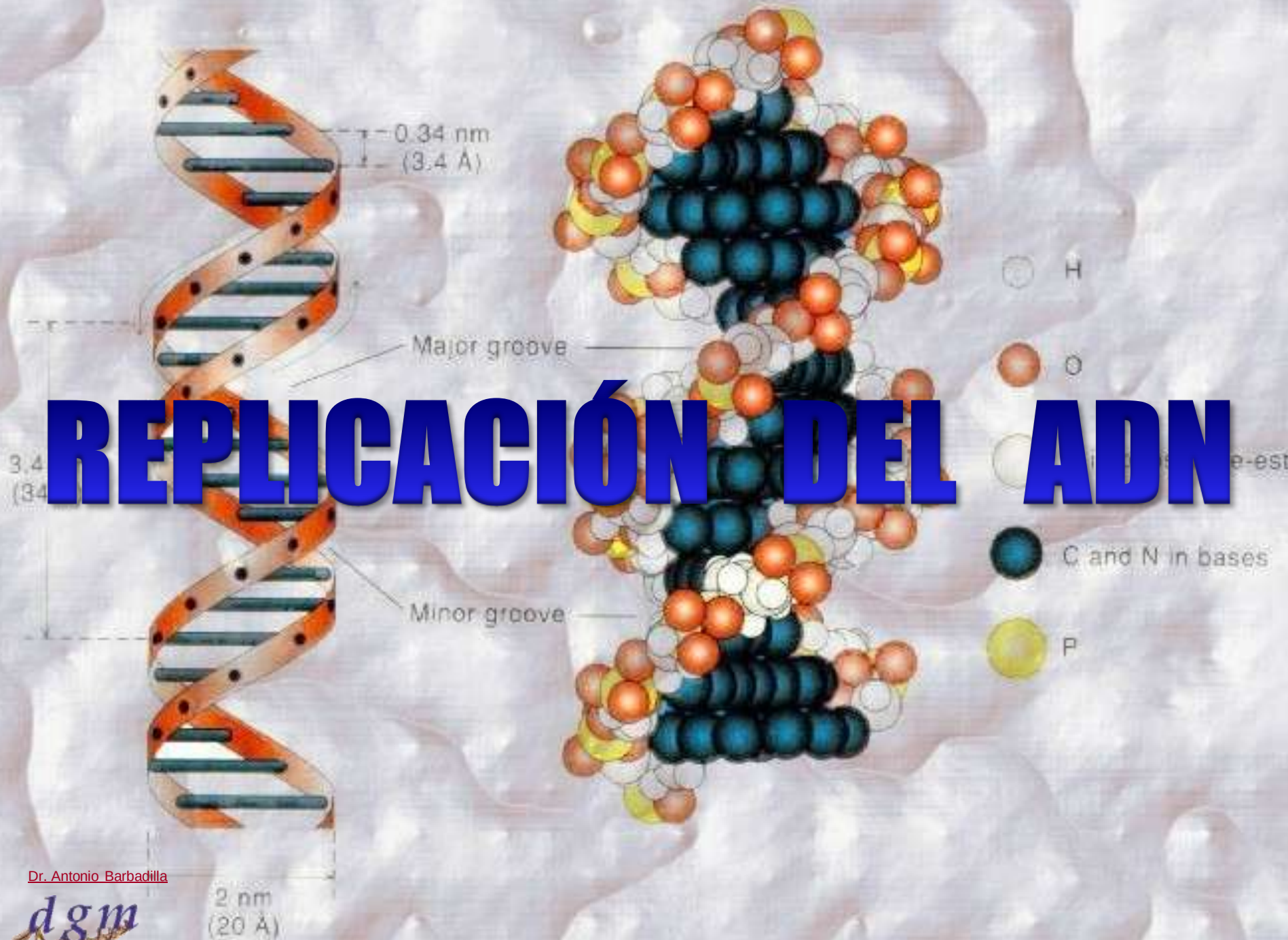
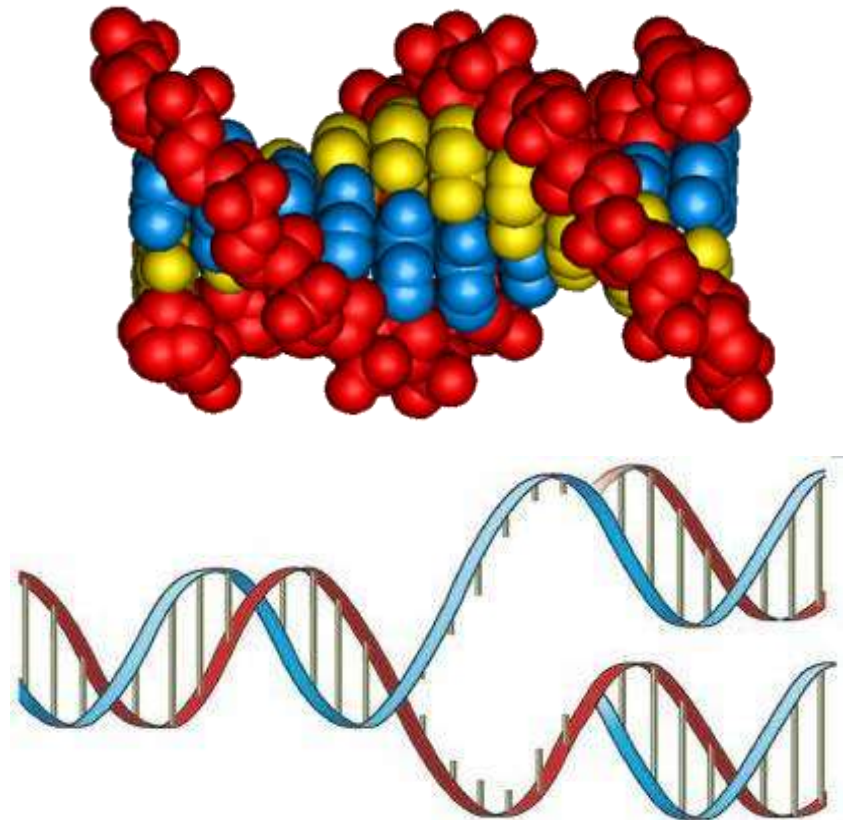
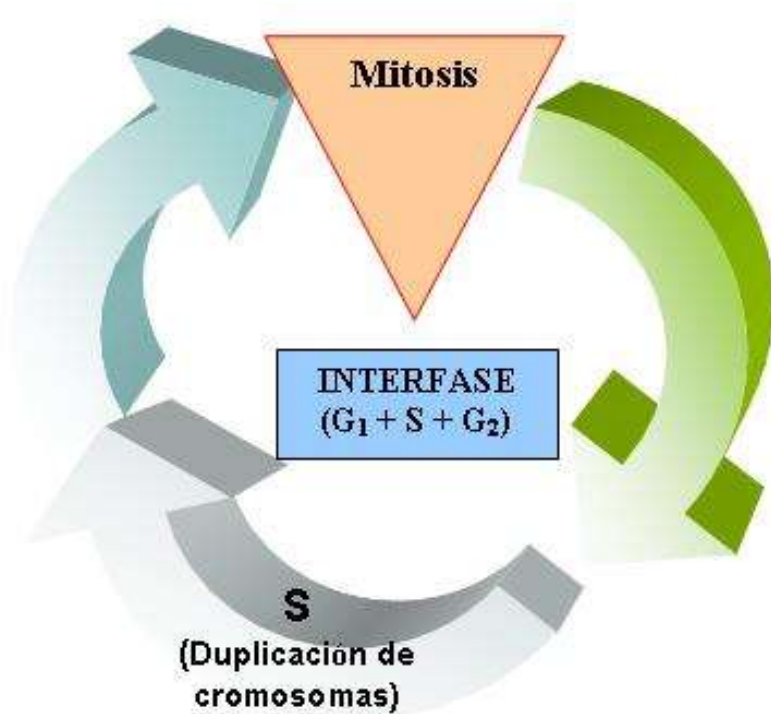




REPLICACIÓN DEL ADN

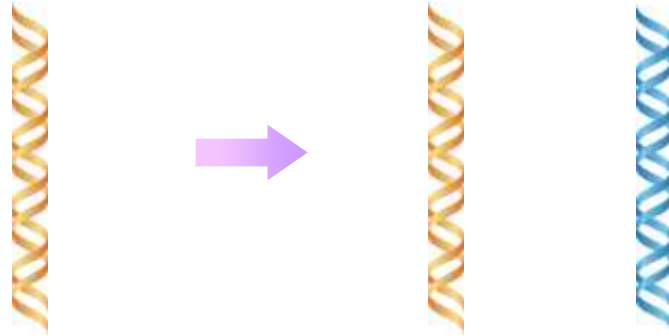
La replicación del ADN es el proceso según el cual una molécula de ADN de doble hélice da lugar a otras dos moléculas de ADN con la misma secuencia de bases.

La replicación se produce durante la interfase en el llamado **periodo S** o de síntesis de ADN. En él, la doble hélice se abre en diversos puntos llamados **ojos de replicación**, es en ellos donde se produce la síntesis del ADN. Simultáneamente se transcriben los genes necesarios.

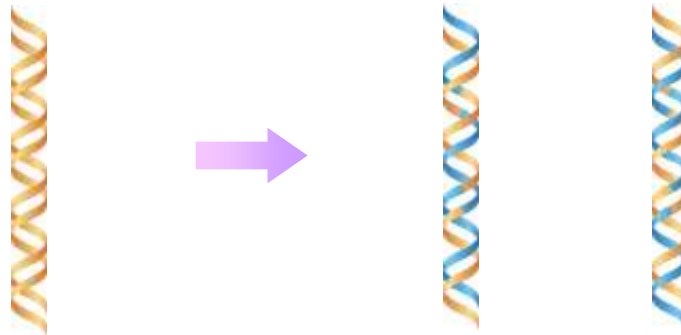


HIPÓTESIS SOBRE LA DUPLICACIÓN DEL ADN

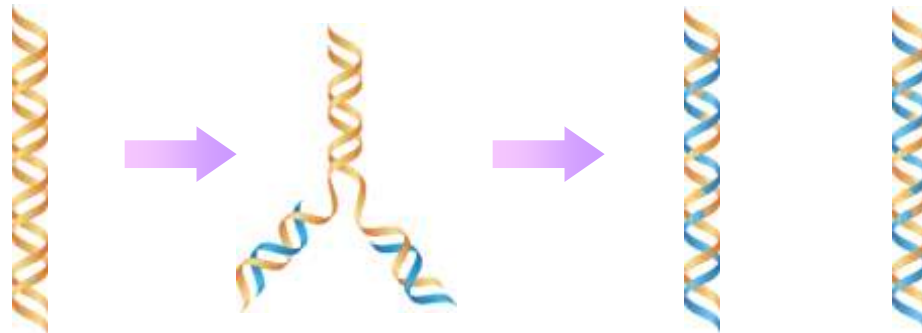
CONSERVATIVA



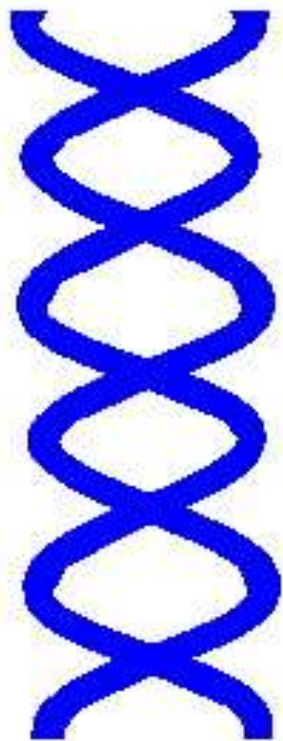
DISPERSIVA



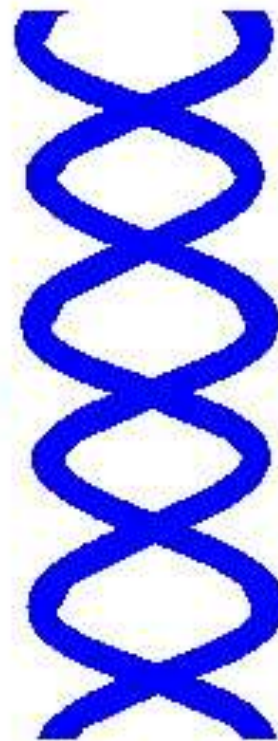
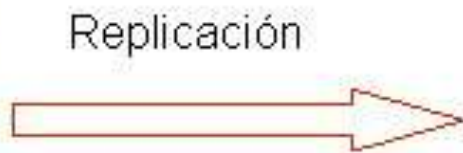
SEMICONSERVATIVA



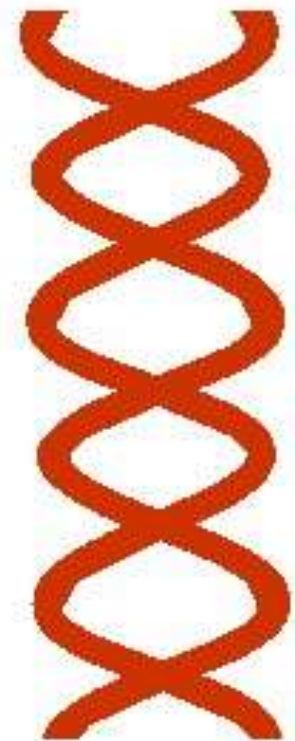
REPLICACIÓN CONSERVATIVA DEL ADN



ADN original

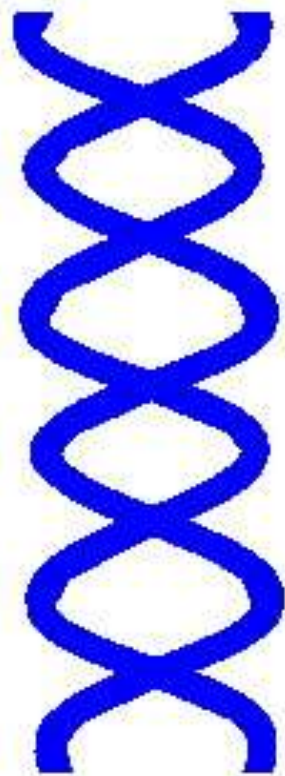


ADN original



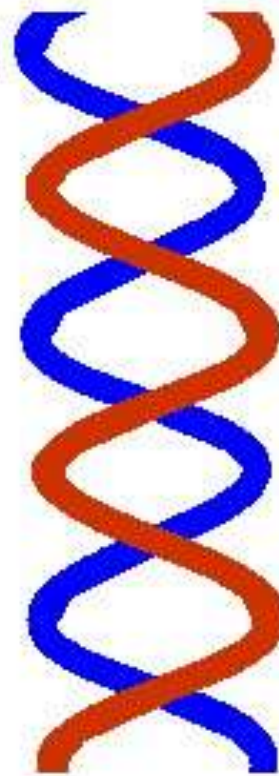
ADN copia

REPLICACIÓN SEMICONSERVATIVA DEL ADN

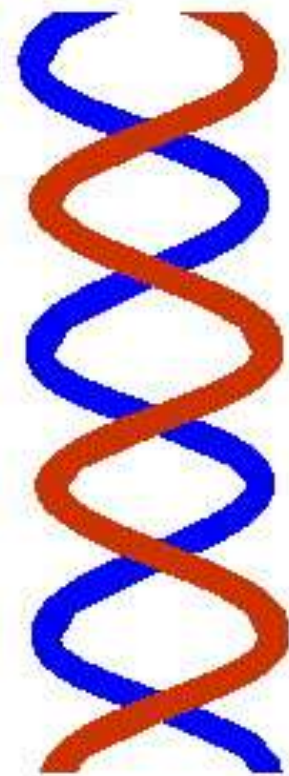


ADN original

Replicación

A horizontal arrow pointing from the original DNA molecule to the replicated molecules. The arrow is light brown with a black outline.

**ADN copia
y original**



**ADN original
y copia**

EXPERIENCIAS DE MESELSON Y STAHL

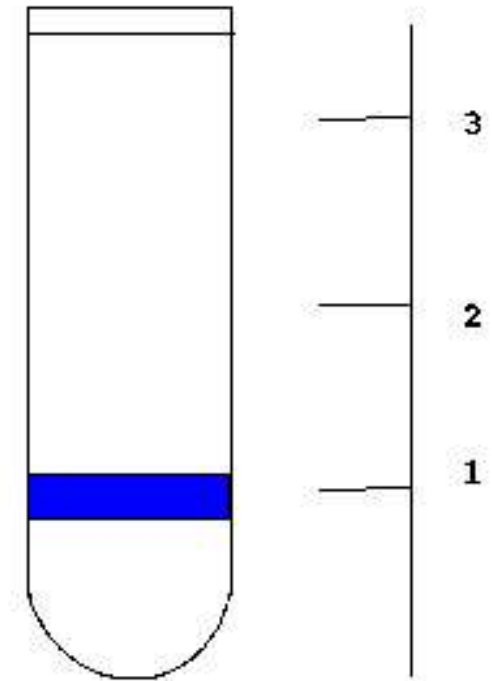
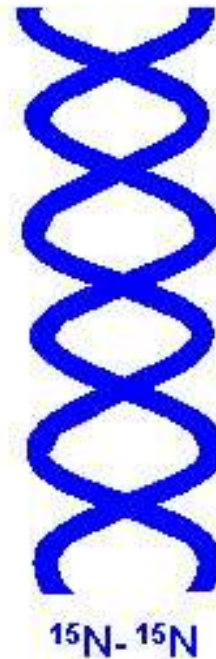


Mathew Meselson



Frank Stahl

1) Meselson y Stahl cultivaron bacterias **E. coli** en un medio con ^{15}N (nitrógeno pesado) durante cierto tiempo para que todo el ADN estuviese formado por dos hebras de ^{15}N (^{15}N - ^{15}N) más pesadas. Si se centrifuga, este ADN más pesado migra hacia el fondo del tubo y se obtiene el resultado que se observa en la figura.



EXPERIENCIAS DE MESELSON Y STAHL

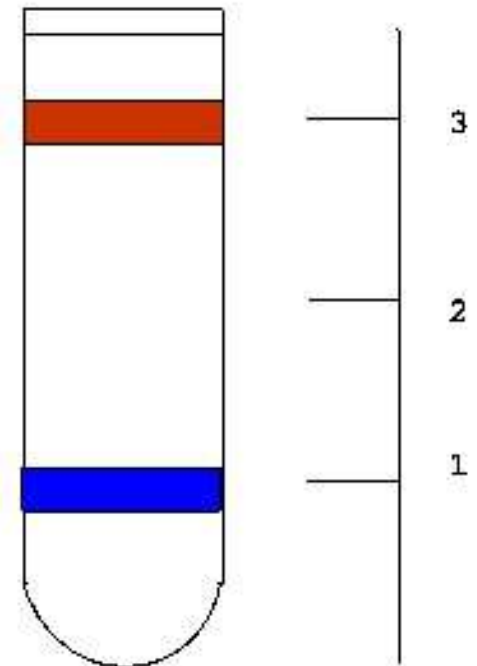
2) A continuación se cultivan las bacterias en nitrógeno 14 (^{14}N) más ligero durante 30 minutos, lo que dura un ciclo de replicación. Si la hipótesis de la síntesis **conservativa** fuese la correcta se debería obtener lo que se observa en la figura, una banda de ADN pesado ^{15}N - ^{15}N y otra con ADN ligero (^{14}N - ^{14}N) pero...



^{15}N - ^{15}N



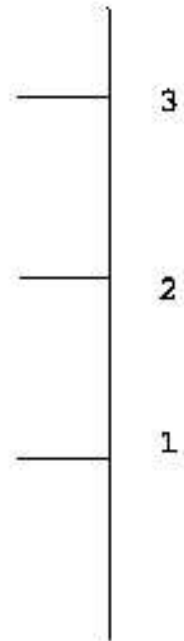
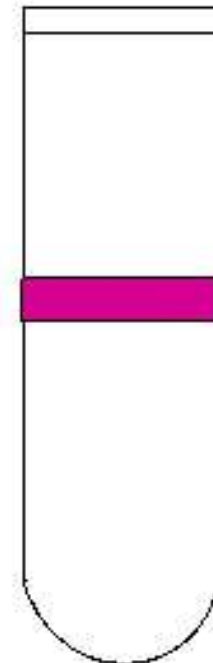
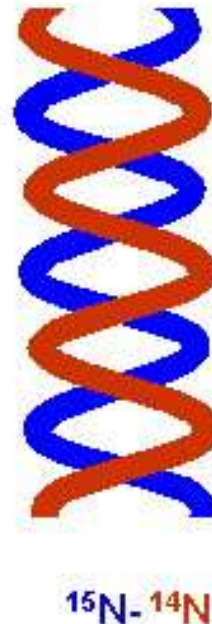
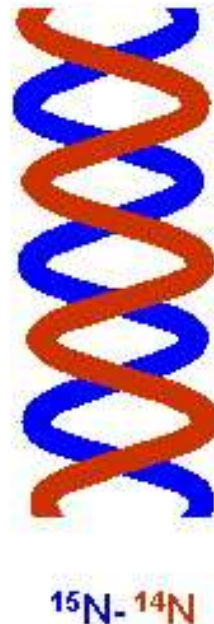
^{14}N - ^{14}N



EXPERIENCIAS DE MESELSON Y STAHL

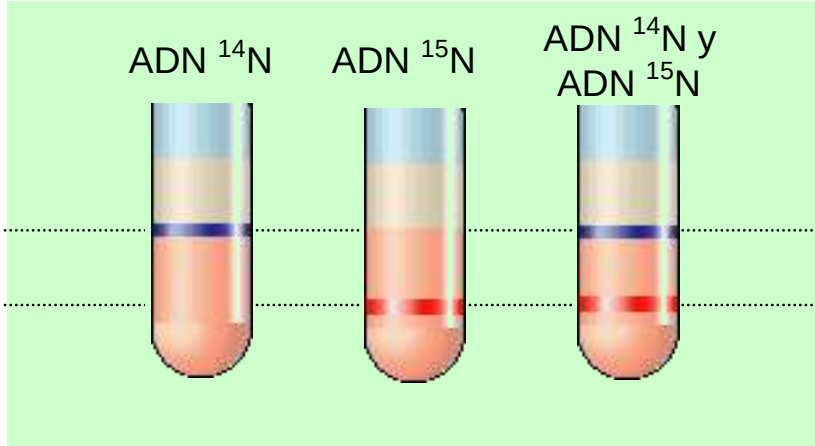
3) ... lo que se obtiene en realidad es lo que se observa en la figura: una sola banda en posición intermedia pues está formada por ADN mixto (^{15}N - ^{14}N). Esto es, todas las células hijas tienen un ADN con una hebra con ^{15}N y otra con ^{14}N .

La hipótesis **semi-conservativa** era la correcta.

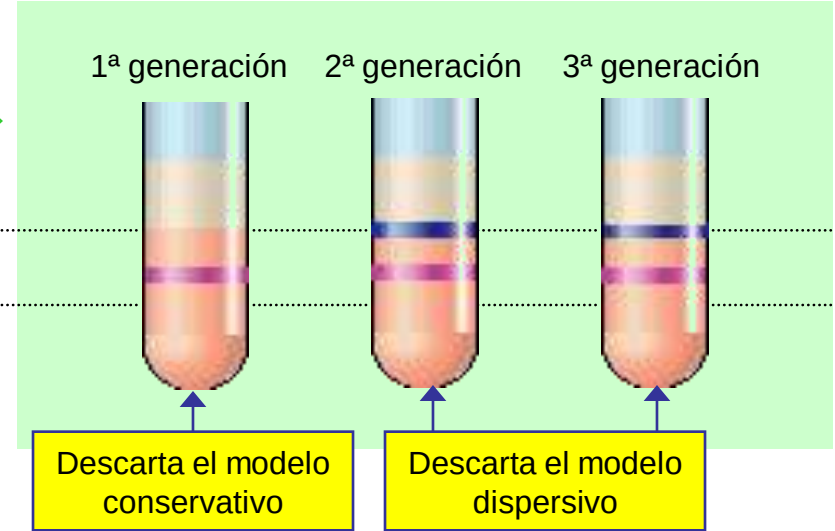


EXPERIENCIAS DE MESELSON Y STAHL

CONTROL (Centrifugación del ADN conocido)



RESULTADOS DEL EXPERIMENTO



INTERPRETACIÓN DEL EXPERIMENTO



Cultivo con ^{14}N

1ª generación



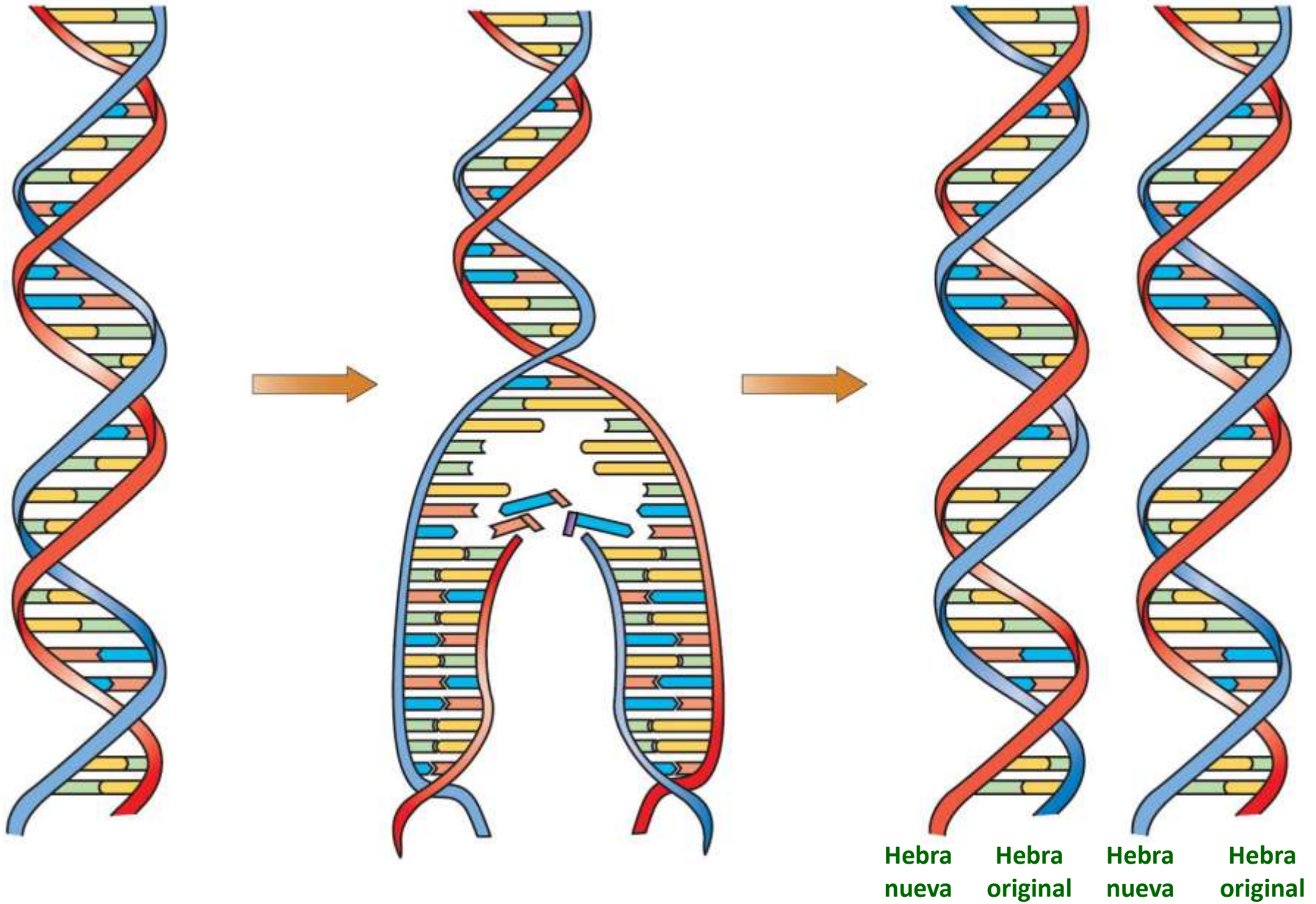
2ª generación



3ª generación

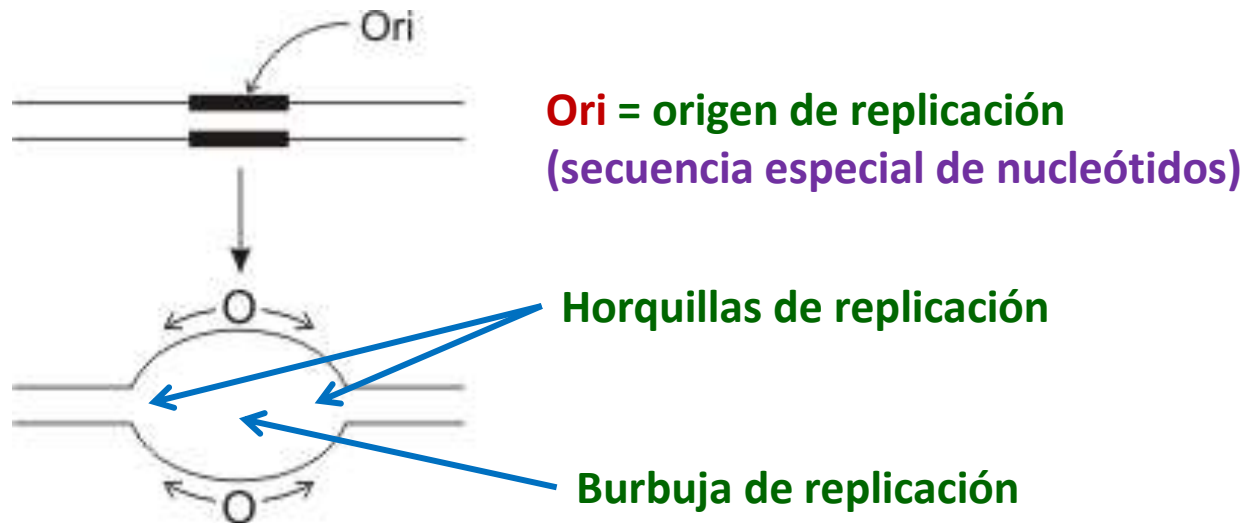


LA REPLICACIÓN DEL ADN ES SEMICONSERVATIVA



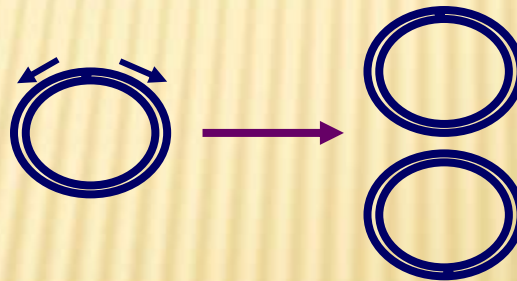
REPLICACIÓN DEL ADN

La **ADN-polimerasa** une nucleótidos sólo en sentido **5' - 3'**. Por ello, las hebras del nuevo ADN son **complementarias** y **antiparalelas**.

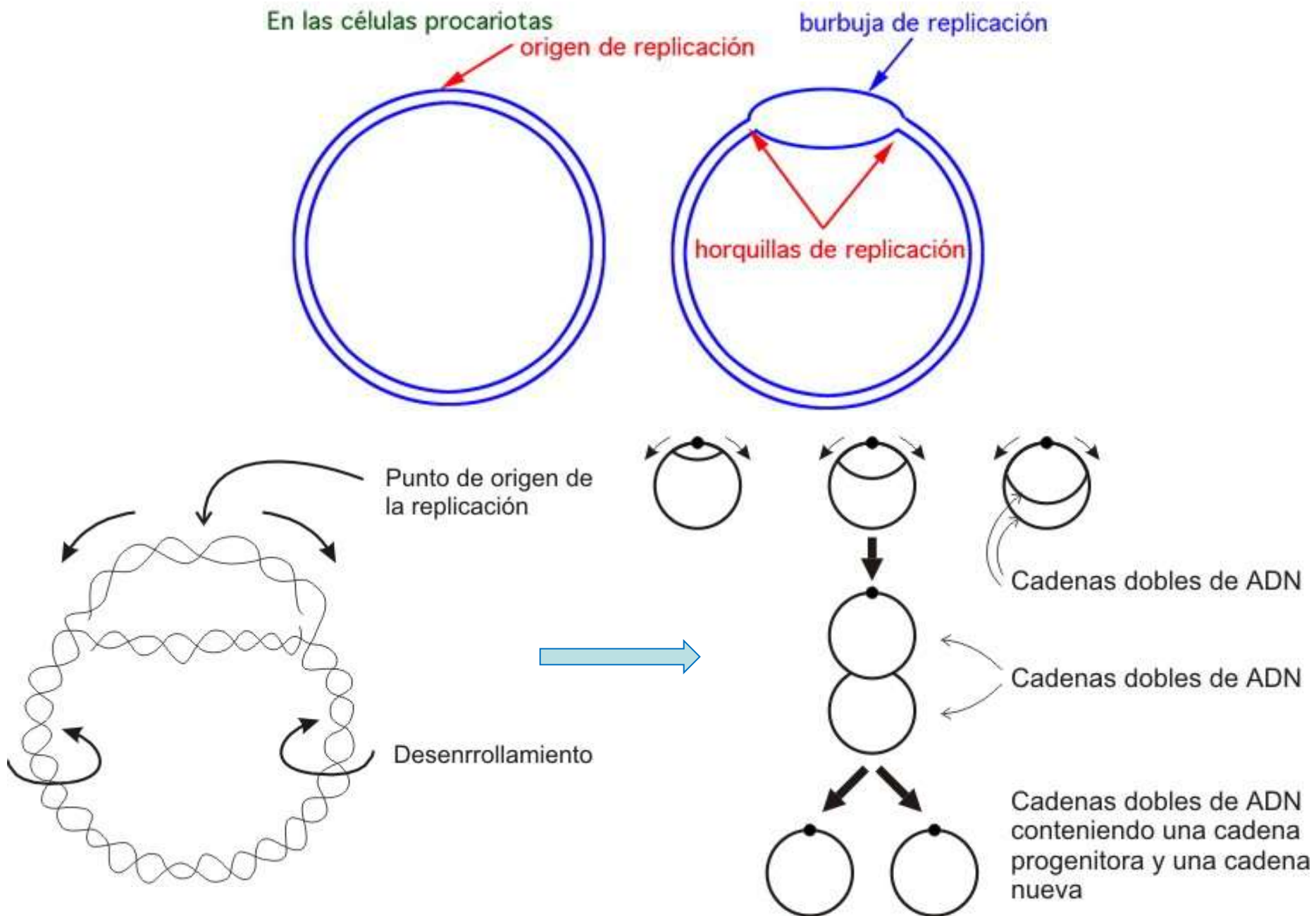


Las células eucariotas poseen muchos *ori*.
El ADN bacteriano posee un solo *ori*.

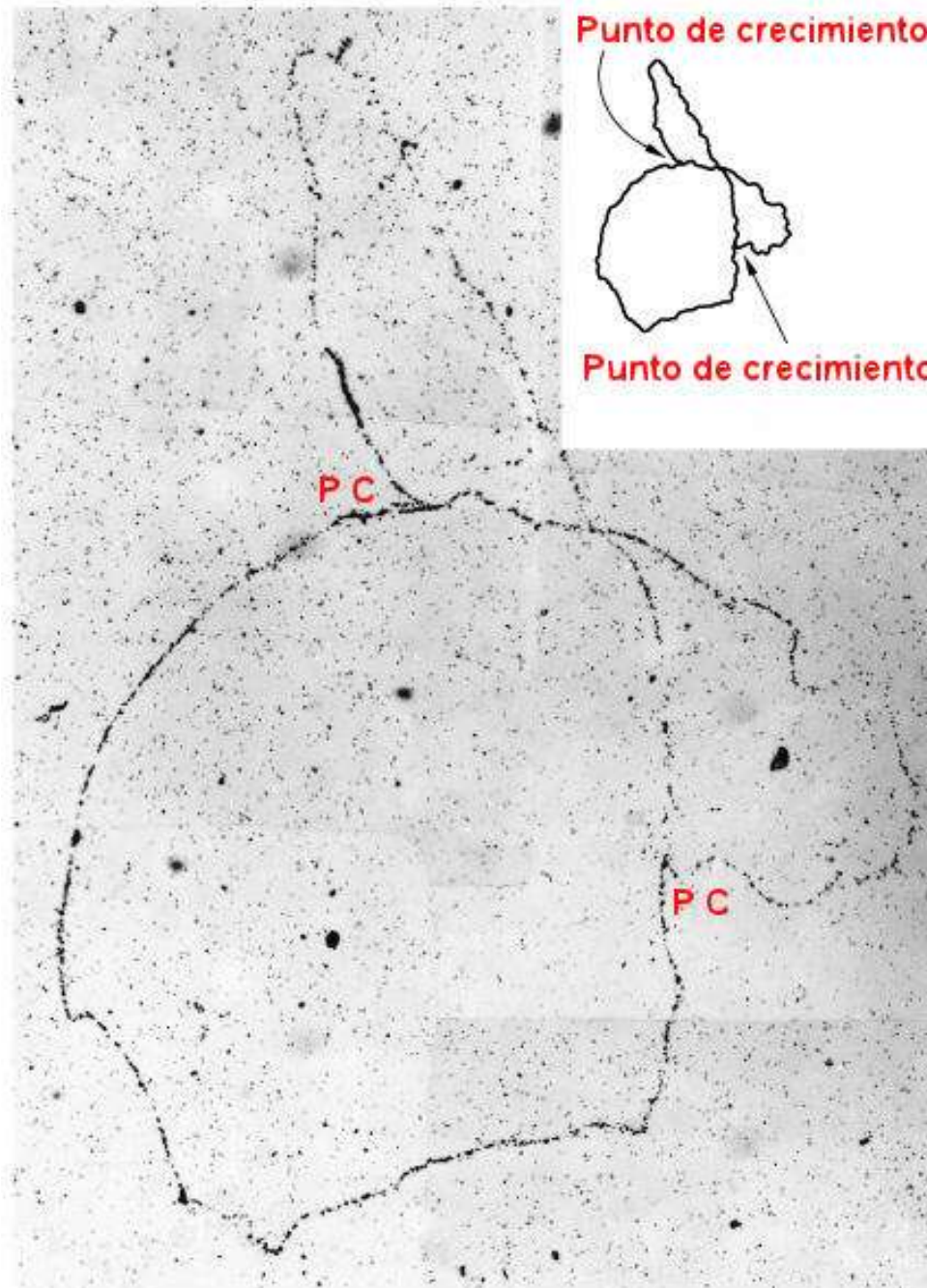
REPLICACIÓN DEL ADN EN BACTERIAS



LA REPLICACIÓN EN CÉLULAS PROCARIOTAS



LA REPLICACIÓN EN CÉLULAS PROCARIOTAS





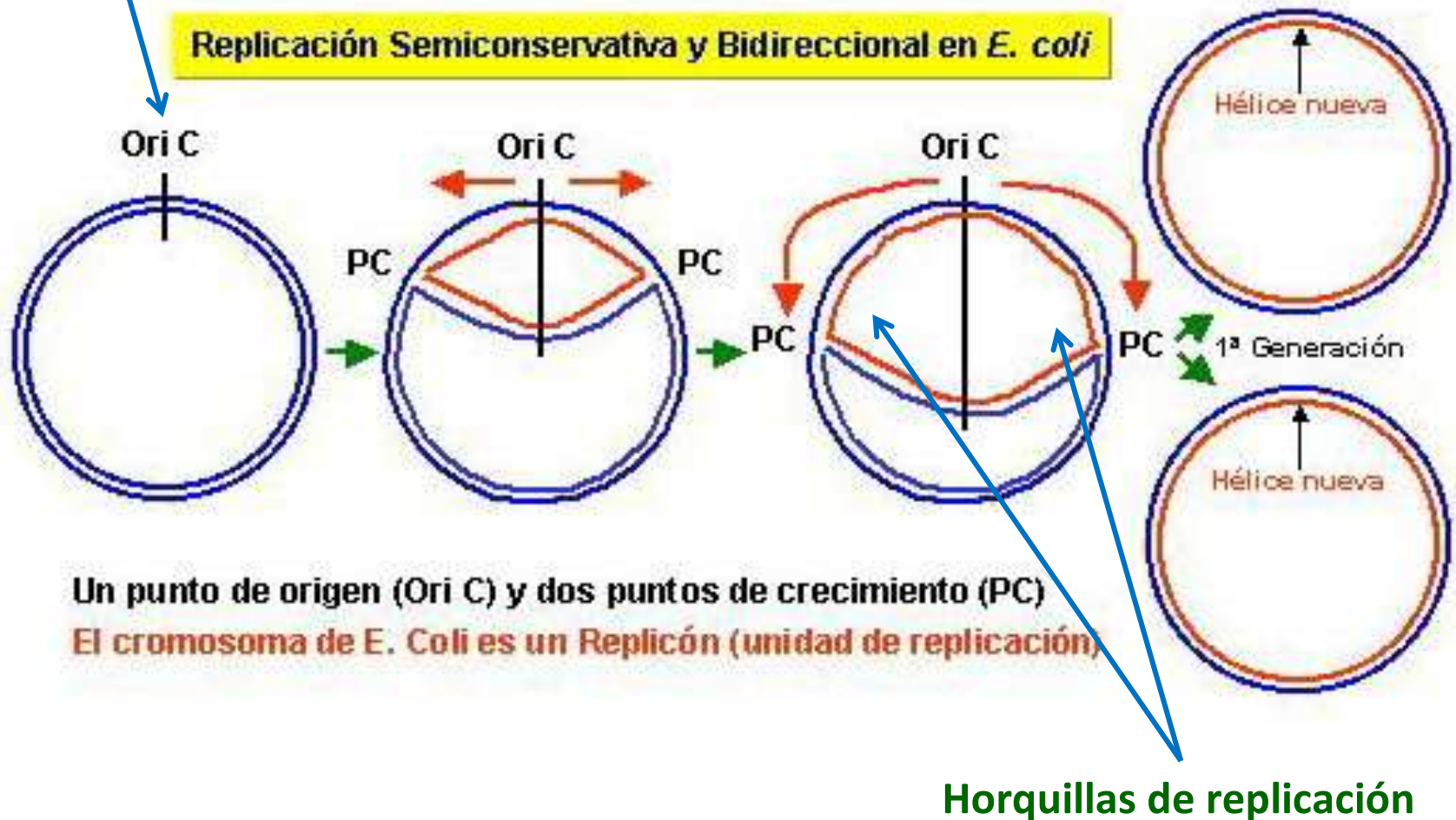
Etapas de la replicación del ADN en bacterias



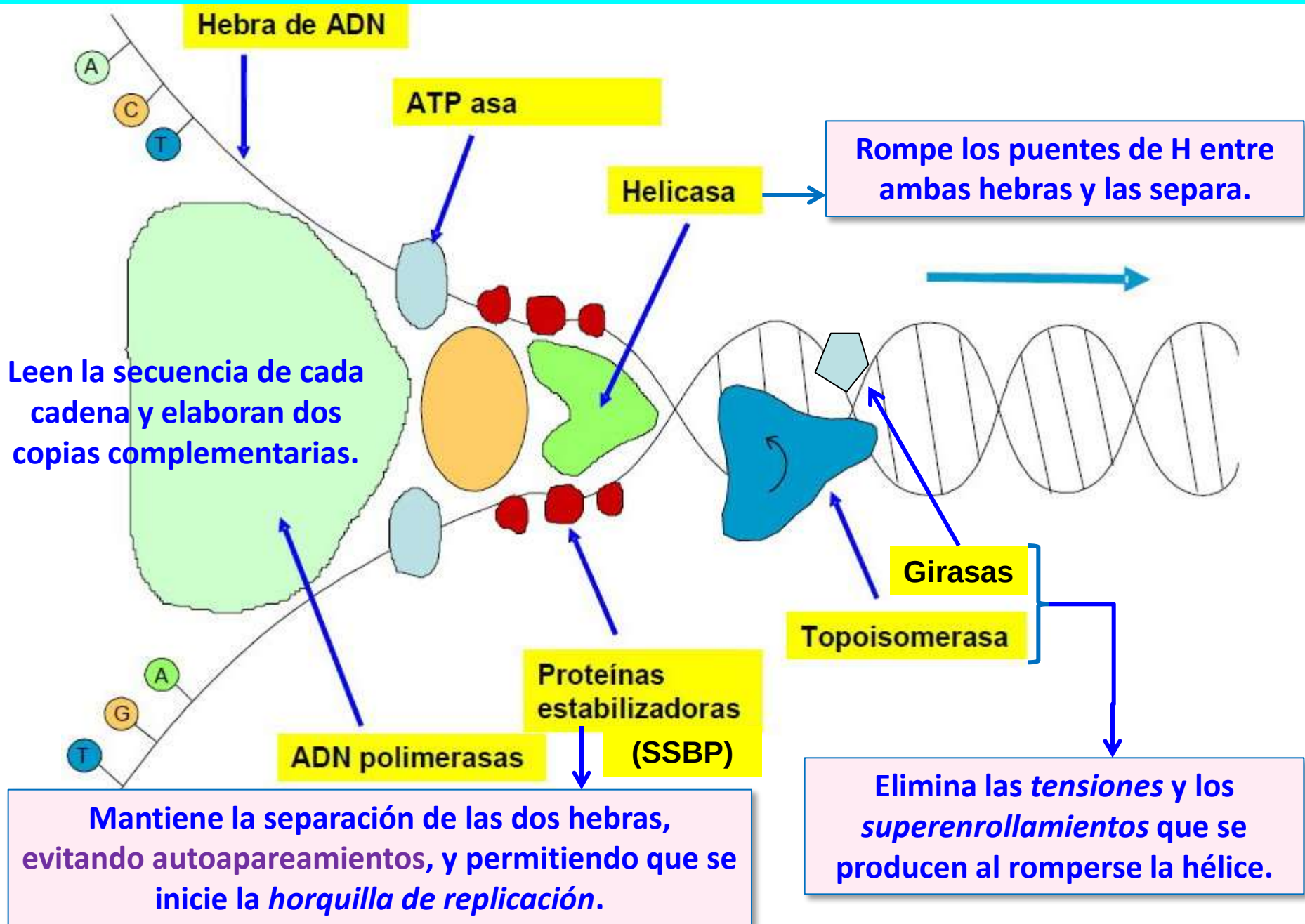
1. **Iniciación: apertura y desenrollamiento del ADN.**
2. **Elongación: síntesis de dos nuevas cadenas de AND.**
3. **Corrección de errores.**

1 INICIACIÓN: APERTURA Y DESENLLOAMIENTO DEL ADN

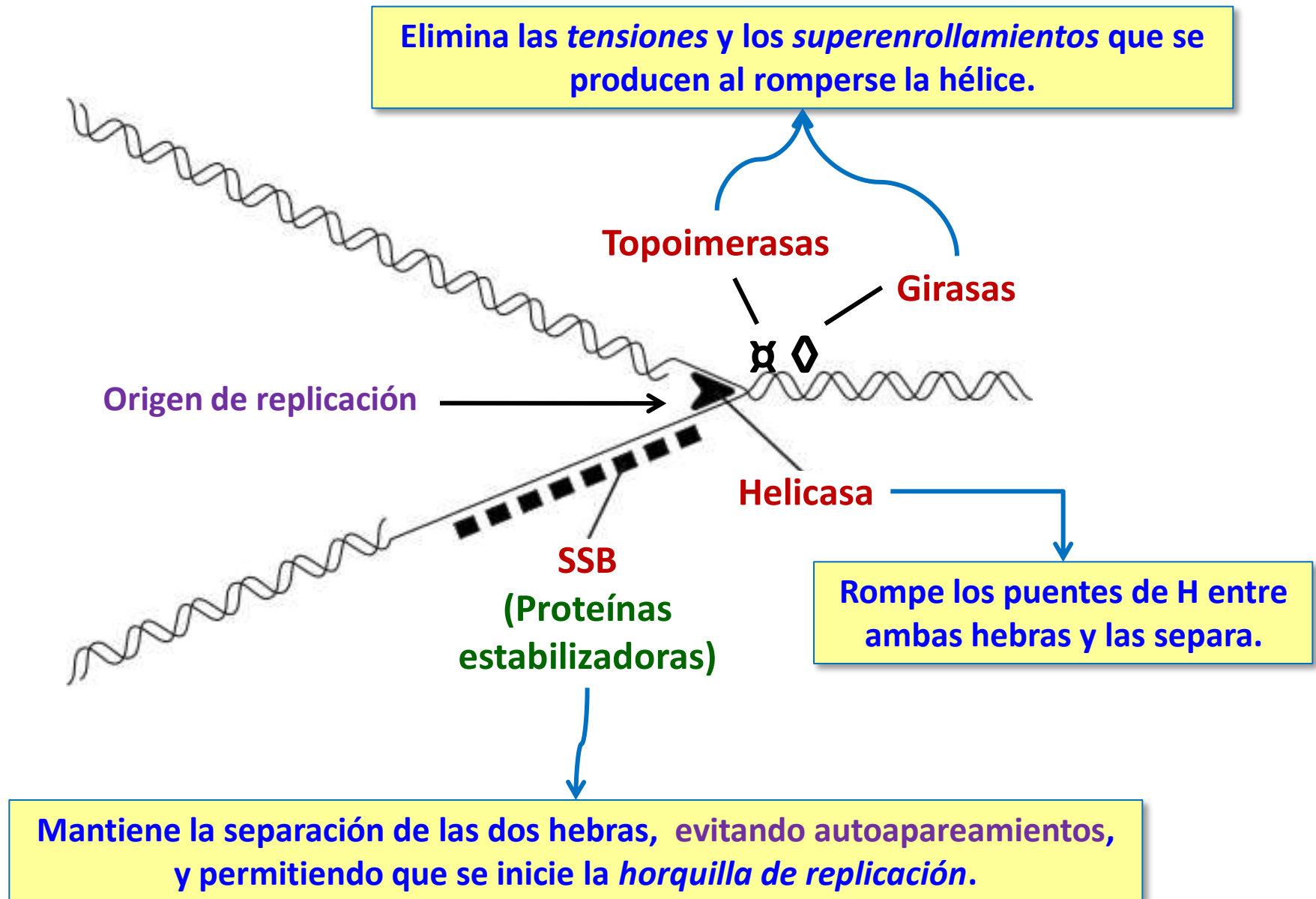
Origen único de replicación



ENZIMAS IMPLICADAS EN LA FASE DE INICIACIÓN: REPLISOMA



ENZIMAS IMPLICADAS EN LA FASE DE INICIACIÓN: REPLISOMA



ETAPA DE INICIACIÓN

Consiste en el desenrollamiento y apertura de la doble hélice de ADN

Origen de replicación (señal de iniciación)

Ori C

Proteínas específicas

Evitan las tensiones debidas a un superenrrollamiento

Topoisomerasa

Girasa

Horquilla de replicación

Proteínas SSB

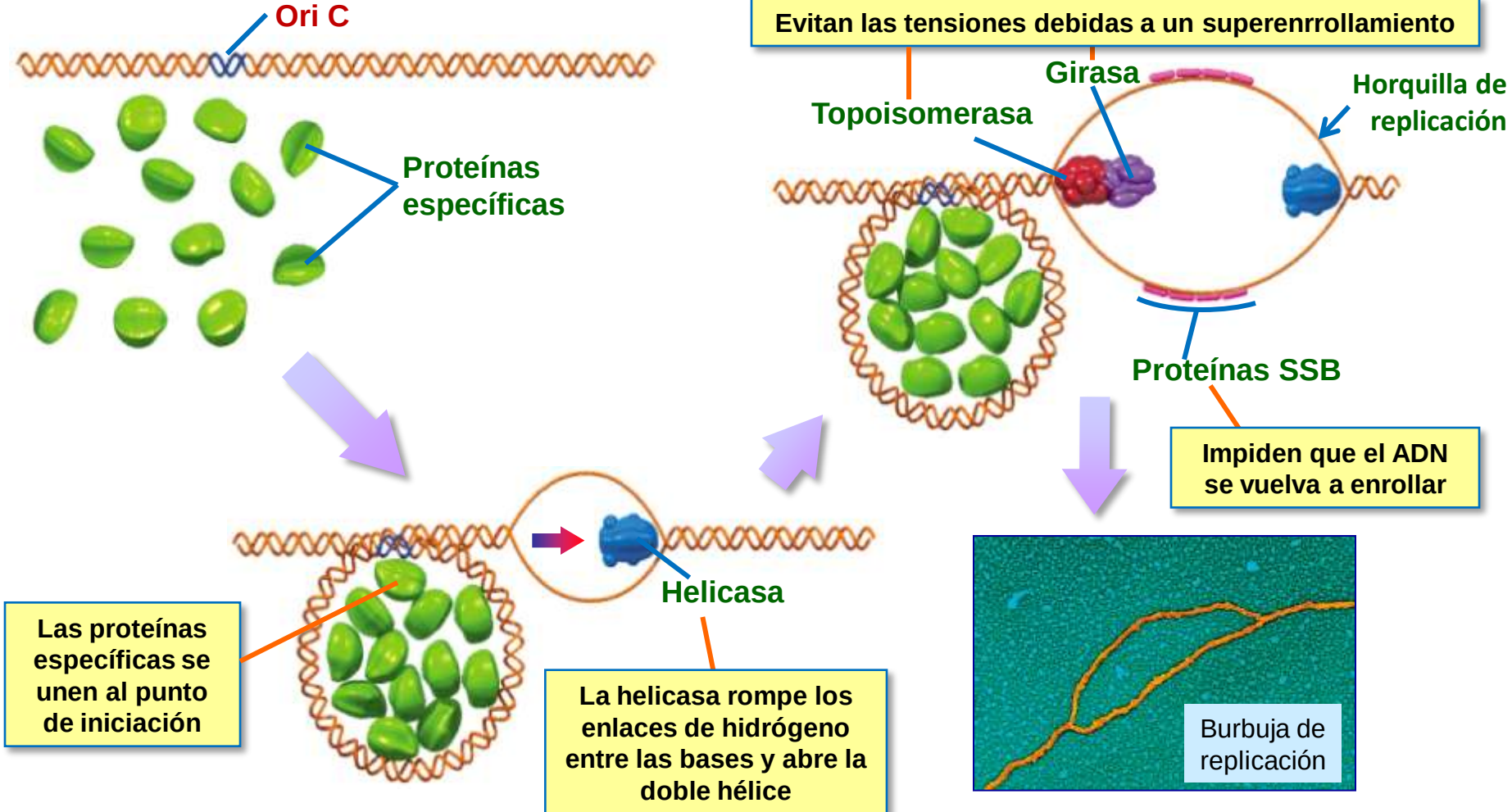
Impiden que el ADN se vuelva a enrollar

Helicasa

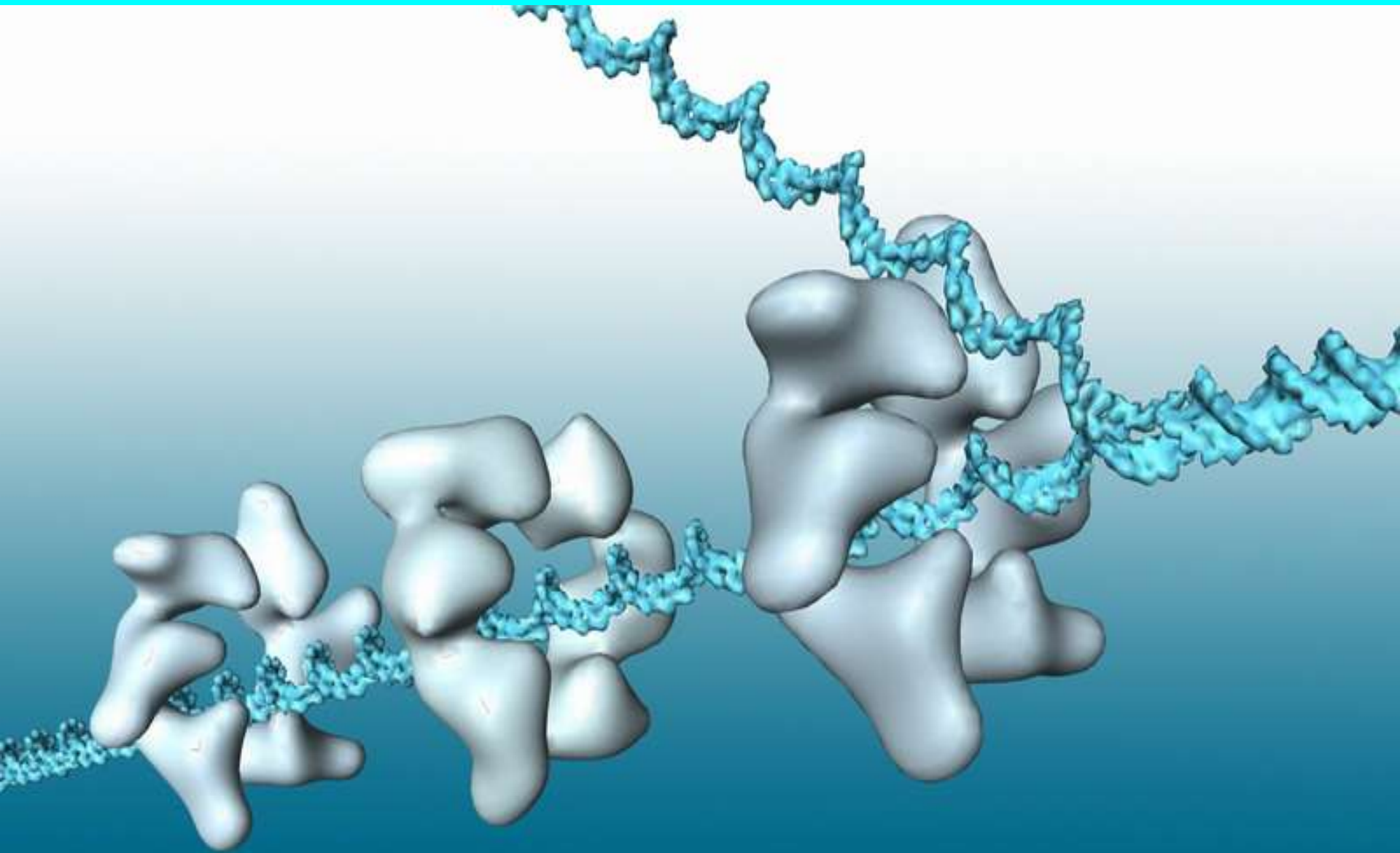
La helicasa rompe los enlaces de hidrógeno entre las bases y abre la doble hélice

Las proteínas específicas se unen al punto de iniciación

Burbuja de replicación



LA HELICASA DESENROLLANDO LA HORQUILLA DE REPLICACIÓN

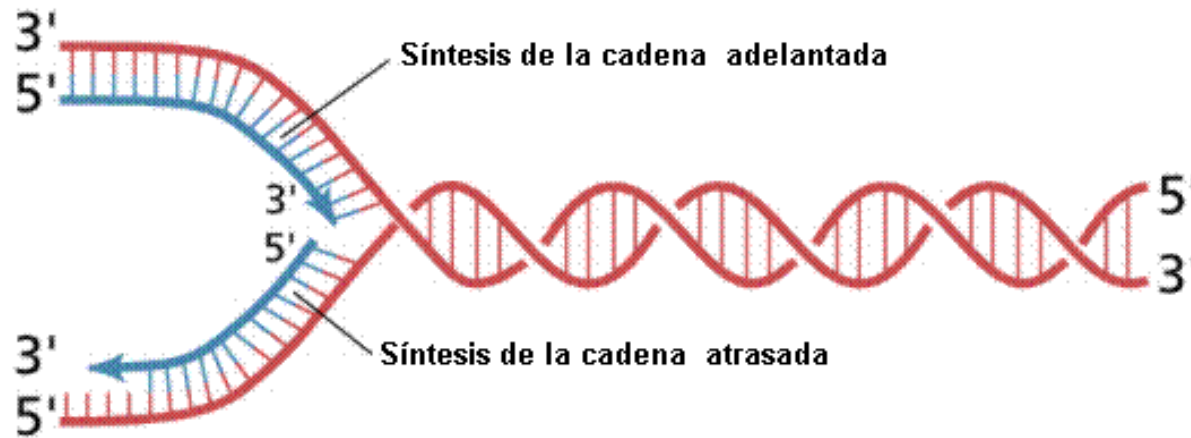


② FASE DE ELONGACIÓN. POLIMERASAS IMPLICADAS

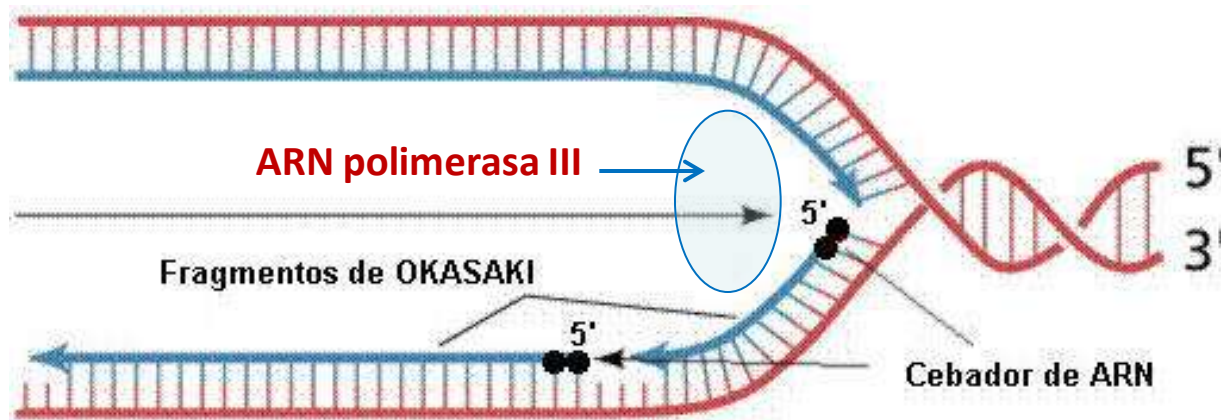
Junto a las enzimas que participan en la iniciación, en esta fase actúan las **ADN polimerasas**.

POLIMERASAS	Función NUCLEASA		Función EXONUCLEASA	
	Dirección	Función	Dirección	Función
POLIMERASA I	5' → 3'	Replicación o síntesis	5' → 3'	Elimina el cebador
			3' → 5'	Corrección de errores
POLIMERASA III			3' → 5'	Corrección de errores
POLIMERASA II			3' → 5'	Corrección de errores

② FASE DE ELONGACIÓN. SÍNTESIS DE LAS NUEVAS HEBRAS

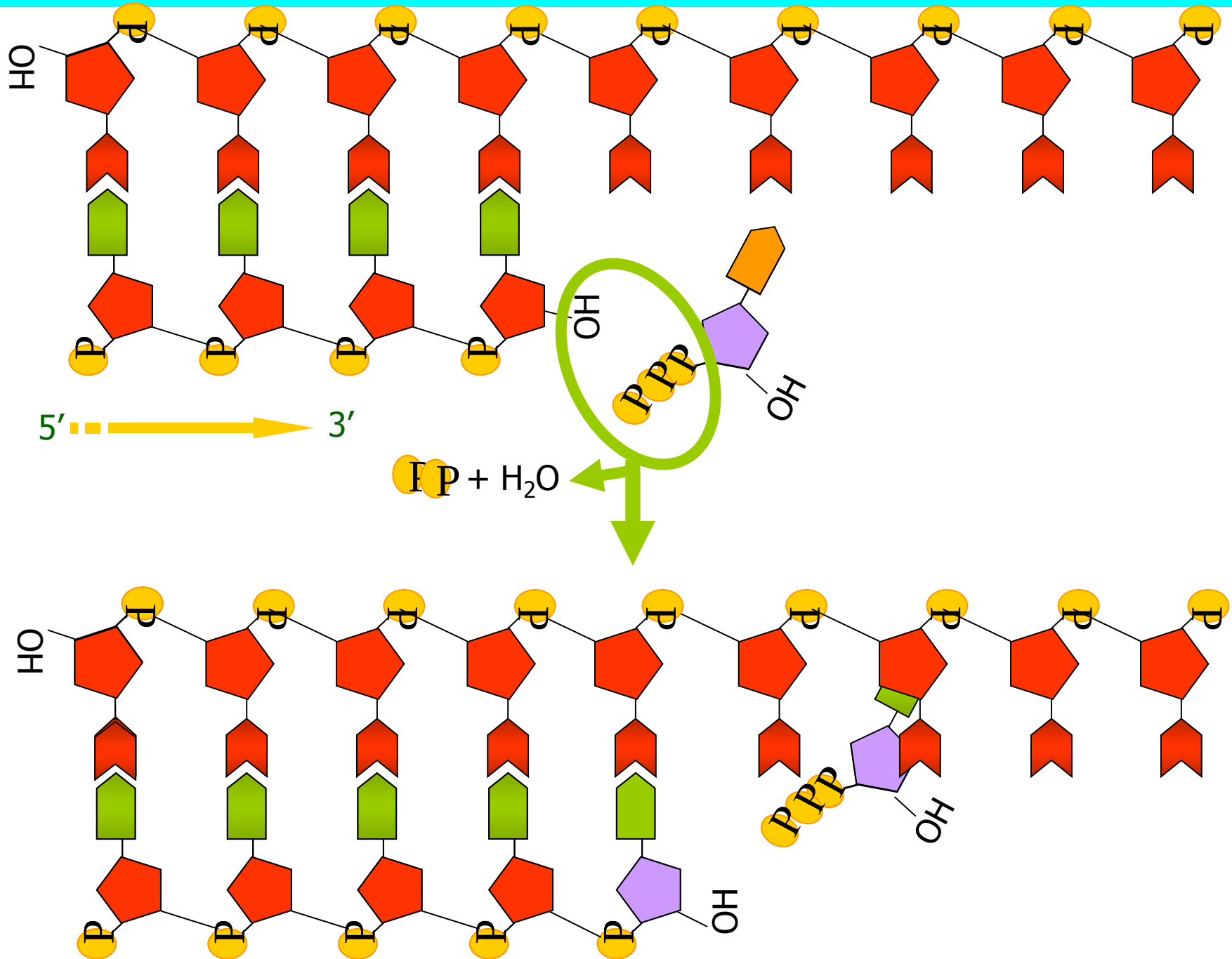


FASE DE INICIACIÓN



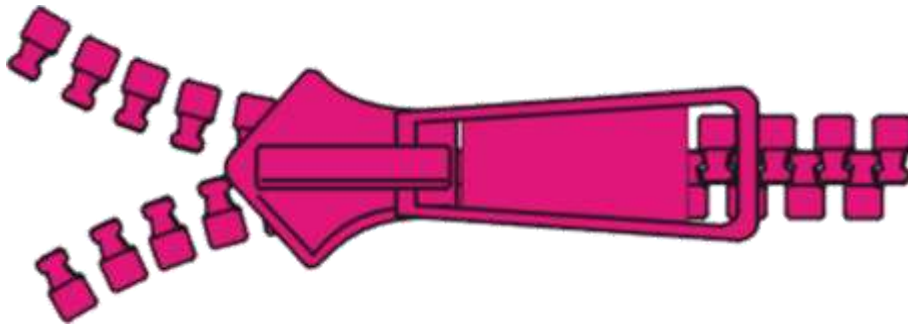
FASE DE ELONGACIÓN

FASE DE ELONGACIÓN. SÍNTESIS DE LAS NUEVAS HEBRAS

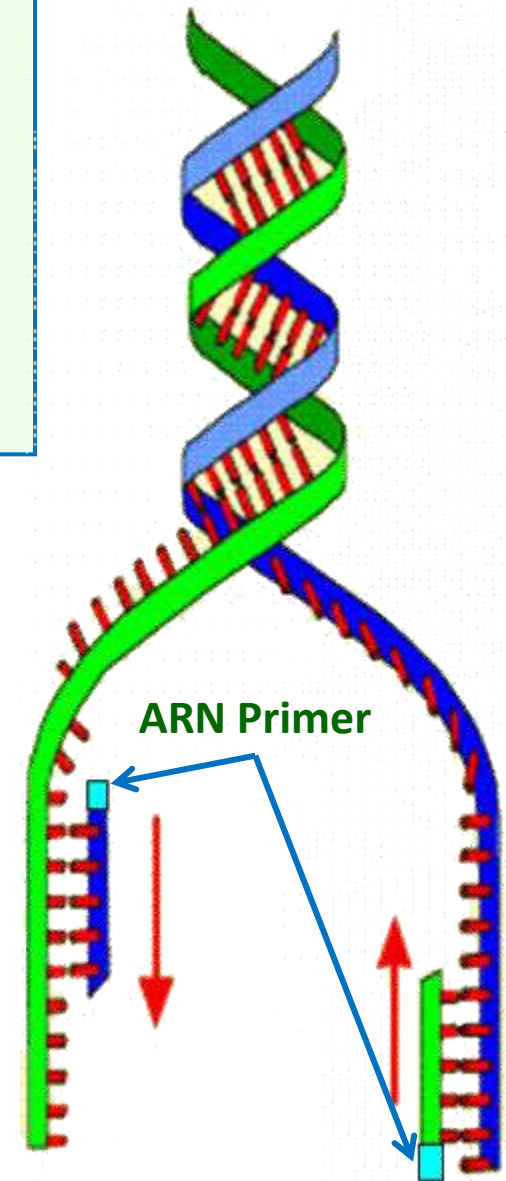


PRIMER PROBLEMA A RESOLVER POR LA ADN POLIMERASA III

La **ADN-polimerasa III** puede sintetizar ADN *in vitro*, pero no *de novo*, es decir, sólo puede elongar cadenas. Por ello, toda nueva cadena de ADN comienza por un *fragmento de ARN* (el “**primer**”) (pues el ARN se puede sintetizarse *de novo* gracias a la **ARN polimerasa = primasa**), que actúa como **cebador** o iniciador; este *primer* será después eliminado.

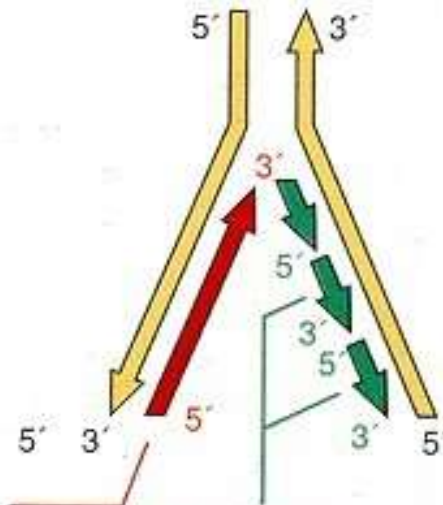
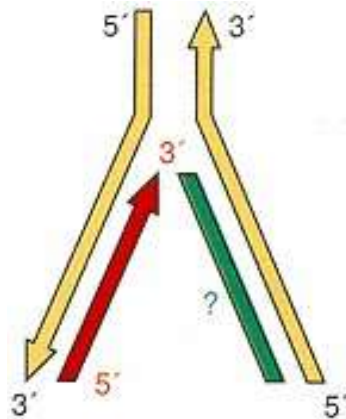


El cebador, más proclive al error, es un ARN, ya que puede detectarse y eliminarse fácilmente por la *ADN polimerasa I*.



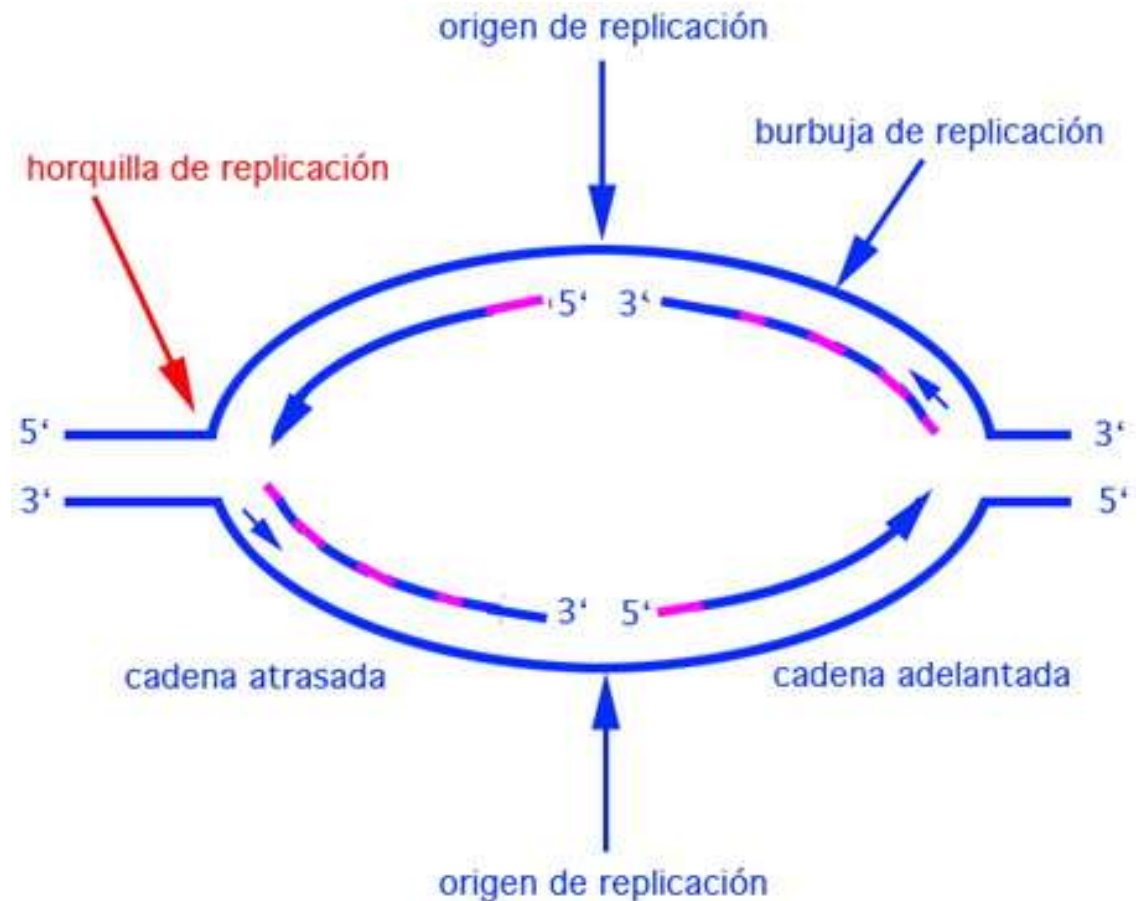
SEGUNDO PROBLEMA: EL CRECIMIENTO BIDIRECCIONAL

Cómo era posible que las dos hebras de la horquilla crecieran en paralelo, ya que, al ser antiparalelas, si una crecía en sentido 5' - 3', la otra debía hacerlo en sentido 3' - 5'.

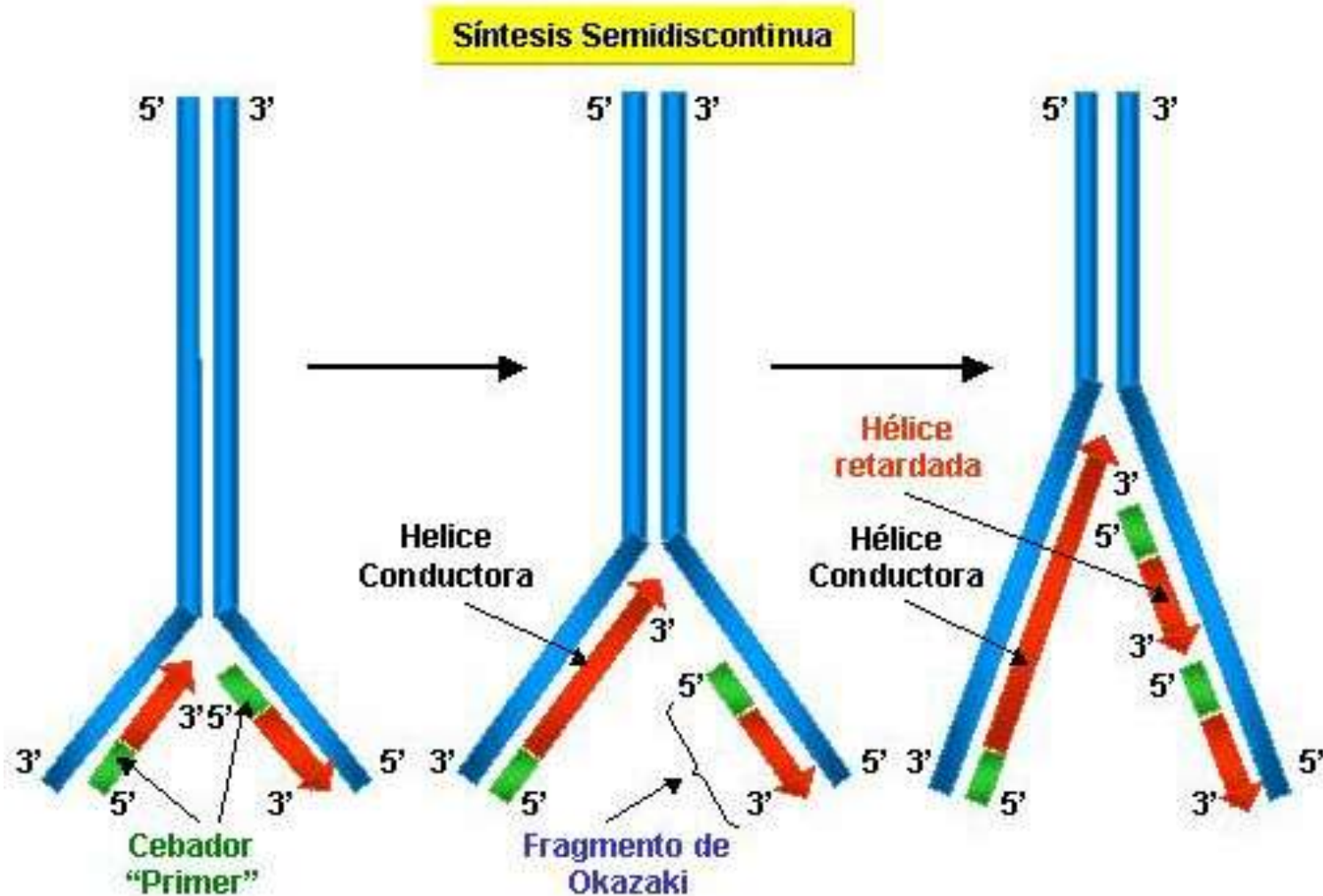


Cadena de síntesis continua

Fragmentos de Okazaki

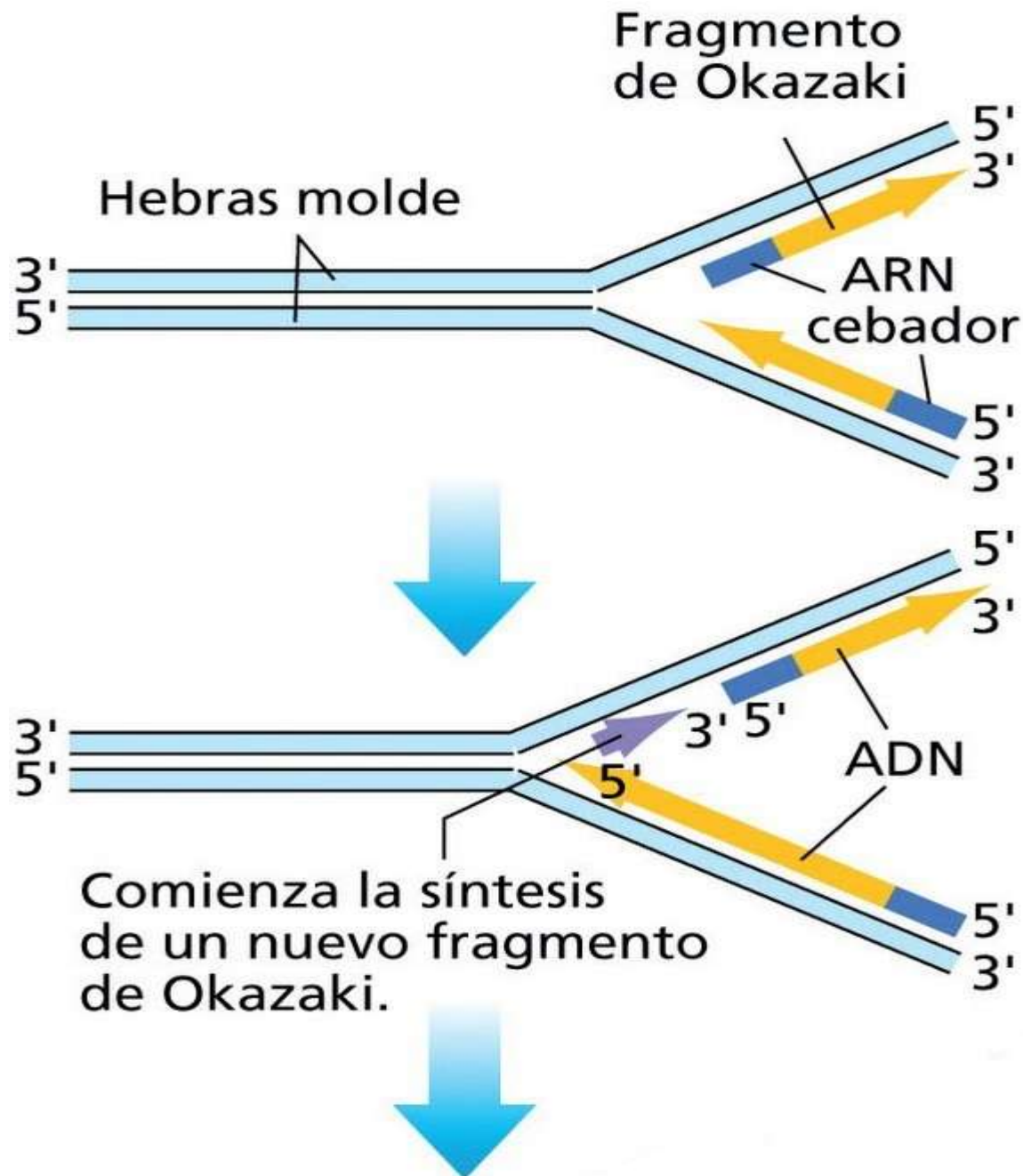


SOLUCIÓN AL PROBLEMA: LOS FRAGMENTOS DE OKAZAKI

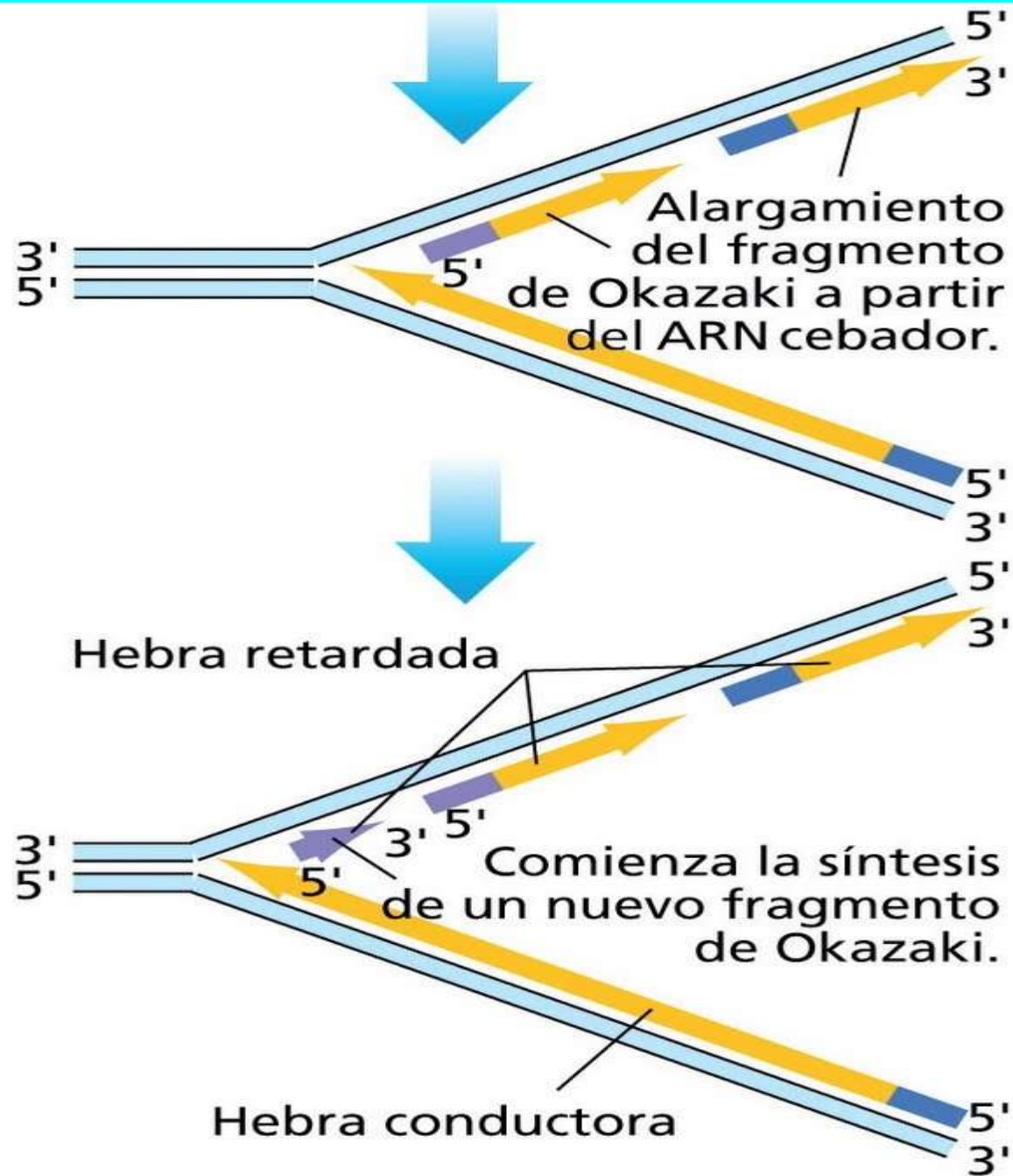


Los fragmentos de Okazaki son sintetizados al principio por la ARN-polimerasa, y después por la ADN-polimerasa, en dirección 5'-3'. Los fragmentos pierden su ARN y se unen, por lo que aparentemente la hebra crece en dirección 3'-5'.

SOLUCIÓN AL PROBLEMA: LOS FRAGMENTOS DE OKAZAKI

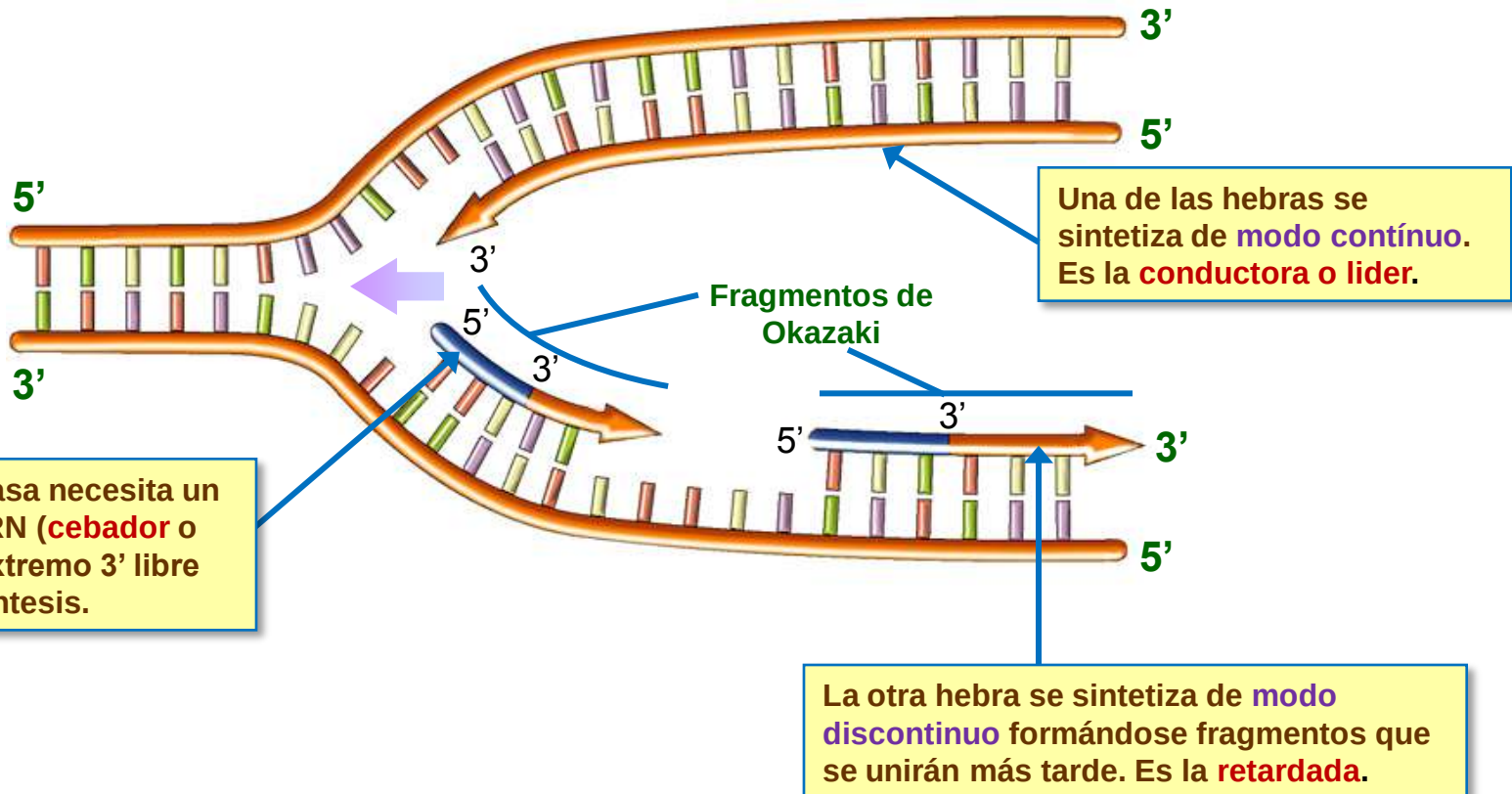


SOLUCIÓN AL PROBLEMA: LOS FRAGMENTOS DE OKAZAKI

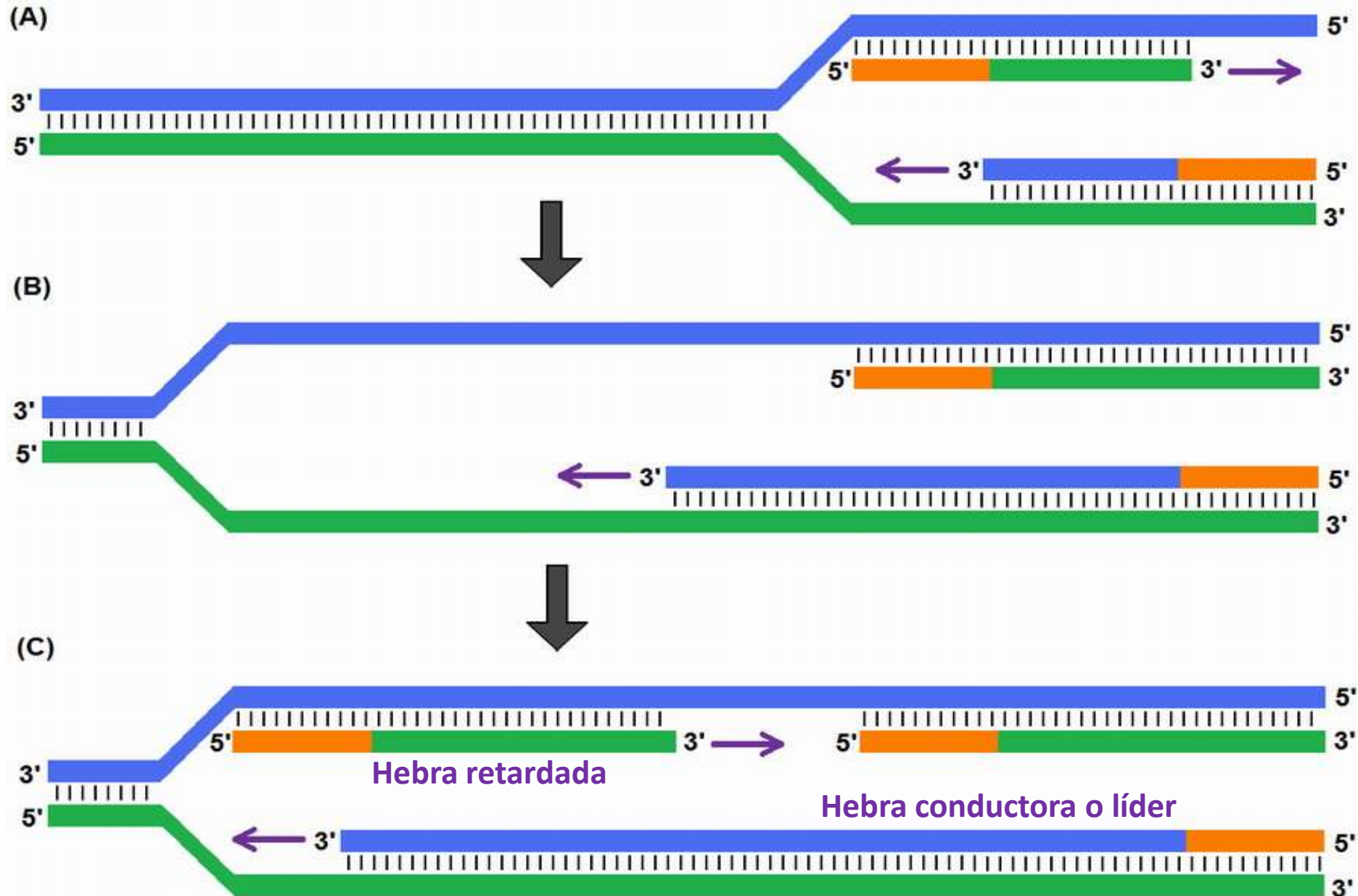


LOS FRAGMENTOS DE OKAZAKI

En la hebra retardada, la **ADN-polimerasa III** recorre las hebras molde en sentido 3' - 5', uniendo los nuevos nucleótidos en el extremo 3', de modo que la nueva hebra **crece en sentido 5' - 3'**.



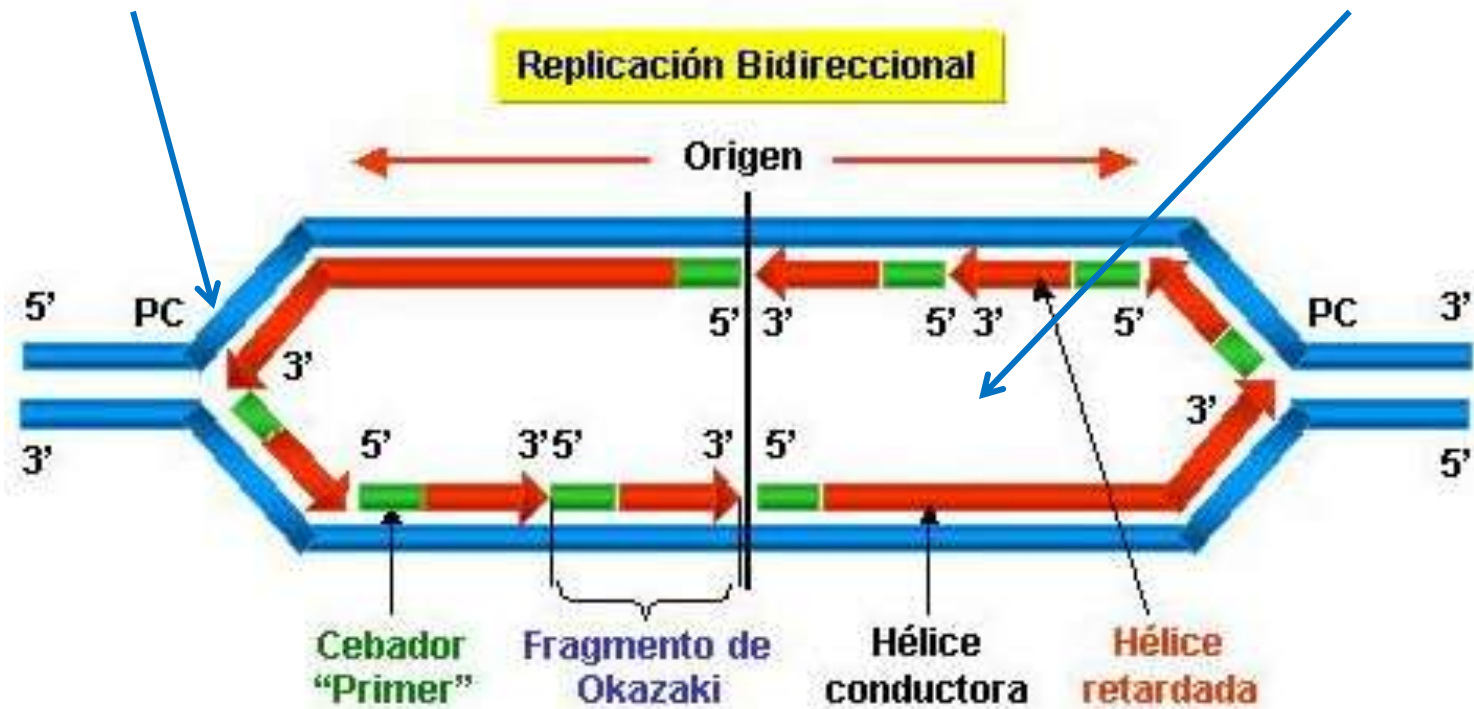
LOS FRAGMENTOS DE OKAZAKI



RESUELTO EL PROBLEMA DEL CRECIMIENTO BIDIRECCIONAL

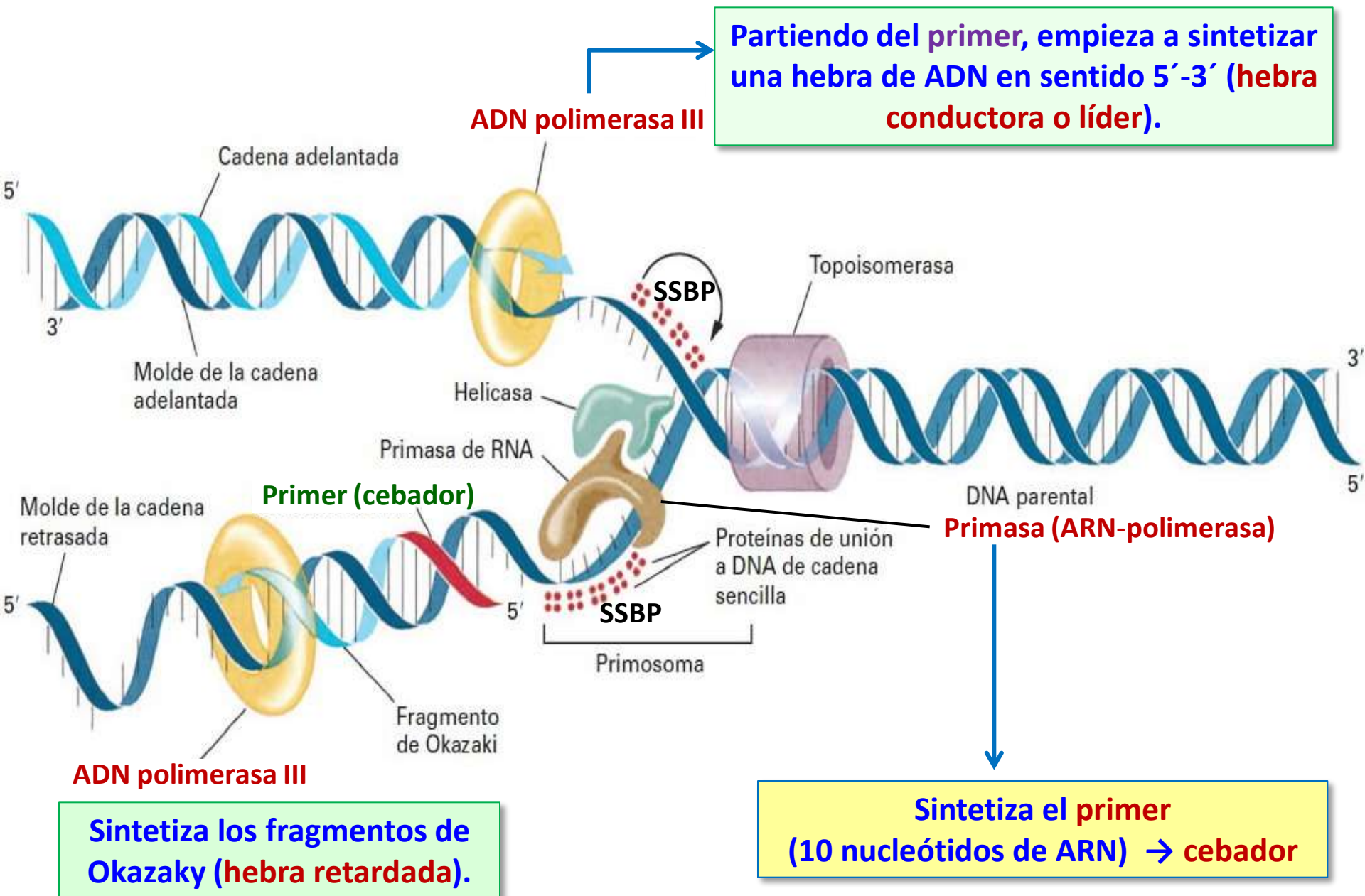
Horquilla de replicación

Burbuja de replicación



PC = Punto de crecimiento (Horquilla de replicación)

ENZIMAS IMPLICADAS EN LA ELONGACIÓN



ENZIMAS IMPLICADAS EN LA HEBRA RETARDADA

Retira el primer y añade
nucleótidos de ADN en su lugar

Actividad
exonucleasa

Une los dif. fragmentos
de Okazaki sintetizados

ADN-polimerasa I

ARN-polimerasa (primasa)

Primer

helicasa

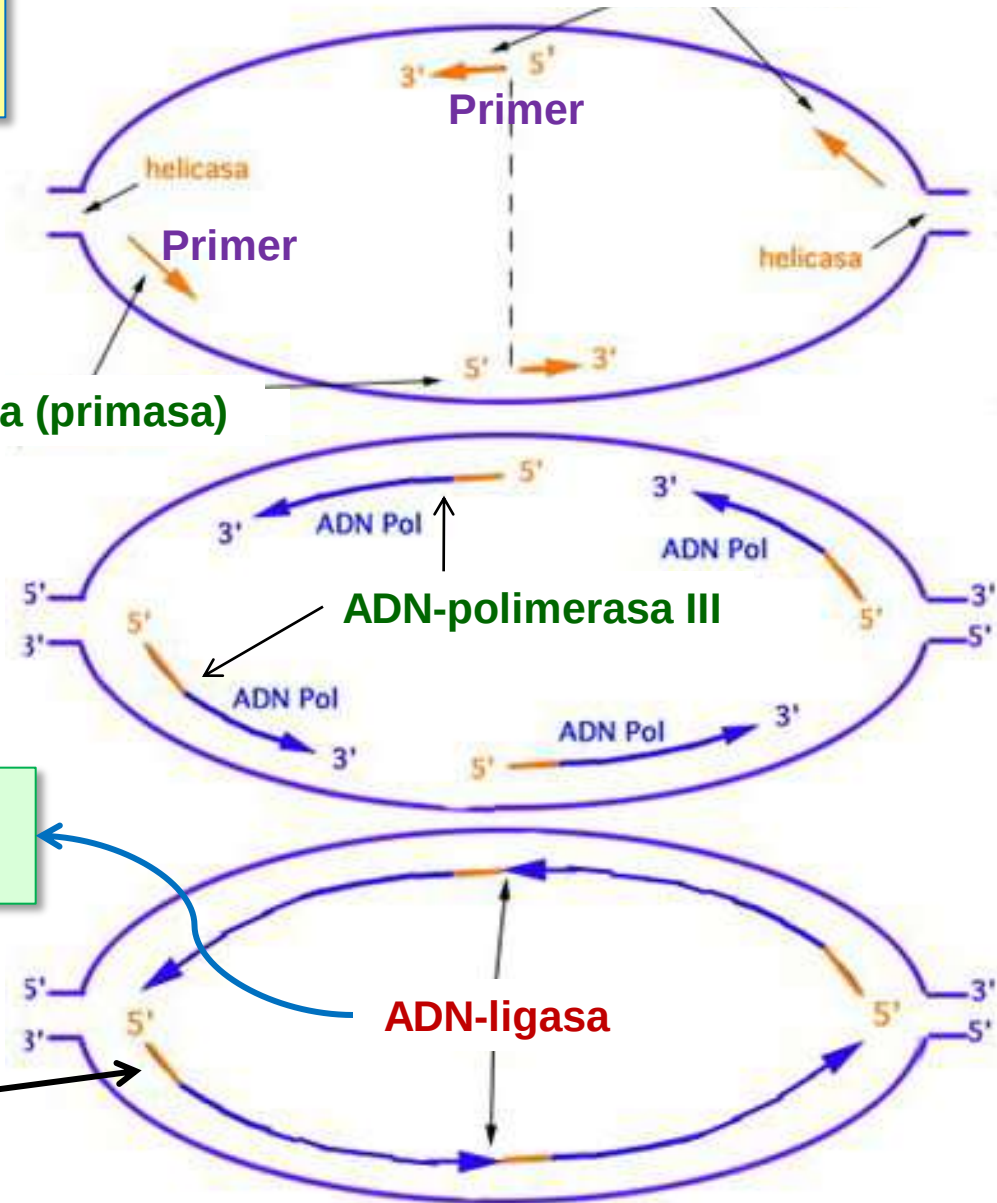
Primer

helicasa

ARN-polimerasa (primasa)

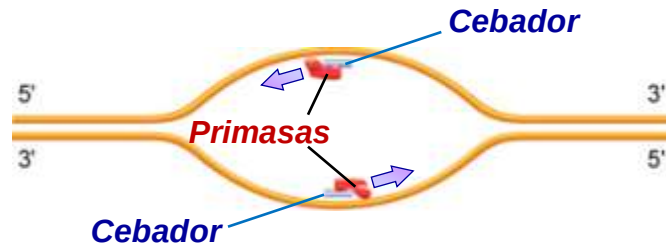
ADN-polimerasa III

ADN-ligasa

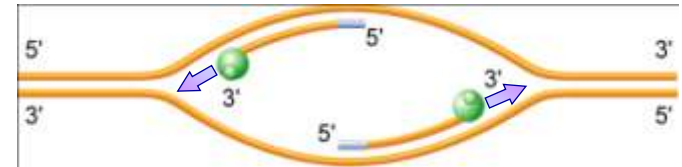


PROCESO DE ELONGACIÓN

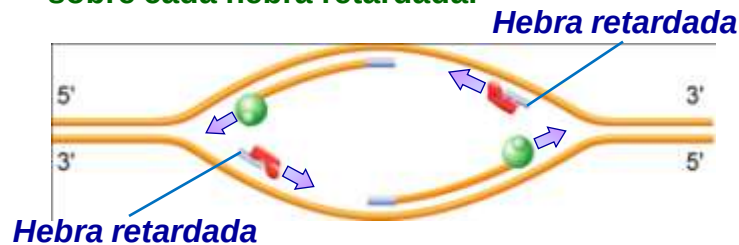
- 1** La primasa sintetiza un cebador en cada hebra de la burbuja de replicación.



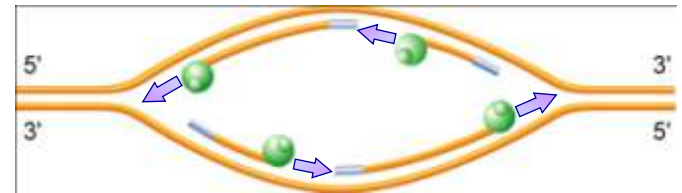
- 2** Las ADN polimerasa comienzan la síntesis de la hebra conductora por el extremo 3' de cada cebador.



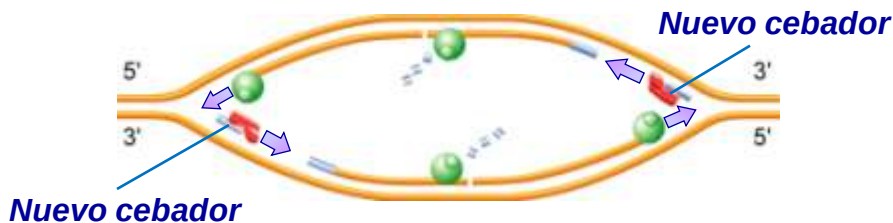
- 3** La primasa sintetiza un nuevo cebador sobre cada hebra retardada.



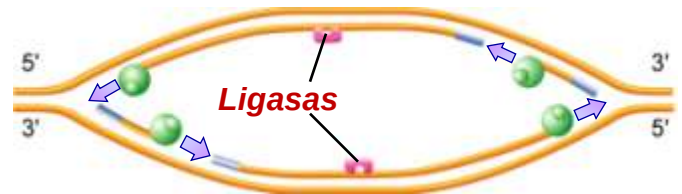
- 4** La ADN polimerasa comienza a sintetizar un fragmento de ADN a partir del nuevo cebador.



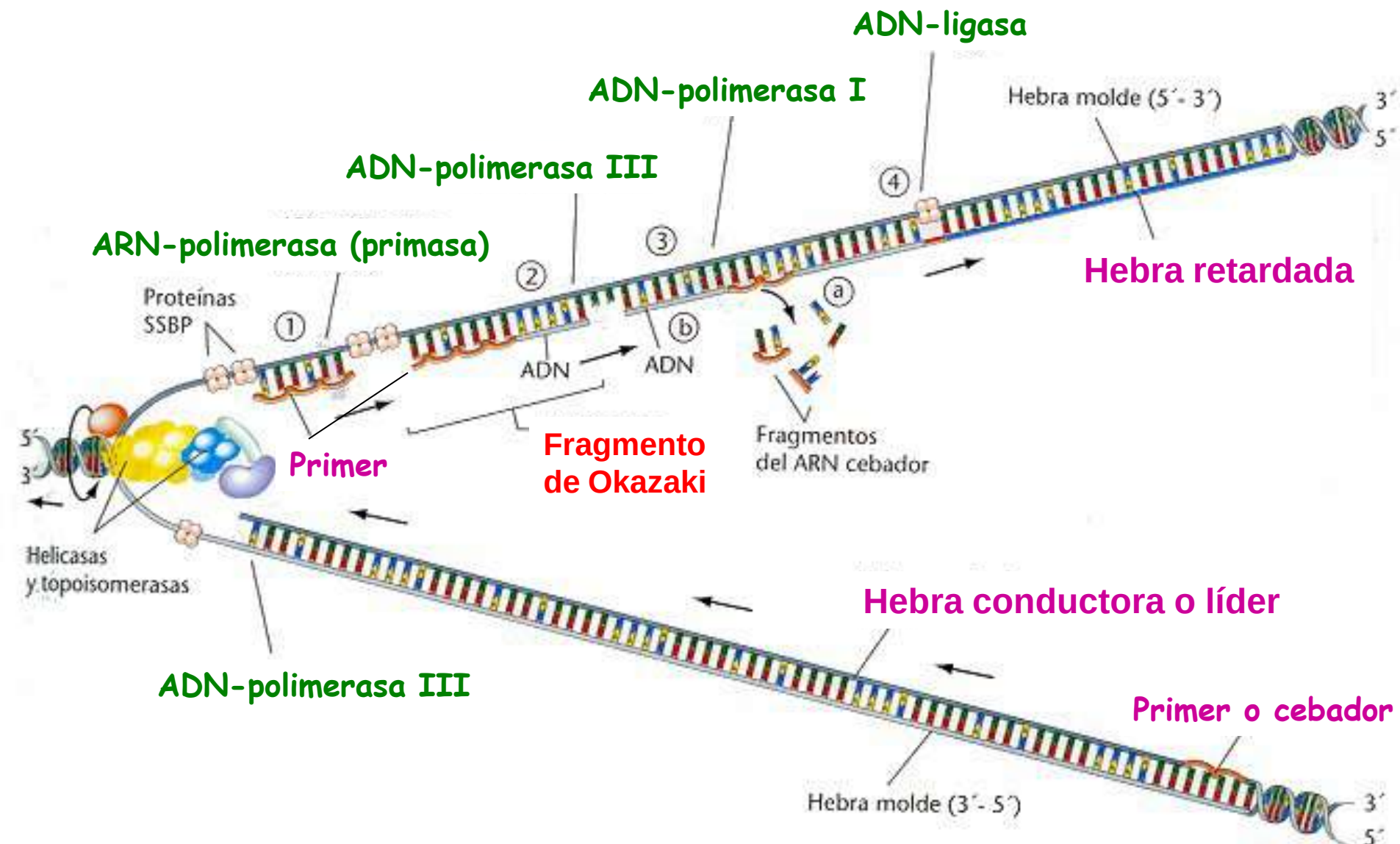
- 5** Cuando la ADN polimerasa llega al cebador de ARN, lo elimina y lo reemplaza por ADN.



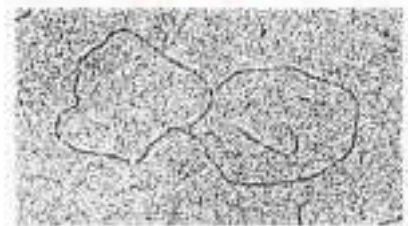
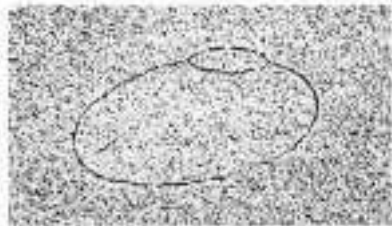
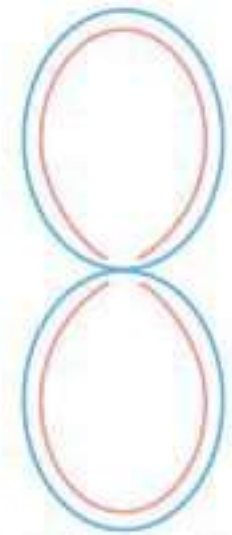
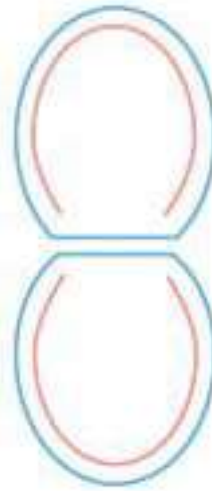
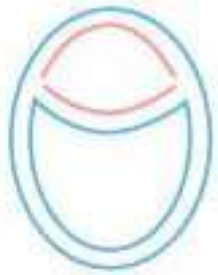
- 6** La ligasa une los fragmentos de ADN.



PROCESO DE ELONGACIÓN



REPLICACIÓN EN LAS BACTERIAS



REPLICACIÓN EN LAS BACTERIAS

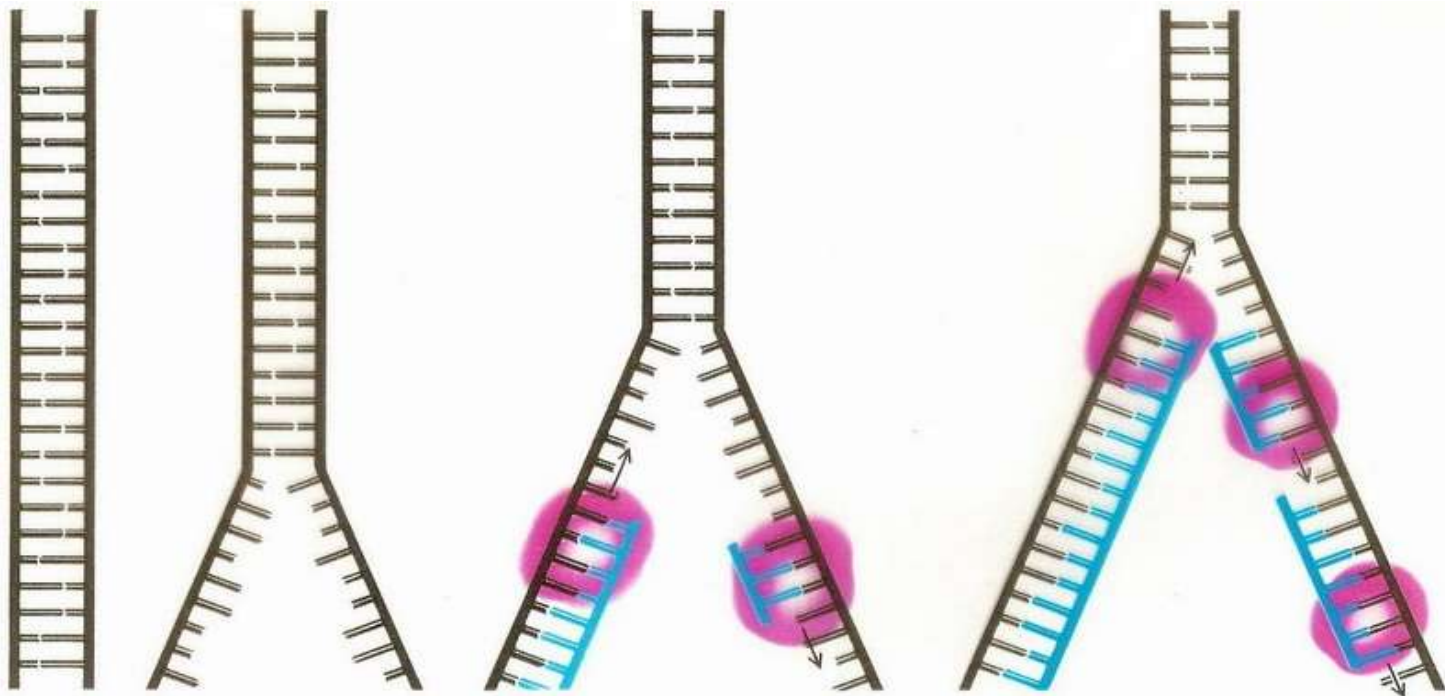
Escherichia coli replicando su ADN



③ CORRECCIÓN DE ERRORES

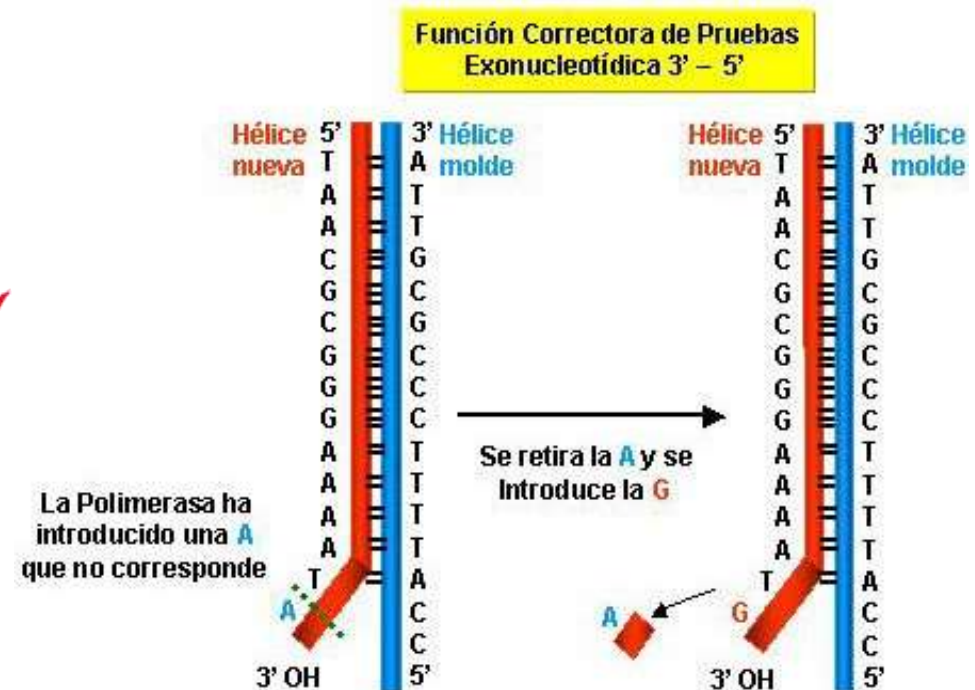
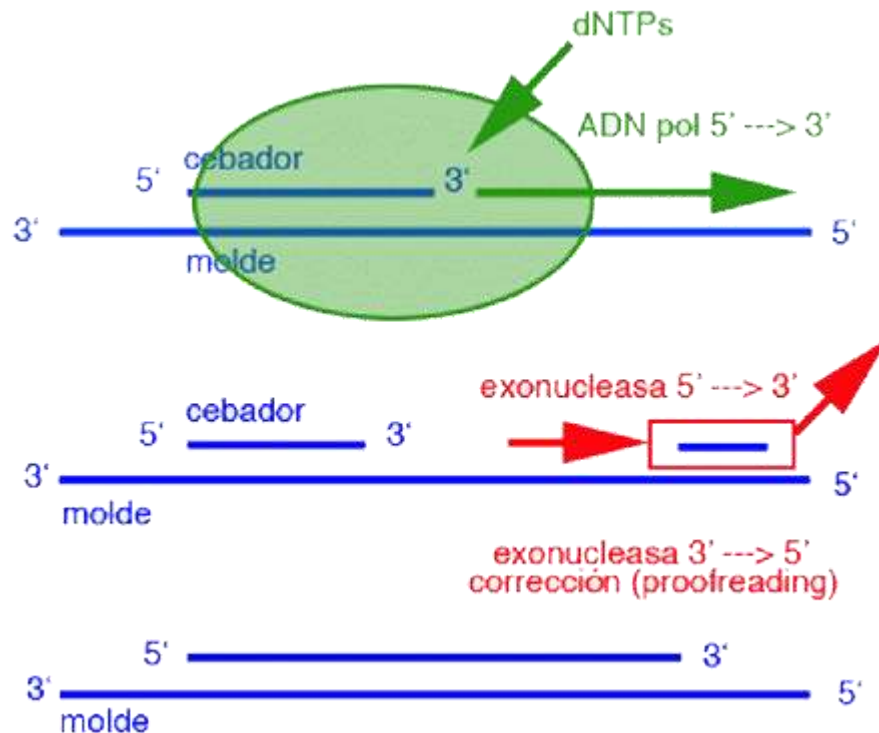
La replicación del ADN por las ADN polimerasas debe ser **exacta, rápida y fiel**, pues de ello depende que la información genética se transmita con fidelidad de generación en generación.

Como los errores en la síntesis del ADN son inevitables, en el complejo multienzimático del **replisoma** existen **enzimas correctoras** “vigilando” lo que hace la **ADN polimerasa III**, detectando y corrigiendo las secuencias erróneas, mediante la **corrección de pruebas** y la **corrección postreplicativa**.



CORRECCIÓN DE PRUEBAS POR LAS ADN POLIMERASAS I Y III

Las enzimas ADN polimerasas I y III, además de polimerizar (función **nucleasa**), son **autocorrectoras**: “miran” hacia atrás antes de incorporar el nucleótido siguiente y, si detectan un error en el apareamiento, eliminan el último nucleótido (función **exonucleasa**) e introduce el nucleótido adecuado.

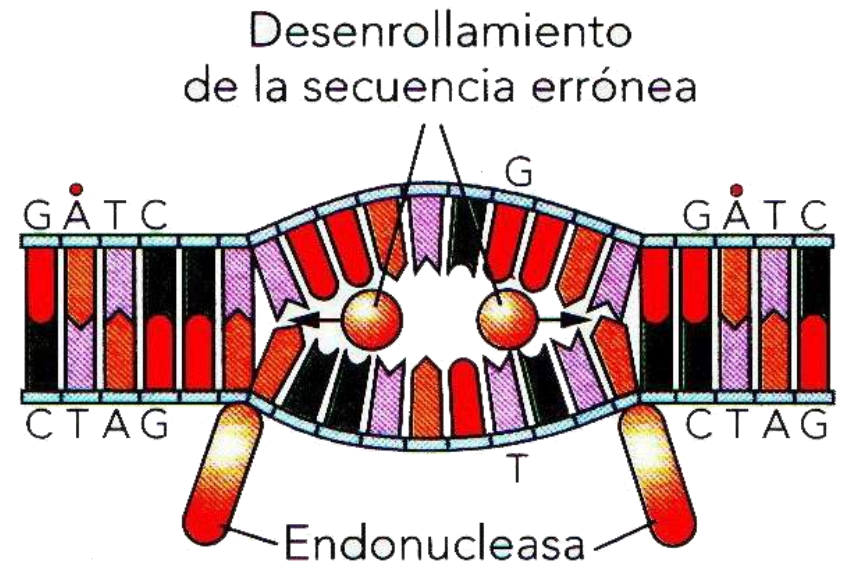
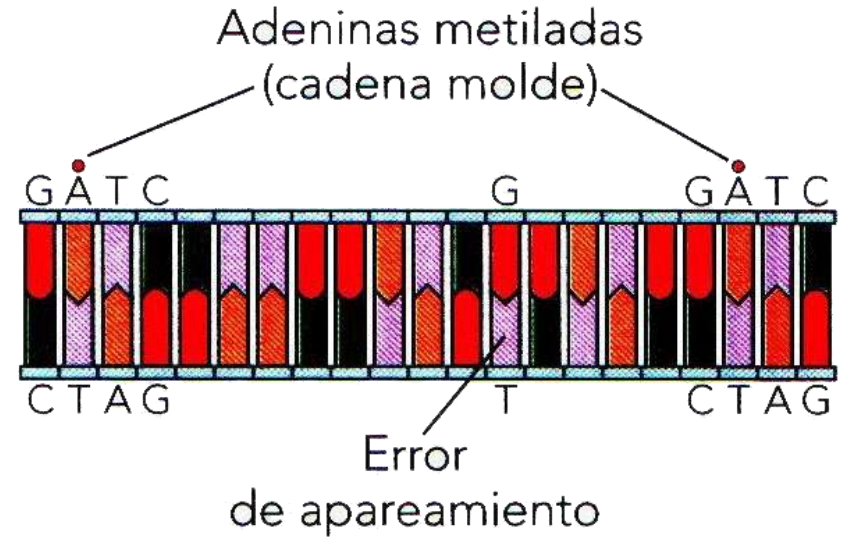


En *E. Coli*, las polimerasas I y III cometen **un error** de apareamiento por cada **10⁶** nucleótidos adicionados. Su actividad autocorrectora reduce el error de apareamiento a **uno por cada 10⁸** nucleótidos adicionados.

CORRECCIÓN POSTREPLICATIVA DEL MAL APAREAMIENTO

Esta corrección se realiza por **enzimas correctoras del replisoma**, las cuales detectan el nucleótido mal apareado porque, mientras la hebra molde (parental) tienen metiladas las adeninas de las secuencias GATC, existe un lapso de tiempo en el que las adeninas de las secuencias GATC de la hebra réplica están aún sin metilar. En este intervalo las enzimas correctoras descubren los posibles errores.

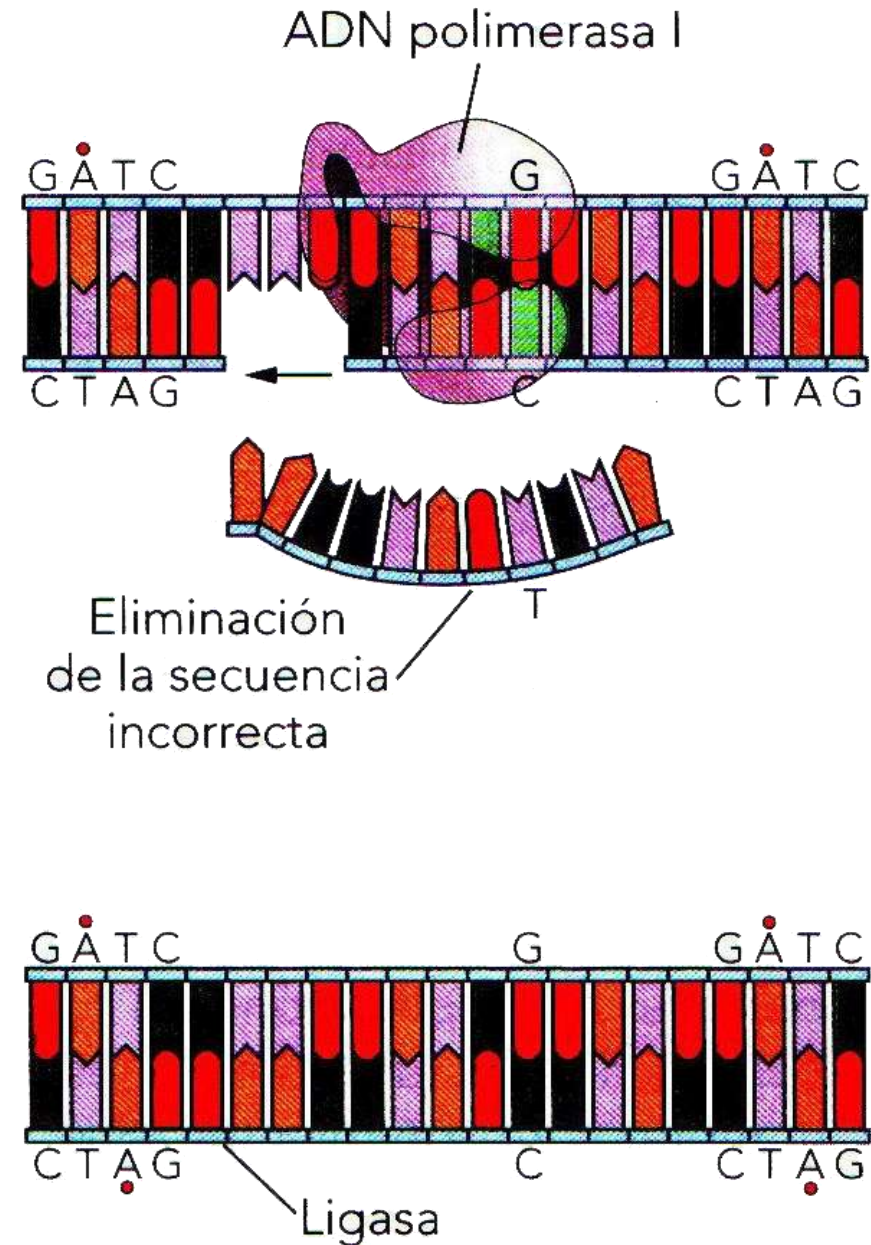
Una **enzima endonucleasa** corta el segmento en el lugar donde el nucleótido mal apareado va a ser eliminado.



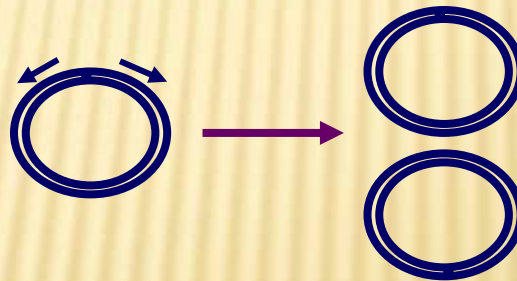
CORRECCIÓN POSTREPLICATIVA DEL MAL APAREAMIENTO

Por último, la secuencia correcta se regenera cuando la **ADN polimerasa I** rellena el hueco y la **ADN ligasa** vuelve a unir los segmentos de la hebra réplica.

La corrección postreplicativa aumenta por 100 la exactitud de la réplica, cometiéndose **un error por cada 10^{10} pb.**

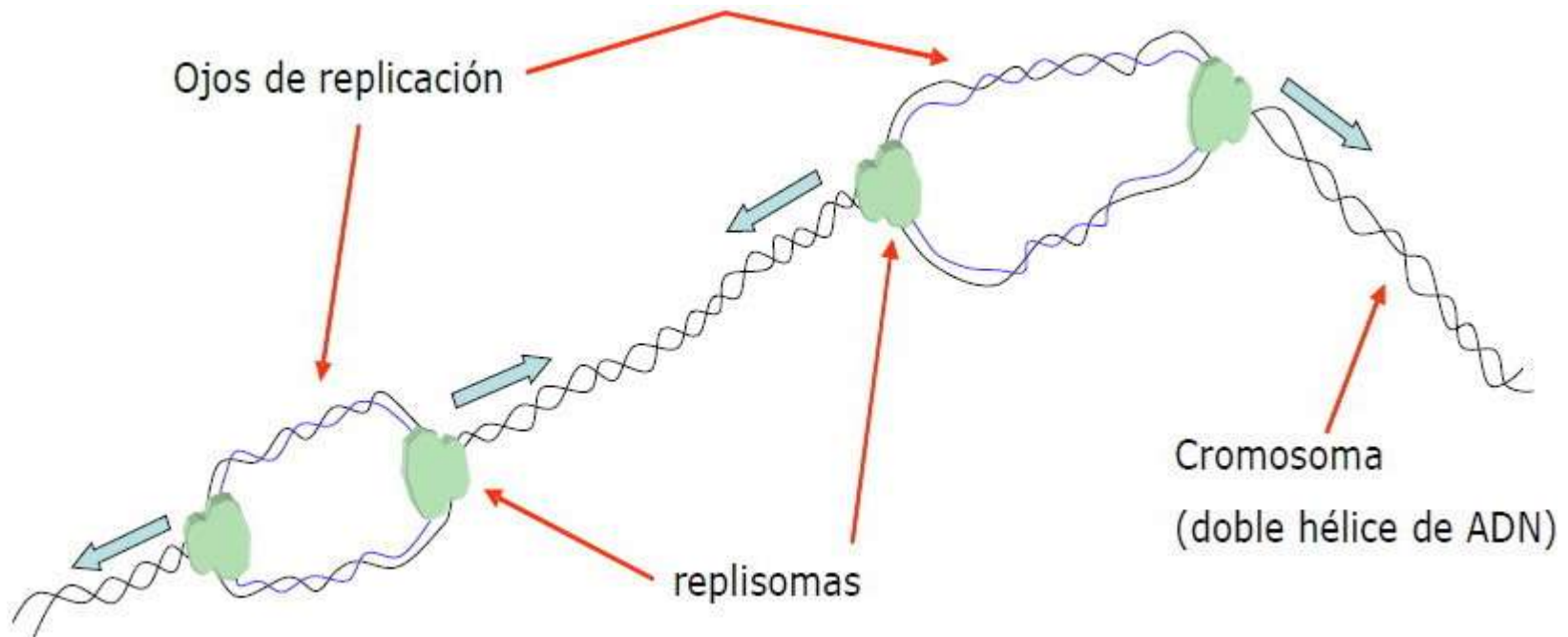


REPLICACIÓN DEL ADN EN EUCARIOTAS



LA REPLICACIÓN DEL ADN EN EUCARIOTAS

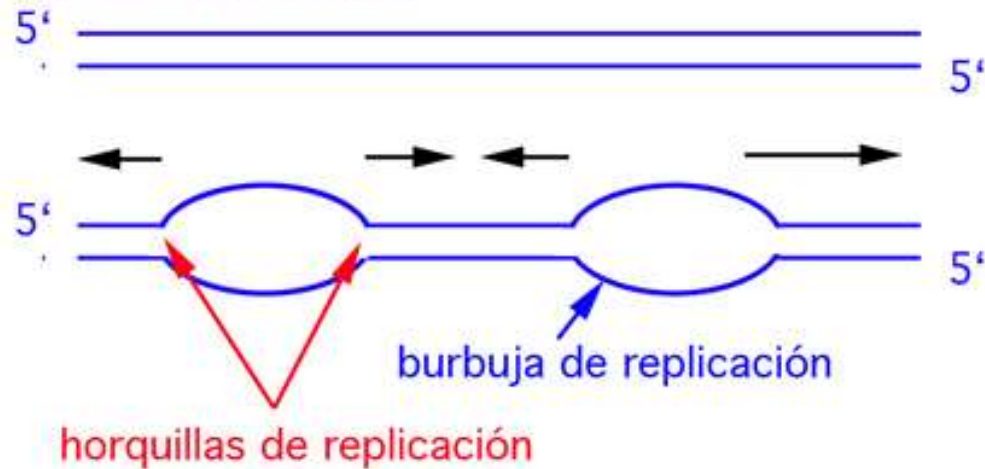
Es similar a las bacterias: es **semiconservativa** y **bidireccional**.



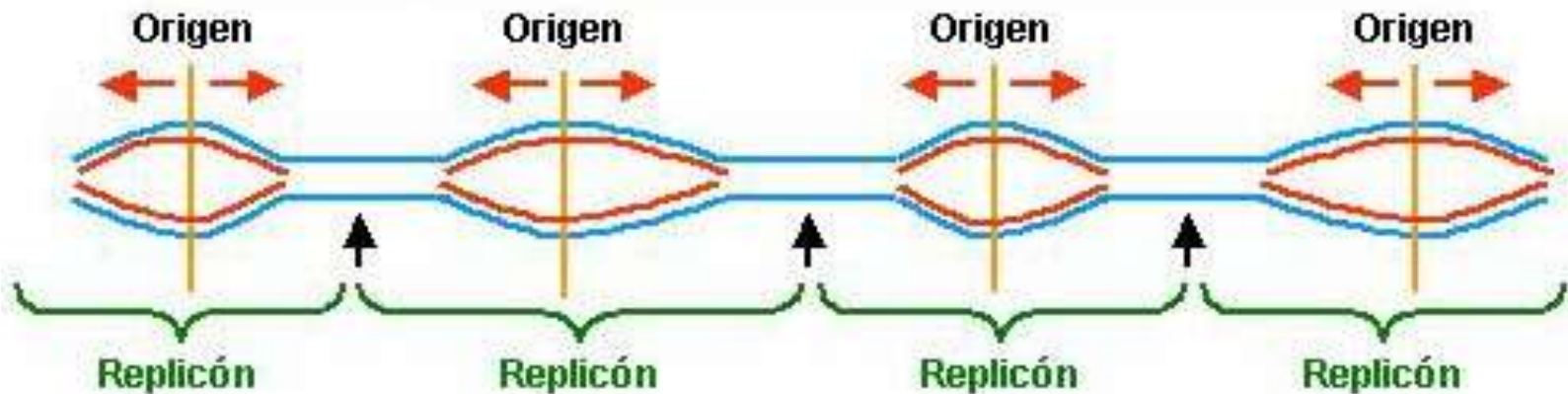
En el ADN de las eucariotas se abren varios ojos de replicación simultáneamente, llamados **replicones**.

LA REPLICACIÓN DEL ADN EN EUCARIOTAS

En las células eucariotas



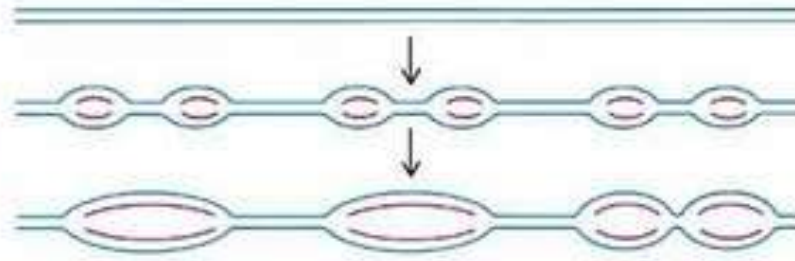
Múltiples orígenes de replicación en los cromosomas eucarióticos



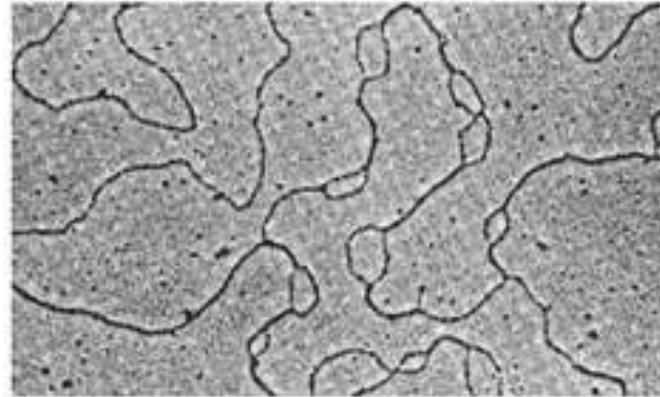
LA REPLICACIÓN DEL ADN EN EUCARIOTAS



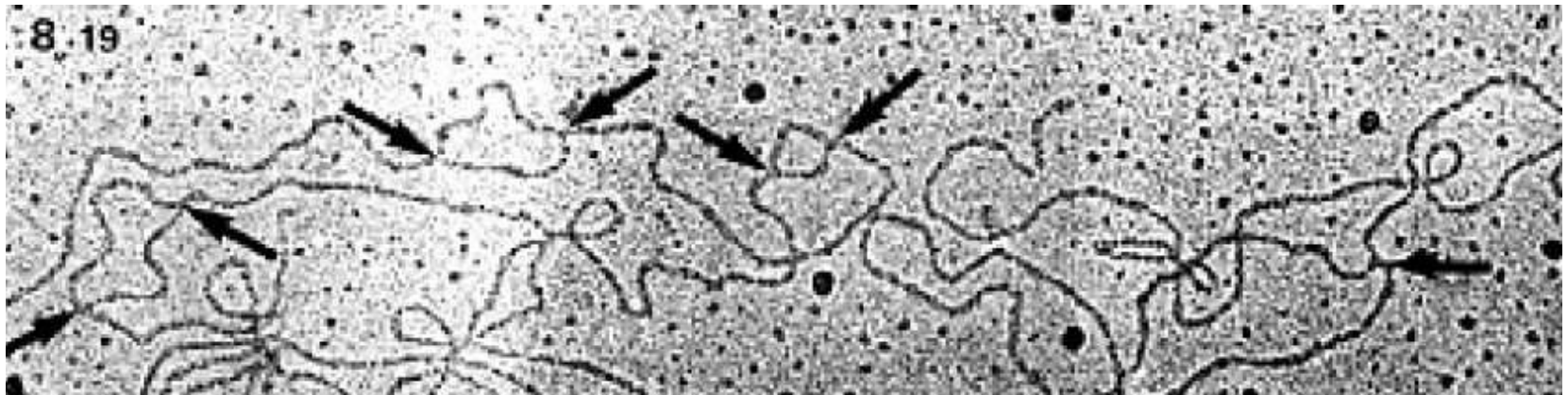
Burbuja de replicación en procariotas



Burbujas de replicación en eucariotas



Las flechas indican los extremos de los ojos de replicación

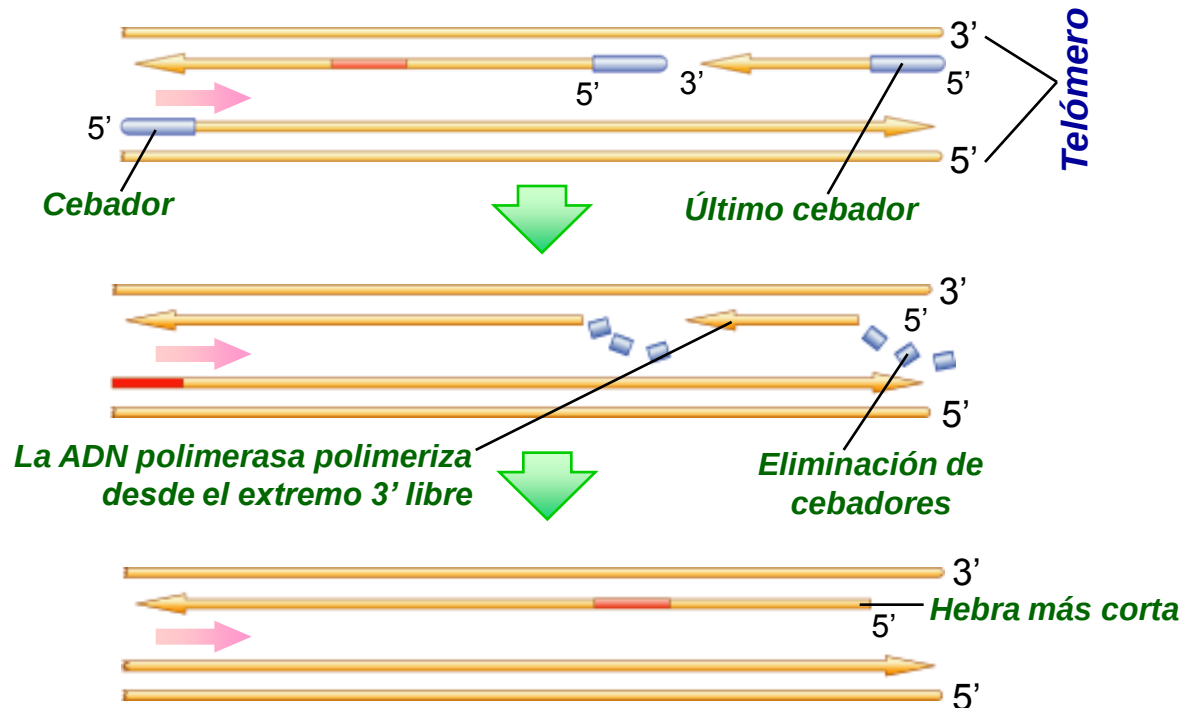


LA REPLICACIÓN DEL ADN EN EUCARIOTAS

Es muy parecida a las bacterias, salvo en algunas diferencias:

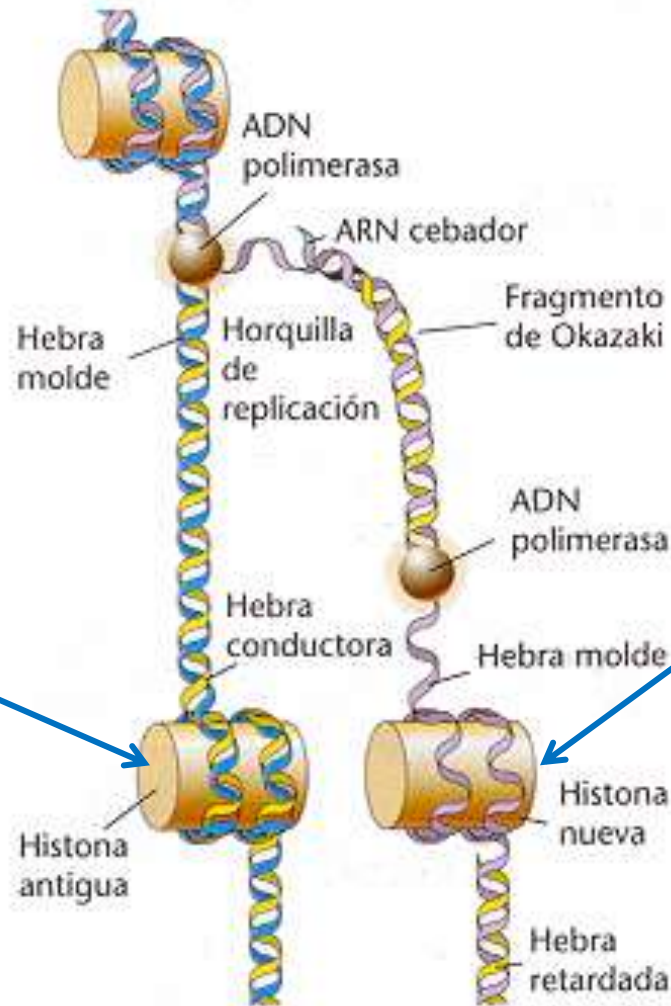
- La replicación se inicia simultáneamente en varios puntos del cromosoma llamados **replicones**.
- Existen cinco tipos de **ADN polimerasas** (α , β , γ , δ , y ϵ).
- Las **histonas** se duplican durante la replicación. Junto al ADN formarán el **nucleosoma**. Los nuevos nucleosomas se incorporan a la hebra retardada y los viejos en la conductora.
- Cuando se elimina el último cebador, la ADN polimerasa no podrá rellenar el hueco, al no poder sintetizar en dirección 3' - 5'.

Debido a esto el extremo del cromosoma (**telómero**) se va acortando cada vez que la célula se divide. Esto se asocia al **envejecimiento** y **muerte celular**.



DUPLICACIÓN DE LAS HISTONAS Y SU REPARTO

El ADN se asocia a las histonas formando los nucleosomas.
La replicación es más lenta que en las procariotas.

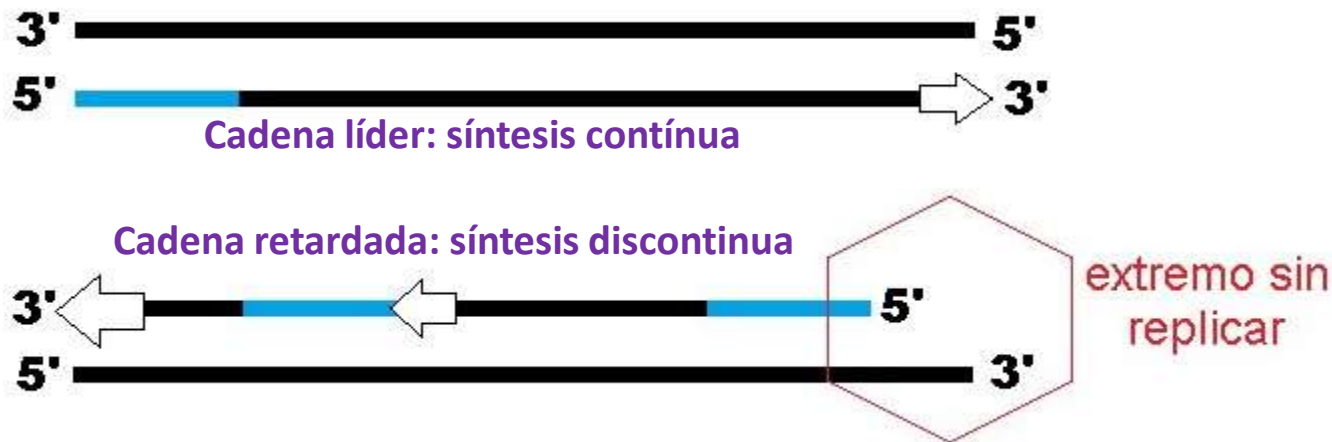


La hebra conductora o líder se asocia a las nucleosomas antiguos.

Los nuevos nucleosomas se incorporan a la hebra retardada.

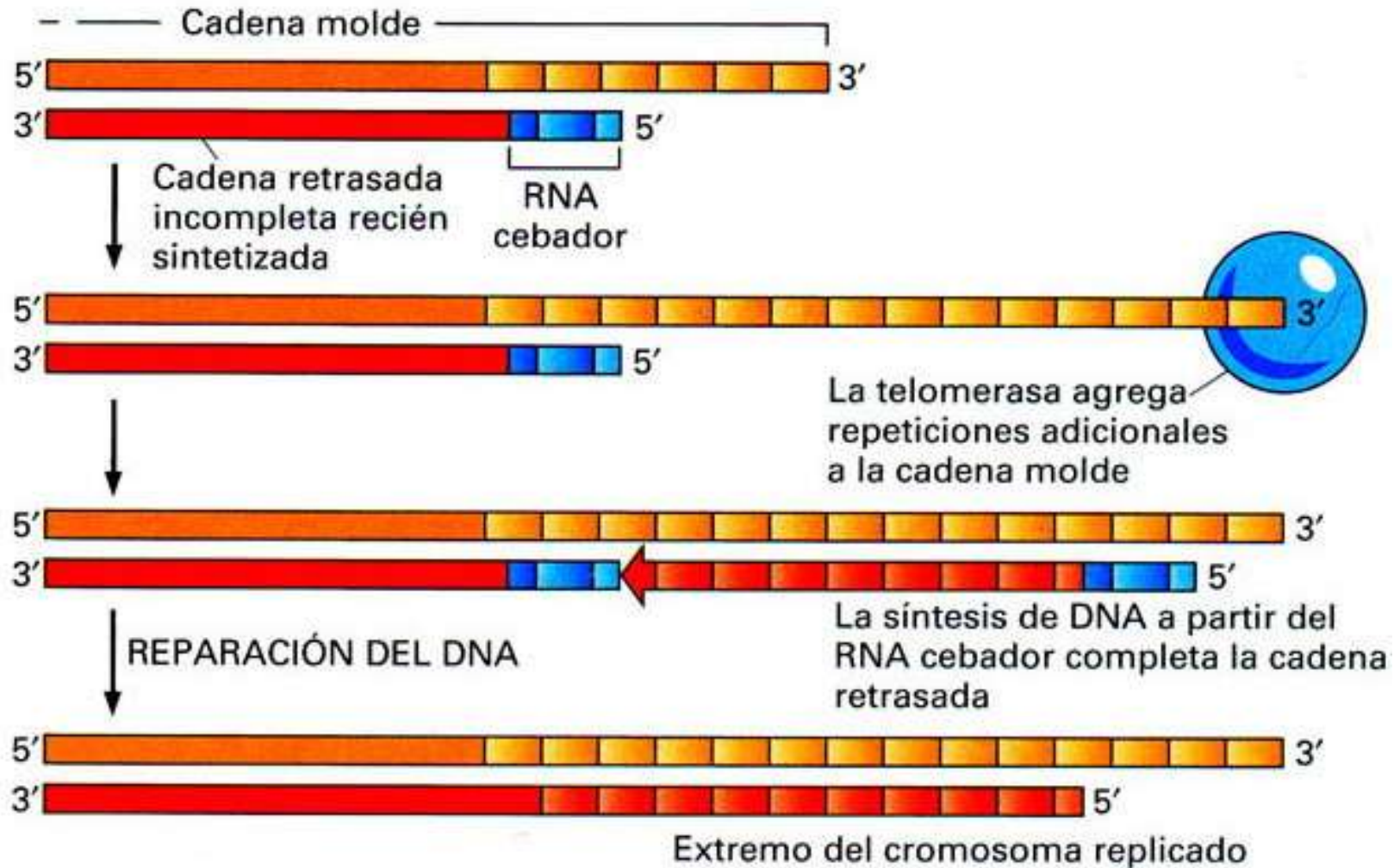
TELÓMEROS: ENVEJECIMIENTO Y MUERTE CELULAR

Los cromosomas eucarióticos son lineales y presentan en sus extremos los telómeros, constituidos por secuencias repetitivas. Cuando se replica el ADN lineal, los extremos 5' de los telómeros no pueden ser replicados.



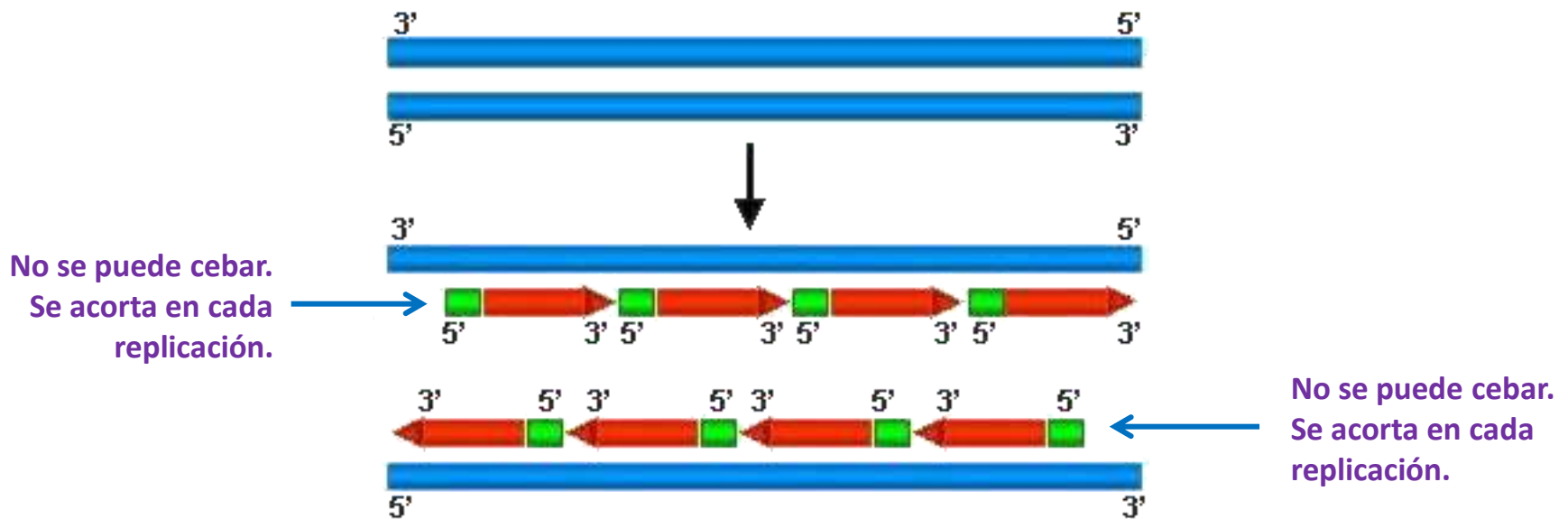
Cuando se elimina el **ARN cebador** del extremo 5' de cada una de las hebras recién sintetizadas, el hueco que queda no lo pueden rellenar las **ADN polimerasas**, porque no encuentran **extremos hidroxilos 3'** libres sobre los que adicionar nuevos nucleótidos.

DUPLICACIÓN A NIVEL DE LOS TELÓMEROS



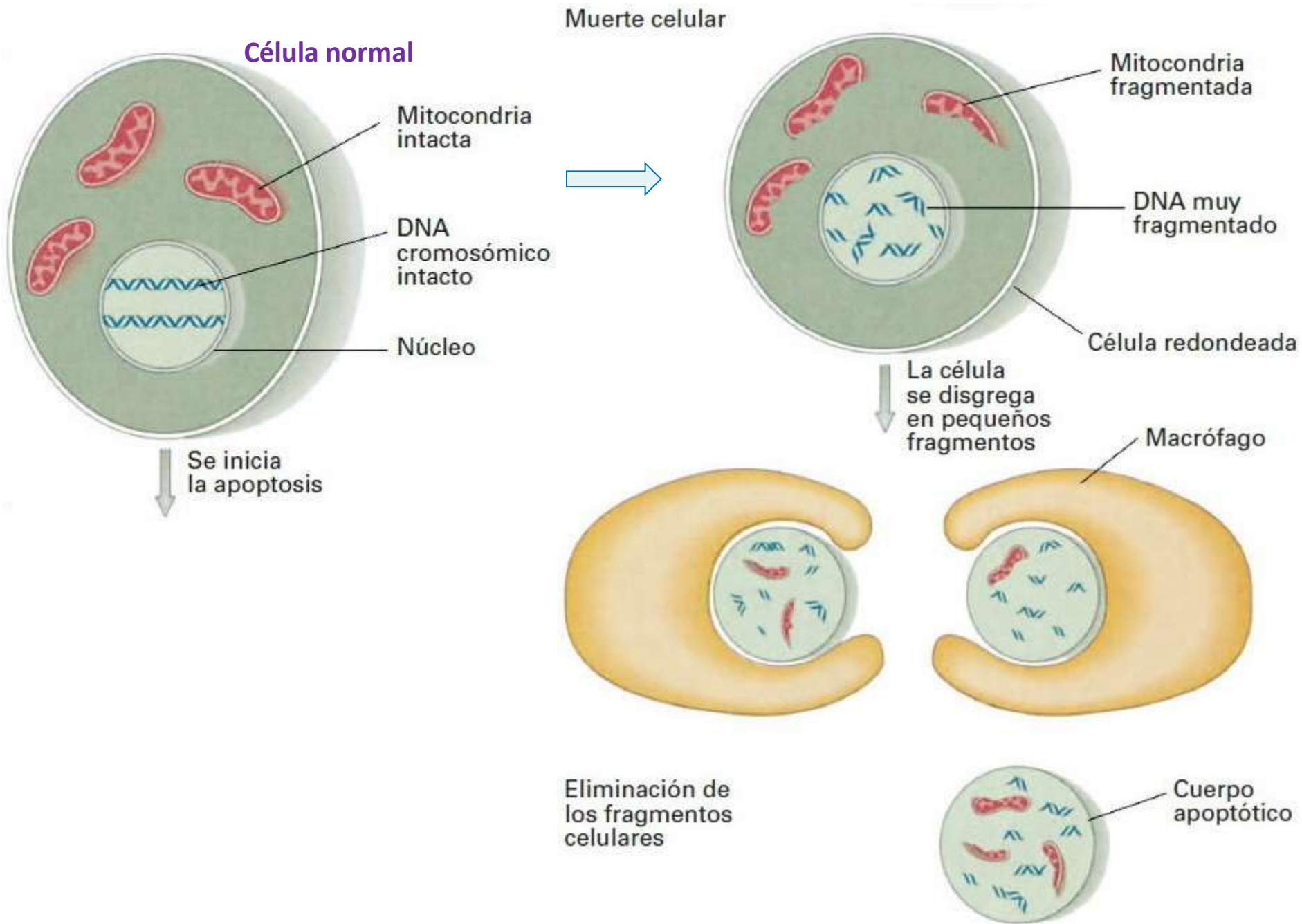
EL ACORTAMIENTO DE LOS TELÓMEROS Y LA APOPTOSIS

Al no poder replicar los extremos, el telómero se va acortando en cada ciclo de replicación durante la fase S del ciclo celular. Ello se relaciona con el envejecimiento y la apoptosis o muerte celular programada.



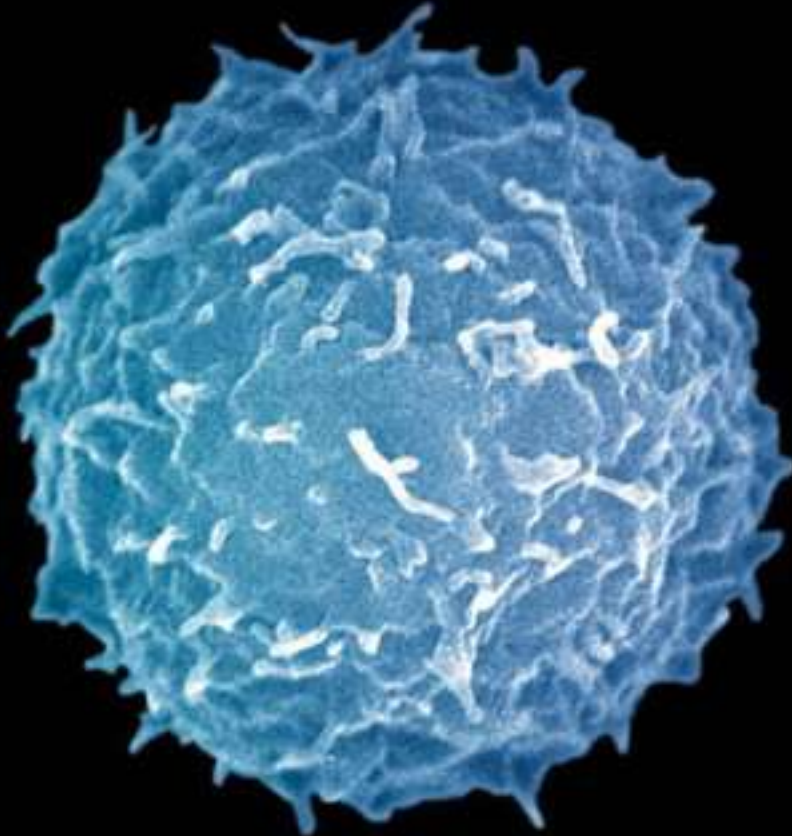
Cuando se produce la pérdida de una cantidad importante de material genético de los telómeros, quedan al descubiertos los extremos “pegajosos” de los cromosomas. Éstos se unen unos con otros y se altera el reparto equitativo de los cromosomas durante la *mitosis*. Entonces la célula activa el mecanismo de **apoptosis**. Así, la célula “sabe” cuántas divisiones celulares son aún posibles.

EL ACORTAMIENTO DE LOS TELÓMEROS Y LA APOPTOSIS



EL ACORTAMIENTO DE LOS TELÓMEROS Y LA APOPTOSIS

Celula Blanca Normal

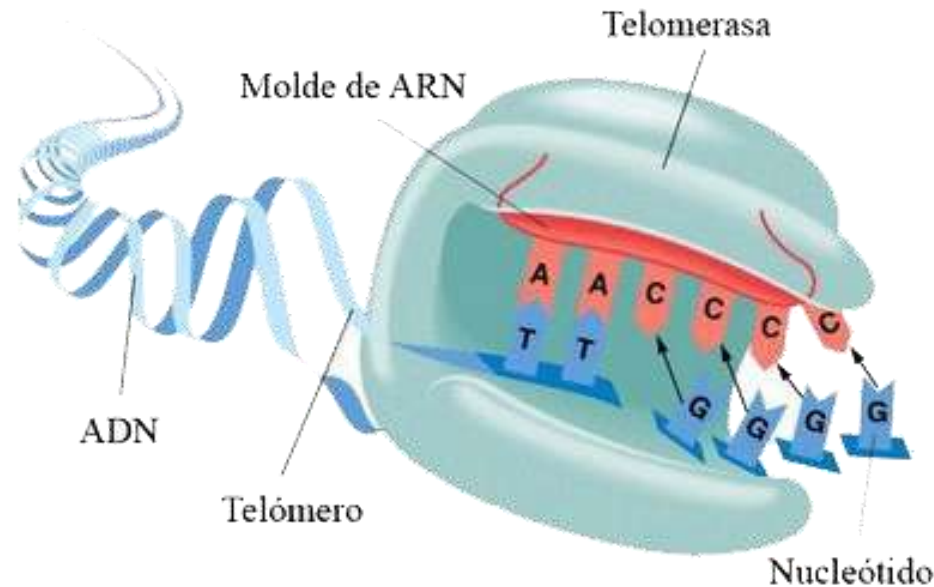


Célula Blanca Apoptótica



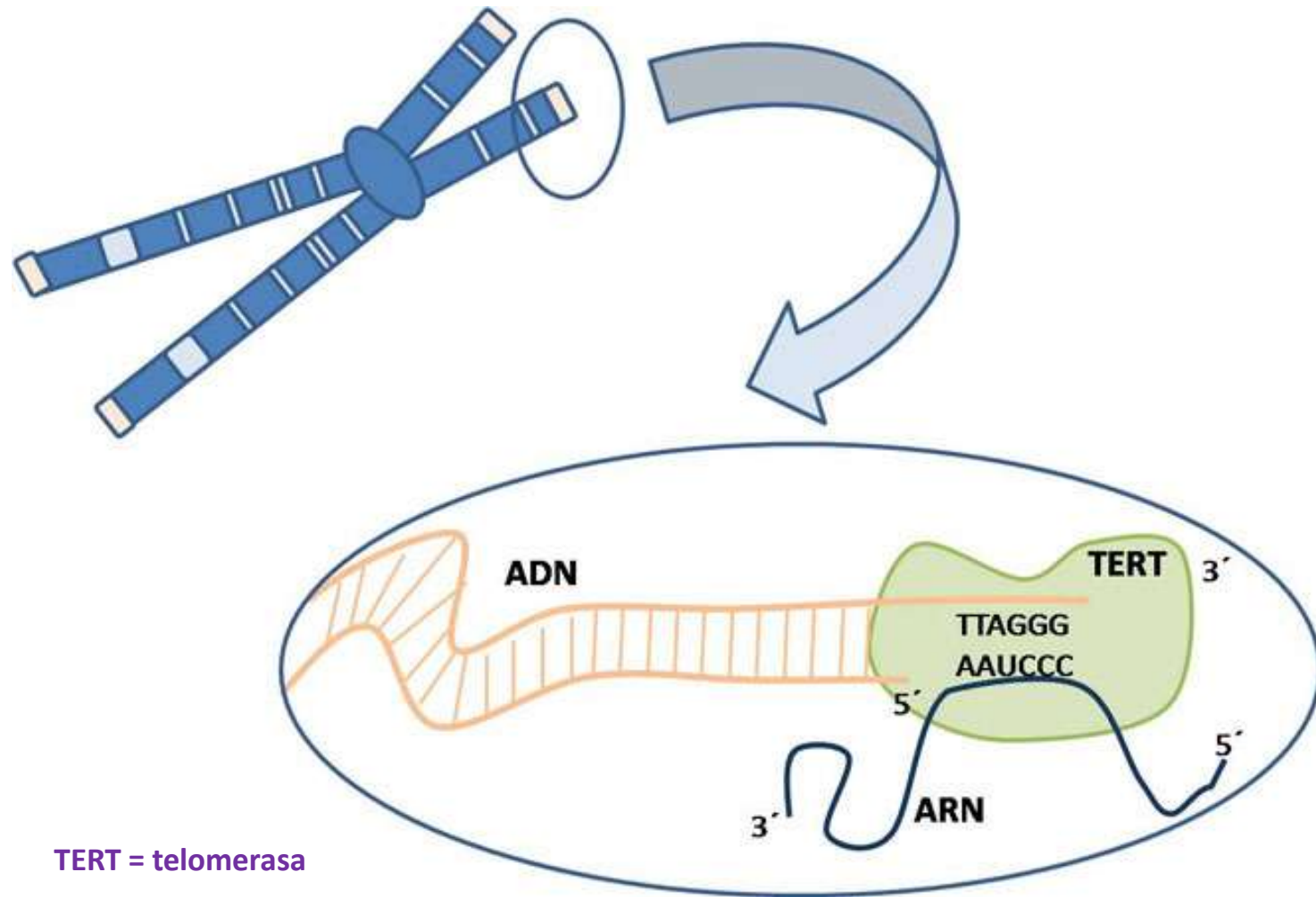
LA TELOMERASA: CLAVE DE LA INMORTALIDAD

La **telomerasa** neutraliza el acortamiento de los telómeros de algunas células, como la **células madre** y las **cancerígenas**, convirtiéndolas en inmortales.



La **telomerasa** es una **ribonucleoproteína** que actúa como **transcriptasa inversa**. Contiene una hebra de ARN que actúa como molde para la síntesis de la secuencia telomérica de ADN, que se le añade a los extremos 3' de cada cromosoma, evitando su acortamiento en cada replicación.

LA TELOMERASA: CLAVE DE LA INMORTALIDAD



Déjalo ya, esto
se acabó...

