

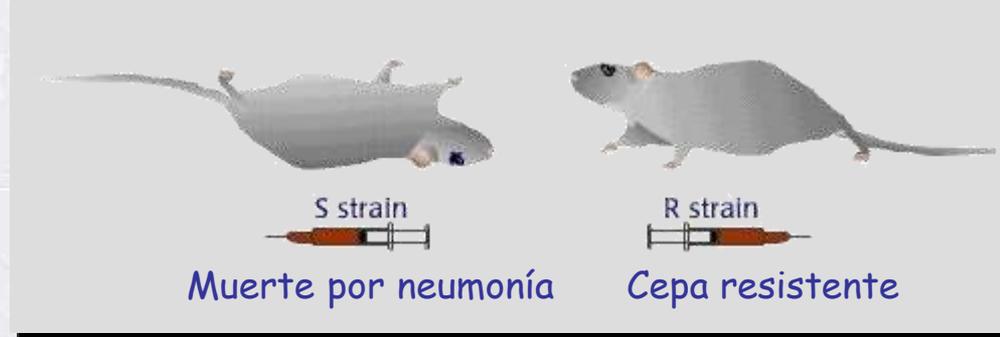
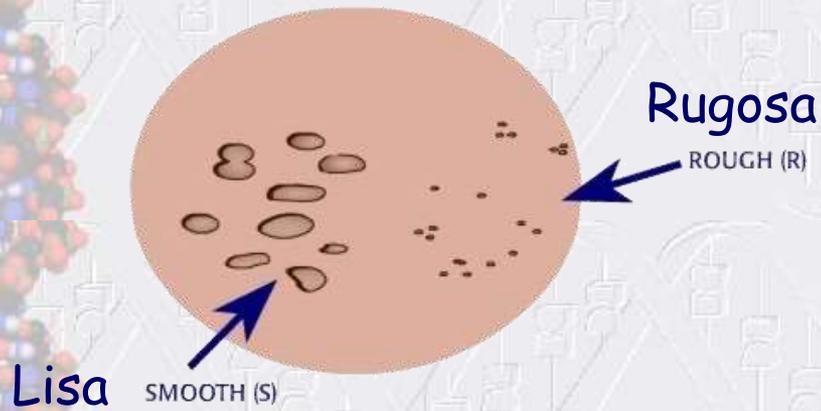
Estructura y replicación del material genético

Estructura y replicación del material genético

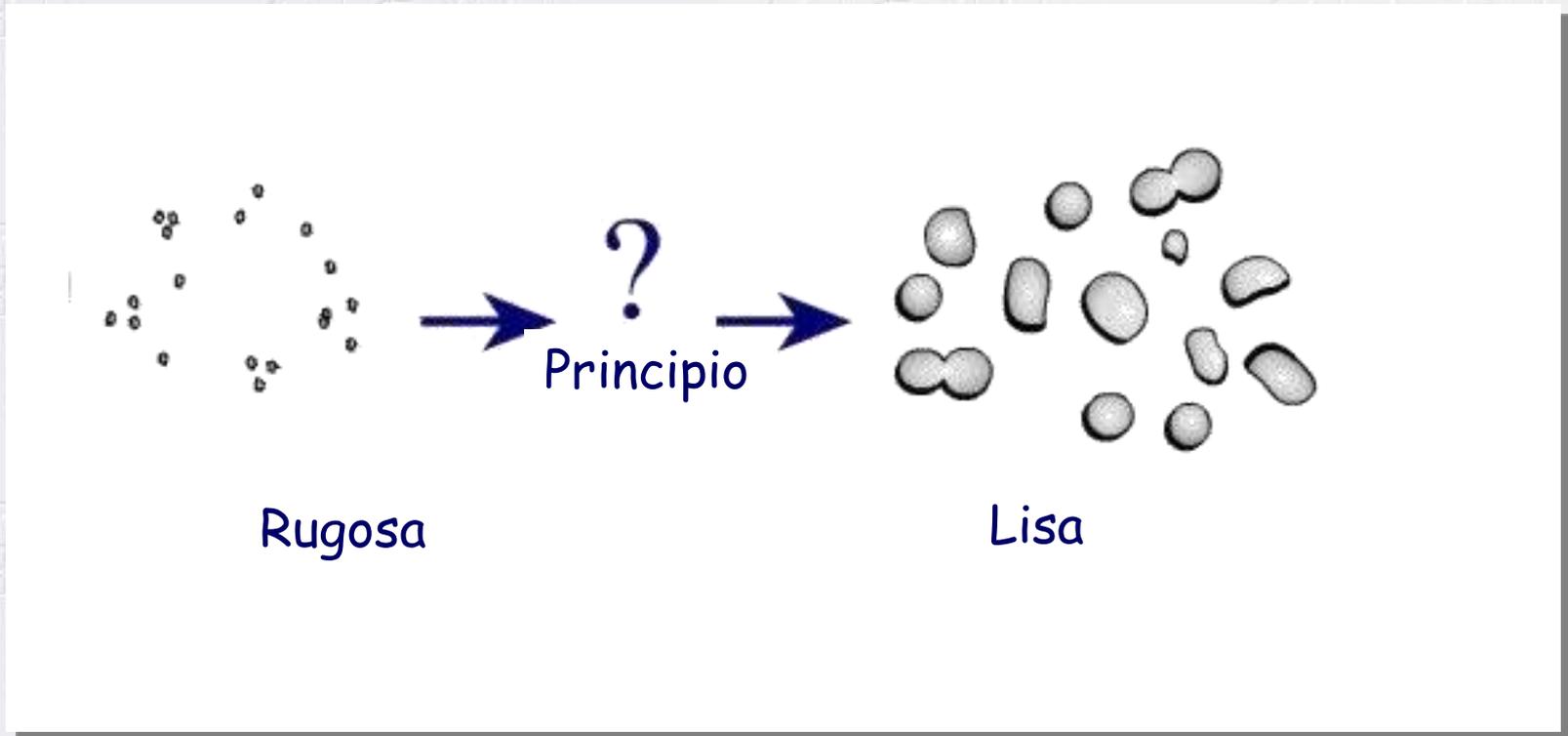
Deberán quedar bien claros los siguientes puntos:

- Cómo se descubrió la naturaleza química del material hereditario
- La composición química de los ácidos nucleicos
- La estructura 3D del DNA: naturaleza complementaria y antiparalela de la doble cadena del ácido desoxirribonucleico (DNA)
- La extraordinaria capacidad explicativa del modelo del DNA de la función biológica fundamental de esta molécula
- La replicación semiconservativa
- Enzimología de la replicación

La transformación bacteriana en *Streptococcus pneumoniae* (Griffith 1928)



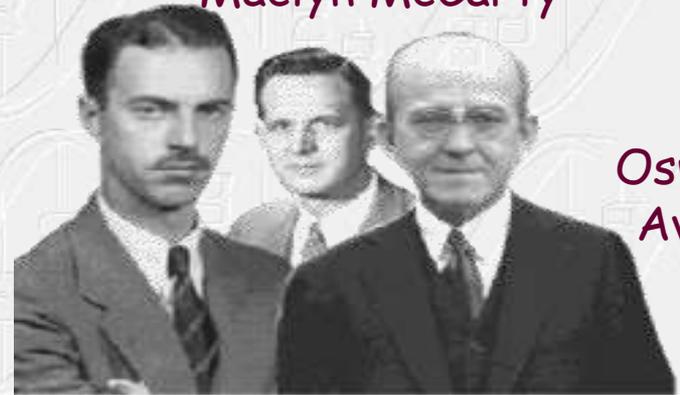
¿Cuál es el Principio transformante?



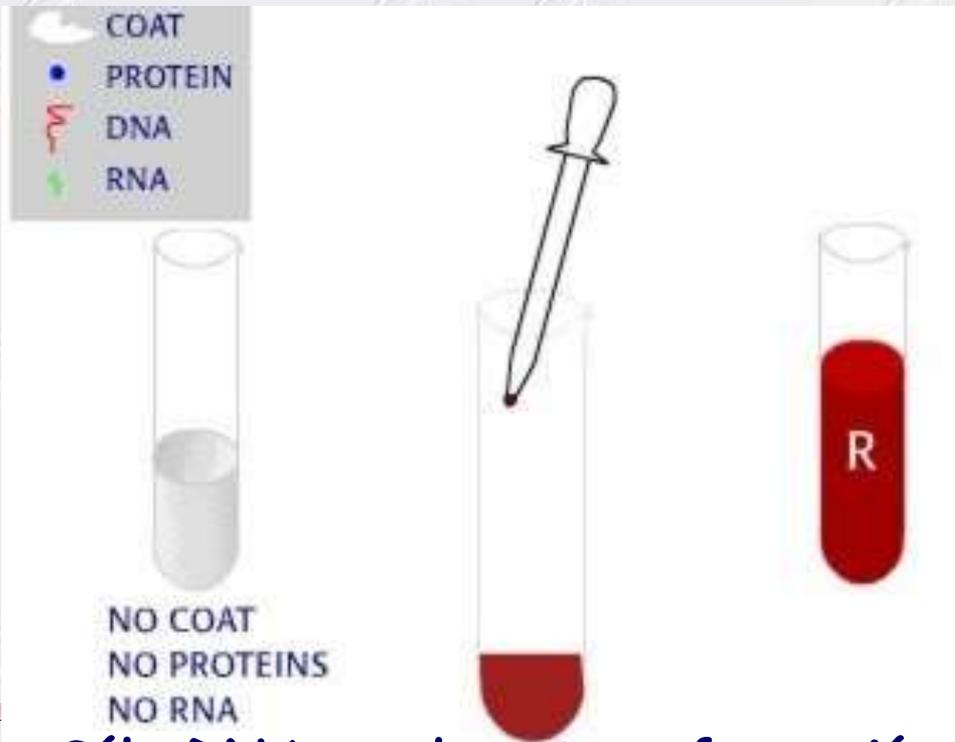
El elemento transformante es el DNA (1944)

Colin MacLeod

Maclyn McCarty



Oswald Avery



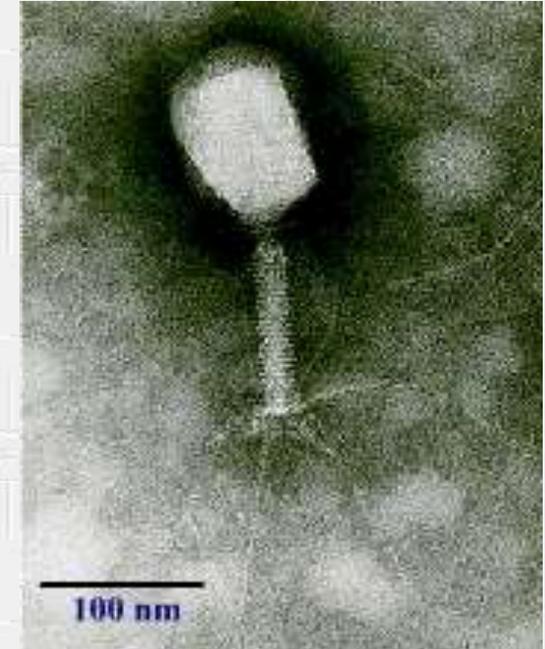
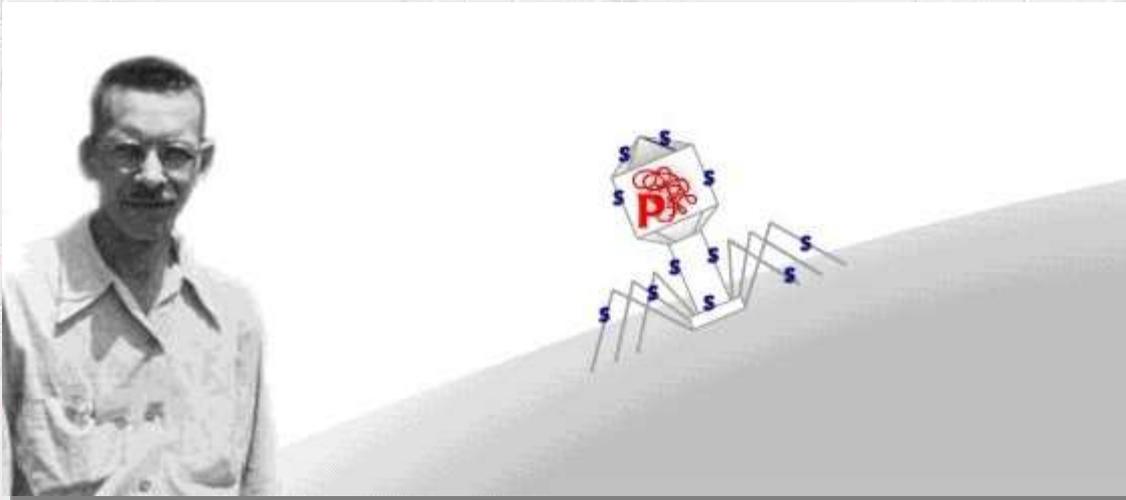
Ver animación experimento transformación bacteriana

Sólo DNA produce transformación

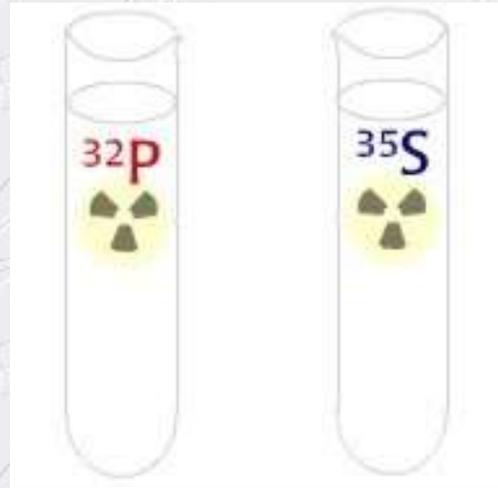
6: Estructura y replicación del material genético

5

Experimento de Alfred Hershey y Martha Chase con fagos (1952)

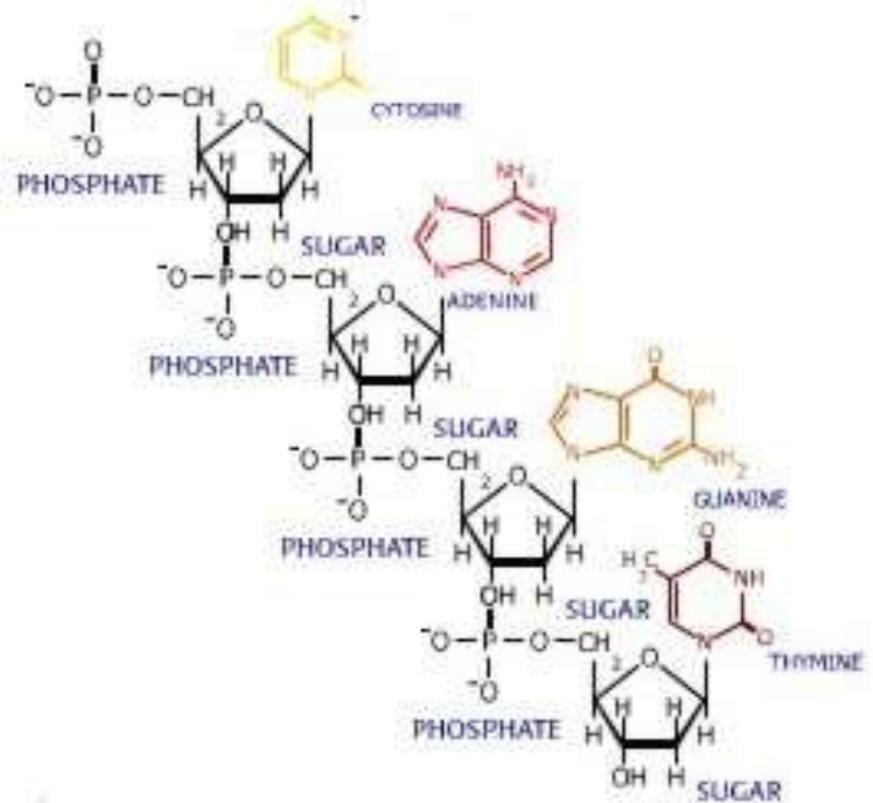
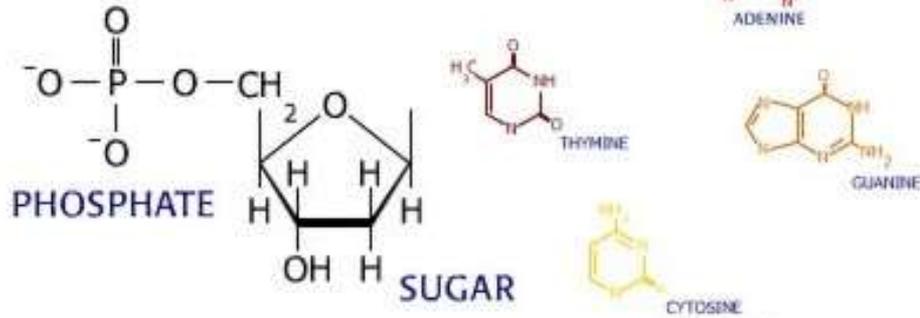


Bacteriófago T4



**El DNA es el
material
infeccioso**

Componentes de los ácidos nucleicos



Reglas de Chargaff



TABLE ADAPTED FROM CHARGAFF'S 1949 PAPER

DNA SOURCE	ADENINE	THYMINE	GUANINE	CYTOSINE
Calf Thymus	1.7	1.6	1.2	1.0
Beef Spleen	1.6	1.5	1.3	1.0
Yeast	1.8	1.9	1.0	1.0
Tubercle Bacillus	1.1	1.0	2.6	2.4

1. Proporción de purinas = Proporción de pirimidinas

$$A + G = C + T$$

2.

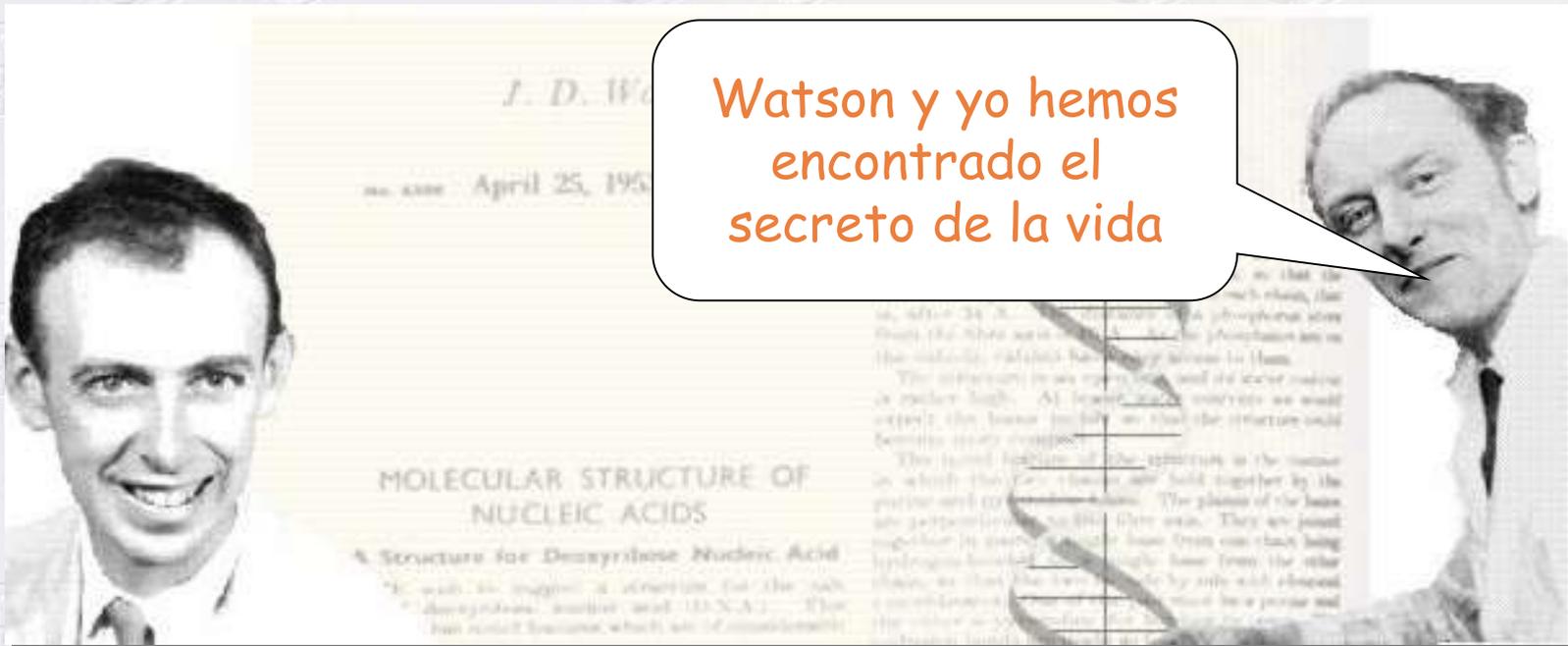
$$A = T$$

3.

$$G = C$$

1953. Año culminante:

J. Watson y F. Crick resuelven la estructura tridimensional del DNA (Nature 171: 737-738)

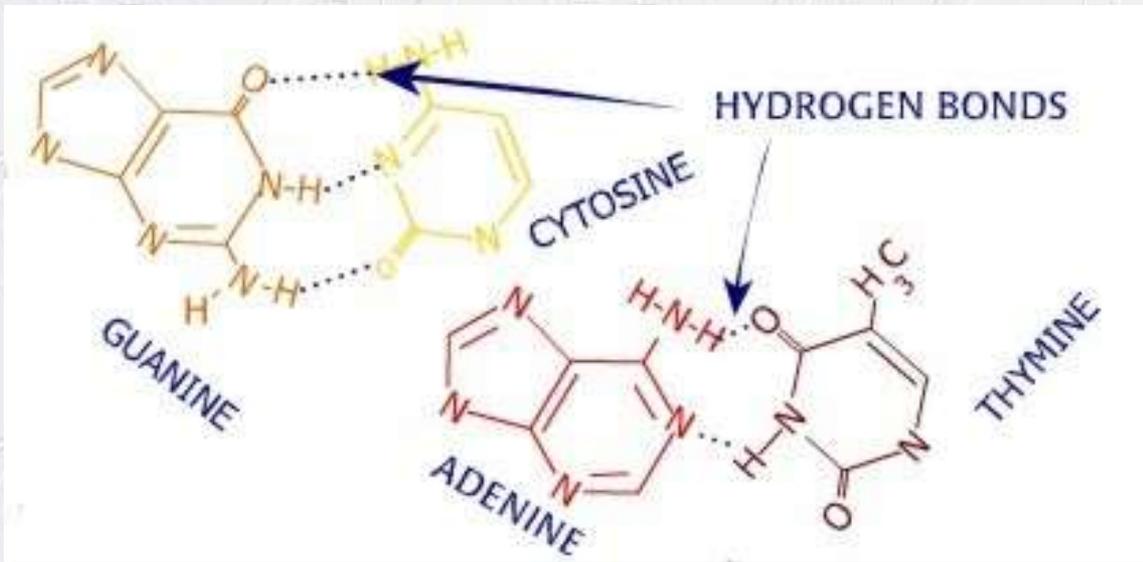
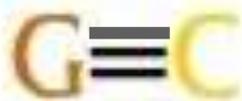
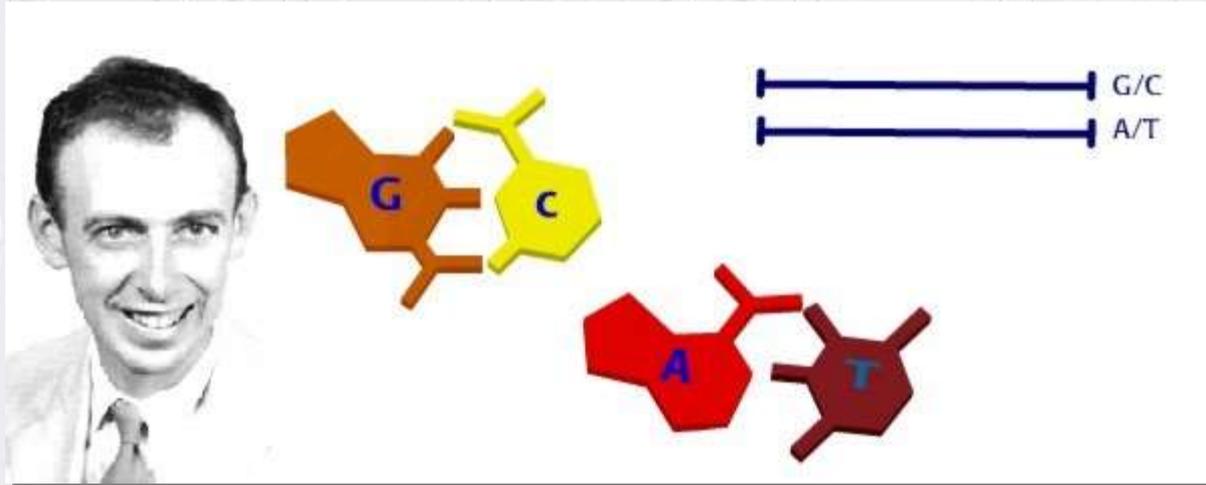


1953. Año culminante:

Dos líneas de evidencia:

- Reglas de Chargaff
- Fotografías de difracción de rayos X

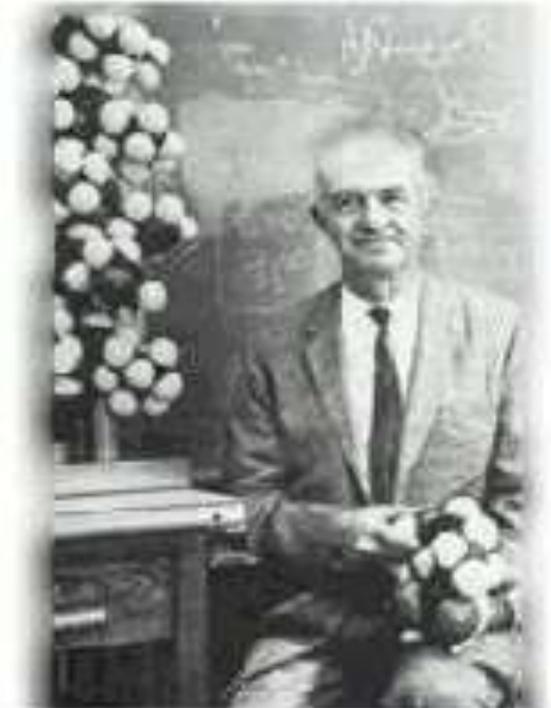
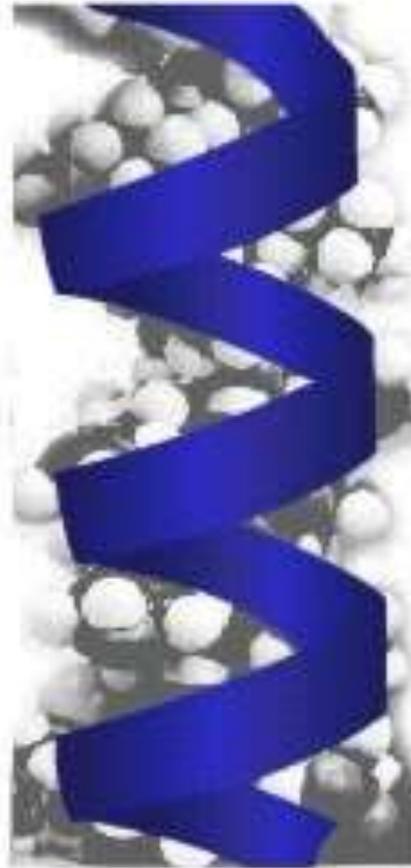
Significado reglas de Chargaff



Complementariedad de las bases

Difracción de rayos X

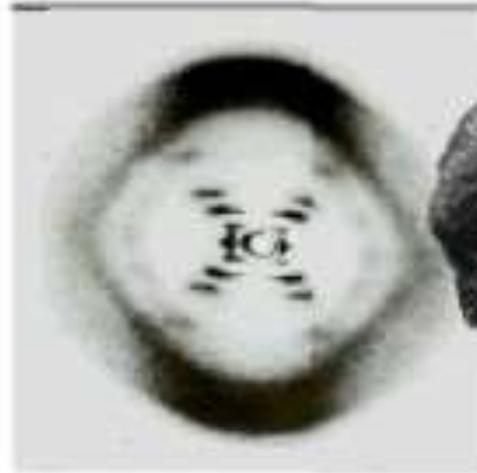
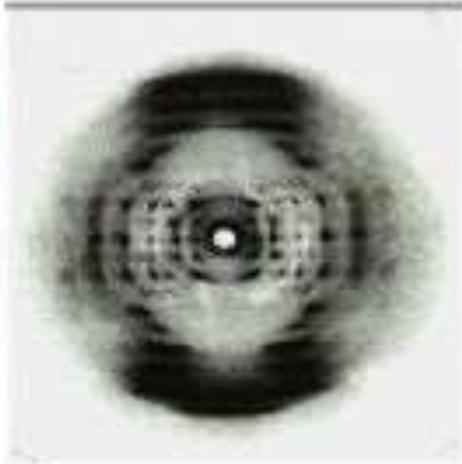
ALPHA-HELIX
Hemoglobina



Linus Pauling

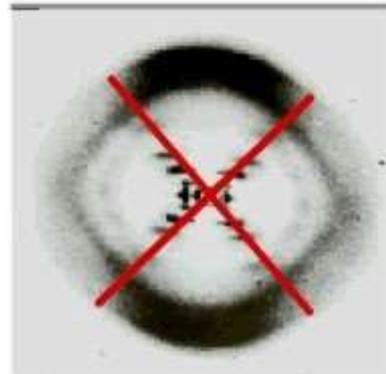
Interpretación del patrón difracción de rayos X del DNA

D
N
A



PHOTOGRAPHIC
FILM

Rosalind E.
Franklin

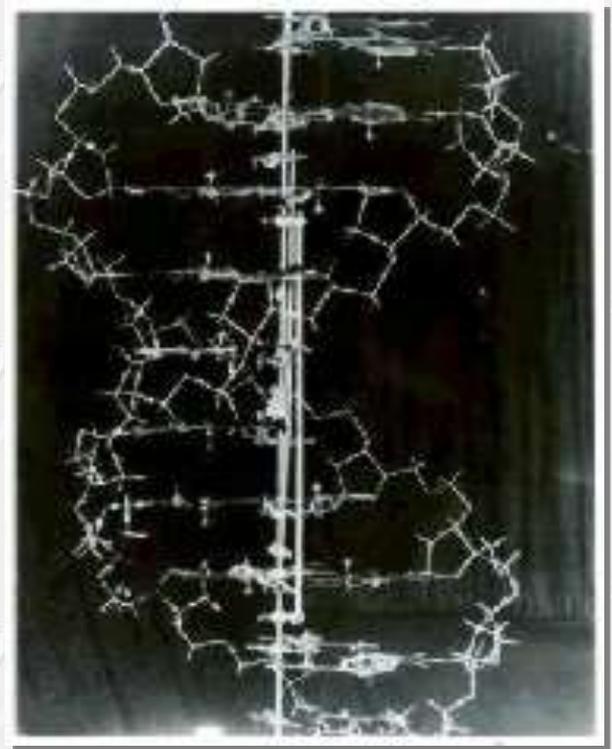


Crick del

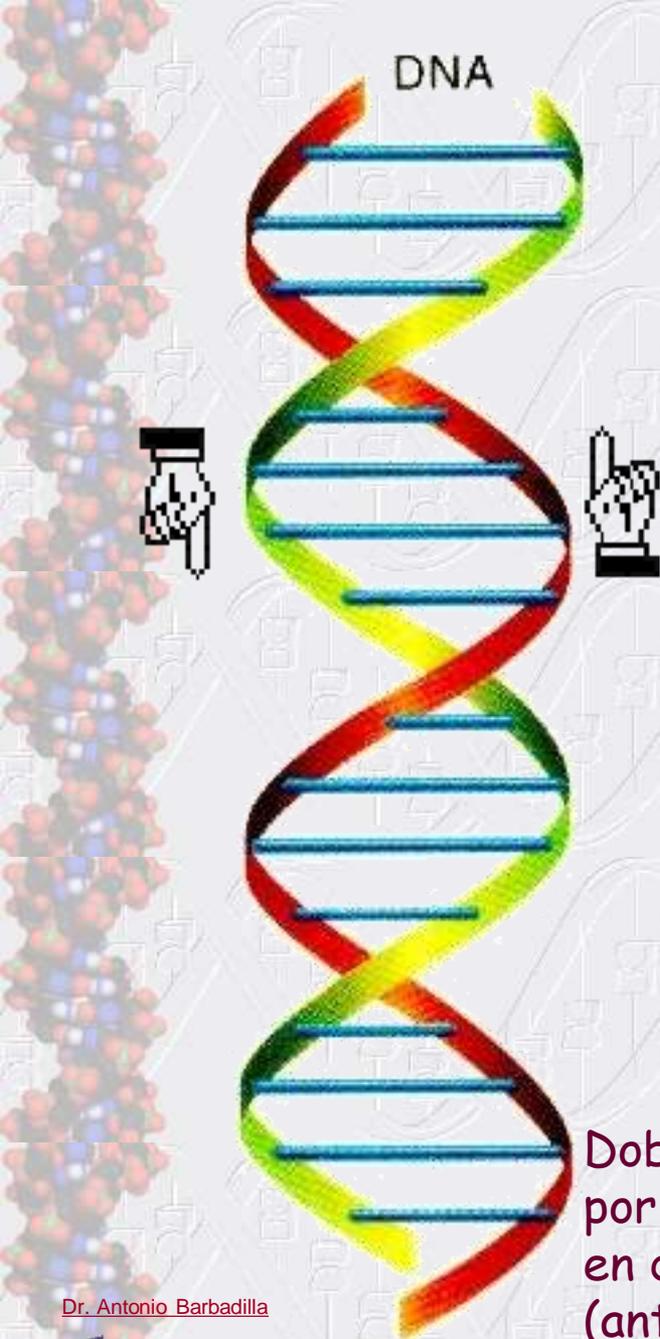
material genético

Modelo en metal del DNA

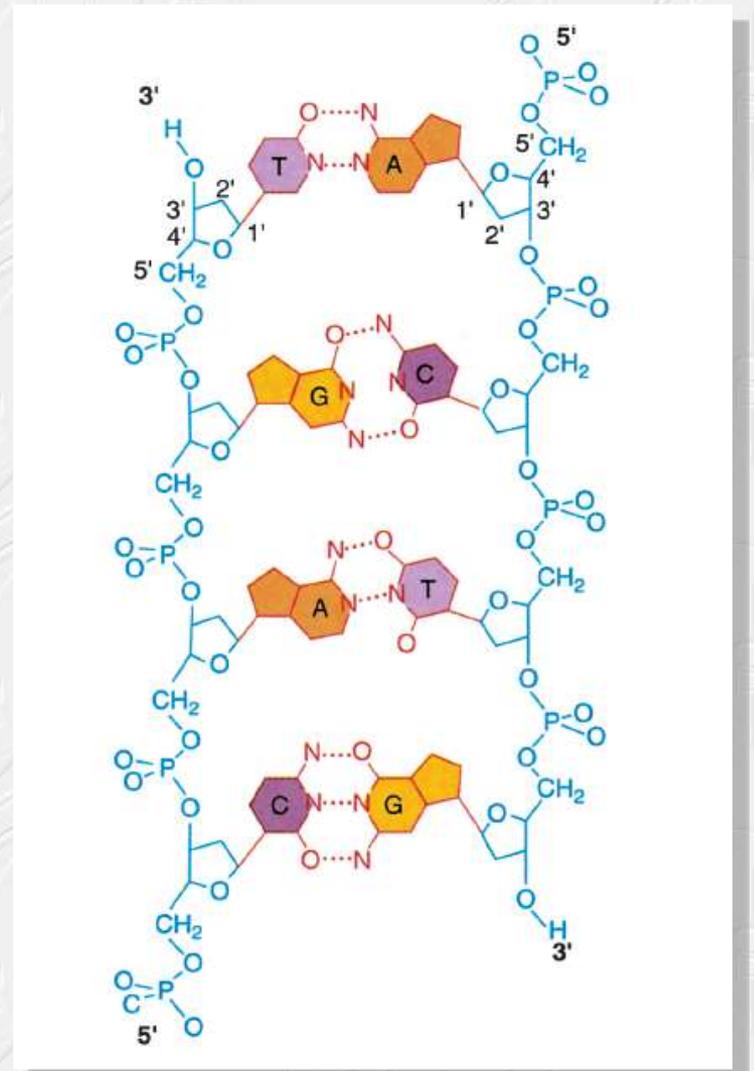
J. Watson y F. Crick



Concluyen: La estructura del DNA es una doble hélice, formada por cadenas orientadas en direcciones opuestas (antiparalelas). La estructura se mantiene gracias a enlaces de hidrógeno entre las bases nitrogenadas que se encuentran orientadas hacia el interior de las cadenas



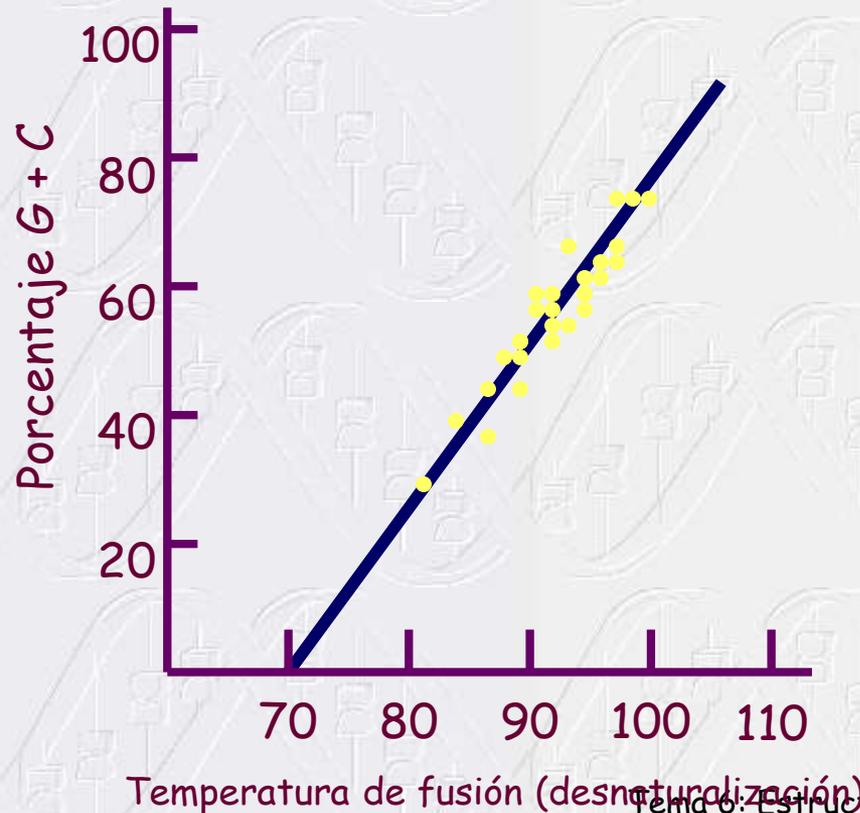
Doble hélice, formada por cadenas orientadas en direcciones opuestas (antiparalelas).

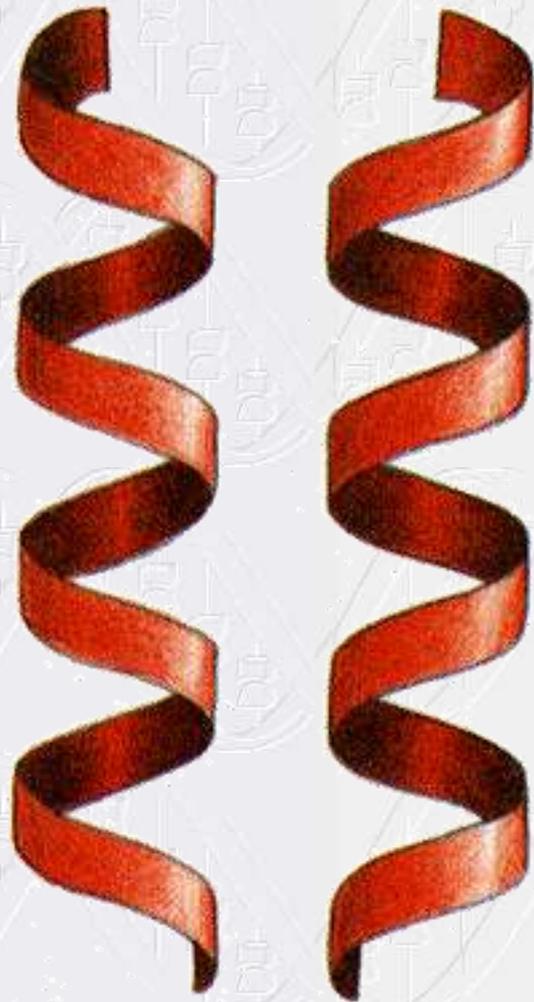


La estructura se mantiene gracias a enlaces de hidrógeno entre las bases nitrogenadas que se encuentran orientadas hacia el interior de las cadenas.

Desnaturalización del DNA

- Separación de las dos hebras por calor
- Una mayor proporción G-C tiene una mayor temperatura de desnaturalización ('fusión')

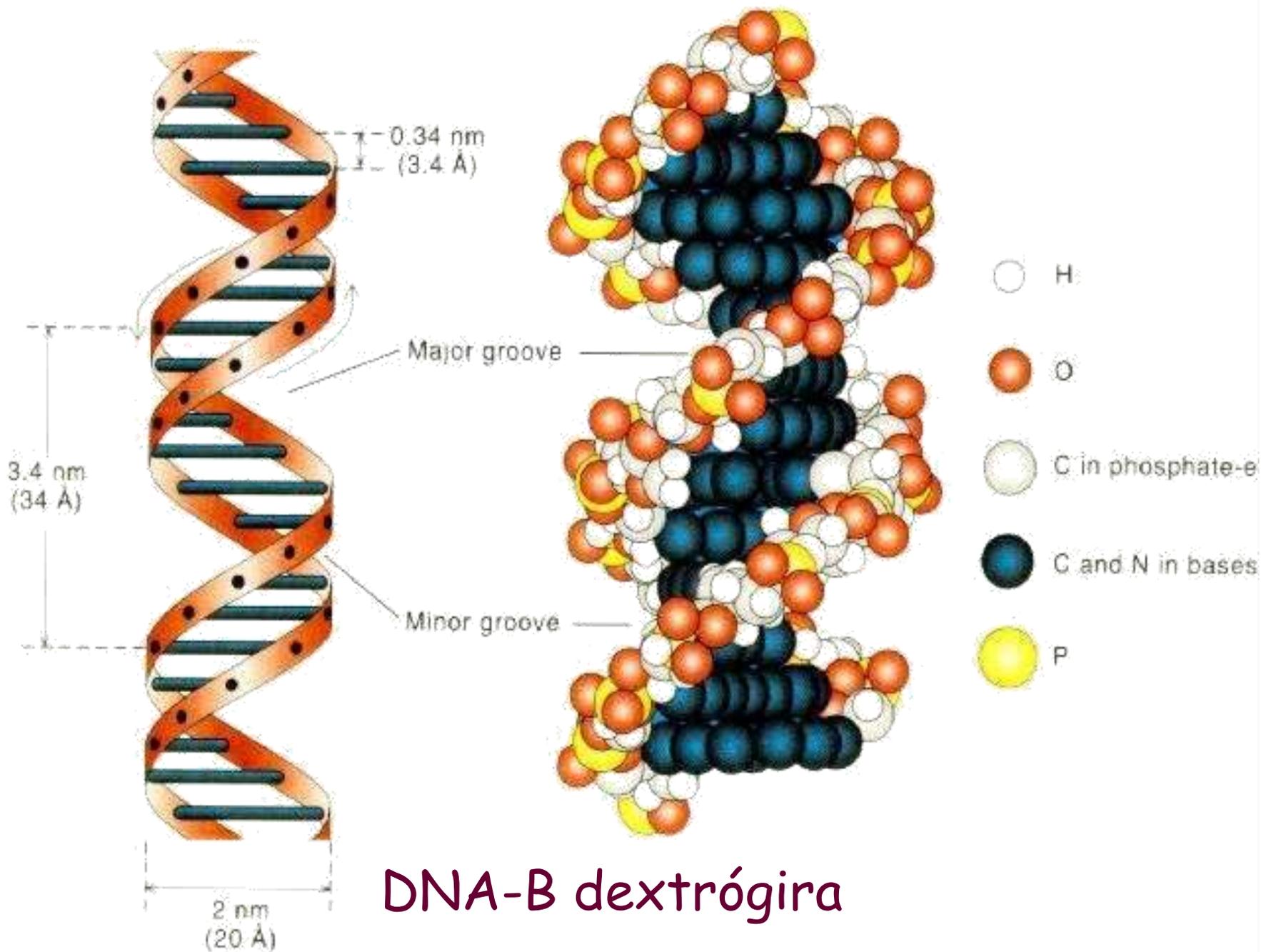




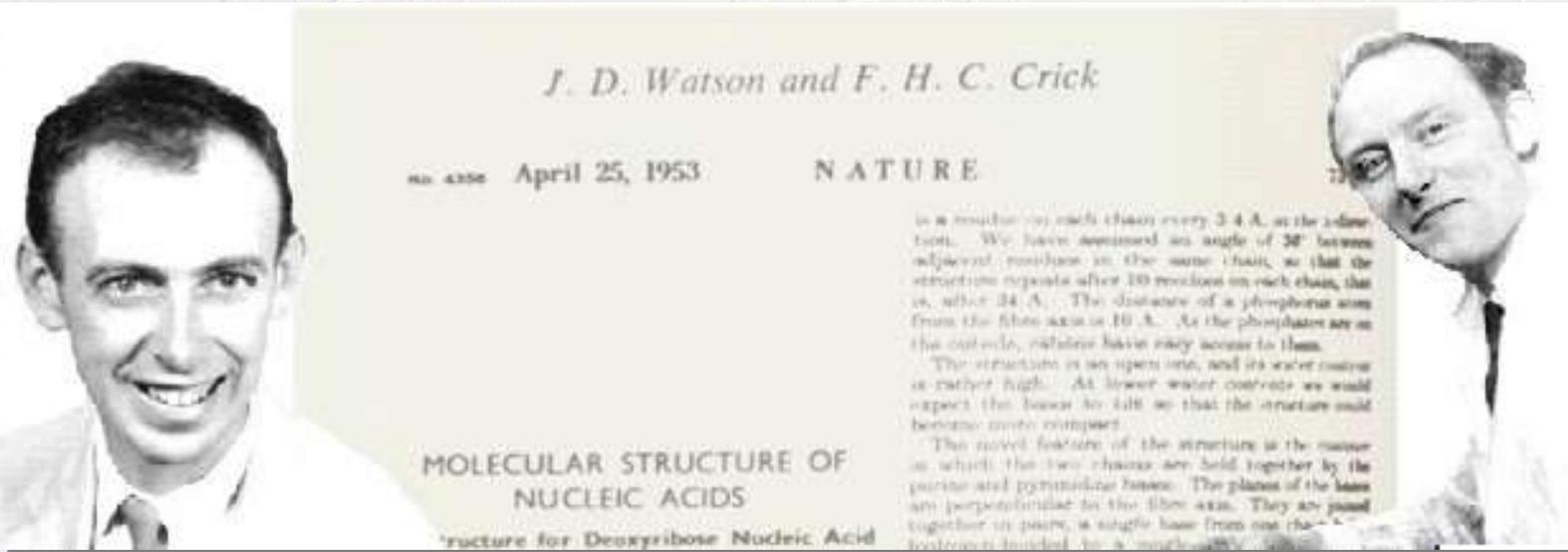
left-handed
helix

right-handed
helix

Hélices levóginas y dextróginas



DNA-B dextrógira



Ver artículo
Nature
1953



Courtesy of Cold Spring Harbor Laboratory Archives.
Noncommercial, educational use only.



Courtesy of Cold Spring Harbor Laboratory Archives. Noncommercial, educational use only.



Courtesy of Cold Spring Harbor Laboratory Archives.
Noncommercial, educational use only.



Courtesy of Cold Spring Harbor Laboratory Archives and Sverokl Pina Photo, Stockholm, Sweden.
Noncommercial, educational use only.

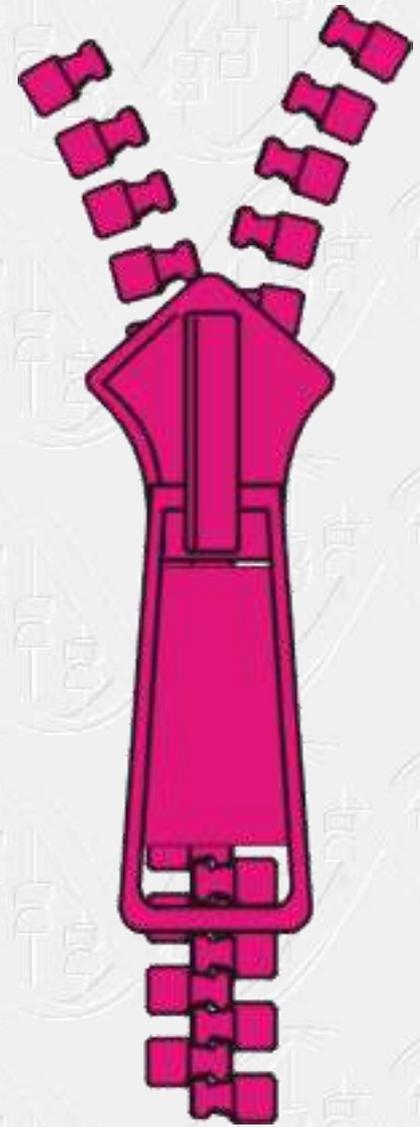
La estructura del DNA suministra una explicación asombrosamente simple del fenómeno de la herencia

La estructura explica:

- La naturaleza de la secuencia lineal de los genes (información digital cuaternaria en secuencias unidimensionales de monómeros A,T,G,C)
- El mecanismo de replicación exacta de los genes
- La naturaleza química de las mutaciones
- Por qué la mutación, la recombinación y la expresión génica son fenómenos separables a nivel molecular

Esencial a la relación íntima entre estructura molecular y función genética del DNA es el concepto de molde

La complementariedad de las bases nitrogenadas permite que la secuencia de una cadena sencilla de DNA actúe como un molde para la formación de una copia complementaria de DNA (replicación) o de mRNA (transcripción)



Y ahora las declaraciones de Watson y Crick sobre el ADN. Esto es para mí la prueba verdadera de la existencia de Dios

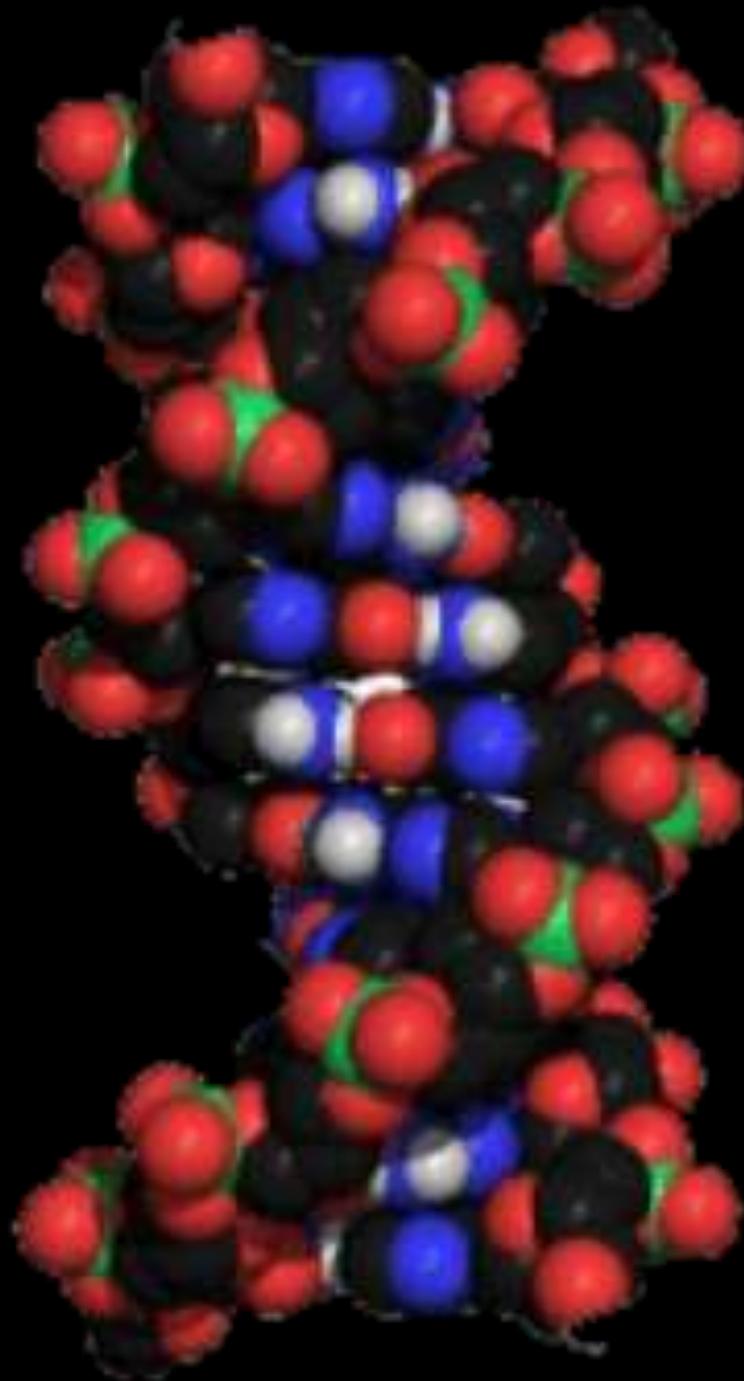


Salvador Dalí

Antes pensábamos que nuestro futuro estaba en las estrellas. Ahora sabemos que está en nuestros genes.



James Watson

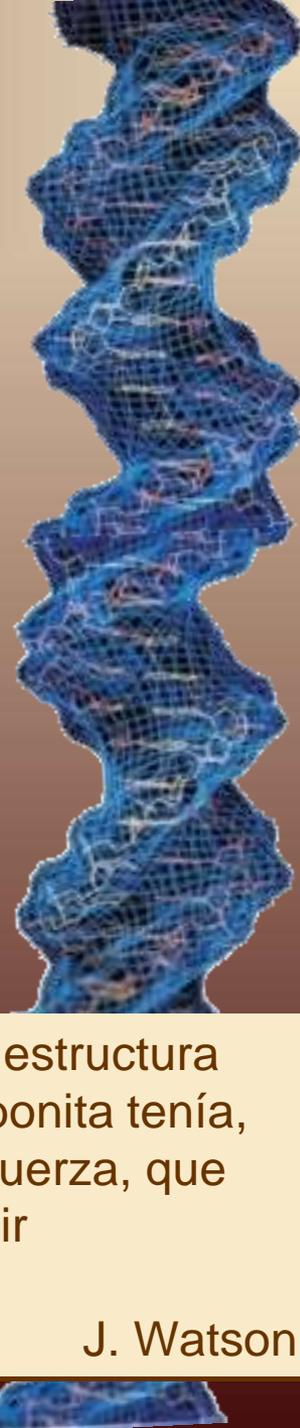
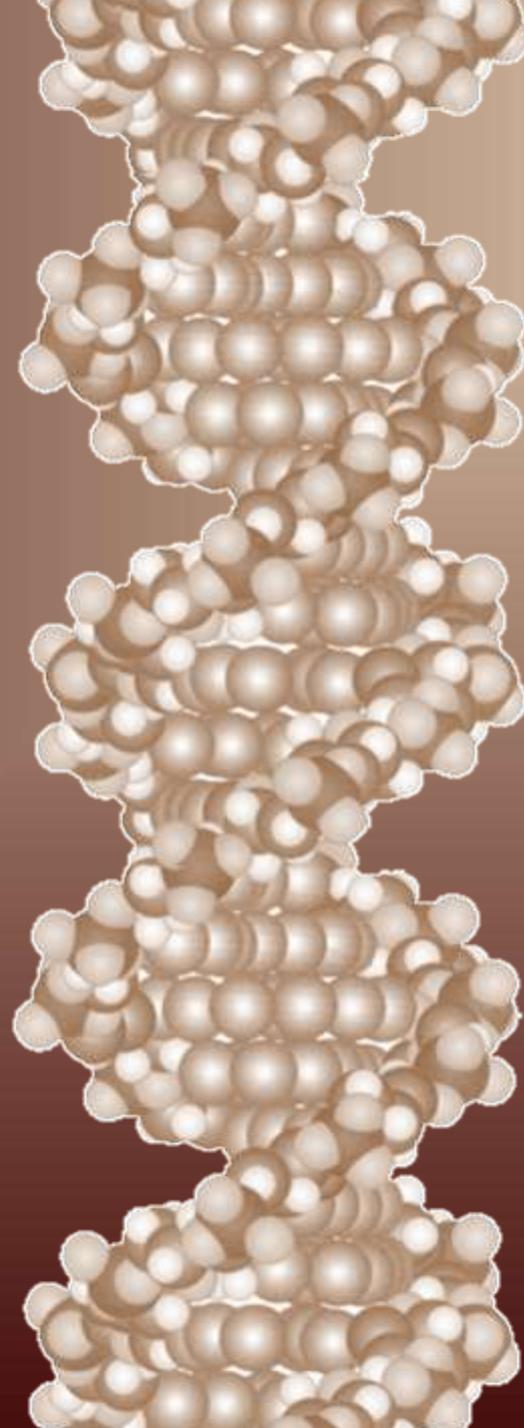
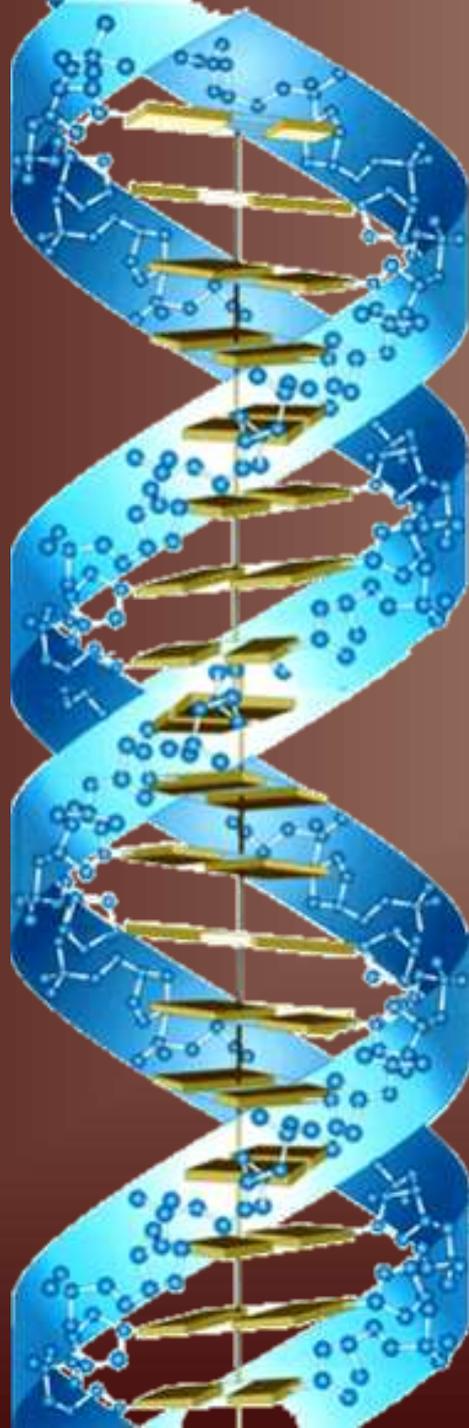
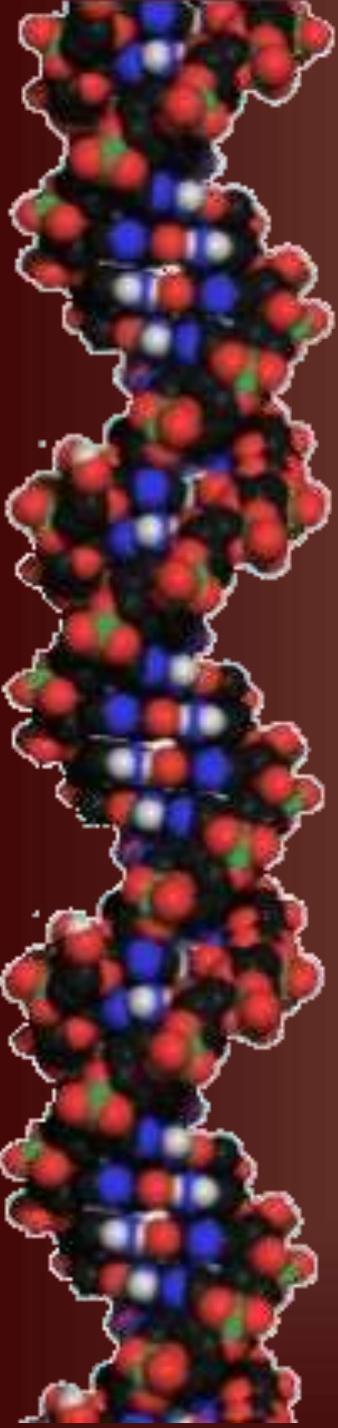


Una estructura
tan bonita tenía,
por fuerza, que
existir

Dr. Antonio Barbadilla

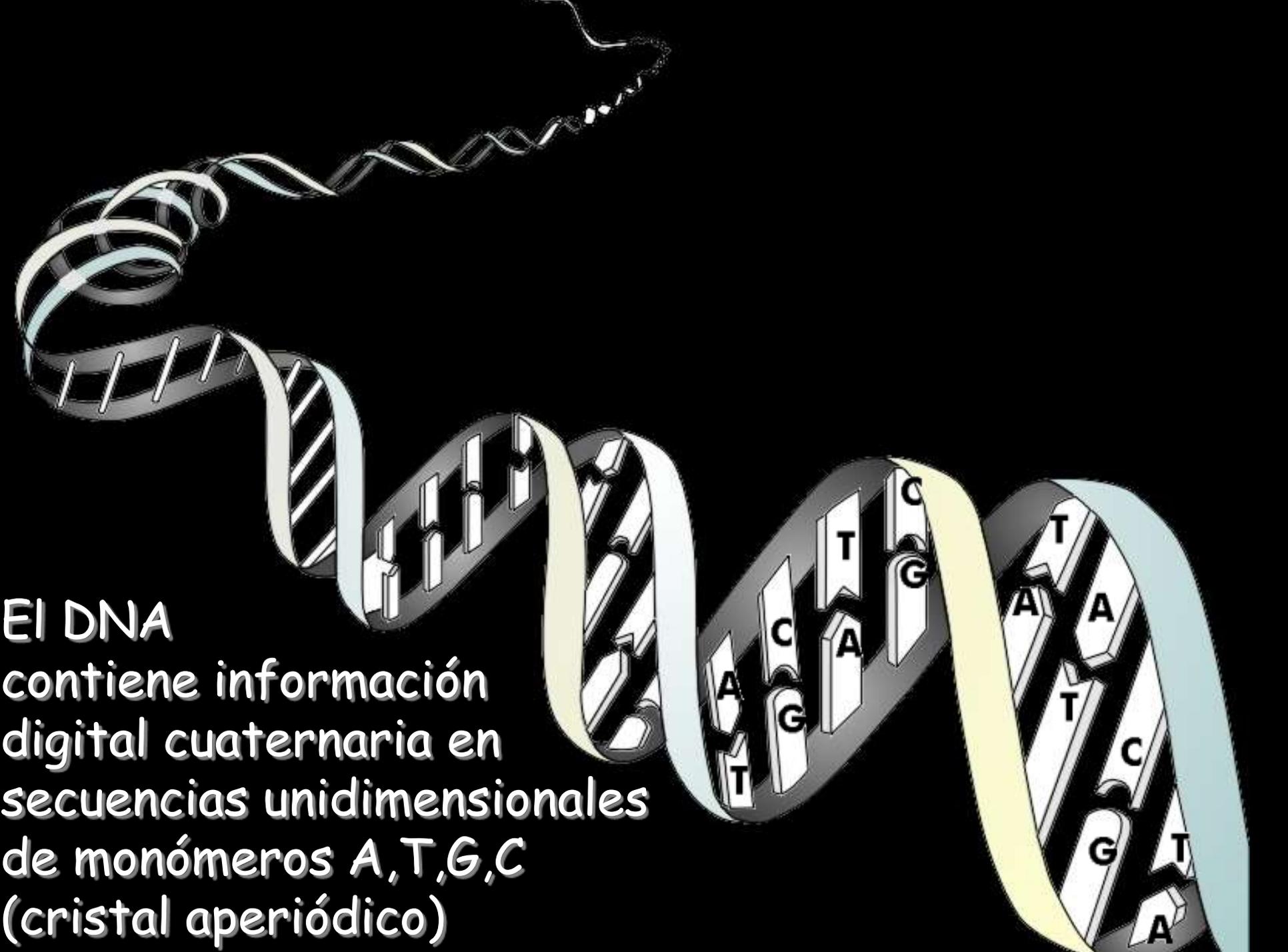


J. Watson



Una estructura tan bonita tenía, por fuerza, que existir

J. Watson



El DNA
contiene información
digital cuaternaria en
secuencias unidimensionales
de monómeros A, T, G, C
(cristal aperiódico)

Hay grandeza en esta concepción de la vida,... que mientras este planeta ha ido girando según la constante ley de la gravitación, se han desarrollado y se están desarrollando, **a partir de una molécula helicoidal asombrosa**, infinidad de formas cada vez más bellas y maravillosas

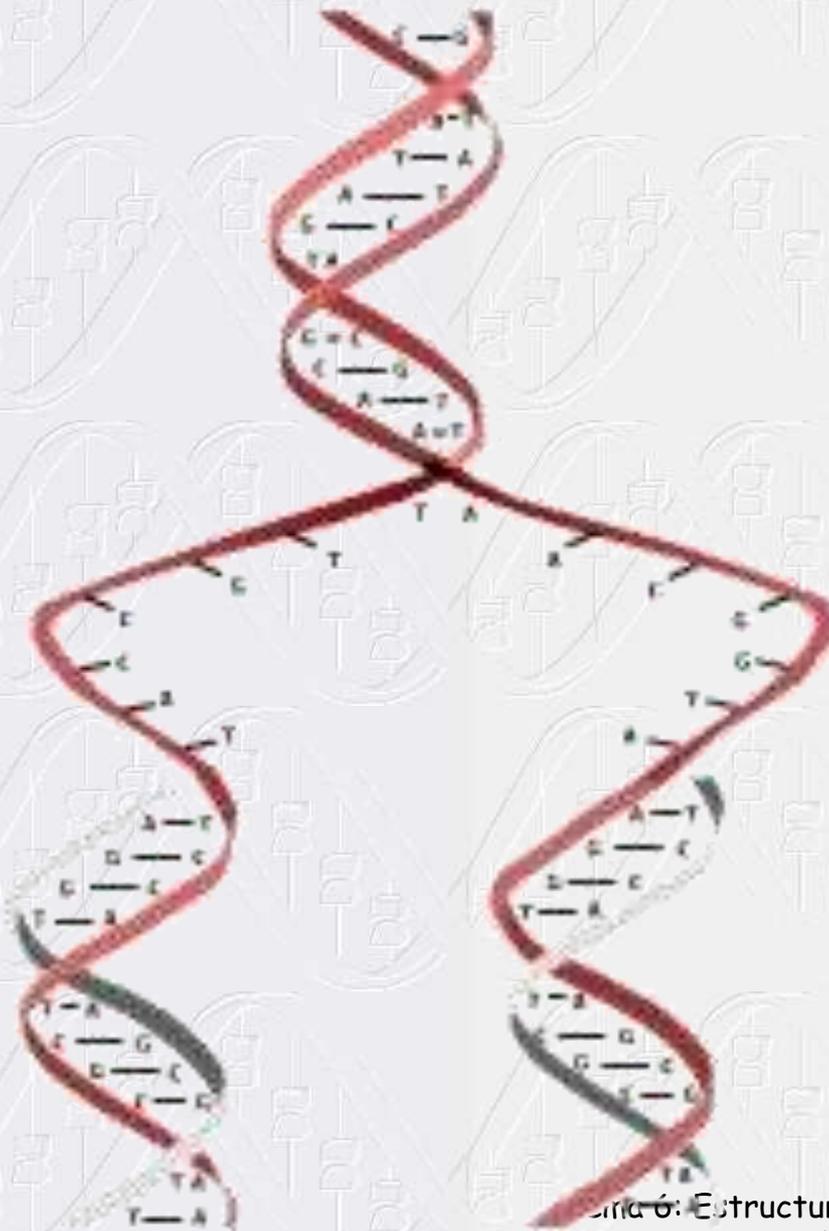
Charles Darwin



[Dr. Antonio Barbadilla](#)



Replicación del DNA



25 de Abril 1953

No. 4356 April 25, 1953

NATURE

737

equipment, and to Dr. G. E. R. Deacon and the captain and officers of R.R.S. *Discovery II* for their part in making the observations.

¹ Young, F. B., Gerrard, H., and Jevons, W., *Phil. Mag.*, **40**, 149 (1920).

² Longuet-Higgins, M. S., *Mon. Not. Roy. Astro. Soc., Geophys. Supp.*, **5**, 285 (1949).

³ Von ARX, W. S., *Woods Hole Papers in Phys. Oceanog. Meteor.*, **11** (3) (1950).

⁴ Ekman, V. W., *Arkiv. Mat. Astron. Fysik. (Stockholm)*, **2** (11) (1905).

is a residue on each chain every 3.4 Å. in the z-direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

MOLECULAR STRUCTURE OF DEOXYRIBOSE NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for deoxyribose nucleic acid which has novel features of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

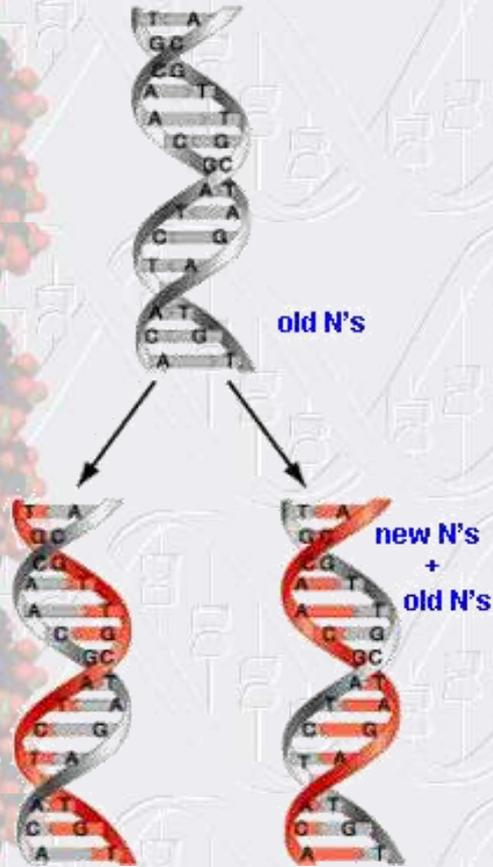
If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, in the keto rather than the enol configuration) it is found that only specific pairs of bases can be joined together. These pairs are: adenine (purine) and thymine (pyrimidine), and guanine (purine) and cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, the other member must be thymine; similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other

Posibles modelos de replicación

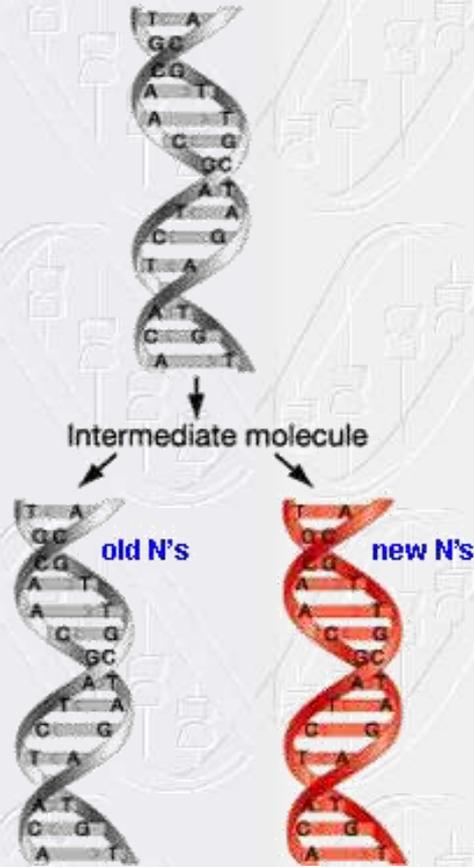
Hypothesis 1:

Semi-conservative replication



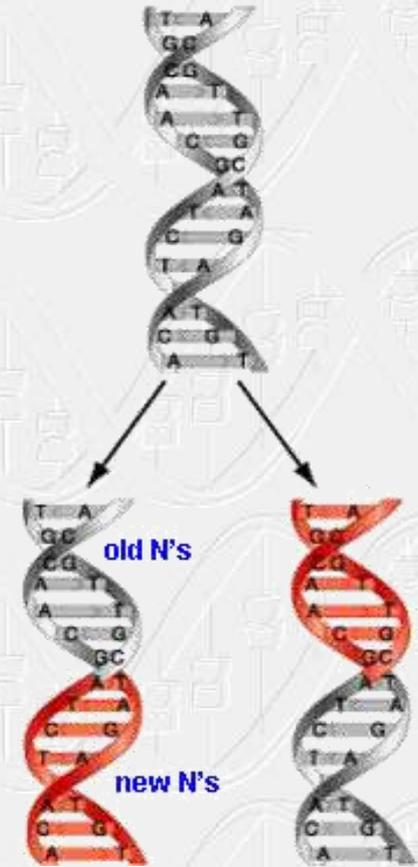
Hypothesis 2:

Conservative replication



Hypothesis 3:

Dispersive replication

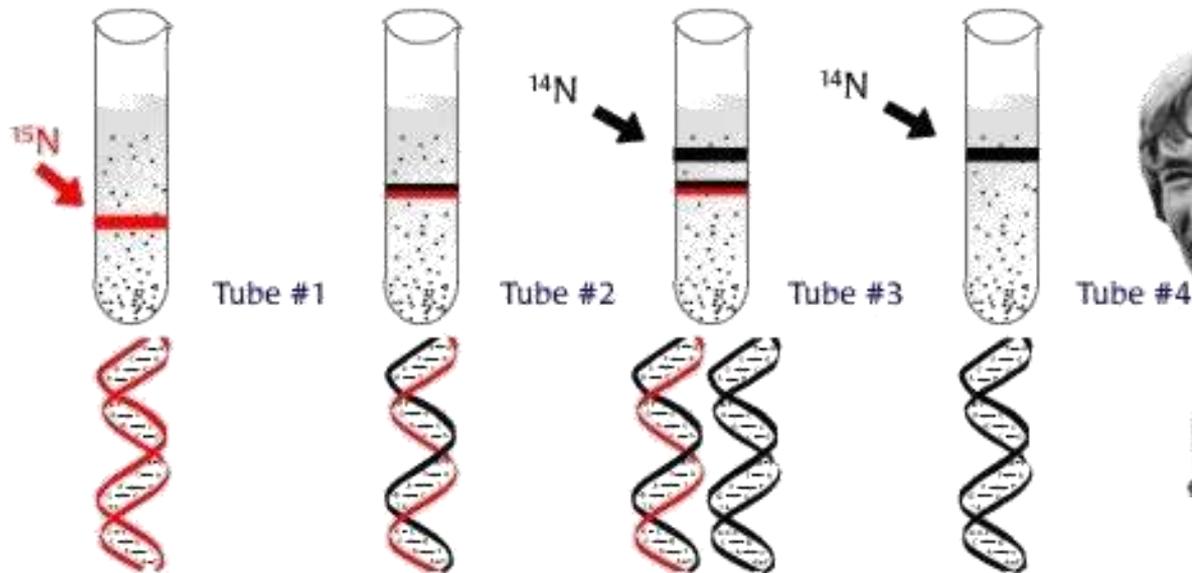


Replicación del DNA

- Semiconservativa: una cadena sirve de molde para una nueva cadena
- El experimento de M. Meselson y F. Stahl (1958) demuestra que la replicación es semiconservativa



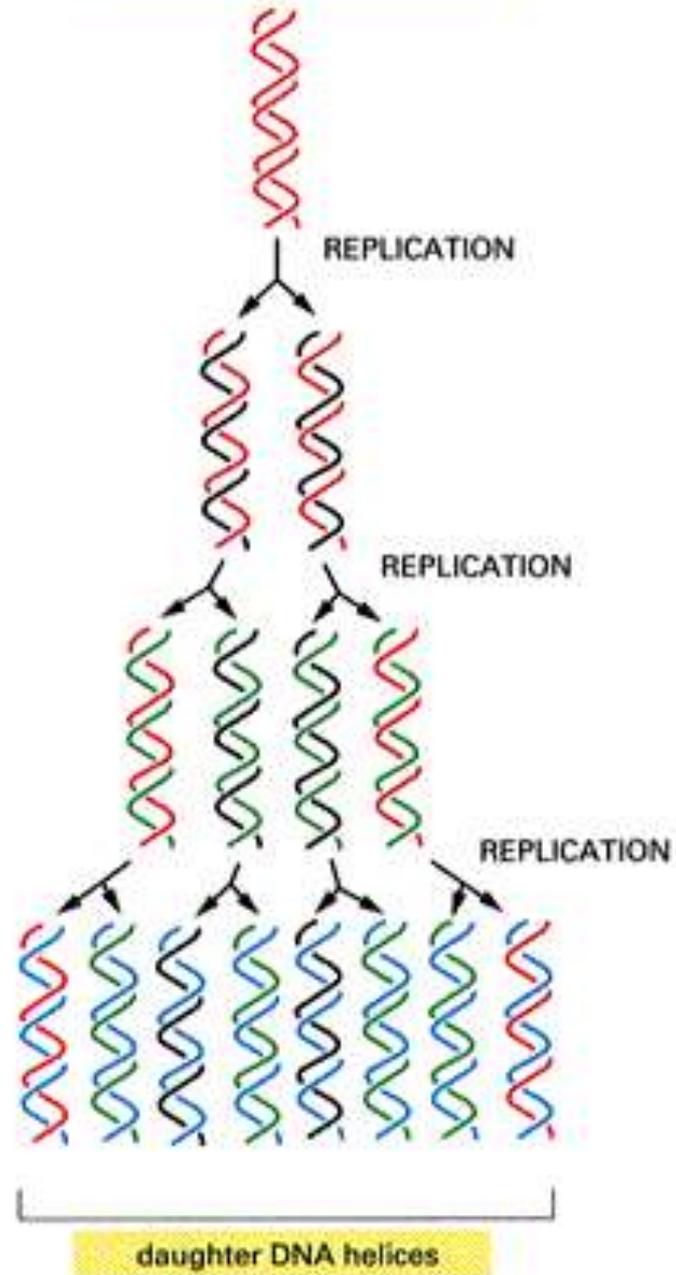
Mathew Meselson



Frank Stahl



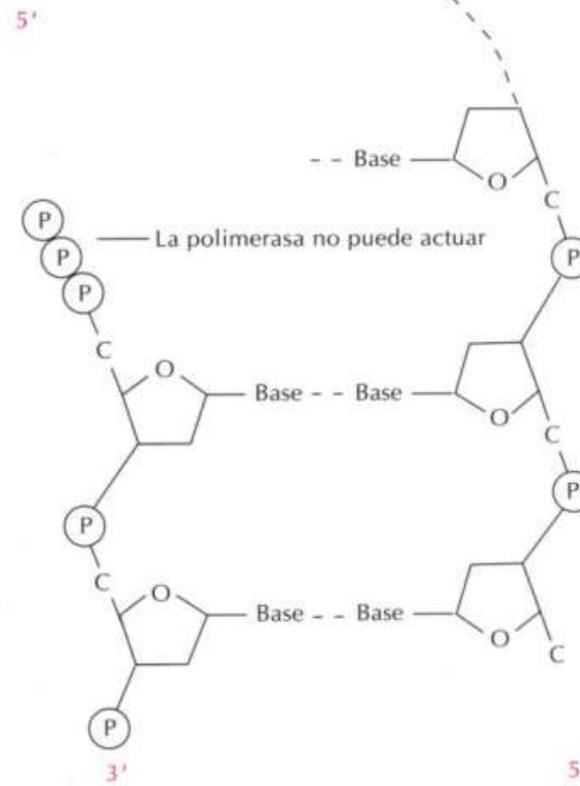
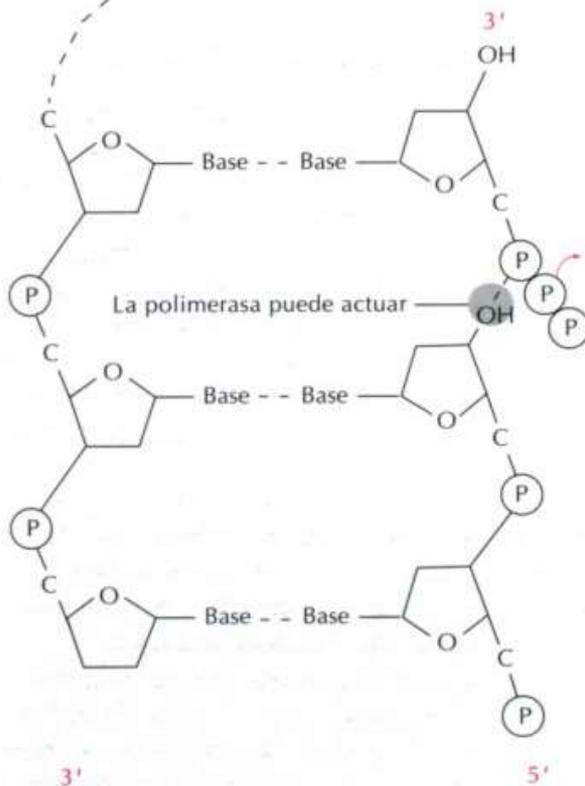
parental DNA double helix

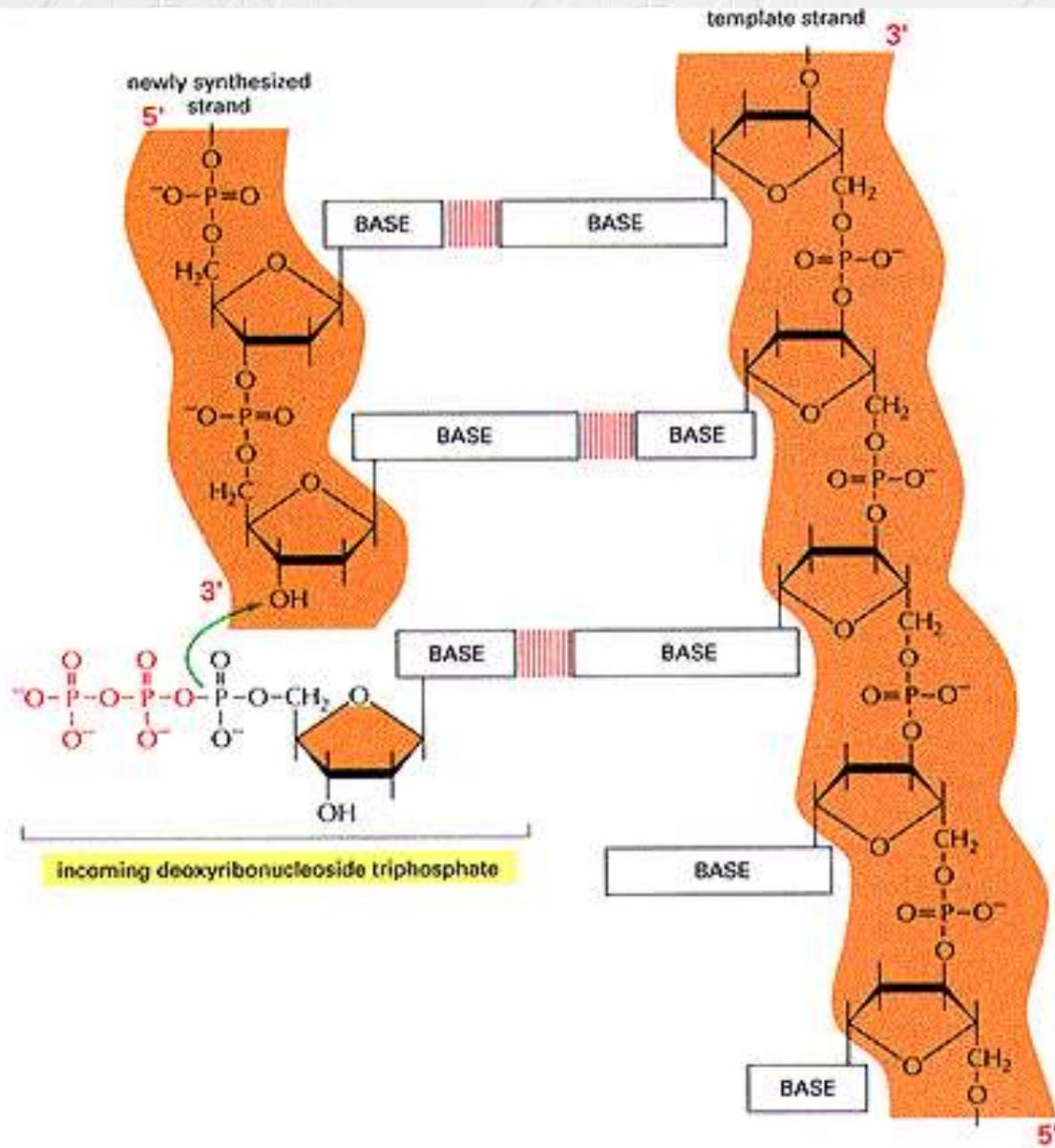


Replicación del DNA

- Enzimas que sintetizan (replican) el DNA
 - E. coli
 - DNA polimerasa I (rellena huecos y repara)
 - DNA polimerasa II y III (función principal en la síntesis)
 - Añade bases en ambas cadenas en la dirección 5' → 3'
 - Requiere un 3' OH final
 - Eucariotas
 - 5 polimerasas
 - α y β principal en replicación
 - δ , ϵ y γ exonucleasas
 - Corrección de pruebas: actividad 3' → 5' exonucleotídica. Sustituye bases mal emparejadas (10^{-5}) por correctas (10^{-7}); mecanismos de reparación adicionales la reducen hasta 10^{-10}

Las polimerasas conocidas añaden nucleótidos solamente en la dirección 5' → 3'







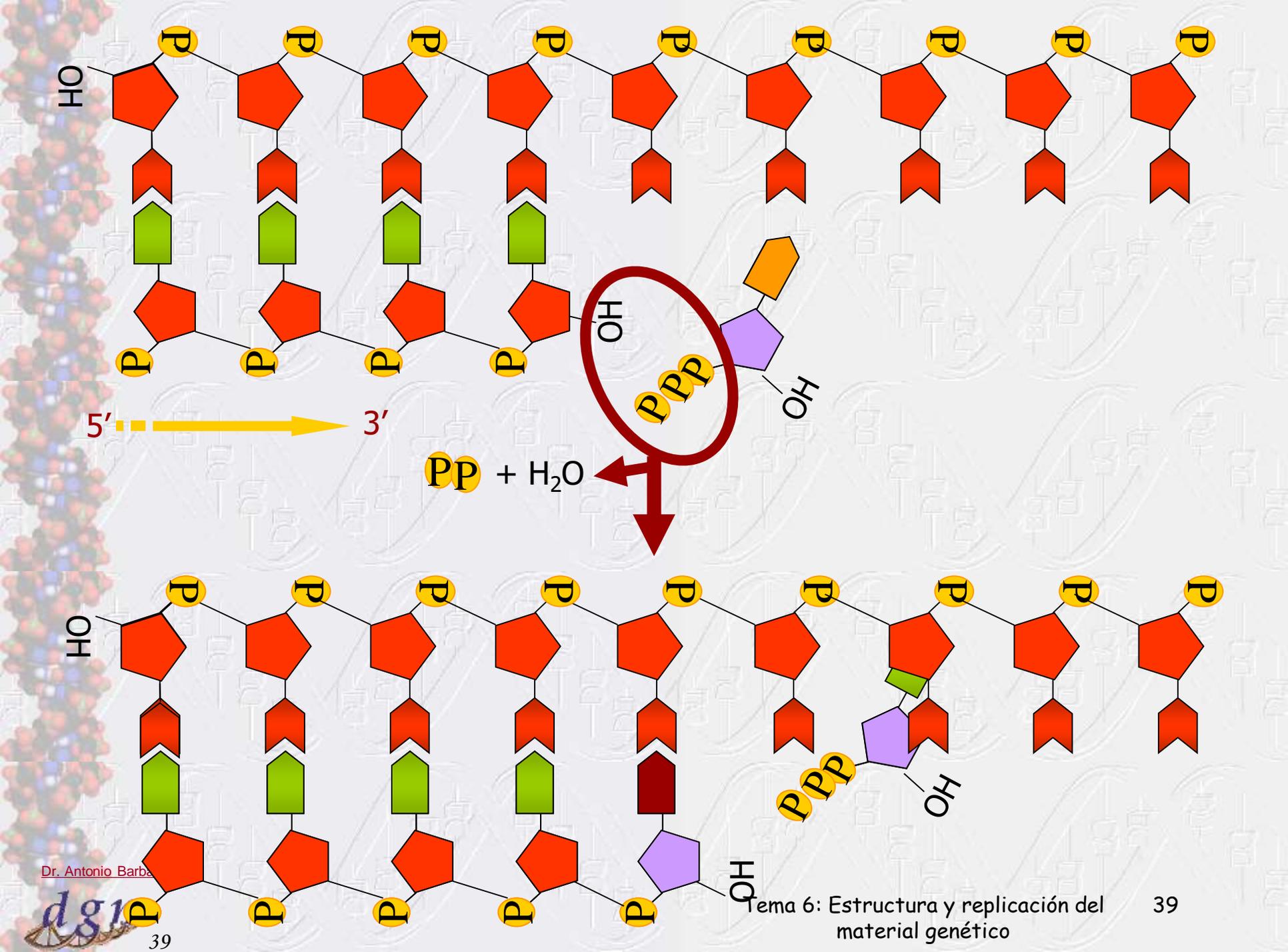
¿Por qué no hay una enzima que polimerice en la dirección 3' → 5'?

No funcionaría la corrección de errores por falta de un trifosfato que suministre la energía de enlace covalente azúcar-fosfato



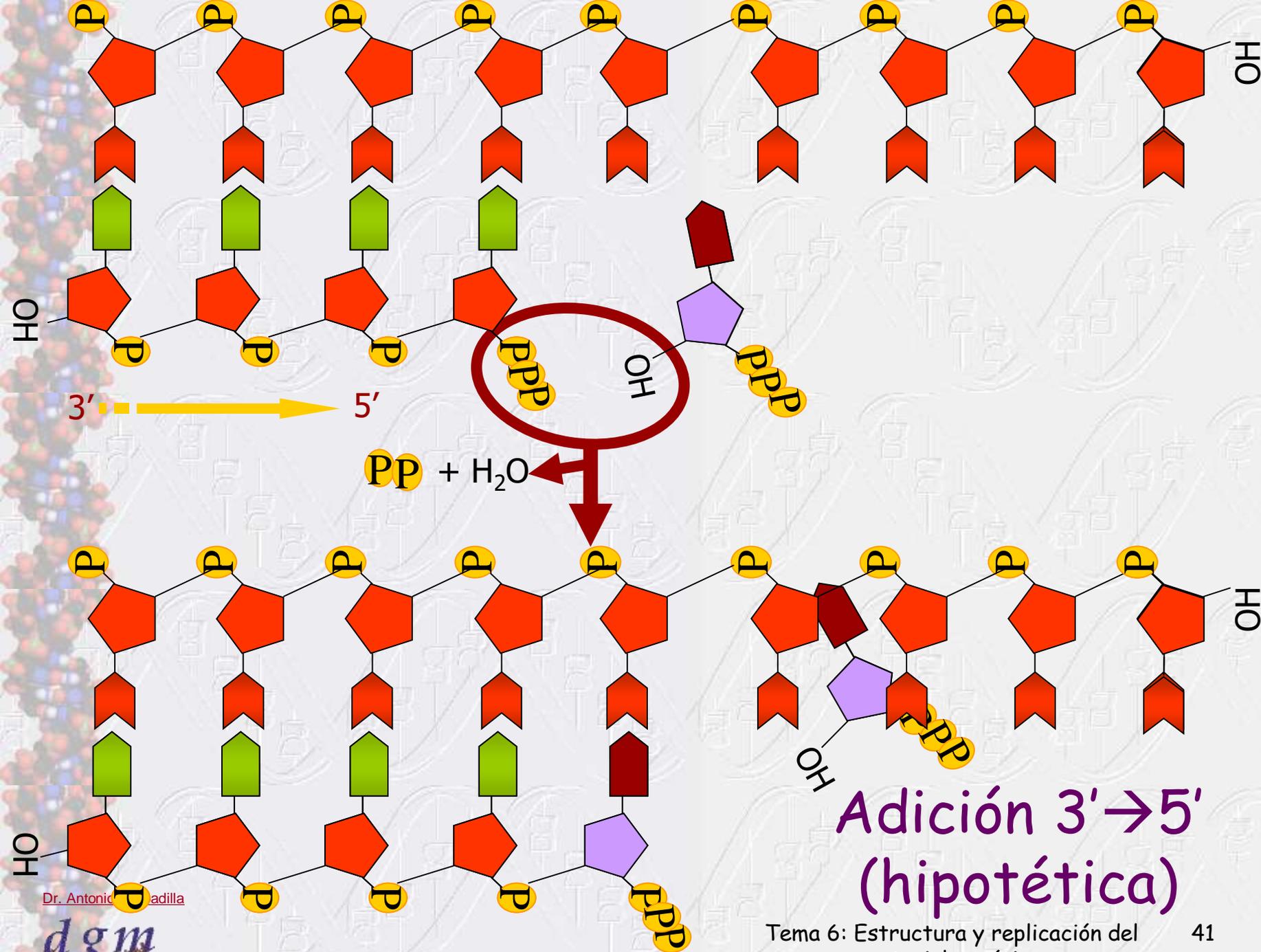


Adición 5'→3'





Adición 3'→5' (hipotética)

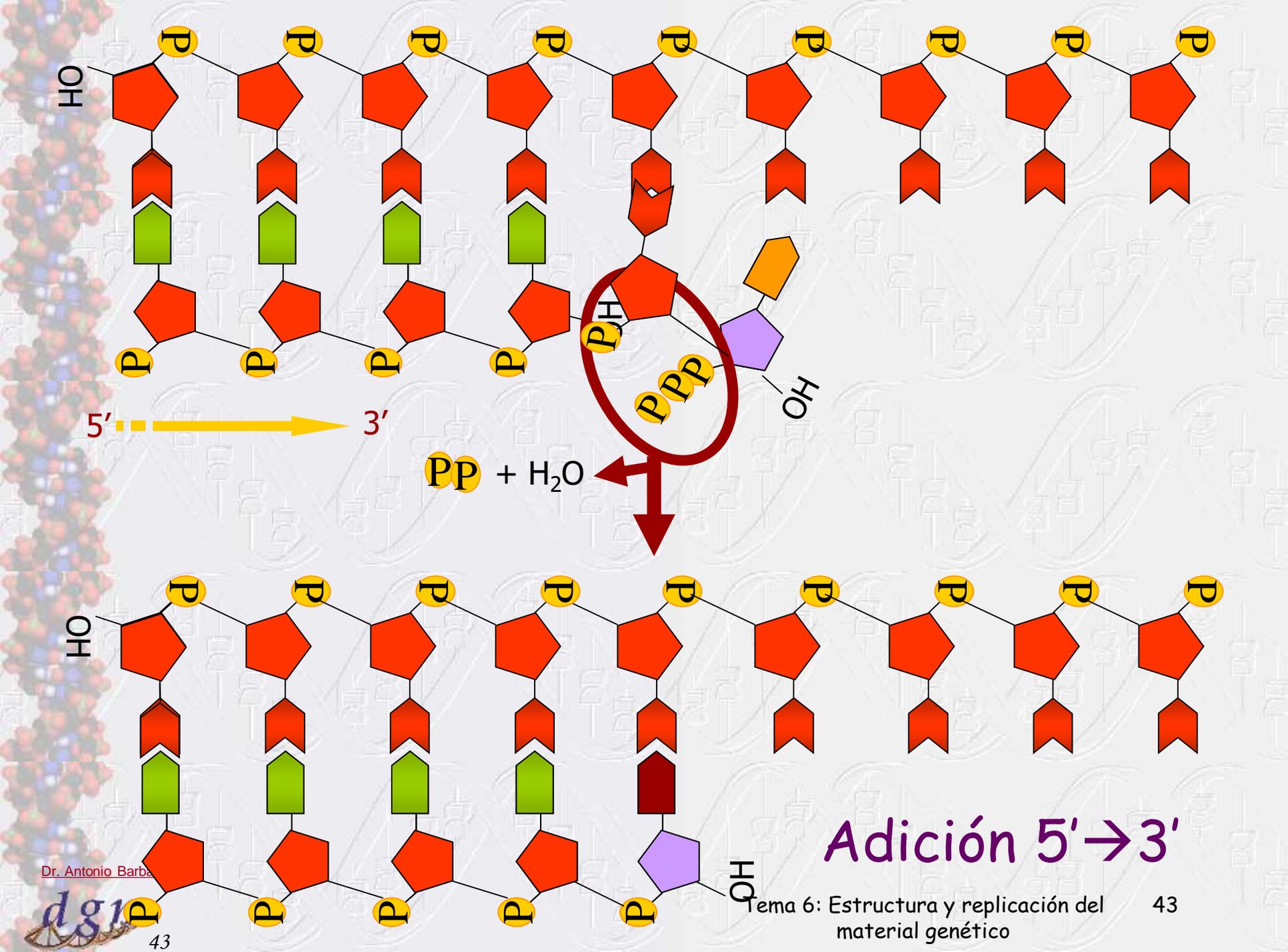


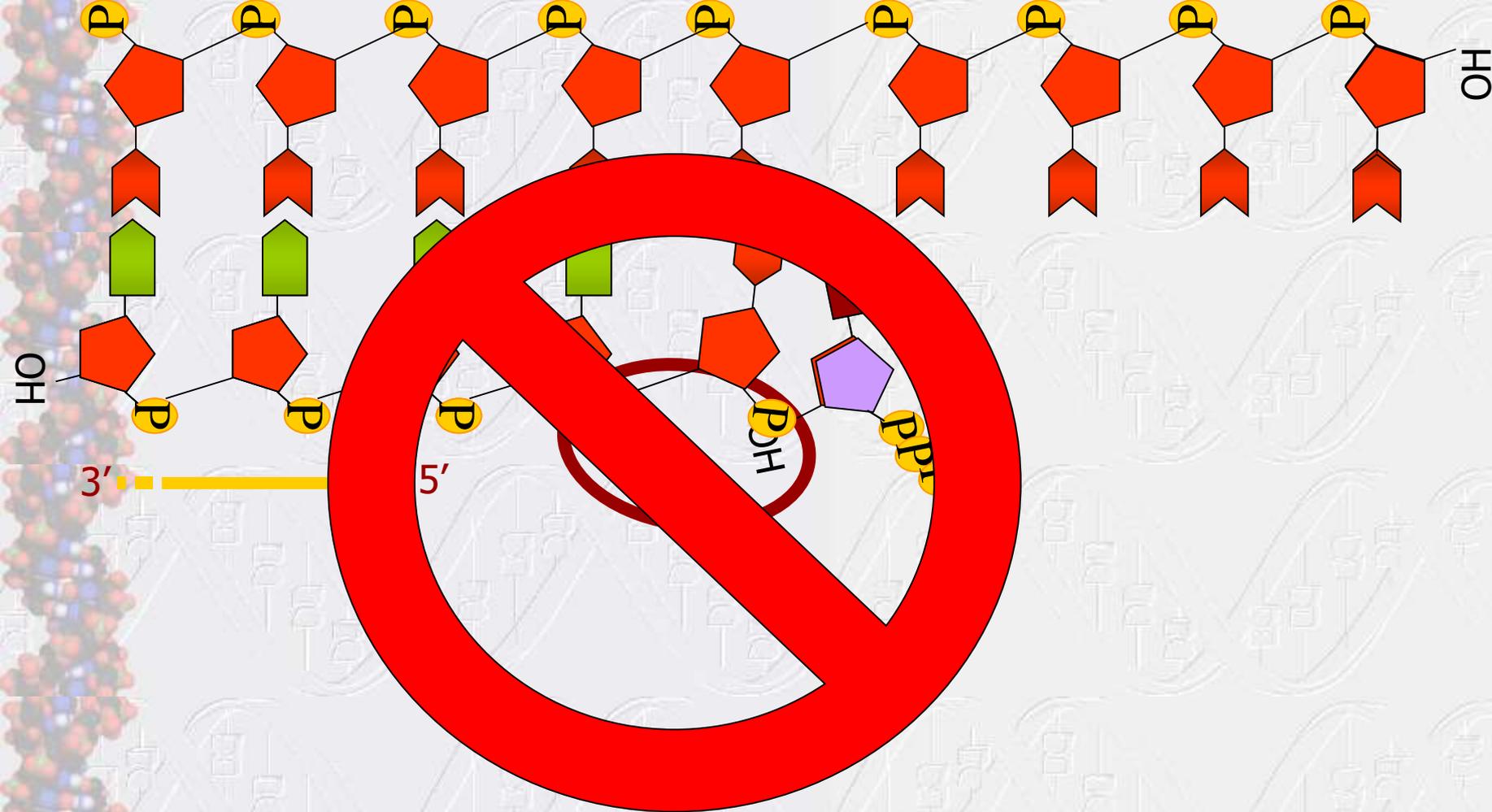
Adición 3'→5' (hipotética)



Corrección de errores

Dr. Antonio Barbadilla

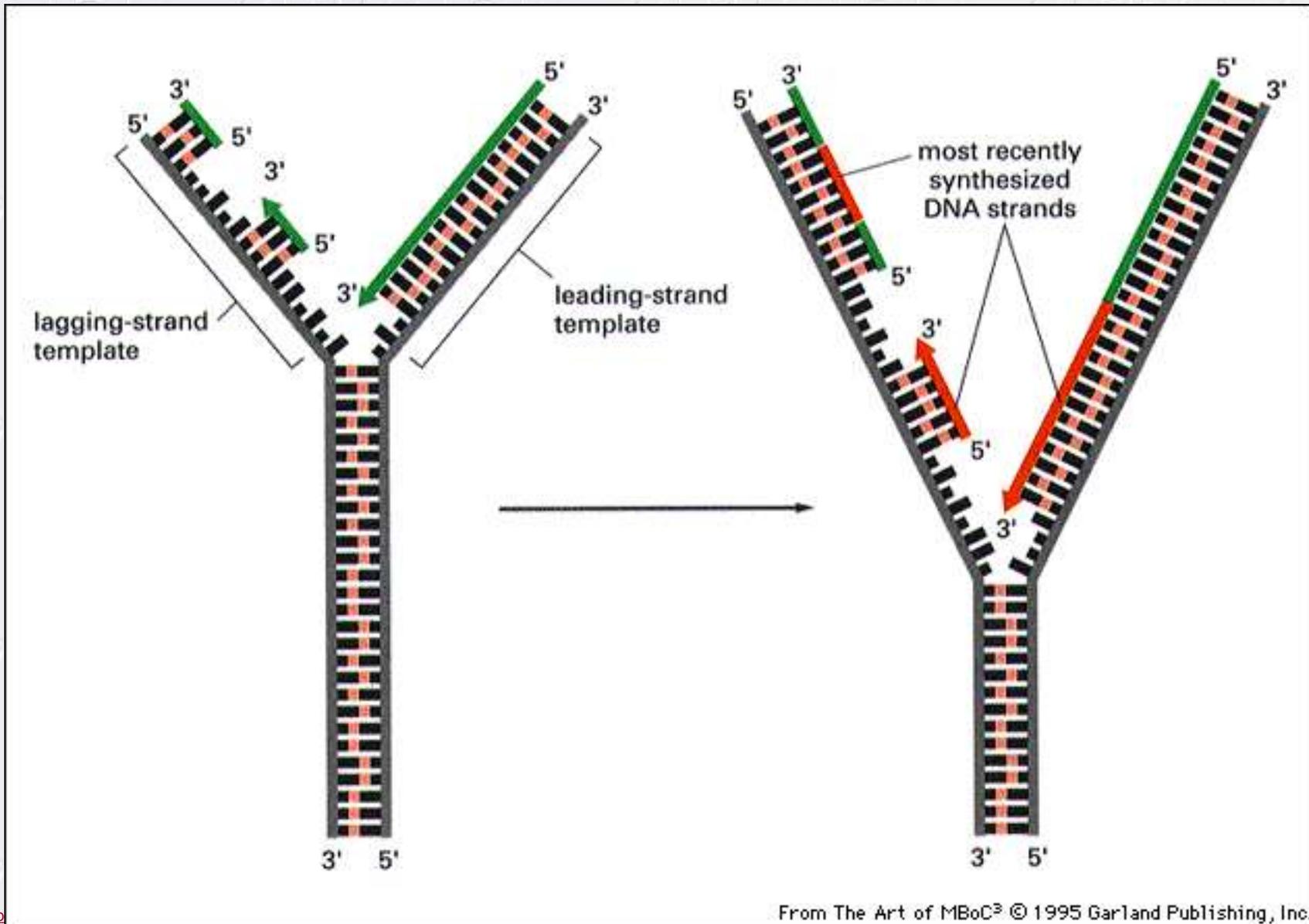


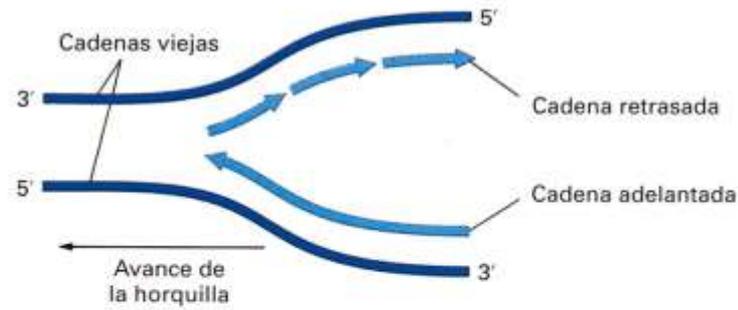


Adición 3' → 5'
(hipotètica)

Replicación del DNA (2)

- Replicación: continua (cadena adelantada, cebador sólo inicio) y discontinua (cadena retrasada)
- Discontinua
 - Cebador (pequeño RNA 2-60 nucleótidos añadido por enzima primasa o RNA pol que provee 3' OH.
 - Fragmento de Okazaki por DNA pol III (1500 bp en procariotas y 150 en eucariotas)
 - Pol I elimina cebador 3' → 5' y llena huecos (*gap*)
 - Ligación (DNA ligasa, enlace fosfodiéster)





Síntesis de la cadena retrasada

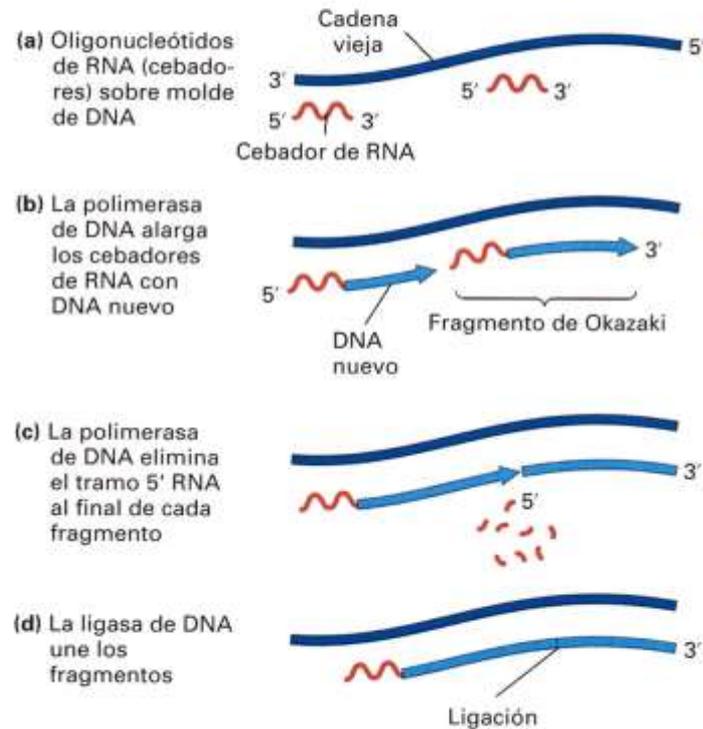
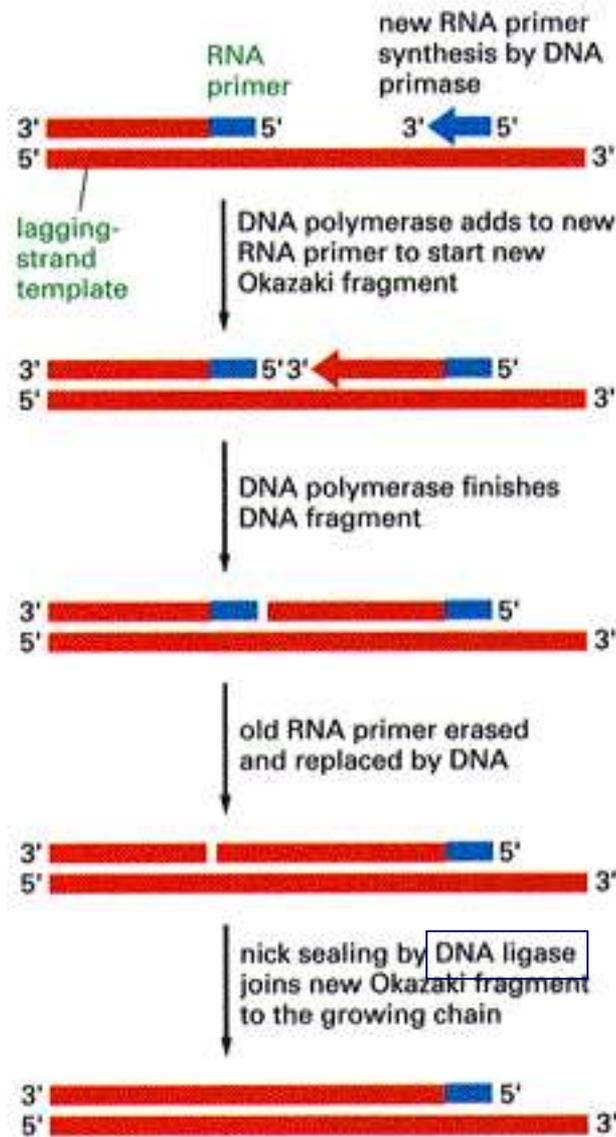


Figura 8-30. Esquema general de una horquilla de replicación (*arriba*) y pasos sucesivos de la síntesis de la cadena retrasada, (Tomado de H. Lodish, D. Baltimore, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira y J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, 3.ª ed. Copyright © 1995 de Scientific American Books, Inc.)



Polimerasa III

Polimerasa I



¿Por qué el cebador es RNA?

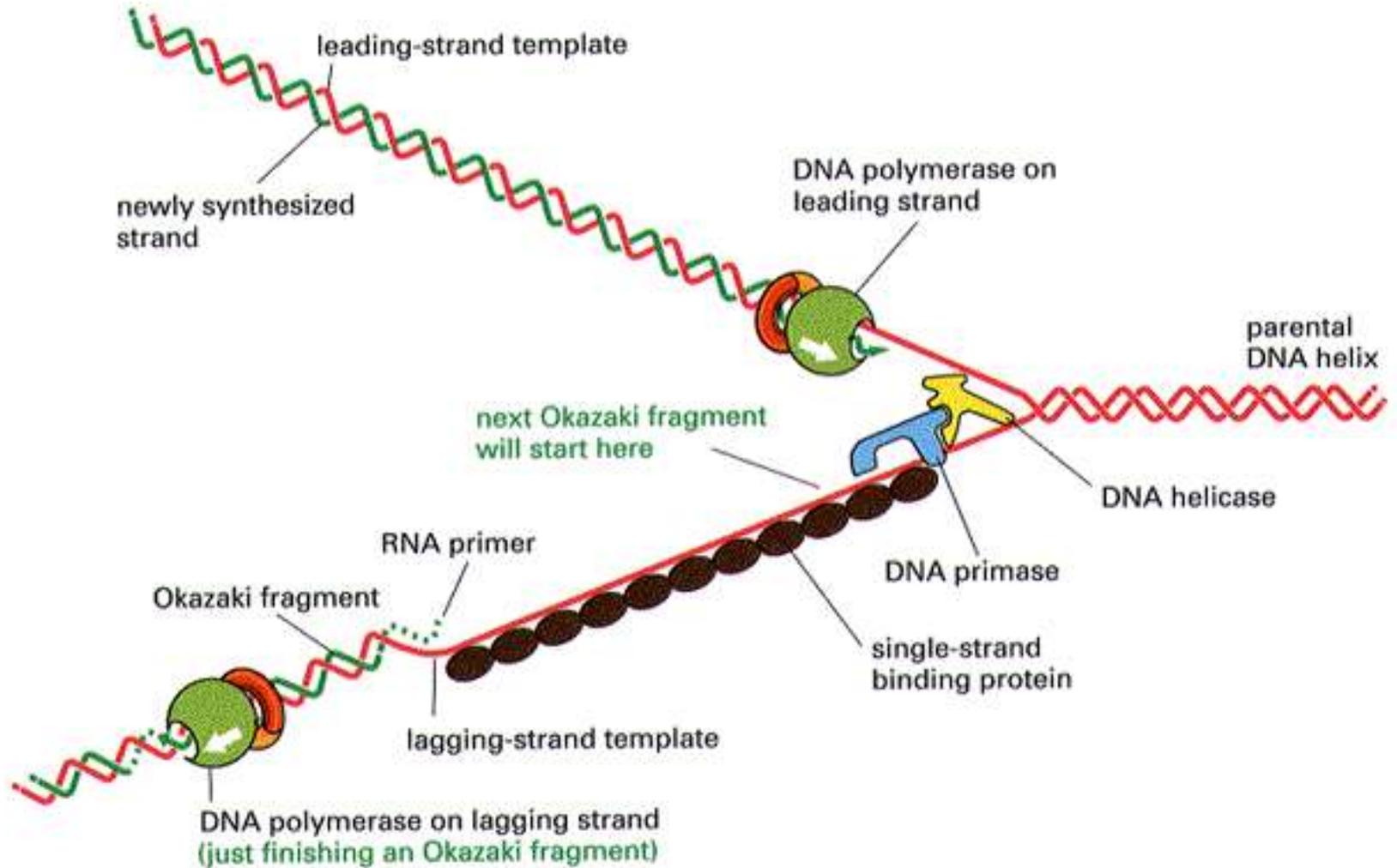
El cebador es más proclive al error, por lo que debería eliminarse y el RNA puede detectarse y eliminarse fácilmente por la DNAPol I

Replicación del DNA (3)

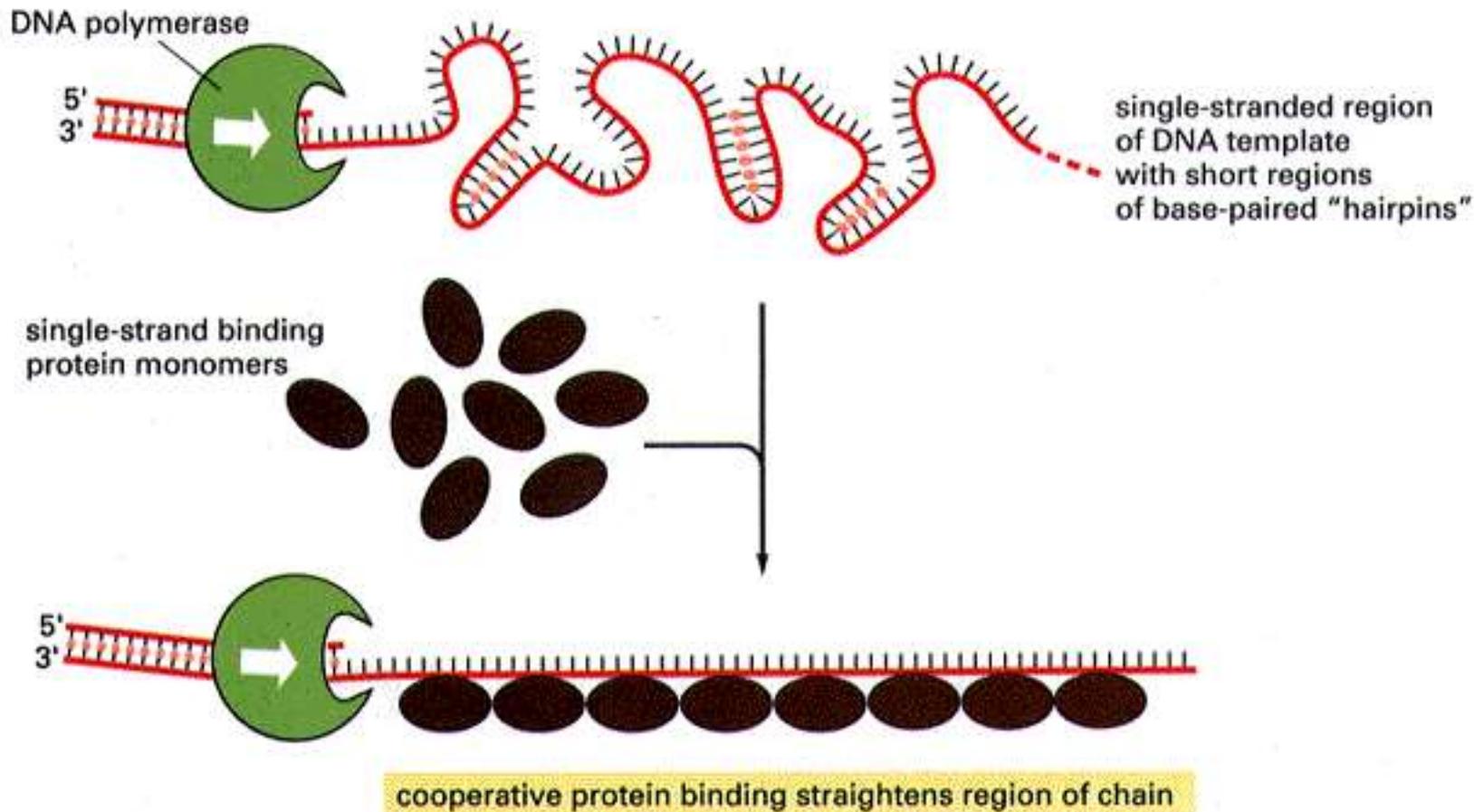
El replisoma: complejo enzimático de la replicación que coordina la síntesis de las dos cadenas, maquinaria molecular

- Dímero de la DNA pol III (núcleos catalíticos)
- Primosoma: formado por dos enzimas
 - Primasa
 - Helicasa (desenrolla el DNA)
- Proteína de unión a cadena sencilla, ssb (Unión Y, estabiliza el DNA de cadena sencilla)
- Topoisomerasas tipo I (rotura una cadena) y II (rotura de dos cadenas) junto a DNA ligasa -> Relajación del superenrollamiento

El replisoma: una maquinaria de replicación extraordinaria

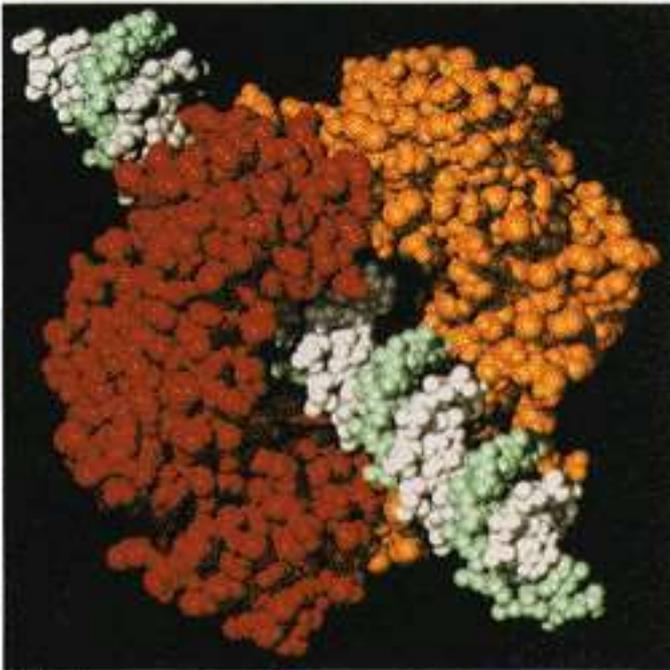


El replisoma: una maquinaria de replicación extraordinaria

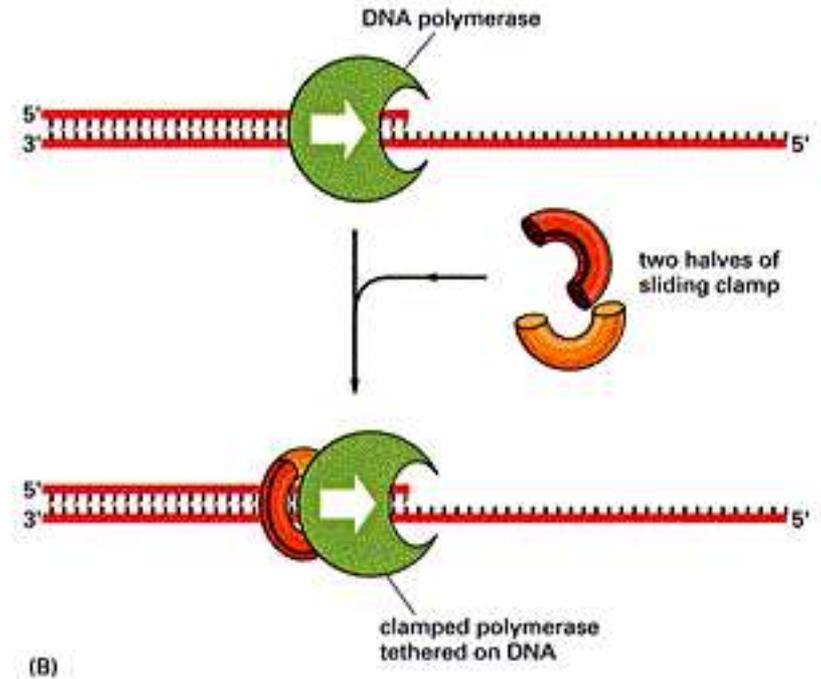


El replisoma: una maquinaria de replicación extraordinaria

DNA pol III + abrazadera beta → Enzima procesiva

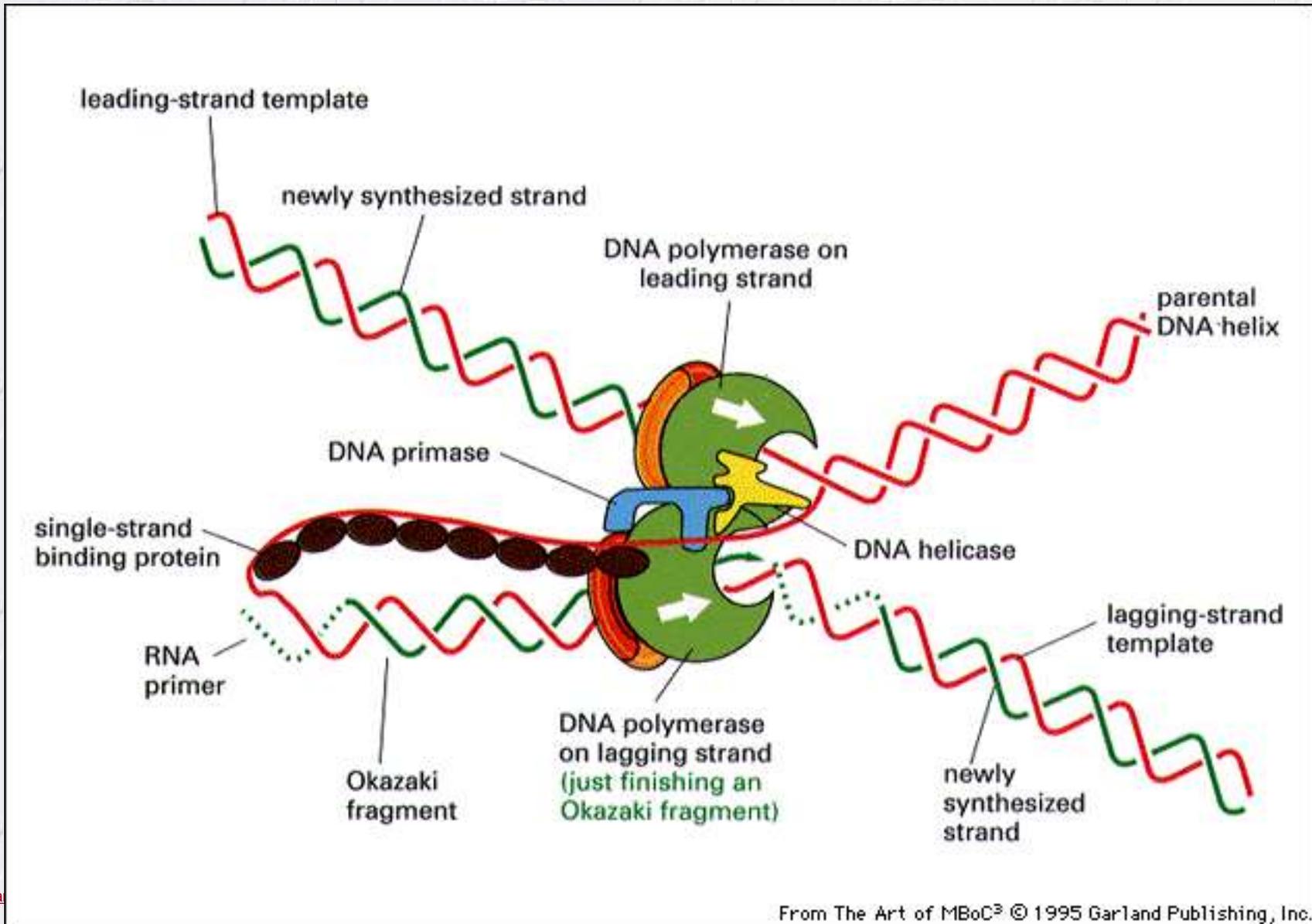


(A)

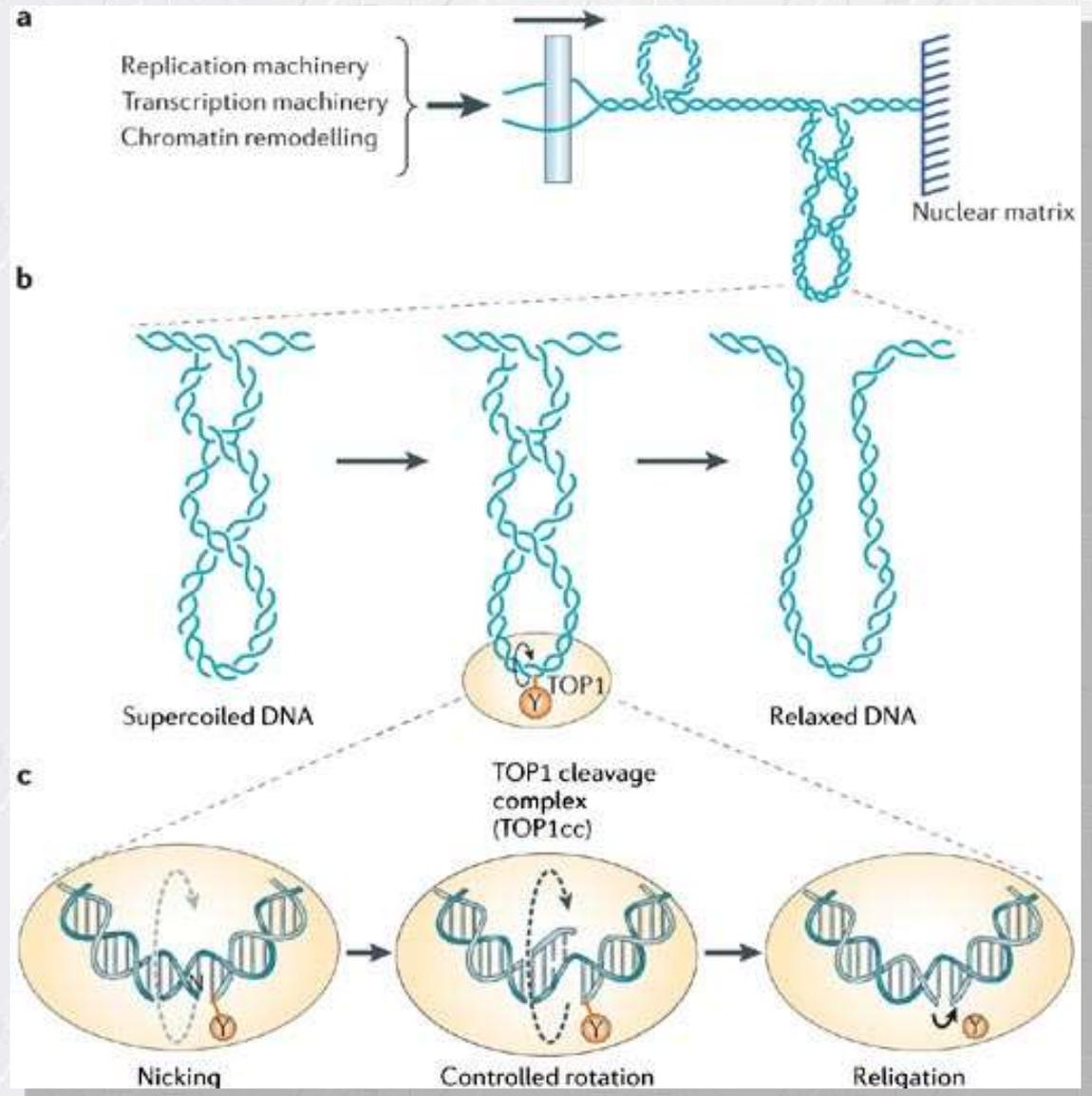


(B)

El replisoma: una maquinaria de replicación extraordinaria

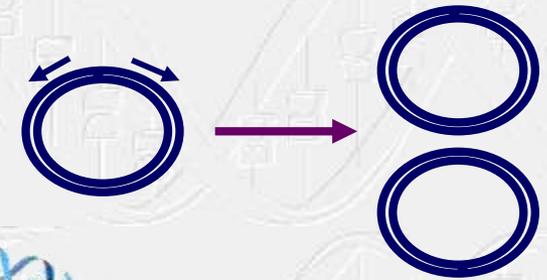


Topoisomerasas



Replicación del DNA (4)

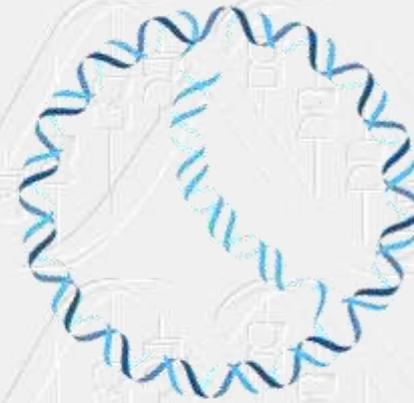
- Origen de replicación:
 - Secuencia reconocida (*Ori C* en *E. coli*) por proteínas iniciadoras. Varios orígenes en eucariotas
 - La replicación es bidireccional



Horquilla replicación



Autorradiografía



Interpretación

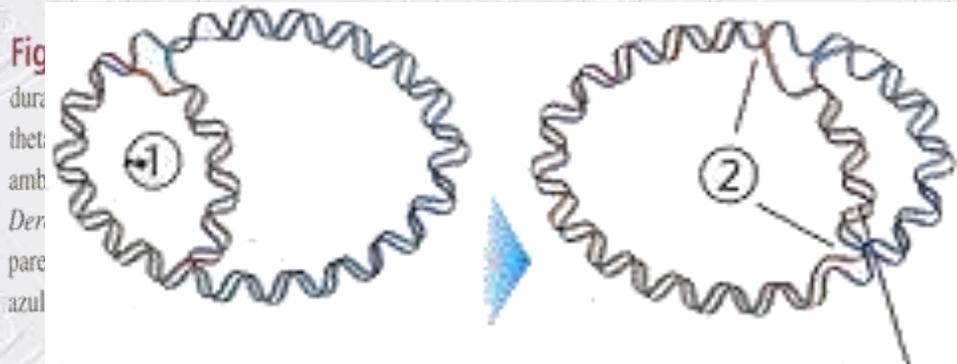
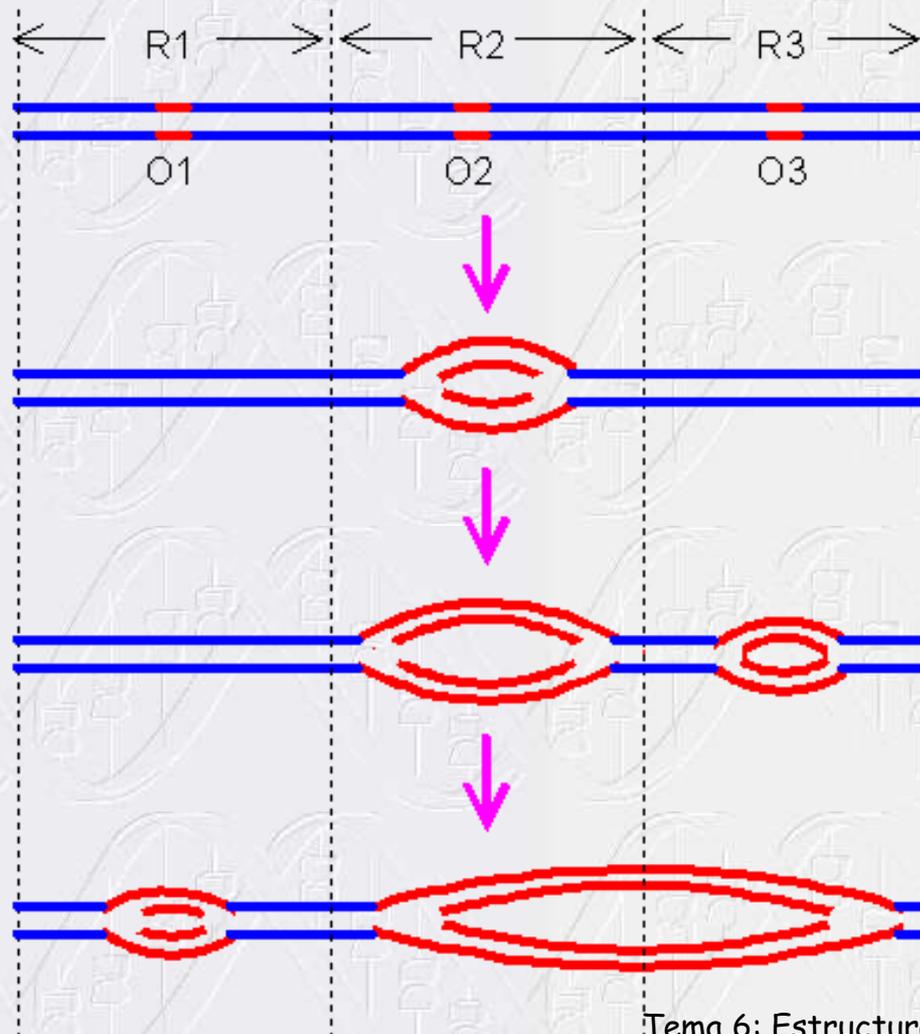


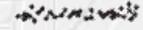
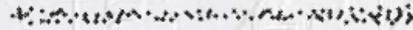
Fig. 12-14. La horquilla replicativa. (a) El DNA se replica en ambas direcciones desde un único origen de replicación. (b) El DNA se replica en ambas direcciones desde dos orígenes de replicación.

En el DNA nuclear de eucariotas hay muchos orígenes de replicación (~500 en levaduras y 60000 en mamíferos). Cada unidad de replicación es un replicón. La replicación es bidireccional



En el DNA nuclear de eucariotas hay muchos orígenes de replicación (~500 en levaduras y 60000 en mamíferos). Cada unidad de replicación es un replicón. La replicación es bidireccional

Autorradiografía



Interpretación



Figura 8-25. Una forma de replicación del DNA, revelada por autorradiografía. Una célula es expuesta brevemente a timidina $-(^3\text{H})$ (pulso) y transferida luego a timidina no radioactiva (fría) en exceso (caza). Se extiende el DNA sobre un portaobjeto y se autorradiografía. Según la interpretación que se muestra, habría varios puntos de replicación en una misma hélice doble de DNA.

Links de interés

- [Watson-Crick original paper \(1953 Nature\)](#)
- [Trabajos estelares del descubrimiento de la doble hélice](#)
- [DNA: el secreto de la vida \(Animación\)](#)
- [Celebración 50 aniversario descubrimiento de la doble hélice en la UAB](#)
- [DNA Structure](#)
- [The Search for DNA - The Birth of Molecular Biology](#)
- [Image Library of Biological Macromolecules - DNA](#)
- [DNA berkeley](#)
- [DNA Learning Center](#)
- [Beginner's guide to Molecular Biology](#)
- [Glosario de Genética molecular](#)
- [DNA Replication](#)
- [Animación de la replicación](#)

