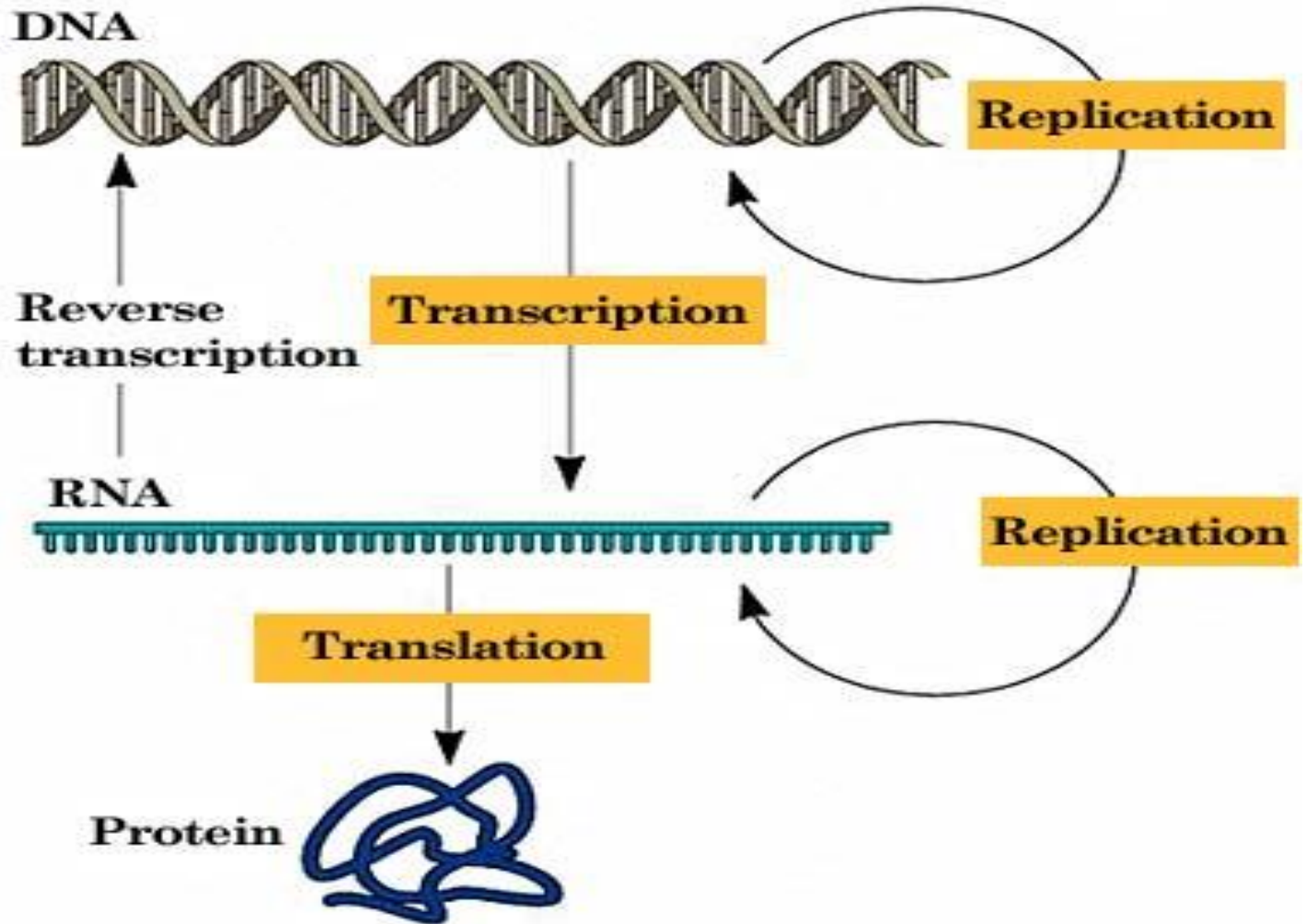
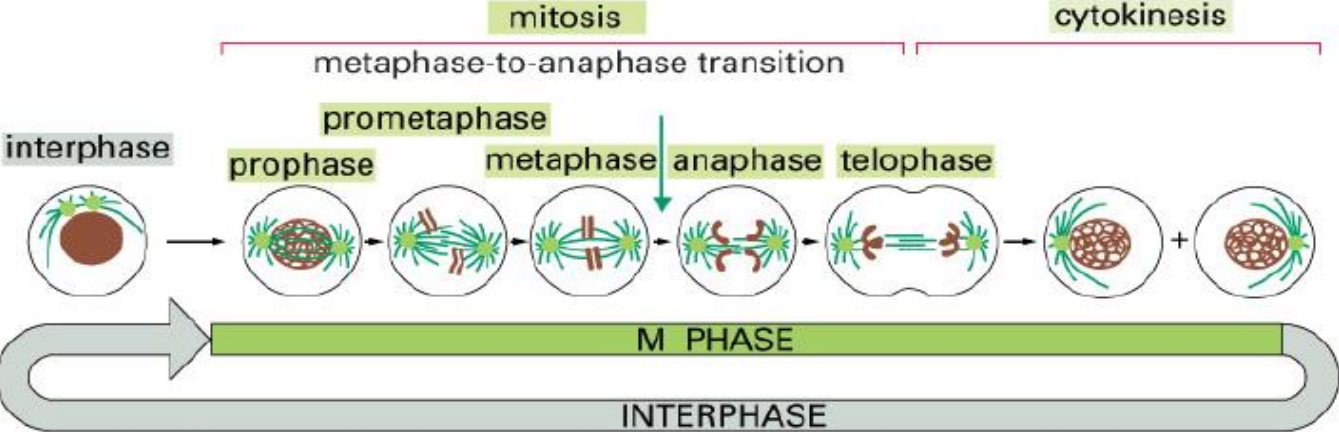


# Replicación

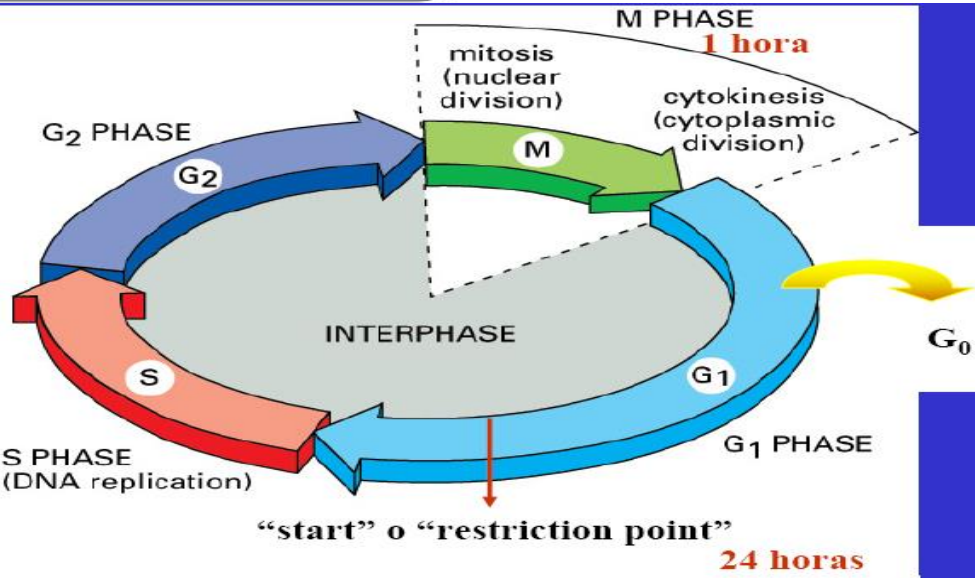
# Dogma Central de la Biología Molecular

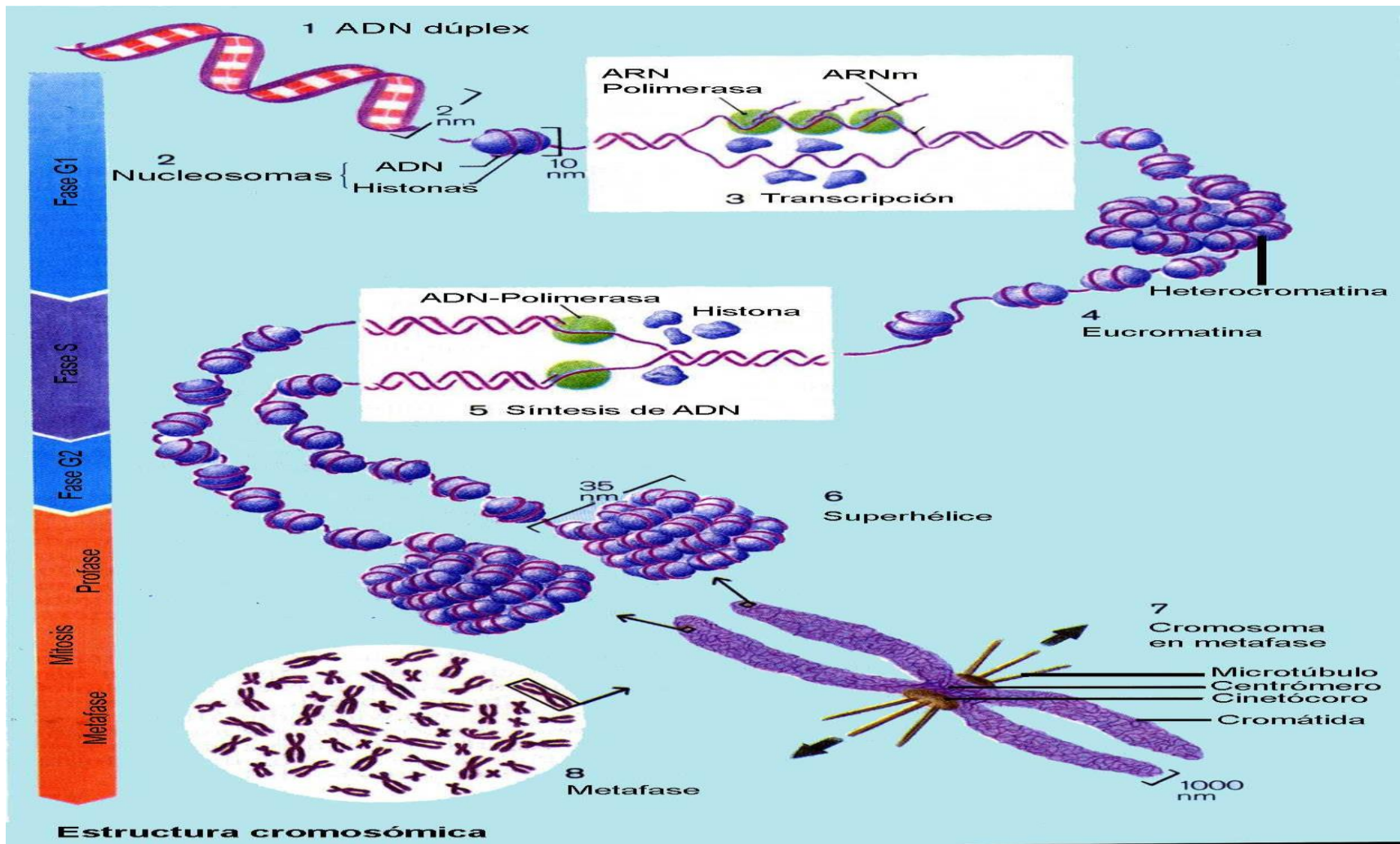


# Ciclo celular

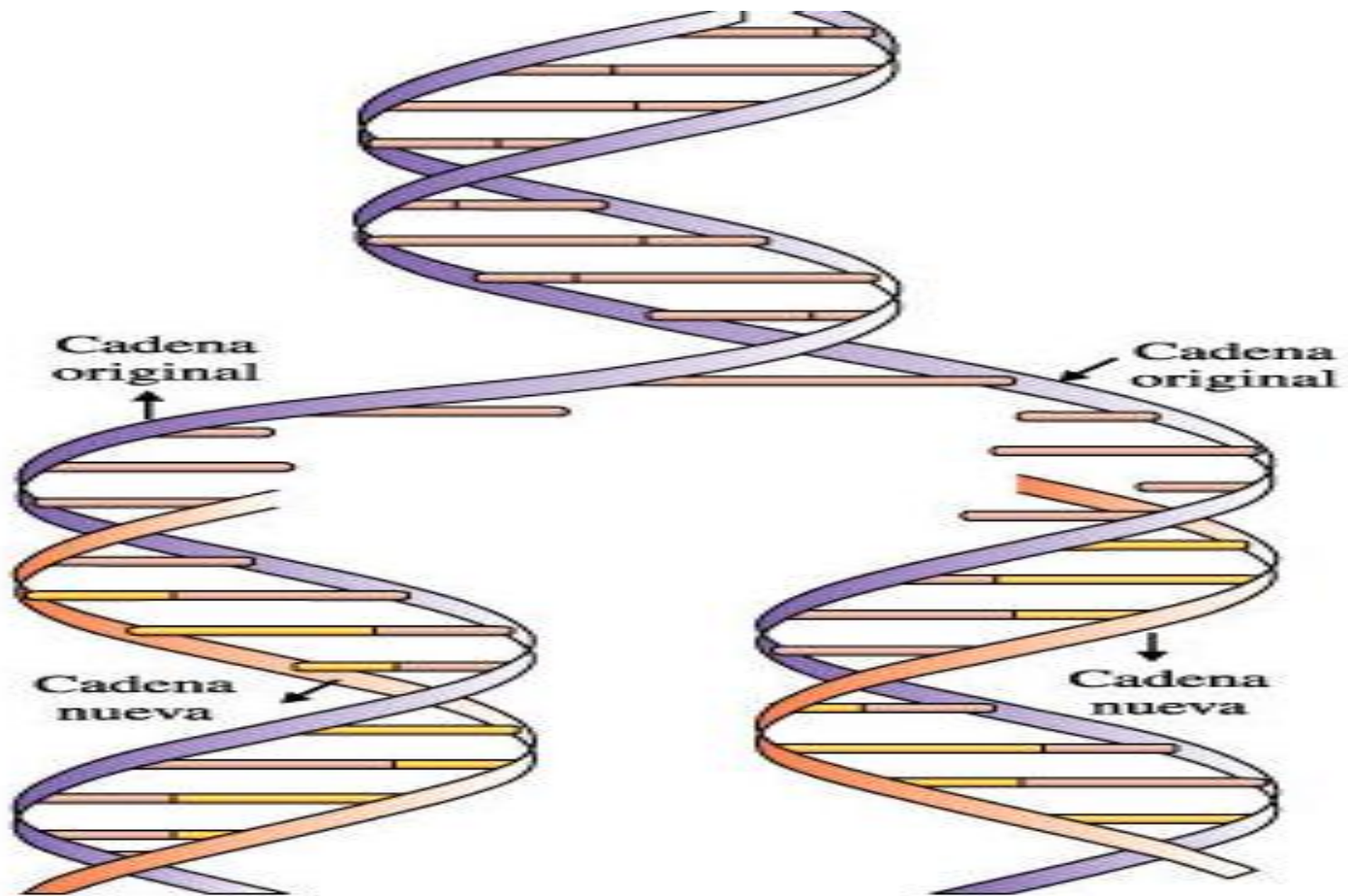


DNA replication



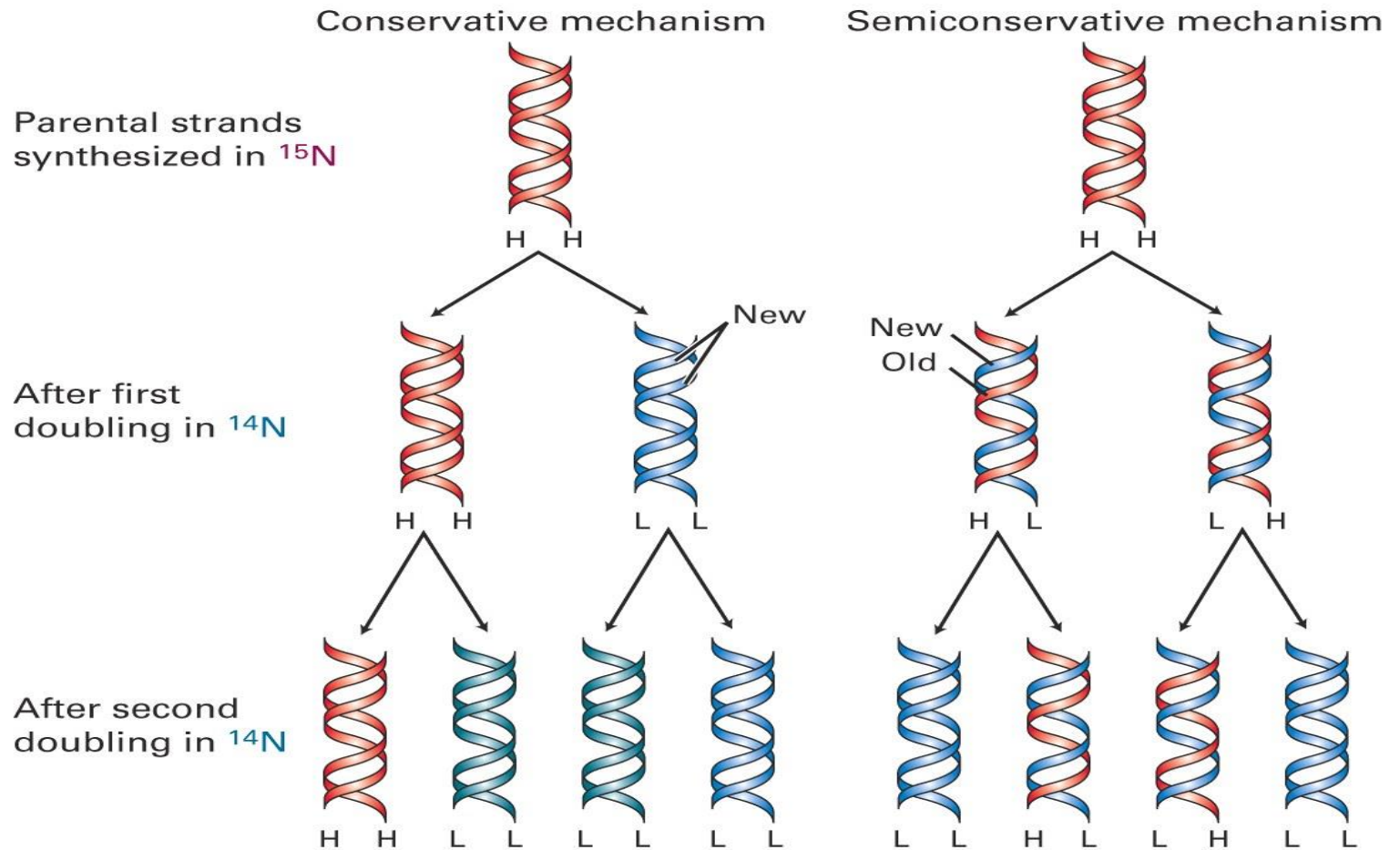


# Modelo semiconservador

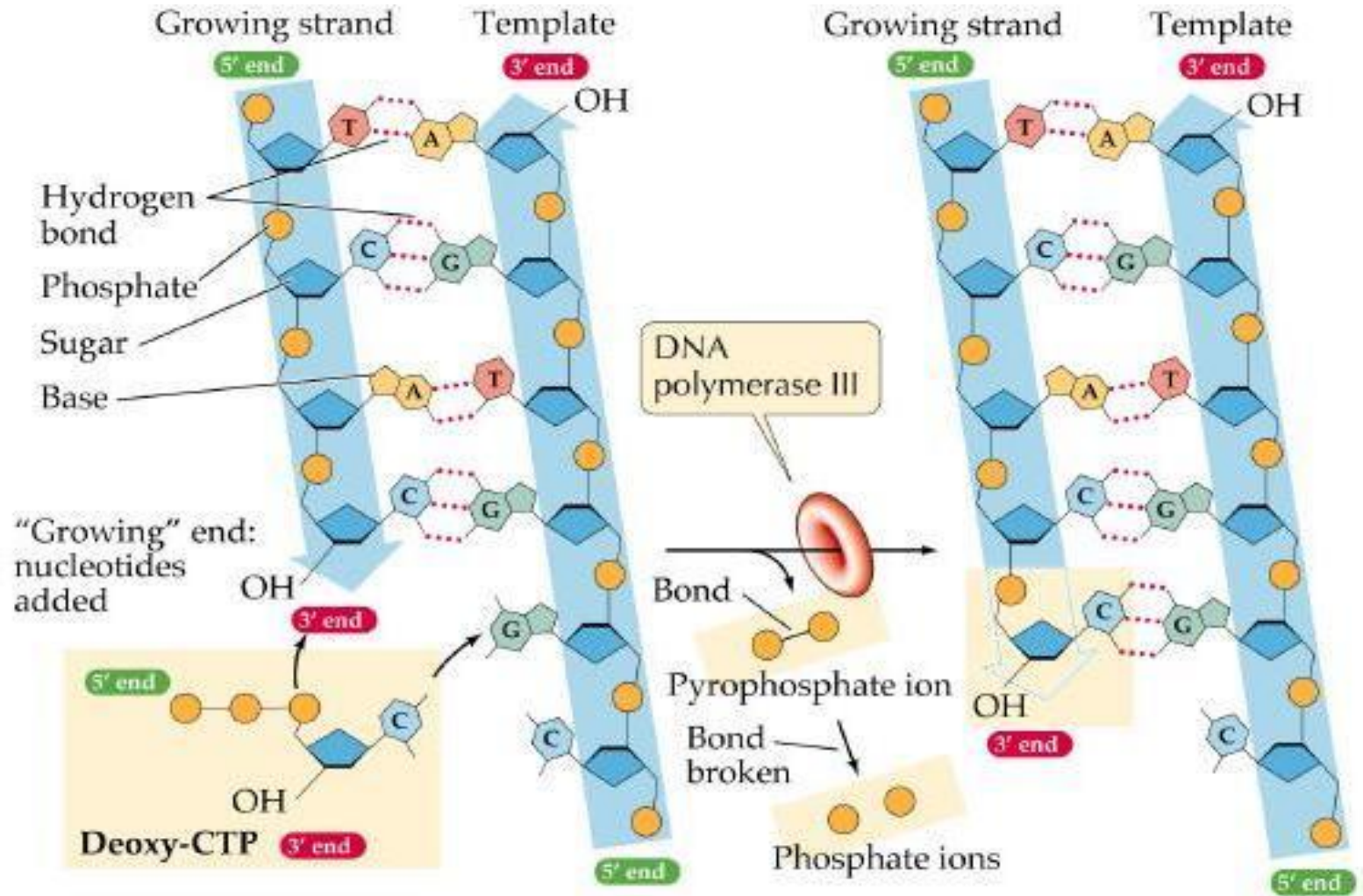


# Comprobación

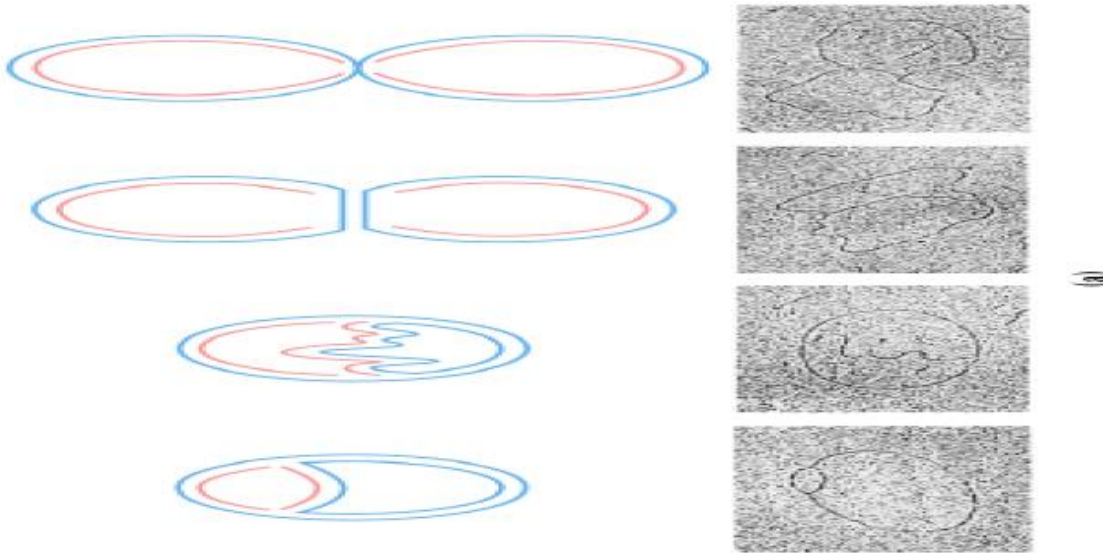
(a) Predicted results



# Polimerización

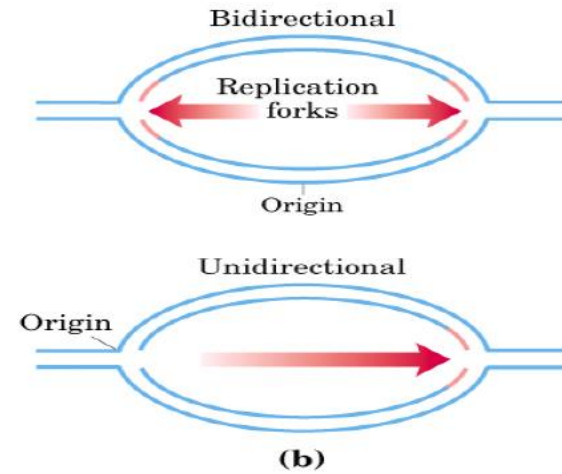


# Procariontes (Modelo Theta)



Procariontes y  
Eucariontes

Mitocondrias





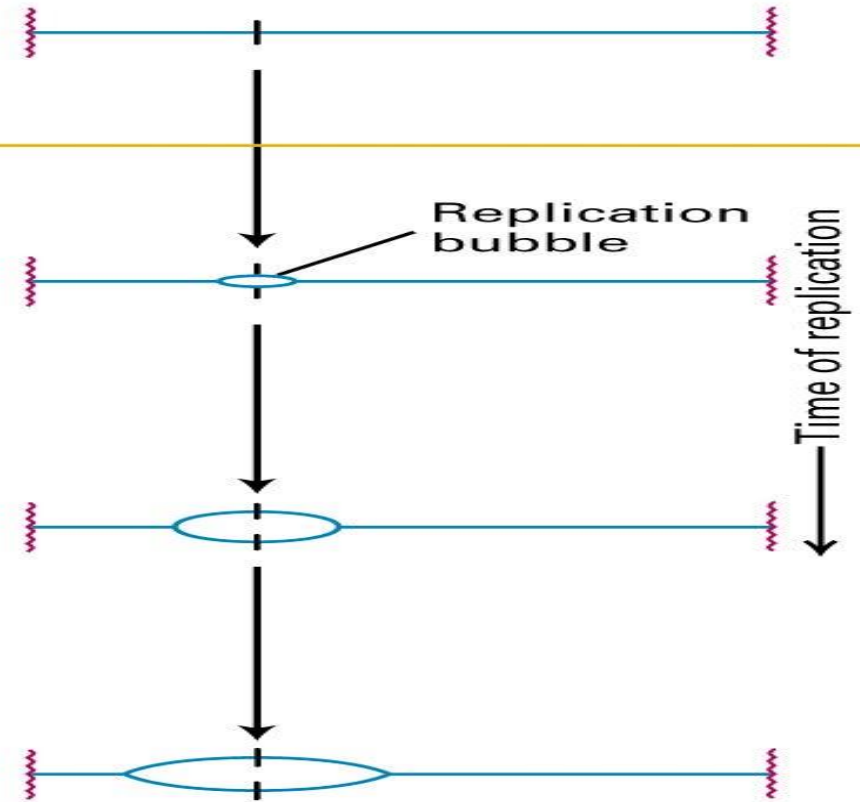
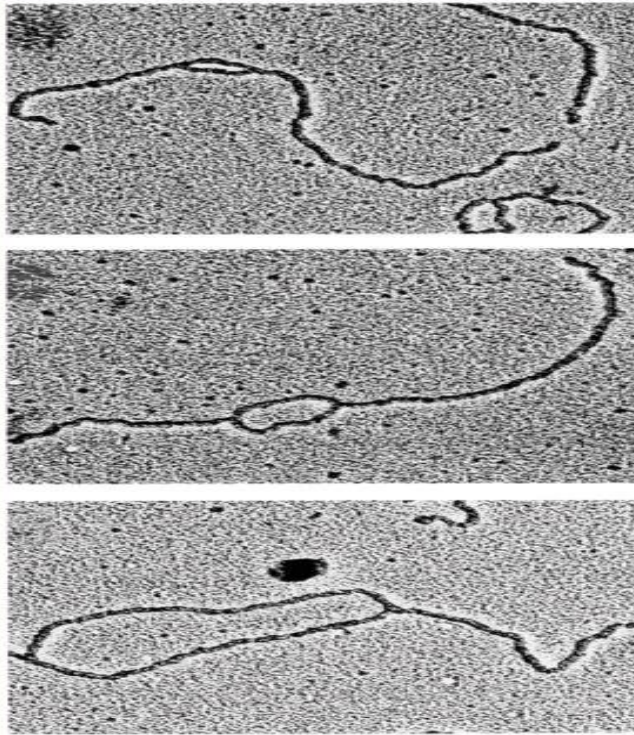
# Origen de la replicación

Ori C. 240 pb, capacidad de replicación independiente, con sitios de anclaje para proteínas- adjunto cajas TATA

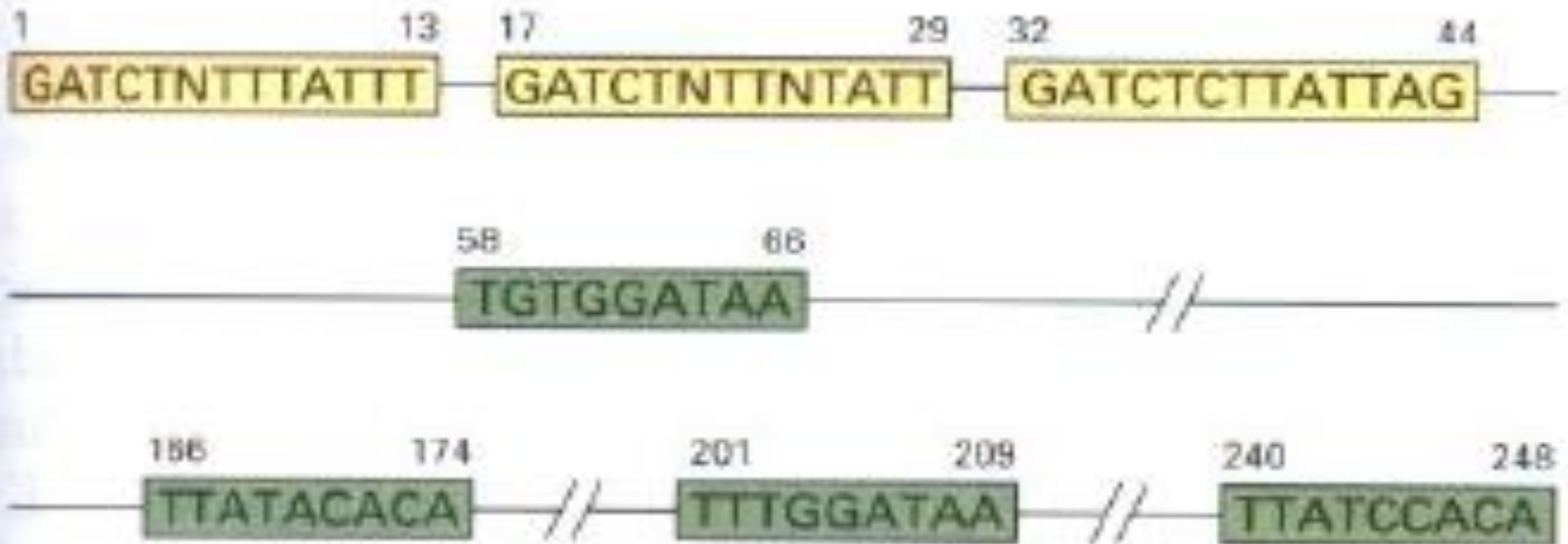
SV40. 65 pb. De simian virus 40. En mamíferos se ha encontrado.

ARS (secuencias de replicación autónomas). Característico de levaduras. Son múltiples sitios. Aprox 180 pb.

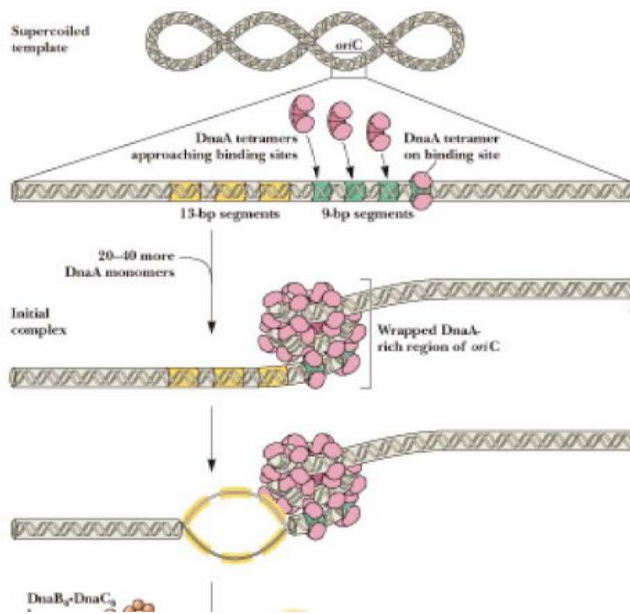
# ORI



# ORI C



# Ori C



Tandem array  
of 13-mer sequences  
(AT rich)

Binding sites for dnaA protein

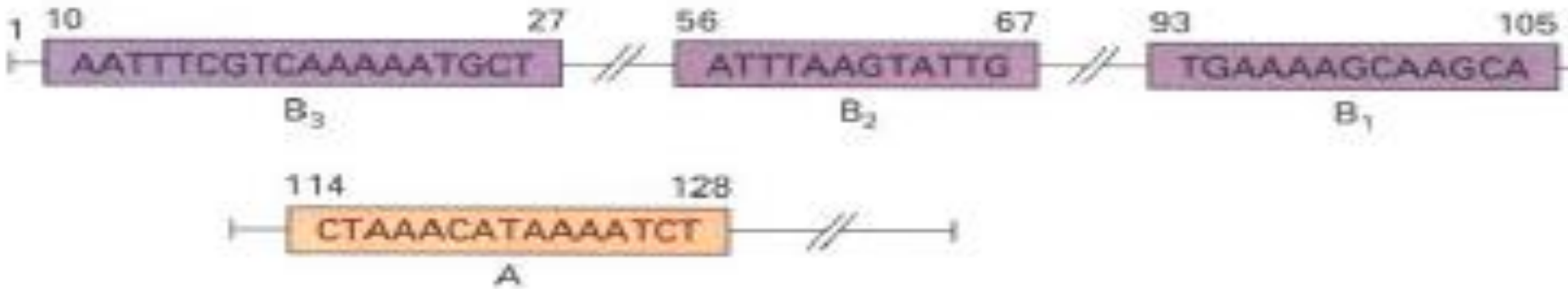


5'-GATCTNTTNTTT-3'  
3'-CTAGANAANAAA-5'

Consensus sequence

# ARS de levaduras

(a) Structure of ARS1

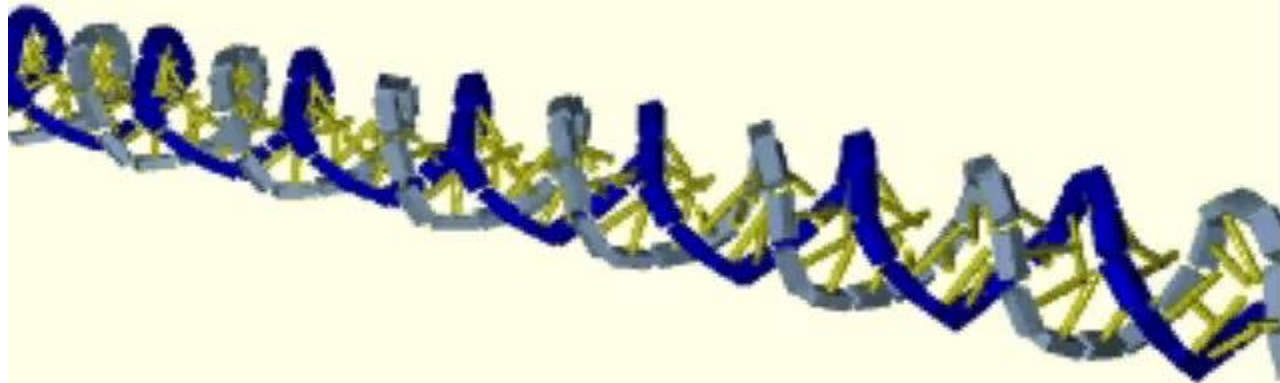


(b) ARS consensus sequence

A/T TTTATA/GTTTA/T  
T/A AAATAT/CAAAT/A

# Replicación de ADN

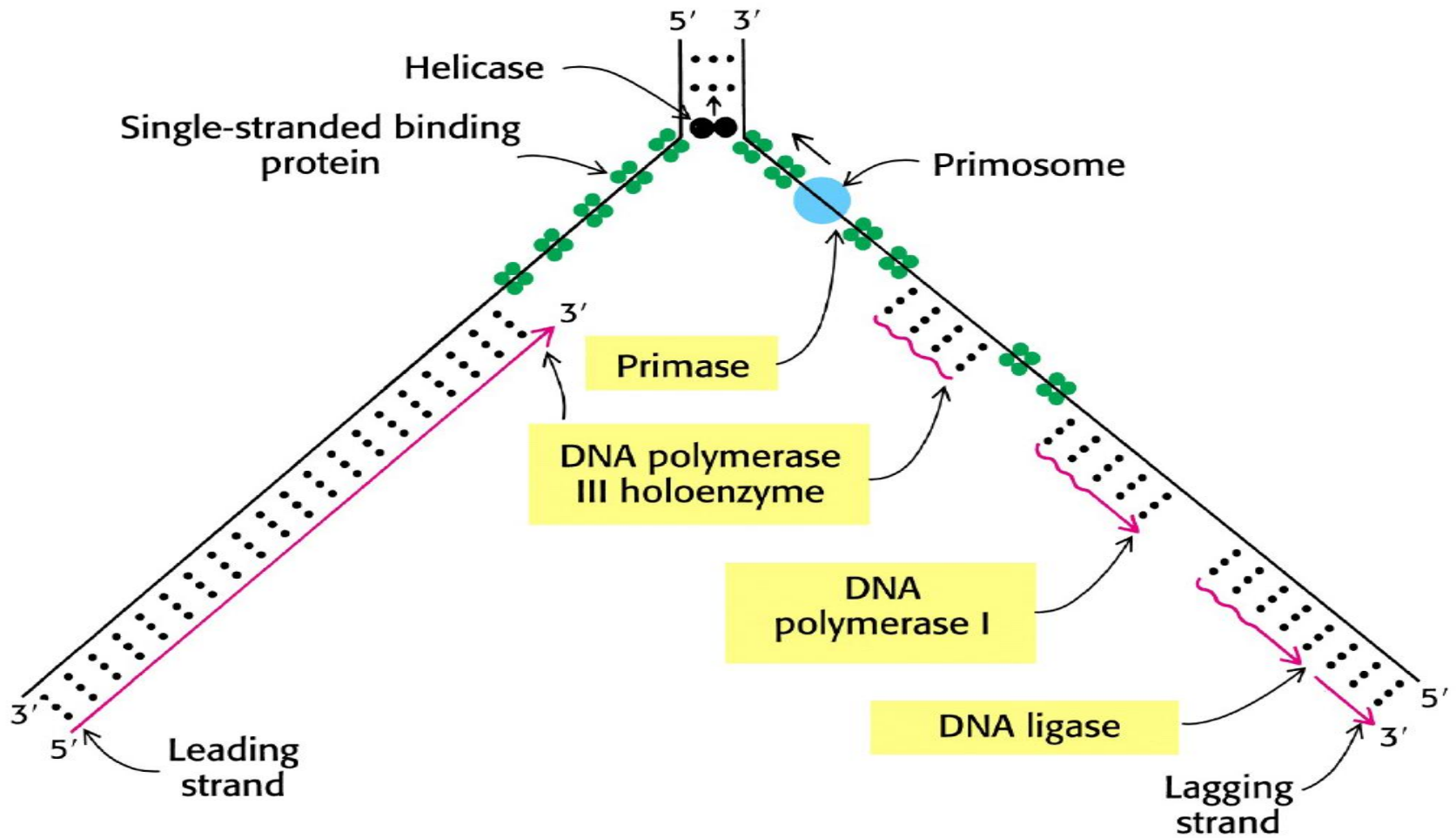
Replicación del ADN



# Replicación de DNA procariontes

- *DNA girasa* – Desenlaza los nudos o lazos en la cadena de DNA.
- *DNA helicasa* – separa las dos hebras.
- *SSBP* – Evita que se unan las hebras.
- *RNA primasa* – Sintetiza el “primer”.
- *DNA polimerasa III* – Sintetiza la nueva hebra.
- *DNA polimerasa I* – Elimina las bases mal apareadas (3' – 5' ) y elimina los “primers” (5' – 3' ).
- *DNA ligasa* – Une los terminales 3' OH con los 5' PO<sub>4</sub> de los *fragmentos de Okasaki* (fragmentos de DNA de la hebra discontinua)

# Moleculas participantes

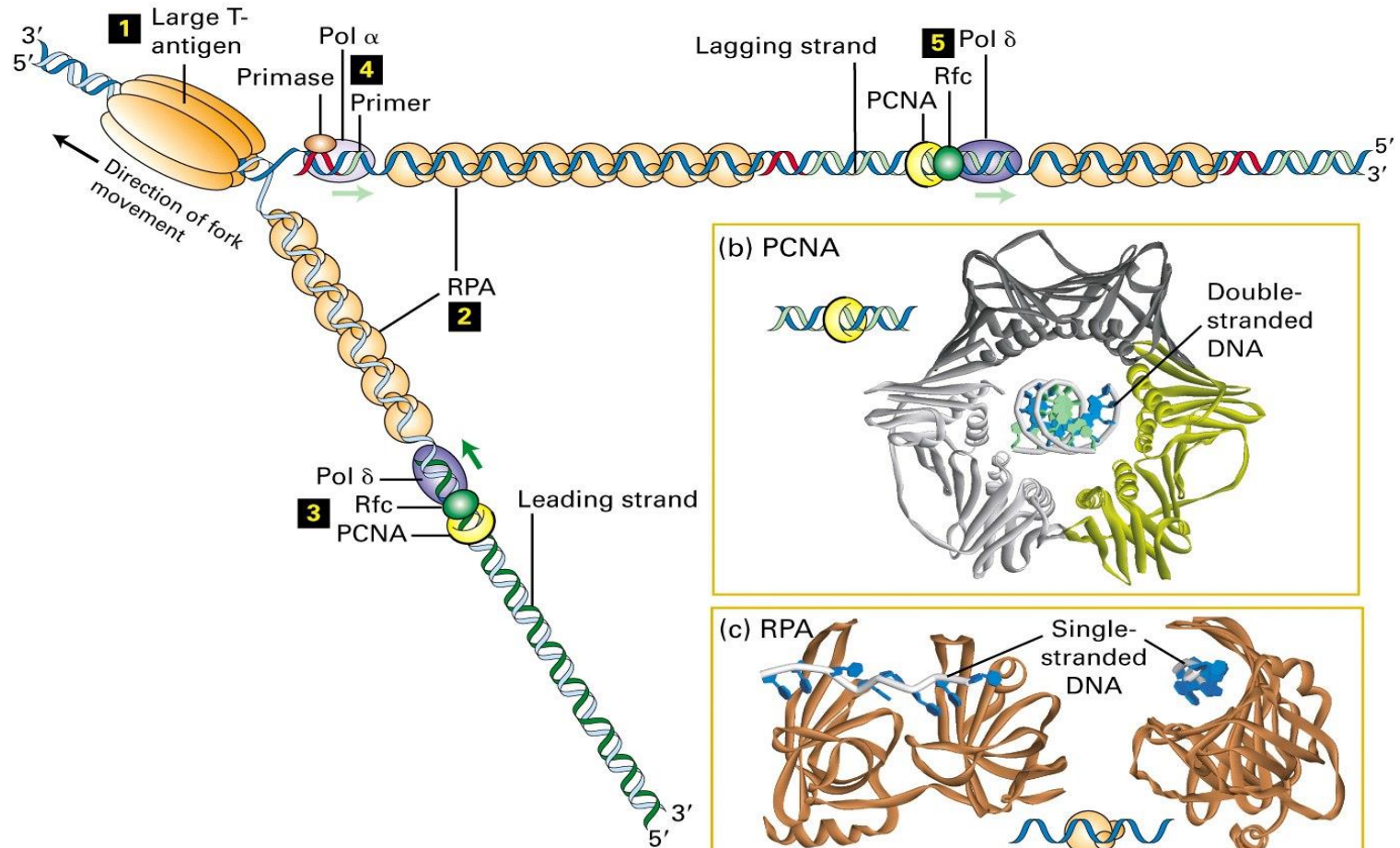




DNA girasa

# Orquilla de replicación

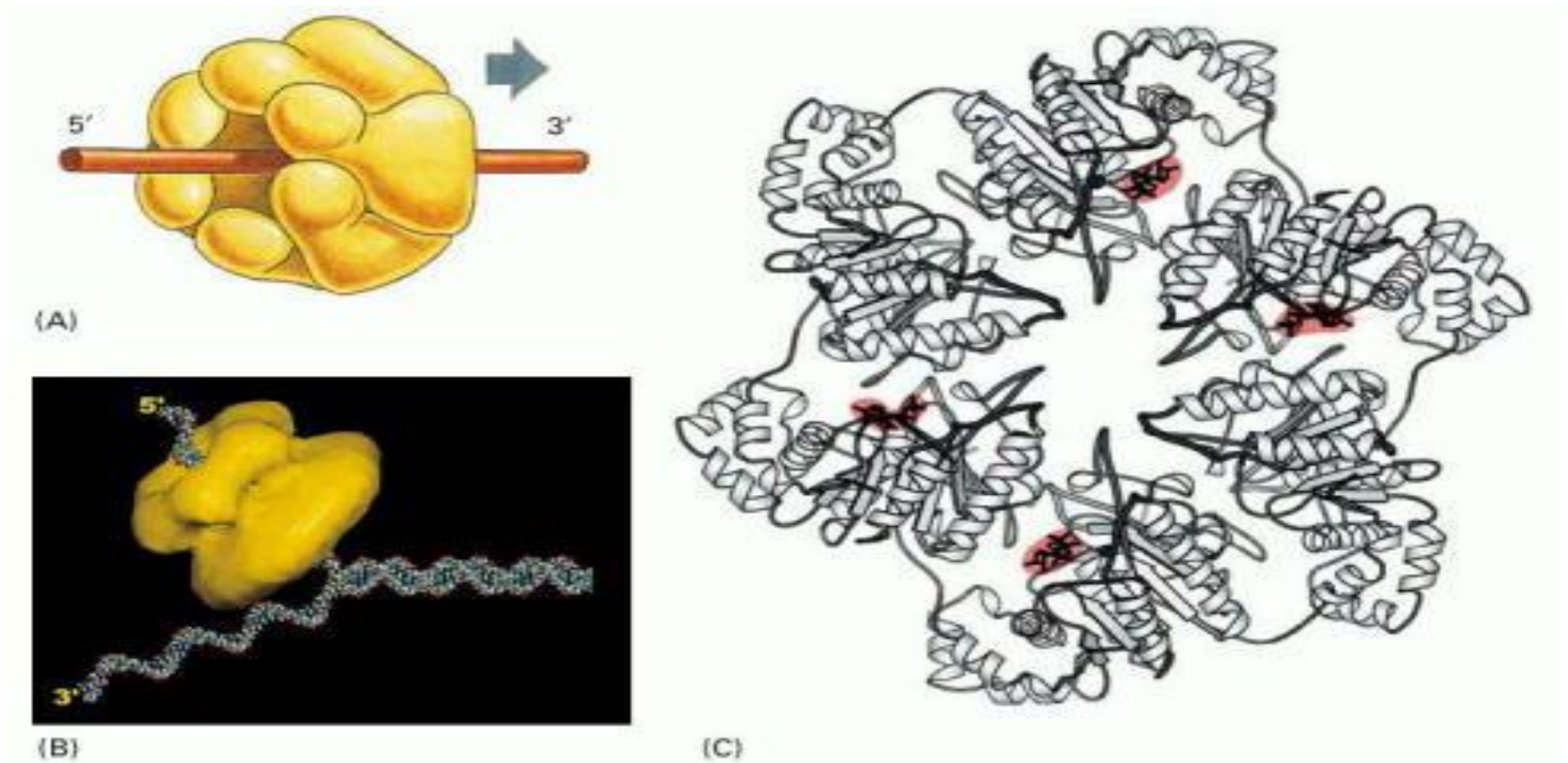
(a) SV40 DNA replication fork



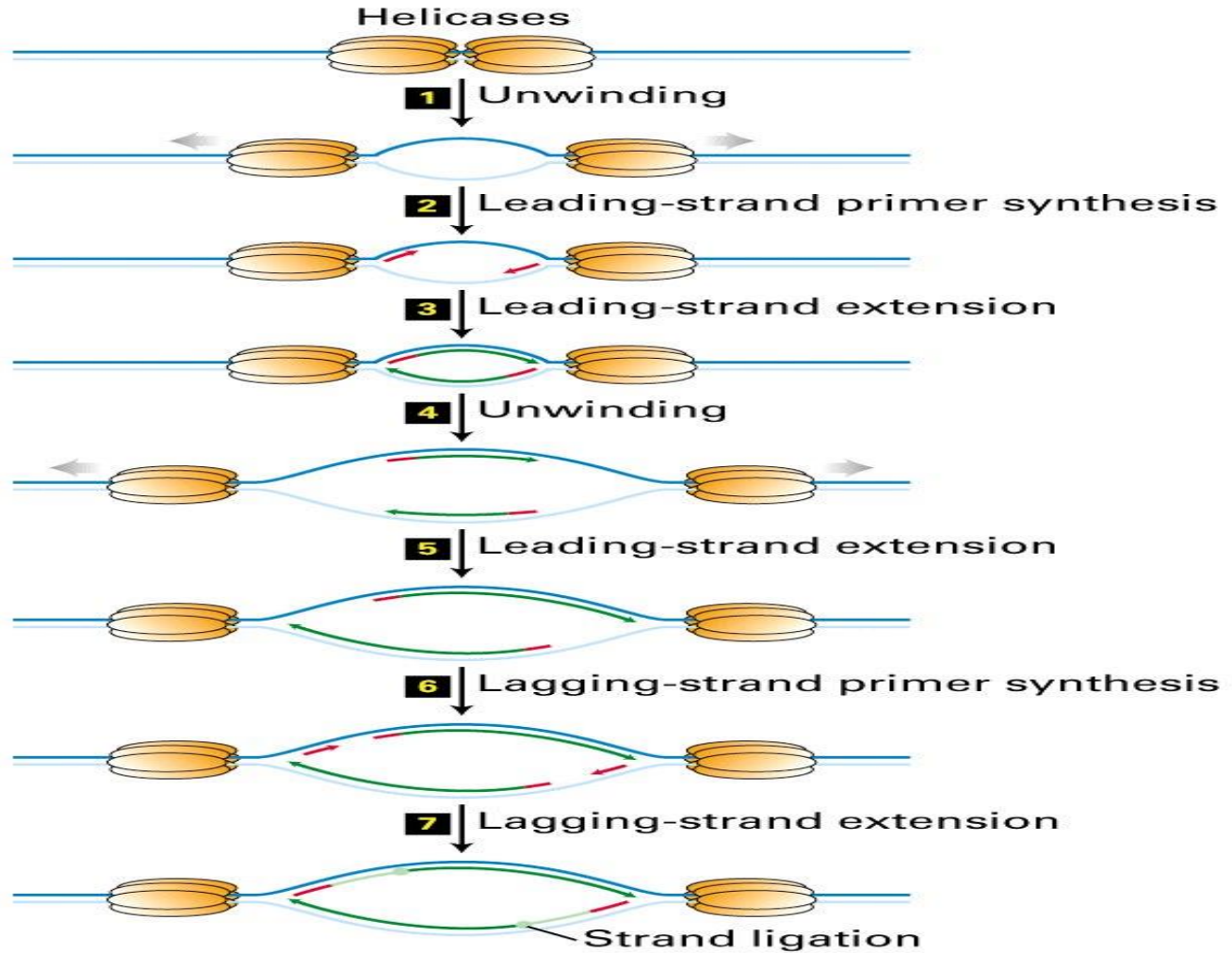
*DNA helicasa*

# Helicasas

**Helicasas o dnaB: Desenrollan la doble hélice.  
Consumen ATP**



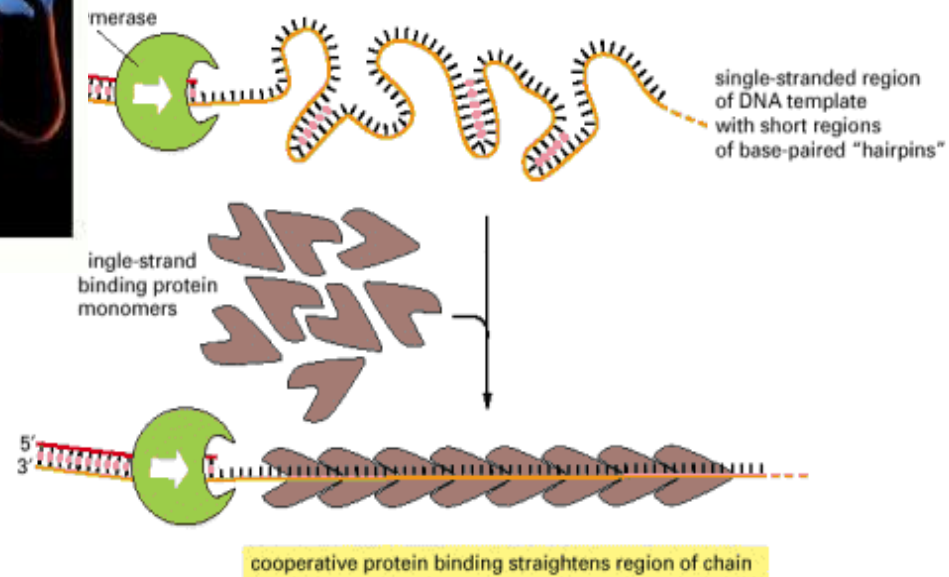
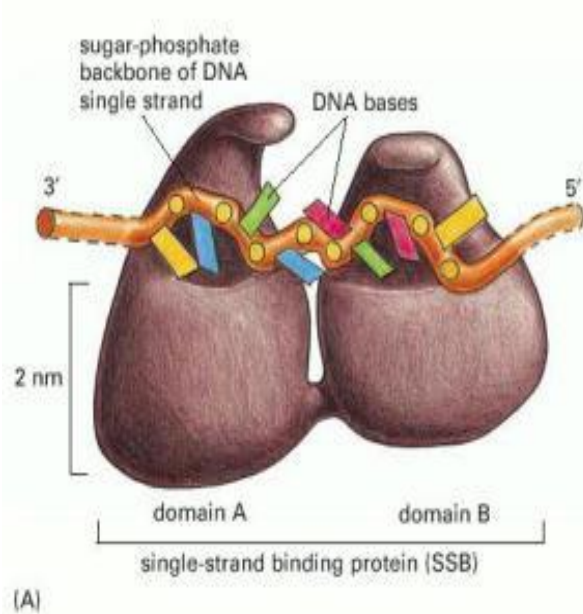
# Actividad Helicasa



*SSBP*

Single Strand Binding Protein

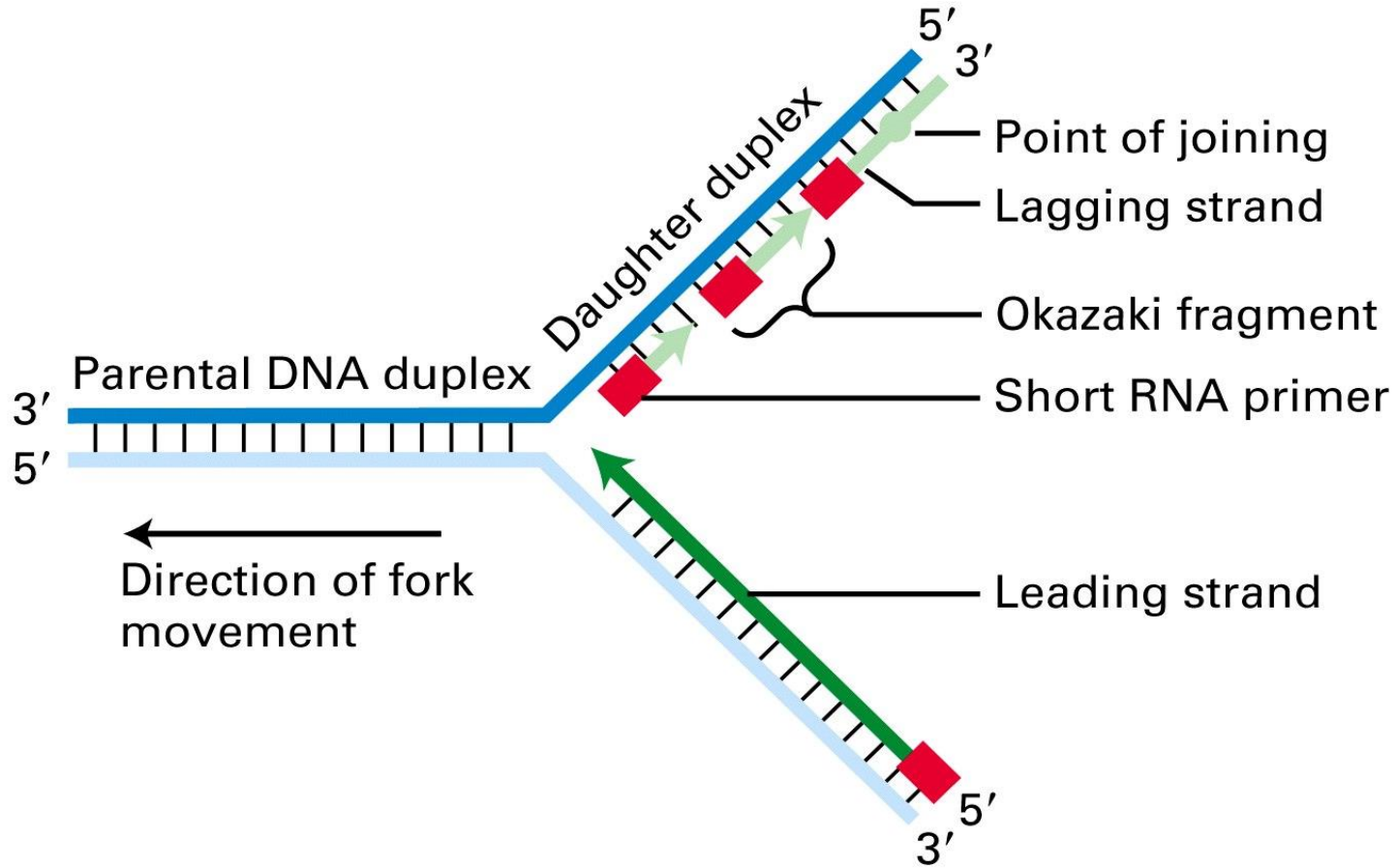
# Proteínas SSB



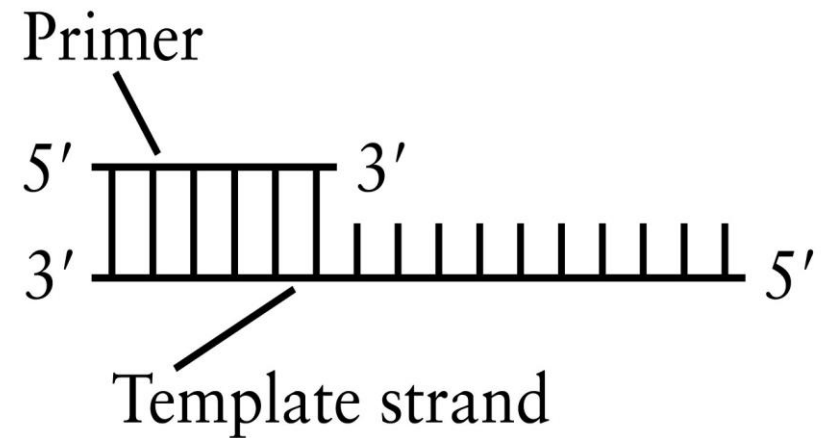
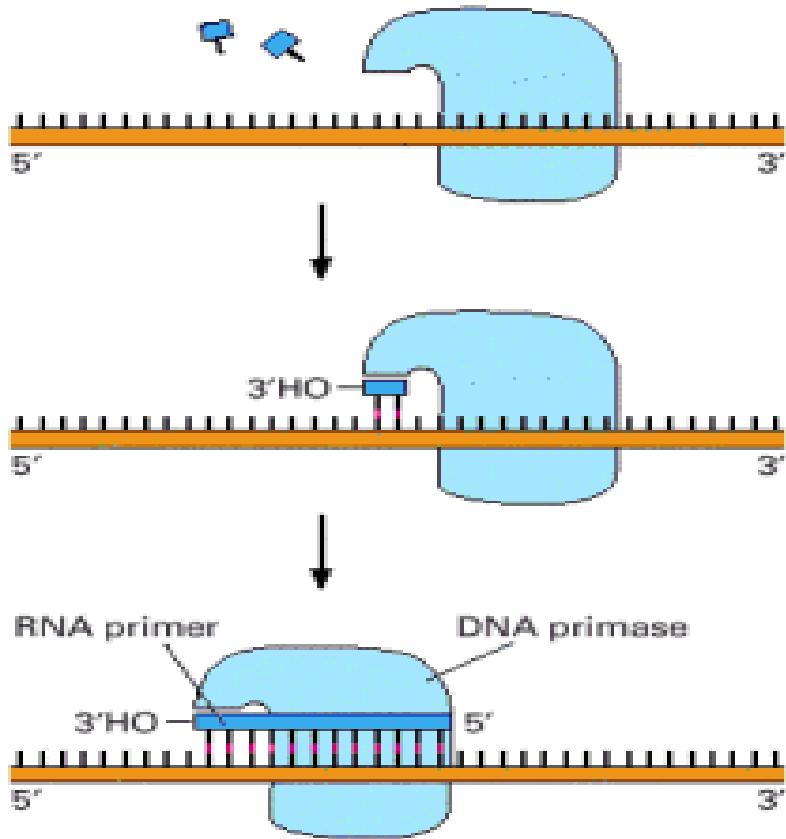
*RNA primasa*



# ARN primasa



# Primasas

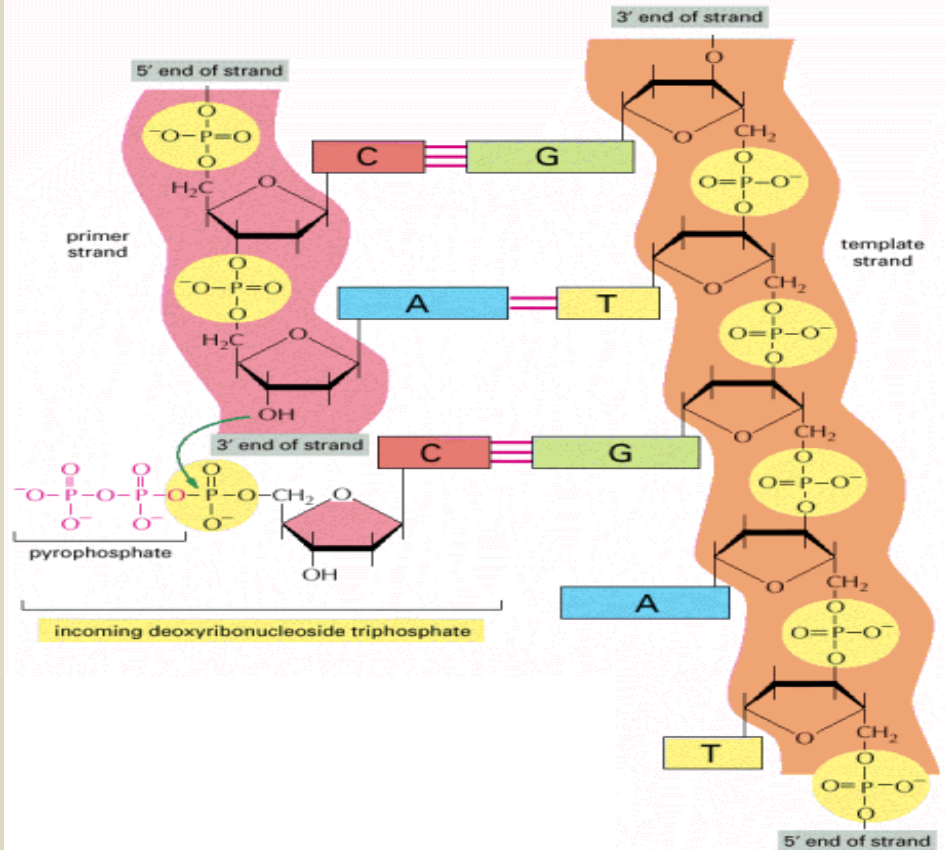


*ADN polimerasa*

# Polimerasa

Las ADN polimerasas requieren como sustrato la punta 3' hidroxilo libre de una base apareada para catalizar la unión de otro nucleótido.

El OH libre se une al 5'  $\alpha$ -fosfórico del deoxinucleósido 5' trifosfato, liberándose un pirofosfato inorgánico



# Polimerasas

## ADN Polimerasas

### Características Generales

#### 1-Sustratos

DNA monocatenario

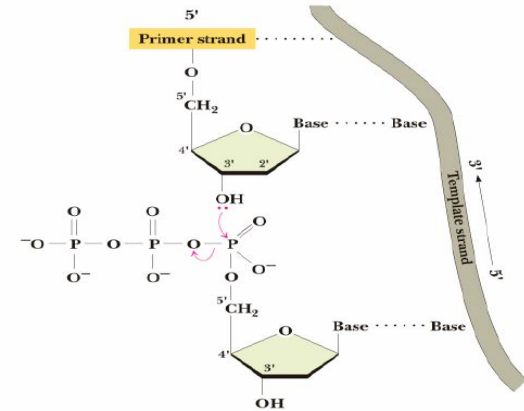
Desoxinucleotidos Trifosfatos (dNTP)

Extremo 3' -OH libre

2-Reacción: Formación de un enlace Fosfodiéster Cataliza el ataque nucleofílico de un extremo 3' -OH libre

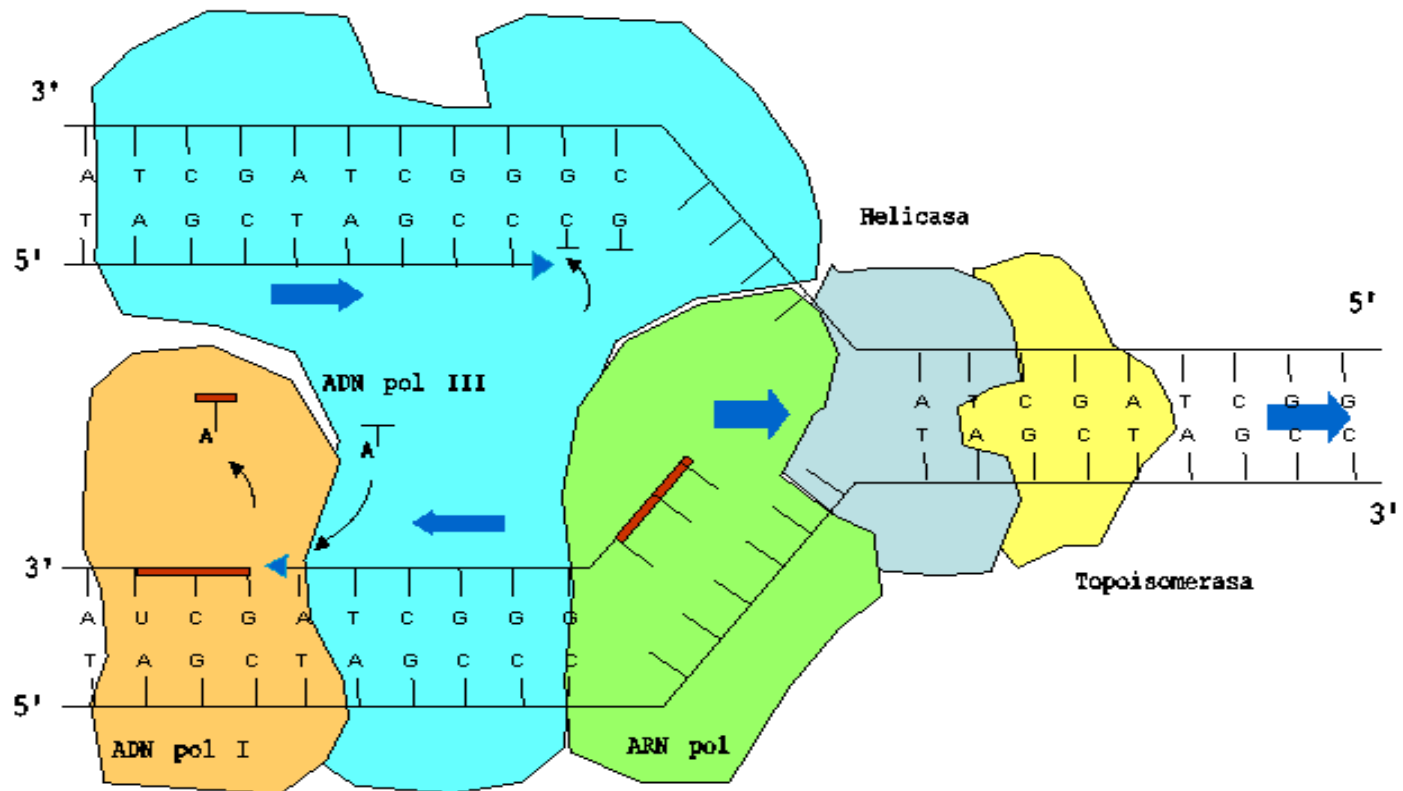
Sobre el fosfato alpha del dNTP Polimerización en sentido 5' ----3'

3- Procesativas o Progresivas (frente a dispersivas). Son capaces de catalizar multiples Ciclos. No abandonan el sustrato (DNA monocatenario) . Cataliza una serie de pasos sucesivos de polimerización sin liberar el molde



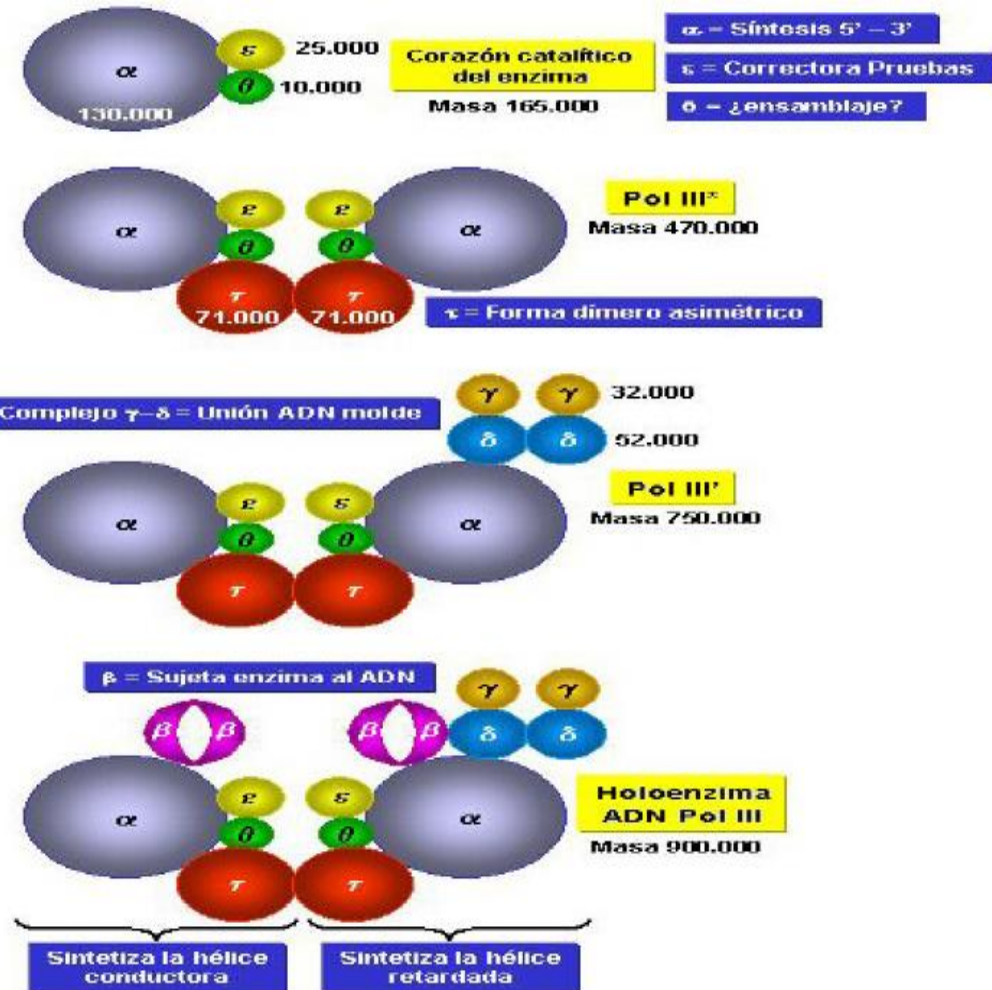
# Replisoma

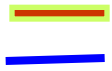
Replicación del ADN por parte de un replisoma.



# Pol III

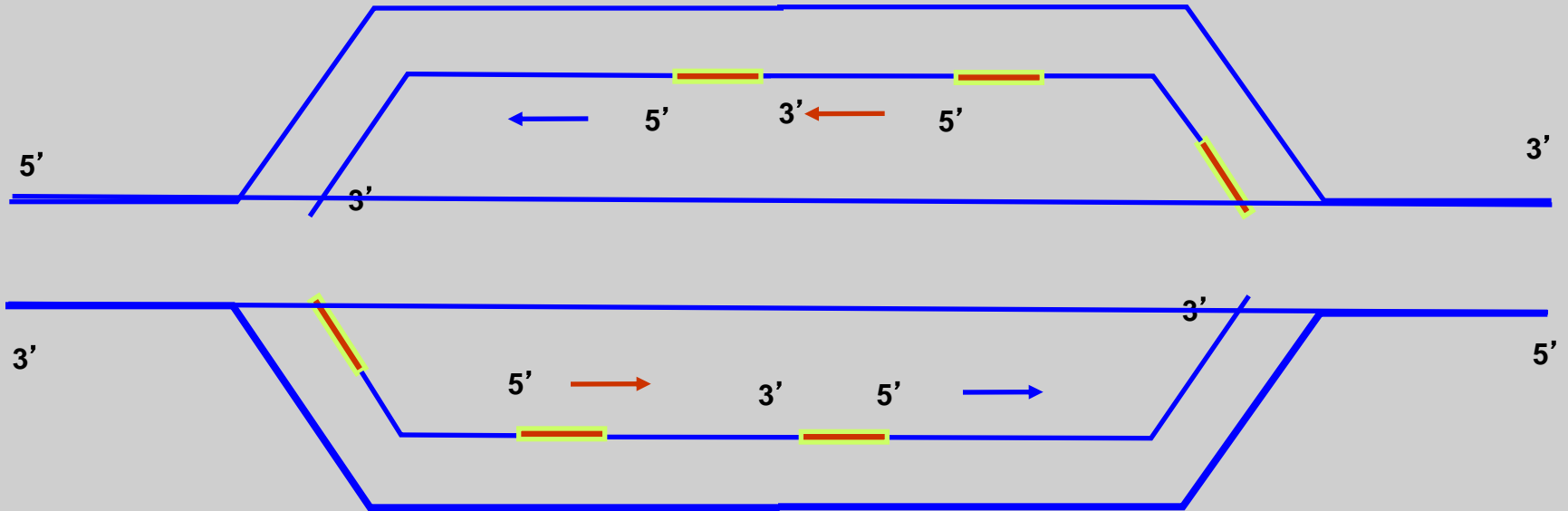
- \* Holoenzima formada por 10 tipos de cadenas polipeptídicas diferentes.
- \* Es un dímero asimétrico.
- \* El complejo tiene una masa de aproximadamente 900 kd.
- \* Puede copiar más de 4.5 millones de nucleótidos (4.5 megabases) sin separarse del DNA (1 kilobase/segundo).





primer  
ADN

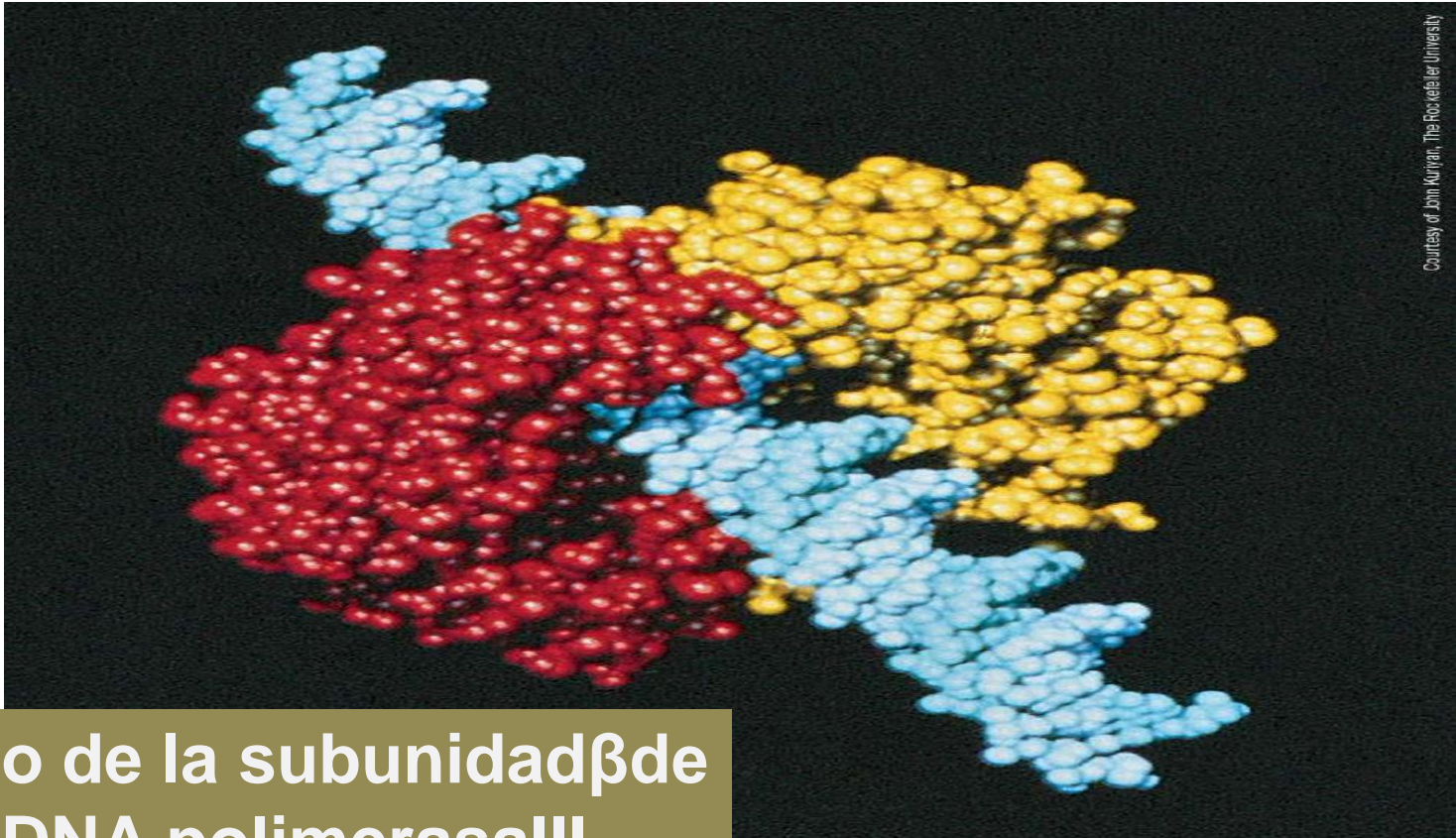
# Ojo de replicación



La replicación en un ojo de replicación



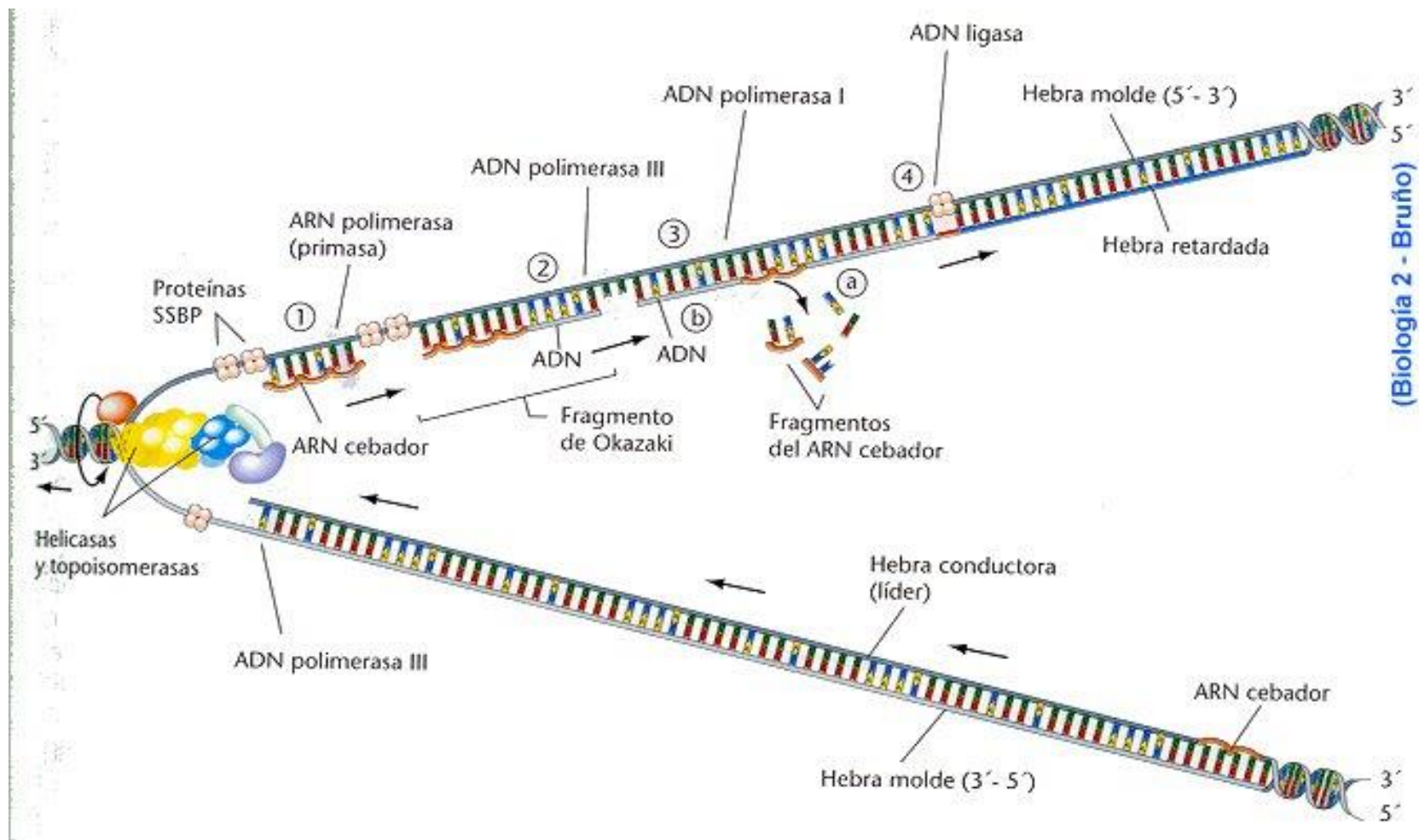
# Organizacion



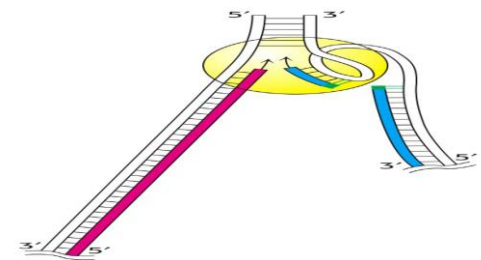
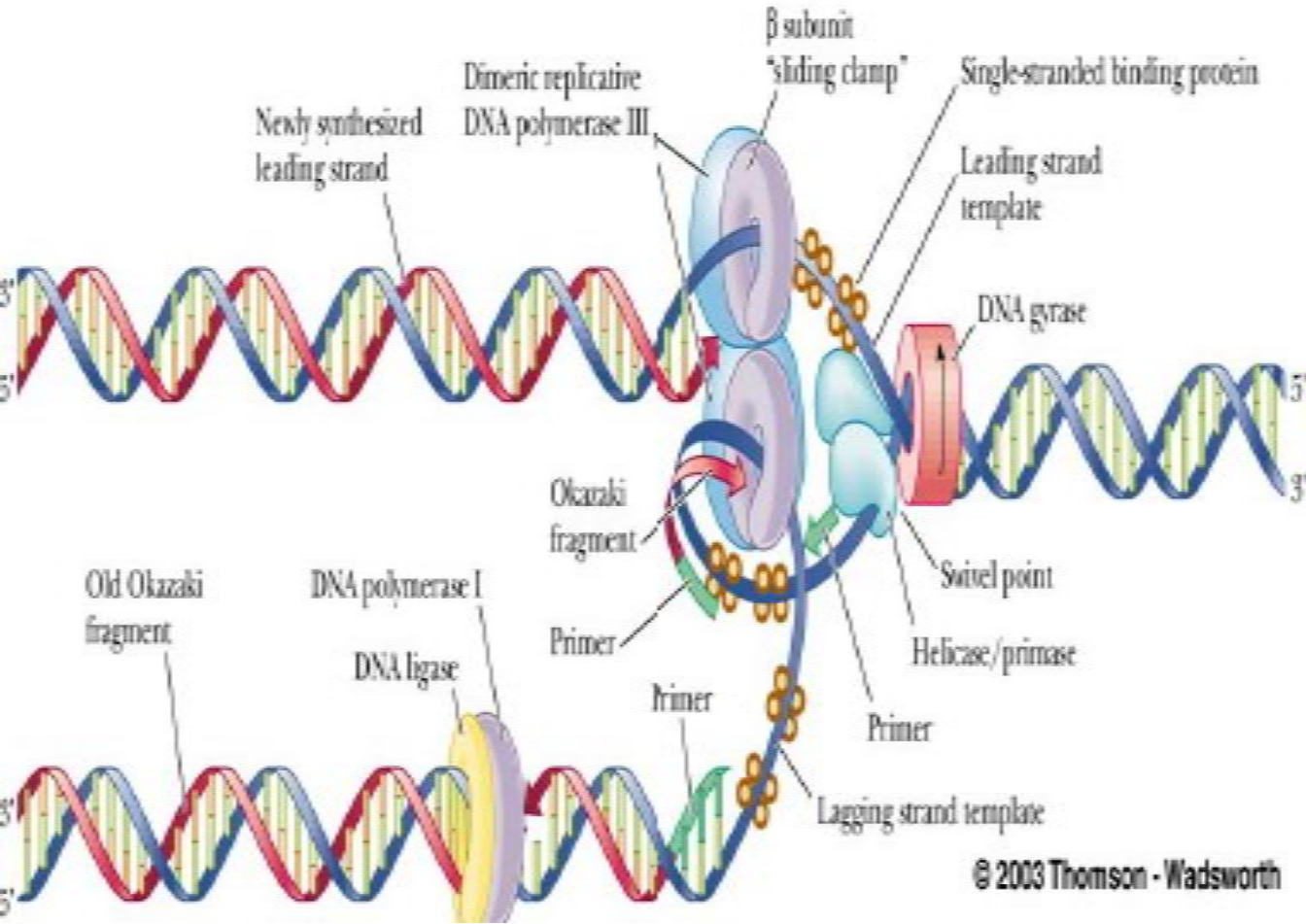
Courtesy of John Kurjan, The Rockefeller University

Modelo de la subunidad  $\beta$  de la DNA polimerasa III rodeando el DNA

# En resumen



# Dirección de la polimerización





# ADN Polimerasas

## Procariontes

## Eucariontes

Tres Polimerasa

Cinco polimerasas

I- Reparación

$\alpha$ - Inicia. Síntesis hebra retrasada

II- Mecanismos SOS

$\epsilon$ - Síntesis hebra continua

III- Polimerización principal

$\delta$ - Principal. Síntesis de la hebra continua y retardada.

$\beta$ - Reparación

$\Upsilon$  – Replicación ADN Mitocondrial

Con actividad exonucleasa

Sin actividad exonucleasa

Un solo sitio de origen

Varios sitios de origen

Fragmentos okazaki 1000 a 2000

Fragmentos okazaky 150 a 200

Histonas

No hay histonas

# Capacidad de corrección

ADN polimerasa III

Tienen Actividad Autocorrectora

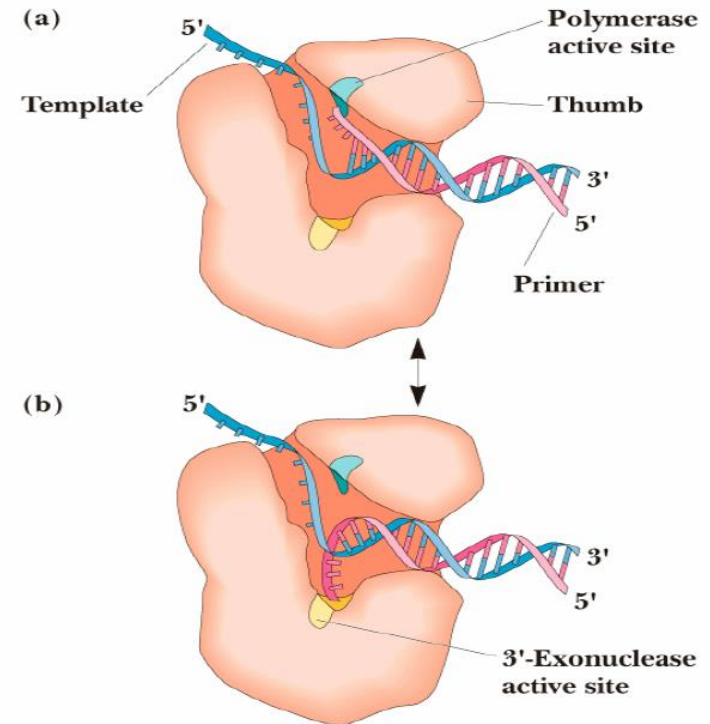
La tasa de error determinada exclusivamente por el apareamiento entre bases es alta, 1 error /1000 Nucleótidos.

La tasa de error neta de la DNA polimerasa de *E. coli* es de  $10^{-7}$ .

Autocorrección

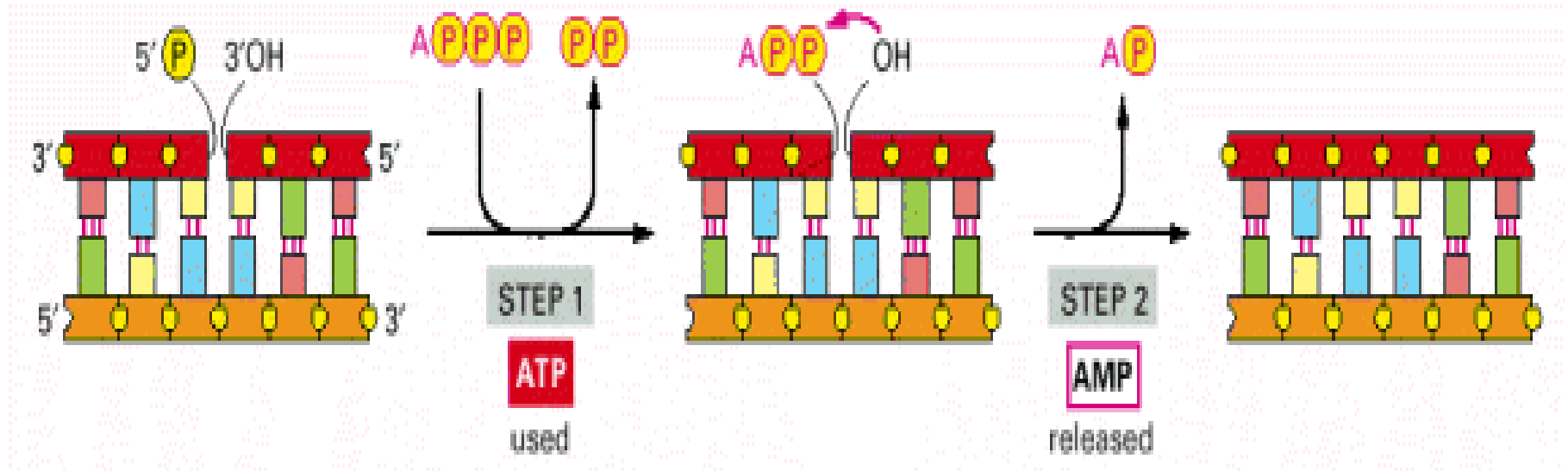
Actividad Exonucleasa 3' -5'

Algunas DNA polimerasas también tienen actividad Exonucleasa 5' --3'.



**Necesitan un Cebador para polimerizar. No son capaces de iniciar la síntesis de DNA**

# Ligasas



La ligasa acopla la hidrólisis de un ATP para hacer más favorable la reacción de unión entre el fosfato y el hidroxilo libre, liberando al final un AMP.

# Eucariontes

❖ Semiconservativa, bidireccional pero en muchos puntos

❖ ADN polimerasas

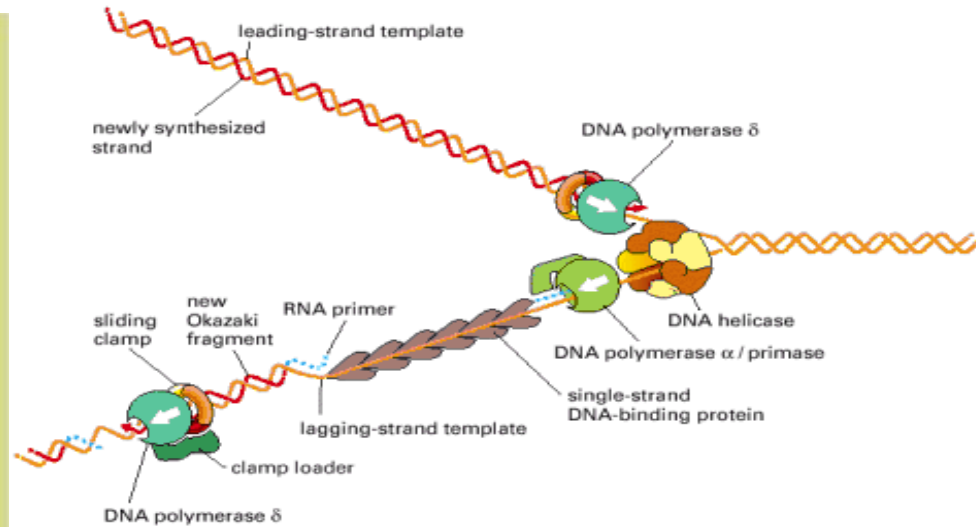
$\alpha$  hebra retrasada

$\delta$  hebra lider                      replicación

$\beta$

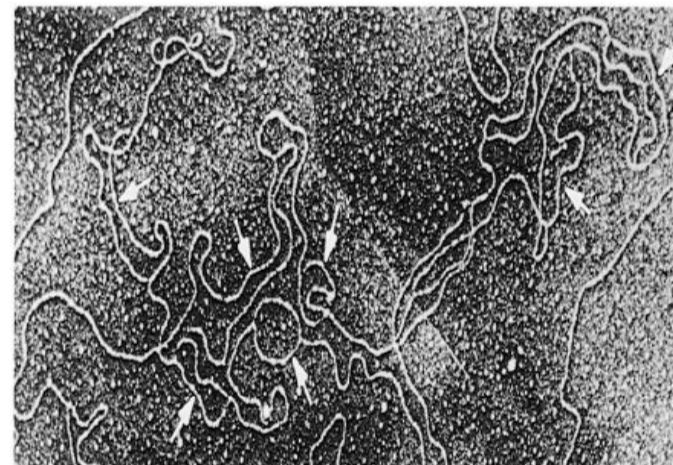
$\epsilon$                                       reparan

$\gamma$  ADN mitocondrial



❖ Problemas con los telómeros por ser lineal ( no extremos 3' libres). Telomerasas en células cancerosas y células madres de gametos ( Ribonucleoproteínas)

❖ Deben replicarse las Histonas ( nucleosomas nuevos se incorporan a la hebra retardada).



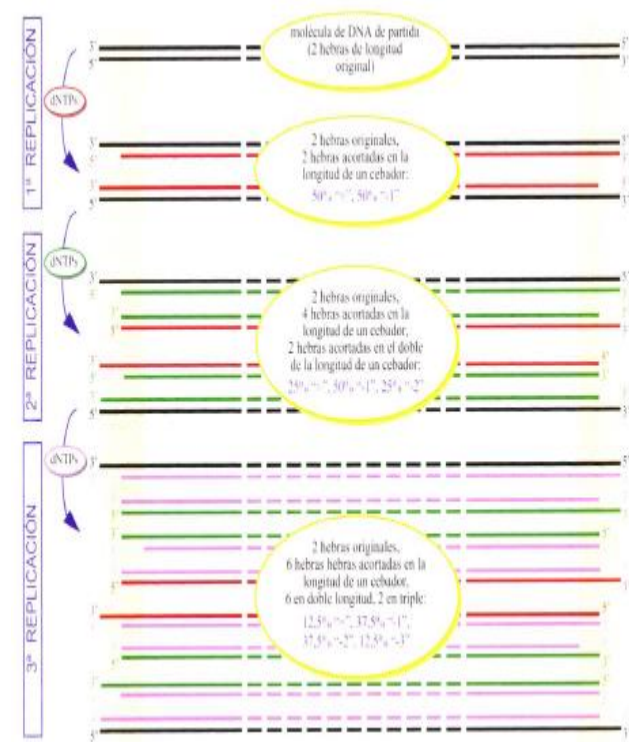


# Telómeros

\* Los telómeros son secuencias cortas de 5-8 pb, ricas en G, repetidas en tandem, localizadas al final de los extremos de los cromosomas lineales de la mayoría de los eucariotas. Son secuencias no codificantes

\* La DNA polimerasa no puede replicar los extremos 5' puesto que necesitan un cebador sobre el que iniciar la replicación.

\* Por tanto, los extremos 5' de los cromosomas se verían acortados en cada ciclo de replicación.



# Replicación de telomeros

- \* La telomerasa es una Ribonucleoproteína con actividad DNA polimerasa.
- \* El componente RNA actúa como molde para la síntesis de las secuencias teloméricas de DNA que extienden el extremo 3' de la hebra molde.
- \* Finalmente esta secuencia extendida es copiada por el mecanismos convencional y posteriormente eliminada.

