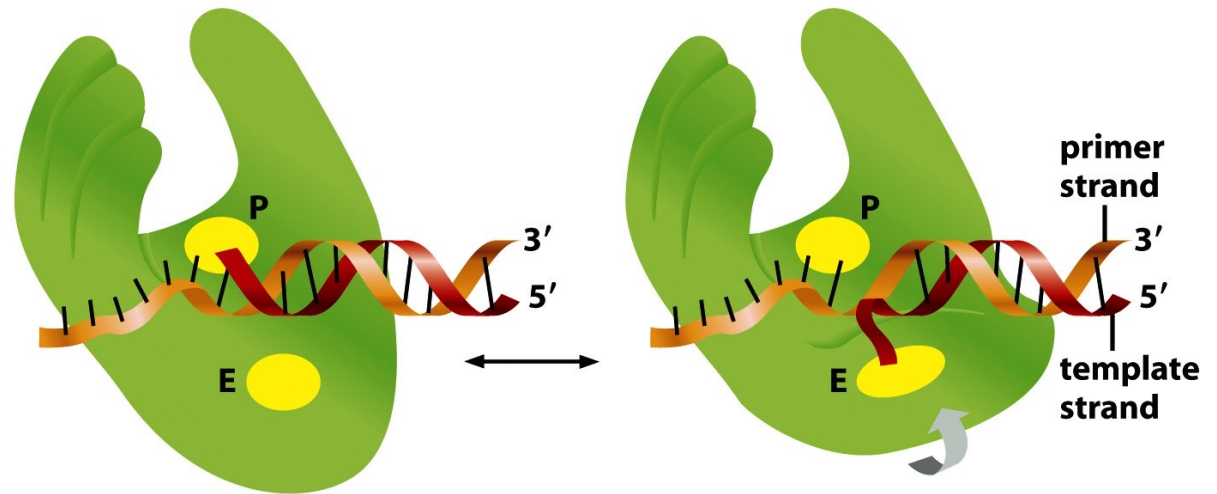
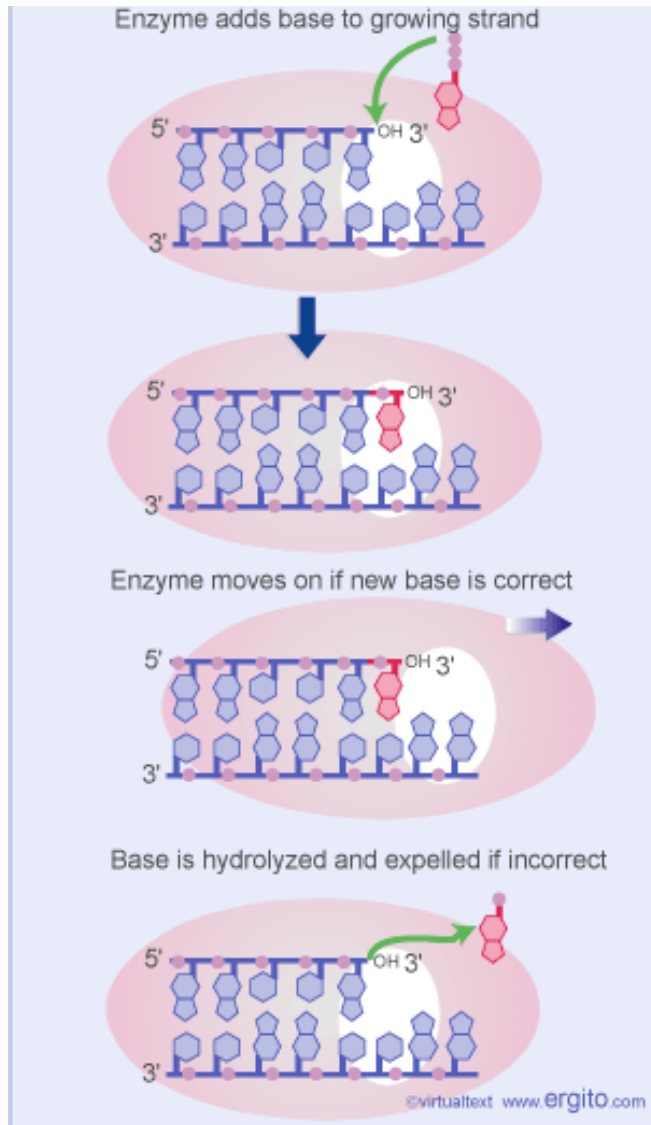




1. ¿Sobre cuál cadena se coloca la helicasa dnaB?
2. ¿Cuál es la cadena discontinua?
3. ¿Sentido de esta horquilla de replicación?

Fidelidad de la Replicación



POLIMERIZANDO

EDITANDO

Actividad POLIMERASA
 $5' \rightarrow 3'$

Actividad EXONUCLEASA
 $3' \rightarrow 5'$

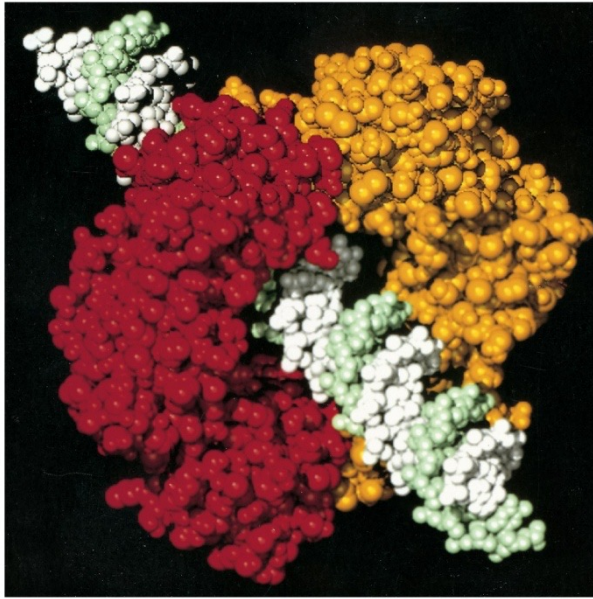
La edición se realiza de $3' \rightarrow 5'$ (reversibilidad), si colocó un nucleótido erróneo (no apareado bien con el molde). Debido a esto solo comete 1 error cada 10^8 nt

Todas las DNA polimerasas tienen capacidad de corregir errores: actividad exonucleasa 3' → 5'.

Solo la DNA pol III es procesiva y altamente catalítica (Replicasa)

	DNA polymerase		
	I	II	III
Structural gene*	<i>polA</i>	<i>polB</i>	<i>polC (dnaE)</i>
Subunits (number of different types)	1	7	≥10
M_r	103,000	88,000 [†]	791,500
3'→5' Exonuclease (proofreading)	Yes	Yes	Yes
5'→3' Exonuclease	Yes	No	No
Polymerization rate (nucleotides/s)	16–20	40	250–1,000
Processivity (nucleotides added before polymerase dissociates)	3–200	1,500	≥500,000

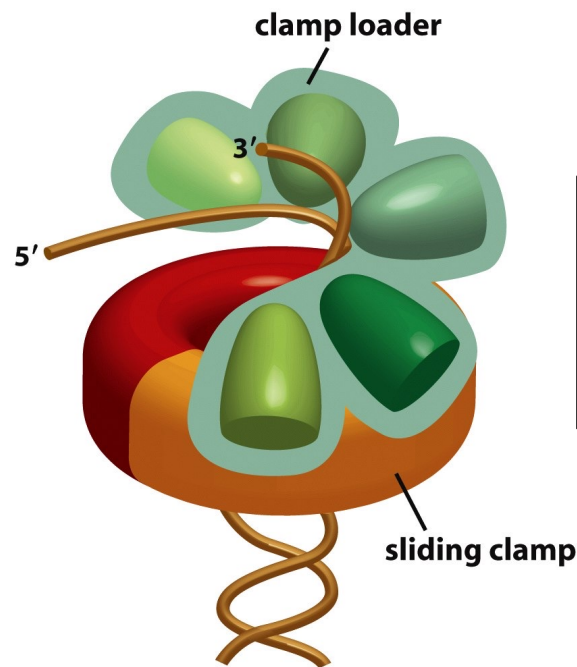
Solo la DNA pol I posee actividad exonucleasa 5' → 3'. Esto le da la posibilidad de eliminar cebadores de RNA.



Procesividad de la DNA polimerasa III

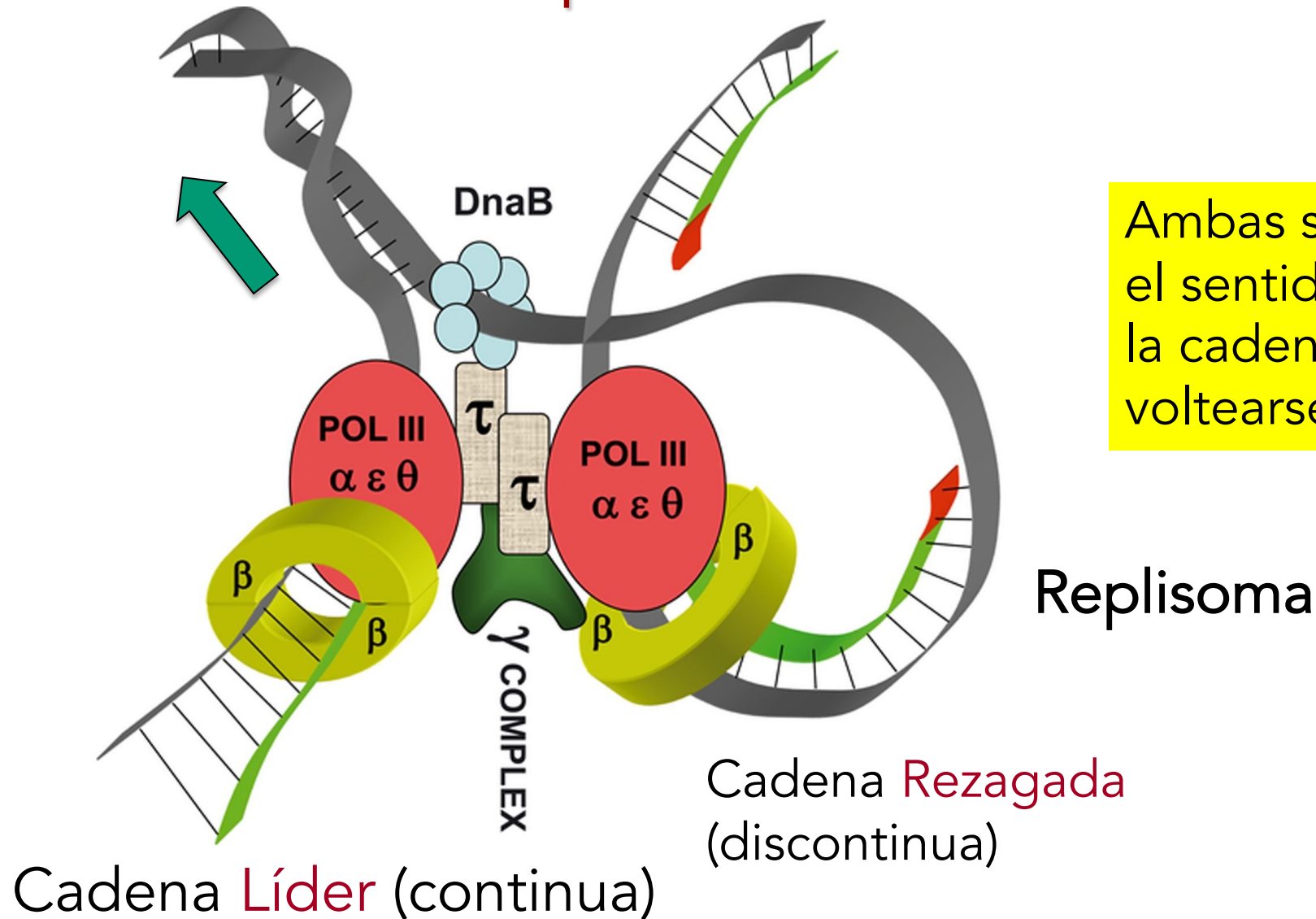
La subunidad β forma una abrazadera unida a cada subunidad catalítica, dando PROCESIVIDAD a la DNA pol III

PROCESIVIDAD significa polimerizar sin soltar el DNA molde a lo largo de muchos nucleótidos (>500,000)

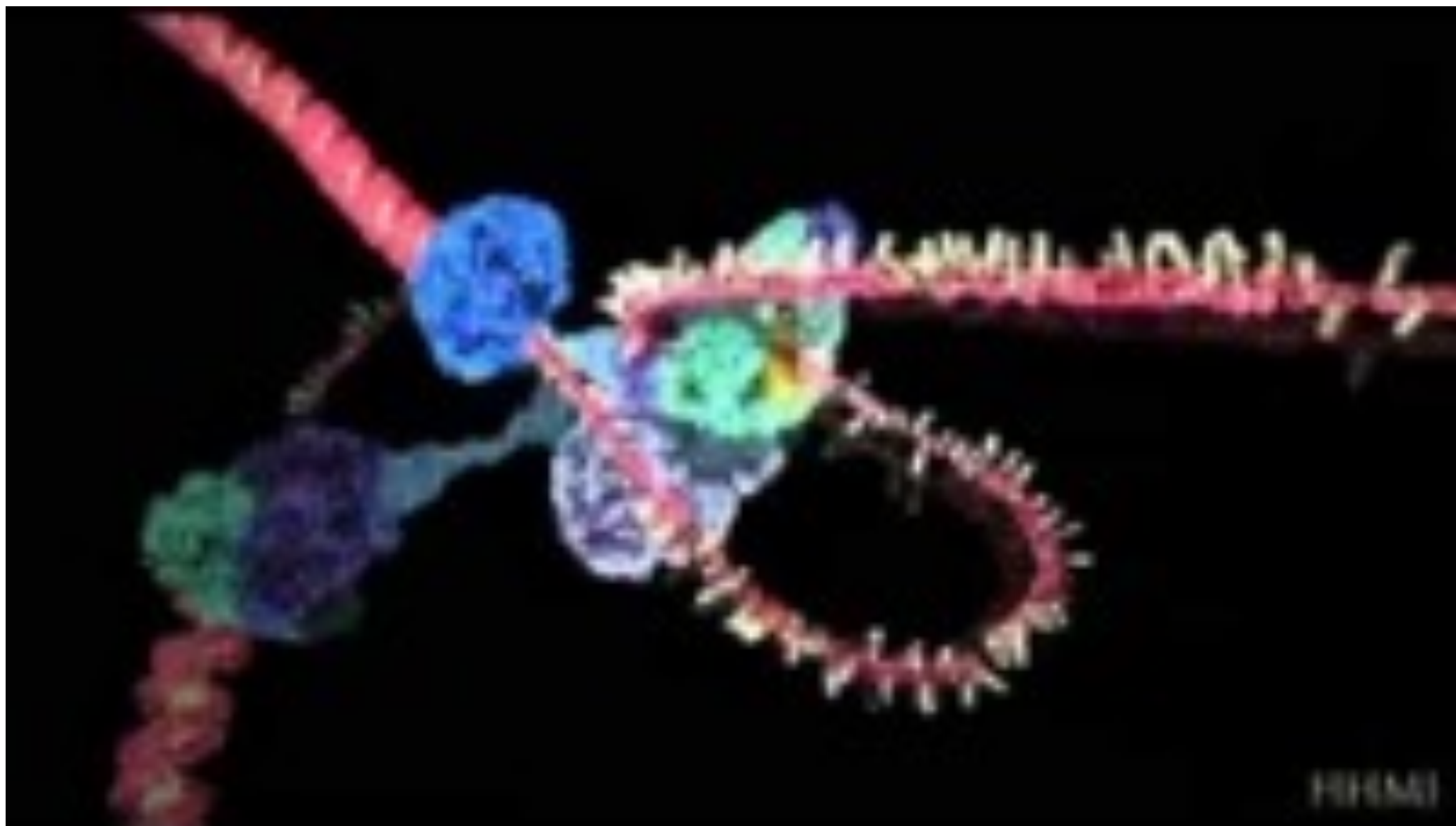


El complejo γ ayuda a posicionar una abrazadera sobre cada hebra de ADN

Se dimerizan dos subunidades catalíticas que actúan simultáneamente para ambas cadenas en la Horquilla



Ambas sintetizan DNA en el sentido 5' \rightarrow 3' Por eso la cadena rezagada debe voltearse



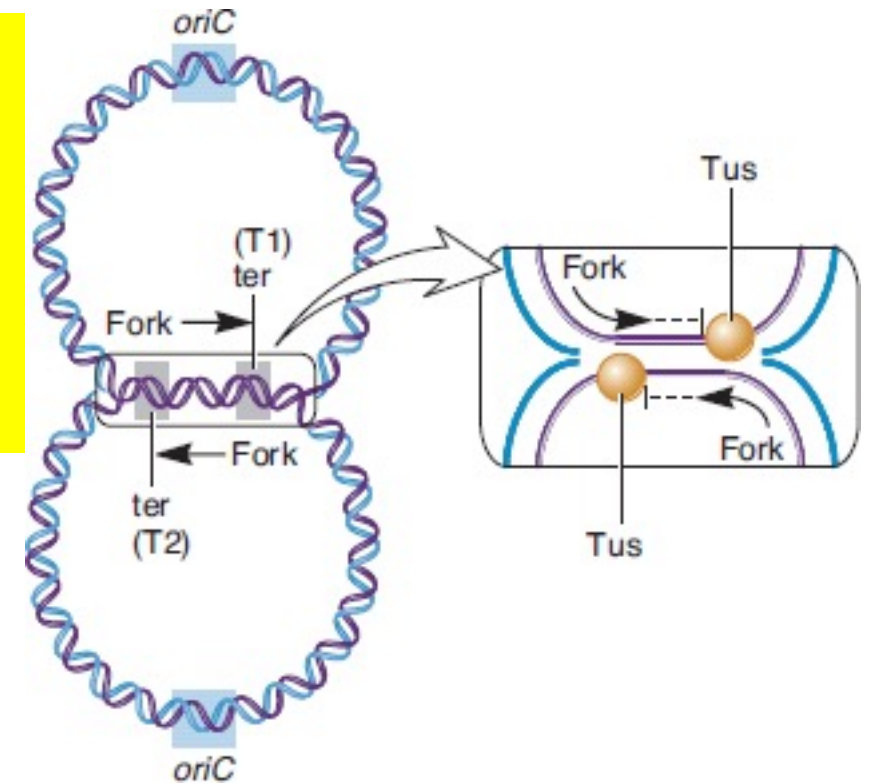
FRONT

Terminación de la Replicación

La terminación es esencialmente diferente entre procariontes y eucariontes

La razón de esto radica principalmente en el tipo de molécula de DNA (circular vs lineal) y su estructuración

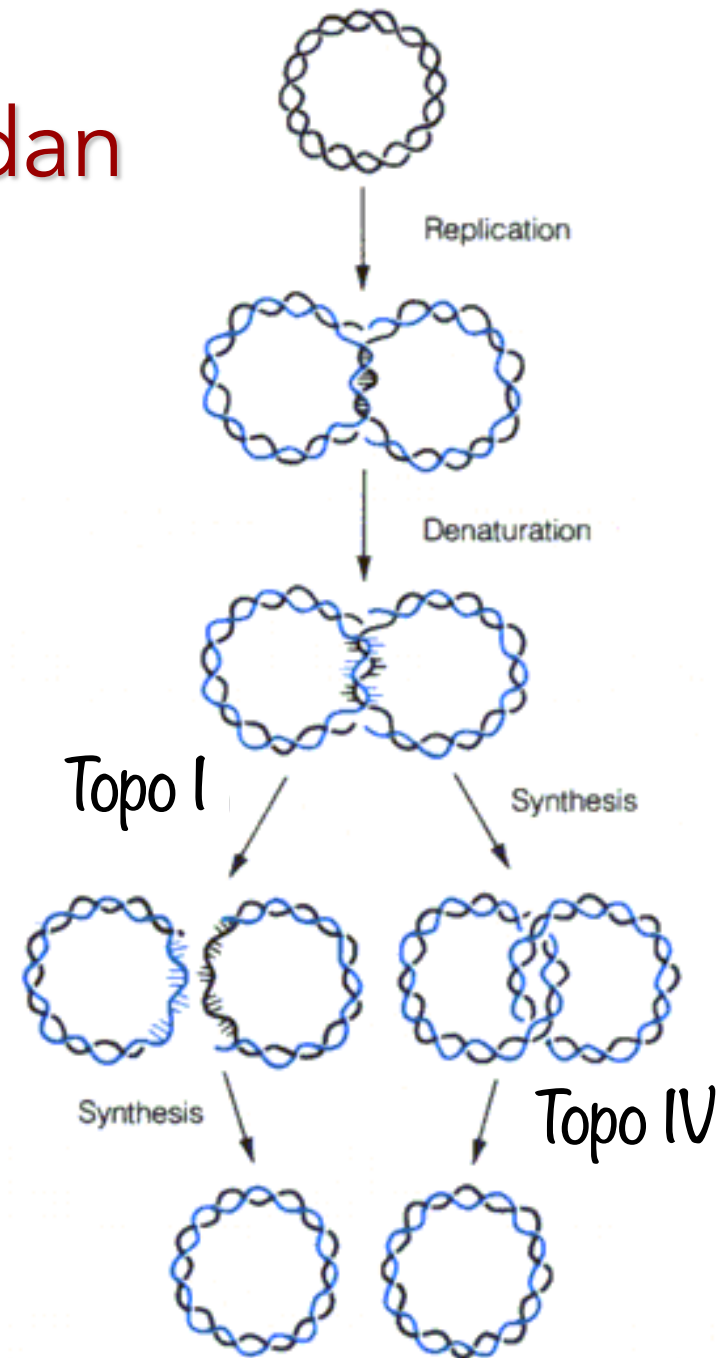
En bacterias, opuesto al OriC hay secuencias de terminación (**Ter**) Orientadas para cada horquilla y reconocidas por proteínas **Tus**



Los DOS círculos de DNA quedan enlazados (concatémeros)

La resolución de concatémeros es por una TOPOISOMERASA:

- a) Topo I resuelve concatémeros con replicación incompleta
- b) Topo IV resuelve concatémeros que han completado la replicación



Replicación de DNA en EUKARIOTES

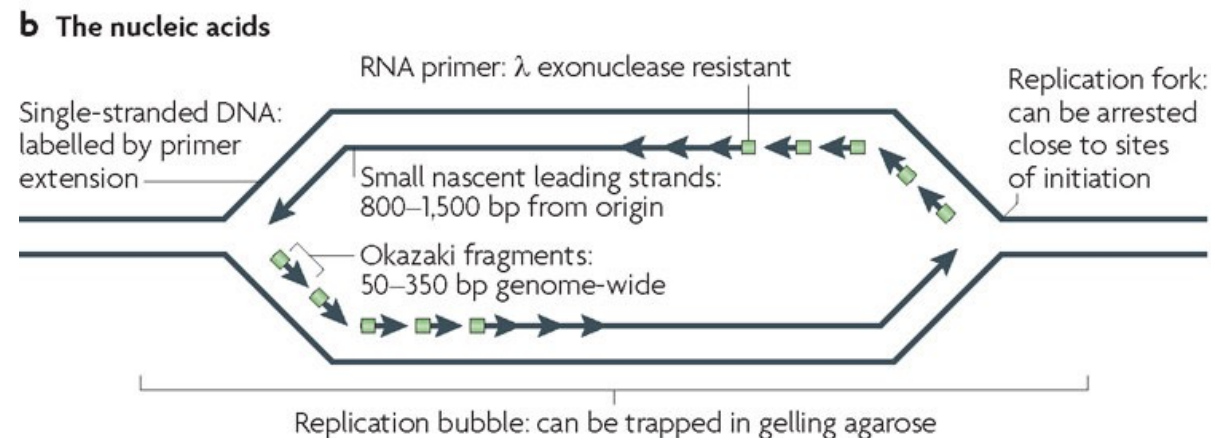
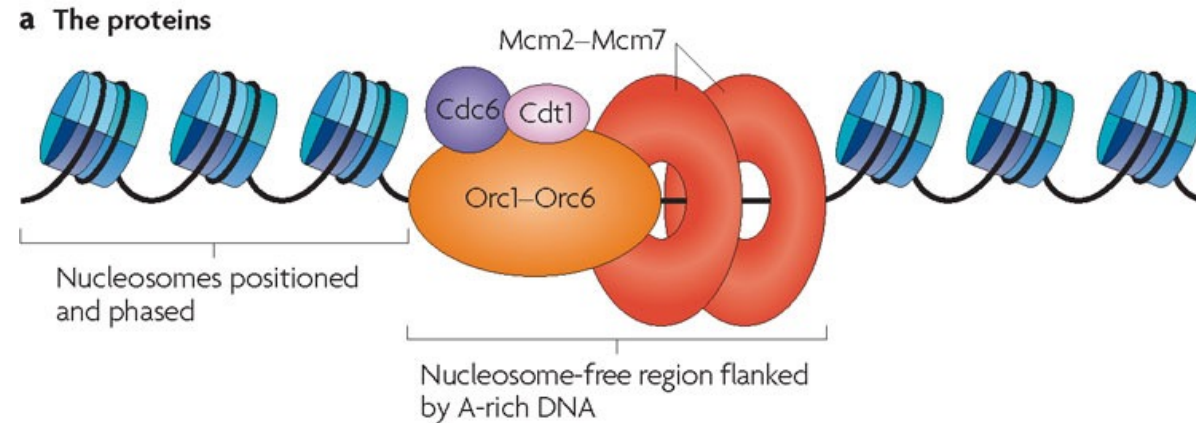
- ✧ Inicio *
- ✧ Elongación
- ✧ Terminación *

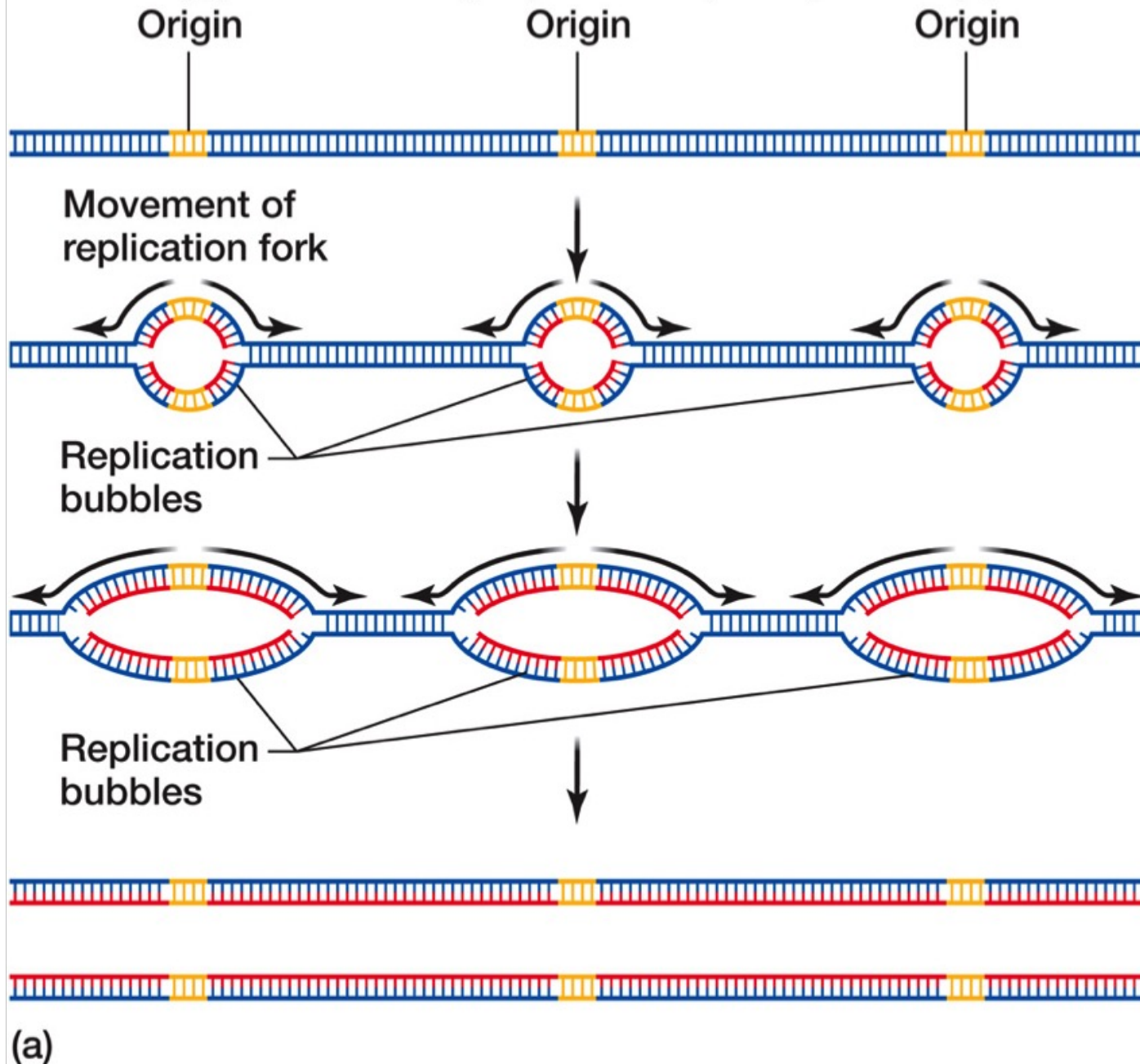
Similitudes con bacteria:

- Semi-conservativa
- Bi-direccional
- Cebadores de RNA
- DNA polimerasas

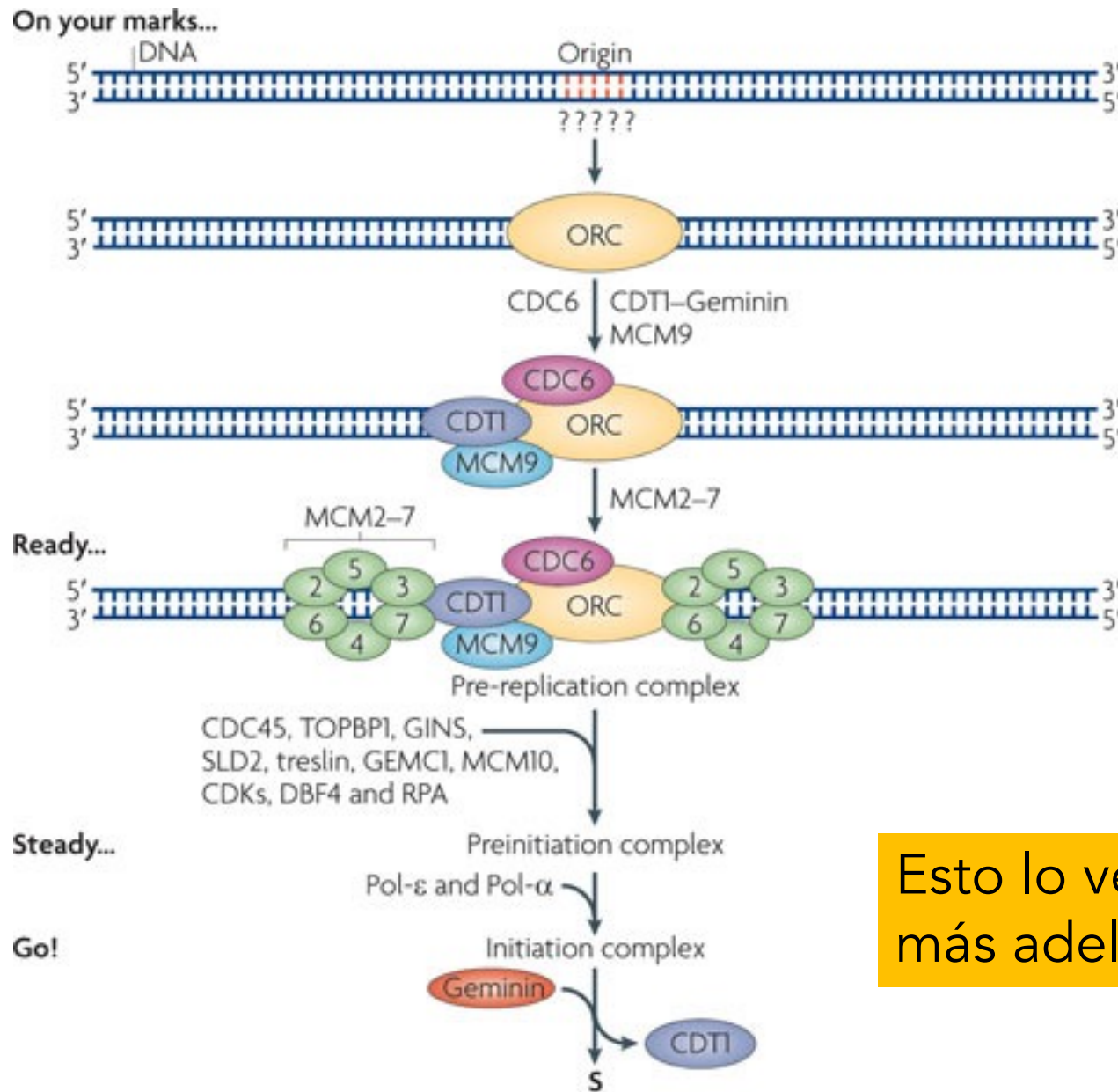
DIFERENCIAS:

- Múltiples orígenes
- Dos replicasas
- Cromatina
- Terminación-Telómeros





- Cada cromosoma tiene varios orígenes
- La replicación para cada origen inicia en diferente momento
- Los orígenes no tienen una secuencia conservada
- El elemento que identifica los orígenes es ORC (complejo de reconocimiento del origen)
- La replicación es bidireccional para cada origen

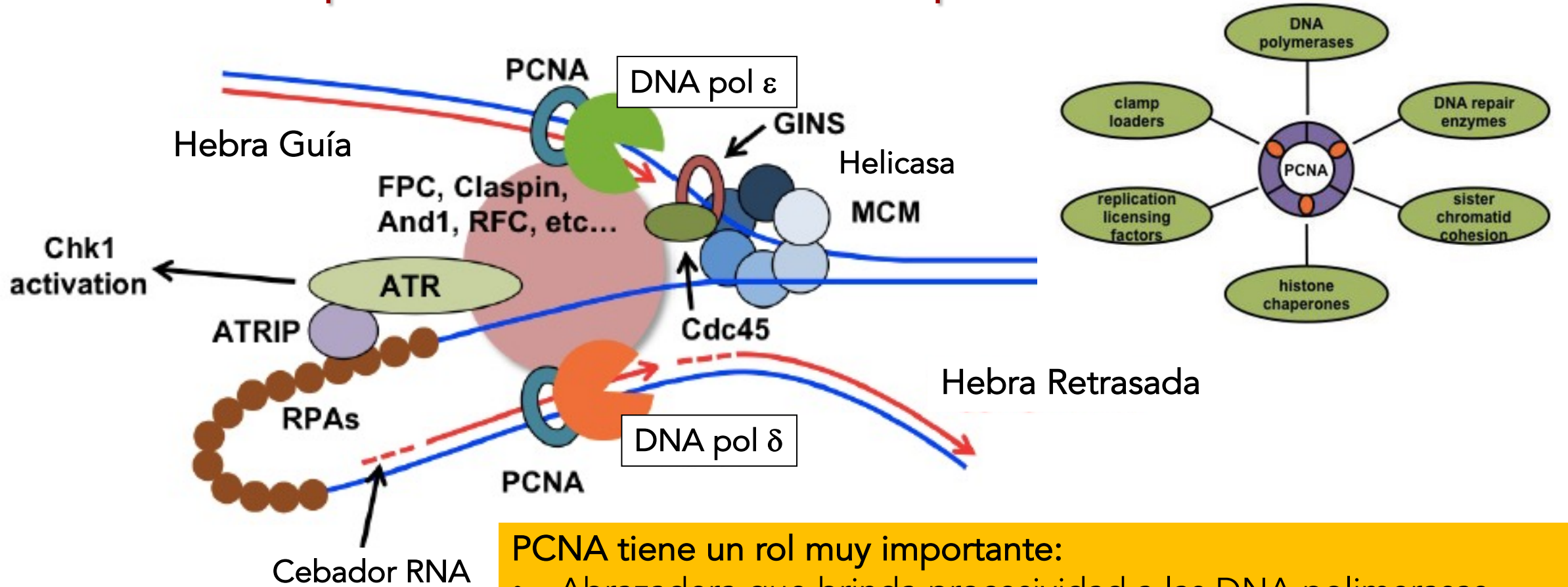


La activación de los orígenes depende de la regulación del ciclo celular

Durante la interfase y previo a la fase S se forman complejos pre-replicativos en los orígenes

Esto lo veremos con detalle mucho más adelante en el curso

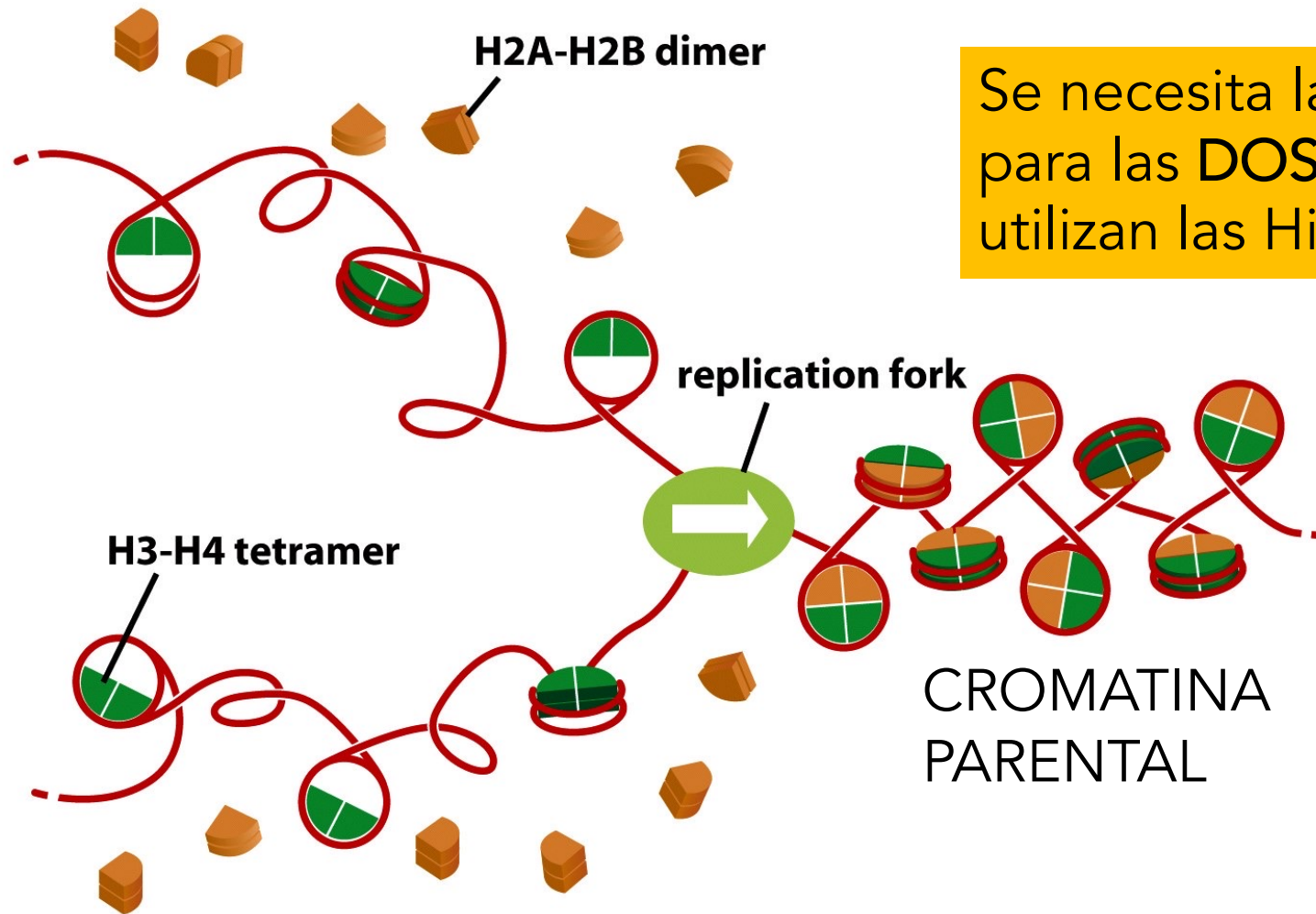
Las horquillas de replicación son similares a las bacterianas, pero intervienen más proteínas



PCNA tiene un rol muy importante:

- Abrazadera que brinda procesividad a las DNA polimerasas
- Andamio para reclutar otras proteínas involucradas en replicación
- Ayuda a la formación de cromatina
- Promueve asociación entre las cromátidas

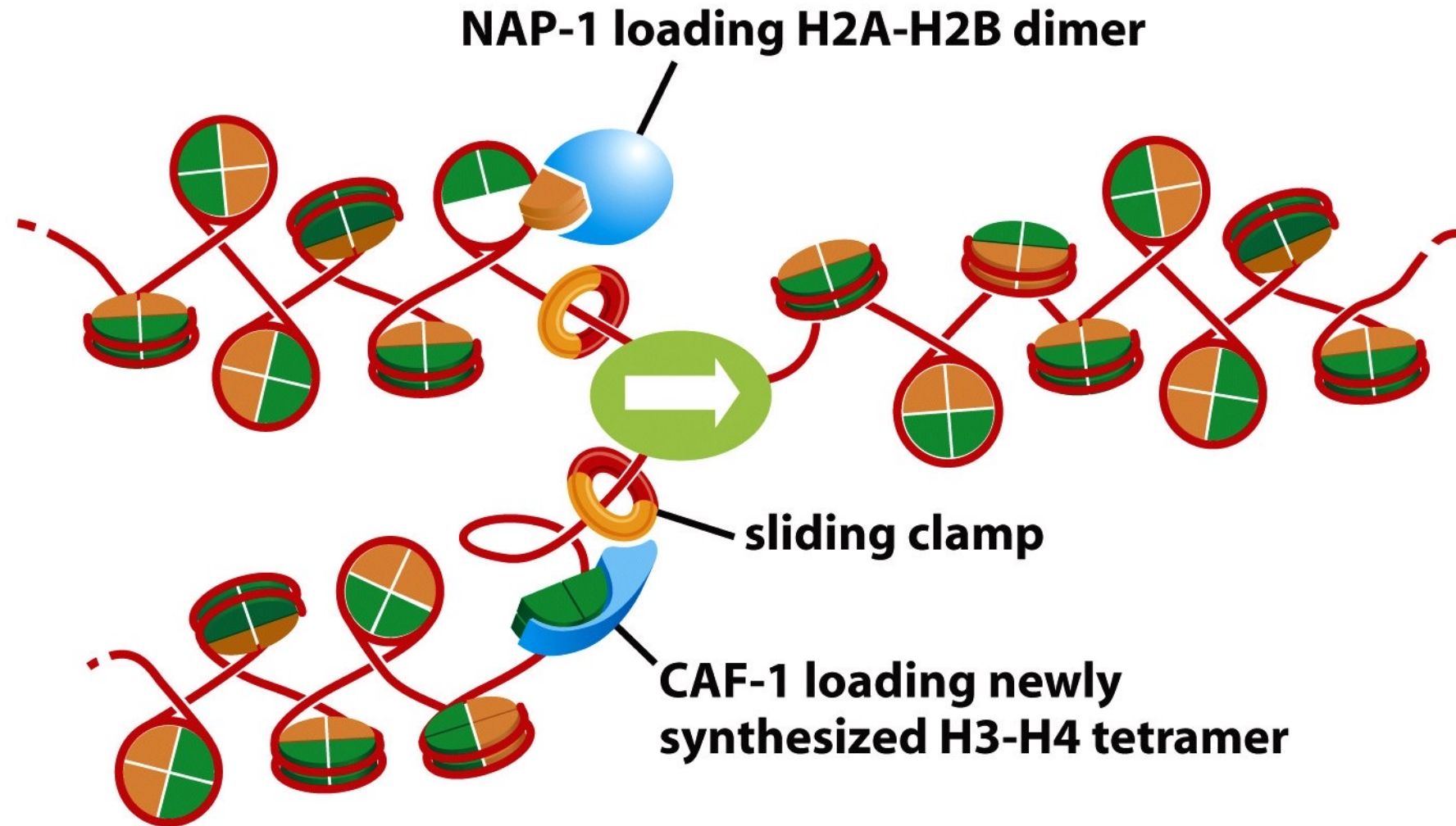
Nivel estructural complejo: Formar Cromatina



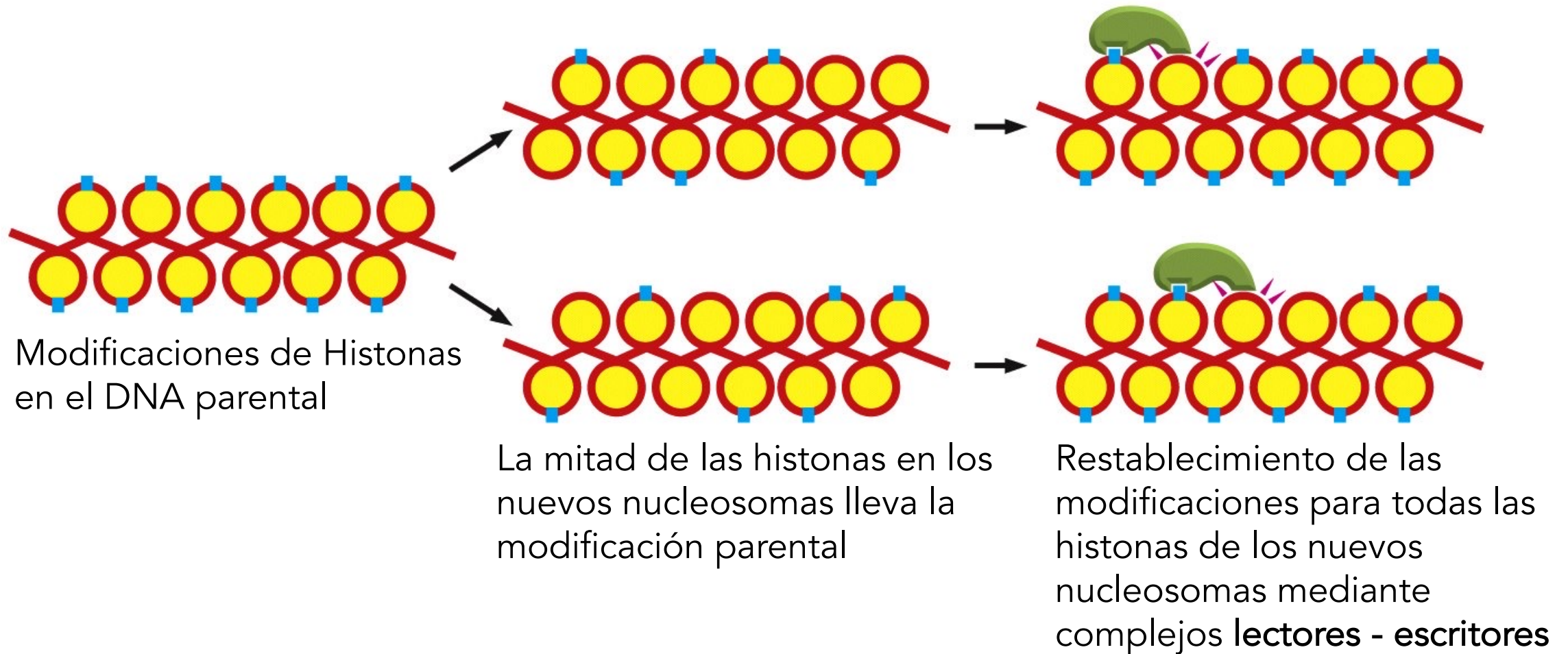
Se necesita la deposición de Histonas para las DOS dobles hélices hijas. Se utilizan las Histonas parentales y NUEVAS

CROMATINA
PARENTAL

Chaperonas reclutadas por PCNA se encargan de posicionar los nucleosomas en las cadenas hijas



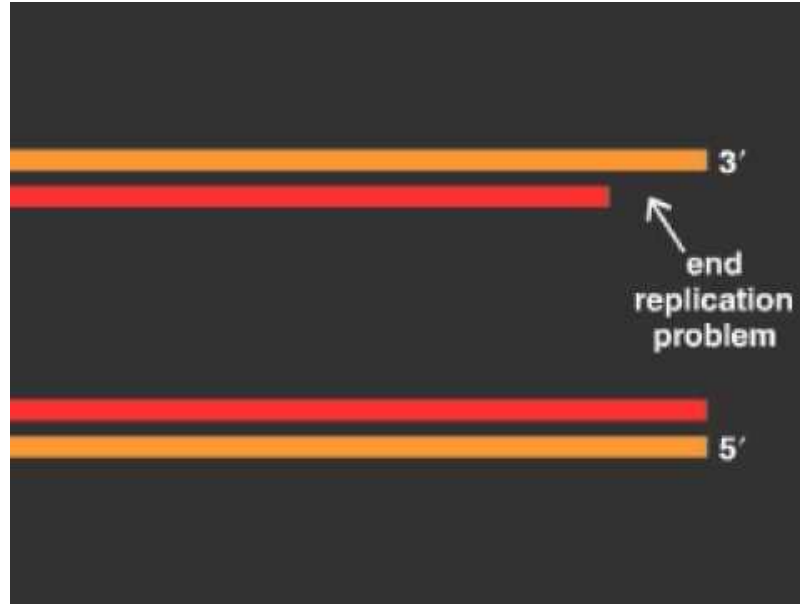
Las modificaciones de histonas parentales se heredan a las nuevas (mantener la herencia epigenética)



Replicación del ADN: en *E. coli* vs. en células humanas

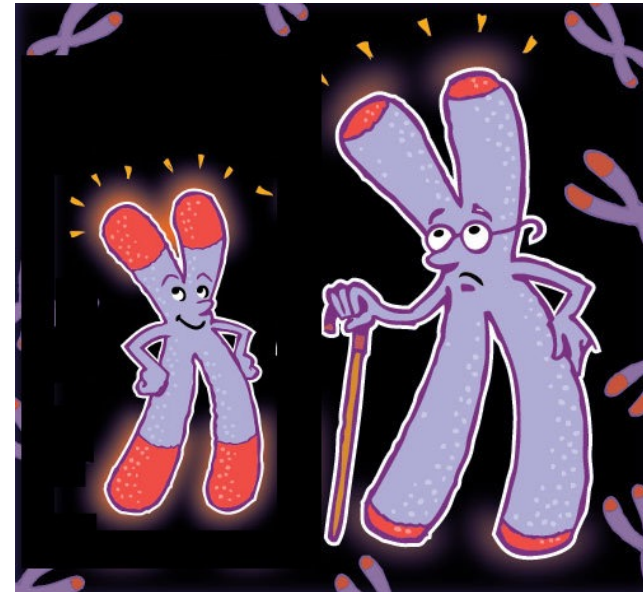
	<i>E. coli</i>	Cél humanas
Cantidad de DNA, pb/ cél.	4.2×10^6	10^9
Velocidad avance horquilla $\mu\text{m}/\text{min}$	30	3
Velocidad de replicación, nt / seg	750	60-90
Número de orígenes de replicación / célula	1	10^3 - 10^4
Tiempo 1 replicación genómica (hs)	0.27	8
Tiempo 1 división celular (hs)	0.33	24

La terminación de la replicación eucarionte es un problema

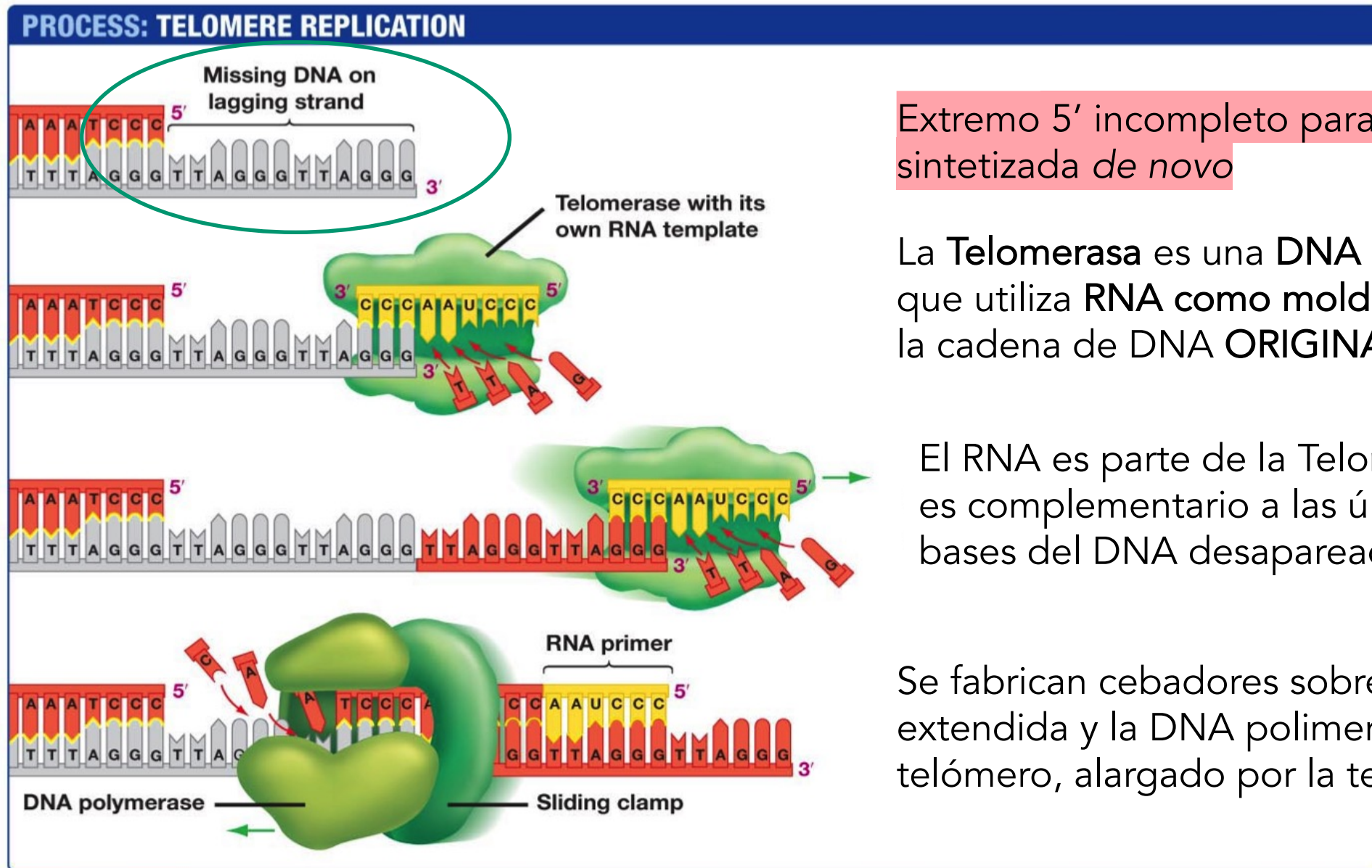


Cada uno de los dos extremos 5' en cada cromosoma queda incompleto al remover el último cebador de RNA

A mayor número de divisiones celulares, telómeros más cortos



Terminación de la Replicación Eucarionte



Extremo 5' incompleto para la hebra sintetizada *de novo*

La Telomerasa es una DNA polimerasa que utiliza RNA como molde y extiende la cadena de DNA ORIGINAL

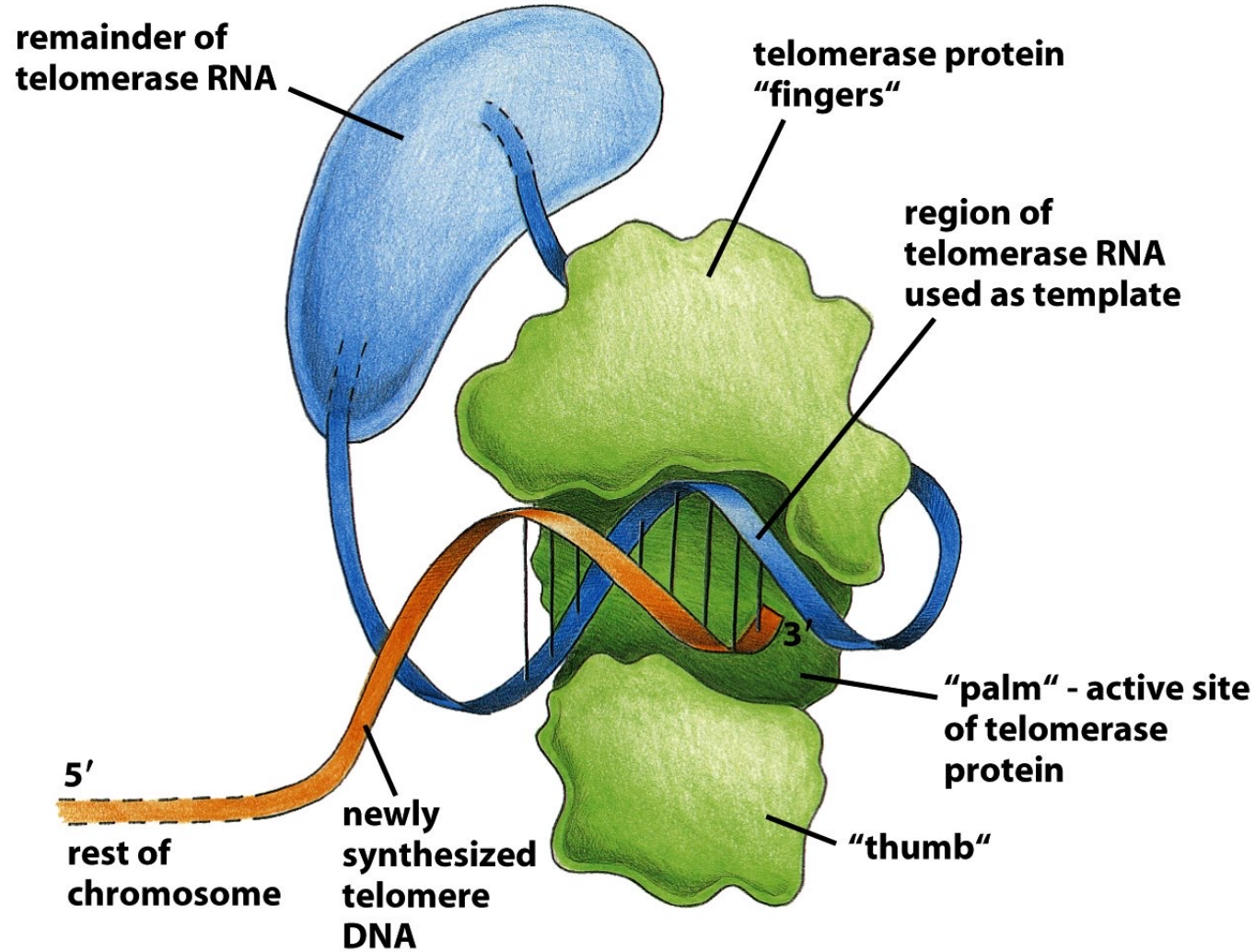
El RNA es parte de la Telomerasa y es complementario a las últimas bases del DNA desapareado

Se fabrican cebadores sobre la cadena extendida y la DNA polimerasa copia el telómero, alargado por la telomerasa

Telomerasa

Ribonucleoproteína:

- RNA
- proteína



Telomerasa activa

