



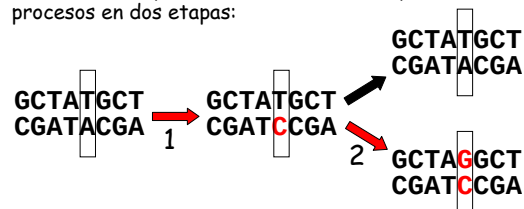
Biología y Biotecnología
BT3401

Mutaciones y mecanismos de reparación de daños en el ADN

Prof. Oriana Salazar
7 de junio de 2011

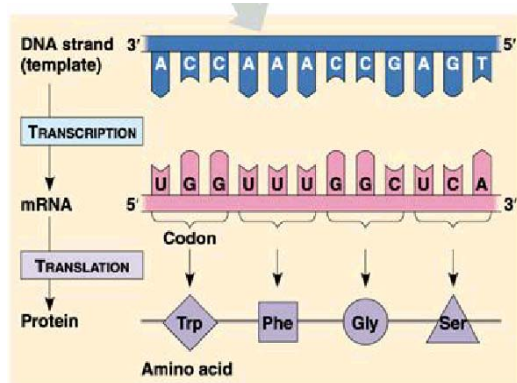
Efecto de las mutaciones a nivel molecular

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



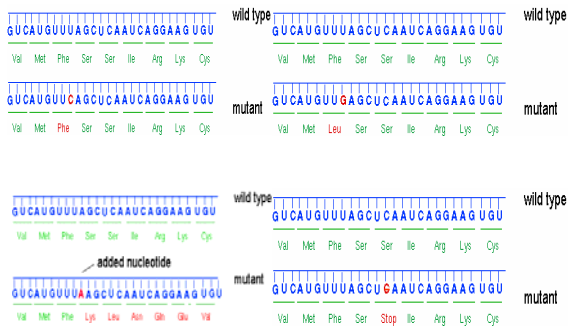
Primero, un error se introduce en una de las hebras del DNA de doble hebra.

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



©1999 Addison Wesley Longman, Inc.

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



Tipos de daños producidos en el DNA

Se clasifican en:

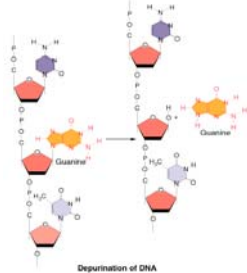
- De acuerdo a la extensión
 - Puntuales
 - Extensos, producidos por rearrreglos en el DNA
- De acuerdo al origen
 - Espontáneos
 - Inducidos
- De acuerdo a la naturaleza química del daño
 - Desaminaciones
 - Despurinaciones
 - Alquilaciones
 - dimerizaciones

Tipos de agentes mutágenos

- **Mutágenos químicos:**
 - Acido nitroso (agente desaminante).
 - Etil metano sulfonato (EMS, agente alquilante que introduce un metilo en guanina)
- **Mutágenos físicos:** son radiaciones que pueden alterar la secuencia y estructura del ADN.
 - Radiación ultravioleta que origina dímeros de pirimidina (generalmente de timina),
 - Radiaciones ionizantes.
- **Mutágenos biológicos:**
 - Ejemplo los transposones (fragmentos autónomos de ADN).
- **Mutágenos que resultan de sustancias no carcinógenas metabolizadas,**
 - por ejemplo, benzopireno es la sustancia resultante del metabolismo en el hígado

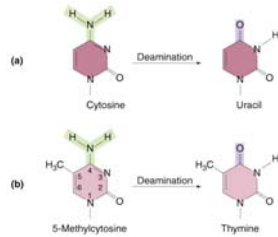
Lesiones en el DNA

Depurinación



Una célula pierde >10,000 purinas/día. Sin embargo la mayoría de los sitios son reparados.

Desaminación



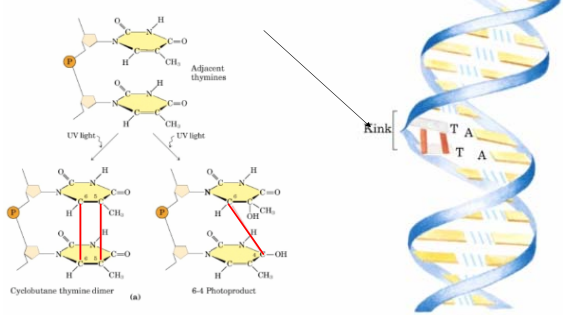
Ya que timina no es reconocida por los sistemas de reparación, este mecanismo es una causa común de mutación.

MECANISMO MUTAGENICO

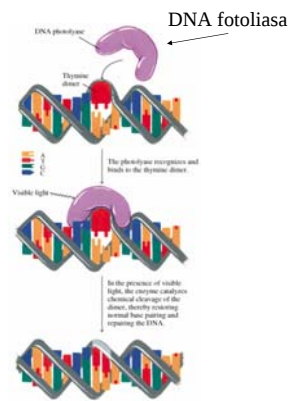
Nature of mutation	Consequences
	U-G replaces C-G Corrected by removing U

	Methyl group distorts double helix Corrected by dealkylation
	Purine is missing Corrected by insertion

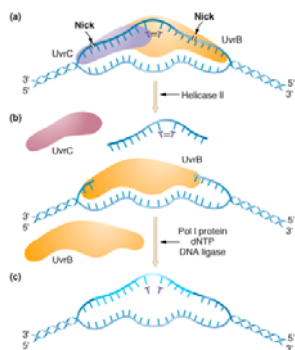
Dímeros de timina formados por luz UV



Reparación de dímeros de timina por fotoliasa



Mecanismo de reparación por escisión



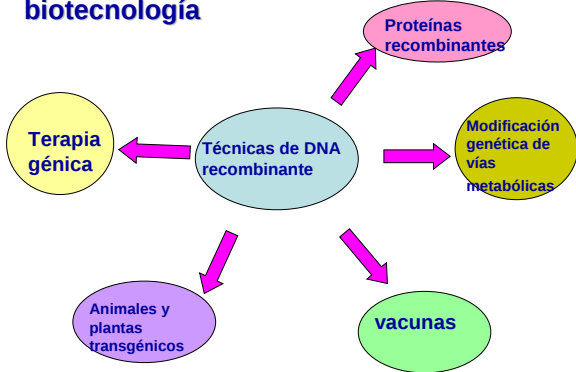
Una **nucleasa** corta y elimina el sector de bases que rodea la lesión.

El espacio es rellenado por una **DNA polimerasa** y el frgamento generado es ligado por una **DNA ligasa**.



Técnicas de DNA recombinante

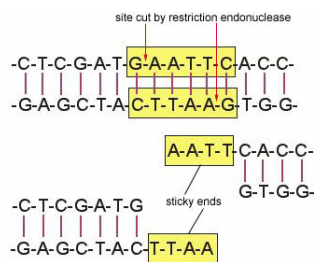
Las técnicas de DNA recombinante están en centro de la nueva biotecnología



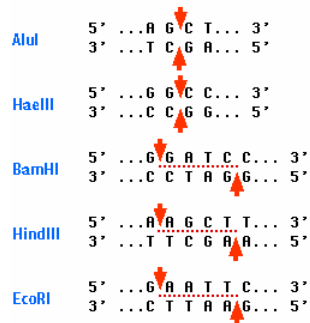
Endonucleasas de restricción permiten fragmentar el DNA

Las secuencias que son reconocidas por las Enzimas de restricción son **palíndromes**

Generan extremos **cohesivos** o **romos**



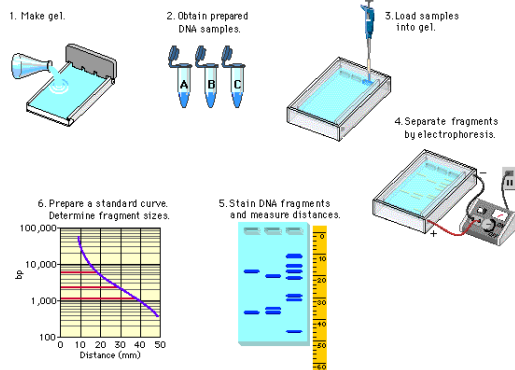
Otras enzimas de restricción



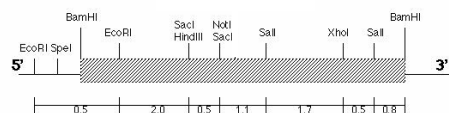
AluI and **HaeIII** produce blunt ends

BamHI **HindIII** and **EcoRI** produce "sticky" ends

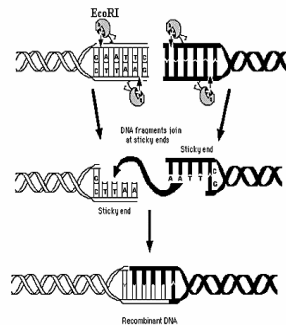
ELECTROFORESIS DE DNA: TÉCNICA PARA LA SEPARACIÓN DE FRAGMENTOS DE DNA DE DIFERENTE TAMAÑO



MAPA DE RESTRICCIÓN



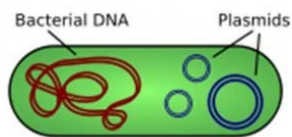
Los fragmentos de DNA producidos por corte con una **misma enzima de restricción** pueden ser **ligados** para formar moléculas de **DNA recombinante**.



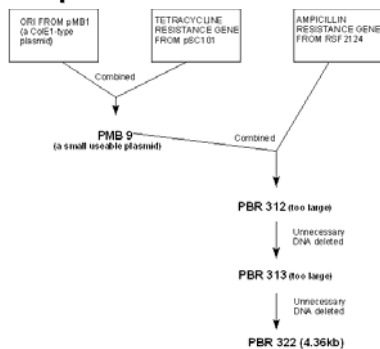
**Restriction Enzyme
Action of EcoRI**

Vectores de clonamiento

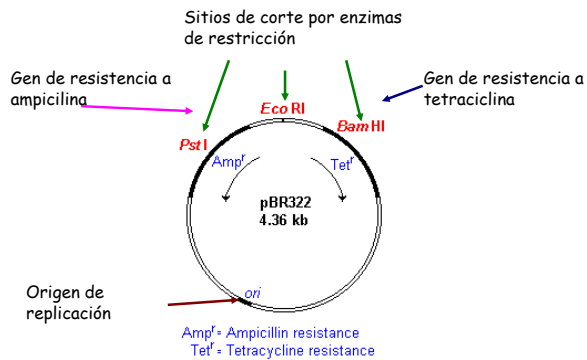
- Son derivados de *plasmidios naturales*
 - DNA extracromosomal circular, existente naturalmente en algunas bacterias y levaduras, que se replica en forma autónoma.
- Contienen algunos genes que aportan funciones valiosas en algunos ambientes



¿Cómo se construye un vector a partir de plasmidios naturales?



Características de un vector de clonamiento



Un vector procarionte debería:

1. Ser capaz de replicarse en forma autónoma, independiente del cromosoma bacterial (poseer un origen de replicación (**ori**)).
2. No tóxico para las células huésped
3. Tener espacio para fragmentos de DNA externos
4. Tener sitios únicos sitios de restricción para enzimas comunes
5. Tener marcadores para selección de transformantes, por ej. genes de resistencia a antibióticos
6. Múltiples copias por célula huésped.

Clonamiento de un gen

