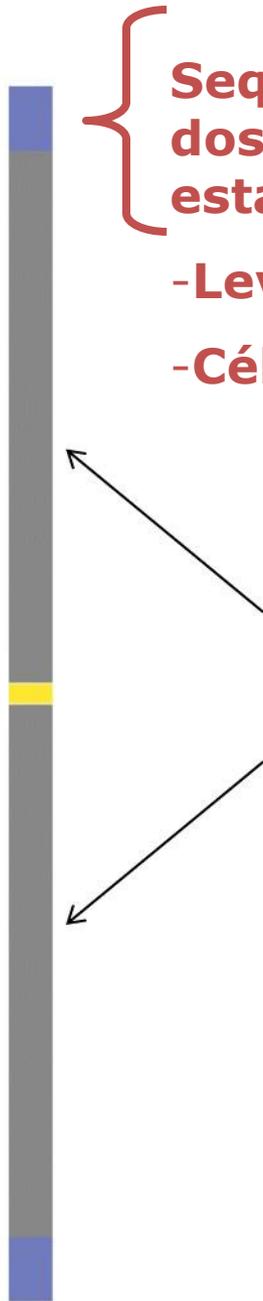
Sequências adicionadas nas extremidades dos cromossomos eucarióticos que ajudam a estabilizar o cromossomo

-Levedura: 20-100 repetições $(T_xG_x)_n$

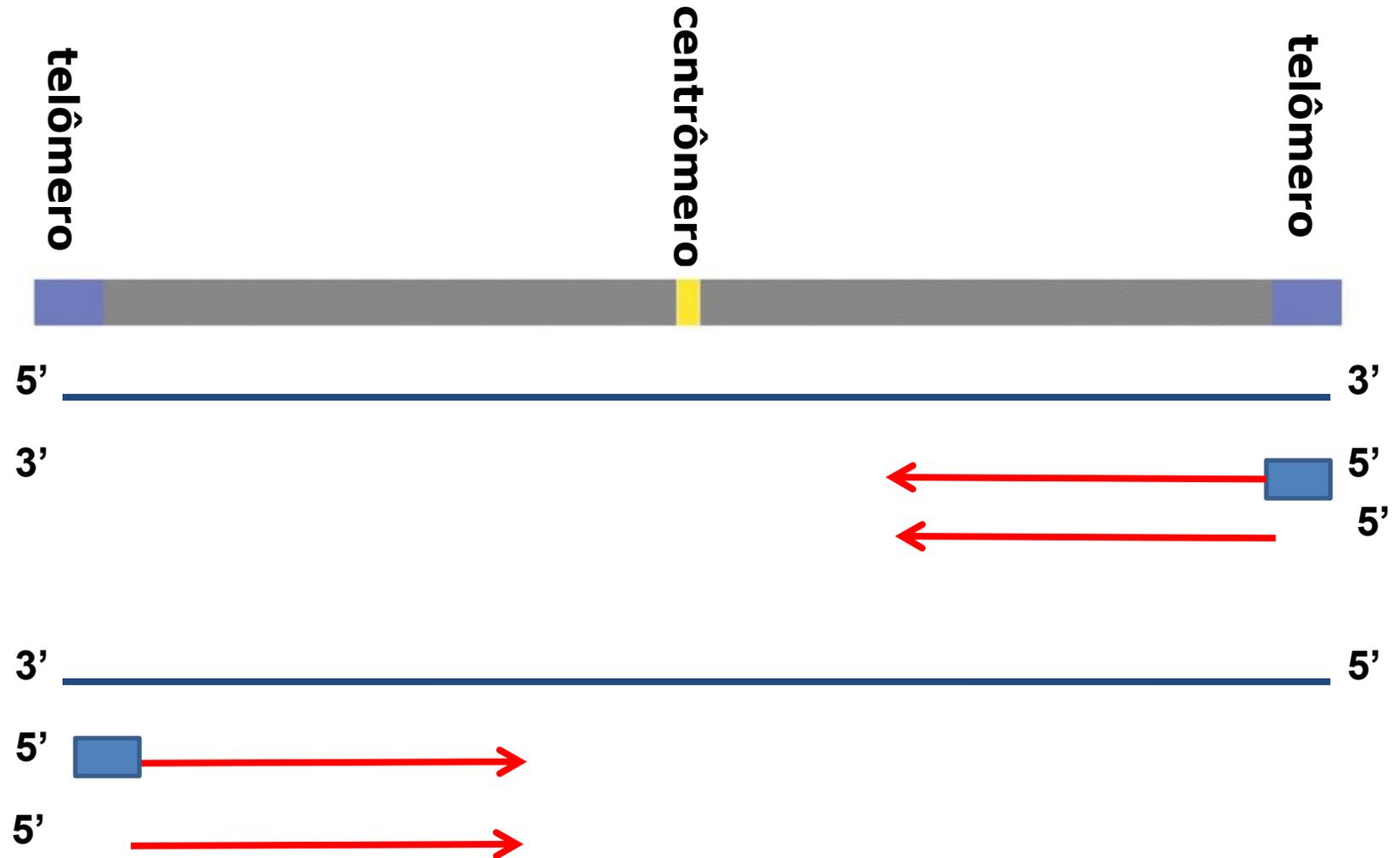
-Célula humana: 1500 repetições

centrômero

telômero

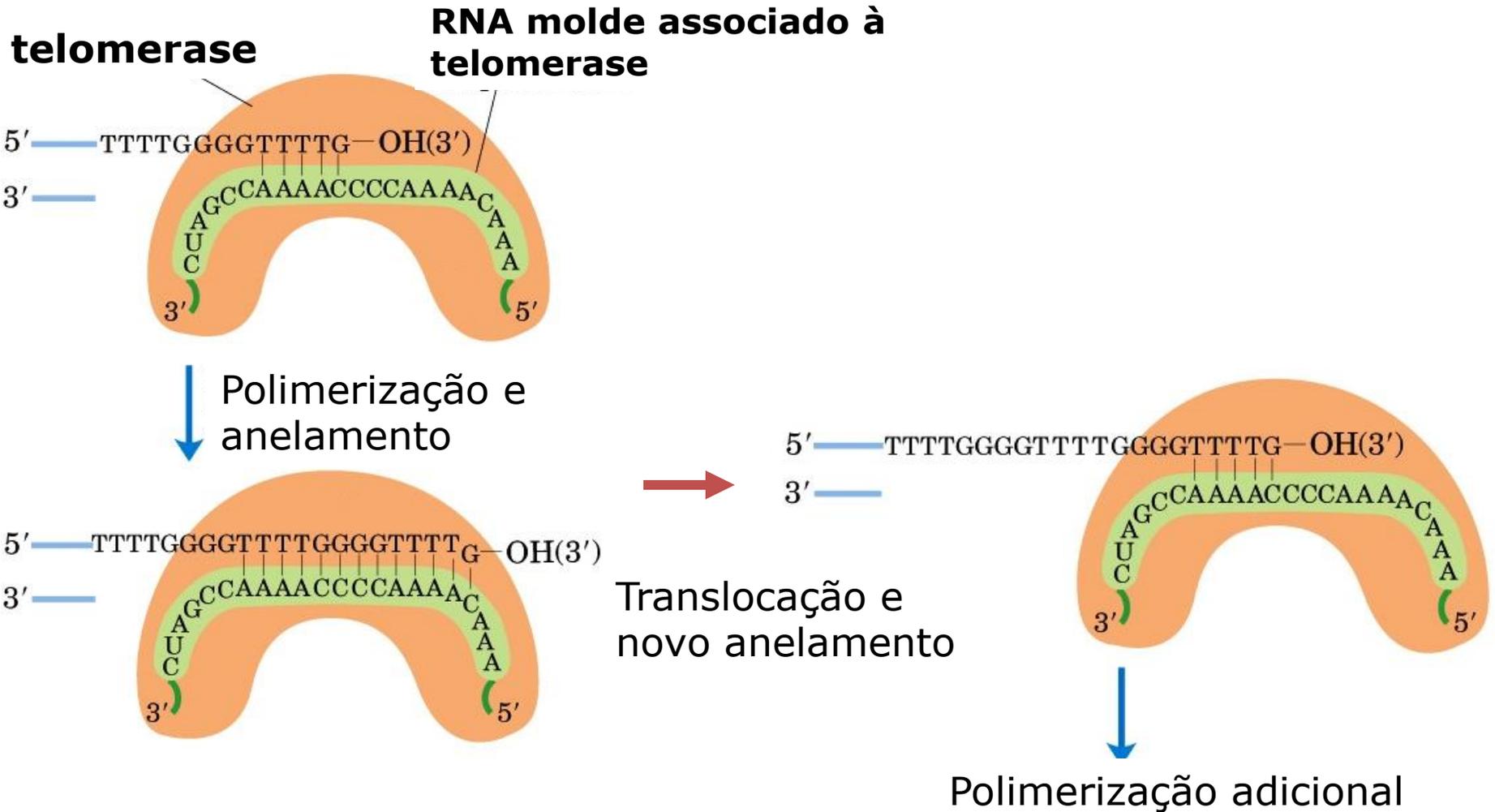


Replicação de cromossomos lineares



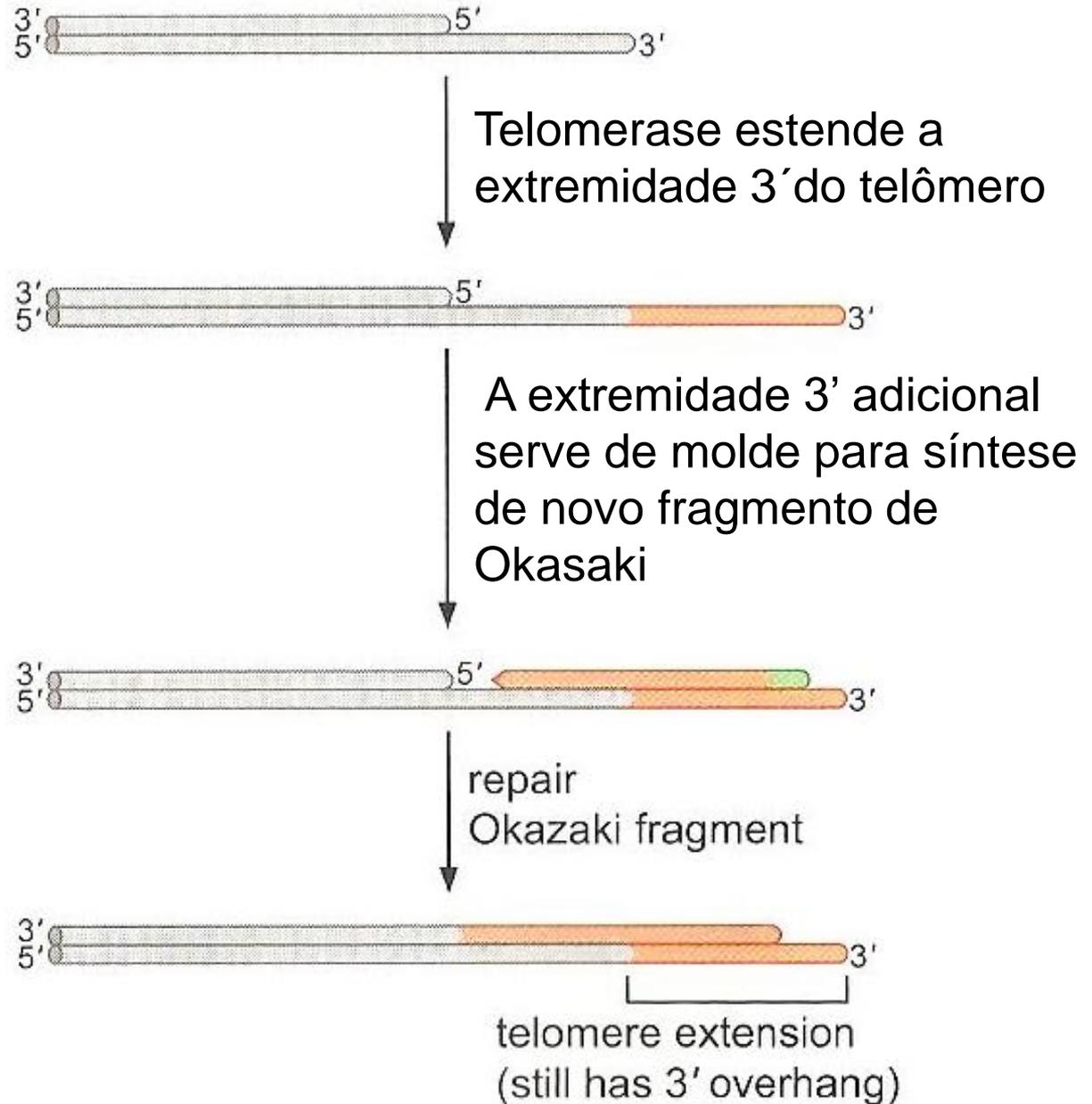
 = primer de RNA → remoção resulta no encurtamento da fita de DNA ao longo de sucessivas replicações

Telômeros: ajudam a estabilizar as extremidades do cromossomo

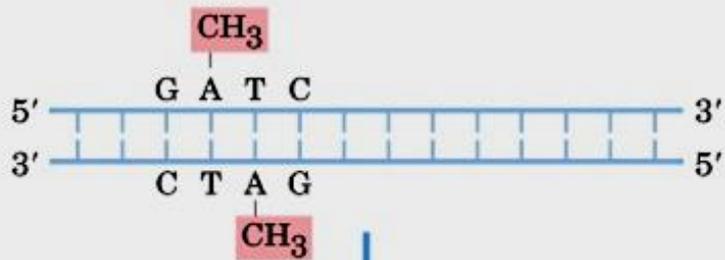


Telômeros humanos = 5 a 15kb

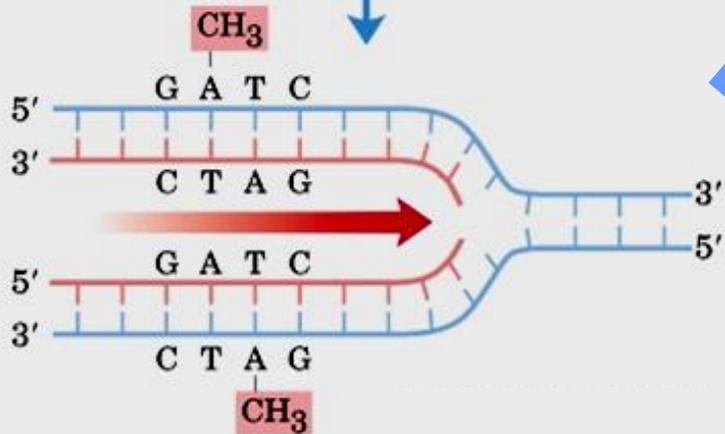
A extensão da
extremidade 3' pela
telomerase soluciona o
problema da replicação
das extremidades de
cromossomos lineares



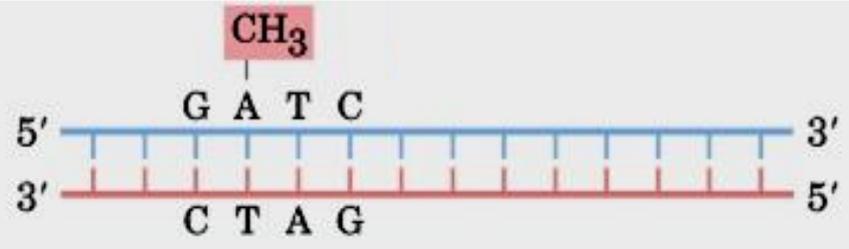
Reparo para correção de erro após a replicação



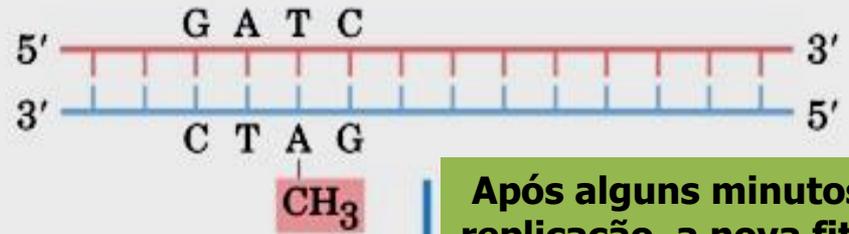
Replicação



Metilação da adenina no sítio GATC identifica qual a fita é a parental

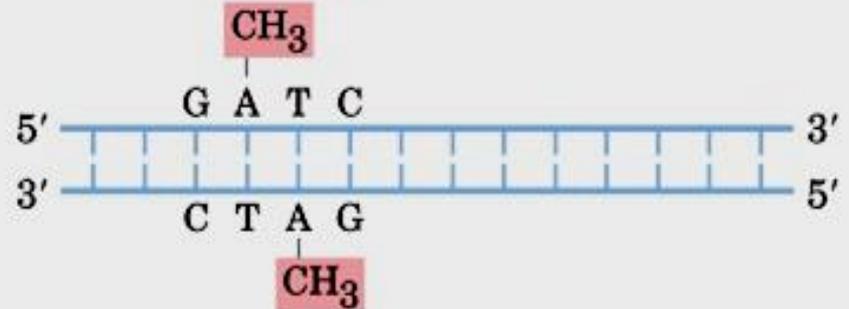
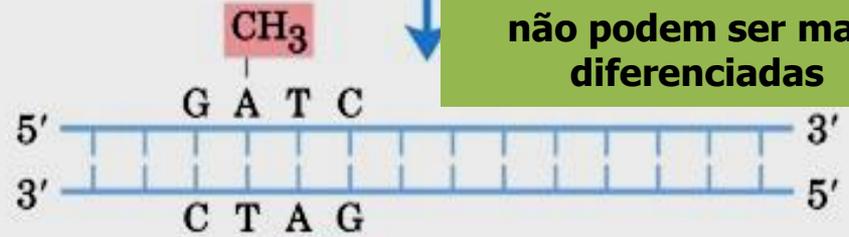


DNA semi-metilado



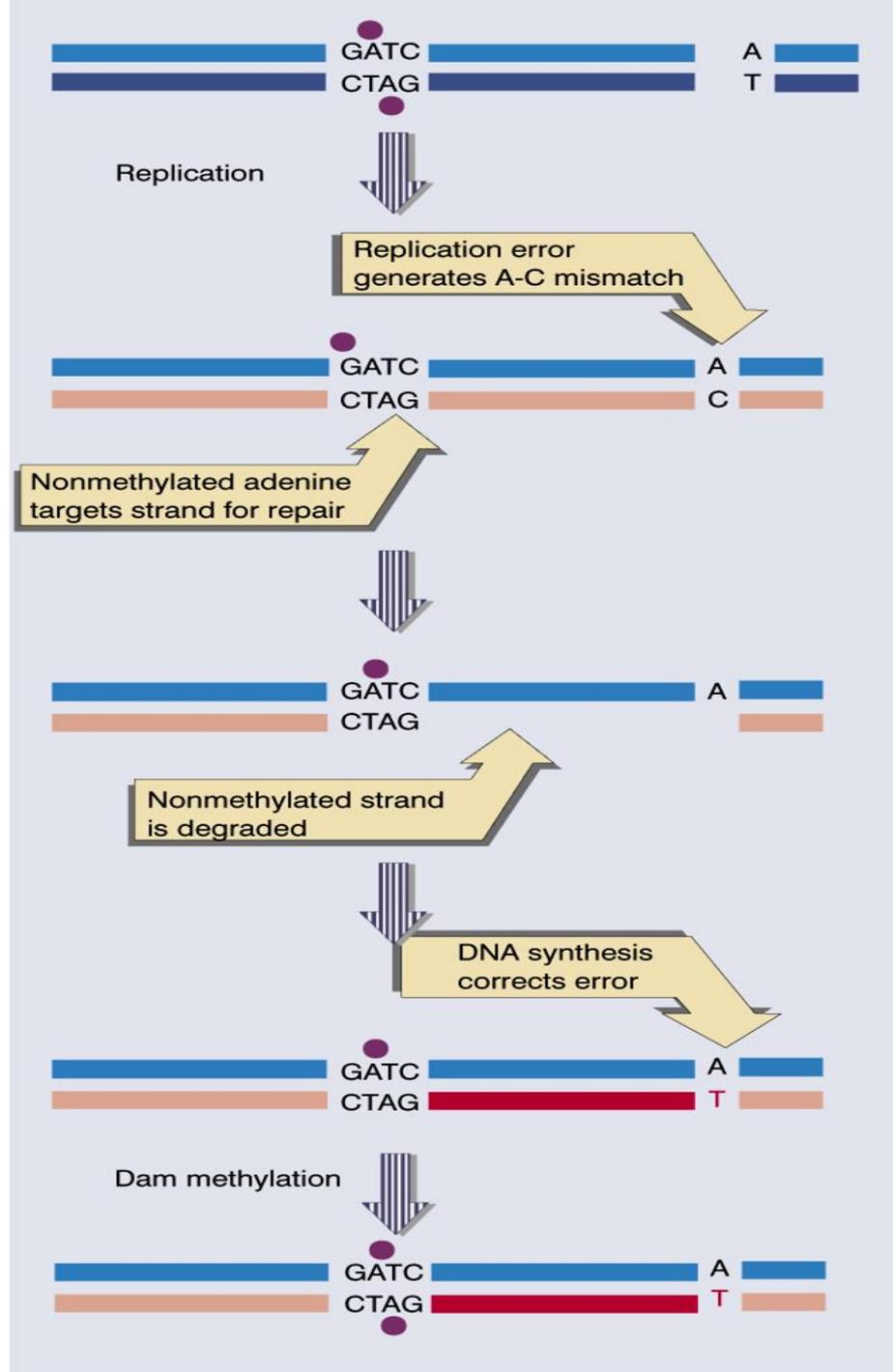
Dam methylase

Após alguns minutos da replicação, a nova fita de DNA sintetizada é metilada e as duas fitas não podem ser mais diferenciadas



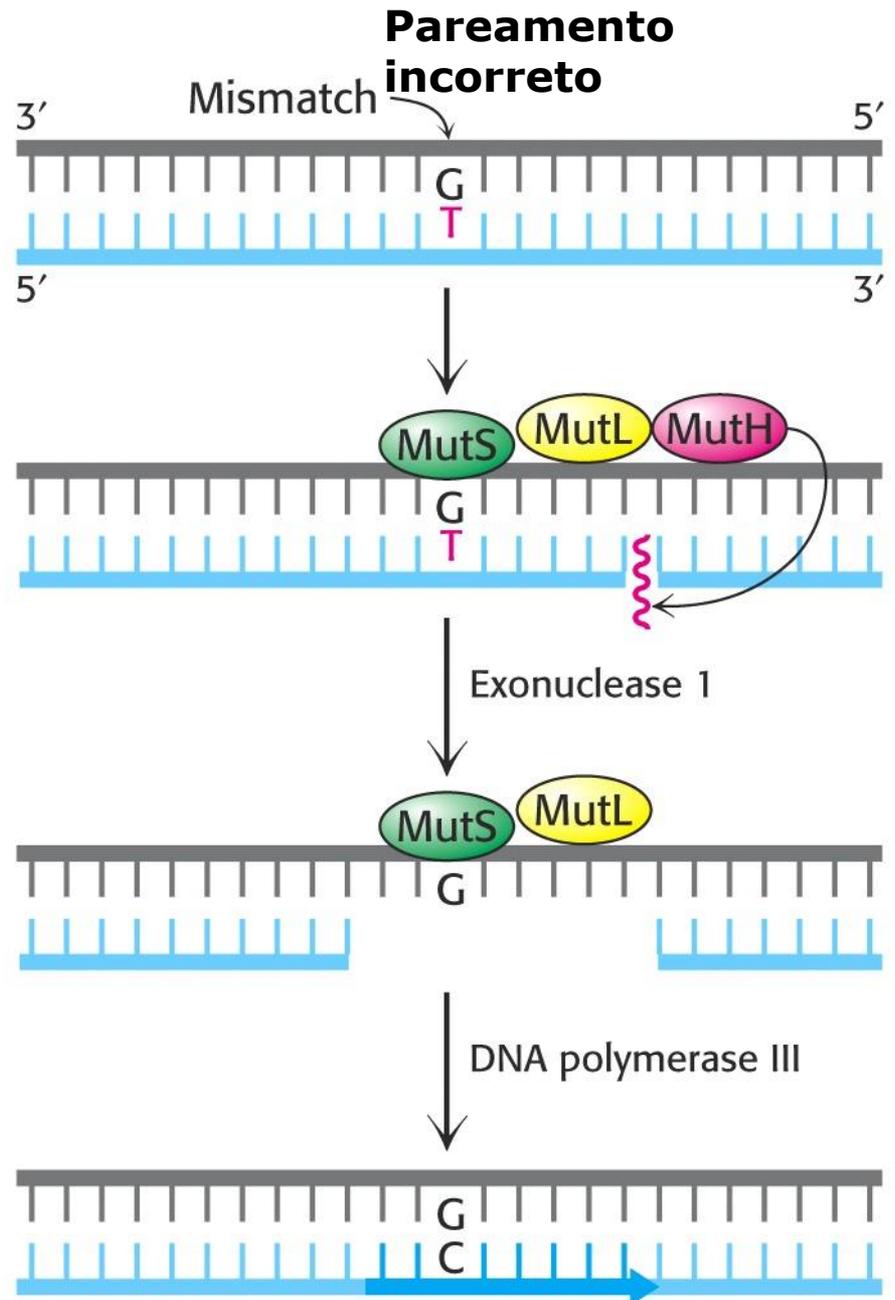
Reparo para correção de erro

- Correção de erros que escapam da atividade revisora da DNA polimerase durante a replicação
- Metilação garante que a fita a ser reparada seja a fita filha



Reparo para correção de erro

- **Complexo de enzimas para correção de erros:**
- **MutS reconhece o pareamento incorreto**
- **MutH cliva a fita não metilada e exonucleases degradam um trecho desta fita**



Reparo por excisão de nucleotídeos

Filme

“Dogma Central” da Biologia Molecular

Replicação

DNA

Transcrição

RNA mensageiro

RNA

Tradução de mRNAs

Proteína

Usa **Uracila** ao invés de Timina

Ocorre no **ribossomo**