

Tema 8. Genética molecular

1. El descubrimiento del ADN

El ADN fue identificado inicialmente en 1868 por Friedrich Miescher en los núcleos de las células de pus obtenidas de los vendajes quirúrgicos desechados.

Llamó a la sustancia **nucleína**, observó la presencia de fósforo, y separó la sustancia en una parte básica (que ahora se denomina ADN) y una parte ácida (una clase de proteína ácida que se unen al ADN básico).

Robert Feulgen, en 1914, describió un método para revelar por tinción el ADN, basado en un colorante, la fucsina. Encontró, utilizando este método, la presencia de ADN en el núcleo de todas las células eucariotas, específicamente en los cromosomas.

En la década de 1920, el bioquímico Levene analizó los componentes del ADN y encontró que contenía cuatro bases nitrogenadas: citosina y timina (pirimidinas), adenina y guanina (purinas); el azúcar desoxirribosa; y un grupo fosfato.

2. Estructura química del ADN. La doble hélice

Cada molécula de ADN está constituida por dos cadenas o bandas unidas entre sí formando una doble hélice. Estas cadenas forman una especie de escalera retorcida que se llama doble hélice.

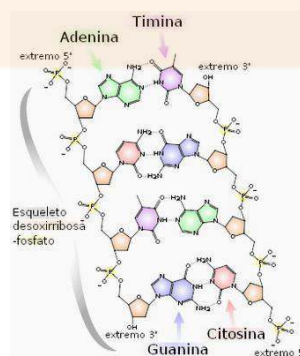
Las dos cadenas de nucleótidos que constituyen una molécula de ADN, se mantienen unidas a consecuencia de los enlaces (puentes de hidrógeno) entre las bases nitrogenadas de ambas cadenas.

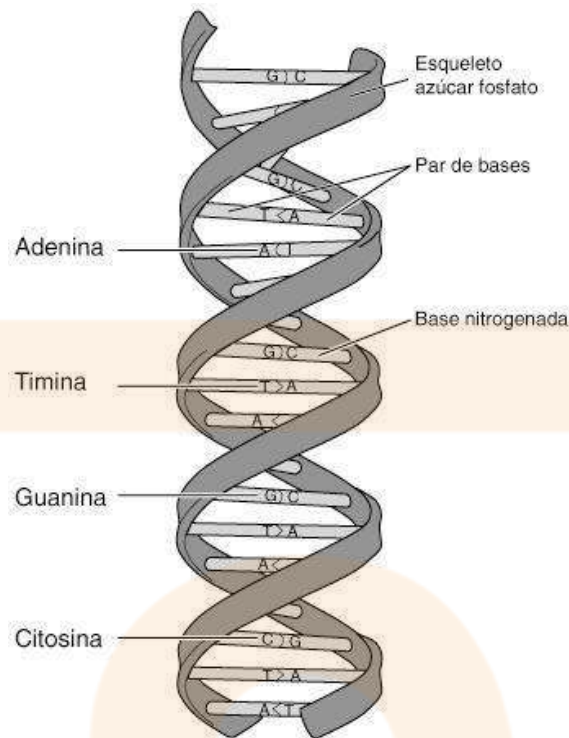
Cada nucleótido está formado **por tres unidades**:

- una molécula de azúcar llamada desoxirribosa,
- un grupo fosfato,
- uno de cuatro posibles compuestos nitrogenados llamados bases: adenina (A), guanina (G), timina (T) y citosina (C).

Estas subunidades se organizan de la siguiente forma:

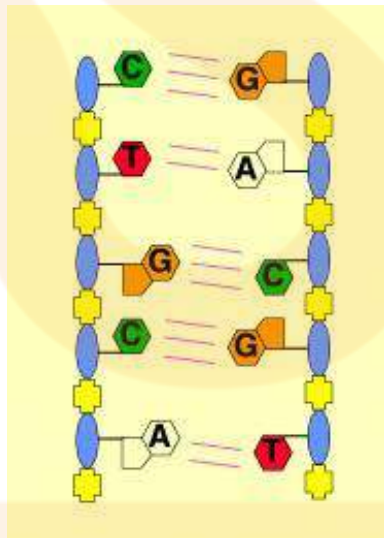
- Enlazadas la desoxirribosa-fosfato formando los laterales de la hélice.
- Las bases están enfrentadas por parejas, mirando hacia el interior y forman el interior.





La estructura en doble hélice del ADN, posee un apareamiento químico de bases limitado, de forma que la adenina (A) sólo se puede unir con la timina (T) y la guanina (G) con la citosina (C).

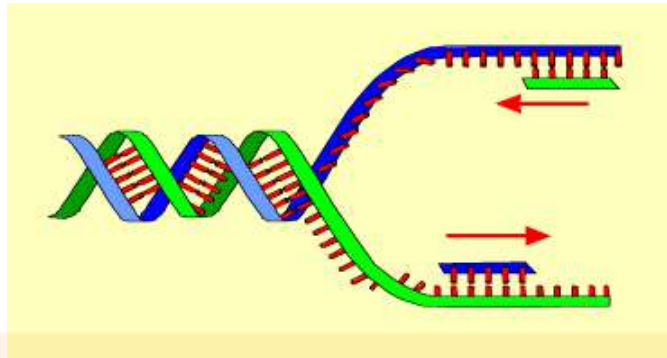
(A-T; G-C)



Ello implica que el orden o secuencia de bases de una de las cadenas delimita automáticamente el orden de la otra. Por eso se dice que las cadenas son complementarias. Una vez conocida la secuencia de las bases de una cadena, se deduce inmediatamente la secuencia de bases de la complementaria.

3. Replicación del ADN

El ADN se replica de manera **semiconservativa**. Cada hebra de ADN forma una hebra complementaria y cada célula hija recibe una molécula de ADN que consta de una hebra original y de su complementaria sintetizada de nuevo.



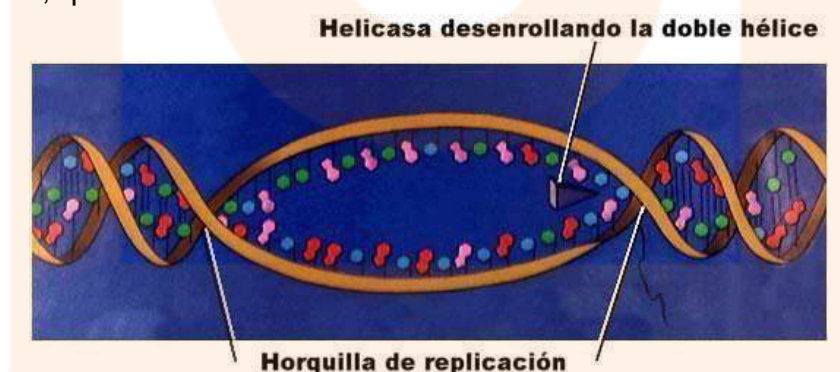
Para que se lleve a cabo la replicación del ADN en las células, se requieren los siguientes elementos: **EXAMEN**

- ADN original que servirá de molde para ser copiado.
- Helicasas: enzimas responsables de separar las hebras de la doble hélice.
- ADN-polimerasa III: responsable de la síntesis del ADN.
- ARN-polimerasa: fabrica los cebadores. Son pequeños fragmentos de ARN que sirven para iniciar la síntesis de ADN.
- ADN-ligasa: une fragmentos de ADN.
- Desoxirribonucleótidos trifosfato, que se utilizan como fuente de nucleótidos y además aportan energía.
- Ribonucleótidos trifosfato para la fabricación de los cebadores

3.1. Proceso

El ADN se desenrolla y se separan las dos hebras de la doble hélice, deshaciéndose los puentes de hidrógeno entre bases complementarias, por la acción de helicasas.

Se producen muchos desenrollamientos a lo largo de la molécula, formándose zonas de ADN abierto. Estas zonas reciben el nombre de HORQUILLAS DE REPLICACIÓN, que es donde comenzará la síntesis.



La ARN-polimerasa fabrica pequeños fragmentos de ARN complementarios del ADN original. Son los llamados "primers" o cebadores de unos 10 nucleótidos, a los cuales se añadirán desoxirribonucleótidos, ya que la ADN-polimerasa sólo puede añadir nucleótidos a un extremo 3' libre, no puede empezar una síntesis por sí misma.

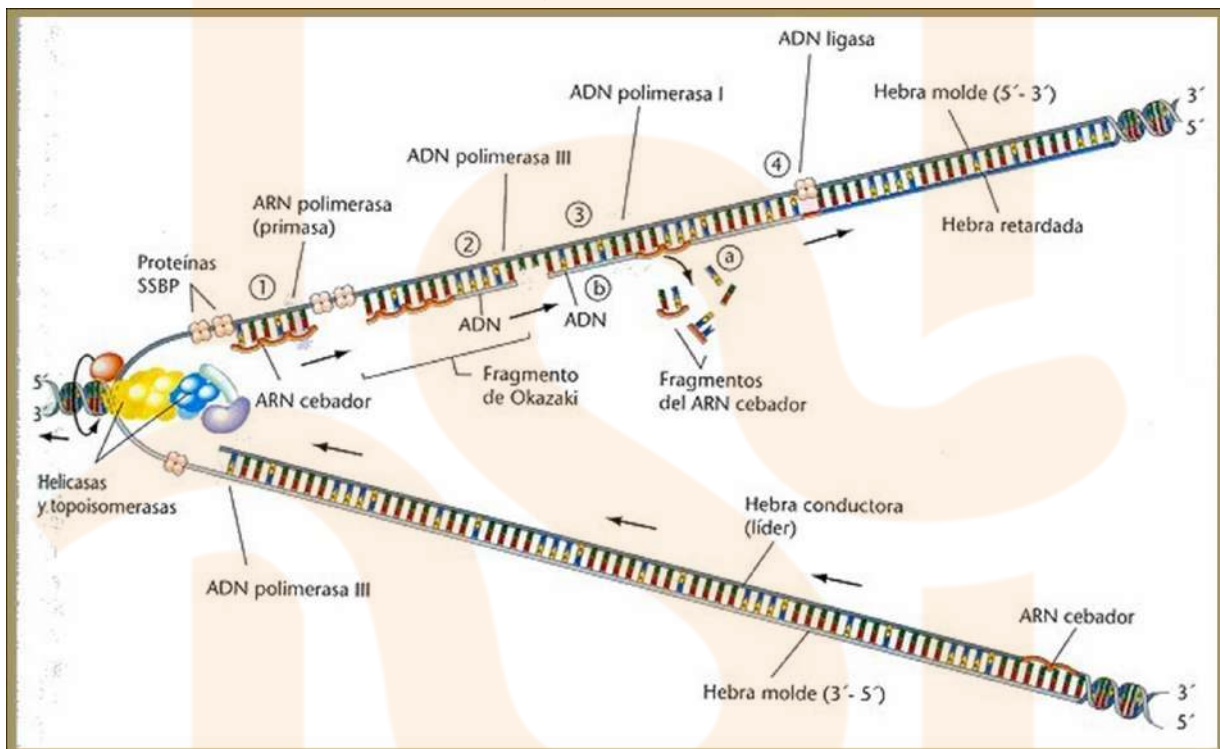
La ADN-polimerasa III añade los desoxirribonucleótidos al extremo 3' (sentido 5'-3'), tomando como molde la cadena de ADN preexistente, alargándose la hebra.

En las horquillas de replicación siempre hay una hebra que se sintetiza de forma continua en el mismo sentido en que se abre la horquilla de replicación, la llamada **HEBRA CONDUCTORA**.

La otra que se sintetiza en varios fragmentos, los denominados **FRAGMENTOS DE OKAZAKI**, y que se conoce como **HEBRA SEGUIDORA** o **RETARDADA**, ya que se sintetiza en sentido contrario al de apertura de la horquilla.

La **ADN-ligasa** va uniendo todos los fragmentos de ADN a la vez que elimina los ribonucleótidos de los cebadores.

A medida que se van sintetizando las hebras y uniendo los fragmentos se origina la doble hélice, de forma que al finalizar el proceso se liberan dos moléculas idénticas de ADN, con una hebra antigua y otra nueva.



3.2. Reparación de errores

La enzima principal, el **ADN-polimerasa III**, que cataliza la polimerización de los nucleótidos va escoltada por una serie de enzimas que detectan y corrigen las secuencias erróneas en la nueva cadena de ADN y son las responsables de la fidelidad de la replicación.

3.2.1. Actividad autocorrectora del ADN-polimerasa: corrección de pruebas

La selección de los nucleótidos por las **ADN-polimerasa I** y **II** y su actividad autocorrectora constituyen los principales mecanismos de prevención de errores.

3.2.2. Corrección postreplicativa

Para aumentar más la precisión de la replicación, existe una maquinaria enzimática que corrige los posibles errores cometidos por las **ADN-polimerasa** en el ADN recién sintetizado, que se denomina **corrección postreplicativa**.

Esta corrección se realiza por medio de unas enzimas correctoras, agrupadas en el replisoma, que detectan el nucleótido mal emparejado, lo eliminan y regeneran la secuencia correcta del siguiente modo:

NOTA: el replisoma no existe como una unidad independiente (como el ribosoma por ejemplo), sólo aparece como complejo asociado a la horquilla de replicación. Es un conjunto de proteínas.

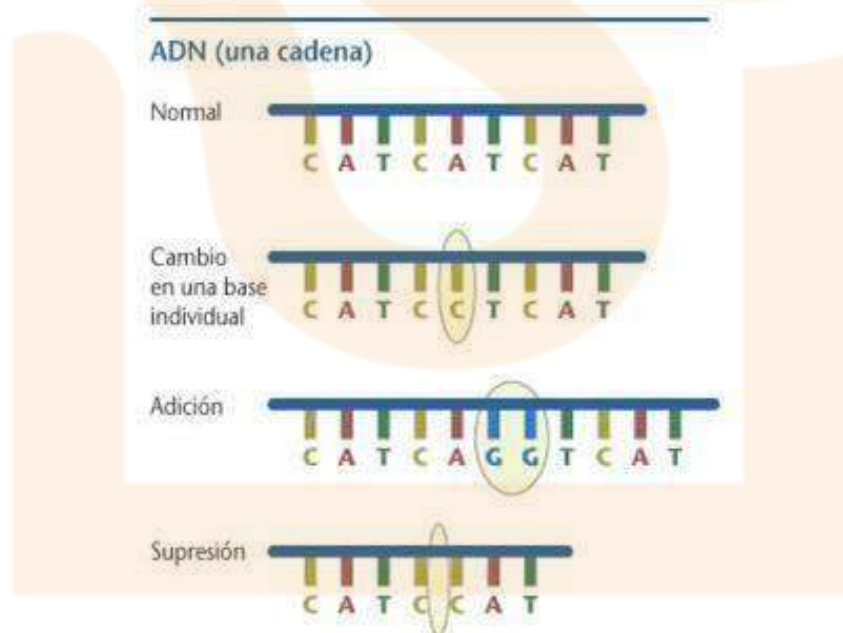
1. Para detectar el nucleótido mal emparejado, debe reconocer la cadena recién sintetizada, en la que se encuentra el error, y diferenciarla de la cadena molde.
2. La eliminación se realiza mediante una endonucleasa que corta el segmento en el lugar donde se encuentra el nucleótido mal emparejado.
3. Por último, la secuencia correcta se regenera cuando el ADN-polimerasa I rellena el hueco, utilizando como molde la cadena parental complementaria; entonces el extremo 3' del nuevo segmento se empalma con el extremo 5' de la hebra réplica por acción de una enzima ADN-ligasa.

A pesar de que estos sistemas de corrección subsanan gran cantidad de errores, siempre puede ocurrir alguno. Por otra parte, el ADN puede sufrir lesiones posteriores a la replicación. Estas son las causas de las alteraciones de la información genética llamadas mutaciones.

4. Mutaciones génicas

Son aquellas que sólo afectan a nucleótidos aislados, bien porque se cambia uno por otro, porque se añade o se pierde un nucleótido.

El cambio de un nucleótido por otro puede dar lugar a que la proteína siga siendo funcional y la mutación pase desapercibida, pero si se añade o elimina algún nucleótido, la alteración puede ser tan grande que la proteína no sea funcional, provocando una enfermedad genética o, incluso, la muerte.

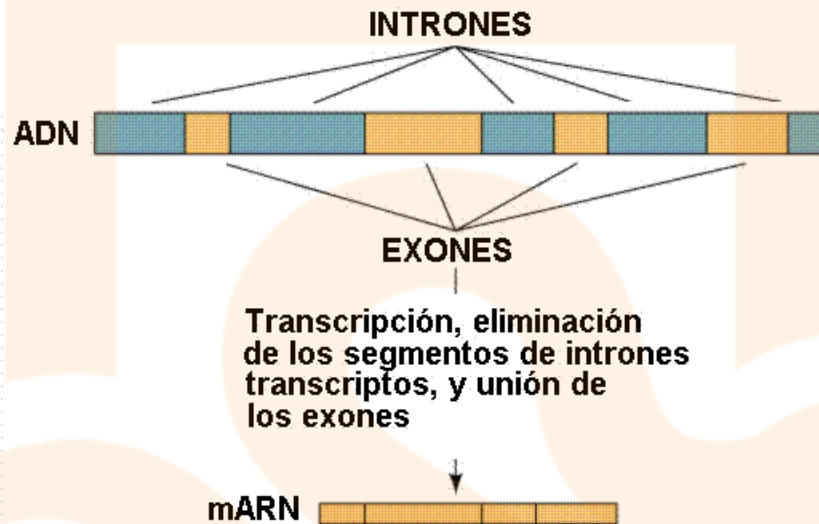


5. Concepto de gen

Un GEN se define como la unidad mínima de información genética. Dicho de otro modo: un GEN es el fragmento más pequeño de una molécula de ADN que posee información completa para un carácter determinado

El gen, en eucariotas, es frecuente que esté constituido por varios fragmentos de ADN separados por secuencias sin sentido que no codifican ninguna proteína.

A las partes con sentido que sirven para fabricar la proteína se les llama EXONES, y a las partes sin sentido intercaladas en el gen, INTRONES, que deben ser eliminados tras la transcripción.



Para que los genes se puedan transmitir de padres a hijos, deben poder copiarse antes de la reproducción, de manera que los padres mantienen su información a la vez que se la pasan a sus hijos a través de los gametos, durante la reproducción sexual.

6. El código genético y su traducción

El código genético es un sistema que establece una equivalencia entre las bases nitrogenadas del ARN y el lenguaje de las proteínas, establecido por los aminoácidos.

El código genético asocia a cada triplete de bases del ADN, llamado **codón**, un aminoácido concreto (ver tabla).

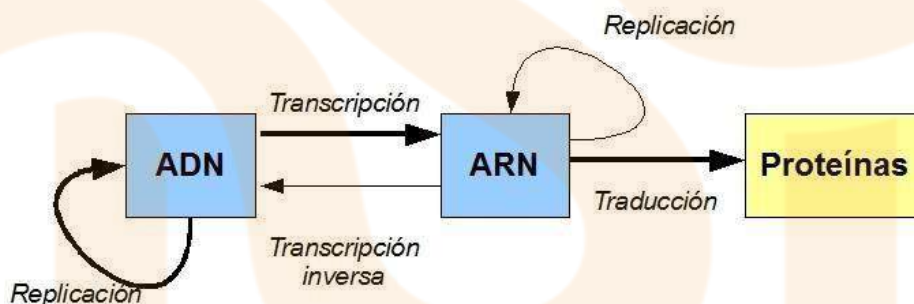
Con los cuatro tipos de bases (U, uracilo; A, adenina; G, guanina; y C, citosina) que forman la molécula de ARN (sintetizada de manera complementaria a partir de la de ADN), se pueden formar 64 tripletes distintos: (4 elementos combinados en grupos de 3) ($4^3 = 64$)

Cada codón se atribuye a un aminoácido concreto de los veinte posibles sin ninguna ambigüedad. Como hay menos aminoácidos que codones, algunos quedan designados por varios de estos. Así, los seis tripletes UUA, UUG, CUU, CUC, CUA y CUG designan el aminoácido **leucina**.

Como hemos señalado, hay 64 tripletes -o codones- que codifican aminoácidos, muchos de los cuales son codificados por más de un codón, por lo que se dice que el código está **degenerado**.

		2ª base			
		U	C	A	G
1ª base	U	UUU Fenilalanina	UCU Serina	UAU Tirosina	UGU Cisteína
		UUC Fenilalanina	UCC Serina	UAC Tirosina	UGC Cisteína
		UUA Leucina	UCA Serina	UAA Ocre Stop	UGA Ópalo Stop
		UUG Leucina	UCG Serina	UAG Ámbar Stop	UGG Triptófano
	C	CUU Leucina	CCU Prolina	CAU Histidina	CGU Arginina
		CUC Leucina	CCC Prolina	CAC Histidina	CGC Arginina
		CUA Leucina	CCA Prolina	CAA Glutamina	CGA Arginina
		CUG Leucina	CCG Prolina	CAG Glutamina	CGG Arginina
	A	AUU Isoleucina	ACU Treonina	AAU Asparagina	AGU Serina
		AAUC Isoleucina	ACC Treonina	AAC Asparagina	AGC Serina
		AUA Isoleucina	ACA Treonina	AAA Lisina	AGA Arginina
		AUG Metionina	ACG Treonina	AAG Lisina	AGG Arginina
	G	GUU Valina	GCU Alanina	GAU Ácido aspártico	GGU Glicina
		GUC Valina	GCC Alanina	GAC Ácido aspártico	GGC Glicina
		GUA Valina	GCA Alanina	GAA Ácido glutámico	GGA Glicina
		GUG Valina	GCG Alanina	GAG Ácido glutámico	GGG Glicina

7. Introducción al proceso de transcripción



El ADN de un organismo podría dividirse conceptualmente en dos:

- El que codifica las proteínas.
- El que no codifica.

Dentro de las moléculas de ADN, existe información para sintetizar las proteínas que utiliza el organismo; pero el proceso es bastante complicado ya que el ADN no se traduce directamente en proteínas.

El ADN, por tanto, es la "copia maestra" de la información genética, que permanece en "reserva" dentro del núcleo. El ARN, en cambio, es la "copia de trabajo" de la información genética.

El dogma central de la genética es que el flujo de actividad y de información es:

ADN → ARN → proteína

7.1. EL ARN. Características

1. Como el ADN, está formado también por la repetición de 4 nucleótidos, los mismos que forman el ADN, excepto que en lugar de la base timina (T), el ARN tiene uracilo (U).
2. La molécula de ARN es una única cadena -en lugar de dos como el ADN- y contiene el azúcar ribosa en lugar de la desoxirribosa que forma el ADN.
3. Estas características hacen la molécula de ARN más frágil que la molécula de ADN.

7.2. Transcripción

Cada tipo de célula se especializa en realizar una función determinada. Así, las células de la piel realizan funciones distintas que las células del hígado. Esta diferencia reside en el tipo de proteínas.

Cuando una célula necesita una proteína debe buscar la información para fabricarla en su ADN.

En el caso de las células eucariotas:

1. El ADN se encuentra en el núcleo de la célula.
2. En cambio las proteínas se producen en otra parte de la célula llamada citoplasma.

Por ello, es preciso que la célula copie la información contenida en el ADN a una molécula que actúa como mensajero y que es capaz de viajar del núcleo al citoplasma. Esta molécula recibe el nombre de ARN mensajero (ARNm).

El proceso de fabricar una molécula de ARNm a partir de las instrucciones de una molécula de ADN, se denomina transcripción.

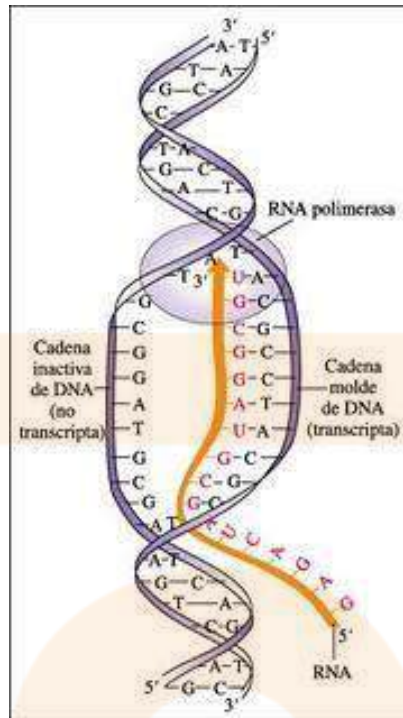
Para que se lleve a cabo la transcripción del ADN en las células se requieren los siguientes elementos:

- ADN original que servirá de molde para ser copiado.
- ARN-polimerasa: sintetiza el ARN a partir del molde del ADN.
- Ribonucleótidos trifosfato para llevar a cabo la copia.
- Poli-A polimerasa, ribonucleoproteína pequeña nuclear, ARN-ligasa.

7.3. Proceso

7.3.1. Iniciación

1. La ARN-polimerasa se une a una zona del ADN que se quiere transcribir.
2. A continuación se corta la hebra de ADN y se separan las dos cadenas, iniciándose el proceso de copia del ADN a transcribir; esta copia no requiere ningún cebador.
3. Los ribonucleótidos se añaden en sentido 5'-3'.



7.3.2. Elongación

1. La ARN-polimerasa continúa añadiendo ribonucleótidos complementarios (bases complementarias que tendrán uracilo, pero no timina) al ADN hasta que se llega a una determinada secuencia que indica a la polimerasa el final de la zona a transcribir.
2. Cuando ya se han añadido unos 30 ribonucleótidos, en el extremo 3' se une un nucleótido modificado de 7-metil guanosina, que forma lo que se denomina la "caperuza".

7.3.3. Terminación

1. La transcripción finaliza, y al ARN recién formado se le añade una cola de unos 200 nucleótidos de adenina, la cola de poli-A, agregada por la enzima poli-A polimerasa, que sirve para que el ARN no sea destruido por las nucleasas celulares.

7.3.4. Maduración de los productos de la transcripción

1. Se da en el núcleo de eucariotas y la realiza la enzima ribonucleoproteína pequeña nuclear (RNPpn), eliminando los intrones del ARN y quedando los exones libres para ser unidos por una ARN-ligasa.

Tras estos procesos se habrá formado el ARNm que sale del núcleo y se lee en los ribosomas donde se fabrica la proteína que la célula quería obtener.

8. El ARN mensajero. Características

El ARN mensajero es:

1. El ácido ribonucleico que contiene la información genética procedente del ADN para la síntesis de proteínas.
2. Es un ácido nucleico monocatenario, al contrario que el ADN que es bicatenario.

El proceso de fabricar una proteína siguiendo las instrucciones almacenadas en el ARNm se llama **TRADUCCIÓN**.

Se denomina así porque se pasa de un lenguaje de 4 letras (los 4 nucleótidos) en que están "escritos" el ADN y el ARN, al lenguaje de 20 letras (los 20 aminoácidos) en que están "escritas" las proteínas.

9. La síntesis proteica

La síntesis de proteínas o traducción del ARNm es el proceso anabólico mediante el cual se forman las proteínas a partir de los aminoácidos. Es el paso siguiente a la transcripción del ADN a ARNm.

La síntesis de proteínas o traducción tiene lugar en los ribosomas del citoplasma celular. Los aminoácidos formados son transportados por el ARN de transferencia (ARNt), específico para cada uno de ellos, y llevados hasta el ARN mensajero (ARNm), donde se aparean el codón de este y el anticodón del ARN de transferencia, por complementariedad de bases, y de esta forma, se sitúan en la posición que les corresponde.

Una vez finalizada la síntesis de una proteína, el ARN mensajero queda libre y puede ser leído de nuevo. De hecho, es muy frecuente que antes de que finalice una proteína, comienza otra, por lo que una misma molécula de ARN mensajero puede utilizarse por varios ribosomas simultáneamente.

Y así hasta que llega un codón que dice que la proteína finaliza: es el codón de *Stop*.

9.1. El ribosoma

Su función es ensamblar proteínas a partir de la información genética que le llega del ADN, transcrita en forma de ARN mensajero (ARNm).

El ribosoma consta de dos sub-unidades que trabajan juntas para la traducción del ARNm en proteínas en el proceso de síntesis proteica. Cada sub-unidad está formada por dos moléculas muy grandes de ARN (llamado ARN ribosómico) y algunas proteínas más pequeñas.

El proceso es el siguiente:

- El ribosoma **lee tres letras** del código genético que se ha transportado en el ARNm (**recuerda que tres letras codifican un aminoácido y se llama codón**).
- **Escoge el aminoácido** correspondiente a esas tres letras.
- **Lee las siguientes tres letras** (el siguiente codón) y ensambla el aminoácido correspondiente al lado del anterior...

9.2. El ARN de transferencia

El ARN de transferencia o ARNt es un tipo de ácido ribonucleico:

1. Encargado de transportar los aminoácidos a los ribosomas para determinar el proceso de síntesis proteica.
2. Los ARNt reconocen los ARNm y transfieren un aminoácido determinado a la cadena de proteína que se está sintetizando.

3. El triplete de ARNm llamado codón es reconocido por el ARNt, este le transfiere el triplete complementario llamado anticodón.
4. Una vez que el ribosoma ha utilizado el aminoácido que estaba pegado al ARNt, este se desplaza por el citoplasma para buscar nuevos aminoácidos.

EN RESUMEN: importante!

- La proteína está codificada en un gen de ADN en el núcleo celular. El ADN nunca sale del núcleo.
- La fabricación de proteínas son los ribosomas que están fuera del núcleo, en el citoplasma. Para llevar el mensaje del gen, desde el núcleo al citoplasma, se utiliza el ARN mensajero.
- El ribosoma construye lo que le dice el ARN mensajero, utilizando los aminoácidos que le suministra el ARN de transferencia.
- El ribosoma es un complejo molecular compuesto en parte por proteínas y también por moléculas de ARN que se llama ARN ribosómico.

