

GENÉTICA MOLECULAR

1. Duplicación o replicación del ADN.

Se produce según las siguientes normas:

- ♦ Es semiconservativa: el ADN está formado por una hebra ya existente y otra recién sintetizada.
- ♦ Es bidireccional: progresa en dos direcciones a partir de un punto del cromosoma.
- ♦ En virus y bacterias hay un único punto de inicio; en eucariotas hay varios.
- ♦ La replicación avanza por adición de mononucleótidos en sentido 5' → 3'.
- ♦ Es semidiscontinua: En una hebra, llamada conductora, se sintetizan fragmentos grandes de forma continua, mientras en la otra, llamada retardada, se sintetizan fragmentos pequeños de forma discontinua.
- ♦ La iniciación de la síntesis de cada fragmento requiere un extremo hidroxilo libre en 3', proporcionado por un ARN cebador.

La replicación ocurre sólo una vez en cada generación celular. Podemos diferenciar las siguientes etapas:

1. Hay un a secuencia específica de nucleótidos que es el origen de la replicación. En él actúa una enzima llamada **helicasa** que rompe los puentes de H y separa las hebras.
2. La separación y desenrollamiento de las hebras produce un superenrollamiento en el resto de la molécula; para eliminarlo actúan la **topoisomerasas** que cortan una o las dos hebras y las vuelven a unir una vez eliminadas las tensiones.
3. A continuación intervienen las **proteínas estabilizadoras** o **SSB**, que mantienen la separación entre las hebras complementarias. El proceso es bidireccional y da lugar a burbujas u ojos de replicación.
4. Una ARN - polimerasa, llamada **primasa**, sintetiza un corto fragmento de ARN, de unos 10 nucleótidos, que actúa como cebador o primer para que actúe la ADN - polimerasa (ésta no puede actuar sin cebador, mientras la ARN - polimerasa sí).
5. Después interviene la ADN-polimerasa que, a partir del primer, comienza la síntesis de una hebra de ADN a partir de nucleótidos trifosfato, en sentido 5' → 3'. La energía necesaria la aportan los nucleótidos al perder los grupos fosfato. Esta hebra es de crecimiento continuo y se llama hebra conductora.
6. Sobre la hebra antiparalela, la ARN - polimerasa sintetiza un fragmento de ARN de unos 40 nucleótidos a una distancia de unos 100 a 200 nucleótidos de la señal de inicio; a partir de ellos la ADN - polimerasa sintetiza unos 100 - 200 nucleótidos de ADN, en sentido 5' → 3', llamado fragmento de Okazaki. El proceso se repite posteriormente. (En bacterias los fragmentos de Okazaki son de 1000 nucleótidos)
7. Más tarde otra ADN - polimerasa retira los segmentos de ARN y rellena los huecos con nucleótidos de ADN, y finalmente la ADN - ligasa une los diferentes fragmentos. Esta hebra es de crecimiento discontinuo, y tarda más en crecer que la otra, por lo que se llama hebra retardada.

El proceso continúa hasta la duplicación total del ADN.

2. Naturaleza del código genético.

El código genético se basa en la secuencia de nucleótidos de una de las hebras del ADN. Dado que dos nucleótidos sólo se diferencian en sus bases nitrogenadas, también podemos decir que se basa en la secuencia de pares de bases del ADN. Su interpretación fue posible gracias a los descubrimientos siguientes:

En 1955, Severo Ochoa aísla el enzima **polinucleótido fosforilasa**, capaz de sintetizar ARNm sin necesidad de modelo a partir de cualquier nucleótido: si sólo hay U en el medio, se sintetiza poli-U.

En 1961, Nirenberg relaciona polinucleótidos con polipéptidos:

- ♦ A partir de poli-U se sintetiza fenilalanina.
- ♦ A partir de poli-C se sintetiza prolina.
- ♦ A partir de poli-G no se obtienen resultados concluyentes.
- ♦ A partir de poli-A se obtiene lisina.

Puesto que hay 20 aminoácidos y sólo 4 nucleótidos, la relación sólo puede establecerse entre tripletes de nucleótidos ($4^2 = 16$; $4^3 = 64$).

Posteriormente, a partir de mezclas de nucleótidos se pudo terminar de deducir la clave genética: la relación entre tripletes de bases nitrogenadas del ARNm y aminoácidos.

Se observa que para algunos aminoácidos hay varios tripletes, que sólo difieren en un nucleótido (ventajas: un error podría dar lugar al mismo aminoácido; si no origina el mismo, en la proteína sólo habría un aminoácido diferente). Dos de los tripletes no codifican ningún aminoácido y son señales de cese de la síntesis. El codón de inicio es AUG, que codifica el aminoácido Metionina.

El mecanismo de la expresión del mensaje genético tiene dos etapas:

Transcripción: Tiene lugar en el núcleo, y se pasa de una secuencia de bases nitrogenadas de un gen (ADN) a una secuencia de bases nitrogenadas complementarias pertenecientes a un ARNm.

Traducción: Tiene lugar en los ribosomas, y convierte una secuencia de bases nitrogenadas del ARNm en una secuencia de aminoácidos.

3. Transcripción y traducción del mensaje genético.

3.1 Transcripción

Paso de una secuencia de ADN a una secuencia de ARN. Intervienen ARN - polimerasas y los cofactores σ y ρ .

➤ **En eucariotas** el proceso es el siguiente para todos los ARN:

1.- Iniciación.

Existe una **región promotora**, a la que se fija la **ARN - polimerasa II**, que tiene las **secuencias de consenso** CAAT y TATA, antes del punto de inicio.

2.- Elongación.

La síntesis continúa en sentido $5' \rightarrow 3'$. A los 30 nucleótidos se coloca una **caperuza** formada por un m7Gppp (metil-guanosín-trifosfato) en el extremo $5'$.

Ejemplo: ADN: 3'....TACGCT..... 5'
 ARNm: 5'....AUGCGA..... 3'

3.- Finalización.

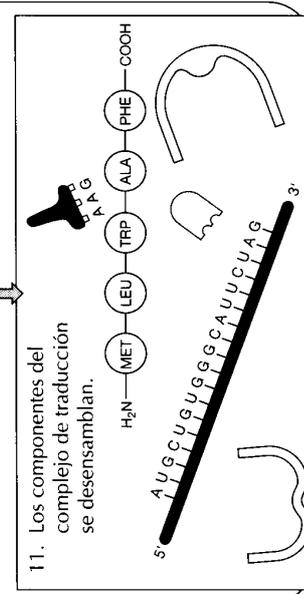
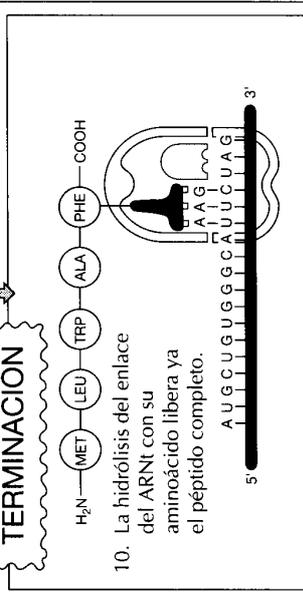
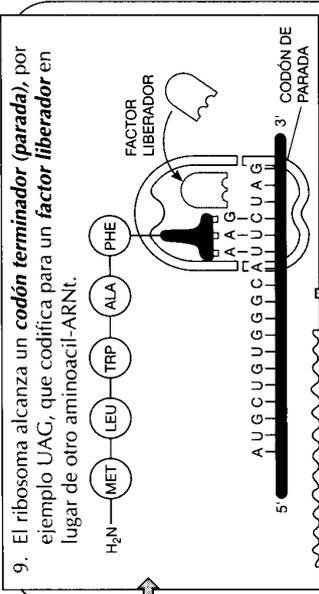
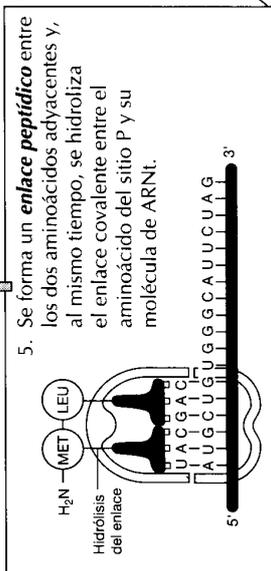
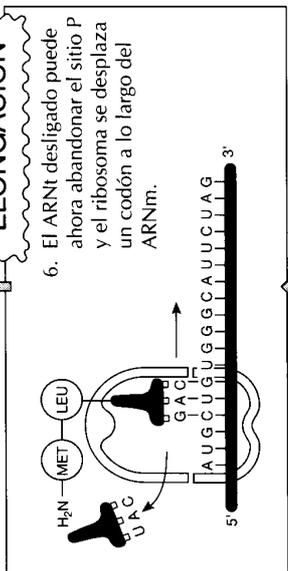
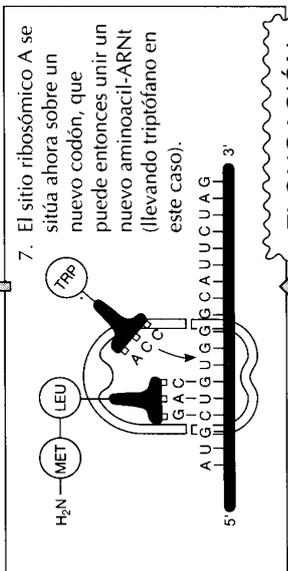
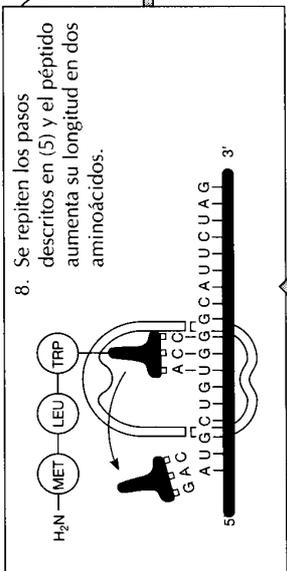
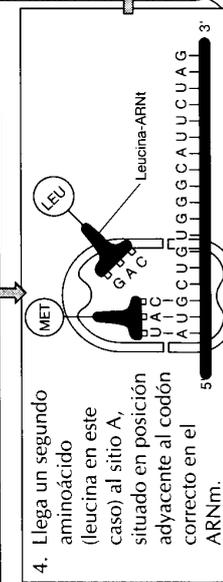
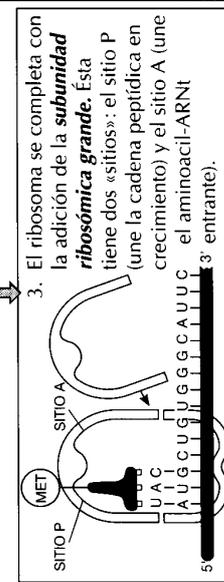
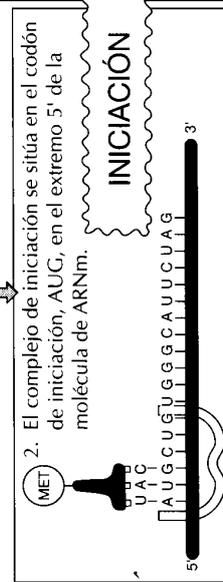
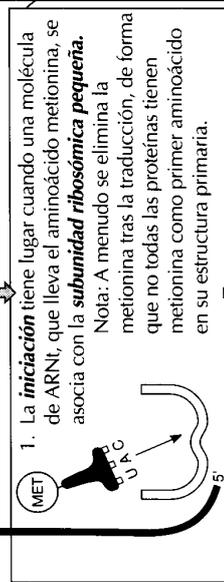
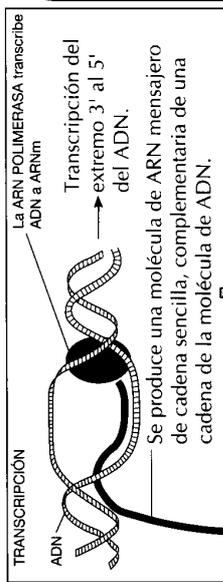
Al llegar a la secuencia TTATTT, añade 300 nucleótidos de adenina (**cola de poli-A**). Se forma así el ARN heterogéneo nuclear.

4.- Maduración.

Tiene lugar en el núcleo. Interviene la **ribonucleoproteína pequeña nuclear (RNPpn)**, que elimina los intrones; después actúan **ARN-ligasas** que empalman los exones. En el caso del ARNt, se añade un triplete CCA en $3'$ (triplete aceptor).

El ARNm eucariótico formado es, pues, monocatenario, lineal, de peso molecular entre 200.000 y 1.000.000, y está formado por:

- ♦ un m7Gppp en el extremo $5'$ (**caperuza**)



La traducción del ARN mensajero comprende iniciación, elongación y terminación.

- ♦ a éste le sigue un pequeño fragmento sin información (**región líder**)
- ♦ a continuación, otro con información que suele empezar con AUG.
- ♦ en el extremo 3' tiene una **cola** de poli-A de 300 nucleótidos.

La caperuza y la cola sirven de estabilizadores frente a las exonucleasas. Contiene información para la síntesis de una sola cadena polipeptídica, y se degrada a los pocos minutos de su síntesis.

- **En bacterias** no hay intrones, las secuencias de consenso son distintas, y no hay poli-A final, sino un bucle formado por la complementariedad de nucleótidos C y G.

3.2 Biosíntesis de las proteínas.

La información contenida en el ARNm debe convertirse en una secuencia de aminoácidos que formarán una proteína con actividad enzimática. consta de las siguientes etapas:

3.2.1 Activación de los aminoácidos.

Los aminoácidos presentes en la célula, en presencia de ATP y del enzima **aminoacil-ARNt-sintetasa**, se asocian a un ARNt específico y forman un aminoacil-ARNt, formado por la unión del aminoácido (por su grupo -COOH) al extremo 3' del ARNt, que siempre termina por el triplete aceptor -CCA. Se libera AMP + PPi y el enzima queda libre.

3.2.2 Traducción.

1) Iniciación.

El ARNm se une a la subunidad menor de los ribosomas gracias a la región líder, que tiene una secuencia complementaria con el ARNr; posteriormente se une el aminoacil-ARNt gracias al triplete anticodón del asa opuesta al aminoácido, que es complementario del primer triplete codón del ARNm. Después se une la subunidad grande formando el complejo activo, con dos centros activos: el P, al que se une el primer aminoacil-ARNt, y el A, centro aceptor de nuevos aminoacil-ARNt.

El primer triplete que se traduce es AUG, por lo que el primer aminoácido es metionina. A menudo después es retirado.

El proceso requiere consumo de GTP.

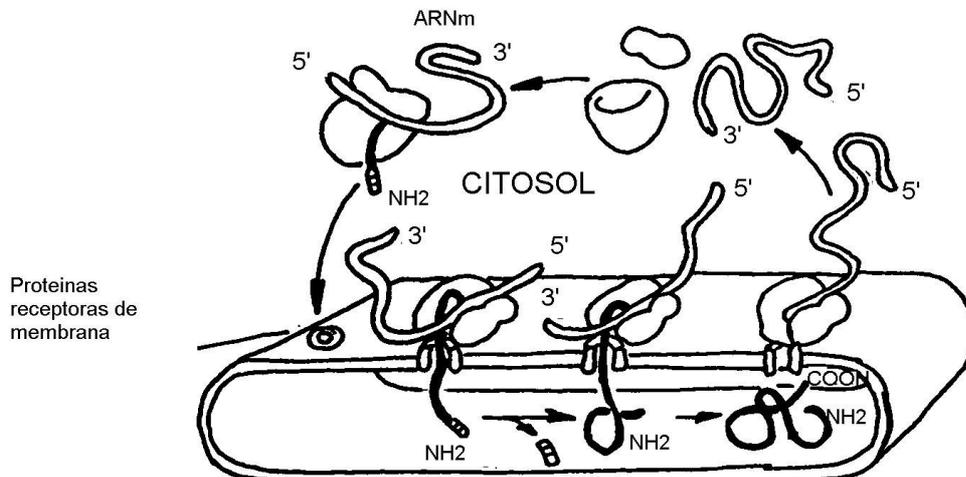
2) Elongación.

El segundo aminoacil-ARNt llega al centro A.

Se establece un enlace peptídico entre los dos aminoácidos, catalizado por el encima **peptidil-transferasa**.

El primer ARNt se queda sin aminoácido y sale del ribosoma.

Se produce **translocación ribosomal**: El ARNt (unido al dipéptido) que estaba en el centro A pasa al centro P, y el centro A recibe a un tercer aminoacil-ARNt.



El proceso requiere consumo de GTP.

3) Finalización.

El final de la síntesis se produce al llegar a uno de los tripletes sin sentido: UAA, UAG y UGA. Estos son reconocidos por los **factores proteicos de liberación (FR)**, que se instalan en el centro A y liberan la cadena polipeptídica del último ARNt. A continuación se separan el ARNm y las dos subunidades del ribosoma.

3.2.3 Asociación de varias cadenas polipeptídicas.

Conforme se sintetiza la cadena polipeptídica, va adoptando determinadas estructuras secundaria y terciaria mediante enlaces por puente de H y disulfuro.

Al finalizar la síntesis, algunas ya son activas, y otras debe sufrir algunas modificaciones:

- ♦ Eliminar algunos aminoácidos (normalmente el aminoácido iniciador met).
- ♦ Unirse a iones o coenzimas.
- ♦ Asociarse varias cadenas polipeptídicas (estructura cuaternaria).

3.3 Control de la expresión génica.

El ARNm tiene una vida muy corta; si regulamos la síntesis de ARNm, regularemos también la síntesis de proteínas, de modo que sólo se sintetizen las proteínas necesarias. La regulación depende del sustrato disponible, en procariontes, y del ambiente hormonal del medio interno en eucariotes.

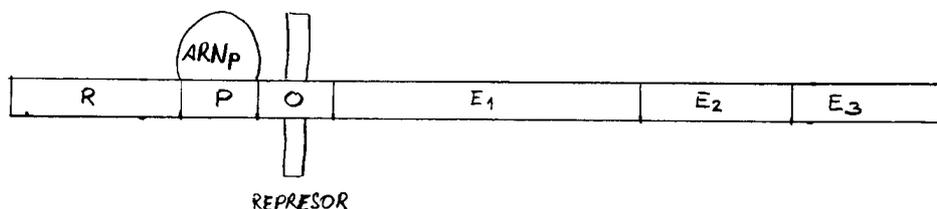
3.3.1 El operón.

En los años 50 Jacob y Monod observaron que si a un cultivo bacteriano se añade el producto final de una ruta metabólica, dejan de producirse todas las enzimas que intervienen en esta ruta metabólica. En 1961 los mismos autores propusieron el modelo del operón para explicar este control.

Un operón está formado por varios **genes estructurales**, que codifican las proteínas enzimáticas, y **genes reguladores**, que codifican otras proteínas, llamadas **represores**, que controlan la actividad de los genes estructurales. El operón puede actuar:

Por inducción enzimática: caso del **operón lac** de *Escherichia coli*, que desdobra la lactosa en glucosa y galactosa. El represor se une a una zona llamada operador, antes de los genes estructurales, e impide que actúe la ARN-polimerasa. En presencia de lactosa (el sustrato de la reacción), ésta se une al represor y lo libera del operador, permitiendo la síntesis de los enzimas que catalizan el catabolismo de la lactosa.

Por represión enzimática o por producto final: caso del **operón his** de *E. coli*, responsable de la síntesis de histidina. Si se añade al medio histidina, el represor se activa y se une a la zona promotor impidiendo la síntesis enzimática.



3.3.2 Control en eucariotes.

No todas las células expresan los mismos genes: depende del tejido en que se encuentren. Las células de un tejido sólo son células diana para una hormona determinada y no para otras, en función de los receptores de membrana que tengan, y éstas inducen la transcripción de determinados genes, bien directamente, en el caso de hormonas lipídicas que entran en la

célula, o bien a través de **AMP cíclico**, que se forma cuando hormonas proteicas se unen a receptores específicos de membrana, sin entrar en la célula.

Actividades

1.- Completa el cuadro, especificando la función de las enzimas que intervienen en la duplicación del ADN

ENZIMA	FUNCIÓN	PROCESOS EN LOS QUE INTERVIENE

2.- En un segmento de una cadena de ADN la secuencia de bases es

3' – TACAAGTTTGGTACTTG – 5'. ¿Cuál sería la secuencia de aminoácidos codificada por el ARNm?

3.- Si se tiene el siguiente péptido: arg-lys-pro-met, y se sabe que las moléculas de ARNt empleadas en su síntesis tienen los siguientes anticodones:

3'-GGU-5' , 3'-GCU-5' , 3'-UUU-5' , 3'-UAC-5'

Determina la secuencia de nucleótidos del ADN para la cadena molde del gen que codifica para ese péptido.