



Recombinación Genética



Recombinación homóloga (general o recíproca): intercambio genético entre dos moléculas de DNA o entre segmentos de la misma molécula de DNA que compartan una **extensa región de secuencia igual o muy similar** (homología). Las secuencias nucleotídicas en sí mismas no son importantes; sólo se requiere que sean iguales o muy similares en ambos segmentos de DNA.

Recombinación sitio específica: el intercambio genético tiene lugar sólo entre regiones del DNA **relativamente cortas** y con secuencias **particulares y definidas (específicas)**.

Transposición: movimiento de segmentos relativamente cortos de DNA desde un lugar del genoma a otro (dejando o no una copia en el lugar original).



lesiones en el DNA que impiden el avance de la maquinaria de replicación

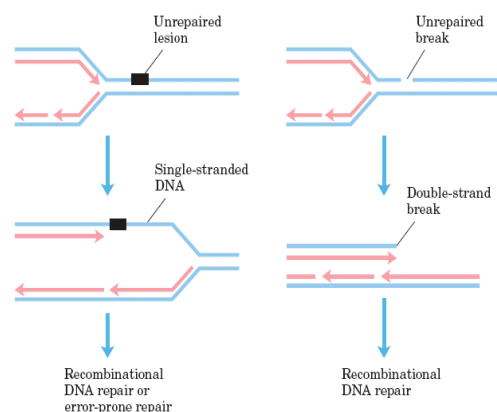
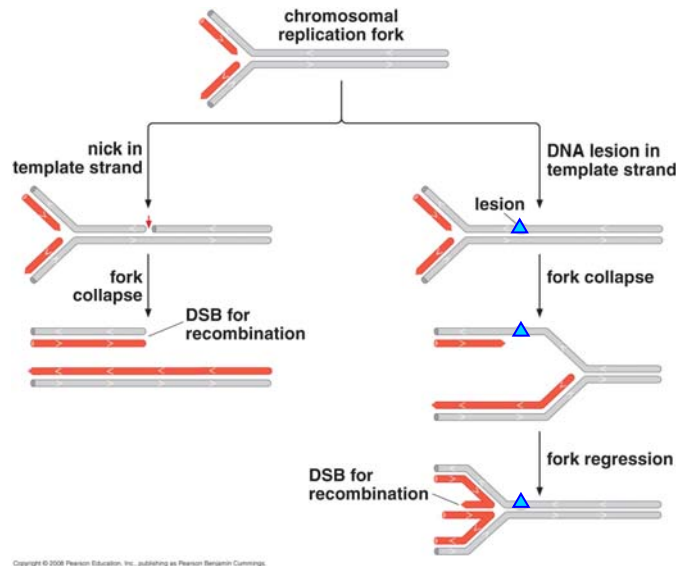


FIGURE 25-28 DNA damage and its effect on DNA replication. If the replication fork encounters an unreplicated lesion or strand break, replication generally halts and the fork may collapse. A lesion is left behind in an unreplicated, single-stranded segment of the DNA; a strand break becomes a double-strand break. In each case, the damage to one strand cannot be repaired by mechanisms described earlier in this chapter, because the complementary strand required for direct accurate repair is damaged or absent. There are two possible avenues for repair: recombinational DNA repair (described in Fig. 25-37) or, when lesions are unusually numerous, error-prone repair. The latter mechanism involves a novel DNA polymerase (DNA polymerase V, encoded by the *umuC* and *umuD* genes) that can replicate, albeit inaccurately, over many types of lesions. The repair mechanism is referred to as error-prone because mutations often result.

La necesidad de la
reparación por recombinación

lesiones en el DNA que impiden el avance de la maquinaria de replicación



Recombinación homóloga

(HR = Homologous Recombination)

Mecanismo de **reparación del DNA**:

los mecanismos estudiados hasta ahora en el curso se caracterizan por:

extraer el DNA de la cadena dañada y
usar la **cadena complementaria** como **molde**
para resintetizar el tramo eliminado.

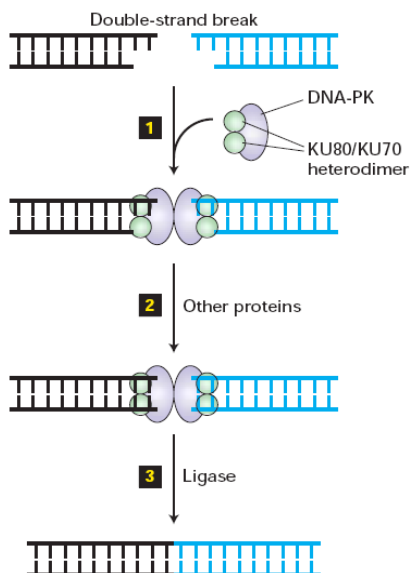
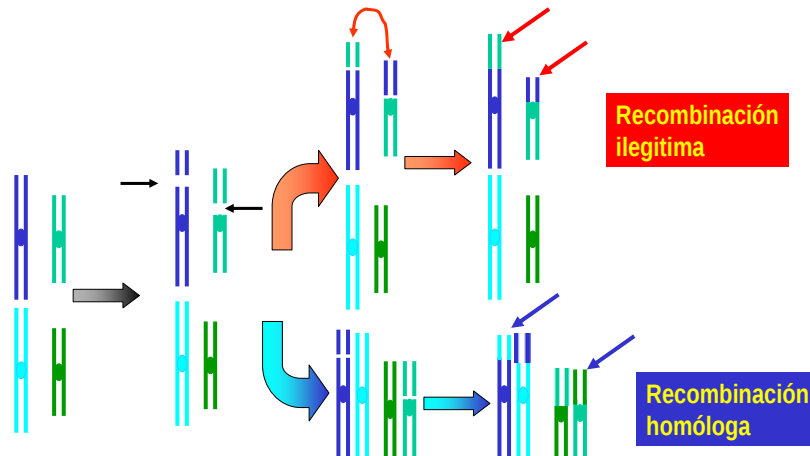
Cuando **ambas cadenas** están dañadas (*double strand break* = **DSB**), o cuando se mantiene una **lesión de cadena simple** porque no funcionaron otros mecanismos, **la horquilla de replicación se atasca**.

Si el DSB no se repara se pueden producir reordenamientos y aberraciones cromosómicas que llevan a la muerte celular.

El DSB es generalmente causado por **especies reactivas de oxígeno** generadas por el metabolismo celular o por radiaciones ionizantes.

El DSB se repara por **HR** o por la unión no-homóloga de los extremos, **non-homologous end joining (NHEJ)**. Los DSB son recombinogénicos.

Recombinación homóloga y no homóloga



NHEJ

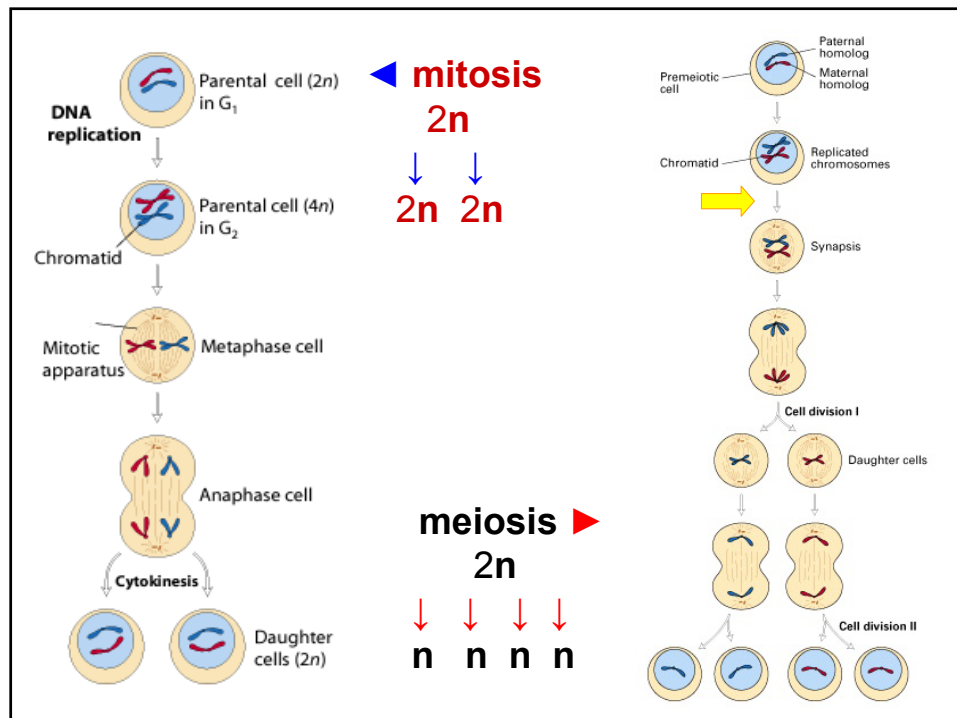
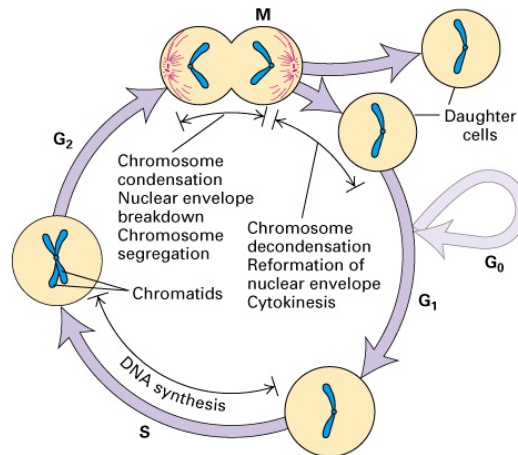
NHEJ es un mecanismo de reparación imperfecto, ya que se pierden algunas secuencias.

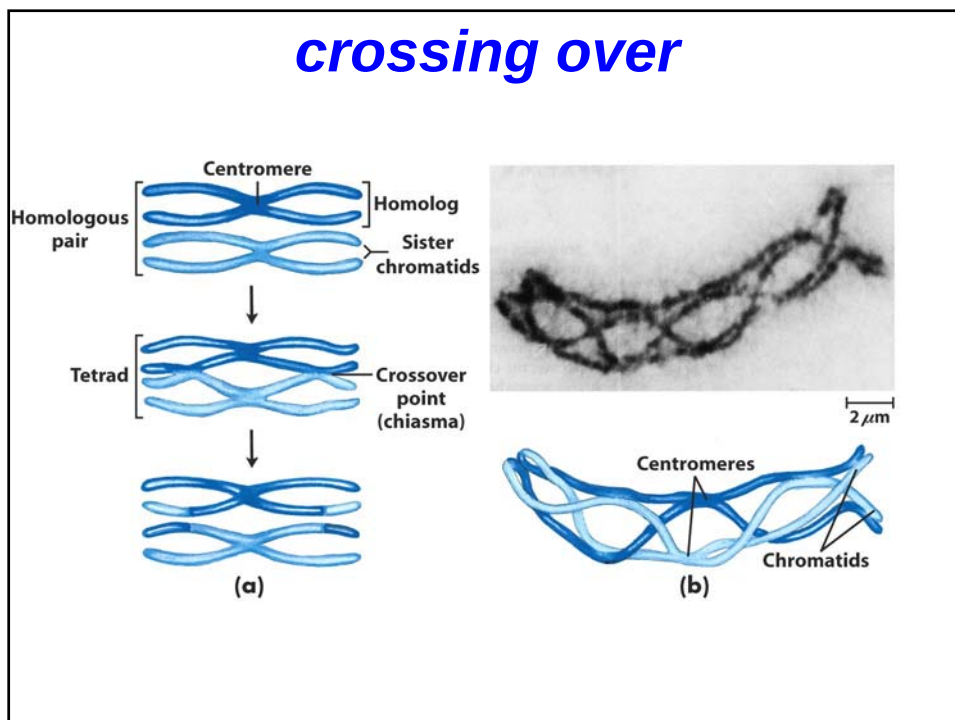
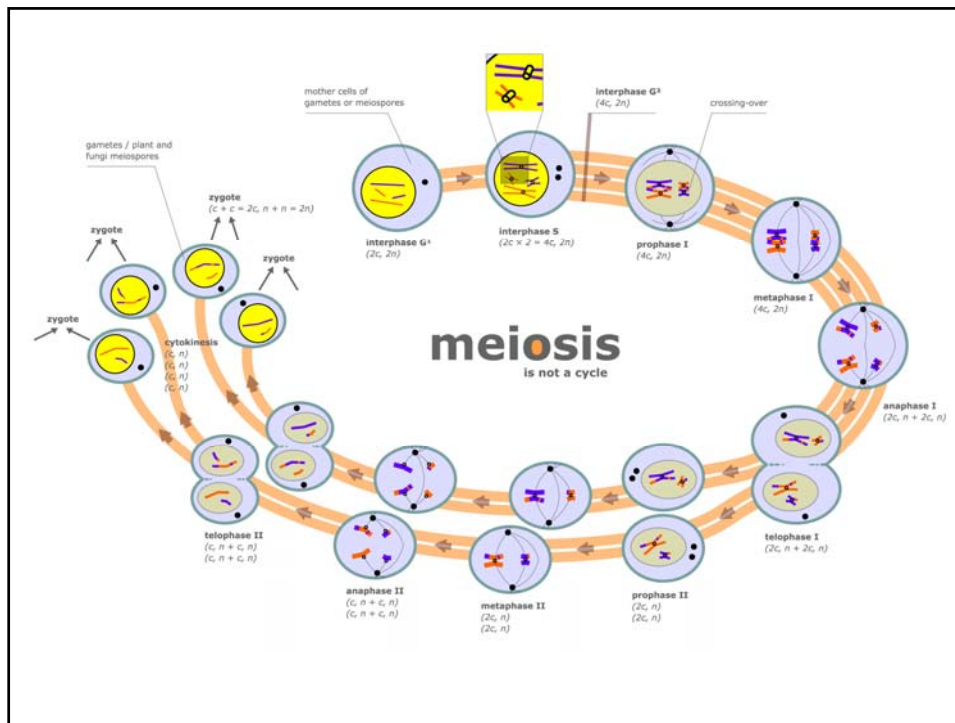
Esto es menos dañino que dejar los extremos libres para que inicien reordenamientos cromosomales.

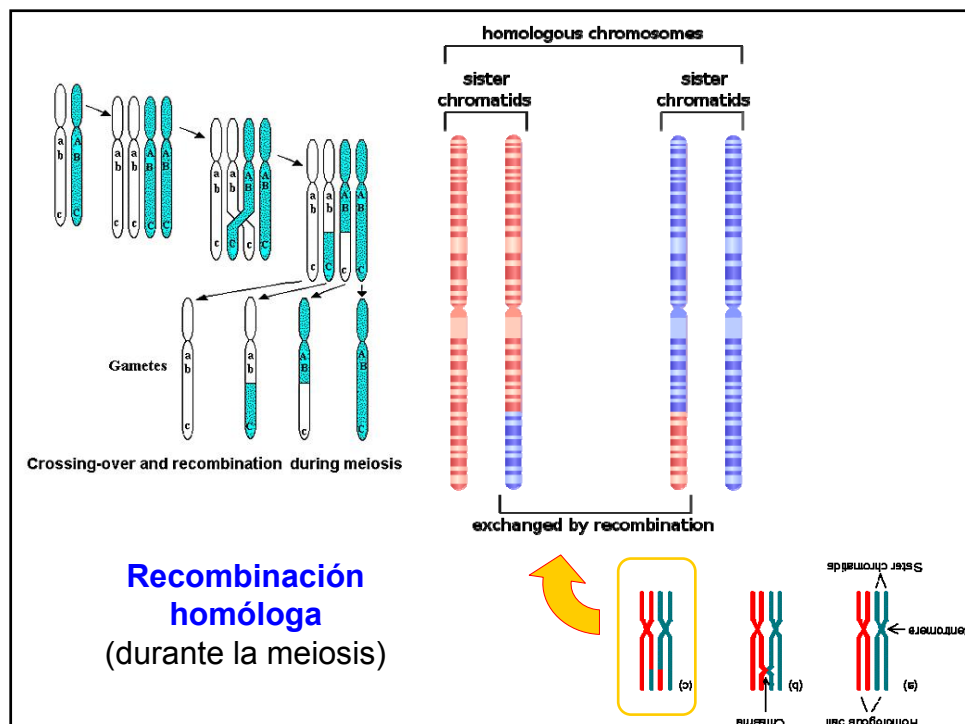
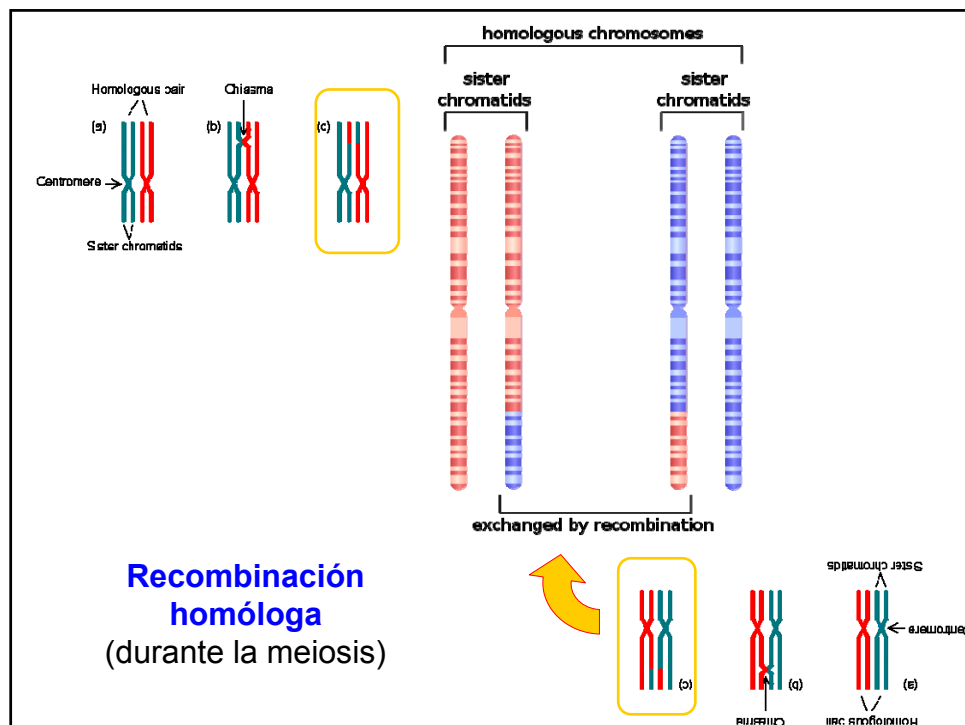
Esta situación es análoga al resultado del mecanismo SOS (replicación de DNA con muy escasa fidelidad cuando el molde se encuentra dañado)

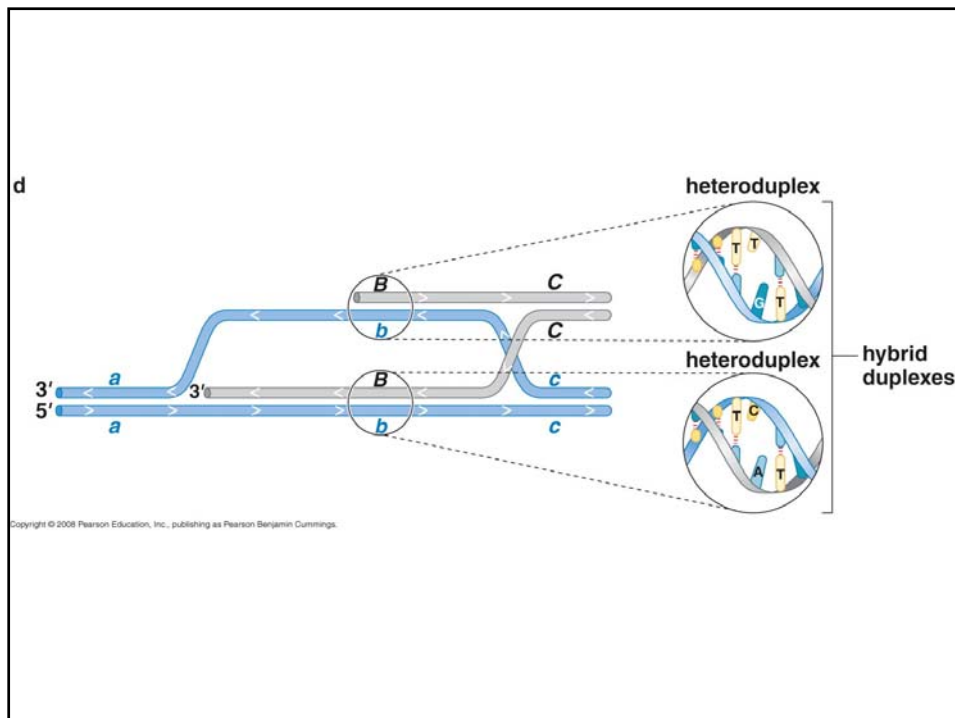
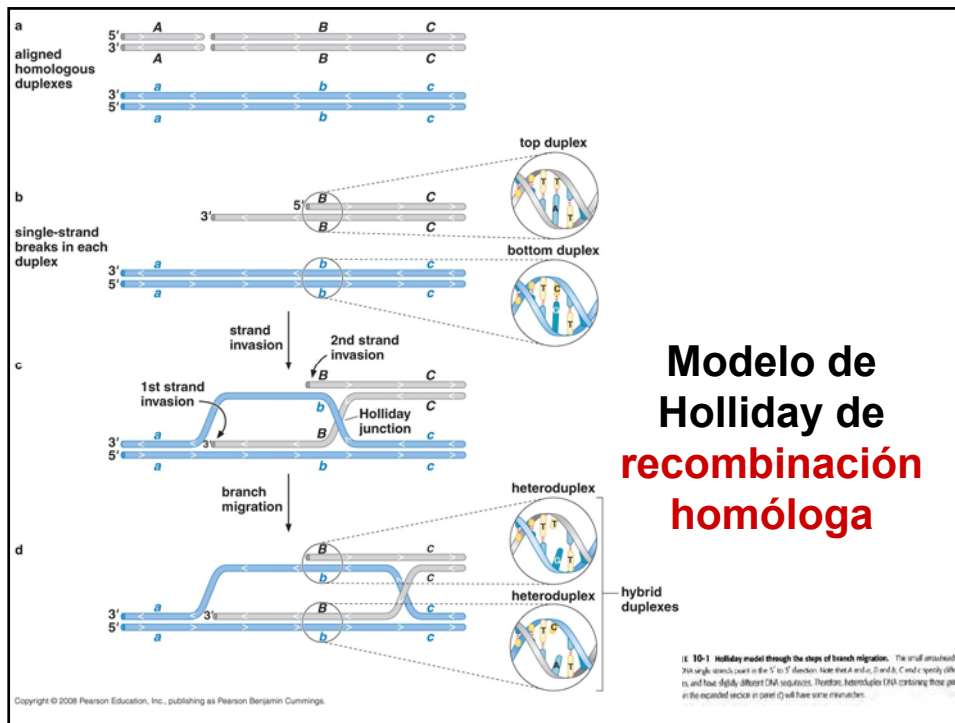
▲ FIGURE 23-32 Repair of double-strand breaks by end-joining. In general, nucleotide sequences are butted together that were not apposed in the unbroken DNA. These DNA ends are usually from the same chromosome locus, and when linked together, several base pairs are lost. Occasionally, ends from different chromosomes are accidentally joined together. A complex of two proteins, Ku and DNA-dependent protein kinase, binds to the ends of a double-strand break (1). After formation of a synapse, the ends are further processed by nucleases, resulting in removal of a few bases (2), and the two double-stranded molecules are ligated together (3). As a result, the double-strand break is repaired, but several base pairs at the site of the break are removed. [Adapted from G. Chu, 1991 *J. Biol. Chem.* 272:24097; M. Lieber et al., 1991 *Curr. Opin. Genet. Devel.* 7:99; and D. van Gant et al., 2001 *Nature Rev. Genet.* 2:196.]

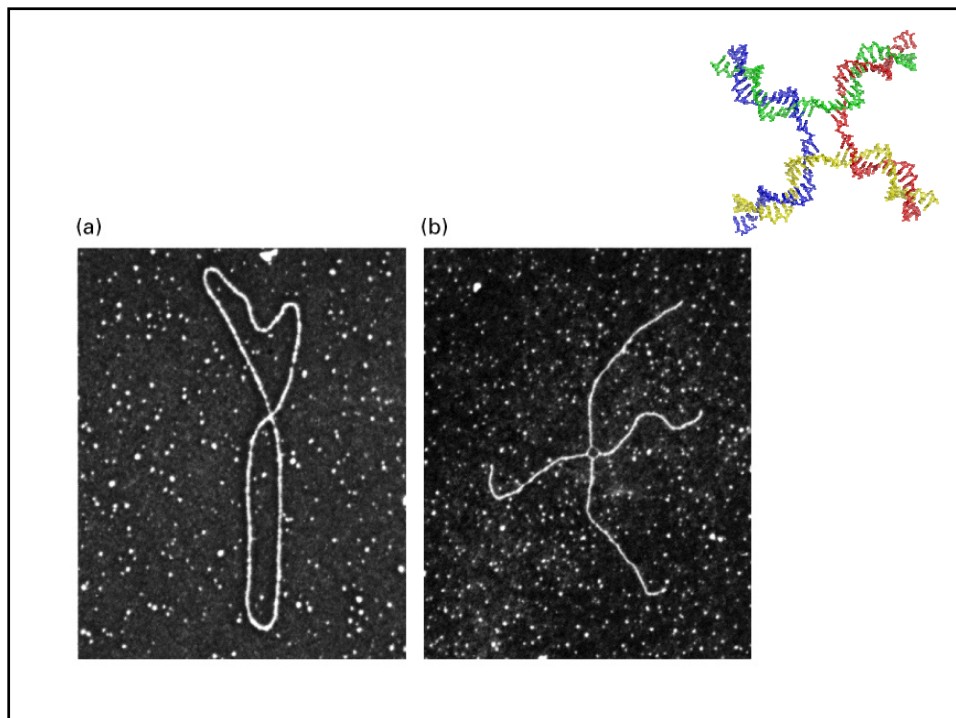
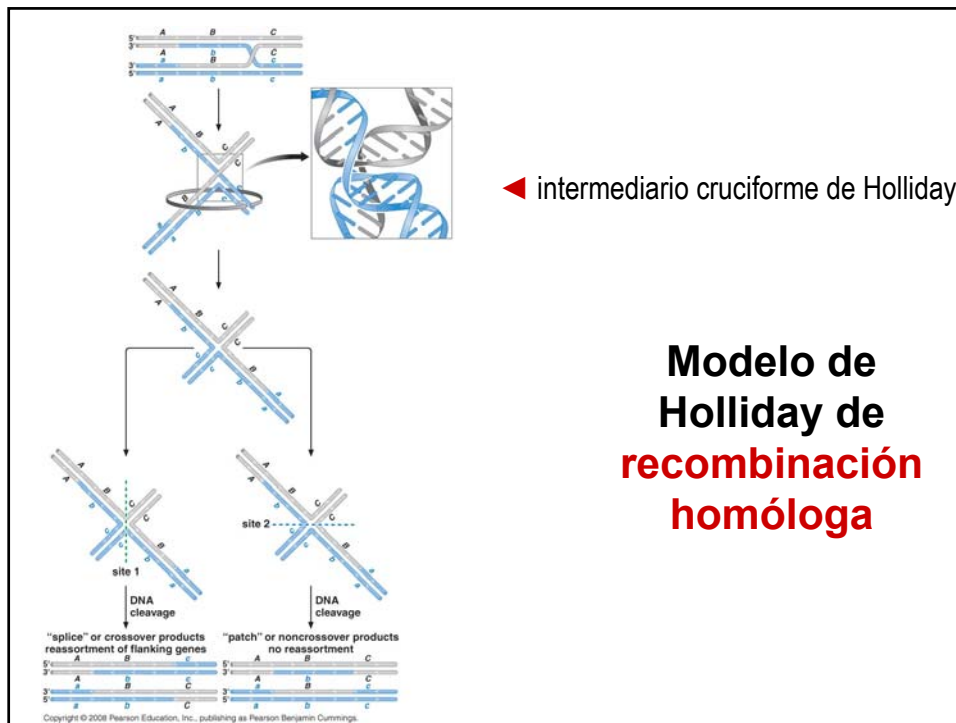
El ciclo celular es una serie ordenada de acontecimientos que conduce a la replicación de las células





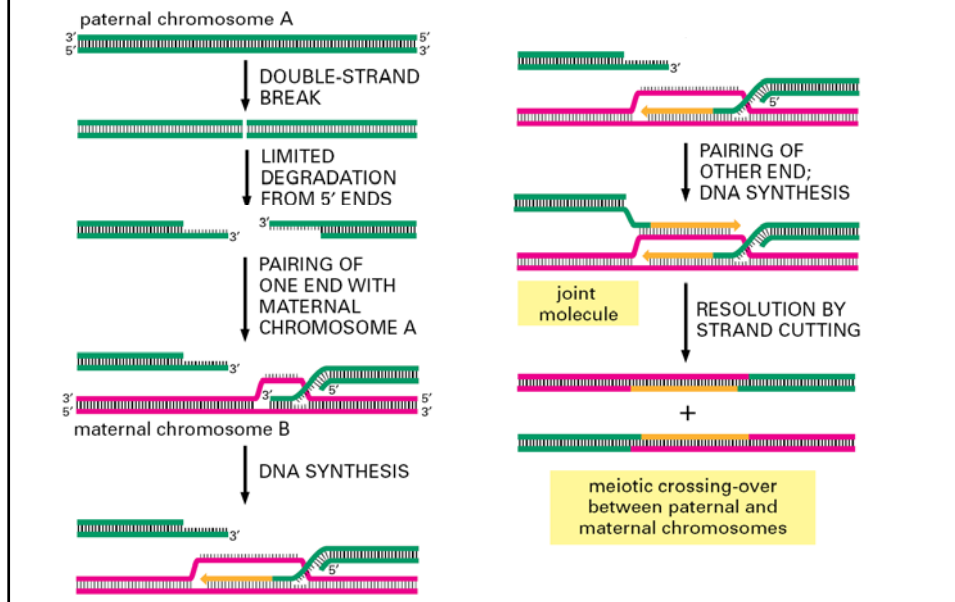






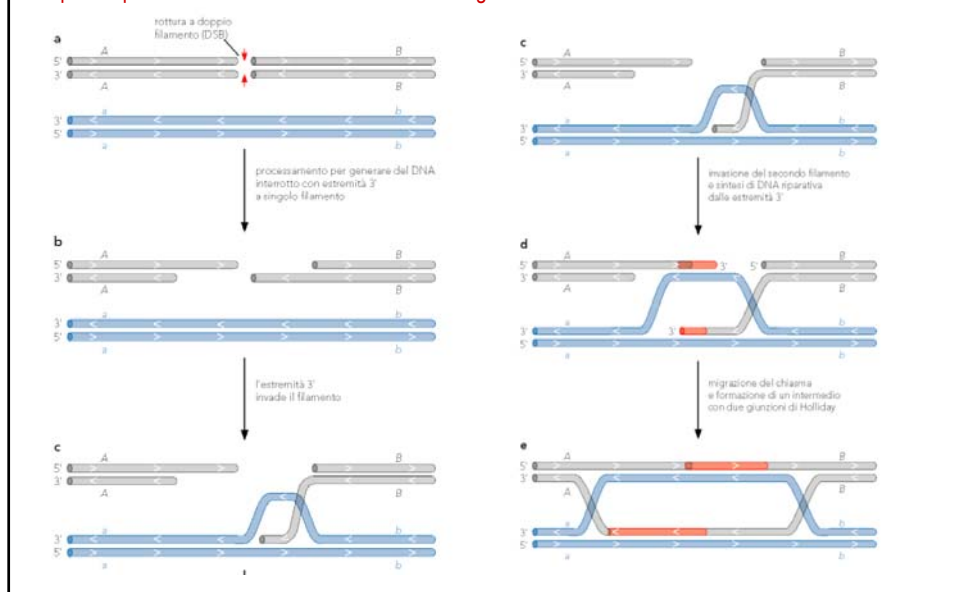
Modelo de recombinación homóloga iniciada por “*double strand break*” (DSB)

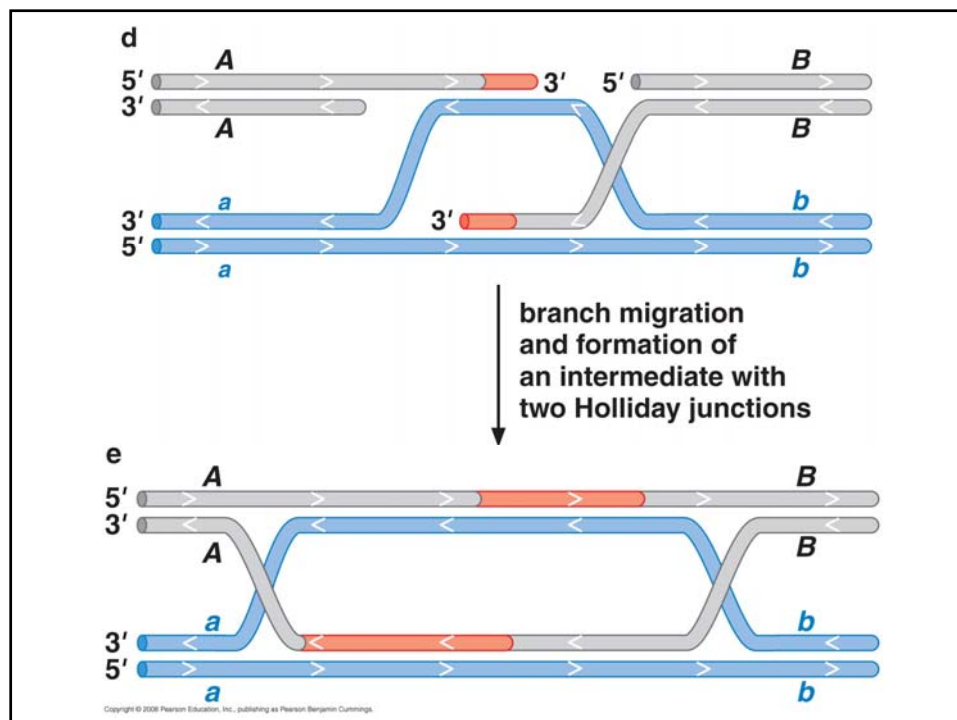
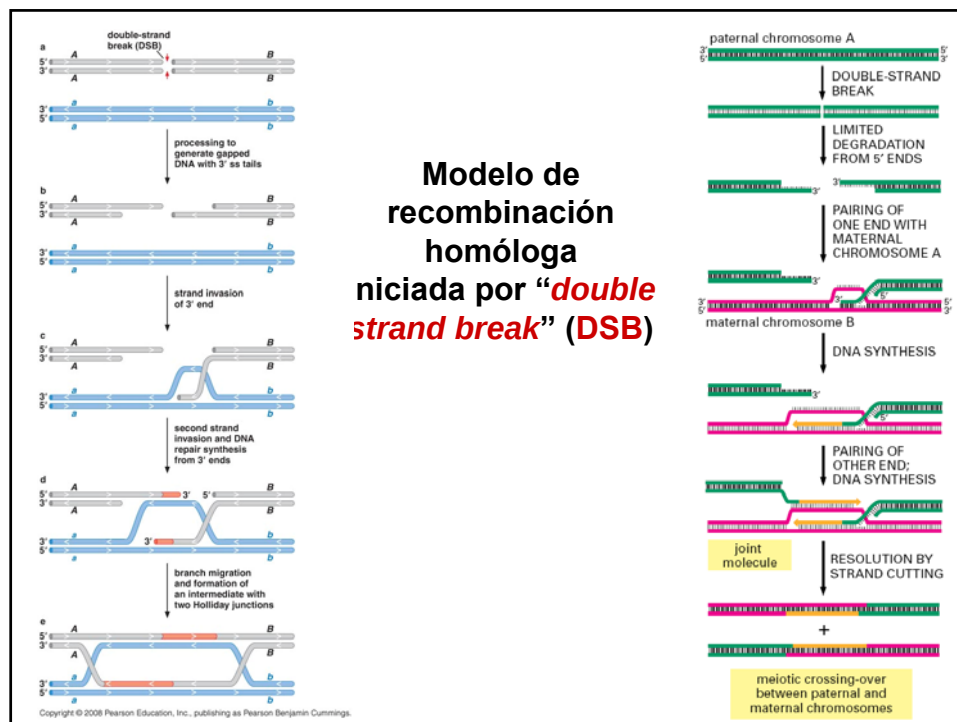
Si para reparar DSB se usa este mecanismo en lugar de NEJ se minimiza la introducción de cambios



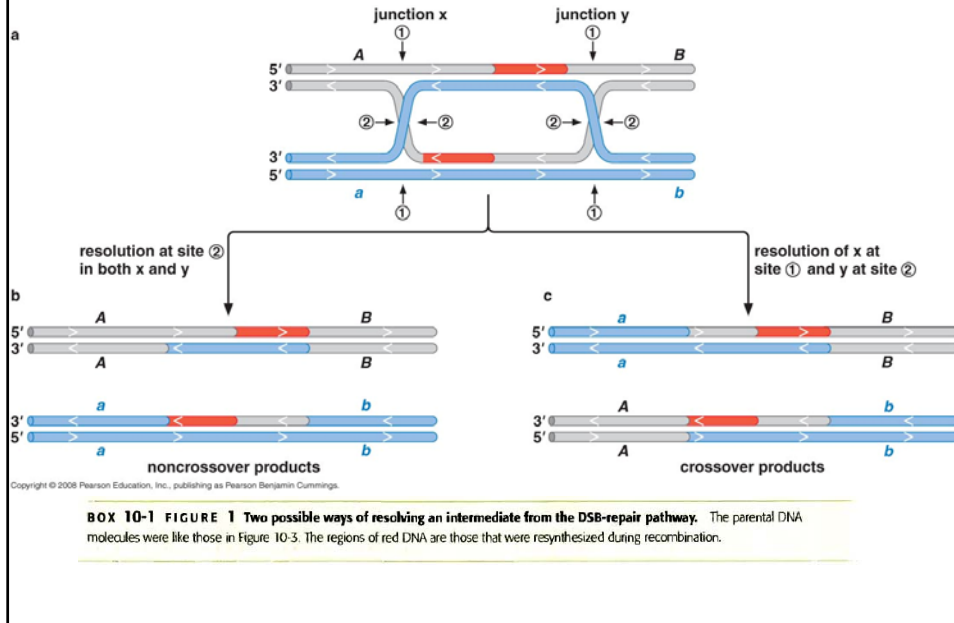
Modelo de recombinación homóloga iniciada por “*double strand break*” (DSB)

Si para reparar DSB se usa este mecanismo en lugar de NHEJ se minimiza la introducción de cambios

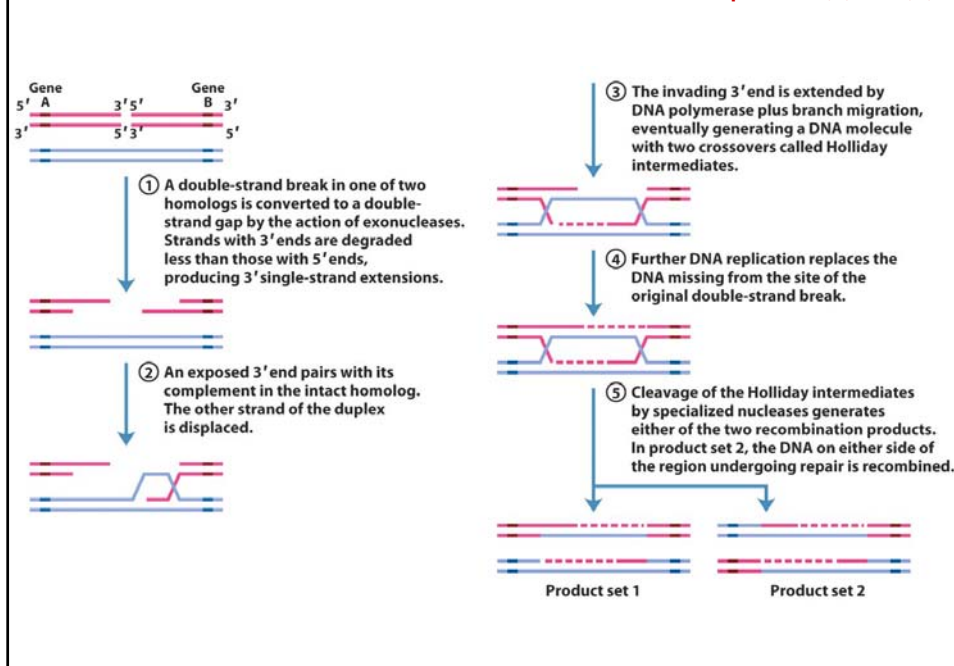


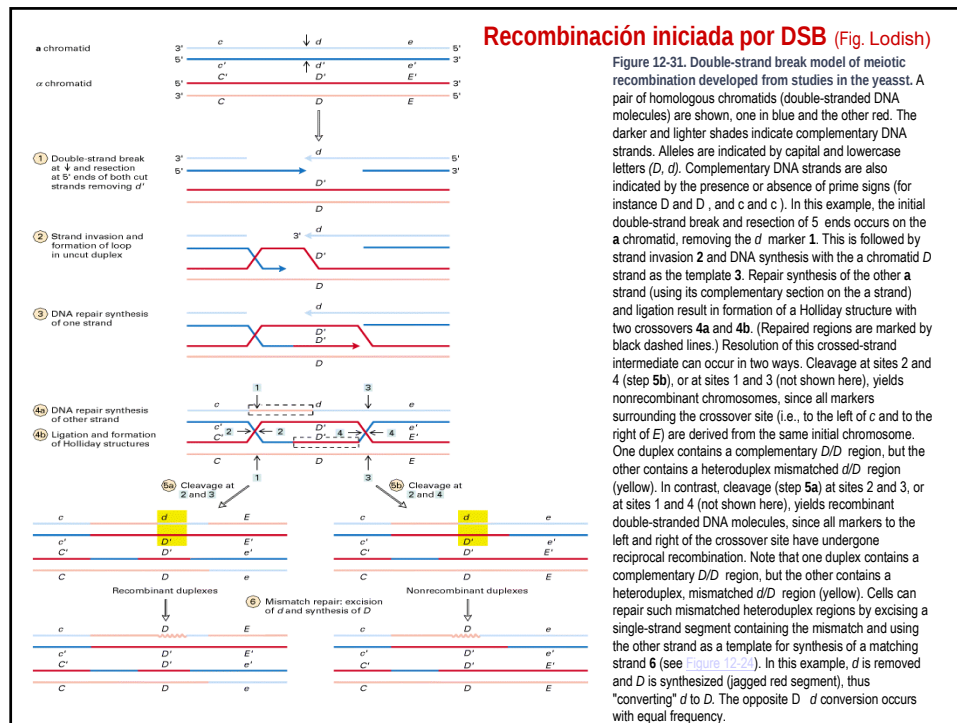


Algunos productos de resolución de los intermediarios del modelo de DSB



Recombinación iniciada por DSB (Fig. Lehninger)





Conversión génica

El fenómeno de DSB se estudió en levaduras porque los cuatro productos meióticos se pueden estudiar en la progenie haploide de esporos.

El paso 6 de la figura anterior muestra que tanto el duplex recombinante como el no recombinante poseen regiones de heteroduplex D-D'.

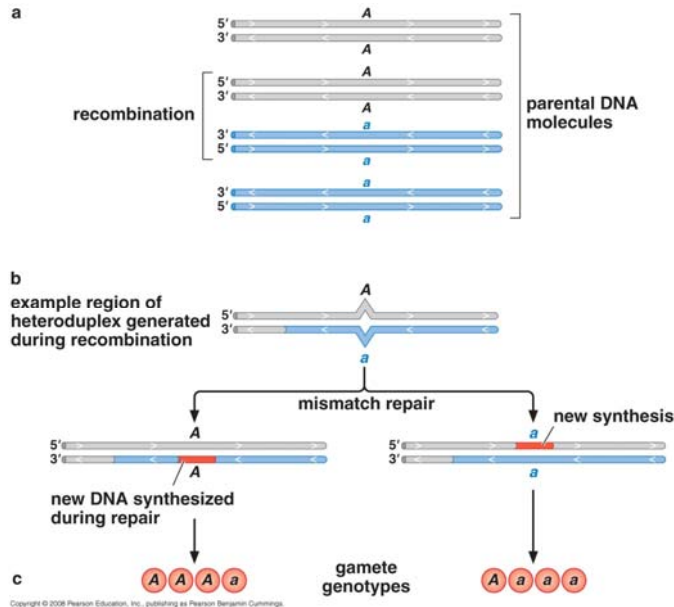
El sistema de reparación "mismatch" corregirá D la mitad del tiempo y D' la otra mitad. De esta forma, tres de los cuatro esporos haploides de las levaduras llevarán el fenotipo D y uno el D' o viceversa.

Los marcadores alélicos alejados del punto de "cross over" segregan de acuerdo al cociente 2:2 dado por la segregación independiente de Mendel.

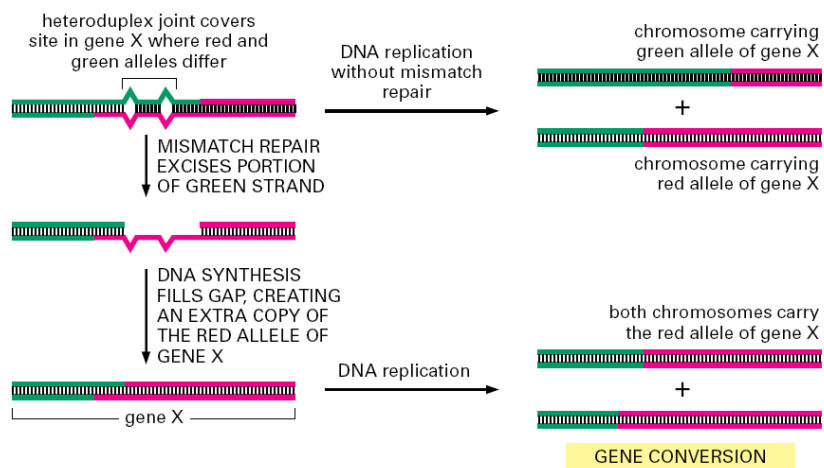
Los marcadores alélicos cerca del punto del "cross over" segregan en una relación 3:1 o 1:3.

El fenómeno se denomina **conversión génica** porque un alelo se "convierte" en otro.

Conversión génica



Conversión génica



El fenómeno de DSB se estudió en levaduras porque los cuatro productos meióticos se pueden estudiar en la progenie haploide de esporos.

El paso 6 de la figura anterior muestra que tanto el duplex recombinante como el no recombinante poseen regiones de heteroduplex D-D'.

El sistema de reparación "mismatch" corregirá D la mitad del tiempo y D' la otra mitad. De esta forma, tres de los cuatro esporos haploides de las levaduras llevarán el fenotipo D y uno el D' o viceversa.

Los marcadores alélicos alejados del punto de "cross over" segregan de acuerdo al cociente 2:2 dado por la segregación independiente de Mendel.

Los marcadores alélicos cerca del punto del "cross over" segregan en una relación 3:1 o 1:3.

El fenómeno se denomina **conversión génica** porque un alelo se "convierte" en otro.

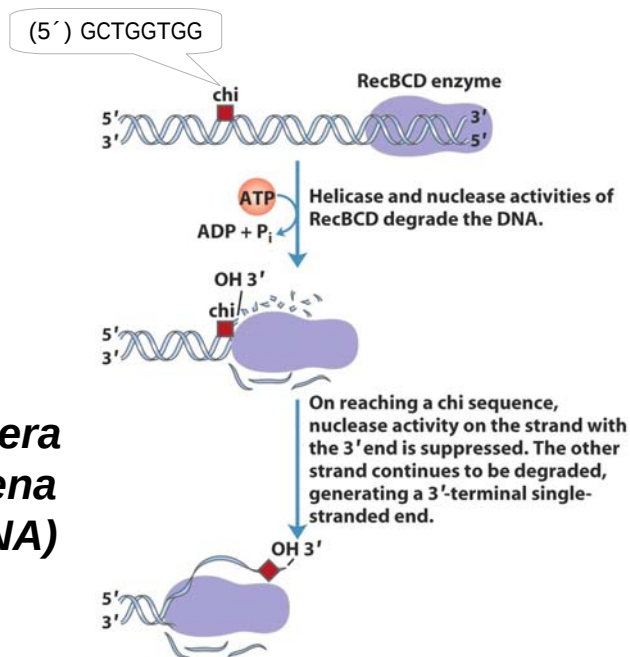
Las proteínas que catalizan la RH

TABLE 10-1 Prokaryotic and Eukaryotic Factors That Catalyze Recombination Steps

Recombination Step	<i>E. coli</i> Protein Catalyst	Eukaryotic Protein Catalyst
Pairing homologous DNAs and strand invasion	RecA protein	Rad51 Dcm1 (in meiosis)
Introduction of DSB	None	Spo11 (in meiosis) HO (for mating-type switching)
Processing DNA breaks to generate single strands for invasion	RecBCD helicase/nuclease	MRX protein (also called Rad50/58/60 nuclease)
Assembly of strand-exchange proteins	RecBCD and RecFOR	Rad52 and Rad59
Holliday junction recognition and branch migration	RuvAB complex	Unknown
Resolution of Holliday junctions	RuvC	Perhaps Rad51c-XRCC3 complex and others

Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

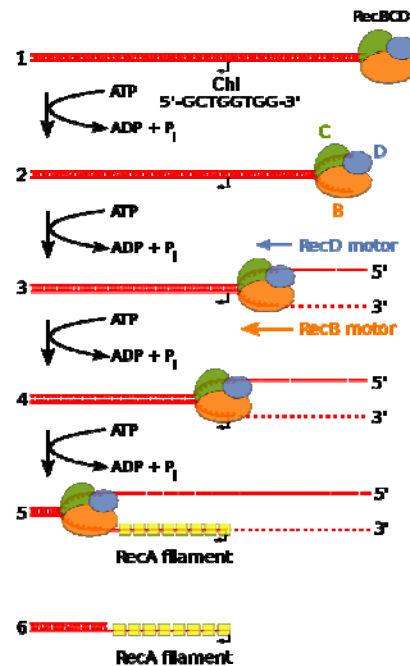
**RecBCD genera
DNA de cadena
simple (ssDNA)**



RecBCD genera DNA de cadena simple (ssDNA)

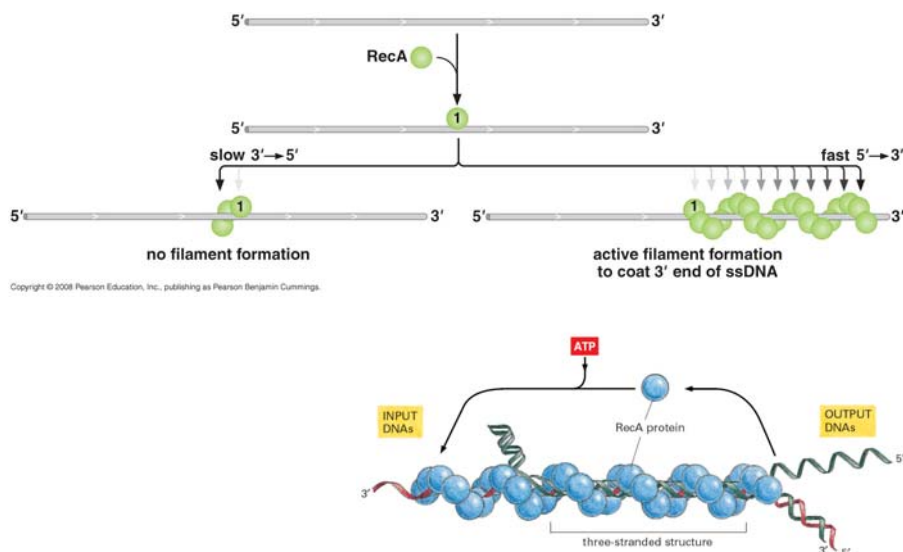
Beginning of the RecBCD pathway.

- 1: RecBCD binds to a DNA double strand break.
- 2: RecBCD initiates unwinding of the DNA duplex through ATP-dependent helicase activity.
- 3: RecBCD continues its unwinding and moves down the DNA duplex, cleaving the 3' strand much more frequently than the 5' strand.
- 4: RecBCD encounters a Chi sequence and stops digesting the 3' strand; cleavage of 5' is significantly increased.
- 5: RecBCD loads RecA onto the 3' strand.
- 6: RecBCD unbinds from the DNA duplex, leaving a RecA nucleoprotein filament on the 3' tail.

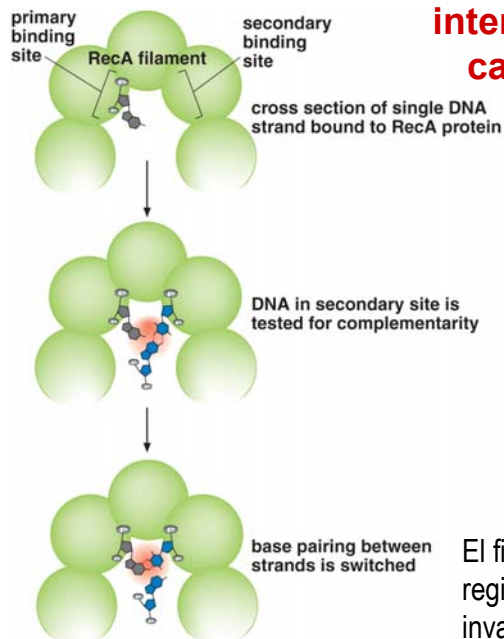
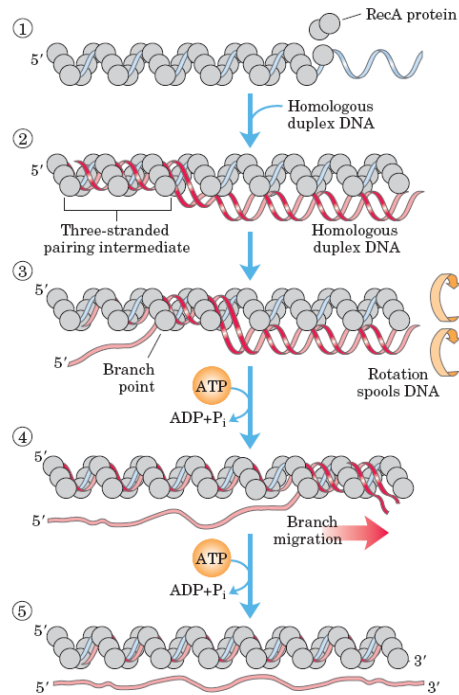
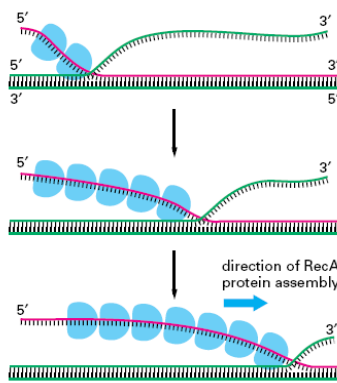


RecA se une al ssDNA

RecA se une al ssDNA



RecA se une al ssDNA y cataliza la invasión de cadenas



intercambio de cadenas catalizado por RecA

FIGURE 10-10 Model of two steps in the search for homology and DNA strand exchange within the RecA filament. Here the RecA filament is represented from a top down view as in Figure 10-8c. The incoming DNA duplex is shown in blue. (Source: Adapted from Howard-Flanders et al. 1984. *Nature* 309: 215–220. Copyright © 1984 Nature Publishing Group. Used with permission.)

El filamento formado por RecA busca regiones de homología e inicia la invasión e intercambio de cadenas

sustratos de RecA ensayos *in vitro*

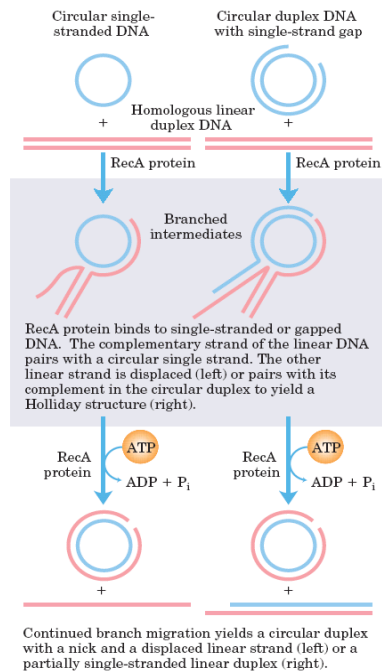
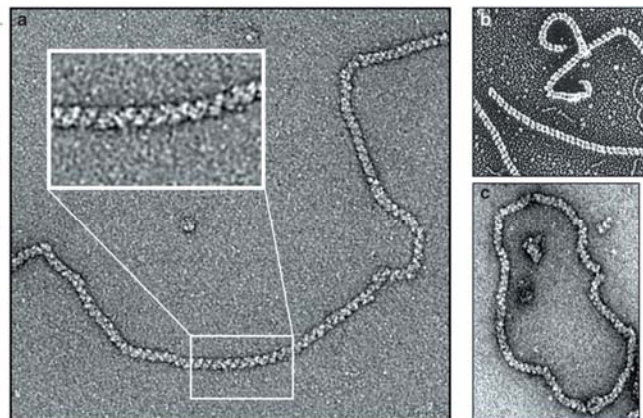
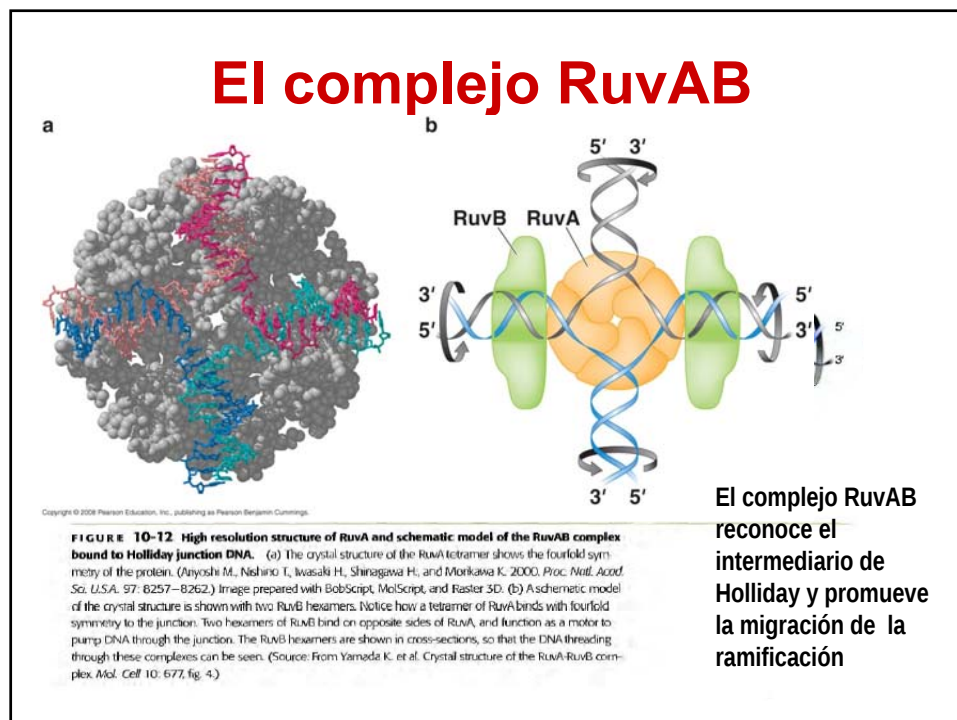
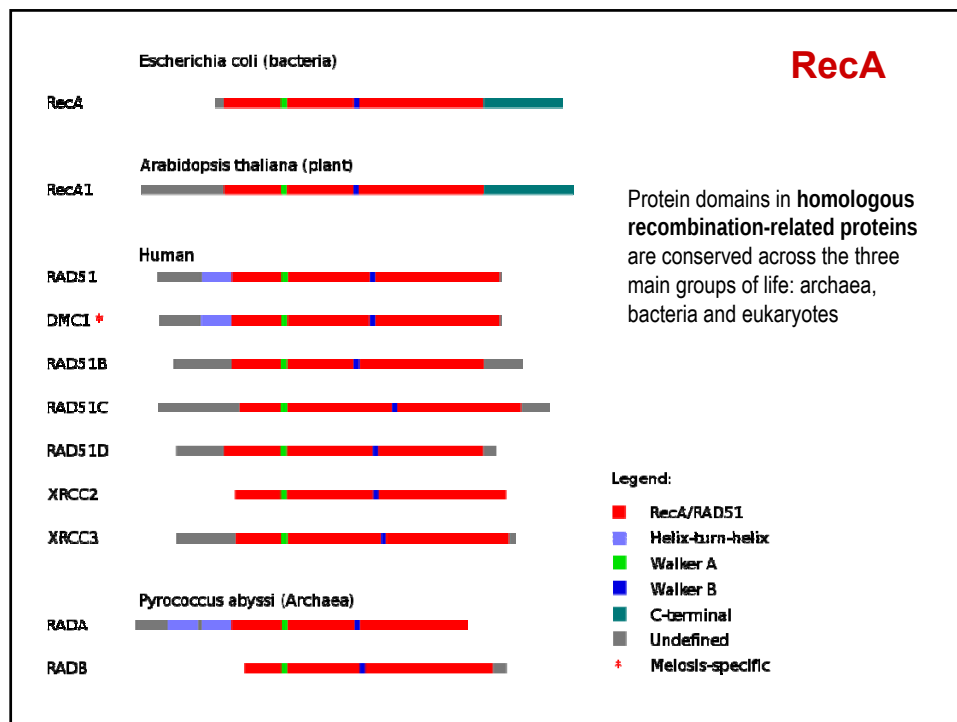


FIGURE 25-35 DNA strand-exchange reactions promoted by RecA protein *in vitro*. Strand exchange involves the separation of one strand of a duplex DNA from its complement and transfer of the strand to an alternative complementary strand to form a new duplex (heteroduplex) DNA. The transfer forms a branched intermediate. Formation of the final product depends on branch migration, which is facilitated by RecA. The reaction can involve three strands (left) or a reciprocal exchange between two homologous duplexes—four strands in all (right). When four strands are involved, the branched intermediate that results is a Holliday intermediate. RecA protein promotes the branch-migration phases of these reactions, using energy derived from ATP hydrolysis.

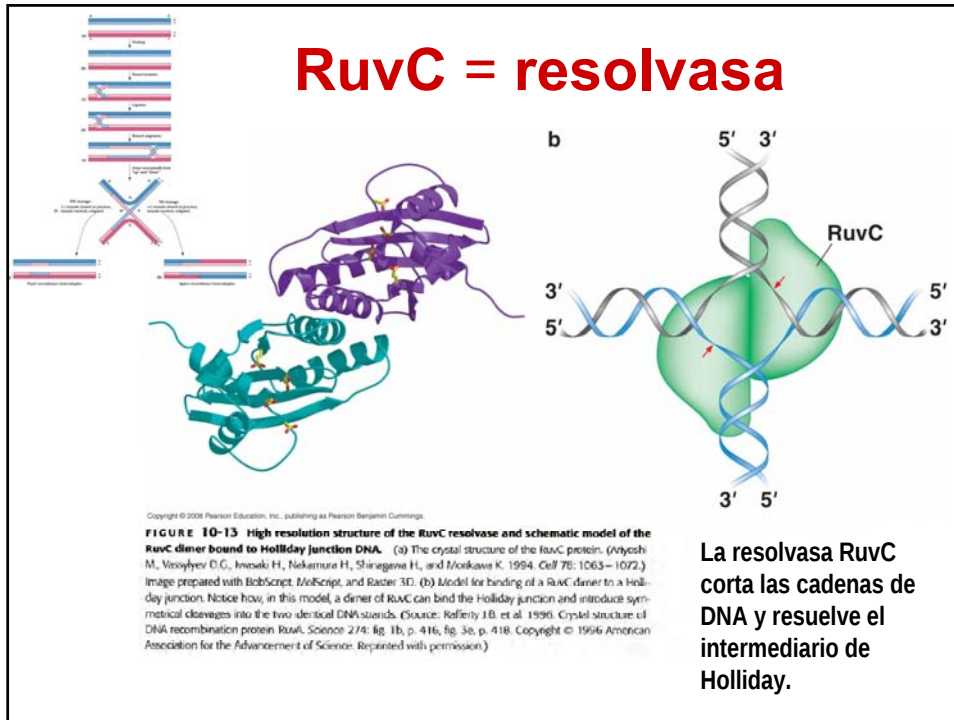
análogos de RecA

FIGURE 10-11 RecA-like proteins in three branches of life. Nucleoprotein filaments are shown for (a) human Rad51, (b) *E. coli* RecA, and (c) *A. fulgidus* RadA proteins. The Rad51 and RecA proteins are also shown in Figure 10-8. Notice the similar helical structure of the filaments revealed by the stripes in these EM images. (Source: West S.C. et al. *Nature Reviews in Molecular and Cell Biology* 4: 1–12. Images provided by A. Stasiak, University of Lausanne, Switzerland.)





RuvC = resolvasa



La recombinación homóloga es un mecanismo de reparación en procariotas.

En eucariotas también funciona la reparación de DSB.

