

5 ÁCIDOS NUCLEICOS

I. CONCEPTO

- Biomoléculas constituidas por C, H, O, N y P. Son macromoléculas formadas por la polimerización de nucleótidos. Son responsables del almacenamiento, interpretación y transmisión de la información genética. Se encuentran normalmente asociados a proteínas, formando nucleoproteínas.

II. COMPONENTES DE LOS NUCLEÓTIDOS

A. Pentosas

- β -D-ribofuranosa (ARN) y β -D-desoxirribofuranosa (ADN)

B. Bases nitrogenadas

- Compuestos heterocíclicos de C y N de carácter básico

1. Bases pirimidínicas

- Citosina (2-oxi-4-aminopirimidina) (ARN y ADN)
- Uracilo (2,4-dioxipirimidina) (ARN)
- Timina (5-metil-2,4-dioxipirimidina) (ADN)

2. Bases púricas

- Adenina (6-aminopurina) (ARN y ADN)
- Guanina (2-amino-6-oxipurina) (ARN y ADN)

C. Ácido fosfórico - (H_3PO_4)

III. NUCLEÓSIDOS

A. Concepto

- Pentosa + Base nitrogenada

B. Enlace N-glucosídico

- Enlace N-glucosídico - C 1' de la pentosa y N 1 de las bases pirimidínicas y 9 de las púricas.

C. Nomenclatura

- Ribonucleósidos: Adenosina, Guanosina, Citidina y Uridina.
- Desoxirribonucleósidos: Desoxiadenosina, Desoxiguanosina, Desoxicitidina y Timidina.

IV. NUCLEÓTIDOS

A. Concepto

- Nucleósido + A. ortofosfórico. Ésteres fosfóricos de los nucleósidos (suele ser en el C 5').

B. Nomenclatura

- Ribonucleótidos: AMP (adenosina monofosfato), GMP, CMP Y UMP.
- Desoxirribonucleótidos: dAMP (desoxiadenosina monofosfato), dGMP, dCMP Y dTMP.

C. Enlace fosfodiéster

- Enlace fosfodiéster 3'-5'. Es el enlace que sirve de unión entre los nucleótidos de un ácido nucleico. El mismo grupo fosfato esterifica al -OH en posición 3' de un nucleótido y al -OH en posición 5' de otro nucleótido. En una cadena polinucleotídica habrá siempre un extremo con el grupo 3' libre y el otro con el grupo 5' libre.

D. Otros nucleótidos de interés biológico (nucleótidos no nucleicos)

1. AMP_c

- Un grupo fosfato esterifica los -OH en posición 5' y 3'. Actúa como segundo mensajero, intermediario entre moléculas extracelulares (hormonas, neurotransmisores) y ciertas reacciones intracelulares que conducen a una respuesta celular.

2. ATP y GTP (nucleótidos trifosfato)

- Moléculas con una elevada energía química potencial debido a los enlaces entre los grupos fosfato. Actúan como vectores energéticos en las reacciones metabólicas.

3. FAD, FMN, NAD y NADP

- Coenzimas de las deshidrogenasas que intervienen en las reacciones metabólicas en las que hay transferencia de protones y electrones (reacciones de óxido-reducción). Todos ellos pueden aparecer en dos formas, una oxidada y otra reducida.
- FMN (Flavinmononucleótido) – derivado de la vitamina B2 (riboflavina)
- FAD (Flavinadenindinucleótido) – derivado de la vitamina B2 (riboflavina)
- NAD (Nicotinadenindinucleótido) – derivado de la niacina (factor PP)
- NADP (Nicotinadenindinucleótido-fosfato) – derivado de la niacina (factor PP)

4. Coenzima A

- Adenosina + difosfato + ácido pantoténico (vitamina) + β -aminoetanotiol.
- Interviene en la transferencia de grupos acilo en el metabolismo de los ácidos grasos.

V. ÁCIDO DESOXIRIBONUCLEICO (ADN)

A. Concepto

- Macromoléculas formadas por la polimerización de desoxirribonucleótidos, con desoxirribosa como pentosa y A, T, G y C como bases nitrogenadas. En el hombre pueden alcanzar 50 cm x 2 nm de anchura.

B. Estructura

1. Estructura primaria

- Secuencia ordenada de desoxirribonucleótidos.
- La información contenida en el ADN depende de esta secuencia.

2. Estructura secundaria (la doble hélice)

- R. Franklin y M.H.F. Wilkins (1950-53) – mediante experimentos de difracción de rayos X determinaron que el ADN tiene estructura helicoidal.
- E. Chargaff (1949-53) – Realizó análisis cuantitativo de las cuatro bases en muestras de ADN. Llegó a la conclusión de que la proporción de bases púricas y pirimidínicas era siempre la misma y que $A/T=1$, $G/C=1$.

- J.D. Watson y F. Crick (1953) – Elaboraron el modelo de la doble hélice del ADN:
 - Dos cadenas polinucleotídicas antiparalelas (una orientada en dirección 5'-3' y la otra 3'-5').
 - Complementarias (cada A de una cadena se une mediante dos puentes de hidrógeno a una T de la otra cadena y cada G se une mediante tres puentes de hidrógeno a una C; A=T, G≡C).
 - Arrollamiento helicoidal pleconómico (las cadenas están enrolladas alrededor de un eje imaginario y no pueden ser separadas sin desenrollarlas previamente). Paso de hélice 34 nm (10 bases).

3. Estructura terciaria

- ADN asociado a proteínas básicas, normalmente histonas.
- Constituye la cromatina que aparece en el núcleo de las células eucarióticas.

a. El collar de perlas

- **Nucleosoma:** octámero de histonas (2x H2A, H2B, H3 y H4)+ 200 pares de bases (140 alrededor del octámero). Resulta una fibra de ADN de 10 nm de grosor.

b. Estructura cristalina

- ADN asociado a protaminas que aparece en el núcleo de los espermatozoides de ciertos peces. El grado de empaquetamiento es mayor.

4. Empaquetamiento del ADN

- Fibra de 30 nm. Enrollamiento del collar de perlas sobre sí mismo.
- Solenoide, seis nucleosomas por vuelta. Estabilizado por las H1.
- Existen grados de empaquetamiento mucho mayores en la cromatina.

C. Tipos de ADN

- ADN lineal bicatenario – Aparece asociado a proteínas (histonas) constituyendo la cromatina del núcleo de las células eucarióticas.
- ADN circular bicatenario – forma el nucleoide bacteriano, en el que aparece desnudo (no asociado a proteínas) y en cloroplastos y mitocondrias.
- ADN monocatenarios – aparecen en algunos virus.

D. Función del ADN e importancia biológica

- El ADN es el portador de la información hereditaria.

1. Concepto de gen

- Tradicionalmente se ha denominado gen a cada fragmento de ADN responsable de la determinación de una característica hereditaria concreta. Actualmente se considera que un gen es un fragmento de ADN que lleva la información necesaria para sintetizar una determinada cadena polipeptídica.

2. Experimentos que demostraron el papel del ADN en la herencia

a. Experimentos de F. Griffith (1928)

- Descubrió el fenómeno de transformación en la bacteria *Streptococcus pneumoniae*. Esta bacteria presenta dos cepas diferentes: la cepa R, no virulenta, y la cepa S, que provoca neumonía. Griffith descubrió que la cepa R podía transformarse en virulenta al mezclarse con bacterias S fragmentadas.

b. Experimentos de Avery, MacLeod y McCarty (1943)

- Descubrieron que el ADN es el responsable de la transformación de *S. pneumoniae*.

c. Experimentos de Alfred D. Hershey y Martha Chase (1952)

- Demostraron, mediante marcaje radiactivo selectivo del ADN (usando ³⁵P) y de las proteínas (usando ³²S), que el ADN del fago T2 era la molécula que se introducía en la célula bacteriana para la reproducción viral.

E. Duplicación del ADN

- El modelo de Watson y Crick apuntaba la posibilidad (por la complementariedad de las bases) de que las moléculas de ADN pudieran duplicarse para formar dos moléculas hijas idénticas.
- La replicación es el proceso que garantiza que cuando una célula se divide cada una de las células hijas reciba una copia exacta e íntegra de la información hereditaria de la célula madre.

1. Tipos de replicación. Experimentos de Meselson y Stahl

- Cultivaron *Escherichia coli* en un medio en el que el nitrógeno presente era nitrógeno pesado (¹⁵N). Purificaron el ADN de varias generaciones de las bacterias cultivadas y lo centrifugaron en un gradiente de densidad.

2. Replicación semiconservativa

- Los experimentos de Meselson y Stahl llevaron a la conclusión de que la replicación del ADN es un proceso semiconservativo en el que cada una de las moléculas hija contiene una hebra de la molécula original y otra neoformada.

3. Proceso

- **Requerimientos:** A, G, C y T activadas (trifosforiladas en 5'); cebador (normalmente ARN; la ADN-polimerasa (ADN-polimerasa) solo es capaz de unir nucleótidos a un fragmento de ácido nucleico ya sintetizado); ADN patrón; Mg²⁺; enzimas que catalizan el proceso:

- Kornberg (1956) aisló en *E. coli* el enzima ADN-polimerasa capaz de provocar la replicación del ADN in vitro. Posteriormente se descubrió que en proceso de replicación intervienen distintas ADN-polimerasas.
- La ADN-polimerasa tiene varios centros activos: para la unión con la cadena molde; para la unión de los nucleótidos trifosfato; para el reconocimiento del –OH 3' del último nucleótido unido. Las ADN-polimerasas solo añaden nucleótidos en el extremo 3' (**dirección 5'→3'**). Las ADN polimerasas tienen también actividad exonucleasa, es decir, tienen capacidad de separar nucleótidos de los extremos de las cadenas.
- Además intervienen otros enzimas: helicasas (desespiralizan las dos cadenas); girasas y topoisomerasas (eliminan las tensiones); primasa (ARN polimerasa) para formar el cebador; y ligasa (une los fragmentos formados en la hebra de replicación discontinua).

- Etapas

- La replicación del ADN **se basa en la complementariedad** de las bases.
- La replicación es **bidireccional**: en una cadena la replicación es continua (hebra conductora), pero en la otra es discontinua (hebra retardada).
- 1ª etapa: iniciación
La helicasa rompe los puentes de H entre las dos cadenas provocando la aparición de una **burbuja de replicación**. Las girasas y topoisomerasas eliminan las tensiones generadas por la separación de las cadenas y evi-

tan que éstas vuelvan a enrollarse. Puesto que el proceso es bidireccional, en cada extremo de la cadena se forma una horquilla de replicación. Las primasas sintetizan oligonucleótidos de ARN (5-30 nucleótidos) que servirán de cebadores a las ADN-polimerasa III. La ADN-polimerasa III añade el primer nucleótido (por complementariedad con la cadena molde) al extremo 3' del cebador.

▪ 2ª etapa: elongación

La ADN-polimerasa avanza un nucleótido en la dirección de síntesis, reconoce el siguiente nucleótido de la cadena molde y coloca el nucleótido complementario; ahora cataliza la formación del enlace fosfodiéster con el nuevo nucleótido obteniendo la energía necesaria de la separación de los dos grupos fosfato sobrantes (recuerda que se van uniendo nucleótidos trifosfato).

La hebra conductora es de crecimiento continuo puesto que la horquilla se va abriendo en el mismo sentido que la ADN-polimerasa III añade los nucleótidos. Sin embargo en la hebra retardada, a partir del cebador la ADN-polimerasa III sintetiza unos 1000 nucleótidos de ADN, alejándose de la horquilla de replicación, formándose el denominado fragmento de Okazaki. Según se va abriendo la horquilla se sintetizan nuevos fragmentos, por lo que podemos decir que la hebra retardada es de crecimiento discontinuo.

Después, otra ADN-polimerasa (la ADN-pol I) distinta retira los fragmentos de ARN que han hecho de cebador y rellena los huecos con nucleótidos de ADN. La ligasa se encargará de empalmar los fragmentos.

▪ 3ª etapa: terminación

La elongación finaliza en las células eucarióticas cuando la horquilla de replicación alcanza a la adyacente y en las células procariotas cuando se encuentran los dos extremos que iban creciendo en sentidos puestos. Finalizada la elongación se eliminan los últimos cebadores y se sustituyen por nucleótidos de ADN de una forma semejante a la mencionada anteriormente.

En las células eucarióticas en este proceso de terminación tiene que intervenir un nuevo enzima, la telomerasa, que añaden a los extremos del cromosoma secuencias de ADN repetitivo no codificante (denominadas telómeros).

- Diferencias en el proceso en células procariotas y eucariotas

- En general el proceso es más complejo en células eucariotas debido a que el ADN se encuentra íntimamente asociado a las histonas.
- En la replicación del ADN en procariotas interviene tres ADN-polimerasas (I, II y III), mientras que en las eucarióticas intervienen cinco (α , β , γ , δ y ϵ).
- En general, en las células eucarióticas intervienen muchas más proteínas en el proceso.
- En procariotas hay sólo un punto de origen (marcado por una secuencia específica de nucleótidos reconocido por la ADN-polimerasa), mientras que en las eucariotas existen múltiples puntos en cada cromosoma (hasta 30.000).

VI. ÁCIDO RIBONUCLEICO (ARN)

A. Concepto

- Macromoléculas formadas por la polimerización de nucleótidos, con ribosa como pentosa y A, U, G y C como bases nitrogenadas. Son más frecuentes que en el ADN otro tipo de bases.
- Menor peso molecular que el ADN. Sus funciones están relacionadas con la interpretación del mensaje genético.

B. ARN de Transferencia (ARN_t)

- 10% del total de ARN de la célula. 75-95 nucleótidos. Posee hasta un 10% de bases diferentes de las comunes. Aporta aminoácidos durante la síntesis de las proteínas.

1. Estructura secundaria

- Cada molécula posee zonas de complementariedad (brazos) y otras no apareadas (bucles).
- Cada bucle tiene una función: unión al ribosoma; reconocimiento de las aminoacil ARN_t sintetetasas; anticodon.

2. Especificidad de los ARN_t (anticodon)

El anticodon es una secuencia de tres nucleótidos que determina qué aminoácido se une la ARN_t. El aminoácido ω -respondiente se une al único brazo que no tiene bucle y que se conoce como brazo aceptor del aminoácido.

C. ARN Mensajero (ARN_m)

- 2-5 % del total del ARN de la célula. Son moléculas lineales que se forman en el núcleo por complementariedad a partir de un gen (transcripción). Llevan una copia del mensaje genético contenido en el ADN al citoplasma, donde se encuentran los ribosomas que lo emplearán como molde en el proceso de síntesis de proteínas (traducción).

D. ARN Ribosómico (ARN_r)

- 80-85 % del ARN celular. Tiene zonas plegadas en doble cadena. Se asocia a proteínas para constituir los ribosomas. Existen varios ARN_r que se diferencian en su peso molecular (y en su coeficiente de sedimentación (Svedberg)).

E. ARN Nucleolar (ARN_n)

- Son moléculas precursoras de los ARN que forman los ribosomas.