



BIOLOGÍA

2º BACHILLERATO

TEMA 20: Genética molecular I

TEMA 20 GENÉTICA MOLECULAR I

1. EL ADN COMO PORTADOR DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

Actualmente, todos admitimos que lo que Mendel denominó los “factores hereditarios” que se transmitían en la herencia de los caracteres, son en realidad **genes** que forman parte de las moléculas de **ADN** que constituyen los cromosomas. Sin embargo este paradigma, no se descubrió hasta principios de siglo XX y los descubrimientos relacionados con esta idea tuvieron lugar a lo largo de dicho siglo.

Conozcamos los principales descubrimientos que establecieron a la molécula de ADN como portadora de la información genética.

Experimentos de Griffith

En 1928, el microbiólogo británico **Frederick Griffith** (1879-1941) realizó un sorprendente descubrimiento mientras trabajaba en la obtención de una vacuna frente a la neumonía causada por la bacteria *Streptococcus pneumoniae*.

Griffith trabajaba con dos cepas diferentes de dicha bacteria: la **cepa S** poseía cápsula y era virulenta y mortal y la **cepa R** carecía de cápsula, no era virulenta y no producía la enfermedad.

El siguiente dibujo resume la experiencia realizada con estas cepas:

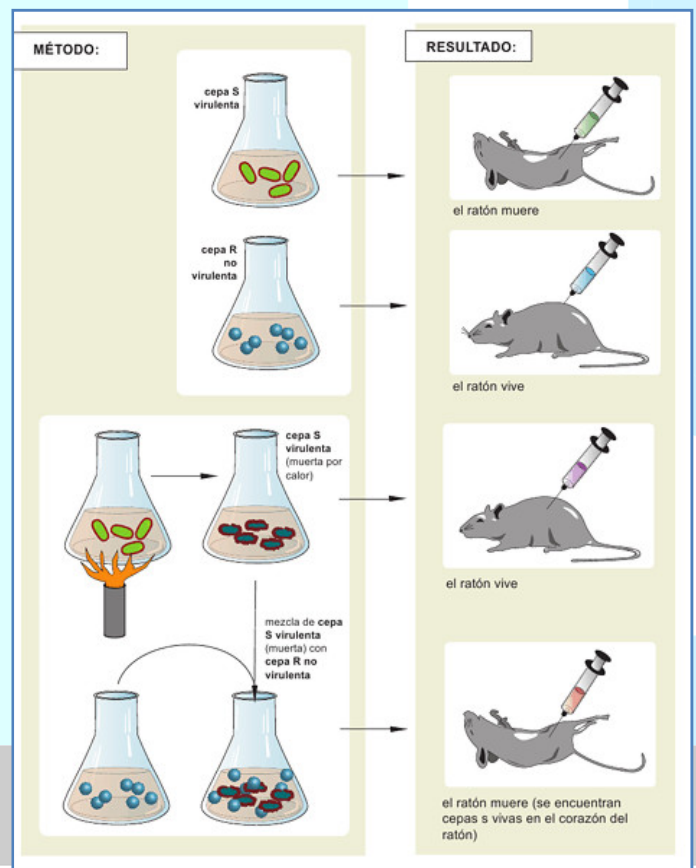
Al inyectar la cepa S en ratones enfermaban y morían lo que no ocurría cuando se les inyectaba la cepa R, tal y como era de esperar.

Si el cultivo de la cepa S era sometido al calor, se producía la muerte de las bacterias que lógicamente ya no podían infectar ni matar a los ratones.

Lo realmente extraordinario ocurría cuando a este cultivo de bacterias S muertas por el calor se añadían bacterias no virulentas de la cepa R, porque entonces el cultivo se volvía virulento y capaz de producir la enfermedad matando a los ratones y en cuya sangre se detectaban bacterias **S vivas**.

Griffith entendió que estas bacterias S vivas no podía ser las destruidas por el calor, sino que las bacterias R se habían transformado en bacterias S debido a un “factor de transformación” presente en el cultivo y que no resultaba destruido por el calor. Al estudiar detenidamente estas bacterias S, pudo comprobar que presentaban propiedades de las dos cepas R y S.

Pero Griffith, no fue capaz de establecer la naturaleza química del factor de transformación y en principio lo atribuyó a las proteínas de capsula bacteriana.



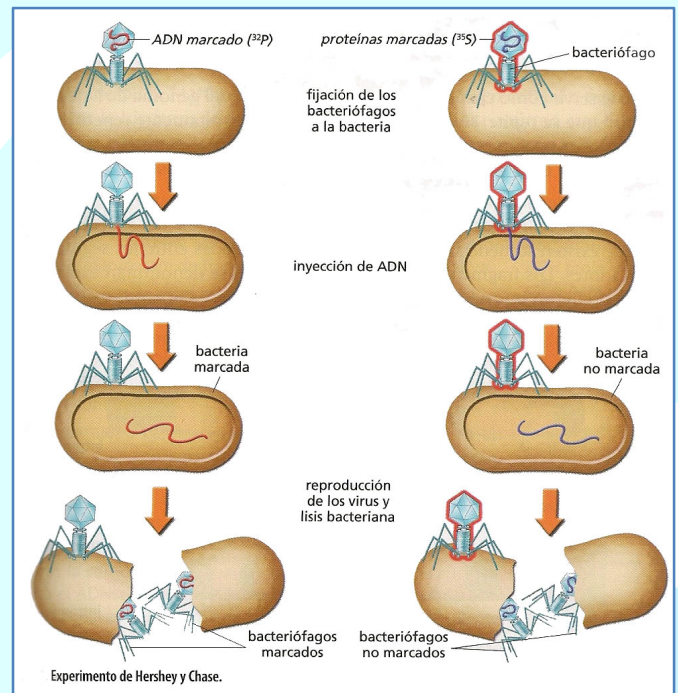
Experimentos de Avery, McLeod y McCarty

En 1944, estos tres médicos que trabajaban en el Instituto de Investigación Médica del Hospital Rockefeller de New York, publicaron los resultados de sus experimentos encaminados a descubrir la naturaleza química del agente transformante descrito por Griffith, llegando a la conclusión de que se trataba de un ácido nucleico del tipo ADN.

Experimentos de Hershey y Chase.

En 1952, esta joven pareja de científicos norteamericanos diseñaron un elegante experimento con el que demostraron de manera inequívoca que el material genético era el ADN y no las proteínas.

Para su experimento utilizaron un virus, el bacteriófago T2, capaz de infectar bacterias inyectando su ADN pero sin que la cápsida de proteína penetre en el interior. Usando marcadores radioactivos, consiguieron bacteriófagos que tenían marcado el ADN con ^{32}P y bacteriófagos que tenían marcada la cápsida con ^{35}S . La infección con estos bacteriófagos marcados y el posterior aislamiento de los nuevos virus formados en el interior de las bacterias, demostró que sólo los bacteriófagos que tenían marcado el ADN daban lugar a virus marcados, quedando así demostrado que era la molécula de ADN la responsable de información genética.



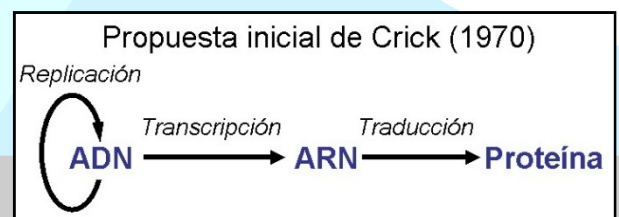
2. CONCEPTO DE GEN.

La palabra gen fue acuñada en 1909 por el botánico danés Wilhelm Ludwig Johannsen a partir de una palabra griega que significa "generar", refiriéndose a la unidad física y funcional de la herencia biológica.

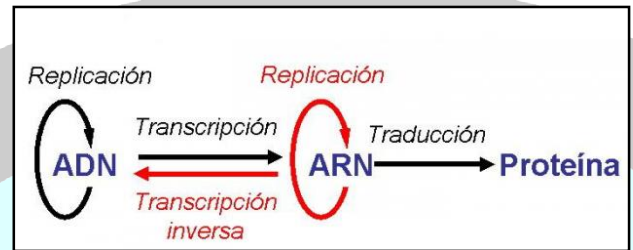
En el año 1941, Beadle y Tatum proponen la hipótesis de "**un gen-una enzima**" según la cual existe una relación entre los genes y las enzimas que regulan las rutas metabólicas, de manera que la alteración en un gen produce el bloqueo de un determinado paso metabólico que está controlado por un enzima.

Hacia 1950, se impuso el concepto de gen como la cadena de ADN que dirige la síntesis de una proteína. Éste es un concepto que proporciona una naturaleza molecular o estructural al gen que se refuerza años tarde en 1953, cuando Watson y Crick proponen **el modelo de doble hélice** del ADN y que la información reside en la secuencia de nucleótidos. Cinco años después, el propio Crick propone la "**teoría de la secuencia**" que establece que existe una relación entre la ordenación lineal de los nucleótidos en los ácidos nucleicos (ADN) y la ordenación lineal de los aminoácidos en las proteínas. Esta teoría tardó algunos años más en demostrarse.

Estos y otros muchos trabajos condujeron rápidamente a una notable confluencia de ideas así como nuevos enfoques experimentales de la Genética y la Bioquímica, que desembocaron en lo que Crick denominó **Dogma Central de la Biología Molecular** y que en un principio se podía resumir de la siguiente forma:



Surge el concepto de gen como lo que actualmente se llama un **cistrón**: la cadena de ADN capaz de dirigir la síntesis de un ARN que codifica para un polipéptido. Este concepto surge al comprobar que la mayoría de las proteínas están formadas por más de una cadena polipeptídica y que cada una de ellas está codificada por un gen diferente.



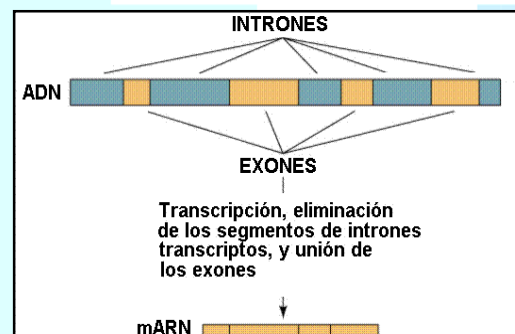
Actualmente se sabe que algunos genes codifican más de un **polipéptido** y que una proteína puede ser codificada por el conjunto de diferentes genes. Además existen algunos **genes que no codifican proteínas** sino **ARN con función propia** (ARN transferentes y ARN ribosómicos, por ejemplo) y que no se traducen, por lo que no es necesaria la traducción para que un gen tenga una función determinada.

Actualmente los conceptos anteriores son muy cuestionados y resulta difícil establecer una única definición de lo que es un gen. Una posible definición sería:

Un gen es la unidad mínima de información dentro del genoma que contiene los elementos necesarios para su expresión de manera regulada y que está formado por una secuencia de nucleótidos de la molécula de ADN (o ARN, en el caso de algunos virus) que tiene la información necesaria para la síntesis de una macromolécula con función celular específica, habitualmente proteínas pero también ARNm, ARNr y ARNt.

Los genes en procariotas son unidades continuas y toda la información contenida en los genes se traduce para la síntesis de estas macromoléculas.

Los genes en eucariotas son fragmentados. Cada gen consta de unas secuencias llamadas **exones** que se transcriben y se traducen y entre medias existen otras secuencias llamadas **intrones**, que se transcriben pero no se traducen y que son eliminadas en el proceso de maduración o **splicing**.



3. REPLICACION DEL ADN

La **replicación** del ADN consiste en la formación de dos moléculas **idénticas** a la molécula de ADN que se replica. Es un proceso imprescindible para que el ADN pueda hacer copias exactas de sí mismo. Por esta razón, se conoce al proceso también como **autoduplicación** del ADN.

Es un proceso fundamental que se produce en la **fase S** del ciclo celular, antes de que la célula se divida. Se produce una duplicación del ADN que es posteriormente repartido entre las células hijas, asegurado así que todas las células de un organismo pluricelular mantienen la misma información genética.

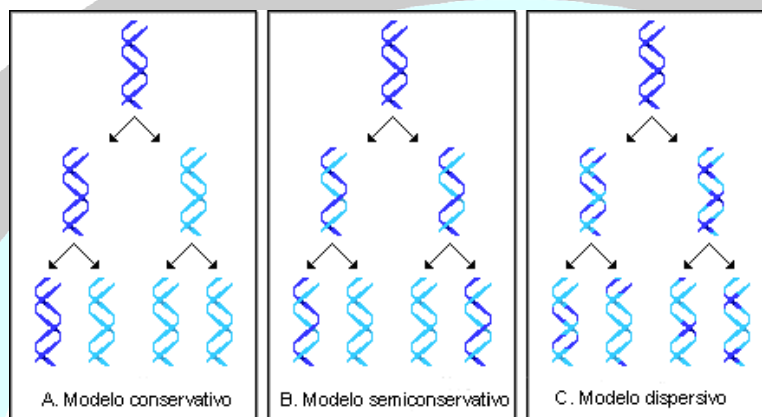
Si tenemos en cuenta que las dos cadenas del ADN progenitor son complementarias e iguales a los de los ADN copias, el proceso podría seguir tres mecanismos diferentes:

Replicación conservativa: La doble cadena de la molécula original se mantiene y se forman copias nuevas de las dos cadenas de la otra molécula.

Replicación semiconservativa: Cada molécula nueva de ADN posee una cadena procedente del ADN progenitor y una cadena que es copia de la otra cadena del ADN progenitor.

Replicación dispersiva: Las cadenas de las moléculas hijas de ADN son una combinación de segmentos originales y copias de las cadenas del ADN progenitor.

La hipótesis **semiconservativa** fue la propuesta por Watson y Crick, pero tuvieron que pasar cuatro años (1957), para que **Meselson y Stahl**, demostraran mediante ingeniosos y elegantes experimentos de centrifugación, que el proceso semiconservativo era el que actuaba en la replicación del ADN de la bacteria *Escherichia coli*. A raíz de estos experimentos y de otros relacionados con el mecanismo de replicación, se concluyó que la replicación del ADN es de forma **semiconservativa**



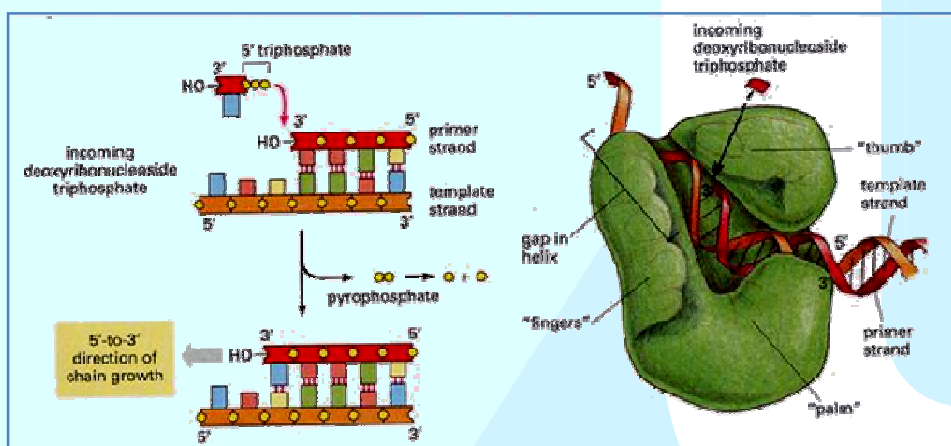
3.1 ENZIMAS DE LA REPLICACIÓN: ADN-POLIMERASAS

En el año 1956, Arthur Kornberg y sus colaboradores descubrieron una enzima en *E. coli*, que actualmente se conoce como **ADN-polimerasa I** y que posee "in vivo" tres actividades enzimáticas diferentes:

- Actividad polimerasa en sentido 5'→3'. Para llevar a cabo esta actividad precisa un extremo -OH 3' libre donde unir un dNTP y una cadena de ADN (template) que sirve de molde de la nueva cadena.
- Actividad exonucleasa en sentido 5'→3'.
- Actividad exonucleasa en sentido 3'→5'.

Debido a que posee diferentes actividades, el enzima posee diferentes centros activos formados por sitios de unión y centros catalíticos y su estructura espacial recuerda a una mano semicerrada

Tras el descubrimiento de esta polimerasa, se identificaron en *E. coli* otras dos polimerasas:



ADN-polimerasa II: carece de actividad exonucleasa 5'→3' y parece que no es indispensable en el proceso de replicación.

ADN-polimerasa III: es similar a la ADN-polimerasa I pero con actividad polimerizadora mucho mayor (1.000 nucleótidos por segundo) por lo que se la considera como la polimerasa implicada en la polimerización del ADN en los procariotas, mientras que la ADN-polimerasa I está implicada en la reparación del ADN durante el proceso de replicación

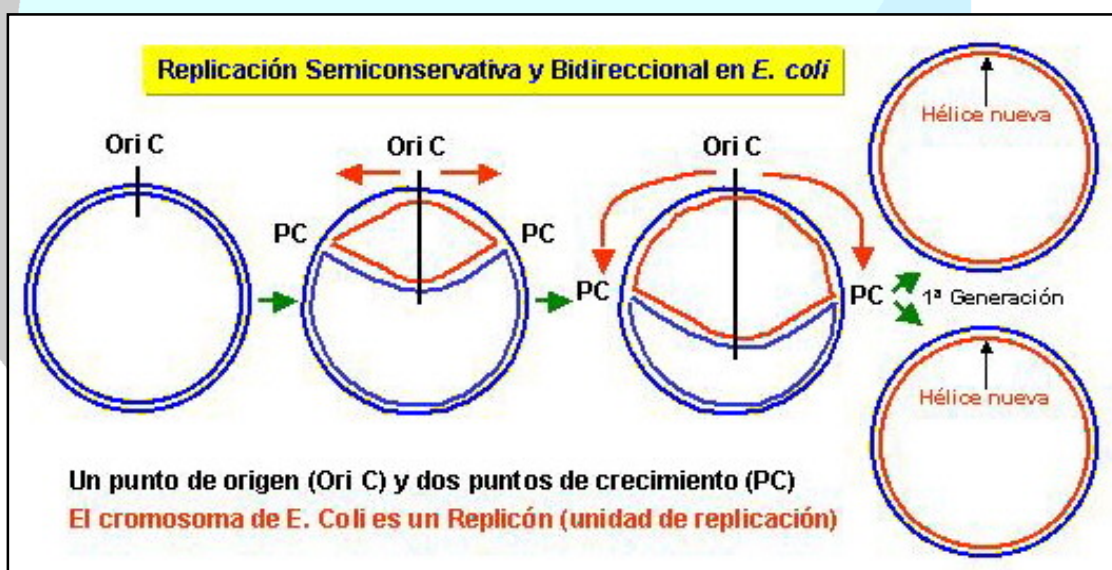
Características principales de las ADN polimerasas de <i>E. coli</i>				
		ADN Pol I	ADN Pol II	ADN Pol III
Estructura	Constitución	Monómero	Monómero	Dímero asimétrico
	Número de polimerasas / célula	400	100	10 - 20
Actividad / Función	Polimerasa 5' → 3' / Elongación	SI	SI	SI
	Exonucleasa 3' → 5' / Corrección	SI	SI	SI
	Exonucleasa 5' → 3' / Reparación	SI	NO	NO

En las células eucariotas se han identificado cinco ADN polimerasas diferentes bien caracterizadas, diferenciándose en su localización, actividad y sensibilidad a los inhibidores: alfa, beta, gamma, delta y épsilon:

- La **ADN polimerasa alfa** participa en el proceso de replicación del ADN dirigiendo la replicación de la cadena retardada que es la cadena que crece de 3' → 5' que es el sentido contrario al del crecimiento global de la nueva copia de ADN.
- La **ADN polimerasa beta** se encarga de los procesos de reparación del ADN.
- La **ADN polimerasa gamma** realiza la replicación del ADN mitocondrial.
- Las **ADN polimerasas delta y epsilon** dirigen la replicación de la cadena conductora que es la cadena que crece de 5' → 3' en mismo sentido que crece la nueva copia de ADN.

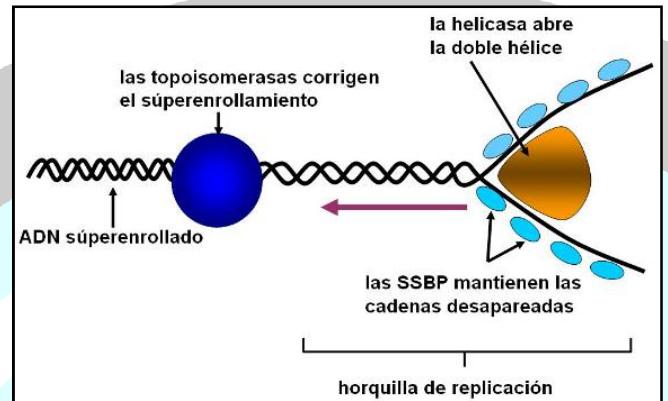
3.2 MECANISMO DE REPLICACIÓN DEL ADN EN PROCARIOTAS.

El mecanismo de replicación en procariotas se estudio primeramente en *E. coli* cuyo genoma está formado por una molécula de ADN bicatenario, circular y muy enrollado. La replicación tiene un único origen Ori C y es **bidireccional** con dos puntos de crecimiento PC.



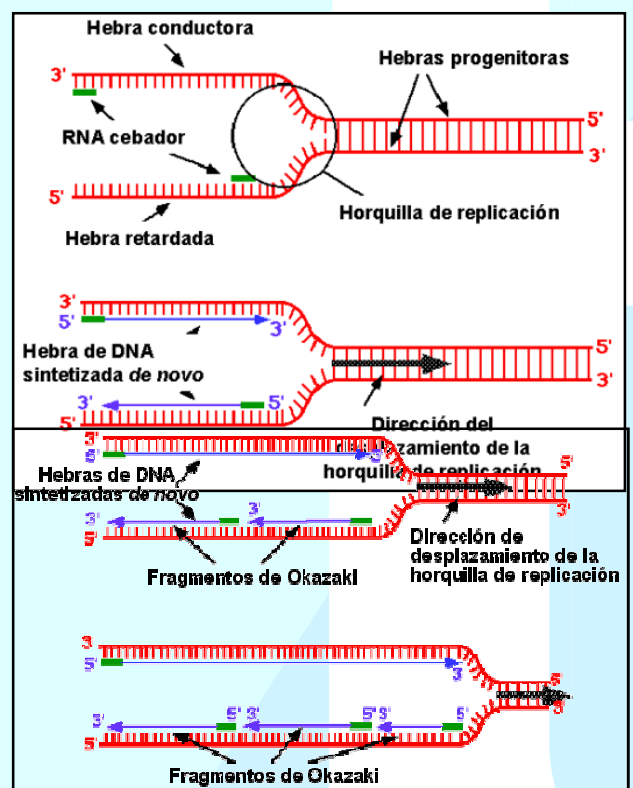
1. INICIO DE LA REPLICACIÓN

Un problema inicial consiste en desenrollar el ADN con el fin de separar las cadenas que van a servir como moldes de las nuevas cadenas. De esto se encargan un conjunto de enzimas: **helicosas** que separan las dos cadenas; **topoisomerasas** que relajan el enrollamiento que se origina, y las **SSBP** o proteínas que estabilizan las cadenas sencillas. La actuación conjunta de estas enzimas provoca la aparición en el origen de replicación de una **burbuja** u **horquilla de replicación**.



2. FORMACIÓN DE NUEVAS HEBRAS (ELONGACIÓN)

1. La **ADN-pol III** es la encargada de sintetizar las nuevas hebras, pero para ello necesita un **cebador**, que es un corto fragmento de ARN (10 -40 nucleótidos) sintetizado por la enzima **primasa (ARN-polimerasa)** y que aporta un extremo 3' a partir del cual iniciar la síntesis.
2. Por otro lado la ADN-pol III solo puede polimerizar en sentido 5'→3' usando como **molde** una cadena de ADN en sentido contrario. Esto hace que una de las nuevas cadenas se sintetice de forma continua, hebra **conductora**, mientras que la otra cadena se sintetiza de manera discontinua, **hebra retardada**, en segmentos de unos 100-200 nucleótidos llamados **fragmentos de Okazaki**, cada uno de los cuales posee su cebador.



3. TERMINACIÓN

- Los cebadores de ARN son eliminados por la actividad exonucleasa 5'→3' de la **ADN-pol I**, la cual rellena los huecos dejados gracias a su actividad polimerasa.
- Por último los extremos de los fragmentos se unen gracias a la actividad del enzima **ligasa**.

3.3 MECANISMO DE REPLICACIÓN DEL ADN EN EUCARIOTAS.

Básicamente el proceso es igual que en procariotas, sin embargo podemos observar algunas diferencias:

- El ADN de eucariotas está unido a histonas. Durante la replicación, la cadena conductora y su cadena molde se quedan con las originales, mientras que la cadena retardada y su molde se enrollan sobre nuevas histonas.
- Debido a su gran longitud, las moléculas de ADN eucariótico poseen varios sitios de inicio de la replicación a partir de los cuales comienza la replicación bidireccional de la molécula. Cada origen de replicación da lugar a un **replicón** o región de ADN en proceso de replicación. Los procariotas poseen un solo replicón.
- Los fragmentos de Okazaki en los eucariotas son 10 veces más largos que en los procariotas.

3.4 MECANISMOS DE REPARACIÓN DE ADN

El proceso de replicación es muy fiable, de manera que las dos moléculas hijas son idénticas a la madre.

Durante el proceso de replicación la actividad exonucleasa 3'→5' de la ADN-pol III corrige los últimos nucleótidos que se incluyen en la cadena de forma errónea, debido a que al no estar bien unidos a su complementario caen dentro del centro activo exonucleotídico (**corrección de pruebas**). La tasa de error se reduce de esta forma a un nucleótido por cada 10⁷ incorporados. Sin embargo, esta tasa es muy alta, por lo que hay un mecanismo de **corrección postreplicativa**, que consiste en la eliminación de fragmentos de la cadena de ADN que posee el error por la actividad de las siguientes enzimas:

- **Endonucleasas** que detectan los errores y cortan la hebra anómala
- **Exonucleasas** que eliminan los nucleótidos
- **ADN polimerasas** que rellenan el hueco
- **ADN ligasas** que sellan la nueva cadena.

Este mecanismo de reparación reduce la tasa de error a un nucleótido por 10¹⁰ incorporados.

Los errores no reparados y heredables constituyen los que se denominan **mutaciones puntuales o génicas**, las cuales provocan cambios en las secuencias aminoacídicas de las proteínas que codifican los genes. En la mayoría de las ocasiones las mutaciones son silenciosas pues afectan a intrones, o el cambio de nucleótido no provoca cambio de aminoácido, o el cambio de aminoácido no afecta a la función de la proteína.