



Facultad de Química
Genética y Biología Molecular
Clave 1630

Tarjetas de Estudio de la UNIDAD 4

METABOLISMO DEL ADN

Prof. Javier Plasencia de la Parra
Departamento de Bioquímica, Facultad de Química;
UNAM. Proyectos PAPIME PE201017 y PE206021



Tarjetas de Estudio de la Unidad 4

Las diapositivas de este archivo vienen organizadas en pares; la primera tiene una pregunta sobre algún concepto de la Unidad, para responder en formato de opción múltiple (una o varias opciones) o de relacionar columnas. La siguiente diapositiva tiene la respuesta, explicando el concepto, generalmente ilustrada con alguna imagen. Además, en la diapositiva de respuesta hay una pregunta adicional que ayudará a justificar y promoverá trabajo de investigación para reforzar el aprendizaje.

Al final de la presentación, está la clave de respuestas y una lista de fuentes de referencias.

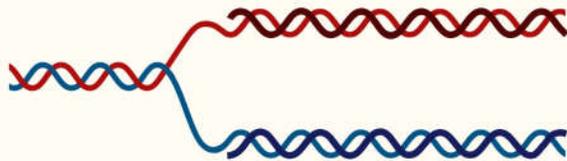
Recomendación: Abrir el archivo pdf en modo de pantalla completa.

1. ¿Cuál opción incluye tres propiedades generales de la replicación del ADN?

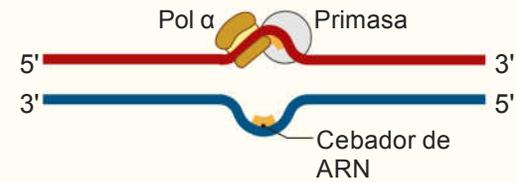
- A. Semiconservativa, Bidireccional y Semidiscontinua
- B. Semiconservativa, Unidireccional y Semidiscontinua
- C. Conservativa, Bidireccional y Discontinua
- D. Semiconservativa, Bidireccional y Discontinua

La replicación del ADN es:

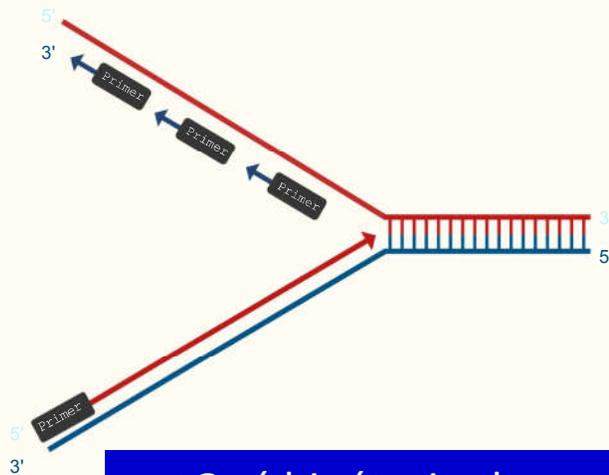
Semiconservativa



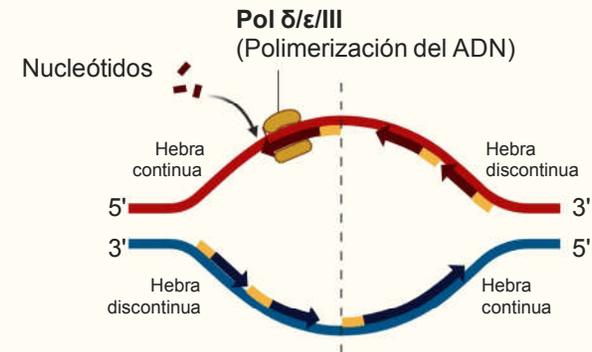
Dependiente de un cebador de ARN



Semidiscontinua



Bidireccional

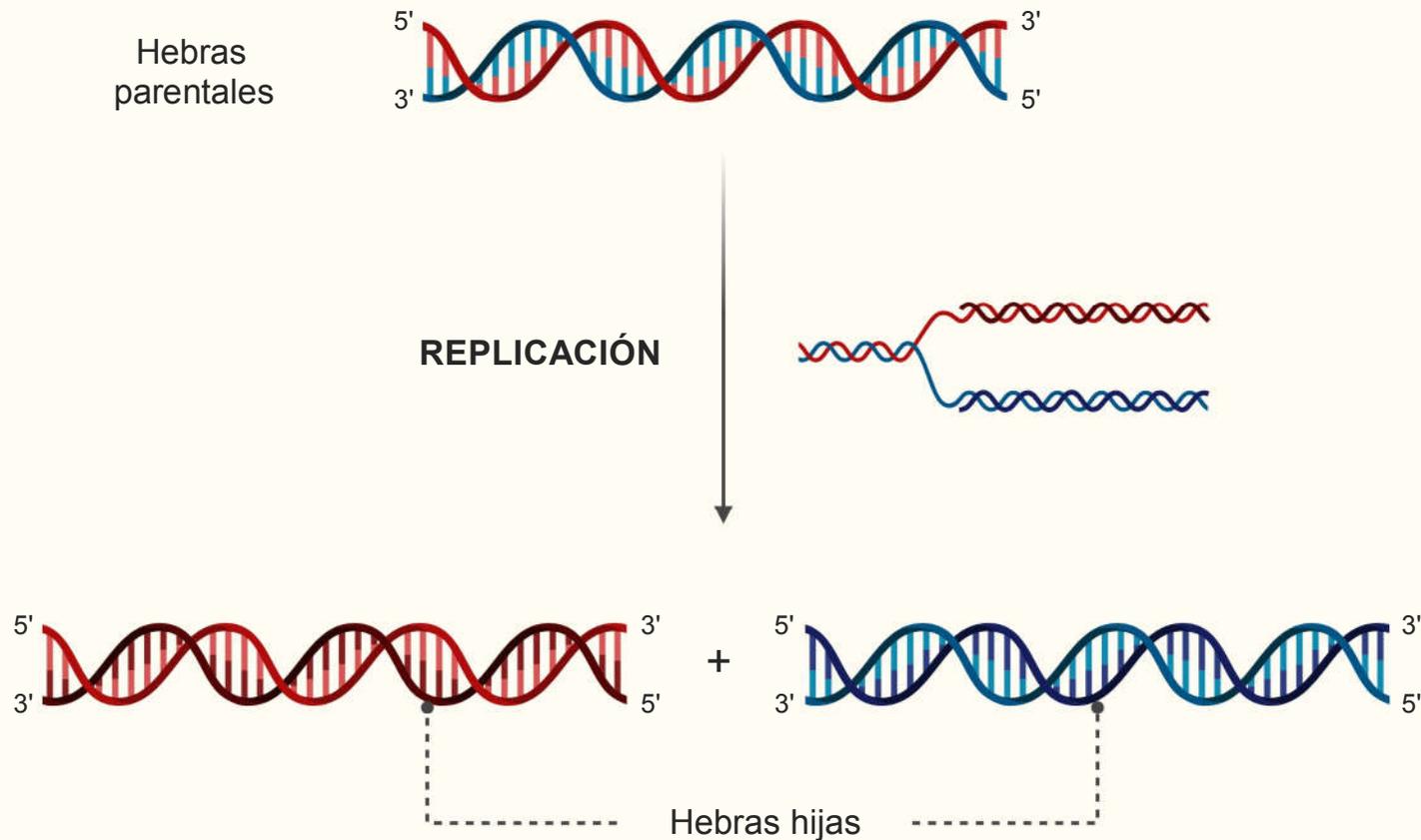


¿Qué hipótesis alternativa al mecanismo semiconservativo se postuló?

2. ¿Qué significa que la replicación del ADN siga un mecanismo semiconservativo?

- A. Que una célula resultante de la división celular tiene las dos cadenas parentales y la otra célula, las dos cadenas nueva
- B. Que cada una de las células resultantes de la división celular, tiene una cadena parental de ADN y una cadena nueva
- C. Que cada una de las células resultantes de la división celular tiene fragmentos de la cadena original

El **mecanismo semiconservativo** de replicación del ADN implica que cada una de las hebras originales del ADN dúplex funciona como molde para la síntesis de una cadena complementaria hija.

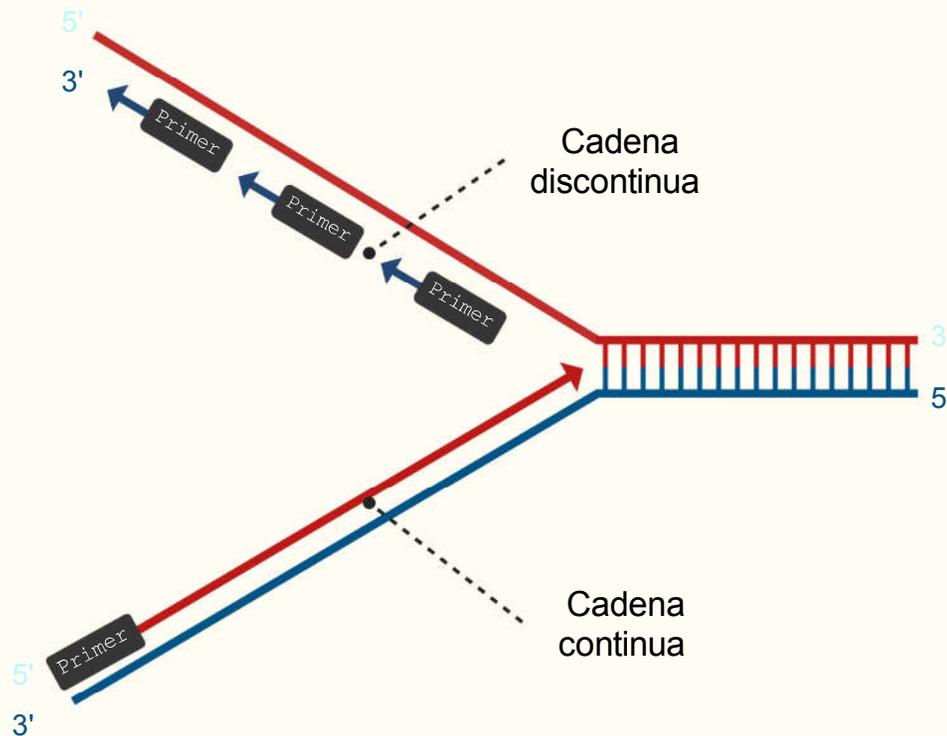


Después de la división celular, el genoma de cada célula está formado por una cadena parental y una cadena hija.

¿En que consistió el experimento de Messelson y Stahl que demostró esto?

3. ¿Qué significa que la replicación del ADN sea semidiscontinua?

- A. Que una cadena de ADN funciona como molde para la síntesis de la cadena complementaria
- B. Que la duplicación del ADN ocurre en forma bidireccional a partir de un origen de replicación
- C. Que en una horquilla de replicación, una cadena se sintetiza en forma continua, y la otra en forma discontinua
- D. Que un fragmento de Okazaki está formado por un cebador de ARN, seguido por la cadena de ADN



La síntesis de ADN es continua en una cadena y discontinua en la otra; por ello este proceso se denomina como replicación **semidiscontinua**.

Durante la replicación, se sintetizan simultáneamente las dos hebras de ADN.

La ADN polimerasa únicamente sintetiza en dirección $5' \rightarrow 3'$, lo que favorece la síntesis de la **cadena (continua)** que va en la misma dirección de la apertura de la doble hélice.

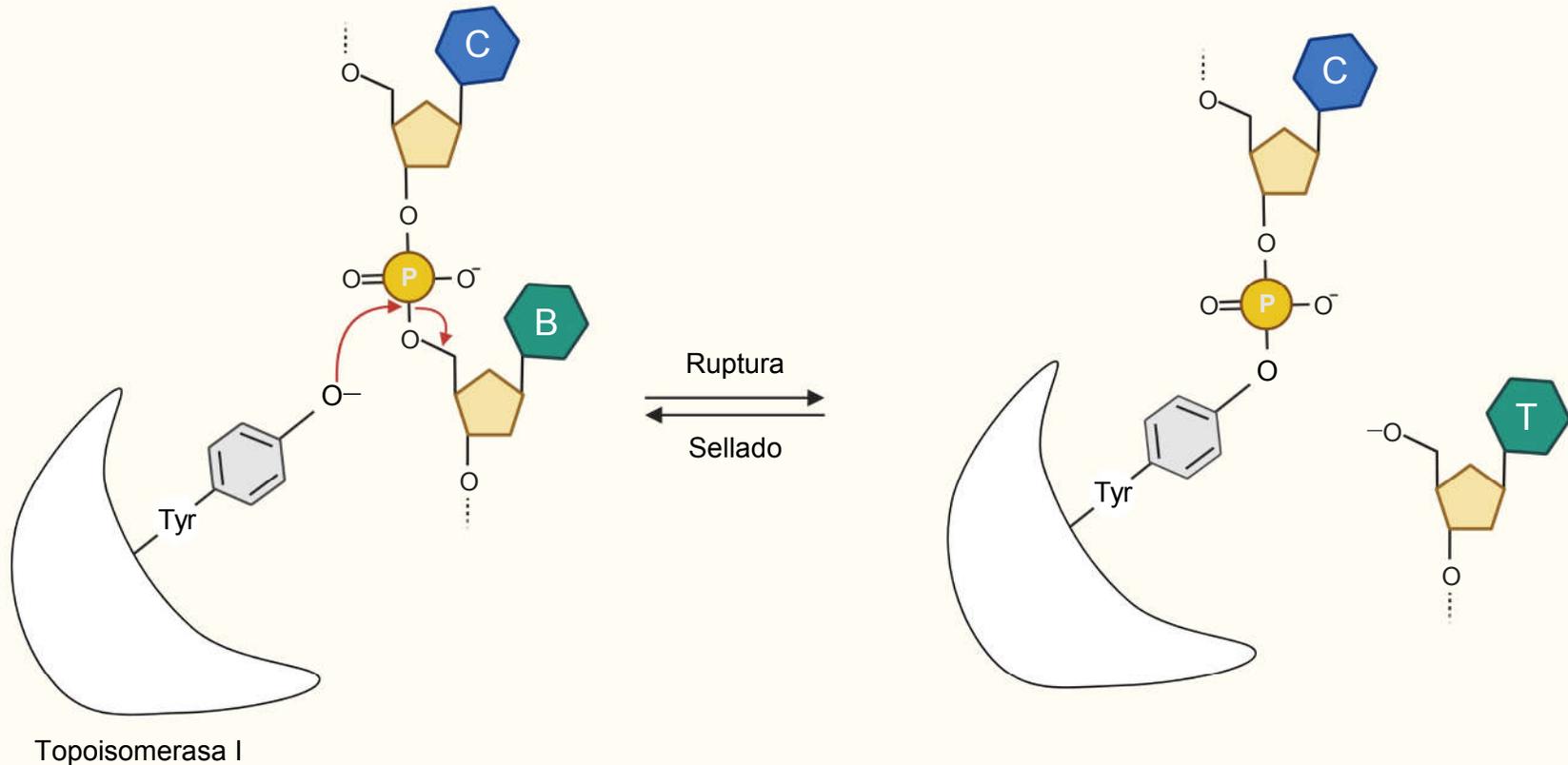
La otra **cadena** se sintetiza de manera **discontinua** (fragmentos de Okazaki) pues la síntesis $5' \rightarrow 3'$ es opuesta a la dirección de apertura de la horquilla.

¿En que consistió el experimento de Okazaki que demostró esto?

4. ¿Cuál es la función de la topoisomerasa en la replicación del ADN?

- A. Sintetizar los cebadores de ARN usando NTPs como sustrato
- B. Eliminar los cebadores de ARN mediante su actividad de nucleasa
- C. Abrir la doble hélice de ADN usando ATP
- D. Aliviar la torsión generada, lo que facilita la apertura de la doble hélice

Durante la replicación del ADN se abre la doble hélice. Esta apertura está restringida puesto que las hebras que se separan **no tienen rotación libre**. El desenrollamiento de las dos hebras sería un evento topológicamente imposible de no ser por las **topoisomerasas**.



Estas enzimas que participan en la replicación haciendo **cortes transitorios** en la molécula de ADN que permiten el paso de una cadena, aliviando así la torsión generada.

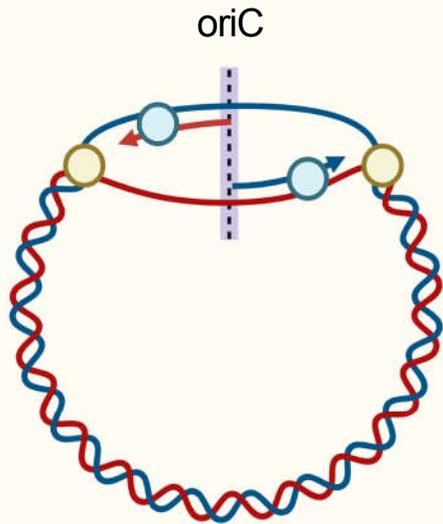
¿Qué fármacos inhiben a la topoisomerasa bacteriana? ¿Para qué se emplean?

5. ¿Qué es un origen de replicación y cuál es su función?

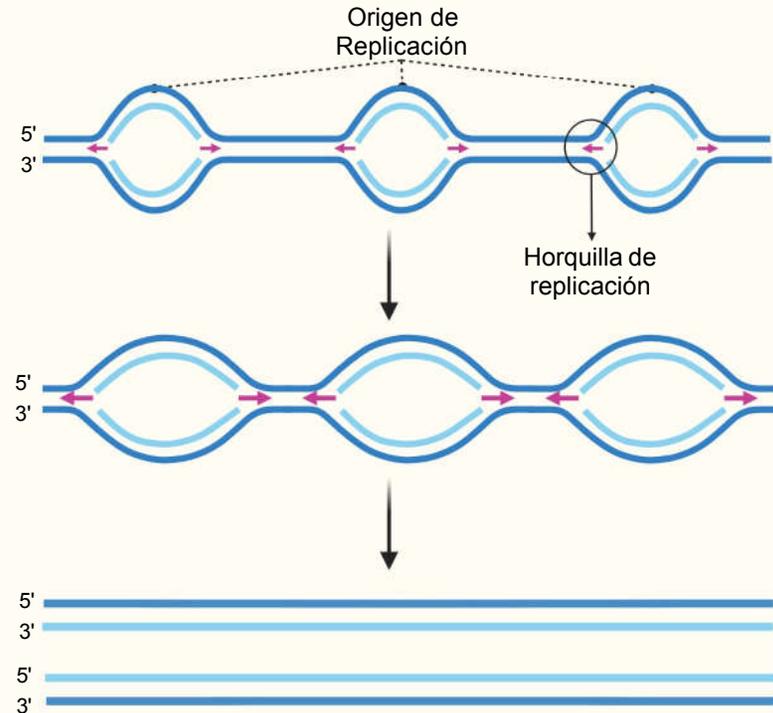
- A. Es una región específica del genoma donde se ensambla la maquinaria de replicación del ADN
- B. Es una región del genoma que contiene los genes que codifican las proteínas de replicación del ADN
- C. Es un región del genoma que, en células eucariontes corresponde al centrómero
- D. Es una región del genoma que, en células procariontes corresponde al operón *lac*

Un **origen de replicación** es una región del genoma que es reconocida por varias proteínas para iniciar la apertura de la doble hélice y el proceso de replicación.

Procarionte



Eucarionte



Mientras que en **procariontes** el origen de replicación (**OriC**) está definido por una **secuencia** particular y es **único**. En el genoma **eucarionte** hay múltiples **orígenes** de replicación que son determinados por ciertos elementos de secuencia, la topología de ADN y la estructura de la cromatina.

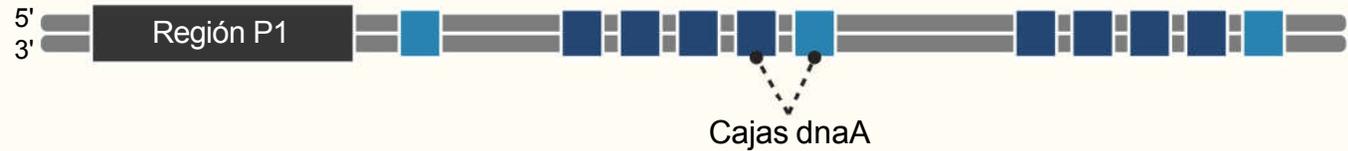
¿Cuáles son los elementos que definen al origen de replicación eucarionte?

6. ¿Cuál es la función de la proteína DnaA de *Escherichia coli* en la replicación del ADN?

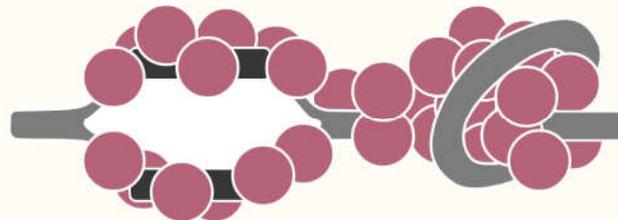
- A. Es la proteína que abre la doble hélice de ADN en un proceso dependiente de ATP
- B. Es la proteína que elimina la torsión en el ADN, haciendo cortes transitorios en una de las cadenas
- C. Es la proteína iniciadora de la replicación al unirse al OriC y facilitar la asociación de otras proteínas
- D. Es la proteína que se une al ADN de cadena sencilla, facilitando la actividad de la helicasa

La **proteína DnaA** se une a elementos de secuencia en el *OriC* (cajas dnaA) de tal forma que causa **torsión en la doble hélice** y **promueve su apertura** en la **región P1**, que es una **secuencia rica en A-T**.

Estructura de *OriC*:



Desdoblamiento



¿Por qué se requiere ATP en esta fase del proceso de iniciación?

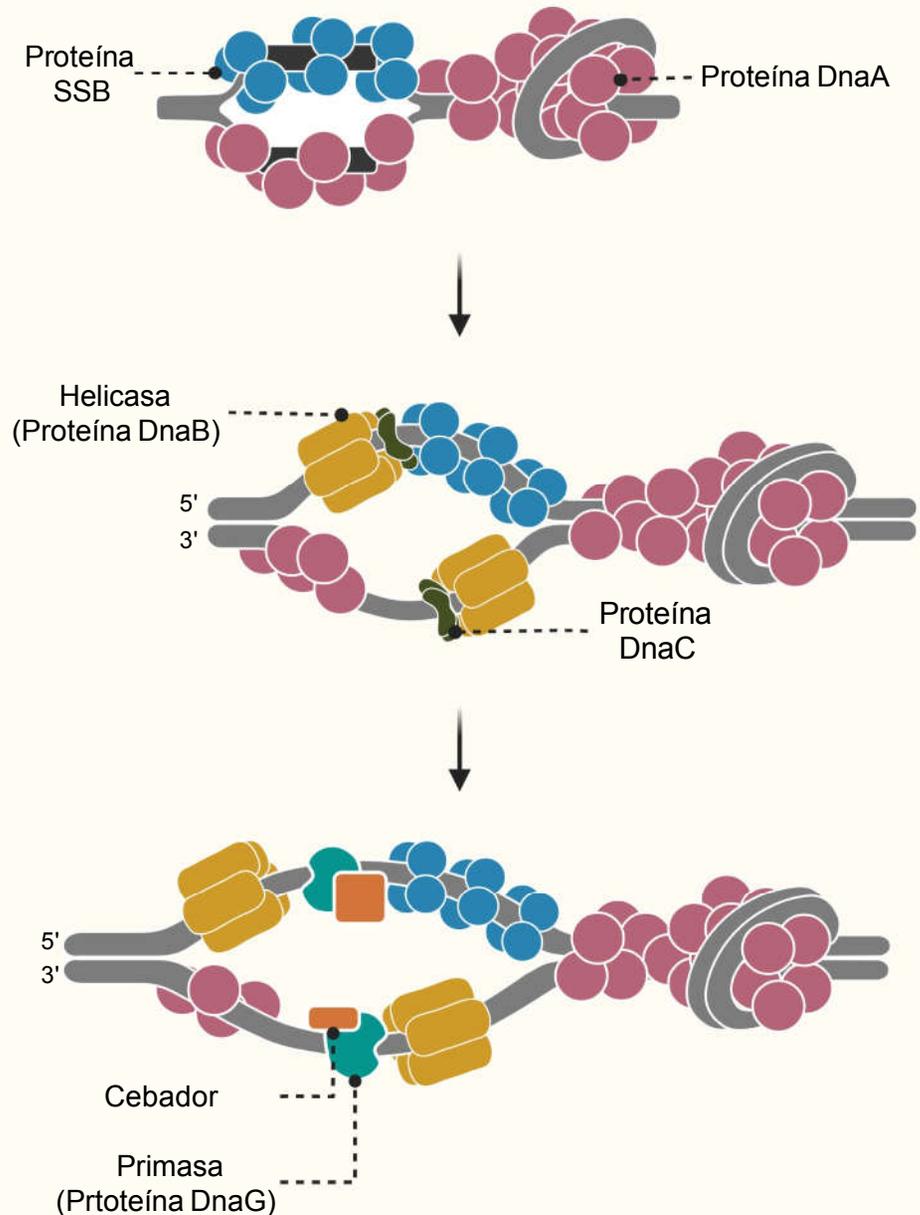
7. ¿Cuál es la función de la proteína DnaB de *E. coli* en la replicación del ADN?

- A. Es la proteína que abre la doble hélice de ADN en un proceso dependiente de ATP
- B. Es la proteína que elimina la torsión en el ADN, haciendo cortes transitorios en una de las cadenas
- C. Es la proteína iniciadora de la replicación al unirse al OriC y facilitar la asociación de otras proteínas
- D. Es la proteína que se une al ADN de cadena sencilla, facilitando la actividad de la helicasa

La **proteína DnaB**, también llamada **helicasa**, forma un hexámero que rodea una de las hebras del ADN dúplex en cada horquilla de replicación y **se desliza logrando la apertura de la doble hélice por exclusión estérica.**

La helicasa activa una **ADN primasa** (dominio ARN polimerasa) que **sintetiza el cebador.**

¿Cómo contribuye la proteína SSB a la actividad de helicasa (DnaB)?

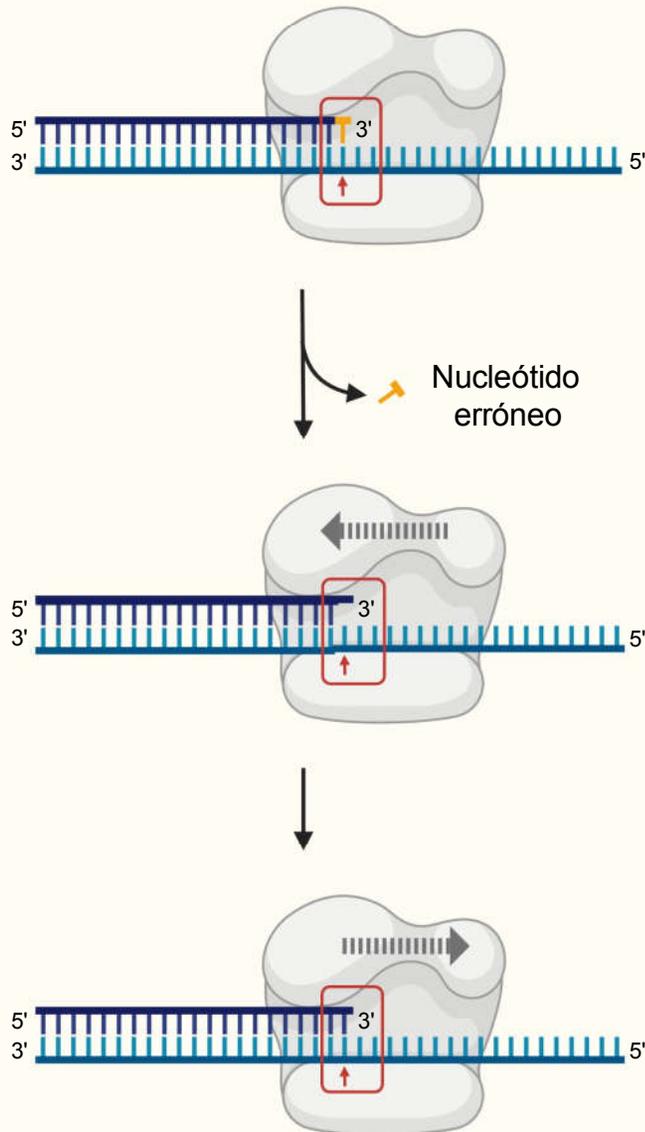


Las ADN polimerasas sintetizan ADN durante la replicación mediante un mecanismo en el que siguen un molde de una cadena de ADN. Una de las propiedades más importantes de las ADN polimerasas replicativas es la **fidelidad**;

8. ¿A qué se refiere esta propiedad?

- A. Se refiere al seguimiento exacto de la secuencia de la cadena molde de ADN para sintetizar la cadena complementaria y en esta propiedad contribuye la actividad de exonucleasa $3' \rightarrow 5'$
- B. Se refiere al seguimiento exacto de la secuencia de la cadena molde de ADN para sintetizar la cadena complementaria y en esta propiedad contribuye la actividad de exonucleasa $5' \rightarrow 3'$
- C. Se refiere a la capacidad que tienen las ADN polimerasas de incorporar muchos nucleótidos sin disociarse de la cadena molde de ADN

Actividad de exonucleasa 3' → 5' de las ADN polimerasas:



La **fidelidad** se refiere al seguimiento exacto de la secuencia que sirve como molde.

En promedio, las ADN polimerasas replicativas cometen 1 error por cada 10^8 nucleótidos incorporados.

*La **actividad de exonucleasa 3' → 5'** de la ADN polimerasa contribuye a la fidelidad pues tiene actividad correctora (***proofreading***).

¿Qué sucede si ese error no es corregido?

La ADN polimerasa III es la enzima encargada de sintetizar la mayor parte del genoma bacteriano.

9. ¿Cuáles son las principales subunidades de esta enzima y qué propiedad le permite tener esta capacidad de sintetizar ADN de forma tan eficiente?

- A. La subunidad catalítica, la primasa y el factor de procesividad
- B. La subunidad catalítica, la exonucleasa y el factor de procesividad
- C. La exonucleasa, el factor de procesividad y la primasa
- D. La subunidad catalítica, la exonucleasa y la primasa

La **ADN polimerasa III** es una enzima formada por varias subunidades. Las más importantes son:

Subunidad α

Tiene actividad de ADN polimerasa siguiendo un molde de ADN.

Subunidad ϵ

Tiene actividad de exonucleasa 3'→5'; corrige errores de nucleótidos mal incorporados.

Subunidad β

Es el factor de procesividad*. Se une fuertemente al ADN molde y a la subunidad catalítica (α) de la ADN polimerasa.

* La **procesividad** se refiere a la capacidad de una ADN polimerasa de elongar una cadena de ADN por muchos nucleótidos antes de disociarse del complejo que forma con el sustrato.

¿Cómo se une la subunidad β al ADN para incrementar la procesividad?

La ADN polimerasa I de *E. coli* fue la primera enzima de su tipo en ser caracterizada bioquímicamente.

10. ¿Qué actividades enzimáticas tiene la ADNpol I y cuál es su función en la replicación del ADN?

- A. ADN polimerasa, primasa y exonucleasa 3' → 5'
- B. ADN polimerasa y exonucleasa 3' → 5'
- C. ADN polimerasa, exonucleasa 3' → 5 y exonucleasa 5' → 3'
- D. Exonucleasa 3' → 5 y exonucleasa 5' → 3'

La **ADN polimerasa I** de *E. coli* es un monómero de 102 kDa y en su cadena polipeptídica residen tres actividades enzimáticas:

Actividad de ADN polimerasa

Sintetizar ADN.

Actividad de exonucleasa 3' → 5'.

Corregir errores.

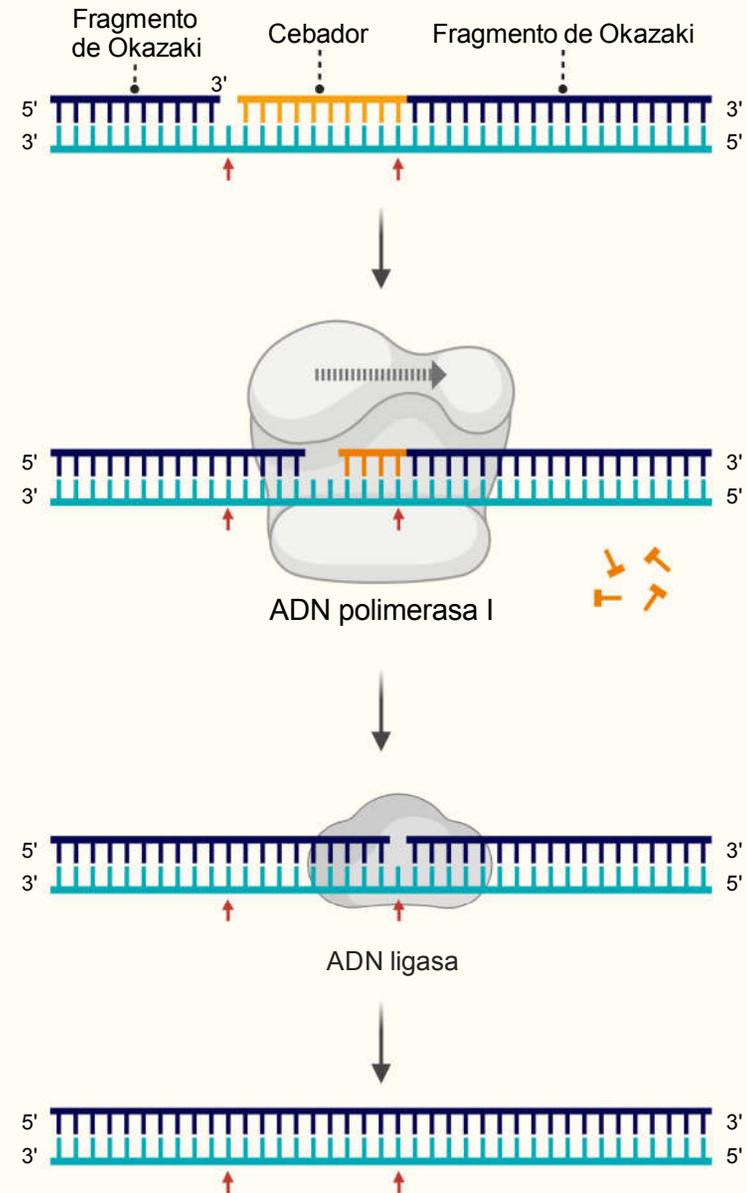
Actividad de exonucleasa 5' → 3'.

Eliminar el cebador de ARN.

En la replicación, la actividad de exonucleasa 5'→3' permite hidrolizar el cebador y sintetizar ADN en su lugar a partir del extremo 3' del fragmento de Okazaki.

El último enlace fosfodiéster (responsable de la unión de los fragmentos) es formado por una ADN ligasa.

¿Requiere la ADN polimerasa I de un cebador de ARN? Explique su respuesta



¿Cuál es la función de las ADN polimerasas α (alfa), δ (delta) y ϵ (épsilon) en la replicación del ADN eucarionte?

Relacionar columnas

- A. ADN polimerasa alfa
- B. ADN polimerasa delta
- C. ADN polimerasa épsilon

- I. Eliminar el cebador
- II. Sintetizar la cadena continua
- III. Sintetizar la cadena discontinua
- IV. Sintetizar el cebador

En la horquilla de **replicación eucarionte**:

La **ADN polimerasa α** sintetiza el cebador de ARN mediante su actividad de primasa, y lo extiende por unos cuantos nucleótidos por su actividad de ADN polimerasa.

El Factor de Replicación C (**RFC**) incorpora al Factor de Procesividad (**PCNA**; Proliferating Cell Nuclear Antigen) de las ADN polimerasas ϵ y δ .

La **ADN polimerasa ϵ** sintetiza la **cadena continua** mientras que la **ADN polimerasa δ** sintetiza la **cadena discontinua**.

Ambas enzimas son de **alta fidelidad replicativa** pues poseen **actividad correctora de exonucleasa $3' \rightarrow 5'$** .

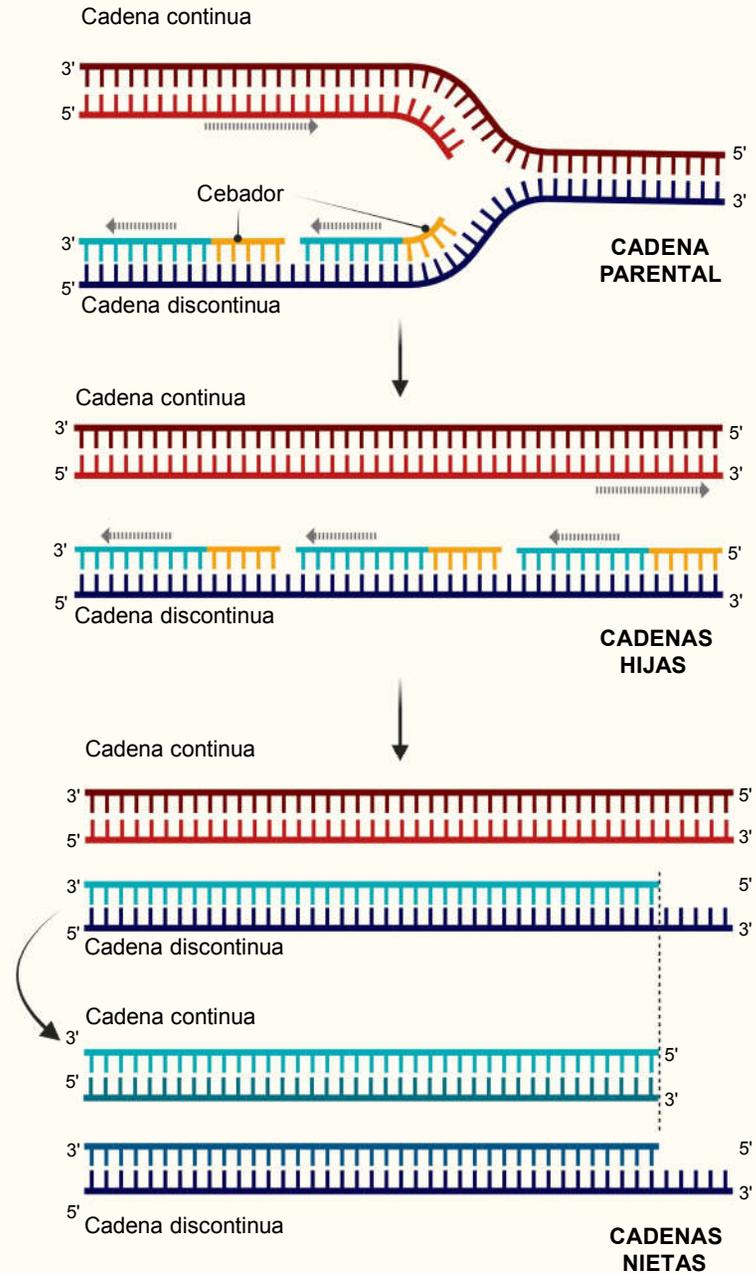
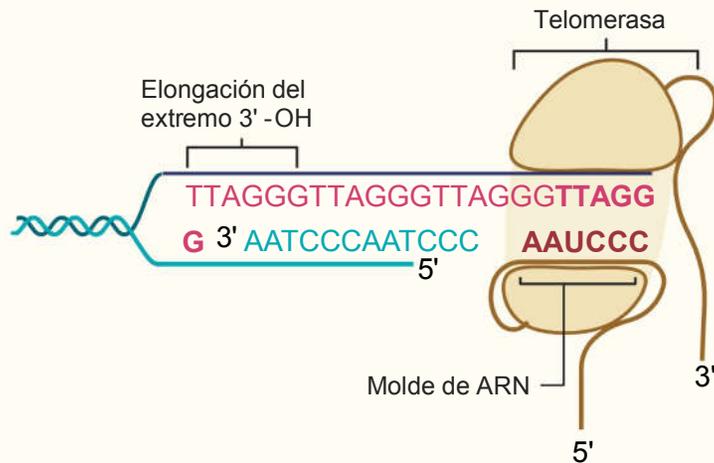
¿Cómo se explica que la ADN pol α tenga actividad de ARN polimerasa y ADN polimerasa?

12. ¿Qué característica tienen los cromosomas eucariontes que complica la terminación de la replicación del ADN y cómo se resuelve?

- A. Los cromosomas eucariontes son lineales lo que implica el alargamiento de los extremos (telómeros) en cada ronda de duplicación
- B. Los cromosomas eucariontes son circulares por lo que no es posible la síntesis completa del genoma
- C. Los cromosomas eucariontes son lineales lo que implica el acortamiento de los extremos (telómeros) en cada ronda de duplicación
- D. Los cromosomas eucariontes son lineales por lo que no es posible la síntesis completa del genoma

Ya que los cromosomas eucariontes son **lineales**, cuando se elimina el cebador en el extremo 5' de la hebra discontinua se genera una estructura sobre la que es imposible sintetizar ADN por lo que la hebra se acorta con cada ronda de replicación.

En los organismos eucariontes evolucionó una actividad de **ADN polimerasa (telomerasa)** que tiene asociada una subunidad de **ARN** que funciona como **molde** para extender el extremo 3'-OH de la cadena de ADN, y con ello **prevenir el acortamiento excesivo** del telómero.



13. ¿Cuál es la diferencia entre daño al ADN y mutación?

- A. La mutación puede ser reparada pero el daño al ADN, no
- B. La mutación siempre conduce al daño al ADN
- C. La mutación no se hereda pero el daño al ADN, sí
- D. Cuando el daño al ADN no es reparado, puede conducir a una mutación

DAÑO al ADN

El **daño** al ADN se refiere a **cambios químicos en la molécula**; incluyen:

- ✓ Ruptura de enlaces fosfodiéster.
- ✓ Modificación química de bases.
- ✓ Intercalamiento de moléculas en la doble cadenas.
- ✓ Formación de aductos.

MUTACIÓN

La **mutación** se refiere a **cambios en la secuencia de pares de bases** del ADN.

Muchos agentes físicos y químicos pueden dañar el ADN y, si éste no es reparado, se pueden producir mutaciones.

AGENTES FÍSICOS que dañan el ADN:

- ✓ Radiación Ultravioleta.
- ✓ Radiación gamma.
- ✓ Rayos X.

AGENTES QUÍMICOS que dañan el ADN:

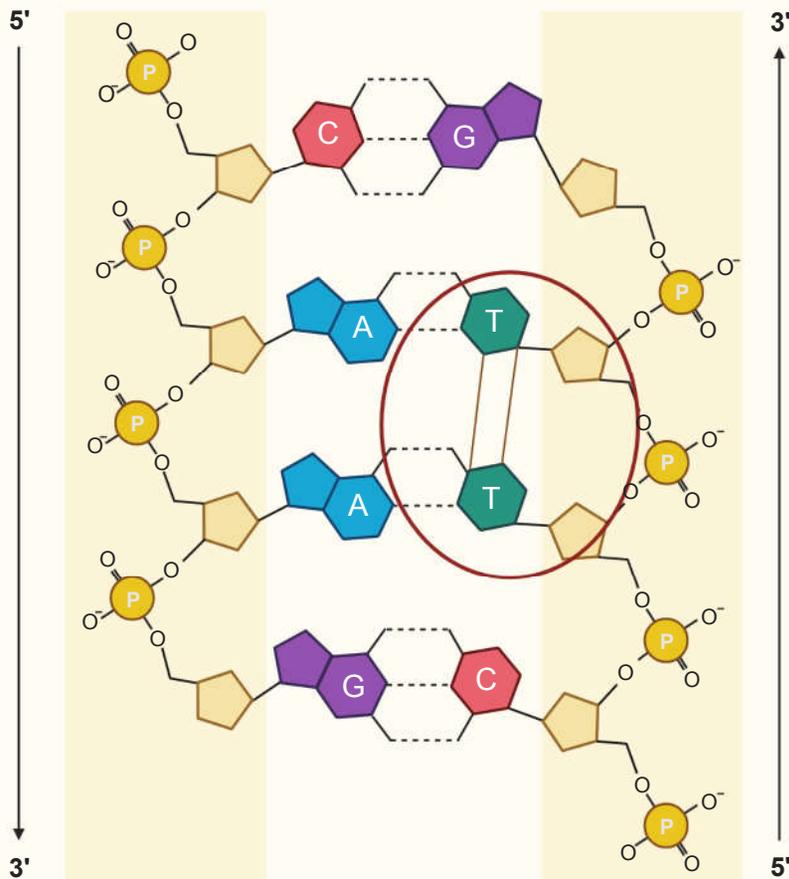
- ✓ Especies Reactivas de Oxígeno (ERO).
- ✓ Compuestos alquilantes.
- ✓ Compuestos metilantes.
- ✓ Compuestos que forman aductos con el ADN.

¿Qué tipo de daño provocan las EROs sobre el ADN?

14. ¿Qué tipo de daño al ADN causa la luz ultravioleta (UV), y cómo puede ser reparado?

- A. Causa rupturas en las dos cadenas de ADN
- B. Causa rupturas en una de las dos cadenas de ADN
- C. Causa la formación de enlaces covalentes entre dos timinas adyacentes
- D. Causa la formación de enlaces covalentes entre dos adeninas adyacentes

La radiación UV ($\lambda < 300\text{nm}$) provoca entrecruzamiento covalente de pirimidinas adyacentes en la misma cadena de ADN. Generalmente son timinas. Se forman dos enlaces covalentes entre las timinas para generar un anillo de ciclobutano.



Los dímeros de timina pueden ser reparados por:

Foto - reparación

Mecanismo de reparación directa en el que la enzima fotoliasa rompe los enlaces covalentes entre las timinas.

Reparación por escisión de nucleótidos

Mecanismo en el que la región dañada y nucleótidos adyacentes son escindidos.

Ocurre síntesis de ADN por una ADN polimerasa que usa la cadena no dañada como molde.

¿Qué requerimiento tiene la enzima fotoliasa para funcionar?

15. ¿Cuál es el principal mecanismo de reparación de ADN en células eucariontes?

- A. Foto-Reparación
- B. Reparación por escisión de nucleótidos
- C. Reparación por escisión de bases
- D. Reparación por recombinación

En eucariontes opera la reparación por **escisión de nucleótidos** como principal mecanismo de reparación de ADN.

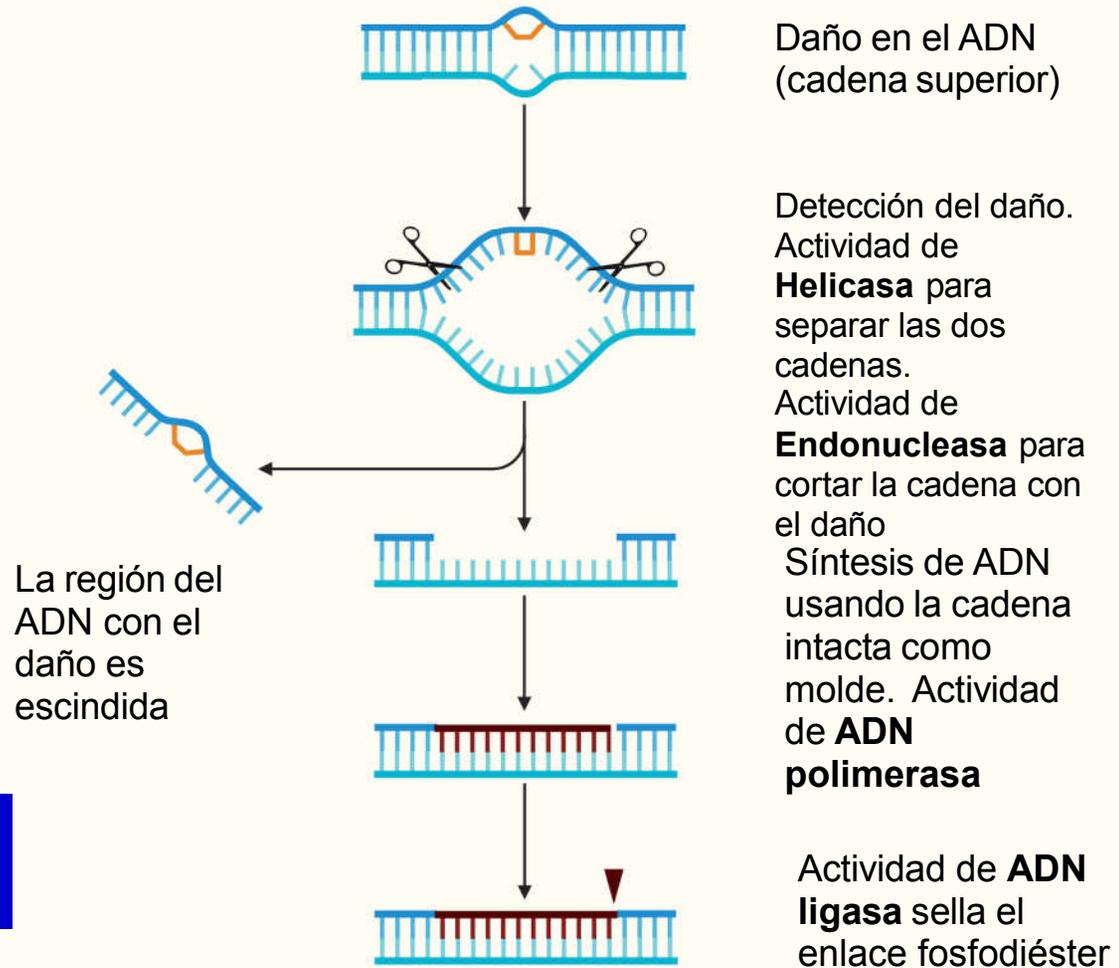
El ADN dañado puede ser detectado por complejos de proteínas distintos que componen la **reparación global del genoma** y la **reparación acoplada a la transcripción**.

El sistema de reparación por escisión de nucleótidos es ejecutado por las proteínas **XP**.

En humanos, defectos en alguno(s) de estos genes XP conduce a la enfermedad conocida como **Xeroderma pigmentosum**.

Se caracteriza por alta sensibilidad a la radiación solar y elevada incidencias de tumores en la piel (melanomas).

¿Cuántos genes XP se asocian a esta enfermedad?



16. ¿Qué es la recombinación homóloga y cuál es su función?

(Múltiples respuestas)

- A. Es un rearrreglo de dos moléculas dúplex de ADN que comparten regiones de homología
- B. Es un evento en el que un transposón se inserta en un gen e interrumpe su secuencia
- C. Contribuye a la diversidad genética durante la meiosis
- D. Constituye un mecanismo de reparación de ADN

RECOMBINACIÓN

La recombinación es un evento en el que ocurre un **rearrreglo de la información contenida en el ADN**.

✓ Involucra la interacción de dos moléculas de ADN dúplex.

La recombinación homóloga involucra el intercambio genético entre dos moléculas de ADN (o dos segmentos de la misma molécula de ADN) que comparten una región de secuencias homólogas.

RECOMBINACIÓN HOMÓLOGA

✓ En **bacterias**, la recombinación homóloga permite la integración de información de un plásmido al cromosoma y también participa en mecanismos de reparación de ADN.

✓ En **eucariontes**, la recombinación homóloga ocurre en la profase I de la meiosis en el intercambio de secuencias entre cromosomas homólogos y también funciona en mecanismos de reparación del ADN.

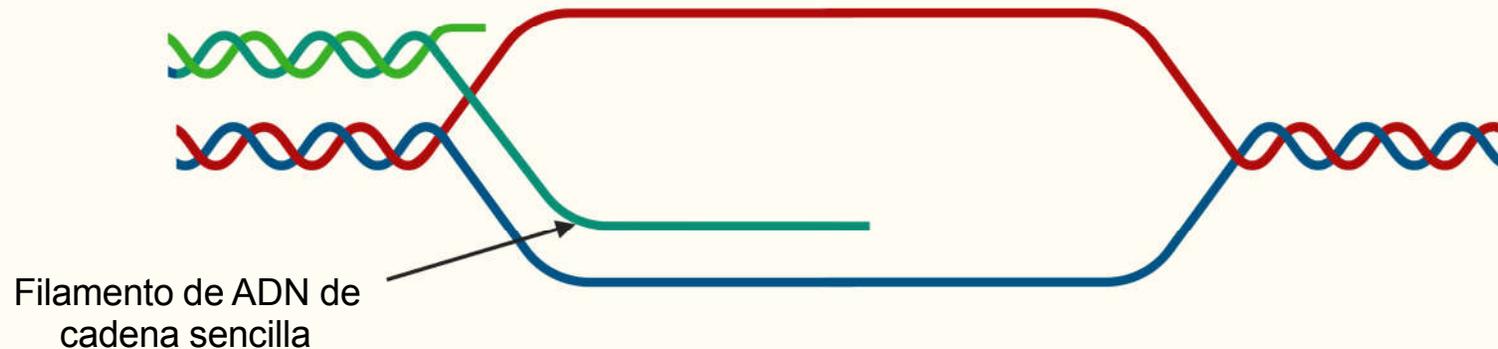
¿Qué tipo de daño al ADN se repara por recombinación homóloga?

17. ¿Cuál es la función de la proteína RecBCD en la recombinación homóloga de bacterias?

- A. Generar la cadena sencilla de ADN mediante sus actividades de endonucleasa y helicasa
- B. Unirse al ADN de cadena sencilla para invadir el otro dúplex de ADN
- C. Romper los enlaces fosfodiéster para resolver el cruce Holiday
- D. Separar las dos cadenas de ADN para promover el desplazamiento en el cruce de Holiday

La **proteína RecBCD** es un heterotrónimo formado por las subunidades B, C y D. Tiene actividad de endonucleasa que hace un corte en el extremo 3' de la secuencia χ (chi) en una cadena de ADN.

También posee actividad de helicasa que permite la generación de la cadena sencilla de ADN que invadirá a la otra cadena de ADN dúplex mediante su interacción con la proteína RecA.



La figura muestra la generación del filamento de ADN de cadena sencilla y la invasión de ésta a la otra molécula de ADN dúplex.

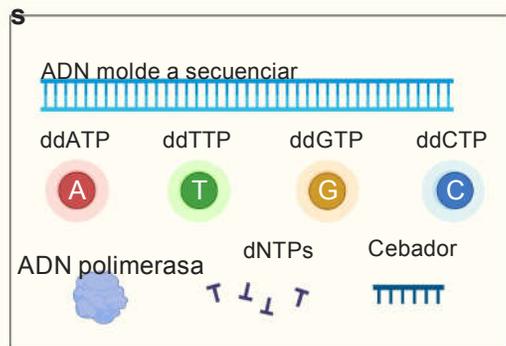
¿Por qué se requiere actividad de endonucleas y helicasa para formar el filamento de cadena sencilla de ADN?

18. ¿Cuál es el fundamento de la reacción de secuenciación de Sanger?

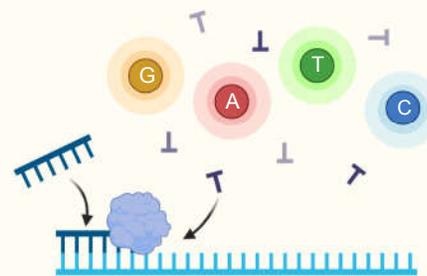
- A. Se basa en el uso de desoxi-ribonucleótidos que carecen de –OH en C3' lo que provoca la terminación de la síntesis de ADN
- B. Se basa en el uso de dideoxi-ribonucleótidos que carecen de –OH en C2' y C3' lo que provoca la terminación de la síntesis de ADN
- C. Se basa en el uso de desoxi-ribonucleótidos que carecen de –OH en C2' lo que provoca la terminación de la síntesis de ADN
- D. Se basa en el uso de dideoxi-ribonucleótidos que carecen de –OH en C2' y C3' lo que facilita la síntesis de fragmentos largos de ADN

Esta técnica de secuenciación se basa en el uso de **dideoxiribonucleótidos** (ddNTPs) en la mezcla de dNTPs. La carencia del grupo -OH en el C3' de la d-ribose en el ddNTP provoca la detención de la síntesis por lo que se generan cadenas que difieren en un nucleótido y que se pueden separar por electroforesis capilar.

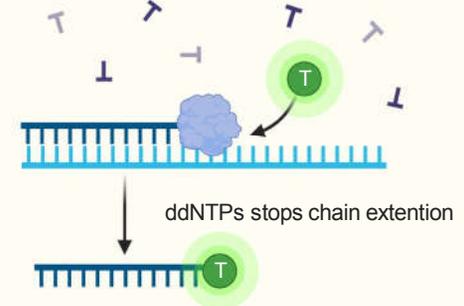
Reactivo



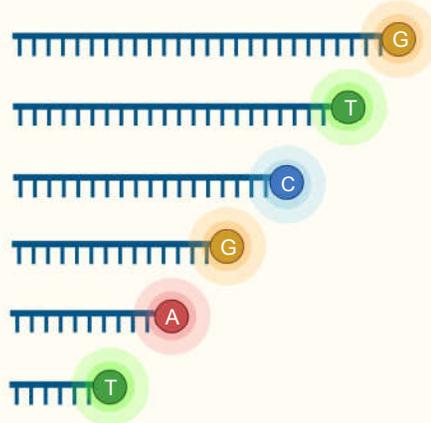
① Alieneamiento del cebador y síntesis del ADN



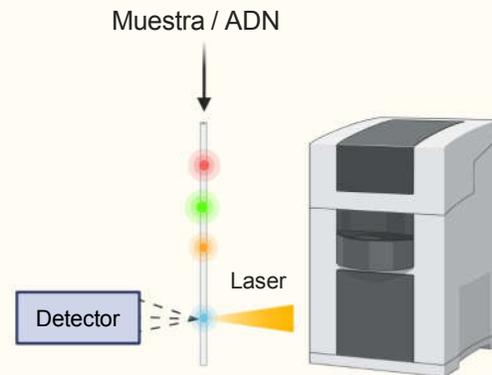
② Incorporación del ddNTP y terminación de la cadena



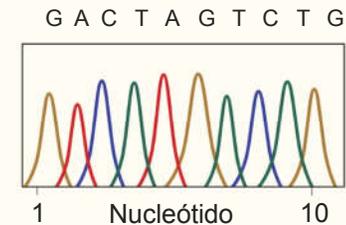
③ Cadenas de distintos tamaños marcadas con el ddNTP fluorescente



④ Separación de los fragmentos de ADN por electroforesis capilar



⑤ Secuenciación y análisis



Clave de Respuestas:

Pregunta	Respuesta
1	A
2	B
3	C
4	D
5	A
6	C
7	A
8	A
9	B
10	C

Pregunta	Respuesta
11	A: I B: III C: II
12	C
13	D
14	C
15	B
16	A, C, D
17	A
18	B

Referencias:

- Bergtrom, G. **Basic Cell and Molecular Biology**. UWM Digital Commons. (2018).
- Brooker, R.J. **Genetics: Analysis and Principles**. 4th. Ed. McGraw Hill. (2012).
- Griffiths; A.J.F., Gelbart, W.M., Miller, J.H., Lewontin, R.C. **An Introduction to Genetic Analysis**. 8th. Freeman Publishers. (2005).
- Krebbs, J.E., Goldstein, E.S., Kilpatrick, S.T. **Lewin's Essential Genes**. 3th. Ed. Jones & Bartlett Learning. (2013).
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C.A., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., Martina, K.C., Yaffe, M., Amon, A. **Molecular Cell Biology**. 9th. Ed. Freeman Publishers. (2021).
- McLennan, A., Bates, A., Turner, P., White, M. Bios. **Notas Instantáneas de Biología Molecular**. 4ta. Ed. Mc. Graw Hill Ed. (2013).

Agradecimientos



Proyecto PAPIME PE201017: Enseñanza interactiva mediante el empleo de las TIC's para la asignatura Genética y Biología Molecular.

Proyecto PAPIME PE206021: Elaboración de material para promover el aprendizaje activo de asignaturas de Bioquímica y Biología Molecular en la Facultad de Química.

Se agradece la participación de Jennifer Martínez Quiroz en la elaboración y edición de diapositivas.



Figuras elaboradas con
Biorender.com

