

Cuadro sinóptico: Replicación del ADN y teorías de replicación del ADN

Biología Molecular
Q.F.B. Hugo Mijangos Nájera

4to semestre
Medicina Humana

Dara Pamela Muñoz Martínez

Replicación del ADN

Replicación del DNA

Formación de dos cadenas de DNA a partir de una, siguiendo como modelo de copia las dos hebras de la molécula progenitora. Las estrictas reglas del apareamiento de bases significan que la utilización de una cadena como molde dará lugar a otra cadena con una secuencia de bases complementaria.

Características

1. Es un proceso semiconservador. Cada cadena de la molécula de ADN parental actúa de molde para la síntesis de una nueva cadena produciéndose dos nuevas moléculas de ADN, cada molécula nueva posee una cadena vieja y una nueva.
2. Las dos cadenas de ADN se replican al mismo tiempo y comienzan en un punto denominado origen. El ADN parental se desenrolla y forma una estructura de lazo cuyos extremos se denominan **horquillas de replicación**.
3. Se desarrolla hacia los dos extremos de la cadena; en cada lazo, los extremos u horquillas de replicación avanzan en el proceso de síntesis hasta completar la copia.
4. Las enzimas actúan de 5' a 3'. Esto determina que la cadena molde ha de tener la dirección 3'→5', para que la nueva cadena en formación, complementaria y antiparalela tenga la dirección 5'→3' coincidente con el sistema de trabajo de la enzima
5. La síntesis de ADN es semidiscontinua. Se forman la que la síntesis se desarrolla en la que la síntesis se desarrolla en la misma dirección de la enzima o de la horquilla de replicación en la misma dirección de la horquilla de replicación una cadena conductora, la otra cadena nueva es discontinua, ya que su síntesis se realizaba en contra de la dirección de la horquilla mediante fragmentos, los **fragmentos de Okazaki**, secuencias formadas por unos centenares o miles de nucleótidos dependiendo de la célula.

Enzimas que participan

- ADN polimerasas (I, II, III)
 - Hacen una reacción de polimerización o sea formación de un enlace fosfodiéster entre nucleótidos. Cada una con un tipo de actividad muy específica pero con una serie de requisitos de funcionamiento comunes.
 - Necesitan una cadena de ADN molde, sigue el principio de complementariedad de bases fijando el nucleótido
 - Su dirección de síntesis es fija de 5'→3'
 - Necesitan un cebado, una cadena previa inicial.
 - Procesividad, se mide como el número de nucleótidos incorporados en la unidad de tiempo.
- Helicasas
 - Separan las dos cadenas de la molécula de ADN parental. Desplazándose a lo largo de la molécula de ADN eliminan los enlaces entre las cadenas consumiendo en el proceso ATP.
- Topoisomerasas
 - Desenrollan el ADN y lo relajan. Existen cuatro topoisomerasas (I a IV) que actúan eliminando superenrollamientos negativos; o bien induciéndolos, dependiendo del grado de plegamiento que tenga el ADN en su estado natural.
- Primasas
 - Sintetizan el cebador, éste suele ser un corto fragmento de ARN, necesario para que pueda comenzar la ADN polimerasa III, y que posteriormente será eliminado y sustituido por un fragmento de ADN por la ADN polimerasa I.
- ADN ligasas
 - Unir trozos formados de cadenas, realizando un enlace fosfodiéster entre los nucleótidos pertenecientes a dos segmentos de una cadena.

Fases de la replicación

- Fase de inicio
 - El origen de la replicación es una porción de ADN que contiene una secuencia característica de bases. Este segmento es reconocido por una proteína denominada ADN-A.
- Fase de elongación
 - La elongación consiste en la formación del cebador y la síntesis de la cadena de ADN. El proceso se caracteriza por no desarrollarse de forma idéntica en ambas hebras. La síntesis en la cadena conductora o continua requiere únicamente que actúe la primasa formando un cebador de ARN de unos 10 a 60 nucleótidos, para a continuación penetrar la ADN polimerasa III y realizar la polimerización de desoxirribonucleótidos. En la cadena retrasada se forma un conjunto proteico en el que se localizan siete proteínas distintas además de la primasa. Este grupo se desplaza a lo largo del molde de la hebra retrasada en dirección 5'→3' sintetizando a intervalos un corto cebador de ARN, al que se unirá ADN formado por la ADN polimerasa III. El hecho de que las direcciones de trabajo de la primasa y la polimerasa sean contrarias a la dirección de crecimiento de la hebra, y de que el proceso sea uniforme en ambas hebras, viene justificado por el hecho de que la ADN polimerasa III es una proteína dimérica. Esta enzima obliga a la cadena molde de la hebra retrasada a formar un bucle sobre la misma. De esta forma, la dirección de síntesis es la misma en ambas hebras. Al ir desarrollándose la polimerización el bucle aumenta hasta contactar con el fragmento de Okazaki previo, forzando a la polimerasa a separarse o disociarse y a recomenzar de nuevo el proceso donde se ha formado el nuevo cebador y ella creará el nuevo bucle. En una fase posterior se eliminan los segmentos de ARN cebador, por acción de la actividad exonucleasa 5'→3' de la ADN polimerasa I, quien también se encarga de rellenar los trozos ocupados por el cebador. Por último, la ADN ligasa une los segmentos catalizando la formación de un enlace fosfodiéster.
- Fase de terminación
 - El final de la replicación se produce cuando al ADN polimerasa III se encuentra con una secuencia de terminación. Se produce entonces el desacople de todo el replisoma y la finalización de la replicación.

Teorías de Replicación de DNA

Modelo Semiconservativo

Cuando Watson y Crick (1953) propusieron el modelo de la Doble Hélice indicaron que dicho modelo sugería una forma sencilla de replicación. El modelo de replicación propuesto por Watson y Crick suponía que el ADN doble hélice separa sus dos hebras y cada una sirve de molde para sintetizar una nueva hebra siguiendo las reglas de complementariedad de las bases nitrogenadas. Dicho modelo recibió el nombre de Semiconservativo, ya que las dos dobles hélices recién sintetizadas poseen una hebra vieja (una mitad vieja) y otra hebra nueva (mitad nueva)

La replicación del ADN bacteriano se ajusta al modelo semiconservativo: experimentos de Meselson y Stahl (1958)

El ADN bacteriano es circular: experimento de Cairns (1963)

- Diseñaron un experimento para tratar de averiguar la forma en la que se realiza la replicación del ADN en E. coli, es decir, la pregunta que se plantearon fue: ¿Qué modelo de replicación del ADN sigue E. coli, semiconservativo, conservativo o dispersivo?. Para contestar a esta pregunta, diseñaron un experimento en el que marcaban el ADN de la bacteria E. coli con Nitrógeno pesado N15,
- Los resultados obtenidos por Meselson y Stahl (1958) se ajustaban a un modelo de replicación semiconservativo. Para asegurarse, aislaron la banda de ADN de densidad intermedia (N14-15) obtenida a partir de las bacterias que llevaban una generación en N14, desnaturalizaron el ADN de la banda mediante calor para separar sus dos hélices y, manteniéndolas desnaturalizadas, centrifugaron en CsCl. Si la replicación de E. coli se ajustaba al modelo semiconservativo, una de las hélices debería estar construida con N15 (la vieja) y la otra hélice con N14 (la nueva) y, al centrifugar en gradiente de densidad esperaríamos obtener dos bandas una más densa correspondiente a la hélice construida con N15 y otra menos densa sintetizada con N14
- Llevó a cabo otro experimento en la bacteria E. coli que además de demostrar que la replicación de su ADN se ajustaba al modelo Semiconservativo propuesto por Watson y Crick (1953), también demostraba que el ADN de E. coli es circular. Se trata de la primera evidencia citológica (mediante observación al microscopio) de la circularidad del cromosoma bacteriano, ya que mediante técnicas de construcción de mapas de conjugación, ya se había demostrado previamente por Jacob y Wollman (1958) que el ADN bacteriano tenía un mapa circular.

Modelo Conservativo

Cuando el ADN doble hélice se replica se producen dos dobles hélices, una de ellas tienen las dos hebras viejas (esta intacta, se conserva) y la otra doble hélice posee ambas hebras de nueva síntesis

Modelo Dispersivo

Cuando el ADN doble hélice se replica se originan dos dobles hélices, cada una de ellas con hebras que poseen tramos viejos y tramos de nueva síntesis en diferentes proporciones

Bibliografías

- Merino Pérez, J., & Noruega Borge, M. J. (2016). Replicación del ADN. FISIOLOGÍA GENERAL, 1–9.
<https://ocw.unican.es/pluginfile.php/879/course/section/967/Tema%25207B-Bloque%2520I-Replicacion.pdf>
- Ph.D., C. N., & Ph.D., V. S. (2018). Biología molecular y celular (Second ed.). LWW.