

TEMA 8. REPLICACIÓN DEL DNA.

La replicación del DNA es cuando éste hace una copia de sí mismo por medio de un enzima que además de ser muy exacto posee un sistema de reparación de errores. El mecanismo de replicación es esencialmente el mismo en todas las células. Es un proceso semiconservativo porque cada uno de los dos DNA hijo tiene una cadena del DNA anterior.

En las células procariotas hay 1 lugar origen de replicación y siempre veremos la horquilla de replicación que señala el avance de la copia. La horquilla indica que se está haciendo la separación y la replicación a la vez. El avance es bidireccional por lo que se acorta el tiempo. En el sitio en que empieza la replicación se organizan las proteínas en un complejo llamado replisma.

En eucariotas el proceso es esencialmente el mismo pero el DNA es mucho más grande y lineal. Hay varios orígenes de replicación y es bidireccional. El avance es más lento que en procariotas ya que hay más proteínas asociadas al DNA que hay que soltar. Proceso semidiscontinuo.

Enzimas polimerasas.

Sintetizan DNA. Kornberg descubrió el primero en 1958. catalizan la adición de un nucleótido al extremo 3' mediante un enlace fosfodiéster. Este nucleótido estará en forma activada: nucleósido trifosfato. Al adicionar se separa un pirofosfato. Es una reacción muy favorable porque romper pirofosfato en fosfato es muy favorable, desplazándose a la derecha. Para que la DNA polimerasa funcione necesitamos 2 cosas:

- La cadena a sintetizar deberá tener un orden determinado de nucleótido por lo que necesita una plantilla (semicadena de DNA) para añadir determinado nucleótido y no otro.
- Para que la polimerasa actúe necesitamos un cebador (3' OH) que da el principio para alargar la cadena.

La DNA polimerasa es un enzima procesivo, porque se une y luego se suelta al finalizar la síntesis.

Procariotas.

Hay 3 tipos de DNA polimerasa, también llamada DNA dependiente porque necesita el DNA:

- DNA polímerasa 1: es la mejor caracterizada, se encarga del proceso de replicación y reparación del DNA. Reconoce los cortes (*nicks*).
- DNA polimerasa 2: no se sabe bien su utilidad.
- DNA polimerasa 3: implicada preferentemente en la replicación, formada por 10 subunidades distintas y normalmente funciona como un dímero. Cada monómero copia una cadena.

Requieren 3' OH por lo que sintetizan en una única dirección 5'3'. Sólo son capaces de alargar la cadena 5'3'. La DNA pol 3 tiene además función exonuclear para degradar DNA desde los extremos 3'5' (una endonucleasa degradaría desde el medio). La ventaja de ser exonucleasa es la de corregir errores. Si una base está mal puesta distorsiona la molécula, por lo que se detecta el error, retrocede y lo corrige. La tasa de error es del orden de 10^{-5} , pero con la corrección desciende hasta 10^{-8} .

Problema de avance: La horquilla de replicación se va abriendo y se van sintetizando las cadenas. La DNA polimerasa sólo copia en dirección 5'3', aunque se sabe que las dos cadenas se copian simultáneamente. La

otra cadena se sintetiza en forma discontinua en trozos de unos 1000 nucleótidos (fragmentos de Okazaki) por el mismo enzima. Por esto se dice que la replicación es un proceso semidiscontinuo. Esto fue descrito en 1968 por Okazaki.

La hebra conductora es la sintetizada de forma continua y la hebra retrasada o retardada es la otra. Esto presenta dos problemas:

- Hay que unir los trozos con un enzima ligasa.
- Necesitamos muchos cebadores. Dentro del replisoma hay un enzima primasa que crea cebadores (trozo de RNA de unos 10 nucleótidos).

Hay proteínas helicicas que desenrollan la hélice para que el complejo de replicación avance. Para que no se vuelva a enrollar otras proteínas se unen a la cadena sencilla, las SSB (*Single Stranded Binding*)

El inicio de la replicación está favorecido por una secuencia determinada es reconocida por proteínas específicas, codificadas por el gen *dna A*, que hacen que el DNA se desnaturalice y se instalen los dos complejos de replicación. En *E. Coli*, que tiene DNA circular, el fin de la replicación está a 180° del inicio. Las proteínas llamadas tus bloquean el avance de la horquilla de replicación instalándose en la cadena y luego hacen que se separen las dos cadenas para obtener dos cadenas hijas.

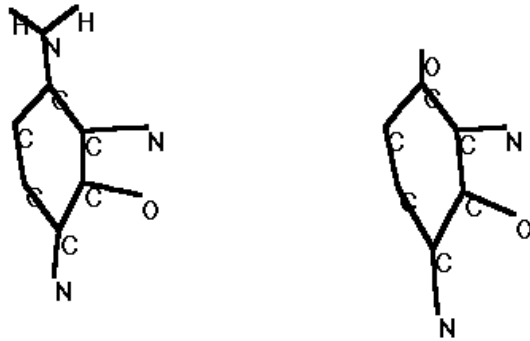
Reparación.

Sólo hay mecanismo de reparación para el DNA. Si éste resulta dañado se produce una mutación, que es un fallo en la información, lo que provoca una alteración en la secuencia de bases y como resultado un mensaje distinto. Puede que este cambio afecte a una proteína esencial o que no importe, con lo que la mutación pasa a la descendencia.

La reparación disminuye los errores que pueden ser:

- Daños por agentes químicos: alquilación, oxidación, metilación del DNA, desaminación del DNA.
- Errores de la DNA polimerasa.
- Espontáneos: desaminaciones, pérdida de bases.
- Luz ultravioleta: cuando hay dos timinas juntas puede producir dímeros uniéndolas covalentemente. La cadena se distorsiona y para replicar el DNA hay que romper estos enlaces mediante varios mecanismos:
- Un enzima fotorreactivante reconoce la distorsión. Necesita la acción de la luz visible.
- Reparación por escisión: es más general, una endonucleasa reconoce la distorsión y corta la cadena de nucleótidos por dos sitios. Necesita una helicasa que siempre requiere energía. Para reparar el hueco una DNA polimerasa 1 se engancha al OH y lo alarga. Una ligasa une los trozos al final..

Daño por desaminación: es muy importante porque espontáneamente una base se transforma en otra, por ejemplo, una citosina en uracilo:



Al replicar ahora se pone una base equivocada y el error se propaga. Para corregirlo primero un enzima capaz de romper la base (enlace N – Glicosídico). Una glicosidas reconoce específicamente la distorsión producida por el error, que no se unirán por tres puentes de hidrógeno . Ahora otro enzima recorre el sitio sin base, una nucleasa repone el nucleótido sin base.

.