

## Replicação

Catarina Moreira

Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa  
catarolina@gmail.com

### CITAÇÃO

Moreira, C. (2014)  
Replicação,  
*Rev. Ciência Elem.*, V2(01):096.  
[doi.org/10.24927/rce2014.096](https://doi.org/10.24927/rce2014.096)

### EDITOR

José Ferreira Gomes,  
Universidade do Porto

### RECEBIDO EM

20 de outubro de 2009

### ACEITE EM

28 de fevereiro de 2010

### PUBLICADO EM

15 de setembro de 2010

### COPYRIGHT

© Casa das Ciências 2019.  
Este artigo é de acesso livre,  
distribuído sob licença Creative  
Commons com a designação  
[CC-BY-NC-SA 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/), que permite  
a utilização e a partilha para fins  
não comerciais, desde que citado  
o autor e a fonte original do artigo.

[rce.casadasciencias.org](http://rce.casadasciencias.org)



A replicação é um processo de síntese de novas cadeias de DNA a partir de cadeias de DNA parentais utilizadas como molde. Nos humanos e outros eucariotas, a replicação ocorre no núcleo da célula.

Baseado no modelo de dupla hélice proposto por Watson e Crick, em 1953, de que resulta a ideia de emparelhamento das bases do DNA (**complementaridade das bases**) é avançada a hipótese de que o DNA tem a capacidade de se auto-duplicar. Este processo sabe-se hoje ser semiconservativo – **hipótese semiconservativa** – isto é, cada uma das novas moléculas de DNA resultantes de replicação é constituída por uma cadeia proveniente da molécula original de DNA que serviu de molde e por uma cadeia complementar anti-paralela sintetizada de novo.

Outros investigadores sugeriram modelos alternativos: a **hipótese conservativa** admitia que a molécula de DNA original se mantinha, servindo apenas de molde para a formação de uma nova molécula formada por duas novas cadeias de nucleótidos; a **hipótese dispersiva**, por seu lado, admitia que as novas moléculas de DNA teriam cadeias formadas por porções da molécula inicial e por porções sintetizadas de novo.

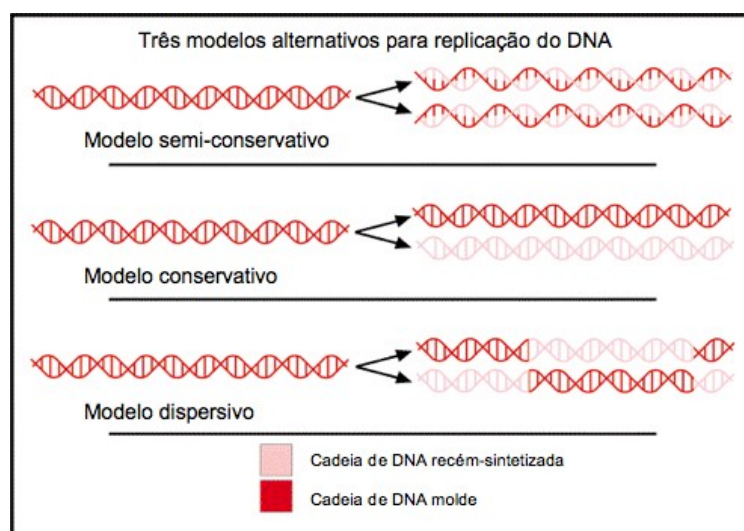


FIGURA 1. Modelos explicativos do processo de replicação do DNA.

Em 1956, Arthur Kornberg demonstrou que era possível replicar a molécula de DNA em laboratório, i.e., no exterior da célula. Para esta replicação *in vitro* é necessário para além da molécula de DNA parental, a enzima polimerase do DNA e os quatro tipos de nucleótidos (adenina, citosina, timina e guanina) que formam este ácido nucleico.

Embora Watson e Crick tivessem postulado sobre a replicação semiconservativa das cadeias de DNA e de Kornberg ter replicado em laboratório moléculas de DNA, só em 1958 com as experiências de Matthew Meselson e Franklin Stahl (através da marcação do DNA com um isótopo de azoto pesado  $^{15}\text{N}$ ) se esclareceu o mecanismo de replicação do DNA.

### **As experiências de Meselson e Stahl**

Meselson e Stahl cultivaram bactérias *Escherichia coli* num meio de cultura enriquecido com um isótopo pesado de azoto  $^{15}\text{N}$ , em vez do usual  $^{14}\text{N}$  mais abundante e com menor massa. Devido às suas diferentes massas estes dois isótopos podem ser separados por centrifugação, o que permitiria aos investigadores separar moléculas de DNA que incorporassem diferentes isótopos. As bactérias *E. coli* cresceram durante várias gerações no meio com  $^{15}\text{N}$  e após extração do DNA destas células, e centrifugação do mesmo, verificaram que tinha densidade superior ao DNA de bactérias a crescer em meio contendo  $^{14}\text{N}$ . Numa segunda fase, bactérias *E. coli* originalmente a crescer em meio com  $^{15}\text{N}$  foram transferidas para um meio com  $^{14}\text{N}$ , permitindo-se que realizassem apenas uma divisão celular, com a replicação correspondente do seu DNA. Novamente, o DNA foi extraído e centrifugado. Quando compararam as densidades dos três grupos de DNA extraídos ( $^{14}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$  e  $^{15}\text{N} - ^{14}\text{N}$ ) verificaram que a densidade do DNA das bactérias que tinham crescido nos dois meios (primeiro em  $^{15}\text{N}$  e depois  $^{14}\text{N}$ ) era intermédio do DNA de *E. coli* cultivado apenas em meios simples de  $^{14}\text{N}$  ou  $^{15}\text{N}$  (densidade do DNA extraído:  $^{14}\text{N DNA} < ^{15}\text{N} - ^{14}\text{N DNA} < ^{15}\text{N DNA}$ ). Estes resultados punham de parte a hipótese conservativa de replicação em que se esperaria metade do DNA com densidade equivalente à do  $^{14}\text{N}$  e a outra metade com densidade equivalente à do  $^{15}\text{N}$ , no entanto, quer a hipótese dispersiva quer a semiconservativa poderiam ser explicadas à luz destes resultados. Se a replicação fosse semiconservativa esperar-se-iam cadeias duplas de DNA com uma cadeia  $^{15}\text{N}$  e outra  $^{14}\text{N}$ , e se fosse dispersiva ambas as cadeias de DNA teriam uma mistura de  $^{14}\text{N}$  e  $^{15}\text{N}$ , apresentando nos dois casos densidades intermédias com valores semelhantes.

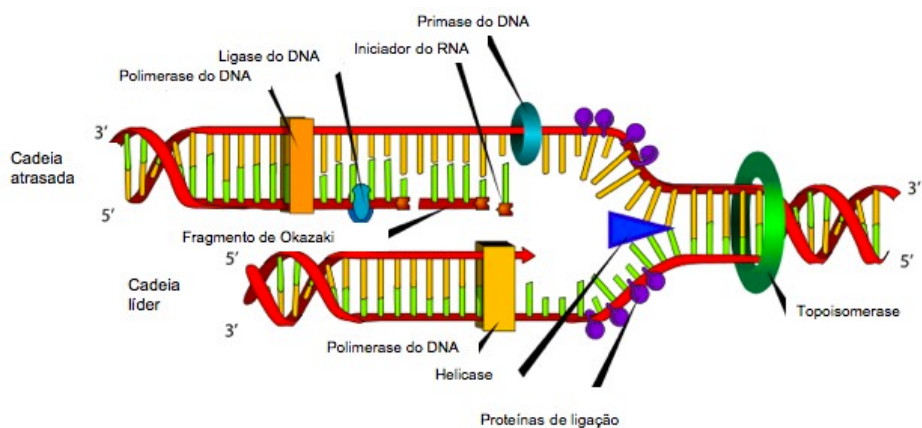
Para averiguar qual das duas hipóteses explicava a replicação do DNA os dois investigadores extraíram DNA de colónias de *E. coli* que tinham crescido durante várias gerações em meio com  $^{15}\text{N}$  e durante apenas duas divisões em meio com  $^{14}\text{N}$ . O DNA extraído consistia em duas porções equivalentes mas de densidades diferentes. Uma correspondia às células que se tinham dividido nos dois meios e, por isso, com uma densidade intermédia e a outra com menor densidade, correspondia às células que se tinham dividido exclusivamente no meio com  $^{14}\text{N}$ . Estes segundos resultados eliminariam a hipótese dispersiva onde se esperaria apenas um único grupo de DNA com a mesma densidade, onde as cadeias formadas teriam várias porções de ambos os isótopos.

### **Como se processa a replicação do DNA**

Depois de se identificar o modelo de replicação do DNA, o passo seguinte foi investigar

como decorre o processo. Cada cadeia de DNA parental servirá de molde à formação de uma nova cadeia complementar (rever **regra de complementaridade** das bases azotadas) utilizando os nucleótidos livres no nucleoplasma de cada célula. O resultado final são duas novas moléculas de DNA de cadeia dupla idênticas entre si, com uma cadeia original e outra complementar recém sintetizada.

O processo de replicação dá-se de forma bidirecional, isto é, para ambos os lados da origem, sendo as duas cadeias de DNA sintetizadas em simultâneo. As cadeias complementares são sintetizadas em direção antiparalela à da cadeia molde, no sentido 5' – 3' e de forma semi-descontínua, i.e., as cadeias filhas não se formam da mesma maneira: uma cresce de modo contínuo, a cadeia líder (do inglês *leading strand*) que é complementar à cadeia 3' – 5', e a outra cresce pela adição de fragmentos, a cadeia atrasada (do inglês *lagging strand*), que é complementar à cadeia 5' – 3' (ver esquema).



Esquema representativo da replicação.

O processo de replicação envolve a participação de várias enzimas, que possibilitam o desenrolar da dupla hélice da molécula de DNA, a separação das suas cadeias e a construção das novas cadeias. Entre elas podemos destacar as **polimerases do DNA** e as **ligases do DNA**.

As **polimerases do DNA** são enzimas responsáveis:

- pela formação de ligações por pontes de hidrogénio entre as bases complementares (A com T e G com C),
- pela ligação do açúcar de um nucleótido com o fosfato do nucleótido seguinte – extremidade 3' da pentose,
- pela correção de erros na sequência nucleotídica.

As **ligases do DNA** são responsáveis por:

- ligar os vários fragmentos – **fragmentos de Okazaki**, que se formam de modo descontínuo na cadeia filha complementar à cadeia parental 5' - 3'.

A replicação desenrola-se em 3 etapas: iniciação, alongação e terminação.

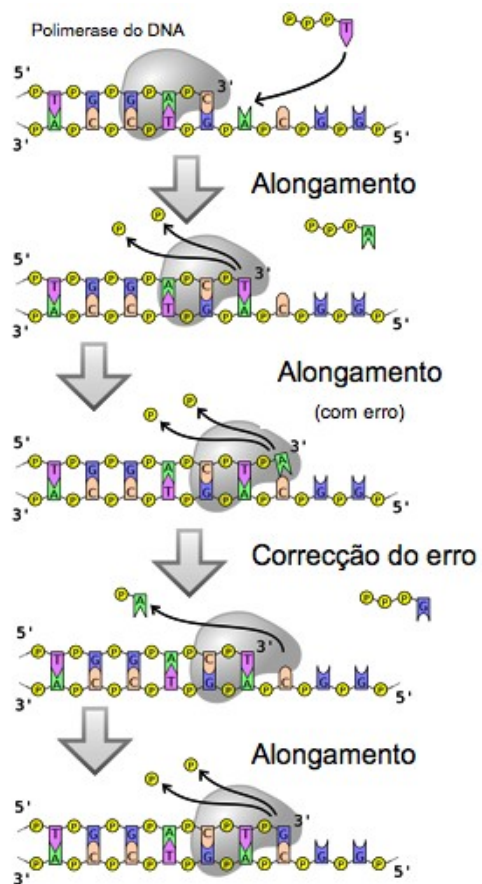
O mecanismo de replicação, embora comum a todos os organismos, sejam eles eucariotas ou procariotas, apresenta grandes diferenças no processo. Nos procariotas, a replicação inicia-se num único ponto da cadeia polinucleotídica e prossegue até terminar, porque nestes organismos apenas existe uma molécula de DNA e o seu comprimento é muito menor que o do DNA eucariota.

Nas células eucariotas a replicação do DNA ocorre, em simultâneo, em múltiplos locais específicos da cromatina (origens de replicação, são sequências ricas em A-T), catalisada pelas polimerases do DNA. A molécula de DNA, começa a desenrolar por ação das enzimas topoisomerases e das helicases, e a desnaturar ao nível das origens de replicação. Para as polimerases do DNA iniciarem a condensação dos nucleótidos percursores (de acordo com a sequência nucleotídica da cadeia simples de DNA molde) é necessária a síntese de um pequeno fragmento de RNA (designado por iniciador, *primer*) catalisada por uma polimerase do RNA específica, a primase (uma subunidade da polimerase do DNA  $\alpha$ ).

A polimerização das novas cadeias de DNA ocorre de forma bidirecional, a partir de cada origem de replicação, formando-se a forquilha de replicação (do inglês '*replication fork*', ver figura) que se deslocam em direções opostas. Em cada braço da forquilha de replicação a polimerização ocorre no sentido 5'-P – 3'-OH, na cadeia líder de forma contínua e na cadeia atrasada de forma descontínua, com a formação de fragmentos, os fragmentos de Okazaki, a partir de iniciadores de RNA. Posteriormente, os segmentos de iniciadores de RNA são removidos e uma polimerase do DNA sintetiza em seguida DNA que preenche as regiões inicialmente ocupadas pelos iniciadores. A continuidade das cadeias recém sintetizadas é assegurada por uma ligase do DNA que catalisa a formação de ligações fosfodiéster entre os vários fragmentos.

### **Como se evitam os erros na síntese das novas cadeias**

Para evitar que erros que possam ter ocorrido durante a síntese permaneçam nas novas cadeias de DNA replicadas, existe uma auto-correção ao longo do processo. A primeira verificação ocorre antes de cada novo nucleótido ser adicionado à cadeia. Cada nucleótido correto tem maior afinidade com a polimerase do DNA que um nucleótido incorreto, uma vez que apenas o correto emparelha no par da base complementar. Depois da adição de um nucleótido, e antes de este formar ligações covalentes com a cadeia de DNA em formação, a enzima sofre uma alteração conformacional. Mais uma vez a presença do nucleótido errado será possivelmente detetada e o mesmo dissocia-se da cadeia. Pode, no entanto, acontecer que o nucleótido incorreto passe esta primeira verificação mas neste caso a polimerase do DNA é impossibilitada de prosseguir. Num destes raros casos o nucleótido inserido incorretamente é retirado da cadeia pela atividade exonucleásica da polimerase do DNA 3' – 5'. Esta capacidade de auto-correção permite que não ocorram erros durante o processo de replicação, assegurando a perfeita complementaridade das bases.



Esquema de correção de erros ocorridos durante a replicação.