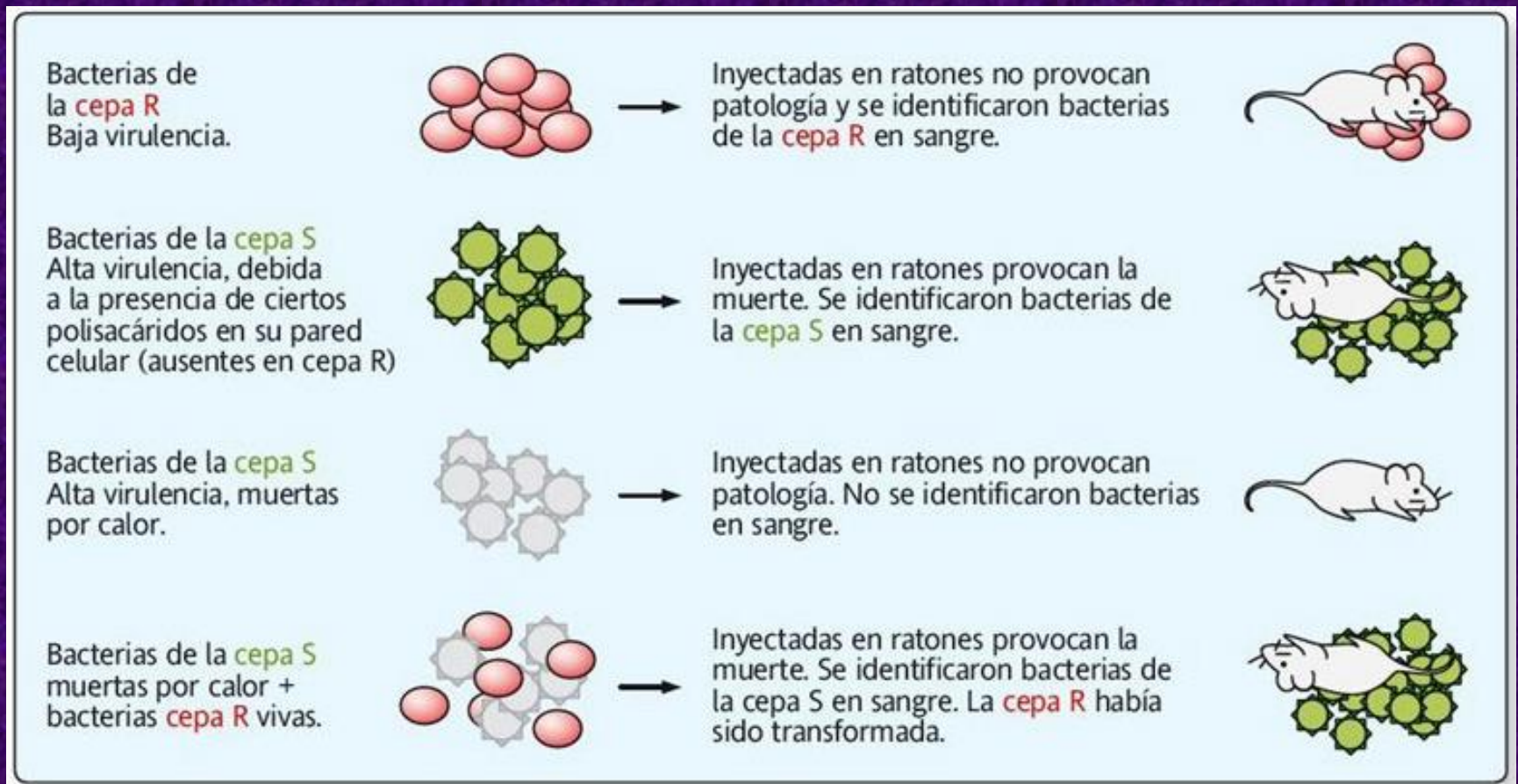


ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DEL ADN

La investigación de la bioquímica del ADN comenzó con Friedrich Miescher en 1868, al aislar de los núcleos celulares una sustancia que contenía fósforo a la que llamó nucleína.

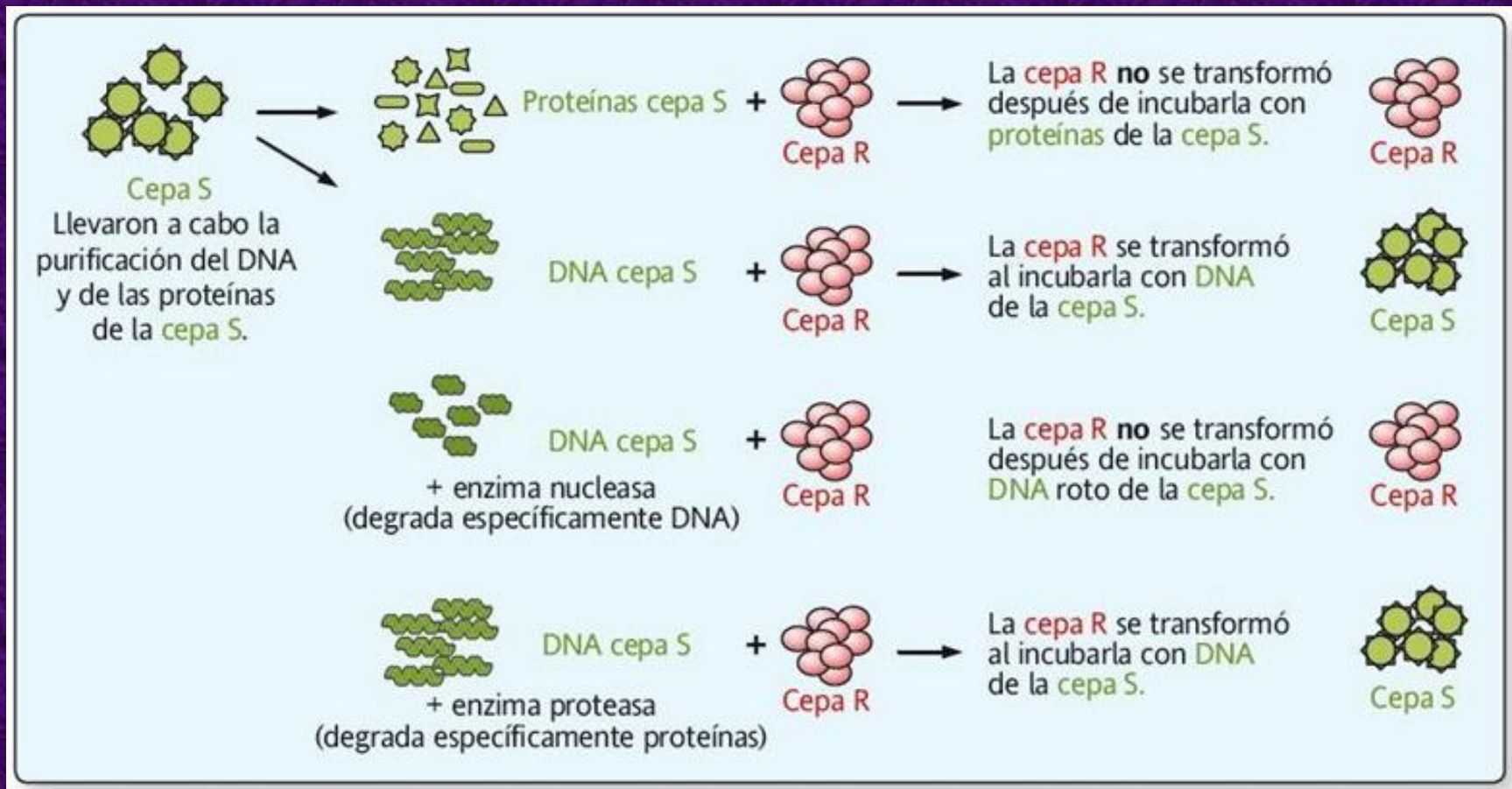
Experimento de Griffith con *Diplococcus pneumoniae*.

Este experimento fue uno de los primeros que demostró la existencia en las bacterias de un «principio transformante» que provocaba la transformación de una cepa no patógena en otra virulenta.



Experimento de Avery, Macleod y McCarty.

Este experimento permitió demostrar que el principio transformante en *Diplococcus pneumoniae* era el DNA y no las proteínas. Con ello demostraron que el ADN es la molécula portadora de la información genética.



Estudios y experimentos posteriores han demostrado que el ADN es el único componente cromosómico que contiene la información genética en las células vivas.

Chargaff y col., a fines de 1940 encontraron que las cantidades de las 4 bases de los nucleótidos del ADN variaban según el organismo y que las cantidades relativas de ciertas bases estaban relacionadas.

Las reglas de Chargaff fueron esenciales para la deducción de la estructura tridimensional del ADN:

- 1- la composición de las bases del ADN generalmente varía de una especie a otra.**
- 2- las muestras de ADN aisladas de diferentes tejidos de la misma especie se componen de las mismas bases.**
- 3- la composición de bases del ADN de una determinada especie no varía con la edad del organismo, ni con su estado nutricional ni con el ambiente.**
- 4- en todos los ADN de diferentes especies, $A=T$ y $G=C$. A partir de esta proporción es posible considerar que $A+G= T+C$**

La determinación de la estructura por parte de Watson y Crick en 1953 permitió la determinación del mecanismo molecular de la herencia.

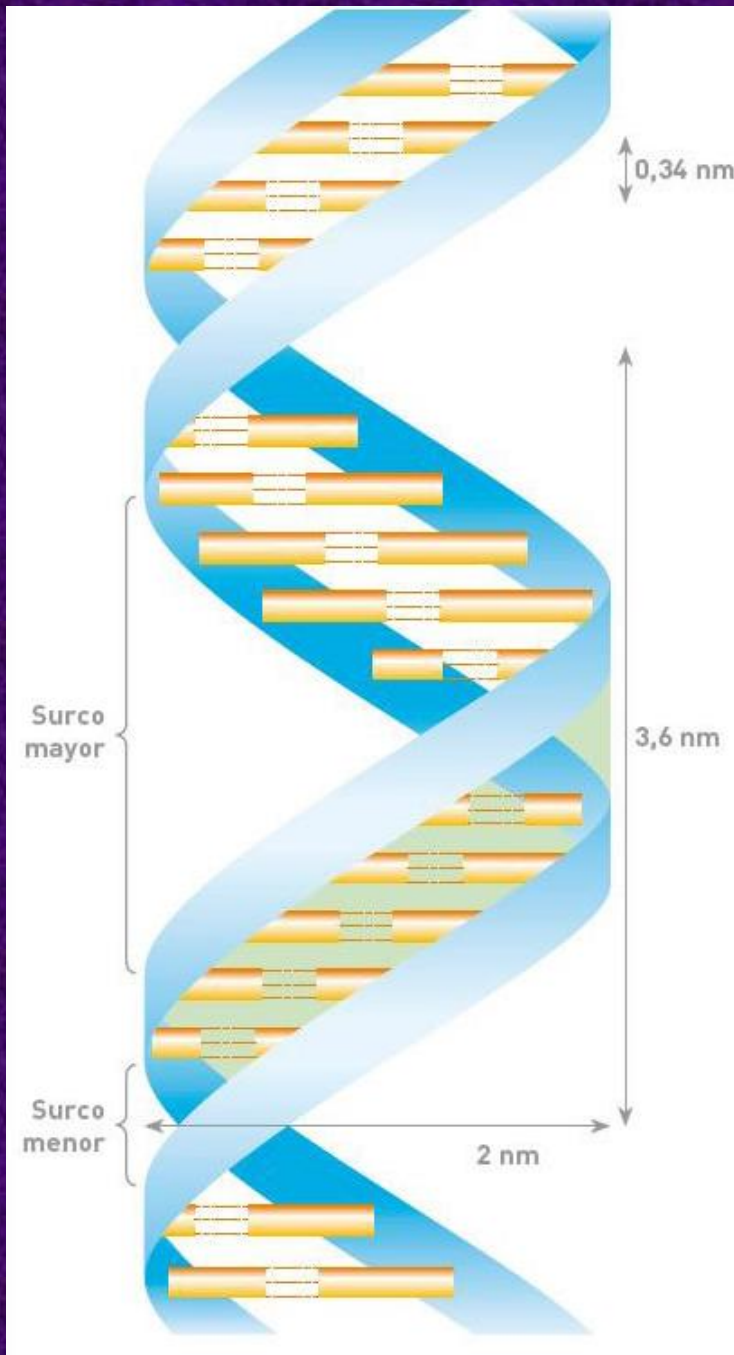
Postularon un modelo tridimensional con las sig. características:

1- Existen 2 cadenas de polinucleótidos enrolladas alrededor de un eje común, formando una doble hélice.

2- Las 2 cadenas del ADN son antiparalelas, pero cada una forma una hélice dextrógira.

3- Las bases ocupan el centro de la hélice y las cadenas de azúcares y fosfatos se sitúan en el exterior. La superficie de la doble hélice contiene 2 hendiduras de ancho desigual: los surcos mayor y menor.

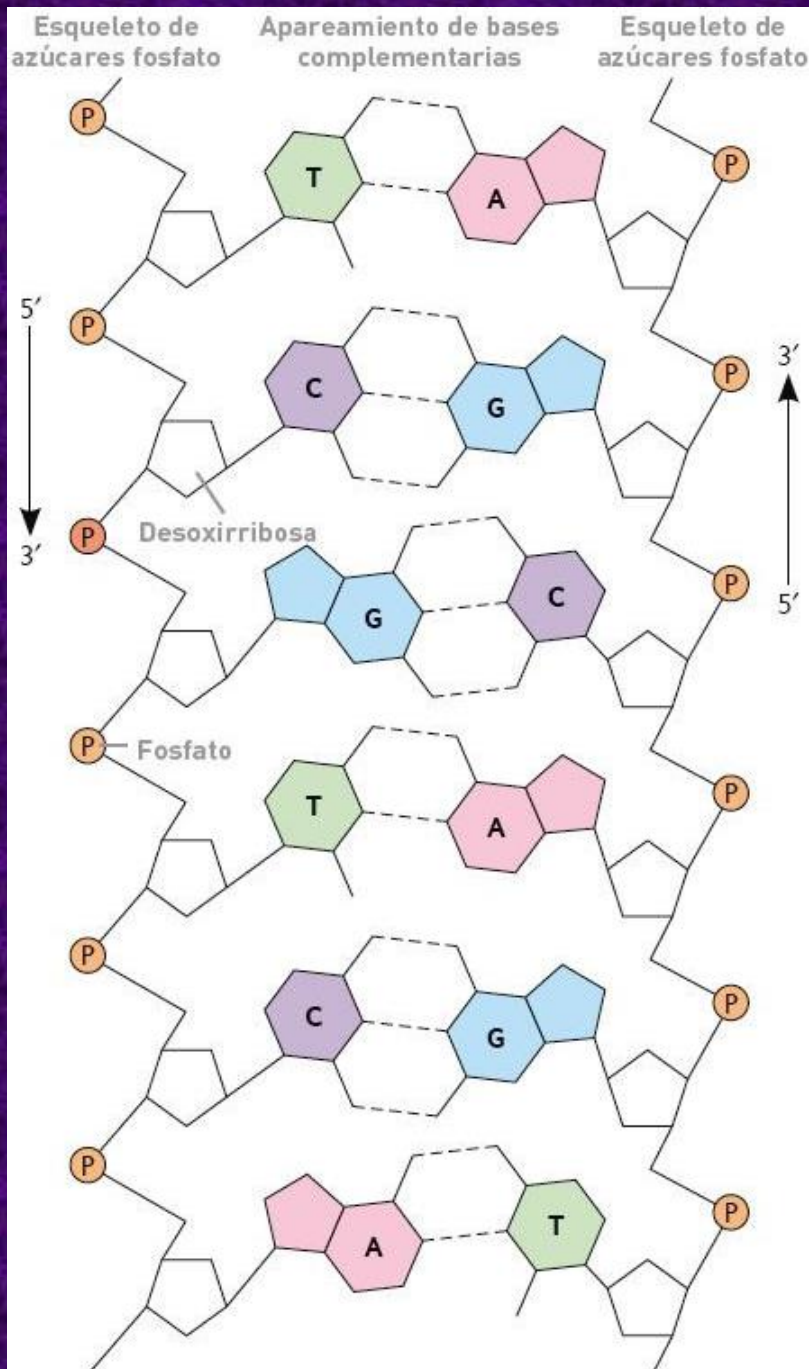
4- Cada base está unida por puentes de hidrógeno a una base de la hebra opuesta, para formar un par de bases plano. Es un apareamiento de bases complementarias: **A=T y **C≡G****



**Modelo de Watson y Crick
de la estructura del DNA.**

**La molécula de DNA tiene
10,5 pares de bases y 3,6 nm
por vuelta de hélice.**

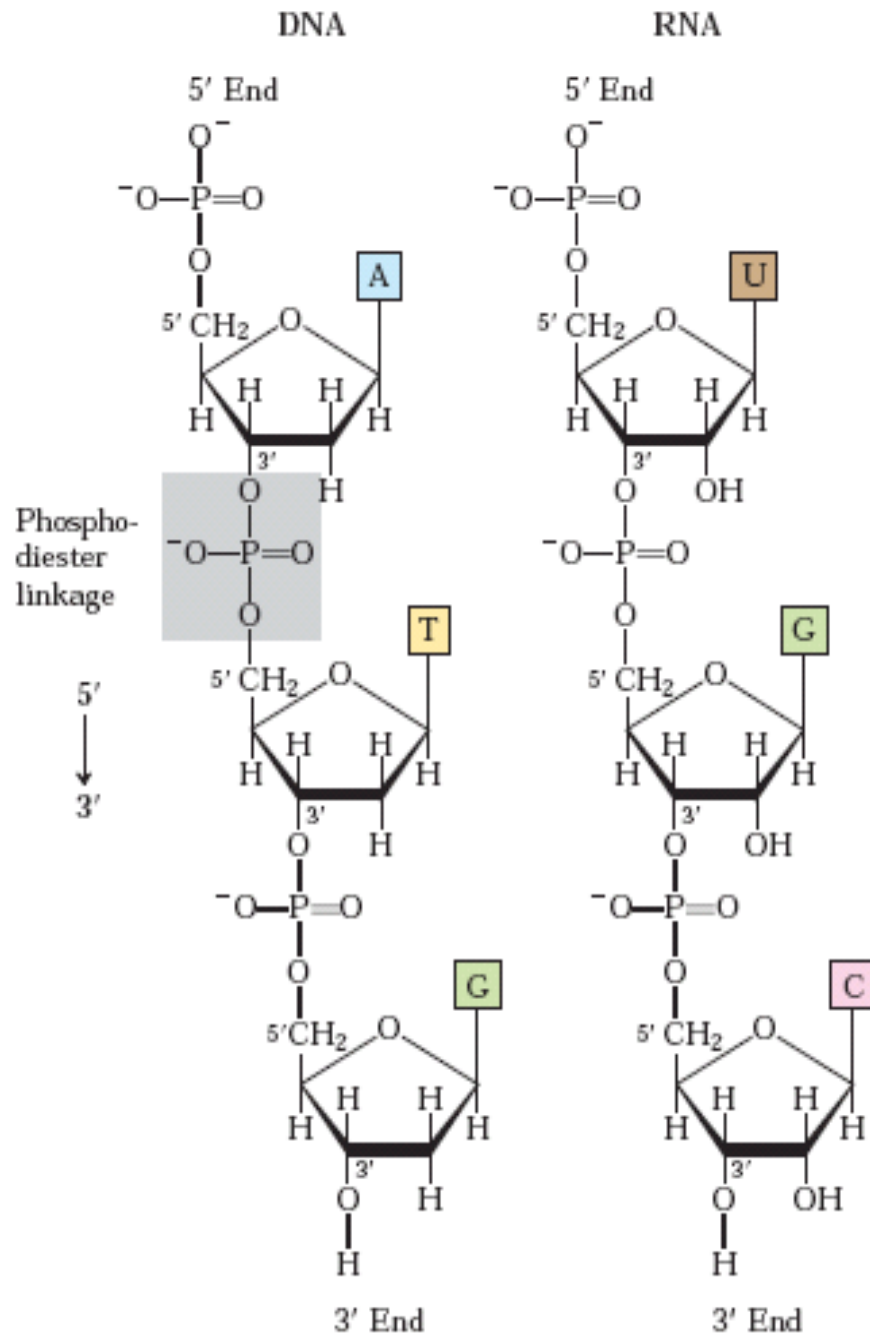
**Representación
esquemática que muestra
las dimensiones de la hélice.**



Cadenas complementarias del DNA.

Dos cadenas de polinucleótidos se asocian mediante el apareamiento de sus bases para formar el DNA de doble cadena. Se forman puentes de hidrógeno específicos entre A y T, y entre G y C.

ESTRUCTURA PRIMARIA



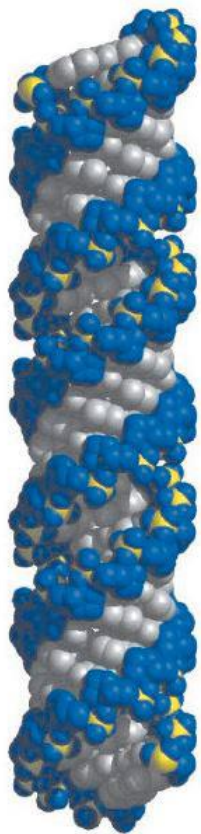
Encadenamiento entre nucleótidos mediante enlaces covalentes con el ácido fosfórico que produce un éster doble en las posiciones 5' de uno y 3' del otro

ESTRUCTURA SECUNDARIA

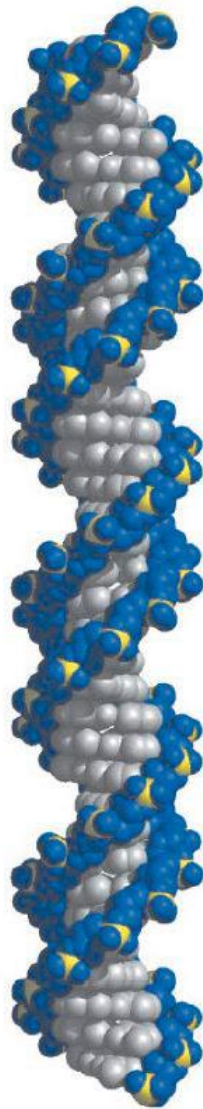
Doble cadena nucleotídica de ordenación helicoidal enrollada alrededor de un eje común.

Hacia el exterior constituye un armazón covalente hidrofílico de fosfatos y pentosas

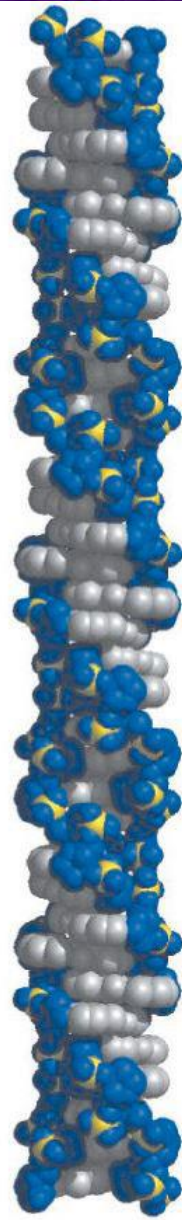
Hacia el interior se ubican las bases nitrogenadas siguiendo un orden de complementariedad $A=T$ $C\equiv G$



Forma A



Forma B



Forma Z

Formas A, B y Z del DNA.

Las tres estructuras que se presentan tienen 36 pares de bases. Es una molécula muy flexible que puede presentar numerosas variaciones estructurales. No tienen ningún efecto sobre las propiedades fundamentales.

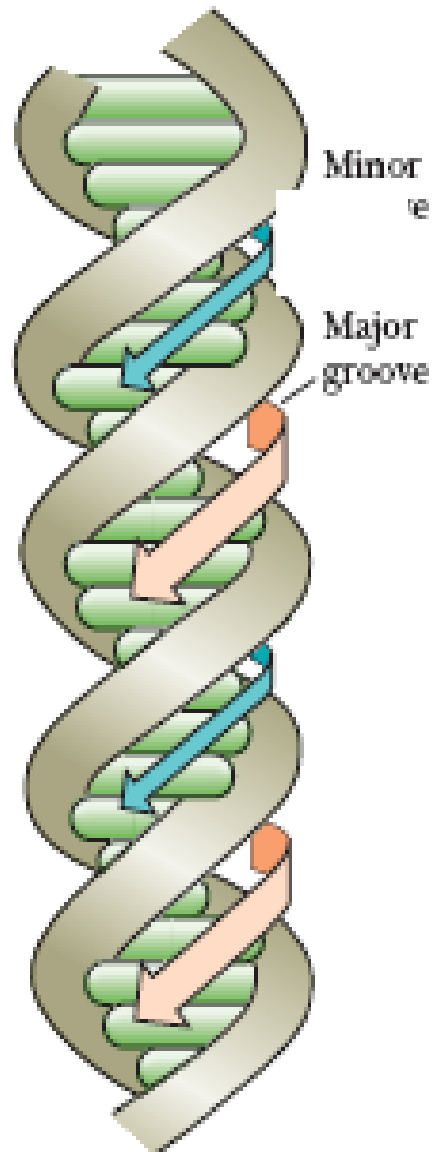
A: hélice dextrógira más gruesa de 11 pb por vuelta.

B: es la más estable en condiciones fisiológicas. 10,5 pb

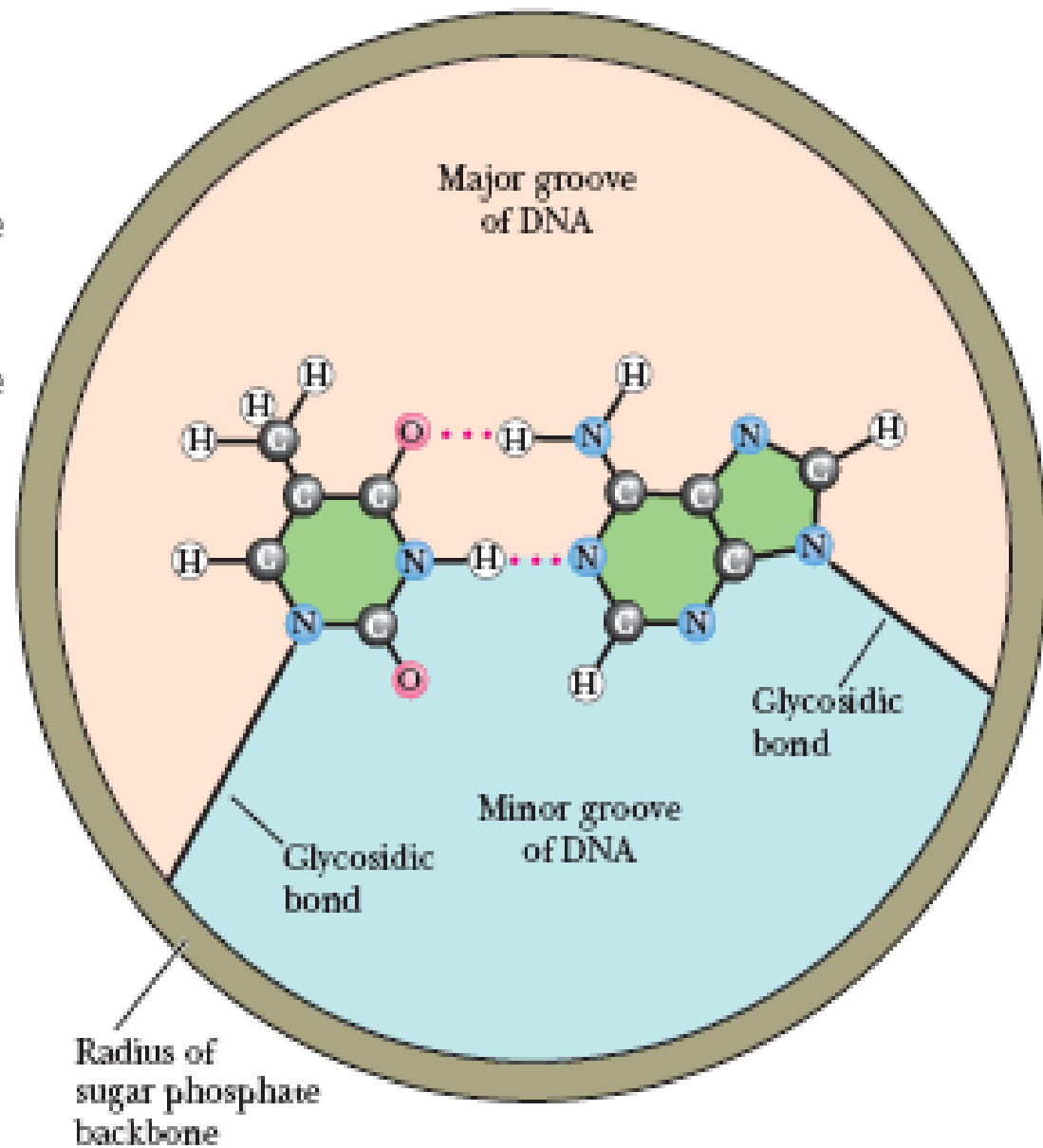
Z: hélice levógira de 12 pb por vuelta y más delgada

Fármacos como el cisplatino, un compuesto antitumoral forma entrecruzamientos intra e intercatenarios en el ADN provocando una fuerte curvatura en la doble hélice, alteración que impide su correcta función desencadenando apoptosis.

B-DNA



Top view



ESTRUCTURA TERCIARIA

La molécula de ADN en la célula se encuentra con diferentes niveles de enrollamiento como resultado de flexiones en el eje longitudinal.

El ADN de la célula humana mide aproximadamente 2 m.

Presenta Superenrollamiento --> con proteínas histonas

El ADN es más largo que las células que los contienen

TABLE 24-2 DNA, Gene, and Chromosome Content in Some Genomes

	<i>Total DNA (bp)</i>	<i>Number of chromosomes^a</i>	<i>Approximate number of genes</i>
Bacterium (<i>Escherichia coli</i>)	4,639,221	1	4,405
Yeast (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	12,068,000	16 [†]	6,200
Nematode (<i>Caenorhabditis elegans</i>)	97,000,000	12 [‡]	19,000
Plant (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	125,000,000	10	25,500
Fruit fly (<i>Drosophila melanogaster</i>)	180,000,000	18	13,600
Plant (<i>Oryza sativa</i> ; rice)	480,000,000	24	57,000
Mouse (<i>Mus musculus</i>)	2,500,000,000	40	30,000-35,000
Human (<i>Homo sapiens</i>)	3,200,000,000	46	30,000-35,000

Cómo controlan las secuencias de nucleótidos las características de los organismos?

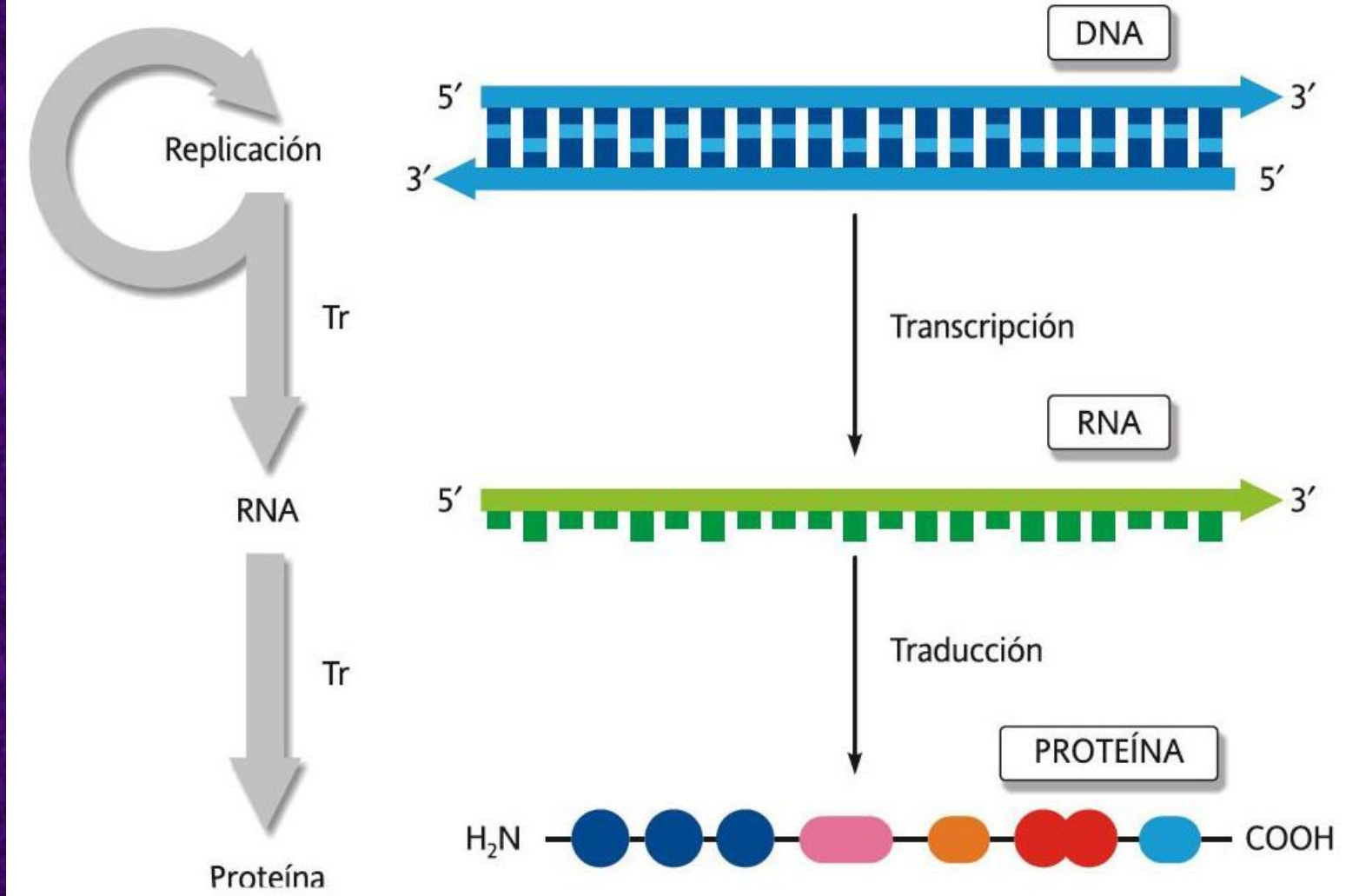
El vínculo directo entre los genes y las reacciones enzimáticas (proteínas) es el ARN.

Para explicar la hipótesis “un gen, una enzima”

El dogma central de la biología molecular

Las flechas de línea continua indican los tipos de transferencia de información que se producen en todas las células: el DNA dirige su propia replicación para producir moléculas nuevas de DNA; el DNA se transcribe a RNA; el RNA se traduce en la síntesis de una proteína. Las flechas de línea discontinua representan las transferencias de información que se observan sólo en algunos organismos (como algunos virus).





El flujo de la información genética. Según el dogma de la biología molecular, la información genética se autoperpetúa mediante el proceso de replicación y se expresa por el proceso de transcripción, que produce un RNA que sirve de molde para sintetizar la proteína, que, finalmente, ejecuta la función.

ARN

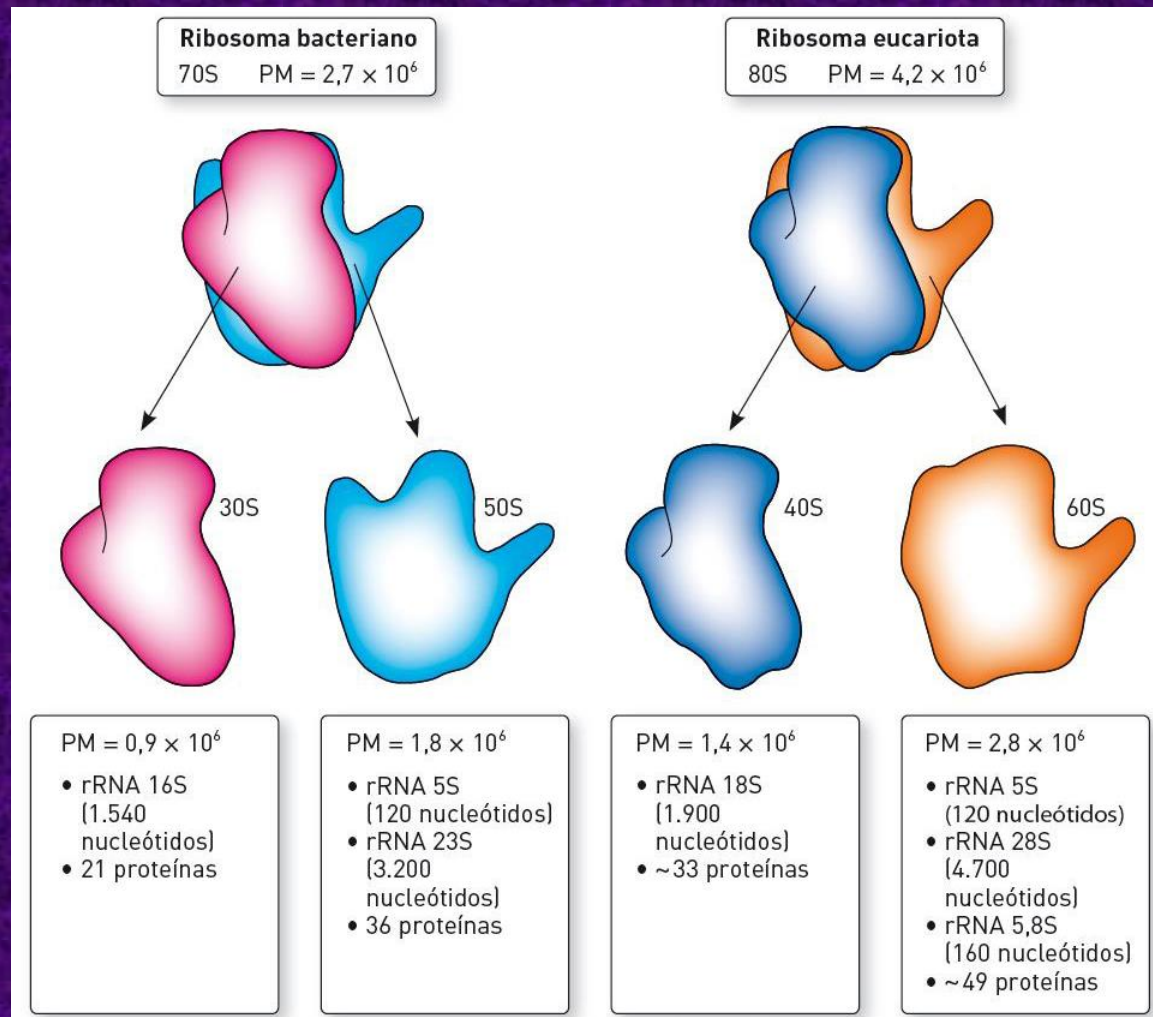
Polinucleótido intermediario entre el ADN y la maquinaria de síntesis de proteínas

Necesidad de trasladar la información genética desde el núcleo al citoplasma

Formado por una cadena de monómeros repetitivos o nucleótidos.

Los nucleótidos se unen uno tras otro mediante enlaces fosfodiéster cargados negativamente.

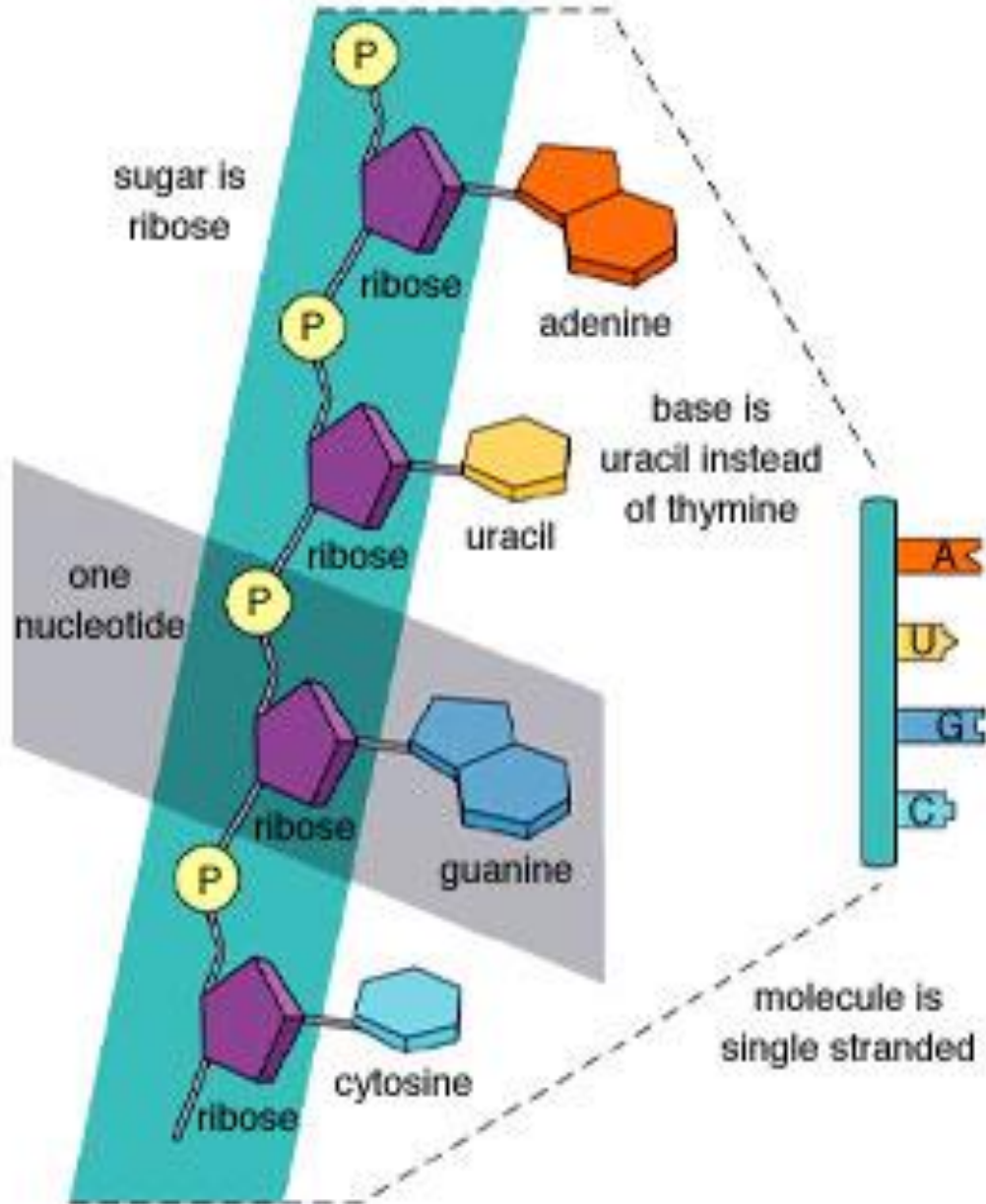
Cada nucleótido está formado por una molécula de pentosa ribosa, un grupo fosfato, y uno de cuatro posibles bases nitrogenadas: adenina, guanina, citosina y uracilo.



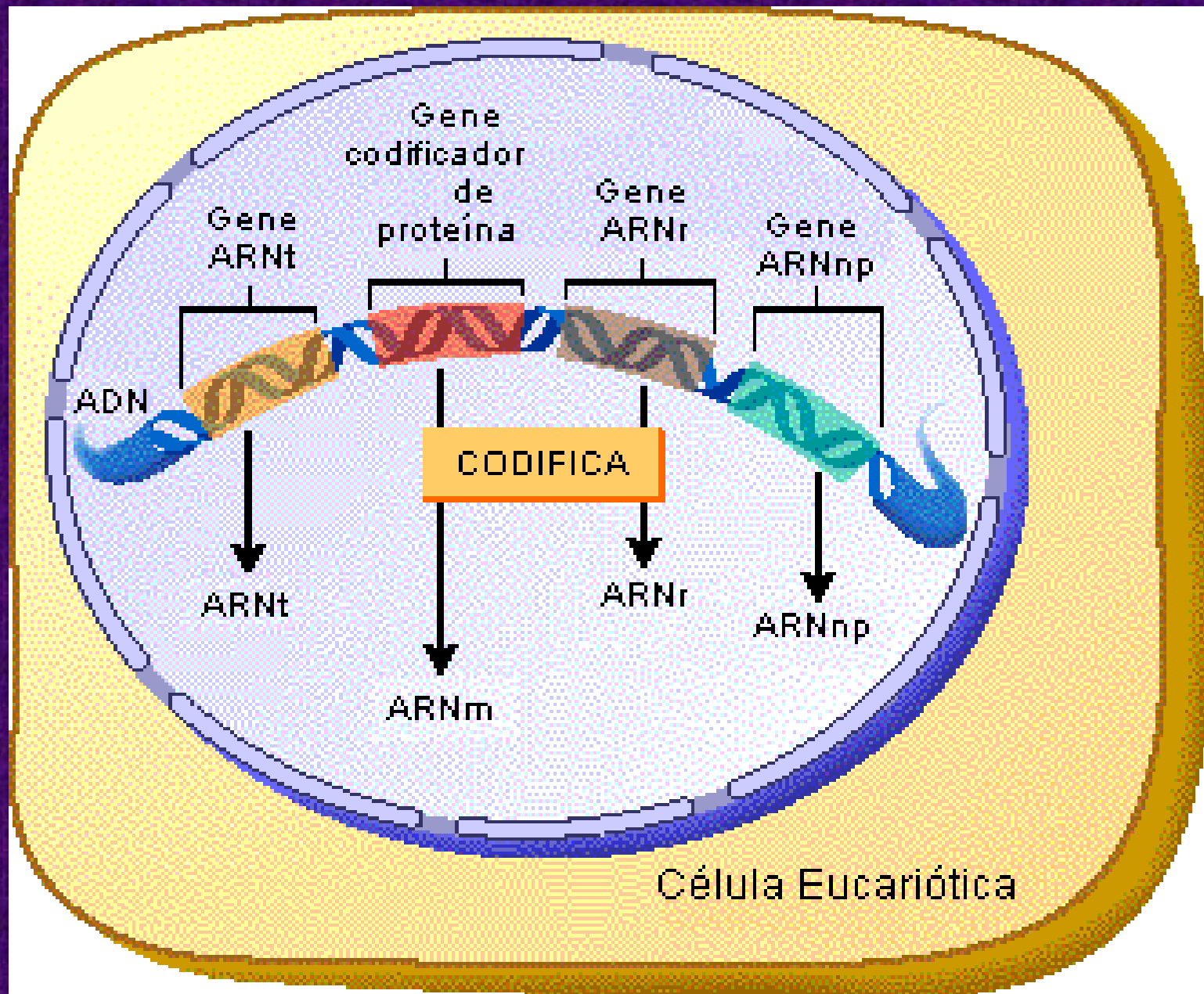
Composición de los ribosomas en procariontes y eucariotas.

Resumen de la composición y la masa de los ribosomas en los procariontes y en los eucariotas. Las subunidades ribosómicas se identifican por sus valores del coeficiente de sedimentación S (Svedberg).

RNA structure



- La biosíntesis de ARN está catalizada normalmente por la enzima ARN polimerasa que usa una hebra de ADN como molde, proceso conocido con el nombre de **TRANSCRIPCIÓN**
- Todos los ARN celulares provienen de copias de GENES presentes en el ADN.
- Durante la transcripción genética las secuencias de ADN son copiadas a **ARN MENSAJERO** que mantiene la información de la secuencia del ADN.



Diferentes tipos de ARN

ARN MENSAJERO: mRNA

Molécula intermediaria entre el ADN y la proteína.

Es el menos abundante, constituye del 5 al 10% de todo el RNA

Es el molde para la síntesis de proteínas o traducción.

La secuencia de los nucleótidos del mRNA es complementaria al mensaje genético contenido en un segmento específico del DNA.

En eucariotas se sintetiza en el nucleoplasma del núcleo celular, se constituye un transcrito primario de elevado PM (10^6 Da) y, luego de “cortes y empalmes” (*splicing*) de allí accede al citosol, donde se hallan los ribosomas, a través de los poros de la envoltura nuclear.

ARN TRANSFERENCIA (ARNt o tRNA) 15%

Polinucleótido pequeño de alrededor de 75 nucleótidos.

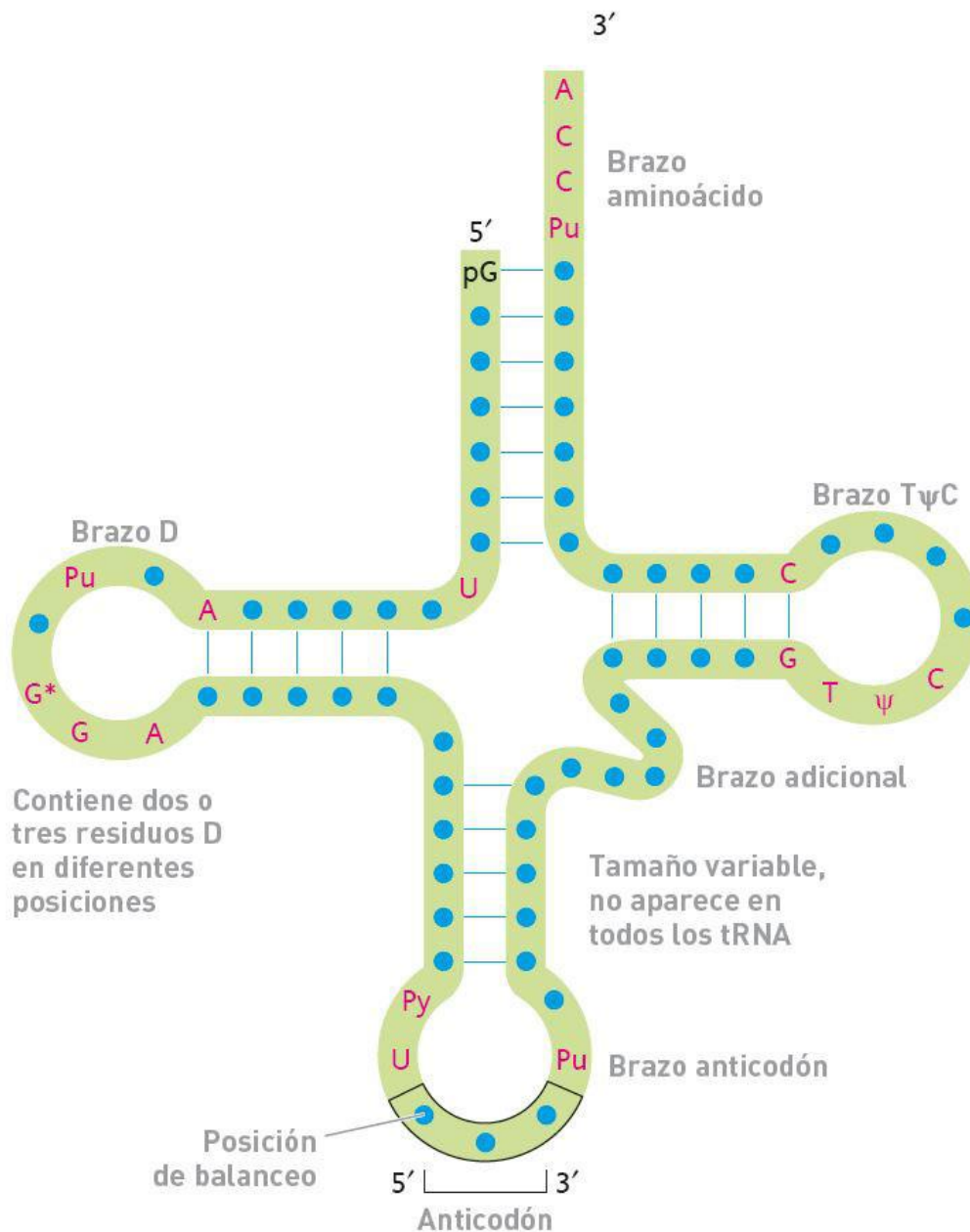
De una sola cadena con peso aproximado de 25000 daltons.

Transporta los Aa en forma activada al ribosoma para la formación de enlaces peptídicos a partir de la secuencia codificada por el mRNA molde.

Existe al menos un tipo de tRNA para cada uno de los 20 Aa

Se unen a lugares específicos del ribosoma durante la traducción

Tienen un sitio específico ACC para la fijación del aminoácido (extremo 3'). En el anticodón contiene un triplete anticodón que permite el apareamiento específico con los codones complementarios del mRNA en el proceso de traducción mediante puentes de hidrógeno.

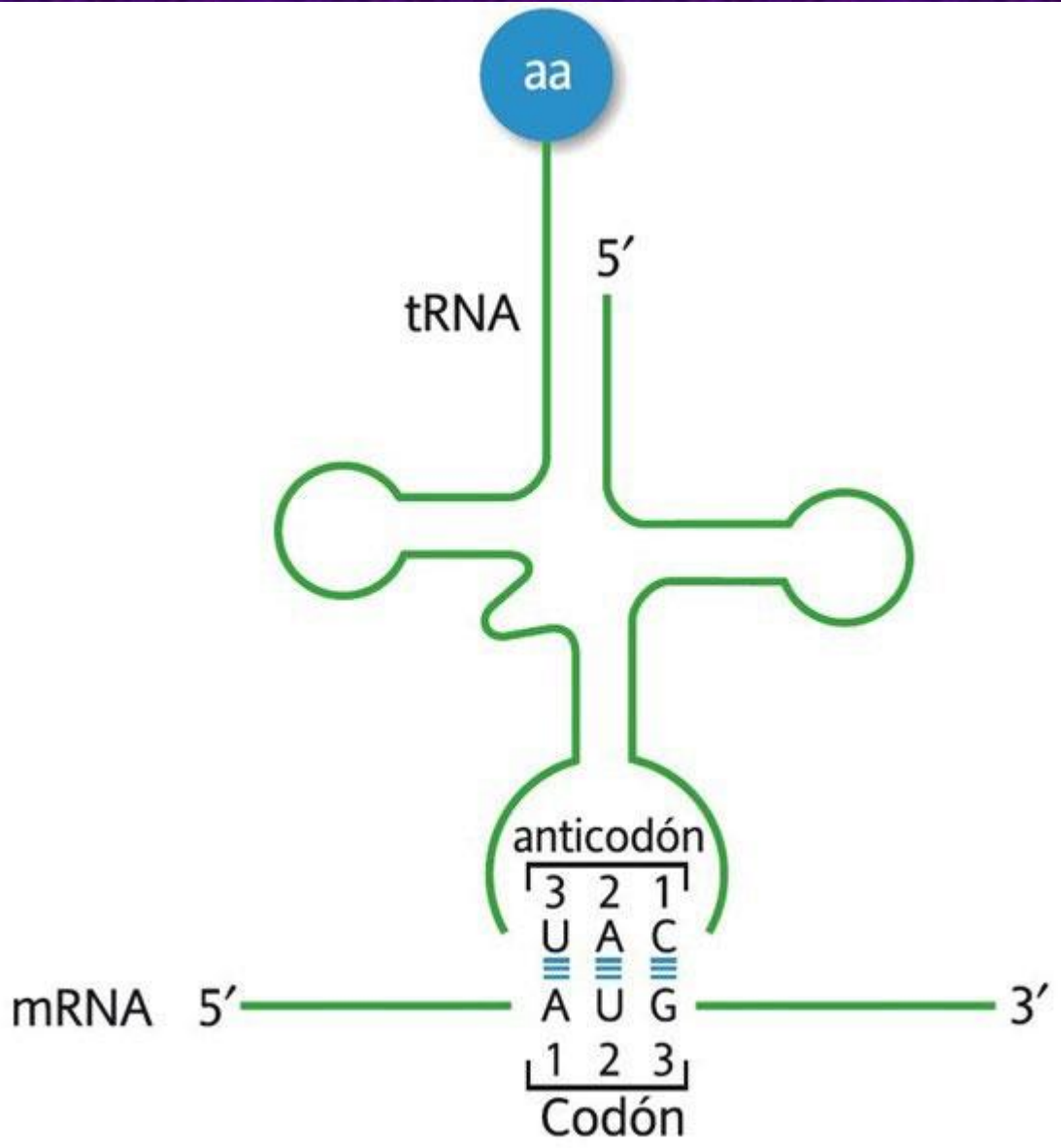


Estructura en hoja de trébol de los tRNA.

Los puntos grandes representan residuos nucleotídicos, mientras que las líneas azules representan pares de bases. Los residuos característicos y/o invariables comunes a todos los tRNA aparecen en rojo.

En el extremo del brazo del anticodón se encuentra el bucle del anticodón, que contiene siempre siete nucleótidos no apareados.

Pu: nucleótido purínico; Py: nucleótido pirimidínico; G*: guanilato o 2'-O-metilguanilato; ψ: pseudouridina; D: hidrouridina.



Papel de adaptador de la molécula de tRNA. El anticodón se une por complementariedad de bases al codón en el mRNA. El extremo 3' del tRNA puede unir covalentemente un aminoácido. En esta imagen se muestra un apareamiento perfecto entre las bases del codón y el anticodón y se indica con números las posiciones antiparalelas de los mismos.

ARN ribosómico (ARNr o RNAr)

Es el componente principal de los ribosomas y constituye hasta un 65% de su peso total.

Las moléculas de rRNA suelen ser muy grandes.
Combinado con proteínas para formar los ribosomas.

En procariontes, la subunidad mayor del ribosoma contiene dos moléculas de ARNr y la subunidad menor, una.

En los eucariotes, la subunidad mayor contiene tres moléculas de ARNr y la menor, una.

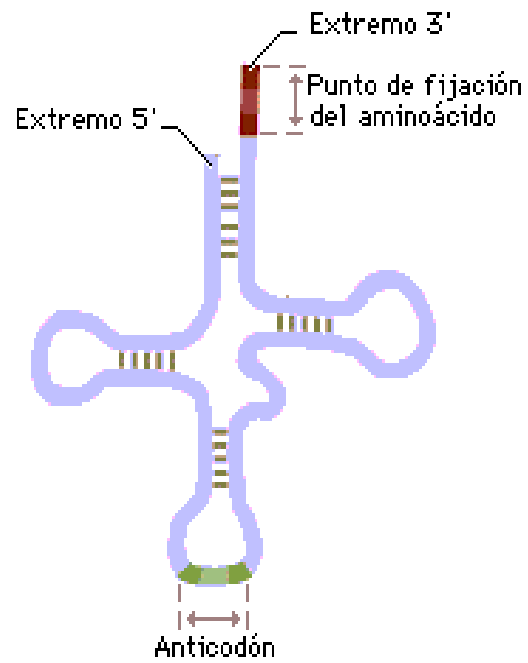
El ARNr muy abundante. 80% del ARN hallado en el citoplasma de las células eucariotas

Desempeña tanto un papel catalítico como estructural en la síntesis de proteínas.

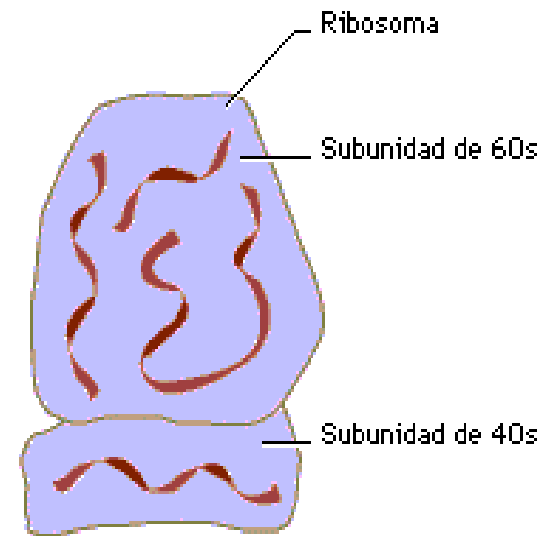
Se encarga de crear los enlaces peptídicos entre los aminoácidos del polipéptido en formación durante la síntesis de proteínas, actúa como ribozimas



ARN mensajero



ARN de transferencia



ARN ribosómico

RNA nuclear pequeño (snRNA)

Se encuentra en el núcleo de las células eucariotas

Tiene entre 100 y 200 nucleótidos y en la célula se une a proteínas para formar partículas nucleares pequeñas de ribonucleoproteína (snRNP)

Contribuye al procesamiento del mRNA inicial que se transcribe del DNA, para dar una forma madura que pueda exportarse del núcleo.

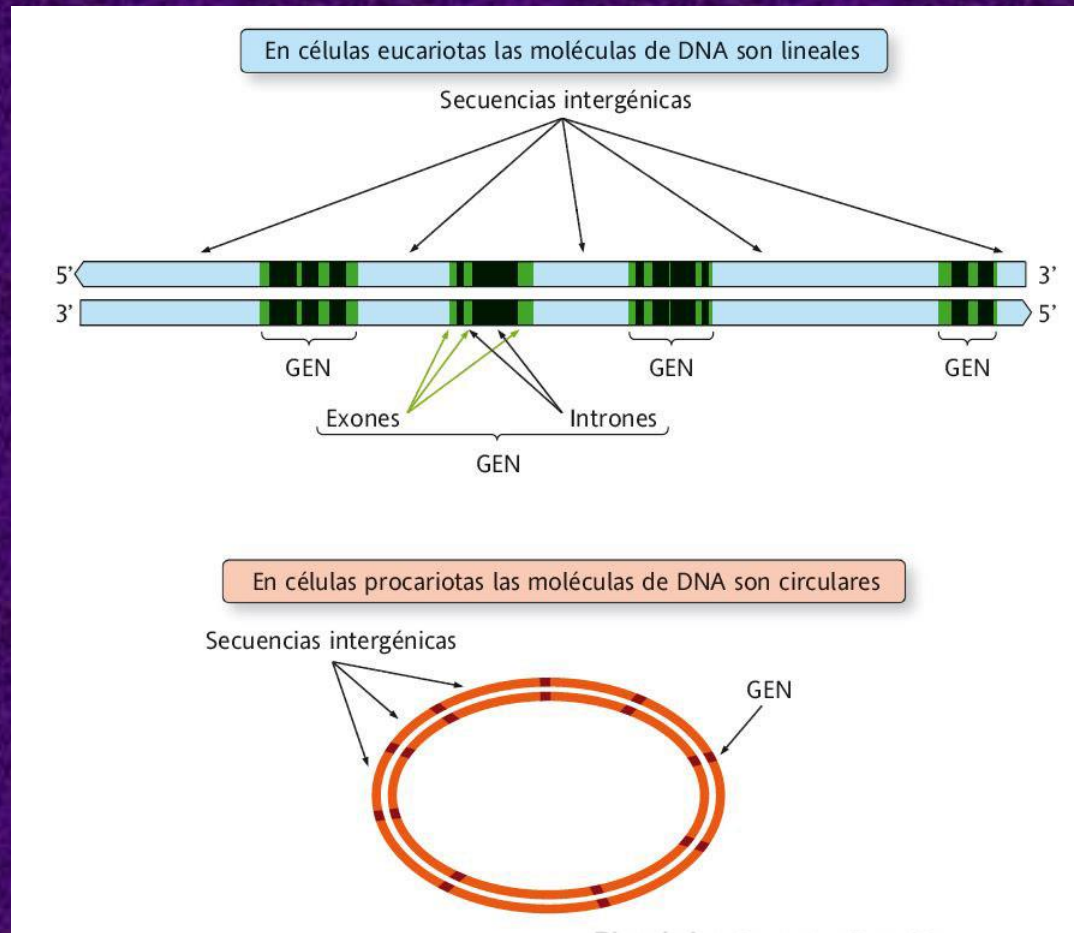
En eucariotas, la transcripción se efectúa en el núcleo, pero la síntesis de proteínas en el citosol y eso hace necesaria la exportación del mRNA.

Micro RNA (miRNA)

Implicadas en la regulación génica en los eucariotas. Son moléculas no codificantes, de unos 22 nucleótidos que cortan o suprimen traducción del mRNA.

RNA mitocondrial (mtRNA)

Se transcribe a partir del DNA mitocondrial. Las mitocondrias sintetizan sus propias proteínas (de la cadena de transporte de electrones y la ATP sintasa



Diferencias entre los cromosomas eucariotas y procariotas.

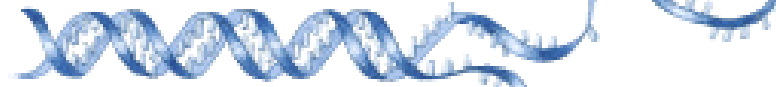
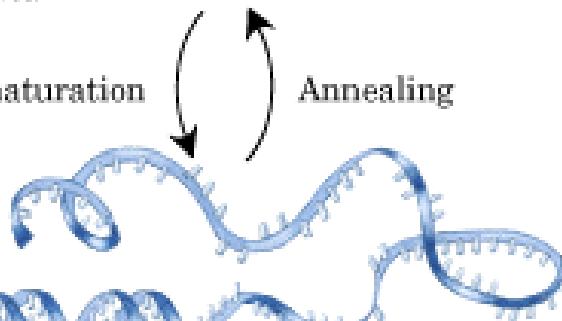
Las células procariotas presentan un único cromosoma circular donde prácticamente toda la secuencia codifica información, existiendo muy pocas secuencias intergénicas. Las células eucariotas presentan cromosomas lineales. Éstos siempre están duplicados (organismos diploides) y presentan una alta cantidad de secuencias no codificantes: secuencias intergénicas e intrones.



Double-helical
DNA

Denaturation

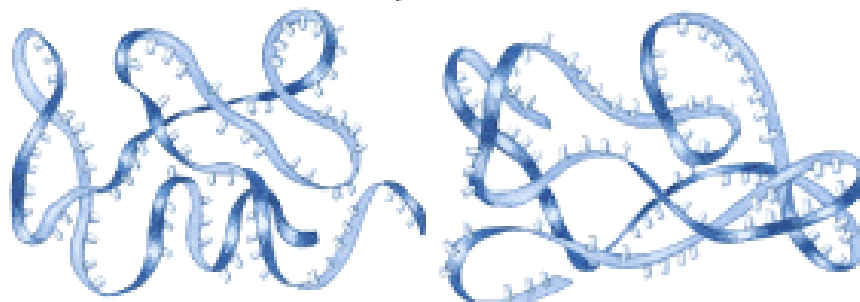
Annealing



Partially denatured
DNA

Separation
of strands

Association of
strands by base
pairing



Separated strands
of DNA in random coils

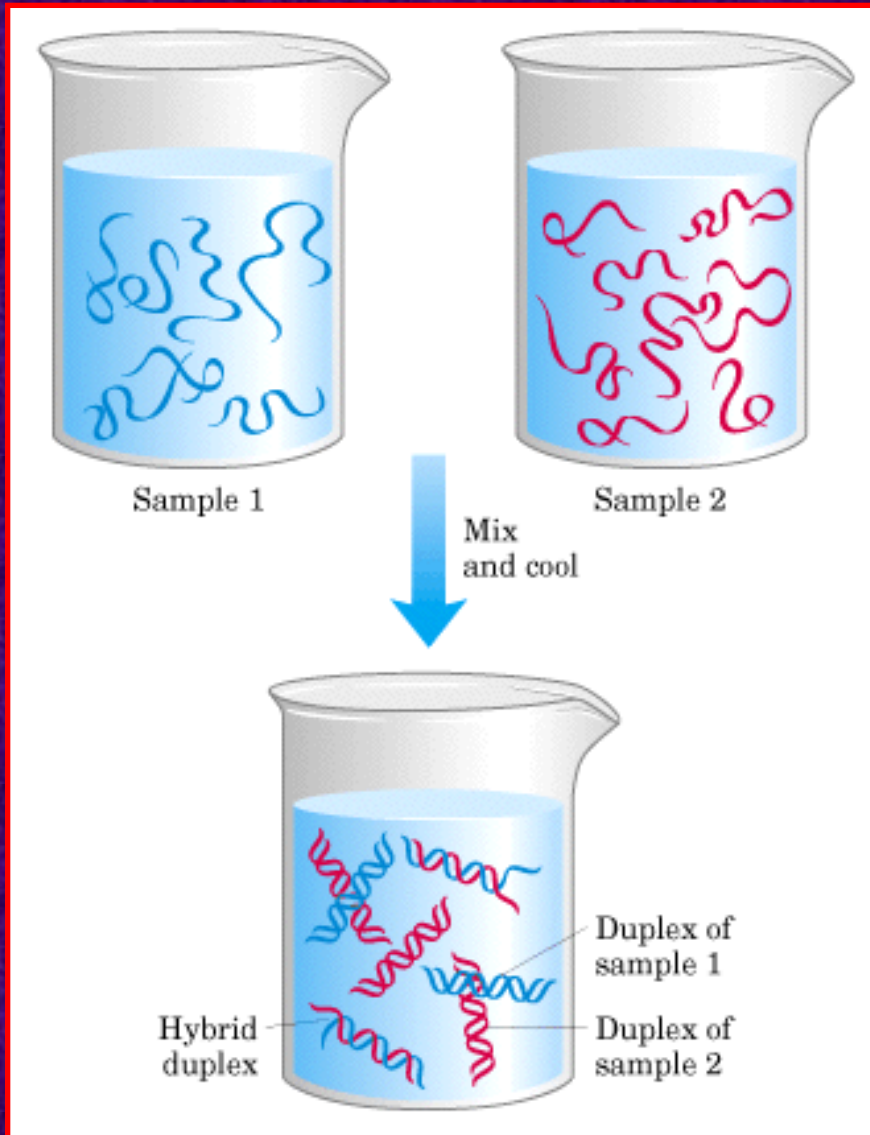
DESNATURALIZACIÓN DEL DNA

80°C o pH ácido o alcalino
Las cadenas se separan a
causa de rotura de
puentes hidrógeno entre
bases nitrogenadas

t_m = temperatura de fusión
o melting

Temperatura que desnaturaliza
la mitad de la doble cadena

Hibridación o annealing de los ácidos nucleicos



Cuando la Temperatura es menor a la T_m , las hebras desnaturalizadas se aparean.

La capacidad de ambas cadenas para hibridizar es debido a la complementariedad de sus bases

La hibridación es una técnica para determinar relaciones evolutivas

Proteínas nucleares: HISTONAS

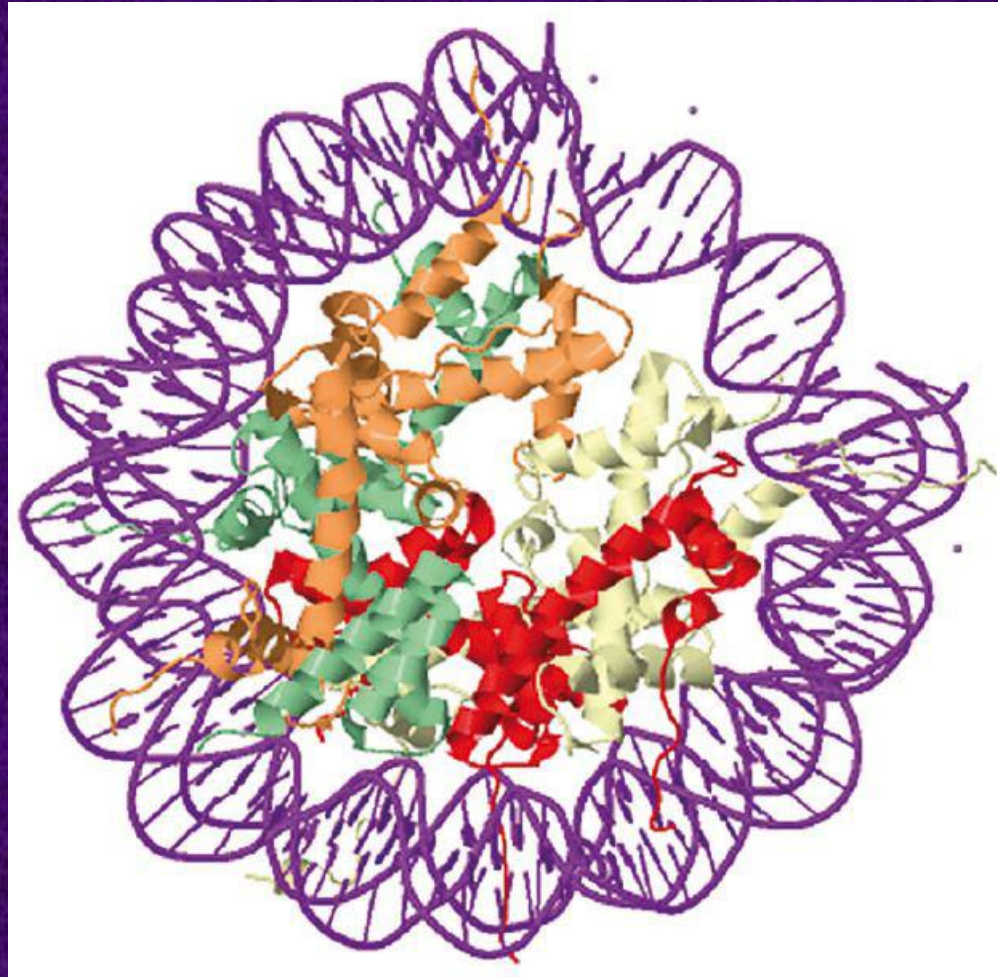
La cromatina que constituye los cromosomas eucarióticos es un complejo formado por el ADN cromosómico con proteínas histonas.

Proteínas simples básicas con elevado contenido de arginina y lisina (20-30%).

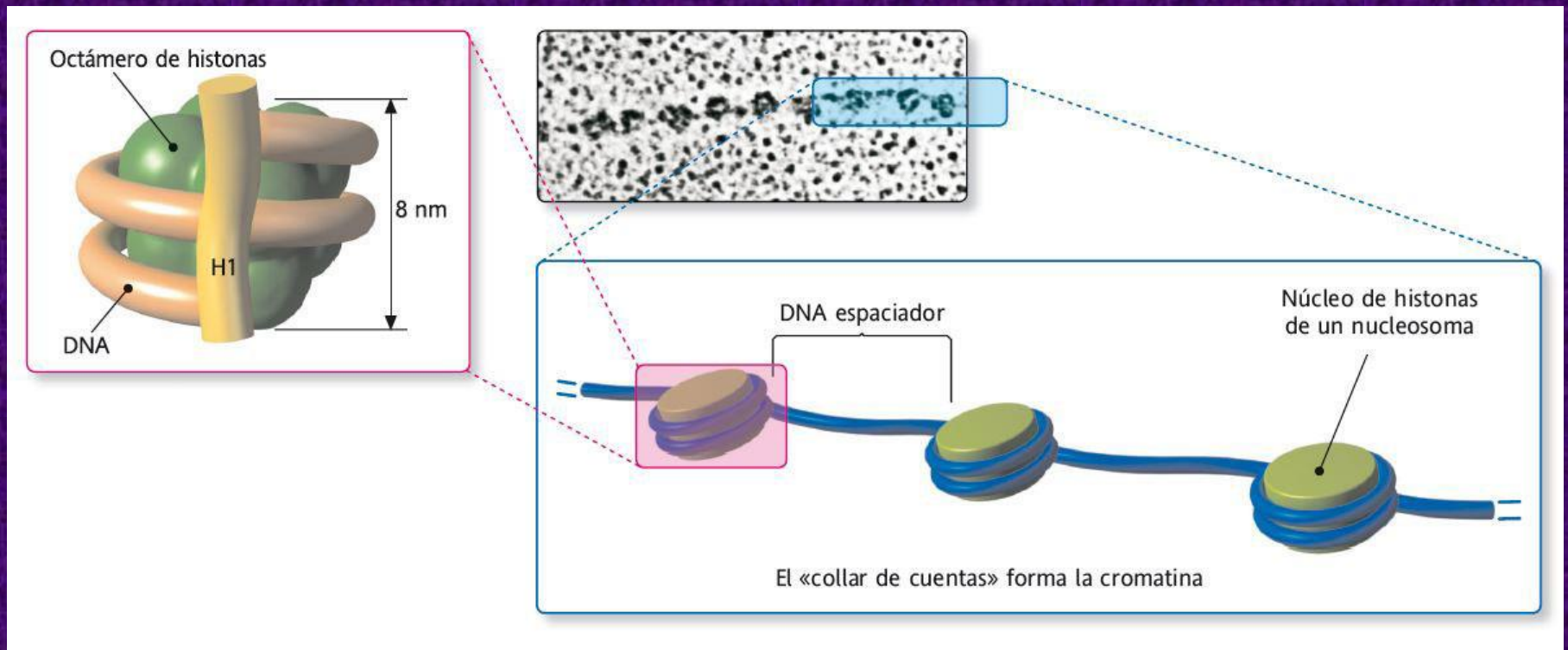
Policatiónicas. Globulares, solubles en agua. 11-21KDa

Unidas por enlaces iónicos al ADN originando nucleoproteínas neutras.

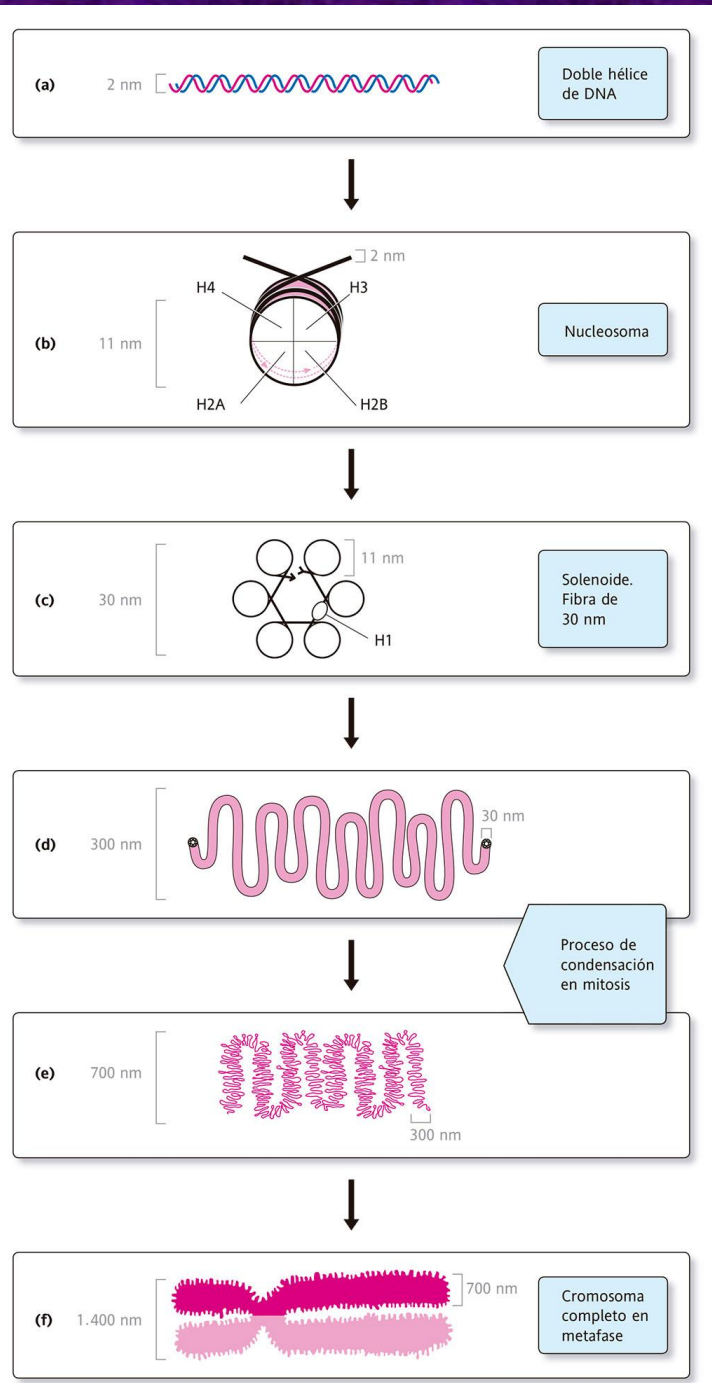
Las histonas empaquetan y ordenan el DNA en unidades estructurales llamadas **Nucleosomas** constituidos por un octámero de histonas alrededor del cual se enrollan 140 pares de bases.



Estructura cristalográfica de un nucleosoma formado por el octámero de histonas y 146 pares de bases rodeándolo.

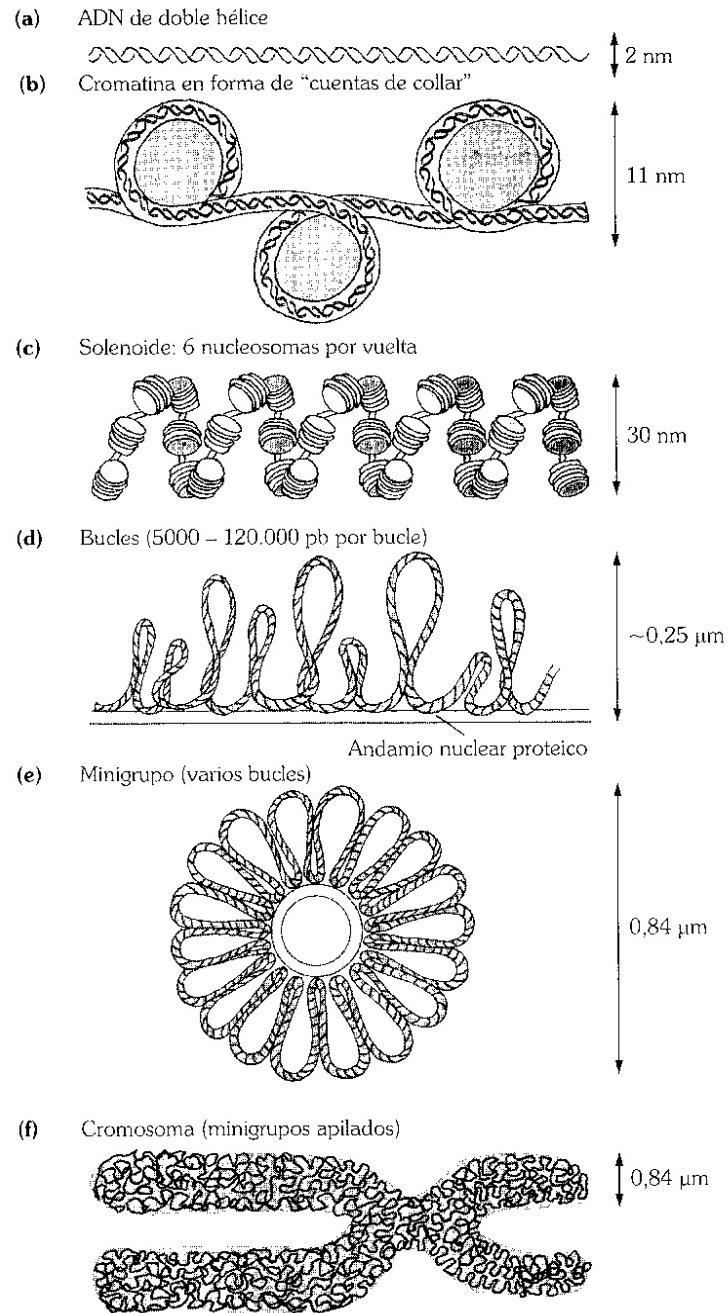


Esquema de la estructura de «collar de cuentas» de la cromatina, a partir de una micrografía electrónica. Se muestra el nucleosoma formado por el octámero de histonas y el DNA espaciador. La histona H1 se une al DNA. El octámero de histonas está representado por la esfera central verde.

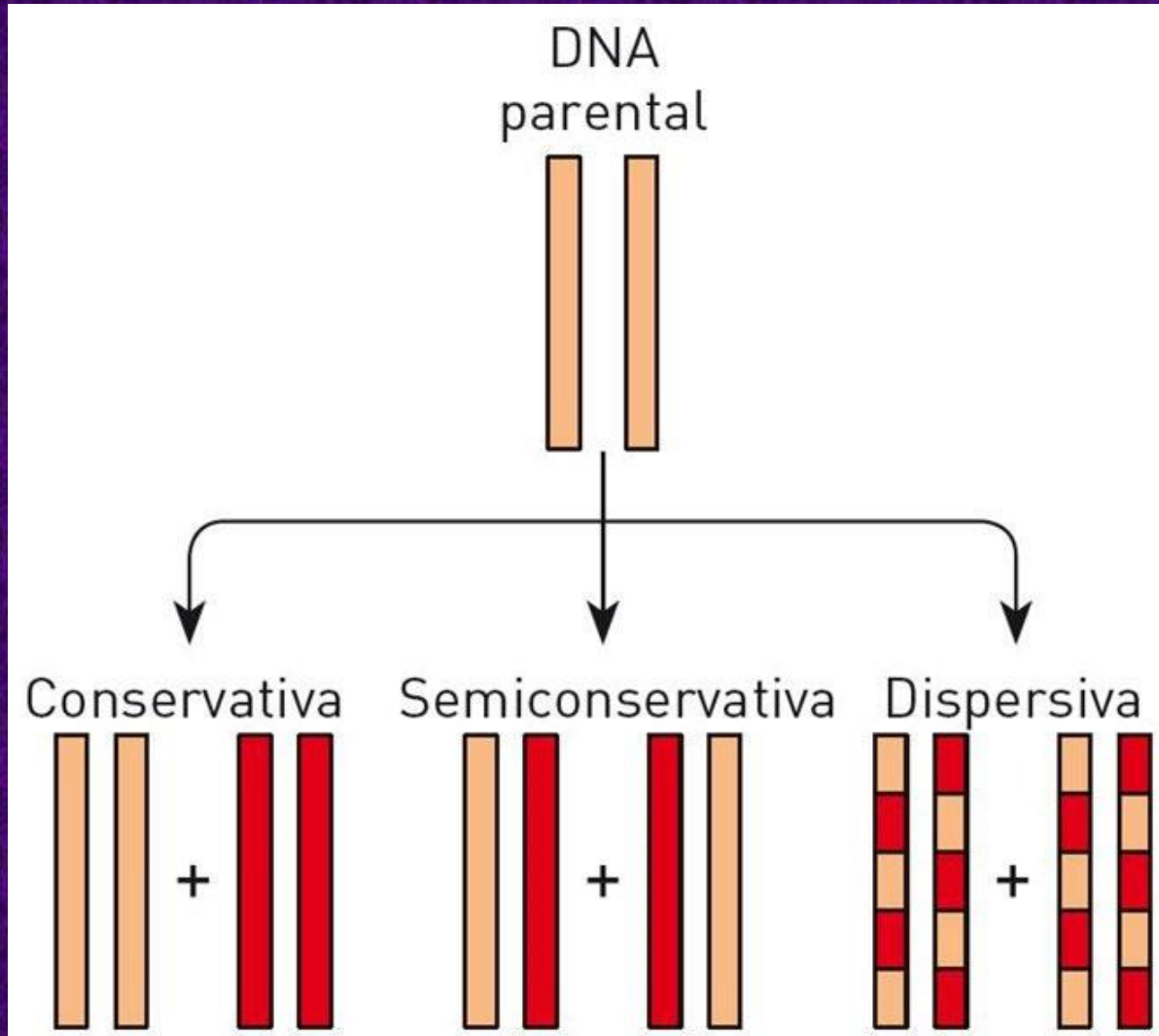


Niveles de organización de la cromatina.

(a) En el nivel más simple, la cromatina es una estructura helicoidal formada por DNA de doble cadena. (b) El DNA forma complejos con las histonas, dando lugar a los nucleosomas. Cada nucleosoma está formado por ocho histonas alrededor de las cuales se enrolla el DNA. La histona H1 cierra el bucle formado por el DNA alrededor del octámero. (c) El nucleosoma se pliega y forma el solenoide, con siete u ocho nucleosomas por vuelta, para formar una fibra de 30 nm; (d) que forma bucles con una longitud promedio de 300 nm. (e) El enrollamiento denso de las fibras de 300 nm constituye la cromátida de un cromosoma con un espesor de 700 nm. (f) El cromosoma metafásico está constituido por dos cromátidas.



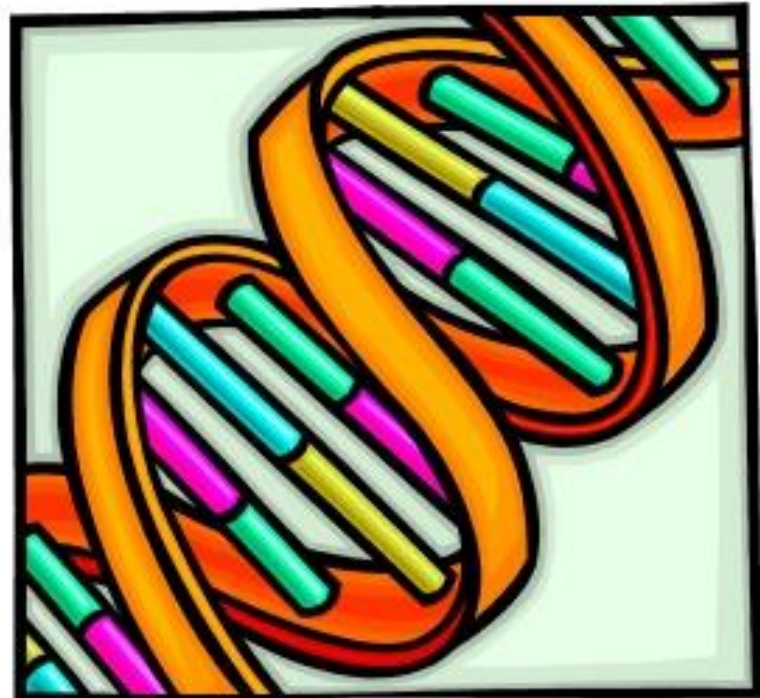
Modelos de replicación. Los tres posibles modelos de replicación son la replicación conservativa, semiconservativa y dispersiva



Replicación Celular del ADN

(in vivo)

- La replicación del ADN es la duplicación semiconservativa de la cadena de ADN
- Típicamente, el proceso celular de replicación demora sólo unas pocas horas.
- La replicación de ADN es semiconservativa (una hebra del ADN es usada como molde para la síntesis de una nueva hebra de ADN)
- Este proceso ocurre con una tasa de error muy baja (en promedio 1×10^{-9})
- Aproximadamente una docena de enzimas participan en la replicación del ADN



DUPLICACIÓN O REPLICACIÓN DEL DNA

Se copia totalmente

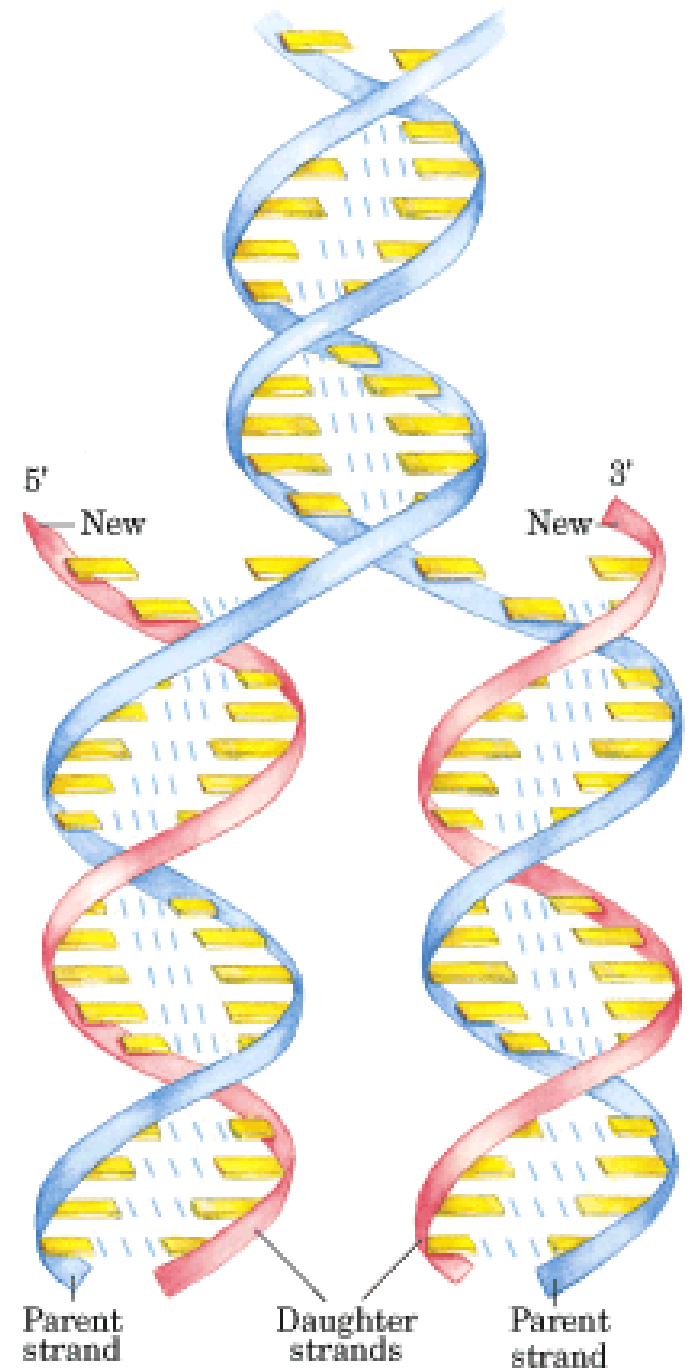
Se copian por separado las 2 hebras del DNA

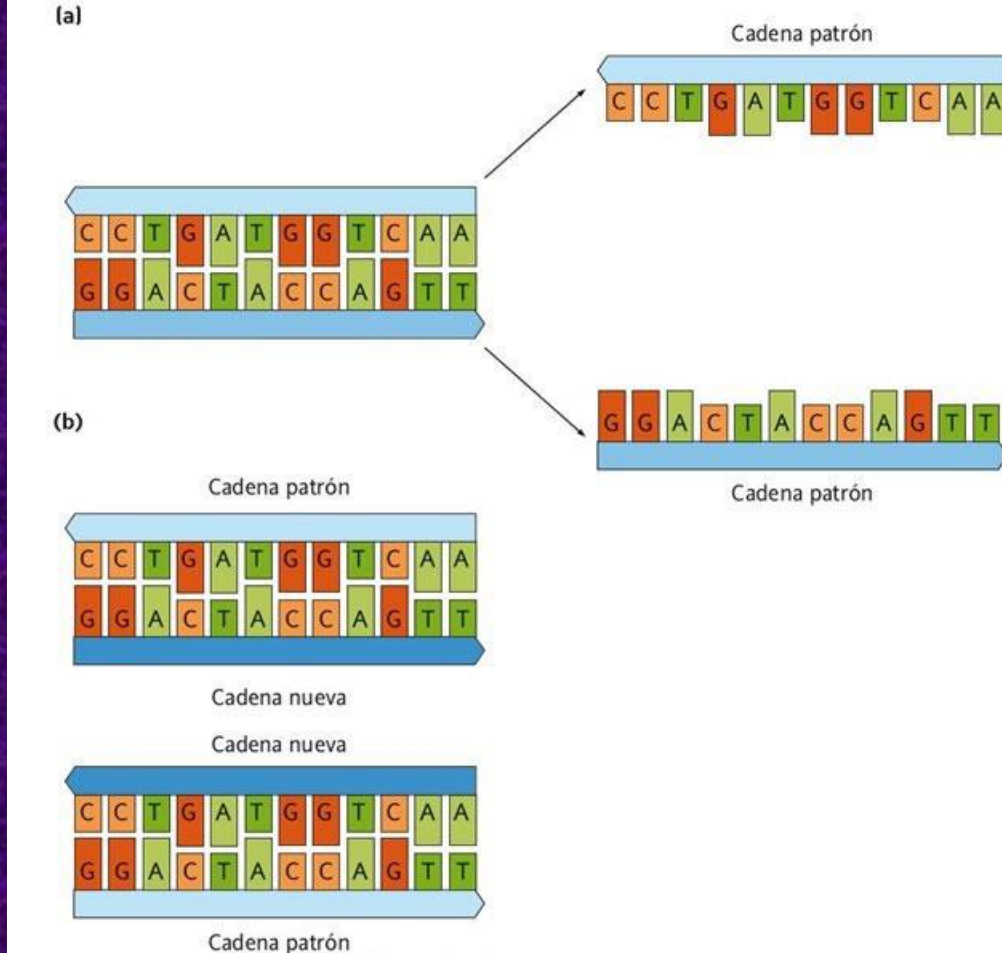
MODELO DE REPLICACIÓN SEMICONSERVATIVA

Las 2 hebras de DNA que están apareadas formando la doble hélice se abren y a medida que las cadenas se separan sirven de molde para la síntesis de una nueva hebra complementaria.

Complementariedad de las bases.

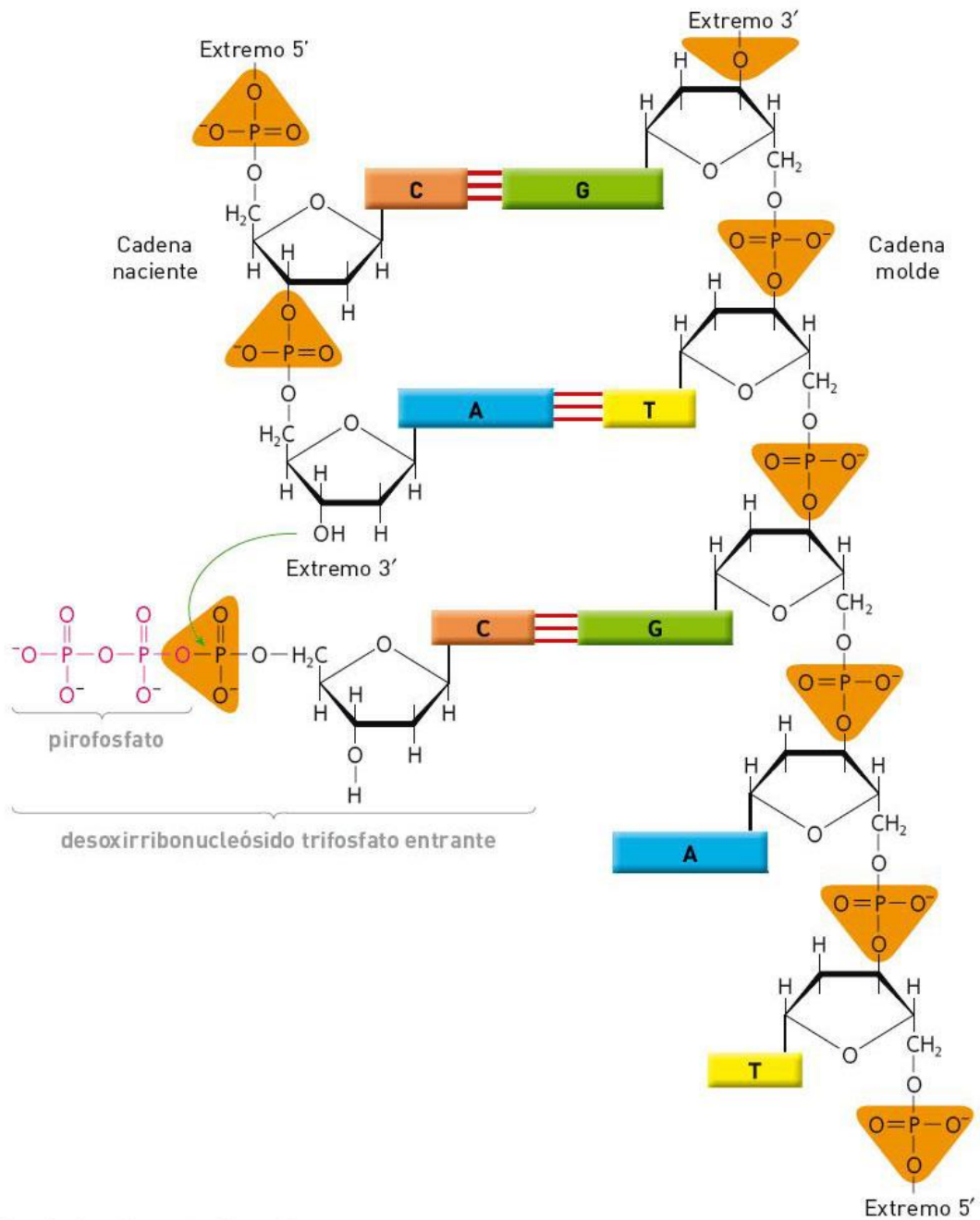
Cada una de las 2 nuevas doble hélices formadas conservan una hebra vieja y se agrega una nueva : SEMI- CONSERVATIVA





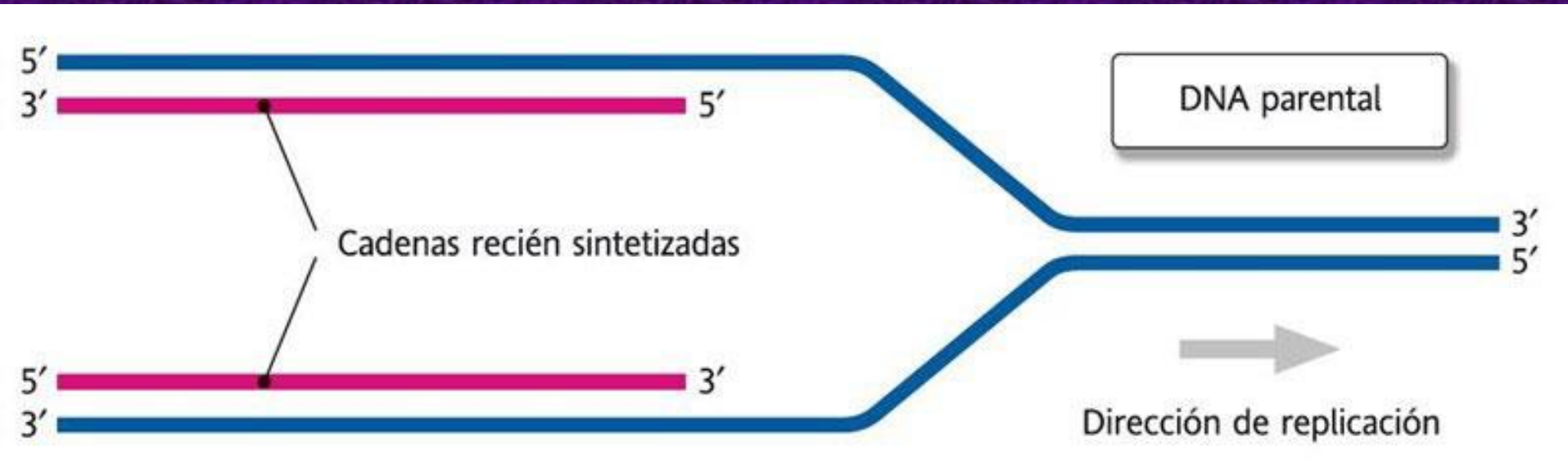
El apareamiento de bases es clave para una correcta replicación. (a) Para la replicación de una molécula de DNA primero es necesario que se separen las dos cadenas que forman la doble hélice; cada cadena sirve de molde para la síntesis de una nueva cadena complementaria. (b) Las bases de las cadenas patrón exponen sus grupos dadores y aceptores de puentes de hidrógeno permitiendo que nucleótidos libres se alineen de forma adecuada. Las enzimas DNA polimerasa catalizan la formación de los enlaces fosfodiéster entre los nucleótidos sólo cuando el apareamiento de bases es el correcto, obteniéndose una cadena nueva que es antiparalela y complementaria a la cadena patrón.

- **DNA molde**
- **RNA cebador** que al unirse activa la polimerasa
- **Nucleótidos trifosforilados activados:** dATP, dGTP, dTTP, dCTP
- **DNA polimerasa (RNA dirigida)** dirección 5' → 3'
- **DNA ligasa**
- **Primasa**
- **Helicasa**
- **Girasas**
- **Topoisomerasa**
- **La enzima DNA polimerasa sólo agrega nucleótidos trifosforilados al extremo 3' de la hebra en elongación.**

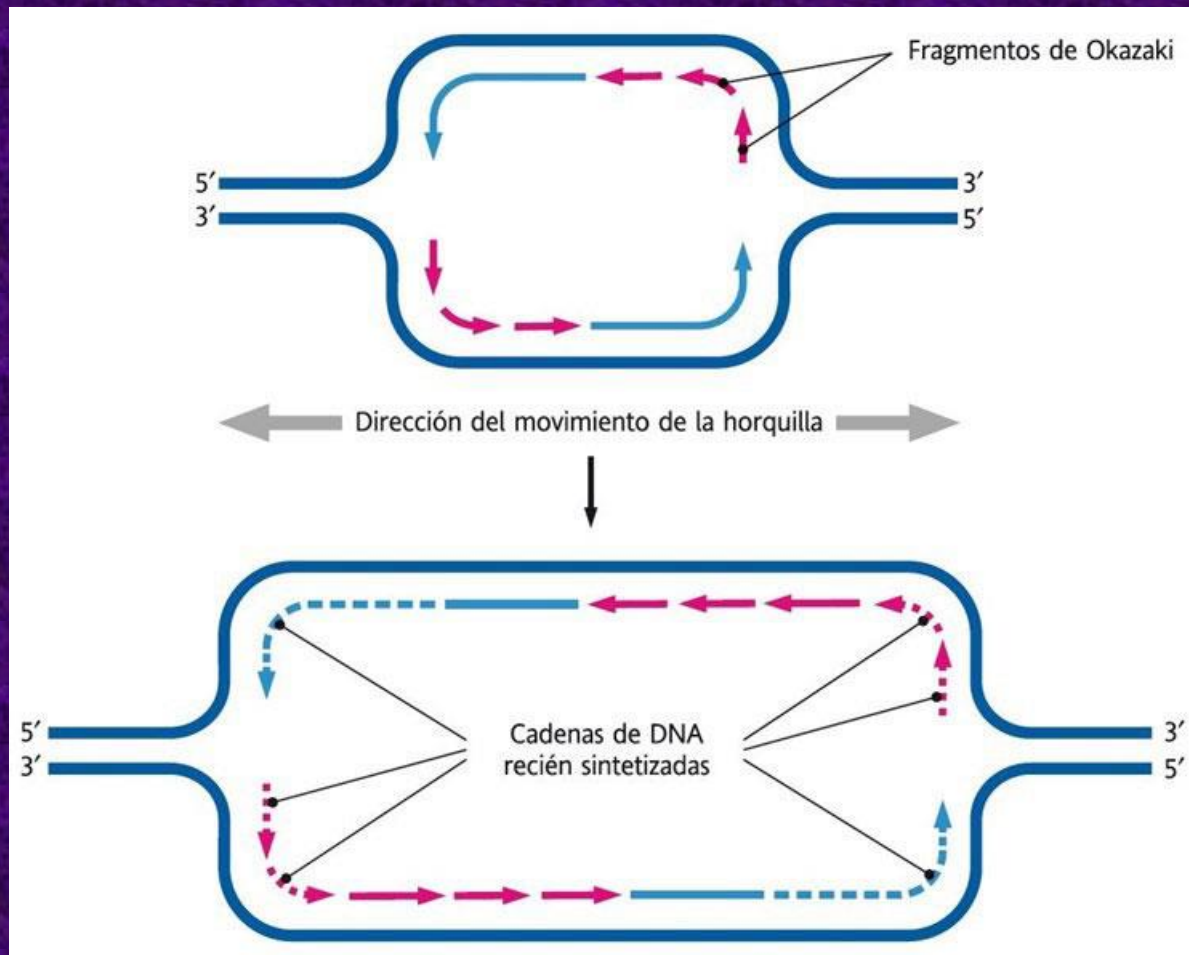


Horquilla de replicación.

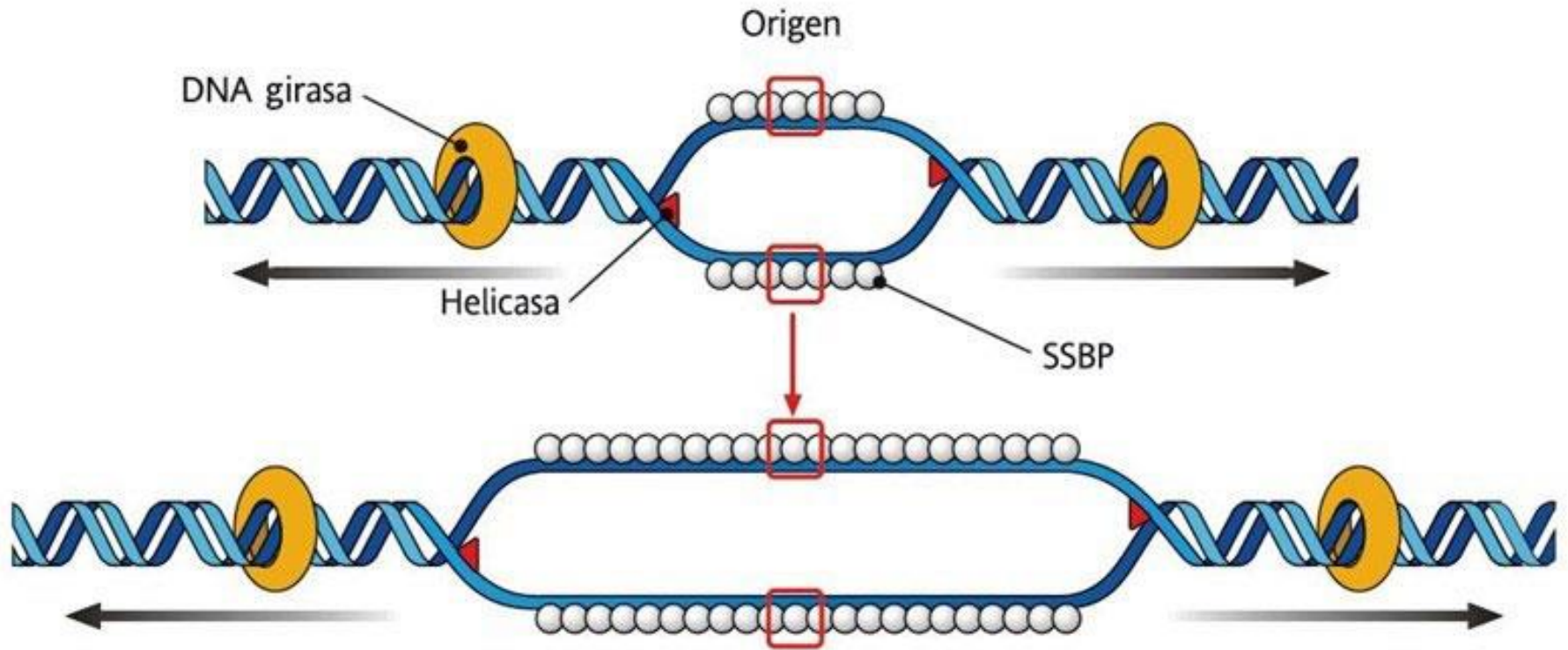
En una horquilla de replicación, las dos cadenas de DNA recién sintetizadas tienen polaridad opuesta.



La enzima DNA polimerasa sólo agrega nucleótidos trifosforilados al extremo 3' de la hebra en elongación.



Como ambas cadenas se sintetizan en dirección $5' \rightarrow 3'$, la cadena retrasada del DNA se forma inicialmente como una serie de cadenas cortas de DNA que luego se unen entre sí. En la parte superior de esta figura se representan dos horquillas de replicación que se mueven en direcciones opuestas; la parte inferior representa las mismas horquillas poco tiempo después. Para sintetizar la cadena retrasada, la DNA polimerasa debe «volver hacia atrás»: sintetiza fragmentos cortos (fragmentos de Okazaki) en la dirección $5' \rightarrow 3'$, y luego se mueve en dirección opuesta a lo largo de la cadena molde (hacia la horquilla) antes de sintetizar el nuevo fragmento.



Apertura de la hélice. La DNA helicasa se une al molde de la cadena retrasada en cada horquilla de replicación y se mueve en dirección 5' → 3' a lo largo de esta cadena, en la que rompe los puentes de hidrógeno y desplaza la horquilla de replicación. A continuación, las proteínas de unión a cadena sencilla (SSBP) estabilizan el DNA de cadena sencilla. La DNA girasa alivia la tensión próxima a la horquilla de replicación.

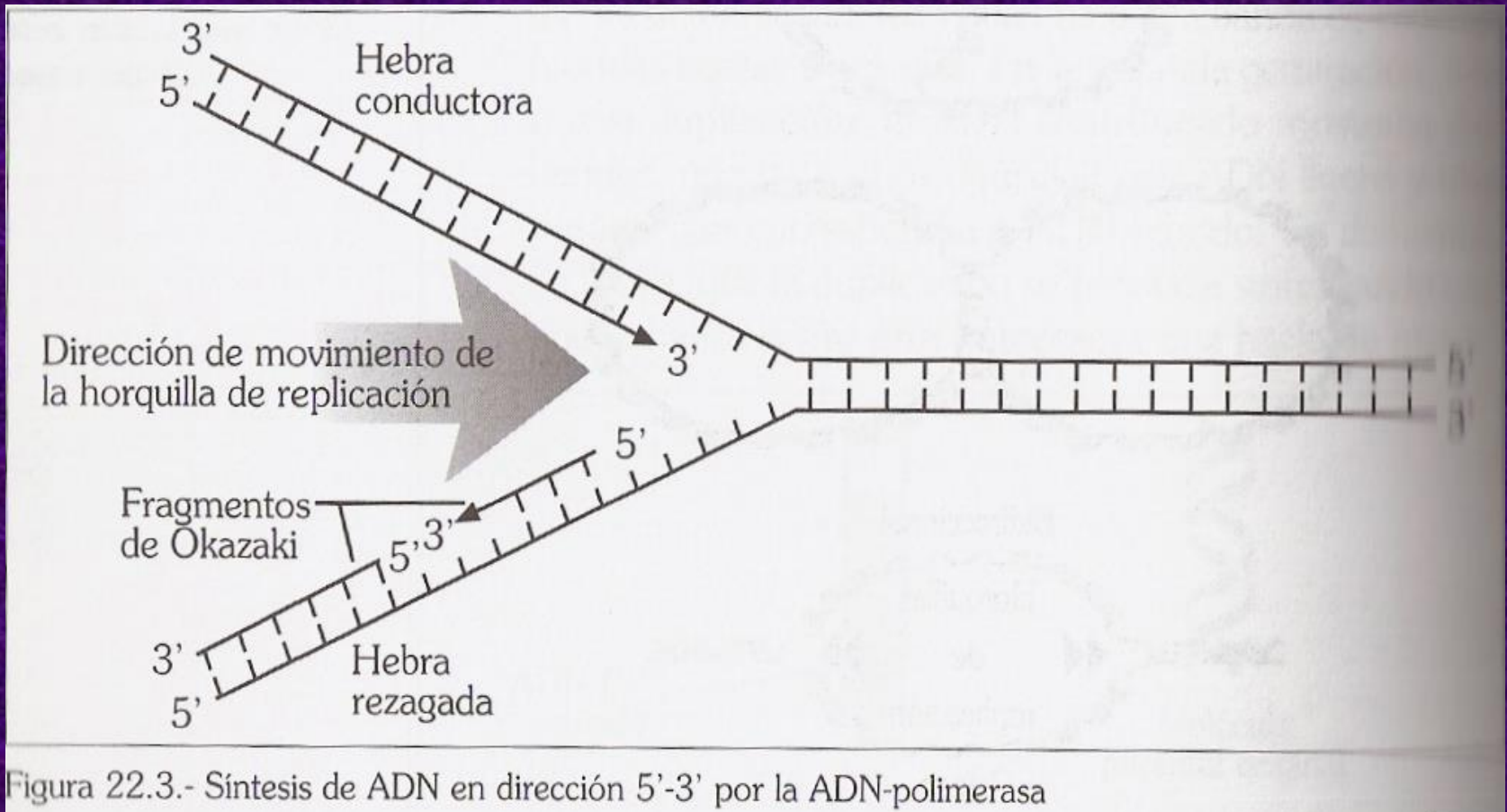
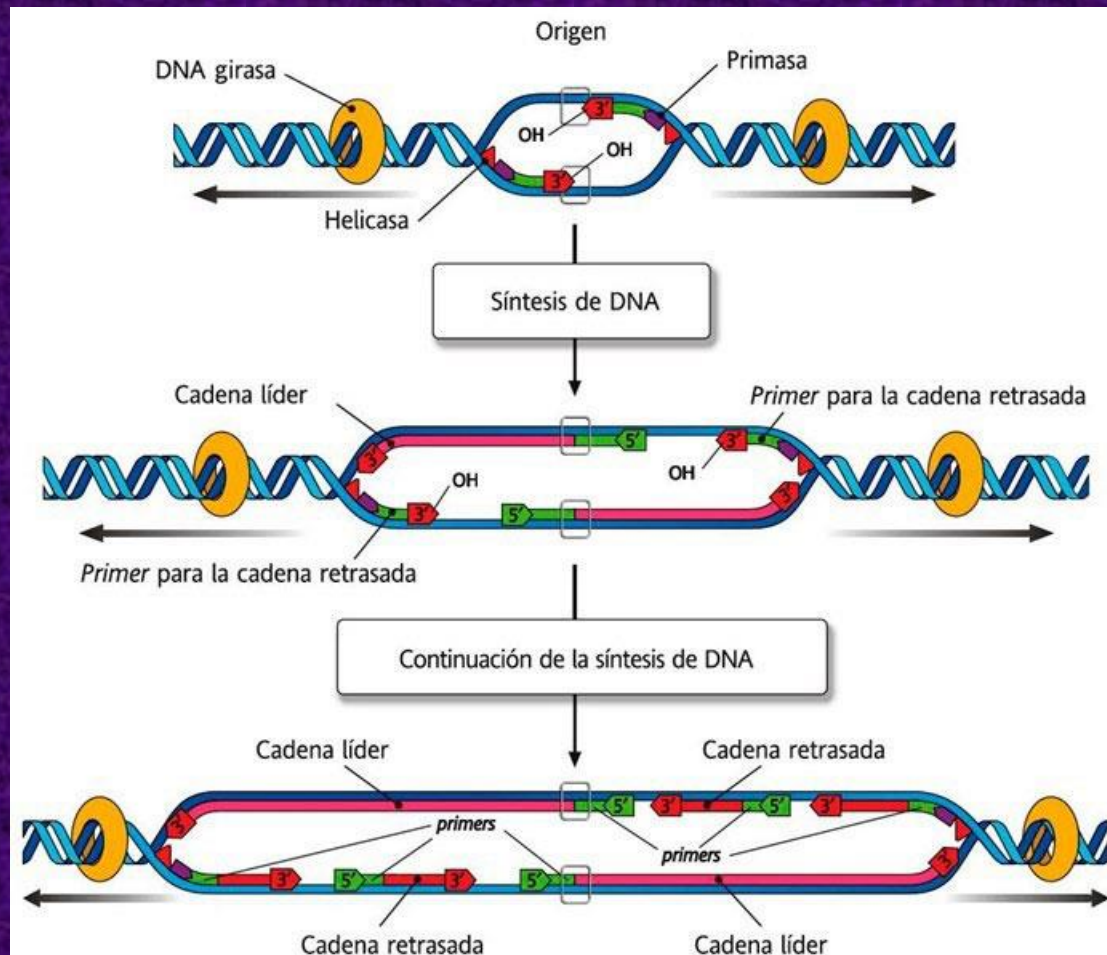


Figura 22.3.- Síntesis de ADN en dirección 5'-3' por la ADN-polimerasa

- **OKASAKI:** replicación discontinua
- Una hebra se replica rápidamente y en forma continua (la hebra 3'-5') y la otra se replica en fragmentos discontinuos.
- La síntesis de los fragmentos es en sentido contrario al avance de la horquilla de replicación (hebra 5'-3')

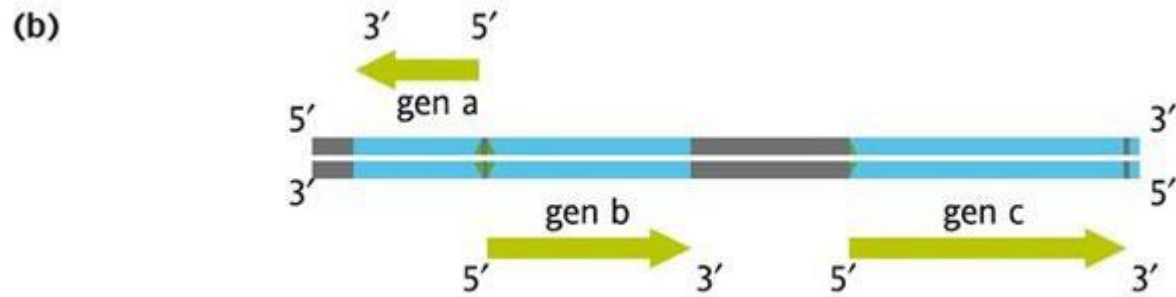
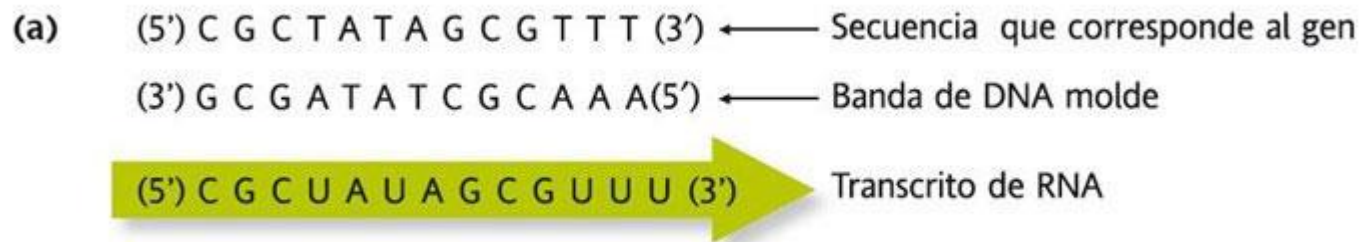


Actividad de la primasa y la DNA polimerasa en el proceso de replicación. La primasa sintetiza fragmentos cortos de nucleótidos de RNA, aportando así un grupo 3'-OH al que la DNA polimerasa puede añadir nucleótidos de DNA. Sobre la cadena líder, donde la replicación es continua, sólo se requiere un *primer* en el extremo 5' de la cadena de nueva síntesis. En la cadena retrasada, que se replica en forma discontinua, debe producirse un *primer* nuevo al comienzo de cada fragmento de Okazaki.

- **TRANSCRIPCIÓN:**
- síntesis de los distintos tipos de RNA a partir de determinados segmentos de DNA

- Sólo una cadena del DNA se usa como molde

- Se requiere:
- **DNA molde**
- **Sin RNA cebador**
- **Nucleótidos trifosforilados activados** :Unidades de construcción y fuente de energía
- **Sin ligasa**
- **Enzima específica:** Transcriptasa o RNA-polimerasa-DNA dependiente

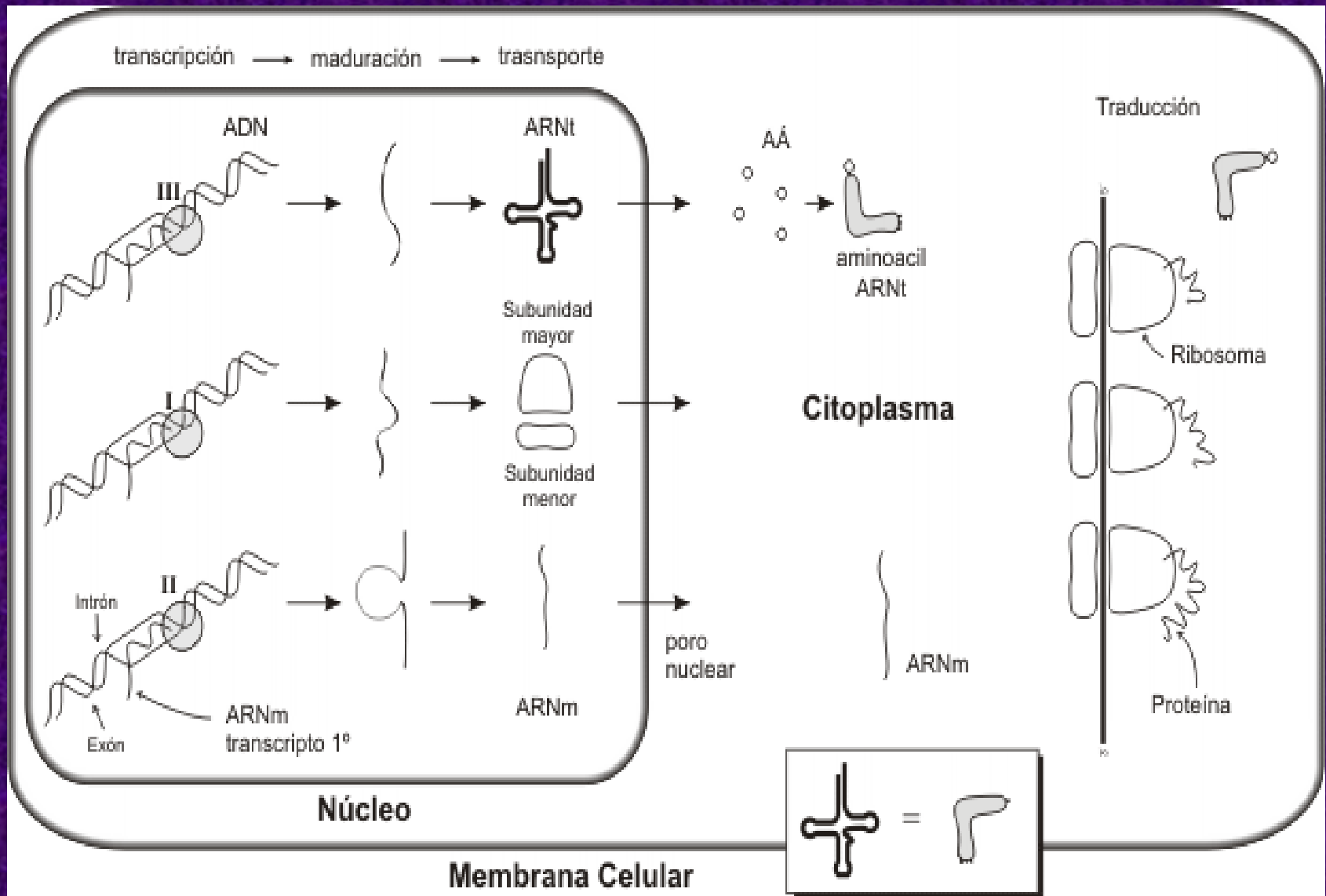


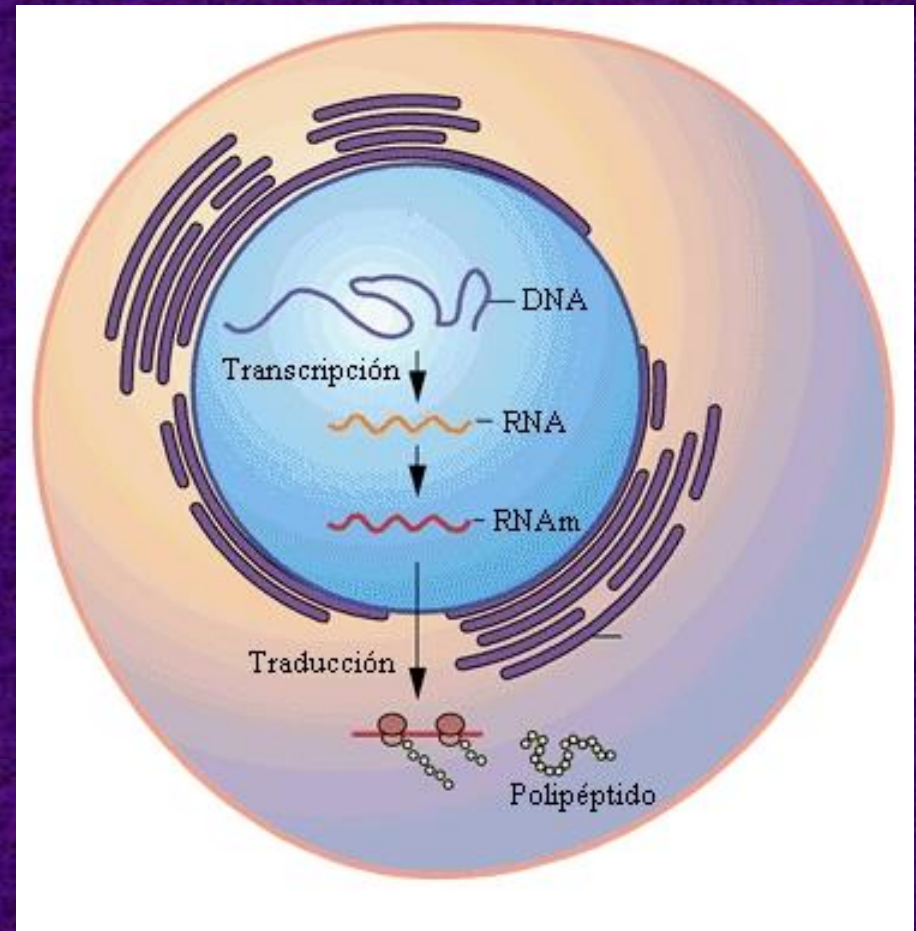
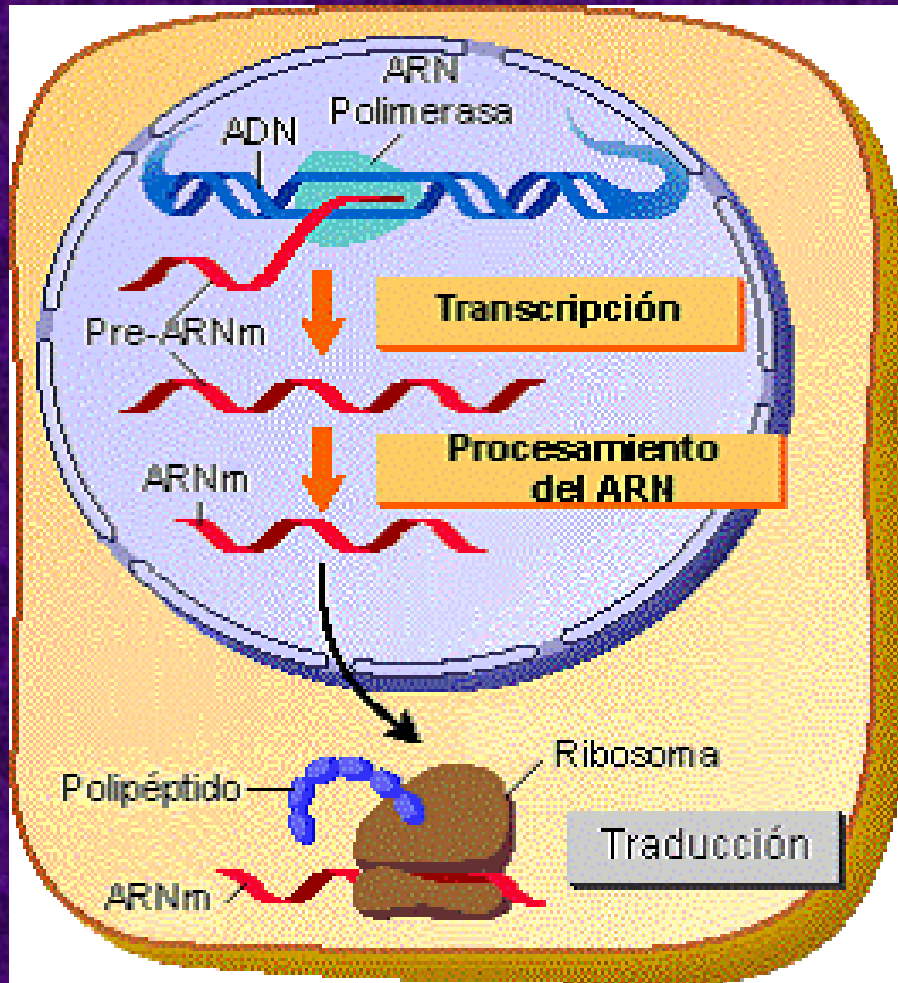
El rna se transcribe a partir de una sola banda. (a) Se denomina gen a la secuencia que coincide con el RNA transcrito. (b) Cualquiera de las dos hebras del DNA puede servir de molde. La dirección de síntesis siempre será 5'-3'.

- **Se realiza en el núcleo durante la interfase**
- **La doble hélice se escinde temporalmente**
- **Sobre la cadena molde se van uniendo los ribonucleótidos complementarios**
- **La RNA polimerasa cataliza la unión entre los nucleótidos adyacentes con pérdida del grupo pirofosfato**

- **Tanto en procariotas como en eucariotas:**
- **ARNm, ARNr, ARNt luego de su síntesis sufren en el núcleo modificaciones postranscripcionales, maduración, como cortes específicos, adición de secuencias en ambos extremos.**
- **Luego salen al citoplasma**

Transcripción, maduración y traducción en eucariotas





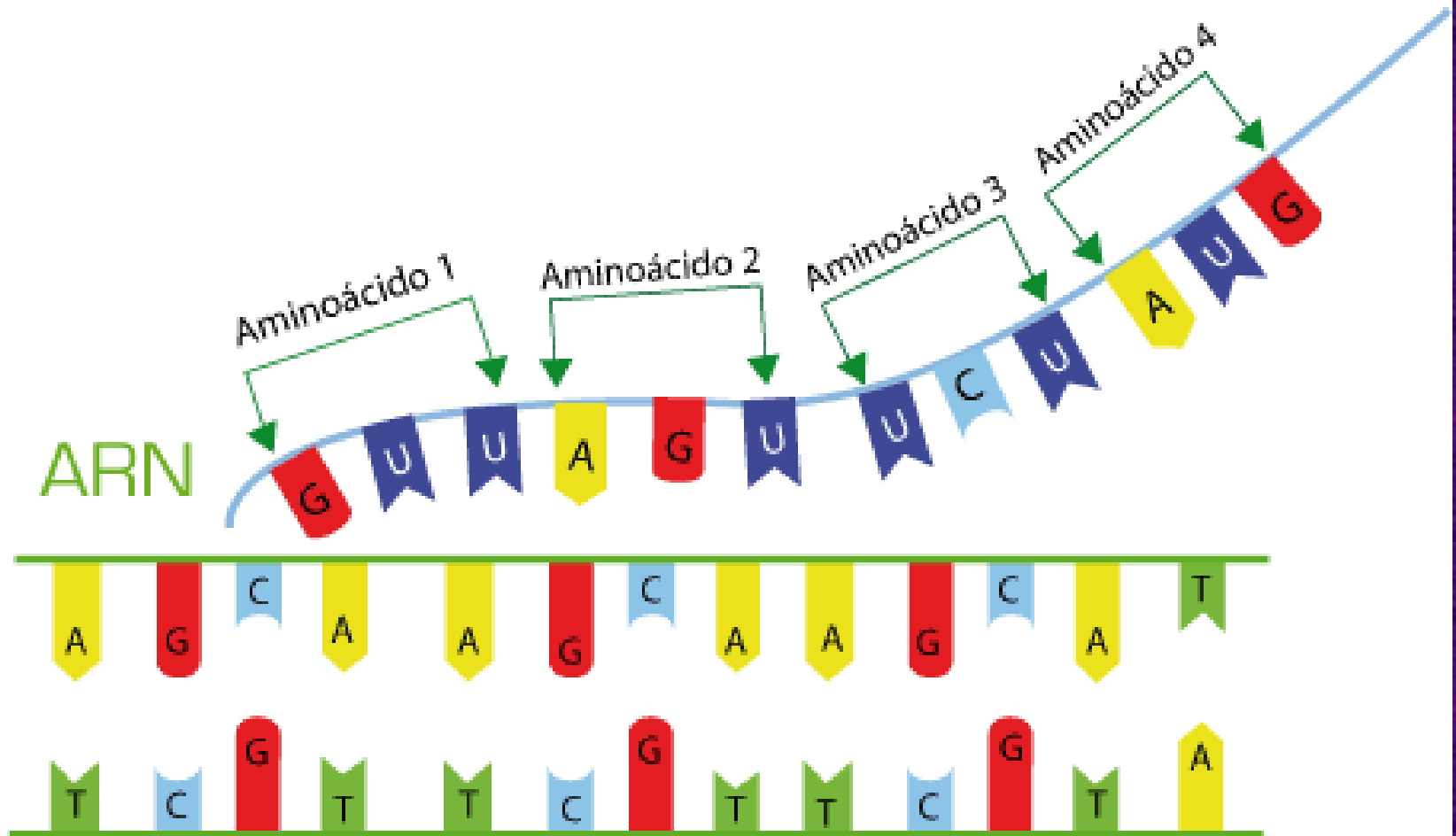
- **Código genético** como un idioma
- las letras son las 4 bases A, U, C, G
- las palabras son agrupaciones de 3 letras o tripletes de bases, llamadas codones en la molécula del ARNm
- los objetos designados por dichas palabras son cada uno de los 20 tipos de aminoácidos que componen las proteínas.
- La información reside en la secuencia de bases y está “escrita” en un código propio al que llamamos código genético.
- **Una secuencia determinada de nucleótidos puede codificar una secuencia definida de Aa.**

- Si un Aa estuviera codificado por 1 base \longrightarrow 4 Aa.
- 2 bases \longrightarrow $4^2 = 16$ combinaciones
- Si las bases se combinan de a 3 \longrightarrow 64 combinaciones diferentes que codifican a los 20 aminoácidos.
- Los 44 codones restantes son codones sinónimos.
- El código genético emplea codones diferentes para nombrar a un mismo aminoácido.

La mayoría de los aminoácidos están codificados por más de 1 codón:
código degenerado.

		SEGUNDA BASE								
		U		C		A		G		
PRIMERA BASE	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
		UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	G
	C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
		CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
		CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
		CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
	A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
		AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
		AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A
		AUG	Met, Start	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G
	G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
		GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C
		GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A
		GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G
		TERCERA BASE								

Código Genético



- **UGA, UAG y UAA: codones de terminación o stop.**
- **AUG: Codón INICIADOR**
- **CARACTERISTICAS DEL CODIGO GENETICO**
- **64 CODONES O TRIPLETES DE BASES.**
- **61 CODONES CODIFICAN PARA Aa**
- **3 CODONES FUNCIONAN COMO SEÑALES DE TERMINACIÓN**
- **NO ES AMBIGUO: CADA CODON ESPECIFICA UN SOLO Aa**
- **ES DEGENERADO: UN Aa PUEDE ESTAR CODIFICADO POR MAS DE UN CODON**
- **UNIVERSAL EL MENSAJE SE INTERPRETA DE LA MISMA FORMA EN TODOS LOS ORGANISMOS**
- **UTILIZA UN MARCO DE LECTURA AL INICIO Y NO LO MODIFICA**
- **NO SE PRODUCE SOLAPAMIENTO**