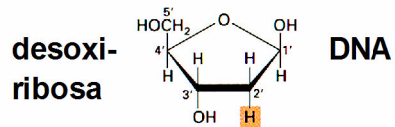
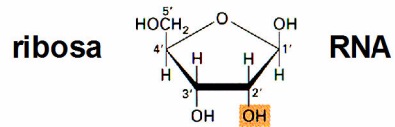
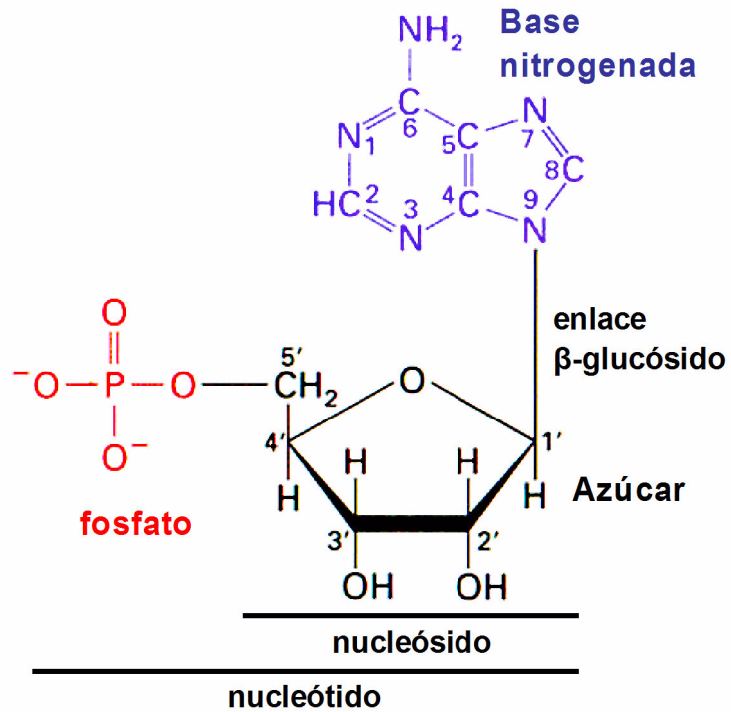
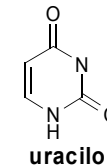
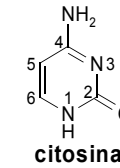
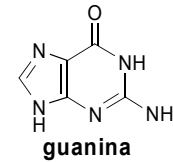
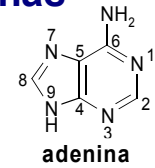


# Estructura de nucleósidos y nucleótidos

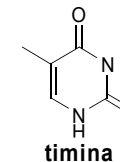


# Estructuras de bases nitrogenadas

## Purinas

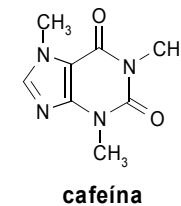
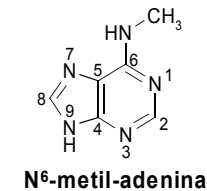
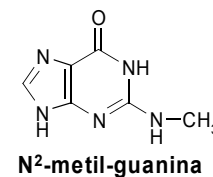
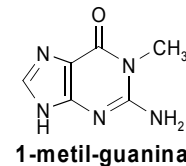
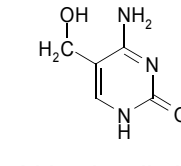
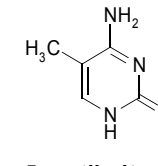
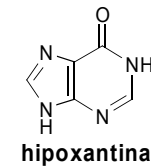
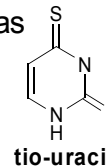
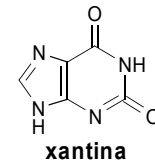


## Pirimidinas



### Bases primarias (normales)

### Bases secundarias



# Nomenclatura de nucleósidos y nucleótidos

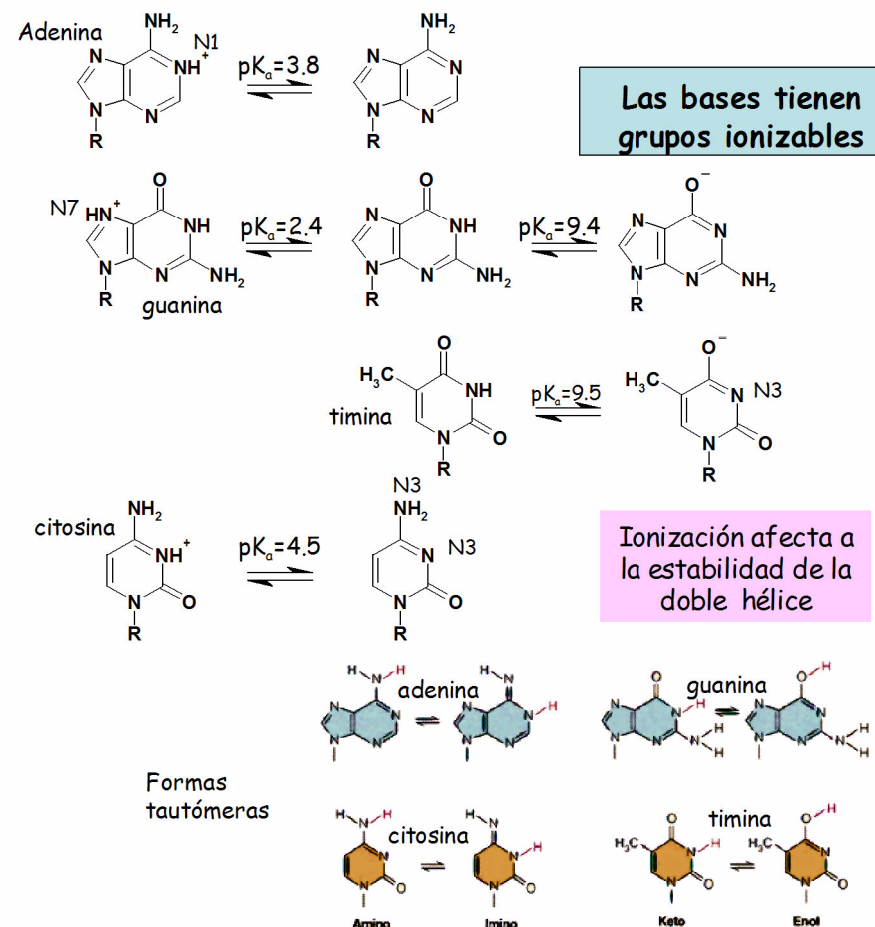
Base	Nucleósido*	Nucleótido*	Ácido nucleico
<i>Purinas</i>			
Adenina	Adenosina desoxiadenosina	Adenilato desoxiadenilato	RNA DNA
Guanina	Guanosina desoxiguanosina	Guanilato desoxiguanilato	RNA DNA
Hipoxantina	inosina desoxiguanosina	Inosinato desoxi-inosinato	RNA DNA
<i>Pirimidinas</i>			
Citosina	Citidina desoxicitidina	Citidilato desoxicitidilato	RNA DNA
Timina	Timidina desoxitimidina	Timidilato desoxitimidilato	RNA DNA
Uracilo	uridina	uridilato	RNA

\*Nucleósido y nucleótido son nombres genéricos que incluyen tanto las formas ribo- como las desoxirribo-

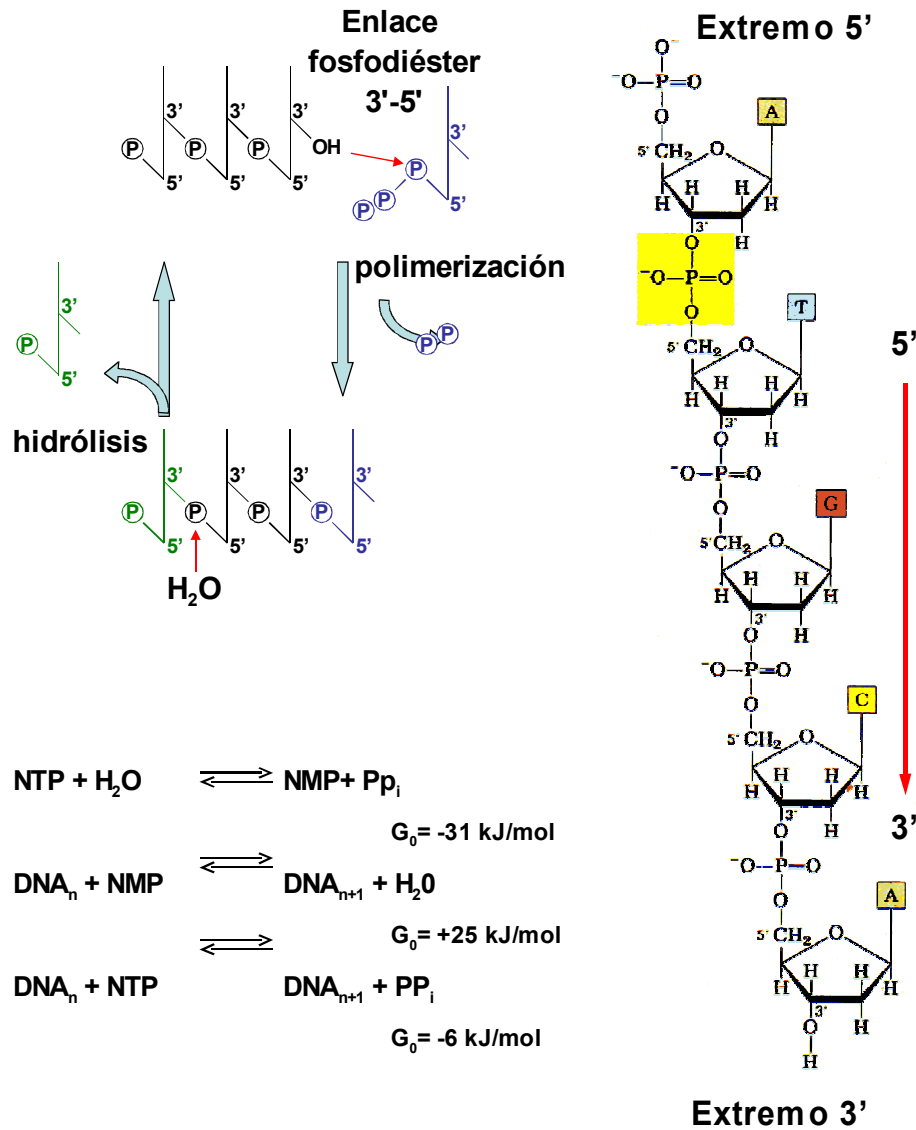
# Propiedades ácido-base de los ácidos nucleicos

## El grupo fosfato es fuertemente ácido

- Fosfatos totalmente ionizados a pH fisiológico ( $pK_a=1.0$ )
- Carga neta negativa
- Repulsión entre cadenas dependiendo de I



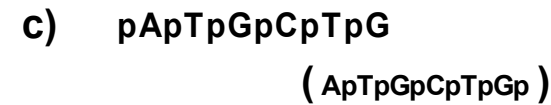
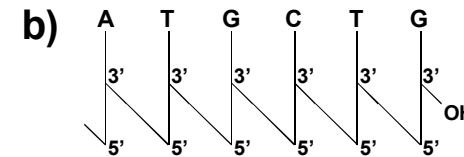
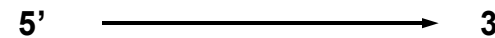
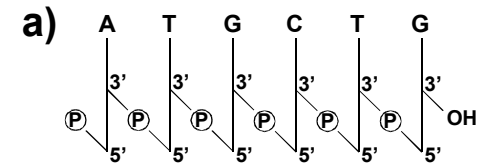
# Química de la polimerización



# Convenios de escritura de secuencias de nucleótidos

**Siempre 5' 3'**

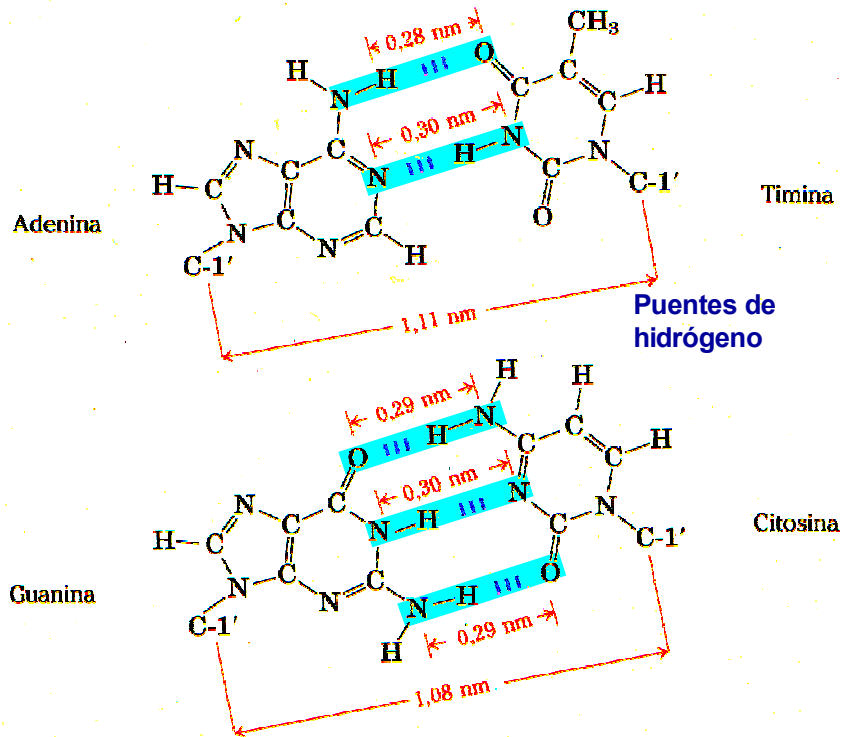
- Replicación
- Transcripción
- Traducción



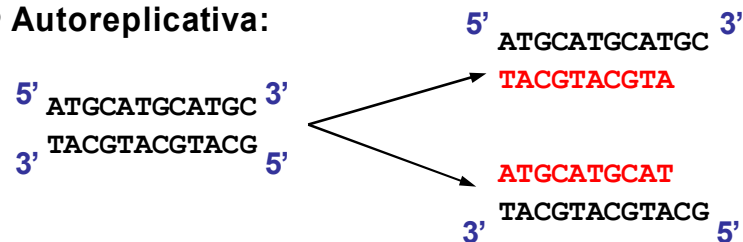
# Complementariedad entre bases

- Reglas de Chargaff: [purinas] = [pirimidinas]  
[A] = [T]  
[G] = [C]

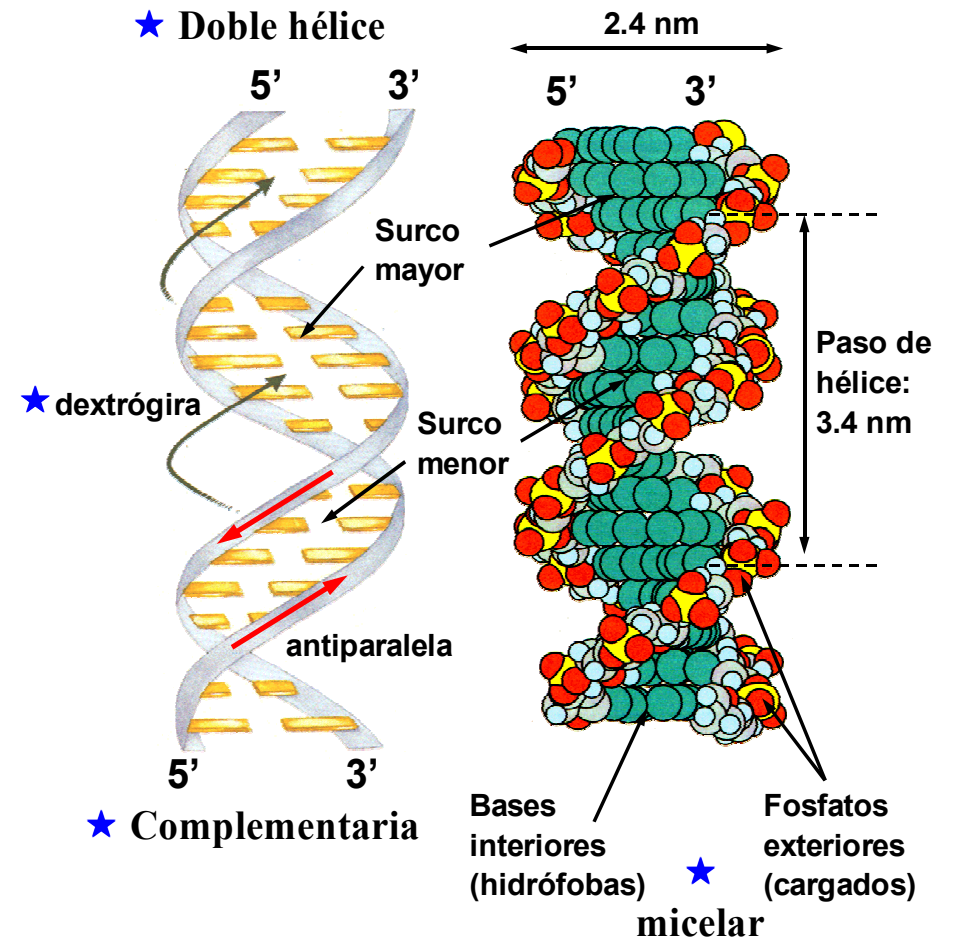
- Puentes de hidrógeno de Watson-Crick:



- Autoreplicativa:



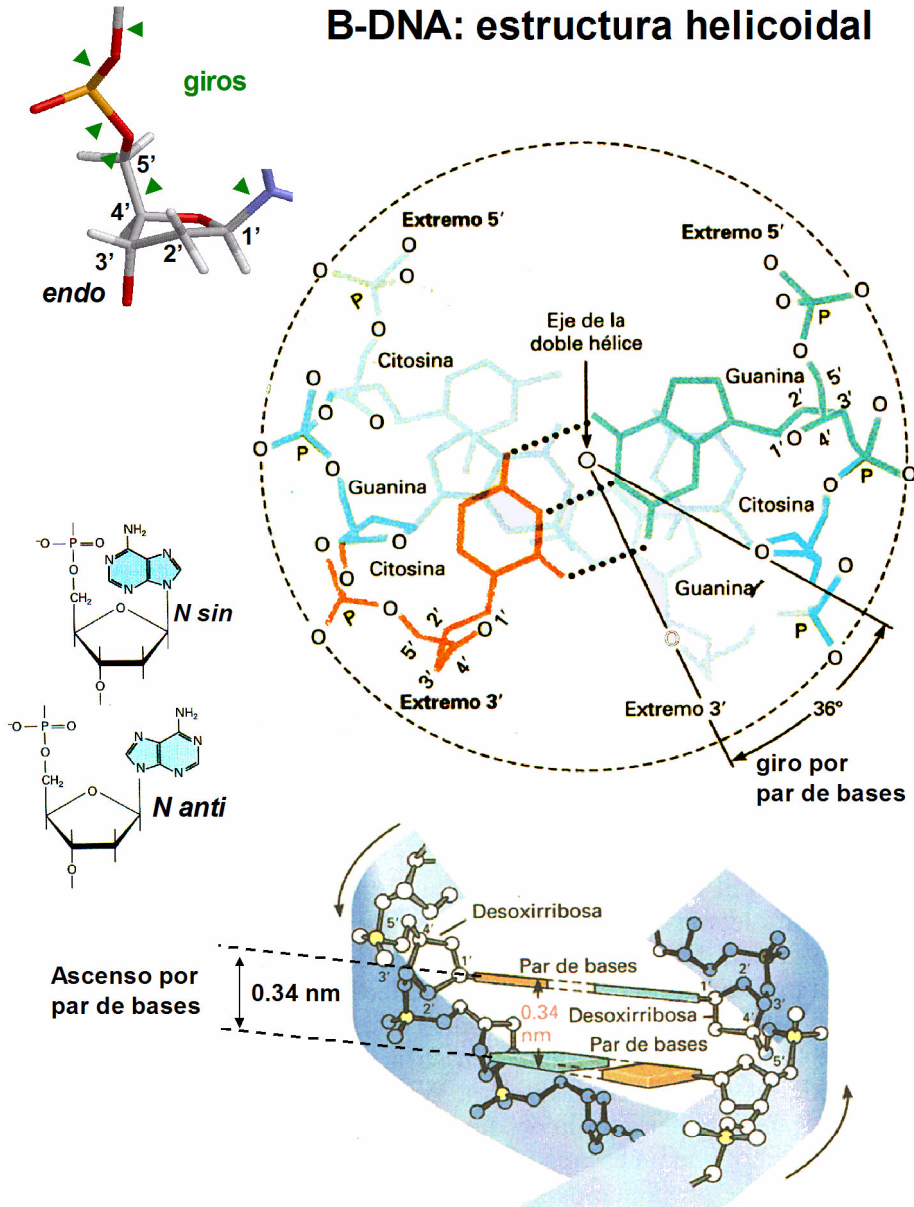
# DNA: modelo de Watson-Crick



- Energía:**
  - puentes de hidrógeno
  - apilamiento de bases ( - )
  - interacción hidrófoba

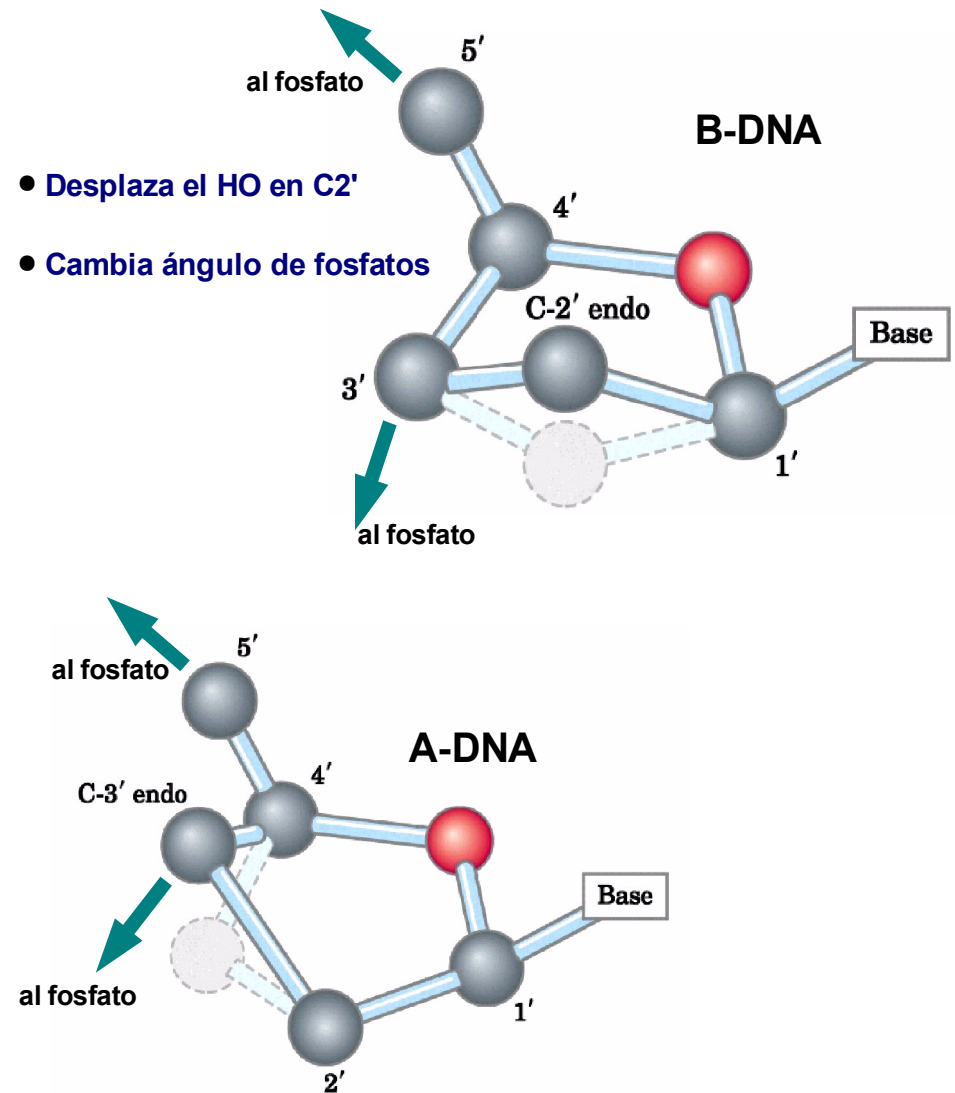
# B-DNA: estructura de la hélice

## B-DNA: estructura helicoidal

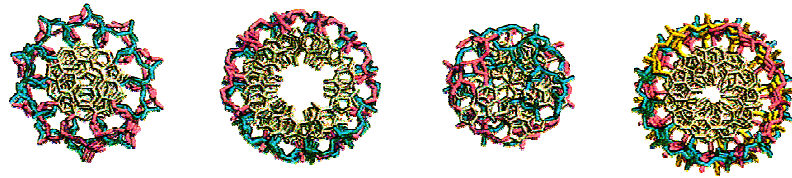
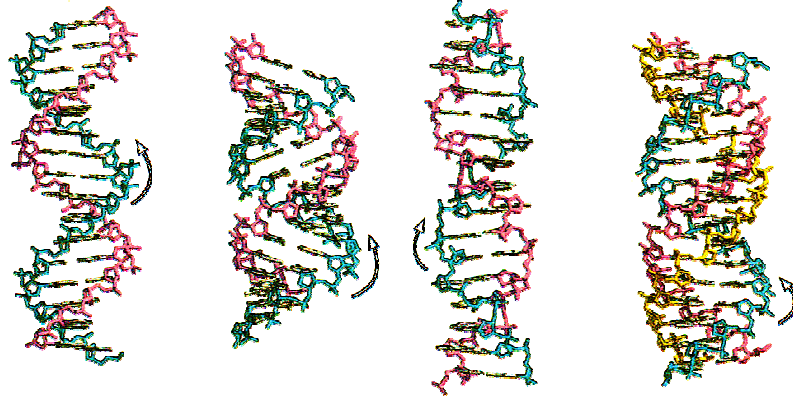


# Conformaciones de la ribosa en el DNA

- Desplaza el HO en C2'
- Cambia ángulo de fosfatos



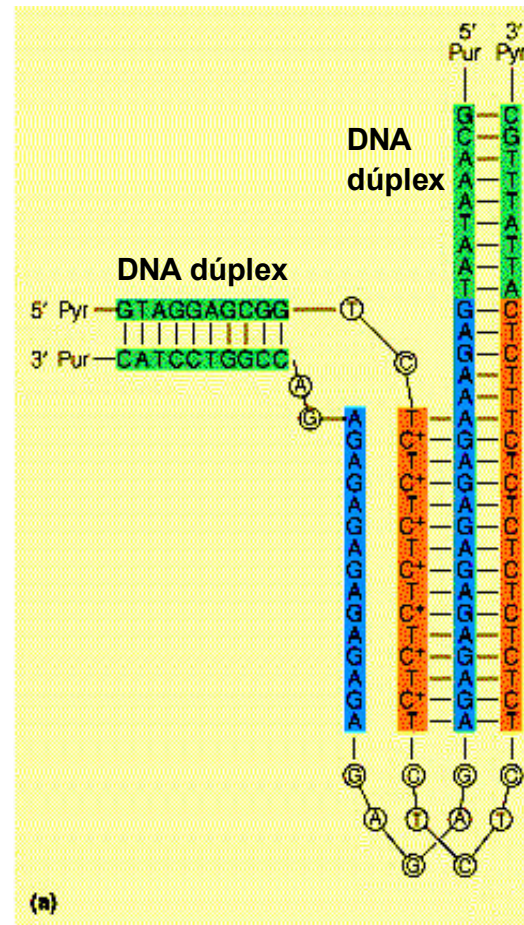
# DNA: conformaciones en hélice



	<b>B-DNA</b>	<b>A-DNA</b>	<b>Z-DNA</b>	<b>H-DNA</b>
Cadenas	2	2	2	3
Sentido	dextrógira	dextrógira	levógira	dextrógira
Diámetro	2.37 nm	2.55 nm	1.84 nm	2.5 nm
Elevación	0.34 nm	0.25 nm	0.37 nm	---
Rotación	36°	33°	-30°	---
inclinación	1°	19°	9°	---
Paso	3.4 nm	2.8 nm	4.56 nm	---
Residuos	10	11	12	---
Ribosa	C2' <i>endo</i>	C3' <i>endo</i>	CT C2', AG C3'	---
Base	<i>anti</i>	<i>anti</i>	CT <i>anti</i> , AG <i>sin</i>	---
S. Mayor	Ancho y profundo	Estrecho y profundo	Plano	---
S. Menor	Estrecho y profundo	Plano	Estrecho y profundo	---
Condiciones	DNA normal	DNA deshid. DNA/RNA RNA/RNA	Alternando Pur Pir (GC GC)	2 Hebras Pir y 1 Pur

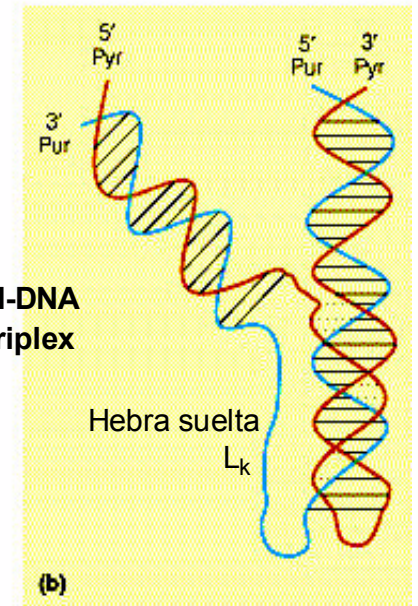
# H-DNA: triples hélices dextrógiras

- Hélice triple dextrógira
- Apareamientos de Hoogsteen
- Hebras asimétricas: sólo Pur / sólo Pir



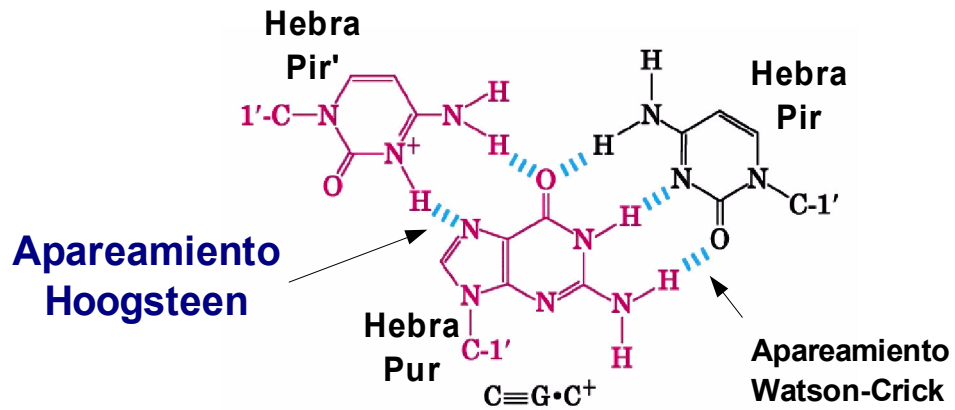
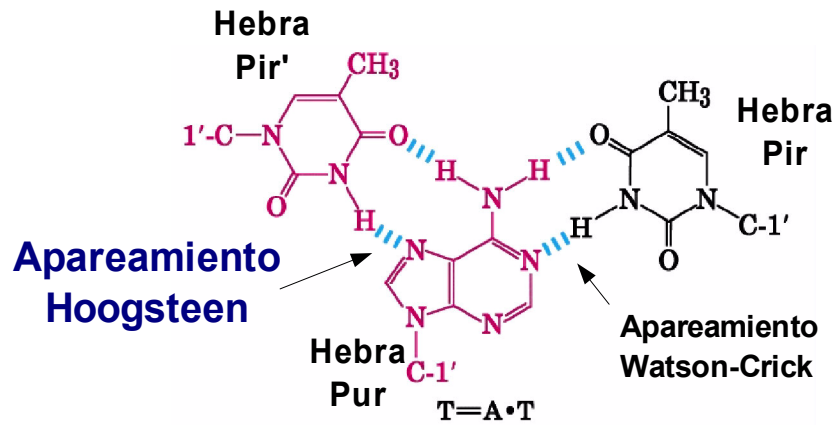
Funciones:?

- Relajamiento superhelicoidal
- Recombinación



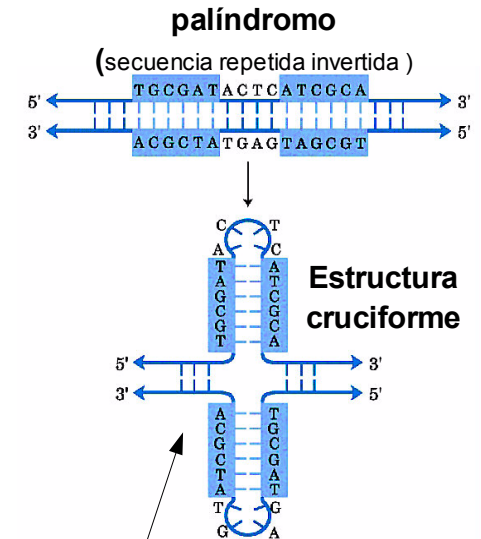
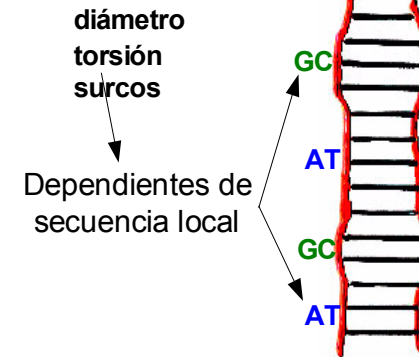
# H-DNA: apareamientos de Hoogsteen

A través de los grupos expuestos en el Surco Mayor



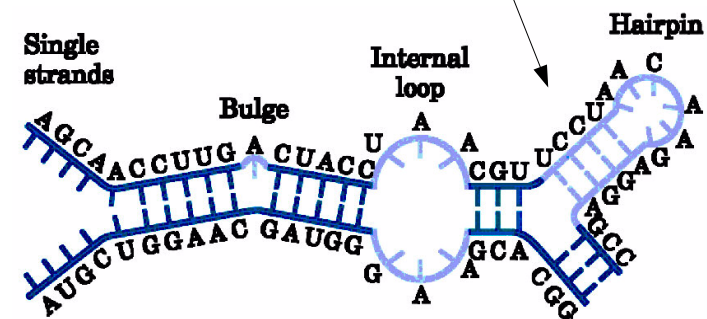
# Variaciones locales y supersecundarias en la doble hélice

## • Variaciones locales

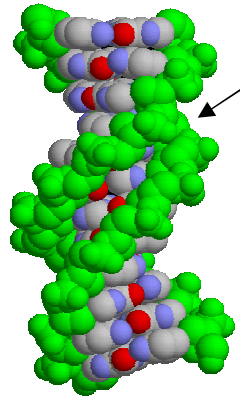


Las variaciones de conformación permiten interacción específica Proteína-Ác. nucleico

## • Estructuras supersecundarias secuencias autocomplementarias

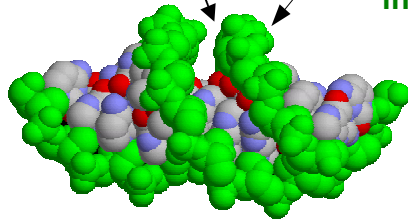


# Grupos superficiales y surcos en el DNA dúplex

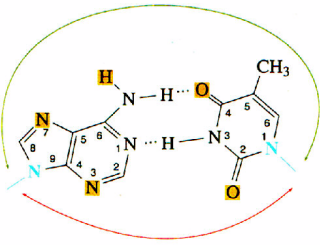


surco menor

Fosfatos:  
interacciones  
electrostáticas  
inespecíficas

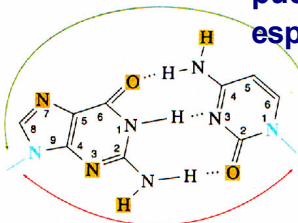


Surco mayor



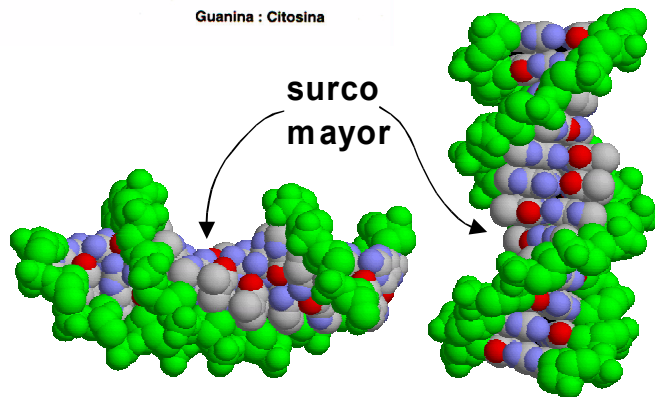
Surco menor  
Adenina : Timina

Surco mayor



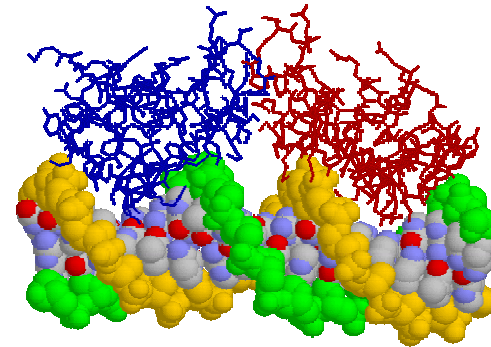
Surco menor  
Guanina : Citosina

Surcos:  
puentes de hidrógeno  
específicos



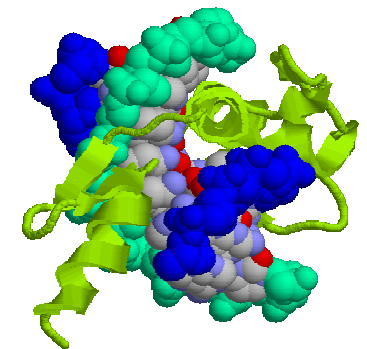
surco mayor

# Reconocimiento de secuencias de DNA específicas

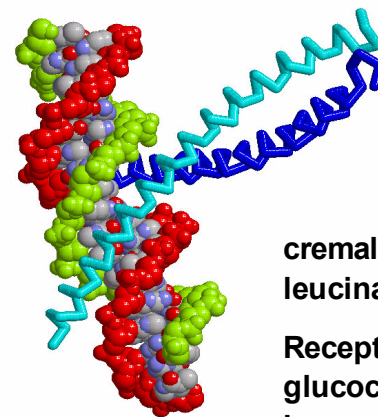


Dedos de Zn  
Receptor de  
estrógenos humano

Reconocimiento de secuencias  
sin desenrollar el dúplex



Dedos de Zn, factor  
zif268 de ratón

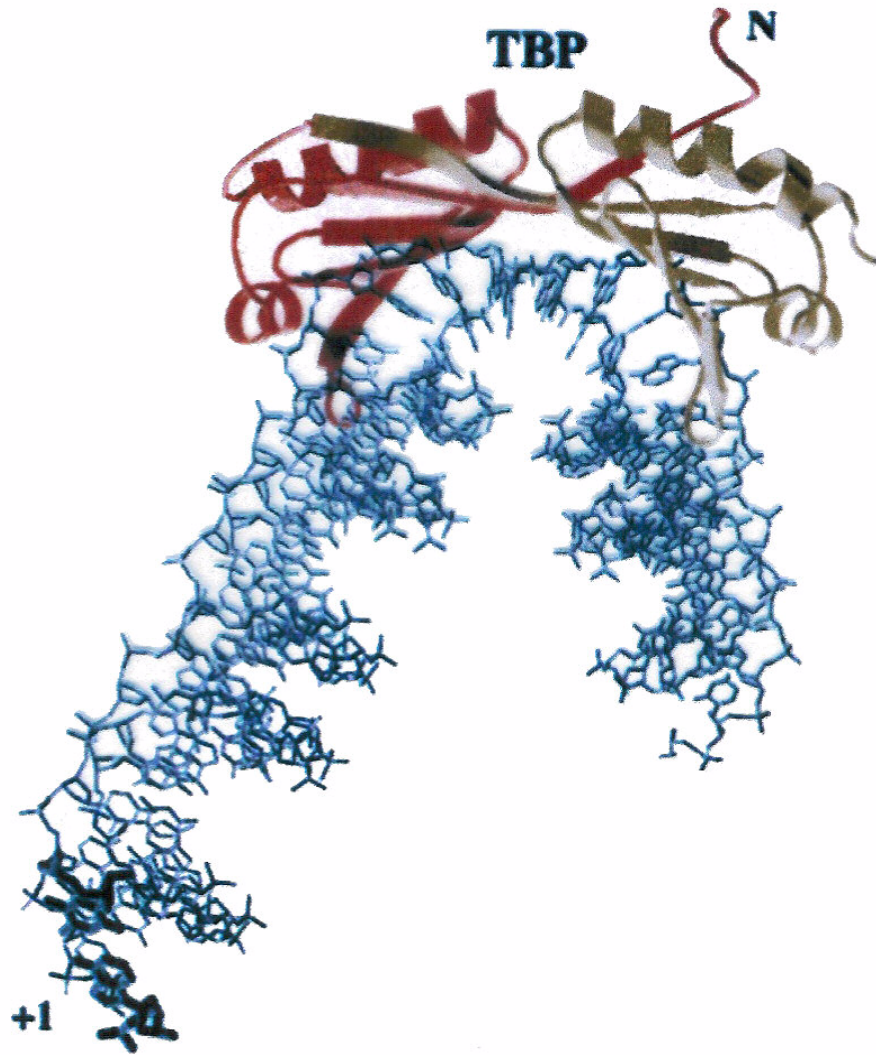


cremallera de  
leucina

Receptor de  
glucocorticoides  
humano

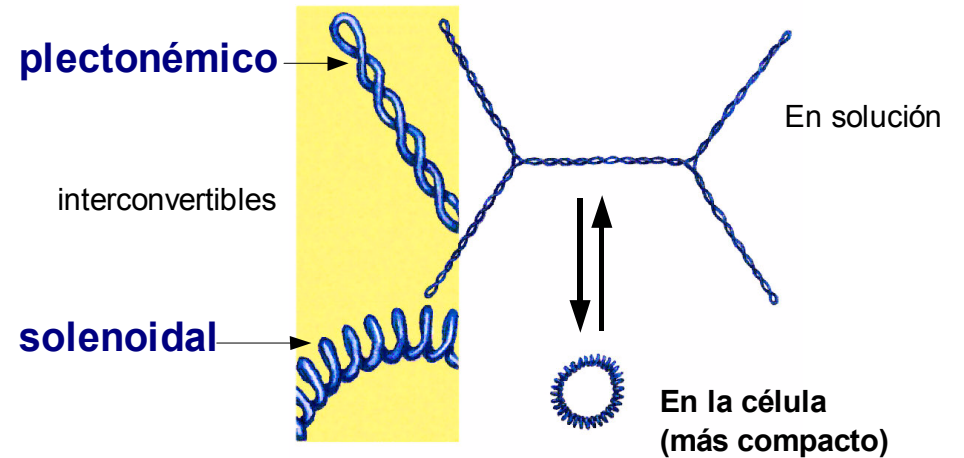
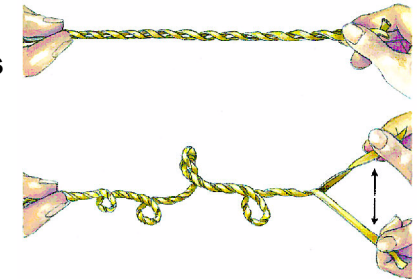


## Proteínas que reconocen secuencias de DNA (TATA-binding protein)

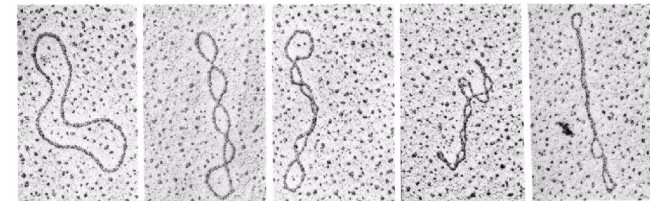


## Superenrollamiento del DNA

- **Propiedad topológica**
  - Sin rotura de enlaces covalentes
  - Invariable a deformaciones
- **Extremos fijos**
  - DNA circular
  - Puntos de anclaje inmóviles




## Topoisómeros de DNA circular



Densidad superenrollamiento,

0.2  $\mu\text{m}$

# Topología del superenrollamiento

L: nº de cruces del plano 

W: superenrollamiento 

T: giro de hélice 

$$L_k = T_w + W_r$$

Parámetro topológico  
Nº entero  
constante

Parámetros geométricos  
variables (interconvertibles)  
no enteros

Link	Twist	Writhe	
enlace	giro	torsión	(Stryer)
ligamiento	torsión	retorcimiento	(Lehninger)
ligazón	torsión	retorcimiento	(Mathews)

# Tensiones superhelicoidales

DNA relajado

$$L_0 = 8$$



$$T = 8$$

$$W = 0$$

$$\Delta L_k = -1$$

-1 vuelta  
Tensión

$$\Delta G > 0$$

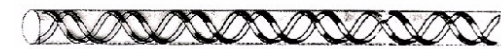
$$G_{SC} = k \cdot 2$$

Superenrollamiento  
requiere energía

$$= \frac{L_k}{L_0} \approx -0.06$$

DNA tenso

$$L_k = 7$$



$$L \neq T + W$$

$$\Delta T_w$$

Fusión local

$$\Delta W_r$$

Superenrollamiento

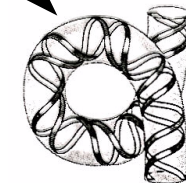
$$T = 7$$

$$W = 0$$



$$T = 8$$

$$W = -1$$

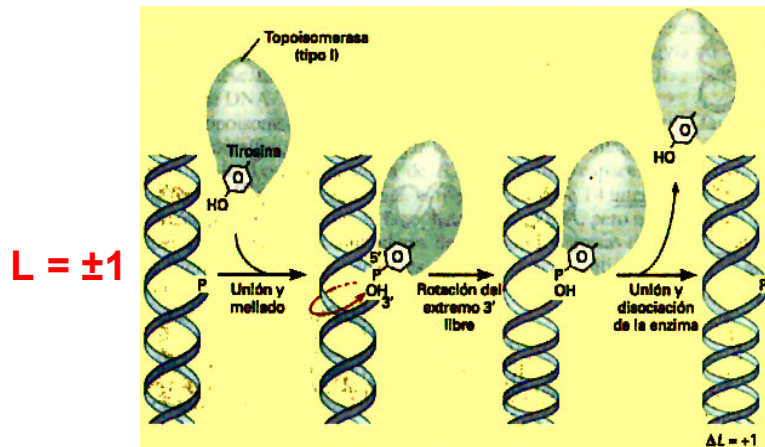


$$L_k = T_w + W_r$$

30%                      70%

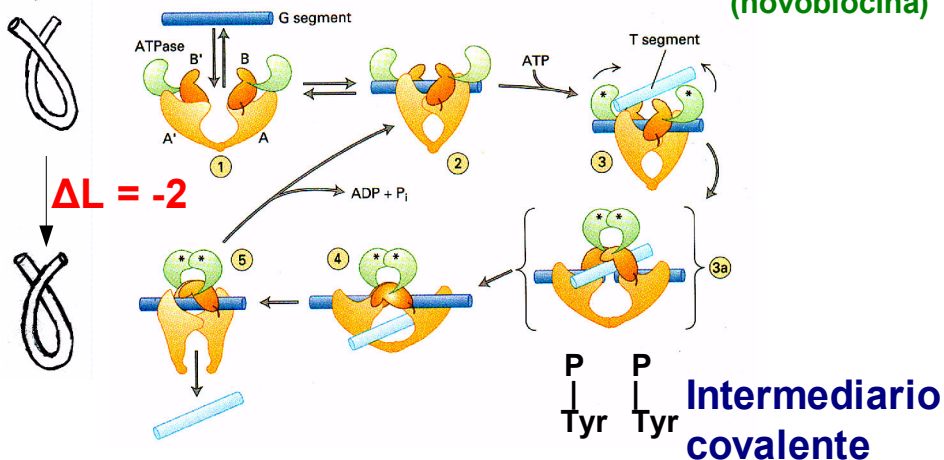
# Topoisomerasas: catálisis de cambios en $L_k$

## • Tipo 1: Corte monohebra



Eucariotas: antitumorales  
 procariontas: antibióticos  
 (ác. Nalidíxico)  
 (novobiocina)

## • Tipo 2: Corte de doble hebra



Intermediario covalente

# Relajación de tensiones superhelicoidales

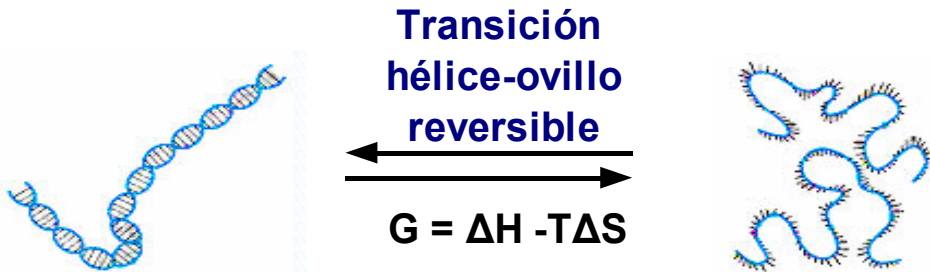
$$G_{SC} = k \cdot \tau^2$$

## • Cambios conformacionales:

	Cambio topológico	Características de la secuencia
<b>Fusión local</b>	( $\Delta T = -1/10$ pb)	Ricas en AT
<b>Paso a Z-DNA</b>	( $\Delta T = -2/10$ pb)	Alternando Pur-Pir
<b>Paso a H-DNA</b>	L	Hebras Pur/Pir
<b>Estructuras cruciformes</b>	L	palíndromos

## • Mecanismos enzimáticos: Topoisomerasas reclutamiento activación

# Desnaturalización del DNA: Estabilidad de la doble hélice



## • Término entálpico, $\Delta H$ :

- **Repulsión electrostática de  $P_i$**
- **Puentes de Hidrógeno intercatenarios**
- **Interacción  $\pi$  por apilamiento de bases**

Fuerza iónica, I

pH

urea,  
formamida

## • Término entrópico, $\Delta S$ :

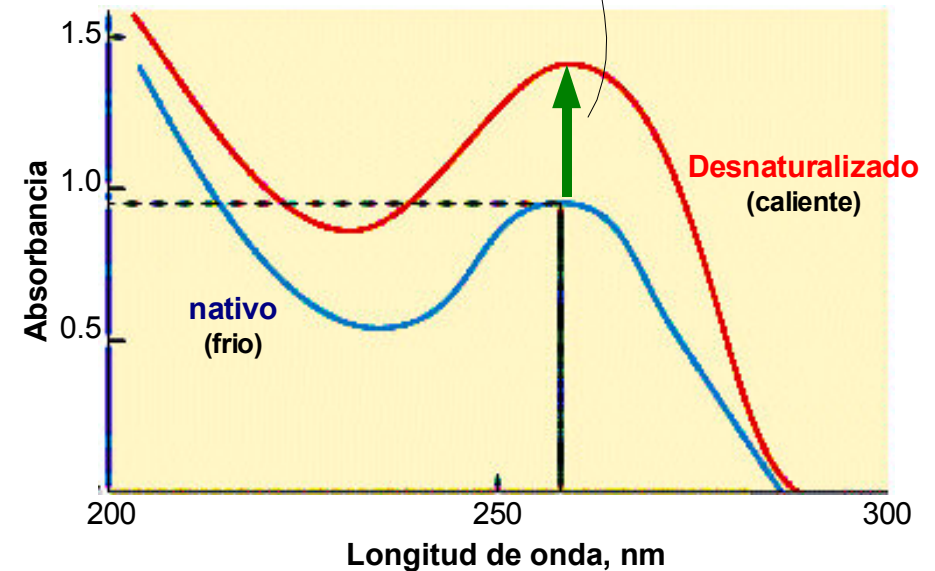
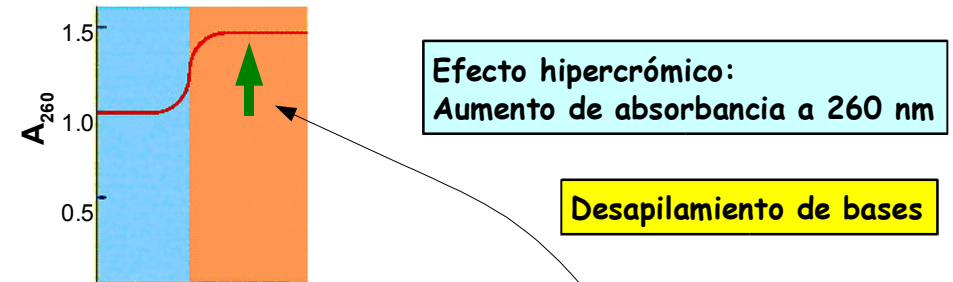
- **rotación de enlaces**
- **liberación de agua (apilamiento)**

calor,  
(temperatura)

## • Factores que afectan a la estabilidad:

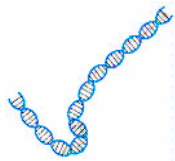
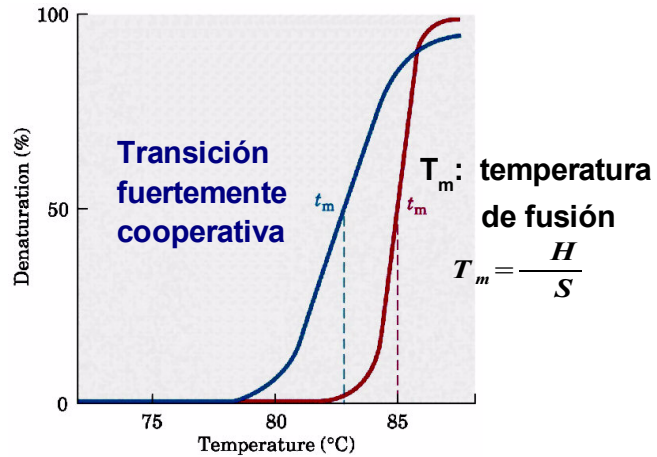
Temperatura  
Fuerza iónica  
pH  
desestabilizantes de H (urea, formamida)

# Desnaturalización del DNA: efecto hipercrómico



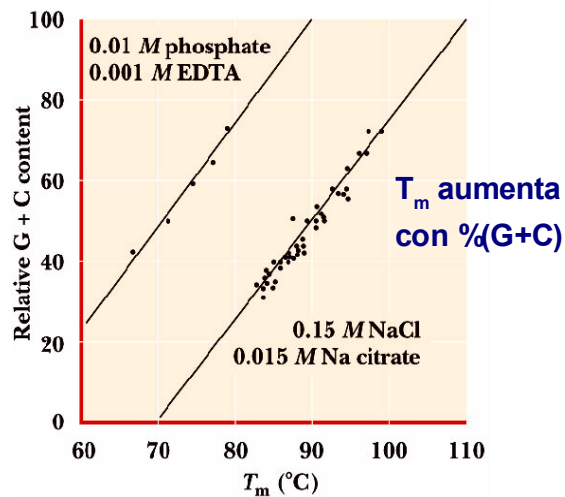
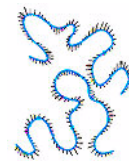
El DNA absorbe luz UV (260 nm)

# Desnaturalización térmica del DNA



El DNA se funde al calentar

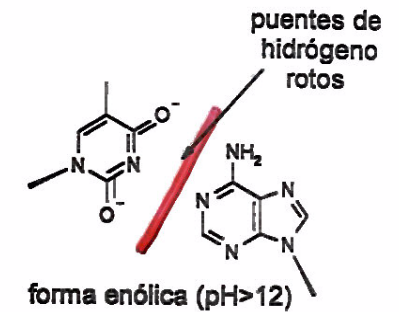
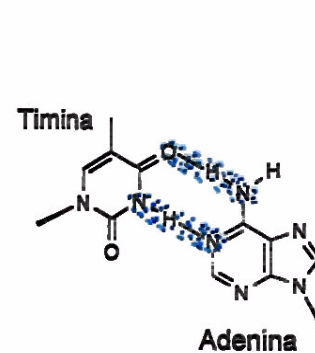
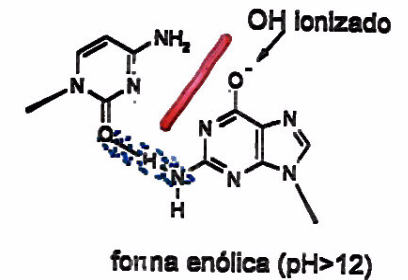
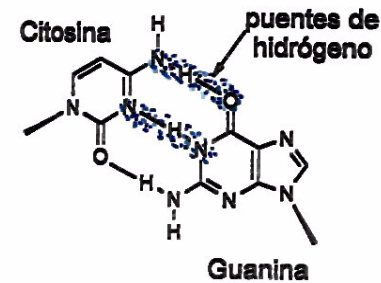
Rehibrida la enfriar



$$T_m = T_0 + k \cdot \log(\text{ )} + \alpha \cdot (\%GC) + \beta \cdot (\%F)$$

# El DNA se desnaturaliza en medio fuertemente básico (o ácido)

La ionización de las bases afecta a los puentes de hidrógeno de Watson-Crick

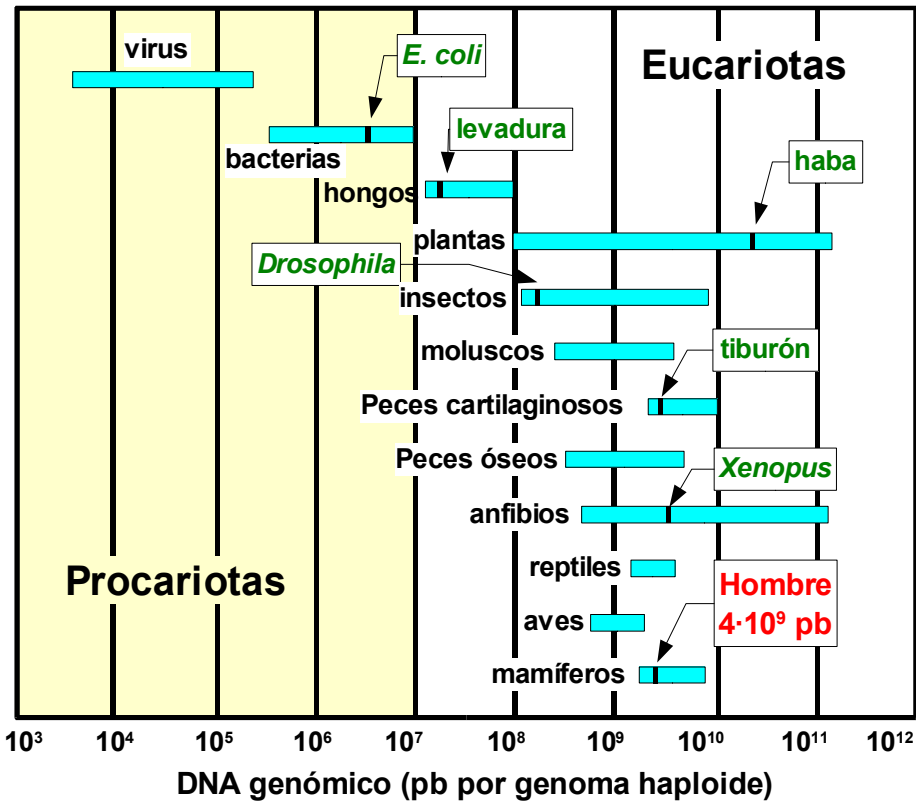


(y también en ácido)

# DNA genómico y tamaño del genoma

Genoma: conjunto de genes del organismo  
 ≈ evolución?

*C. elegans* 19.000  
*H. sapiens* 35.000



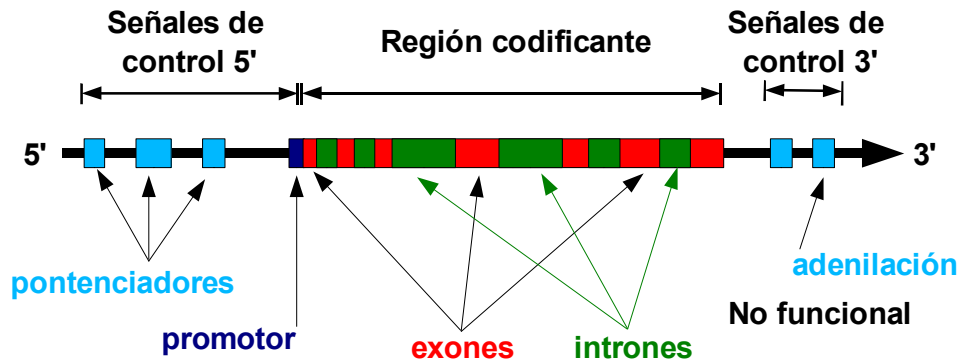
DNA genómico: tamaño del DNA total  
 sin correlación  
**DNA no codificante**

Tabla 4.4. Propiedades de algunas moléculas de DNA existentes en la naturaleza.

Origen	Hebra única (SS) o doble hebra (DS)	Circular o lineal	Número de pares de bases (pb) o bases (b)	Peso molecular	Longitud <sup>a</sup>	% (G + C)
Virus 40 del simio (genoma) <sup>b</sup>	DS	Circular	5243 pb	3.293 × 10 <sup>6</sup>	1.78 μm	40.80
Virus φX174 (genoma) <sup>b</sup>	SS	Circular	5386 pb	1.664 × 10 <sup>6</sup>	— <sup>c</sup>	44.76
Bacteriófago M13 (genoma) <sup>b</sup>	SS	Circular	6407 pb	1.977 × 10 <sup>6</sup>	— <sup>c</sup>	40.75
Virus del mosaico de la coliflor (genoma) <sup>b</sup>	DS	Circular	8031 pb	4.962 × 10 <sup>6</sup>	2.73 μm	40.19
Adenovirus AD-2 (genoma) <sup>b</sup>	DS	Lineal	35 937 pb	2.221 × 10 <sup>7</sup>	12.2 μm	55.20
Virus de Epstein-Barr (genoma) <sup>b</sup>	DS	Circular	172 282 pb	1.065 × 10 <sup>8</sup>	58.6 μm	59.94
Bacteriófago T2 (genoma) <sup>b</sup>	DS	Lineal	~1.7 × 10 <sup>5</sup> pb	~1.1 × 10 <sup>8</sup>	~58 μm	~52
Bacteria <i>E. coli</i> (genoma)	DS	Circular	~4 × 10 <sup>6</sup> bp	~2.6 × 10 <sup>9</sup>	~1.4 mm	~53
Mosca de la fruta ( <i>Drosophila melanogaster</i> ) (un cromosoma)	DS	Probablemente lineal	~6.5 × 10 <sup>7</sup> bp	~4.3 × 10 <sup>10</sup>	~2 cm	~40

# Estructura molecular del gen

**Gen:** secuencia completa de DNA necesaria para dirigir la síntesis de un polipéptido funcional



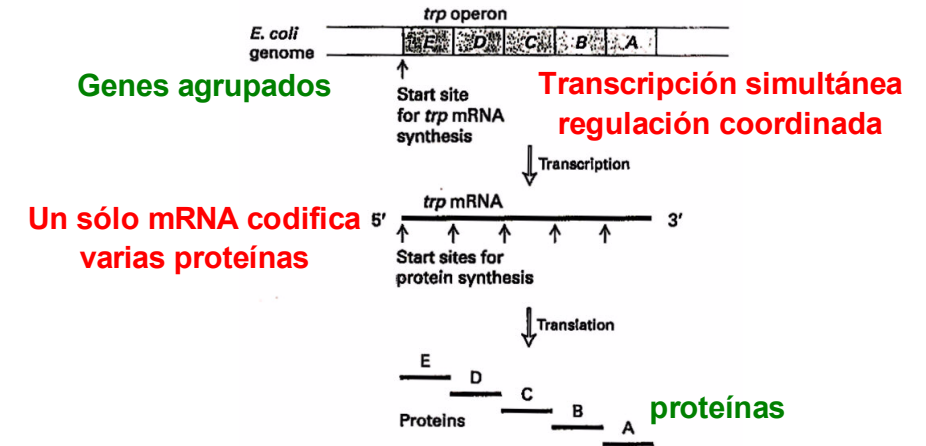
● **DNA codificante:**  
exones (minoritario)

● **DNA no codificante:**  
señales de control  
intrones  
DNA no funcional ("basura")

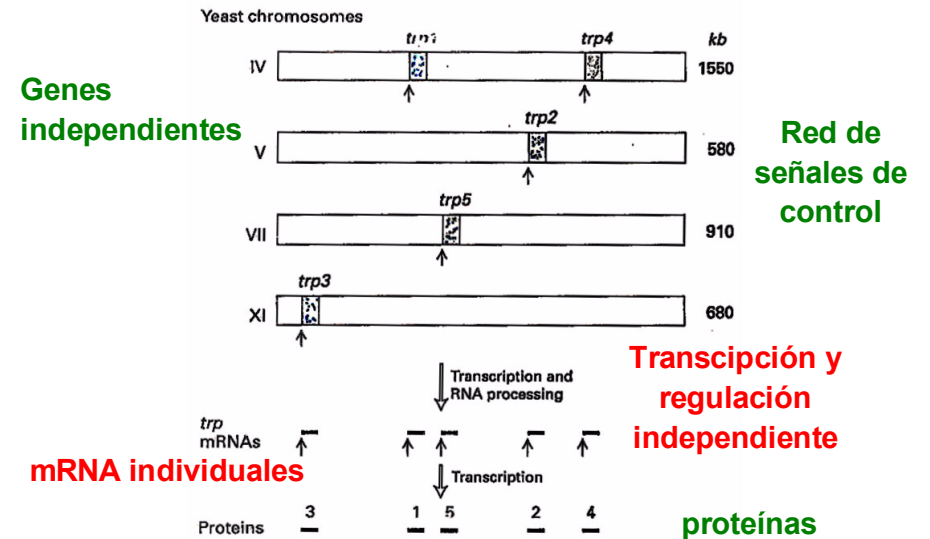
● **Señales de control:**  
puntuación: inicio y fin de transtripción/traducción  
regulación de la expresión  
5', 3' y en intrones

# Unidades de transcripción

**Procariotas: mRNA policistrónicos**

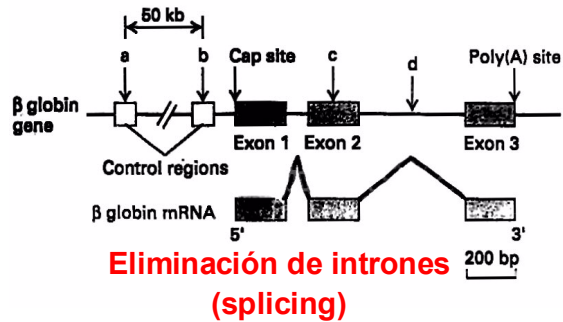


**Eucariotas: mRNA monocistrónicos**



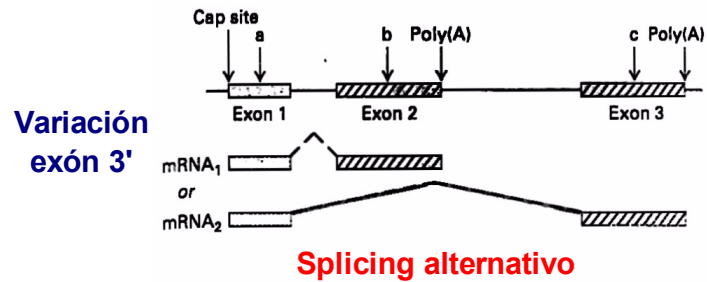
# U. de transcripción eucariotas: procesamiento del mRNA

**Simples:** un sólo polipéptido



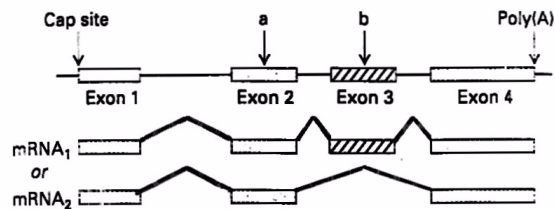
**Modularidad  
Reutilización**

**Complejas:** varios polipéptidos del mismo gen



**Variabilidad  
Especificidad  
Adaptabilidad**

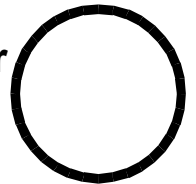
**Variación exón interno**



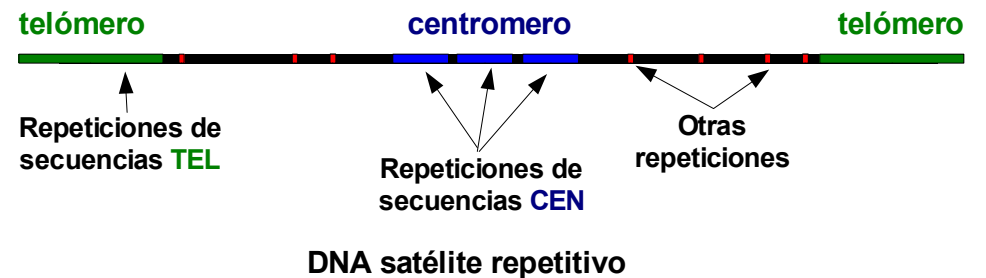
# Organización génica en procariotas y eucariotas

	<i>Procariotas</i>	<i>Eucariotas</i>
Cromosomas	1 (+ plásmidos)	muchos
Topología	circular	lineal
mRNAs	Policistrónico sin procesamiento	Monocistrónico gran procesamiento
Intrones	No	Si
DNA no-codificante	No	Si
Empaquetamiento	ligero	Muy compacto (histonas)

Cromosoma circular



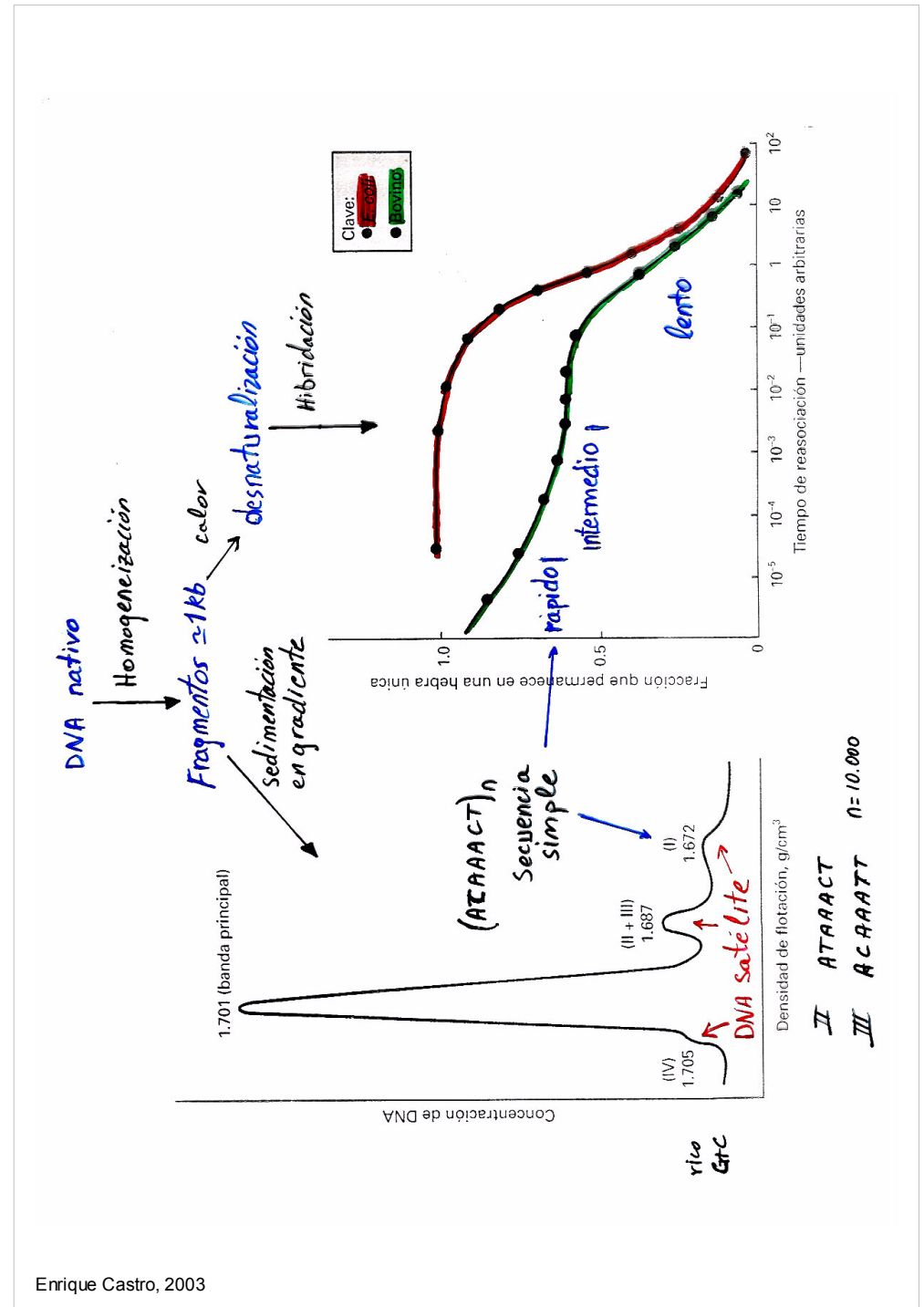
Cromosoma lineal





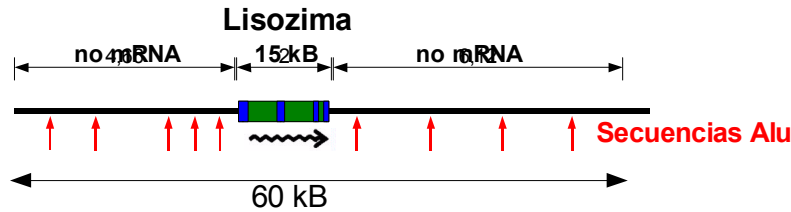
# Tipos de DNA eucariótico

- Codificante de proteínas** 5%
  - Genes de copia única
  - Genes duplicados
- Genes repetidos en tándem** 1%?
  - Histonas
  - genes RNA
- DNA repetitivo**
  - DNA de secuencia simple
    - 100 copias tándem,  $\approx 100\text{kb}$  **DNA satélite** 10-15%
  - DNA moderadamente repetido
    - 25-40%
      - Transposones
      - Retrotransposones virales
    - Minisatélite
      - 20-50 copias
      - 1-5 kb
- DNA móvil**
  - Elementos dispersos largos (LINES) 15%
  - Elementos dispersos cortos (SINES) **L1** 6 kb,  $0.6 \cdot 10^6$  copias
  - Retrotransposones no virales
    - Alu** 300 pb,  $10^6$  copias, 10%
- DNA espaciador** 50-55%
  - Sin secuencia o función definida

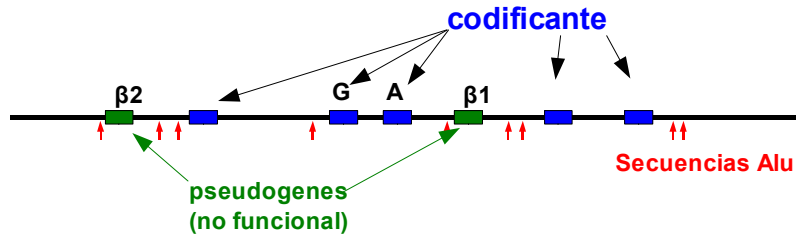


# Organización del DNA codificante

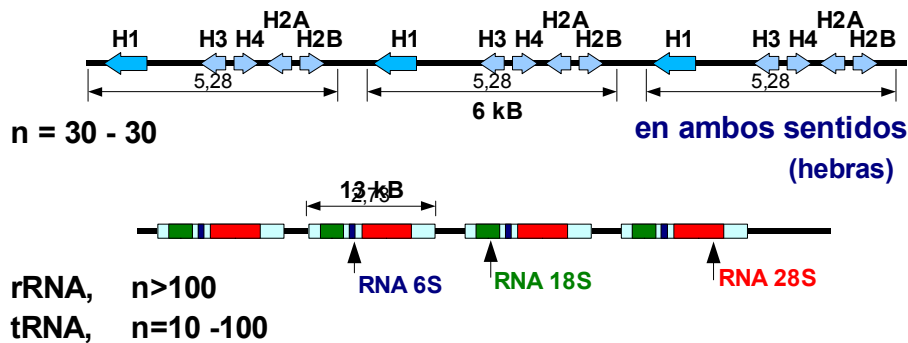
## ● Genes simples: Lisozima de pollo



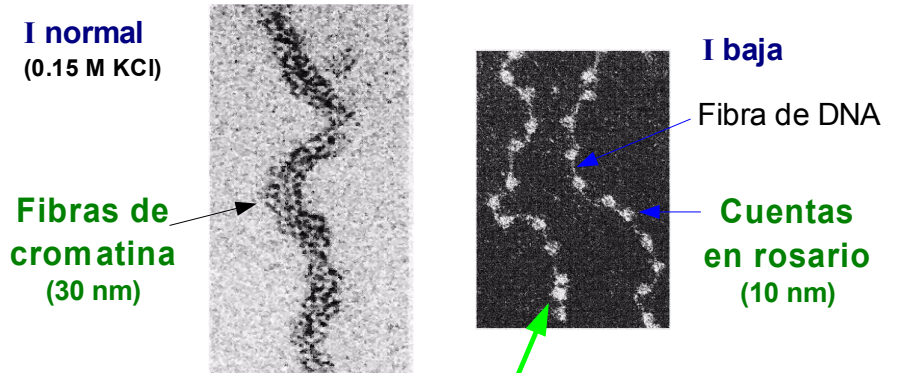
## ● Familias génicas (*clusters*): $\beta$ -globina



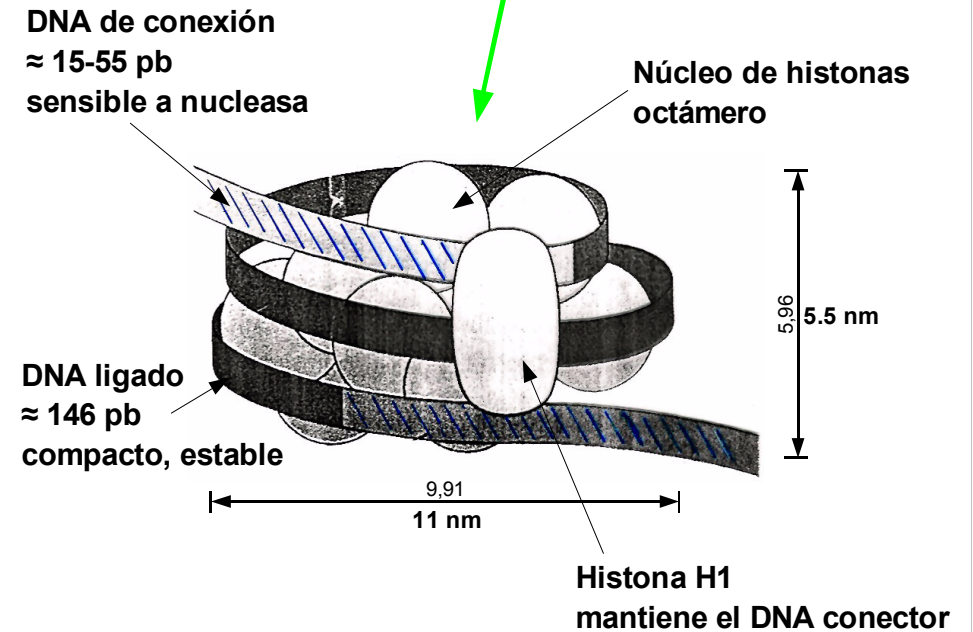
## ● Repeticiones en tándem: histonas y RNAs



# DNA empaquetado: cromatina



## Nucleosoma



# Estructura del nucleosoma

## Histonas:

básicas (R,K)  
muy conservadas  
regulables

Acetilación  
metilación  
fosforilación

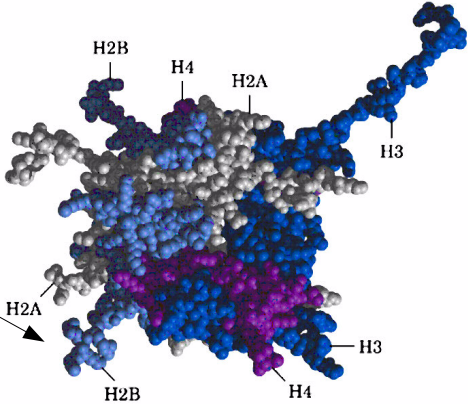
“pinzas” para atrapar DNA

Unión a secuencias ricas en AT

octámero

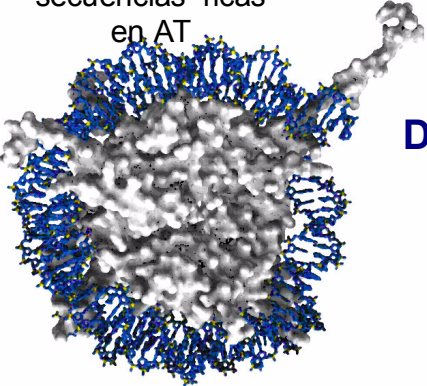
Tetrámero + Tetrámero

2 H3	2 H2A
2 H4	2 H2B

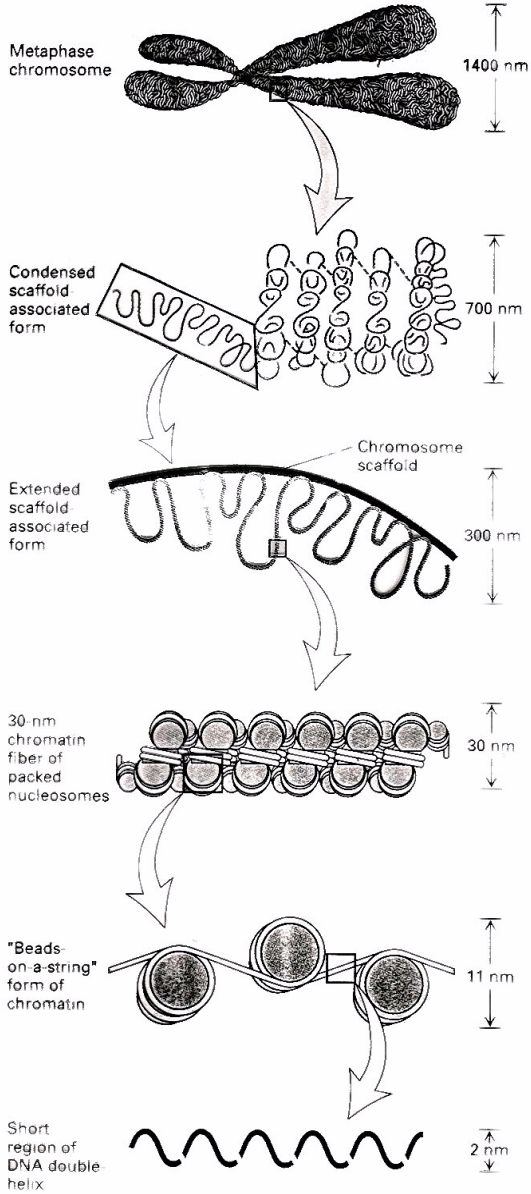
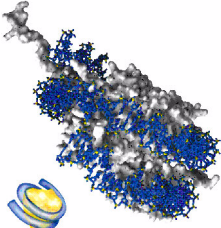


## DNA unido:

Int. Electrostaticas  
(surco menor)  
superenrollamiento negativo  
( $\Delta L = -1/\text{nucleosoma}$ )

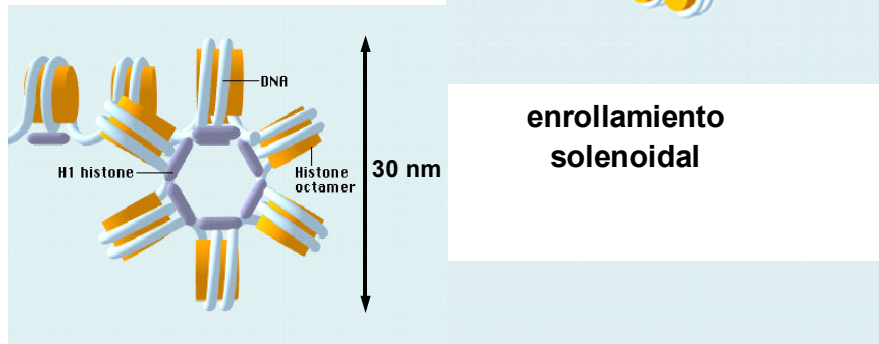
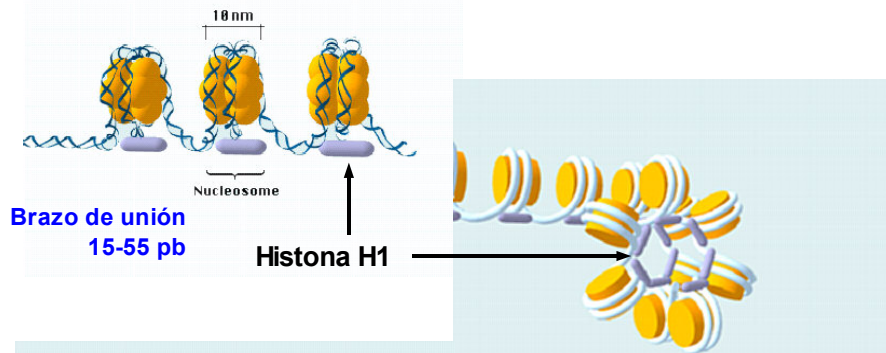


Solenoid levógiro  
1.7 vueltas



▲ FIGURE 9-35 Model for the packing of chromatin and the chromosome scaffold in metaphase chromosomes.

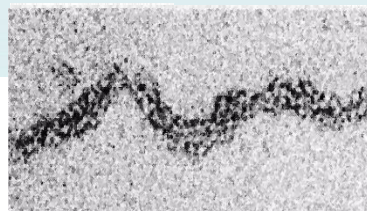
# Estructura de las fibras de cromatina



Fibra de cromatina de 30 nm



Compactación DNA: x100



# Estructura de los cromosomas

**DNA:**

1 única molécula lineal

$1-3 \cdot 10^8$  pb  
 $\approx 10$  cm

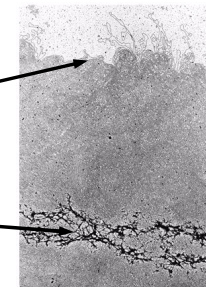
**Proteínas:**

Histonas

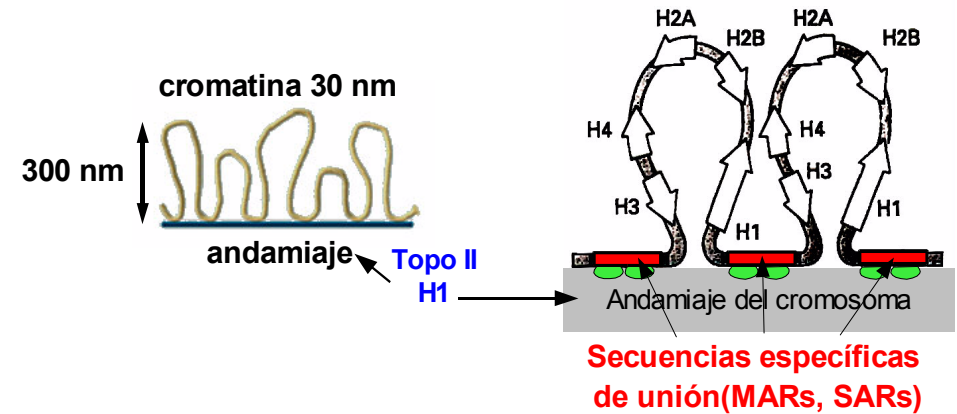
P. andamiaje (scaffold)

HMG (heterogéneas)

$8 \cdot 10^9$  pb /  
46 cromosomas  
 $\approx 2.72$  m



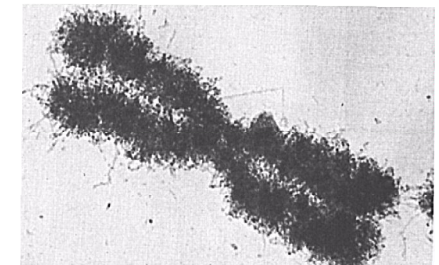
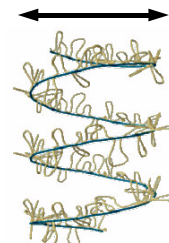
**Unión cromatina-andamiaje: Bucles funcionales**



**Empaquetamiento del andamiaje**

Diámetro de la cromátida 700 nm

Superenrollamiento helicoidal





# Visualización molecular de bucles-T

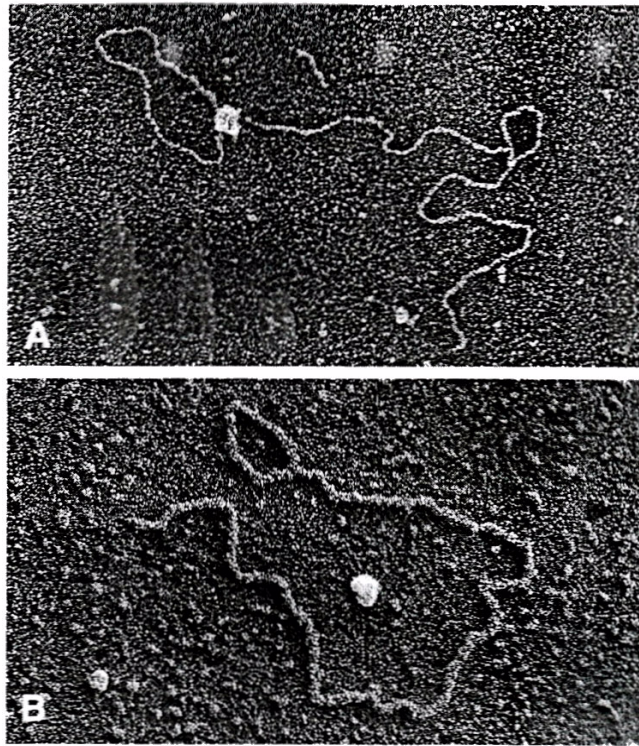
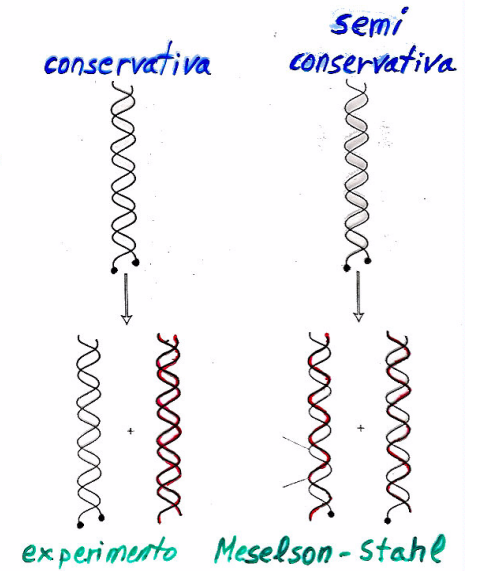


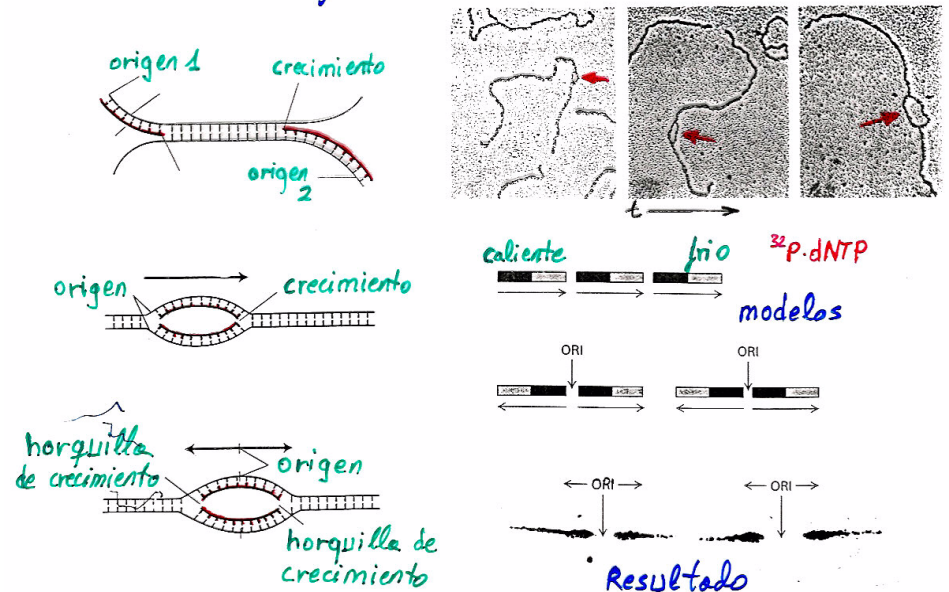
Figure 1. T Loops Generated In Vitro by Human TRF2

A telomeric DNA model containing 3 kb of unique sequence DNA followed by ~2 kb of repeating TTAGGG sequence with a 150–200 nt 3' G strand overhang was incubated with human TRF2 protein. In (A), the sample was directly adsorbed to the carbon EM support followed by rotary shadowcasting with tungsten. In (B), following incubation with TRF2, the sample was exposed to psoralen and UV followed by deproteinization, surface spreading with cytochrome C, and rotary shadowcasting with platinum-palladium. Shown in reverse contrast. Bar is equivalent to 1 kb.

## Replicación de DNA: topología

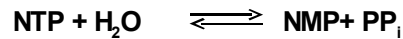
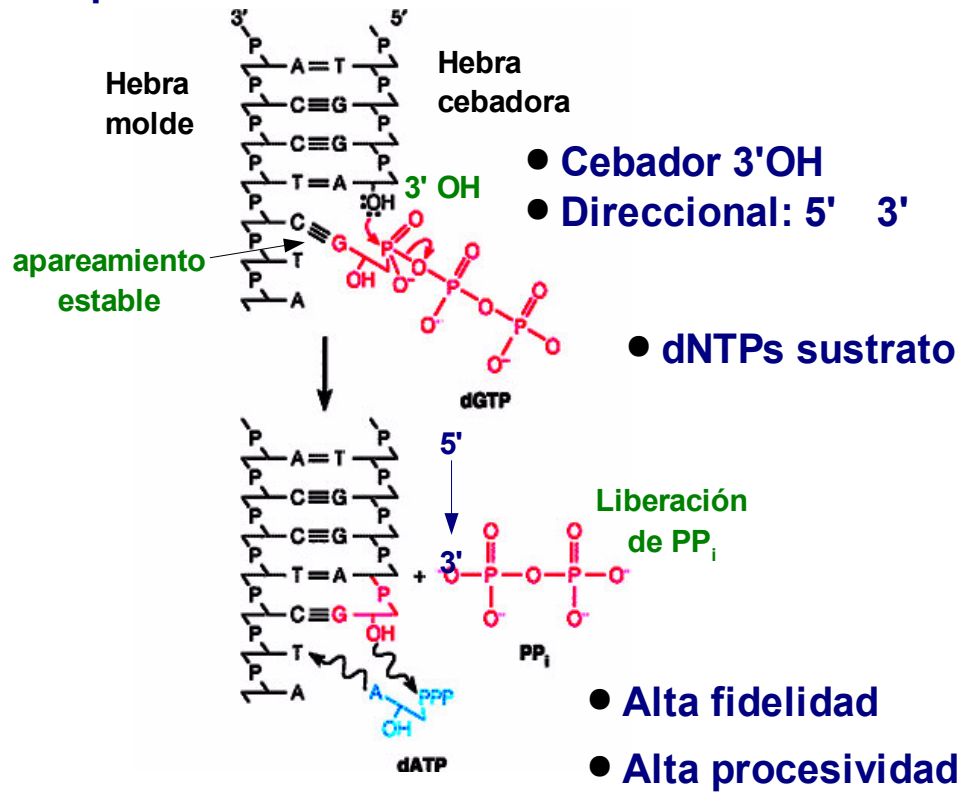


secuencial, origen interno, bidireccional

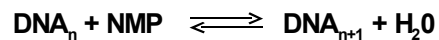


# Polimerización de DNA: características generales

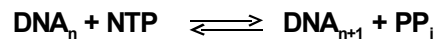
## ● Dependiente de molde



$$G_0 = -31 \text{ kJ/mol}$$

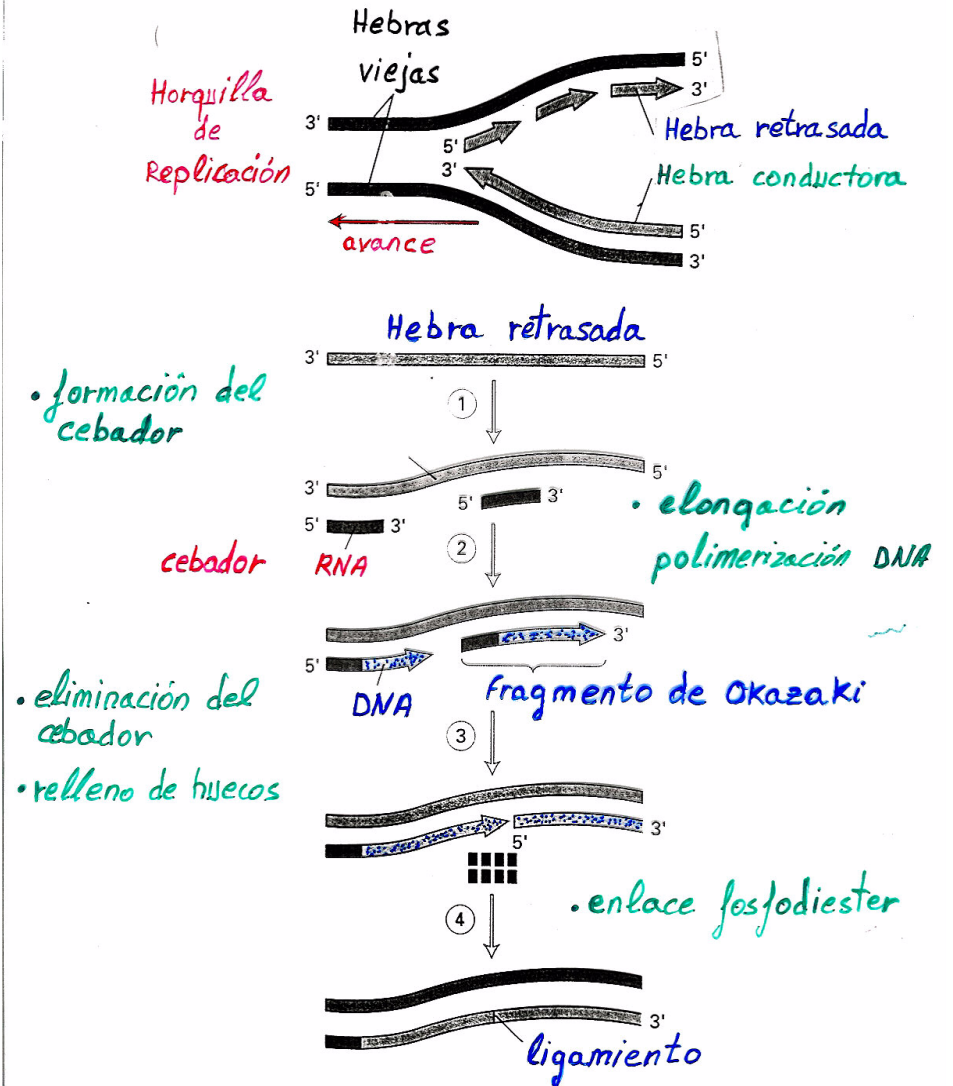


$$G_0 = +25 \text{ kJ/mol}$$



$$G_0 = -6 \text{ kJ/mol}$$

# Síntesis de la hebra retrasada



# Maquinaria de la replicación

proceso	actividad	proteína	
Reconocimiento del origen		ORC	Dependiente de ciclinas
		cdc45	
Desenrollamiento	helicasa	MCMs	Estimulada por RPA, DNApol
	u. monohebra	RPA	Unión pola, RFC
	topoisomerasas	Topo II	
Cebado	primasa	DNApol $\alpha$	Unión RPA, cdc45
Elongación	síntesis	DNApol $\delta$ DNApol $\epsilon$	Unidas a PCNA
	procesividad	RFC PCNA	Cargador andamiaje
Maduración	Eliminación del cebador	Exonucleasas	Rnasa H1 FEN1
	Rellenado de huecos	helicasa síntesis	Dna2 DNApol $\delta$ DNApol $\epsilon$
Ligamiento		DNA ligasa I	
Elongación de telómeros		telomerasa	

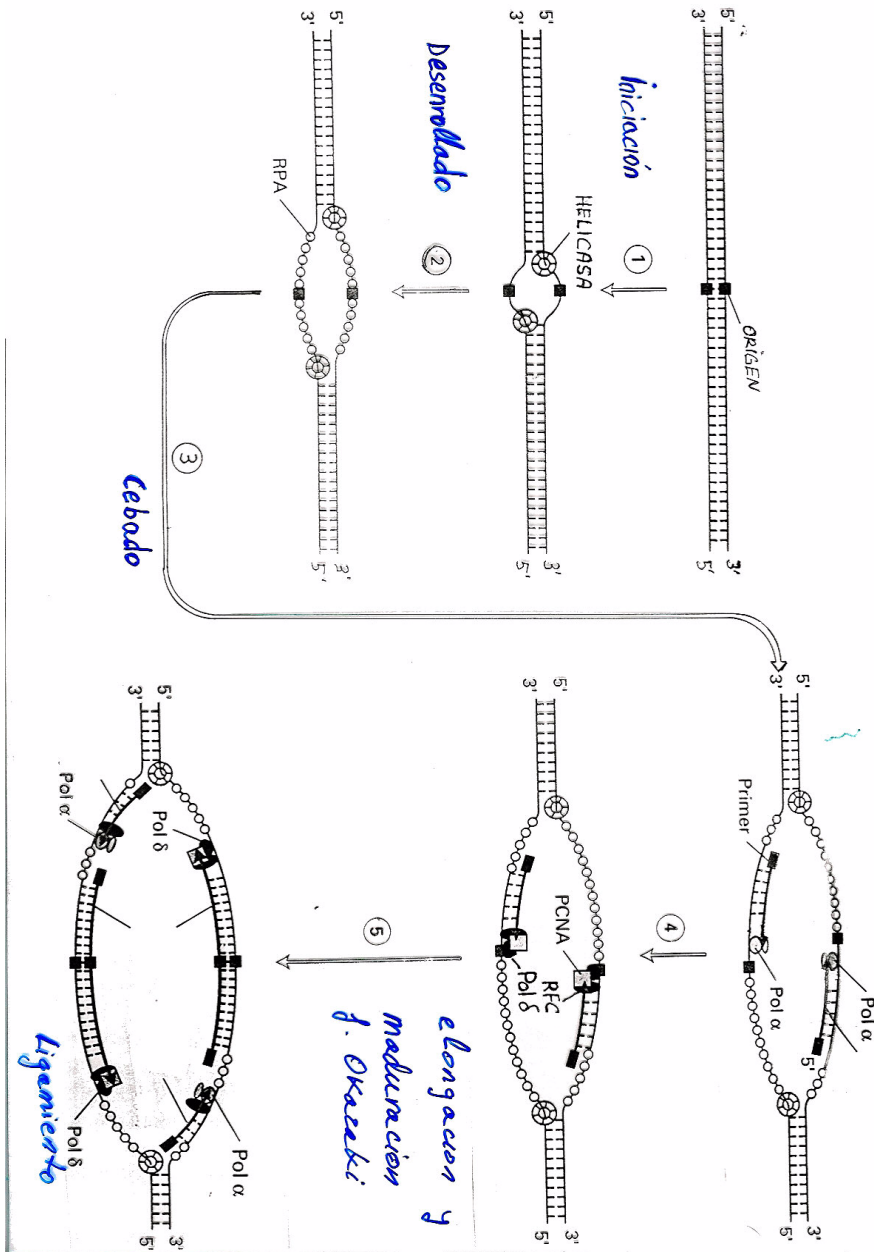
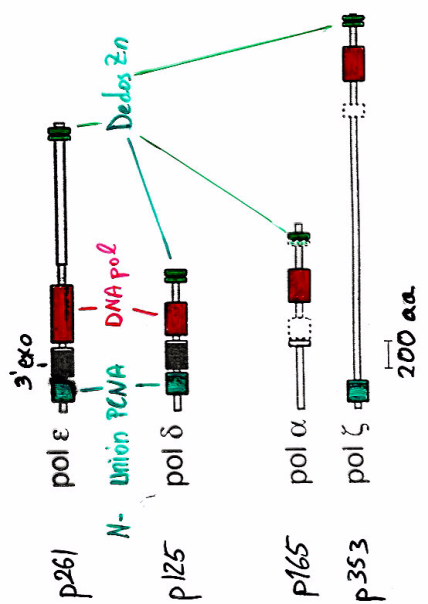
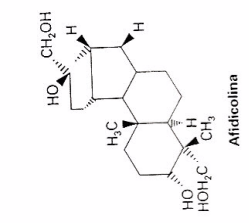




TABLA 24.3. Propiedades de las DNA polimerasas de los eucariotes.

	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\epsilon$
Compartimiento celular	Núcleo	Núcleo	Mitocondria	Núcleo	Núcleo
Prinmasa asociada	Si	No	No	No	No
Función biológica	Reparación del DNA	Reparación del DNA	Replicación del DNA mitocondrial	Replicación de la hebra conductora	Replicación de la hebra retrásada?
Número de subunidades	4	1	4 (tútilénicas)	3	2
$M_r$ de 1 subun.	165,70,58,48	39	35,125	125,50,46	261,57
$M_r$ de 1 subun. tot.	Primasa				
$K_M$ para los dNTP, $\mu M$	2-5	10 <sup>0</sup>	0.5	2-4	2-5
Procesividad (intrínseca)	Moderada	Baja	Alta	Baja	Alta
Procesividad (con PCNA)	Moderada	Baja	Alta	Alta	Alta
3' exonucleasa	Si	No	Si	Si	Si
Sensibilidad a 2',3'-didesoxi-NTP	Baja	Alta	Baja	Baja	Moderada
Sensibilidad a arabinosil-LCTP	Alta	Baja	Baja	Alta	?
Sensibilidad a la afidicolina	Alta	Baja	Baja	Alta	Alta

AET  
antitumorígeno  
Ara.C  
Ara.A: Herpes

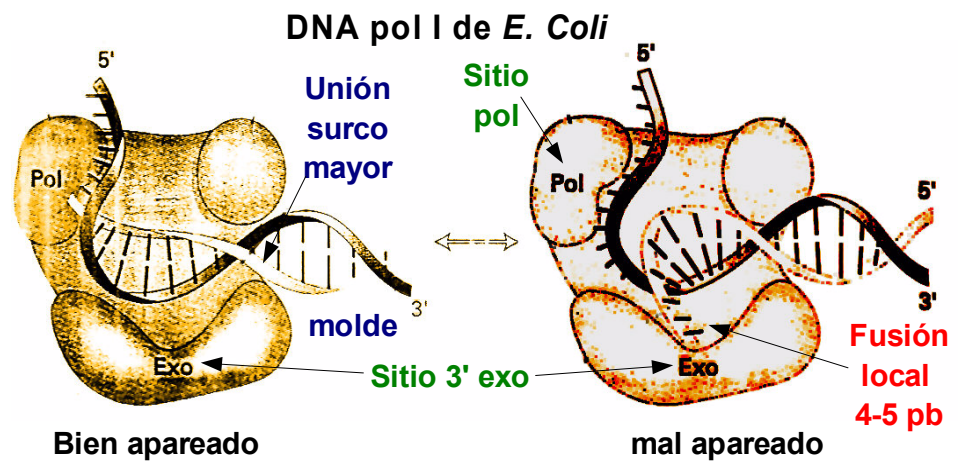


$\eta, \theta, \iota$   
Replicación translesion  
entrecruzamientos

# DNA polimerasas: fidelidad de copia

fidelidad=diferencia energética  
 $V_{pol} = 10^{-7}$

Apareamiento de Watson-Crick  $\longleftrightarrow$  mal-apareamiento  
 $G \approx 4-15 \text{ kJ/mol}$   
 $V_{pol} = 10^{-7}$



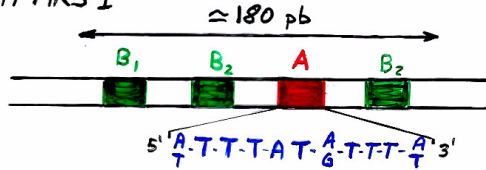
- Inserción específica  $K_M^{err} \gg K_M^{ap}$
- extensión selectiva  $k_{cat}^{err} \ll k_{cat}^{ap}$
- 3' exonucleasa

Fidelidad  
 $\times 10^3 - 10^4$

$\approx 1:10$  correctos

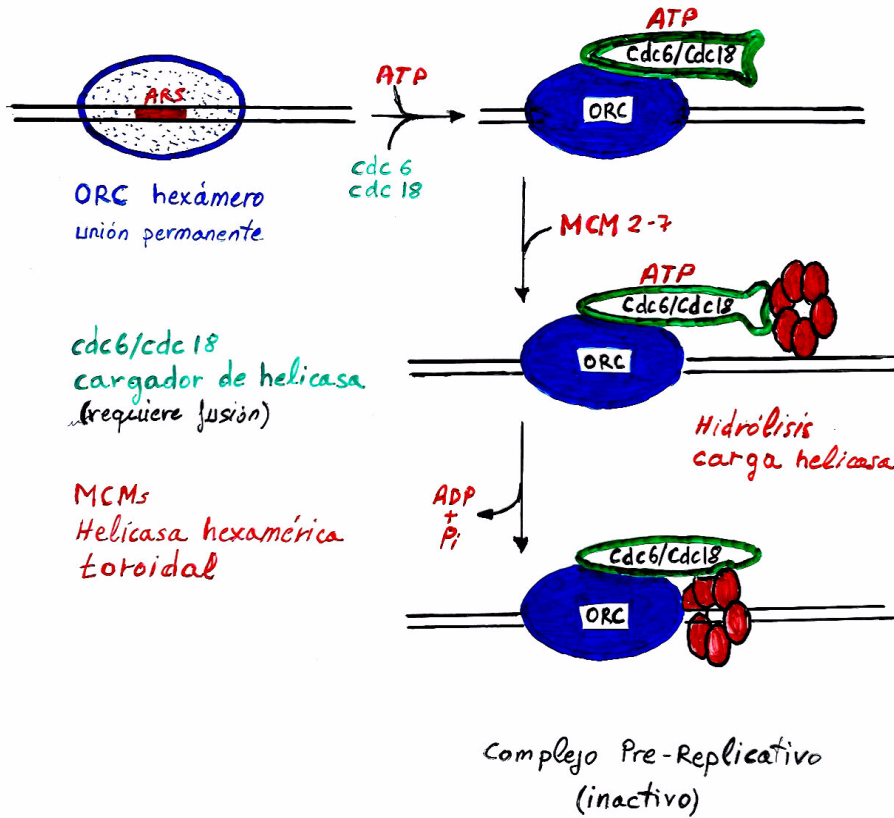
# Iniciación de la Replicación

Origen ARS1

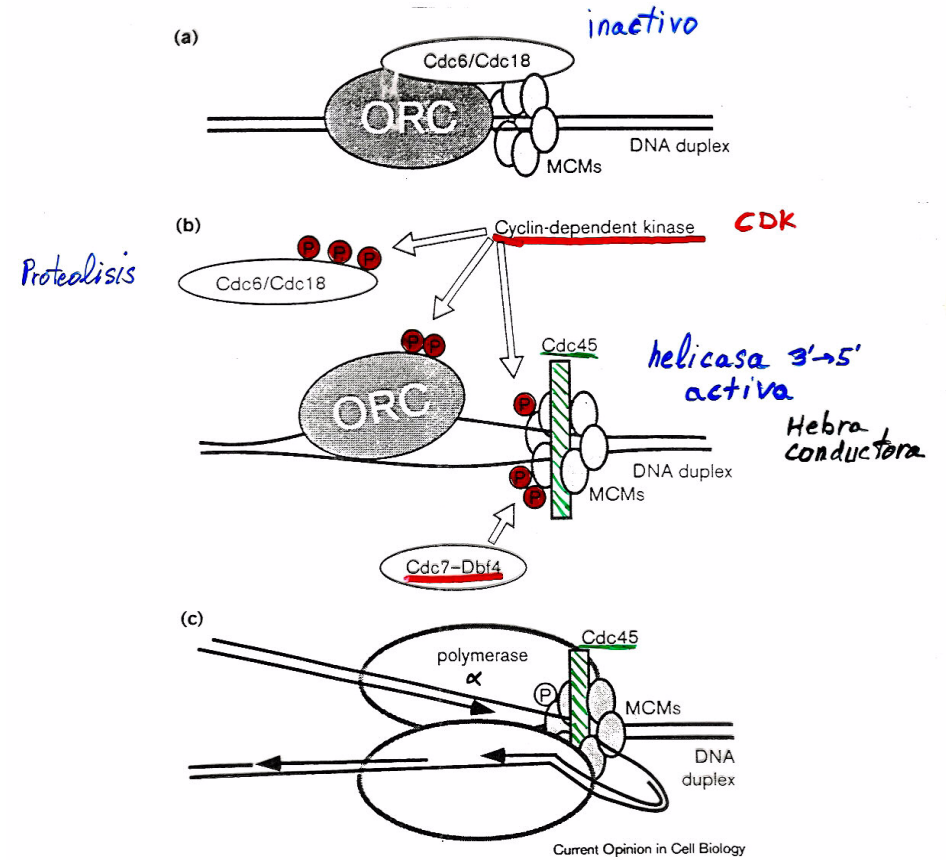


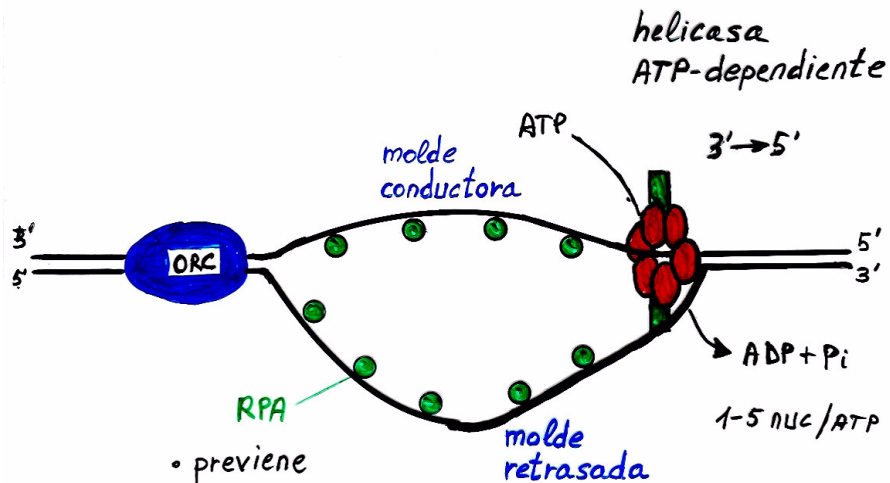
- repeticiones  
- ricos en AT

Múltiples orígenes  
1/ 3-300 kpb



(5') A/T-T-T-T-A-T-A/G-T-T-T-A/T (3')  
Consensus ARS sequence





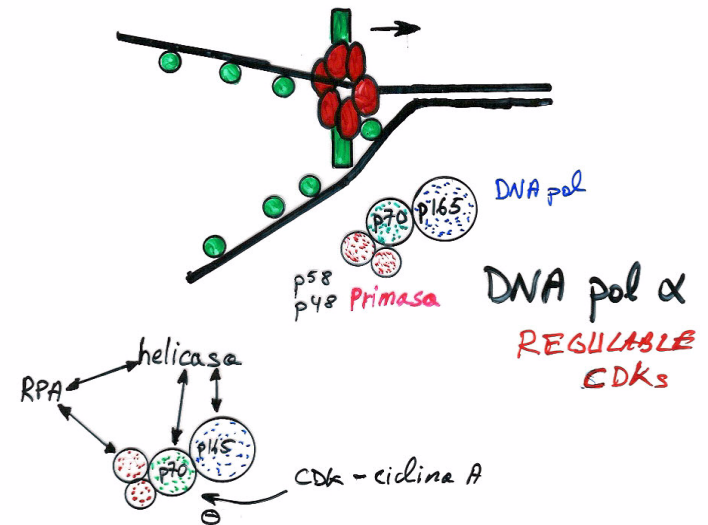
- previene reasociación
- estimula helicasa-ATPasa

RPA: heterotrimerica p70, p34, p11

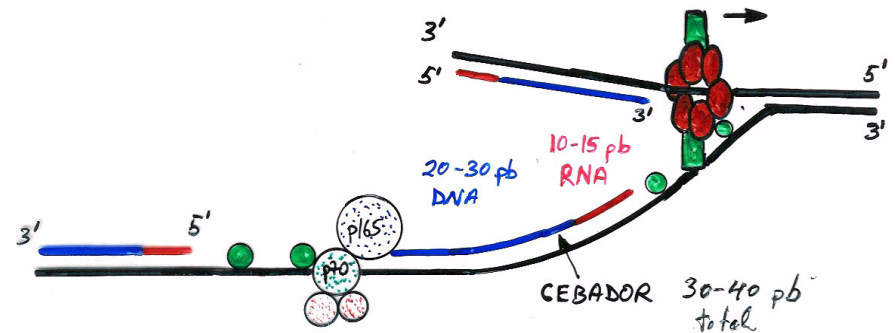
4 sitios union, 30 pb

regulada

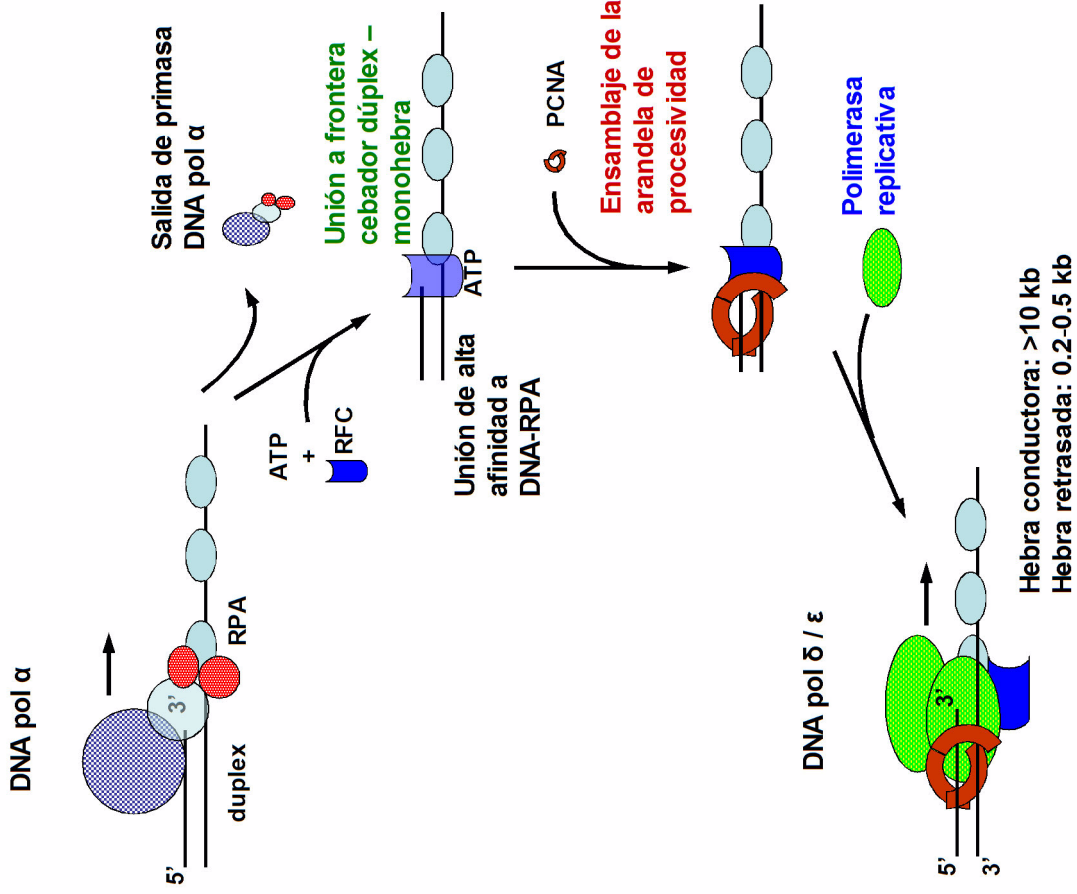
## Reclutamiento del primosoma



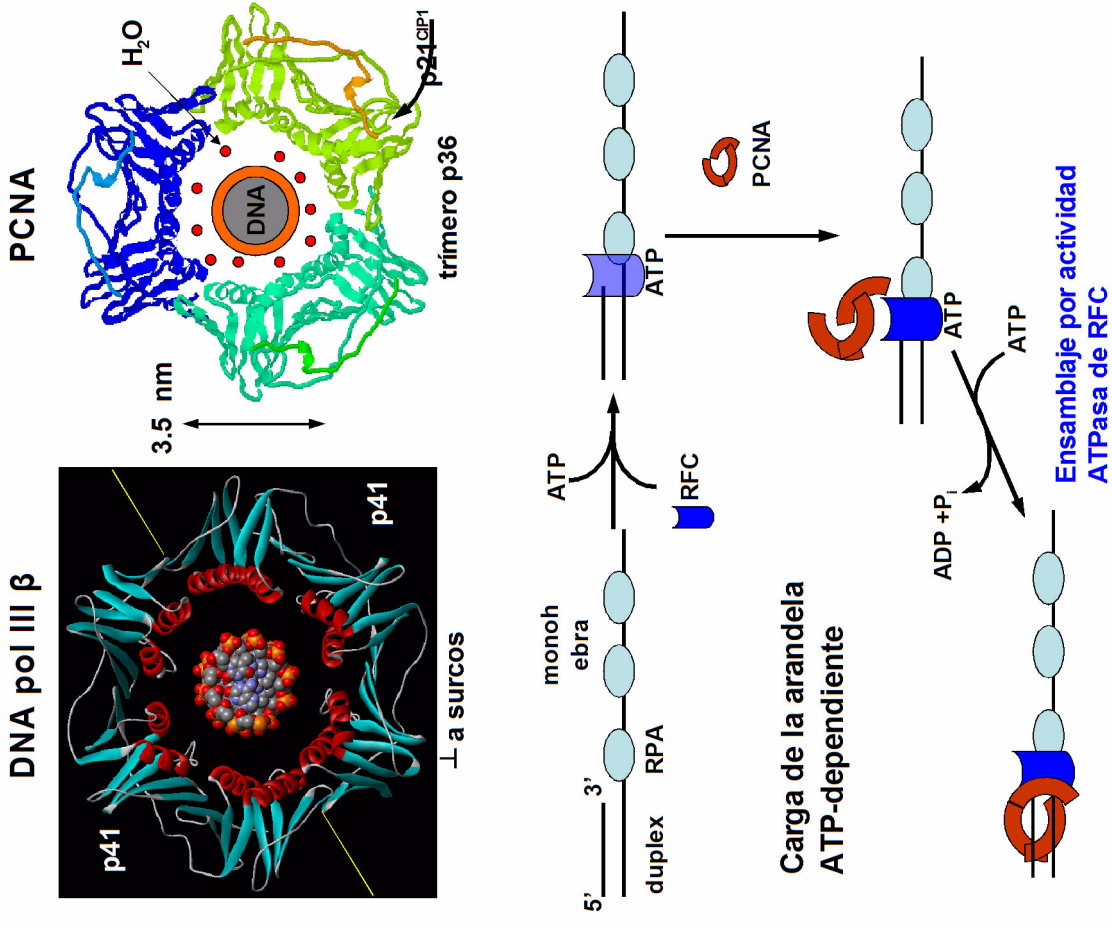
## Sintesis del cebador

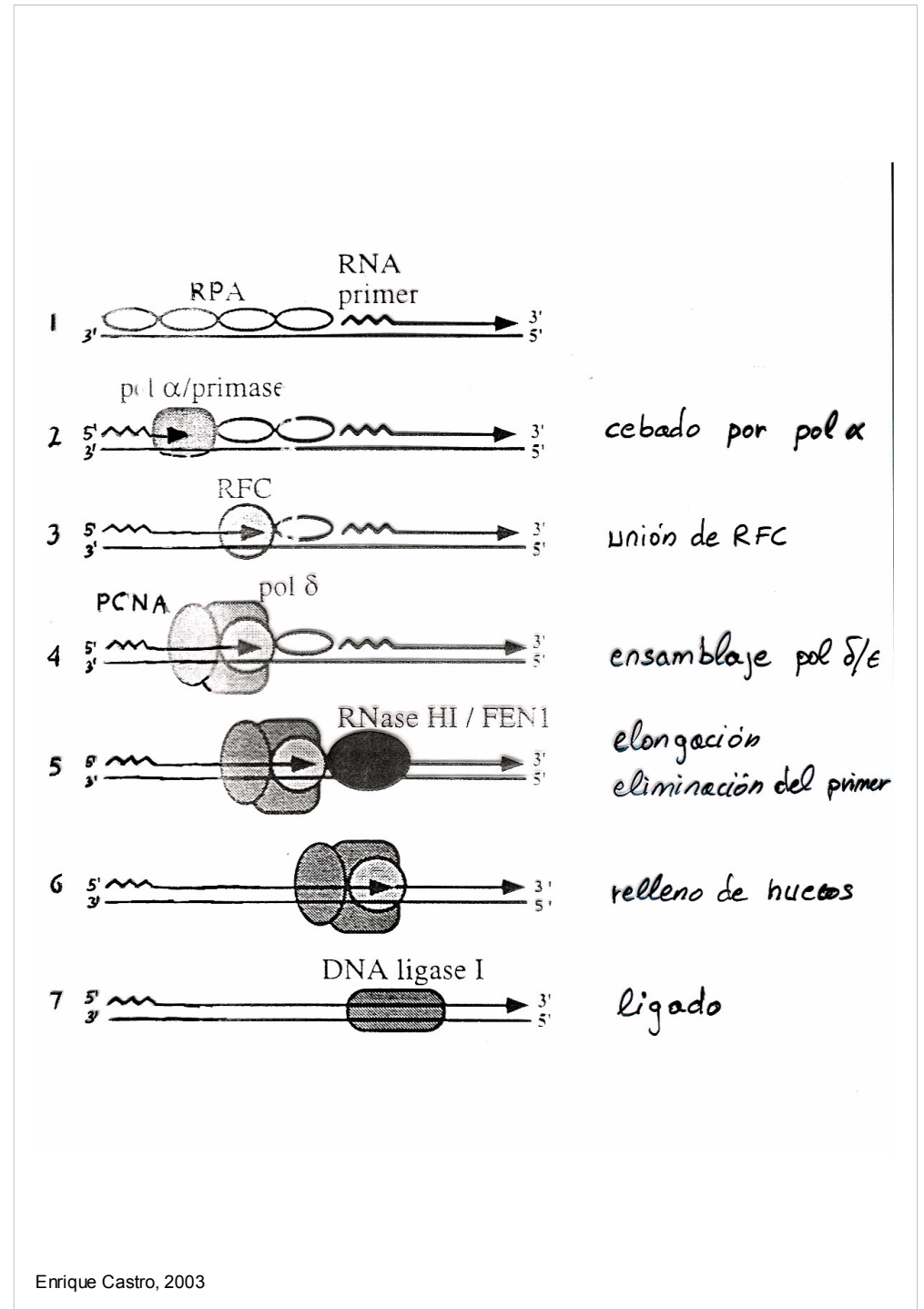
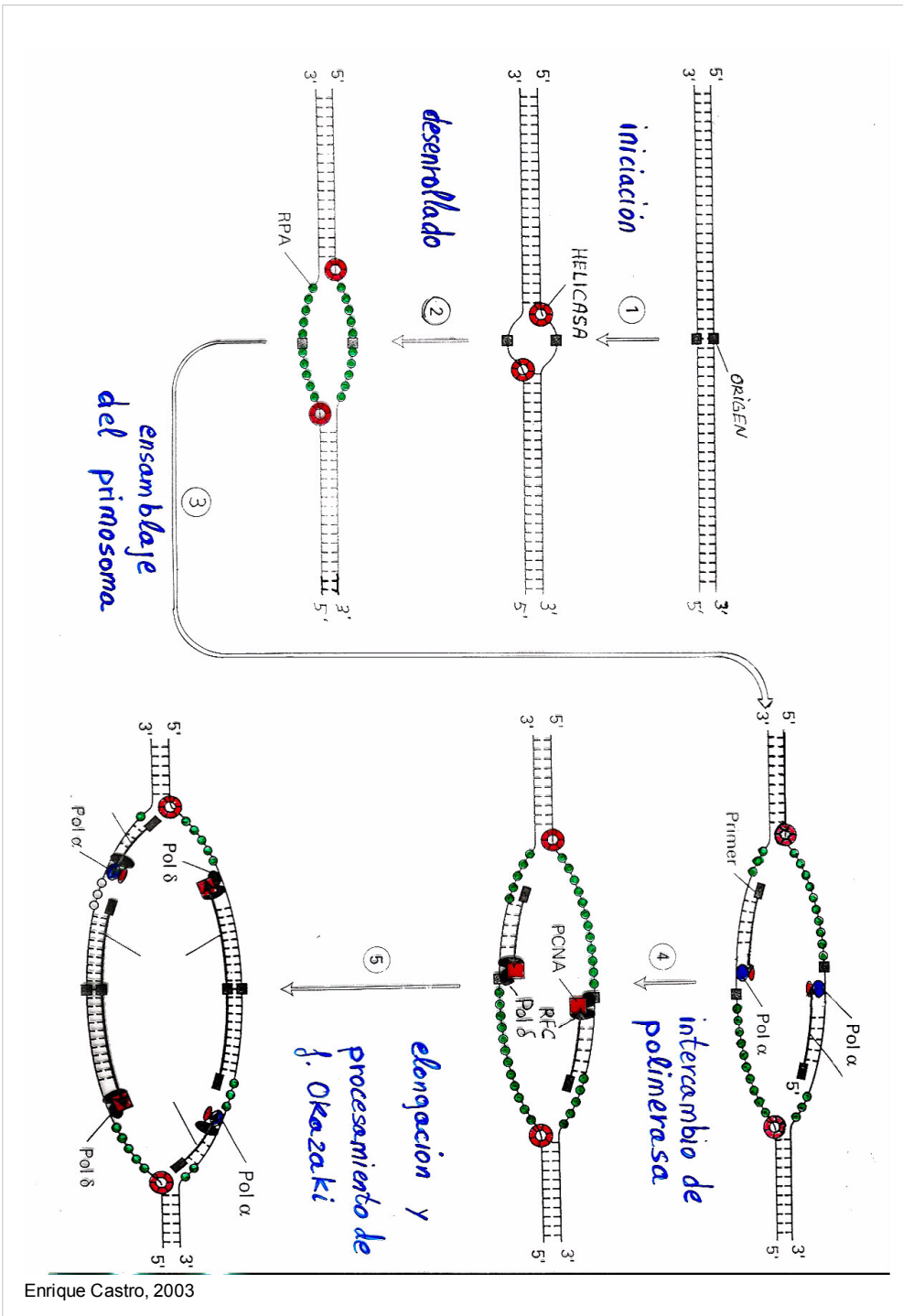


## Intercambio de polimerasa

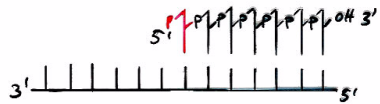
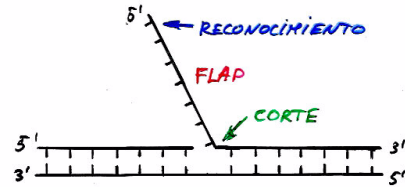
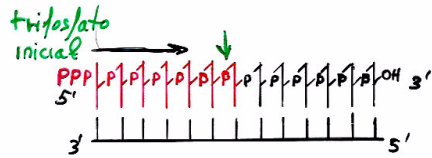


## Arandelas de procesividad





# Eliminación del cebador



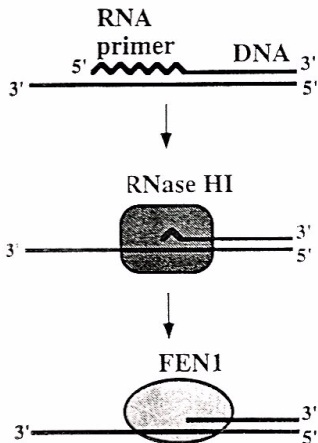
RNase H1

Hibo 5' exonucleasa

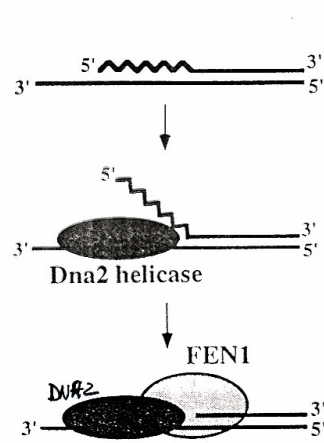
FEN1

5' exo, flap endonucleasa  
inespecífica DNA/RNA

## A. RNase HI/FEN1

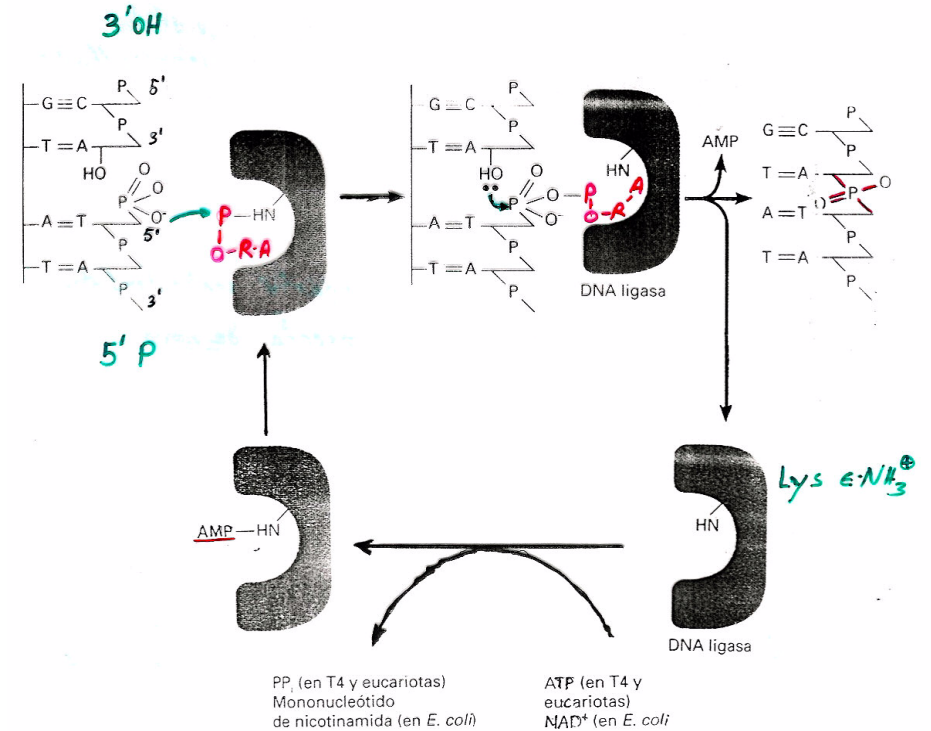


## B. Dna2/FEN1



Eliminado DNA/RNA  
re-replicación por pol δ/ε

# DNA ligasa I



• Unida a PCNA

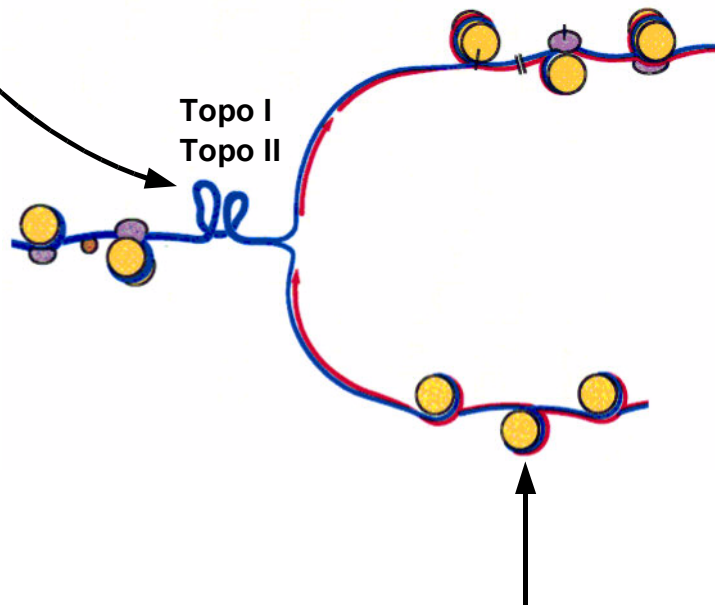
# Replicación y topología del DNA

## • Superenrollamientos positivos

delante de la horquilla replicativa  
aliviados por topoisomerasas

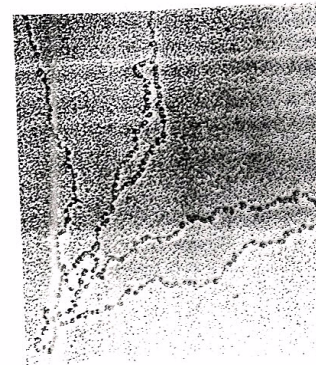
Inhibidores Topo  
bloquean replicación

Topo I humana: camptotecina  
(antitumoral)  
DNA girasa bacteriana:  
Ác. Nalidíxico (sub A)  
novobiocina (sub B, ATPasa)



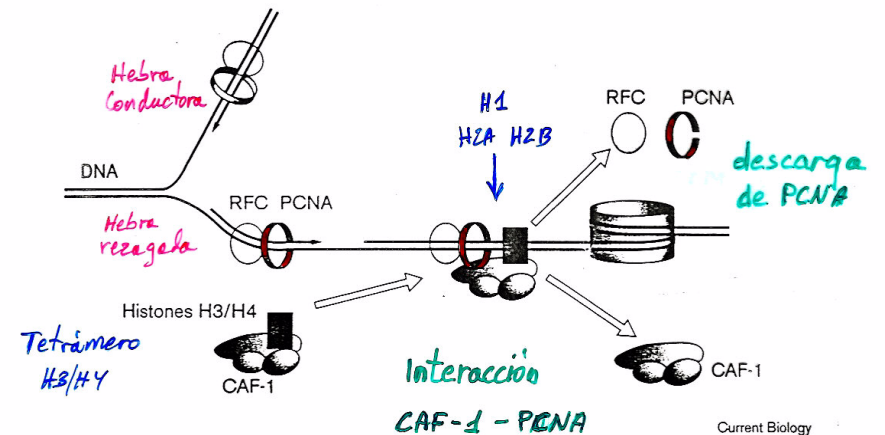
## • Empaquetado del DNA naciente detrás de la horquilla replicativa

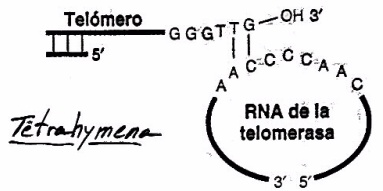
# Reorganización de cromatina



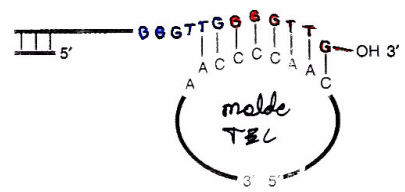
• Desensamblaje: *facilita desenrollado mecanismo?*

• Ensamblaje *cuasi-azar*  
- reparto *conductor/retrasada*  
- mezcla *de novo*  
(H3/H4) (H2A/H2B)  
Tetrameros Dimeros





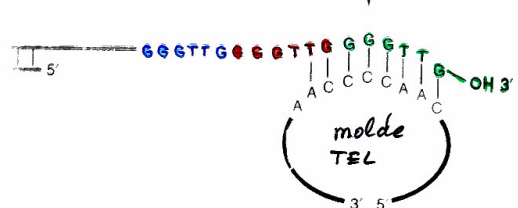
Elongación



Translocación

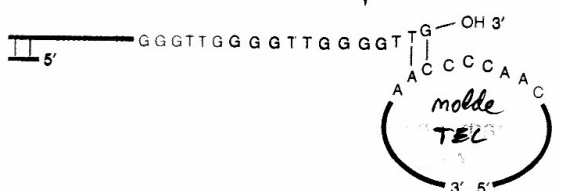


Elongación



x n veces

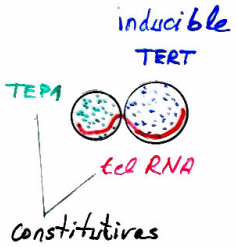
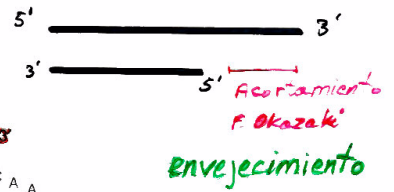
Translocación



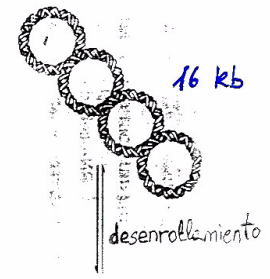
mantenimiento de telómeros:

## Telomerasa

- molde RNA intrínseco
- Transcriptasa inversa

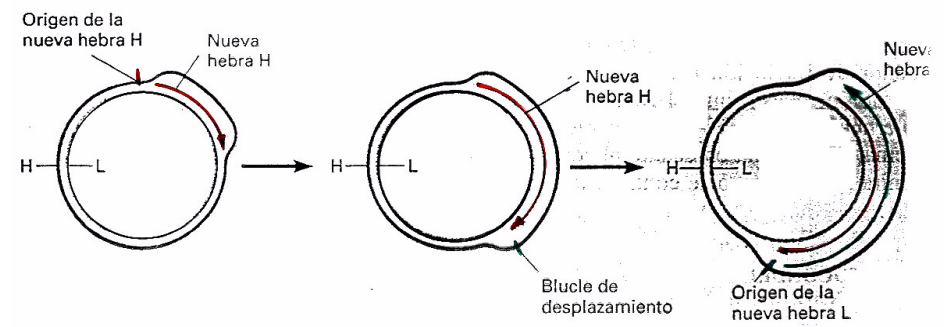


## Replicación de DNA mitocondrial



- DNA pol  $\gamma$
- homotetrámero 4x p125

- 2 orígenes monohebra
- Uni direccional

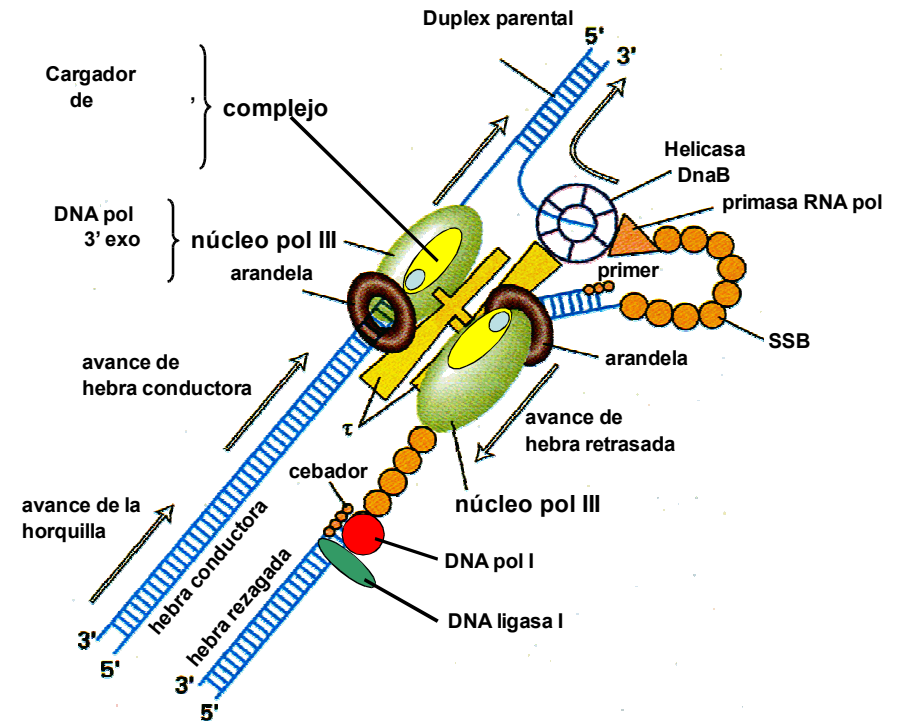




## Maquinarias de replicación: comparación

	Procariotas	Eucariotas
<b>Iniciación:</b>		
secuencia origen	<i>oriC</i>	ARS
reconocimiento del origen	DnaA	ORC
cargador de helicasa	DnaC	<i>cdc6/cdc18</i>
helicasa	DnaB 5' → 3'	MCMs 3' → 5'
<b>Desenrollamiento</b>		
unión DNA monohebra	SSB	RPA
superenrollamiento	topo II	topo II
<b>Cebado:</b>	Primasa RNA pol	DNA pol α (RNA/DNA)
<b>Elongación:</b>		
síntesis de DNA	DNA pol III, núcleo	DNA pol δ/ε
cargador de arandela	complejo y	RFC
arandela procesiva	subunidad β	PCNA
<b>Maduración de f. Okazaki:</b>		
eliminación del cebador	DNA pol I	Rnasa H1, FEN 1,
relleno de huecos	DNA pol I	Dna2
		DNA pol δ/ε
<b>Ligado:</b>	DNA ligasa I	DNA ligasa I

## Máquina de Replicación de Procariotas



Helicasa DnaB 5'→3': hebra retrasada

Primosoma permanente

Cebador RNA

Sin cambio de polimerasa

Ensamblado en máquina molecular dimérica (subunidad τ)

Fragmentos de Okazaki largos

Maduración por DNA pol I

{ DNA pol 5'→3'  
  exonucleasa 3' → 5' corrección)  
  exonucleasa 5' → 3' (Okazaki)

# Mecanismos de daño al DNA

## Errores replicativos

- Mal-apareamientos
- inserciones y deleciones (patinado de polimerasa)
- bloqueo de polimerasa

Agentes intercalantes

## Despurinación espontánea

- Sitios AP (10<sup>4</sup>/genoma/día)

Inducido por ácidos y bases

## Desaminación espontánea

- Mal-apareamientos (100-500/genoma/día)

C U nitrosaminas  
G → X  
A → H

## Alquilaciones de bases

- Mal-apareamientos inducidos
- impedimentos estéricos

Mostazas nitrogenadas  
Alquil sulfonatos

## Oxidaciones de bases

- Mal-apareamientos inducidos
- entrecruzamientos

Estrés oxidativo  
nitrosaminas

## Aductos de bases

- Impedimentos estéricos
- entrecruzamientos

Carcinógenos químicos  
benzopirenos  
aflatoxinas

## Dímeros de timina

- Impedimentos estéricos
- bloqueo de polimerasa

Luz UV

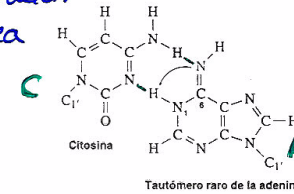
## Roturas de hebra

- Deleciones
- entrecruzamientos
- translocaciones

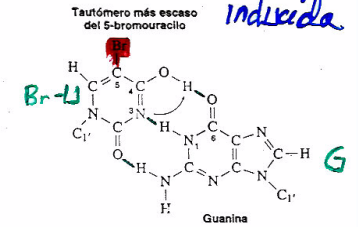
Radiaciones ionizantes  
estrés oxidativo

# Malapareamientos inducidos

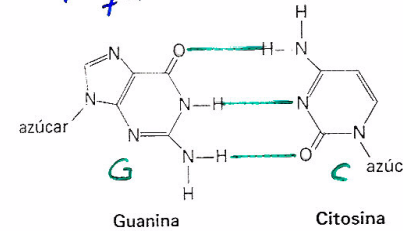
Tautomerización espontánea



Tautomerización

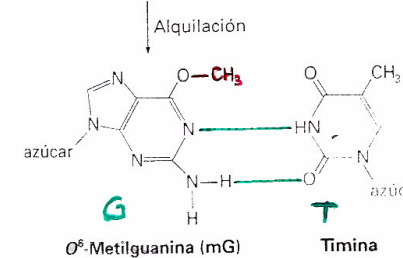
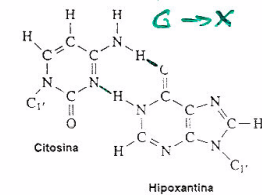


Alquilación



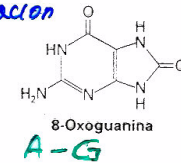
Desaminación oxidativa

A → HX (C)  
C → U (A)  
G → X (C)



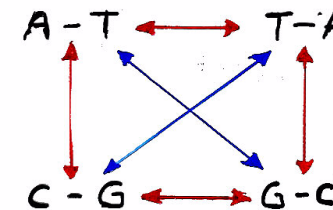
Oxidación

timina glicol



Transiciones

Pur → Pur  
Pir → Pir

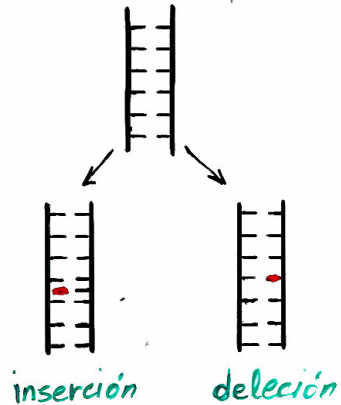
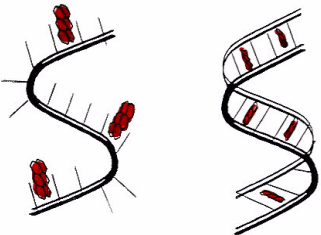
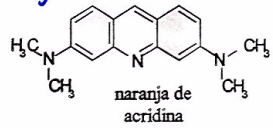


Transversiones

Pur → Pir  
Pir → Pur

# Mutaígenos

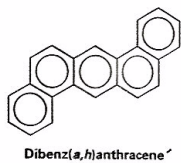
## Agentes intercalantes:



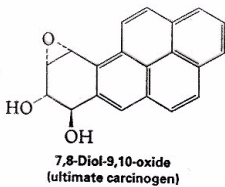
## Formadores de aductos:



aductos de G

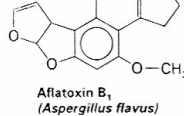


4450



- inserciones
- delecciones
- entrecruzamientos

mitomicina C  
psoraleno  
afatoxina



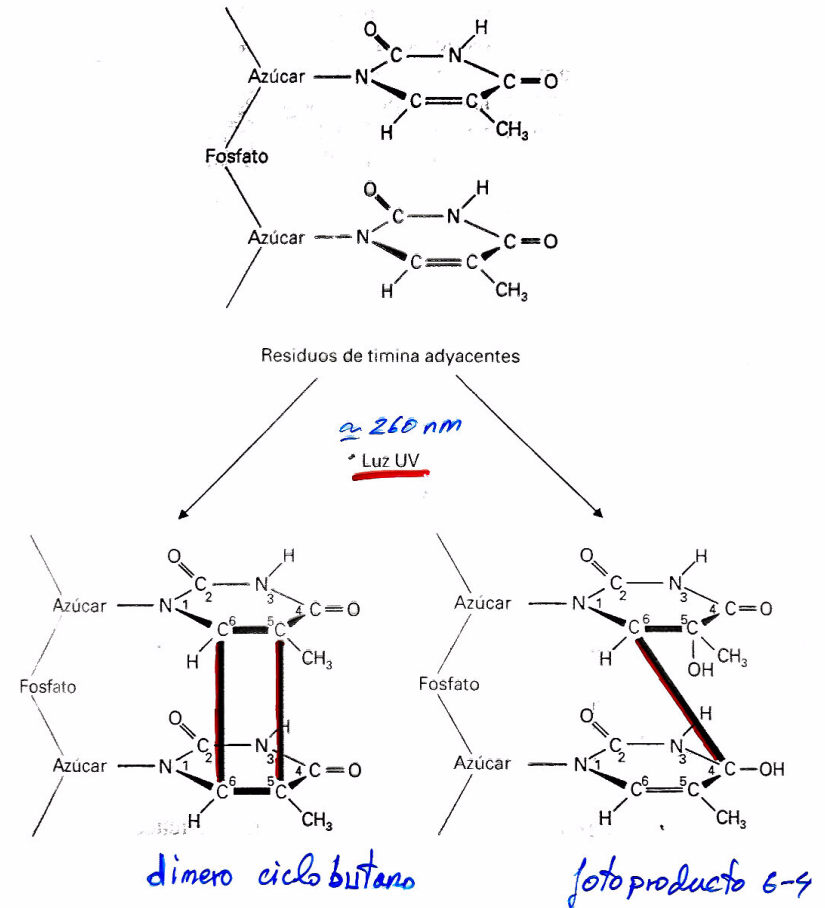
## Radiación UV: Dimeros de Timina

## Radiaciones ionizantes:

X, γ  
β, α

- apertura de anillos
- roturas de doble hebra

# Lesión por radiación UV



# Mecanismos de Reparación del DNA

• Nucleótido difosfohidrolasas **preventivo**

• Reparación directa

fotorreactivación: **DNA fotoliasa**

desalquilación: **O<sup>6</sup>-alquil-guanina transferasa**

• Mantenimiento y control de calidad **Sistemas de detección de daños especializados**

MMR Rep. Malapareamientos  
dependiente de metilación  
postreplicativo

Fallos replicativos

BER Rep. por escisión de base  
DNA-N-glucosilasas/PARP

Uracil-DNA bases alteradas  
sitios AP  
malapareamientos

NER Rep. Por escisión de nucleótidos  
excinucleasas

Defectos estéricos  
dímeros de timina  
aductos de base  
Mod. voluminosas

Rep. por unión de extremos no homólogos (NHEJR)  
Ku/DNA-PK/PARP

Roturas de doble hebra

• Mecanismos no específicos **Sin sistema de detección dedicado**

Rep. Translesión  
DNA pol ζ, η, ι

Bloqueos de polimerasa

Rep. por recombinación  
Intermedios de Holliday, proteínas Rec

Bloqueos de polimerasa  
Roturas de doble hebra  
entrecruzamientos

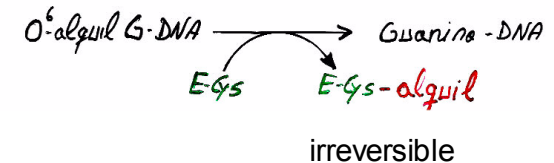
# Reparación del DNA

• Preventivos: **difosfohidrolasas**  
*no incorporación*

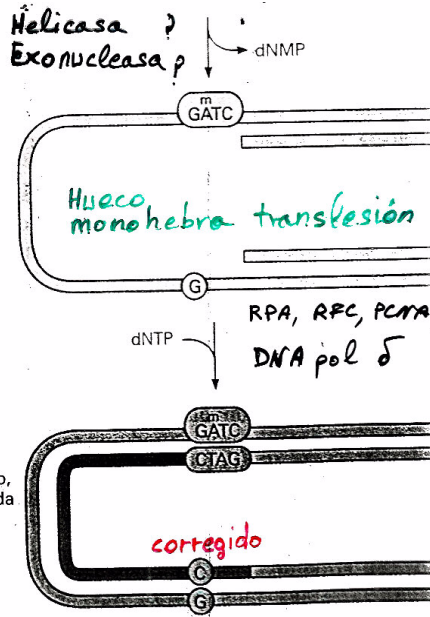
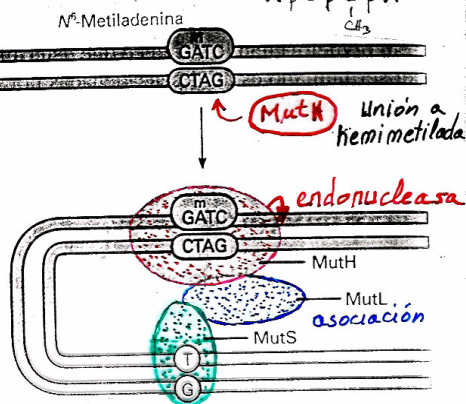
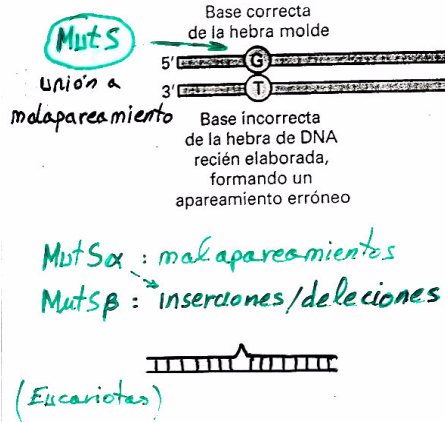
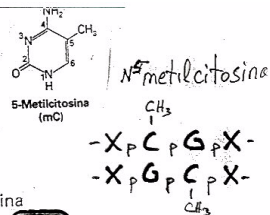
$dUTP + H_2O \xrightarrow{dUTPase} dUMP + PP_i$   
 $doxogTP + H_2O \rightarrow doxogMP + PP_i$

• Reparación directa:  
*no en mamíferos* Fotorreactivación: **DNA fotoliasa**

desalquilación: **O<sup>6</sup>-alquil-Guanina transferasa**

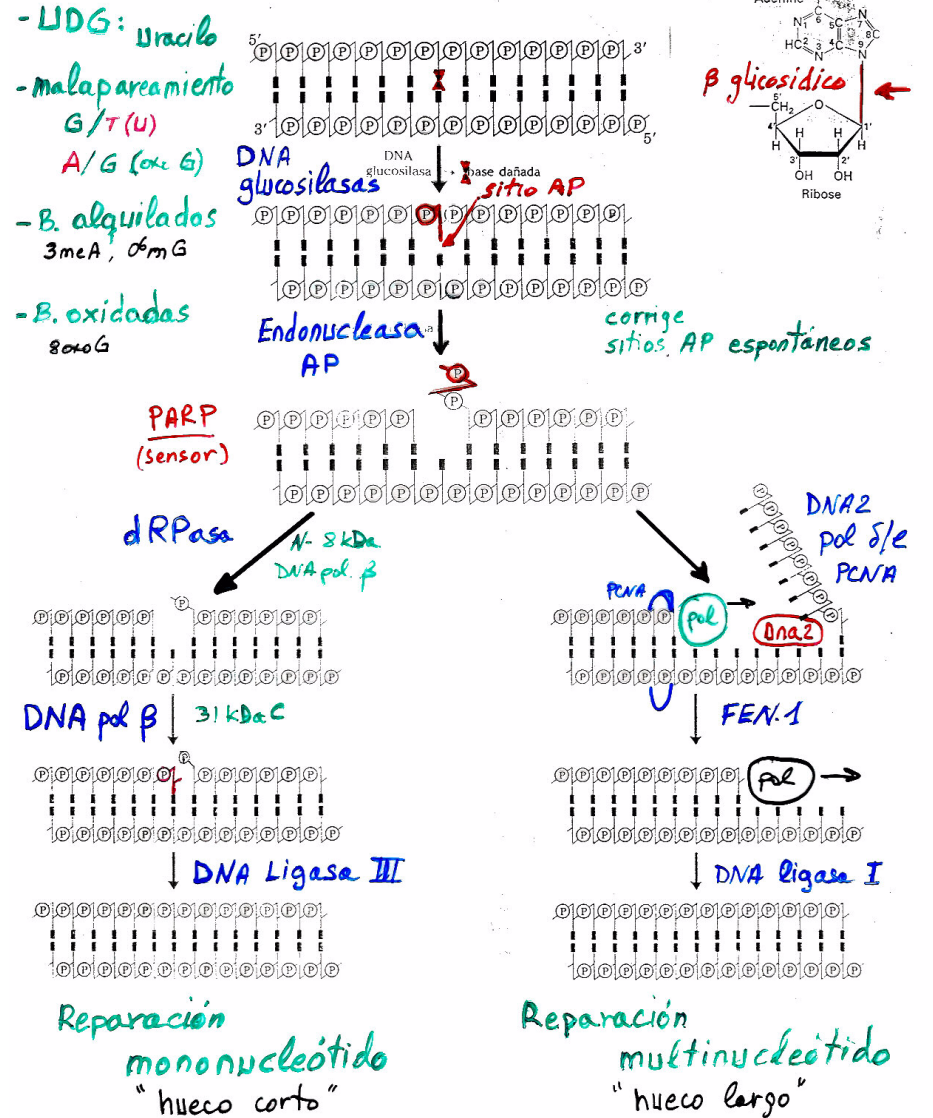


# Reparación de malapareamientos

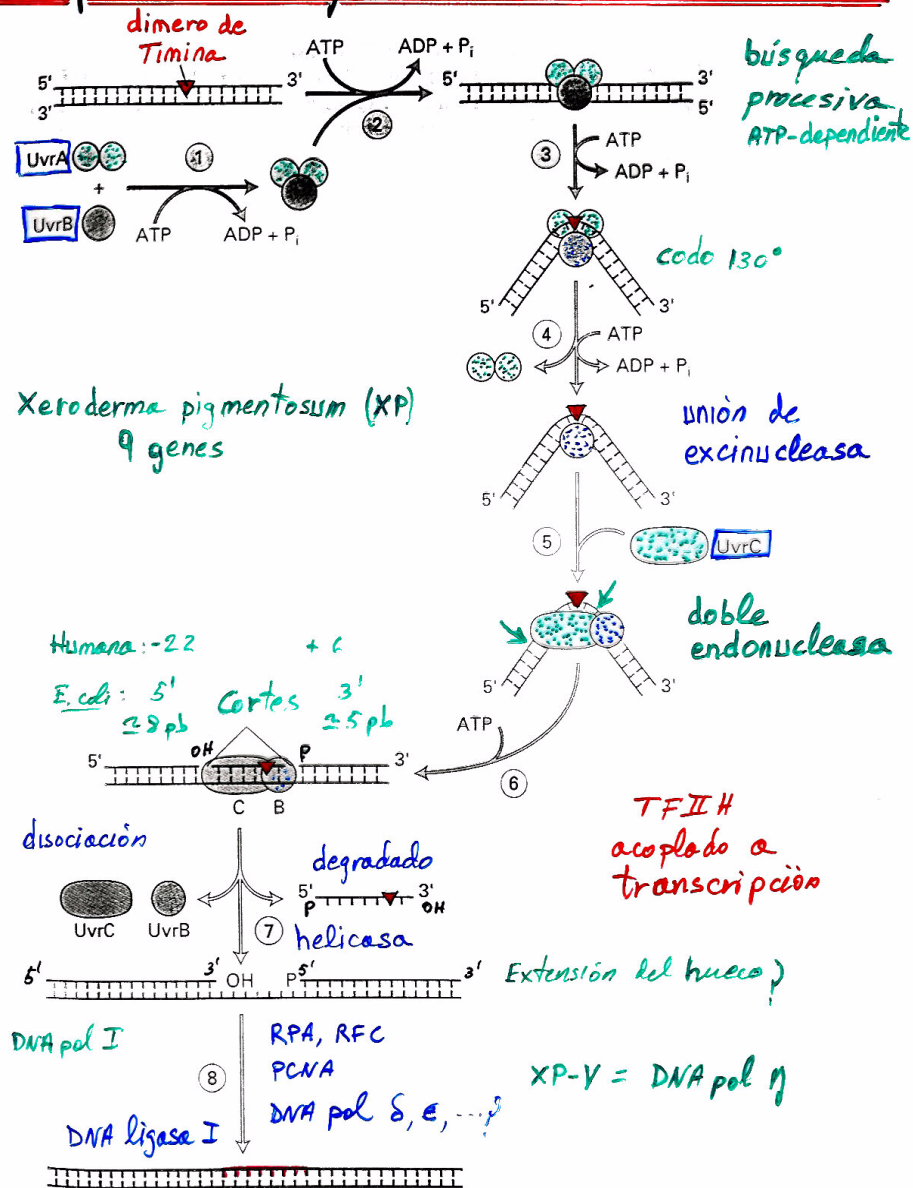


Cáncer colorrectal  
 sin pólipos hereditario  
 hMSH 1 = **MutL**  
 hMSH 2 = **MutS**

# Reparación por escisión de base

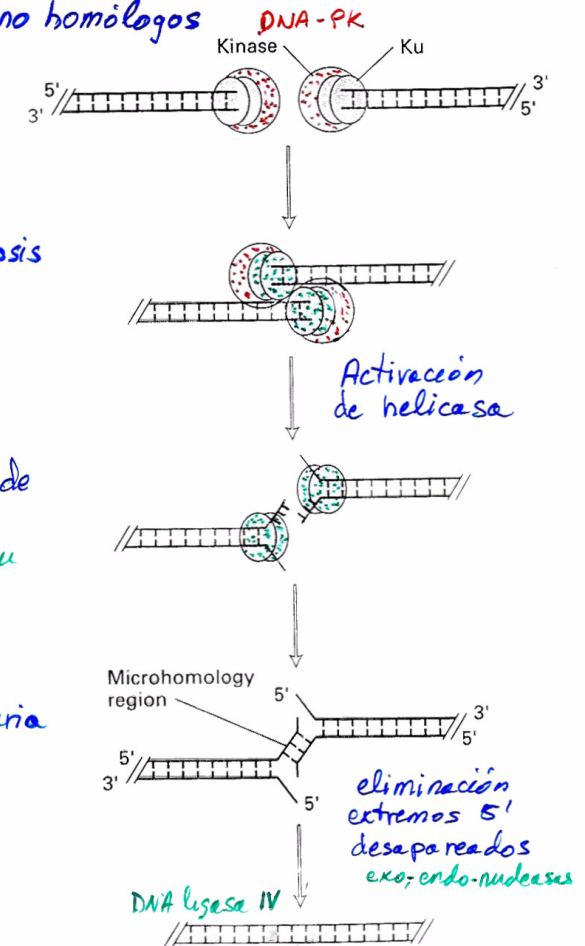


# Reparación por escisión de nucleótido



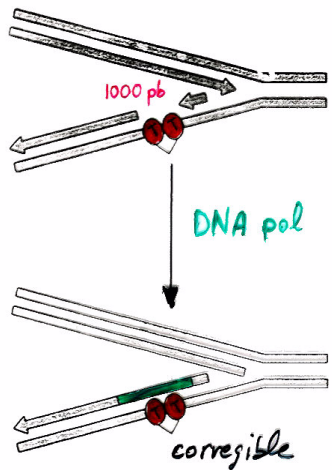
# Roturas de doble hebra

- Recombinación
- Unión extremos no homologos (NHEJ)



# Reparación de bloqueos de polimerasa

## Replicación translesión

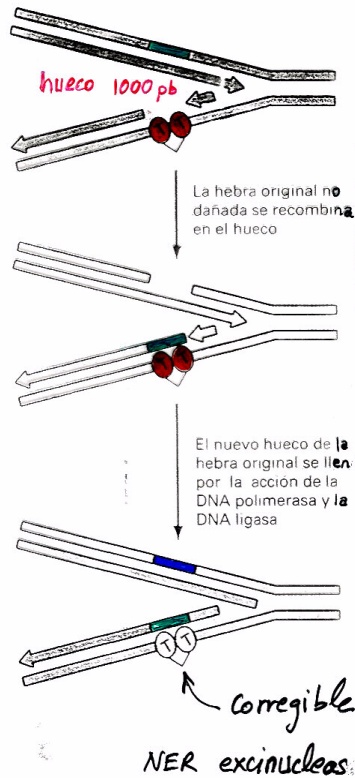


• propensa a error pol  $\zeta, \iota$

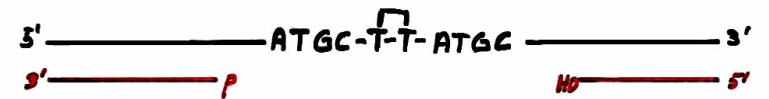
• libre de error  $\eta$  (XP-V)

nucleotidil transferasa (no molde)

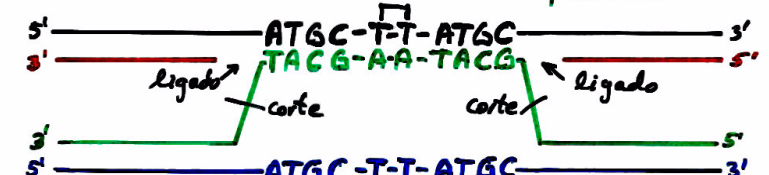
## Reparación por recombinación



# Reparación por recombinación

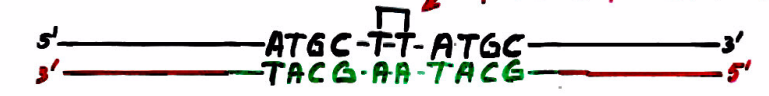


recombinación complejo, multietapa multiproteico



corte y empalme

NER reparable por excinucleasa



rellenado del hueco



# Rep. de roturas por recombinación

