

Replicação

Quais as funções do DNA?

Replicação

- O DNA é a molécula que contém a informação para todas as actividades da célula.
- Uma vez que as células se dividem, é necessário que a molécula de DNA consiga transmitir às células-filhas a informação que possui.
- Por outro lado, é esta molécula que permite a obtenção das diferentes proteínas para a constituição e funcionamento celulares.

Replicação

O processo de **duplicação** da molécula de DNA, designa-se por **replicação**.

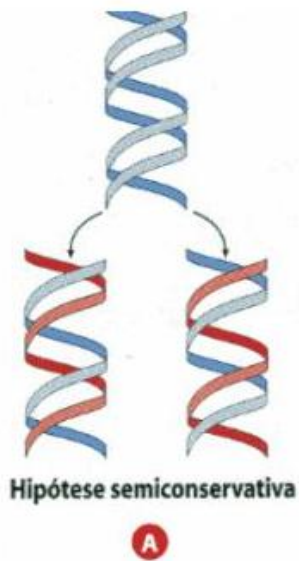
A replicação, **origina no final,**
duas moléculas de DNA
exactamente iguais à molécula-mãe
(pois só desta forma é preservada a informação).

Replicação

Quando Watson e Crick propuseram o seu modelo para a molécula de DNA (dupla hélice) , propuseram também um mecanismo simples para a duplicação da molécula de DNA.

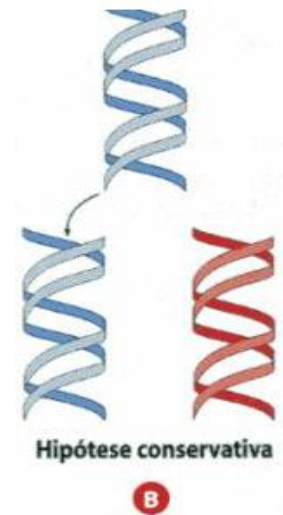
Teoricamente este processo poderia ocorrer por três métodos diferentes:

- Replicação semiconservativa
- Replicação conservativa
- Replicação dispersiva



Replicação semiconservativa - Cada uma das cadeias serviria de molde para uma nova cadeia e, conseqüentemente, cada uma das novas moléculas de DNA seria formada por uma cadeia antiga e uma cadeia nova.

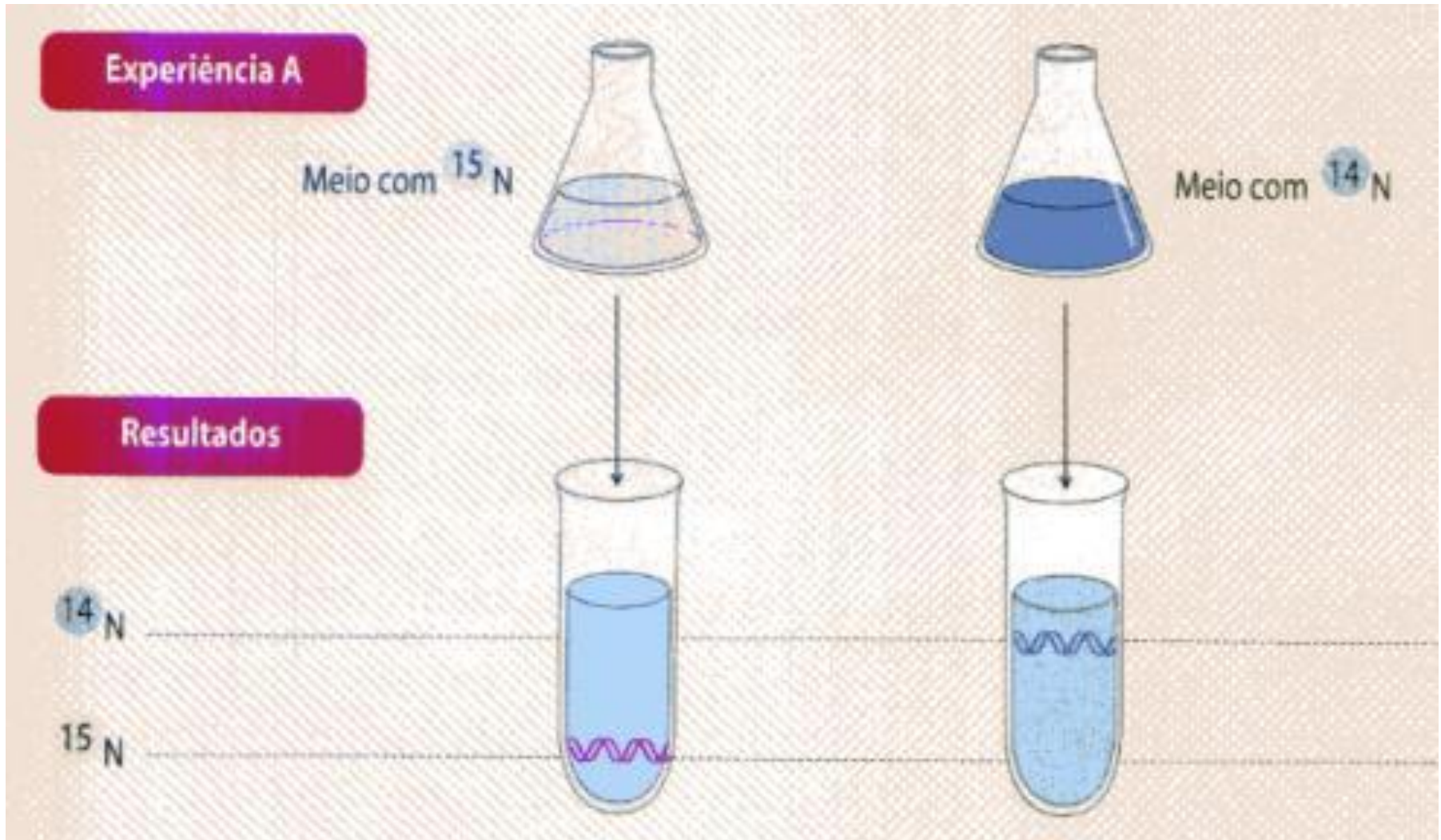
Replicação conservativa - Admitia que a molécula de DNA progenitora se mantinha íntegra, servindo apenas de molde para a formação da molécula-filha, a qual seria formada por duas novas cadeias de nucleótidos.



Replicação dispersiva – Admitia que cada molécula-filha seria formada por porções da molécula inicial e por regiões sintetizadas de novo, a partir dos nucleótidos presentes na célula.

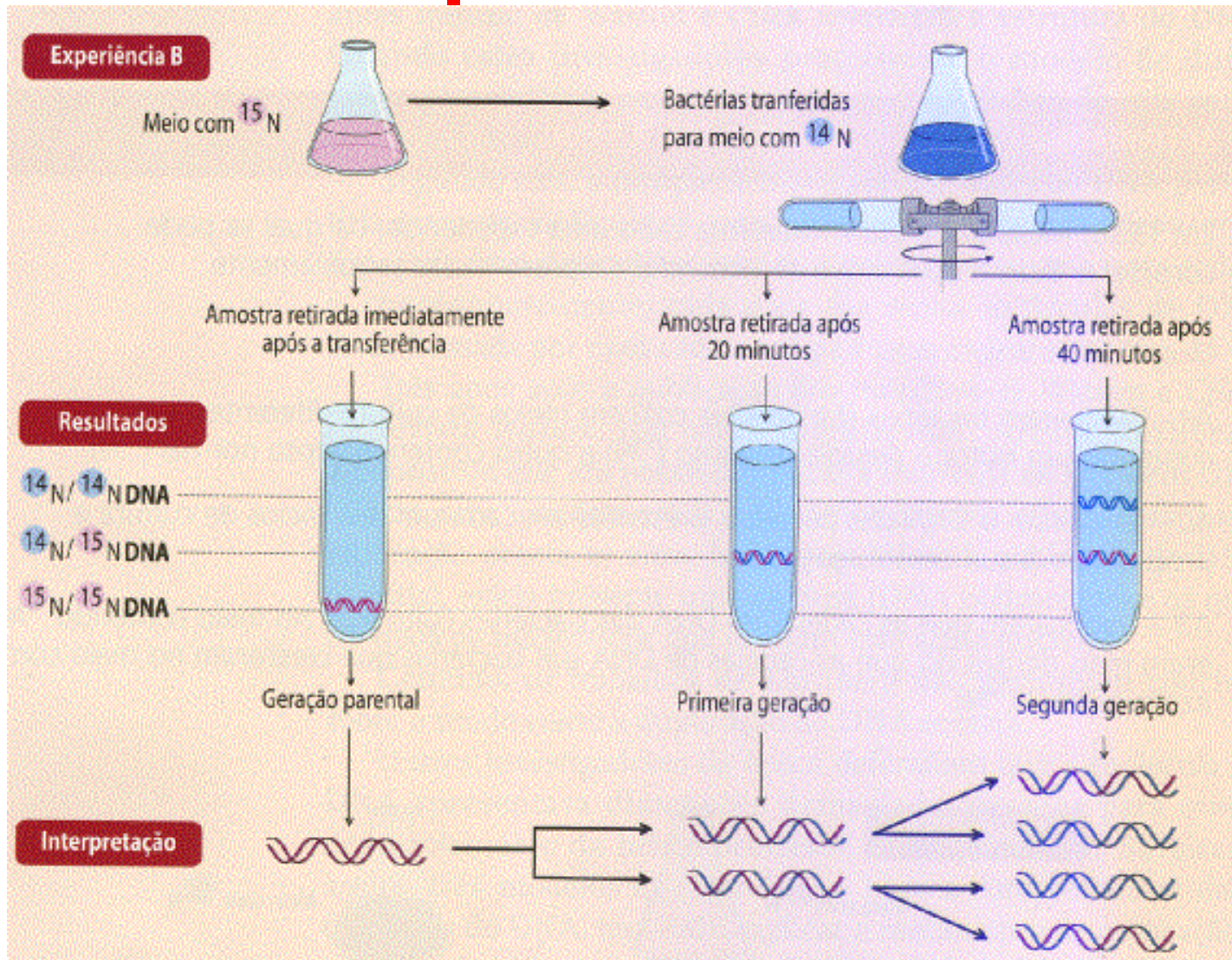
Experiência de Meselson e Stahl

Experiência A



Experiência de Meselson e Stahl

Experiência B



Resultados da experiência de Meselson e Stahl

- **Apoiam**, inequivocamente, a **hipótese semiconservativa**, que pode ser interpretada da seguinte forma:
 - As bactérias cultivadas em ^{15}N incorporam o ^{15}N nos seus nucleótidos, formando um **DNA com maior densidade**, que se deposita mais próximo do fundo do tubo.
 - Quando as bactérias são transferidas para um meio de cultura com ^{14}N , utilizam esse azoto para **produzirem novas cadeias de DNA**.
 - Assim, na **primeira geração**, cada molécula de DNA apresenta:
 - uma cadeia de nucleótidos com ^{15}N (oriunda da geração parental) e
 - outra com ^{14}N (formada com nucleótidos que incorporaram o azoto presente no meio).

Desta forma, as moléculas de DNA apresentam uma **densidade intermédia** entre **DNA com ^{15}N** e **DNA com ^{14}N** .

Na **segunda geração**:

metade das moléculas são formadas por duas cadeias leves e a outra metade é formada por uma cadeia leve e uma cadeia pesada (densidade intermédia).

Pode assim verificar-se que os resultados apoiam o modelo semiconservativo.

O **Modelo conservativo** não é consistente com os resultados da experiência, uma vez que após a primeira replicação, deviam ter sido observadas moléculas de DNA com dois valores de densidade:

- Um correspondente à molécula formada exclusivamente por cadeias pesadas (DNA parental)
- Outro correspondente à molécula formada exclusivamente por cadeias leves.

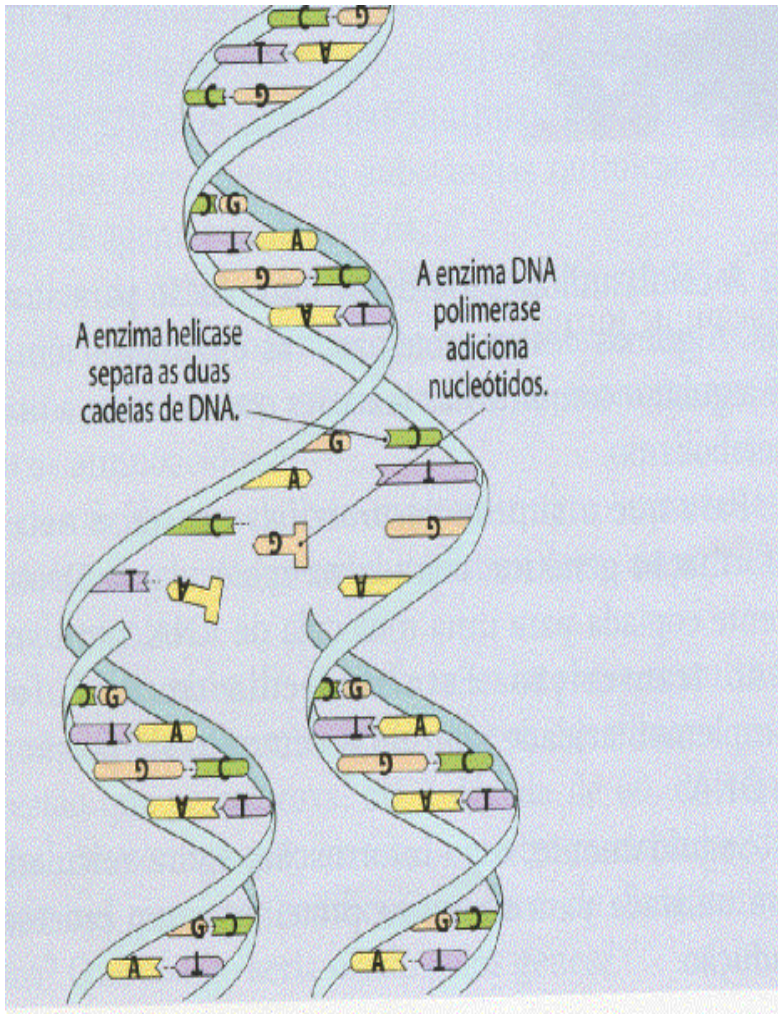
O **Modelo dispersivo** é consistente com os dados após a primeira replicação, pois o modelo prevê que se observem moléculas de DNA com densidade intermédia (cada cadeia contém 50% de 14N e 50% 15N).

No entanto, segundo este modelo, na segunda geração, todas as moléculas deveriam ter $\frac{1}{4}$ da densidade da molécula de DNA original (cada uma das cadeias deverá conter $\frac{1}{4}$ de 15N e $\frac{3}{4}$ de 14N).

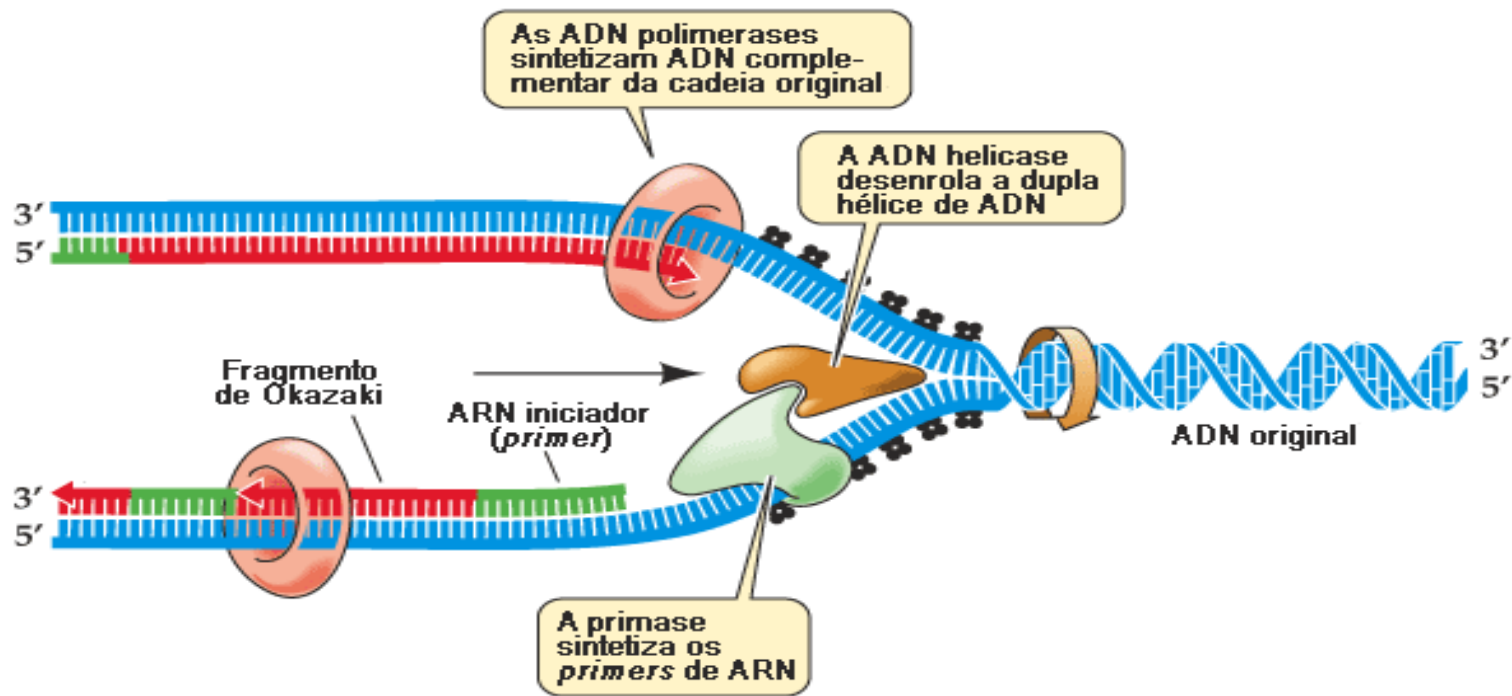
Em vez disso, surgem 50% de cadeias leves e 50% de cadeias pesadas.

Assim, estes modelos não são sustentados pelos resultados.

Qual o mecanismo de replicação do DNA?

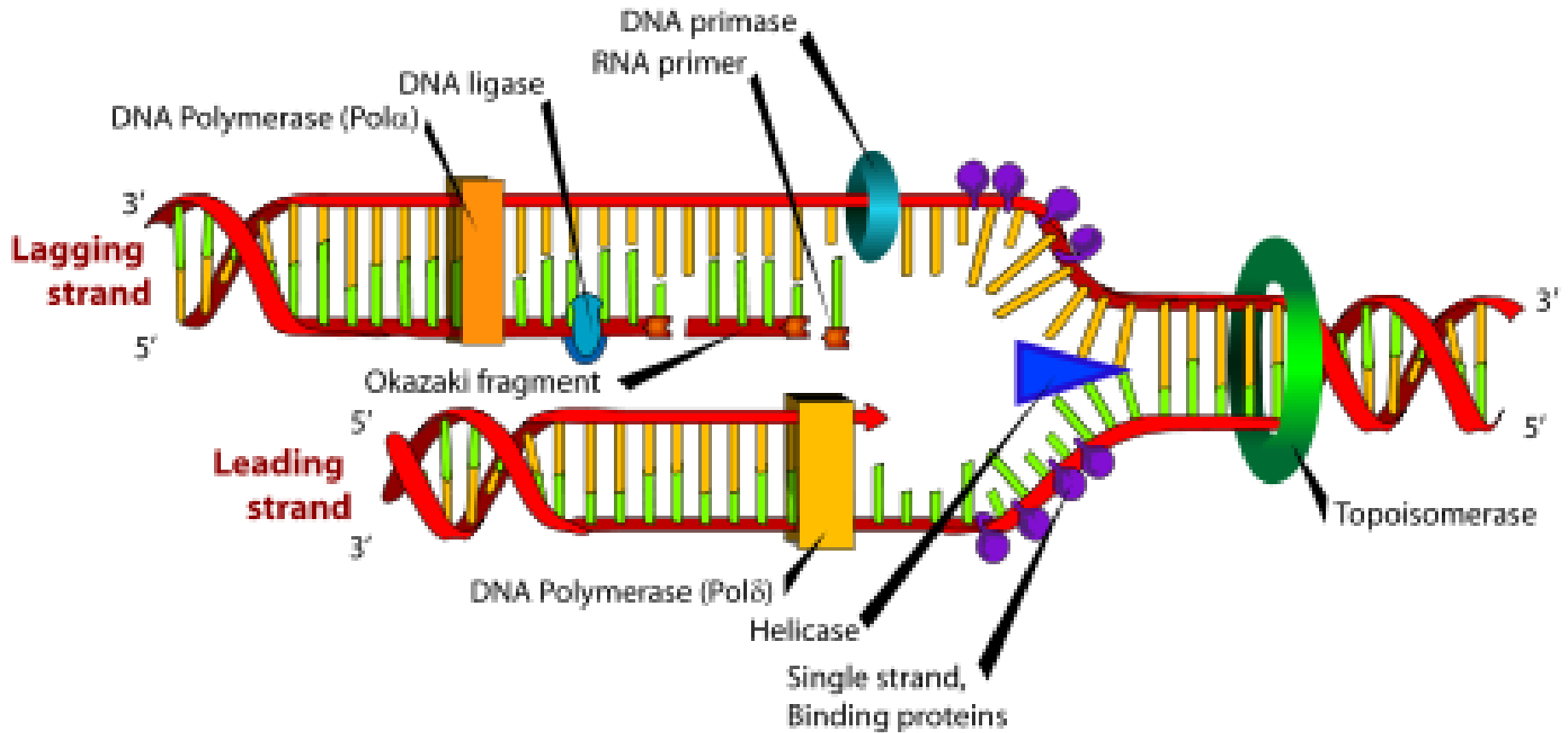


- O processo de **replicação do DNA** é bastante complexo e envolve a participação de várias enzimas, pois a molécula tem de sofrer:
 - Desenrolamento
 - Separação de cadeias
 - Construção de novas cadeias
- A **DNA helicase** é a enzima que permite o desenrolamento da cadeia.
- A **DNA polimerase** é a enzima mais importante neste processo, promovendo:
 - A formação de ligações por pontes de hidrogénio entre as bases complementares (A-T e C-G).
 - A ligação do açúcar de um nucleótido com o fosfato do nucleótido seguinte.
 - A correcção de erros que possam existir.

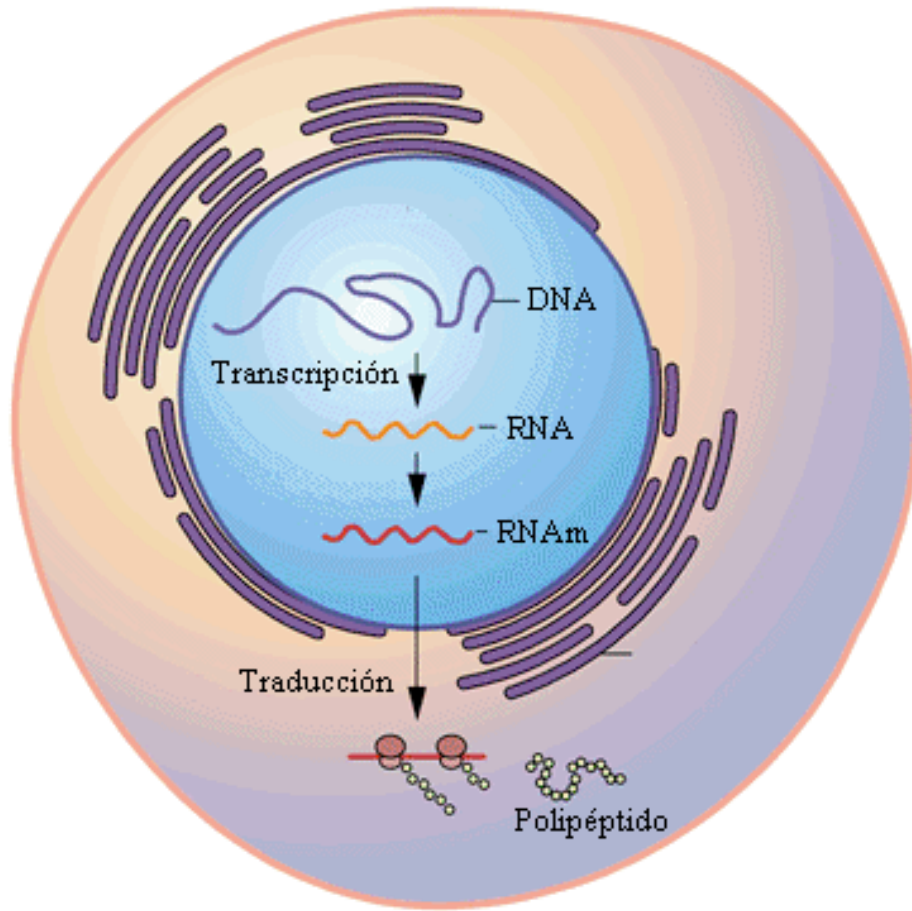


- Cada cadeia-mãe serve de molde para a replicação, sendo os nucleótidos adicionados por complementaridade de bases e sempre inseridos no sentido 5 - 3 .
- Devido ao antiparalelismo da cadeia de DNA parental, as cadeias-filhas não crescem da mesma forma:
- A cadeia que copia a cadeia 3 -5 forma-se de modo contínuo.
- A cadeia que copia a cadeia 5 -3 forma-se de modo descontínuo, em pequenas porções, que são depois ligadas pela enzima **DNA ligase**.

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



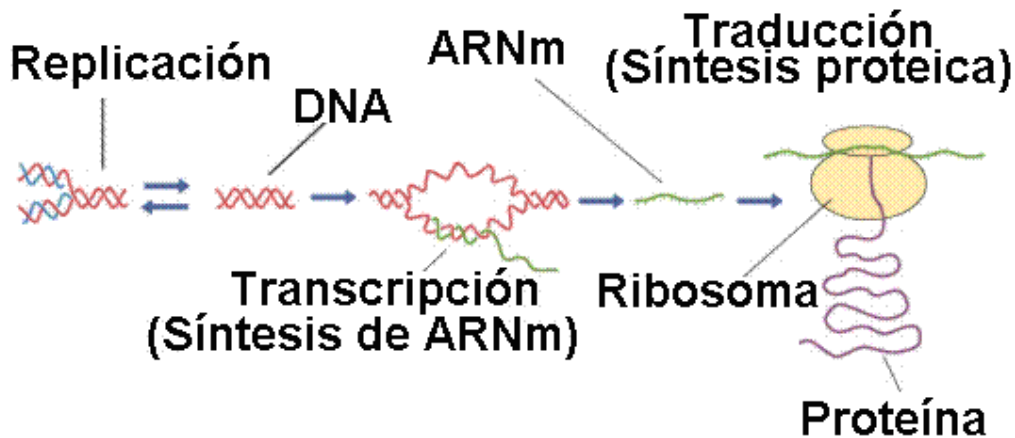
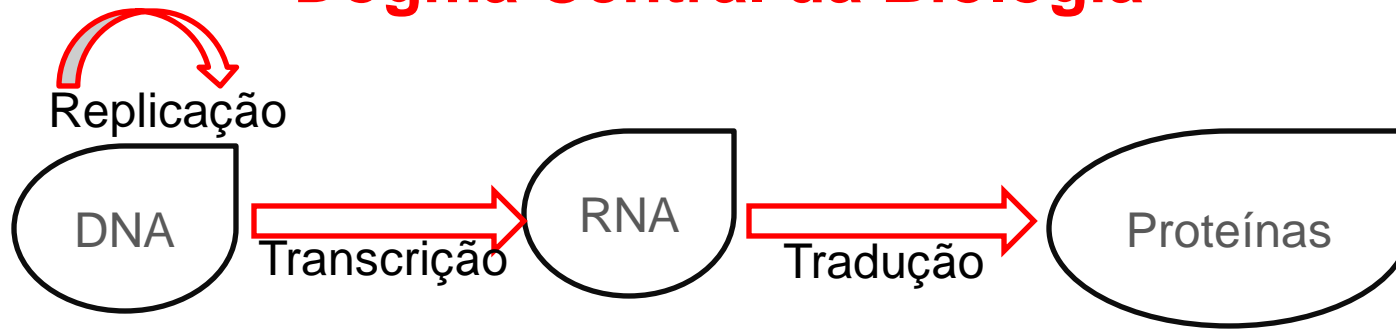
A replicação do DNA assegura que todas as células somáticas de um ser vivo pluricelular tenham a mesma informação genética.



Síntese Proteíca

Como se obtêm proteínas a partir do DNA?

Dogma Central da Biologia

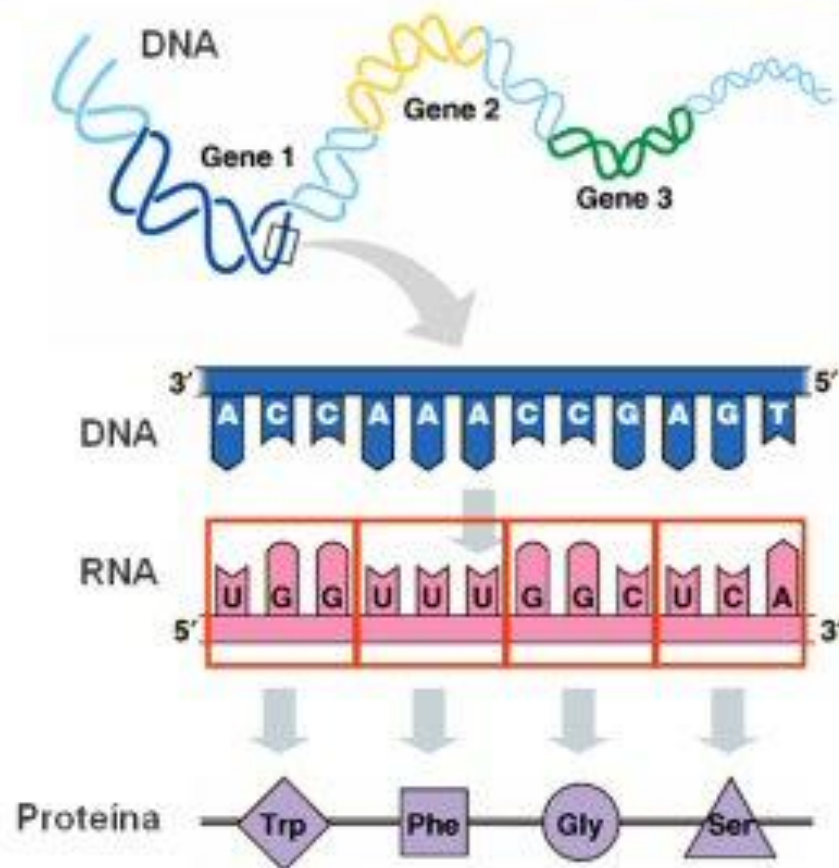


- Pouco depois de Watson e Crick terem publicado a estrutura da molécula do DNA, descreveram a relação entre os ácidos nucleicos e as proteínas como um fluxo de informação na célula – **Dogma Central da Biologia** – segundo o qual:

- A informação contida no DNA é **transcrita** para o RNA.
- O RNA é posteriormente **traduzido** para formar proteínas.

Esta via é unidireccional, uma vez que as proteínas não podem codificar para RNA nem para DNA.

Síntese proteica



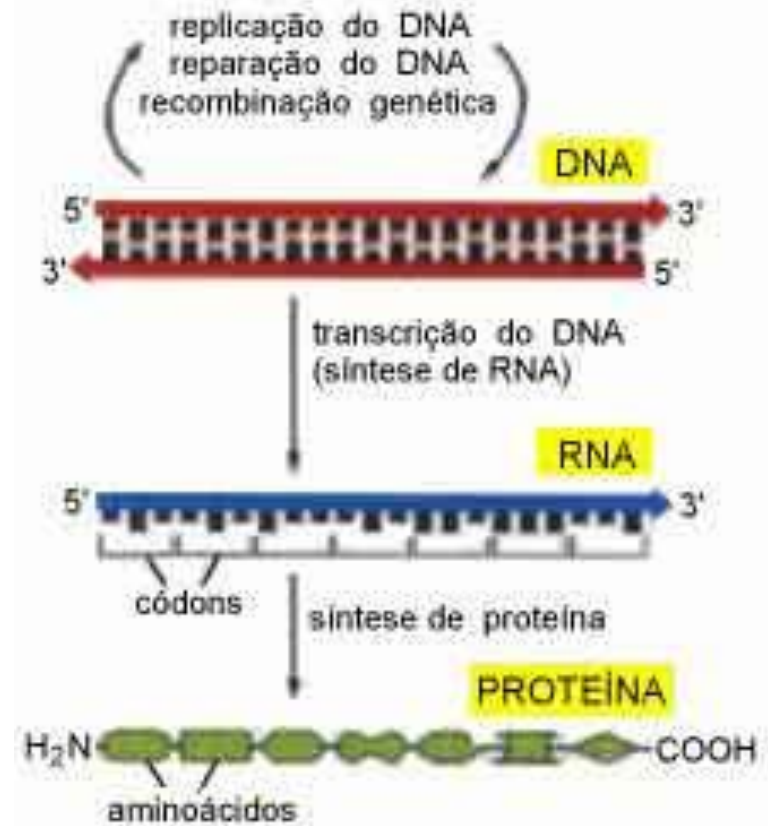
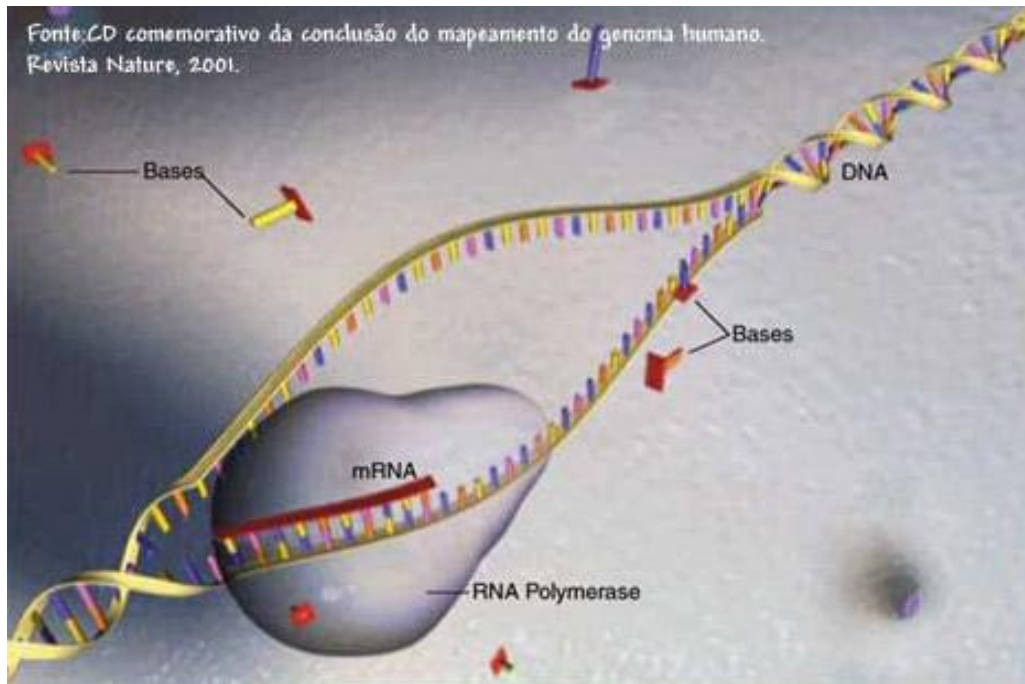
► Mecanismo da síntese proteica

Duas etapas fundamentais:

Transcrição da mensagem genética - segmentos de DNA codificam a produção de RNA.

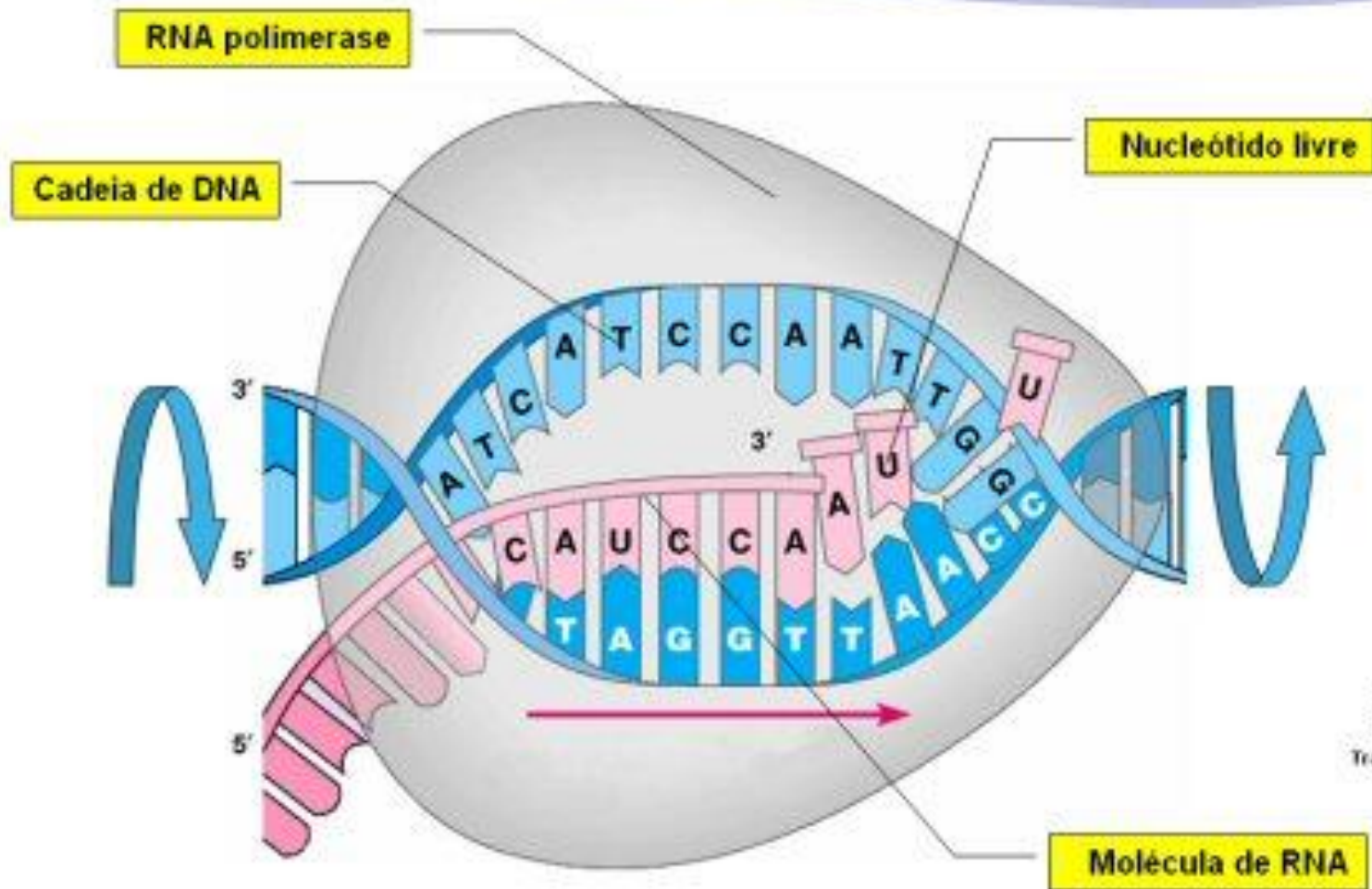
Tradução da mensagem genética - o RNA codifica a produção de proteínas.

Transcrição



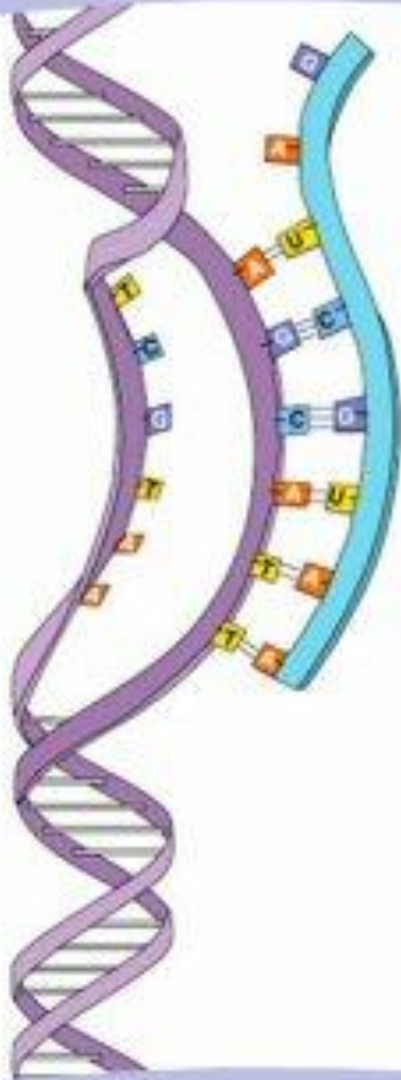
- Corresponde à transferência da informação presente no DNA para uma molécula de RNA.
- O RNA que leva a informação genética do DNA é o **mRNA**.
- São ainda sintetizados o tRNA e o rRNA.
- Na síntese do RNA, a partir de um segmento de DNA, é necessária a **enzima RNA polimerase**, nucleótidos e energia (ATP).

Transcrição





Intervenientes	Função
Cadeia de DNA	Molde para a síntese de RNA
Nucleótidos de RNA	Unidades para a síntese de RNA
RNA polimerase	Catalisador das reacções
ATP	Fornece a energia



► Transcrição da mensagem genética

1º ligação da RNA polimerase a locais específicos do DNA, no núcleo;

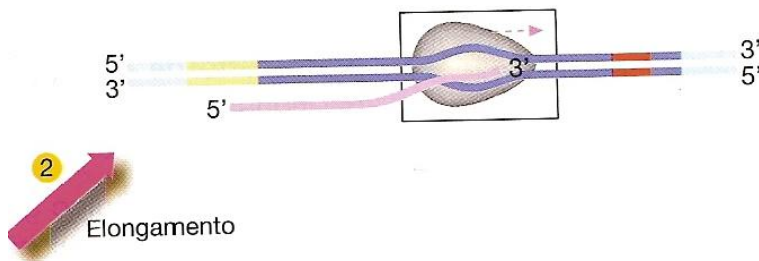
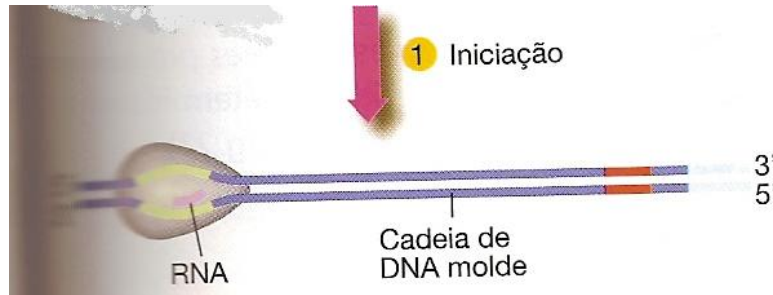
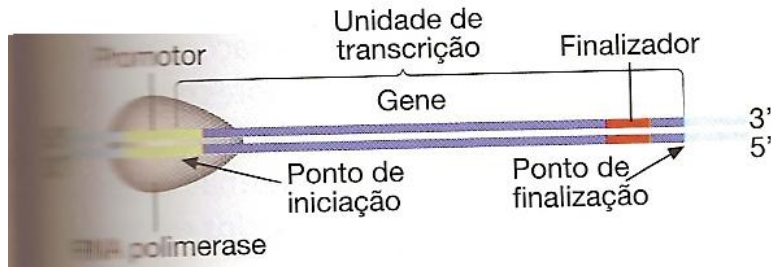
2º rompimento das pontes de hidrogénio e separação das cadeias de DNA;

3º ligação de nucleótidos livres a uma das cadeias do DNA, que funciona como molde, no sentido 5' → 3', formando-se o mRNA;

4º libertação do mRNA sintetizado;

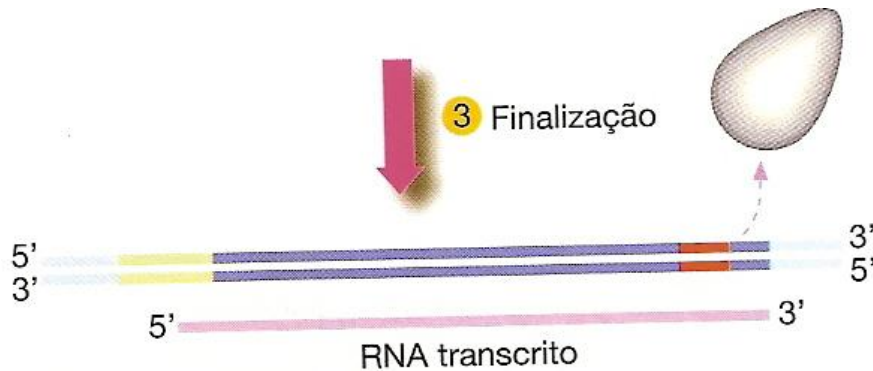
5º restabelecimento das pontes de hidrogénio e da estrutura do DNA.

Iniciação e Elongamento

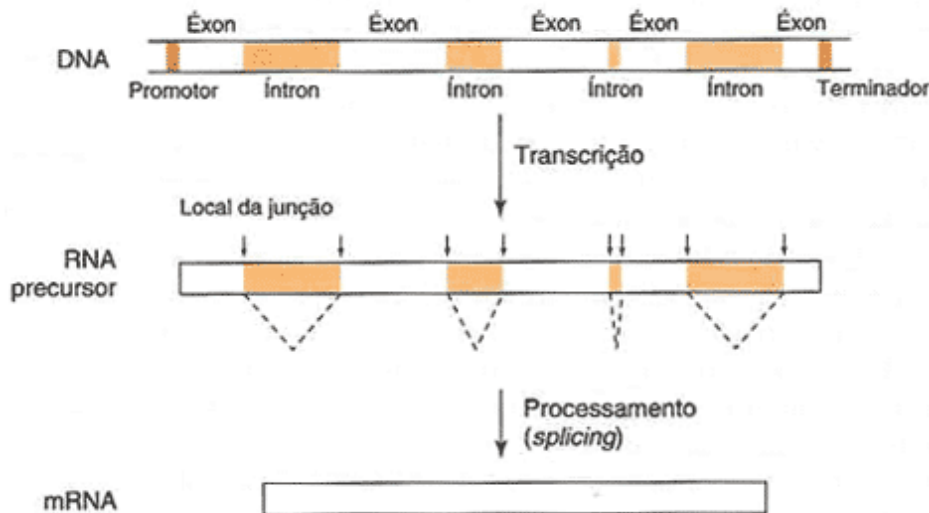


- A transcrição de um gene inicia-se numa sequência específica de DNA à qual a RNA polimerase se liga denominada – **promotor**.
- Os promotores funcionam como marcas de pontuação, indicando o local de ligação da RNA polimerase e qual a cadeia de DNA que vai servir como molde.
- Uma vez ligada ao promotor, a RNA polimerase **desenrola a dupla hélice de DNA** e lê a cadeia molde na direcção **3 - 5** .
- Produz por complementaridade de bases, uma cadeia de **mRNA** na **direcção 5 -3** .
- O **RNA transcrito** é complementar e **antiparalelo** relativamente à cadeia molde de DNA.

Finalização e Processamento

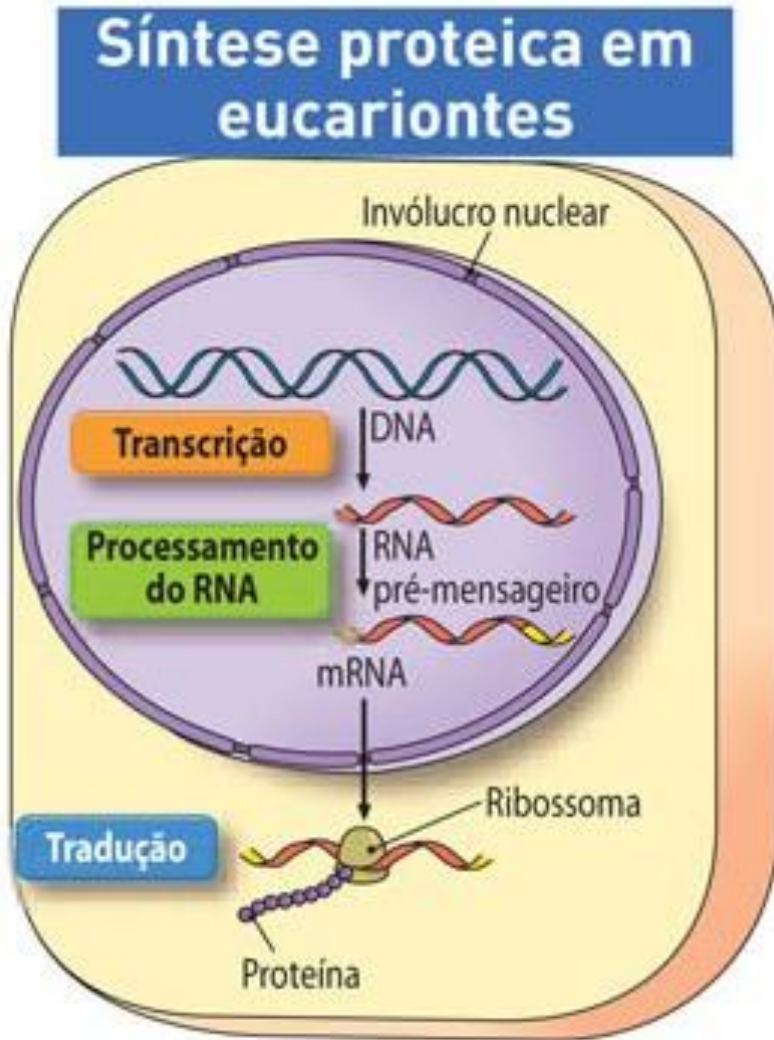


- A RNA polimerase **finaliza** a transcrição quando **atinge** **seqüências de DNA muito específicas e que indicam o fim de um gene.**
- A molécula de mRNA formada, separa-se da cadeia molde de DNA.
- As duas cadeias de DNA voltam a emparelhar por restabelecimento das pontes de hidrogénio entre bases complementares, readquirindo a estrutura inicial de dupla hélice.



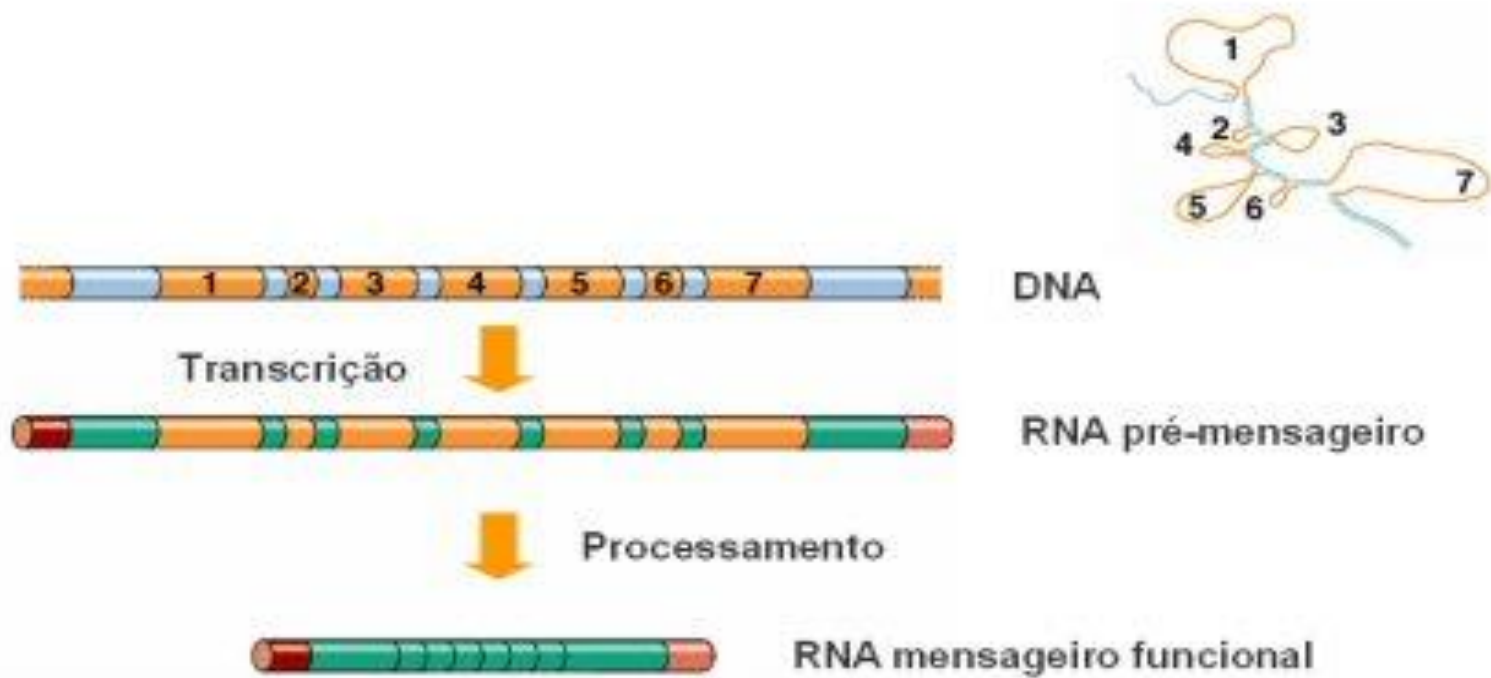
Nos organismos **eucariontes** a molécula resultante da transcrição denomina-se **pré-mRNA**, uma vez que vai sofrer **processamento** até se transformar em **mRNA**.

Processamento



- Na molécula de mRNA imatura existem porções –**intrões** – que não contêm informação para a síntese proteica.
- Antes da molécula passar para o citoplasma, os **intrões são removidos**.
- As porções que permanecem – **exões** – são expressas na fase seguinte, originando uma **proteína**.
- É o conjunto dos exões que deixa o núcleo através dos poros da membrana, migrando para o citoplasma.
- O processo de remoção dos intrões, designa-se por **maturação, processamento** ou **splicing**.

Processamento de mRNA



Processamento de mRNA

► Processamento do mRNA

o mRNA sofre um processo de maturação em que os **intrões** (sequências de nucleótidos sem significado na síntese proteica) transcritos são removidos e os **exões** (sequências de nucleótidos que especificam aminoácidos) são ligados entre si.

► Migração do mRNA

o mRNA **funcional** abandona o núcleo em direcção ao citoplasma.

