

Maternal transmission of mitochondrial diseases

(Chiaratti et añ., 2020)



Mitochondrial Chronic Progressive External Ophthalmoplegia

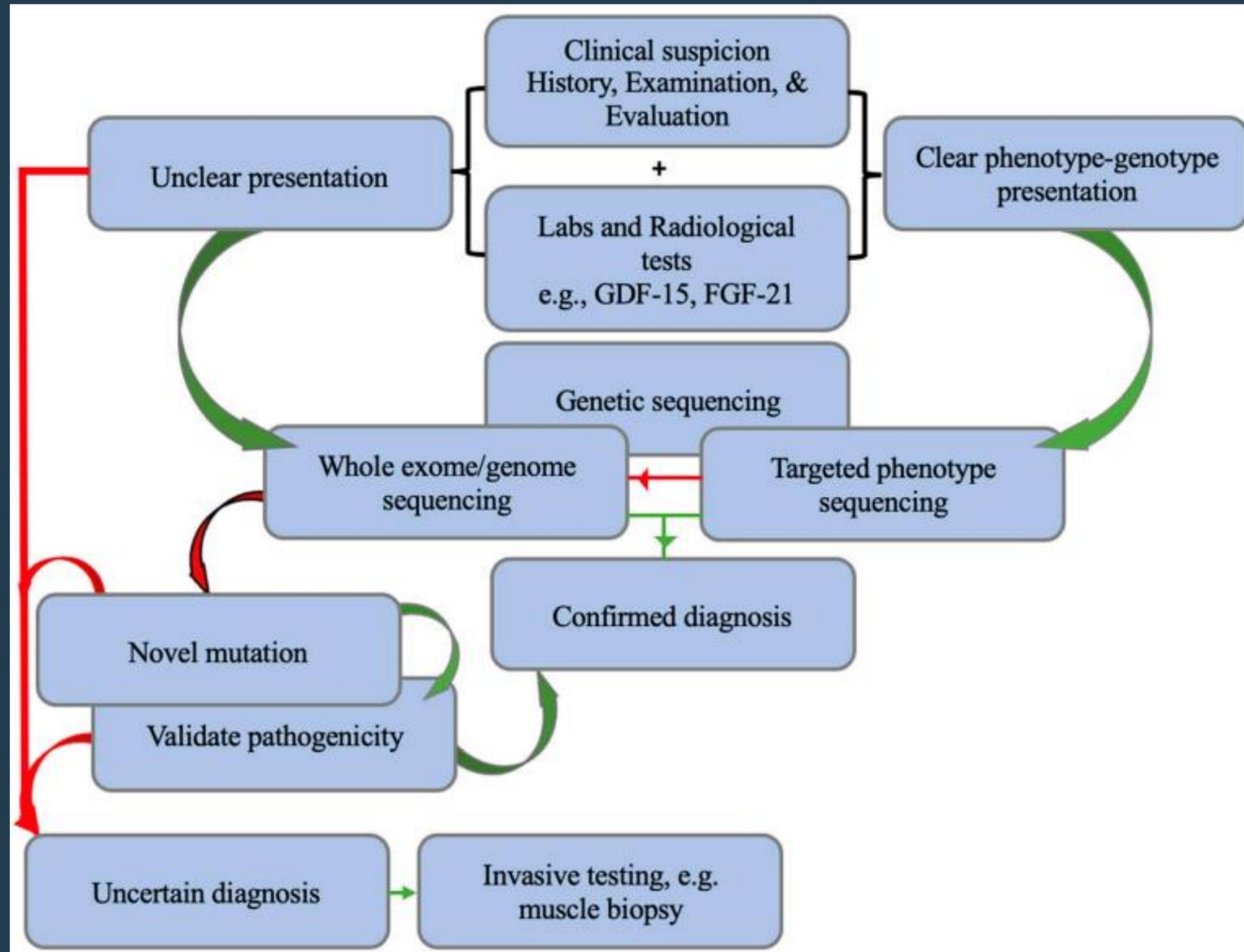
(Ali et al., 2024)



“Chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO) is a rare disorder that can be at the fore front of several mitochondrial diseases. This review overviews mitochondrial CPEO encephalomyopathies to enhance accurate recognition and diagnosis for proper management. Methods: This study is conducted based on publications and guidelines obtained by selective review in PubMed.”

Mitochondrial DNA Deletion/Depletion Disorders Causing CPEO

*Pearson syndrome (PS), also known as Pearson marrow–pancreas syndrome, is a rare fatal multisystemic mitochondrial disease due to deletions in mtDNA, and it typically affects infants... The diagnosis of Pearson syndrome is challenging due to the atypical presentation in infancy. It can be confirmed via **mtDNA sequencing and observing multiple deletions of varying lengths.***

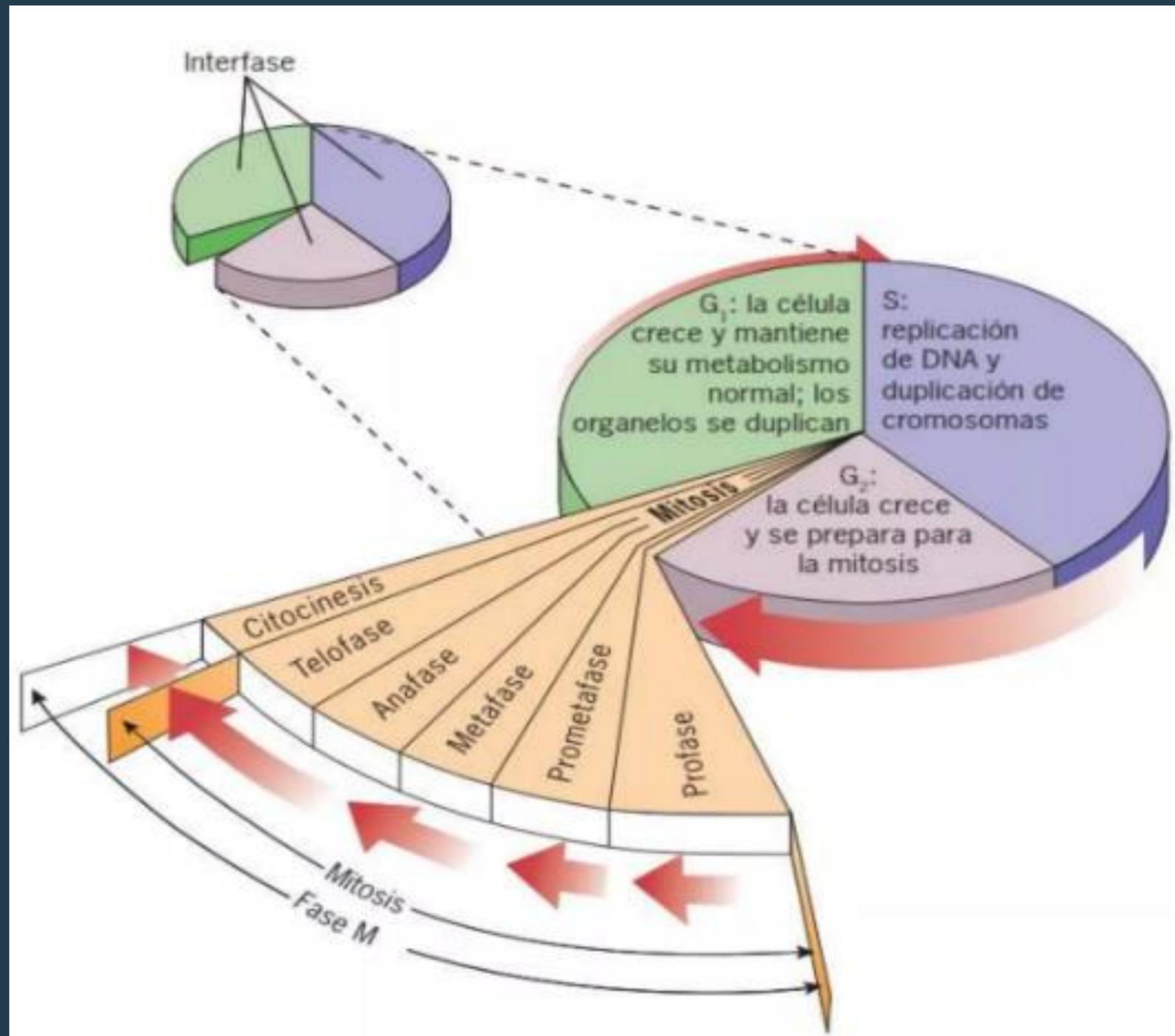


A summary of the proposed diagnostic pathway by Watson et al., where invasive testing is preceded by genetic sequencing, the gold standard of diagnosis. The green line indicates a yes, while the red line indicates no.

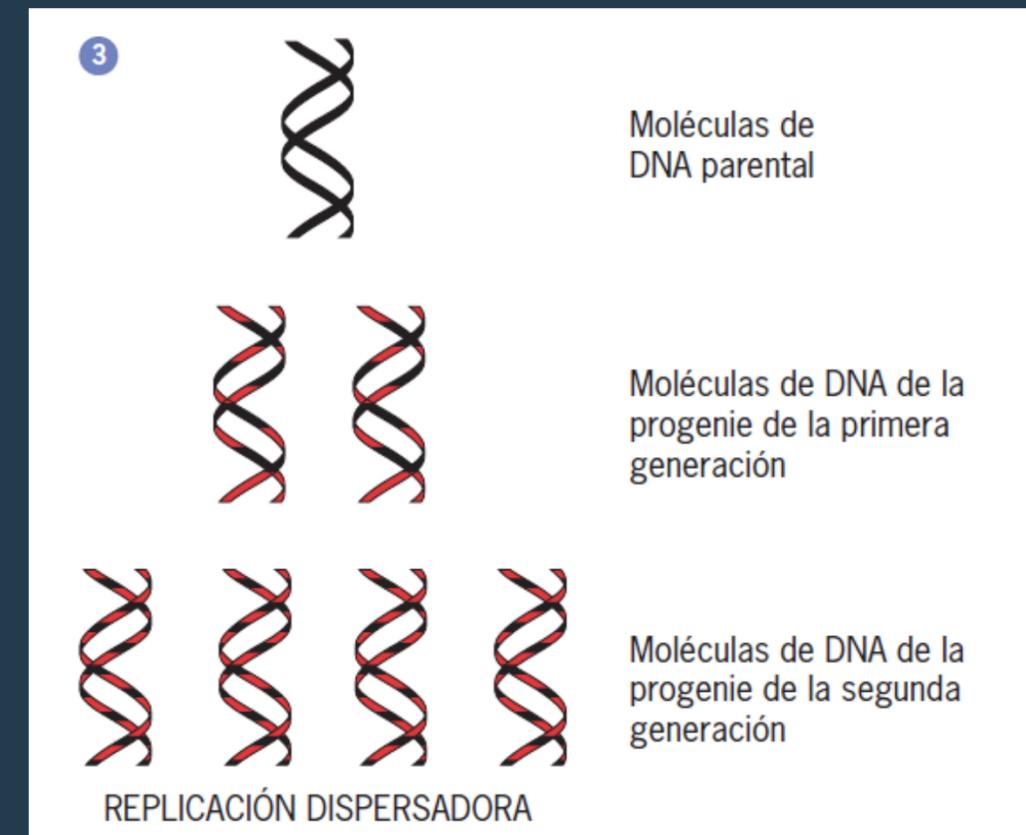
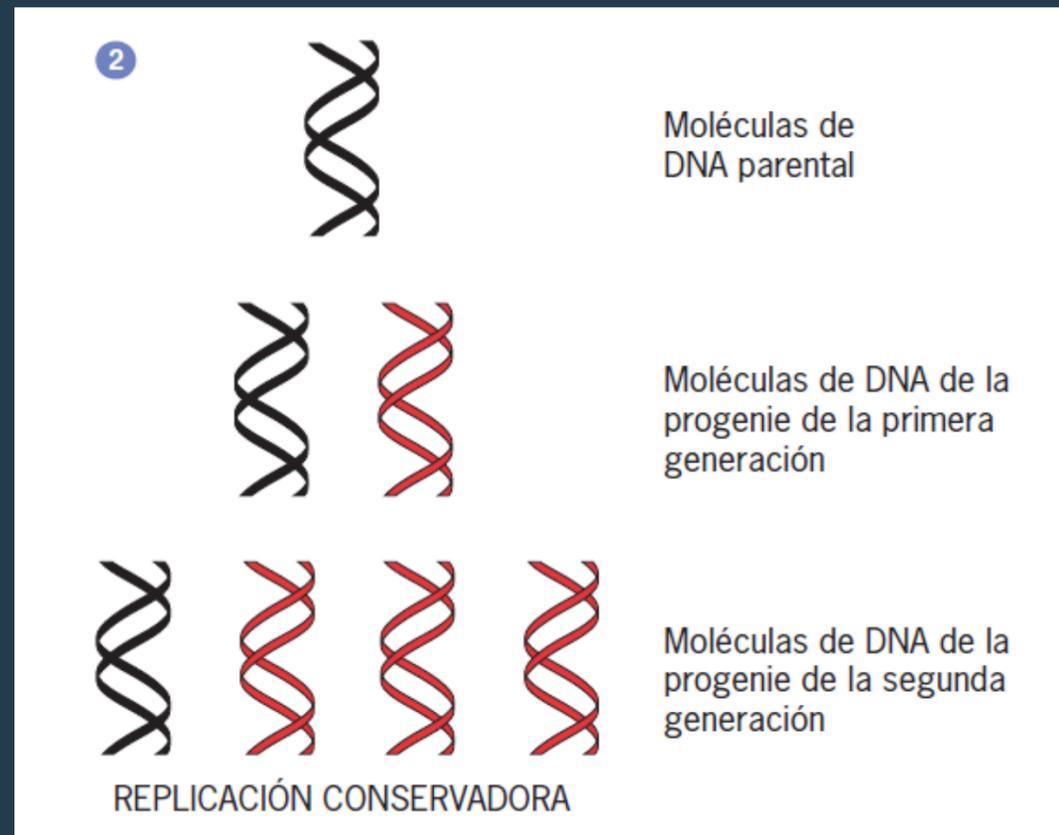
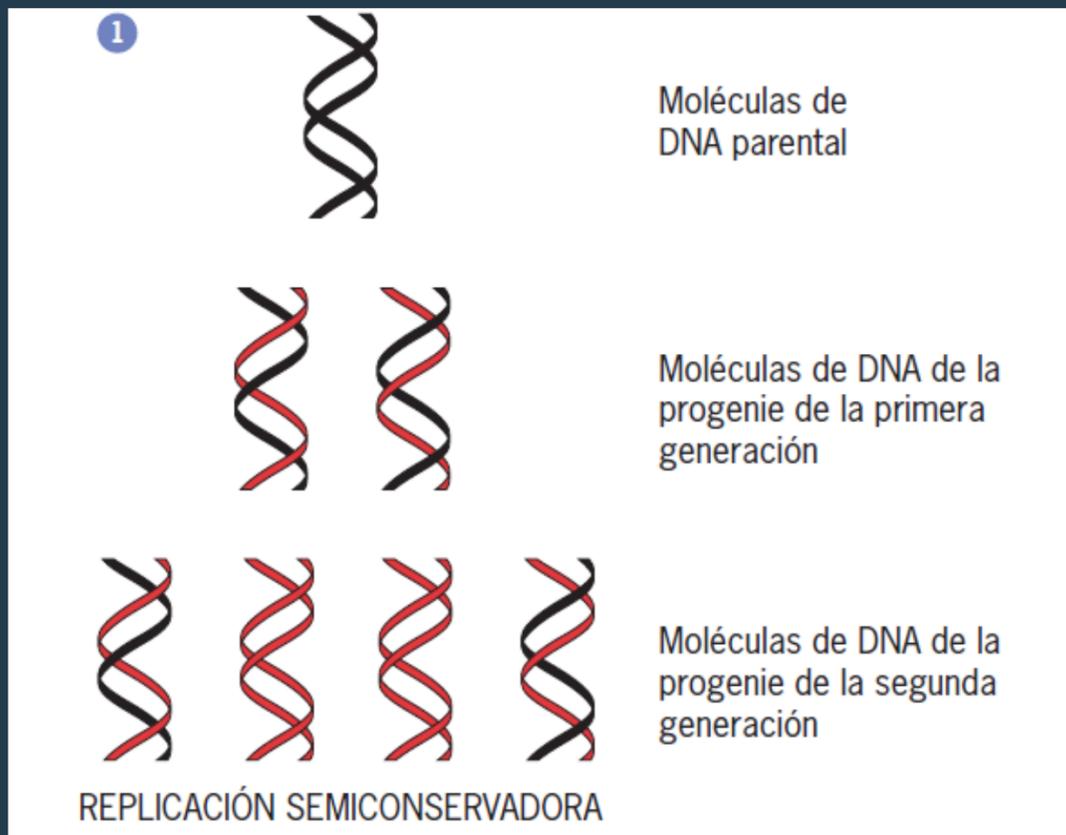
Replicación del ADN



Replicación del ADN



Tres esquemas alternativos de la replicación...



- **Proceso altamente eficiente sin embargo cuando falla, una o ambas moléculas hijas resultan diferentes a la molécula original:  Mutación**
- **Los fallos en la replicación son eventos muy raros, por lo que el proceso es muy eficiente:**

LA SECUENCIA DE NUCLEOTIDOS VA PASANDO A LAS CÉLULAS HIJAS FIELMENTE DURANTE MUCHAS GENERACIONES.

Mutaciones  Variantes genéticas

Eliminadas

Indiferentes

Caracteres que darán ventaja biológica frente a otros individuos*

- a) La mayor parte del genoma consiste en DNA localizado entre los genes y representa el DNA intergénico.
- b) Alrededor de 25 000 genes que codifican proteínas - secuencias no codificantes (DNA intrónico). Tomados en conjunto, estos hechos indican que la porción del genoma que codifica a proteínas representa un pequeño porcentaje del DNA total (que se estima en alrededor de 1,5%).
- c) La mayor parte del DNA intergénico e intrónico del genoma **no contribuye a las capacidades de supervivencia** y reproductivas de un individuo, de modo que no hay una presión selectiva que mantenga su secuencia inalterada.

En cambio, aquellos segmentos del genoma que codifican secuencias proteínicas o contienen secuencias reguladoras que controlan la expresión génica están sometidos a la selección natural.

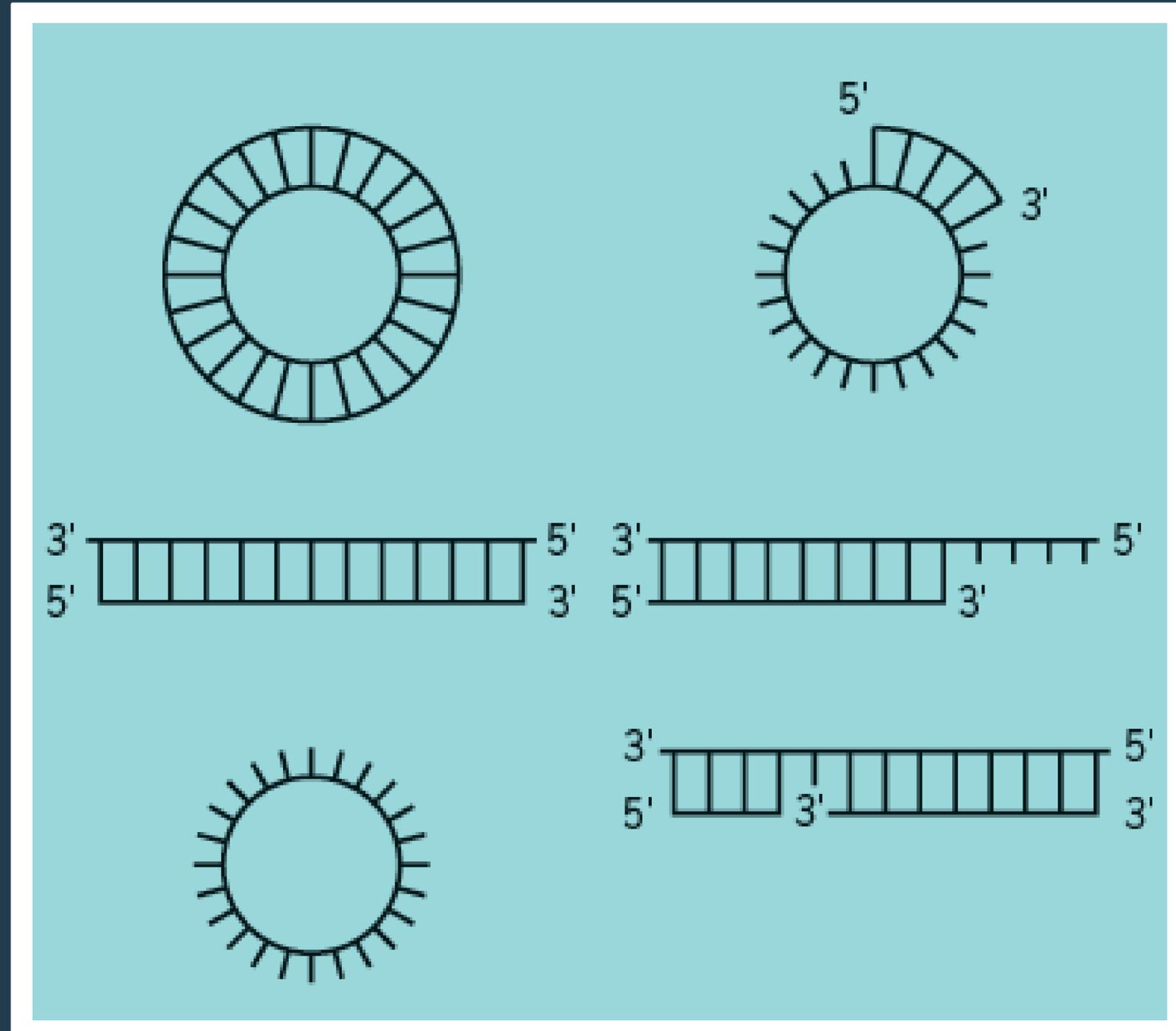
“La selección natural, en la que los rasgos heredables que le ayudan a un organismo a sobrevivir y reproducirse, se vuelven más comunes en una población a lo largo del tiempo”.



Esta tiende a eliminar a los individuos cuyo genoma contiene mutaciones en estos elementos funcionales.

- Regulación de la expresión génica (Transcripción alternativa, modificación de la maduración del ARN mensajero, múltiples variantes de proteínas a partir de un solo gen)
- Mejora la precisión del empalme
- Interacción con proteínas

Plantillas y no plantillas que estimulan la actividad de las DNA polimerasas



Proteínas de replicación *E. coli*

| PROTEÍNA | FUNCIÓN |
|---------------------------|--|
| DnaB (Helicasa) | Desenrolla la doble hélice. |
| DnaA | Reconocimiento del origen de replicación. |
| DnaC | Coloca la DnaB sobre el ADN. |
| Girasa (Topoisomerasa) | Relaja el superenrollamiento ocasionado por el desenrollamiento. |
| Primasa | Sintetiza el RNA cebador. |
| SSB | Estabiliza las hebras sencillas. |
| DNA Pol III | Sintetiza el DNA. |
| DNA pol I | Elimina el cebador y rellena huecos. |
| DNA ligasa | Une los extremos del DNA. |

Replicón:

Una molécula de DNA que contiene un origen de replicación. (Unidad de replicación).

Cromosoma de virus → 1 origen de replicación

Cromosoma bacteriano → 1 origen de replicación

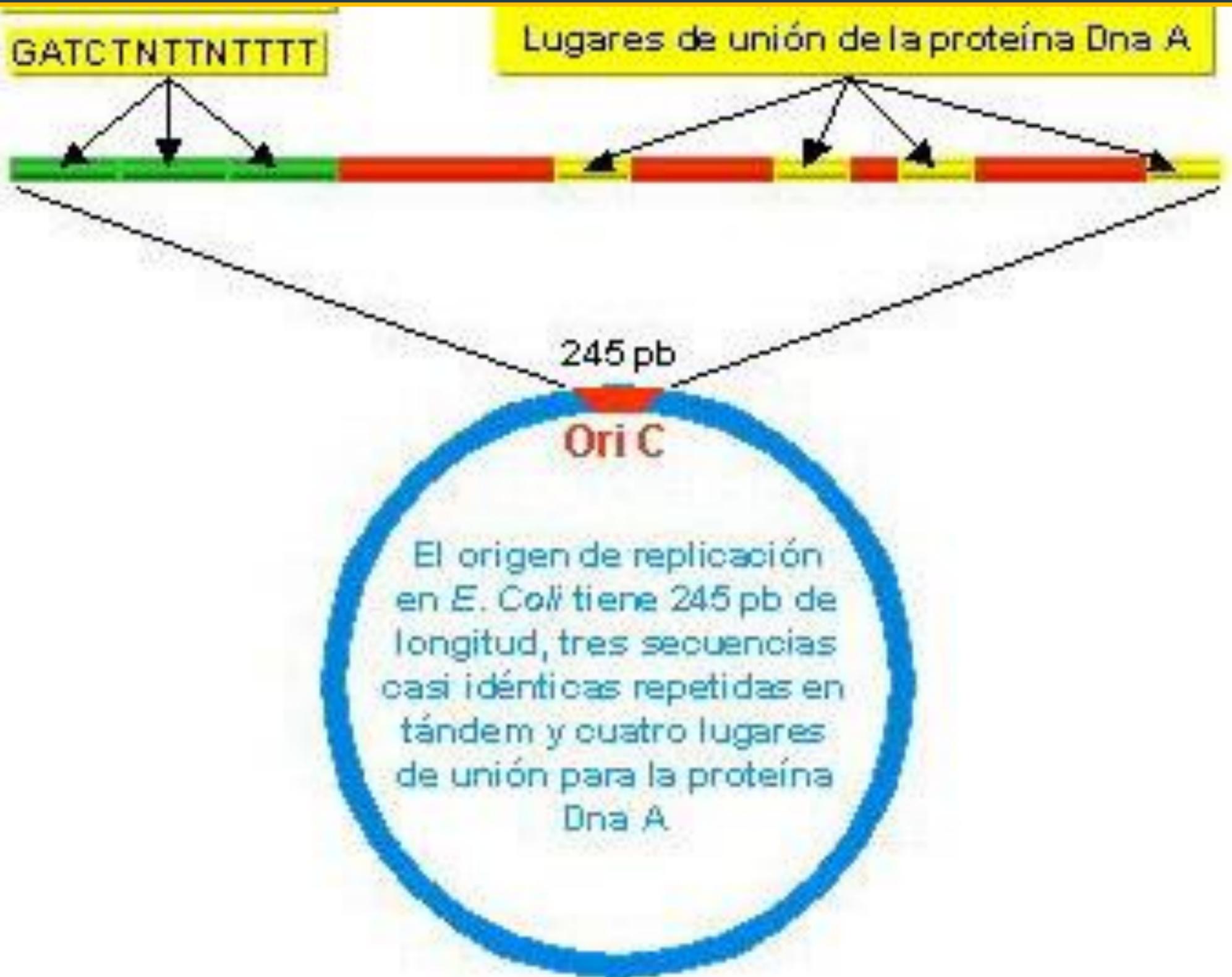
Cromosomas eucariotas → Múltiples orígenes de replicación
Múltiples replicones

Ori C:

Es el locus cuya función es iniciar la replicación en *E. Coli*.

La replicación comienza con el desenrollamiento del punto *ori C*.

3 secuencias en tándem (13 nucleótidos) 5'- GATC -3' Secuencias ricas en A – T.



ORIGEN DE REPLICACIÓN:

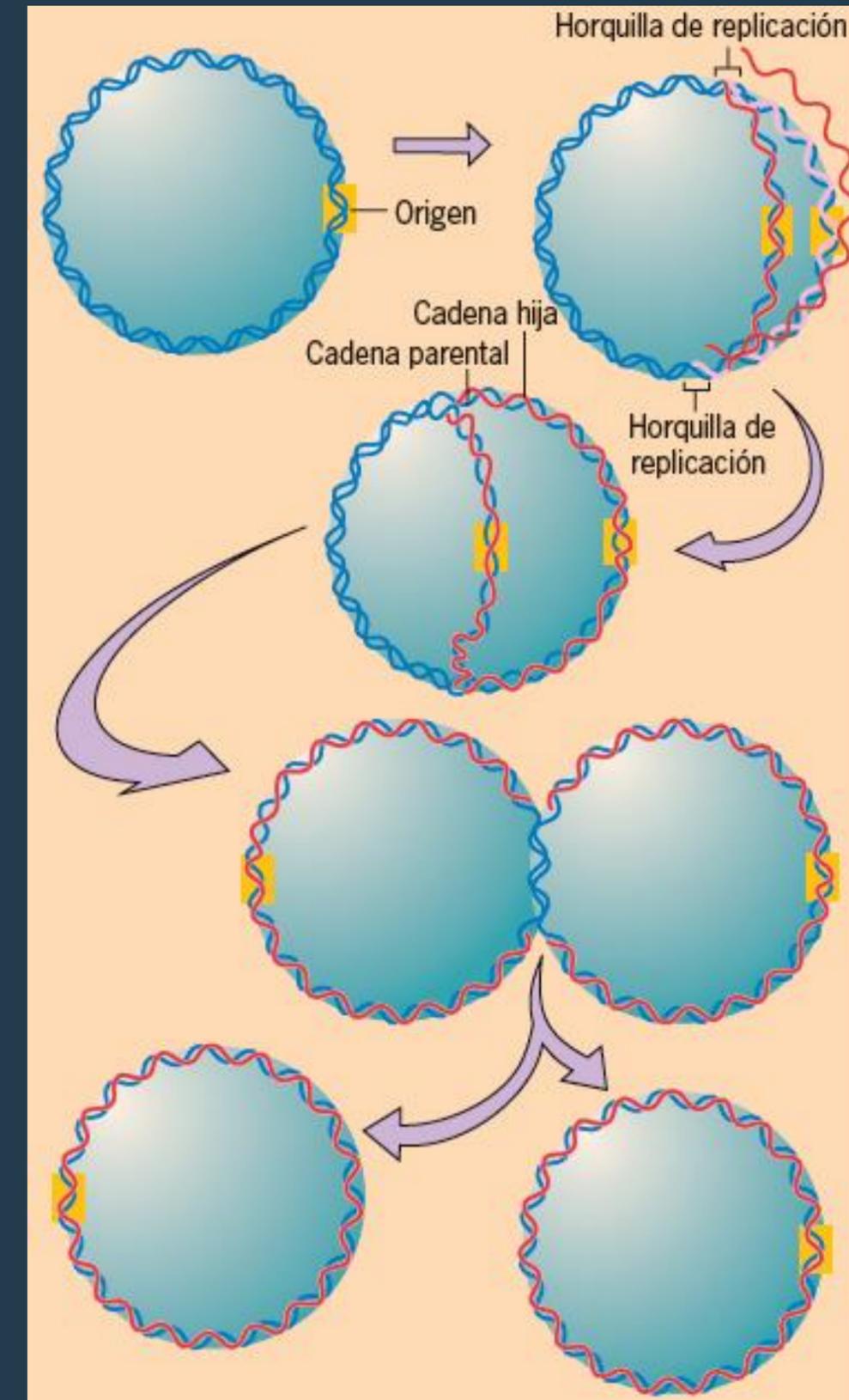
🌀 Punto donde la doble hélice vieja se separa en sus dos hebras para iniciar la replicación.

E. coli y plásmidos: El cromosoma circular comienza a abrirse por el origen de replicación hasta generar 2 cromosomas completos.

🌀 Antibióticos → Girasas

Novobiocina: Impide la unión del ATP a las girasas

Ác. nalidixico y ciprofloxacina: Interrumpe la ruptura y el empalme de las hebras de DNA.



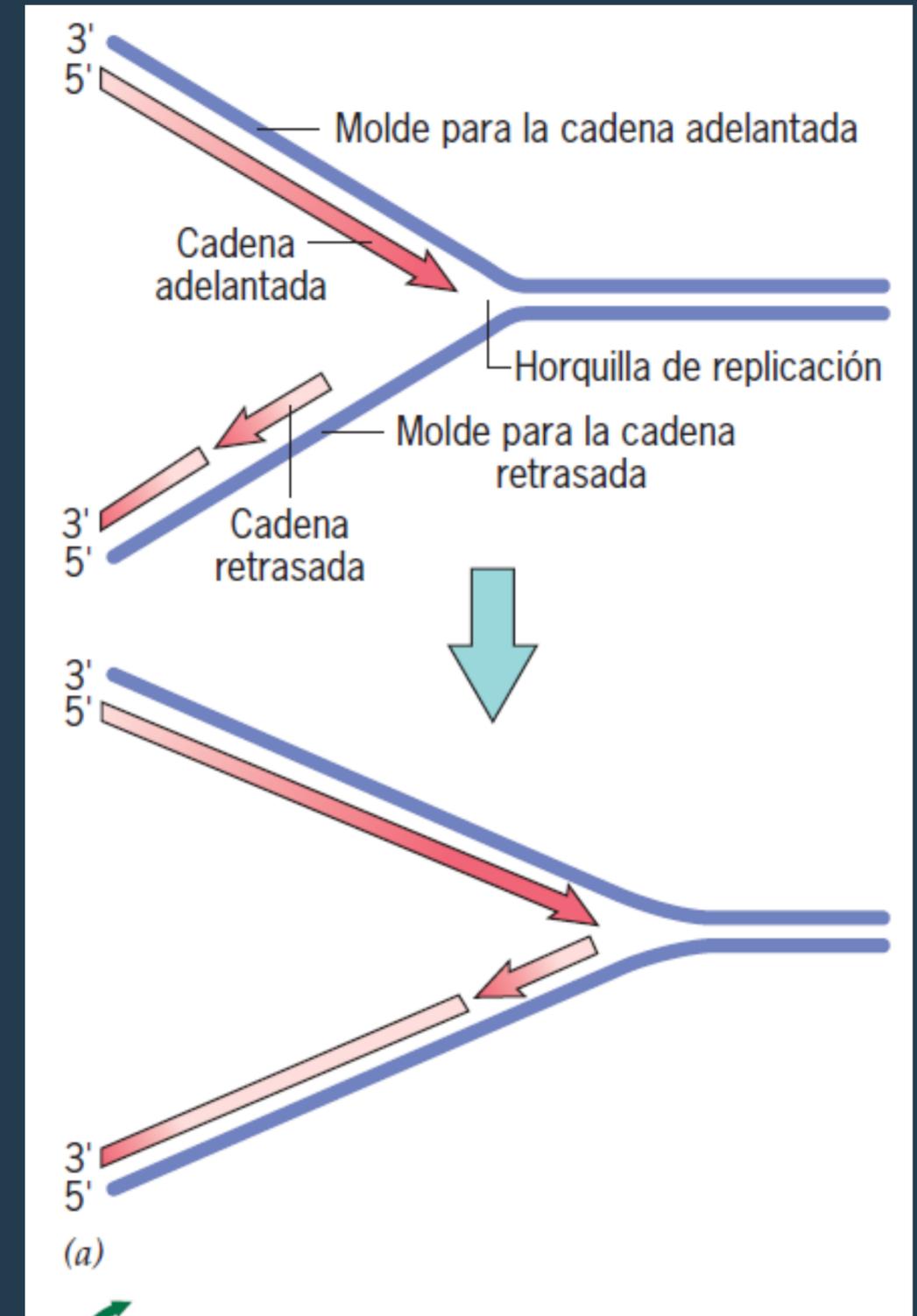
“ Una hebra se sintetiza en fragmentos y la otra en forma continua ”

- Las 2 hebras sirven como molde.
- Las hebras son antiparalelas
- Todas las DNA POLIMERASAS sintetizan en dirección

5' → 3'.

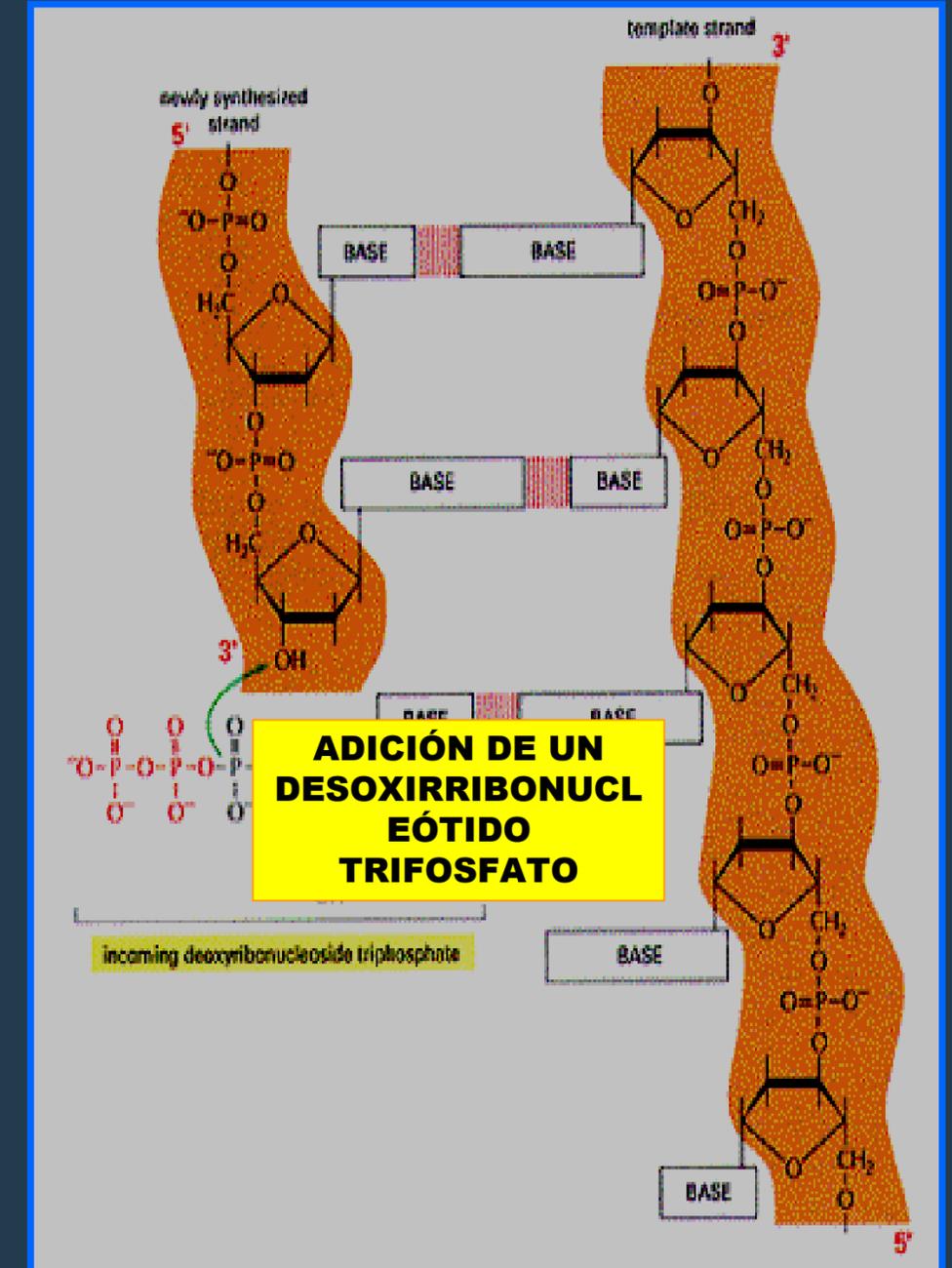
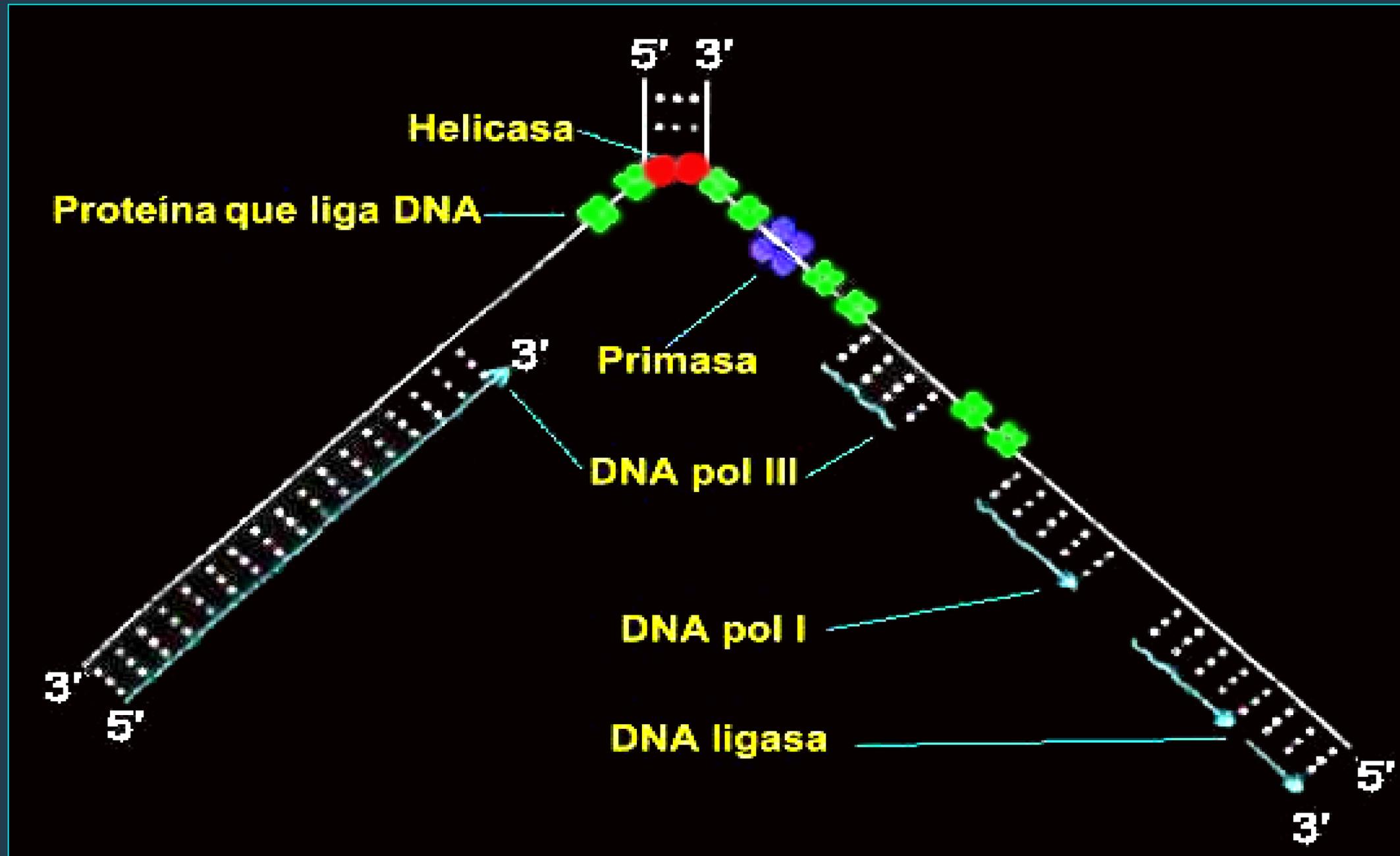
- 3' → 5' (hebra guía o conductora).

5' → 3' La hebra nueva crece sobre la otra hebra en dirección 5' → 3' en fragmentos de 1000 - 2000 nucleótidos llamados de **OKASAKI** (hebra retrasada).



➤ Los fragmentos de OKASAKI se unen por medio de la DNA ligasa.

➤ DNA LIGASA → Cataliza la formación de un enlace fosfodiéster de una cadena de DNA con el 5'- fosfato de la otra.



REPLICACIÓN

Polimerasas en eucariotas α , β , γ , δ y ϵ . 50 a 250 sitios, conocidos como **lugares de replicación**.

CUADRO 13-1 Algunas proteínas requeridas para la replicación

| Proteína en <i>E. coli</i> | Proteína eucariota | Función |
|-----------------------------|------------------------------|---|
| DnaA | Proteínas ORC | Reconocimiento del origen de la replicación |
| Girasa | Topoisomerasa I/II | Libera supercolas positivas antes de la de replicación |
| DnaB | Mcm | DNA helicasa que desenrolla el dúplex parental |
| DnaC | Cdc6, Cdt1 | Coloca la helicasa sobre el DNA |
| SSB | RPA | Mantiene el DNA en un estado monocatenario |
| Complejo γ | RFC | Subunidades de la holoenzima de la DNA polimerasa que montan la pinza sobre el DNA |
| Núcleo de la polimerasa III | Polimerasa δ/ϵ | Enzima de replicación primaria; sintetiza por completo la cadena adelantada y los fragmentos de Okazaki; tiene capacidad de lectura y corrección |
| Pinza β | PCNA | Subunidad en forma de anillo de la holoenzima de la DNA polimerasa que pinza la polimerasa replicante sobre el DNA; trabaja con la polimerasa III en <i>E. coli</i> y la polimerasa δ o ϵ en eucariotas |
| Primasa | Primasa | Sintetiza iniciadores de RNA |
| ———— | Polimerasa α | Sintetiza oligonucleótidos cortos de DNA como parte del iniciador RNA-DNA |
| DNA ligasa | DNA ligasa | Une a los fragmentos de Okazaki en una cadena continua |
| Pol I | FEN-1 | Remueve a los iniciadores de RNA; la polimerasa I de <i>E. coli</i> también llena los espacios con DNA |

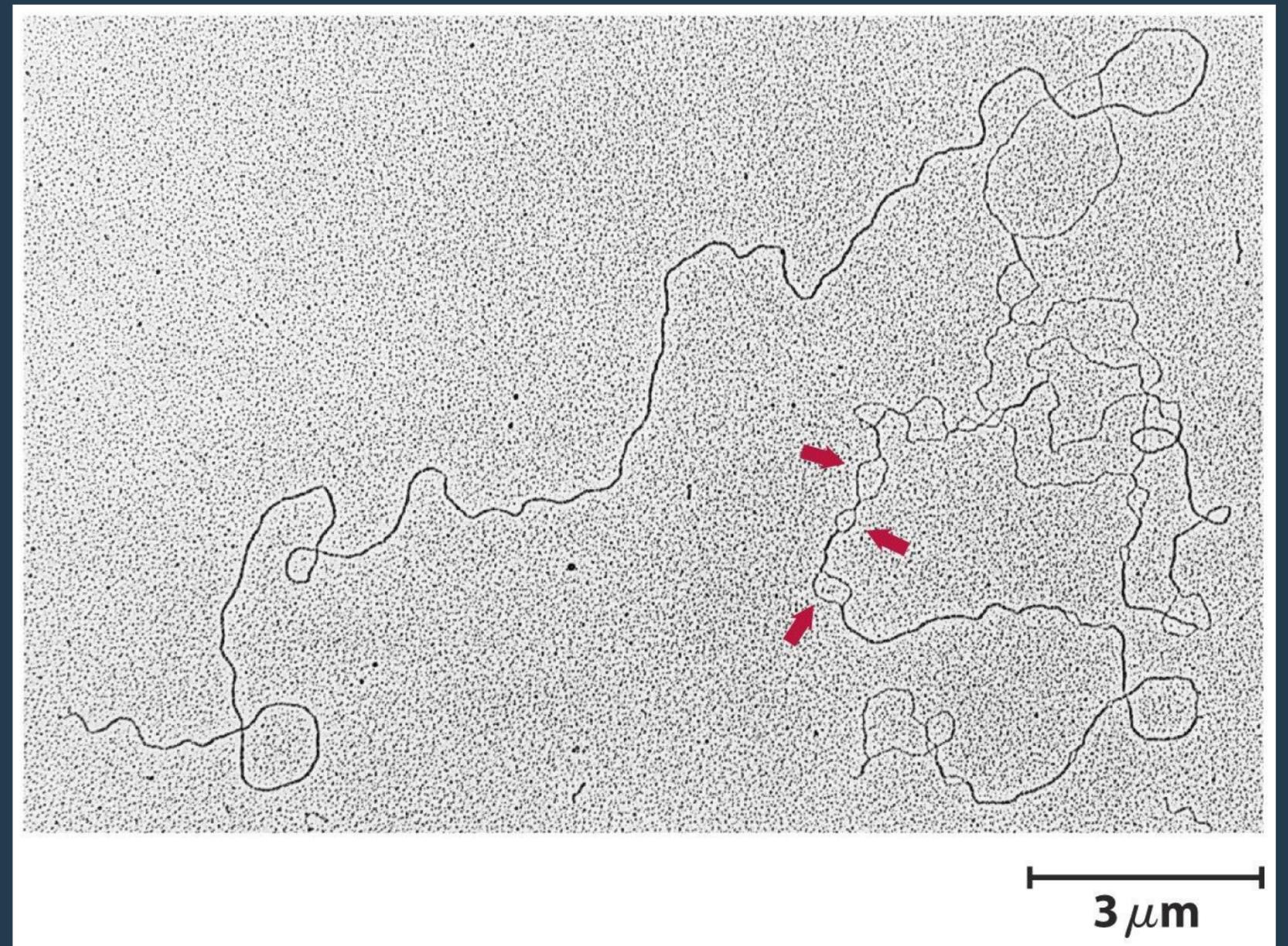
- ❁ La DNA POL α (alpha)  (Retrasada). EL cebador: 10 bases de ARN y 20 de ADN.
- ❁ Las DNA POL ϵ - δ (Epsilon, Delta)  (Conductora - Retrasada). Exonucleasa 3 - 5
- ❁ La DNA POL β (Betha)  Procesos de reparación.
- ❁ La DNA POL γ (Gama)  Mitocondrias. Exonucleasa 3 - 5

❁ El DNA eucariota contiene múltiples replicones.

❁ La replicación es bidireccional.

➤ La REPLICASA: 1000 nucleótidos / seg.

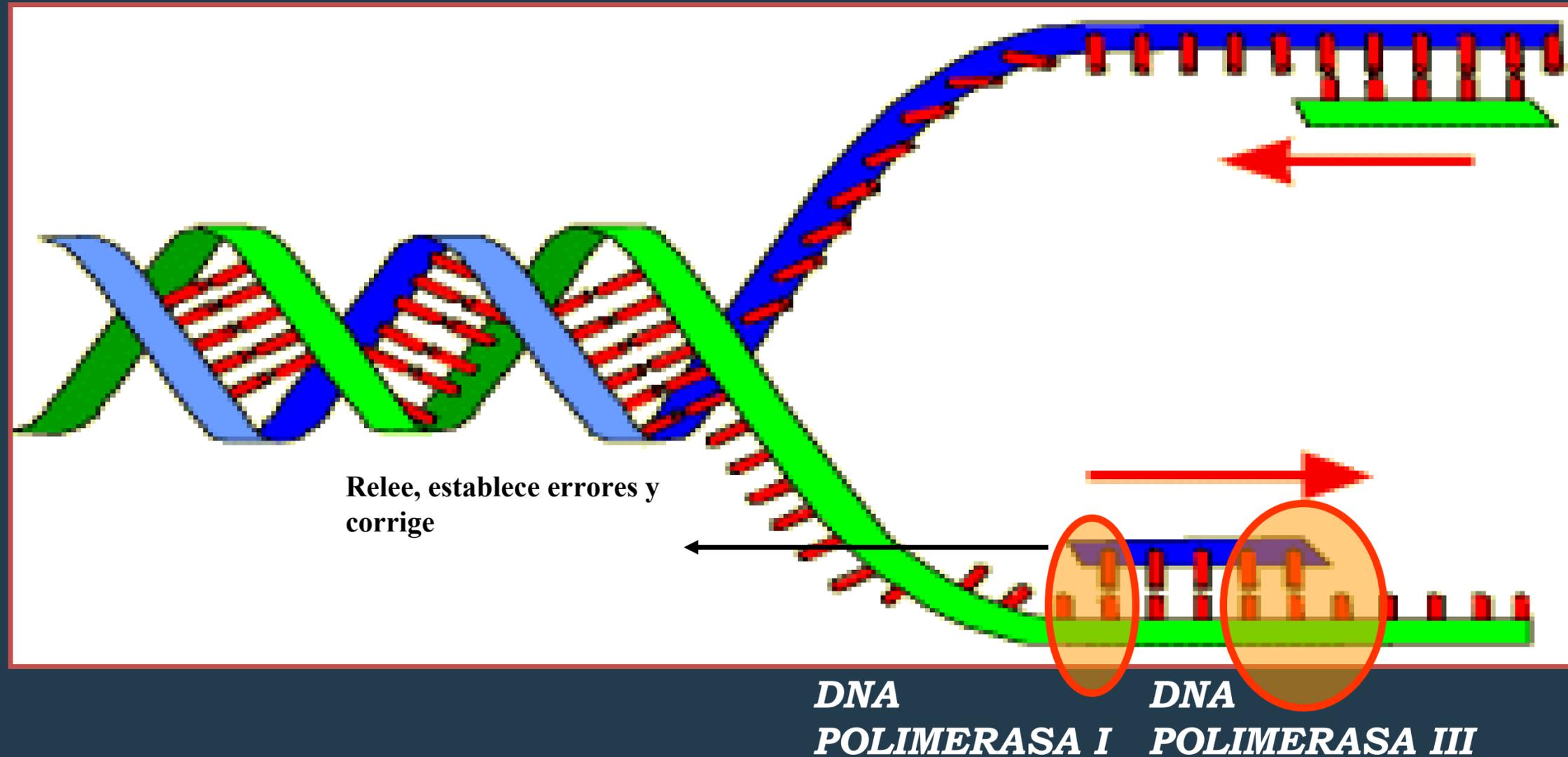
➤ La DNA POL I: 10 Nucleótidos / seg.



DNA POLIMERASA I



Correctora de pruebas



Frecuencia de error



1 / 5.000.000.000 nucleótidos

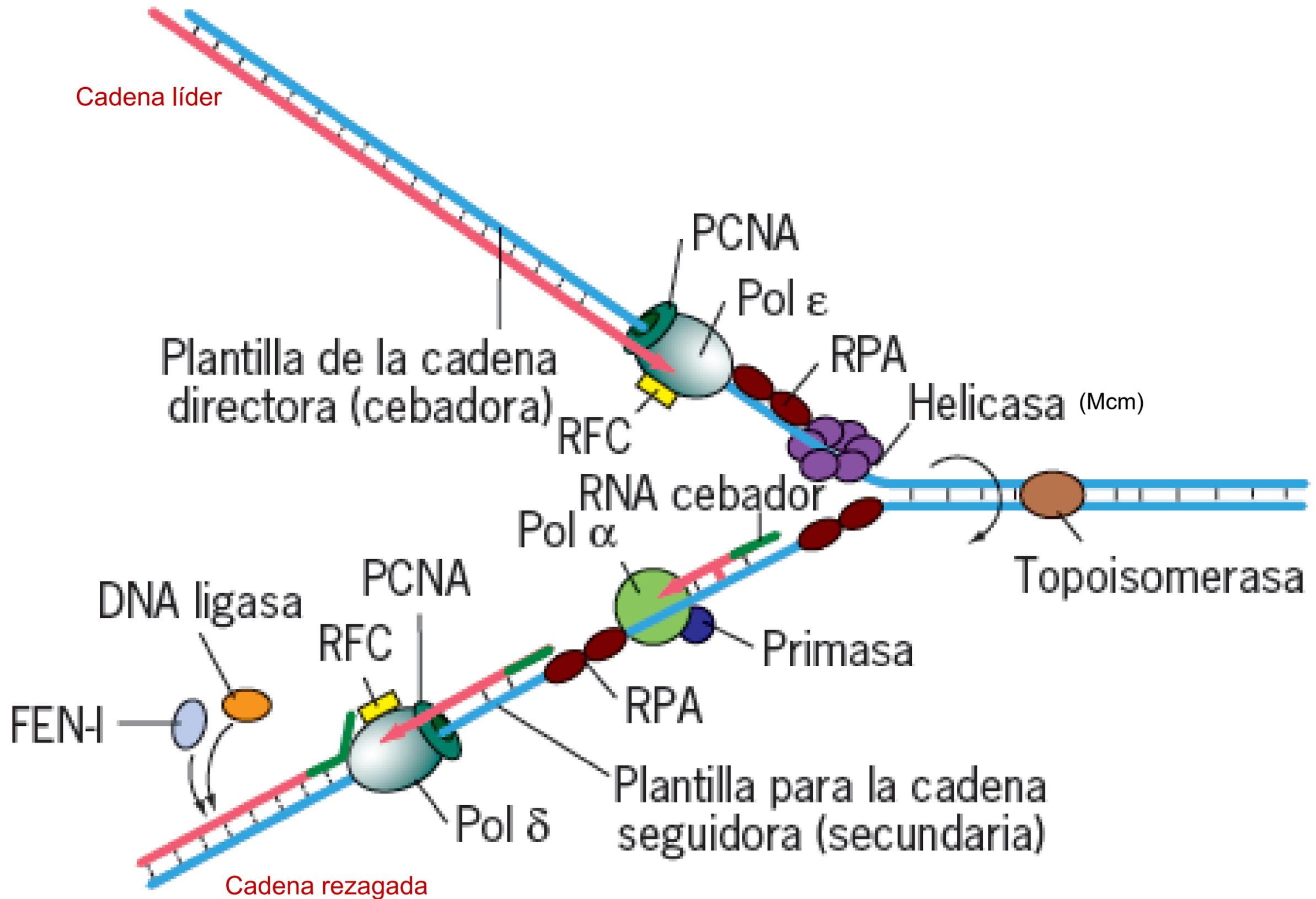
Frecuencia de error ADN pol III



1 / 50.000.000 nt



La perfección de las DNA POLIMERASAS asegura la transmisión fiel y estable de la información genética de una generación o otra.
(Puertas, 1993)



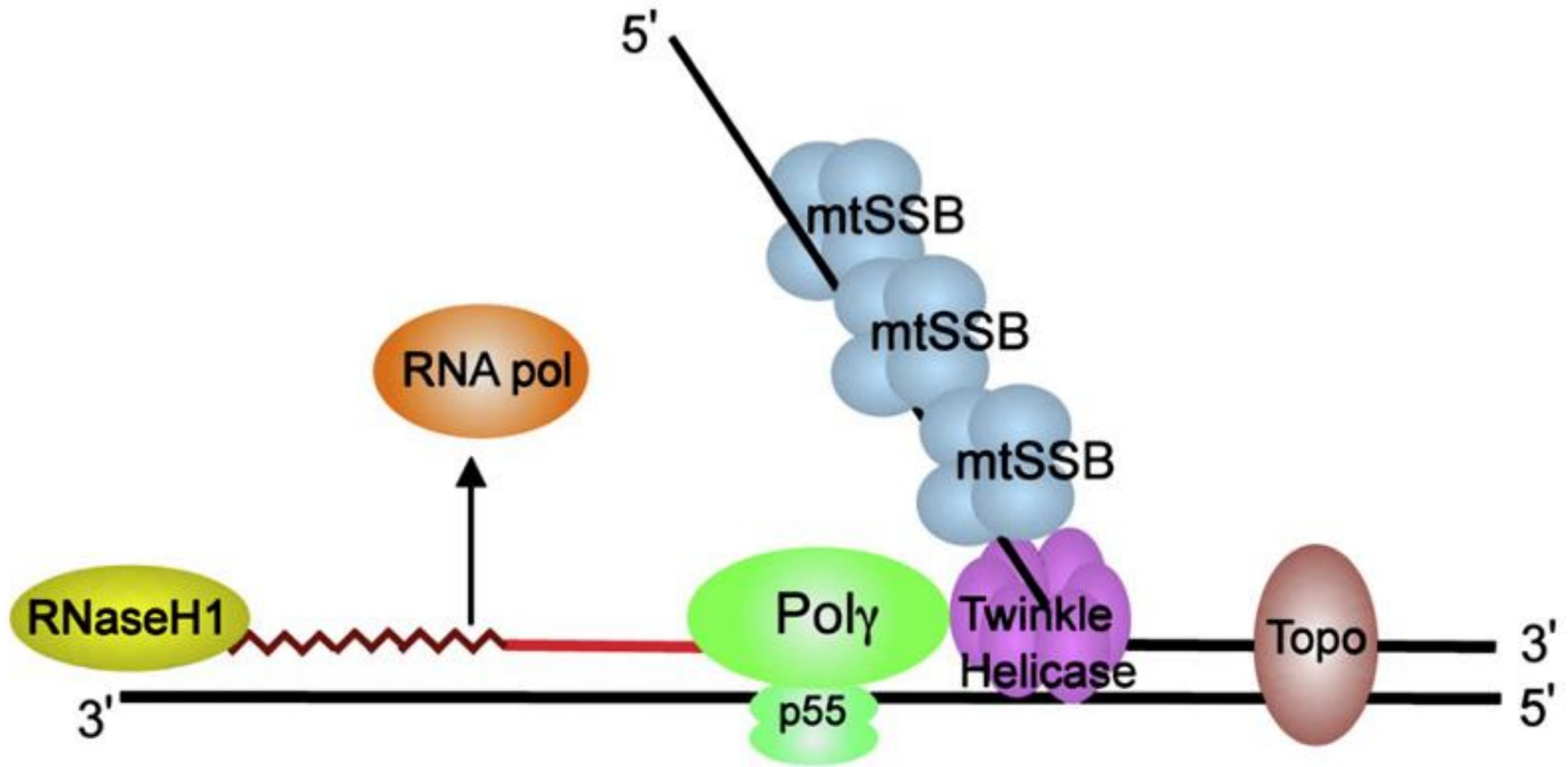
Replicación de las mitocondrias

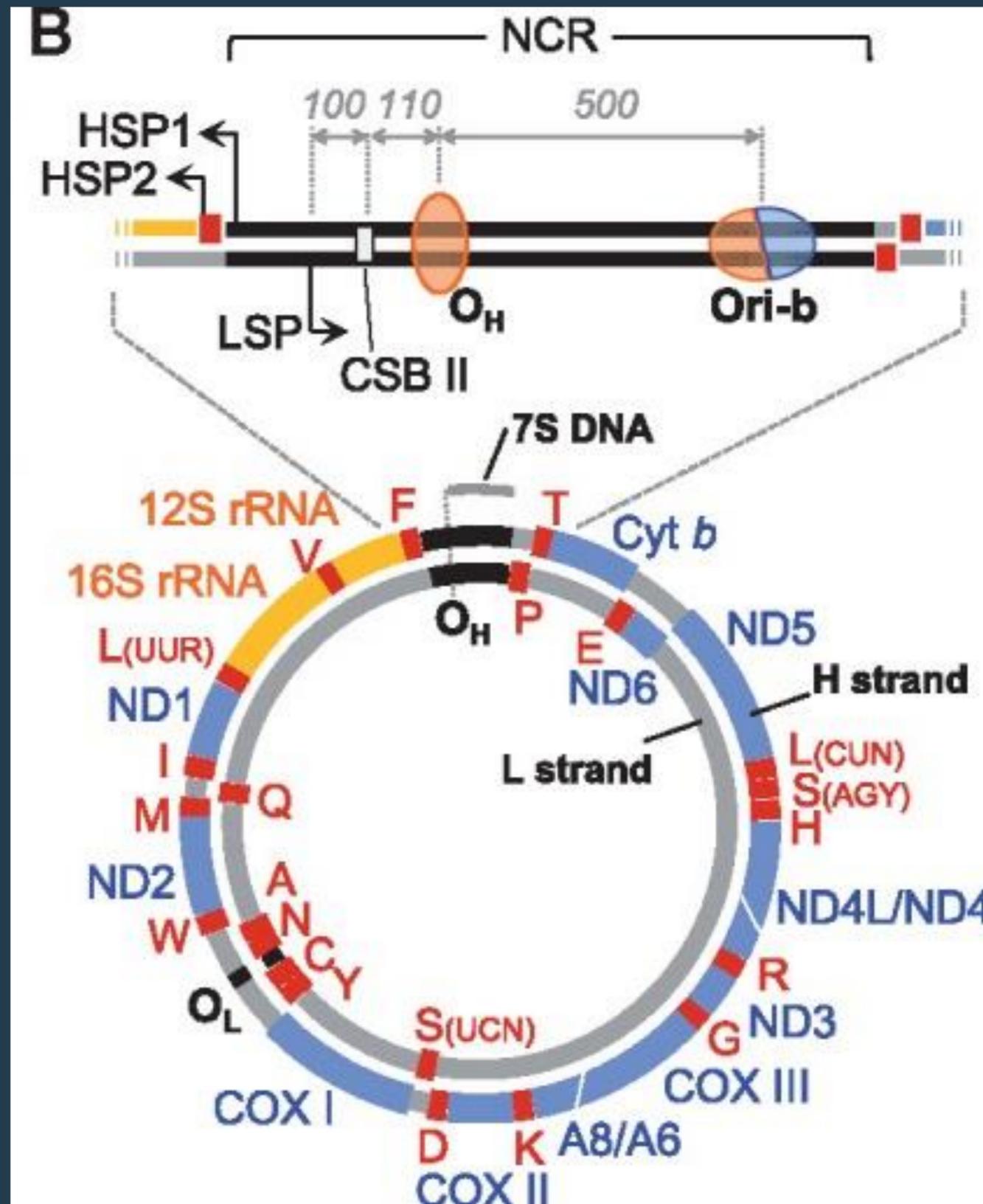


16.569 bp – ARN polimerasa (**primasa**)

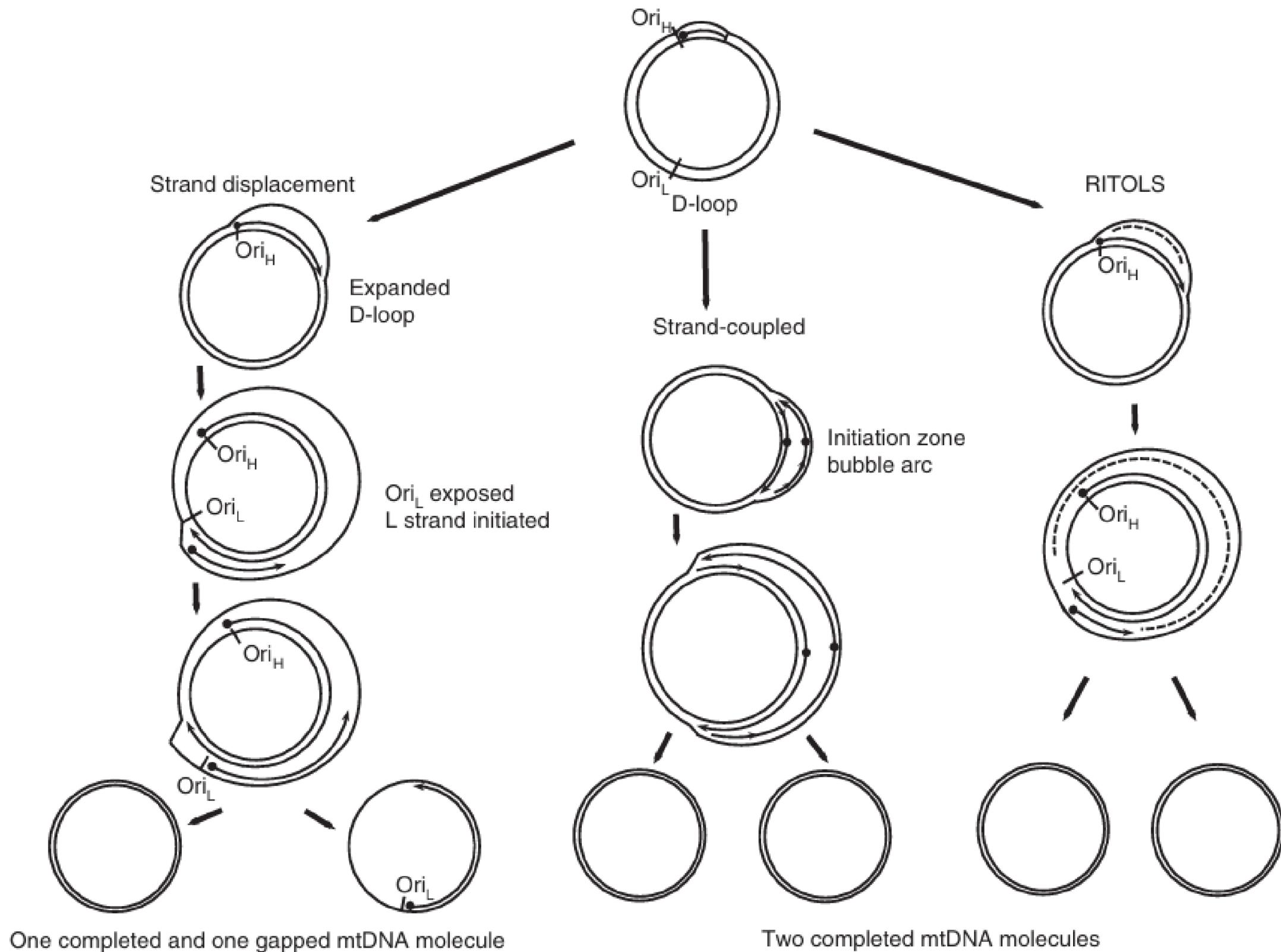
Human mitochondrial DNA replication proteins.

| Enzyme | Size | Human chromosome |
|---|---------|------------------|
| DNA polymerase γ | | |
| <i>POLG</i> | 140 kDa | 15q25 |
| <i>POLG2</i> | 55 kDa | 17q23-24 |
| Single-stranded DNA binding protein (mtSSB) | 15 kDa | 7q34 |
| Helicase | | |
| <i>C10orf2</i> (Twinkle) | 77 kDa | 10q24 |
| Topoisomerases | | |
| Topo I α | 67 kDa | 8q24.3 |
| Topo III α | 112 kDa | 17p12-11.2 |
| RNase H1 | 32 kDa | 19p13.2 |





Yasukawa T, Kang D. An overview of mammalian mitochondrial DNA replication mechanisms. *J Biochem.* 2018 Sep 1;164(3):183-193. doi: 10.1093/jb/mvy058. PMID: 29931097; PMCID: PMC6094444.

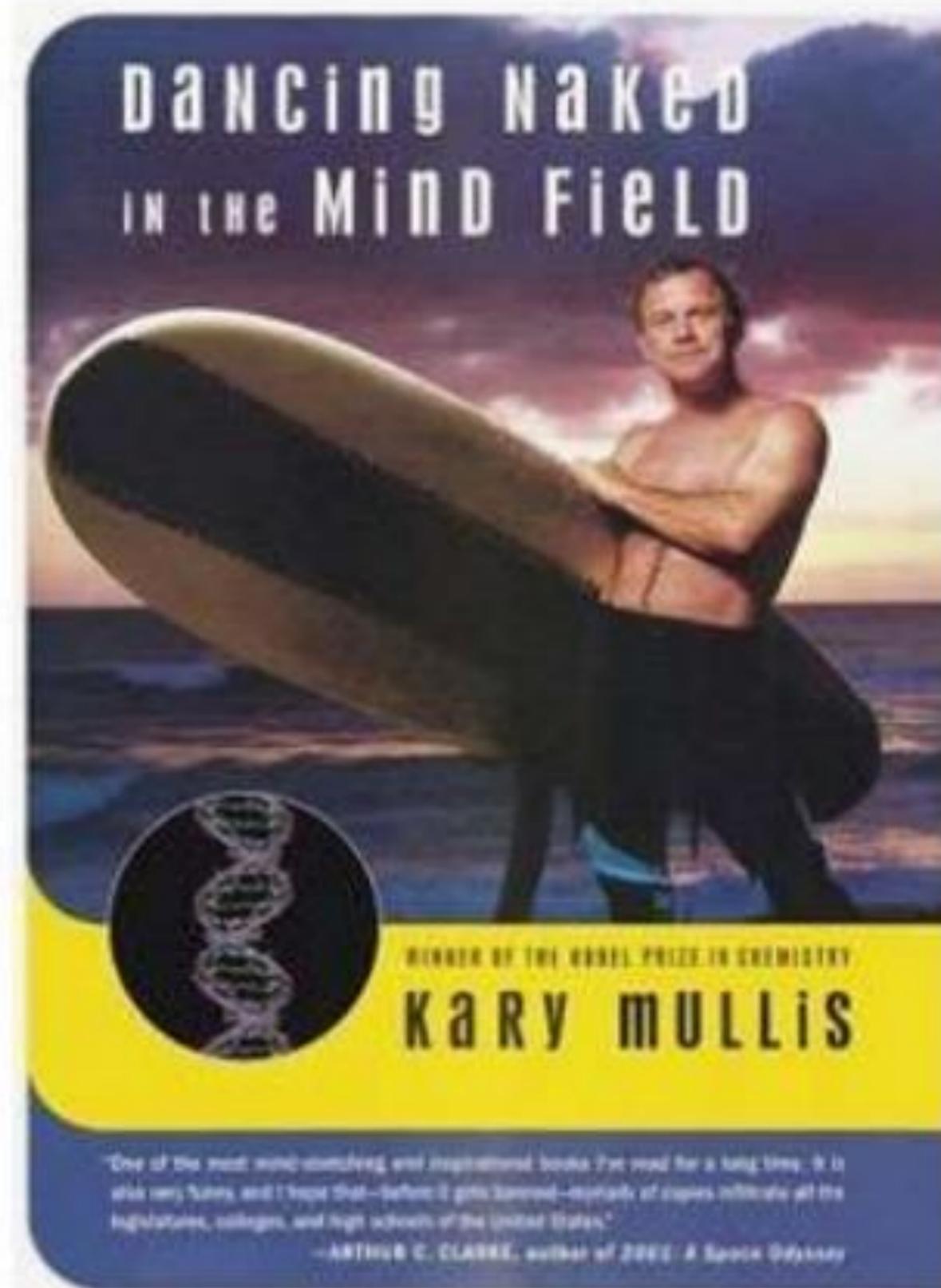


Modelo asimétrico

Modelo de hebra acoplada

ARN incorporado a lo largo de la cadena rezagada

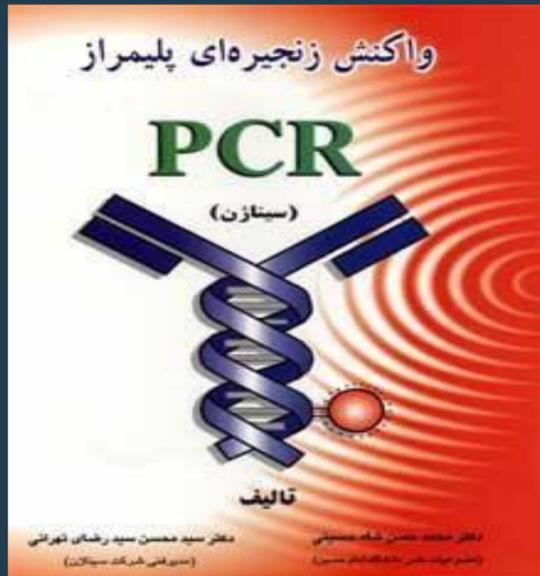
Kary Mullis
inventa la
Reacción de la
Cadena de la
Polimerasa *in*
vitro



PCR: (Kary Mullis, 1983): Especifico y Aleatorio

El PCR es un método enzimático, *in vitro*, para amplificar exponencialmente un fragmento de ADN específico preseleccionado.

Componentes:



- ➔ ADN molde
- ➔ Taq DNA POLIMERASA (*Thermus aquaticus*)
- ➔ dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP); Buffer
- ➔ Primer o cebador 1
- ➔ Primer o cebador 2
- ➔ Mg^{++}

Los iniciadores o primer's \Rightarrow complementarios a los extremos de ambas hebras de ADN blanco definiendo (el segmento a ser copiado).

Primer's \Rightarrow Principales componentes responsables de la especificidad de la reacción.

