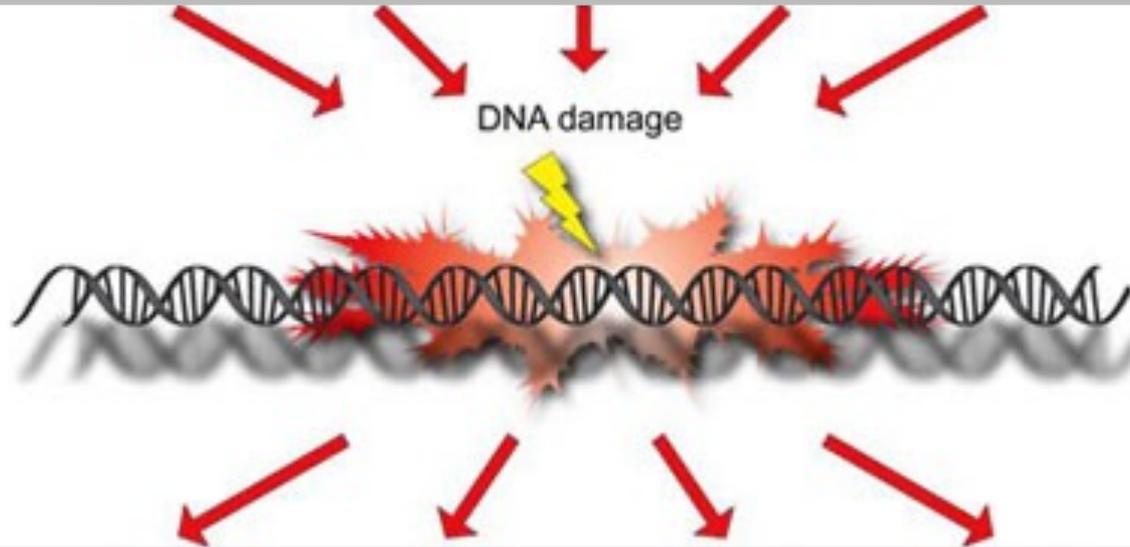


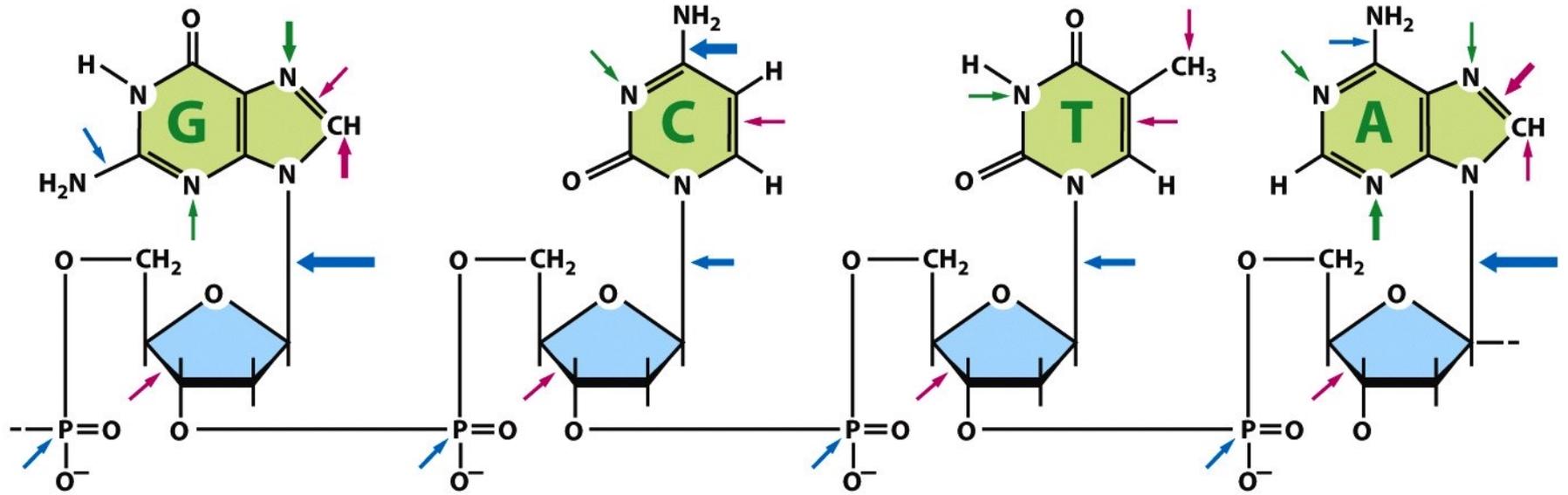
Daño y Reparación de DNA

Metabolismo celular Infecciones por virus Radiaciones
Exposición a químicos Errores de replicación



Detener ciclo celular Activar programa de transcripción
Reparación de DNA Apoptosis

Alteraciones en el DNA



Depurinations por ácido, calor, glicosilasas
Alquilación, radiación ionizante, radicales libres
Agentes intercalantes, radiación UV

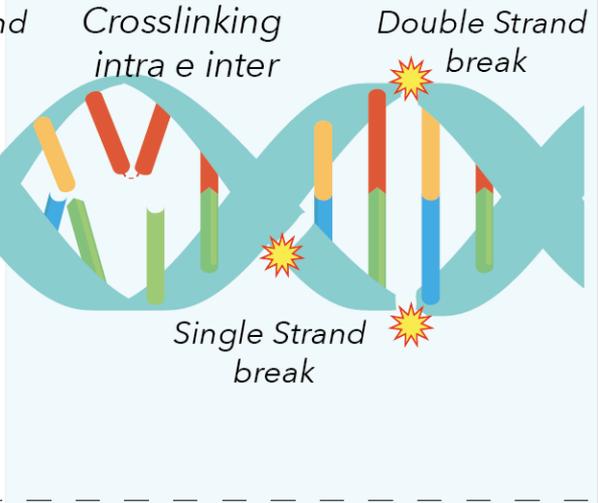
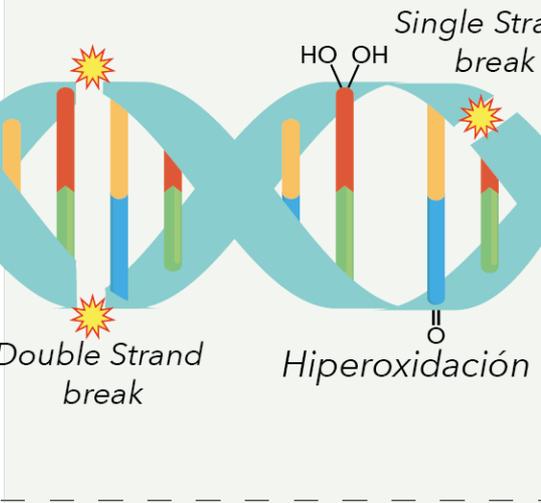
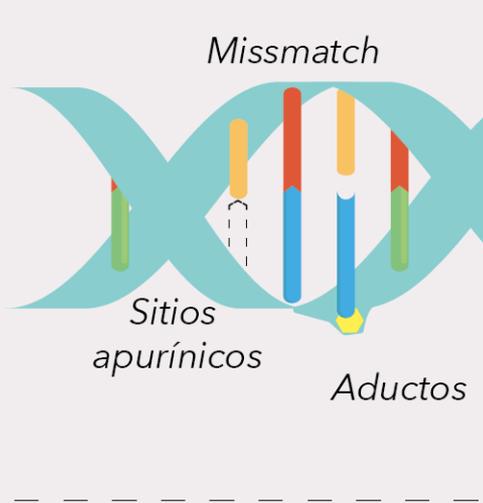
Agentes causantes de daño al DNA

Errores de la Replicación
Desaminación de Bases
Agentes Alquilantes
Toxinas

Fosforilación oxidativa
Daños oxidativos
ROS
Radicales libres

Radiación ionizante
Radiación UV
Agentes crosslinking
Hipoxia

Daños al DNA



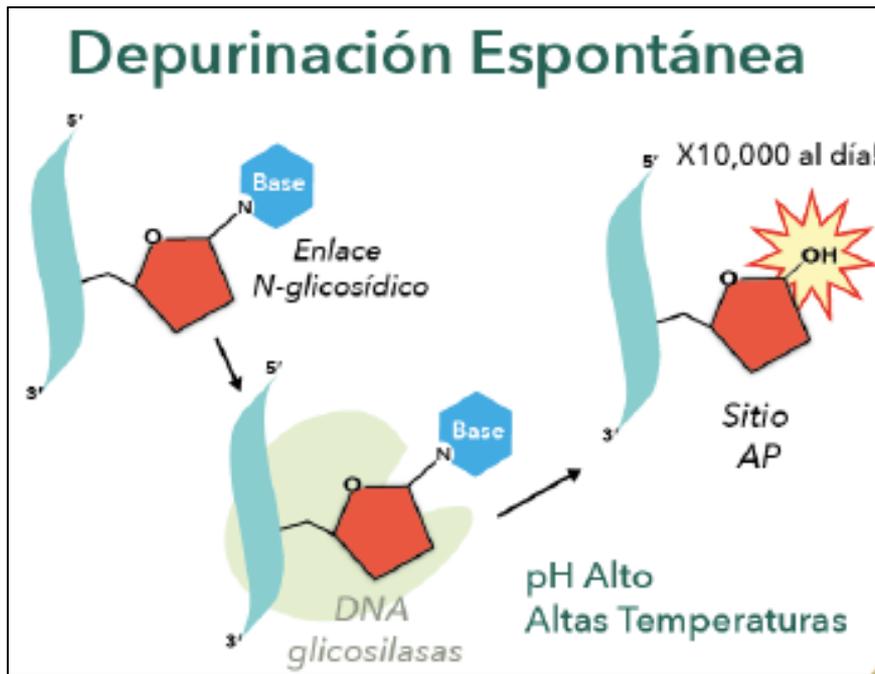
Mecanismos de Reparación

Missmatch Repair
BER

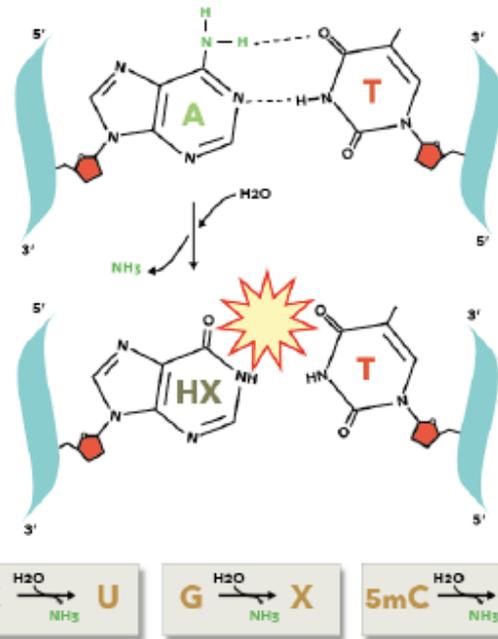
BER
Single Strand Repair
Double Strand Repair
Recombinación Homóloga

Reversión directa
NER
Single Strand Repair
Double Strand Repair
Recombinación Homóloga

Daño frecuente que ocurre de manera espontánea



Desaminación Espontánea

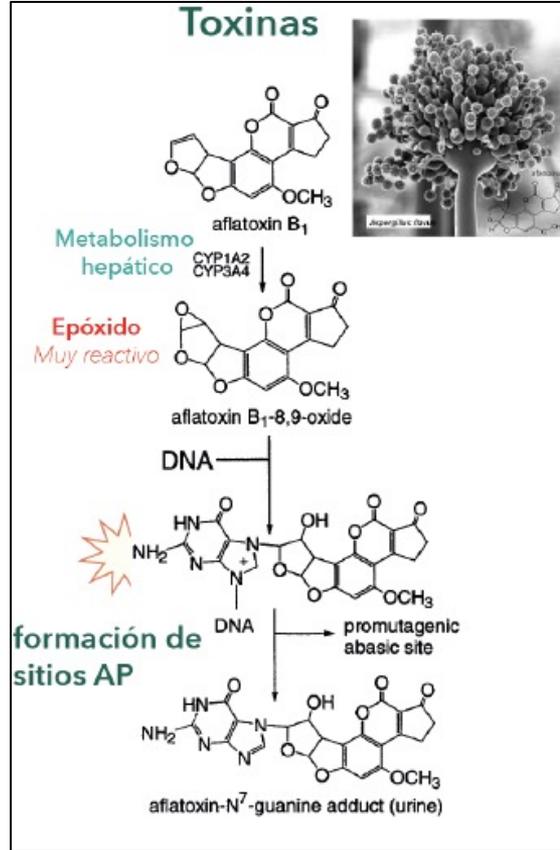
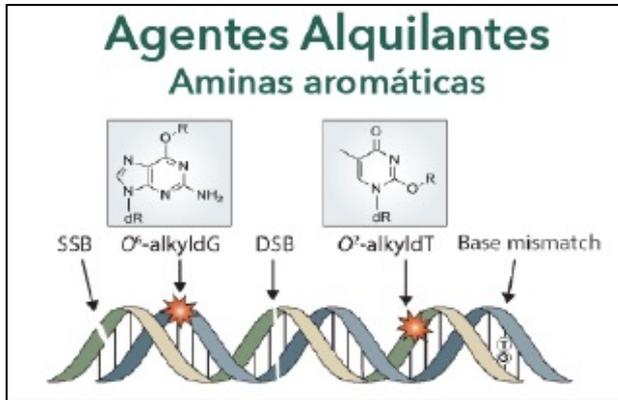
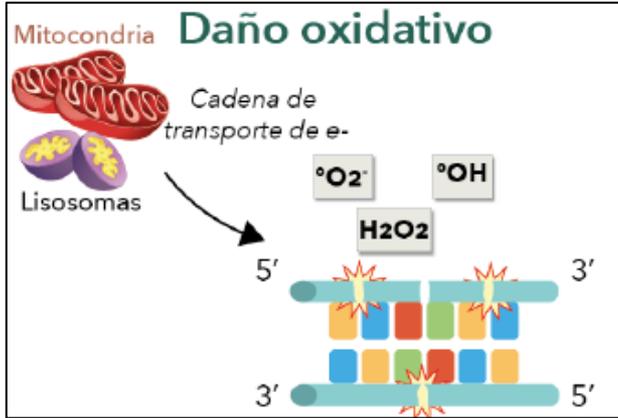


Ocurre con mucha frecuencia (100xdía)
DNA cadena sencilla más susceptible
Desaminasas Endógenas
Fuentes de diversidad genética

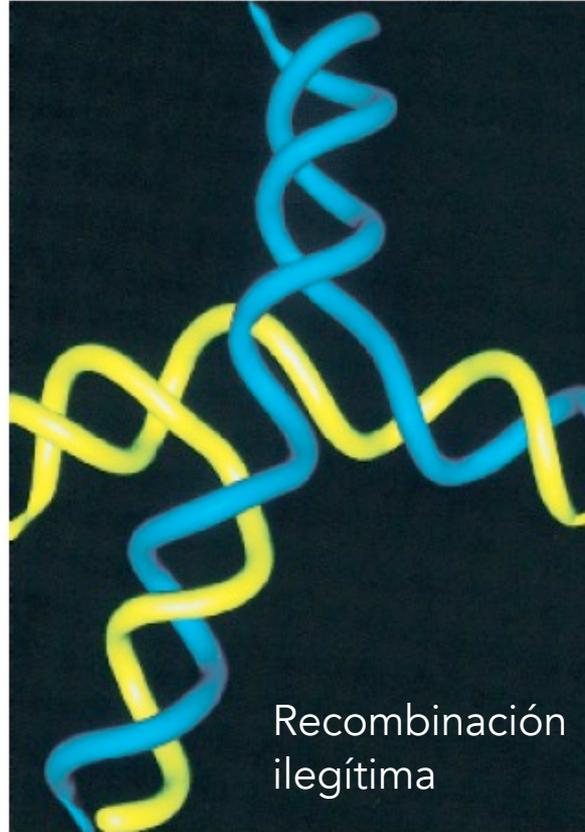
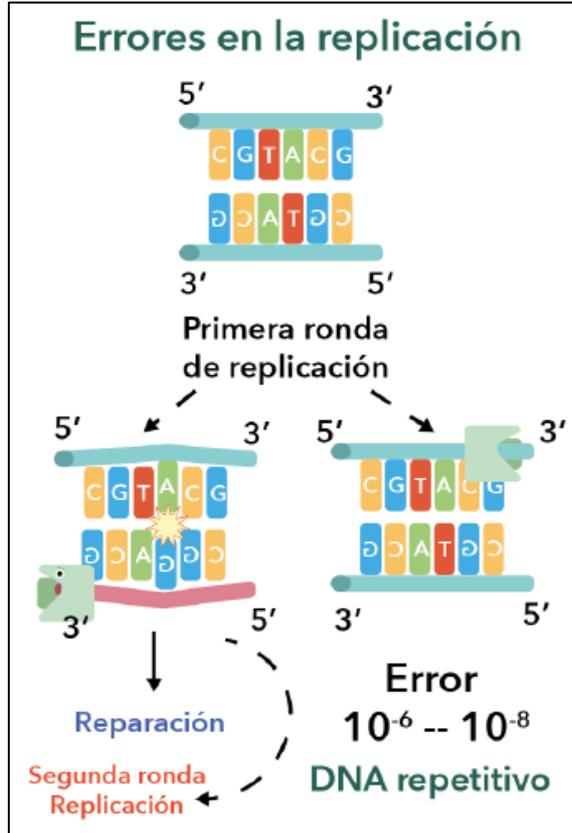
Daño por agentes físicos



Daño por agentes químicos



Daño durante procesos propios del DNA



MUTACIONES EN EL DNA

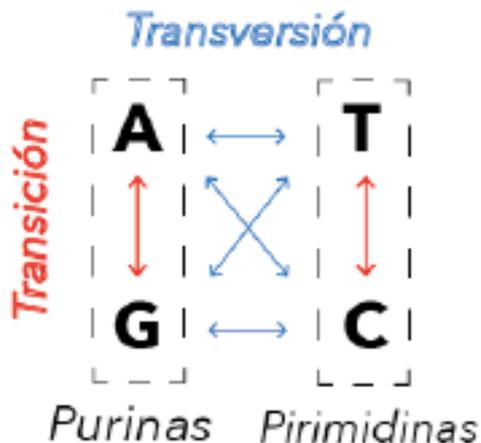
Mutaciones espontáneas ($10^5 - 10^8$)

Mutaciones inducidas (por mutágenos)

Mutación "indel":

Adición/delección de 1 base

Sustitución de 1 base:



Si los daños que se generan en el DNA no se corrigen antes de la siguiente replicación se generan mutaciones. Esto implica que un PAR de bases (pb) se ha modificado y la secuencia del DNA cambia cuando éste se réplica

❖ **Mutación sinónima**

AGG → CGG
Arg Arg

❖ **Mutación de error**

AAA → AGA
Lys Arg
(basic) (basic)

Conservativa

UUU → UCU
Hydrophobic Polar
phenylalanine serine

No conservativa

❖ **Mutación sin sentido**

CAG → UAG
Gln Amber
 termination
 codon

S
U
S
T
I
T
U
C
I
O
N

❖ **Mutación de marco**

One base-pair addition (underlined)
AAG ACT CCT → AAG AGC TCC T..

One base-pair deletion (underlined)
AAG ACT CCT → AAA CTC CT..

I
N
D
E
L

Reversión Directa

- ✓ Fotoreactivación
- ✓ Eliminación de CH_3

Daño en una sola cadena

- ✓ Reparación por escisión de bases (BER)
- ✓ Reparación por escisión de nucleótidos (NER)
- ✓ Reparación por desapareamiento (MMR)

Mecanismos de Reparación de DNA

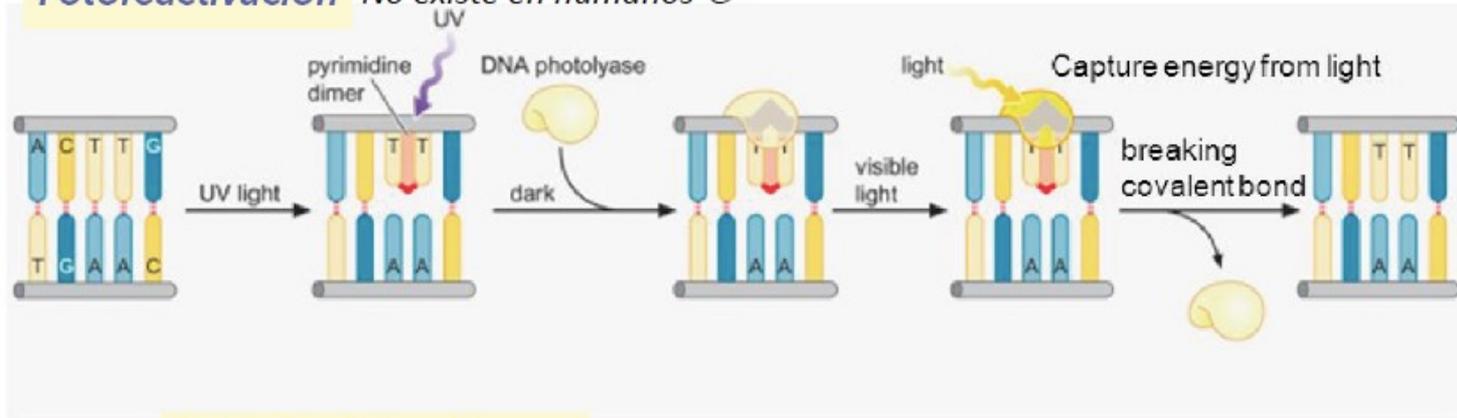
Ruptura de la doble cadena

- ✓ Recombinación homóloga
(propenso a errores)

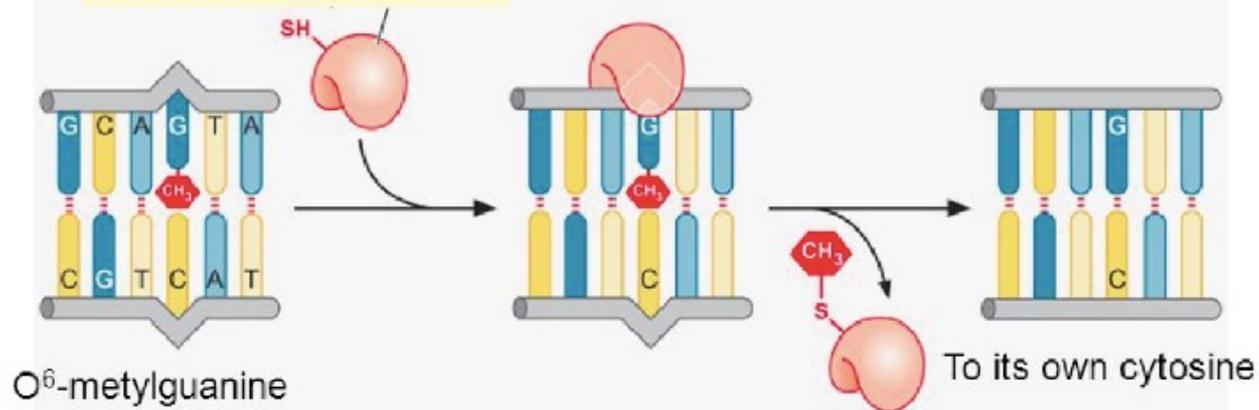


Reversión directa

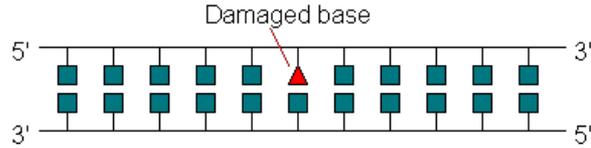
Fotoreactivación No existe en humanos ☹️



DNA alquiltransferasas

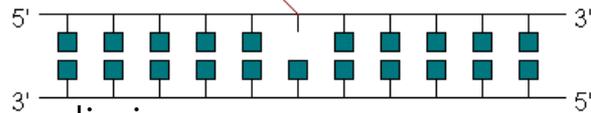


Reparación por escisión de base (BER)



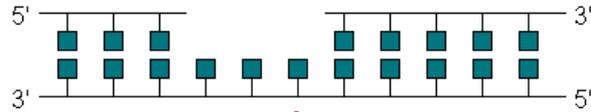
DNA glicosilasas crean un sitio AP (sin base)

DNA glycosylase



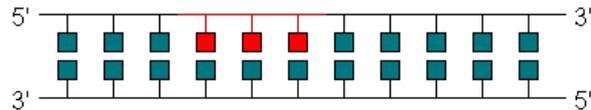
AP endonucleasa elimina un fragmento de DNA

AP endonuclease

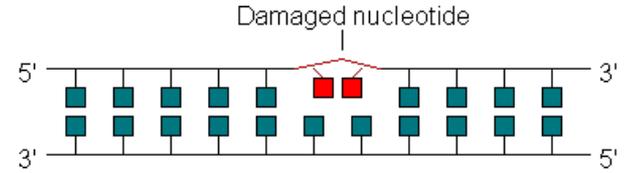


DNA pol I rellena, **ligasa** sella

DNA polymerase I
DNA ligase



Reparación por escisión de nucleótido (NER)

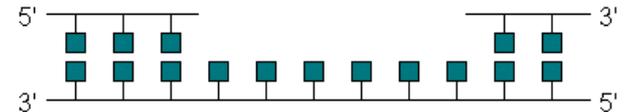


UvrABC (escinucleasa)

Uvr-A, Uvr-B, Uvr-C

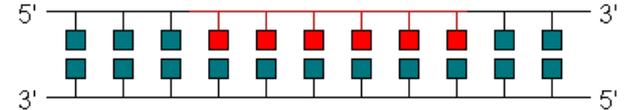


Helicasa separa el fragmento

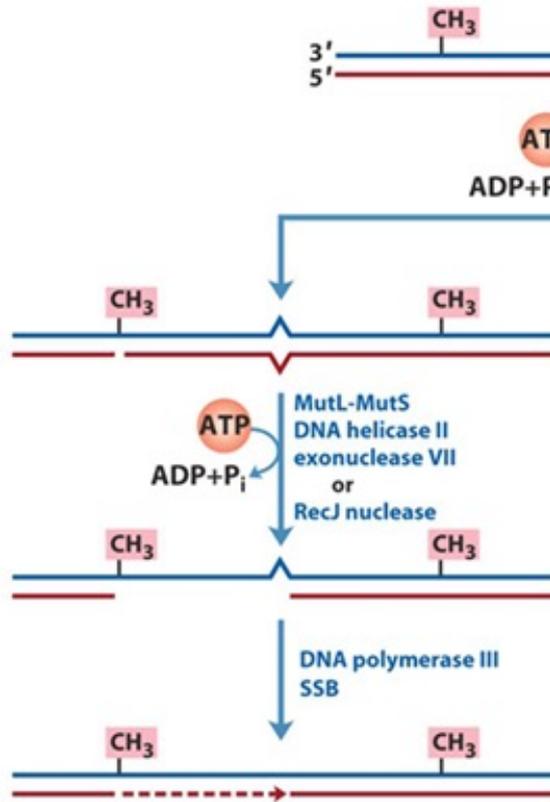


DNA pol I rellena, **ligasa** sella

DNA polymerase I
DNA ligase



Reparación por desapareamiento (mismatch repair, MMR)



MutS reconoce desapareamiento

MutL y **MutH** se unen y recorren el DNA hasta un grupo metilo

MutH corta la cadena NO metilada (nueva síntesis)

Helicasa desenrolla, **Exonucleasa** degrada el DNA hasta el desapareamiento

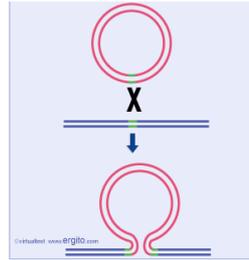
DNA pol III rellena, ligasa sella

Mecanismos de Recombinación

1. Recombinación sitio-específica

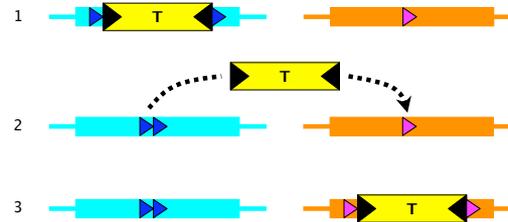
Conjugación

Ciclo lisogénico bacteriófago

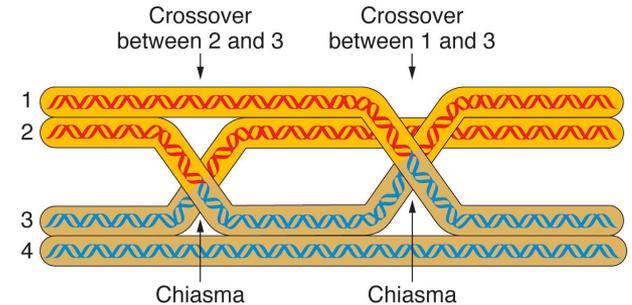


2. Recombinación ilegítima

Transposición

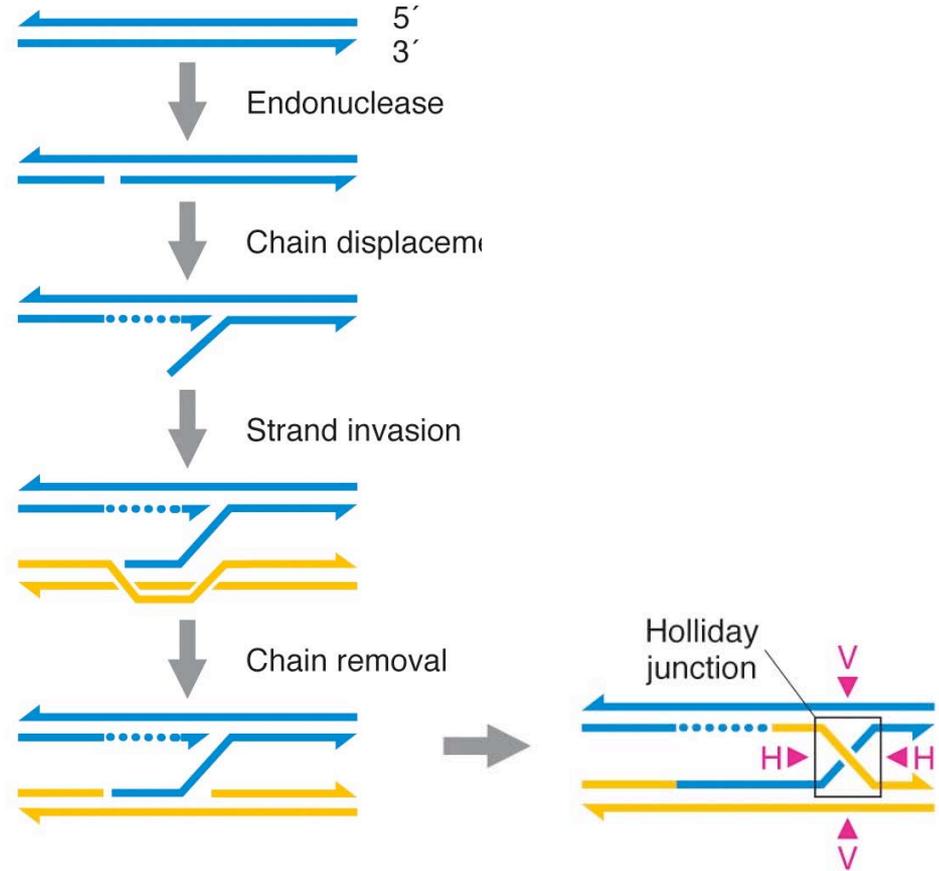


3. Recombinación homóloga



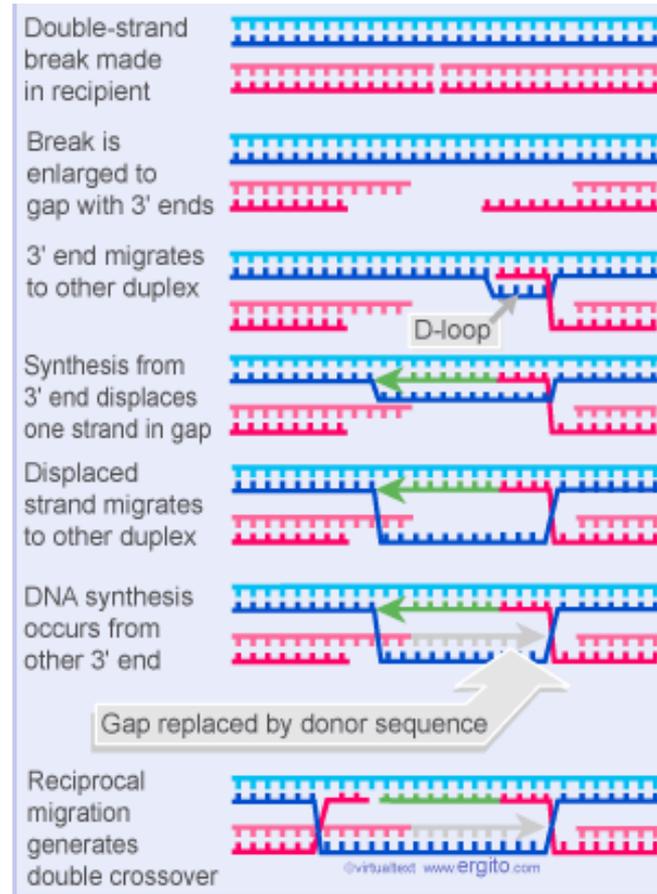
Recombinación homóloga – Modelo Holliday

1. Corte inicial en **una** de las cadenas del dúplex de DNA.
2. Desplazamiento de la cadena rota por helicasa y síntesis nueva de DNA – **crea cadena sencilla de DNA**
3. Invasión de la cadena sencilla a un dúplex con secuencia homóloga
4. Desplazamiento de la cadena correspondiente en el segundo dúplex
5. Sellado de los cortes iniciales y formación de **Unión Holliday**
6. Resolución de la **Unión Holliday**



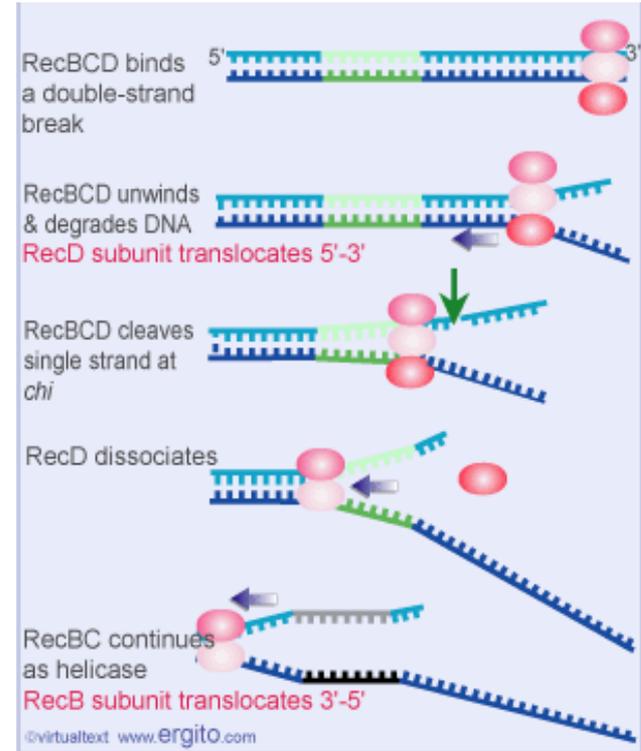
Recombinación homóloga – Modelo RecBCD

1. Cortes en las **dos** cadenas de DNA
2. Unión de **RecBCD** (BC-helicasa; D endonucleasa) - **generación de DNA de cadena sencilla**
3. **RecA** - invasión de la cadena sencilla a la región homóloga de otro dúplex
4. Formación de **estructura D** (dos uniones Holliday) y desplazamiento por síntesis nueva de DNA
5. Migración recíproca del doble entrecruzamiento
6. Resolución de **dos** uniones Holliday que migran en sentido opuesto



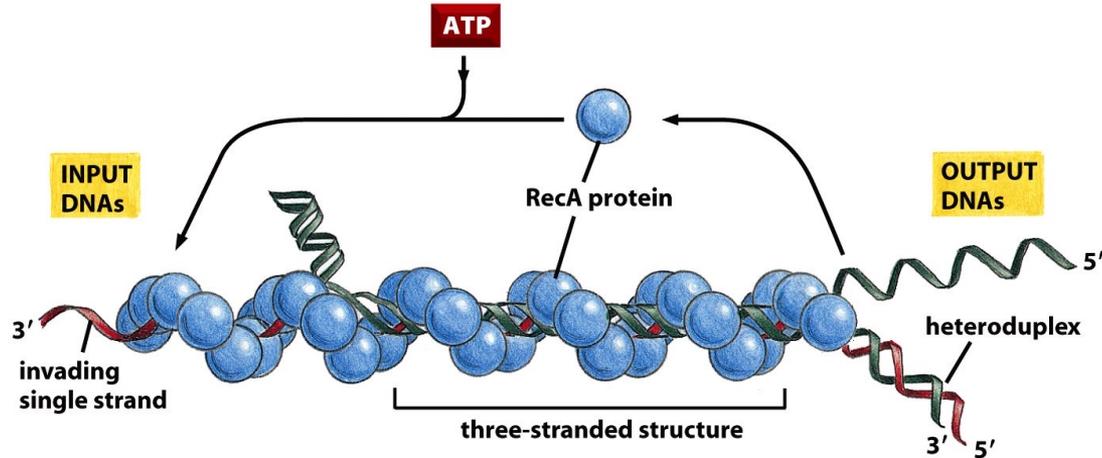
Función de **RecBCD** en la Recombinación homóloga bacteriana (post-replicativa)

1. La nucleasa **RecBCD** se une aleatoriamente al DNA donador y produce un corte endonucleotídico.
2. **RecBCD** se va moviendo por la doble hélice hasta encontrar una secuencia característica denominada "chi" que es un "punto recombinativo".
3. **RecBCD** corta 4-6 bases a la derecha (lado 3') de la cadena superior, y la subunidad D (nucleasa) se desprende, mientras que BC continua como helicasa desenrollando la cadena cortada, formando DNA de cadena sencilla.



RecBCD: helicasa (BC) y nucleasa (D) que forman el sustrato para RecA

Función de **RecA** en la Recombinación homóloga

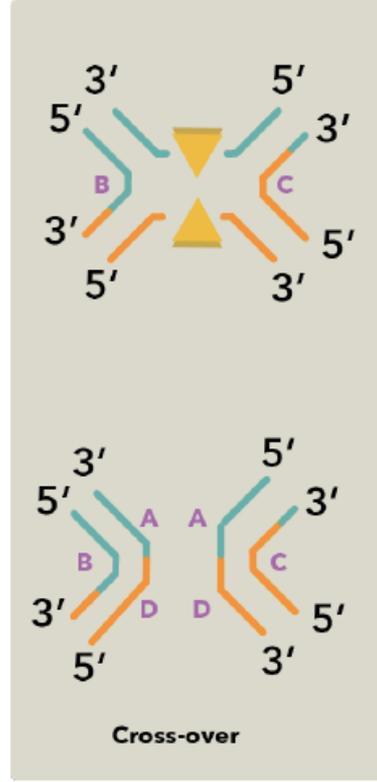
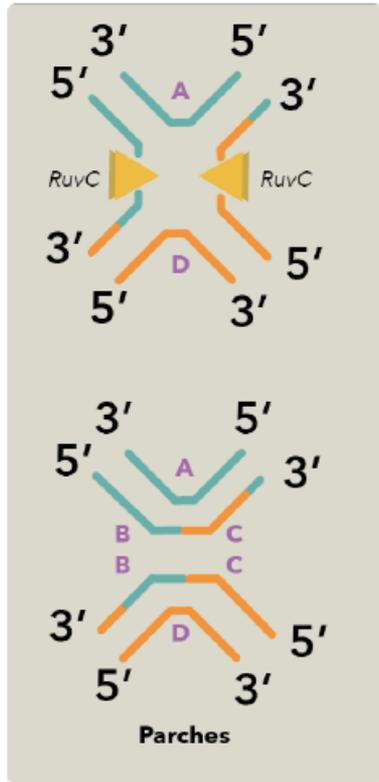


Monómeros de **RecA** envuelven al ADN de cadena sencilla y promueven su encuentro con una región homóloga de otra doble hélice.

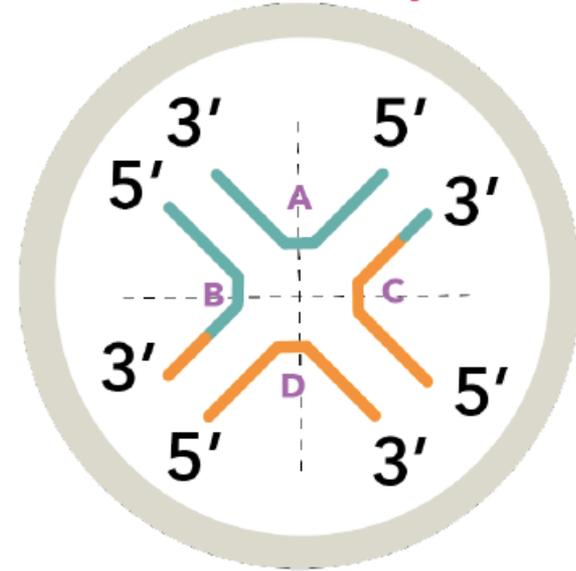
Mediante **hidrólisis de ATP**, **RecA** facilita que la cadena del donador desplace a la cadena homóloga del receptor, y por lo tanto se empareje con la complementaria de ese receptor. En este proceso se forma una triple hélice transitoria.

RuvABC resuelve las uniones Holliday

Resolución de la Cruz de Holliday



Cruz de Holliday



Reparación por
Recombinación Homóloga

<https://youtu.be/bAOaVP-ptdc>

Examen parcial II el 8 de Abril: **Unidades III y IV**