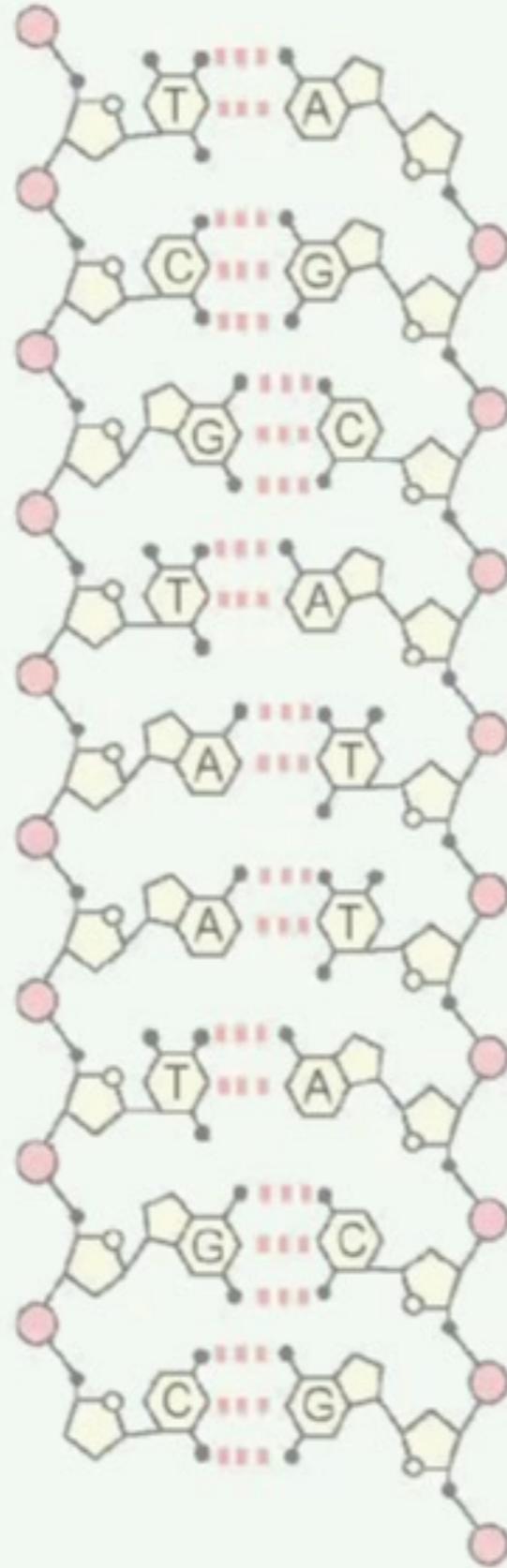
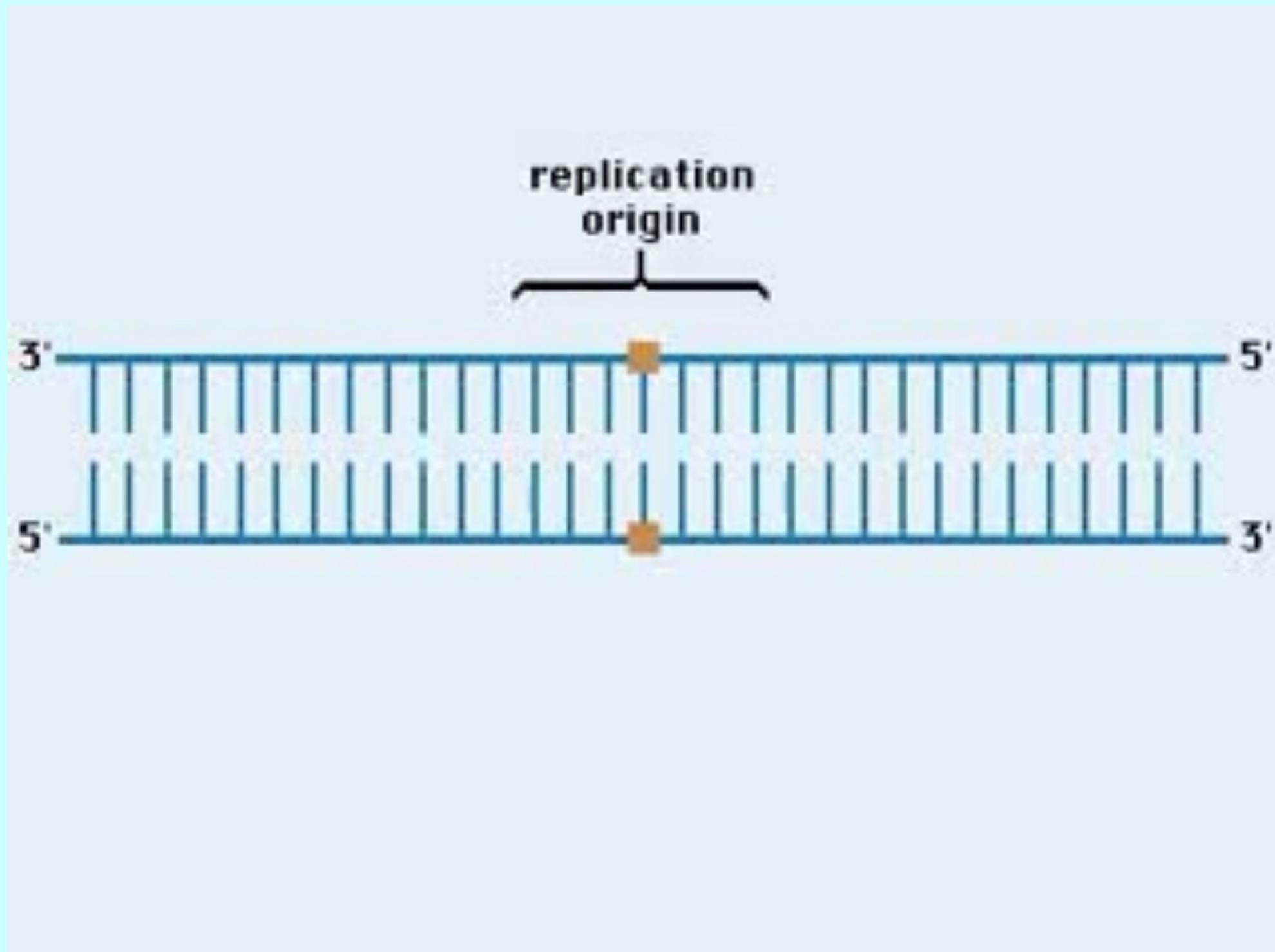


La replicación del DNA es semiconservativa



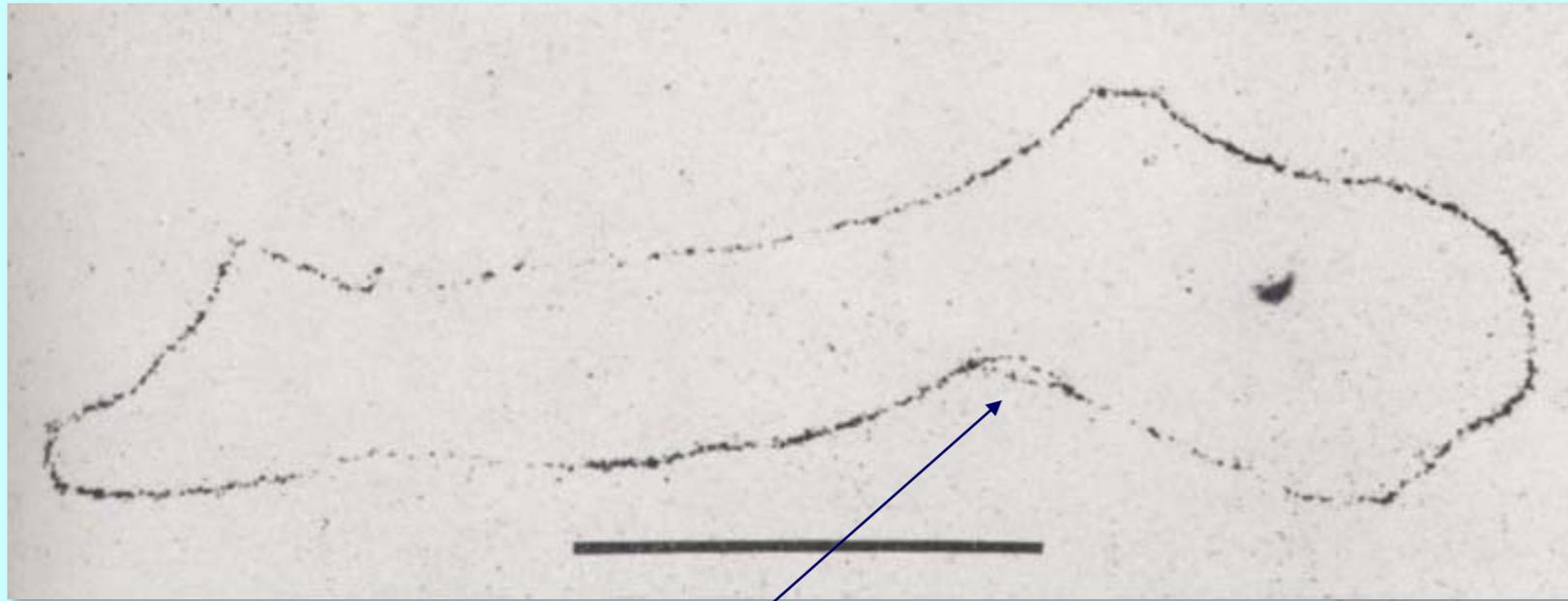
Para la síntesis de DNA hacen falta iniciadores de RNA (primers). Una de las hebras se sintetiza de forma continua y la otra de forma discontinua (fragmentos de Okazaki)



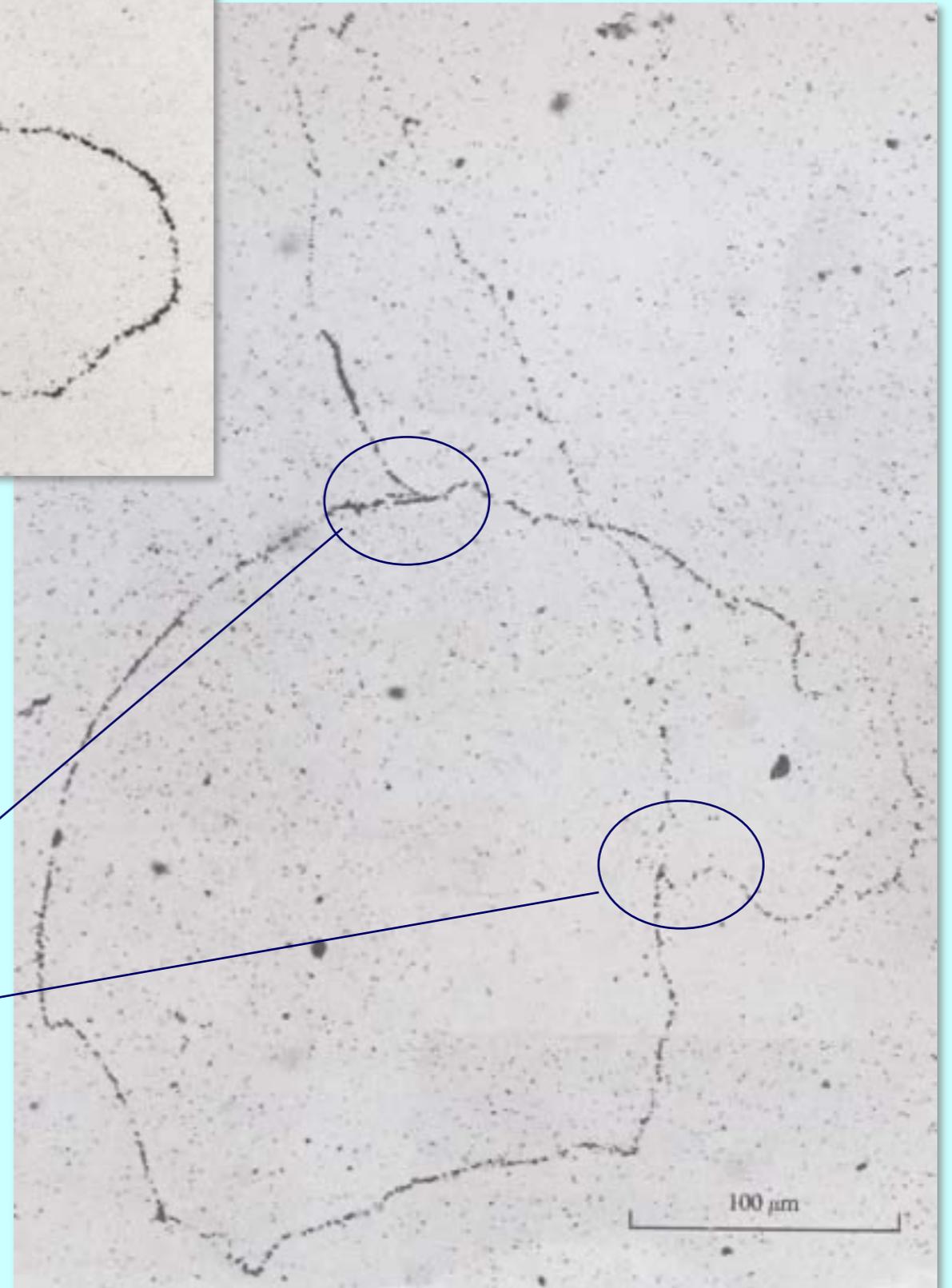
Problema con los cromosomas lineales:



Los cromosomas bacterianos tienen un solo punto de iniciación de la síntesis de DNA



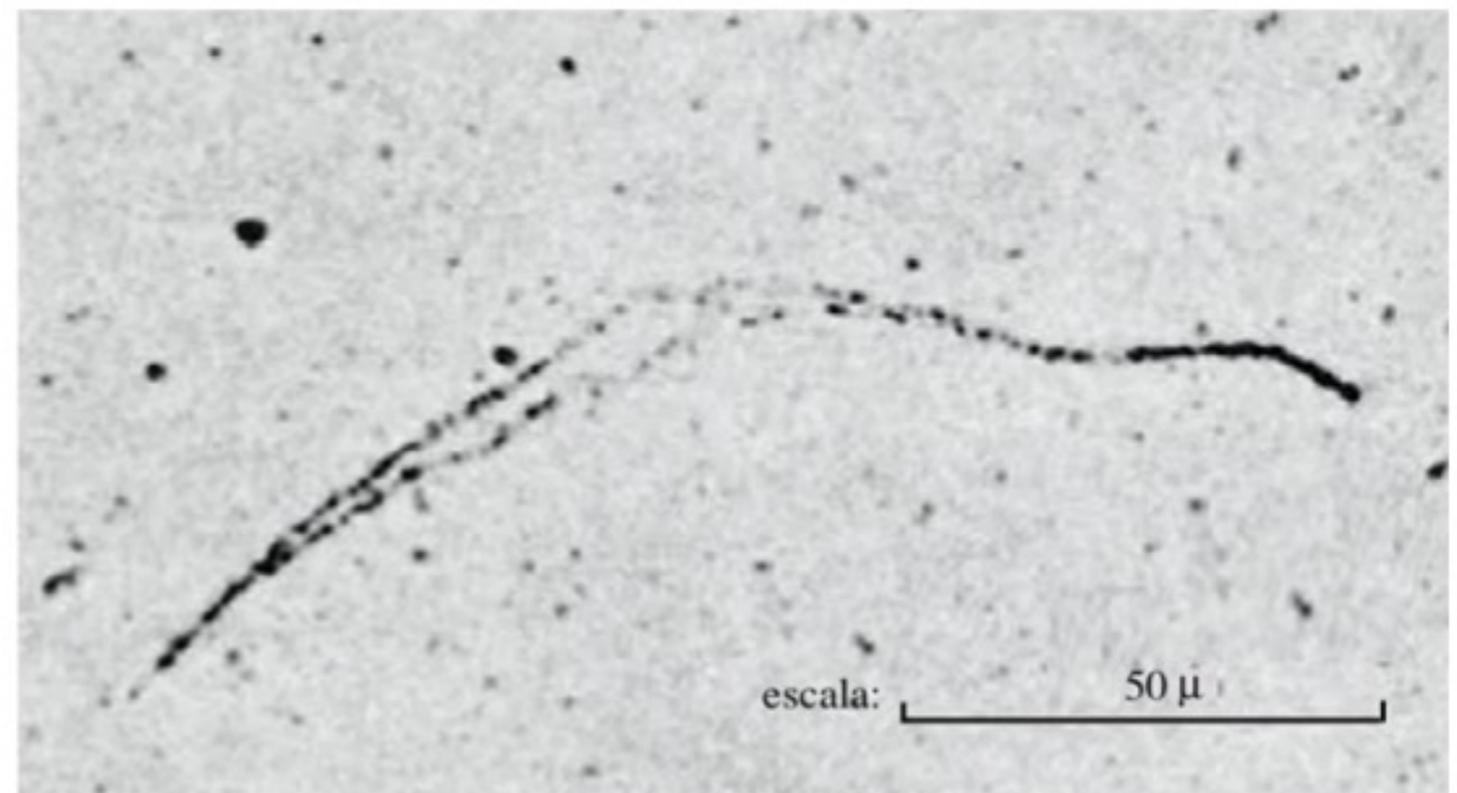
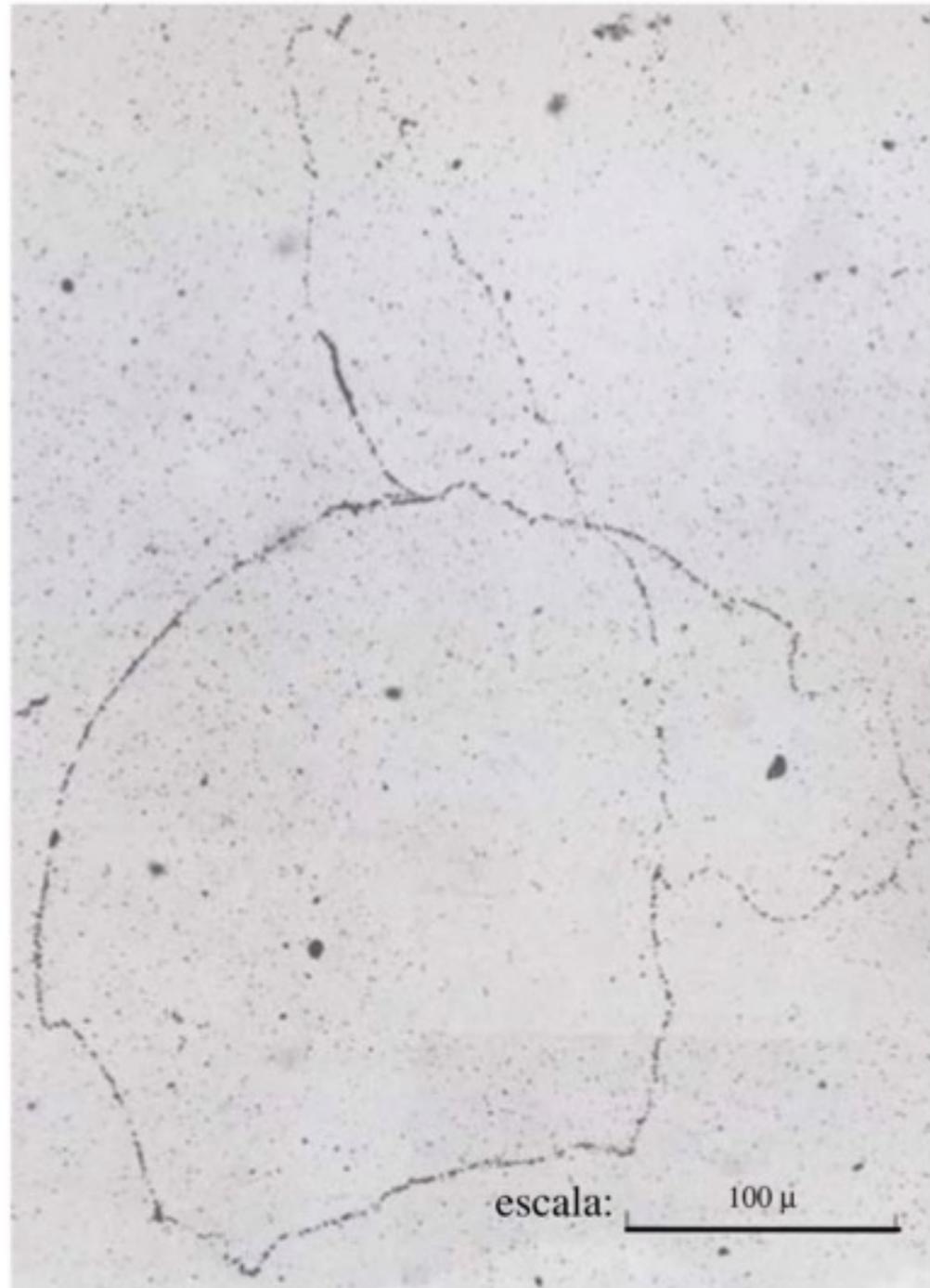
Iniciación de la síntesis de DNA

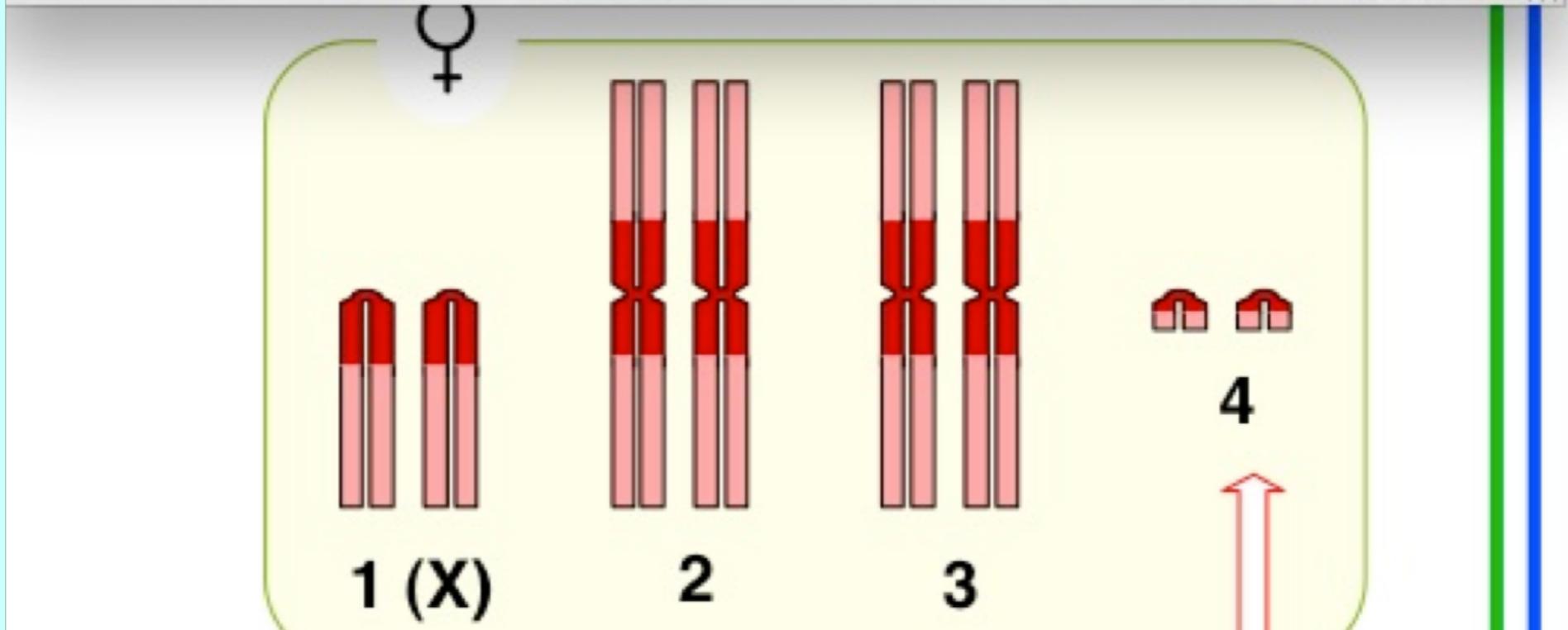
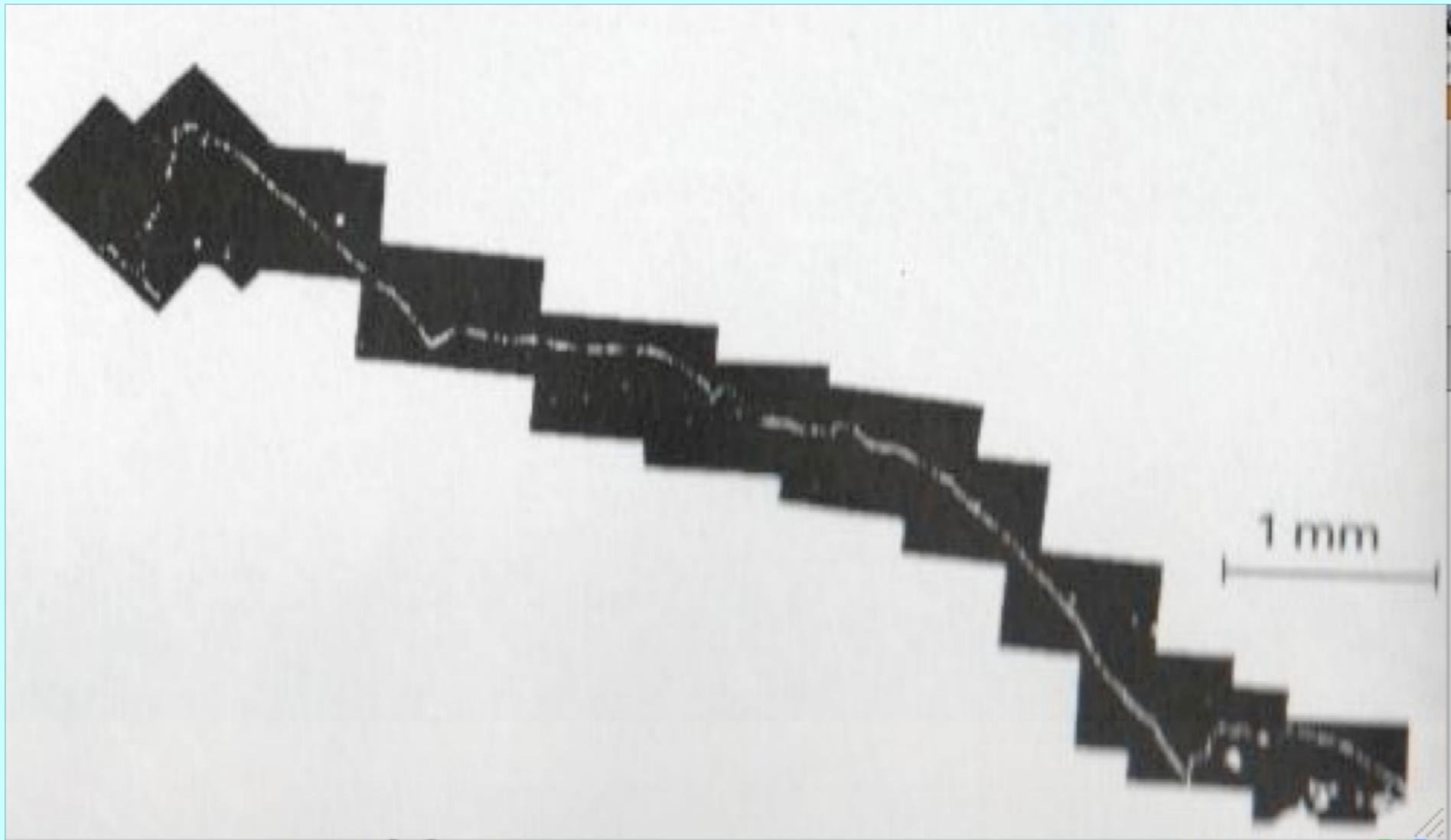


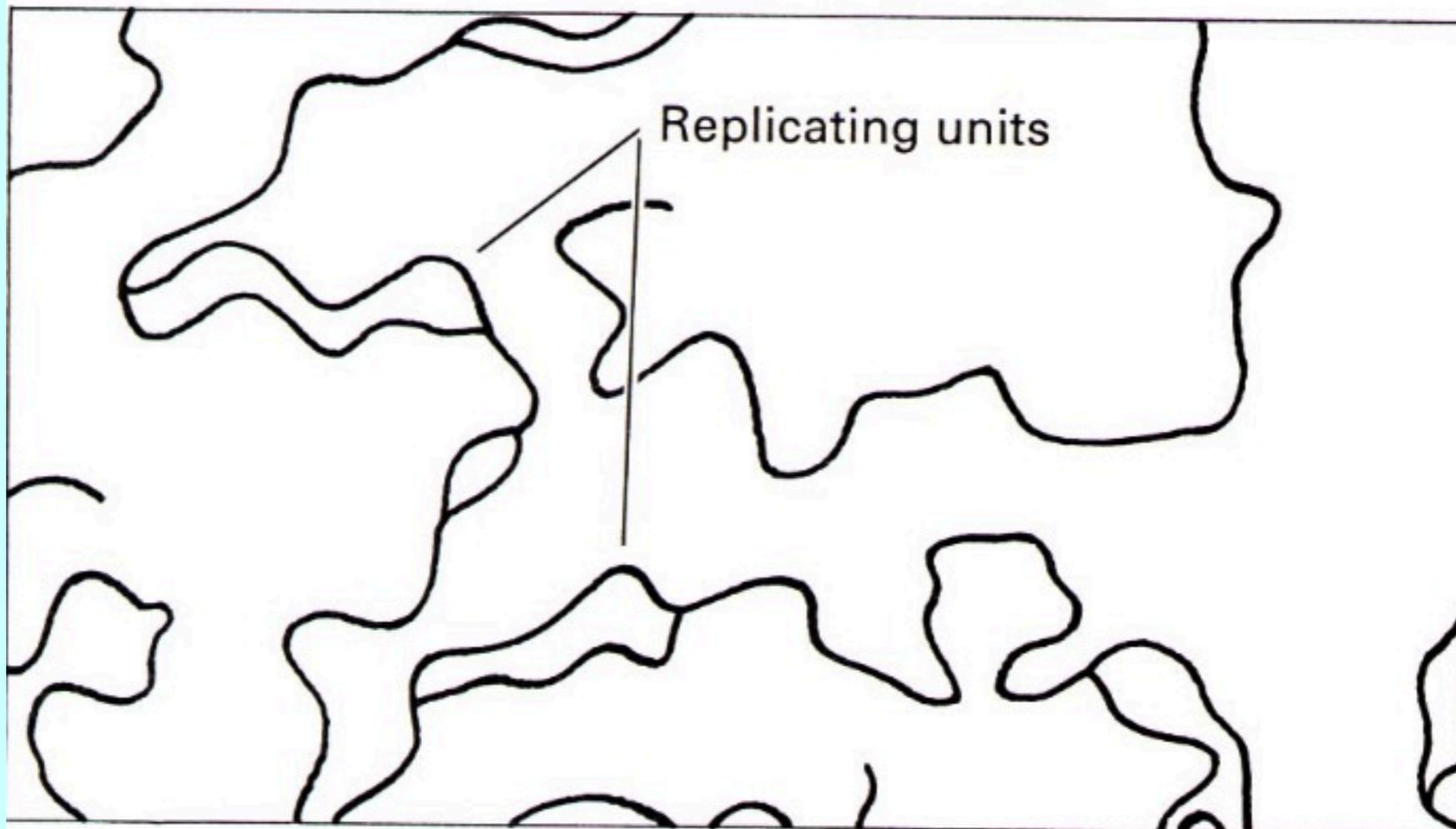
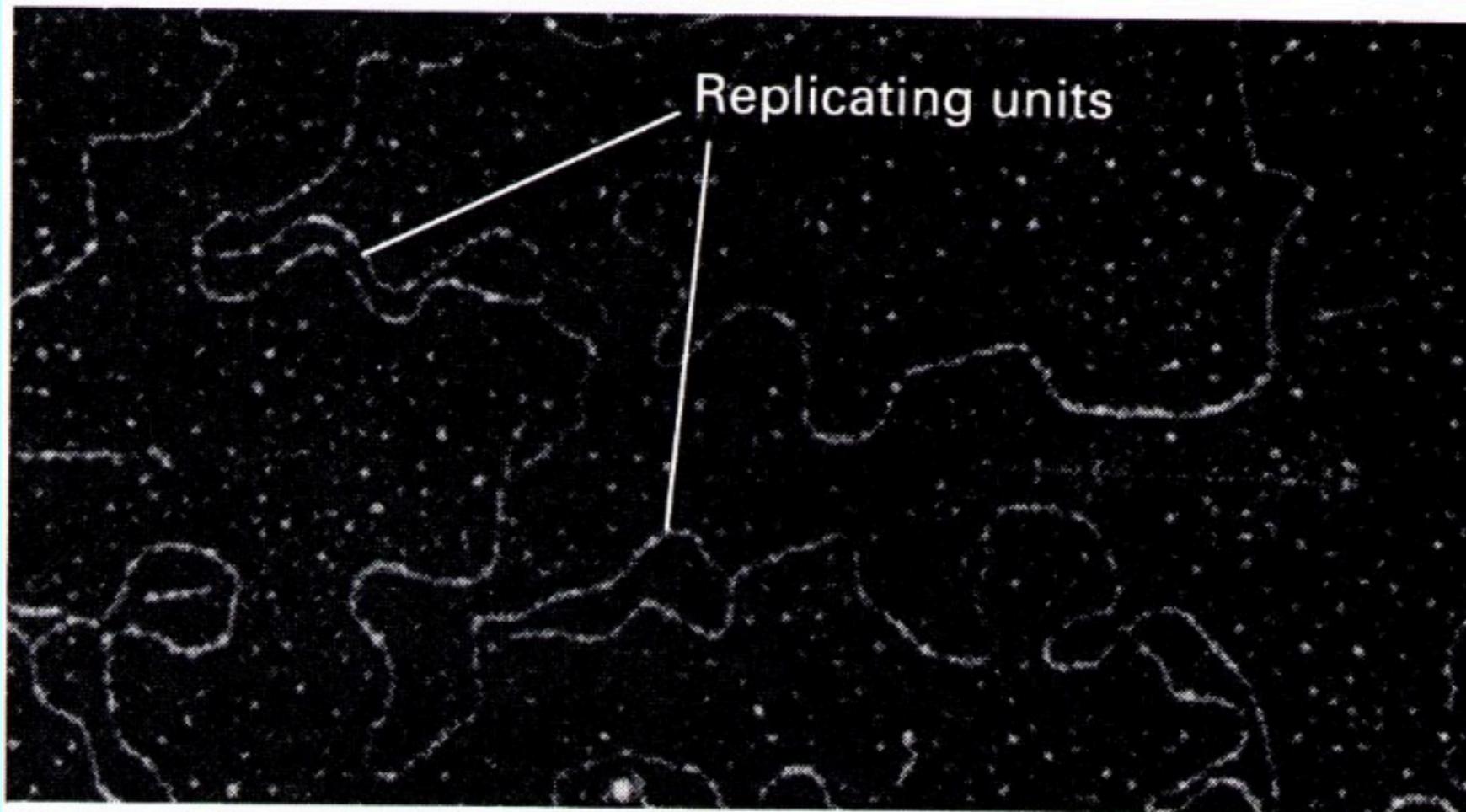
Horquillas de replicación

4/4- La fotografía de la izquierda muestra el resultado obtenido por autorradiografía a partir de un cultivo de *E. coli* en crecimiento que fue mantenido en presencia de timidina marcada radioactivamente durante las dos horas previas a la extracción de ADN. La timidina se incorpora al ADN de nueva síntesis si está disponible en el medio de cultivo. La fotografía de la derecha muestra el resultado obtenido por autorradiografía inmediatamente después de la incubación durante

10 minutos con timidina de baja radioactividad y, a continuación, una incubación durante 2.5 minutos con timidina de alta radioactividad. Esta última deja señales más intensas que la primera. La extracción de ADN se realizó en los dos casos de forma cuidadosa directamente sobre los portaobjetos en los que se realiza la observación, para evitar la rotura de los cromosomas bacterianos. El tiempo medio de replicación del cromosoma es de unos 40 minutos en las condiciones de este experimento. Interprete las dos autorradiografías y saque conclusiones razonadas sobre el modo de replicación del cromosoma de *E. coli*. **(2 puntos)**



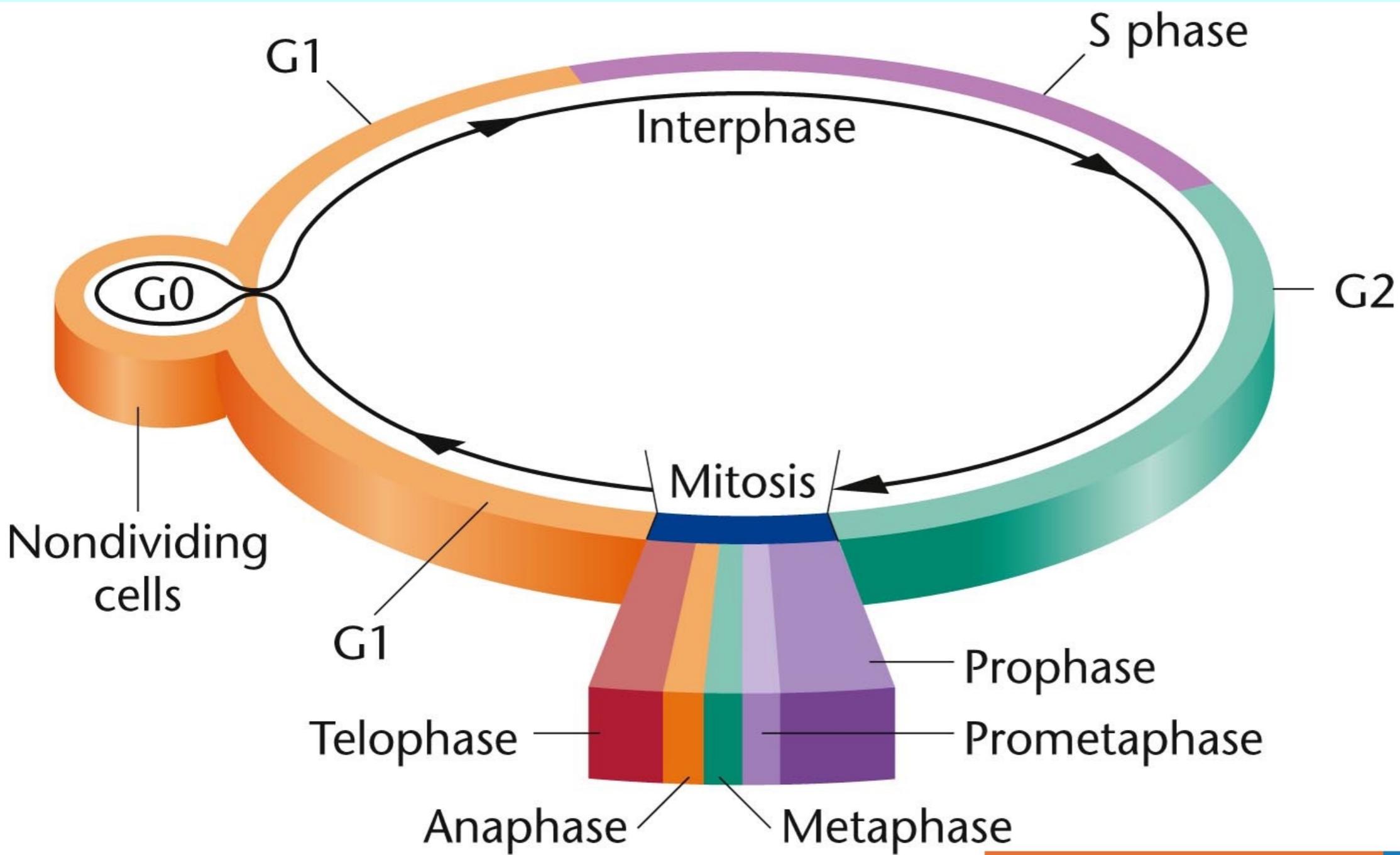




Replicación del cromosoma.



**Chromosomal
DNA**



© 2012 Pearson Education, Inc.

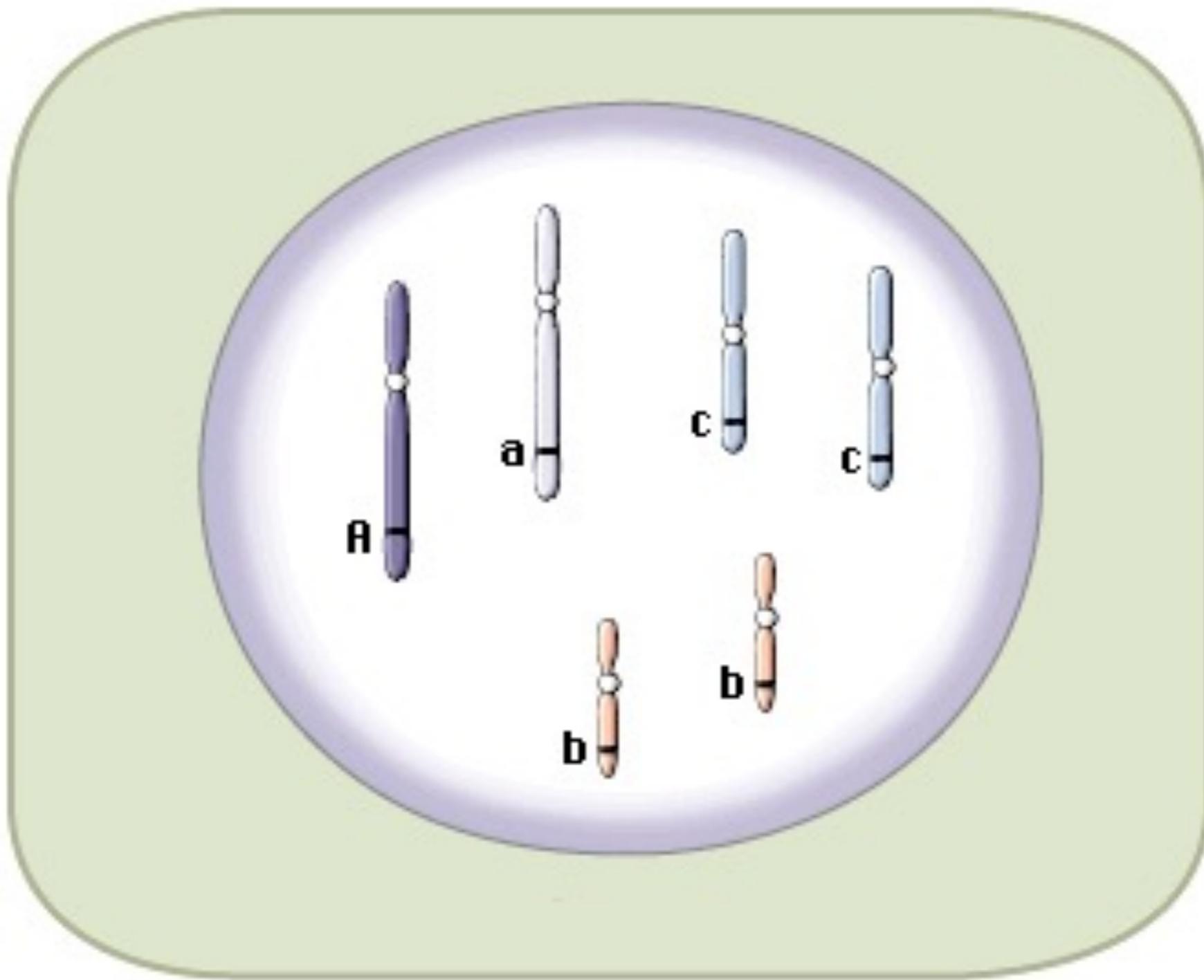
Interphase			Mitosis
G1	S	G2	M
5	7	3	1

Hours

Pro	Met	Ana	Tel
36	3	3	18

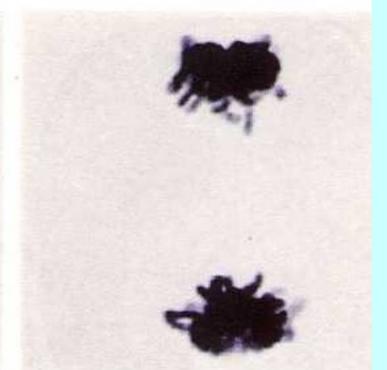
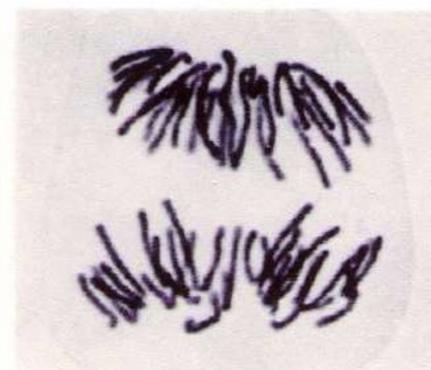
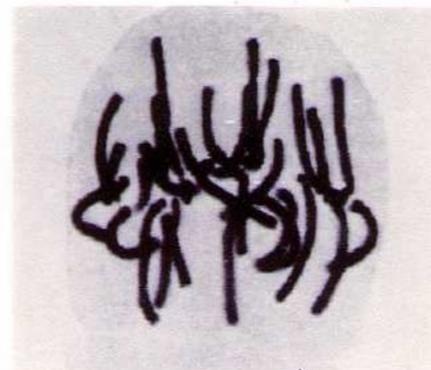
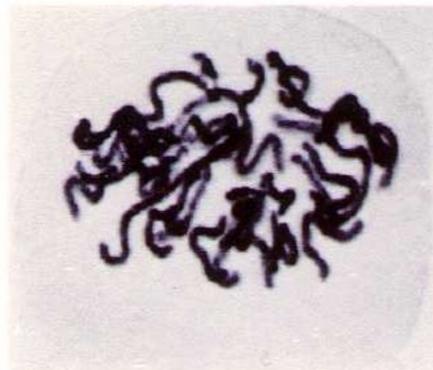
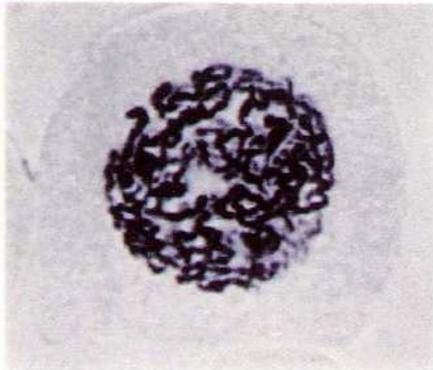
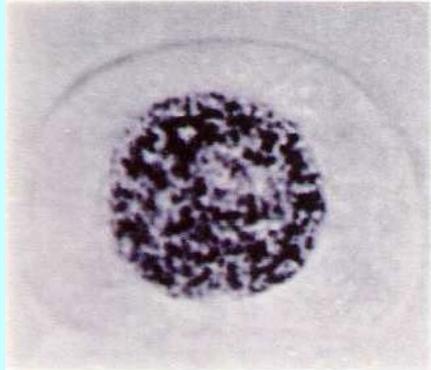
Minutes

© 2012 Pearson Education, Inc.



A/a ; b/b ; c/c

Mitosis



Profase

Metafase

Anafase

Telofase

4.- Una población celular meristemática de una especie vegetal con $2n = 2$ cromosomas se mantiene en un medio que contiene timidina tritiada durante un periodo de síntesis. A continuación, se analizaron células en metafase mediante autorradiografía a distintos tiempos, correspondientes a tres generaciones celulares, considerando como primera generación la metafase siguiente al periodo de síntesis en que se incorporó el isótopo.

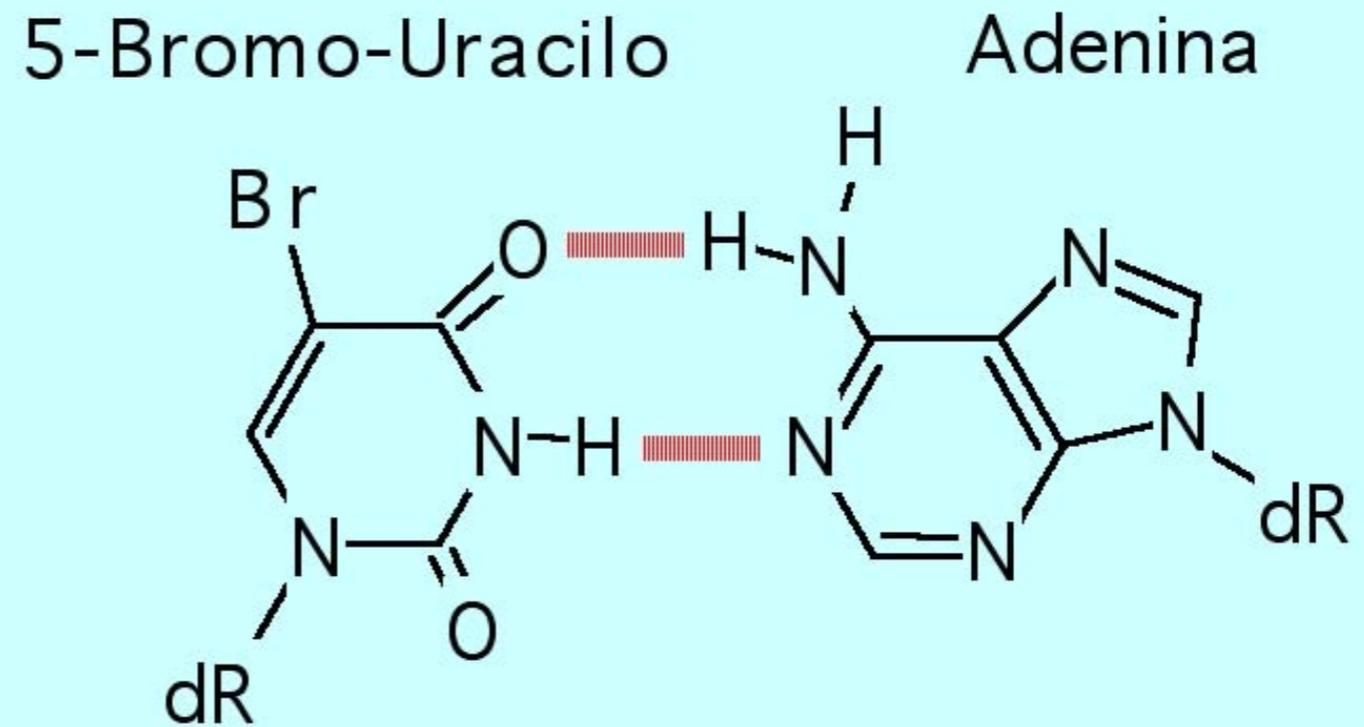
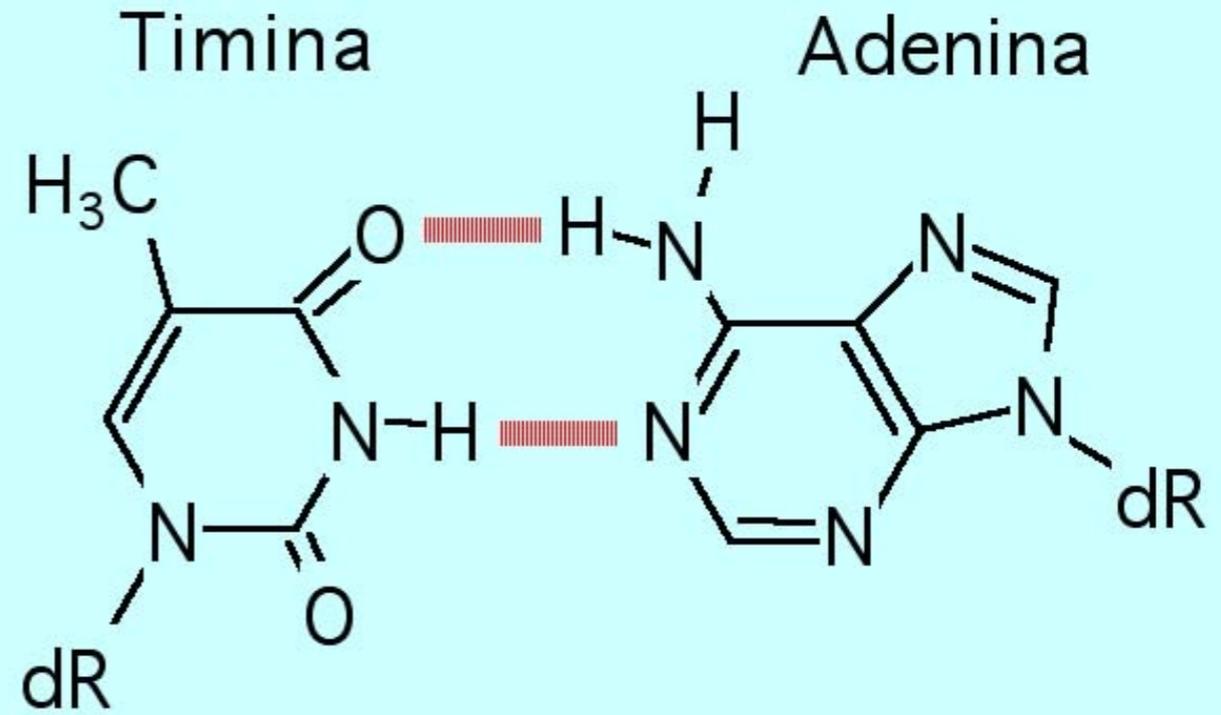
- a) ¿Qué tipo de células metafásicas y en qué proporción aparecerán en esas tres generaciones?

- b) Si la especie tiene $2n$ cromosomas, ¿qué probabilidad de aparición tendrán las células con k cromosomas marcados y $2n-k$ sin marcar en la tercera metafase después de la incorporación del isótopo?

Nota: La autorradiografía revela la situación del tritio en los cromosomas. Se considera cromosoma marcado aquél que tiene tritio (marcaje) en al menos una de las cromátidas. La posibilidad de intercambios entre cromátidas hermanas no se debe tener en cuenta.

El 5-Bromo-Uracilo es un análogo de base de la Timina

Si hay 5-Bromo-desoxiuridina (5BrdU) en el medio en el que crecen células, puede incorporarse en el DNA en lugar de Timina



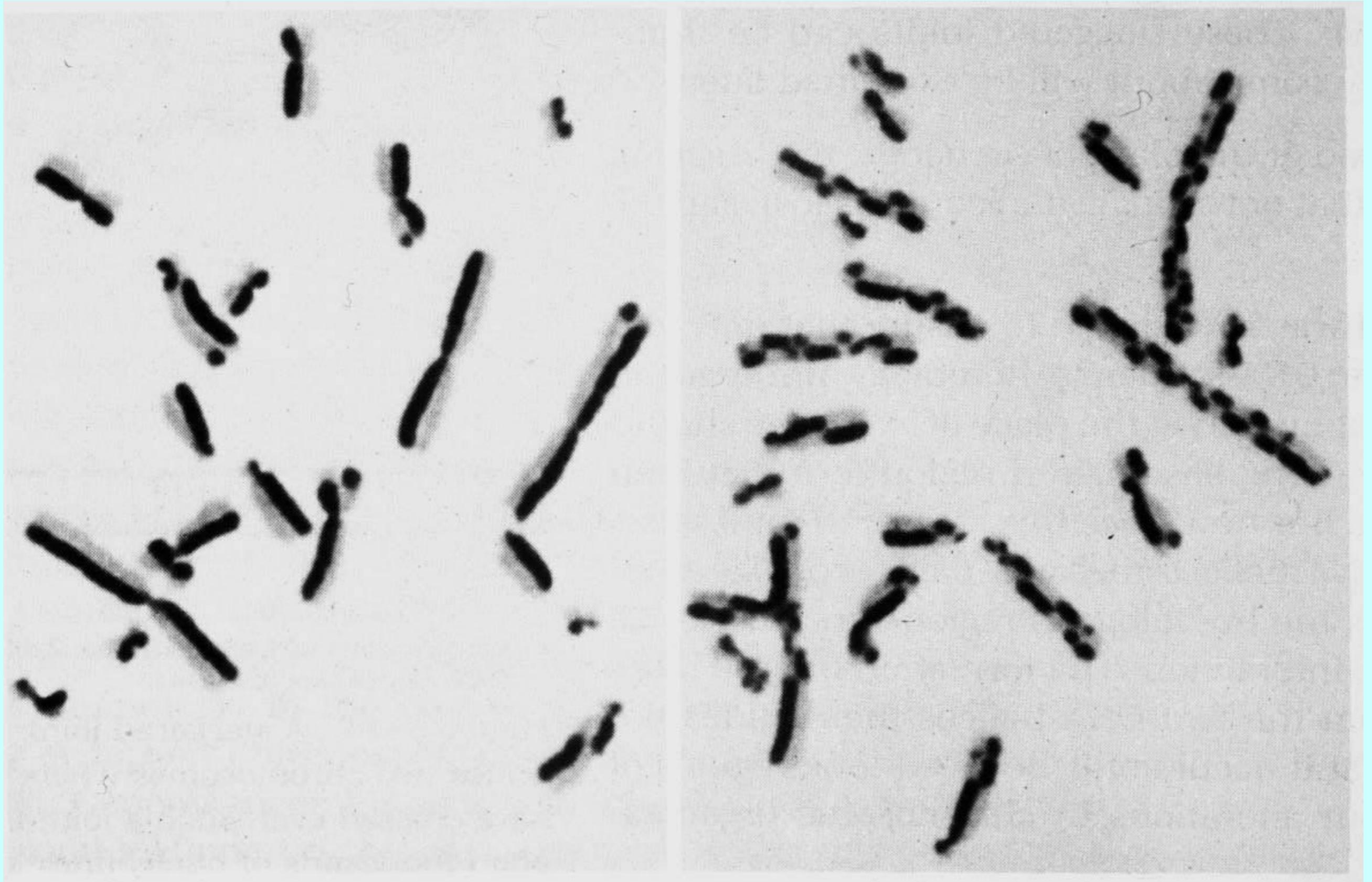


3.- Wolf y Perry hicieron crecer células de Hamster en un medio que contenía 5-Bromo-desoxiuridina (5BrdU) tritiada durante un sólo periodo de síntesis. En el siguiente periodo de síntesis las células crecieron en un medio que contenía 5BrdU no radiactivo. Posteriormente, las células en metafase que habían pasado por estos dos periodos de síntesis fueron teñidas con Giemsa. Asimismo, se hicieron autorradiografías de estas células que revelaron la situación del tritio en los cromosomas. Los resultados fueron los siguientes: las cromátidas más intensamente teñidas de los cromosomas no aparecían marcadas radiactivamente, mientras que sí aparecían marcadas las zonas menos intensamente teñidas.

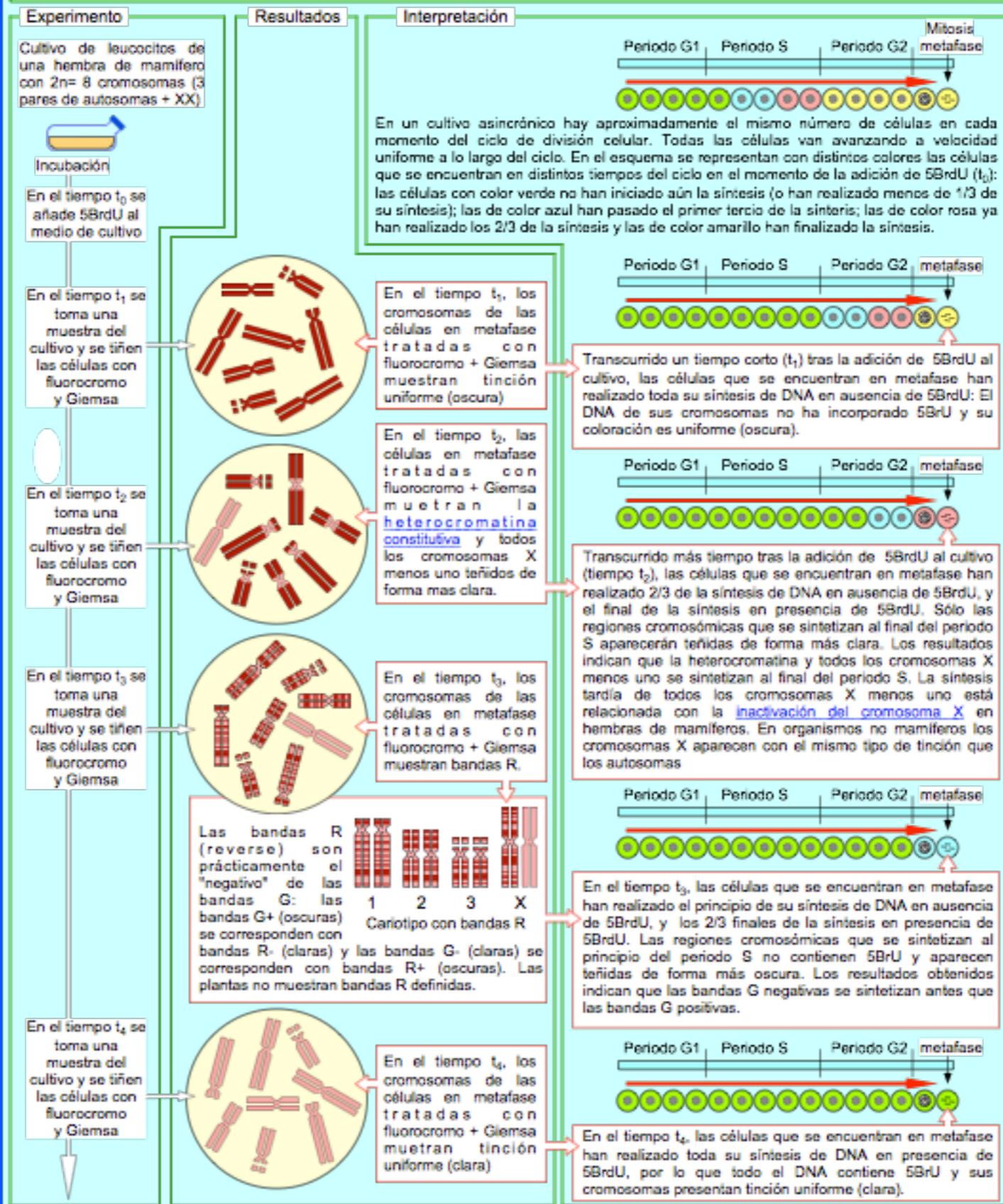
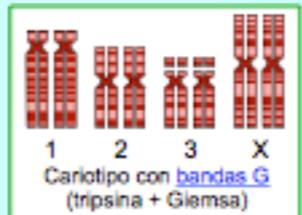
- ¿Qué indican estos resultados sobre la relación entre la intensidad de tinción y la cantidad relativa de 5BrdU en las cromátidas?



Algunas sustancias mutagénicas producen un aumento del número de intercambios entre cromátidas hermanas

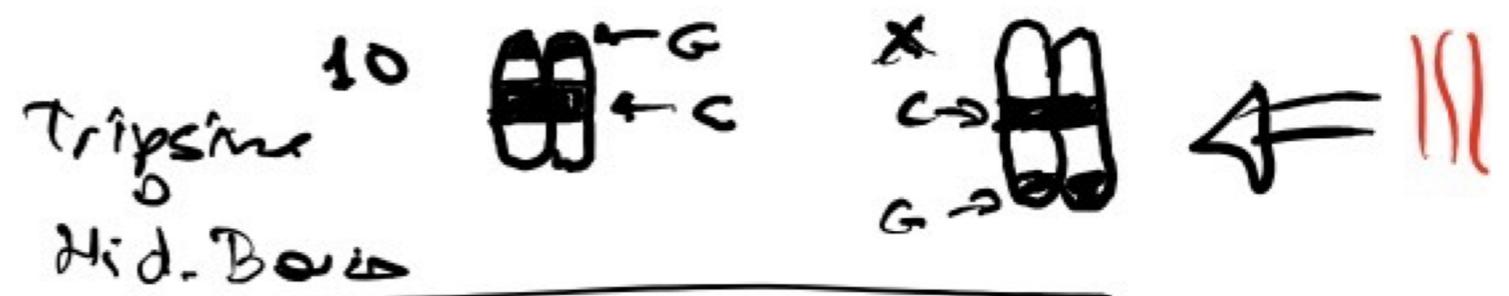
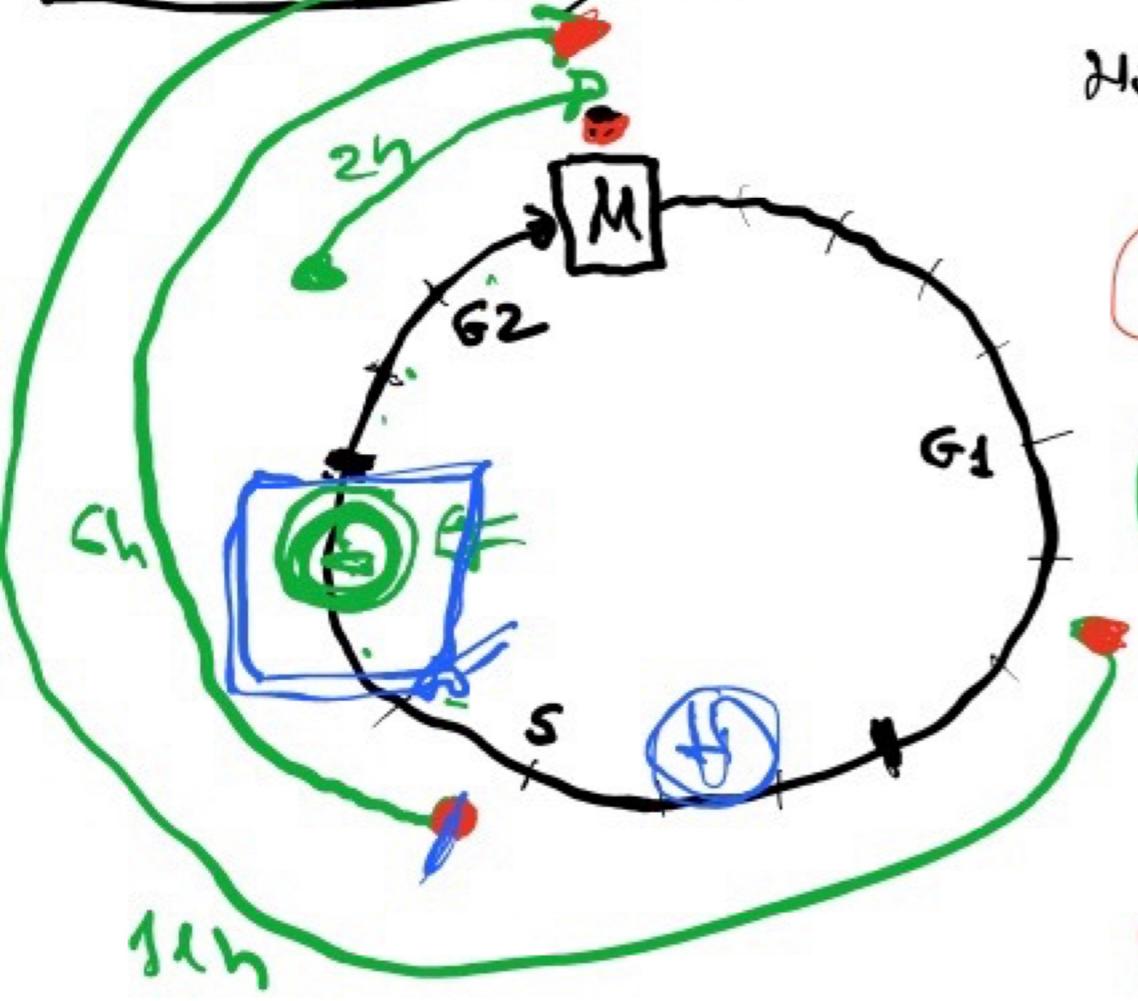


La síntesis de DNA durante el periodo S en eucariotas sigue un orden específico. El 5BrU (5-bromo uracilo) es un análogo de base de la Timina. En presencia de 5BrdU (5-bromo desoxiuridina) se incorpora 5BrU en el DNA de nueva síntesis en lugar de Timina. Usando una técnica de tinción a base de fluorocromo y Giemsa, se puede demostrar que la intensidad de tinción en los cromosomas es inversamente proporcional a la cantidad de 5BrdU presente en el DNA. El orden en el que se sintetiza el DNA a lo largo del periodo de síntesis en eucariotas (principalmente en animales) puede analizarse mediante un experimento en el que se cultivan células en presencia de 5BrdU, se toman alícuotas cada cierto tiempo y se tiñen los cromosomas de las células en metafase con la técnica indicada. En esta página se muestran esquemáticamente los resultados obtenidos en este tipo de experimentos, usando como ejemplo un mamífero hipotético con $2n=8$ cromosomas, cuyo cariotipo con bandas G se muestra a la derecha.



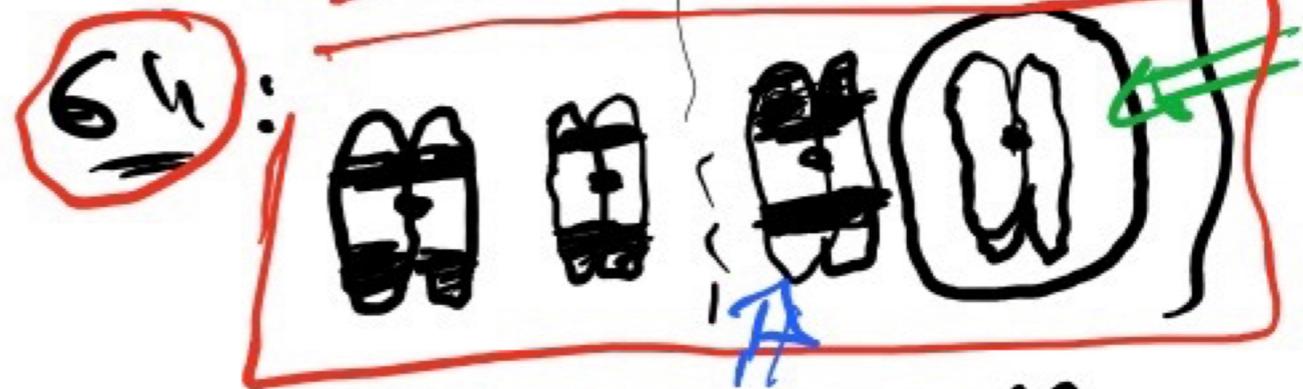
Conclusión: En el periodo S se sintetiza en primer lugar el DNA contenido en las bandas G negativas, a continuación el DNA contenido en las bandas G positivas, y por último la heterocromatina constitutiva y, en los mamíferos, todos los cromosomas X menos uno.

Δ Sincroniza - XX

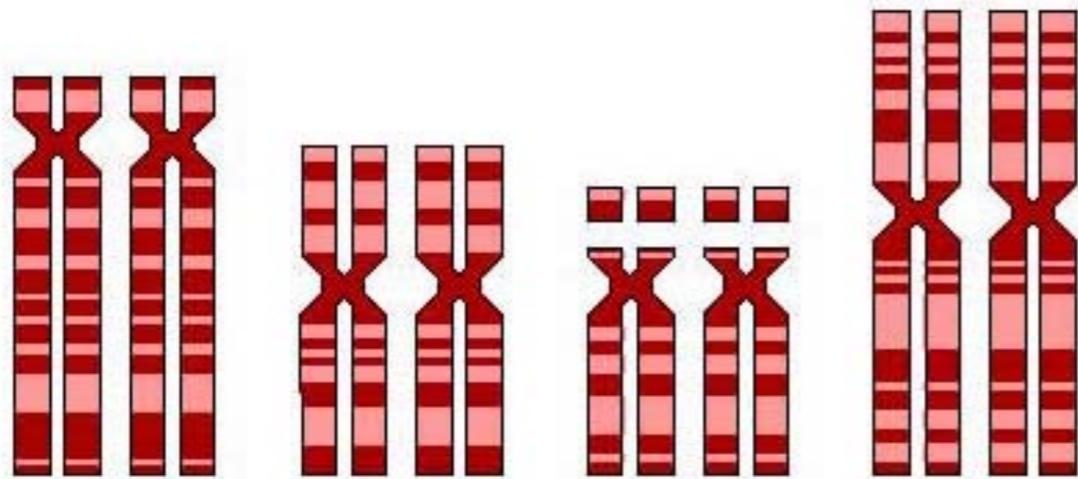


0h: Selección 5 Brdu

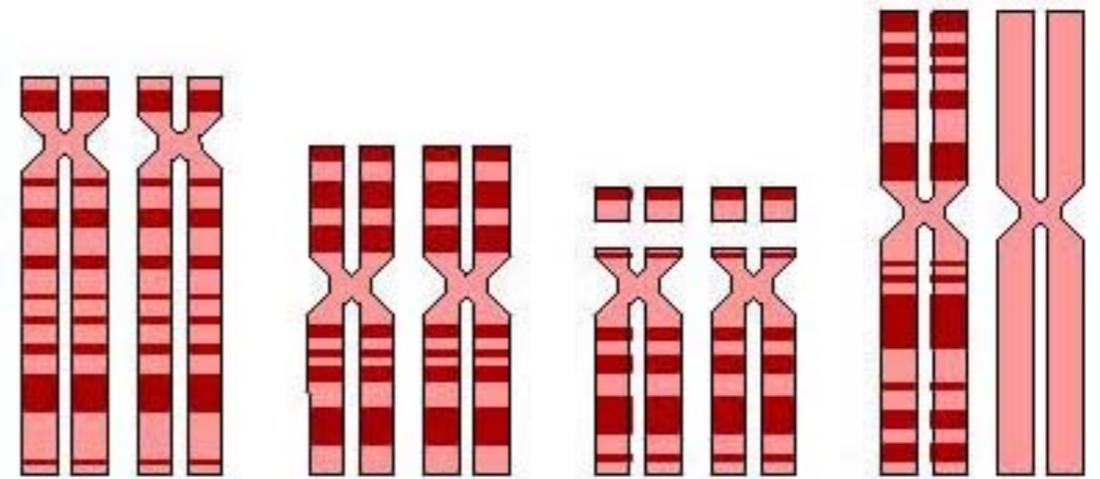
2h: Tinción Giemsa



~~Tripsina~~
~~Fe~~



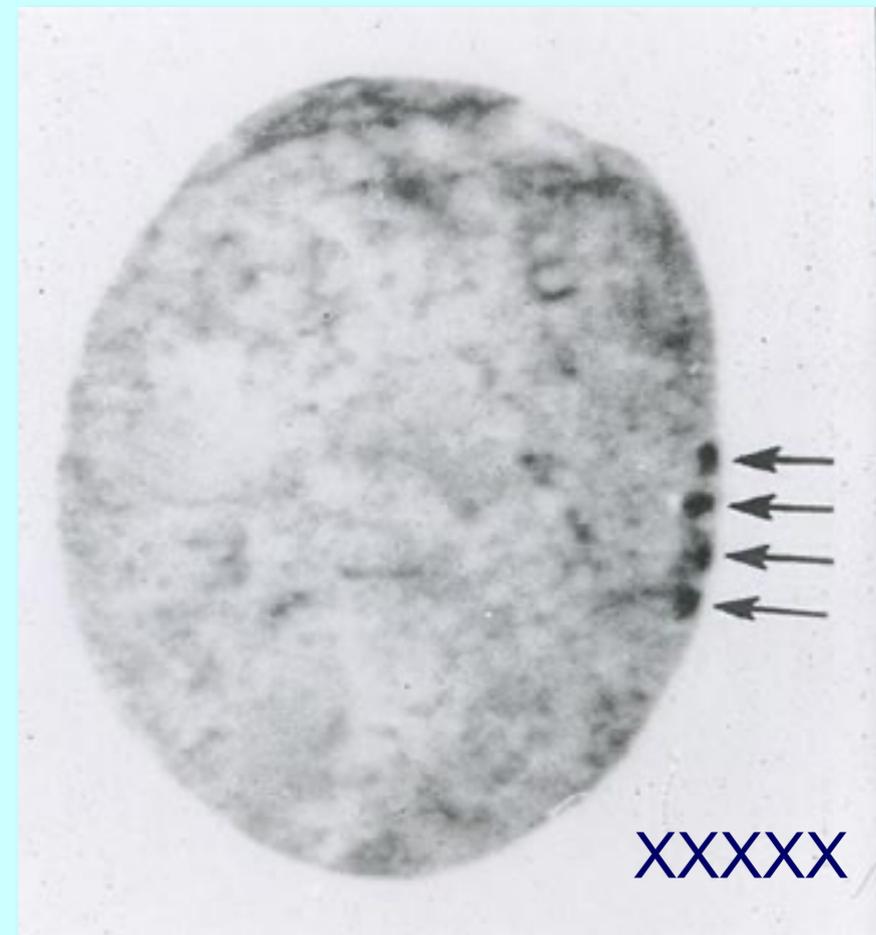
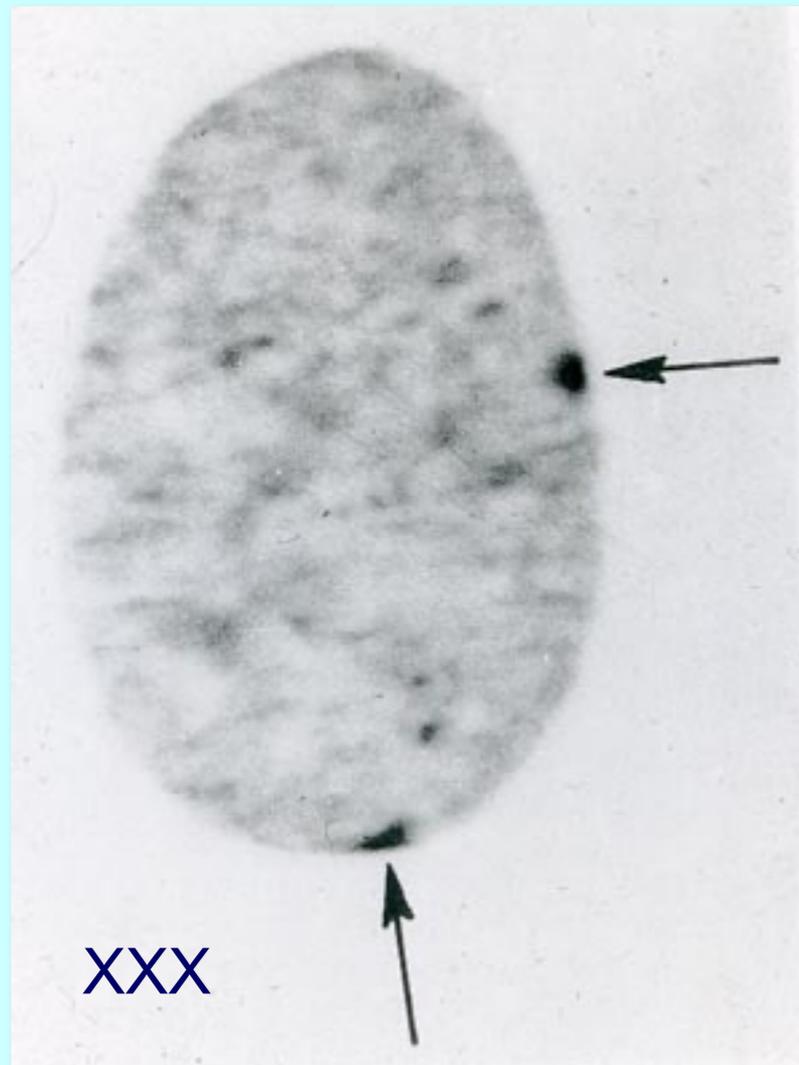
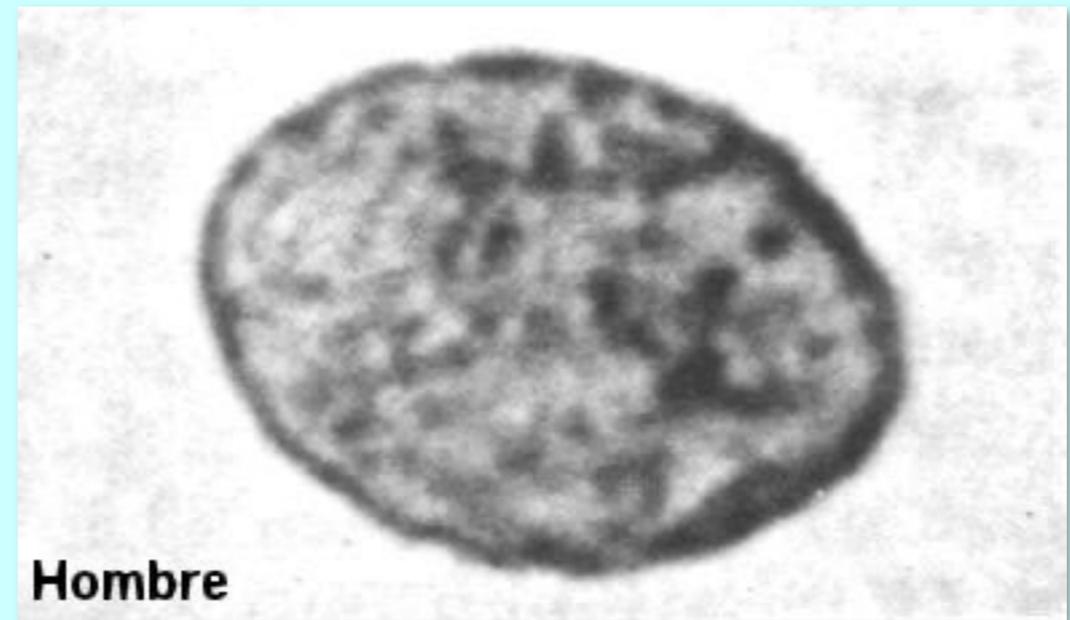
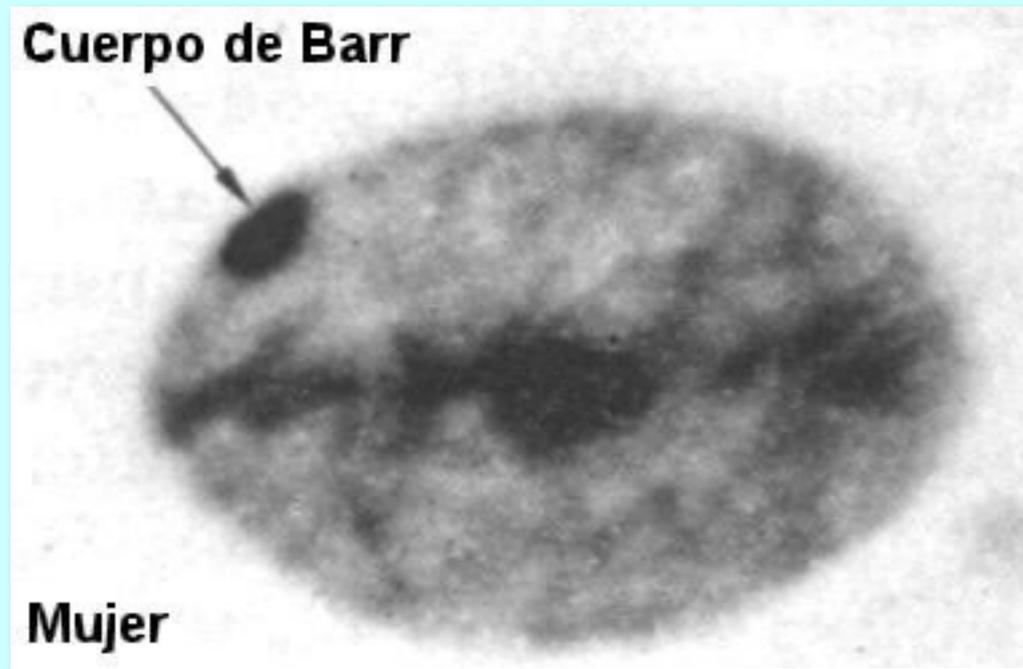
1 2 3 X
Cariotipo con bandas G
(tripsina + Giemsa)



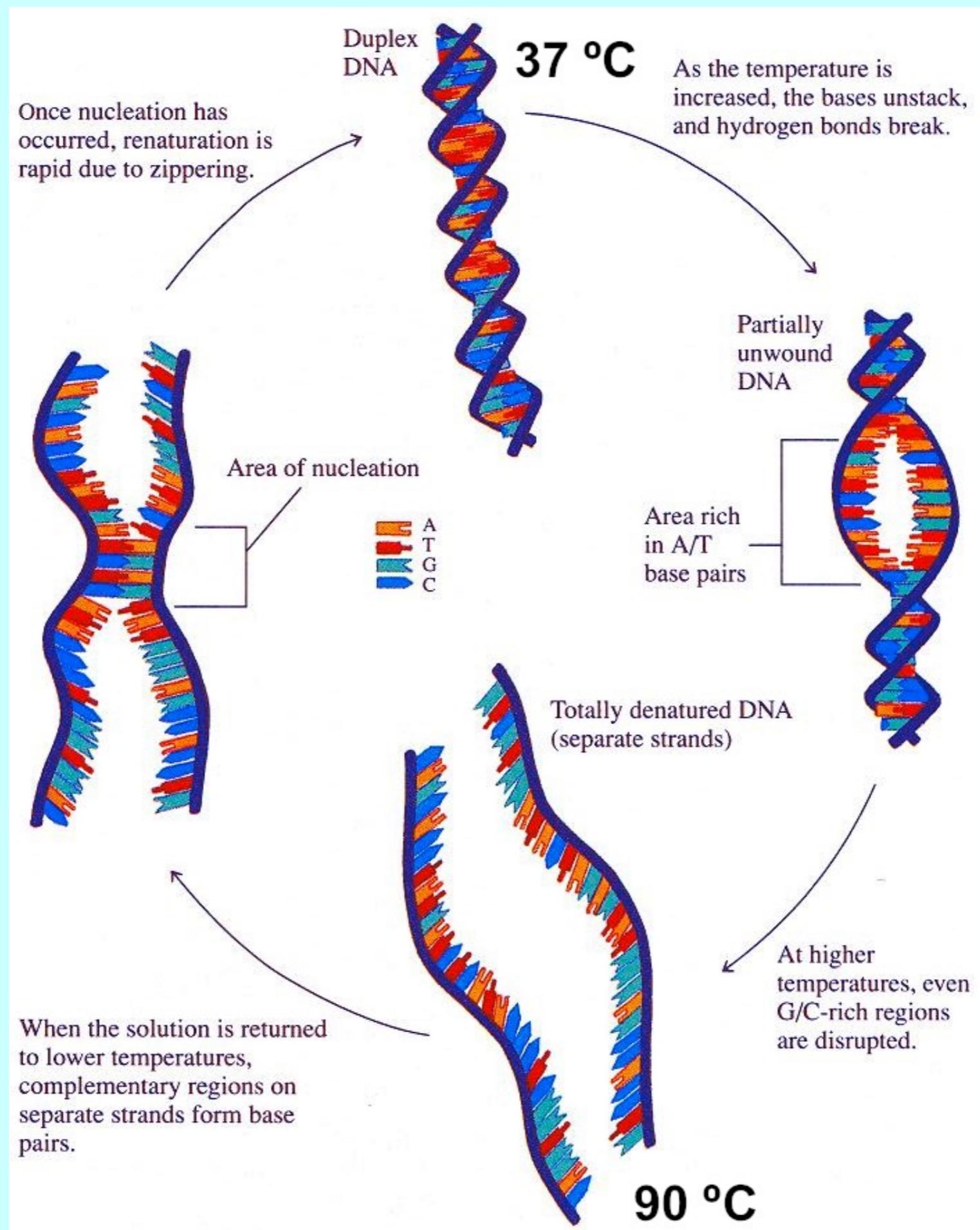
1 2 3 X
Cariotipo con bandas R

Las bandas que se obtienen de esta forma se denominan bandas R (reverse) y son prácticamente opuestas a las bandas G que se obtienen con tripsina (las bandas G oscuras son bandas R claras y viceversa).

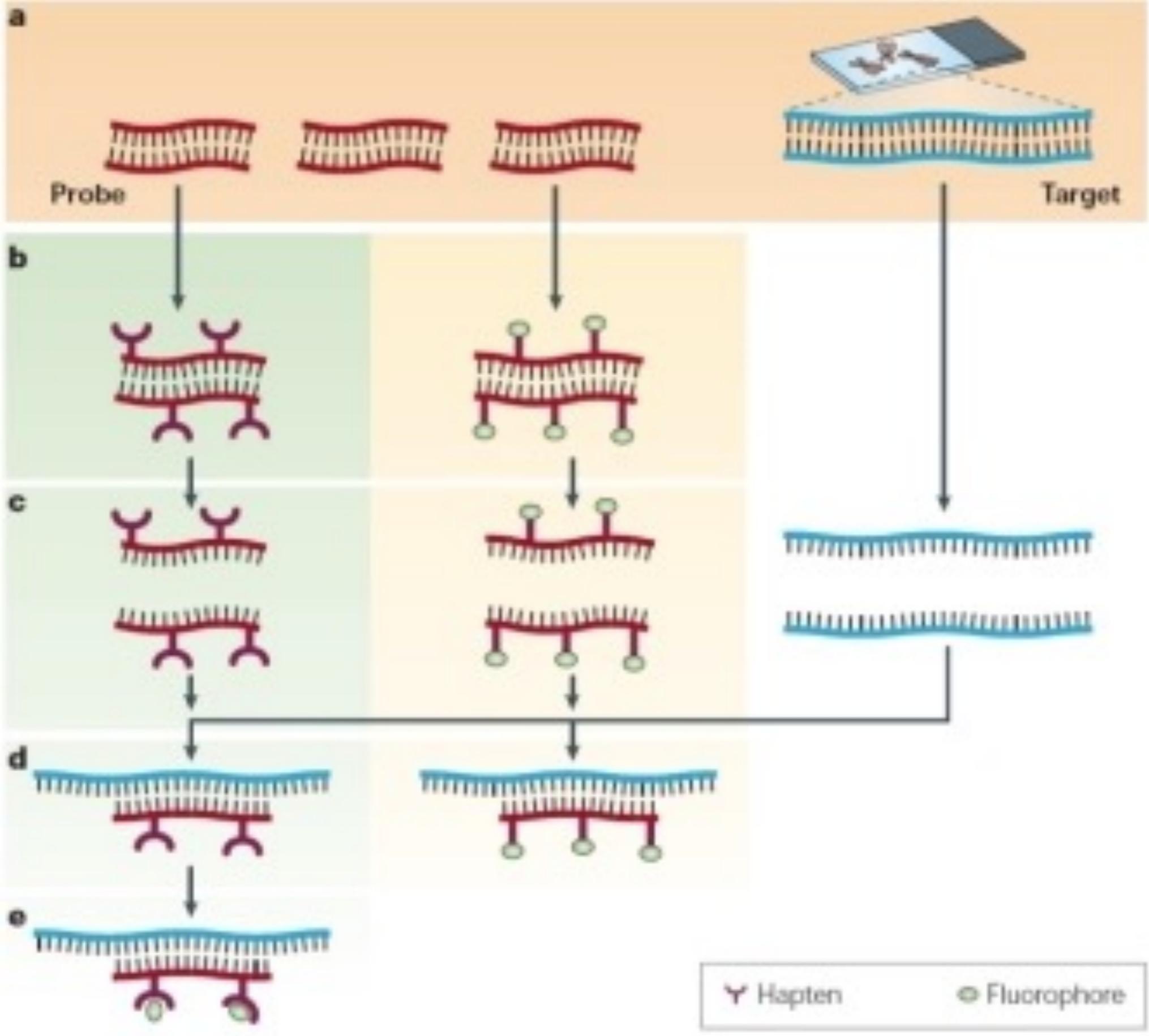
Los cuerpos de Barr son cromosomas X en forma heterocromática. El número de cuerpos de Barr es igual al número de cromosomas X menos 1



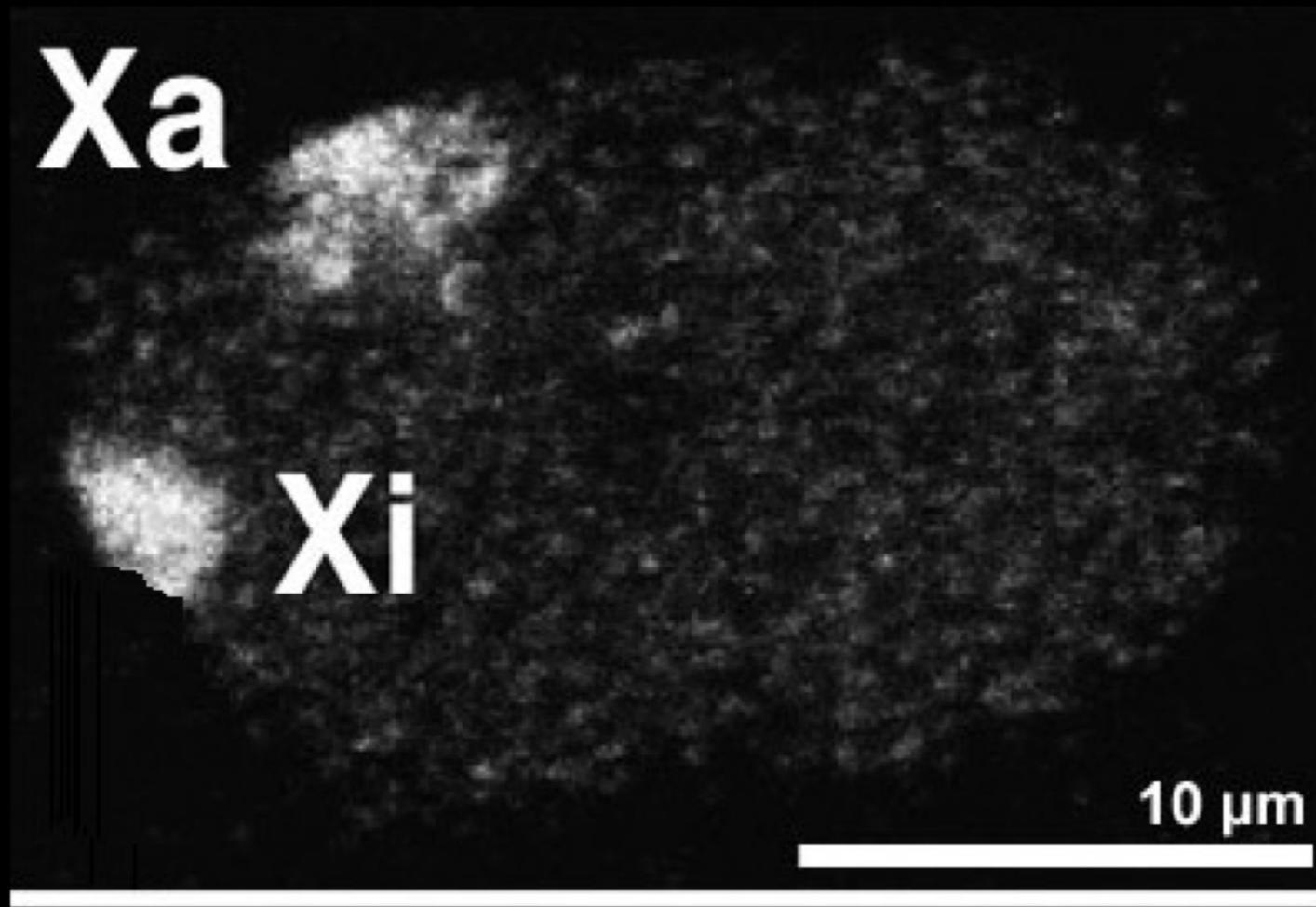
DESNATURALIZACION-RENATURALIZACION DEL ADN:



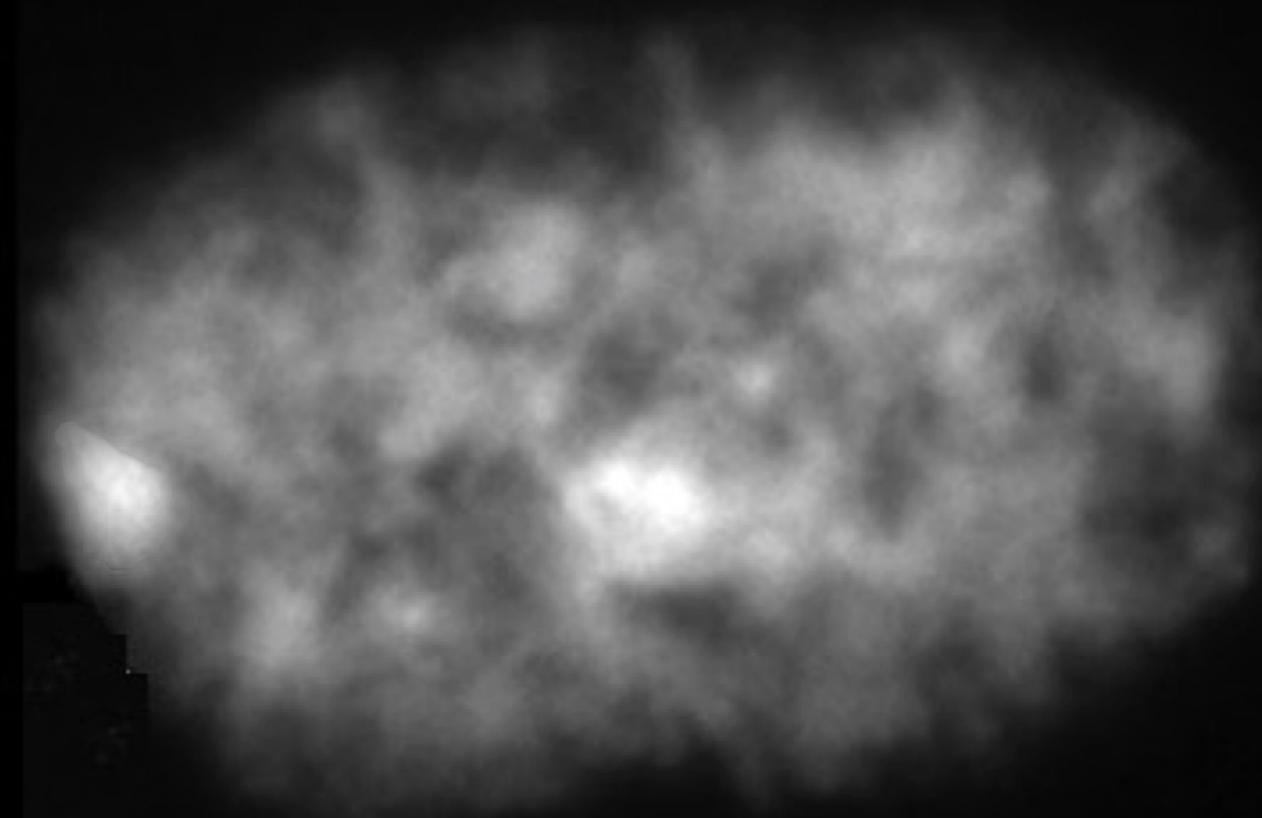
Fluorescent In-Situ Hybridization (FISH)

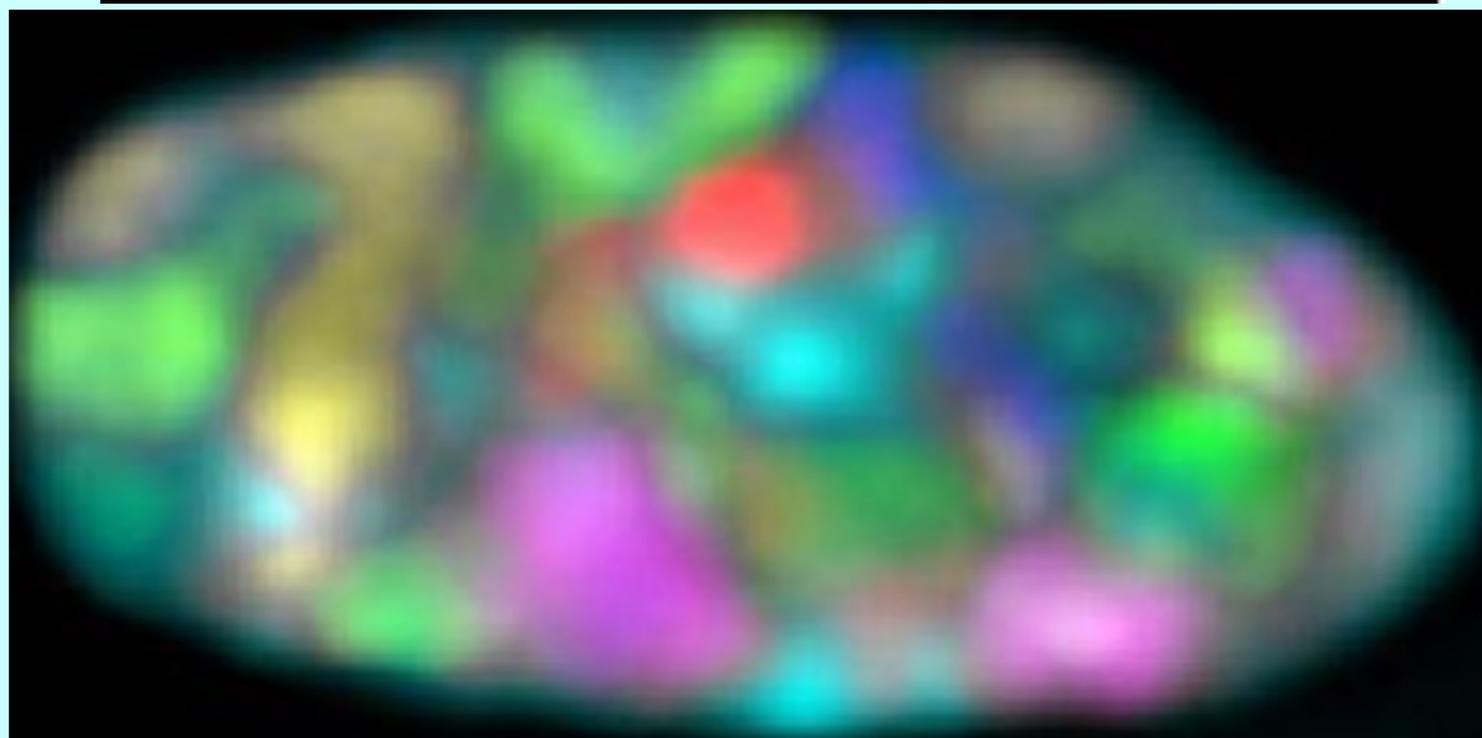
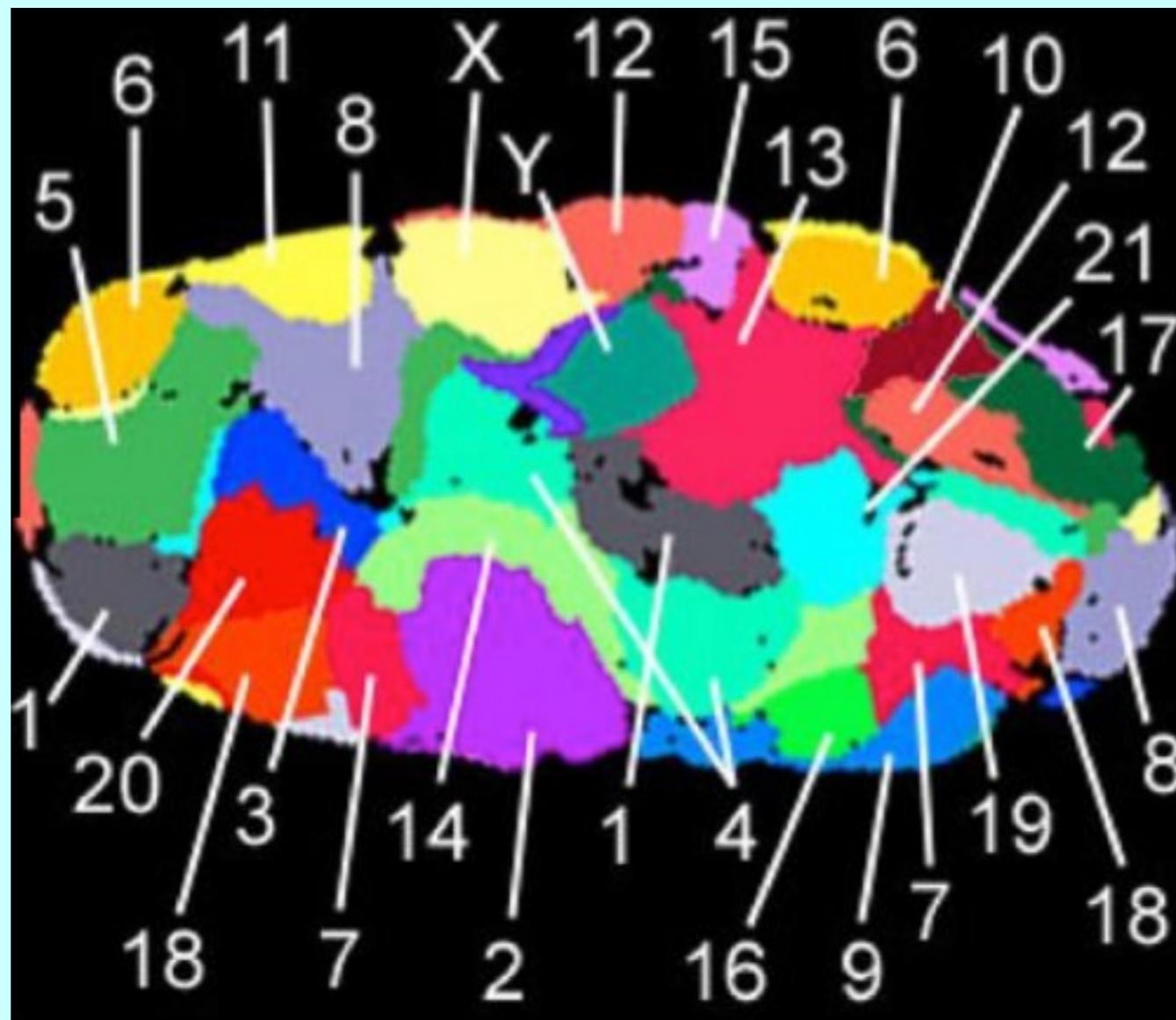


FISH

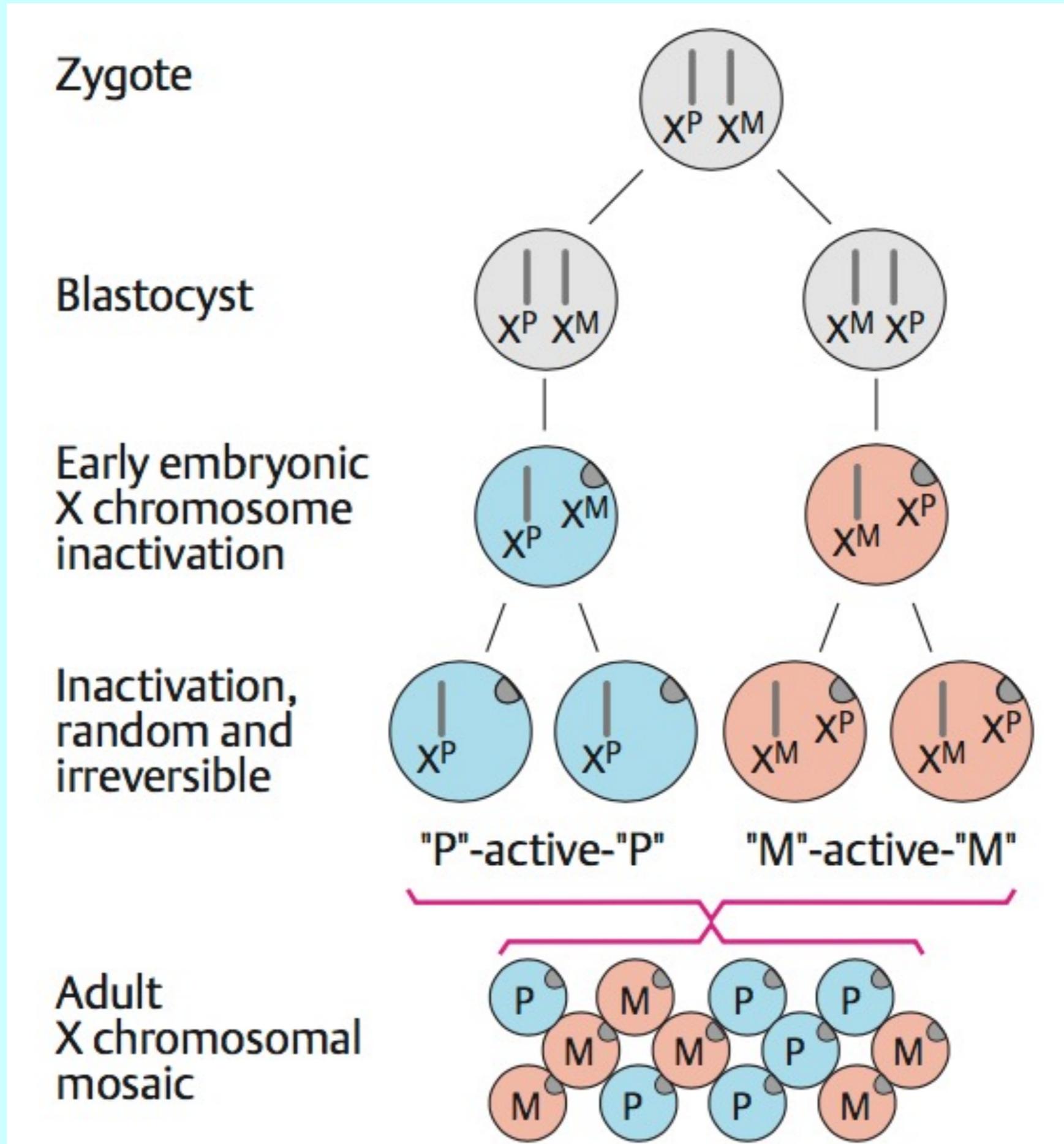


Giemsa





En las células somáticas de mamíferos, se inactivan todos los cromosomas X menos 1.



En las células somáticas de mamíferos, se inactivan todos los cromosomas X menos 1.

