

How important is DNA repair?

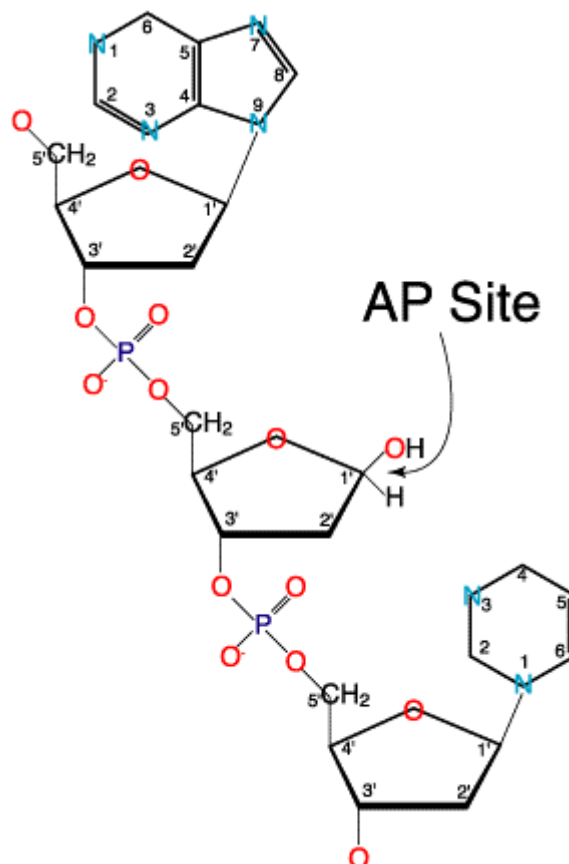
- DNA is the only biomolecule that is specifically *repaired*. All others are *replaced*.
- >100 genes participate in various aspects of DNA repair, even in organisms with very small genomes.
- Cancer is caused by mutations. In most cases, "genetic instability" (elevated mutation rate) is required to permit accumulation of sufficient mutations to generate cancer during a human lifetime. DNA repair mechanisms promote genomic stability and prevent cancer. Many, perhaps most, cancers are at least partially attributable to defects in DNA repair.

Types of damage

Note that many types of DNA damage are generated spontaneously, in some cases at very high frequency. Thus defects in DNA repair systems are likely to cause problems even in the absence of additional damage caused by environmental factors.

Base loss

The glycosyl bond linking DNA bases with deoxyribose is labile under physiological conditions. Within a typical mammalian cell, several thousand purines and several hundred pyrimidines are spontaneously lost per haploid genome per day. Loss of a purine or pyrimidine base creates an **apurinic/apyrimidinic (AP) site** (also called an **abasic site**):



Mutaciones y reparación del DNA

Tipos de mutaciones

- 1) sustitución de un par de bases por otro
- 2) eliminación o inserción de un par de bases

1) son las mas frecuentes y son de dos tipos:

- a) transiciones, sustitución de una purina por otra purina o de una pirimidina por otra pirimidina
- b) transversiones sustitución de una purina por una pirimidina o viceversa.

Mutaciones espontáneas

Debido a las formas tautoméricas transitorias de las bases se pueden dar apareamientos de bases atípicos. Ejemplo

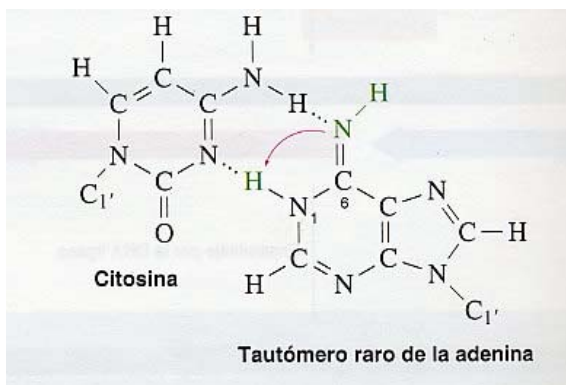


FIGURA 31-39

El tautómero menos frecuente de la adenina se empareja con citosina en lugar de hacerlo con timina. Este tautómero se forma por el salto de un protón desde el grupo 6-amino al N-1.

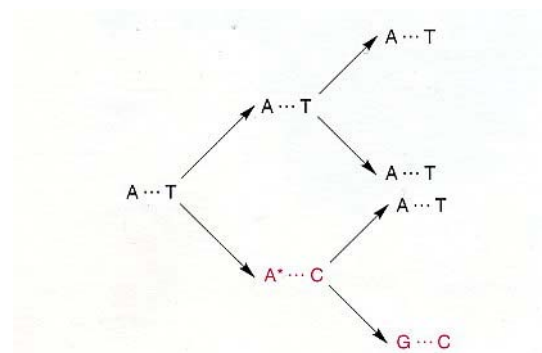


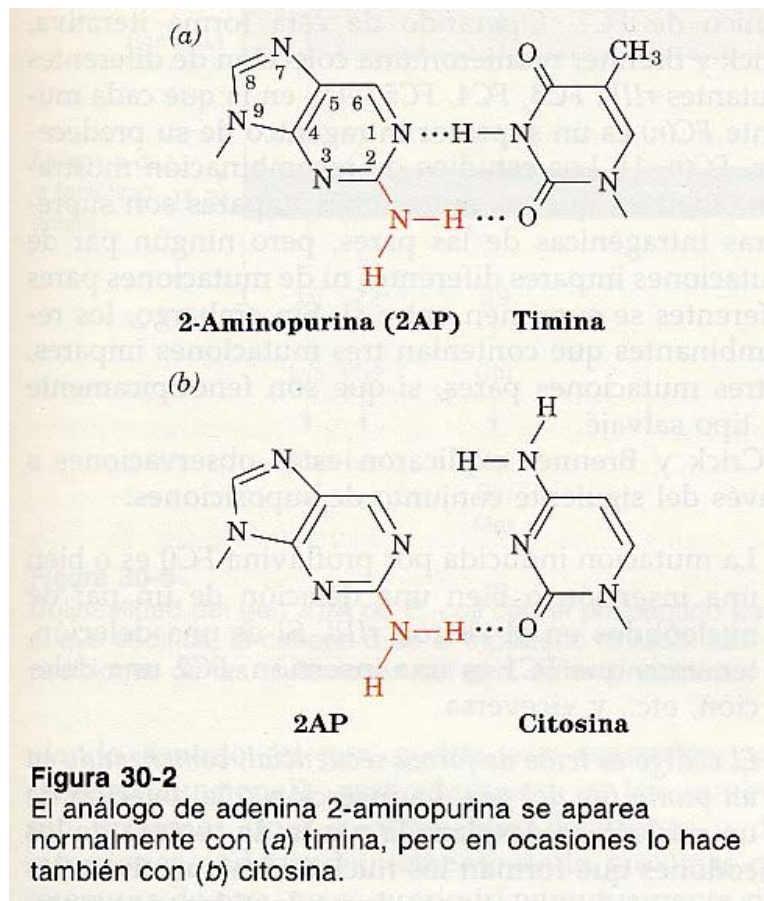
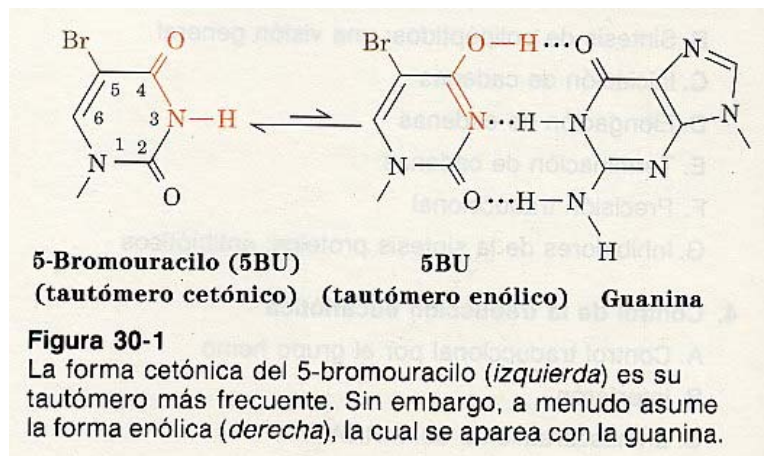
FIGURA 31-40

El emparejamiento del tautómero menos frecuente de la adenina (A*) con citosina, origina el par de bases G · C en la siguiente generación.

Mutaciones químicas

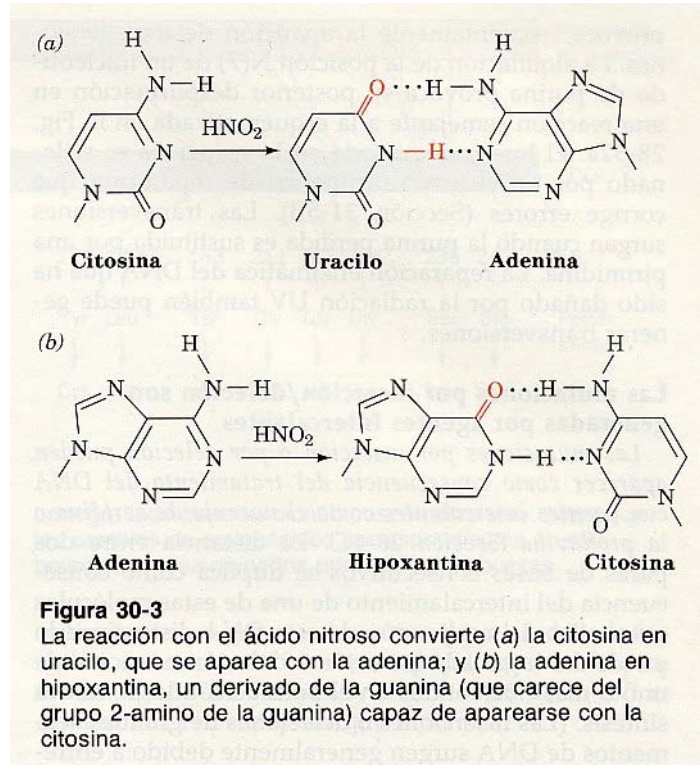
- a) análogos de bases que se incorporan al DNA
- b) modificación química de las bases del DNA, con el consecuente cambio de bases

a) el 5-bromouracilo y la 2 amino purina

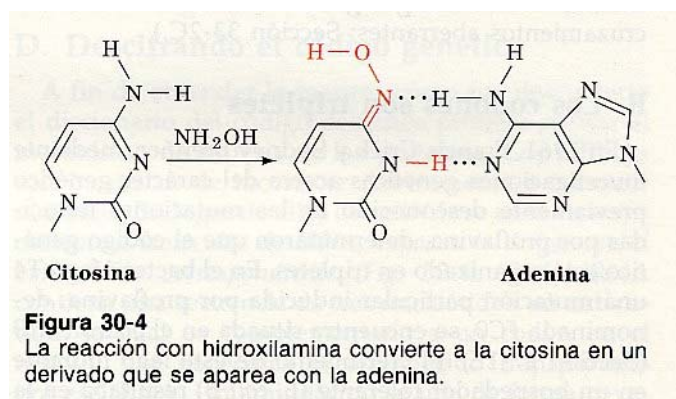


b) desaminación oxidativa de las bases (ácido nitroso)

adenina ---hipoxantina empareja con citosina
 citosina ---uracilo “ “ adenina
 guanina ---xantina “ “ citosina



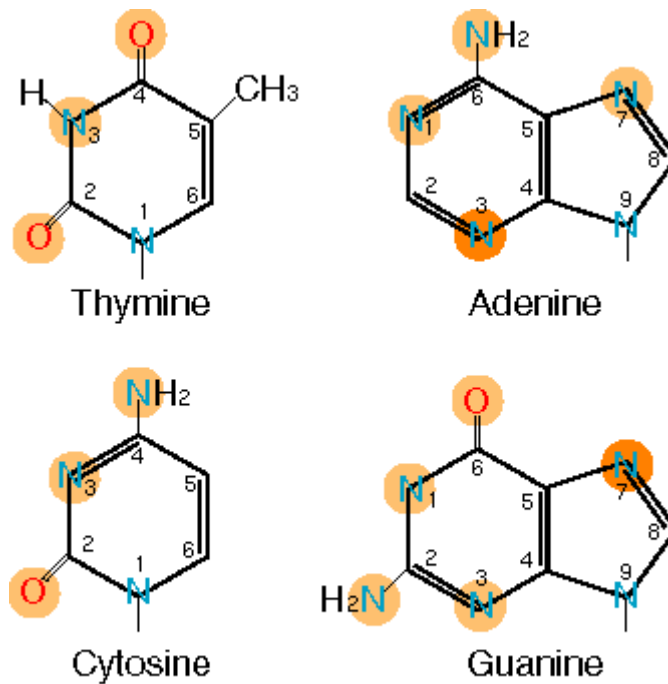
La hidroxilamina es mutágeno altamente específico reacciona casi exclusivamente con la citosina para dar un producto que forma un par de bases con la adenina



2) Una clase diferente de mutaciones se produce por efecto de moléculas aromáticas planas como las acridinas, que se intercalan entre los planos de los pares de bases produciendo la inserción o eliminación de uno o más pares de bases.

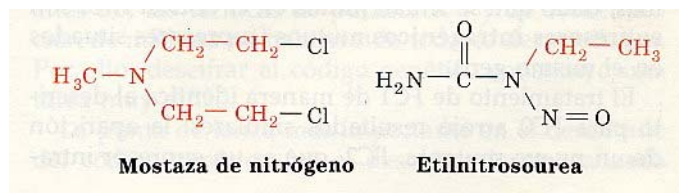
Alquilación de las bases

Muchos agentes químicos ambientales, incluyendo los naturales (frecuentes en los alimentos que consumimos), pueden modificar también las bases del DNA, usualmente por adición de grupos metilos u otros grupos alquílicos. Además, con frecuencia el metabolismo normal lleva a la alquilación. En este sentido se ha mostrado que la S-adenosilmetionina, el dador biológico normal de grupos metilo, reacciona accidentalmente con el DNA para producir bases alquiladas como la 3-metiladenina a una velocidad de cien de veces por genoma haploide de mamífero. La alquilación ocurre sobre las posiciones más nucleofílicas.



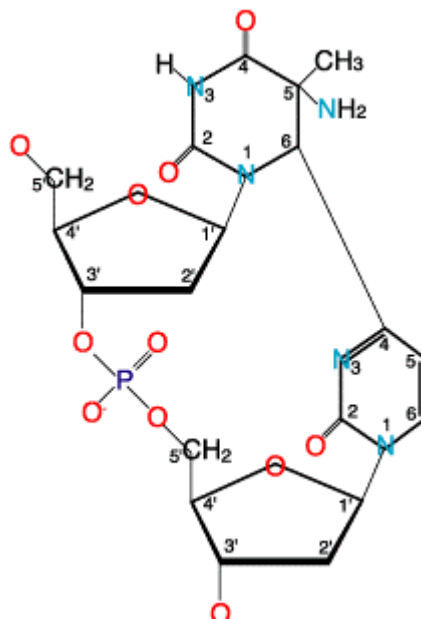
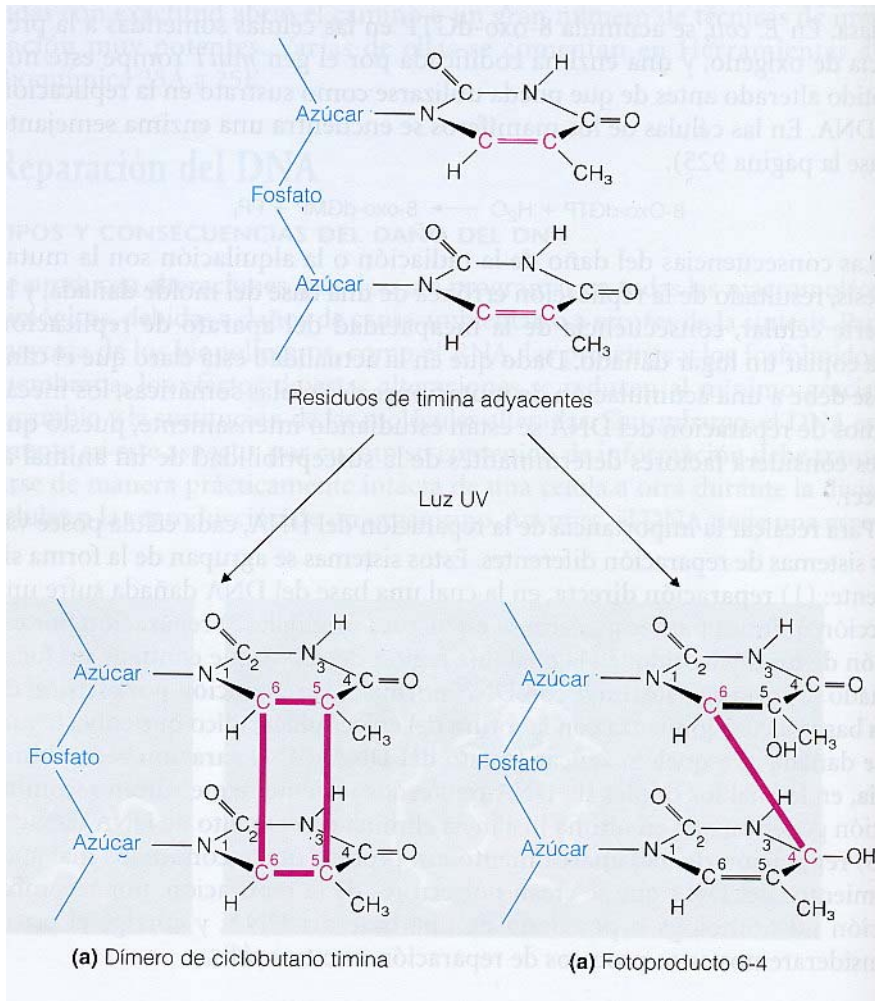
Based on Fig. 1-32 in Friedberg, Walker and Siede

La utilización de agentes alquilantes, (Dimetilsulfato, la mostaza de nitrógeno y la etilnitrosourea) provoca frecuentemente transversiones.



Lesiones causadas por la luz ultravioleta

La luz ultravioleta es absorbida por las bases de los ácidos nucleicos, y el resultante influjo de energía puede inducir cambios químicos.



Replication errors

Another major source of potential alterations in DNA is the generation of mismatches or small insertions or deletions during DNA replication. Although DNA polymerases are moderately accurate, and most of their mistakes are immediately corrected by polymerase-associated proofreading exonucleases, nevertheless the replication machinery is not perfect. As we shall see later, efficient repair mechanisms correct most of these problems.

Inter-strand crosslinks

By attaching to bases on both strands, bifunctional alkylating agents such as the psoralens can cross-link both strands. Cross-links can also be generated by UV and ionizing radiation.

DNA-protein crosslinks

Bifunctional alkylating agents and radiation can also create crosslinks between DNA strands (usually via the DNA bases) and protein molecules.

Strand breaks

Ionizing radiation can generate both single-strand nicks and double-strand breaks. Both types of break must be repaired.

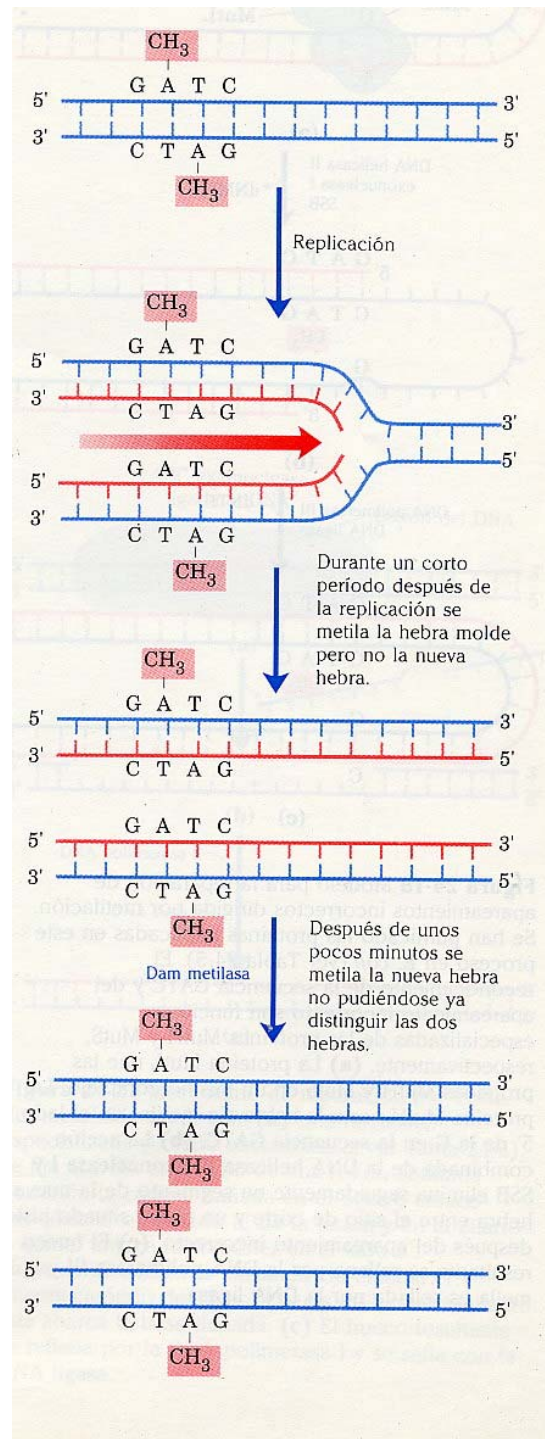
Las células tienen múltiples sistemas de reparación

Sistema	Enzimas/proteínas	Tipo de lesión
Reparación de apareamiento incorrecto	Dam metilasa Proteínas MutH, MutL, MutS DNA helicasa II SSB DNA polimerasa III Exonucleasa I DNA ligasa	Apareamientos incorrectos
Reparación por corte de base	DNA glucosilasas AP endonucleasas DNA polimerasa I DNA ligasa	Bases anormales (uracilo, hipoxantina, xantina); bases alquiladas; dímeros de pirimidina en otros organismos
Reparación por corte de nucleótido	ABC excinucleasa DNA polimerasa I DNA ligasa	Lesiones del DNA que producen grandes cambios estructurales, p. ej., dímeros de pirimidina
Reparación directa	DNA fotoliasas O ⁶ -metilguanina-DNA metiltransferasa	Dímeros de pirimidina O ⁶ -Metilguanina

Sistemas de reparación del DNA

a) Reparación de apareamientos incorrectos

La metilación de cadenas de DNA pueden servir para distinguir hebras parentales moldes de las hebras recién sintetizadas en el DNA de *E. coli*. Función es crítica para la reparación de apareamientos incorrectos. La metilación tiene lugar en la posición 6 de la adenina dentro de la secuencia GATC.

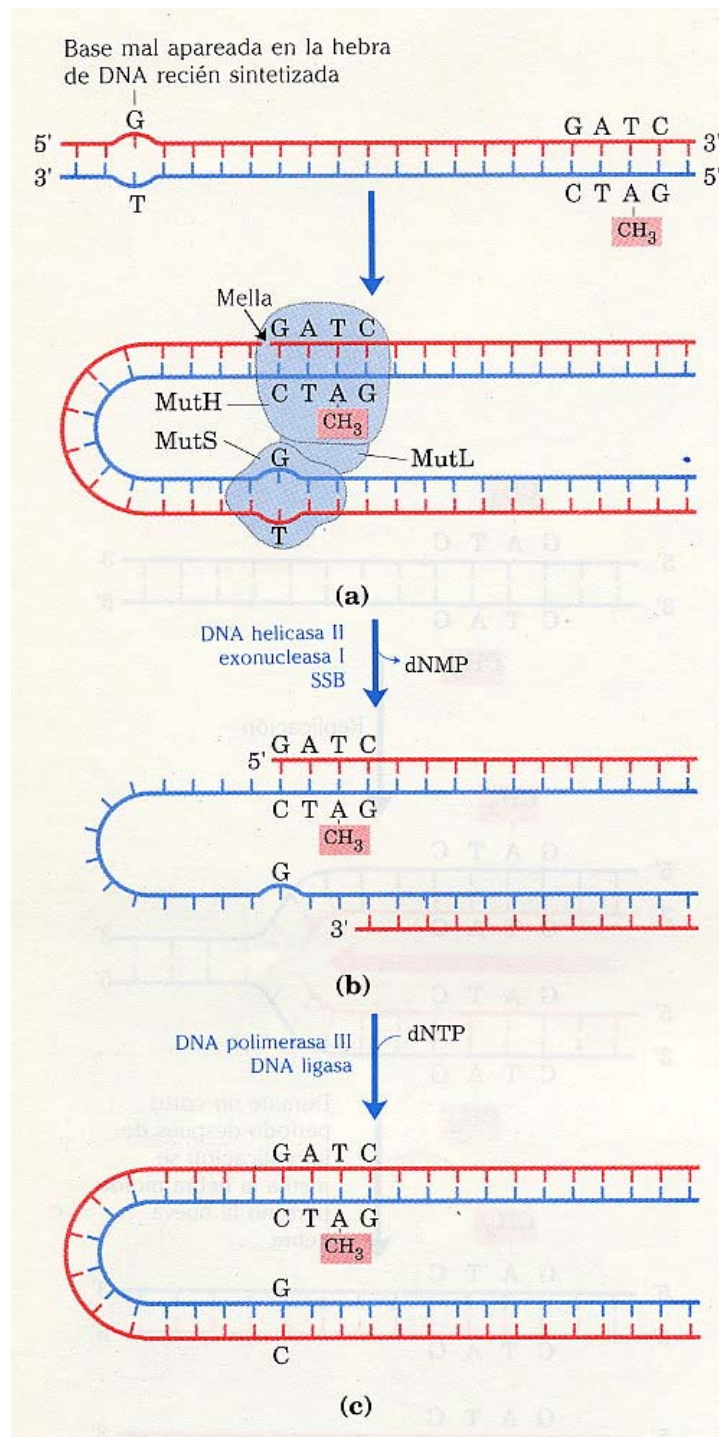


Modelo para la reparación de apareamientos incorrectos dirigida por metilación. Las proteínas Mut S, Mut H y Mut L son los elementos claves dentro del sistema.

Mut H reconoce la secuencia GATC y actúa como endonucleasa produciendo una mella con especificidad de secuencia, cortando la cadena no metilada por el lado 5' de la G en la secuencia GATC

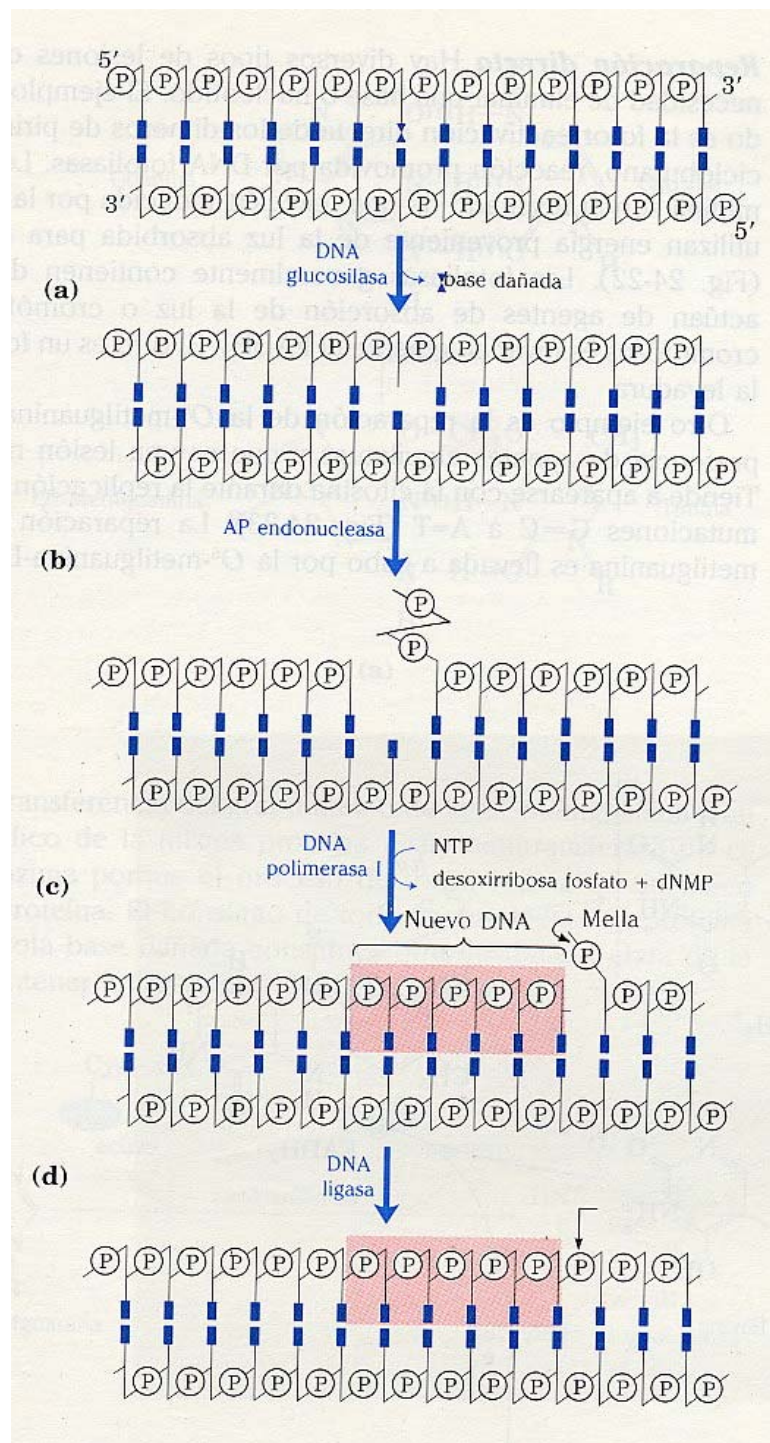
Mut S reconoce los apareamientos incorrectos

Mut L proteína de unión entre Mut H y Mut S



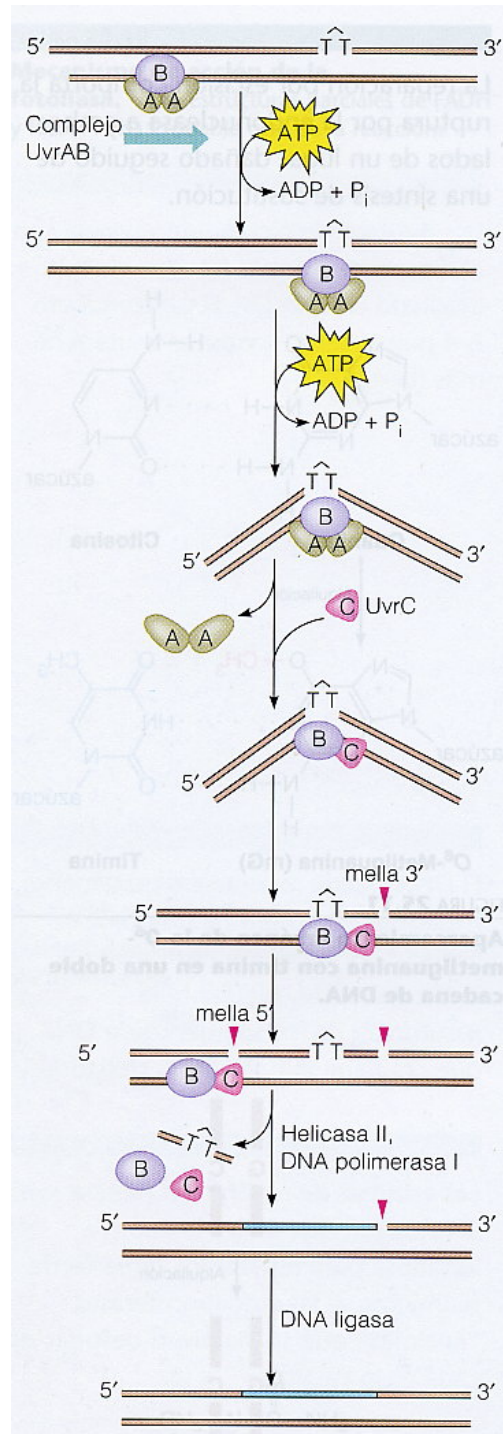
Las glucosilasas eliminan las bases alteradas

Las células poseen un conjunto de DNA glucosilasas, cada una de las cuales reconoce el enlace glucosídico correspondiente a un tipo específico de nucleótido alterado, dejando así el resto de desoxirribosa en el esqueleto de la doble hélice. Estos sitios apurínicos o apirimidínicos (AP) se crean también en condiciones fisiológicas, por hidrólisis espontánea del enlace glucosídico. En ambos casos, el resto de desoxirribosa es cortado en uno de los lados por una endonucleasa AP, la desoxirribosa y varios restos adyacentes son eliminados por la acción de la DNA polimerasa I o alguna otra exonucleasa celular, y el hueco rellenado por la polimerasa y sellado por la ligasa.



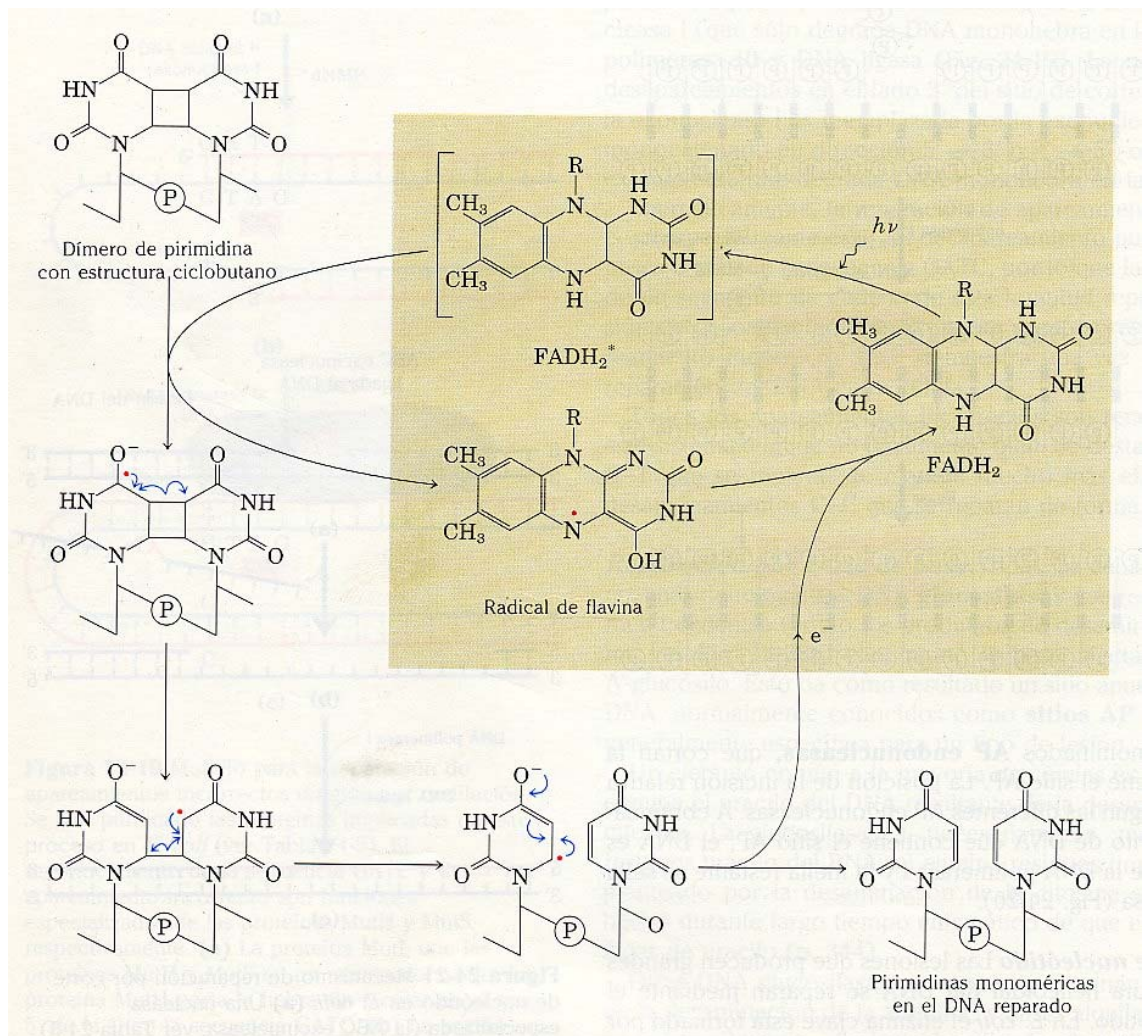
Reparación por escisión de nucleótidos: sistema ABC escinucleasas (genes *uvr A*, *B* y *C*)

Un complejo de proteínas 2 A y 1B avanza a lo largo del DNA hasta que llega a un dímero de timina u otra zona dañada, en donde se detiene y obliga al DNA a doblarse. A continuación, se disocia *uvr A*, lo que permite la unión de *uvrC* a *uvrB*. El complejo BC corta a ambos lados del dímero (8 nucleótidos hacia el lado 5' y 4 o 5 hacia el lado 3'). La helicasa II (*uvr D*), la polimerasa y la ligasa eliminan el dodecámero dañado y lo sustituyen por nuevo DNA.



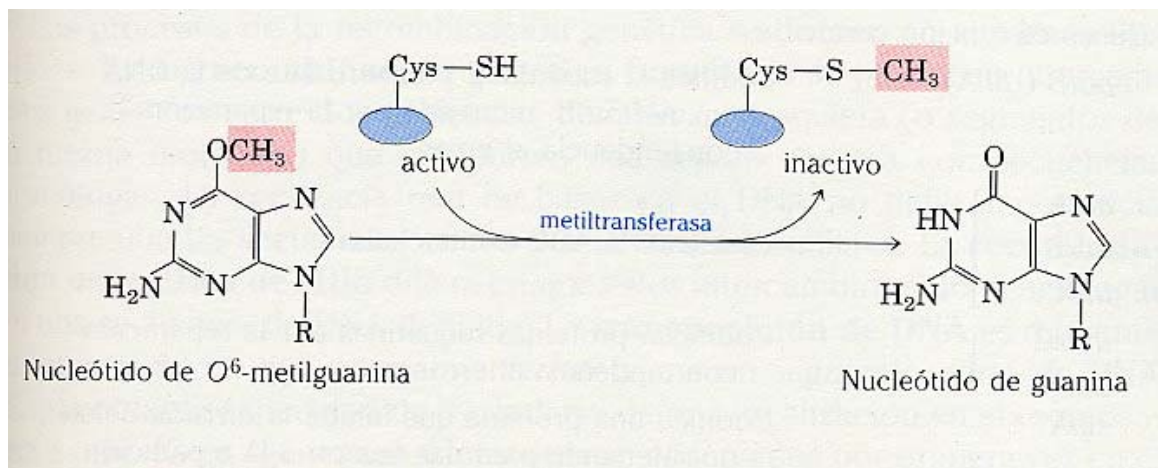
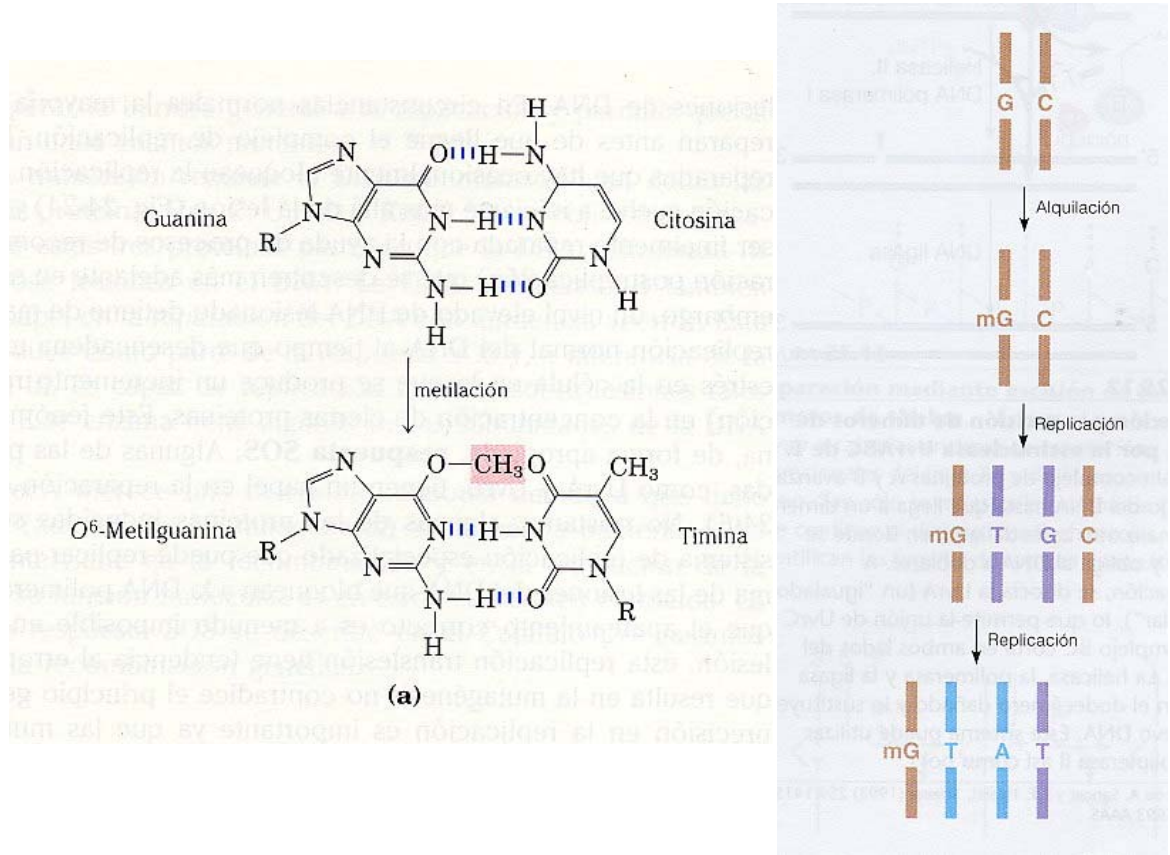
Reparación directa

Hay diversos tipos de lesiones que se reparan sin necesidad de eliminar una base o un nucleótido. El ejemplo mejor caracterizado es la fotorreactivación directa de los dímeros de pirimidina que forman ciclobutano, reacción catalizadas por las fotoliasas. Las fotoliasas generalmente contienen dos cromóforos que actúan de agentes de absorción de luz. Uno de ellos es invariablemente el FADH₂. El otro en *E. coli* y levaduras es el 5, 10-meteniltetrahidrofolato, ambos se complementan en términos de las longitudes de onda a las que absorben de manera eficiente. La mayor parte de la energía luminosa fotorreactivante se absorbe por el folato que la transfiere al FADH₂. La forma excitada resultante FADH₂* transfiere un electrón al dímero de pirimidina, este último con un radical libre es inestable degradándose para formar pirimidinas monoméricas y regenerándose nuevamente el FADH₂.



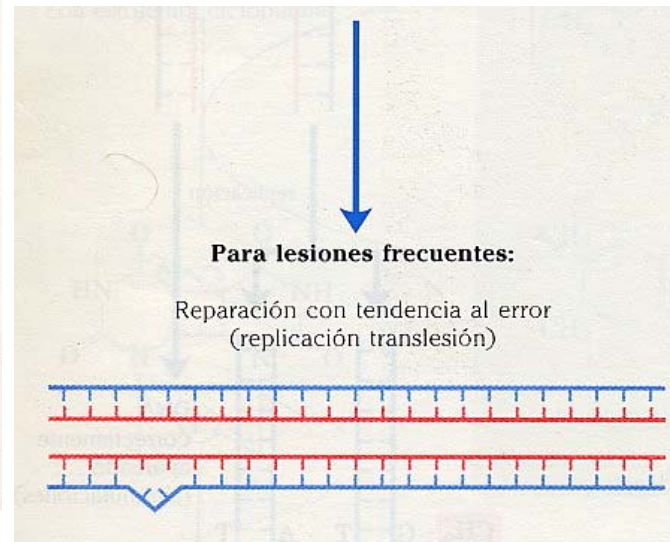
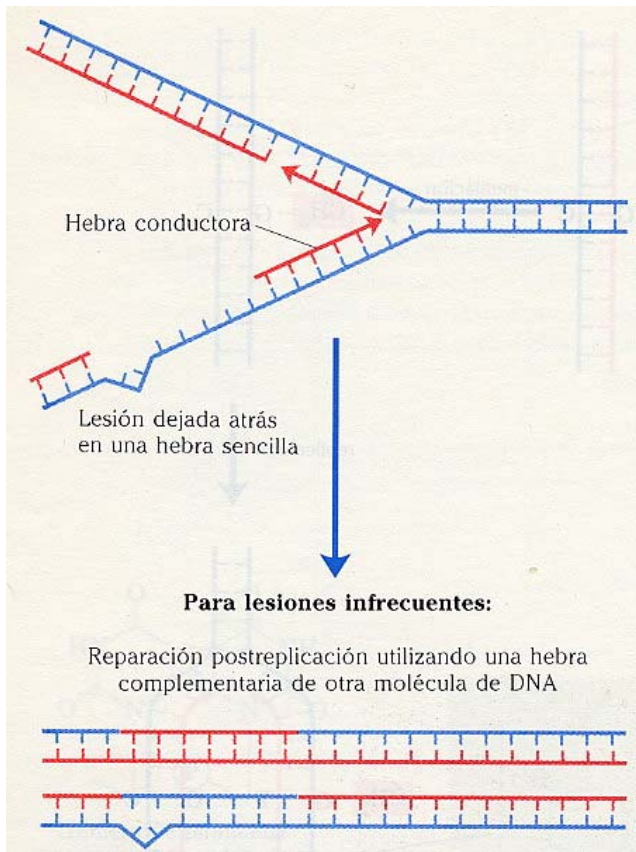
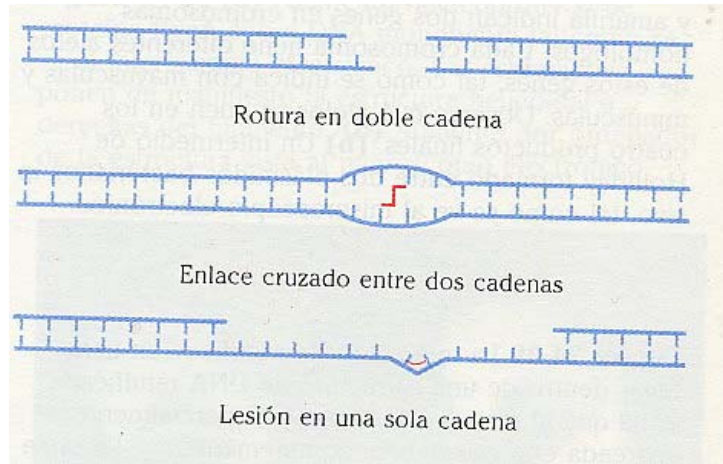
Alquiltransferasas desalquilan las bases alquiladas

Ejemplo la O6-metil-guanina-metiltransferasa, la cual transfiere directamente el grupo alquilo a uno de sus propios restos de cisteína inactivándose.



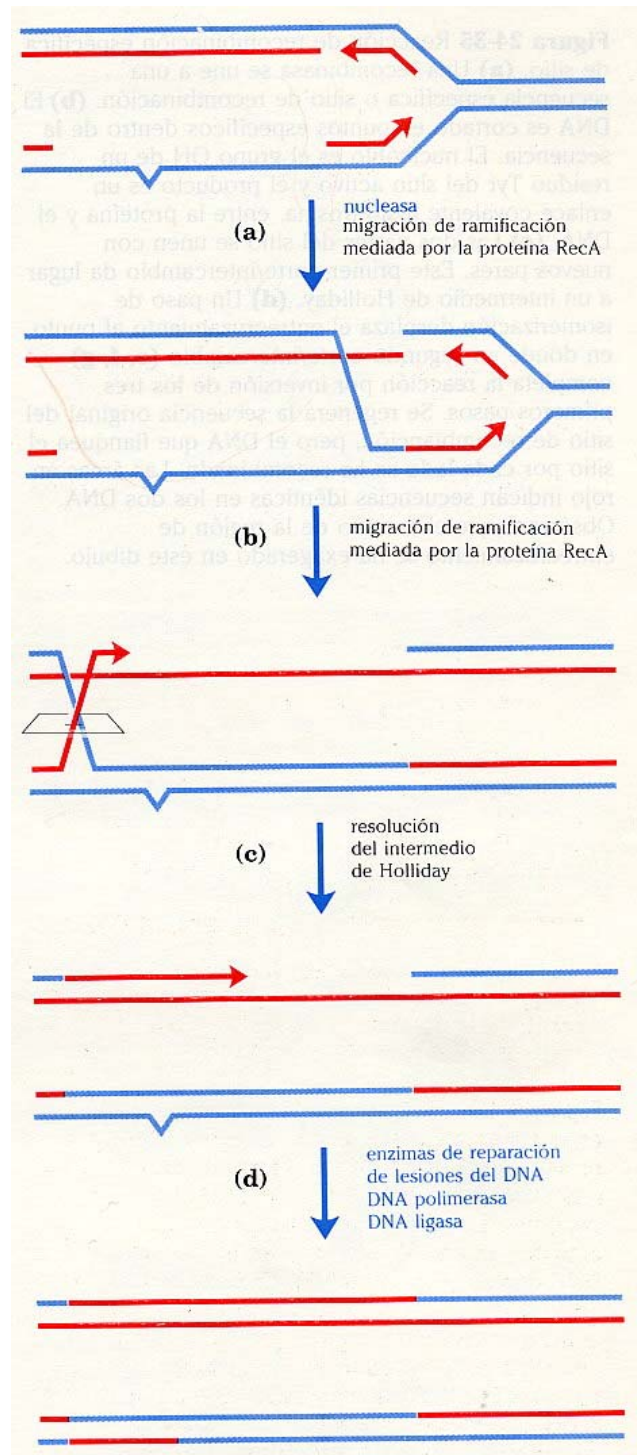
En lesiones del DNA muy extensas la reparación es propensa al error

- a) reparación por recombinación
- b) inducción del sistema SOS



La recombinación homóloga es una vía de reparación del DNA

Si la horquilla de replicación se encuentra una lesión sin reparar ésta se detiene por lo general reempiéndose nuevamente la replicación en un punto mas lejano del cromosoma. La lesión se deja atrás en un segmento monohebra sin replicar, y que no puede ser reparada por los mecanismos vistos hasta el momento por carecer de molde. Una de las vías posibles para repararlo es la vía recombinacional.



Sistema SOS

Un nivel de DNA lesionado elevado detiene de manera efectiva la replicación normal de DNA al tiempo que desencadena una respuesta de estrés en la célula en que se produce un incremento regulado (inducción) en la concentración de ciertas proteínas. Este fenómeno se denomina respuesta SOS. Algunas de las proteínas inducidas son parte de un sistema de replicación especializado que puede replicar pasando por encima de las lesiones del DNA que bloquean a la DNA polimerasa III.. Debido a que el apareamiento correcto es a menudo imposible en el sitio de una lesión, esta replicación traslesión tiene tendencia al error.

Tabla 24-6 Genes inducidos como parte de la respuesta SOS	
Nombre del gen	Papel en la reparación del DNA
Genes de función conocida	
<i>polB (dinA)</i>	Codifica la subunidad polimerizante de la DNA polimerasa II, requerida por la reparación con tendencia al error
<i>uvrA</i>	Codifican la ABC excinucleasa
<i>uvrB</i>	
<i>uvrC</i>	
<i>umrC</i>	Codifican proteínas requeridas por la reparación con tendencia al error
<i>umuD</i>	
<i>sutA</i>	Codifica una proteína que inhibe la división celular, posiblemente para dar tiempo a la reparación del DNA
<i>recA</i>	Codifica la proteína RecA requerida para la reparación con tendencia al error y para la reparación recombinacional
Genes que intervienen en el metabolismo del DNA pero cuyo papel en la reparación del DNA es desconocido	
<i>ssb</i>	Codifica la proteína de fijación a hebra sencilla (SSB)
<i>uvrD</i>	Codifica la DNA helicasa II (proteína desenrolladora del DNA)
<i>himA</i>	Codifica la subunidad del factor de integración al huésped, implicado en la recombinación específica de sitio, replicación, transposición, regulación de la expresión de diversos genes
<i>recN</i>	Implicado en la reparación recombinacional
Genes de función desconocida	
<i>dinB</i>	
<i>dinD</i>	
<i>dinF</i>	

Mecanismo de la respuesta SOS

