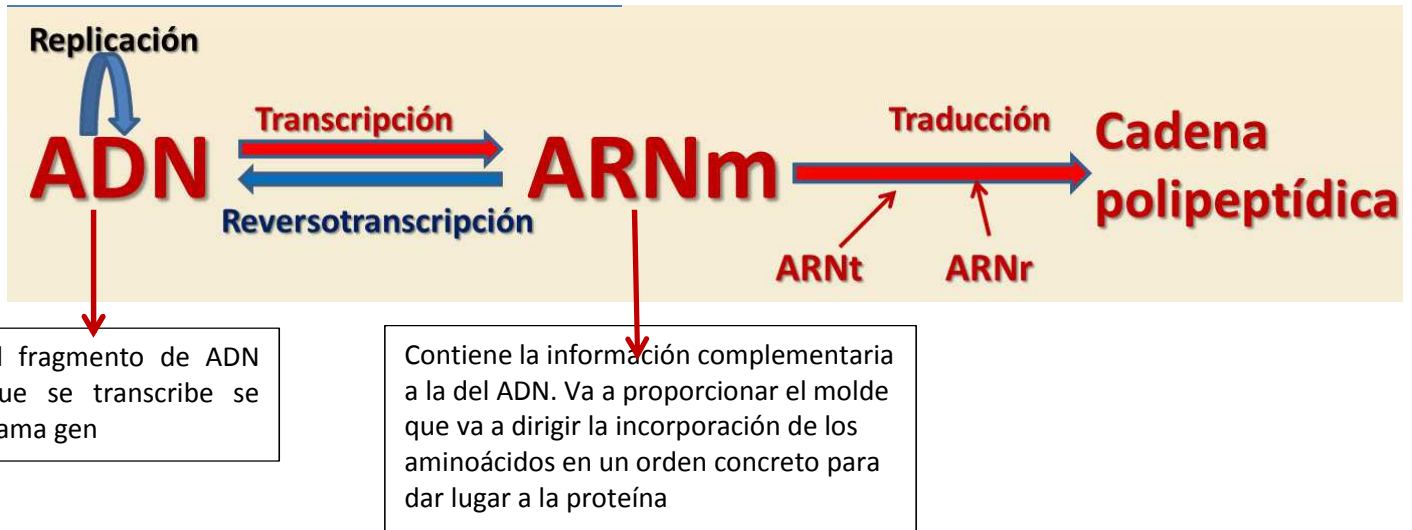


Biología del ADN: Genética molecular

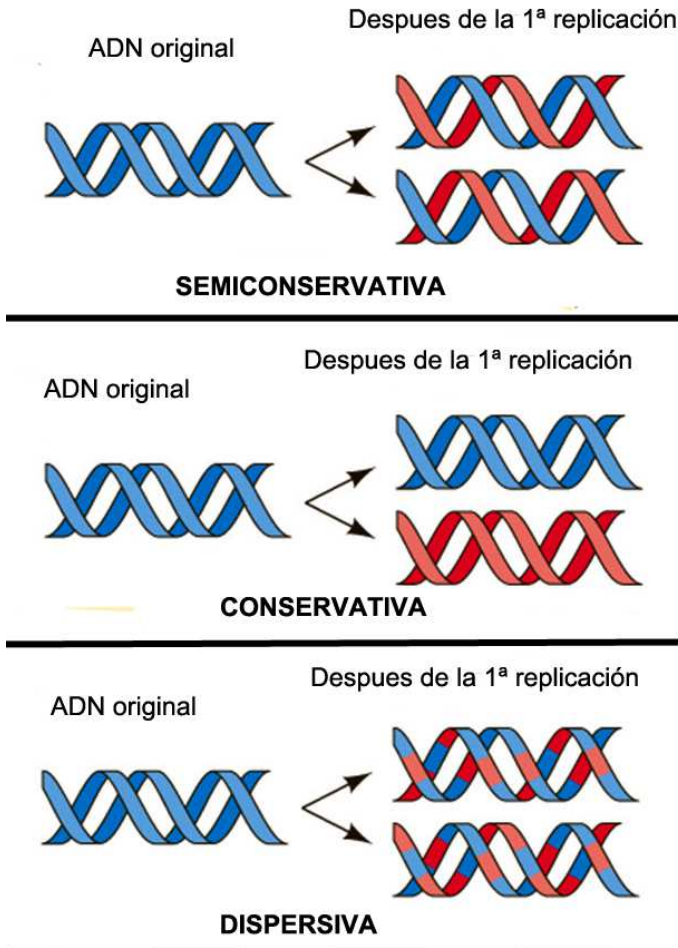
Se trata del estudio de cómo se transmite y expresa la información genética a nivel molecular

Dogma central de la biología molecular

Flujo de la información

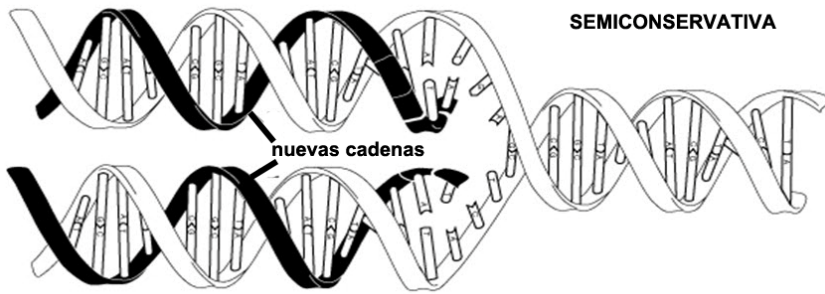


Replicación o autoduplicación del ADN



Se habían propuesto tres posibilidades:

- Replicación conservativa: Proponía que en la replicación las dos hebras del ADN madre quedaban en una de las células hijas formadas, mientras que la otra célula hija recibe la de nueva síntesis. Se produciría un ADN completamente nuevo durante la replicación.
- Replicación semiconservativa: el ADN se forma de una hebra vieja y otra nueva. Es decir que las hebras existentes sirven de molde complementario a las nuevas.
- Replicación dispersiva: Las células hijas poseen hebras de ADN mixtas, es decir, hebras en las cuales encontramos trozos de ADN de la célula madre, y trozos de ADN recién replicados.



Según esta teoría cada una de las cadenas de ADN sirve como molde para la síntesis de la complementaria para ello las dos cadenas de la doble hélice se separan y a medida que las bases van quedando libres se van situando los nucleótidos por complementariedad construyéndose una nueva hebra. Cada una de las

moléculas de ADN que se obtienen contienen una hebra original y otra de nueva síntesis

La hipótesis de cómo tiene lugar la replicación del ADN se llama semiconservativa y fue demostrada por Meselson y Stahl

Utilizaron una técnica llamada: *Ultracentrifugación diferencial por gradiente de densidad en CsCl*, compuesto que se elige por su elevada solubilidad y baja densidad.

Si introducimos, en un tubo de ensayo que contiene una disolución de CsCl 4M, una mezcla de macromoléculas, la fuerza gravitatoria no las separaría. Pero si centrifugamos las macromoléculas se separan a distintas alturas según su densidad, de forma que cada macromolécula se situará en la posición en la que su densidad coincida con la del CsCl que forma un gradiente.

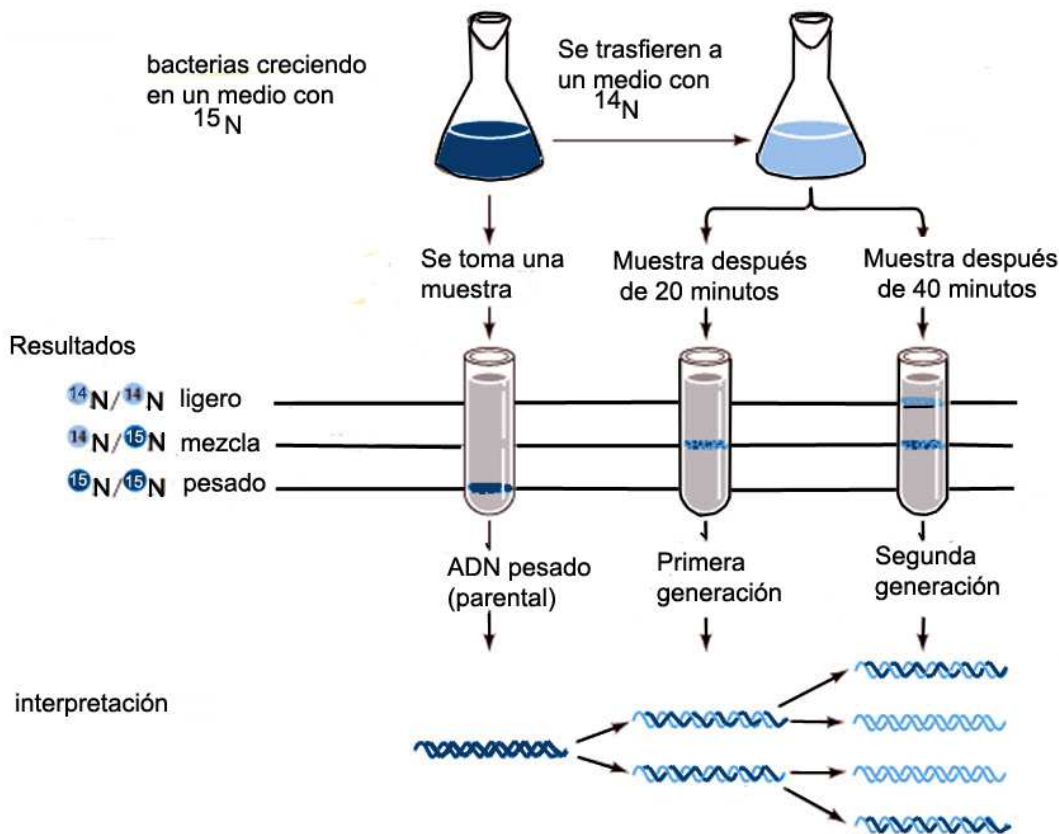
Meselson y Stahl cultivaron (hicieron crecer) la bacteria del colon *Escherichia coli*, durante varias generaciones, en un medio de cultivo cuya única fuente de nitrógeno era el cloruro de amonio que contenía N^{15} (pesado), en lugar del N^{14} normal (ligero). Con ello obligaron a que todos los componentes nitrogenados de las bacterias y por lo tanto el ADN estuviera marcado con N^{15} . Al extraer el ADN de las bacterias cultivadas con N^{15} su coeficiente de sedimentación era mayor que el de las bacterias con N^{14} (al ser más "pesado" se sitúan en la parte inferior del tubo).

El cultivo de bacterias con N^{15} se transfirió a un medio de cultivo que contenía N^{14} . Como se conoce el tiempo de generación de este cultivo (tiempo que tarda una población de bacterias en duplicarse), se fueron tomando muestras en distintos intervalos de tiempo.

Se aisló el ADN después de una generación y mostró una sola banda que se situaba entre el ADN pesado y el ligero. Es lo que cabe esperar si el ADN está formado por una cadena pesada y otra ligera recién sintetizada.

En la segunda generación, el ADN mostró dos bandas: Una de ellas con igual densidad a la del ADN "híbrido" observado en la primera generación, y otra con una densidad igual a la del ADN ligero o normal.

Esto es lo esperado si la replicación es semiconservativa



La principal diferencia entre el modelo semiconservativo y el conservativo, radica en que en el primero se observa ADN de densidad intermedia ($\text{N}^{14.15}$) mientras que en el segundo nunca aparecería este tipo de ADN sólo aparecerían dos bandas una correspondiente al ^{15}N y otra al ^{14}N . La idea de la replicación dispersiva también se refutó debido a que si se realizara este mecanismo, en el gradiente de densidad hubieran aparecido multitud de bandas correspondientes al grado de dispersión de las cadenas

Ideas previas para el estudio del mecanismo de la replicación

1.- Replicación de la ADN "In vitro" (ADN polimerasa I)

Kornberg en 1956 aisló de extractos bacterianos un enzima conocido como **ADN polimerasa I** que permitía la replicación del ADN "in vitro".

Para ello necesitaba:

- Desoxirribonucleótidos 5' trifosfato (dATP, dTTP, dCTP, dGTP.)
- Iones Mg^{2+}
- ADN patrón cebador, es decir, un ADN de doble hebra parcialmente desdoblado. La hebra a rellenar se llama **cebador o primer**

En la ADN-polimerasa I se reconocen varios centros activos:

- ✚ Uno para la unión con el ADN patrón o hebra molde
- ✚ Otro para la unión con el ADN cebador o primer
- ✚ Otro para el reconocimiento del grupo OH en posición 3' correspondiente al último nucleótido del primer, para permitir la incorporación del nucleótido fosforilado en posición 5' complementario al que existe en el molde.
- ✚ **La ADN polimerasas son enzimas que añaden nucleótidos a cadenas preexistentes (necesita un cebador y sólo lee en la dirección 3'.... 5'), une desoxirribonucleótidos a**

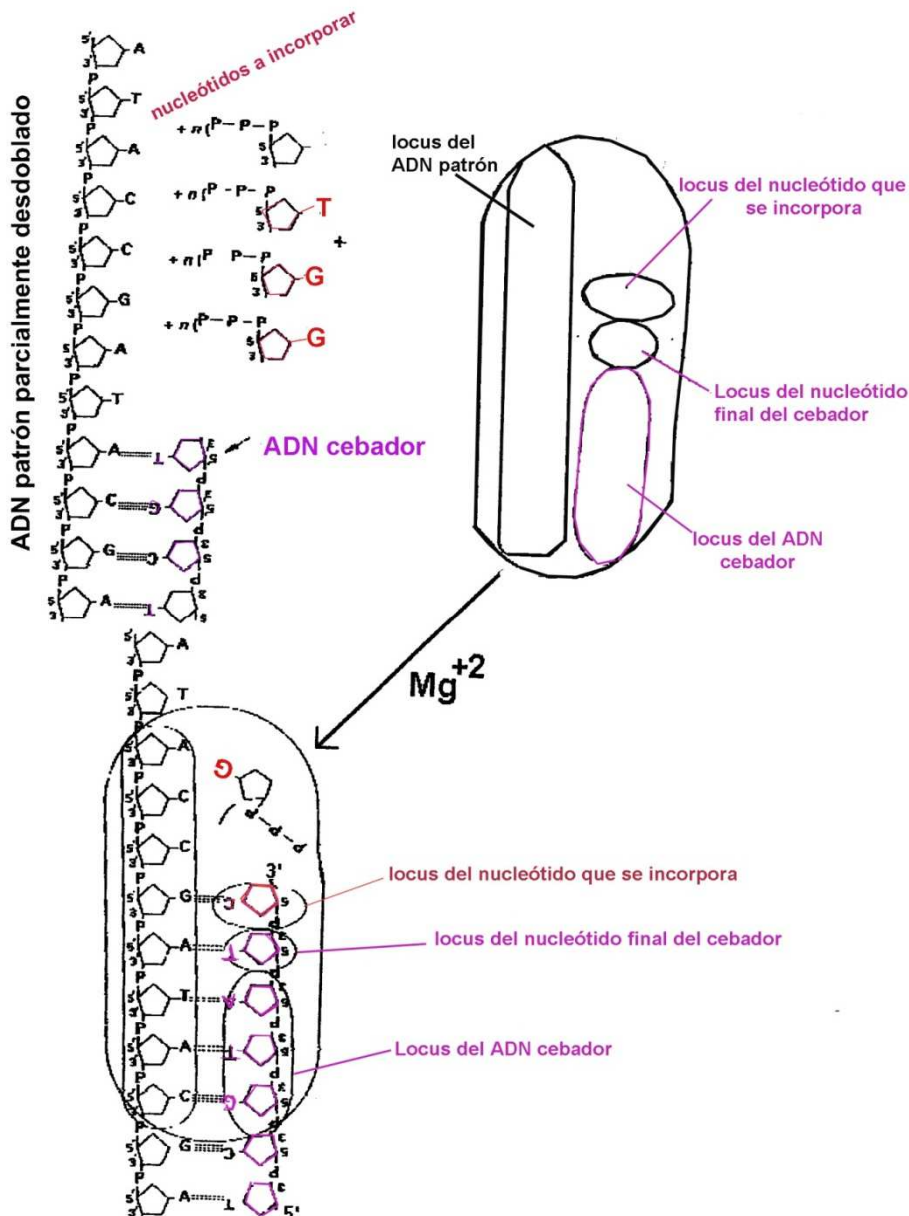
los grupos 3' - hidroxilo - terminales de la cadena cebadora, la cadena de nueva síntesis va en dirección 5'.... 3'

- Todas las polimerasas añaden nuevos nucleótidos a una hebra que posee un cebador
- La ADN polimerasa I es un enzima **procesiva**, es decir, avanza sobre la hebra molde sin soltarse de ella mientras cataliza la replicación.
- La DNA polimerasa I es también una **exonucleasa 3' --- 5'**, que corrige sus errores. La DNA - pol I elimina los residuos no apareantes del extremo cebador antes de proseguir con la polimerización. La ADN - pol I es también una **exonucleasa 5' --- 3'**, el enlace que escinde debe de estar situado en una región de doble hebra y lo puede hacer a partir del extremo 5' terminal. *Esta actividad exonucleásica 5' --3' va a jugar un papel muy importante en la replicación (elimina el cebador de RNA de la cadena rezagada)*

En Escherichia coli se han encontrado otras dos polimerasas llamadas **ADN - pol II y III**

La **polimerasa III es mucho más operativa** (añade 1000 nucleótidos por segundo en vez de los 10 por segundo que realiza la DNA - pol I). Podemos entonces decir que la ADN - pol I tiene como misión rellenar huecos y actuar como enzima de reparación.

En resumen: La **replicación del ADN se lleva a cabo mediante** enzimas conocidas como ADN polimerasas dirigidas por ADN o simplemente **ADN polimerasas**. Estos enzimas utilizan ADN monohebra con cebador y van incorporando los nucleótidos por complementariedad



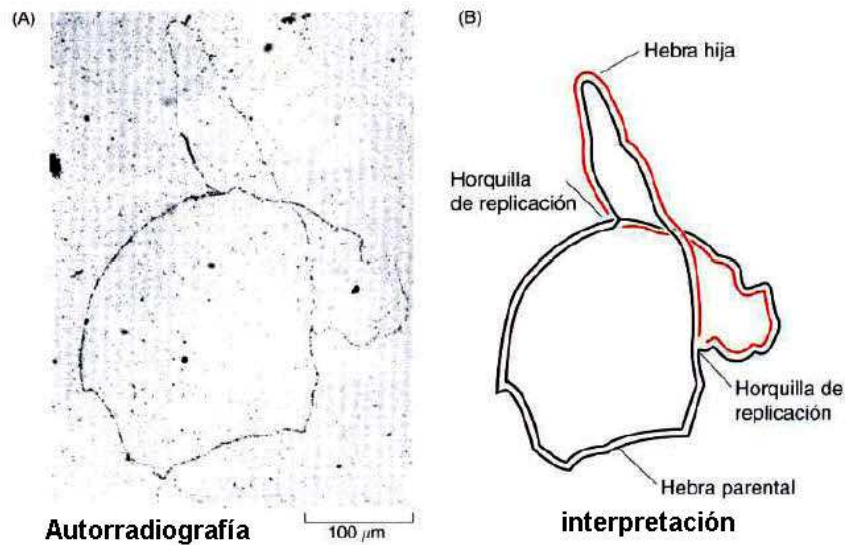
2.- Elaboración del ADN "In vivo": Origen de la replicación

A principios de la década de 1960, **John Cairns** desarrolló una técnica autorradiográfica que consistía en mantener bacterias del colon, *Escherichia coli*, en un medio con desoxirribonucleótidos marcados con timidina trititiada (Timidina marcada con un isótopo del hidrógeno llamado tritio ^3H). Es tritio es radioactivo.

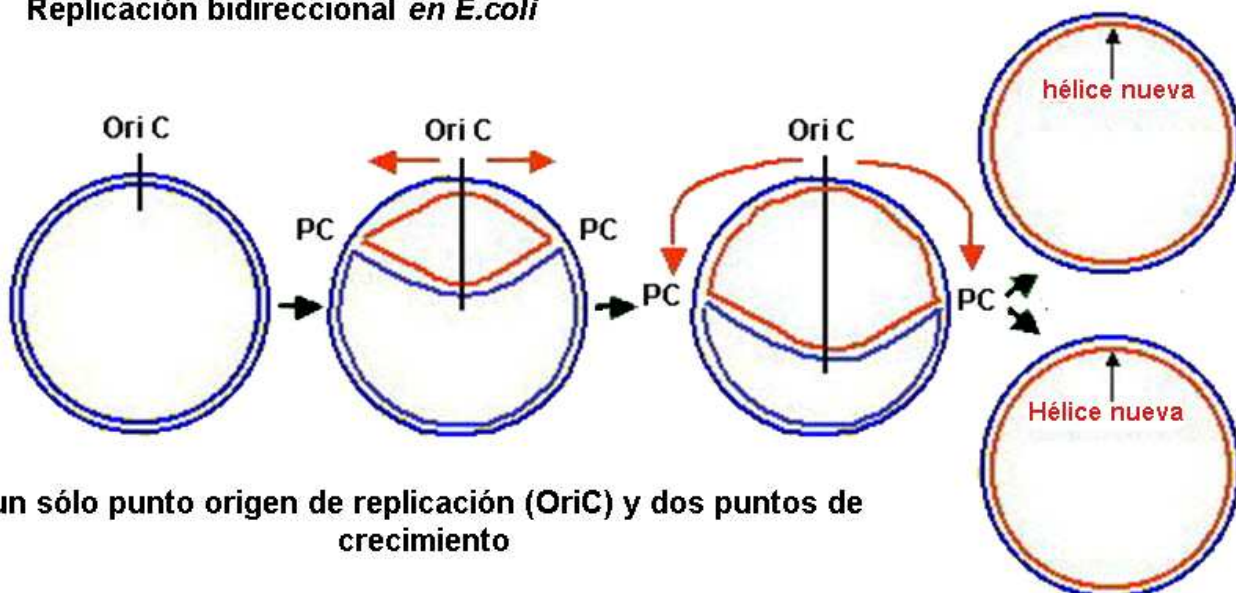
Mediante autorradiografía podía visualizar la molécula de ADN.

Trataba de encontrar como se iniciaba la replicación

Extraía el ADN circular marcado de las bacterias en distintos estadios de la replicación del ADN. A los tres minutos de iniciarse la replicación se observaba un sólo punto específico en el que se iniciaba la replicación (**punto origen de replicación = ori**) la doble hebra se abre como una cremallera formándose una burbuja. En los extremos de la burbuja las cadenas forman una estructura en "Y" conocida como **horquilla de replicación (hay dos)**. A partir de un punto de origen progresa en dos direcciones opuestas, existiendo dos puntos de crecimiento (PC) (**replicación por bifurcación**). Pasados unos 30 minutos se había replicado totalmente



Replicación bidireccional en *E.coli*



Mecanismo de replicación o autoduplicación

Es necesaria una fidelidad extrema en la replicación del DNA con el fin de mantener la integridad del genoma generación tras generación

Procariotas.-

Inicio: desenrollamiento y apertura de la doble hélice en el punto ori. (Origen de replicación). A partir de él se forma una 'horquilla de replicación'

En la formación de la horquilla intervienen:

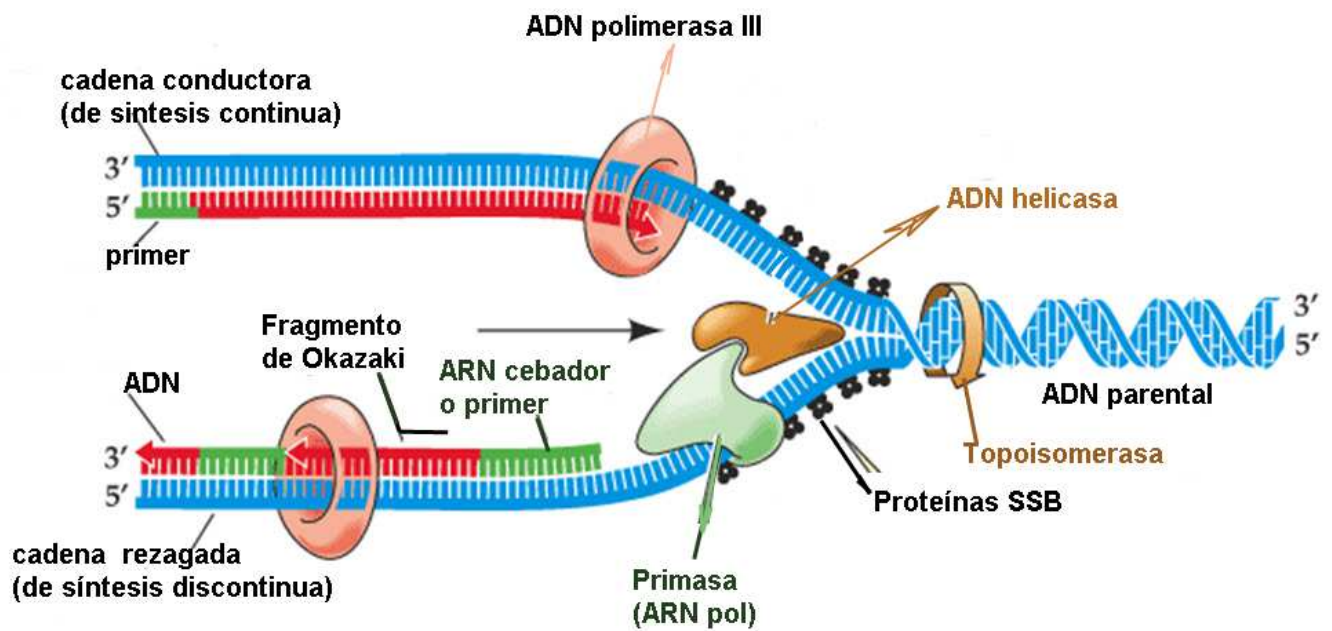
-  **Topoisomerasas** como la ADN - girasa que desenrolla el ADN
-  **Helicasas**, separan las dos hebras del ADN, consumen energía en forma de ATP ya que hay que romper los puentes de hidrógeno que mantienen unidas las dos hebras
-  **Proteínas SSB**, tienen afinidad por el ADN monocatenario. Una vez que actúan las helicasas, las proteínas SSB se unen a las cadenas sencillas resultantes, estabilizándolas para que no se vuelvan a enrollar

Para que la ADN polimerasa forme una nueva cadena no es suficiente que éste presente la cadena vieja que sirve de molde; sino que **debe estar presente un fragmento de ARN llamado cebador o "primer"**, sintetizado por una ARN polimerasa llamada **primasa** que va acompañada de proteínas, y de la ADN polimerasa formando un complejo llamado **primosoma** (recuerden que todas las DNA polimerasas añaden nucleótidos al extremo 3' de un cebador ya existente)

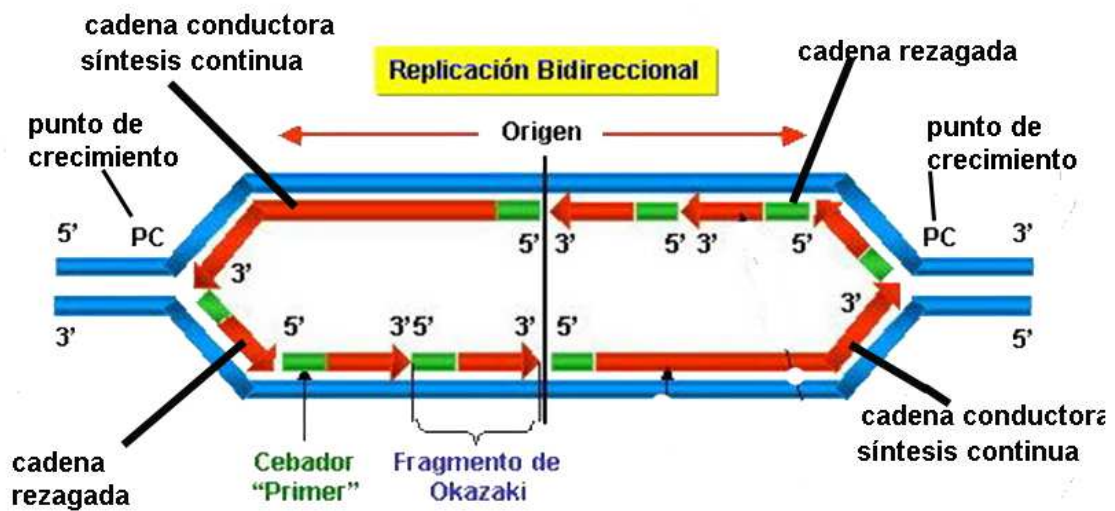
Una de las cadenas del ADN va en dirección 3'--- 5', la llamamos de **síntesis continua o adelantada**. La otra cadena va en dirección 5'--- 3' y la ADN polimerasa sólo sabe leer en dirección 3'---5', esta cadena la llamamos de **síntesis discontinua o rezagada**

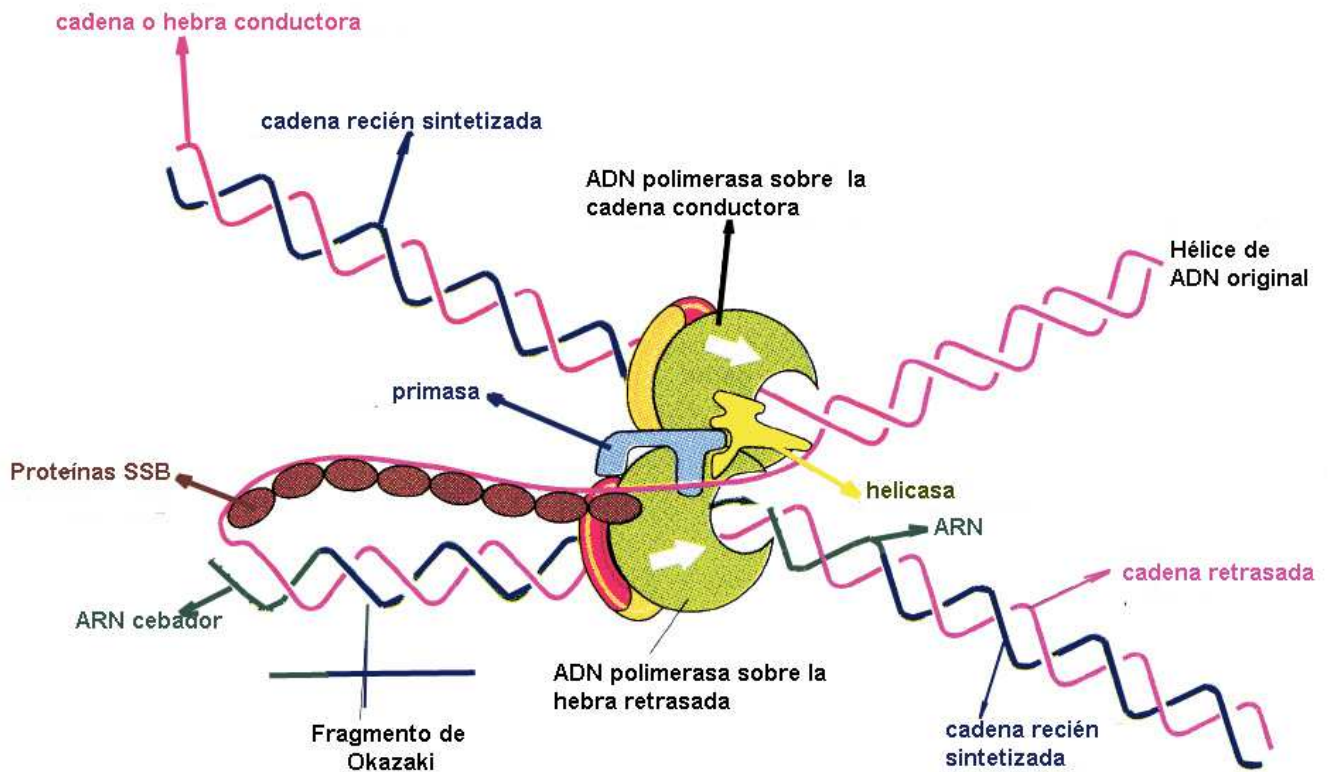
- La síntesis de la **cadena conductora** comienza como ya dijimos por la síntesis por un enzima llamado **primasa** de un pequeño fragmento de ARN (**cebador o primer**). Por complementariedad una ADN polimerasa II va añadiendo los desoxirribonucleótidos a este cebador de forma continua, al mismo tiempo que se va desenrollando el ADN en la horquilla de replicación. Posteriormente **se elimina el cebador por la ADN polimerasa I** que a la vez **rellena el hueco** con los desoxirribonucleótidos adecuados, finalmente una ADN ligasa une los fragmentos
- **La síntesis de la hebra rezagada** se complica pues ambas hebras son elaboradas por una única ADN polimerasa, esto obliga a que la hebra rezagada forme un lazo que aproxime los dos puntos de polimerización.

La síntesis de la hebra retrasada se realiza mediante la **formación de cortos fragmentos de Okazaki**. 1) Se elabora el cebador de ARN 2) una ADN polimerasa II añade por complementariedad a la hebra molde desoxirribonucleótidos. Esta mezcla ADN-ARN se llama fragmento de Okazaki). Posteriormente una ADN pol I elimina el ARN y lo reemplaza por ADN, el espacio que queda es unido por una ADN ligasa



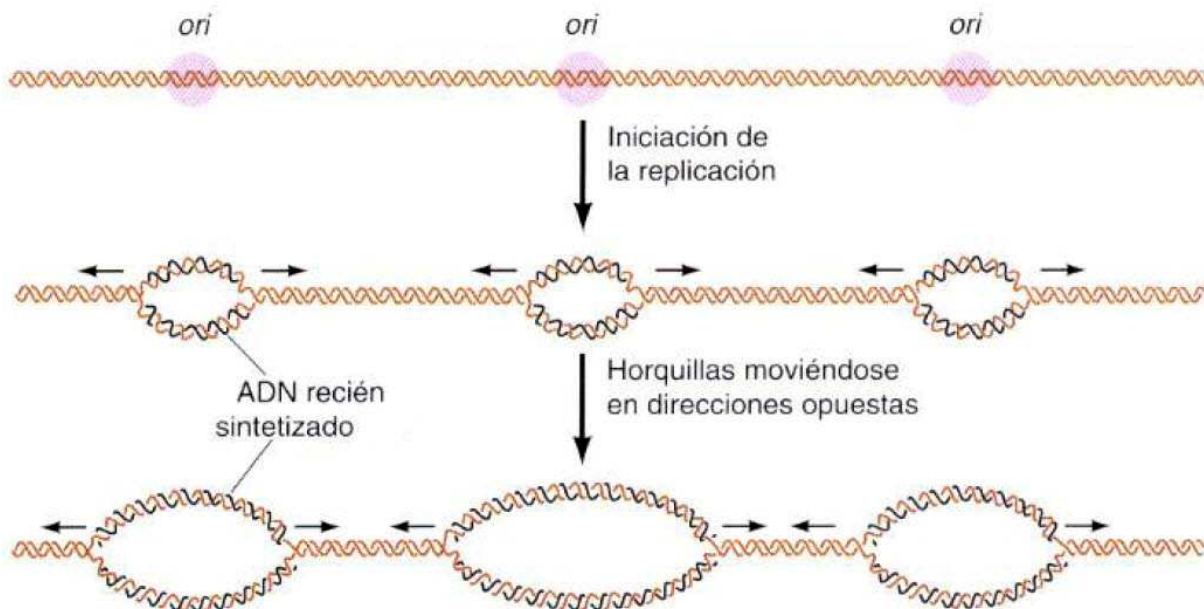
Horquilla o burbuja de replicación





En eucariotas

- La célula eucariota contiene más ADN y sus moléculas tienen mayor longitud (más o menos 50 mm, frente a poco más de 1 mm. en bacterias).
- Los segmentos de ADN en replicación se llaman replicones. **En procariotas se forma un sólo replicón, mientras en eucariota se forman muchos.** Cada replicón tiene un punto de origen (O), donde se inicia la replicación, y dos puntos de terminación (T), uno a cada lado del origen, en los que acaba ese replicón y se encuentra el adyacente.



- ✚ Los fragmentos de Okazaki son más pequeños (alrededor de 100-200 nucleótidos) que en procariotas).
- ✚ Hay cinco tipos de ADN polimerasas (α , β , γ , δ , ϵ) que son diferentes a las de los procariotas aunque realizan misiones similares
- ✚ En ADN en eucariotas está asociado a histonas, proteínas que no tienen los procariotas y que se duplican durante la replicación
- ✚ Las moléculas ADN doble hélice lineal tienen problemas para replicar sus extremos (telómeros), ya que las ADN polimerasas necesitan un extremo 3' OH al que ir añadiendo nucleótidos. Uno de los extremos de cada hélice (el extremo 5') se puede copiar sin problemas debido a que viene cebado desde atrás, sin embargo, el extremo contrario (extremo 3') no podría replicarse ya que no puede ser cebado desde atrás. Como consecuencia **quedaría un corto segmento al final sin copiarse** y se iría acortando el ADN por ese extremo en cada ronda de replicación. Este proceso se asocia a los procesos de envejecimiento y muerte celular.
Las secuencias perdidas de los telómeros pueden ser replicadas aunque no exista el ADN molde mediante una enzima llamada **telomerasa**, la telomerasa es una reversotranscriptasa que elabora ADN a partir de un molde de ARN. La telomerasa porta su propio molde de ARN complementario a las secuencias repetitivas de los telómeros como parte de su complejo enzimático

Reparación del ADN

La replicación del ADN es un proceso complejo por la necesidad de mantener al máximo la fidelidad de la copia.

Existen mecanismos enzimáticos que detectan y corrigen las secuencias erróneas en la nueva cadena de ADN que son los responsables de la fidelidad de la replicación.

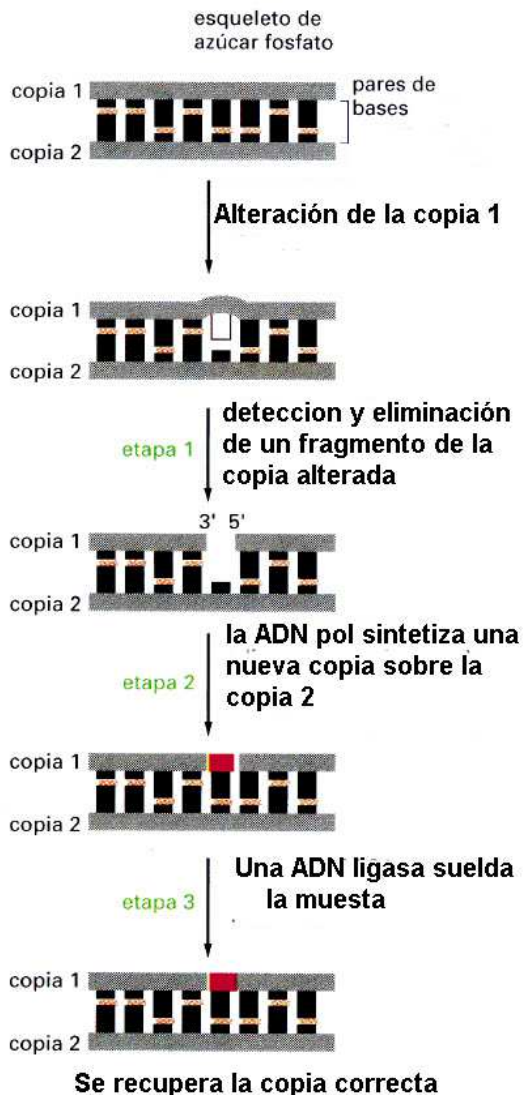
La actividad de los enzimas ADN polimerasas debe ser exacta, rápida y fiel, pues la vida entera y su continuidad dependen de que la información genética se transmita con fidelidad de generación en generación.

✚ Actividad autocorrectora del ADN polimerasa: **corrección de pruebas**

La selección de los nucleótidos por las ADN polimerasas I y III y su actividad autocorrectora (actividad exonucleasa de corrección de pruebas) constituyen los principales mecanismos de prevención de errores. El uso de cebadores de ARN, por la incapacidad de las ADN polimerasas de iniciar una nueva cadena, parece ser que contribuye a incrementar la fidelidad de la copia, pues suelen ser los primeros nucleótidos los que con mayor frecuencia presentan errores de apareamiento. Aun así se cometen errores por lo que es necesario la actuación de otros sistemas de reparación

✚ **Corrección posreplicativa**

Para aumentar todavía más la precisión de la replicación, existe una maquinaria enzimática que corrige los posibles errores cometidos por las ADN polimerasas I y III en el ADN recién sintetizado, que se denomina corrección posreplicativa. Esta corrección posreplicativa se realiza por medio de enzimas correctores llamados nucleasas de reparación



El mecanismo sería:

Para detectar el nucleótido mal emparejado, las nucleasas de reparación deben reconocer la cadena recién sintetizada, en la que se encuentra el error, y diferenciarla de la cadena molde. Ambas cadenas son complementarias, pero mientras que la cadena molde (parental) tiene metiladas las adeninas de las secuencias GATC, existe un lapso de tiempo durante el cual las adeninas de las secuencias GATC de la cadena réplica permanecen aún sin metilar, y en este intervalo el complejo multienzimático reparador recorre las hebras del ADN y descubre los posibles errores en la cadena que todavía no está metilada y que corresponde a la nueva hebra réplica.

La eliminación se realiza mediante un corte en el segmento en el lugar donde se encuentra la alteración. 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 un enzima ADN ligasa.

PCR. Reacción en cadena de la polimerasa

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método para conseguir el aislamiento de un gran número de **fragmentos específicos** de ADN a partir de una única copia de ADN (**amplificación**). Se emplea para replicar repetidamente un segmento de ADN concreto mediante tres pasos que forman un ciclo, al final de cada ciclo hay dos dobles hebras de ADN idénticas a la original. Cada nueva hebra producida se llama **amplicón**. Por ejemplo una única molécula de ADN sometida a 30 ciclos de replicación daría lugar a 2^{30} copias o amplicones

El material de partida es ADN de cualquier procedencia, se puede amplificar solamente una región específica siempre que se conozca la secuencia de nucleótidos que rodea dicha secuencia para diseñar los oligonucleótidos que actuarán como cebadores sobre los que una ADN polimerasa realizara la copia. Las ADN polimerasas empleadas son enzimas termoestables de bacterias como *Thermus aquaticus* que vive en manantiales de agua caliente a 75°C

Este proceso se lleva a cabo en un **termociclador**, un instrumento que automáticamente controla y alterna las temperaturas durante períodos programados de tiempo para el número apropiado de ciclos (usualmente 30-40 ciclos).

Un ciclo de PCR consiste de los siguientes pasos:

1. Desnaturalización
2. Unión (alineación)
3. Extensión

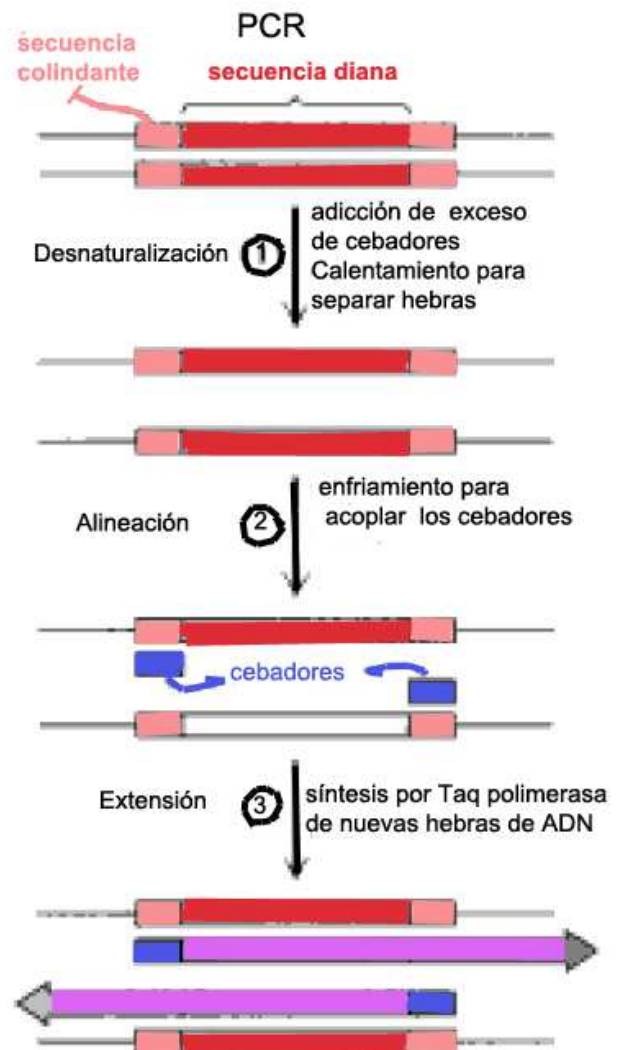
✚ Paso1. **Desnaturalización (fusión).** La desnaturalización por el calor (usualmente mayor o igual 90 ° C) separa la doble hebra de ADN en dos hebras sencillas rompiéndose los enlaces de hidrógeno que unen a las bases nitrogenadas, mientras que los enlaces entre la desoxirribosa y los grupos fosfato permanecen intactos

✚ Paso 2: **Alineación - Unión del cebador- Hibridación de los cebadores**

Las hebras de ADN permanecen separadas libres en la solución hasta que la reacción sea enfriada (35 – 40°C) para permitir que los "primers" o "sondas" o "cebadores" (oligonucleótidos con secuencias específicas complementarias, que se añaden a la reacción) se unan a las dos hebras del ADN. Se necesitan dos cebadores en la reacción de la PCR, cada uno complementario de una de las hebras de DNA que se separaron durante la desnaturalización

✚ Paso 3: **Extensión de los cebadores**

Consiste en la polimerización, elongación o extensión del complejo (sondas + ADN) mediante cambios cíclicos de temperatura repetidos un gran número de veces y por la acción de una enzima llamada "Taq DNA polimerasa" que es muy termoestable y ha permitido automatización del proceso. La Taq polimerasa comienza el proceso de polimerización en dirección 5' a 3' agregando los nucleótidos correspondientes, obteniéndose la hebra complementaria de ADN.



Aplicaciones de la PCR:

1. Detección de mutaciones
2. Secuenciación de ADNs fósiles
3. Diagnóstico de enfermedades genéticas
4. Identificación de especies y control de cruces entre animales
5. Huella genética individual
6. Proyecto genoma humano

1.- Detección de mutaciones

Se emplea la secuenciación de ADN como un método de diagnóstico: una vez que se ha caracterizado la relación con una enfermedad de una determinada mutación puntual o de una pequeña delección (defección de 3 bases en el gen cftr en la fibrosis quística), se puede amplificar el gen y luego al compararlo con la secuencia normal se detecta la anomalía

2.- Secuenciación de ADNs fósiles: El uso del PCR ha abierto la posibilidad de aislar secuencias de ADN a partir de unas pocas copias intactas presentes en especímenes de museo y descubrimientos arqueológicos en los cuales la mayoría de las moléculas están dañadas o degradadas, para proceder posteriormente a su estudio mediante secuenciación.

3.- **Diagnóstico prenatal / Diagnóstico preimplantación:** Diagnóstico de enfermedades hereditarias o determinación del sexo del feto previamente a su implantación en procesos de fecundación in vitro. Una o dos células del pre-embrión se retiran en el estado de 8 a 16 células, previo a la implantación. Estas pueden utilizarse para amplificar un gen o genes específicos y así estudiar la enfermedad genética o el sexo (utilizando genes específicos del cromosoma Y).

Identificación de especies y control de cruces entre animales

4.- **Las técnicas para identificar especies** pueden ser muy importantes para descubrir fraudes comerciales, tales como vender carne de una especie más barata a los precios de otra más cara, o el comercio ilegal de especies en peligro. Estos estudios pueden realizarse utilizando el ADN mitocondrial, el cual presenta secuencias altamente variables entre especies distintas, aunque sean cercanas entre sí, y bastante conservadas dentro de la misma especie. Los controles de relaciones parentales en animales tienen importancia forense para el control de comercio ilegal de especies protegidas. Individuos jóvenes de especies en peligro son sacados de sus lugares de nacimiento y "disfrazados" por certificados veterinarios falsos. En estos casos, el estudio familiar es el único medio de descubrir el origen ilegal de los individuos.

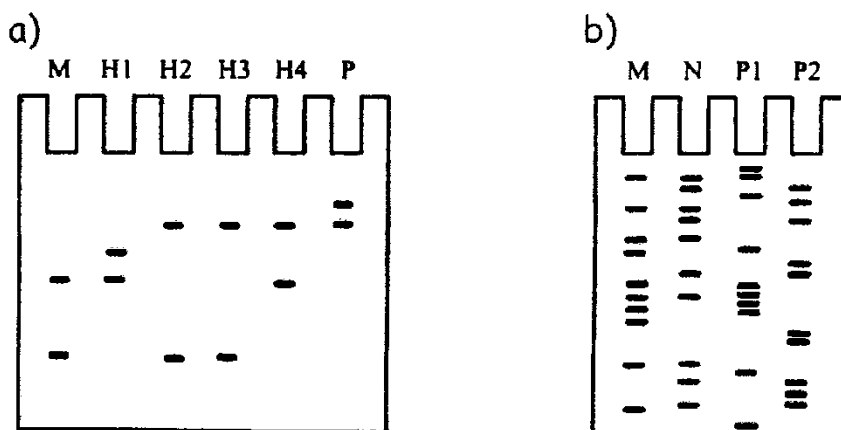
5.- **Huella genética individual:** Existen en el genoma humano regiones hipervariables constituidas por secuencias de 10 — 40 nucleótidos internamente repetidas. Dos individuos sin parentesco tienen fragmentos de distinto tamaño al cortar una región hipervariable con un enzima de restricción que no reconozca dianas dentro de la región repetida. El patrón de restricción observado en un individuo al ser tratado su ADN con un enzima de restricción y posteriormente transferido el ADN a nailon e hibridarlo con una sonda radioactiva se denomina huella genética o en lenguaje coloquial código de barras individual.

Análisis de los fragmentos de restricción para identificar los alelos paternos (P) y maternos (M) de los cuatro hijos de un matrimonio. Una muestra de ADN de los implicados se trata con una enzima de restricción que no corte dentro de la región hipervariable. Se corren las muestras en un gel de azarosa, se desnaturaliza el ADN y se transfiere a nailon. La identificación se hace por hibridación con la sonda unilocus tratada radiactivamente.

a) El primer hijo (H1) es el resultado de una relación anterior al matrimonio actual y no muestra homología con los alelos paternos

b) la posible paternidad entre dos posibles padres P1 y P2 de un niño N

P2 queda identificado como el verdadero padre



Mecanismo de síntesis de proteínas

Una vez que hemos estudiado la naturaleza del material genético, vamos a pasar a su utilización, se trata de comprender como la información guardada en el ADN puede llegar a dirigir las numerosas funciones celulares.



Dos etapas:

- Transcripción
- Traducción

En los organismos eucariotas los procesos de transcripción y traducción están separados en el espacio y en el tiempo: El ADN se transcribe en el núcleo, mientras que se traduce a nivel de los ribosomas en el citosol.

En los organismos eucariotas los genes están fragmentados, cada gen consta de unas secuencias que se transcriben y traducen llamadas exones y otras que se transcriben pero que antes de ser traducidas se eliminan y se llaman intrones.

Un gen se expresa cuando se descodifica es decir cuando se transcribe y se traduce

Transcripción.-

La primera síntesis "in vitro" de ARN fue realizada por Severo Ochoa. Descubrió un enzima llamado polinucleótido fosforilasa que polimerizaba in vitro, sin embargo el enzima que funciona "in vivo" es la **ARN - polimerasa ADN dependiente**

La principal enzima responsable de la síntesis de ARN es una **ARN polimerasa** que cataliza la polimerización de ribonucleósidos trifosfato (ATP, CTP, GTP, UTP) utilizando moldes de ADN

La ARN polimerasa lee la cadena molde en dirección 3'---5' y forma un ARN en sentido 5'----3'. No requiere cebador preformado, pero empieza la síntesis en unas secuencias específica (promotor) que posee el ADN que actúa como molde

Procariontas.-

- En los organismos procariotas, la transcripción y la traducción tienen lugar a la vez y en el mismo lugar.
- En los organismos procariotas los genes son unidades continuas

Sólo existe un tipo de ARN polimerasa ADN dependiente que cataliza la síntesis de todos los ARNs no precisa cebador

La síntesis de ARN-m transcurre en las siguientes etapas:

➤ Iniciación

La ARN polimerasa sólo puede desplazarse y transcribir si previamente la doble hélice sufre un desenrollamiento y fusión (separación de las cadenas complementarias por ruptura de los puentes de hidrógeno entre las bases). La misma enzima cataliza ambos procesos, generando hacia el extremo 3' una **burbuja de transcripción**, un tramo de aproximadamente 12 nucleótidos de longitud, en el cual las cadenas permanecen desapareadas. La burbuja de transcripción aparenta avanzar junto con la enzima, pues a medida que progresa la fusión por delante de ella, la doble hélice se recompone por detrás.

En todos los genes hay una secuencia de nucleótidos característica llamada **promotor** que indica a la ARN polimerasa dónde debe de empezar la síntesis y que hebra debe de ser transcrita. Antes de producirse la unión de la ARN polimerasa a la hebra de ADN a transcribir, la ARN polimerasa se une a una cadena polipeptídica llamada factor σ que esta relacionada con el reconocimiento de los nucleótidos de la región promotora. Una vez iniciada la transcripción el factor σ se separa

Una secuencia de nucleótidos muy frecuente llamada secuencia consenso es: TATAAT y se la denomina "TATA box o Caja Pribnox".

Hay antibióticos que inhiben el comienzo de la transcripción por la ARN pol procarionta pero no por la ARN pol eucariota

➤ **Elongación-**

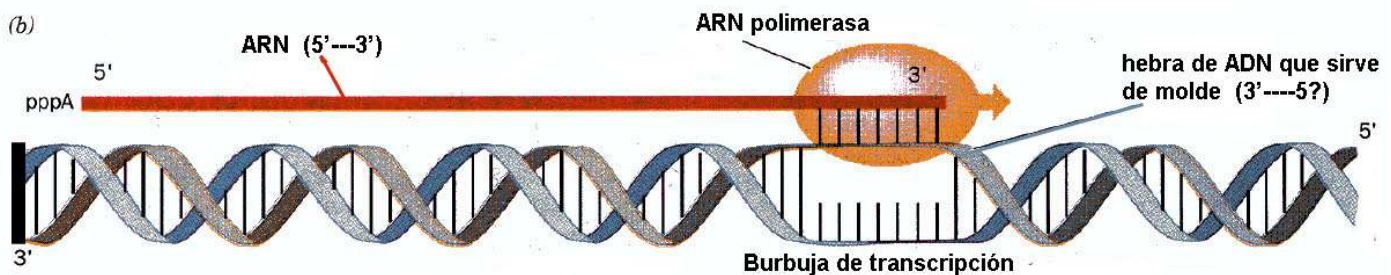
Después de unirse al promotor, la ARN-pol se acopla a una de las dos hebras del ADN (es un enzima procesiva) y se desplaza, por la hebra patrón de ADN en el sentido 3'---- 5' (la cadena de ARN se va formando en el sentido 5'--- 3').

La adenina es copiada por complementariedad por el uracilo, la timina por la adenina, la citosina por la guanina, y la guanina por la citosina. La ARN - pol carece de actividad nucleásica

➤ **Terminación**

La ARN pol va añadiendo nucleótidos hasta que se encuentra con una **señal de terminación** que marca el final de la síntesis del ARN-m.

Algunas bacterias necesitan para finalizar la síntesis existe secuencias de nucleótidos que determinan la intervención de la proteína llamada rho. Los sitios de terminación independientes del factor rho poseen unas secuencias ricas en guanina y citosina, situadas en el extremo de los genes, seguidas de secuencias ricas en timina, formando secuencias *poliandrómicas*, que cuando se transcriben el ARN recién sintetizado adopta una *estructura en horquilla* que desestabiliza el complejo ARN-ADN, obligando a separarse de la ARN polimerasa



La idea más importante es que en células procariotas las moléculas de ARN-m **son copias "literales"** del trozo de ADN que se copia (genes continuos), no se necesita ningún tipo de transformación Sin embargo los ARN-t y el ARN-r provienen de una molécula de ARN inicial que necesita un proceso de transformación o maduración antes de transformarse en un ARN-t o ARN-r funcional.

En células procariotas es común hallar ARNm que codifican para varias cadenas polipeptídicas diferentes, en este caso esta molécula se denomina ARNm policistrónico. Por lo general las proteínas codificadas por un ARNm policistrónico, participan en una misma vía metabólica

➤ **Eucariotas.-**

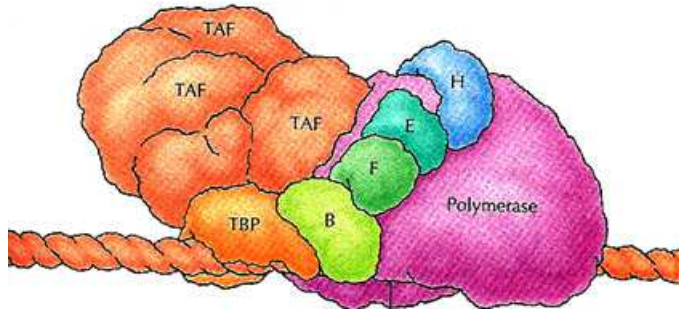
Dos diferencias:

- Los genes están fragmentados, por lo que todos los ARN copia directa del ADN se llaman **ARN transcrito primario o pre-ARNm o ARN heterogéneo nuclear (ARNhn)** necesita un proceso previo de maduración postranscripcional.
- Existen tres clases de ARN polimerasas:
 - **ARN pol I** (se localiza en el nucléolo) que cataliza la síntesis de un transcrito primario a partir del cual se obtienen los **ARN-r** 28S, 18S y 5,8S

- **ARN pol II** (se localiza en el nucleoplasma) que cataliza los transcritos primarios precursores de los **ARN-m** y **ARNs pequeños nucleares**
- **ARN pol III** (se localiza en el nucleoplasma) que cataliza la síntesis de moléculas de ARN de pequeño tamaño como el **ARN-t** y el **ARN-r 5S**

En la síntesis del ARNm de células eucariotas consideramos las mismas fases:

- **Iniciación.-** La ARN polimerasa se une a un sitio de iniciación constituido por una secuencia de bases del ADN conocidas como **promotores**. Es de destacar la secuencia similar a TATAA situada unos 25-30 nucleótidos corriente arriba del lugar de inicio de la transcripción (caja TATA). Es de destacar la identificación de proteínas llamadas **factores de transcripción** necesarios para que se inicie la transcripción y para la regulación de la expresión génica.



En las células eucariotas aparte del promotor existen segmentos de ADN relacionados con el promotor llamados **potenciadores** o **aumentadores** ("**enhancers**") que pueden tener posiciones variables. Se les asigna una función de regulación en la expresión génica selectiva

- Están formados por cientos de bases
- Generalmente incluyen secuencias repetidas
- Actúan a distancia, miles de bases del promotor.
- Son activos en cualquier orientación respecto al promotor, incluso suele encontrárselos dentro del mismo gen.

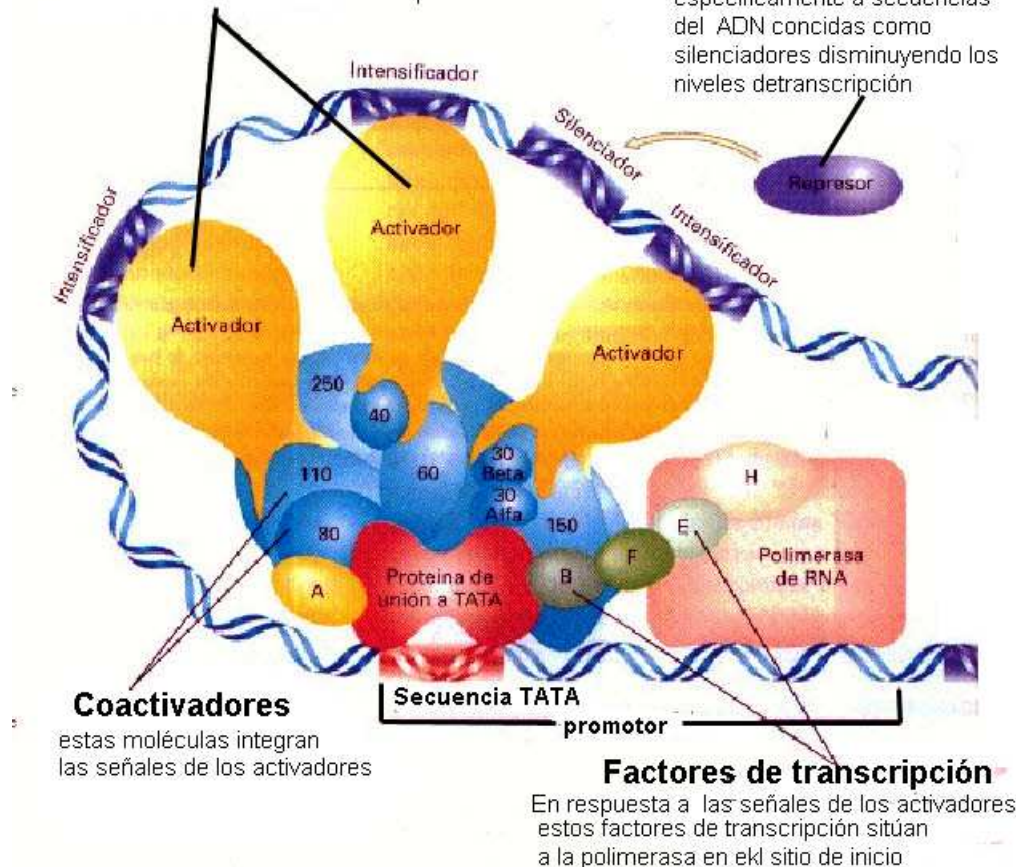
La seta venenosa Amanita phalloides contiene sustancias llamadas amatoxinas que se unen a la ARN pol II y la bloquean. Las amatoxinas actúan lentamente, la muerte tiene lugar varios días después de la ingestión por fallo hepático.

Activadores

proteínas que se unen a secuencias del ADN que va a ser transcrito, aumentando su tasa de transcripción

Represores

Proteínas que se unen específicamente a secuencias del ADN conocidas como silenciadores disminuyendo los niveles de transcripción



- **Elongación.-** Al igual que en los procariotas la ARN pol II, se acopla a una de las cadenas del ADN (es un enzima procesiva) y copia por complementariedad en el sentido 3'---- 5' (la cadena de ARN se va formando en el sentido 5'--- 3'). La ARN polimerasa desenrolla el molde de ADN que tiene por delante y enrolla el ADN que tiene por detrás

Hay una variante pues cuando se han transcrito unas 30 bases, se le añade en el extremo 5' del ARN en formación una **caperuza o capucha** (compuesta por resto de guanosina metilada unida a un grupo trifosfato). Define el inicio de la traducción

Las moléculas precursoras del ARN- r y del ARN - t no tienen caperuza

- **Terminación.-** El proceso de copia por complementariedad termina cuando la ARN pol II transcribe una secuencia de finalización específica (TTAM).

Un enzima llamado poli(A) -polimerasa adiciona una **cola** al extremo 3' del ARN formada por unos 150 a 200 ribonucleótidos de Adenina. (**Cola poliA**), que protege a los ARNs de la degradación

Se obtiene el transcrito primario también llamado Pre-ARN-m o ARN heterogéneo nuclear (ARNhn), que es una molécula que contiene:

- ✚ Secuencias **intrónicas y exónicas** alternantes
- ✚ Una caperuza en el extremo 5'
- ✚ Una cola poli(A) en el extremo 3'

- **Maduración.-**

Consiste en la eliminación o corte de las secuencias que no codifican (Intrones) y la unión o empalme de los fragmentos que quedan que si codifican llamados exones ("**splicing**"). La presencia de exones e intrones se indica diciendo que los genes eucariotas suelen ser **discontinuos**.

Previo a la eliminación los intrones se arrollan en lazos. En este proceso intervienen ribonucleoproteínas pequeñas nucleares (snRNPs)

Los cortes en los transcritos primarios tanto del ARN-m como de los precursores del ARN-t o ARN-r se realizan mediante un complejo molecular de proteínas y snRNPs de gran tamaño que se denomina **espliceosoma**.

La maduración de los preARNt y preARNr tienen particularidades que no consideramos.

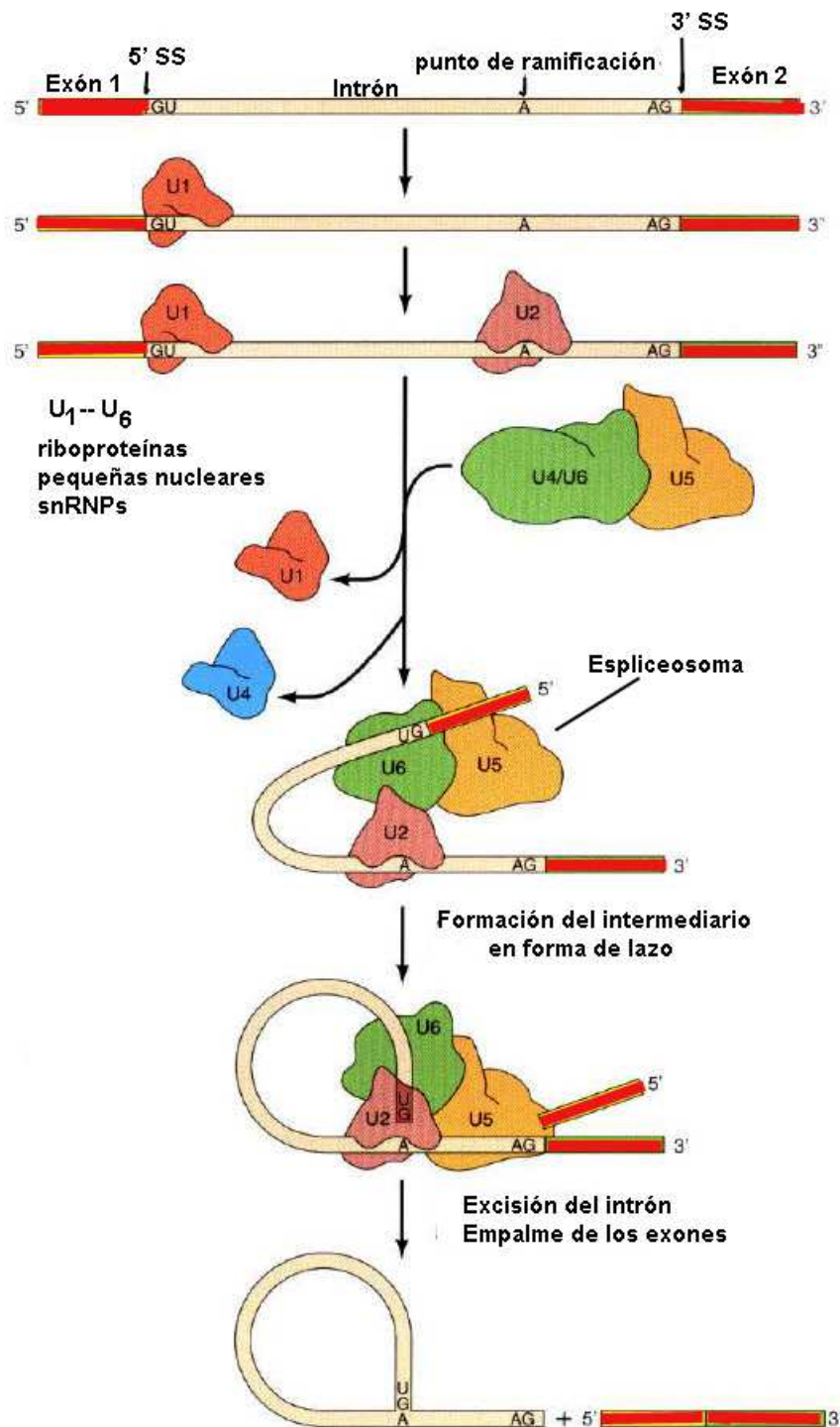
El quimioterapéutico anticanceroso actinomicina D inhibe el alargamiento de la cadena de RNA de eucariotes por unión a un DNA molde y de esta manera inhibe la transcripción

Corte y empalme alternativo

Dado que muchos pre-ARNm contienen múltiples intrones, pueden producirse distintos ARNm partiendo del mismo gen, **combinando los sitios de corte 5' y 3'**. La posibilidad de combinar los exones, aporta un nuevo método de controlar la expresión génica generando distintos ARNm y por tanto distintas proteínas a partir del mismo ARNm

En genes muy activos la transcripción puede efectuarse simultáneamente por varias moléculas de ARN-pol. La visualización al microscopio de esos genes presenta un aspecto plumoso

Corte y empalme (esplicing)

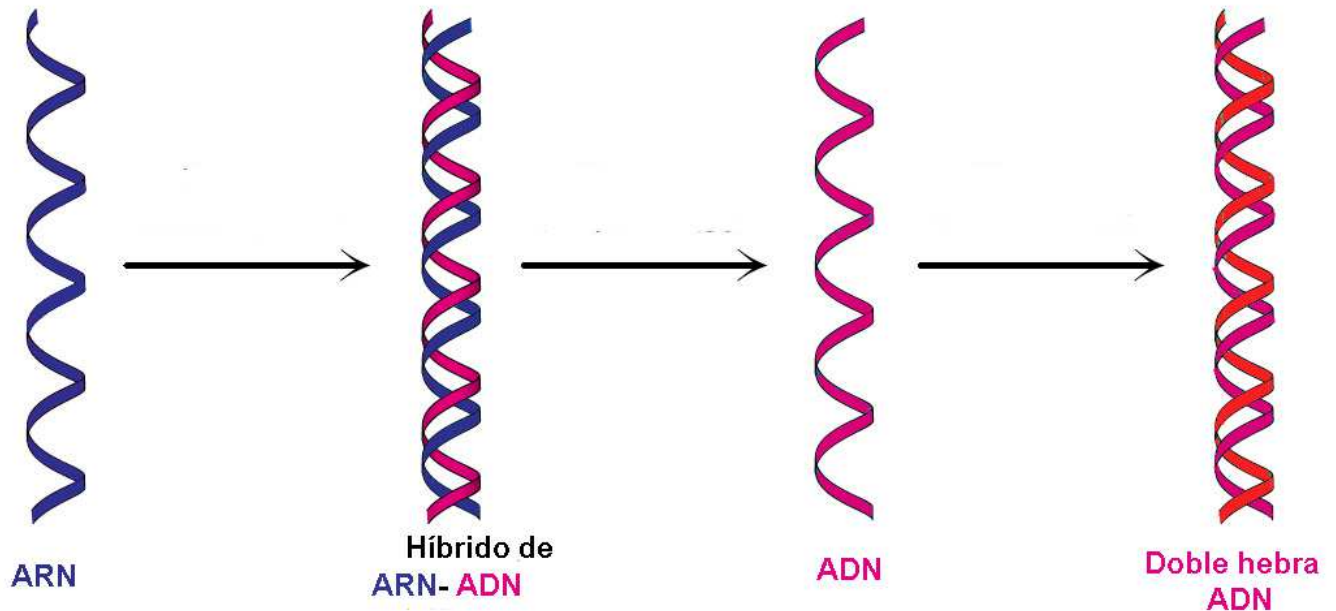


Retrotranscriptasa o reversotranscriptasa o transcriptasa inversa

Es un enzima descubierto en los retrovirus **capaces de pasar ARN a ADN**

1. Elabora una hebra de ADN complementario a una hebra de ARN
2. Tiene actividad ribonucleásica pues degrada la hebra de ARN del híbrido formado ADN-ARN
3. Elabora la hebra complementaria al ADN monohebra formado en 2

Reversotranscriptasa.transcriptasa inversa. retrotranscriptasa



Son ejemplos de retrotranscriptasas en células eucariotas:

- 🧬 **Telomerasa:** Enzima presente en células de la línea germinal, en tejidos fetales y en ciertas células madre poco diferenciadas, y que permite el **alargamiento de los telómeros**
- 🧬 **Retrotransposones:** Los transposones y retrotransposones **son elementos móviles que se desplazan de un sitio a otro del genoma**, donde se sitúan más o menos aleatoriamente y que si se insertan en regiones codificantes pueden causar mutaciones e incrementar la variabilidad genética. Dos tipos LINES (Long INterspersed Elements) 6 Kb aproximadamente SINES (Short INterspersed Elements) 300 pb aproximadamente
Transposón: Segmentos de DNA con capacidad para moverse por el genoma. Representan del 25-50% del genoma en mamíferos
Transposición: Cambio de posición de un elemento móvil en el genoma

Traducción

Es la síntesis de proteínas a partir de un molde de ARNm. Es la etapa final de la expresión genética. La traducción del ARNm da lugar a una cadena polipeptídica que se debe plegar para alcanzar su información tridimensional adecuada para realizar su función. La síntesis de

proteínas requiere la interacción de tres tipos de moléculas de ARN: **ARNt, ARNr y ARNm**

Dividimos el proceso de traducción en cuatro etapas

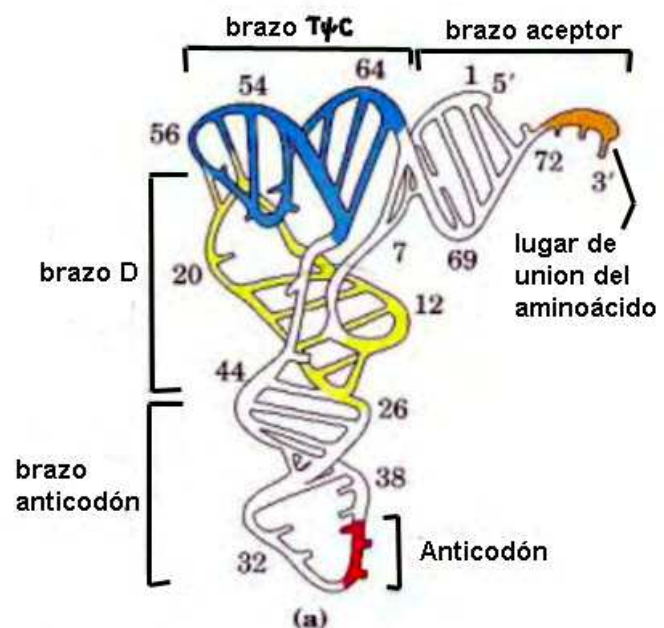
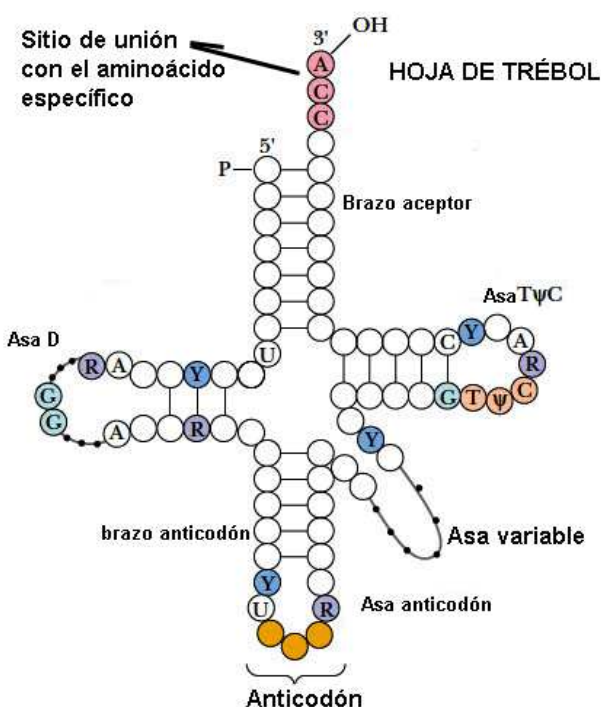
Papel y estructura de los distintos tipos de ARN en la síntesis proteica

ARNt o tRNA

Está formado por una sola hebra de ARN aunque presenta zonas en las que se forman puentes de hidrógeno entre algunas bases nitrogenadas, manifestando una estructura secundaria en forma de hoja de trébol y terciaria en forma de bumerán.

Aunque se conocen 50 ARN-t distintos (al menos uno para cada aminoácido) todos tienen en común componentes característicos:

- ✚ El ARN-t tiene su origen en un segmento de ADN y es transcrito en células eucariotas por la ARNpol III
- ✚ Además de las bases nitrogenadas típicas (A, U, C, G) poseen bases modificadas especiales como el pseudouracilo, dimetilguanina, etc.
- ✚ El extremo 3' (extremo aceptor) posee la secuencia C C A tiene un grupo -OH terminal que sirve de lugar de unión del aminoácido específico para ese ARN-t.
- ✚ El bucle situado en el extremo del brazo largo del bumerán contiene una secuencia de tres bases llamadas anticodón, que va a ser reconocido por la secuencia de tres bases del ARNm o codón. Cada ARN-t posee un determinado anticodón y se va a unir a una determinada enzima aminoacil ARNt sintetasa
- ✚ Poseen un bucle o brazo cuya secuencia es específica para cada ARN-t y es reconocido de manera específica por uno de los 20 enzimas conocidos como aminoacil-ARN-t-sintetasas, encargado de unir cada aminoácido con su correspondiente molécula de ARN-t.
- ✚ El extremo 5' en todos los ARN-t lleva el nucleótido Guanina con un grupo fosfato libre (G-P)
- ✚ El bucle o brazo TΨC actúa como lugar de reconocimiento en el ribosoma

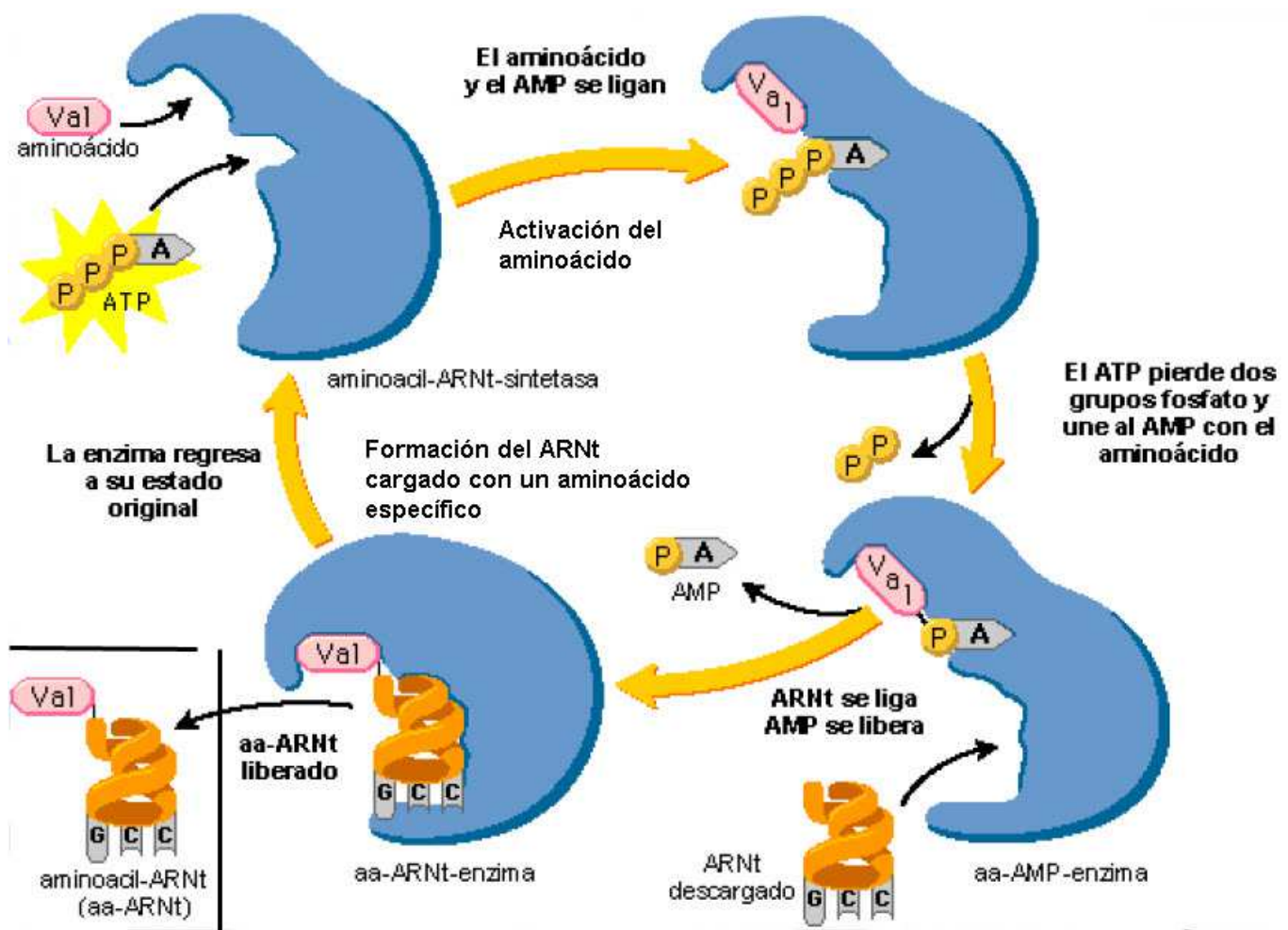


Unión de cada ARNt a su correspondiente aminoácido

Este proceso tiene lugar en el citósol

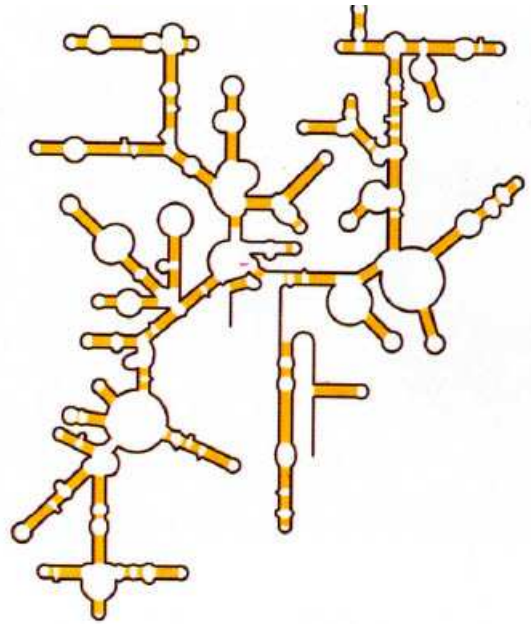
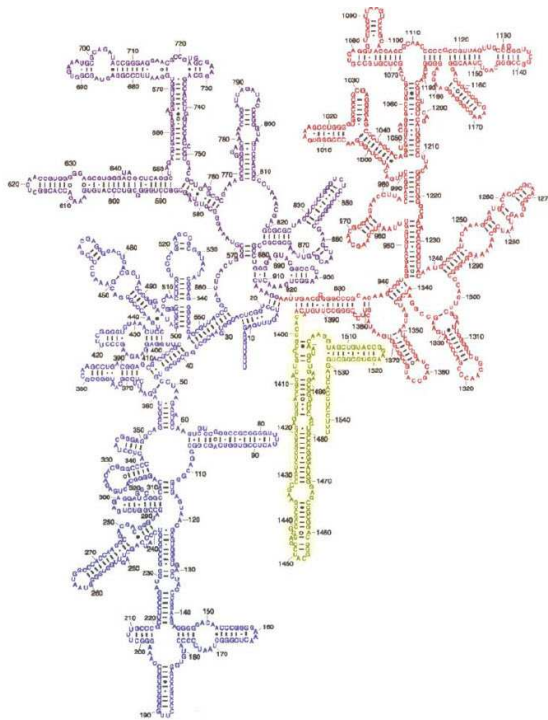
Se precisa:

- ❖ 1º Activación del aminoácido: requiere ATP y un enzima específico llamado aminoacilsintetasa
aminoácido + ATP + aminoacilsintetasa → aminoacil-AMP-enzima + 2 Pi
- ❖ 2º Formación del aminoacil-ARNt, es decir, el ARNt cargado con un aminoácido específico
aminoacil-AMP-enzima + ARNt → Aminoacil-ARNt + AMP + enzima libre



Tanto el ARNt de las bacterias como el de las células eucariotas son elaborados a partir de ADN como moléculas precursoras de gran tamaño llamadas preARNt. En las células eucariotas ya hemos indicado que la transcripción la realiza en el nucleoplasma la ARN polimerasa III

ARNr o rRNA. Ribosomas



Está constituido por moléculas de diferentes tamaños con estructura secundaria en algunos lugares de la molécula al formarse entre alguna de sus bases puentes de hidrógeno

Constituye un 60% de la composición de los ribosomas

El ARNr al unirse a proteínas y formar los ribosomas adquiere una estructura terciaria, lo que contribuye a que el ribosoma posea una estructura acanalada que le permite dar alojamiento simultáneamente al ARNm y al ARNt

Síntesis del ARN-r en células eucariotas. Elaboración de los ribosomas en el nucléolo

A partir de ADN asociado al nucléolo, por acción de una ARN polimerasa I se origina un ARN-r transcrito primario 45S

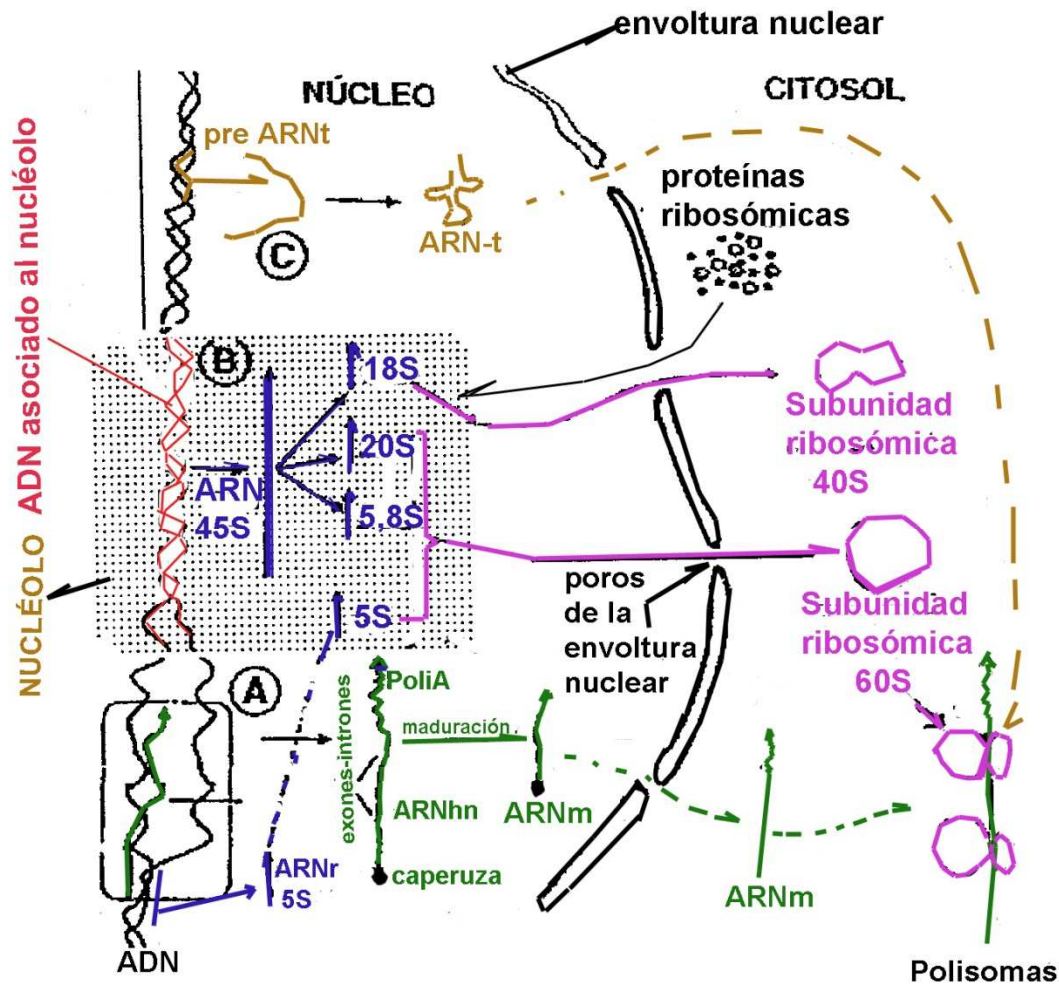
El ARN 45S al madurar da lugar al ARN-r 28S y el ARN 5,8S de la subunidad mayor y el ARN-r 18S de la subunidad menor

El ARN 5S de la subunidad mayor se transcribe partir del ADN del núcleo por acción de una ARN polimerasa III.

En el nucléolo no sólo se procesa el ARNr sino también es el lugar en el que se ensamblan el ARNr con las proteínas que se elaboran en el citosol para formar las subunidades ribosómicas.

Una vez el citosol, los ribosomas son los lugares en donde se va a producir la síntesis de proteínas.

En el nucléolo la parte central tiene un aspecto fibrilar y se interpreta como la zona que contiene el ADN asociado al nucléolo y los ARNr nacientes por transcripción. Rodeando la parte central hay una zona granular que contiene las subunidades ribosómicas en varias etapas de maduración. La unión de los distintos ARN-r con las proteínas específicas (que se elaboran en el citosol) forman las subunidades mayor y menor inmaduras, se hacen funcionales en el citosol una vez que atraviesan los poros de la envoltura nuclear



Código genético.-

Si el ADN de los distintos seres vivos se diferencia sólo en la distinta ordenación de las bases nitrogenadas, de alguna manera la información genética debe de estar encerrada en la distinta

secuencia de las bases nitrogenadas.

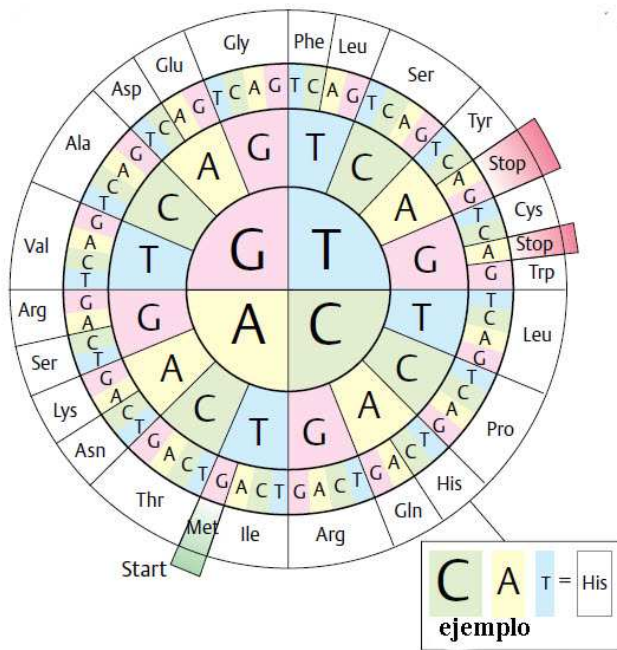
Se puede entonces considerar la molécula de ADN como un código de cuatro letras A, G, C, T, cuya secuencia es copiada por el ARN (U, G, C, A).

Ya sabemos que las proteínas se diferencian entre sí en el orden de colocación de los aminoácidos que la componen.

De alguna manera el código de cuatro letras debe de especificar los 20 aminoácidos. Si pensamos que es una base la que especifica cada aminoácido, tendríamos sólo cuatro posibilidades, Si dos tendríamos 16 (pero hay 20 aminoácidos). Si son tres bases (**codón o triplete**) las que especifican tendríamos 64 posibilidades para 20 aminoácidos.

El descifrado del código genético lo inició el español Severo Ochoa, que utilizó un enzima descubierto por él, la, polinucleótido fosforilasa (no es la que actúa "in vivo") para a partir de un ARN con un sólo nucleótido (poli U) y en presencia de todos los aminoácidos obtenía un polipéptido compuesto sólo por fenilalanina (luego el codón para la fenilalanina sería UUU). Un poli A daba lisina, un poli C prolina, etc.

El código genético o clave genética es la correspondencia entre tripletes o codones del ARN-m y los 20 aminoácidos, es decir, una clave que permite traducir el idioma de los genes al idioma de las proteínas



First position (5' end)	Second position				Third position (3' end)
	U	C	A	G	
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

Propiedades del código genético

- ✚ Al existir más tripletes (64) que aminoácidos (20) se dice que el código genético está degenerado lo que significa que dos o más tripletes especifican el mismo aminoácido. La degeneración del código se debe fundamentalmente a la imprecisión (balanceo) en el apareamiento de la tercera base, por lo que algunas moléculas de ART - t pueden reconocer más de un codón. Se puede considerar que la degeneración del código proporciona la ventaja de contrarrestar mutaciones dañinas, pues el cambio de un triplete por otro sinónimo no afecta a la proteína codificada. Los tripletes que especifican el mismo aminoácido tienen iguales las dos primeras bases (fundamentales) pudiendo variar la tercera. Dos codones que difieran en alguna de sus dos primeras bases deben ser reconocidos por RNA - t distintos
- ✚ No es ambiguo, cada triplete especifica un sólo aminoácido
- ✚ No es un código superpuesto, es decir, no hay solapamiento de bases, los tripletes se leen uno a continuación del otro tal como que se disponen en el ARNm
- ✚ Existen tripletes sin sentido (iniciación y terminalización)
- ✚ Es de observar que aminoácidos químicamente similares son especificados por codones similares.
- ✚ La lectura es unidireccional en el sentido 5' —3' del ARNm
- ✚ Aunque se ha comprobado que algunas asignaciones de codones en mitocondrias, cloroplastos y protozoos, difieren de las del llamado código estándar, las semejanzas sobrepasan las diferencias por lo que se puede, decir que el código genético es universal (el mismo para todos los seres vivos) Un código universal puede ser una prueba de que todos los seres vivos presentes en la Tierra comparten un origen evolutivo común.

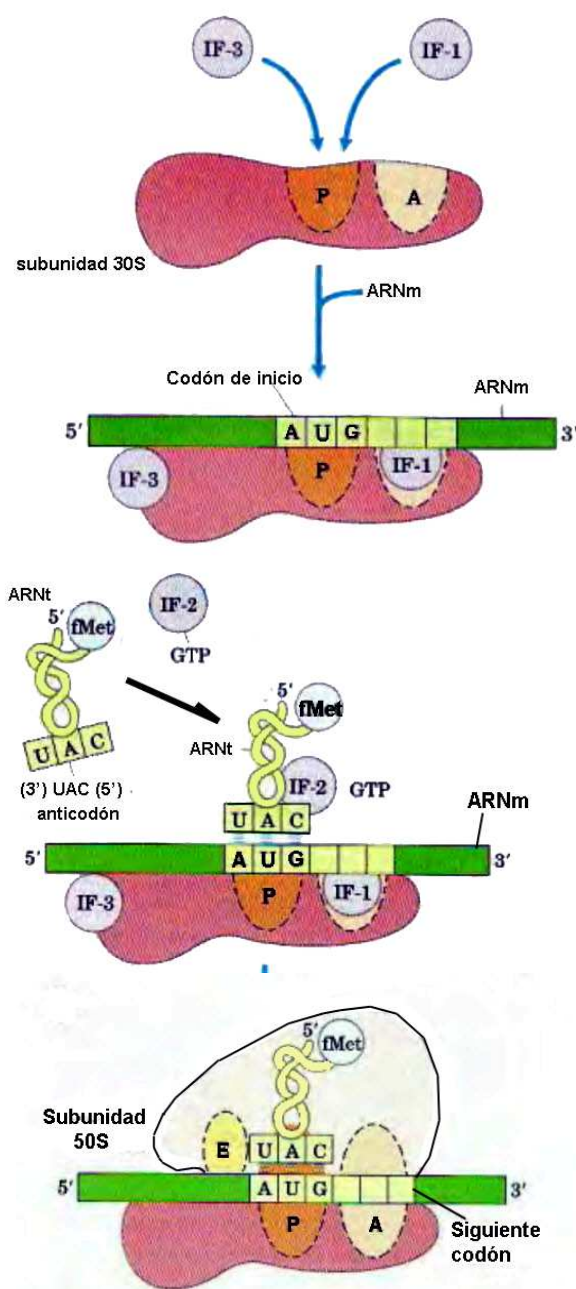
Traducción o lectura de la información

A diferencia de las células eucariotas, en las cuales la

transcripción ocurre en el núcleo y la traducción en el citoplasma y los dos procesos están separados por muchos pasos interpuestos, en las células procariotas las correspondientes actividades se encuentran firmemente acopladas. Por lo tanto, la síntesis proteínica en las células bacterianas se inicia sobre plantillas de ARNm mucho antes de concluir la síntesis del ARNm. La síntesis de un ARNm procede en la misma dirección que se mueven los ribosomas cuando traducen el mensaje, o sea, desde el extremo 5' al 3'. En consecuencia, tan pronto como una molécula de ARN comienza a sintetizarse, el extremo 5' está disponible para fijarse a ribosomas.

La síntesis de una cadena de polipéptidos se puede dividir en tres actividades distintivas: ① inicio, ② alargamiento y ③ terminación de la cadena. Consideraremos por separado cada una de estas actividades

① INICIO



El primer paso principal de inicio es el enlace de la subunidad ribosómica pequeña a la primera secuencia AUG del mensaje, la cual sirve como codón inicial. ¿Cómo puede la subunidad pequeña seleccionar el codón AUG inicial en comparación con algún otro codón interno? Los ARNm bacterianos poseen una secuencia específica de nucleótidos (llamada secuencia *Shine-Dalgarno*, por sus descubridores) que corresponde de cinco a 10 nucleótidos antes del codón inicial. La secuencia Shine-Dalgarno es complementaria de una secuencia de nucleótidos cercana al extremo 3' del ARN ribosómico 16S en la subunidad ribosómica pequeña. El reconocimiento del codón inicial **AUG** es resultado de la interacción entre estas secuencias complementarias en el ARNm y el ARNr conforme la subunidad pequeña se enlaza

al mensaje. En los procariotas, la metionina inicial posee un grupo formilo que lo convierte en N-formilmetionina.

En eucariotes, la subunidad ribosómica pequeña reconoce primero el extremo 5' del mensaje que precede a la **caperuza metilguanósina**, y luego se desplaza a lo largo del ARNm hasta alcanzar una secuencia de nucleótidos (típicamente 5'-CCACCAUGC-3') **que contiene el triplete AUG**

Es interesante que mitocondrias y cloroplastos de células eucarióticas usen la N-formilmetionina para iniciar la traducción en vez de metionina, dato que suministra una de las piezas más fuertes en el argumento del origen procariota de estos orgánulos

En bacterias existen tres factores de iniciación (IF-1, IF-2, IF3) que se unen inicialmente a la subunidad ribosómica pequeña. El factor IF-2 facilita la unión al ribosoma del ARNt^{fMet} y el ARNm. Una vez formado este complejo de iniciación, la liberación del factor IF-3 permite que se asocie al complejo la subunidad grande.

En eucariotas es un proceso más complejo y requiere de al menos 10 factores de iniciación proteicos distintos

En el ribosoma hay dos sitios para asociarse a las moléculas de ARN de transferencia. Estos dos sitios, llamados **sitio A (aminoacilo)** y **sitio P (peptidilo)**, tienen papeles diferentes en la traducción. El sitio A es en el que entra el aminoacil-ARNt al complejo ARNm ribosómico, en tanto que el sitio P es donde el ARNt dona aminoácidos a la cadena en crecimiento. En la actualidad se acepta un tercer sitio, llamado **sitio E** (salida, del inglés *exit*), como sitio separado donde el ARNt abandona el ribosoma después de donar su aminoácido al extremo de la cadena en crecimiento

2 ALARGAMIENTO o Elongación

➤ ① Primer paso: Entrada del aminoacil-ARNt con el anticodón que corresponda al codón que marca el ARNm

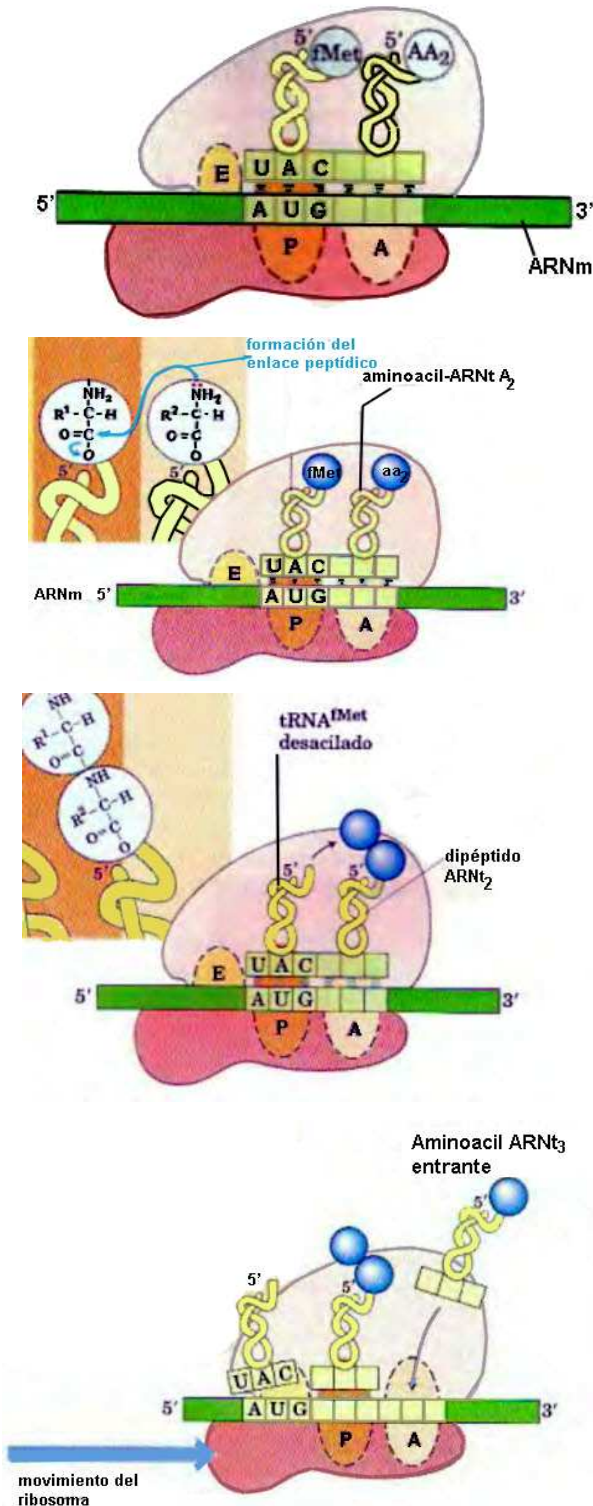
Con el ARNt iniciador firmemente cargado en su lugar dentro del sitio P, el ribosoma queda disponible para la entrada de un aminoacil-ARNt en el sitio A. Antes que el segundo aminoacil-ARNt o cualquiera de los subsiguientes pueda enlazarse de manera eficaz al ARNm en el sitio A, debe combinarse con uno de los diversos factores de alargamiento de proteínas (este factor particular de alargamiento se denomina Tu en los procariotas y FAe1 en eucariotas) unido al GTP. Aunque cualquier complejo aminoacil-ARNt-Tu-GTP puede entrar al sitio A, sólo aquéllos **cuyo anticodón sea complementario del codón ARNm situado en el sitio A** puede quedar atrapado allí porque se une específicamente al ARNm. Una vez que el aminoacil-ARNt-Tu-GTP apropiado se enlaza al codón ARNm, el GTP se hidroliza y el complejo Tu-GDP se libera.

➤ ② El segundo paso en el ciclo de alargamiento es la **formación de un enlace peptídico** entre los aminoácidos enlazados a los dos ARNt. La reacción ocurre por transferencia de la metionina (o de la N-formilmencionina) situada sobre el ARNt iniciador del sitio P al aminoácido unido al ARNt, unido a su vez al segundo codón en el sitio A. Esta reacción es catalizada por **la enzima peptidiltransferasa**, un componente de la subunidad grande del ribosoma. En la actualidad se ha demostrado que la actividad de la peptidiltransferasa en realidad reside en la molécula del ARN ribosómico de la subunidad ribosómica grande. En otras palabras, la peptidiltransferasa es **una ribozima**. La formación del primer enlace peptídico deja un extremo de la molécula de ARNt del sitio A todavía fijo a su codón complementario sobre el ARNm y el otro extremo de la molécula fijo a un dipéptido. El ARNt del sitio P queda entonces desprovisto de todo aminoácido unido.

➤ ③ El tercer paso. Translocación y repetición del ciclo

El ciclo de alargamiento implica: 1) expulsión del ARNt no cargado del sitio P, y 2) movimiento del ribosoma tres nucleótidos (un codón) junto con el ARNm en la dirección 3'. Este último paso, llamado **translocación**, se acompaña de movimiento del ARNt dipéptido hacia el sitio P del ribosoma,

todavía enlazado mediante un puente de hidrógeno al segundo codón del ARNm. La translocación requiere otro factor de alargamiento (EFTu en procariotas y FAe2 en eucariotes) y la hidrólisis de GTP. Puesto que la translocación implica el movimiento de una partícula sobre una distancia

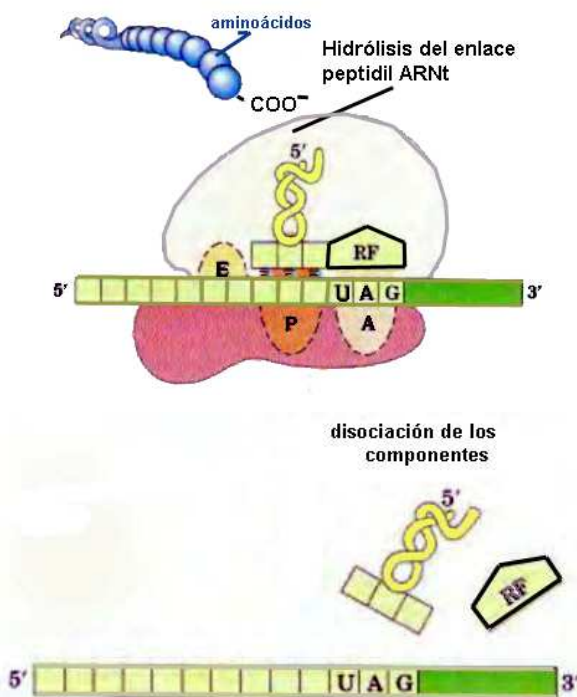


aproximada de 1 nm a lo largo del mensaje, debe acompañarse de notables cambios de conformación en la estructura del ribosoma. La energía requerida para impulsar la translocación es suministrada por la hidrólisis del GTP. Así, por cada ciclo de alargamiento cuando menos se hidrolizan dos moléculas de GTP, una (o más) durante la selección del aminoacil-ARNt y otra durante la translocación.

Una vez separado el peptidilARNt del sitio P, el sitio A se encuentra abierto a la entrada de otro aminoacil-ARNt, en este caso uno cuyo anticodón sea complementario del tercer codón. Cuando el tercer ARNt cargado se asocia al ARNm en el sitio A, el dipéptido del ARNt del sitio P se transfiere al aminoácido sobre el ARNt del sitio A formando el segundo enlace peptídico y un tripéptido fijo al ARNt del sitio A. El ARNt del sitio P otra vez se encuentra desprovisto de un aminoácido. La formación de enlaces peptídicos va seguida de la expulsión del ARNt del sitio P y la translocación del ribosoma al cuarto codón, y el ciclo está listo para comenzar una vez más.

La estreptomicina, uno de los antibióticos más ampliamente prescritos, ejerce su efecto porque se enlaza selectivamente a la subunidad ribosómica pequeña de las células bacterianas causando que ciertos codones del ARNm se lean de manera equivocada e incrementando, por lo tanto, la síntesis de proteínas anormales. Puesto que el antibiótico no se enlaza a ribosomas eucariotas, no tiene efectos sobre la traducción de los ARNm de las células del huésped.

3 TERMINACIÓN



Tres de los 64 codones posibles son codones de paro cuya función es concluir el ensamblado de polipéptidos en vez de codificar otro aminoácido. **No existe ARNt cuyos anticodones sean complementarios de los codones de paro.** Cuando el ribosoma alcanza uno de estos codones, UAA, UAG, UGA, la señal que se lee es **detener todo alargamiento adicional y liberar el polipéptido asociado al último ARNt.** La terminación requiere la presencia de *factores de liberación* que interactúan directamente con los codones de paro; las bacterias tienen dos factores de liberación (FL1 reconoce UAA y UAG, y FL2 reconoce UGA), en tanto que las células eucariotas sólo poseen uno (FLe). El factor de liberación posee un GTP enlazado que posteriormente se hidroliza. Una vez detenida la traducción, el polipéptido terminado se separa de su fijación al ARNt, y ambos, factor de liberación y ARNt desacilado, se liberan del ribosoma. La hidrólisis del enlace entre el polipéptido y el último ARNt puede ser catalizada por la misma porción del ARNr encargada de la formación de enlaces peptídicos

durante el alargamiento. **Cuando la terminación concluye, el ribosoma se separa del mensaje y se disocia en sus subunidades** como preparación para otro turno de traducción.

Puesto que los tres codones de terminación pueden formarse con facilidad mediante cambios en una sola base a partir de muchos otros codones, podrían esperarse mutaciones que originen codones de paro dentro de un gen. Tales mutaciones provocarían la terminación prematura de la cadena de polipéptidos en crecimiento. Durante decenios se han estudiado mutaciones de este tipo, llamadas mutaciones sin sentido, y se sabe que provocan varias enfermedades hereditarias en el hombre. Las mutaciones sin sentido de ordinario ocasionan las formas más graves de una enfermedad hereditaria debido a que sólo se sintetiza una parte de la proteína y, por lo tanto, invariablemente es no funcional.

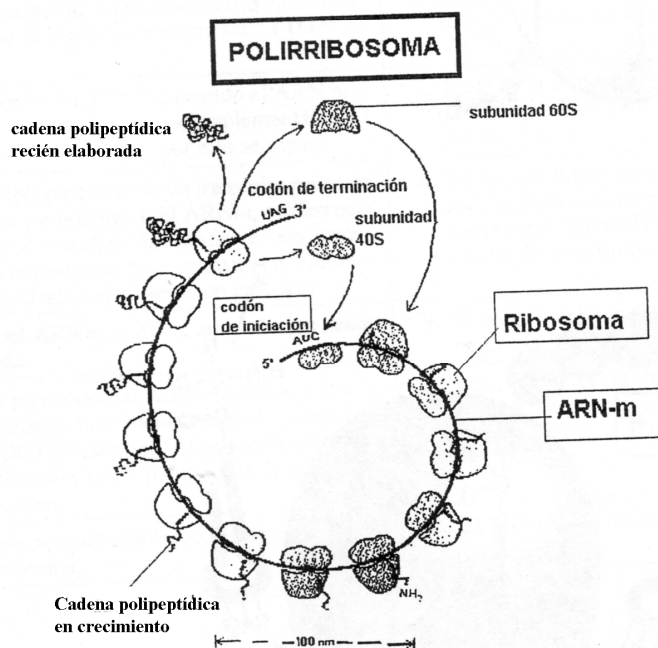
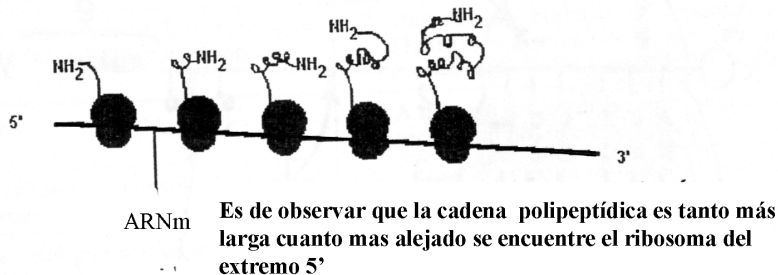
Otra forma de terminar prematuramente el crecimiento de la cadena es añadir el antibiótico puromicina. Esta molécula se parece al extremo 3' de un ARNt cargado y puede penetrar al sitio A del ribosoma. Una vez en dicho sitio, el péptido del sitio P se transfiere a la puromicina del sitio A y se forma un enlace covalente. La transferencia de la cadena nascente de polipéptido a la puromicina coloca un casquete sobre el extremo carboxilo de la cadena, de modo que ya no pueden fijarse más aminoácidos. En vez de ello, el complejo peptidil-puromicina se separa del ribosoma

Recuerden:

Tipos de ARN

- **ARNm.**- ácido ribonucleico mensajero: es una copia de un fragmento de ADN (gen) y es el molde para la síntesis de proteínas (traducción)
- **ARNt.**- ácido ribonucleico de transferencia: es el encargado de transportar los aminoácidos en forma activada al ribosoma para la formación de una determinada secuencia de aminoácidos (proteína) dictada por la secuencia de nucleótidos del ARNm
- **ARNr.**- ácido ribonucleico ribosómico: Unido a proteínas constituye los ribosomas
- **ARNsn.**- ácido ribonucleico pequeño nuclear: está presente en el núcleo, y es de pequeño tamaño. Está implicado en los procesos de maduración del ARNhn. En este proceso, el ARNsn se asocia a proteínas formando las ribonucleoproteínas pequeñas nucleares (RNPsn) que se encargan de eliminar los intrones (aquellos fragmentos del transcrito primario de RNA que no aparecen en el molde de RNAm). Cuando las RNPsn se unen al precursor del RNAm para eliminar los intrones se forma un complejo RNA-proteína de gran tamaño, visible al microscopio electrónico, y que recibe el nombre de espliceosoma
- **ARN componente del enzima telomerasa** encargada de mantener los telómeros (extremos) de los cromosomas durante la replicación del ADN

Polisoma o polirribosoma



Cuando se examina en el microscopio electrónico un RNA mensajero durante el proceso de traducción, invariablemente se observan numerosos ribosomas fijados a todo lo largo de la cadena de RNAm. A este complejo de ribosomas y RNAm se le denomina **polirribosoma, o polisoma**. Inicialmente, cada uno de los ribosomas se ensambla a partir de sus subunidades en el codón de inicio y luego se desplaza desde ese punto hacia el extremo 3' del RNAm hasta alcanzar un codón de terminación. Tan pronto como cada ribosoma se desplaza una distancia suficiente a lo largo del mensaje a partir del codón inicial, el siguiente ribosoma se fija al RNAm y comienza la actividad de traducción. La traducción simultánea del mismo RNAm por un gran número de ribosomas incrementa mucho la tasa de síntesis de proteínas dentro de la célula

Algunas diferencias entre bacterias y células eucariotas en los procesos de replicación, transcripción y traducción

Bacterias	Células eucariotas
1.- El ADN no está enrollado a proteínas histónicas formando nucleosomas por lo que no precisa ser desenrollado para ser “leído”	1.- El ADN de las células eucariotas forma nucleosomas por lo que debe desenrollarse
2: Sólo hay una burbuja de replicación . Los fragmentos de Okazaki tienen 1000-2000 nucleótidos	2: Hay muchas burbujas de replicación o replicones . Los fragmentos de Okazaki más cortos de 100 a 200 nucleótidos
3: Los genes son continuos	3: A menudo los genes presentan intrones intercalados
4: La transcripción se produce en el citosol (el nucleoide está inmerso en el citosol)	4: La transcripción tiene lugar en el interior del núcleo y la traducción en el citosol
5. Hay una sola enzima ARN polimerasa sea cual sea el ARN a sintetizar	5: Hay tres tipos de ARN polimerasas que elaboran cada uno de los tres tipos de ARN
6: En el inicio de la transcripción , las secuencias consenso más frecuentes de la región promotora son: TTGACA y TATAAT	En el inicio de la transcripción , las secuencias consenso más frecuentes de la región promotora son: CAAT y TATA
7.- Final de transcripción: Finaliza cuando el ARN presenta una secuencia que por autocomplementariedad se dobla y forma un bucle final	7.- Final de transcripción: finaliza al llegar a la secuencia TTATT
8: El ARNt y el ARNr proceden de un transcrito primario madurado (cortes empalmes). El ARNm a se sintetiza directamente, sin previa maduración (no hay adicción de “caperuza”, ni eliminación de intrones, ni de adicción de la cola poliA	8: todos los transcritos primarios experimentan maduración , pero sólo el preARNm o ARNhn hay adicción de “caperuza” y cola
9: La traducción del ARNm se inicia antes de que acabe de ser sintetizado	9: El ARN-m debe pasar del núcleo al citosol para poder ser traducido
10: Los ribosomas reconocen al ARNm porque cercano al codón de iniciación contiene una secuencia complementaria a la del ARNr . El primer codón es AUG que corresponde a la N-formilmetionina	10: Los ribosomas reconocen al ARNm gracias a la “caperuza”, consideran al codón AUG más próximo a ella como el iniciador y corresponde a la metionina
11. El ARN puede ser policistrónico , es decir, dar lugar a cadenas polipeptídicas distintas	11. El ARNm es siempre monocistrónico , es decir, codifican para una determinada cadena polipeptídica
12- Si bien la ARN polimerasa bacteriana no requiere de factores de transcripción, se considera a la subunidad σ como un factor de inicio de la transcripción, ya que el núcleo enzimático despojado de la subunidad σ no puede por sí mismo leer adecuadamente las secuencias promotoras y efectuar la transcripción.	12.-Las ARN polimerasas eucariotas no se unen al ADN molde en su sitio promotor si no están presentes proteínas denominadas factores basales de transcripción . Estos son específicos de cada polimerasa y se encuentran en todos los tipos celulares. Las células eucariotas también cuentan con factores de transcripción específicos los cuales relacionan a los factores basales con las regiones reguladoras de un gen. Los factores específicos controlan la tasa de transcripción de los genes. Cada tejido presenta una combinación particular de los mismos

Del genoma al proteoma

El genoma humano secuenciado completamente contiene 3 mil millones de bases y los genes cerca de 25.000. Pero este conocimiento genómico es análogo a una lista de piezas para un coche que no explica qué partes están presentes en diferentes componentes o cómo los componentes trabajan juntos. Una nueva palabra ha sido acuñada, el proteoma, para significar un nivel más complejo del contenido de la información, el nivel de la información funcional, que incluye el tipo, funciones e interacciones de las proteínas que integran una unidad funcional.

El término proteoma se deriva de proteínas expresadas por el genoma. El genoma nos da una lista de los productos de los genes que podrían estar presentes, pero sólo una parte se expresará realmente en un contexto biológico determinado. El proteoma nos dice lo que está presente funcionalmente, por ejemplo, que proteínas interactúan para formar una vía de transducción de señales o de iones de un canal en una membrana. El proteoma no es una característica fija de la célula. Por el contrario, porque representa la expresión funcional de la información, varía según el tipo de células, etapa de desarrollo, y las condiciones ambientales, como puede ser la presencia de hormonas. El proteoma es mucho mayor que el genoma, ya que casi todos los productos de los genes son proteínas que pueden ser químicamente modificadas de diversas maneras. Además, estas proteínas no existen aisladas, sino que a menudo interactúan entre sí para formar complejos con propiedades funcionales específicas. A diferencia del genoma, el proteoma no es estático.

El conocimiento del proteoma se adquiere mediante la investigación, la caracterización y catalogación de proteínas. En algunos, pero no todos, los casos, este proceso se inicia por la separación de una proteína particular de todas las otras biomoléculas en la célula