

Ficha de Apoio Teórico: **Replicação do DNA**

Introdução

Uma das características mais pertinentes de todos os organismos vivos é a sua capacidade de reprodução, através da qual transmitem à descendência as suas características próprias. A capacidade de se reproduzir é a chave da sobrevivência e evolução das espécies. O conjunto de características transmitidas pelos progenitores aos seus descendentes constitui a sua **herança genética**. Assim, todas as células vivas provêm de outras preexistentes que, em cada divisão celular, transmitem o material genético às células-filhas, assegurando que as funções que executam serão perpetuadas na sua descendência. No final da divisão celular, as células-filhas herdam as mesmas informações genéticas contidas na célula progenitora. Como essas informações se encontram no DNA, cada uma das suas moléculas deve produzir previamente duas moléculas de DNA idênticas à do DNA original para serem repartidas de forma equitativa entre as duas células-filhas. Esta duplicação, graças à qual o DNA se propaga nas células de geração em geração, denomina-se **replicação**.

Para que se possam formar duas moléculas de DNA a partir de uma molécula, primeiro devem ser separadas as cadeias da dupla hélice do DNA preexistente, as quais servem de molde para a construção de cadeias complementares. Atendendo a que as cadeias recentemente construídas permanecem com as cadeias-moldes, formam-se duas novas hélices de DNA (figura 1).

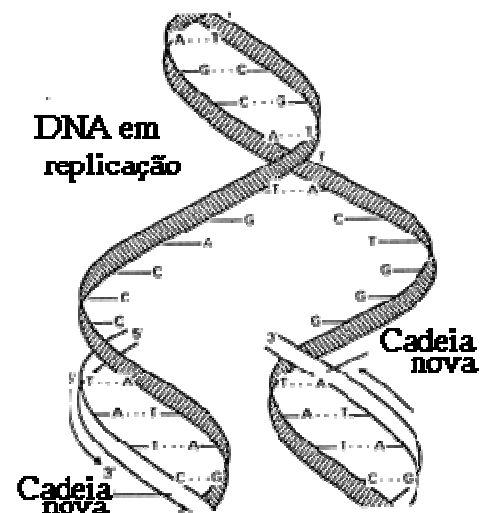


Figura 1: Replicação de uma molécula de DNA. Note-se que a síntese das novas cadeias se realiza unicamente na direcção 5' → 3'.

A vida das células passa por duas etapas que se alternam ciclicamente, conhecidas pelos nomes de interfase e mitose. A interfase subdivide-se em três períodos, chamados G1, S e G2 (figura 2). Na fase G1 ocorrem as diferentes actividades da célula (secreção, condução, contracção, endocitose, etc.). Em seguida ocorre a fase S, em cujo transcurso se produz a replicação do DNA. Depois é a vez da fase G2, que se estende até o começo da fase M (chamada mitose ou divisão celular), ao final da qual as moléculas de DNA duplicadas são segregadas entre as células-filhas.

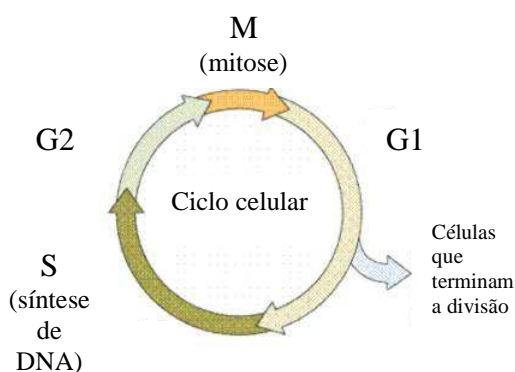


Figura 2: Ciclo vital de uma célula, que compreende a interfase e a mitose. A primeira inclui as fases G1, S e G2. A replicação do DNA ocorre durante a fase S.

Mecanismo da replicação do DNA

O DNA é sintetizado na direcção 5' → 3' e utiliza como molde uma cadeia de DNA preexistente. Neste processo intervêm enzimas. A enzima **helicase** separa as duas cadeias de DNA. Estas enzimas desenrolam as duas cadeias que compõem a dupla hélice, quebrando as ligações hidrogénio estabelecidas entre as bases azotadas complementares de cada cadeia. De modo a aliviar a tensão de torção das cadeias durante o seu desenrolar pela helicase, enzimas do tipo **topoisomerase** vão igualmente actuar neste processo. Estas enzimas associam-se com a cadeia dupla parental a montante de cada uma das helicases e removem a tensão provocada pela torção da cadeia dupla, através de uma série de cortes pontuais nas ligações fosfodiéster, reformadas de seguida pela mesma enzima.

As **DNA polimerases** agregam os sucessivos nucleotídeos na extremidade 3' da cadeia em crescimento. As DNA polimerases catalizam as ligações fosfodiéster entre o grupo OH no C3' da desoxirribose de um nucleotídeo e o grupo fosfato no C5' do nucleotídeo recém-adicionado. As DNA polimerases possuem duas características fundamentais:

- Todas sintetizam DNA apenas no sentido 5' → 3';
- Nenhuma é capaz de iniciar a síntese de novo de uma cadeia de DNA, o que implica a necessidade de formação de sequências iniciadoras da cadeia-filha (RNA iniciador).

Na replicação as duas cadeias do DNA separam-se totalmente, ambas são usadas como molde e, já que as cadeias-filhas ficam junto das progenitoras, estas obviamente não se tornam a juntar. Consequentemente, a partir da dupla hélice de uma molécula de DNA originam-se duas moléculas de DNA – duas duplas hélices – ambas compostas por uma cadeia herdada do DNA progenitor e uma cadeia recém-sintetizada. Como no final da mitose, cada célula-filha recebe moléculas de DNA cujas duplas hélices estão integradas por uma cadeia original (preexistente) e uma cadeia nova (recém-sintetizada), diz-se que o mecanismo da replicação do DNA é **semiconservador** (figura 3).

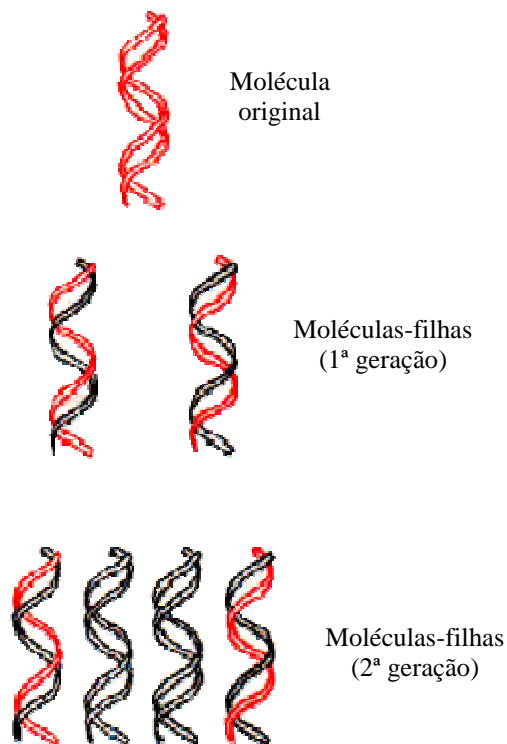


Figura 3: Replicação semiconservadora do DNA.

A duplicação do DNA é produzida a partir de várias origens da replicação

Se o DNA começasse a sua replicação por uma das extremidades da molécula e avançasse uniformemente ao longo desta, o processo de síntese demoraria, até estar concluído, pelo menos 30 dias. No entanto, a duração da fase S, isto é, o tempo que o DNA demora para se duplicar é de aproximadamente 7 horas. A rapidez com que o faz, deve-se ao aparecimento, ao longo do DNA, de várias origens da replicação. Cada origem de replicação é formada quando se separam localmente as duas cadeias do DNA, evento que ocorre em vários pontos da molécula ao mesmo tempo. Todavia, nem todas as origens surgem

simultaneamente, já que o momento da sua aparição depende das características da cromatina nos diversos sectores do cromossoma.

Uma **origem de replicação** apresenta três características básicas:

- São constituídas por múltiplas sequências repetitivas;
- Estas unidades repetitivas são reconhecidas por complexos multiproteicos, envolvidos no recrutamento da maquinaria de replicação da célula para a zona da origem de replicação;
- A origem de replicação é em geral flaqueada por sequências ricas em adeninas e timinas, o que deverá facilitar o desenrolar e a separação das duas cadeias, dado o menor número de ligações de hidrogénio envolvidas na estabilização da hélice.

A replicação do DNA é um processo bidireccional

Quando a dupla hélice se abre, forma-se uma estrutura chamada *bolha de replicação* (figura 4), cujo tamanho aumenta à medida que avança a separação das duas cadeias de DNA, fenómeno que se produz simultaneamente nos dois extremos da bolha.

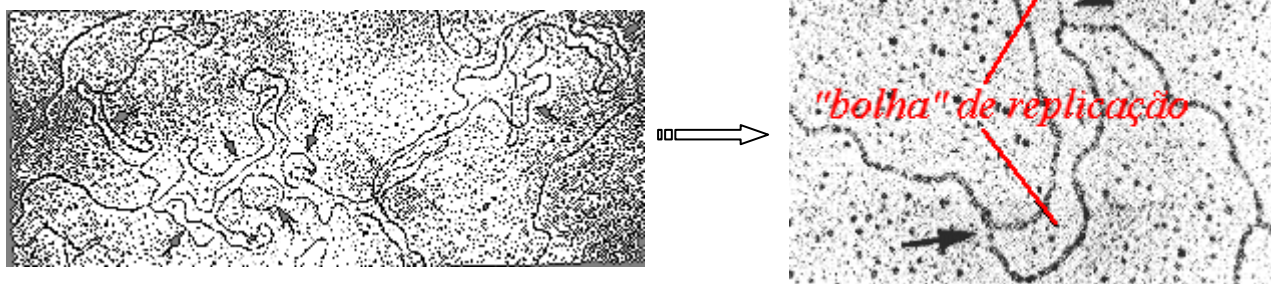


Figura 4: Bolhas de replicação distribuídas ao longo do DNA.

Estabelece-se, desta forma, em cada um destes extremos, uma estrutura em forma de Y – chamada **forquilha de replicação** – cujos dois braços representam as cadeias do DNA já separadas e o tronco representa a dupla hélice em vias de separação (figura 5). Deste modo, cada bolha tem duas forquilhas de replicação que, a partir de um ponto de origem comum, avançam em direcções opostas. As forquilhas desaparecem quando se integram com as suas similares nas bolhas contíguas, ao colidirem, após aproximação progressiva. Relativamente às forquilhas que percorrem o último segmento dos telômeros (em ambos os extremos do cromossoma), estas extinguem-se quando se produz a separação do último par de nucleotídeos.

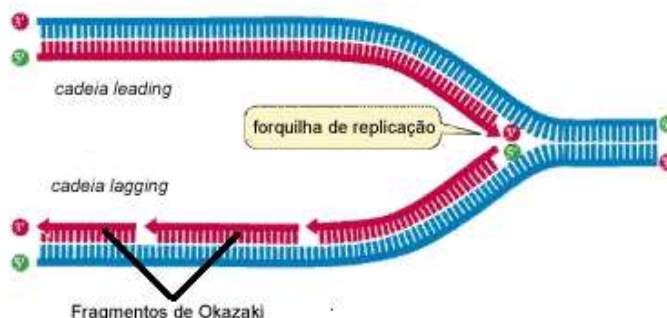


Figura 5: Forquilha de replicação.

O segmento do DNA que é sintetizado a partir de uma origem da replicação (com as suas duas forquilhas) chama-se **replicação**. A replicação está concluída quando se conectam entre si os replicões sucessivos. A acção cooperativa de milhares de replicões permite que o DNA se sintetize num tempo relativamente curto para o ciclo de vida da célula.

Existem diferenças no modo como são sintetizadas as duas novas cadeias de DNA

As cadeias de DNA são **antiparalelas**, o que cria uma primeira dificuldade durante a síntese de novas moléculas de DNA.

Ao nível de cada forquilha de replicação, conforme a separação das duas cadeias progride, uma apresenta os seus nucleótidos na direcção $5' \rightarrow 3'$ e a outra na direcção $3' \rightarrow 5'$, de modo que a primeira, ao ser copiada, deveria gerar uma cadeia-filha que crescesse na direcção $3' \rightarrow 5'$, algo que nenhuma DNA polimerase pode fazer.

A célula resolve esta situação usando estratégias distintas na construção das duas novas cadeias. A cadeia-filha que adopta como molde a cadeia progenitora que corre na direcção $3' \rightarrow 5'$ é construída, ao crescer na direcção $5' \rightarrow 3'$, **de forma contínua**, por intermédio da agregação de nucleotídeos na sua extremidade $3'$, à medida que avança a forquilha de replicação. Por outro lado, a outra cadeia-filha cujo molde é a cadeia progenitora que corre na direcção $5' \rightarrow 3'$, é sintetizada de um modo singular, já que, para crescer nesta direcção, a sua síntese deve ocorrer na direcção oposta ao avanço da forquilha de replicação. O problema supera-se fazendo com que a síntese seja **descontínua**, o que implica que a nova cadeia seja construída em pequenos segmentos – fragmentos de Okazaki – que se ligam entre si, à medida que são produzidos (figura 6).

A cadeia sintetizada de forma contínua é conhecida pelo nome de *adiantada* e a descontínua é denominada *atrasada*.

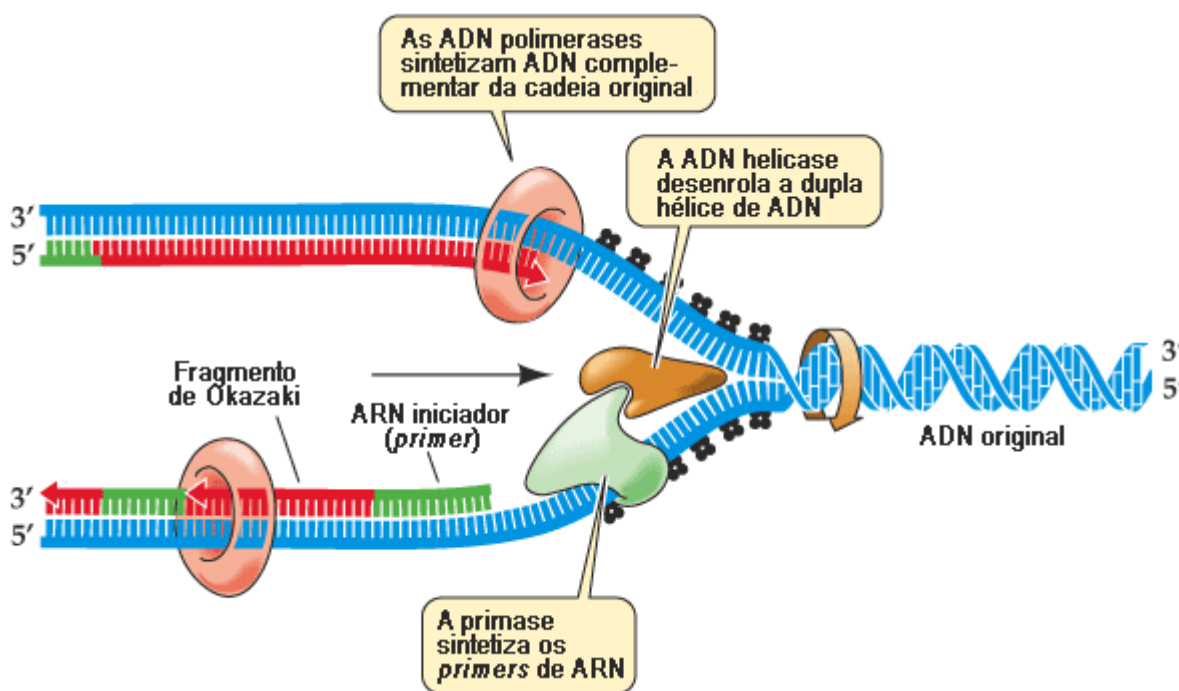


Figura 6: Replicação do DNA.

A replicação do DNA é um **processo bidireccional** não só porque se produz em duas direcções divergentes, a partir de uma mesma bolha de replicação, mas também, porque as cadeias da dupla hélice são sintetizadas em direcções opostas. Além disso, é **assimétrica**, já que, tomando como referência uma das duas cadeias do DNA, de um lado da bolha a replicação é contínua, enquanto, no outro lado, é descontínua. A síntese contínua avança na mesma direcção em que o faz a forquilha de replicação, enquanto a descontínua avança na direcção contrária.

A cadeia de DNA sintetizada de forma contínua começa a replicar-se a partir de um primer

Para iniciar a síntese de uma cadeia complementar de DNA, além da cadeia-molde, a DNA polimerase necessita de um **primer** (RNA iniciador). O RNA iniciador é produzido pela enzima DNA primase e fica associado ao segmento de DNA que copia. Tem como função permitir a ligação à cadeia nascente, da DNA polimerase, para que esta continue a síntese da cadeia-filha na direcção 5' → 3'.

A cadeia de DNA sintetizada de forma descontínua exige muitos primers

A cadeia descontínua necessita de vários primers, um para cada fragmento de Okazaki.

O processo de junção de dois fragmentos de Okazaki implica a remoção do RNA iniciador por uma nuclease reparadora. Os dois fragmentos de DNA são finalmente ligados um ao outro pela **DNA ligase**.

Replicação das extremidades dos cromossomas: função da telomerase

As extremidades 3' dos cromossomas são mais compridos do que as extremidades 5' e são mais ricas em resíduos de guanina, contendo entre 12 a 16 nucleotídeos a mais. Esta estrutura particular está associada a proteínas que reconhecem as guaninas e se ligam de modo a estabilizar as extremidades dos cromossomas e impedir a sua degradação.

As extremidades dos cromossomas lineares têm um sistema próprio de replicação no qual uma enzima específica – a **telomerase** – adiciona à extremidade 3' de cada cromossoma sequências repetitivas (*sequências teloméricas*), iguais para todos os cromossomas de uma mesma espécie.

Detecção e correcção de erros

A manutenção da hereditariedade implica que a passagem da informação genética à descendência se faça sem erros, o que exige uma capacidade de detecção e correcção da quase totalidade dos erros que possam ocorrer durante este processo por parte das enzimas envolvidas.

Este processo é complementado por mecanismos complexos de reparação que ocorrem após a replicação e ao longo da vida da célula.