



PRESENTACIÓN

NOMBRE DEL ASESOR ACADÉMICO: ING. ABEL ESTRADA
DICHI

NOMBRE DEL ALUMNO: ZHURY SHADAY LÓPEZ CRUZ

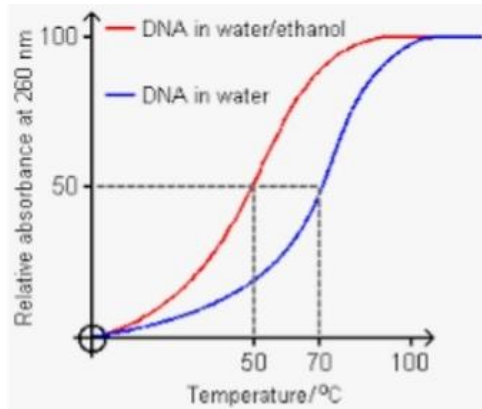
MATERIA: BIOQUÍMICA

CARRERA: LIC. EN ENFERMERÍA

GRADO: PRIMER CUATRIMESTRE

TRABAJO: INVESTIGACIÓN

ENZIMAS (LIGASAS)



Las enzimas DNA ligasas catalizan la síntesis de enlaces fosfodiéster entre un extremo fosfato 5' y un extremo hidroxilo 3' que estén cercanos y que hagan parte de un DNA de doble cadena. Durante los procesos de replicación, recombinación y reparación, corrige rupturas de enlaces fosfodiéster en DNA de doble cadena. Algunas enzimas

pueden unir tanto extremos romos como extremos cohesivos compatibles los cuales, son producidos la mayoría de las veces como resultado de la digestión de DNA con enzimas de restricción. Se pueden utilizar dos ligasas una de *E. coli* y otra del bacteriófago T4. La enzima de *E. coli* utiliza NAD como fuente de energía para la reacción y no une extremos romos. La enzima utilizada en la presente práctica corresponde a la T4 DNA ligasa., la cual, utiliza ATP como fuente de energía para la reacción y a diferencia de las otras ligasas puede unir extremos romos. La enzima es codificada por el gen 30 del bacteriófago T4. G

Por un lado, en las [células eucariotas](#) y en las [arqueas](#), la fuente de energía es el [ATP](#) (Adenosin Trifosfato). La molécula de ATP se separa en [AMP](#) (Adenosin Monofosfato) y [pirofosfato](#) para facilitar la dirección.

Por otro lado, las bacterias obtienen la energía del [NAD+](#) (nicotinamida adenina dinucleótido) el cual se divide en AMP y NMN (mononucleótido de nicotinamida) con la misma finalidad que lo hace el ATP de eucariotas y arqueas.

La ADN ligasa no puede unir dos moléculas de ADN de cadena sencilla (ADN con una sola cadena) ni formar un ADN circular de cadena sencilla sino que su función es sellar las roturas que han tenido lugar en las moléculas de ADN de doble cadena (ADN con dos cadenas enrolladas en forma de doble hélice) en el momento de la separación de la doble hélice.

La manera más sencilla del ADN es aquella que tiene su extremo romo. Este tipo de moléculas terminan con un par de bases. Las moléculas con extremos romos tienen dos desventajas; la primera es que las cadenas con extremos romos tienen menos rendimiento y la segunda es que tiene más posibilidades de insertar el fragmento de ADN deseado en la dirección opuesta a la que se quiere. por otro lado, dos extremos romos siempre serán compatibles entre sí.

Existen dos ramas principales de ADN ligasas: las ADN ligasas ATP-dependientes y las NAD⁺-dependientes. El [cofactor](#) ATP es principal en las células de mamíferos mientras que las bacterias utilizan principalmente el NAD⁺ como cofactor de la enzima, aunque se encuentran bacterias con la capacidad de formar enzimas que necesitan de ATP como cofactor para funcionar. No obstante ambas enzimas siguen el mismo mecanismo reactivo.

Actualmente las ADN ligasas son una herramienta indispensable en la investigación, en el sector de la biología molecular, que se usa para generar secuencias de ADN recombinante.

Principalmente son usadas como [enzimas de restricción](#) para insertar fragmentos de ADN casi siempre en [genes](#) de moléculas de [ADN plasmídico](#) aunque también se puede insertar en otros.

Para realizar este tipo de experimentos se debe controlar sobre todo la temperatura. Como la mayoría de experimentos usan las ADN ligasa de T4, se realizan a una temperatura de 25 °C debido a que es la temperatura en la que la [actividad enzimática](#) de estas proteínas es mayor. Esta temperatura debe equilibrarse con la temperatura óptima de fusión para que ambas cadenas se unan. La temperatura de ligadura más eficaz para los extremos romos es de 14-20 °C.

