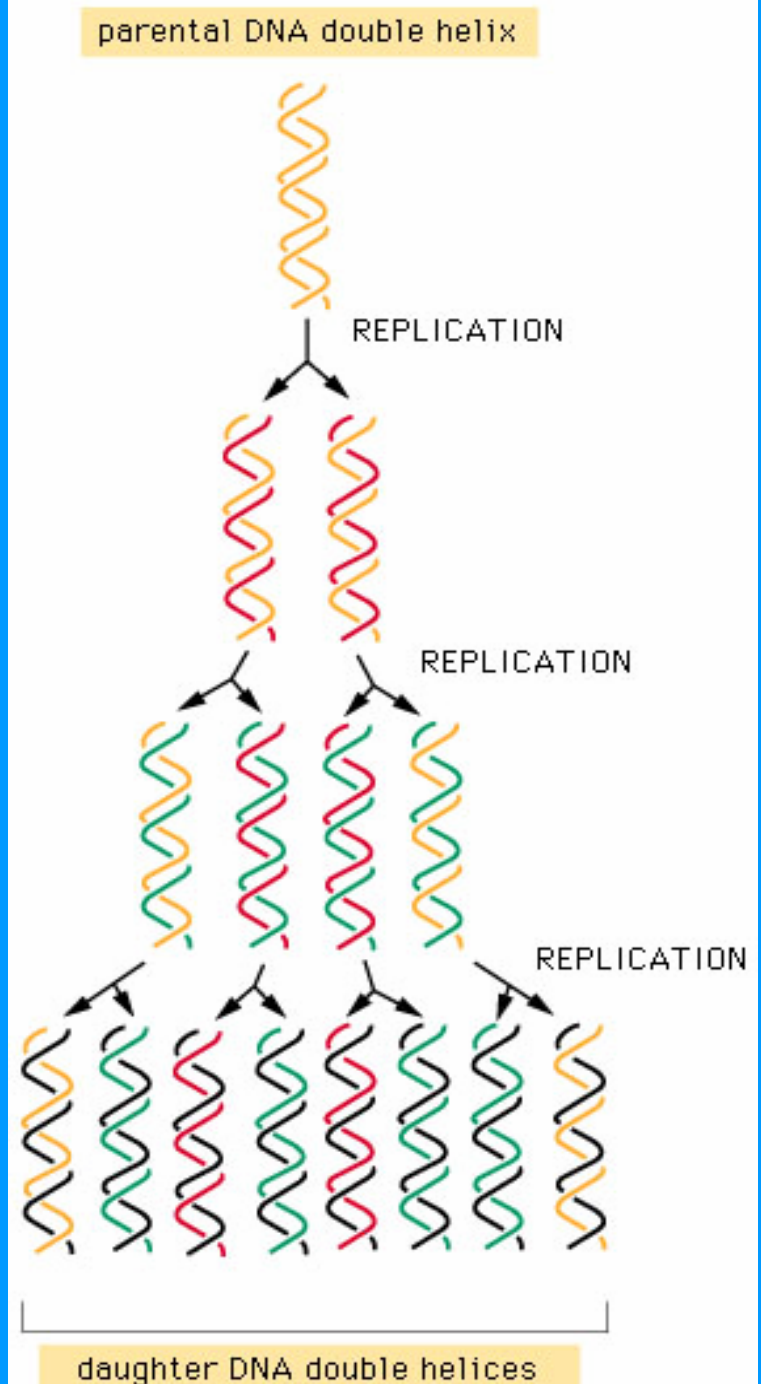
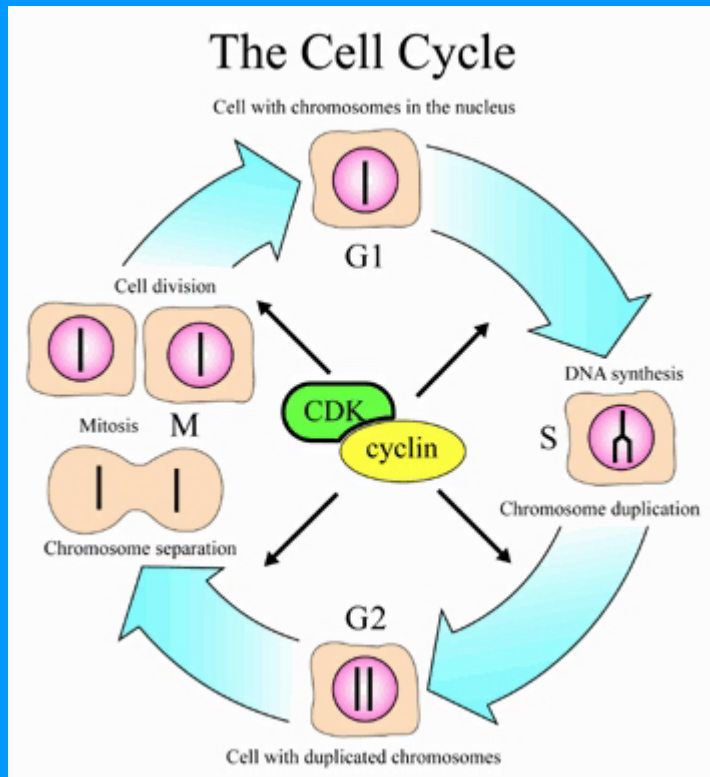


En esta clase:

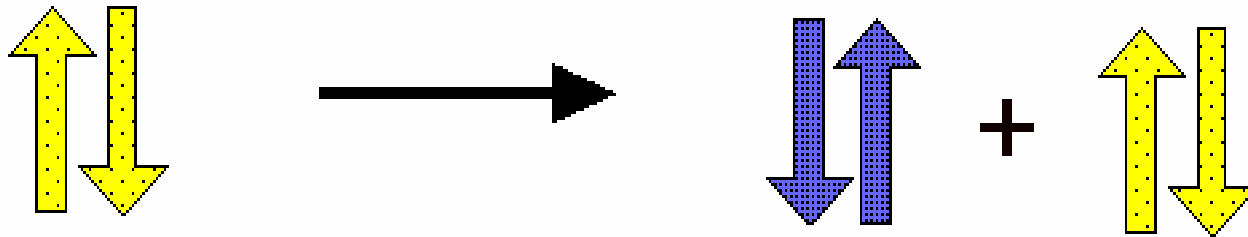
- Replicación del ADN
- Mecanismos de reparación del ADN
- Recombinación del material genético

La replicación del DNA ocurre una vez por cada ciclo de división celular

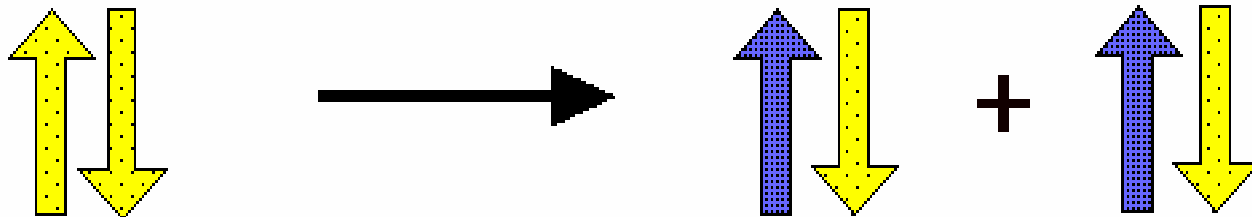


Modelos propuestos originalmente para la replicación del DNA

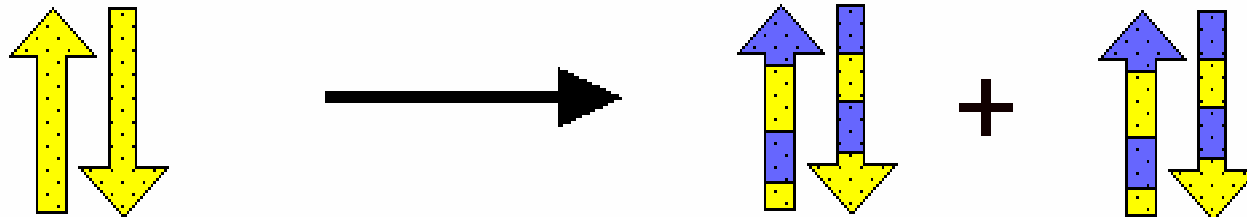
Conservative



Semiconservative



Dispersive

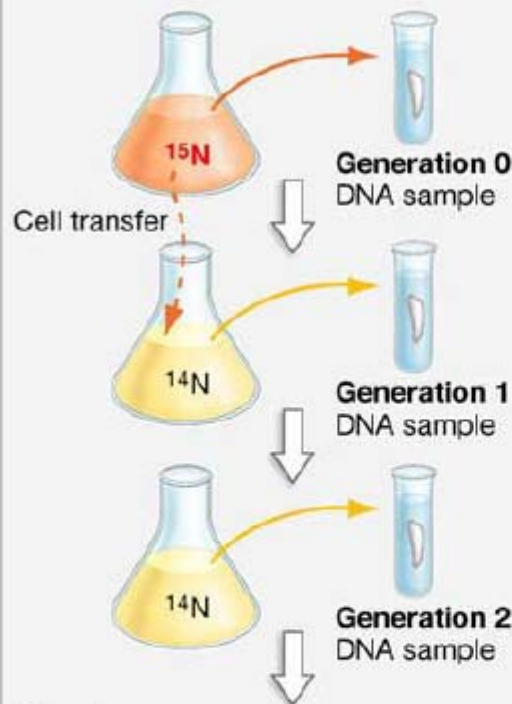


Experimento de Meselson y Stahl



(a) MESELSON-STAHN EXPERIMENT

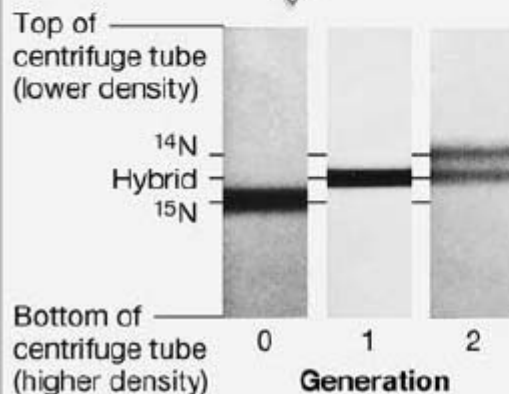
Question: Is replication conservative or semi-conservative?



1. Grow *E. coli* cells in medium with ^{15}N as sole source of nitrogen. Collect sample and purify DNA.

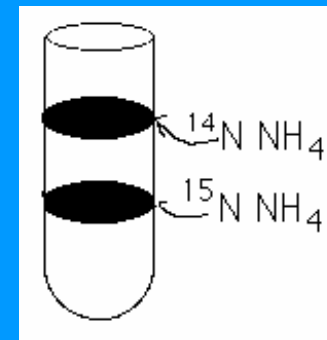
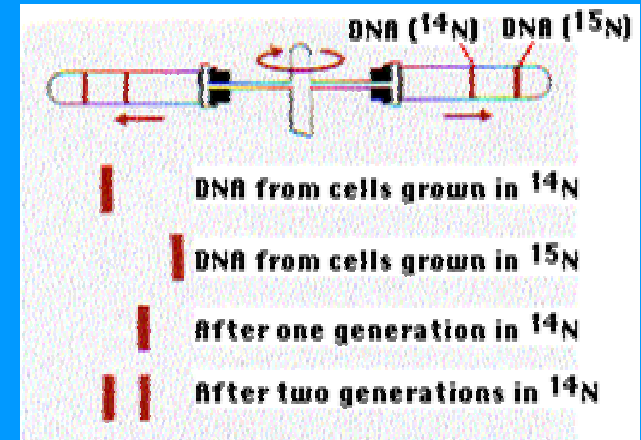
2. Transfer cells to medium containing ^{14}N . After cells divide once, collect sample and purify DNA.

3. After cells have divided a second time in ^{14}N medium, collect sample and purify DNA.



4. Centrifuge the three samples and compare the location of the bands. DNA containing ^{15}N is heavier than DNA containing ^{14}N and forms a band lower in the tube.

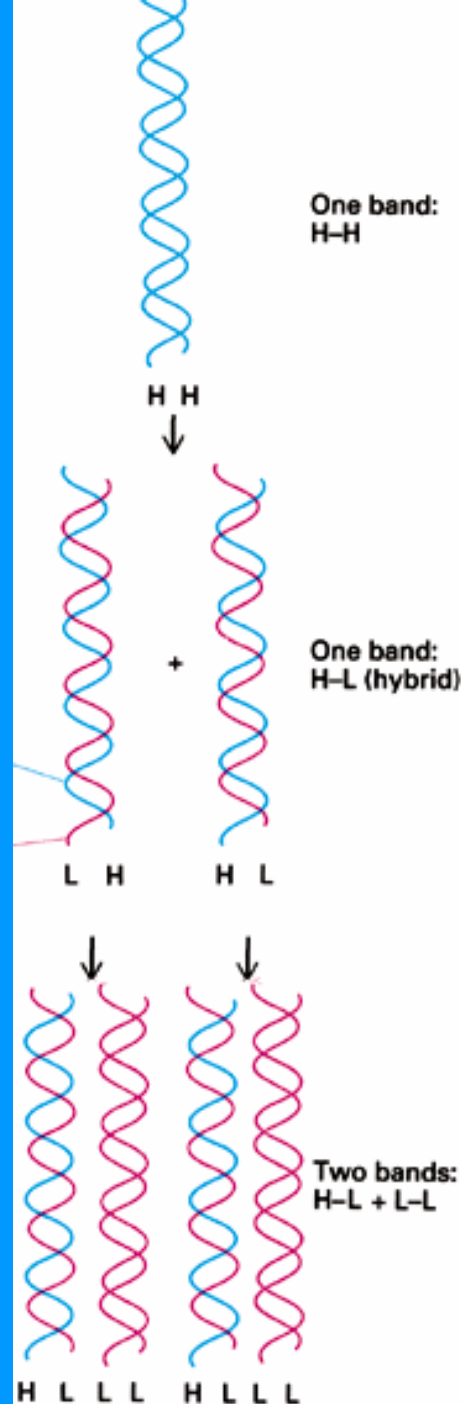
Conclusion?



Generación 0

Generación 1

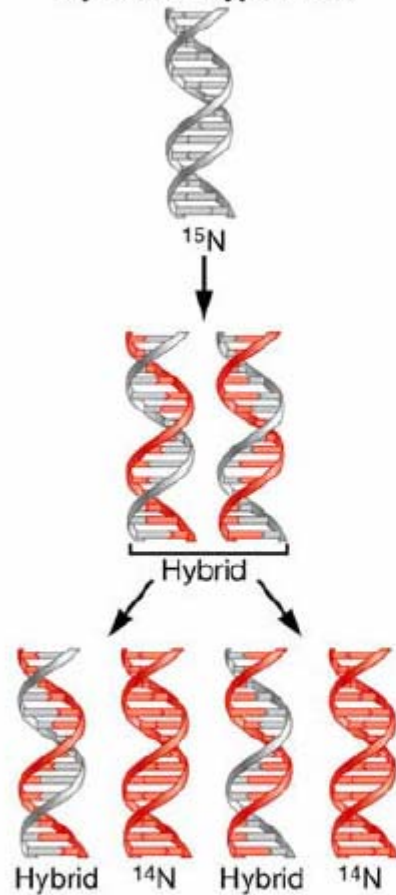
Generación 2



Interpretación de los resultados de Meselson y Stahl

(b) Predictions

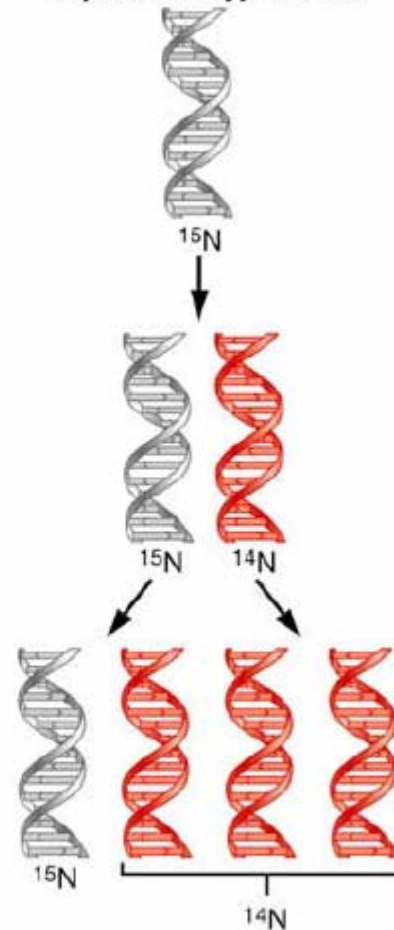
Semi-conservative replication hypothesis



After 2 generations:
1/2 intermediate density DNA
1/2 low density DNA

✓ Hypothesis supported

Conservative replication hypothesis



After 2 generations:
1/4 high density DNA
3/4 low density DNA

✗ Hypothesis rejected

Replicación del DNA

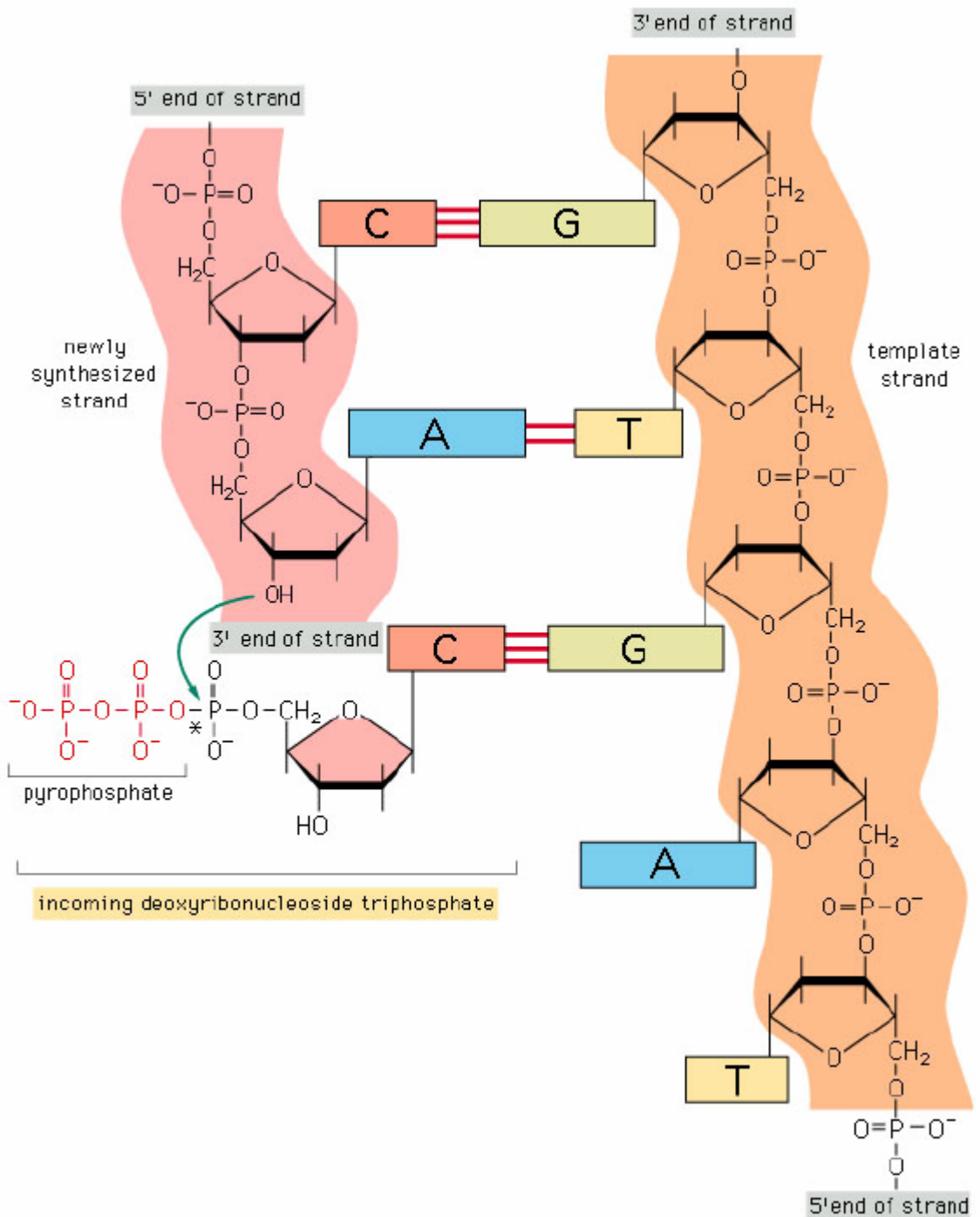
Hebra vieja

Hebra nueva



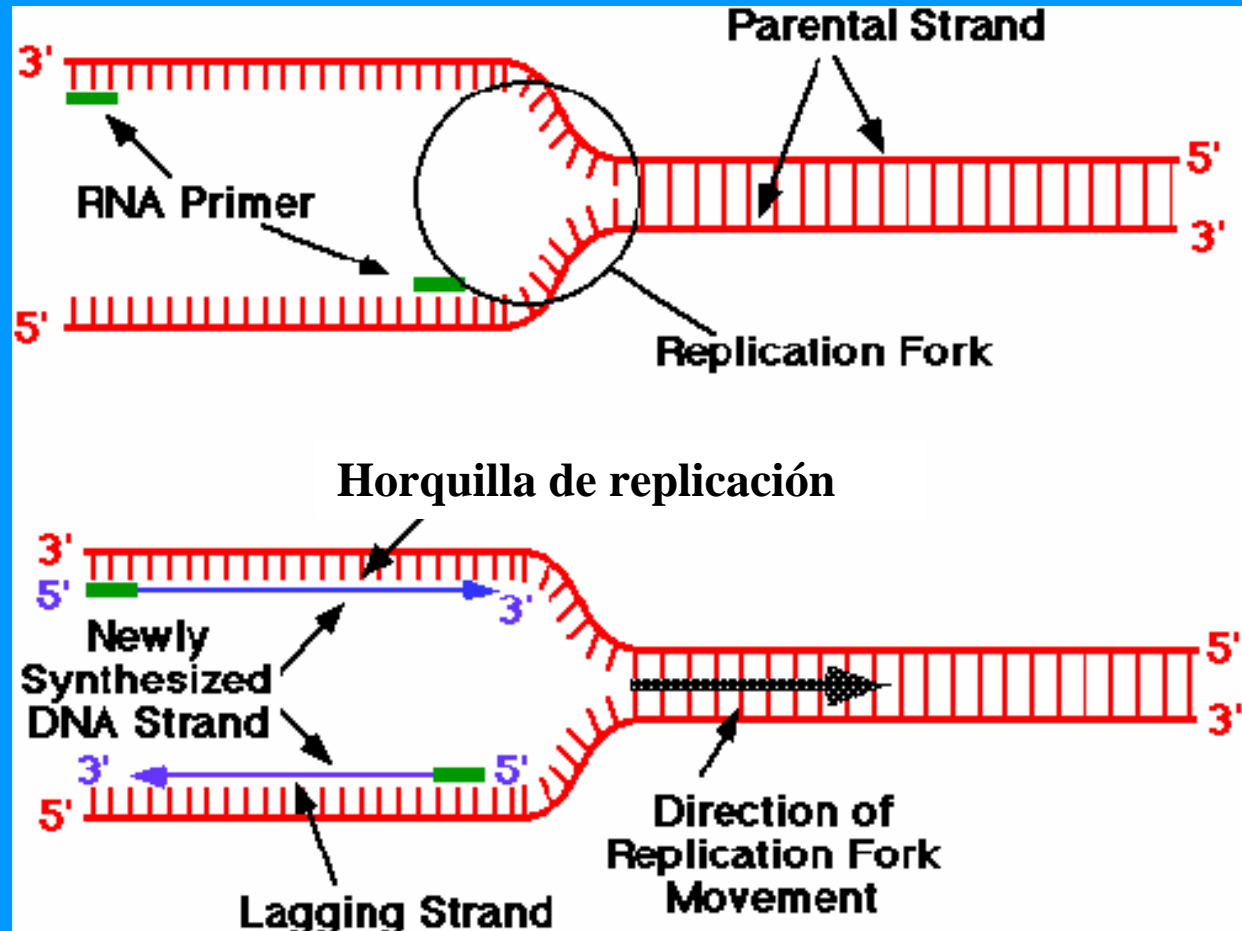
Replicación del DNA por la DNA polimerasa

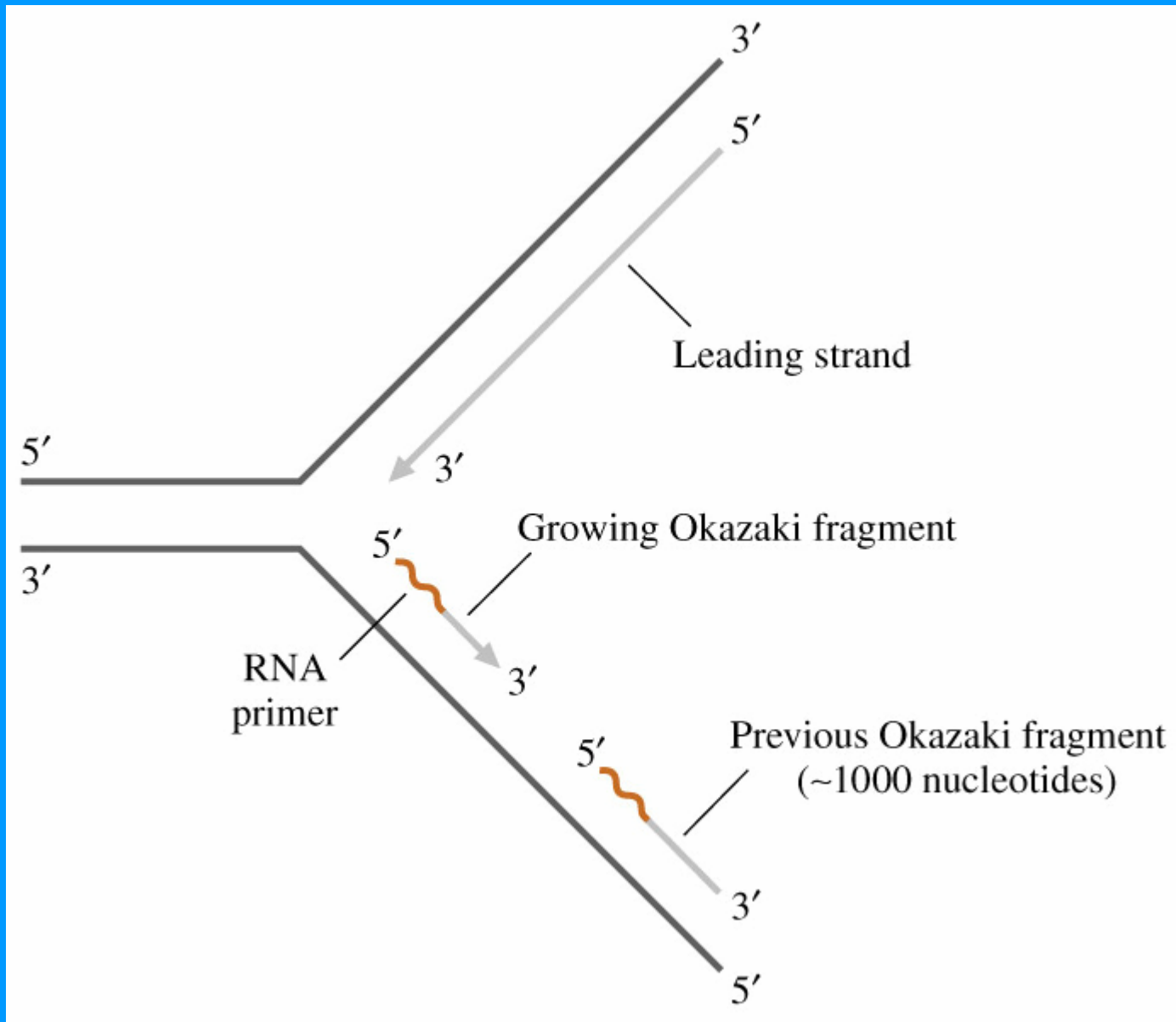
- Incorporación de desoxirribonucleótidos al extremo 3'OH de la hebra en crecimiento
- Dirección de la replicación es 5' a 3'



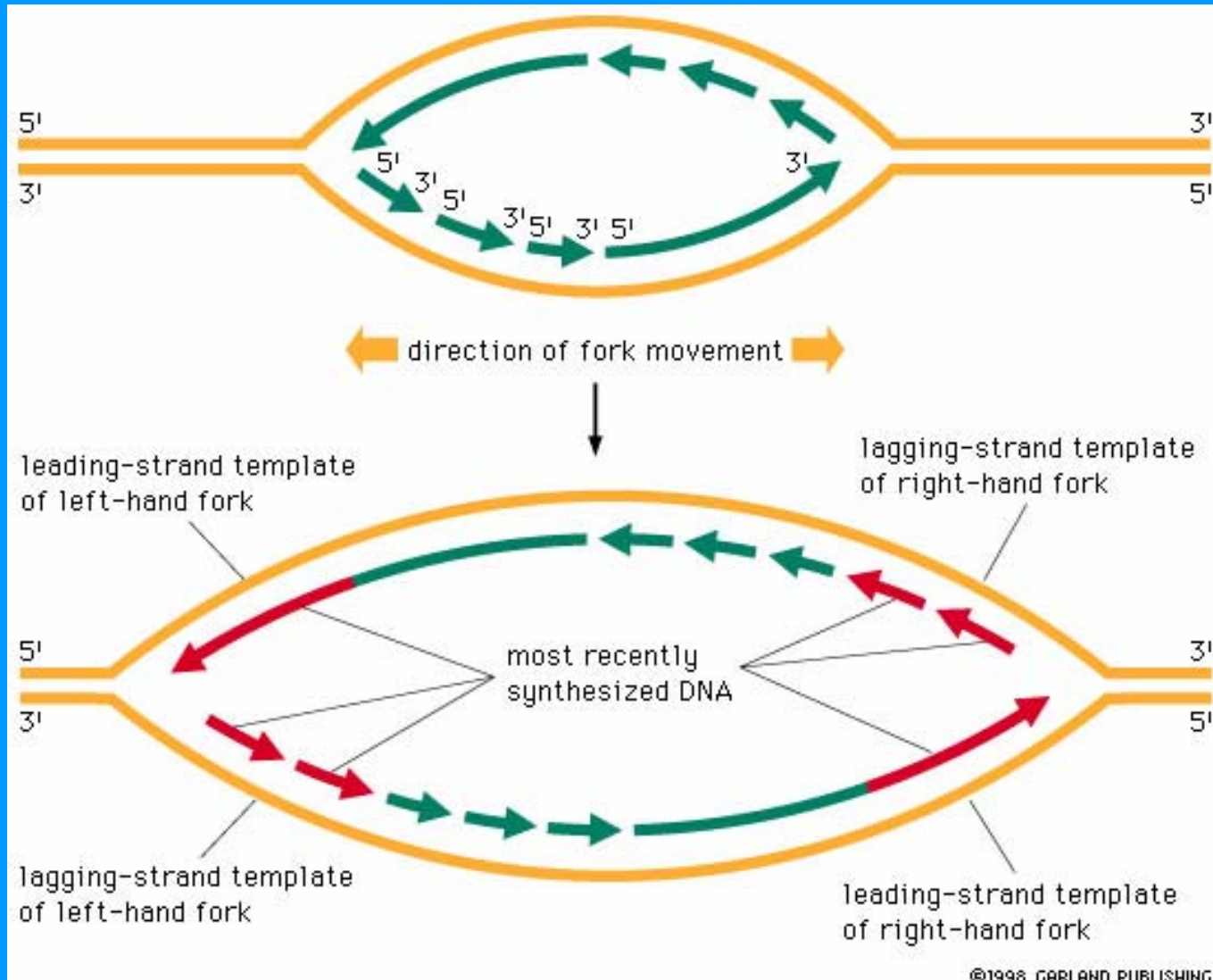
Otras enzimas y proteínas que participan en la replicación

- **DNA polimerasa:**
cataliza la formación del enlace fosfodiéster
- **Primasa:** sintetiza el RNA partidor (primer)
- **Helicasa:** ayuda en la separación de las dos hebras del DNA
- **SSB** (Single Strand Binding): mantienen las hebras separadas

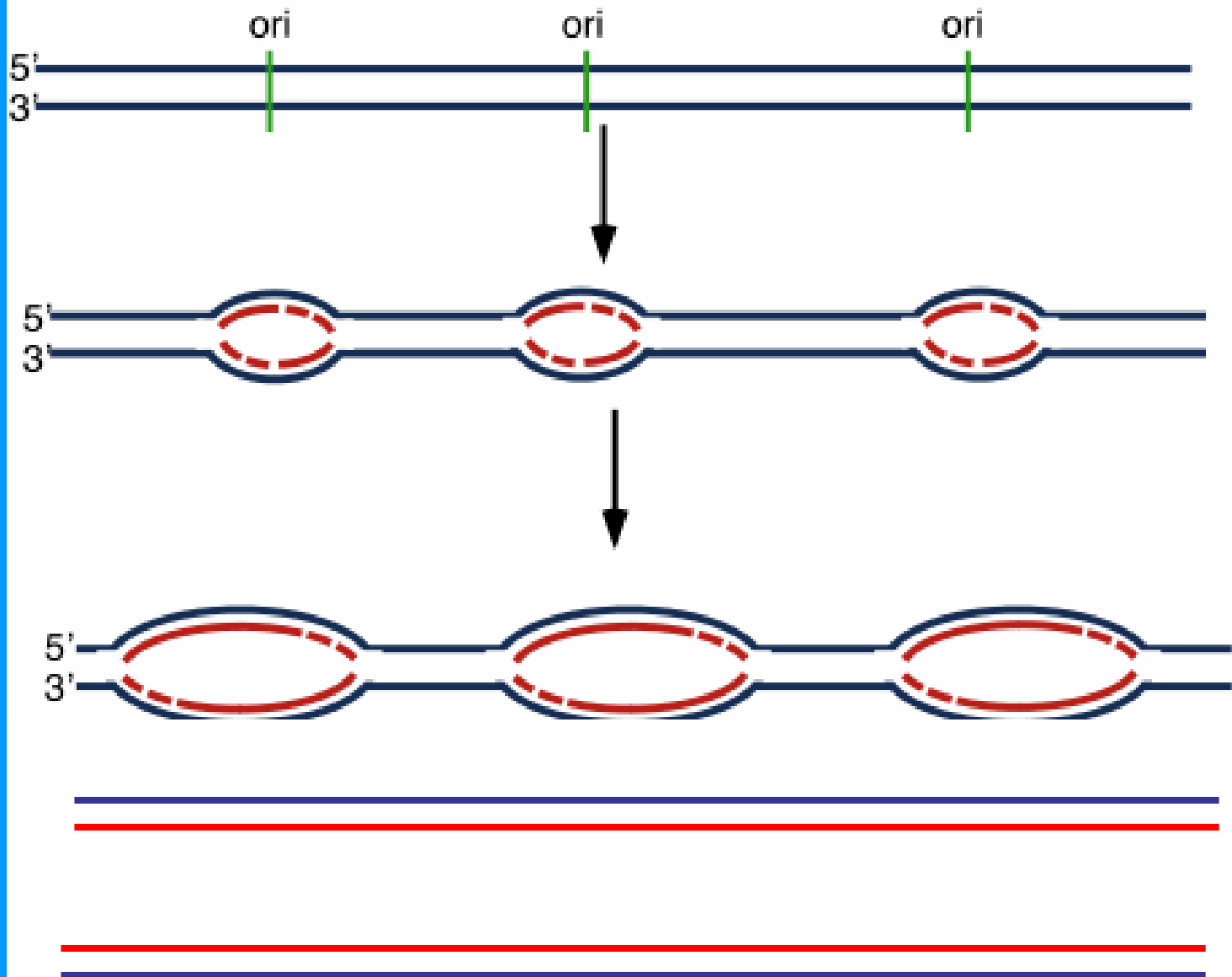




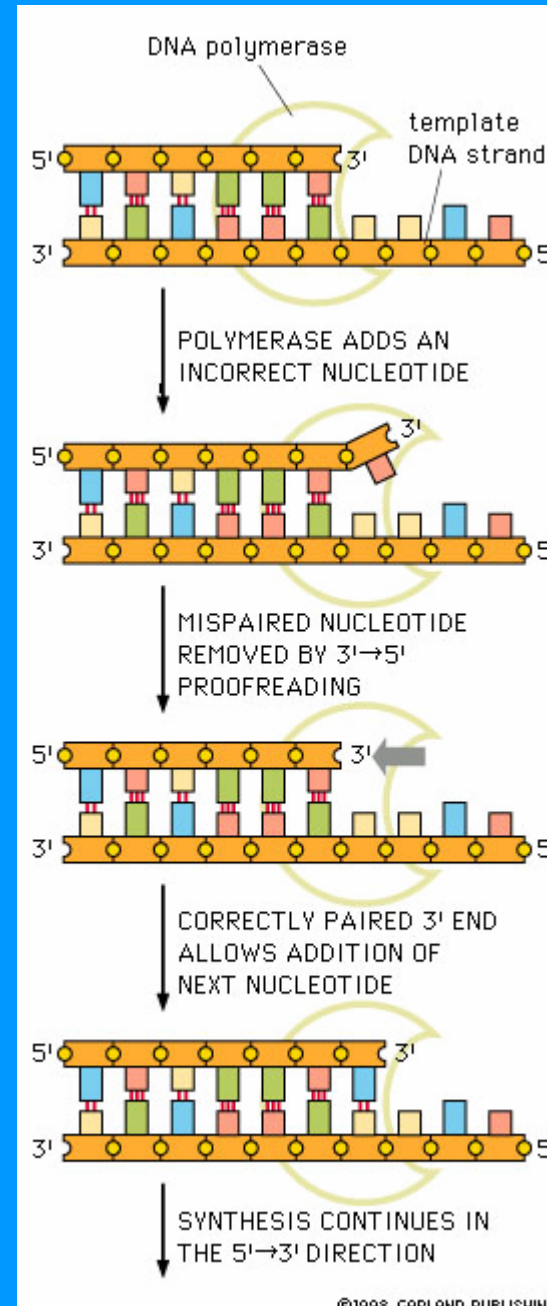
Replicación semidiscontinua y bidireccional



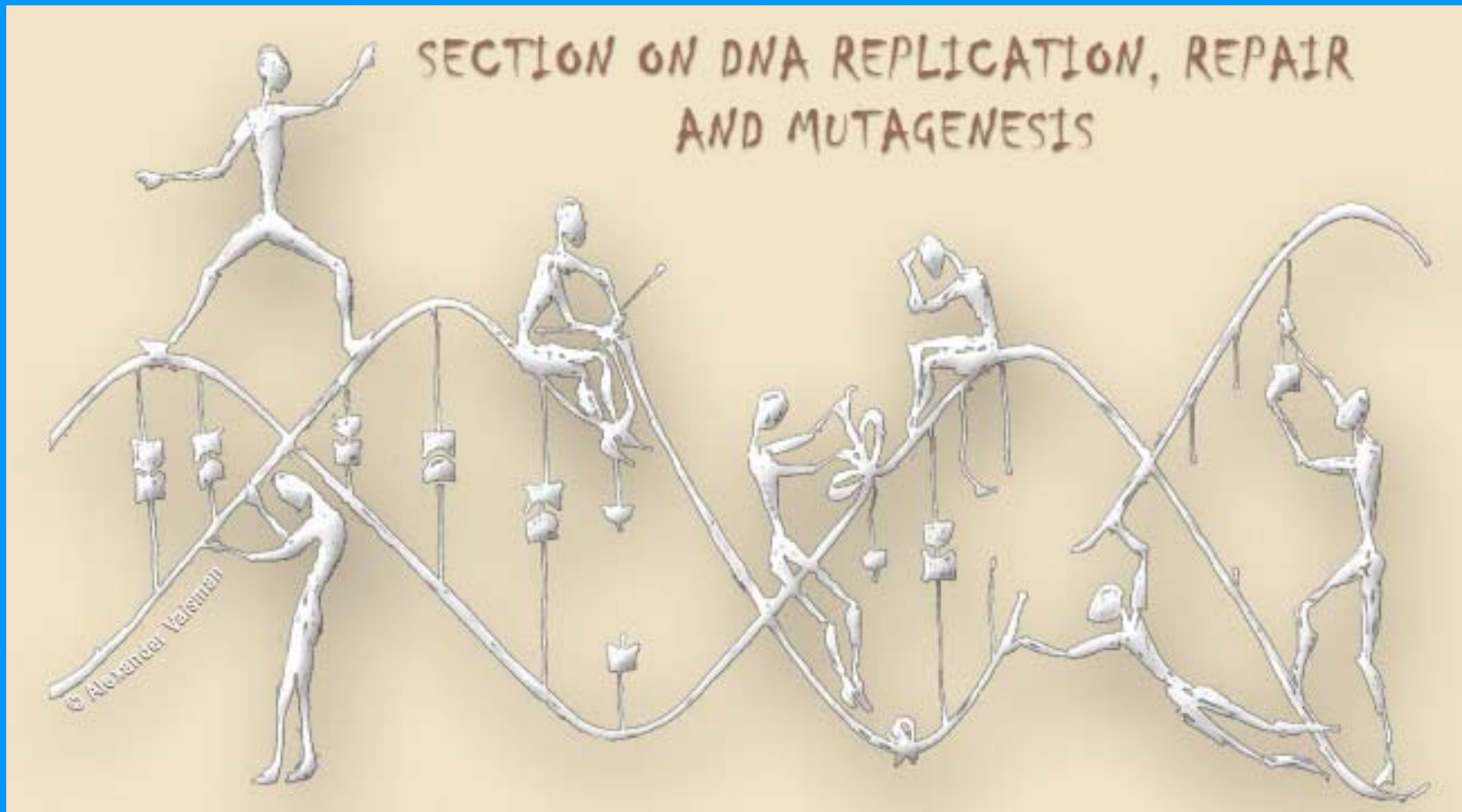
Los grandes DNAs de eucariontes tienen muchos orígenes de replicación



La DNA polimerasa tiene actividad autocorrectora



Mutaciones y mecanismos de reparación

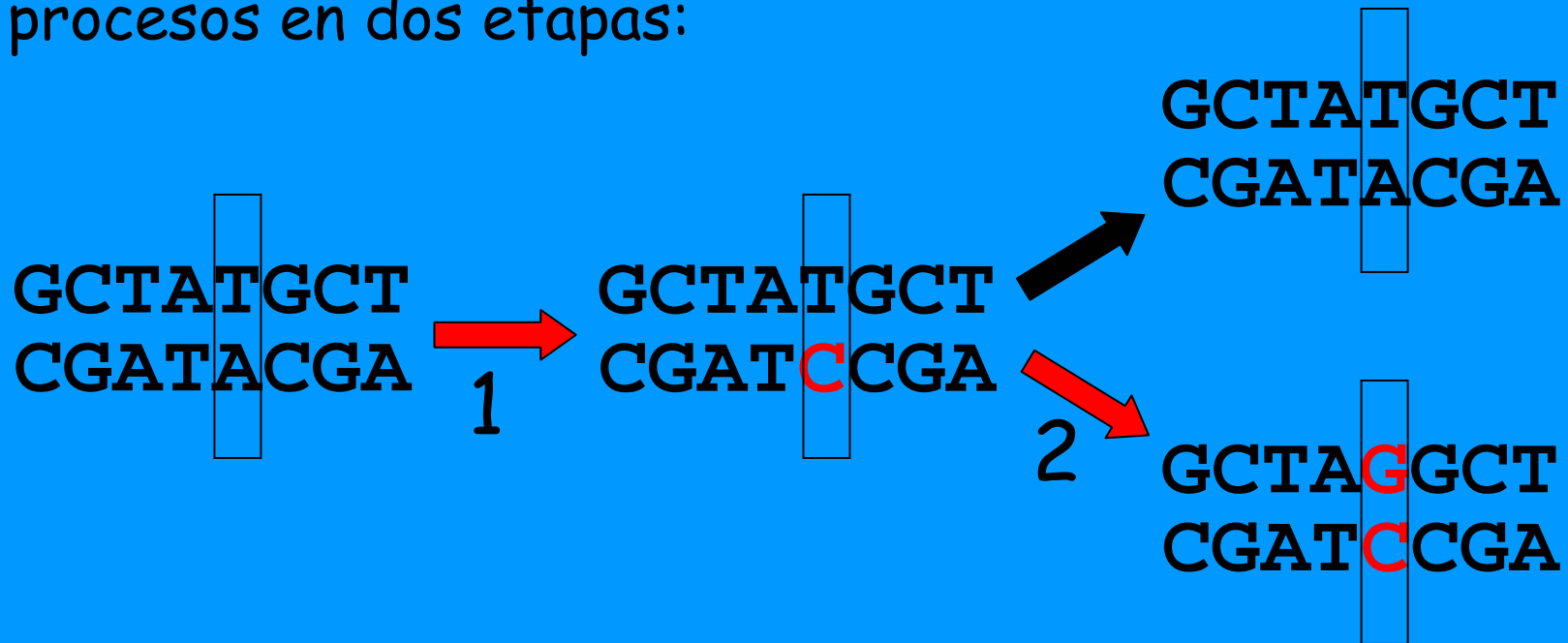


¿Qué son las mutaciones ?

**Cambios que ocurren a nivel de los genes,
que son heredables .**

Mutaciones a nivel molecular

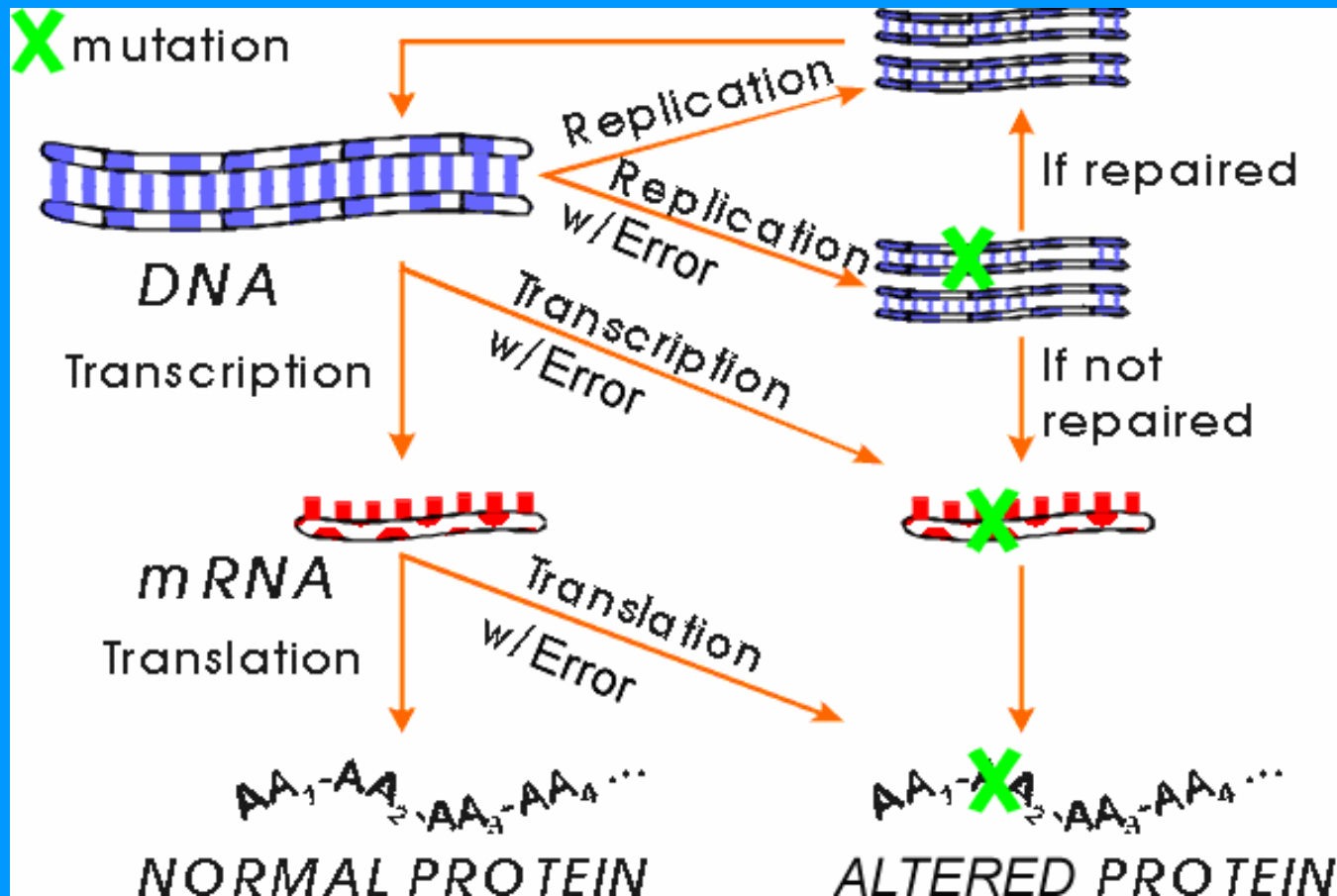
Mutaciones (espontáneas o inducidas) se pueden considerar procesos en dos etapas:



Primero, un error se introduce en una hebra del DNA de doble hebra.

Segundo, ese error es "ratificado" durante la síntesis de DNA (replicación).

Y si un daño en el DNA no es reparado a tiempo ?



¿Cómo afecta a la secuencia de una proteína una mutación en el DNA?

wild type	GUCAUGUUUAGCUCAAUCAGGAAGUGU	wild type						
Val	Met	Phe	Ser	Ser	Ile	Arg	Lys	Cys
mutant	GUCAUGUUCAGCUCAAUCAGGAAGUGU	mutant						
Val	Met	Phe	Ser	Ser	Ile	Arg	Lys	Cys

wild type	GUCAUGUUUAGCUCAAUCAGGAAGUGU	wild type						
Val	Met	Phe	Ser	Ser	Ile	Arg	Lys	Cys
mutant	GUCAUGUUGAGCUCAAUCAGGAAGUGU	mutant						
Val	Met	Leu	Ser	Ser	Ile	Arg	Lys	Cys

wild type	GUCAUGUUUAGCUCAAUCAGGAAGUGU							
Val	Met	Phe	Ser	Ser	Ile	Arg	Lys	Cys
added nucleotide								
mutant	GUCAUGUUUAAGCUCAAUCAGGAAGUGU							
Val	Met	Phe	Lys	Leu	Asn	Gln	Glu	Val

wild type
GUCAUGUUUAGCUCAAUCAGGAAGUGU
Val Met Phe Ser Ser Ile Arg Lys Cys
mutant
GUCAUGUUUAGCUCAAUCAGGAAGUGU
Val Met Phe Ser Stop Ile Arg Lys Cys

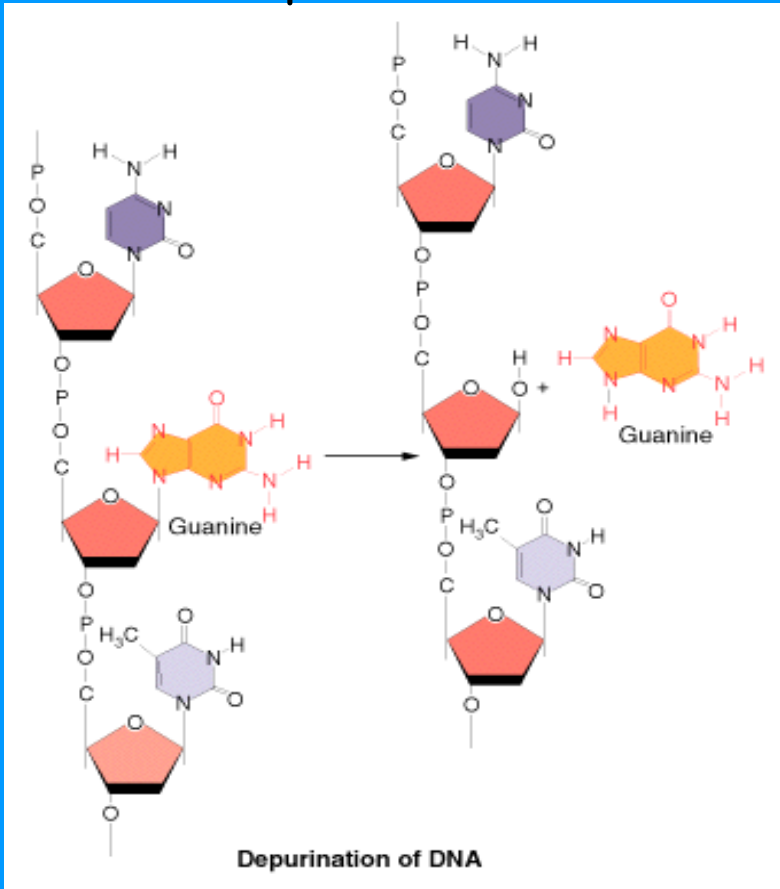
Tipos de daños producidos en el DNA

Se clasifican en:

- De acuerdo a la extensión
 - Puntuales
 - Extensos, producidos por rearrreglos en el DNA
- De acuerdo al origen
 - Espontáneos
 - Inducidos
- De acuerdo a la naturaleza química del daño
 - Desaminaciones
 - Despurinaciones
 - Alquilaciones
 - dimerizaciones

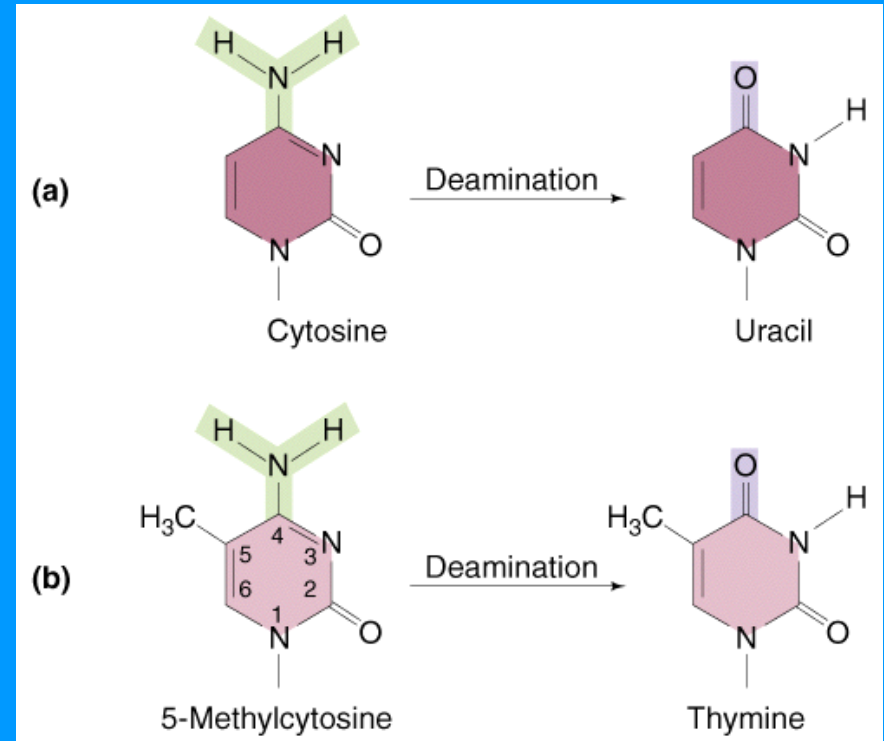
Lesiones Espontáneas

Depuración



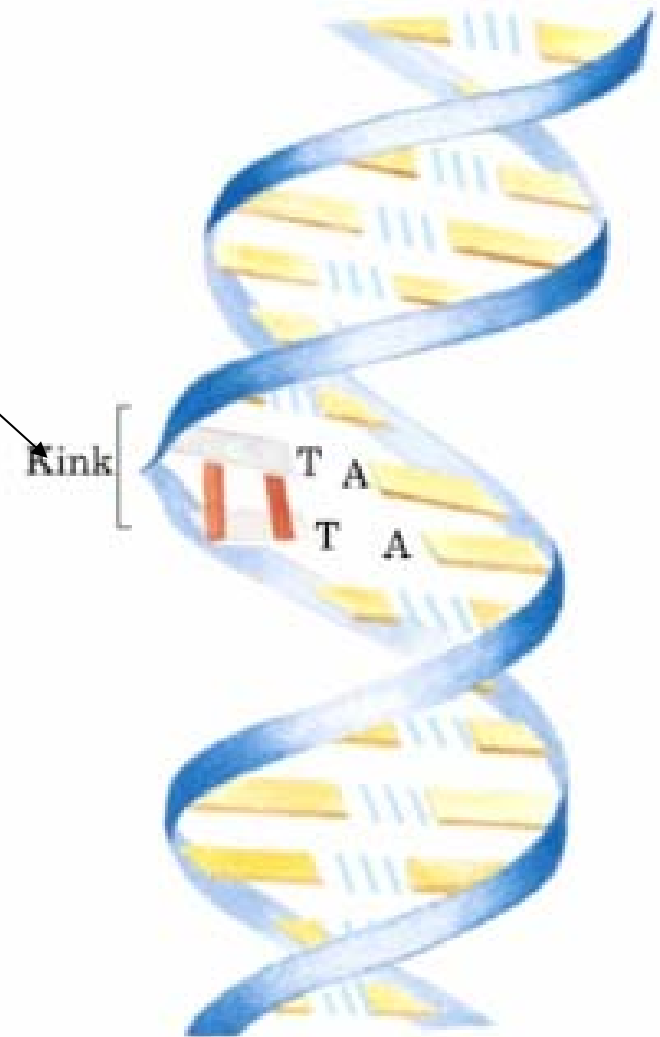
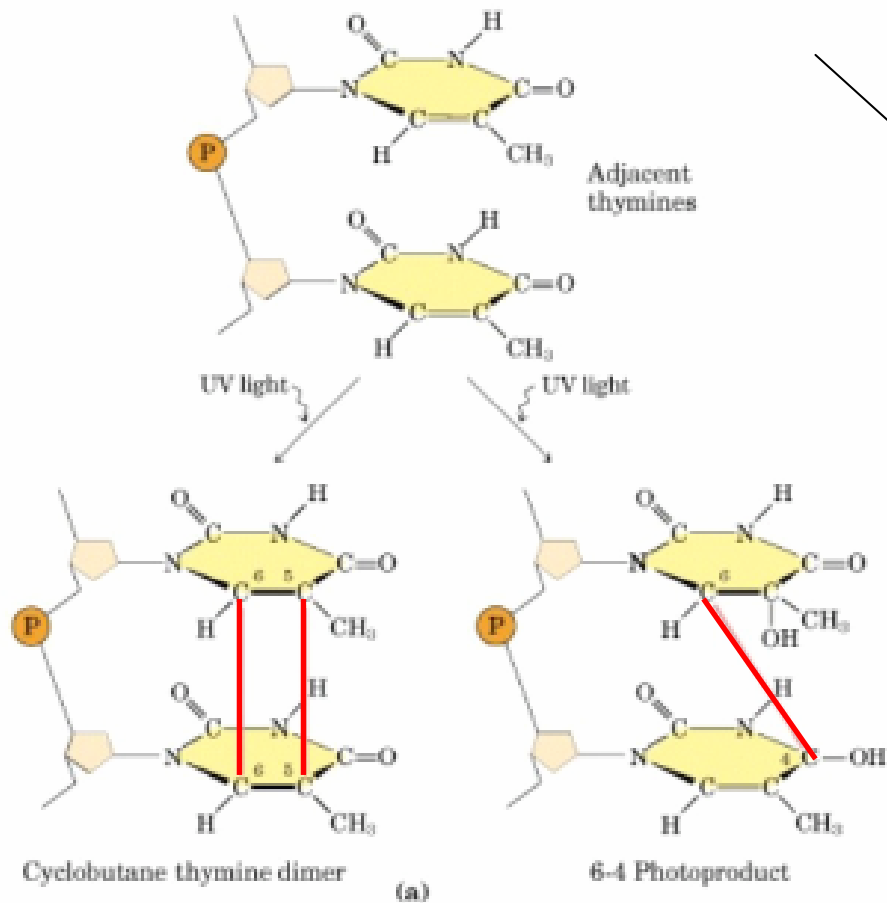
Una sola célula pierde >10,000 purinas/día!, pero la mayor parte de los sitios son reparados.

Desaminación

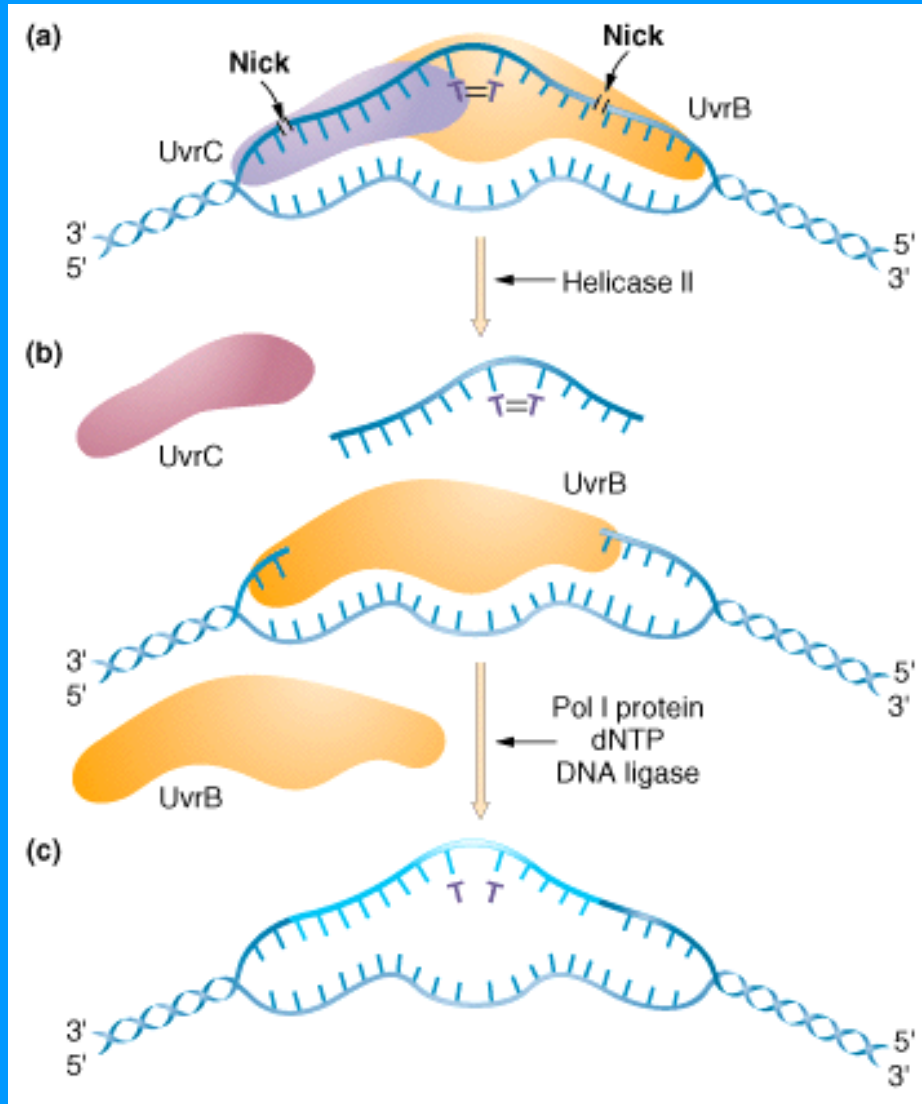


Ya que timina no es reconocida por sistemas de reparación, este mecanismo es una causa común de mutación.

Dímeros de timina formados por luz UV



Mecanismo de reparación por escisión



Una **nucleasa** corta y elimina el sector de bases que rodea la lesión.

El espacio es rellenado por una DNA **polimerasa** y ligada por una DNA **ligasa**.

Recombinación del DNA

Mecanismos de Generación de Variabilidad Genética

- **Recombinación**
 - **Homóloga**
 - **Sitio específico**
 - **Virus**
 - **Transposición**

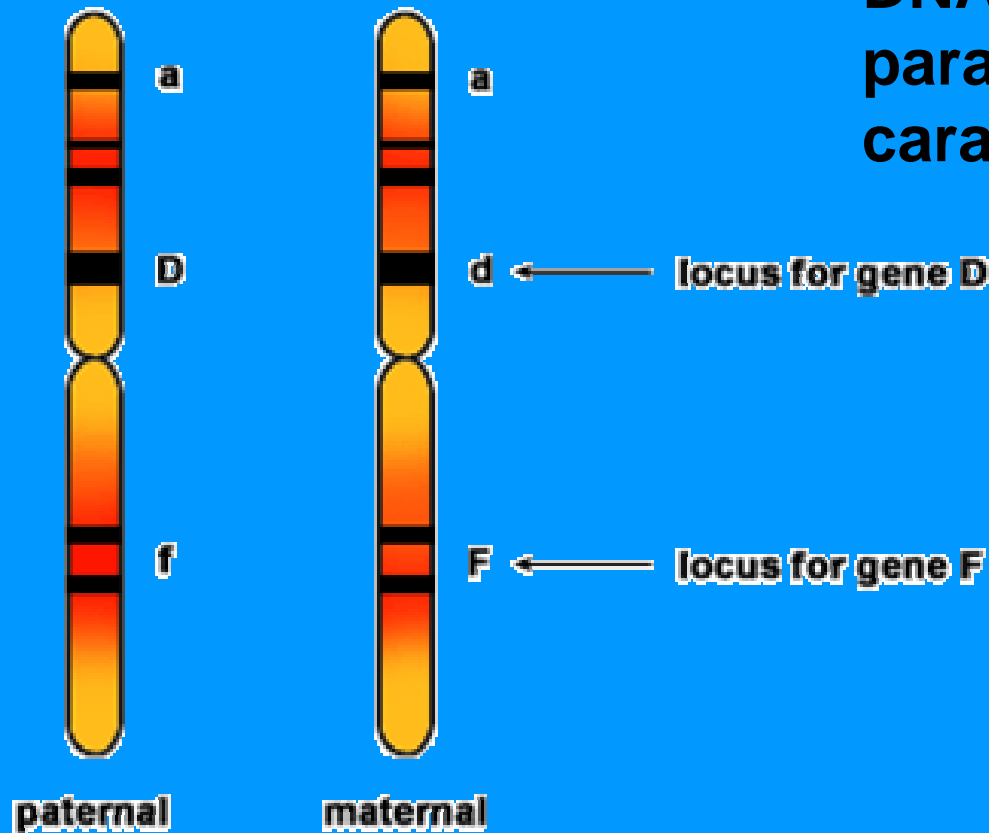
Recombinación Homóloga o Generalizada

- Ruptura y re-unión entre fragmentos de DNA **homólogo**.
- Durante la meiosis genera **diversidad** de la progenie
- Usada también para incorporar **DNA exógeno** (transformación genética) en el caso de las bacterias y virus.

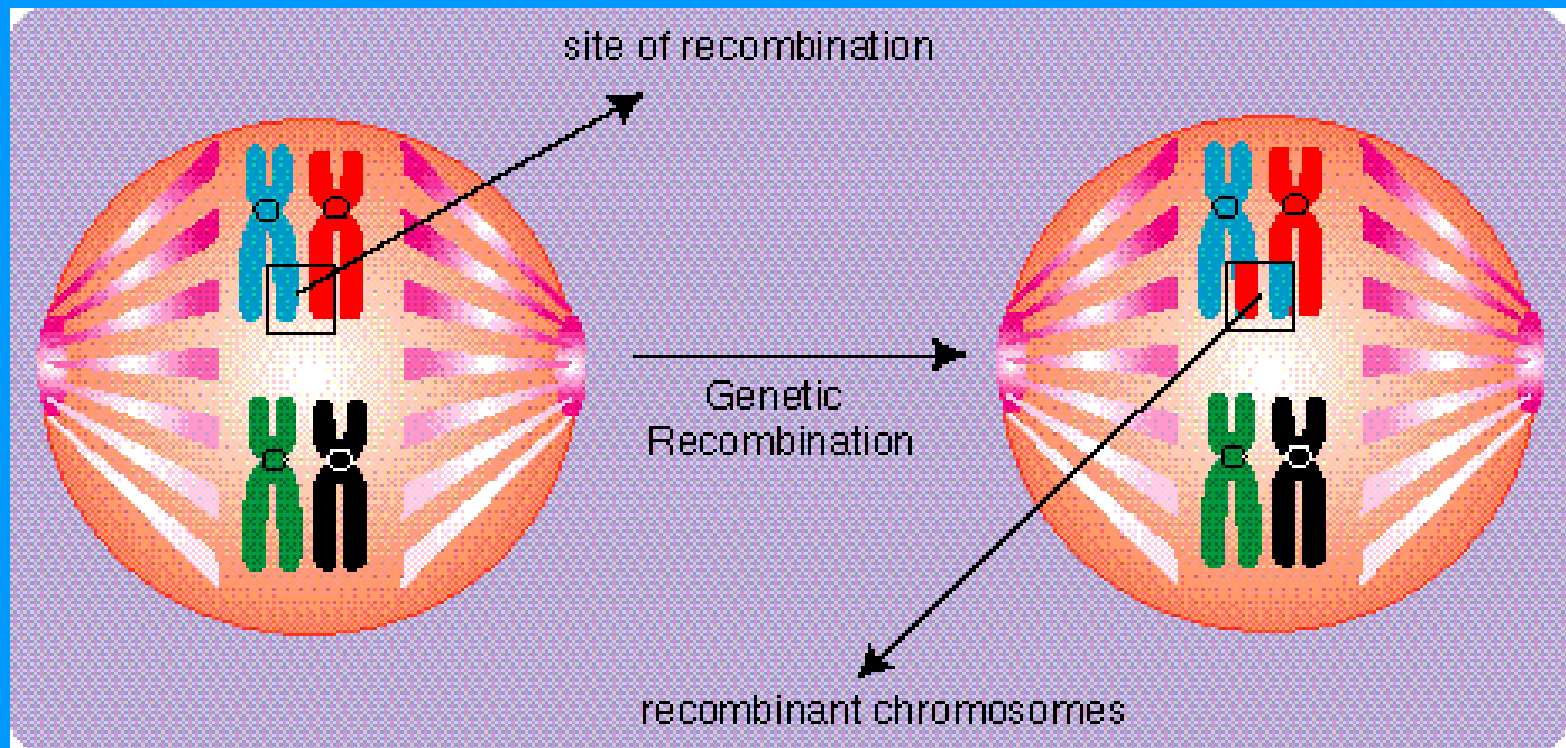
Recordemos el concepto de DNAs homólogos...

- Fragmentos de DNA son homólogos si son **similares** en secuencia.
- Organismos eucariontes tienen dos cromosomas de cada tipo (uno de origen materno y otro de origen paterno). Se dice que estos dos cromosomas son **homólogos**.

**Los cromosomas
homólogos poseen
DNA similar y genes
para los mismos
caracteres**



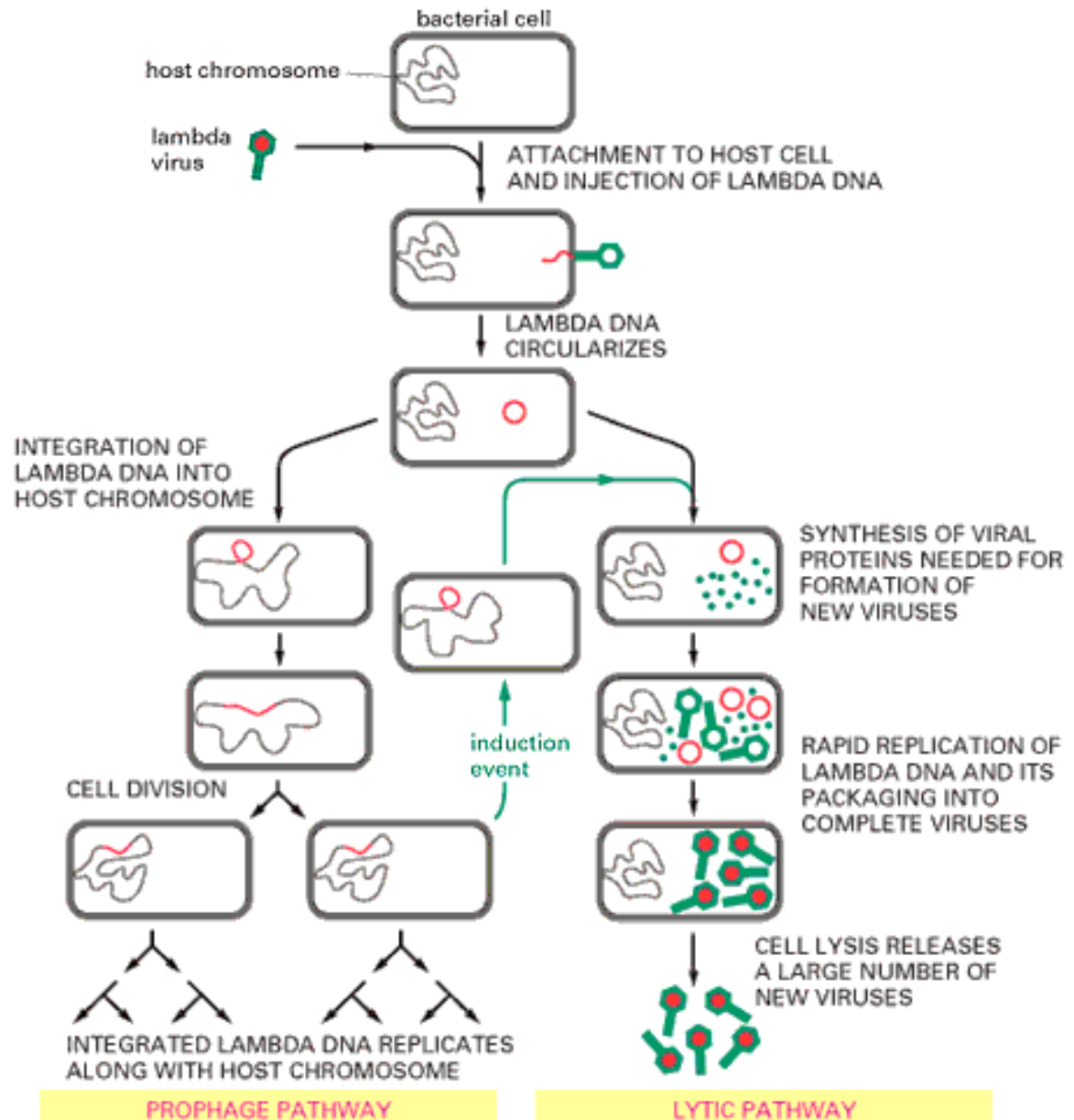
La Recombinación Homóloga Ocurre Durante la Meiosis



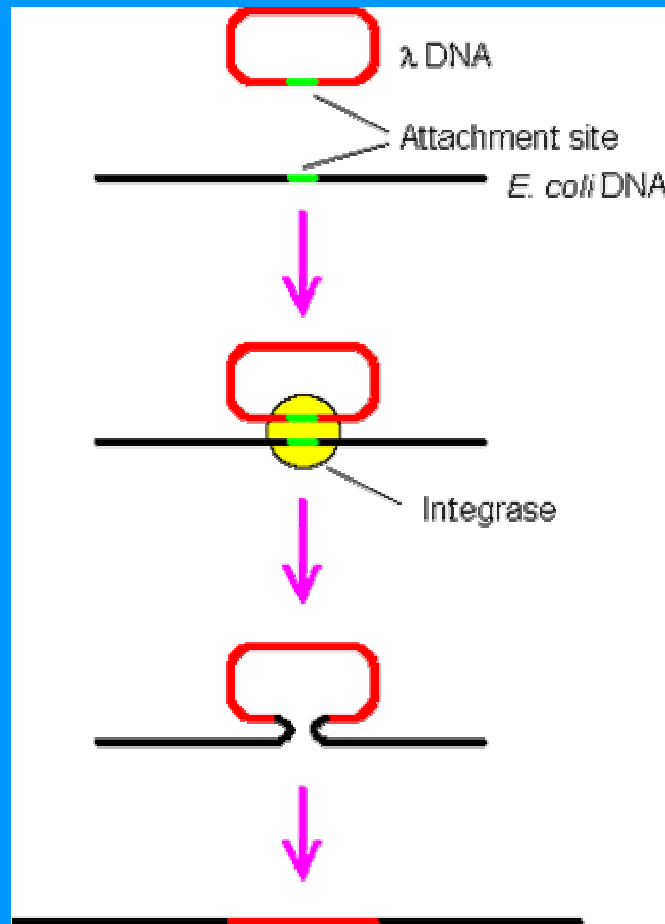
Recombinación Sitio Específico

- Un evento de entrecruzamiento de hebras de DNA, catalizado por una enzima que reconoce una secuencia de DNA específica para realizar la recombinación. Ocurre entre dos secuencias específicas que no necesitan ser homologas.
 - Virus
 - Transposición

Ciclo de Vida del Bacteriófago Lambda (λ)



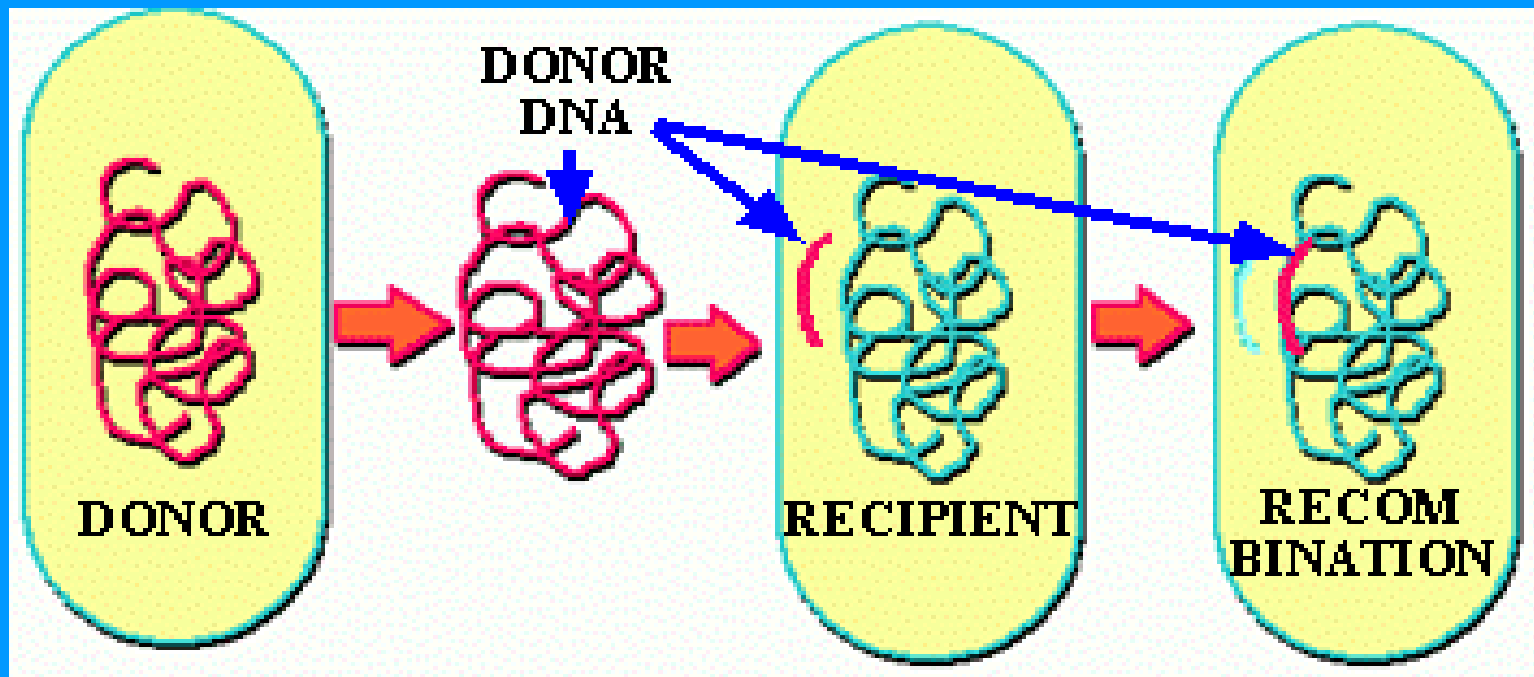
Recombinación sitio específico del DNA de lambda al DNA de la bacteria *E. coli*



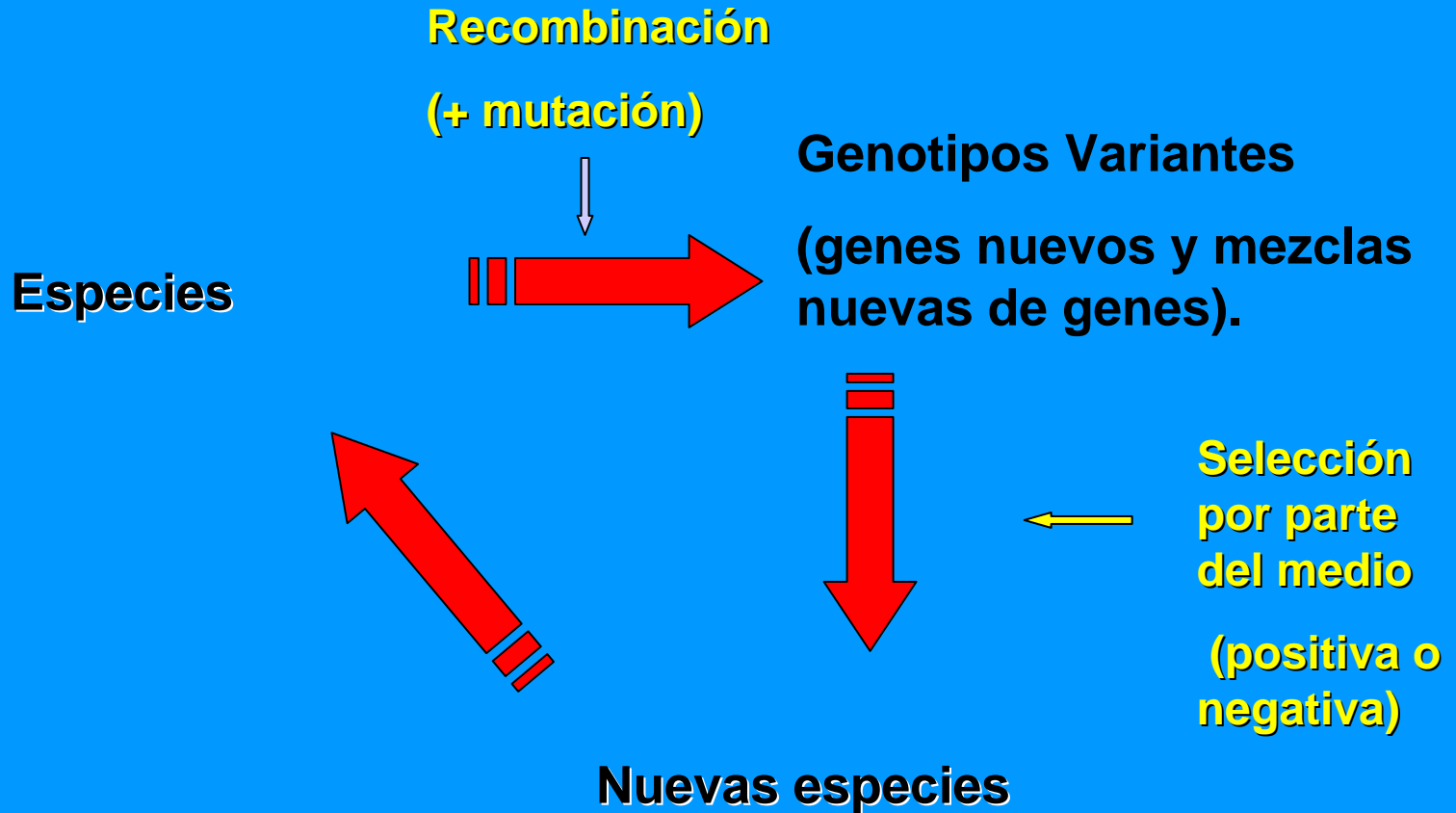
Elementos transposables

- Partes del genoma que “saltan” de un sitio a otro del DNA y afectan la expresión de genes vecinos.
- Contribuyen a la diversidad genética ya que su presencia interrumpe y re-ordena genes, y por lo tanto determina qué secuencia y cuándo ésta se expresa.

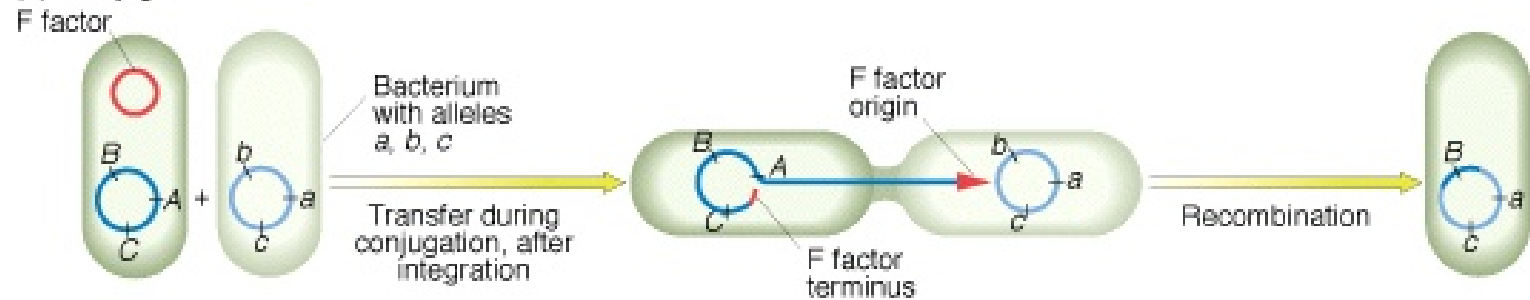
Las bacterias pueden incorporar DNA del exterior. Si este DNA es homólogo puede recombinar con el cromosoma del receptor y cambiar su genotipo permanentemente.



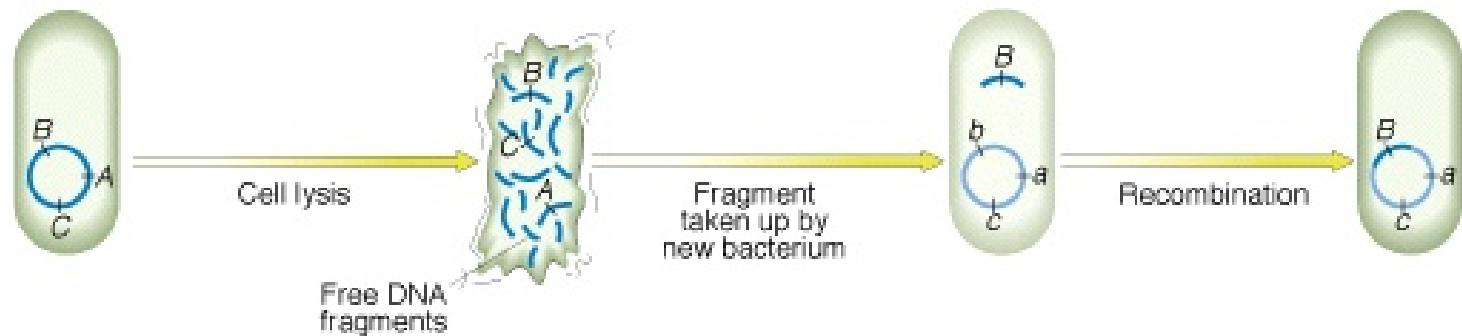
¿De qué manera la recombinación facilita la evolución ?



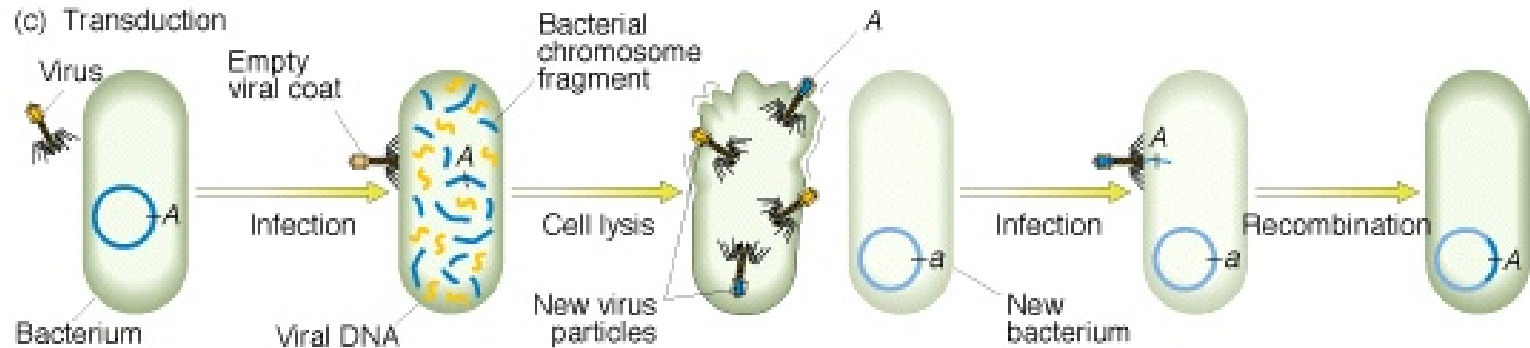
(a) Conjugation



(b) Transformation

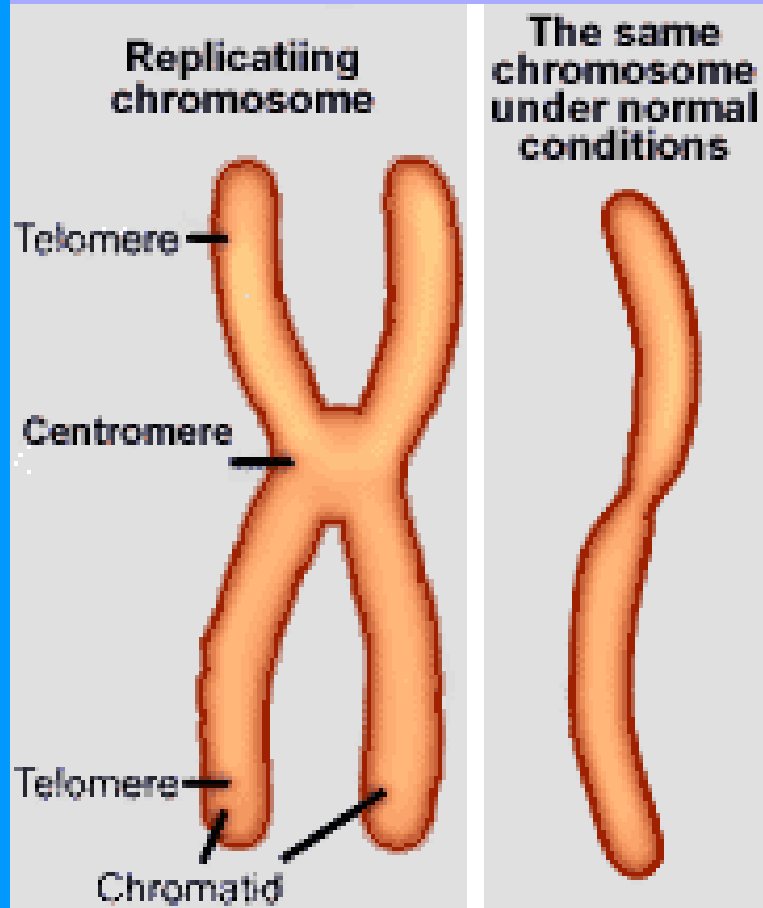


(c) Transduction



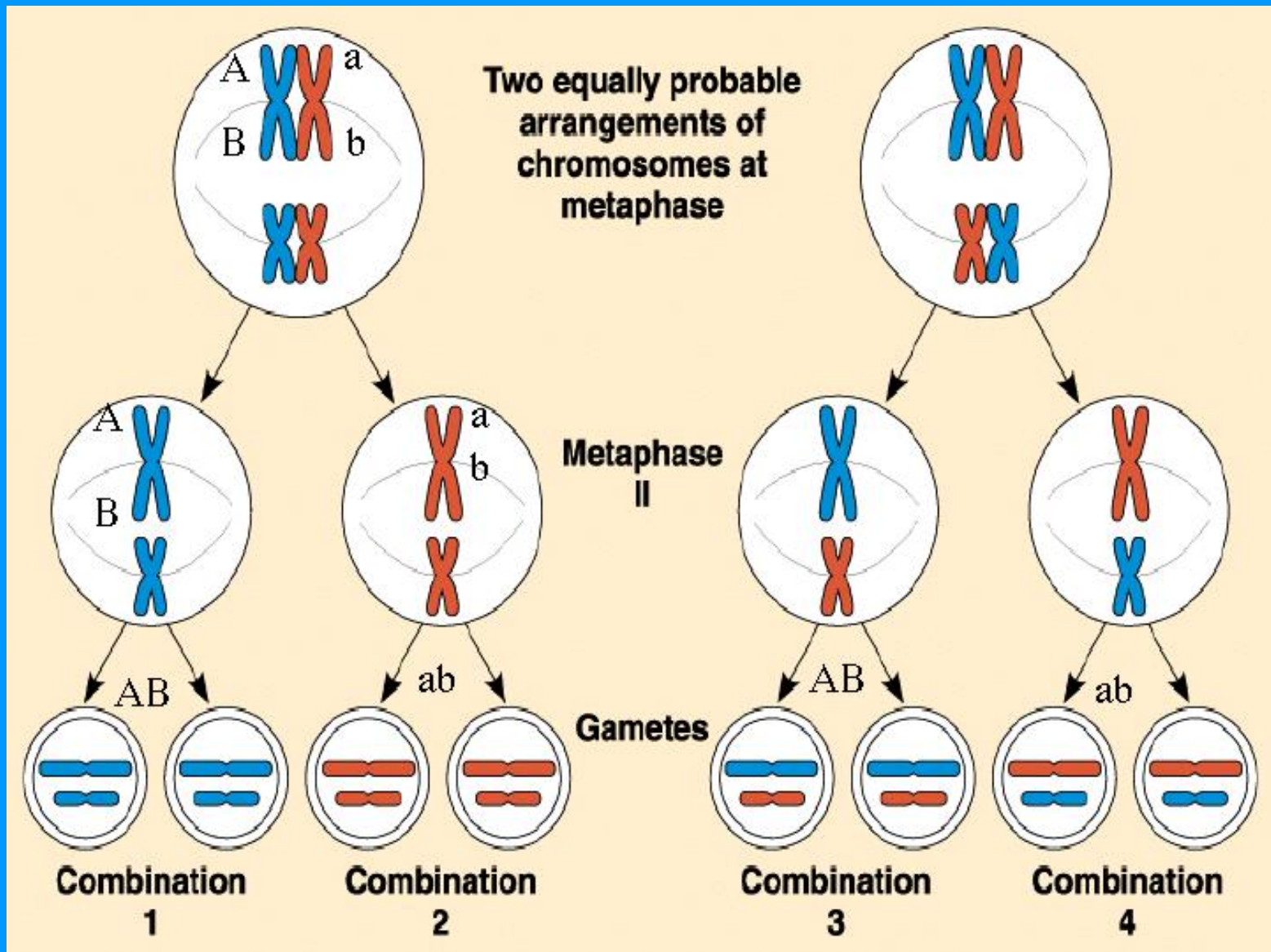
Estructura de los cromosomas

When chromosomes are preparing to divide the DNA replicates itself into two strands called chromatids

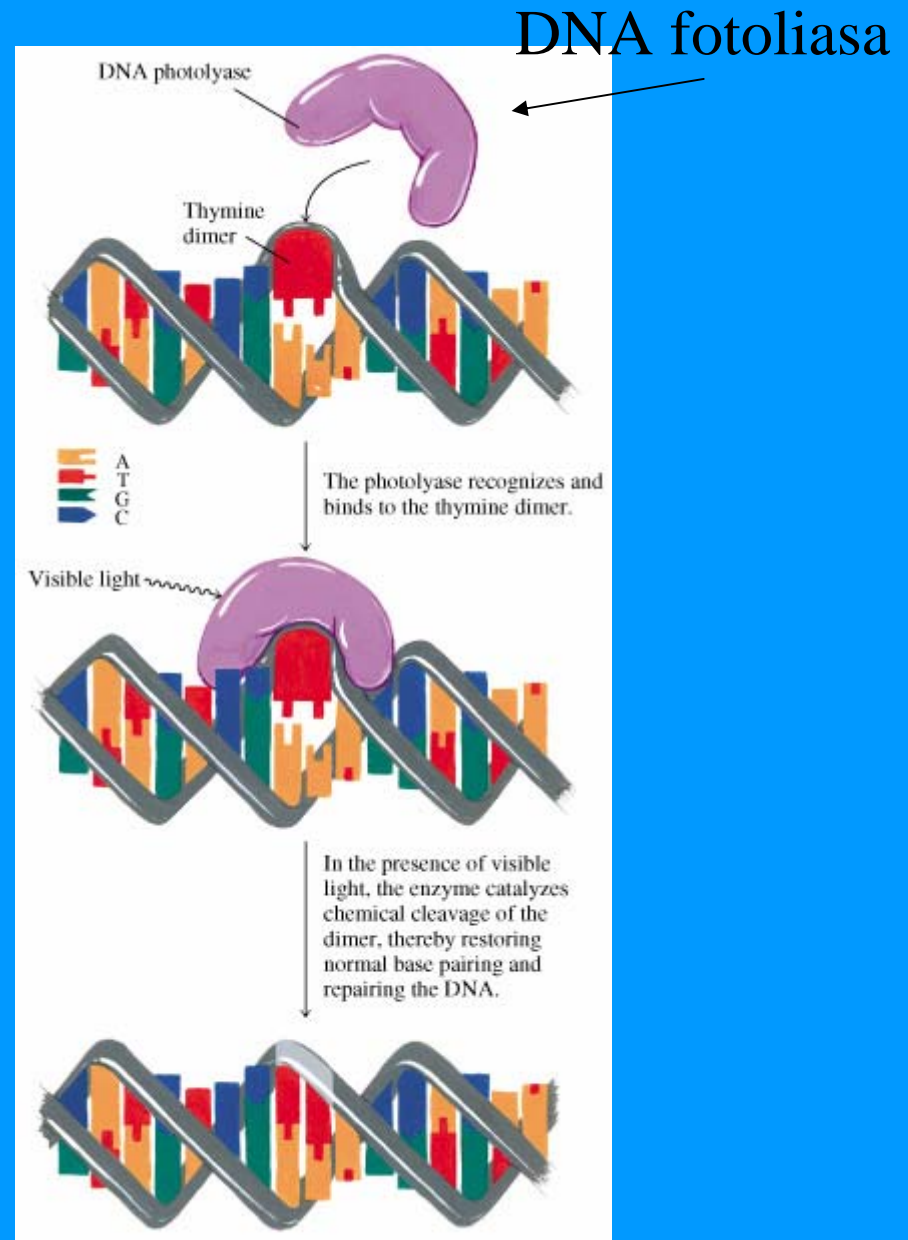


Ya que las células duplican todo su DNA antes de dividirse, los cromosomas durante la división celular están compuestos de dos cromátidas duplicadas, las cuales serán entregadas una a cada célula hija.

Segregación Independiente de los Cromosomas Durante la Meiosis: una Fuente Adicional de Variabilidad Genética



Reparación de dímeros de timina por fotoliasa



Recombinación Homóloga Durante la Meiosis

