

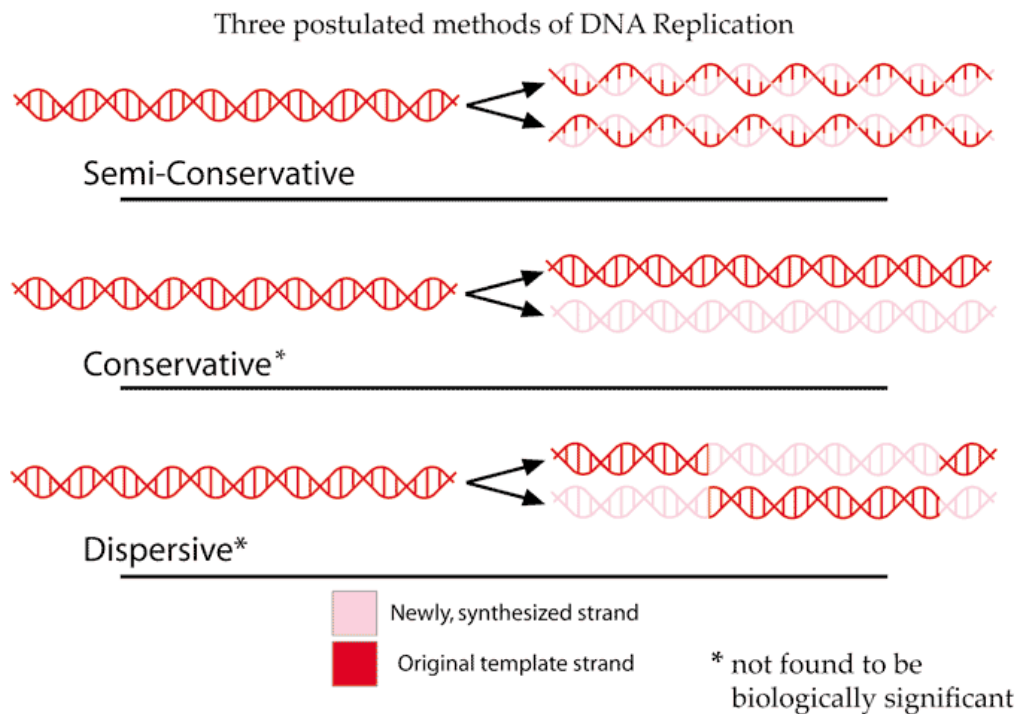
Replicación DNA

¿Qué es?

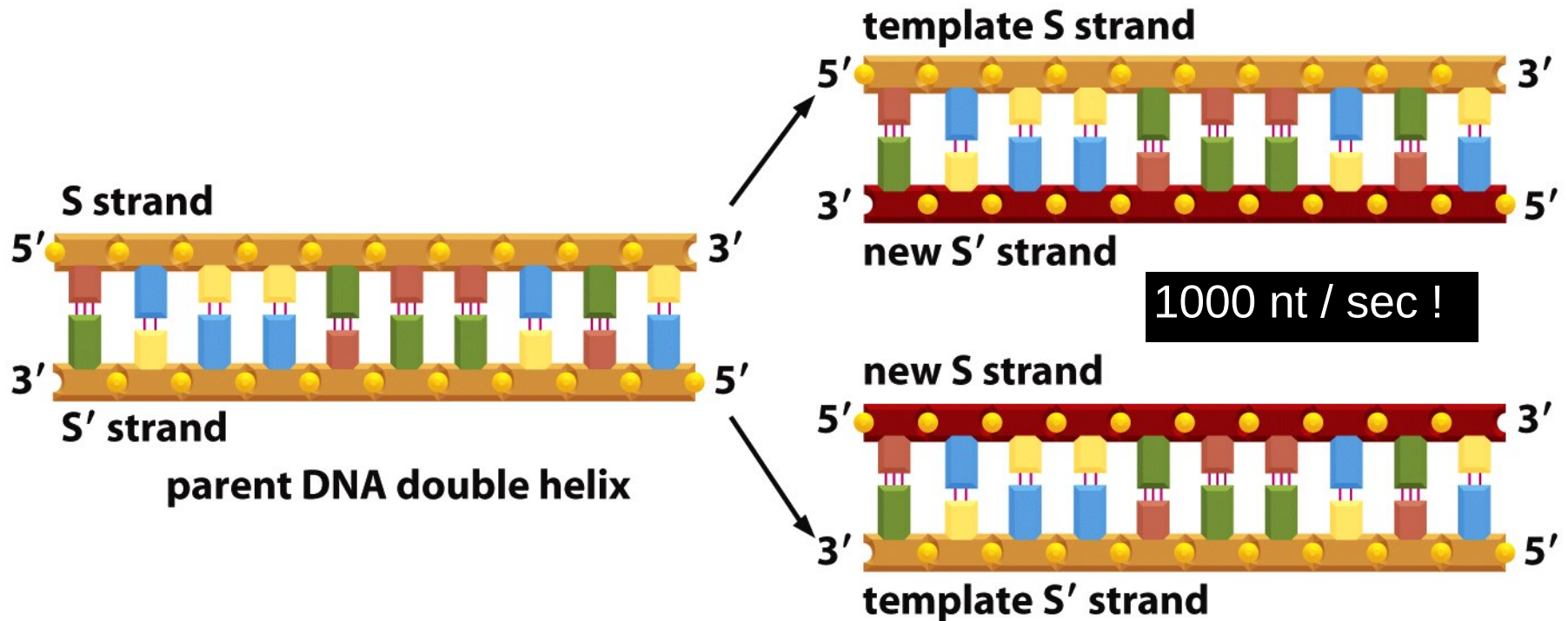
¿Cómo y dónde se produce?

¿Qué enzimas participan?

Existen 3 postulados para explicar la replicación

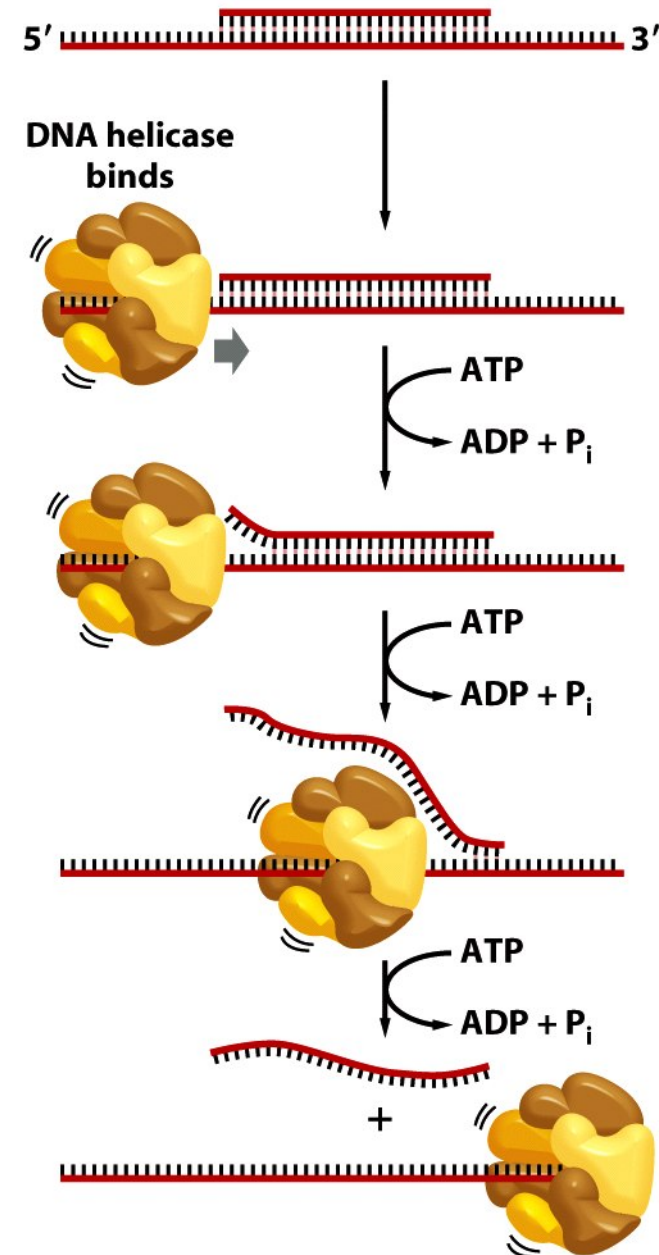


Horquilla de REPLICACION

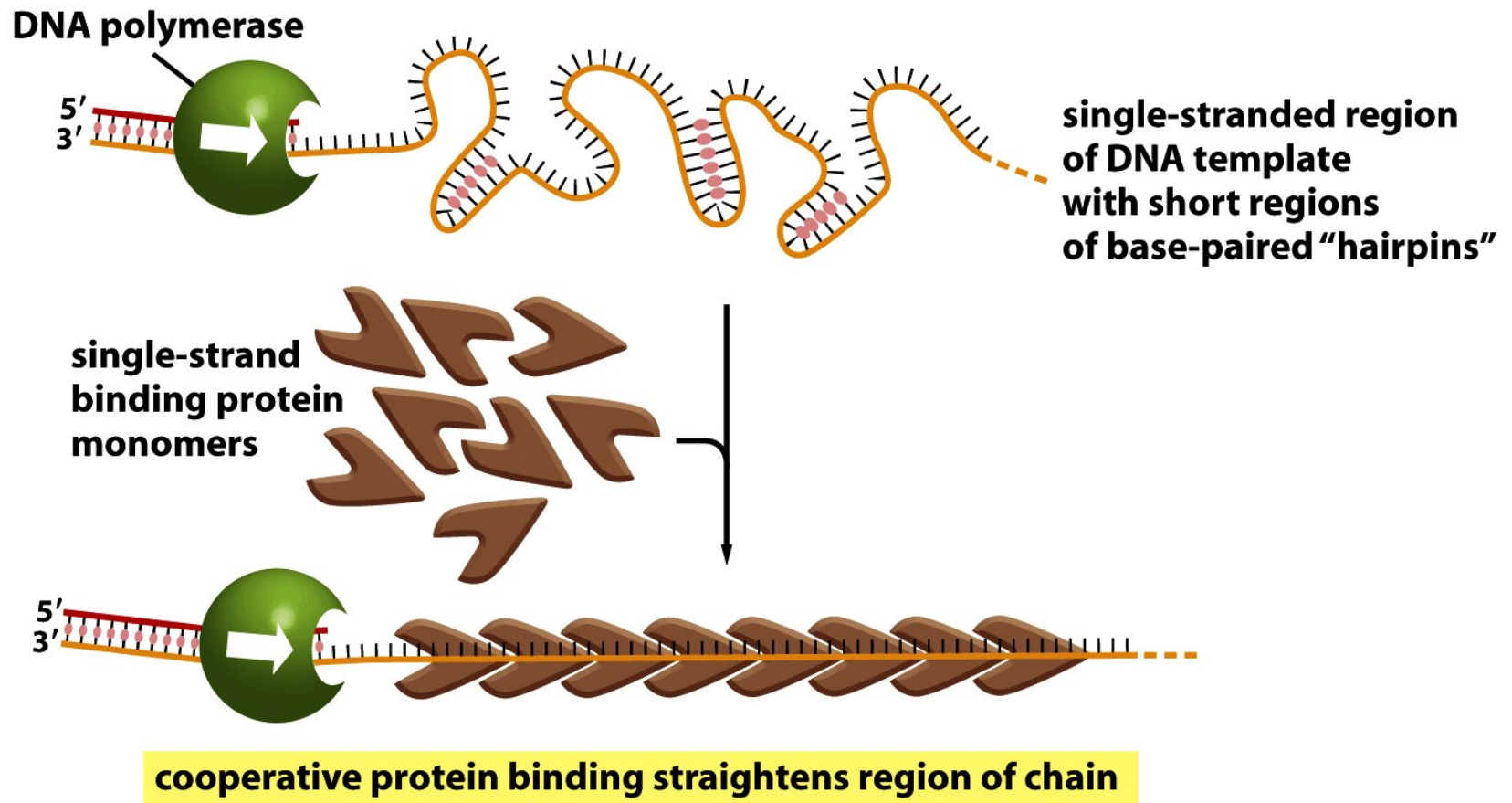


Primero:
Desenrollar y separar las
hebras complementarias:

Helicasa de ADN

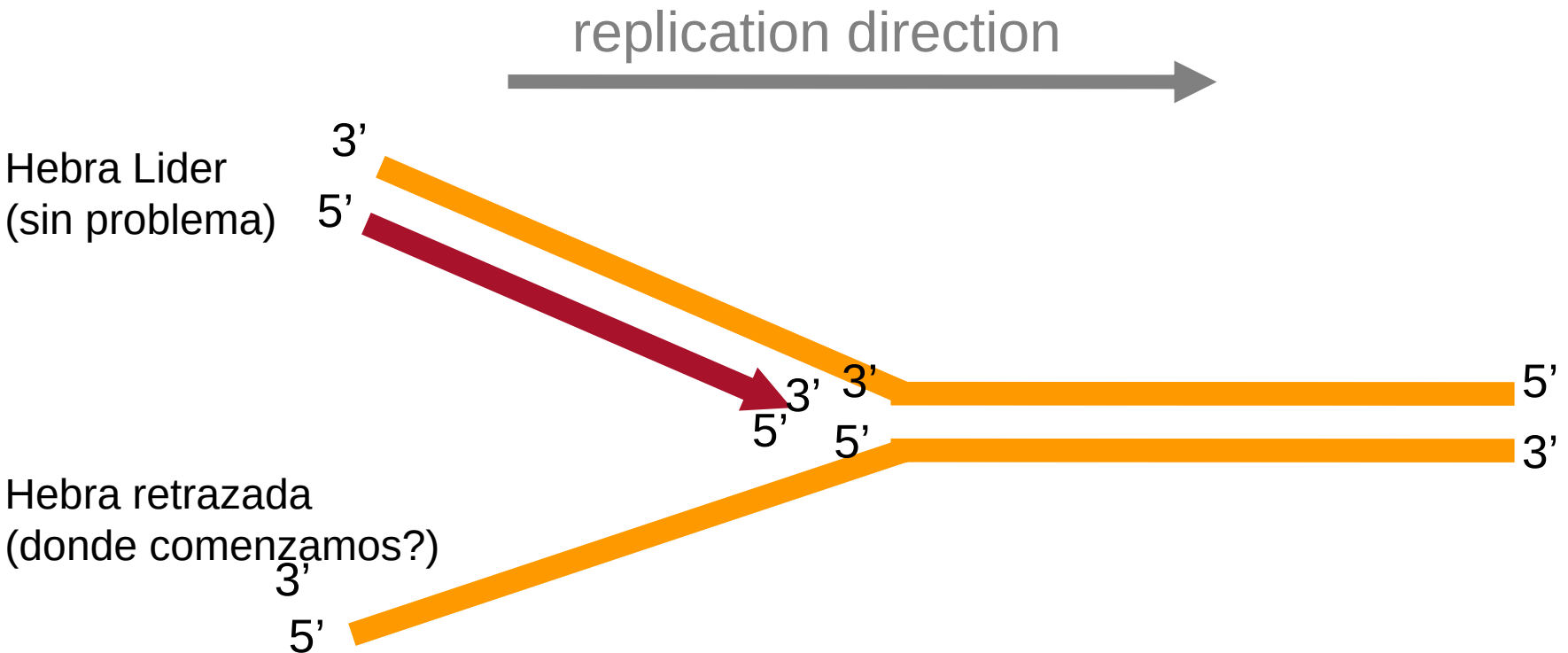


Segundo:
Mantener la estructura lineal (proteínas de unión a hebra simple ó proteínas SSB)



Tercero:
¡Resolver que hacemos con la síntesis
UNIDIRECCIONAL!

La ADN polimerasa sintetiza en dirección $5' \rightarrow 3'$

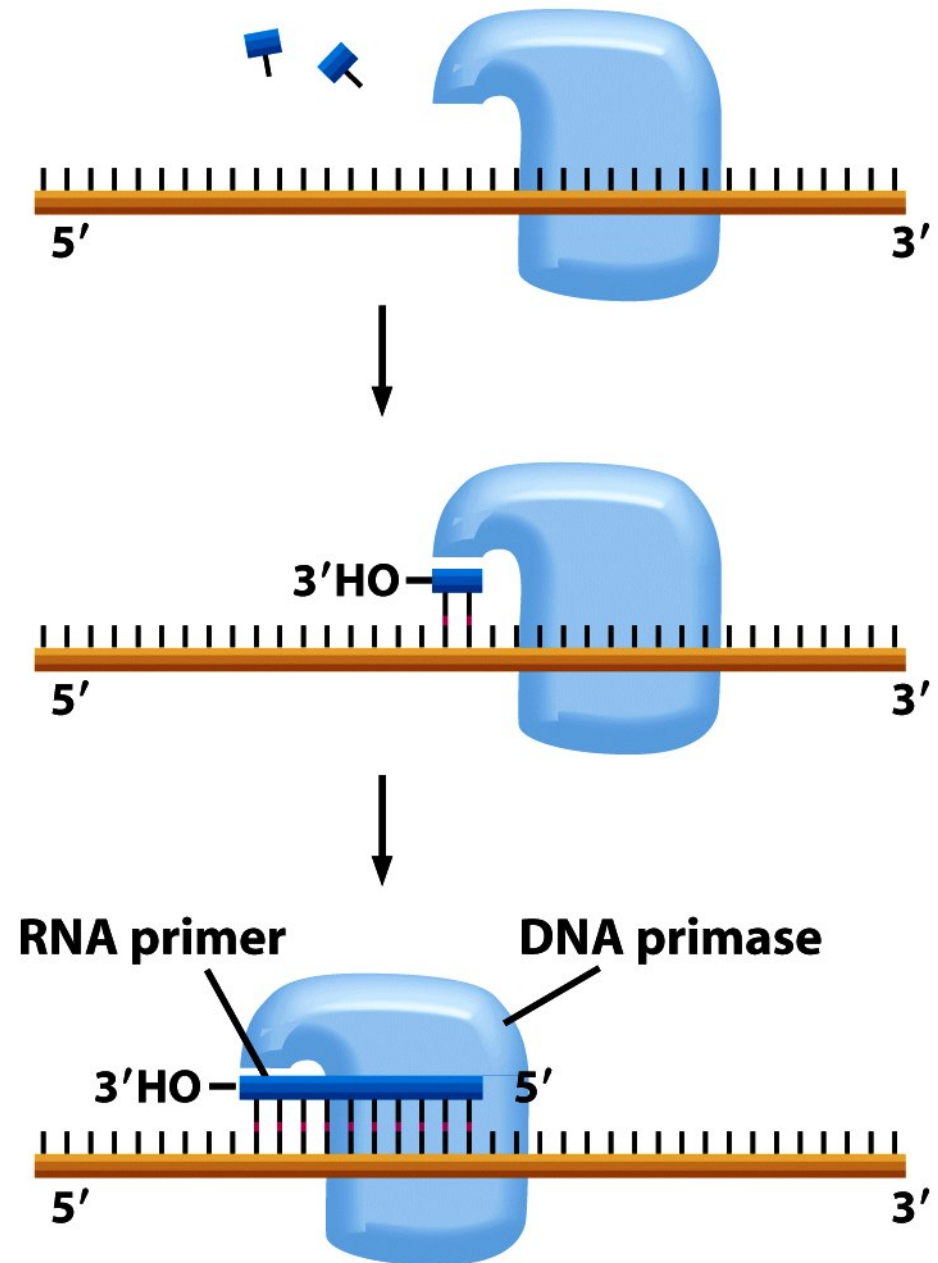


ADEMAS!!

¡La ADN polimerasa no puede iniciar una nueva hebra!

Solo puede continuar una que ya esté empezada

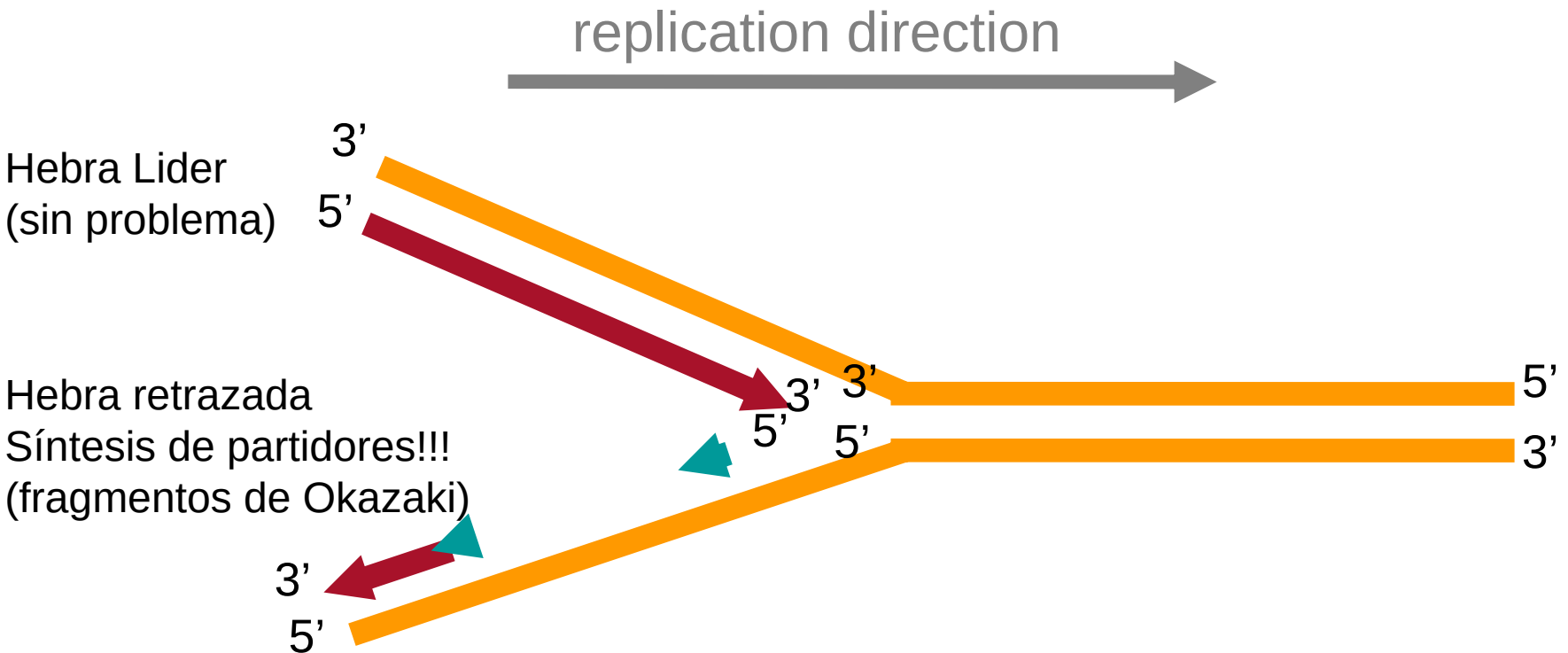
(Pero, las polimerasas de ARN si pueden comenzar hebras partiendo solo desde la hebra molde, por lo que pueden sintetizar partidores para la ADN-Pol)



Por lo tanto:

Se sintetizan partidores que le permitan a la ADN-Pol acoplarse a la hebra retrazada.

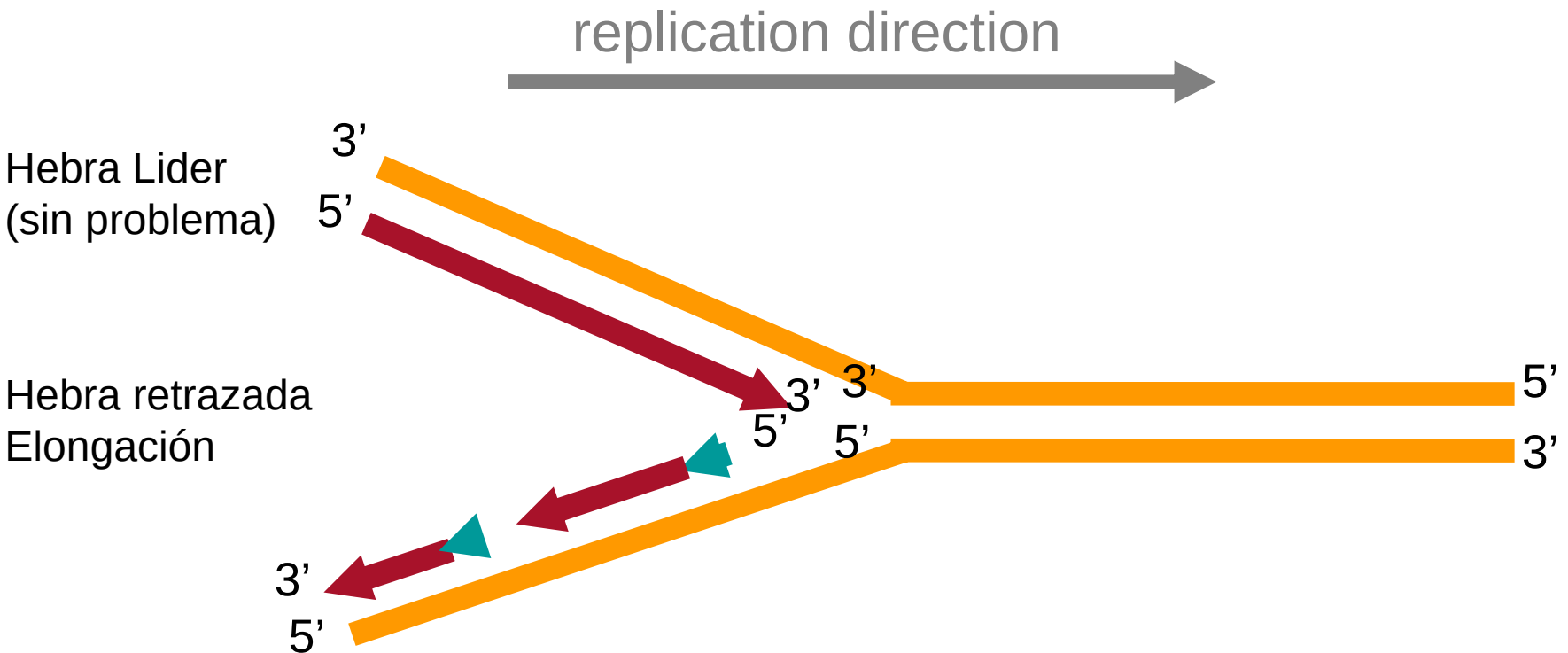
La ADN polimerasa sintetiza en dirección $5' \rightarrow 3'$



Por lo tanto:

Se sintetizan partidores que le permitan a la ADN-Pol acoplarse a la hebra retrazada.

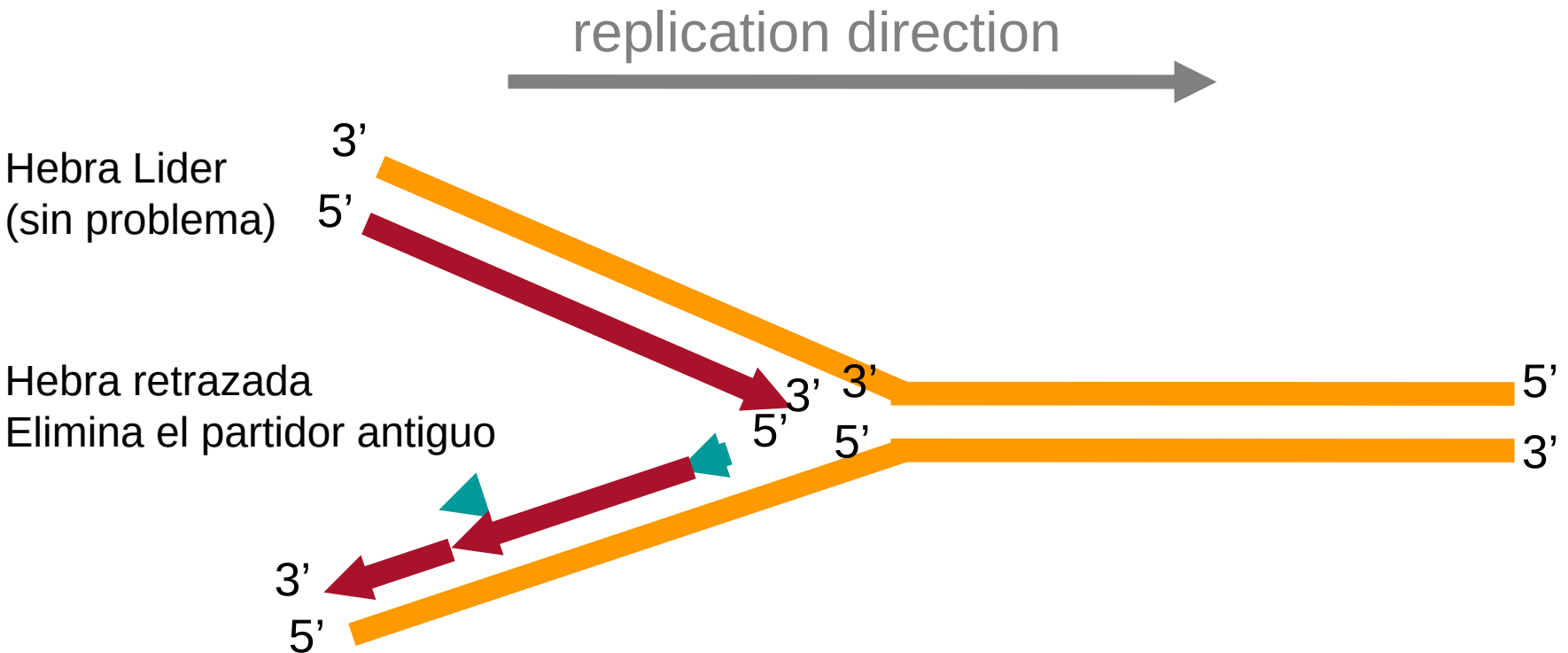
La ADN polimerasa sintetiza en dirección $5' \rightarrow 3'$



Por lo tanto:

Se sintetizan partidores que le permitan a la ADN-Pol acoplarse a la hebra retrazada.

La ADN polimerasa sintetiza en dirección $5' \rightarrow 3'$



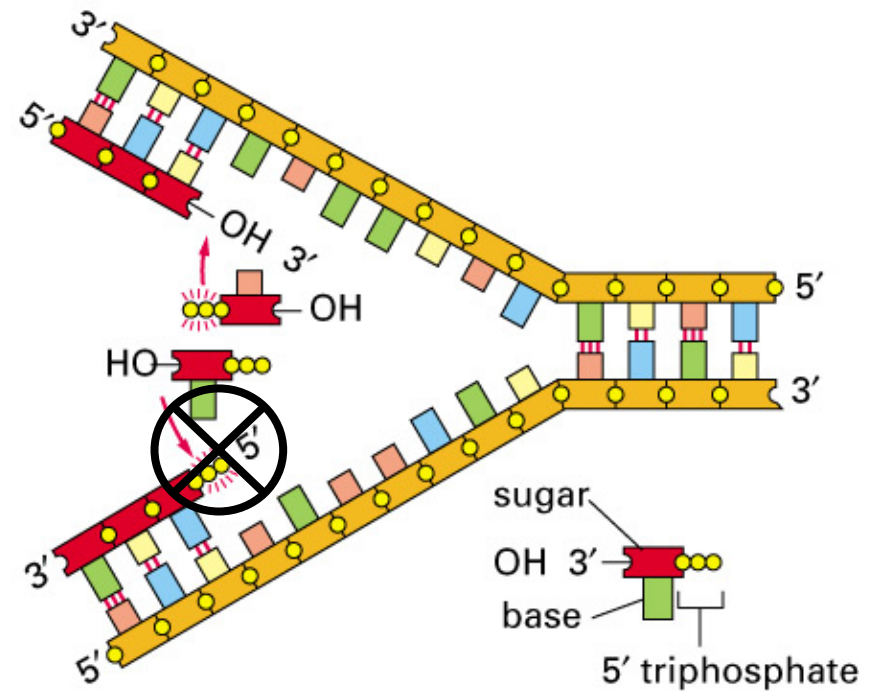
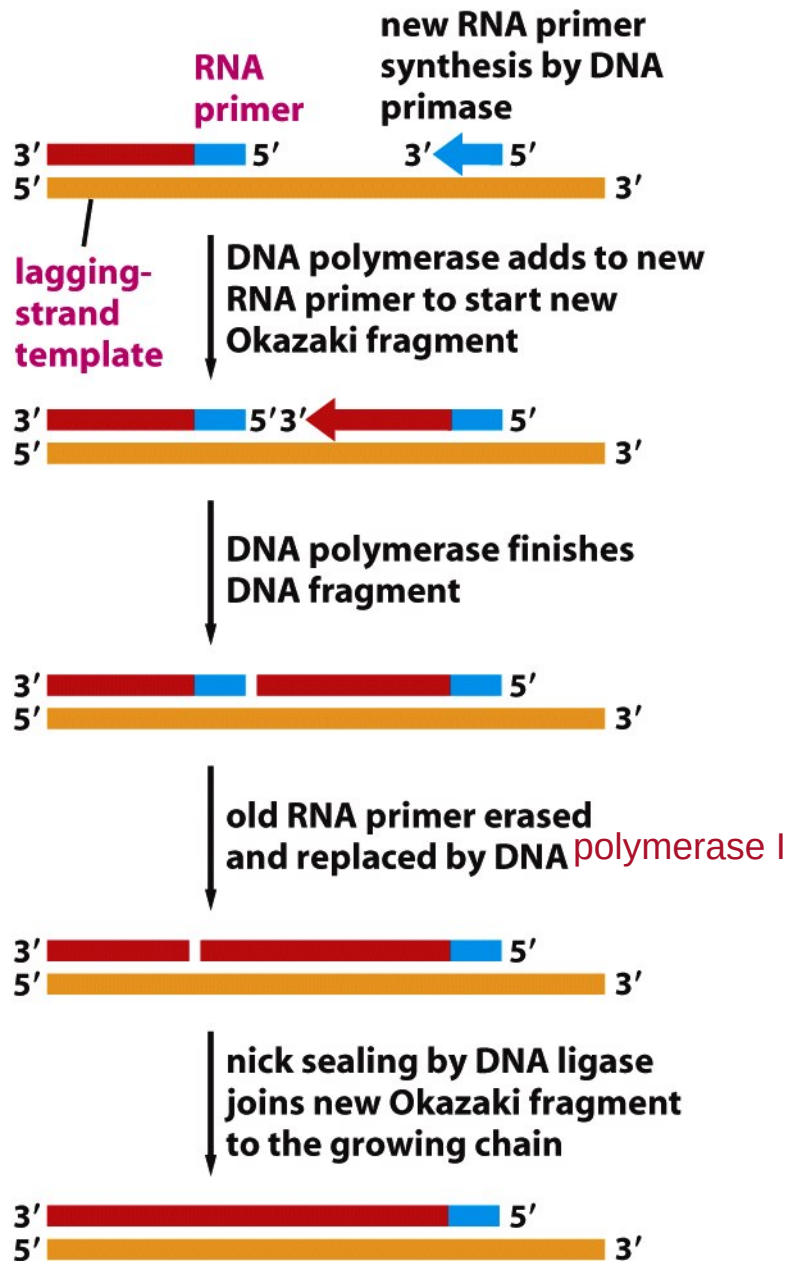


Figure 5-7. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

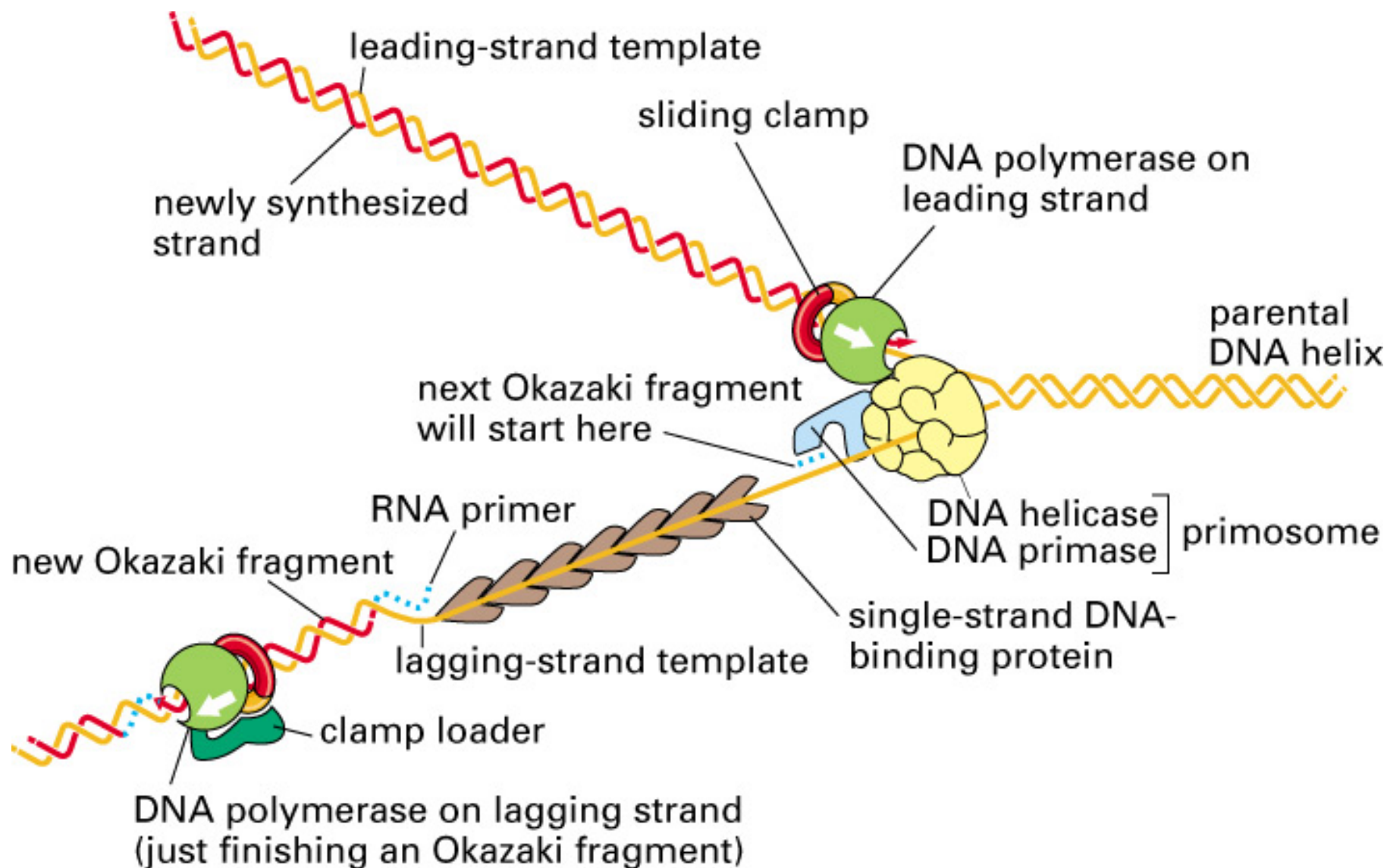


Figure 5-21. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

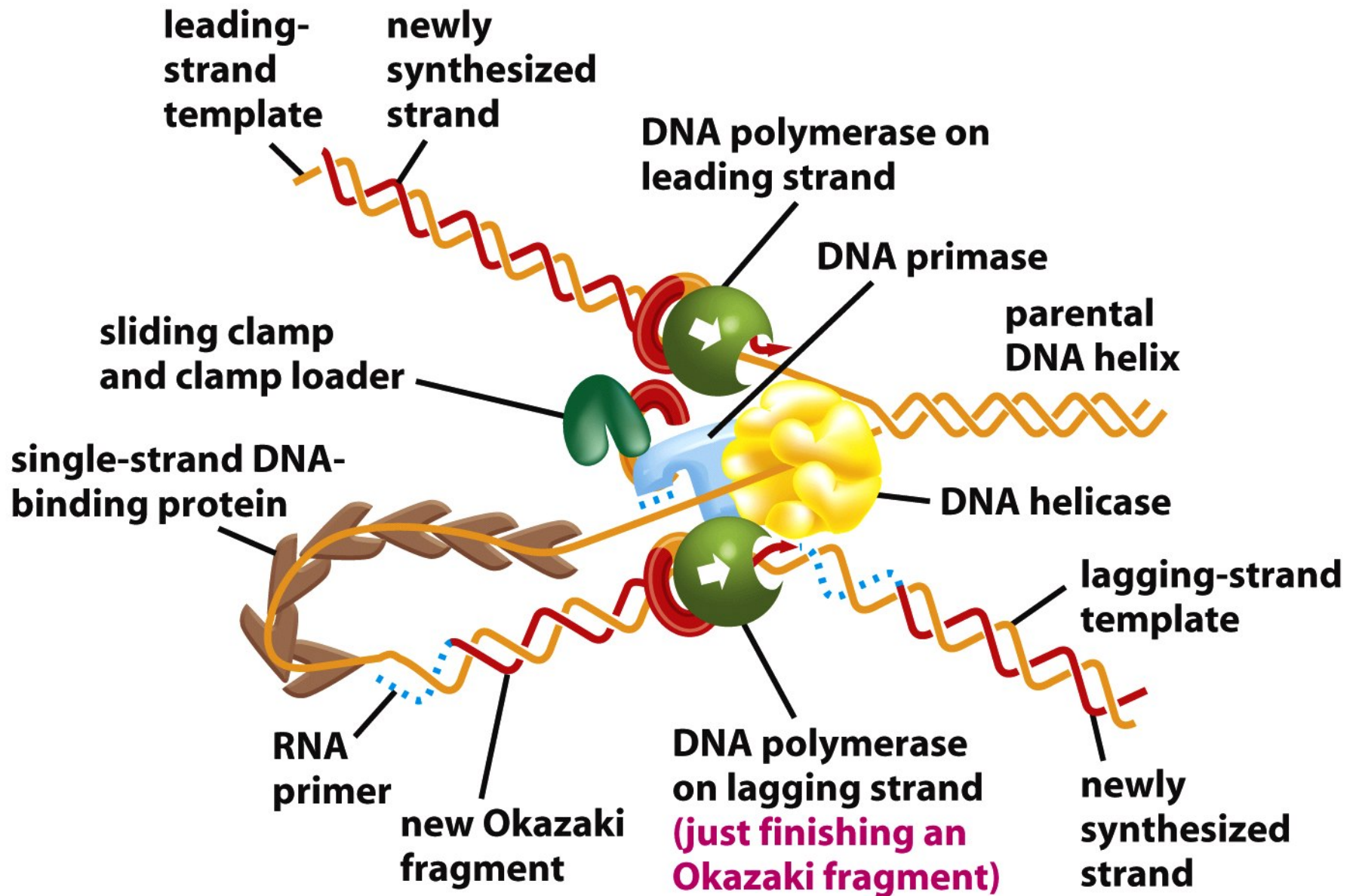
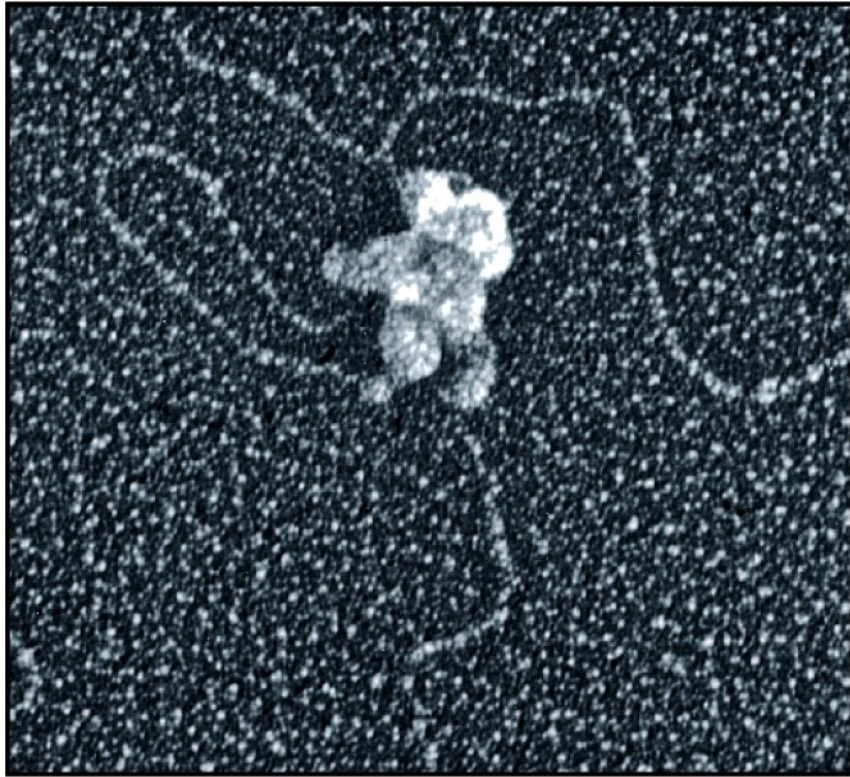
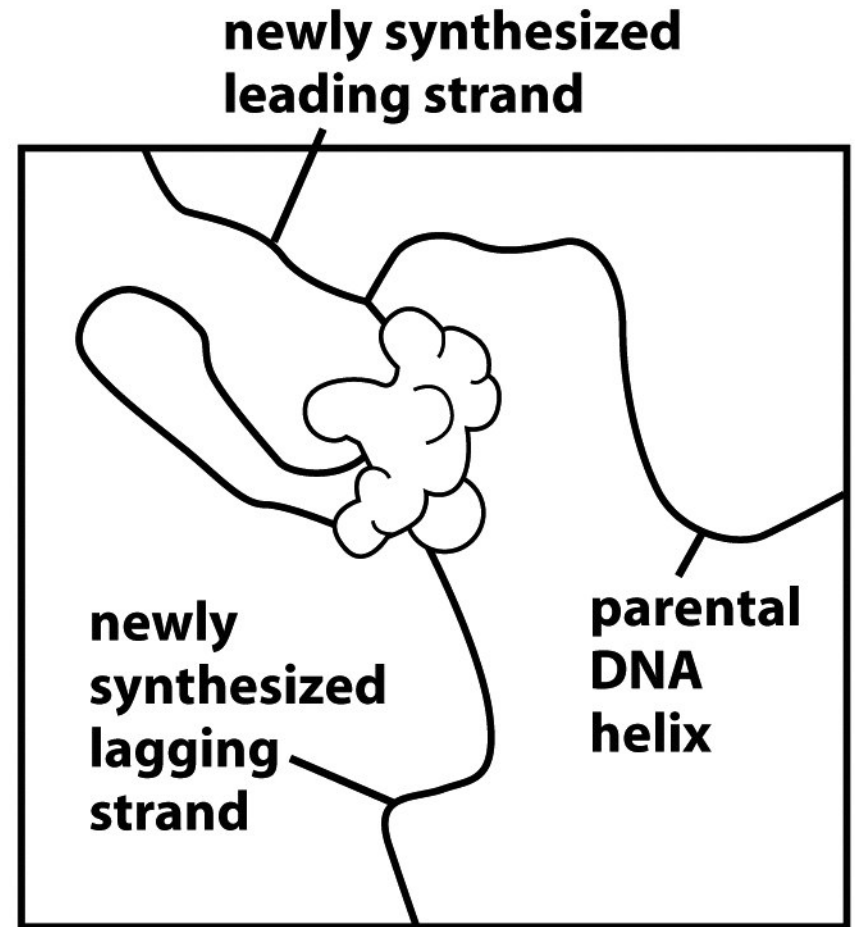


Figure 5-19a Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

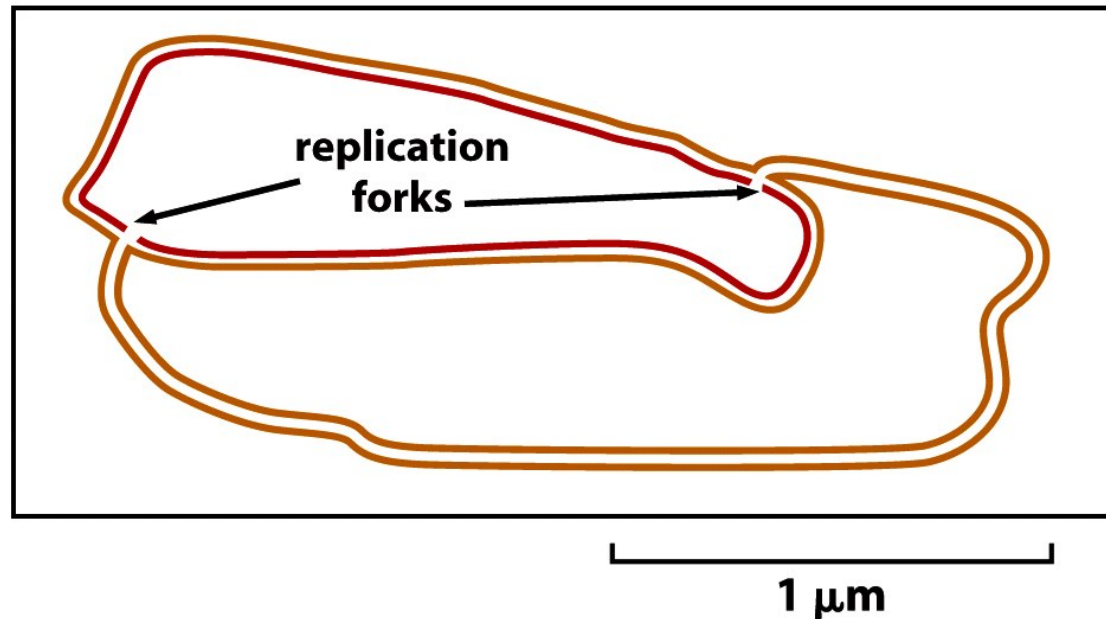
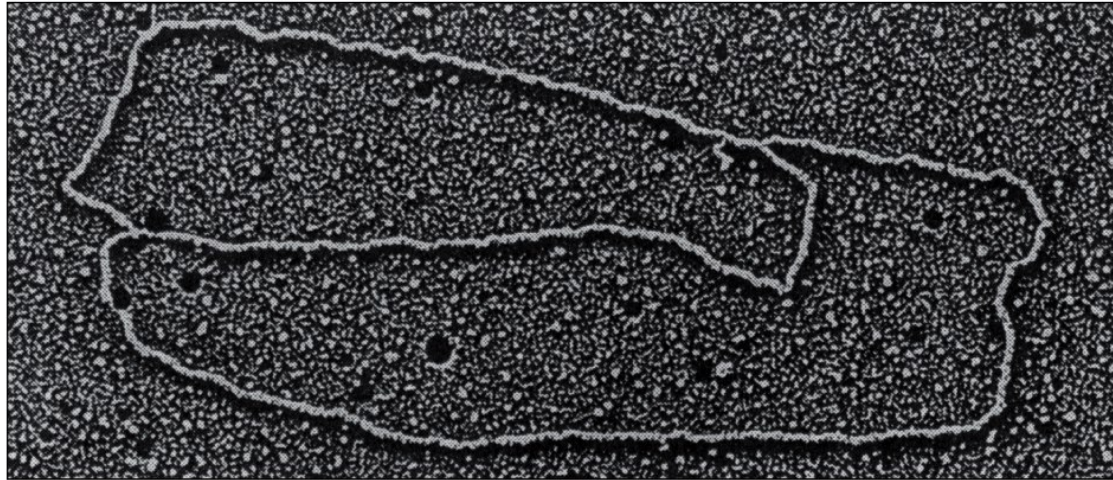


(B)

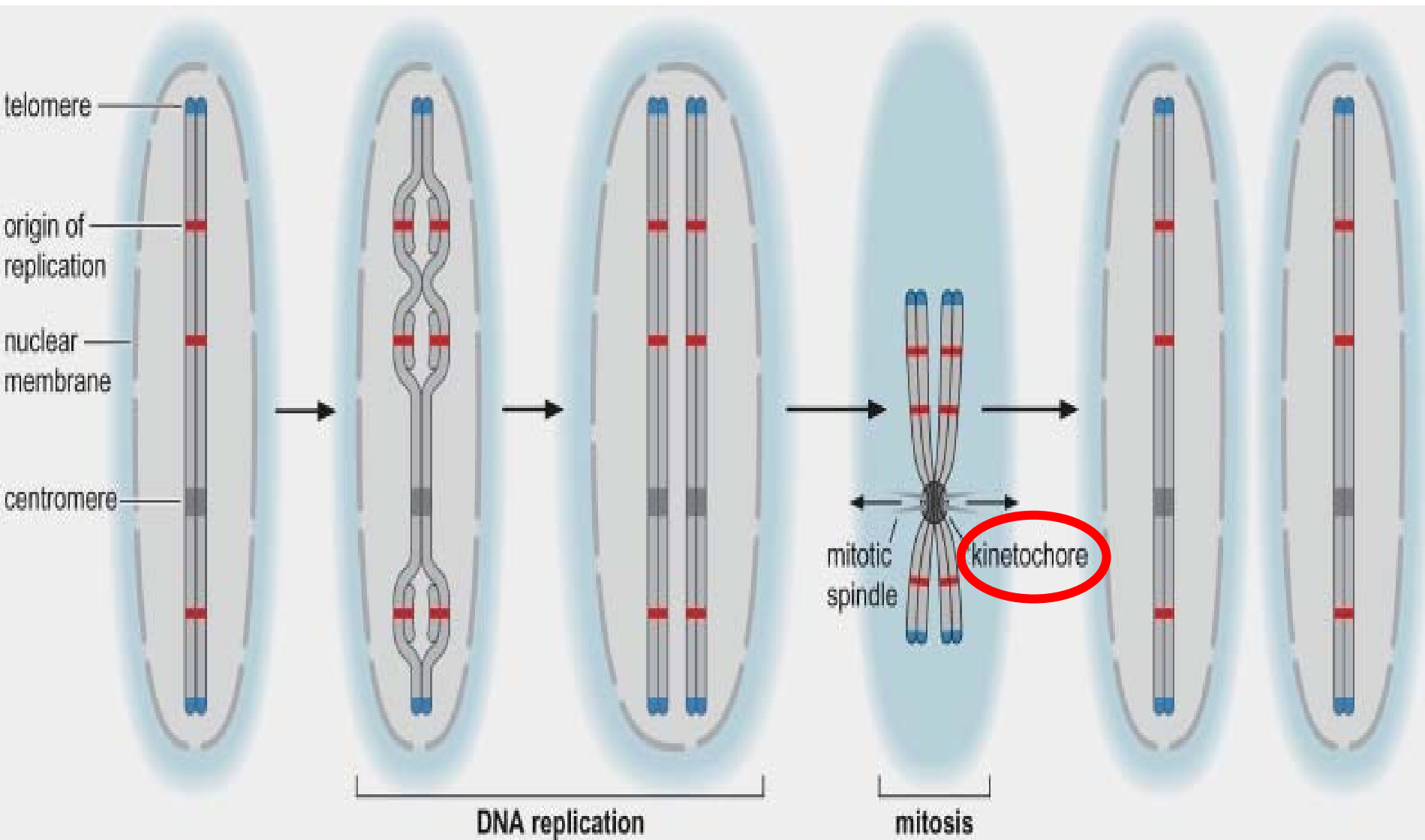


(C)

Replicación de ADN de una bacteria: 1 sitio de origen



Replicación de ADN en Eucariontes: muchos sitios de origen

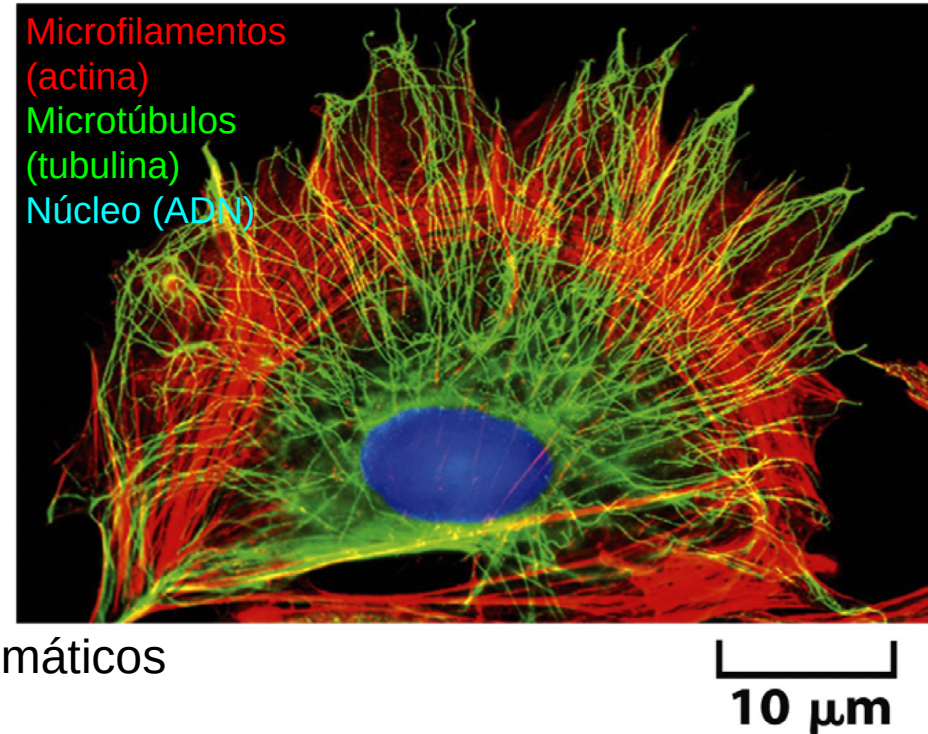


Video de replicación del DNA

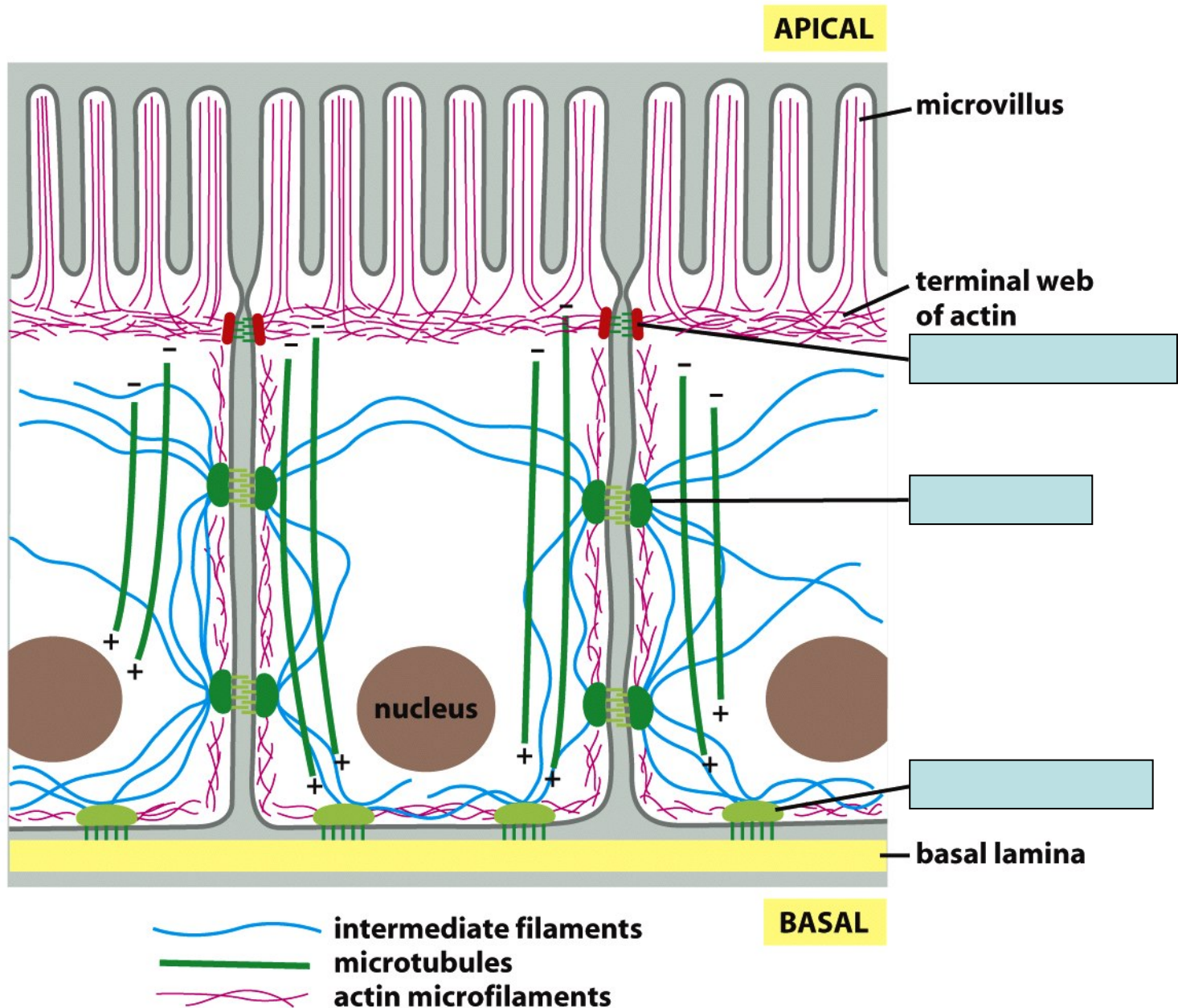
<http://www.youtube.com/watch?v=-EGKrYdQEHQ>

ORGANIZACIÓN CITOPLASMÁTICA

1. CITOESQUELETO
 1. Componentes
 2. Organización
 3. Dinámica
2. Distribución de organelos citoplasmáticos
 1. Retículo endoplásmico
 2. Aparato de Golgi
 3. Endosomas
 4. Lisosomas
 5. Peroxisomas



Esquema del citoesqueleto en células epiteliales



¿Qué es el citoesqueleto?

- Es una red compleja de filamentos de proteínas que se extiende a través del citoplasma.
- Característica importante: **DINÁMICO**, se adapta a los cambios de forma de las células y al medio en que se encuentre.

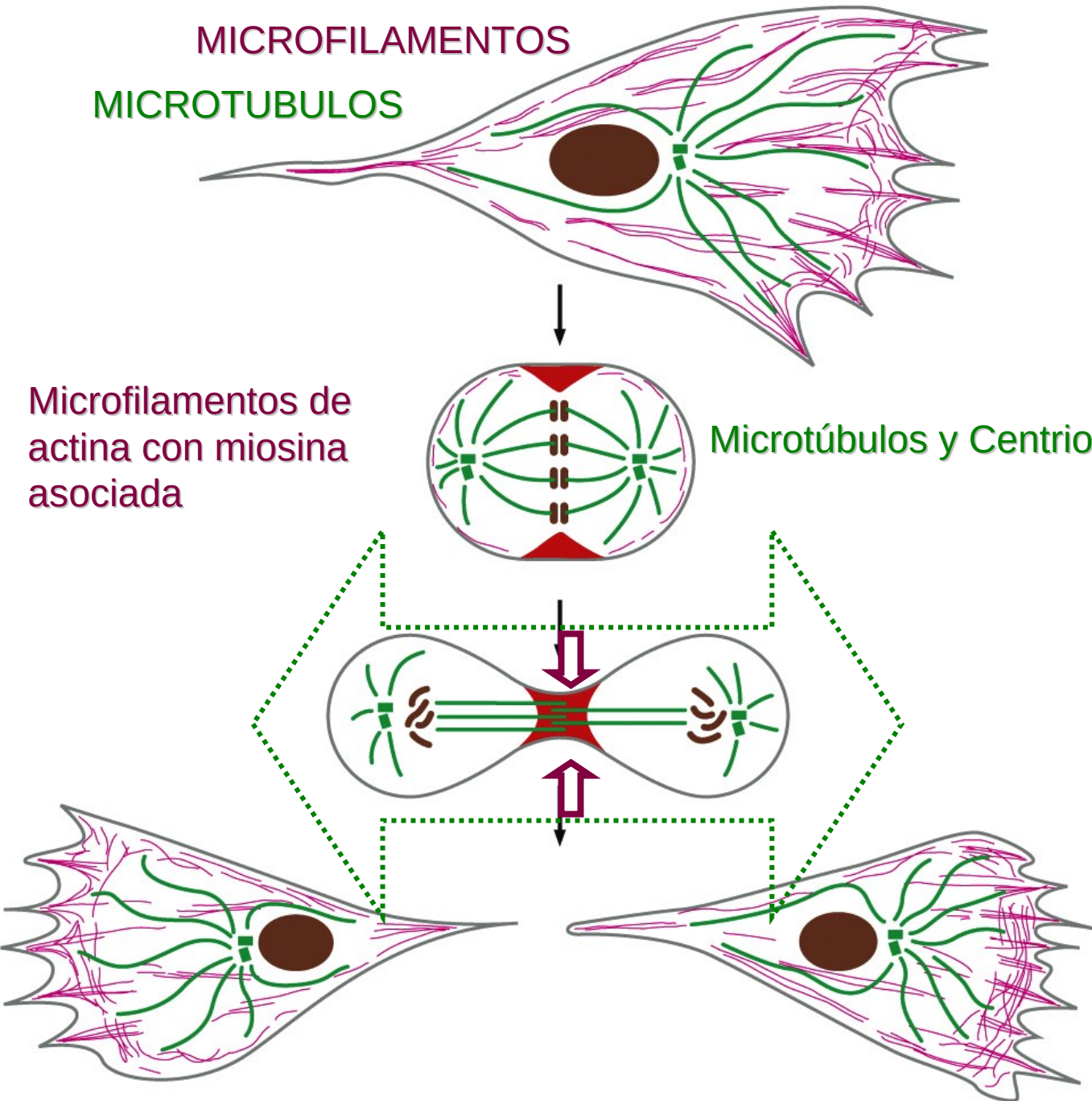
MICROFILAMENTOS

MICROTUBULOS

Capacidad de reorganizarse rápidamente durante el proceso de división celular

Microfilamentos de actina con miosina asociada

Microtúbulos y Centriolos



DAR FORMA

- Apoyo estructural de la célula:
 - El citoesqueleto permite que la célula **adopte una forma** y que la modifique.
 - **Movimiento celular** (movimiento ameboide, cilios y flagelos, contracción muscular, conos de crecimiento)
- Armazón Interna:
 - Mantención de la posición de los organelos al interior de la célula. (núcleo, mitocondrias, ribosomas, etc)
 - Movimiento de materiales y organelos. (movimiento de membranas, transporte de vesículas, invaginación de la membrana, transporte de ARNm, etc...)
 - Segregación de los cromosomas en M
- Transducción de señales:
 - Contacto con la membrana plasmática.
 - Anclaje de las moléculas de adhesión.

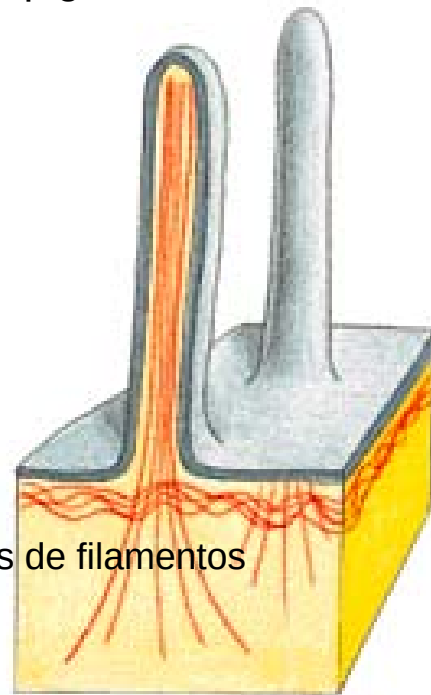
Funciones del Citoesqueleto



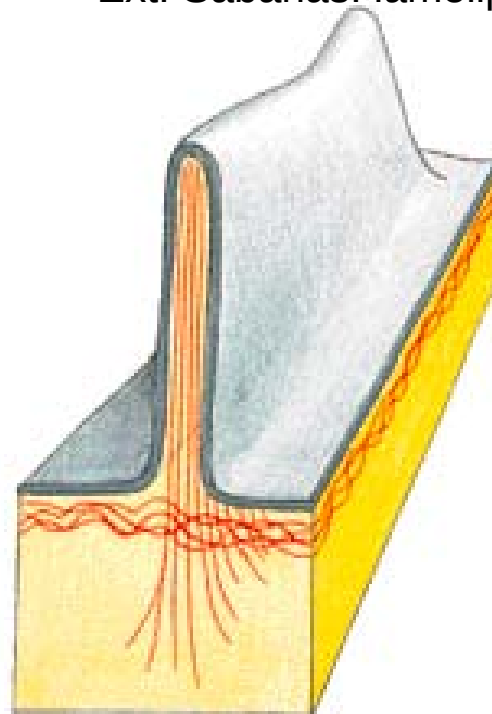
Espigas sobresalientes

Ext. Sábanas: lamelipodia

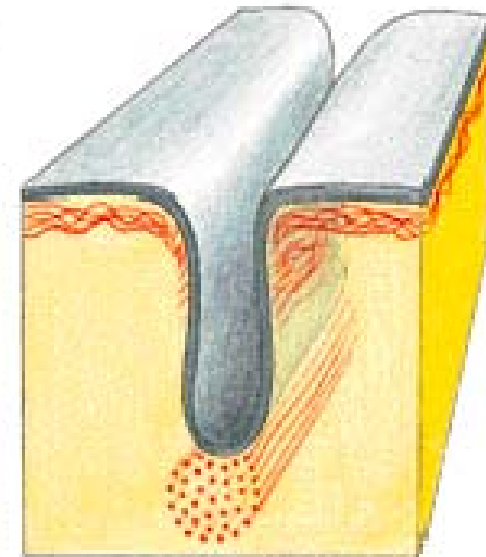
Invaginaciones



(A)



(B)



(C)

Paquetes de filamentos

Figure 16-9. Actin filaments often shape the plasma membrane of animal cells. Three examples of plasma membrane changes caused by the cortical network of actin filaments. (A) Thin, spiky protrusions such as microspikes form on the surface of cells by the assembly of supporting bundles of actin filaments anchored in the cell cortex. (B) Sheetlike extensions, called lamellipodia, also form on the surface, in this case supported by a flattened web of actin filaments rather than discrete bundles. (C) Invaginations of the cell surface, as occur during cell division, are produced by a contractile bundle of actin filaments associated with the motor protein myosin.

Recordar: ¡El citoesqueleto es dinámico!

Existen 3 tipos básicos de redes filamentosas

1. Microtúbulos (filamentos de 25 nm)

2. Microfilamentos (filamentos de 7nm)

3. Filamentos Intermedios (filamentos de 8-12 nm)

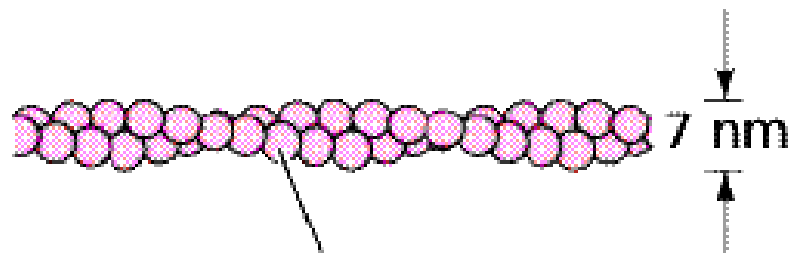
- Características generales: La estructura fibrilar es producto del ensamblaje de muchas subunidades. El paso limitante es la polimerización.

Cinta transportadora (microfilamentos ppal%)

Inestabilidad Dinámica (microtúbulos ppal%)

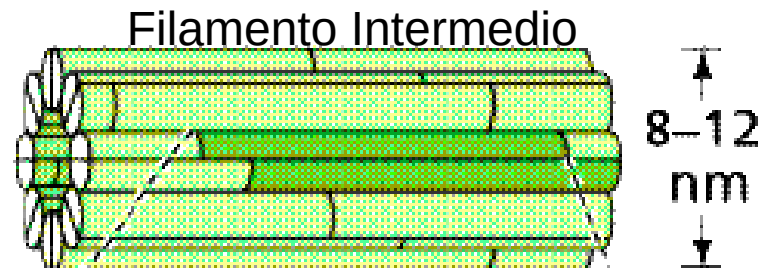
- La función es regulada por proteínas accesorias: Secuestradoras de subunidades. Proteínas que se unen al costado del filamento. Proteínas que tapan un extremo (capping)

COMPONENTES DEL CITOESQUELETO



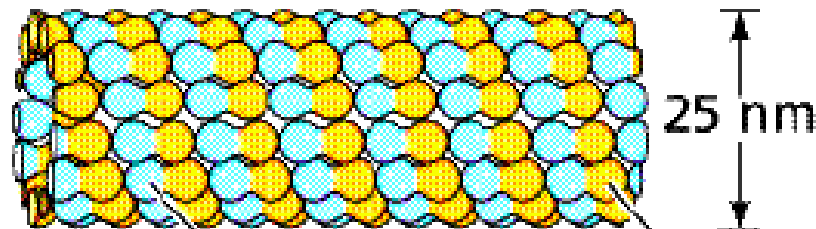
Actin monomer

Sub Unidades
GLOBULARES



Fibrous subunit

Sub Unidades
FIBRILARES



Tubulin dimer

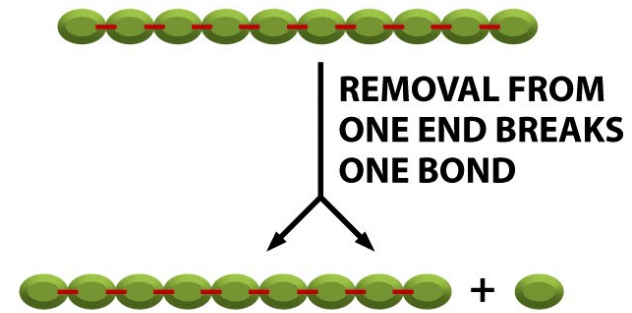
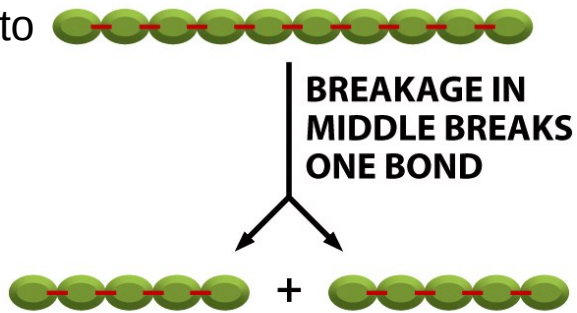
Sub Unidades
GLOBULARES

β -Tubulin
monomer

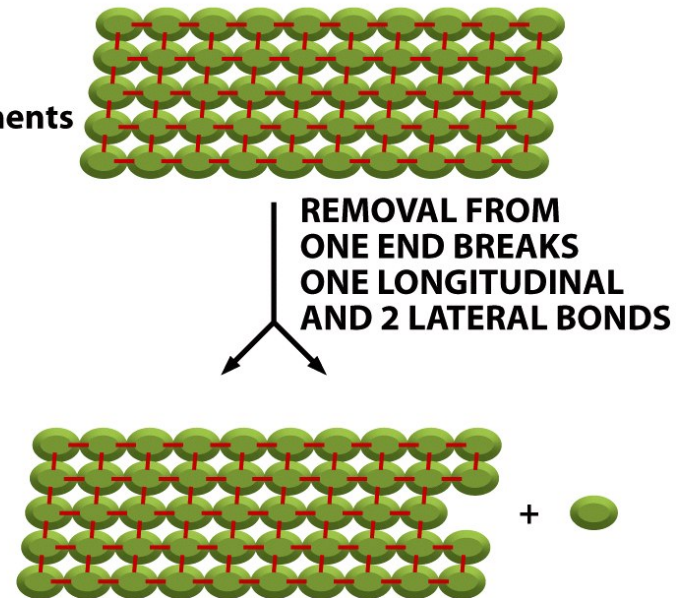
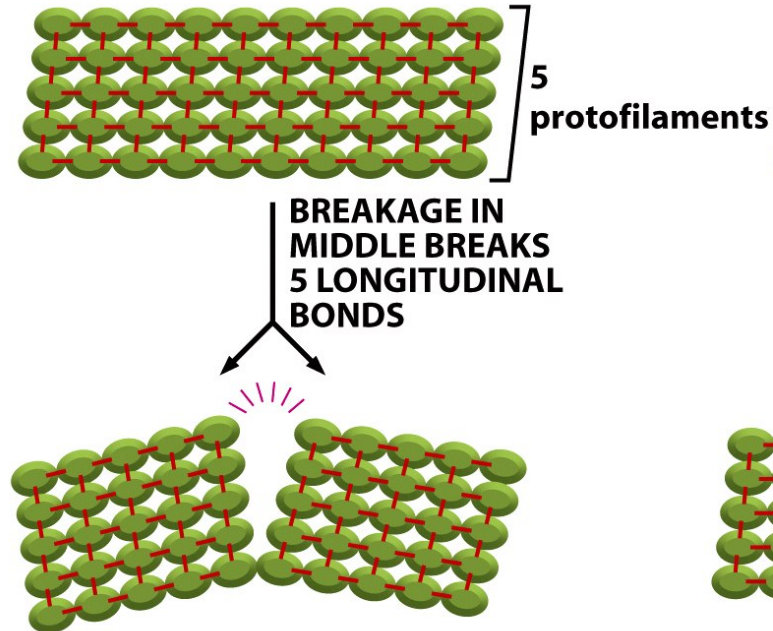
α -Tubulin
monomer

- En gral. se puede decir que todas estas redes filamentosas (polímeros) están constituídas por múltiples protofilamentos (cadenas lineales de sub-unidades unidas por los extremos), que se unen lateralmente.

protofilamento



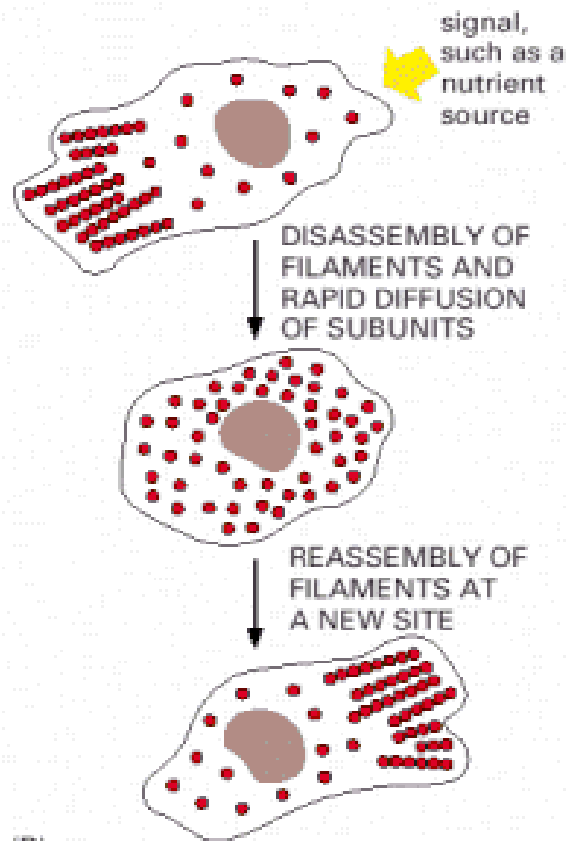
SINGLE PROTOFILAMENT: THERMALLY UNSTABLE



MULTIPLE PROTOFILAMENTS: THERMALLY STABLE

Dinamismo del Citoesqueleto

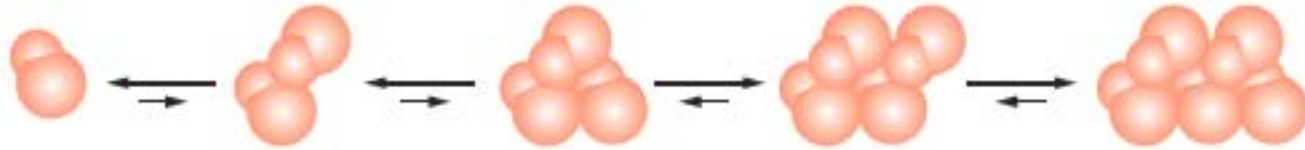
Reorganización de la célula ante señal externa



- Construcción en base a monómeros
 - monómeros muy abundantes
 - las subunidades no están unidas covalentemente.
- Proteínas accesorias
 - regulan el sitio y velocidad de nucleación de filamentos
 - Regulan el equilibrio entre **polimerización** y **despolimerización**.

Nucleación: Adición de muchas subunidades que estabilizan un agregado inicial (núcleo)

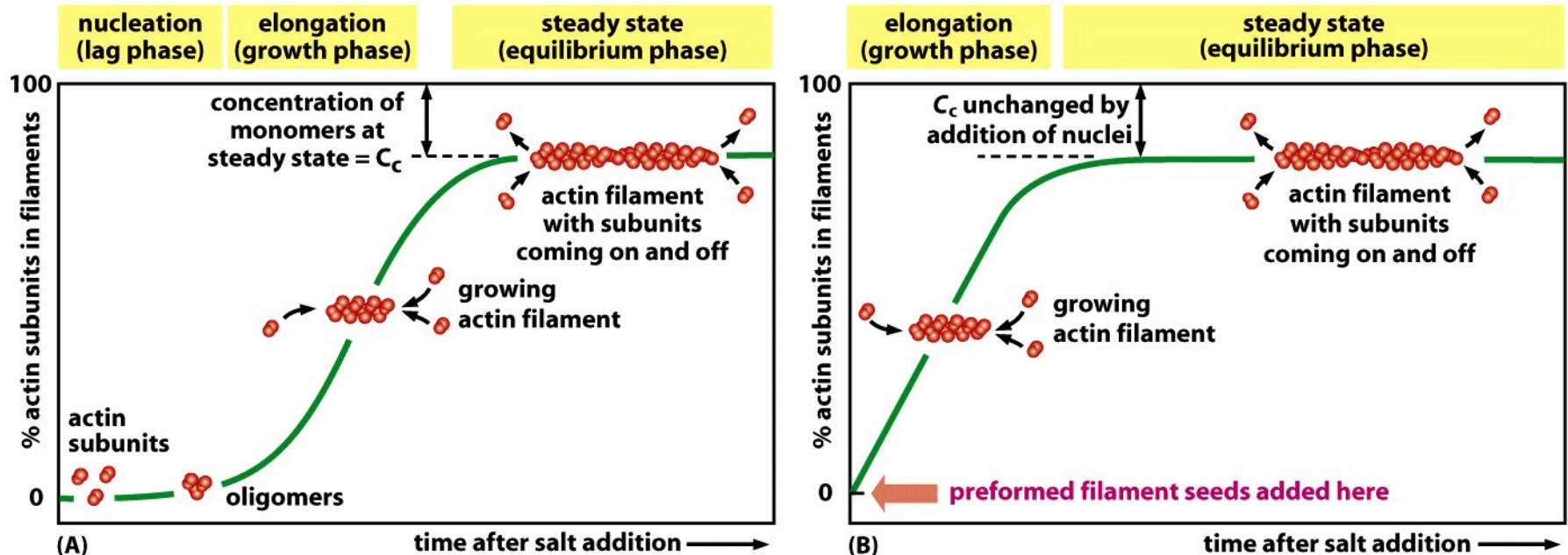
Los polímeros se estabilizan por los múltiples enlaces entre las subunidades. En el caso de actina, dos sub U son poco estables, un trímero aumenta la estabilidad.



Trímero

Puede adicionar monómeros y crecer.

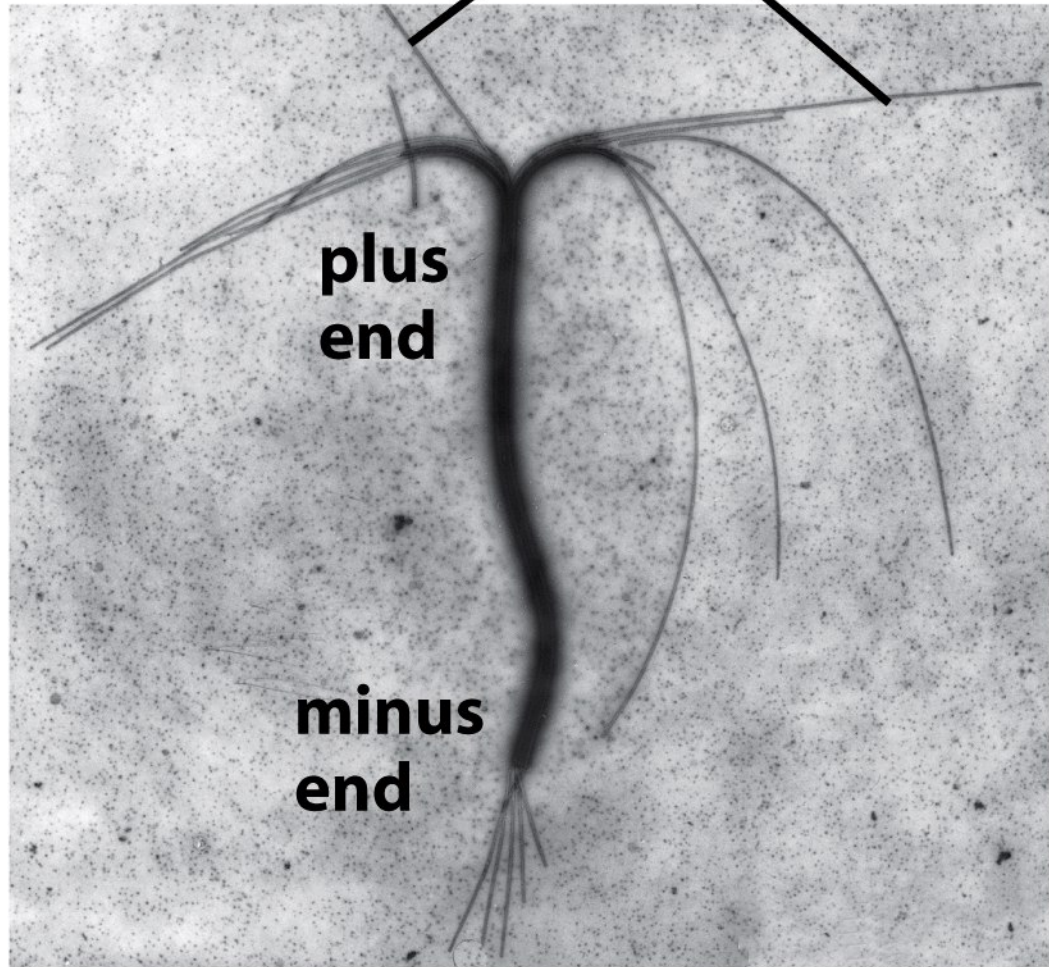
La aparición de núcleos es el paso limitante en el crecimiento de los filamentos



Polaridad

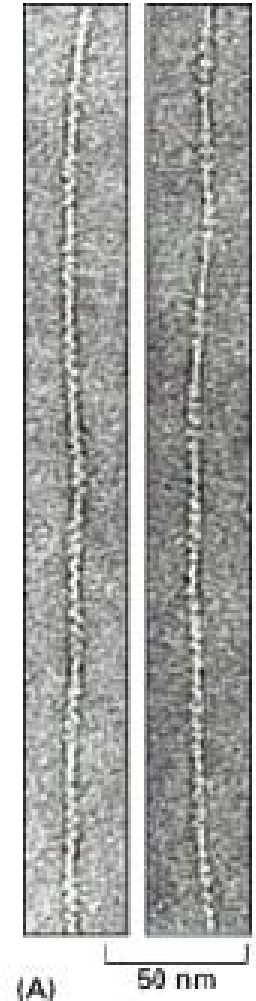
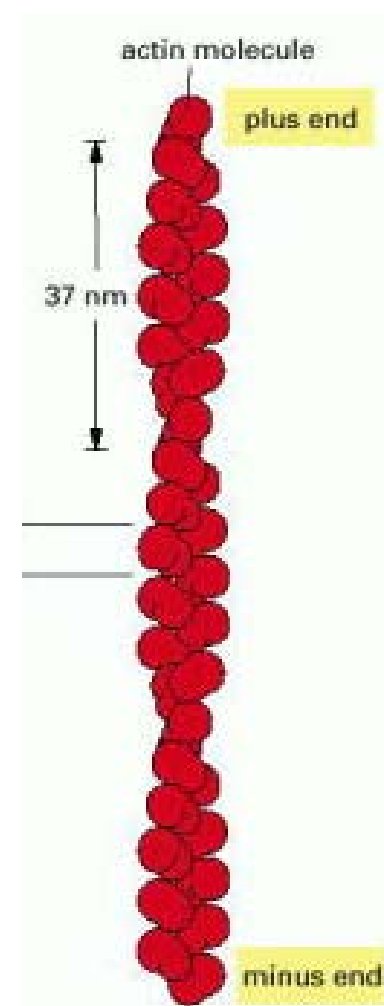
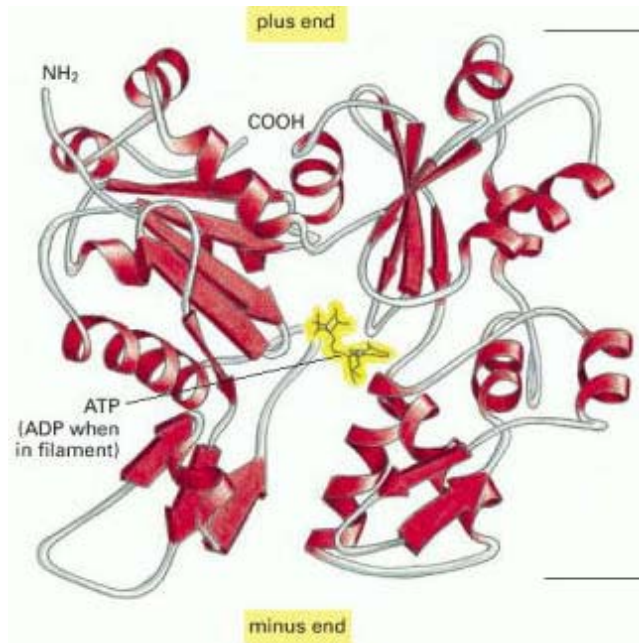
- Condición que se presenta en microtúbulos y microfilamentos.
- Se refiere a la diferencia en velocidad de polimerización y despolimerización que se produce entre un extremo y otro del filamento.
 - Extremo más
 - Extremo menos

newly formed microtubules

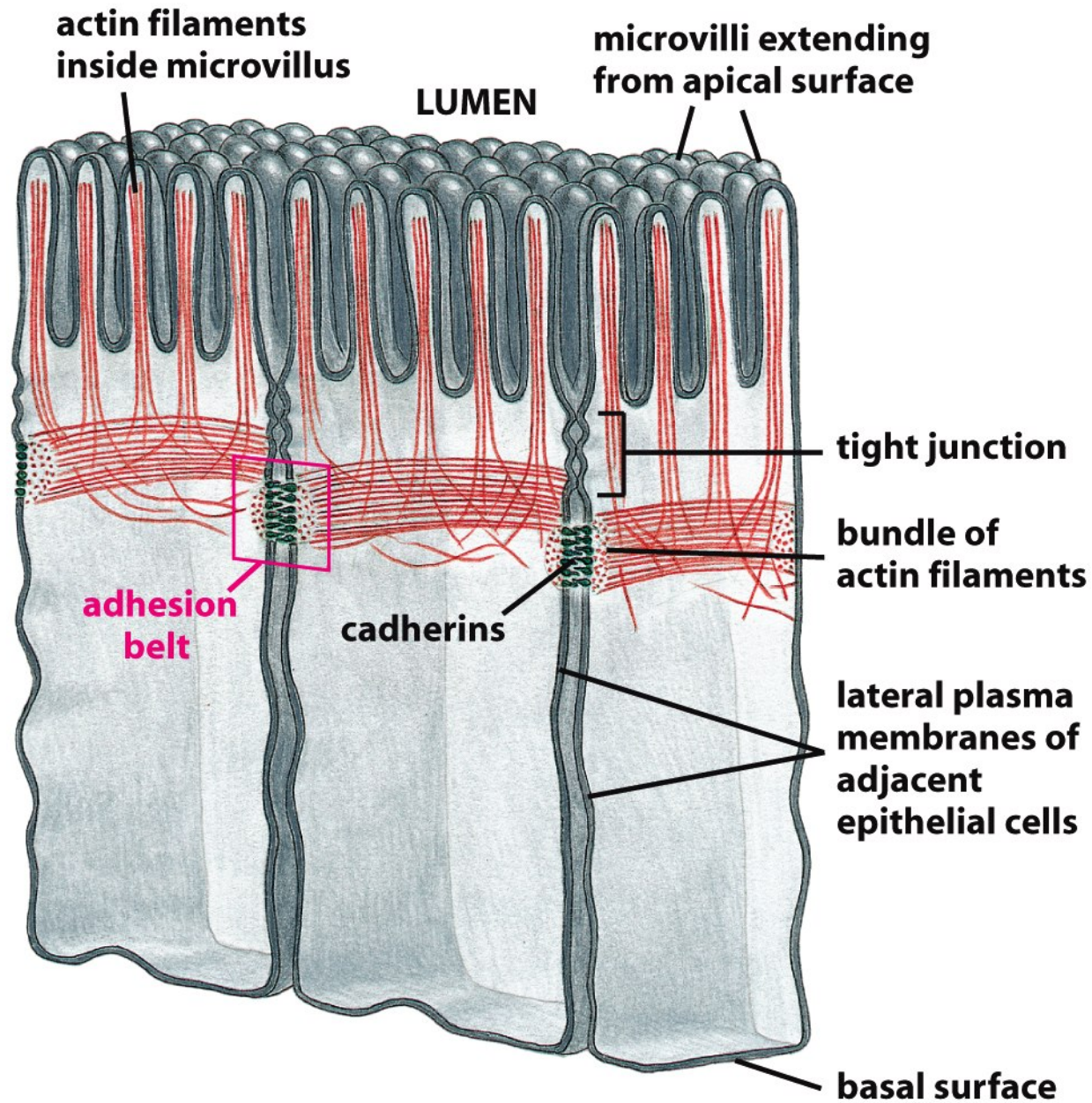


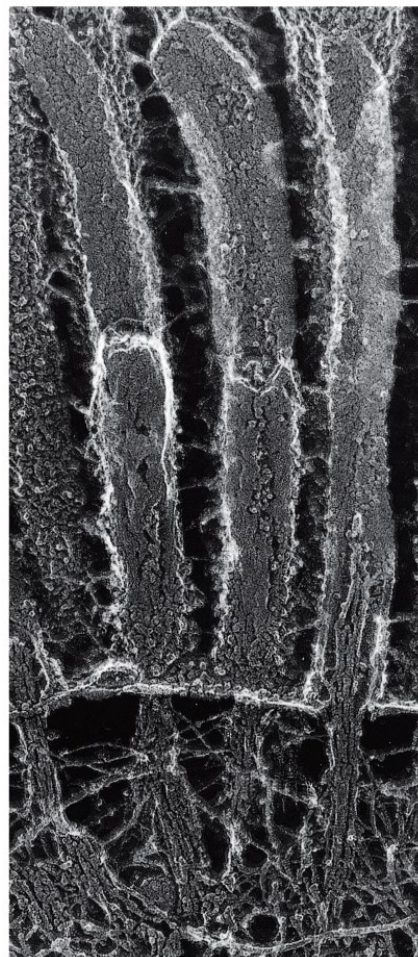
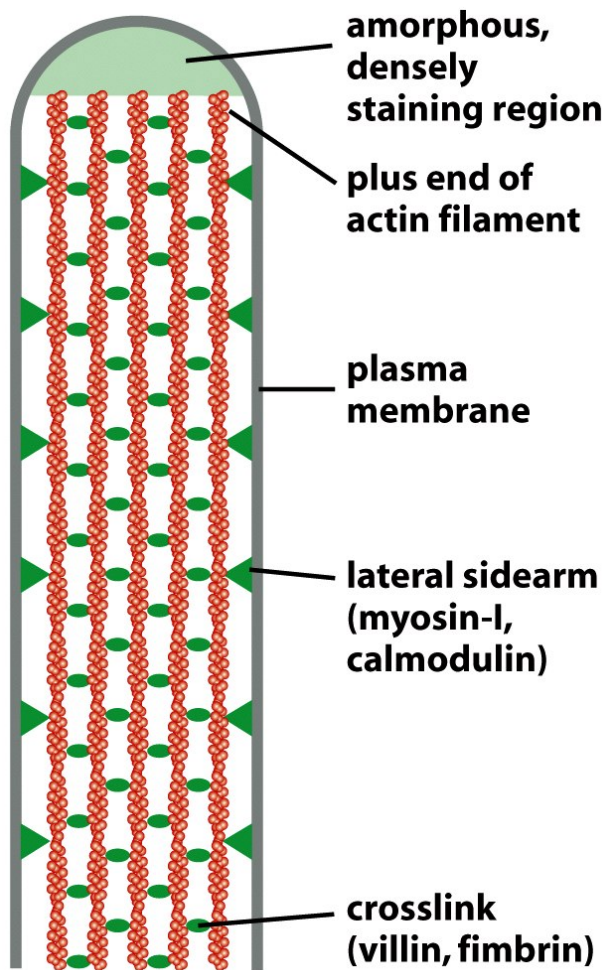
1 μ m

Microfilamentos

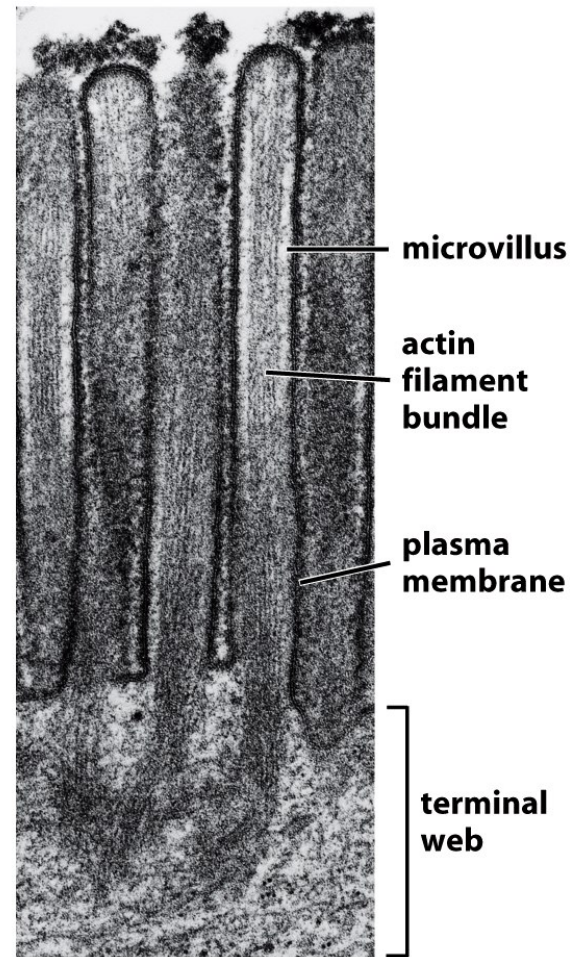


- Presente en todos los eucariontes.
- **conservados** (homólogo en bacterias: MreB)
- unidad: *G-actina* (monómero, actina globular) se ensambla a *F-actina* (*actina filamentosa*), un polímero helicoidal **polarizado**
- Polimerización depende de la hidrólisis de ATP (**requiere energía**)
- Forman filamentos, redes y geles (3D)
- Involucrados en los movs. de la célula, ppal. en los de la superficie.





(B)



(C)

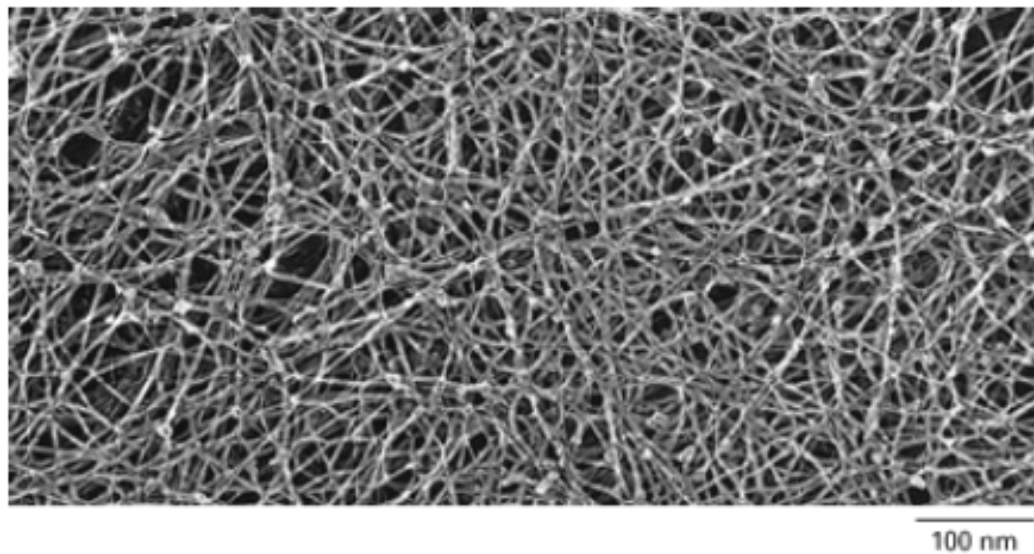
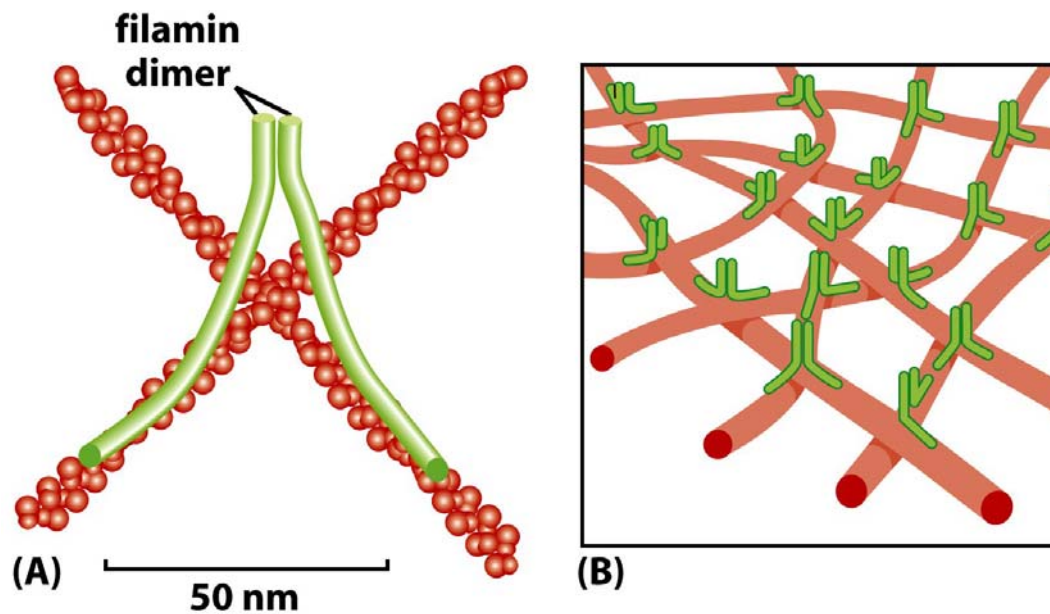
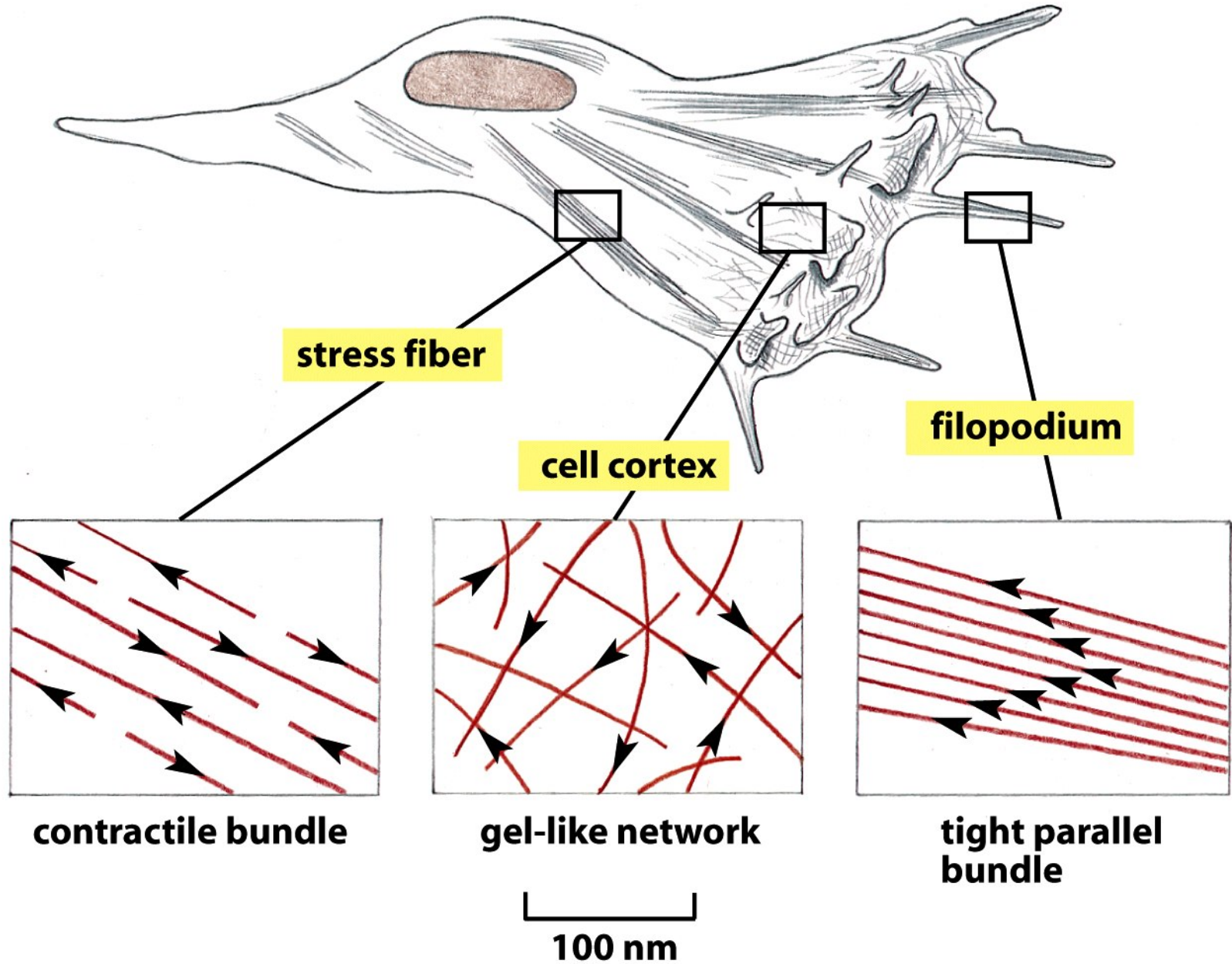


Figure 1-26. Actin. A network of actin filaments underlying the plasma membrane of an animal cell is seen in this electron micrograph prepared by the deep-etch technique. (Courtesy of John Heuser.)



Disposición de filamentos de actina en un fibroblasto



Modelo de cómo las fuerzas generadas en la corteza rica en actina mueven la célula hacia adelante: rastreo.

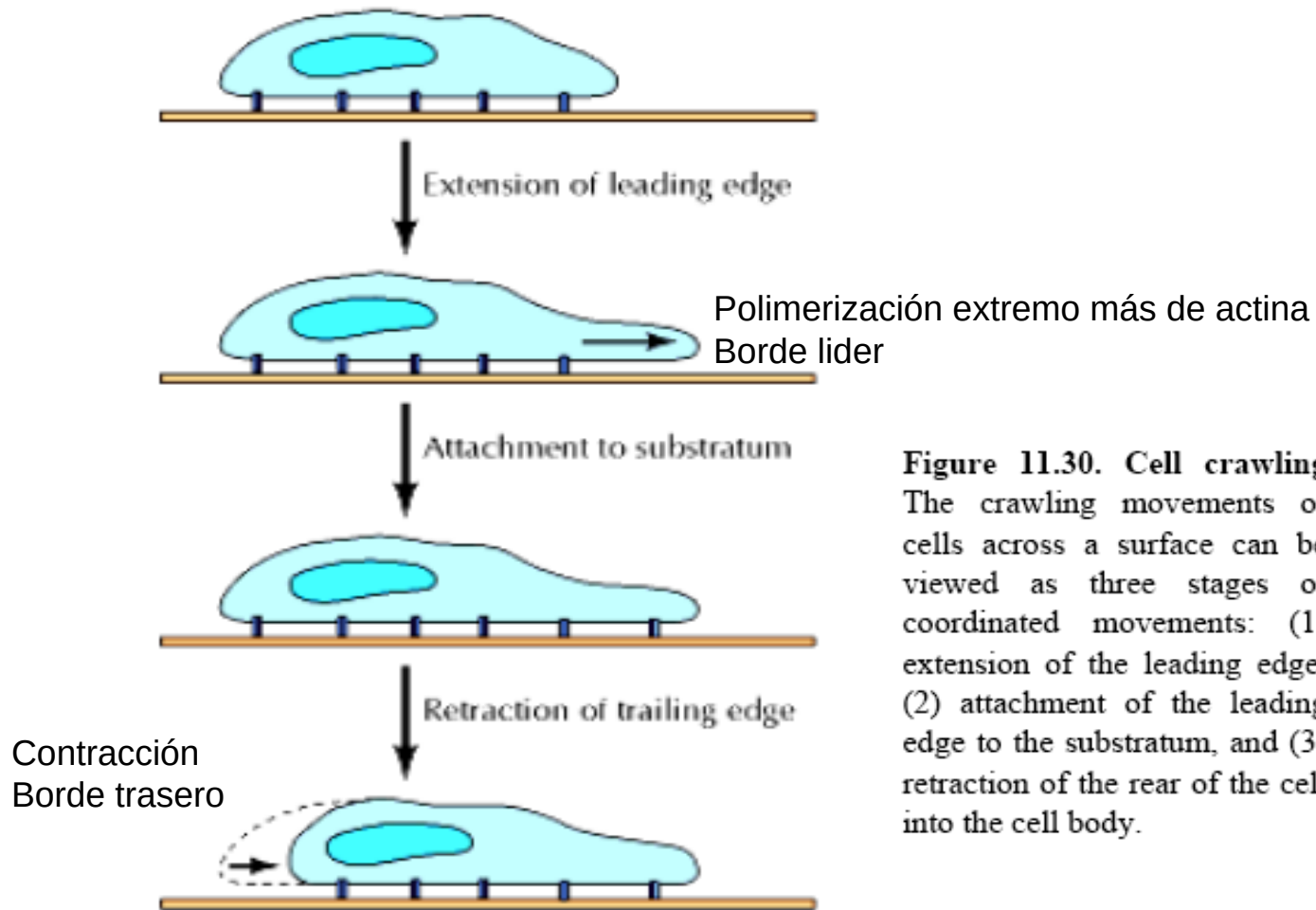
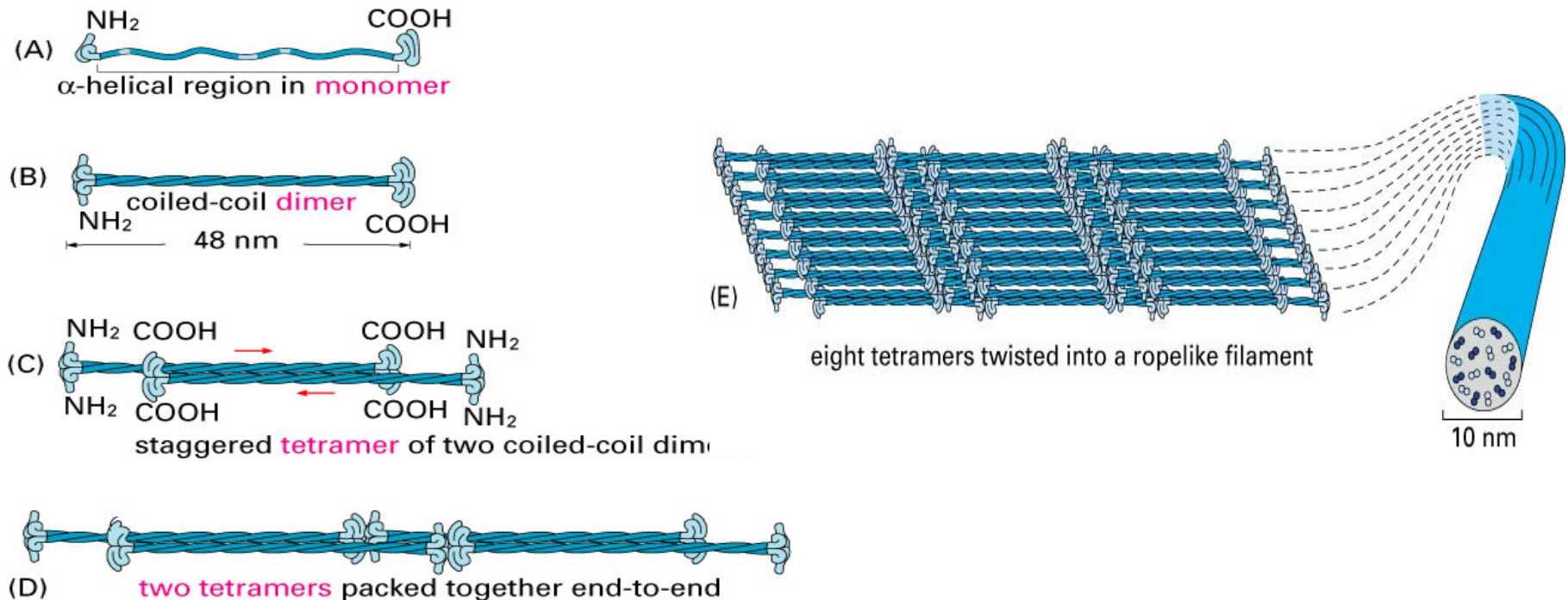


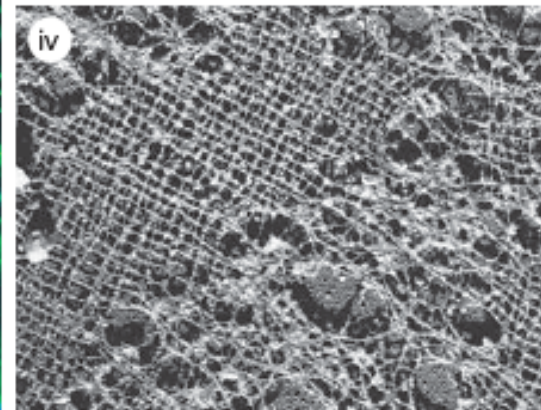
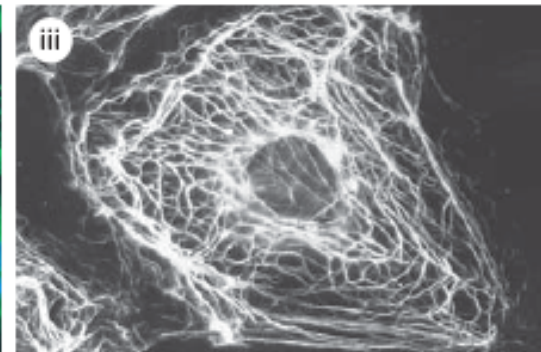
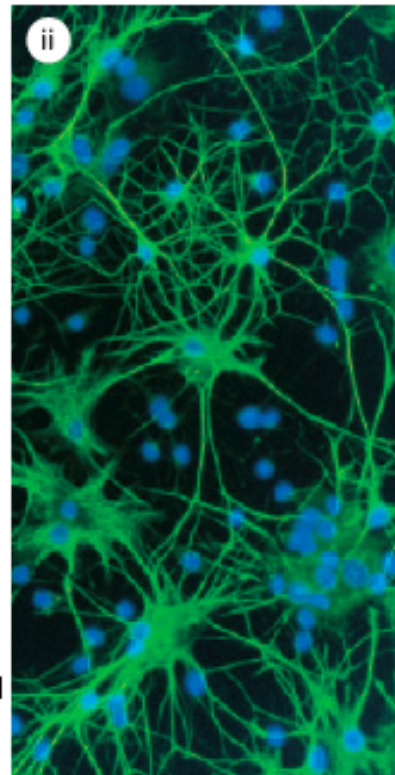
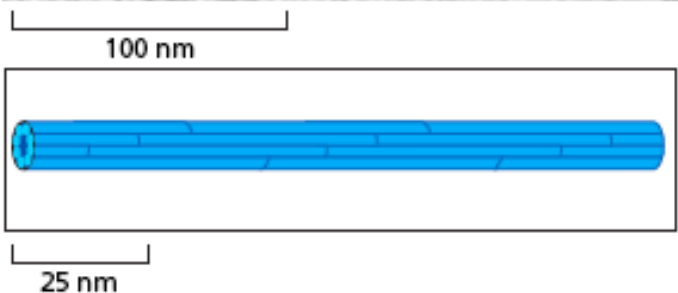
Figure 11.30. Cell crawling
The crawling movements of cells across a surface can be viewed as three stages of coordinated movements: (1) extension of the leading edge, (2) attachment of the leading edge to the substratum, and (3) retraction of the rear of the cell into the cell body.

Filamentos Intermedios



- **NO conservados**: no se encuentran en todos los eucariontes
- **heterogéneos**: específicos de acuerdo al tejido
- NO se requiere energía para su ensamblaje, **auto asociación lateral**
- Filamentos **NO polarizados**

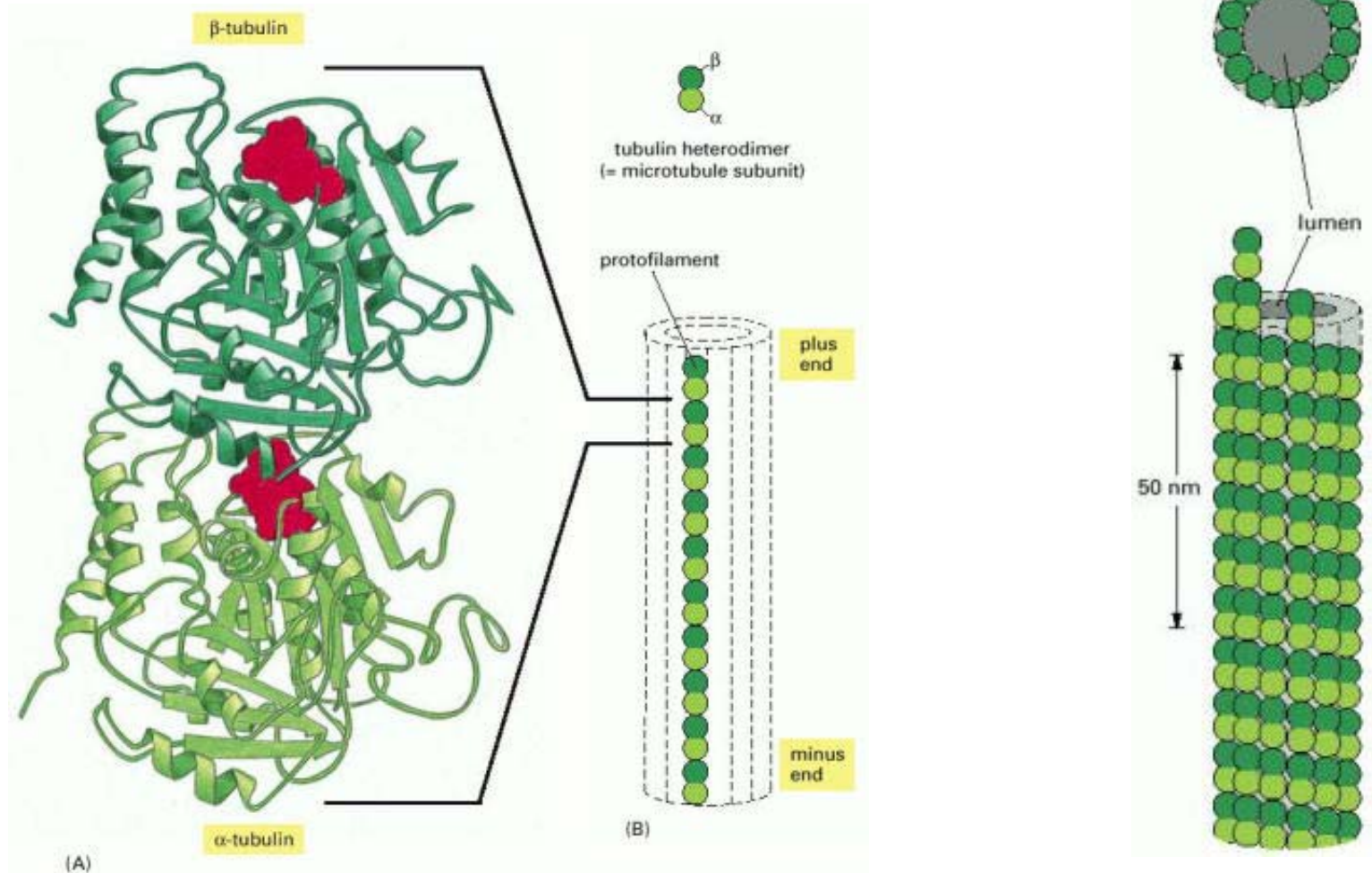
INTERMEDIATE FILAMENTS



Intermediate filaments are ropelike fibers with a diameter of around 10 nm; they are made of intermediate filament proteins, which constitute a large and heterogeneous family. One type of intermediate filament forms a meshwork called the nuclear lamina just beneath the inner nuclear membrane. Other types extend across the cytoplasm, giving cells mechanical strength. In an epithelial tissue, they span the cytoplasm from one cell-cell junction to another, thereby strengthening the entire epithelium.

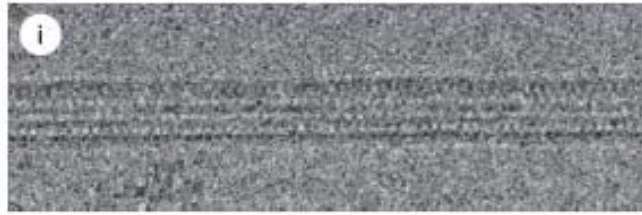
Micrographs courtesy of Roy Quinlan (i); Nancy L. Kedersha (ii); Mary Osborn (iii); Ueli Aepli (iv).

Microtúbulos

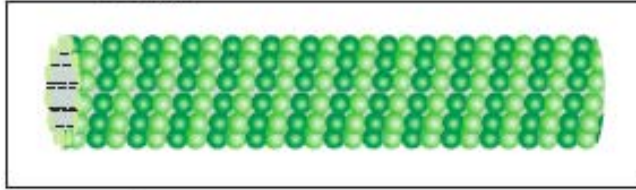


- **conservados** (Existe un homólogo en bacterias: FtsZ)
- heterodímeros (α -tubulina y β -tubulina unidas por un GTP), forman 13 protofilamentos **polarizados**
- Sólo se hidroliza el GTP unido α -tubulina (**requiere energía**)

MICROTUBULES



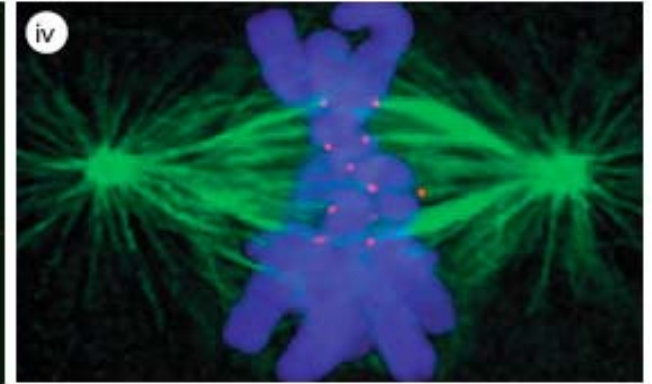
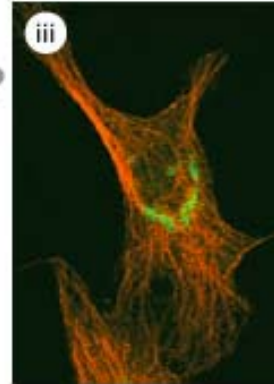
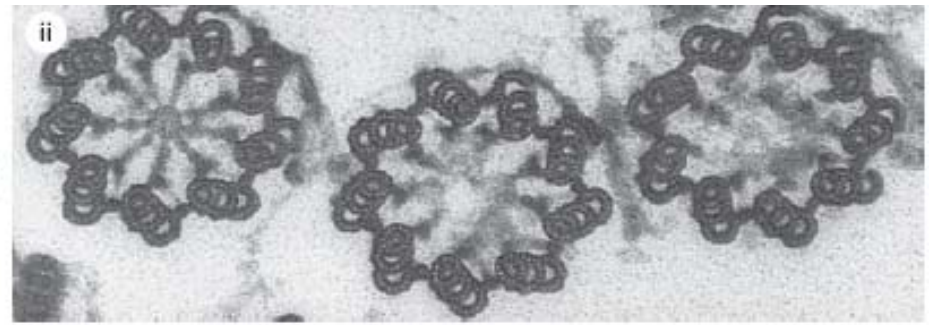
100 nm



25 nm

Microtubules are long, hollow cylinders made of the protein tubulin. With an outer diameter of 25 nm, they are much more rigid than actin filaments. Microtubules are long and straight and typically have one end attached to a single microtubule-organizing center (MTOC) called a *centrosome*.

Micrographs courtesy of Richard Wade (i); D.T. Woodrow and R.W. Linck (ii); David Shima (iii); A. Desai (iv).



EB1-EGFP se une al CAP-fosforilado. Si se pierde el CAP, se pierde la marca.

Comparar con tubulina-EGFP

