

TEMA 25: LOS ÁCIDOS NUCLEICOS. REPLICACIÓN Y TRANSCRIPCIÓN.

ÍNDICE.

1. INTRODUCCIÓN.

2. ÁCIDOS NUCLEICOS.

2.1. CONCEPTO DE ÁCIDO NUCLEICO.

2.2. ADN.

- a) Estructura primaria.
- b) Estructura secundaria.
 - b.1. DNA B.
 - b.2. DNA- A.
 - b.3. DNA-Z.
- c) Estructura terciaria.
 - c.1. Collar de perlas o fibra de cromatina de 100 A°.
 - c.2. Estructura cristalina.
- d) Estructura cuaternaria o 2º nivel de empaquetamiento.
- e) Niveles superiores de empaquetamiento.
- f) ADN superenrollado.

2.3. ARN.

- a) ARNm.
- b) ARNt.
- c) ARN nucleolar.
- d) ARN ribosómico.
- e) ARN pequeño nucleolar.
- f) ARN de interferencia.

3. REPLICACIÓN Y TRANSCRIPCIÓN.

3.1. DESCUBRIMIENTO DEL ADN COMO MOLÉCULA PORTADORA DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA.

3.2. REPLICACIÓN O DUPLICACIÓN DEL ADN.

3.3. PROCESO DE REPLICACIÓN.

3.4. SISTEMA DE REPARACIÓN DE ERRORES.

3.5. PROCESO DE TRANSCRIPCIÓN Y MADURACIÓN.

- a) En eucariotas.
- b) En bacterias.

4. CONCLUSIÓN.

5. BIBLIOGRAFÍA Y WEBGRAFÍA.

1. INTRODUCCIÓN.

El descubrimiento de los ácidos se produjo cuando **Mieschner (1869)** observó una sustancia blanquecina ligeramente ácida en esperma de salmón. Al hallarse esta sólo en los núcleos de las células, acuñó para ella el término "nucleína". Posteriormente sería llamada "ácido nucleico" y, finalmente, ácido desoxirribonucleico, diferenciándolo así del ácido ribonucleico.

Los ácidos nucleicos están presentes en todos los organismos, y contienen las instrucciones necesarias para realizar los procesos vitales, por lo que son las responsables de todas las funciones básicas en el organismo. Al dirigir y controlar la síntesis de sus proteínas, proporcionan la información que determina su especificidad y características biológicas.

Pero, ¿qué surgió antes, el ADN o el ARN? **Carl Woese (1968)** sugirió que las primeras formas de vida usaron ARN como portador de la información genética tanto como catalizador de sus reacciones metabólicas, lo que se denominó posteriormente **Gilbert (1986)**, *hipótesis del mundo de ARN*. Según esta hipótesis, la formación del ARN, su autorreplicación, la síntesis de proteínas (estudiada en el **tema 24**) y la aparición de ARN bicatenario serían eventos anteriores a la aparición del ADN, que evolucionaría a partir de este último.

2. ÁCIDOS NUCLEICOS.

2.1. CONCEPTO DE ÁCIDO NUCLEICO.

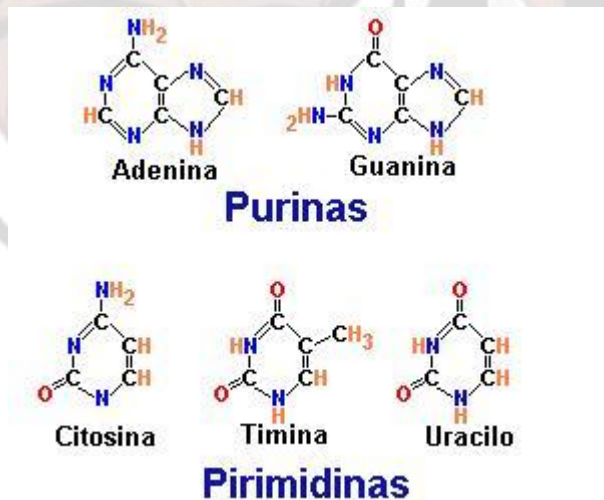
Son polímeros de elevado peso molecular, formados por C, H, O, N y P, y constituidos por la unión de unidades básicas llamadas nucleótidos, unidos mediante enlaces fosfodiéster. Son los encargados de transmitir la información genética. Son el ADN y el ARN.

Levene (1920) fue el primero en analizar los componentes del ADN, y concluyó que la unidad básica (nucleótido) estaba compuesta de una base pegada a un azúcar y que el fosfato también estaba pegado al azúcar.

La hidrólisis total de un ácido nucleico da como resultado:

a) Una base nitrogenada, que puede ser de dos tipos:

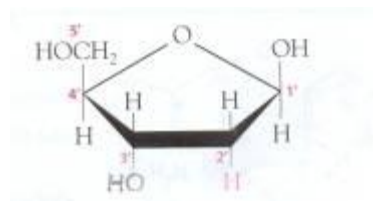
- **Bases púricas** (derivan de la purina): **Adenina** (ADN y ARN) y **Guanina** (ADN y ARN)



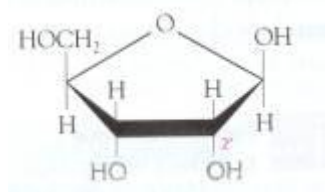
- **Bases pirimidínicas** (derivan de la pirimidina): **Citosina** (ARN y ADN), **Timina** (ADN), y **Uracilo** (ARN).

b) Una pentosa (Aldopentosa):

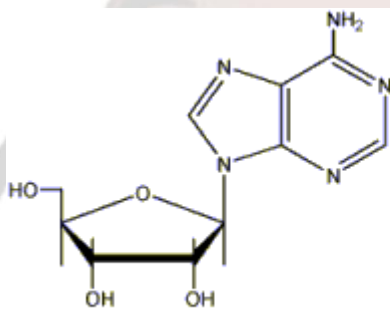
- **Ribosa (β - D ribofuranosa)**: En el ARN
- **Desoxirribosa (β - D desoxirribofuranosa: le falta un oxígeno en el C2)**: en el ADN.



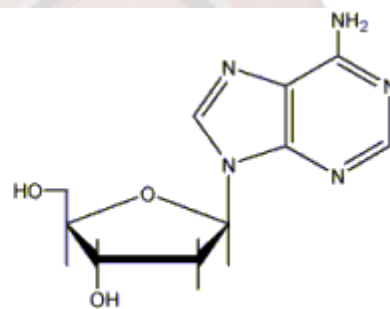
Beta-D-ribofuranosa



Beta-D-2- desoxirribofuranosa

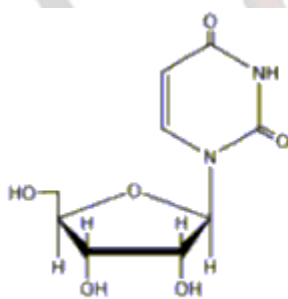


ADENOSINA

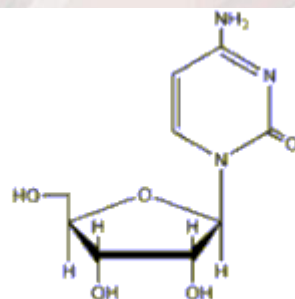


DESOXIADENOSINA

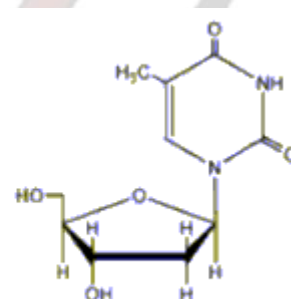
De la unión de la base nitrogenada y la pentosa resulta un **nucleósido**. Esta unión se realiza entre el C1 de una pentosa y el N que ocupa la posición 1 de una base pirimidínica, o la posición 9 de una base púrica. La unión es mediante un **enlace N- glucosídico** (se libera una molécula de H₂O).



URIDINA



CITIDINA

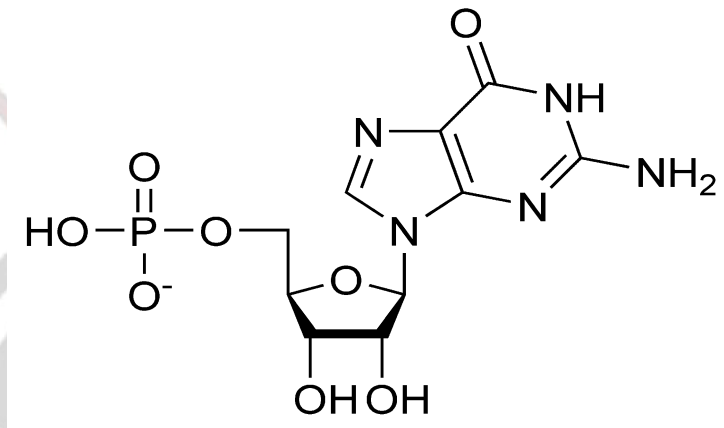


TIMIDINA

La unión entre un nucleósido y un ácido ortofosfórico da lugar a un **nucleótido**: Esta unión se realiza entre el grupo hidroxilo de los carbonos 3' y 5' de la pentosa (el signo ' hace referencia a la posición de los C de la pentosa, para distinguirlos de los de la base nitrogenada) con el ácido ortofosfórico: esterificación.

Se nombra anteponiendo **ácido**, y añadiendo la terminación **-ílico**, ej.: *Ácido guanidílico*, o bien el nombre de la base nitrogenada con la terminación **-ín**, ej.: *guanosín*.

Para indicar si la unión es en el C3' o en el C5' :



pG: Guanosina – 5' - monofosfato (unión en el C5'): *Ácido 5'-guanidílico o GMP*

Gp: Guanosina -3' - monofosfato (unión en el C3')

Derivados de nucleótidos de interés biológico:

1. Fosfatos de adenosina: **ADP** (adenosín difosfato, ppA), y **ATP** (adenosín trifosfato, pppA).

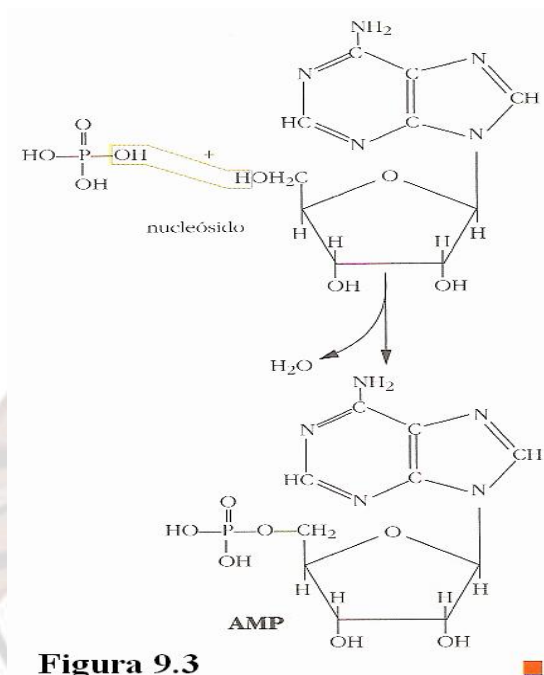


Figura 9.3

El **AMP** o adenosín 5' monofosfato. Forma parte del ARN.

Los enlaces entre los fosfatos requieren mucha energía en su formación, la misma que liberan al hidrolizarse, por lo que actúan como almacén de energía en la célula.

2. Nucleótidos que actúan como coenzimas en procesos metabólicos:

FAD, NAD y NADP: actúan como coenzimas en reacciones redox. Son sustancias oxidantes que separan el H de los sustratos, actuando como coenzimas de las deshidrogenasas.

3. AMP cíclico (AMP_c): actúa como mediador en muchos procesos hormonales.

Induce la activación de enzimas que catalizan reacciones que provocan un efecto fisiológico.

2.2. ADN (ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO).

Es un polímero formado por desoxirribonucleótidos de A, G, C y T, enlazadas por enlaces fosfodiéster entre el C3' de la desoxirribosa de un nucleótido y el C5' de la desoxirribosa de otro nucleótido (se lee la cadena en sentido 5' a 3').

Los enlaces fosfodiéster se forman por la esterificación de un grupo fosfato (de un nucleótido), con el -OH del otro nucleótido.

Se distinguen dos tipos de ADN:

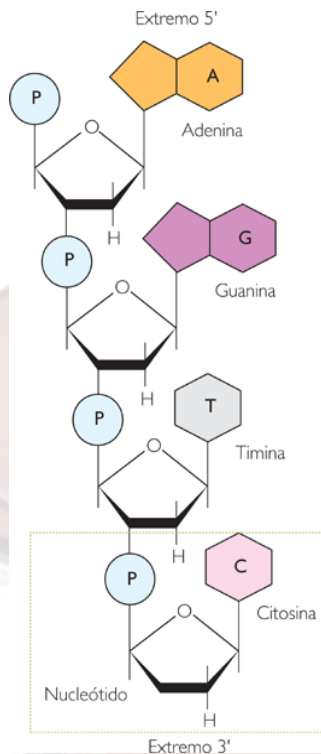
- **Monocatenario:** de una sola hebra. Lineal o circular. Es muy raro, se da en virus animales (Parvovirus) y en virus bacteriófagos (virus ϕ x174).
- **Bicatenarias:** de dos hebras. Lineal en células eucariotas y circular en bacterias, ADN mitocondrial y cloroplástico, y en virus bacteriófagos.

a) Estructura primaria.

Es una cadena formada por la secuencia de nucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster.

Las distintas secuencias de bases nitrogenadas, hacen que haya infinitas combinaciones, por lo que la diversidad de la información genética es muy elevada.

La longitud del ADN (*2,36 m ser humano, 0,57 m erizo de mar...*), no guarda relación con la complejidad del organismo. Muchas especies tienen más ADN del que necesitan para codificar su estructura y fisiología.



Las estructuras primarias difieren entre sí por la composición y secuencia de las bases a lo largo del esqueleto de polidesoxirribosa fosfato.

b) Estructura secundaria.

Hay tres tipos de estructura secundaria:

b.1. DNA B. Es la estructura más estable que puede adquirir, en condiciones fisiológicas, un ADN independientemente de su secuencia.

Fue formulada por **Watson y Crick (1953)**, a partir de diferentes evidencias experimentales, entre las que fueron fundamentales los estudios de difracción de rayos X del ADN realizados por **Rosalind Franklin y Raymond Gosling**. Watson tuvo acceso, a través de Maurice **Wilkins** y sin conocimiento de Franklin, a la denominada **Fotografía 51**, cuyos datos contribuyeron de forma decisiva al establecimiento del modelo de la doble hélice del ADN. Watson, Crick y Wilkins recibieron **el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1962**.

El ADN está formado por 2 cadenas de polinucleótidos antiparalelas (con los extremos 3' - 5' orientados en diferente sentido en cada una de las cadenas) y complementarias (no iguales, en donde en una cadena hay A, en la otra habrá T, lo mismo para G y C), y que se enrollan en espiral a lo largo de un eje imaginario dando lugar a una estructura en forma de hélice dextrógira, en la que cada **3,4 Å** aparece un par de bases y cada **34 Å** la doble hélice da una vuelta (10 nucleótidos por vuelta), siendo el diámetro de la misma de **20 Å**. Estos datos son con el modelo de Watson y Crick. Datos más actuales dicen que el número de pares de bases es **10,4** y la distancia entre pares de bases es de **3,4 Å** y la vuelta completa mide **35,4 Å**.

Las bases nitrogenadas están en el interior de la doble hélice y la pentosa y el ácido fosfórico hacia el exterior, estando los planos de las bases perpendiculares al eje de la hélice.

Las dos cadenas están unidas mediante puentes de hidrógeno entre bases nitrogenadas: 3 puentes de hidrógeno entre G y C ($G \equiv C$) y 2 puentes de hidrógeno entre A y T ($A = T$).

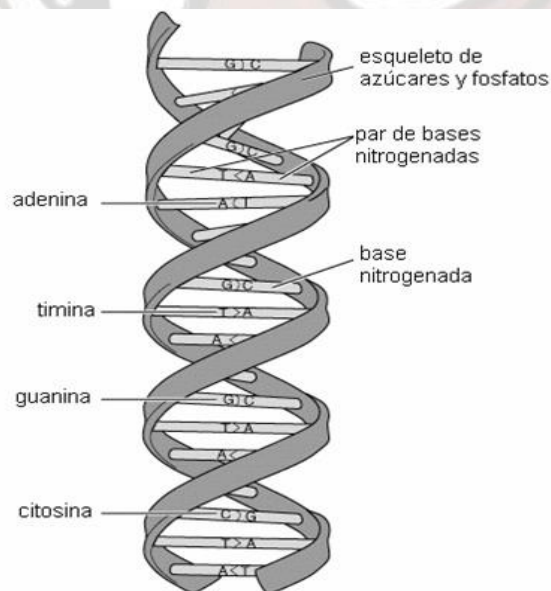
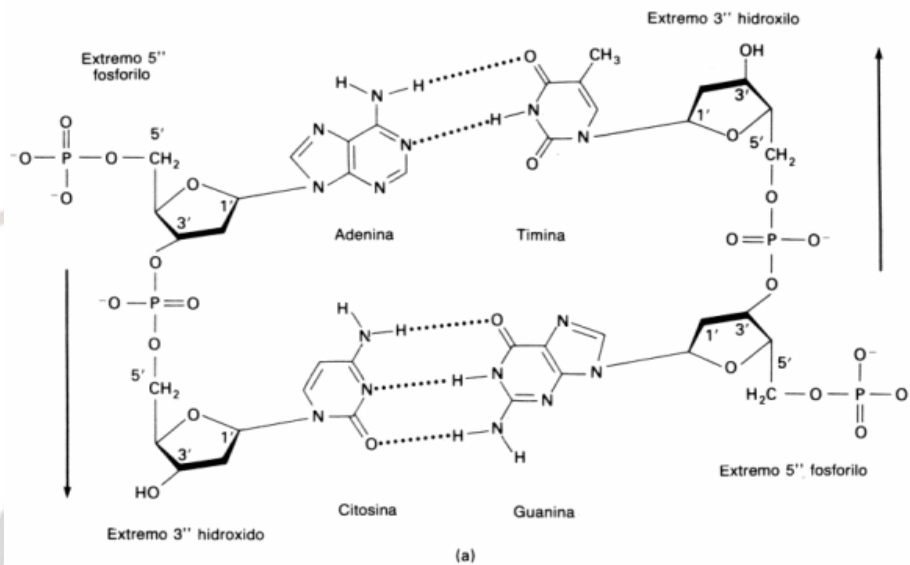
La proporción de las 4 bases es muy variable entre las distintas especies, pero muy similar entre individuos de la misma especie.

Según el "**Principio de equivalencia de bases**", en los organismos cuyo material hereditario es ADN de doble hélice, la cantidad de A es igual a la de la T, y la cantidad de C es igual a la de G, como indican las Reglas de Chargaff (1949):

$$A + G / T + C = 1$$

$$A / T = 1; G / C = 1$$

La relación **(A + T) / (G + C)**, al igual que el contenido en **GC**, son característicos de cada organismo, tomando diferentes valores según la especie.



b.2. DNA- A. Se encuentra favorecida en muchas disoluciones relativamente poco ricas en agua. Tiene estructura de doble hélice dextrógira, pero hay un par de bases cada **2,3 Å** y hay **11 pares de bases por vuelta**. Además, los pares de bases están inclinados y desplazados hacia el exterior, por lo que, para una misma molécula de DNA, la forma A será más corta y tendrá un diámetro mayor que la forma B.

No se ha encontrado esta estructura *in vivo*, pero es importante ya que es la que adoptan

los híbridos DNA-RNA y el RNA bicatenario.

b.3. DNA-Z. Es una hélice **levógira** (gira a la izquierda).

Está formado por secuencias repetidas G-C en una cadena (y estos están separados 0,53 nm) y por las secuencias complementarias C-G en la otra cadena, separadas 0,41 nm. Por eso lo simplificamos así: la distancia entre pares de bases es de **0,53 nm (G·C) / 0,41 nm (C·G)**.

La vuelta completa mide **4,56 nm**. Hay **12 pares de bases por vuelta**.

El esqueleto de DNA aparenta un plegamiento en zig-zag (de ahí el nombre de Z)

Se ha observado que esta estructura se favorece por la alternancia de purinas y pirimidinas en la secuencia, y más aún por la metilación en C5 de las C (muy frecuente en el DNA genómico al haber un dinucleótido CG). Hay datos que confirman la presencia de fragmentos cortos (zonas) de DNA-Z tanto en procariotas como en eucariotas pues se ha observado que los anticuerpos desarrollados contra el DNA-Z reconocen pequeñas regiones de los cromosomas de las células vivas. Estas regiones de DNA-Z pueden tener un papel, todavía por definir, en la regulación de la expresión de algunos genes o en la recombinación genética.

c) Estructura terciaria.

Consiste en la disposición que adopta la fibra de ADN de doble hélice al asociarse con proteínas. Hay dos tipos:

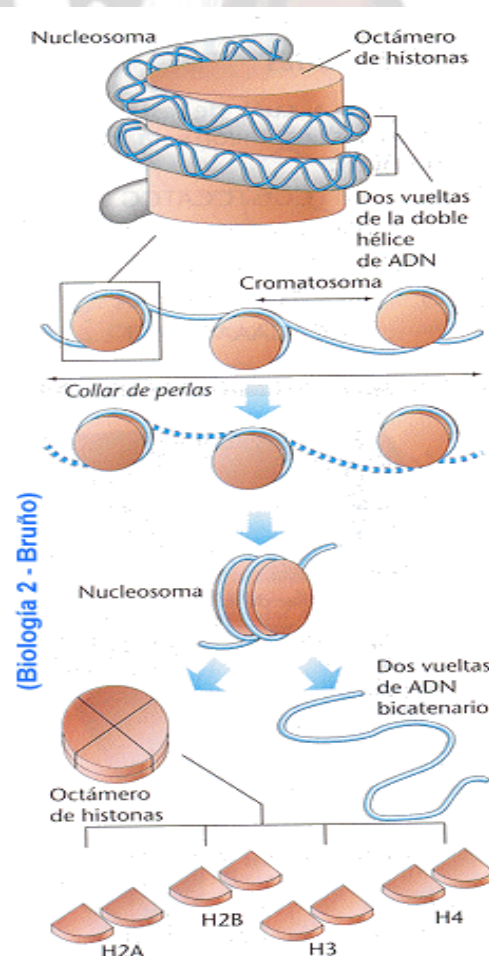
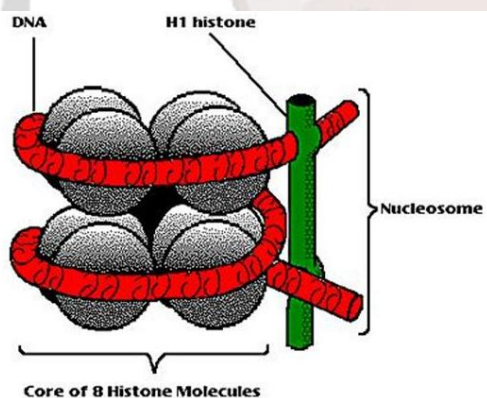
c.1. Collar de perlas o fibra de cromatina de 100 A°. El ADN se asocia a **histonas** y aparece en células en reposo formando la cromatina.

Está formado por una sucesión de partículas de 100 A° de diámetro enlazadas por una doble hélice de ADN y unidas por ADN espaciador: **Nucleosoma** (Partícula nuclear +

ADN espaciador). A estas partículas se les llama **NÚCLEO O PARTÍCULA NUCLEAR**, y están formadas por un octámero de histonas (8 histonas: dos H2A, dos H2B, dos H3, y dos H4) y un segmento de ADN de **146 pb** que describe **1,75 vueltas** sobre el octámero.

El ADN espaciador o ADN linker tiene una longitud de 54 pb, por lo que el ADN total del nucleosoma es 200 pb (146 + 54).

Cada nucleosoma puede asociarse o no a otra histona H1, que tiene cierta variabilidad entre especies (a diferencia de las otras histonas que son las mismas en todos los seres animales y vegetales).



Cromatosoma: Octámero + H1 + ADN de la partícula nuclear.

La H1 está fijada por los 10 primeros pares de nucleótidos de los dos extremos de ADN que salen de la partícula nuclear. Así, cada cromosoma tiene una longitud de 166 pb, y el ADN espaciador queda reducido a 34 pb.

Se diferencia pues la fibra de cromatina de 100 Å⁰ laxa y condensada (con H1).

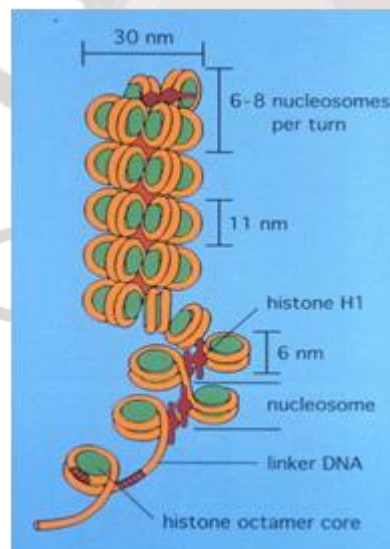
c.2. Estructura cristalina. Cuando el ADN se asocia a **protaminas**.

Aparece en células reproductoras como espermatozoides ya que estas proteínas son más básicas, por lo que tienen más atracción por el ADN, y dan lugar a un mayor empaquetamiento que facilita la movilidad de los espermatozoides.

Estas estructuras terciarias son exclusivas de los núcleos de las células eucariotas. En bacterias, mitocondrias y cloroplastos el ADN no está asociado a histonas, sino que se encuentra superenrollado y asociado a proteínas más básicas que las histonas de naturaleza similar.

d) Estructura cuaternaria o 2º nivel de empaquetamiento.

Es la llamada **fibra de cromatina de 300 Å⁰**. Se forma por el enrollamiento sobre sí misma de las fibras de 100 Å⁰ que contengan H1.



Según el **modelo del solenoide**, que es el más aceptado, se invierten 6 nucleosomas por vuelta y las histonas H1 se agrupan formando el eje central de la fibra de 300 Å: esto implica un acortamiento de 5 veces la longitud del collar de perlas.

En el núcleo, la mayor parte de la cromatina está en forma de fibra de 100 y 300 Å.

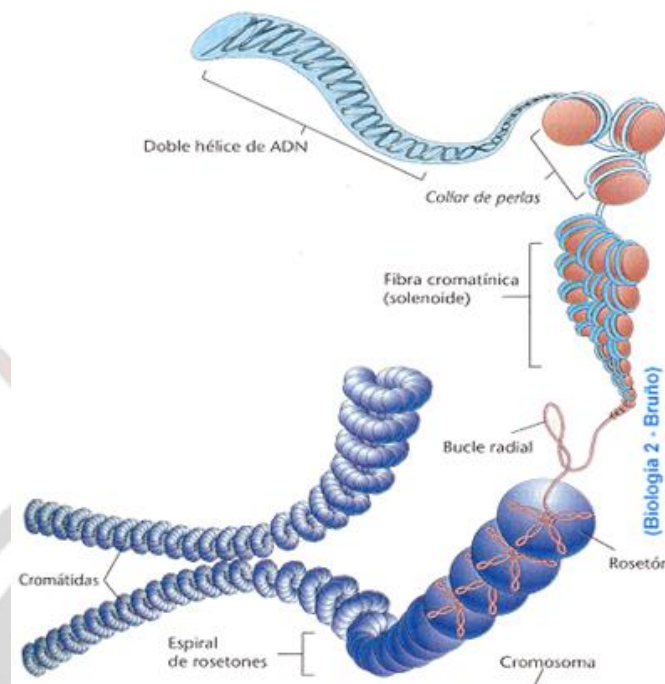
e) Niveles superiores de empaquetamiento.

Con el empaquetamiento que supone la fibra de 300 Å, solo se reduce 35-40 veces la longitud del ADN y en el núcleo el grado de empaquetamiento es de 100 a 1000, y en los cromosomas de 10.000 (de la longitud total del ADN): La reducción total es de 1/10.000 de su longitud total.

Se ha observado que en los cromosomas la fibra de 300 Å forma una serie de **bucles** de 600 Å de diámetro y de entre 20.000 y 70.000 pb de longitud y que se estabilizan con proteínas no histónicas, principalmente Sc1 y Sc2, que forman un eje o armazón central del cromosoma sobre el que se anclan los bucles, mediante unas secuencias ricas en adeninas y timinas llamadas **SAR** (Scaffold Attachment Region en inglés), que tienen gran afinidad por las proteínas del andamio: **3º nivel de empaquetamiento**.

Seis de estos bucles forman una estructura retorcida: **roseta**, y 30 rosetas seguidas y en espiral forman un **rodillo**: **4º nivel de empaquetamiento**.

El **5º nivel de empaquetamiento** es el **cromosoma**, formado por la sucesión de rodillos.



f) ADN superenrollado.

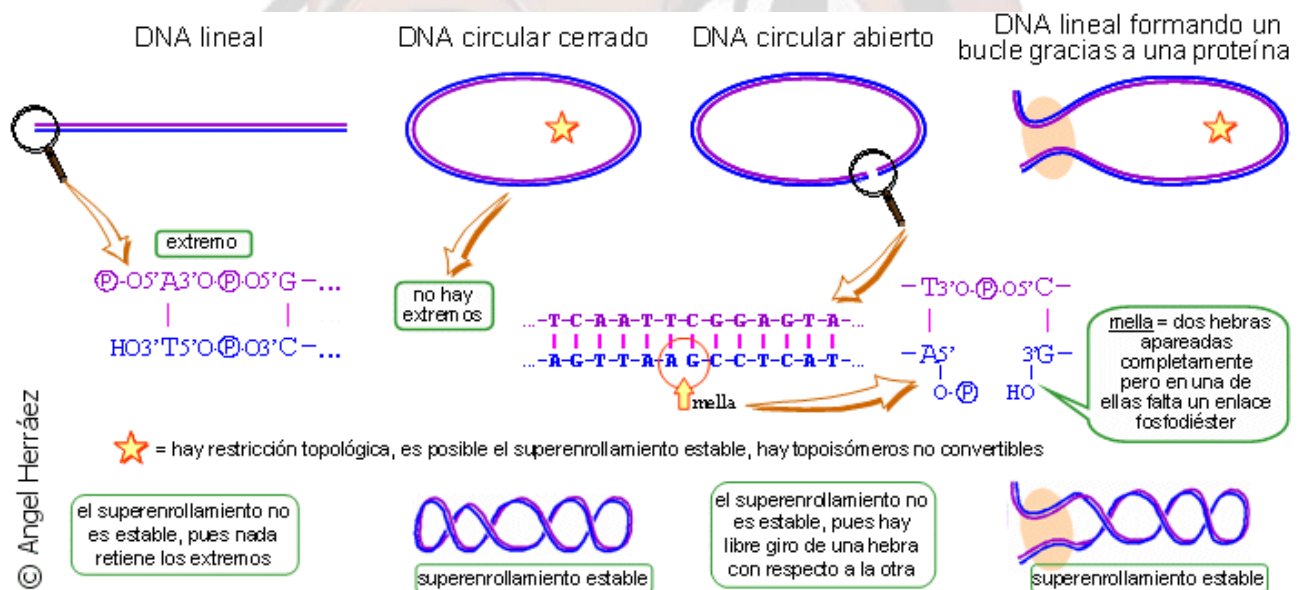
En las moléculas de ADN circular, como el ADN bacteriano, y en moléculas lineales con extremos inmovilizados, surgen tensiones cuando se varía el número de vueltas de la doble hélice dando lugar a **superenrollamientos positivos** (si el número aumenta) o **negativos** (el número disminuye), que provocan que aparezcan tantas vueltas de superhélice como superenrollamientos. En la formación y eliminación de superenrollamientos intervienen las enzimas **topoisomerasas tipo I y tipo II**.

Asociadas al ADN superenrollado de procariontes se encuentran proteínas como la HU y la H-NS. Además, se unen a la estructura cationes, poliaminas, ARN y otras proteínas. Así se forman los nucleoides, que consisten en una única molécula de ADN superenrollada organizada en 40 bucles. Esta estructura se mantiene por interacciones ADN-ARN ya que el tratamiento con ribonucleasa deshace la estructura del nucleóide.

La interacción proteína-ADN de los nucleoides es muy dinámica, pueden unirse y disociarse de manera muy rápida. Esto responde a la necesidad de una síntesis de ADN y transcripción rápidas típicas de las células bacterianas, lo que contrasta con la interacción estable con el ADN en las células eucariotas.

Así pues, el superenrollamiento reduce la longitud del ADN, y favorece la replicación y transcripción del ARN.

El material genético nuclear eucariótico está formado por grandes moléculas de ADN lineales, que por sí mismas, no pueden mantener superenrollamientos. Sin embargo, también se producen, pues este ADN está asociado estrechamente a proteínas que, bien anclan los extremos delimitando un bucle donde la doble hélice tiene el giro restringido, bien fuerzan el enrollamiento de la molécula de ADN alrededor de la propia proteína, formando uno o varios bucles superhelicoidales.



Superenrollamiento del ADN en procariotas y eucariotas.

2.3. ARN: ÁCIDO RIBONUCLEICO.

Es una macromolécula formada por la unión de ribonucleótidos de A, G, C y U unidos mediante enlaces fosfodiéster en sentido 5' - 3'.

Los nucleótidos del RNA poseen ribosa, por lo que los grupos -OH en posición 2' de los ribonucleótidos quedan libres cuando se encadenan para dar moléculas de RNA, lo que origina en la estructura primaria tensiones que hacen que químicamente el RNA sea menos estable que el DNA, de ahí que la información genética se almacene en el ADN que

es más estable.

A veces pueden aparecer otras bases metiladas.

Aunque existe ARN bicatenario, como en reovirus (virus animales), la mayoría son monocatenarios, pero a veces presentan zonas con estructura de doble hélice, que forman lazos o bucles que son el resultado del apareamiento de bases complementarias o no (en ocasiones: G-U) de una misma cadena.

TIPOS DE ARN (Participan en la expresión de genes):

a) ARNm

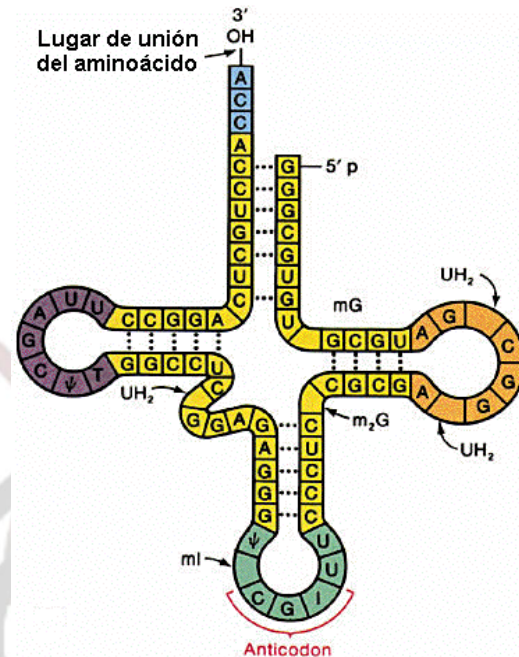
- Representa del 3-5% del total del ARN.
- Solo tiene estructura primaria: cadenas cortas, lineales y filamentosas.
- Vida muy corta.
- Su función es actuar de intermediario en el traslado de la información genética del ADN desde el núcleo al citoplasma, a donde va después de su síntesis, y se une a los ribosomas para la síntesis proteica.

b) ARNt

Constituye el 15% del ARN total y está formado por 70-90 nucleótidos.

Está formado por una cadena con estructura primaria y zonas de estructura secundaria enlazadas por puentes de hidrógeno entre bases complementarias (dos entre A y U, y tres entre G y C), dando lugar a una serie de bucles que le dan una forma de hoja de trébol con 4 brazos: Un **brazo D** y su bucle, un **brazo T** y su bucle, un **brazo Anticodón** (con un triplete complementario a un codón del ARNm), y un **brazo Aceptor de aminoácidos** (con un extremo 3' terminado en CCA, donde enlaza el aminoácido, y un extremo 5' con un ribonucleótido de G fosforilado).





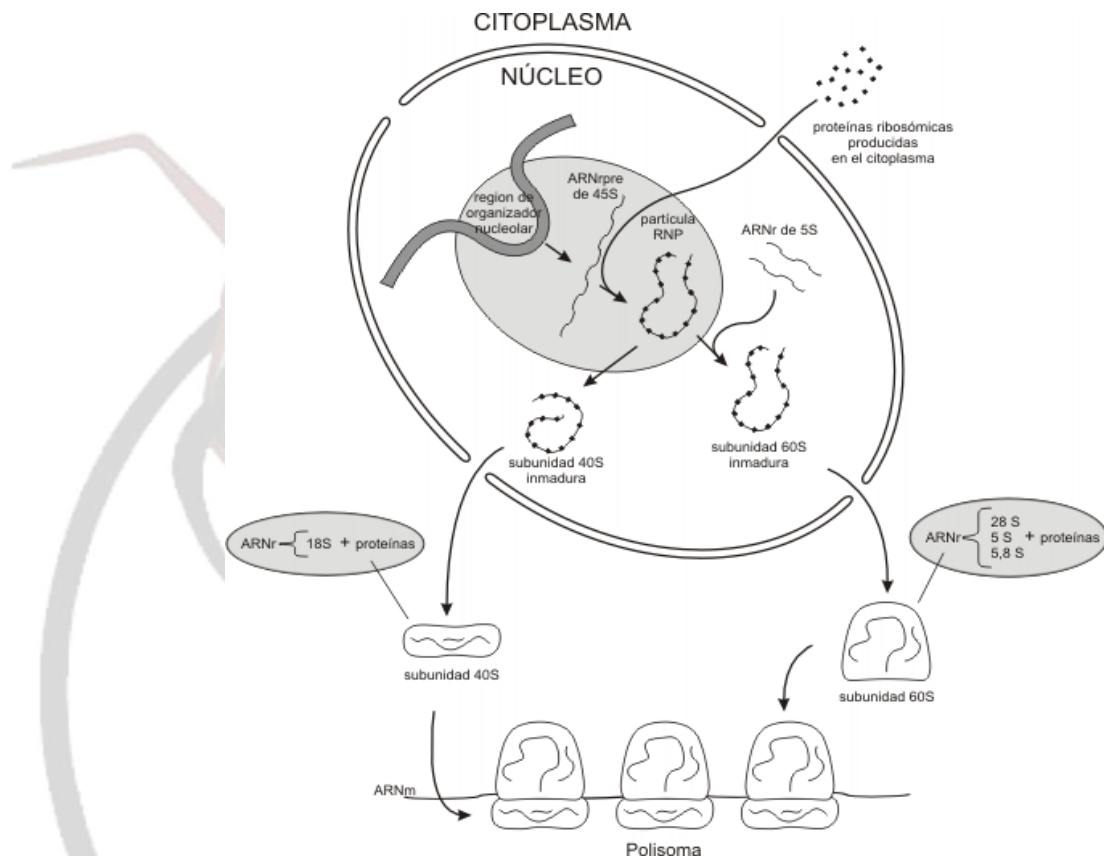
c) ARN nucleolar.

Se localiza en el núcleo, y no aparece si no hay nucleolos.

Se origina a partir de diferentes segmentos de ADN, uno de los cuales se denomina región organizadora nucleolar. A partir de este ADN, se forma en el nucléolo un ARN de 45 S. Este ARN nucleolar se asocia a proteínas procedentes del citoplasma, formando la partícula ribonucleoplasmática (**RNP**).

Posteriormente, el ARN de 45 S se escinde en tres: un ARN de 18 S, otro de 28 S y otro de 5,8 S. A éstos se le añade un ARN de 5 S, sintetizado fuera del nucléolo (en el nucleoplasma), a partir de otro segmento de ADN.

A continuación, se escinde la gran partícula de ribonucleoproteína en las dos subunidades ribosómicas, que atraviesan la membrana nuclear y se unen en el citoplasma, dando lugar a un ribosoma de 80 S (en eucariotas).



d) ARN ribosómico (ARNr).

Es el más abundante: 80% del total.

Rico en G y pobre en C.

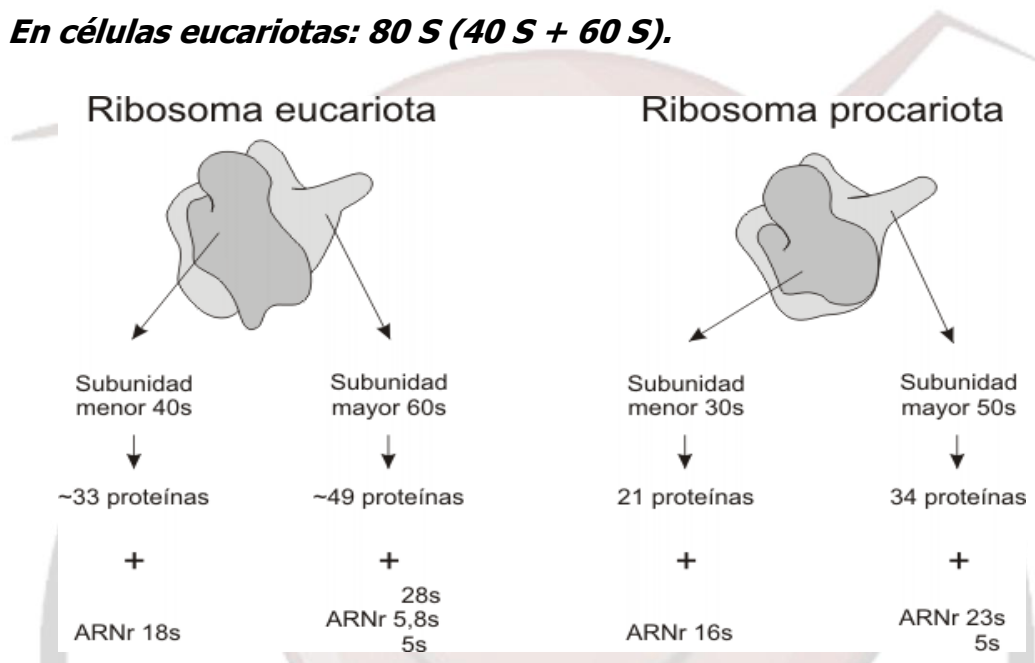
Presenta segmentos lineales y en doble hélice (Estructura secundaria) y también una estructura terciaria al unirse a proteínas ribosómicas.

Esta estructura terciaria está relacionada con la síntesis de proteínas, ya que proporciona a los ribosomas la forma adecuada para dar alojamiento a un ARNm y a los aminoácidos que forman las proteínas durante dicho proceso.

El peso molecular del ARNr y de los ribosomas se expresa según **el coeficiente de**

sedimentación (S) de Svedberg (es directamente proporcional a la velocidad de sedimentación de la partícula durante una ultracentrifugación).

- **En células procariotas: 70 S (30 S + 50 S)**
- **En células eucariotas: 80 S (40 S + 60 S).**



e) ARN pequeño nucleolar (ARNpn/ARN-u).

Se encuentra en el núcleo de las células eucariotas y es rico en uridina.

Se une a ciertas proteínas del núcleo dando lugar a ribonucleoproteínas pequeñas nucleolares.

Posee secuencias complementarias de intrones, y su función es la eliminación de éstos para la maduración del ARNm.

f) ARN de interferencia (ARNi).

Está formado por entre 20 y 25 nucleótidos.

Su función es suprimir la expresión de genes específicos.

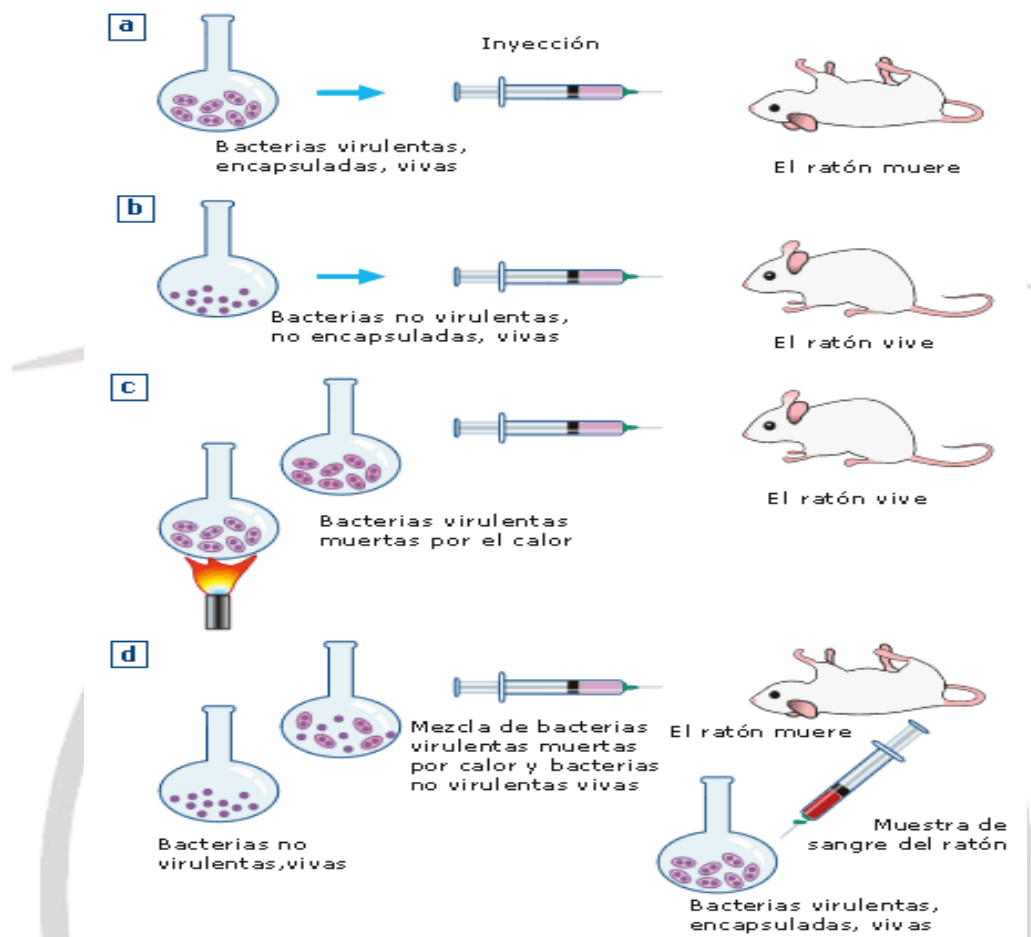
Se diferencian tres tipos:

- ARN interferente pequeño (ARNip): específico para la secuencia de nucleótidos de su ARN mensajero diana, lo que propicia su degradación.
- Micro-ARN (mi-ARN): en animales generalmente inhiben la traducción del ARNm; en plantas inducen el corte y la posterior degradación del ARNm diana.
- ARN asociados a Piwi (Piwi-ARN): impide la expansión de transposones.

3. REPLICACIÓN Y TRANSCRIPCIÓN.

3.1. DESCUBRIMIENTO DEL ADN COMO MOLÉCULA PORTADORA DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA.

Los partidarios del ADN como material portador de la información fijaron su atención en un experimento que un bacteriólogo inglés, **Frederick Griffith (1928)**, había realizado con una bacteria causante de neumonía, el neumococo (*Streptococcus pneumoniae*). Existían dos tipos de neumococo, una forma virulenta, causante de la enfermedad, que presentaba una cápsula de polisacáridos como envoltura y formaba en cultivo colonias lisas (cepa S), y otra forma no virulenta (inocua) sin cápsula que origina colonias rugosas (cepa R). Del experimento que se muestra en la ilustración, Griffith sacó la conclusión de que había “algo” que hacía revivir a las bacterias virulentas muertas por el calor y las transformaba en bacterias no capsuladas. En años posteriores, se comprobó que el mismo efecto se obtenía con extractos de bacterias encapsuladas muertas añadidos a cultivos de bacterias vivas inocuas. A este fenómeno se le conoce desde entonces como **transformación**.



En el trabajo de **Avery y col. (1944)** En el que se describe su experimento hecho "in vitro", usando la morfología de las colonias en placas de cultivo en lugar de la producción de neumonía en ratones. Concluyendo que la sustancia responsable de la transformación bacteriana era el ADN, puesto que las únicas enzimas capaces de eliminar la capacidad transformante eran enzimas destructoras de ADN. Esto supuso la primera evidencia experimental de que el ADN era el material genético. Otro experimento que apoya al ADN lo realizan **Hersey y Chase (1952)** usando virus bacteriófagos marcados con un isótopo de fósforo (^{32}P), que es un elemento del ADN y con un isótopo de azufre (^{35}S), elemento de las proteínas.

3.2. REPLICACIÓN O DUPLICACIÓN DEL ADN.

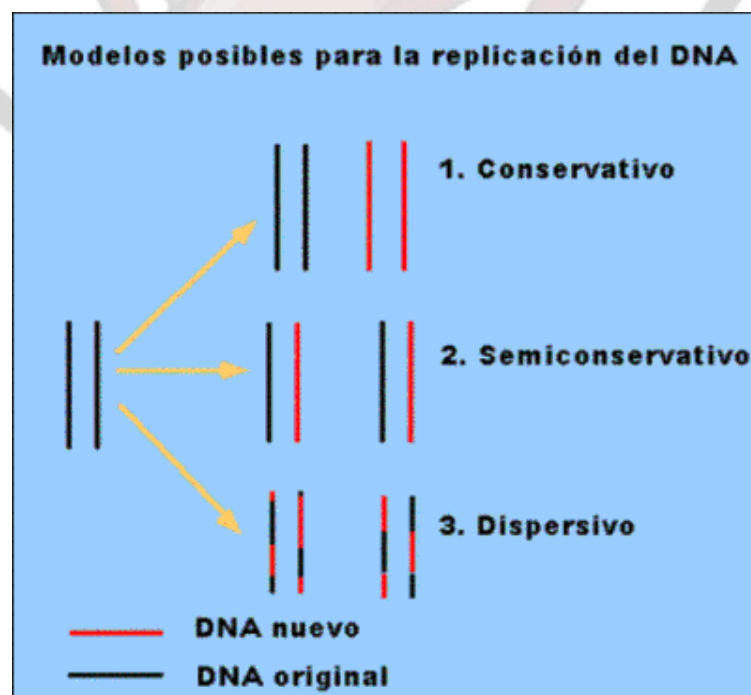
La molécula que constituyera el material genético o hereditario debería cumplir una serie de requisitos, entre ellos ser autorreplicable, es decir, de formar copias idénticas a

ella.

Esta cualidad del ADN se pudo demostrar poco después del descubrimiento de su estructura, pues ya Watson y Crick propusieron una forma de llevarse a cabo: las dos cadenas de nucleótidos se separan (como se abre una cremallera) y a medida que ocurre esto las cadenas actúan como moldes de modo que cada una dirige la formación de una nueva cadena complementaria.

Meselson y Stahl (1958) llevaron a cabo un diseño experimental para decidir entre tres posibles hipótesis que se habían sugerido:

- a) **Hipótesis conservativa:** las dos cadenas originales se mantienen juntas en un ADN, siendo la otra molécula de ADN totalmente nueva.
- b) **Hipótesis semiconservativa:** se conserva una de las dos cadenas de ADN original en cada replicación, la otra es de nueva formación (sugerida por Watson y Crick).
- c) **Hipótesis dispersiva:** las dos cadenas del ADN original se reparten en fragmentos entre las cuatro cadenas formadas en la replicación.



Cultivaron la bacteria *E. coli* en un medio que contenía un isótopo pesado del nitrógeno, el ^{15}N (el isótopo normal es el ^{14}N). Después de crecer durante varias generaciones en un medio con ^{15}N , el ADN de las bacterias era más denso. Aunque la densidad de este ADN era sólo aproximadamente 1% mayor que la del ADN normal, formó una banda separada y distinta. Luego colocaron una muestra de células que contenían ^{14}N ; las células quedaron en ese medio el tiempo suficiente como para que el ADN se replicase una vez (una sola generación de bacterias). Se sometió una muestra del ADN de estas células a un proceso de ultracentrifugación. Con otras muestras se hizo lo mismo, pero después de dos y tres generaciones de células. Se pudo comprobar que la cantidad de ADN liviano (con ^{14}N) aumentaba en cada generación y en las tres generaciones obtenidas se observaba una franja de ADN con densidad intermedia (por contener ^{15}N y ^{14}N).

Esto confirmó la hipótesis llamada **semiconservativa** (por conservarse una de las hebras del ADN original en cada replicación, siendo la otra hebra o cadena de nucleótidos de nueva formación) propuesta por los descubridores de la doble hélice.

3.3. PROCESO DE REPLICACIÓN.

El mecanismo de replicación es un proceso que ocurre una sola vez en cada generación celular, durante la fase S del ciclo celular.

Kornberg (1956) descubrió la síntesis de ADN en *E. coli* (Premio Nobel de Fisiología y Medicina, 1959).

REPLICACIÓN EN PROCARIOTAS.

1. La iniciación siempre comienza con una secuencia específica de nucleótidos conocida como **origen de la replicación**; requiere enzimas llamadas **helicadas**, las cuales rompen los puentes de hidrógeno que mantienen unidas las bases complementarias, abriendo así la doble hélice.

2. Las separaciones de las cadenas, provoca superenrollamientos en las zonas

vecinas, por lo que existen otras enzimas, las **topoisomerasas o girasas** que rebajan la tensión.

3. Una vez separadas las dos cadenas unas proteínas de unión a cadena simple (**proteínas ssb**= single-strand binding) se unen a las hebras individuales, manteniéndolas separadas y evitando que se retuerzan.

4. Ahora bien, para que se forme una nueva cadena no es suficiente que esté presente la cadena vieja que sirve de molde, sino que debe estar presente el inicio de la nueva cadena; este inicio lo proporciona un fragmento de ARN llamado **cebador**. Los cebadores son reconocidos por las ADN polimerasas que se ponen a sintetizar la nueva cadena de ADN.

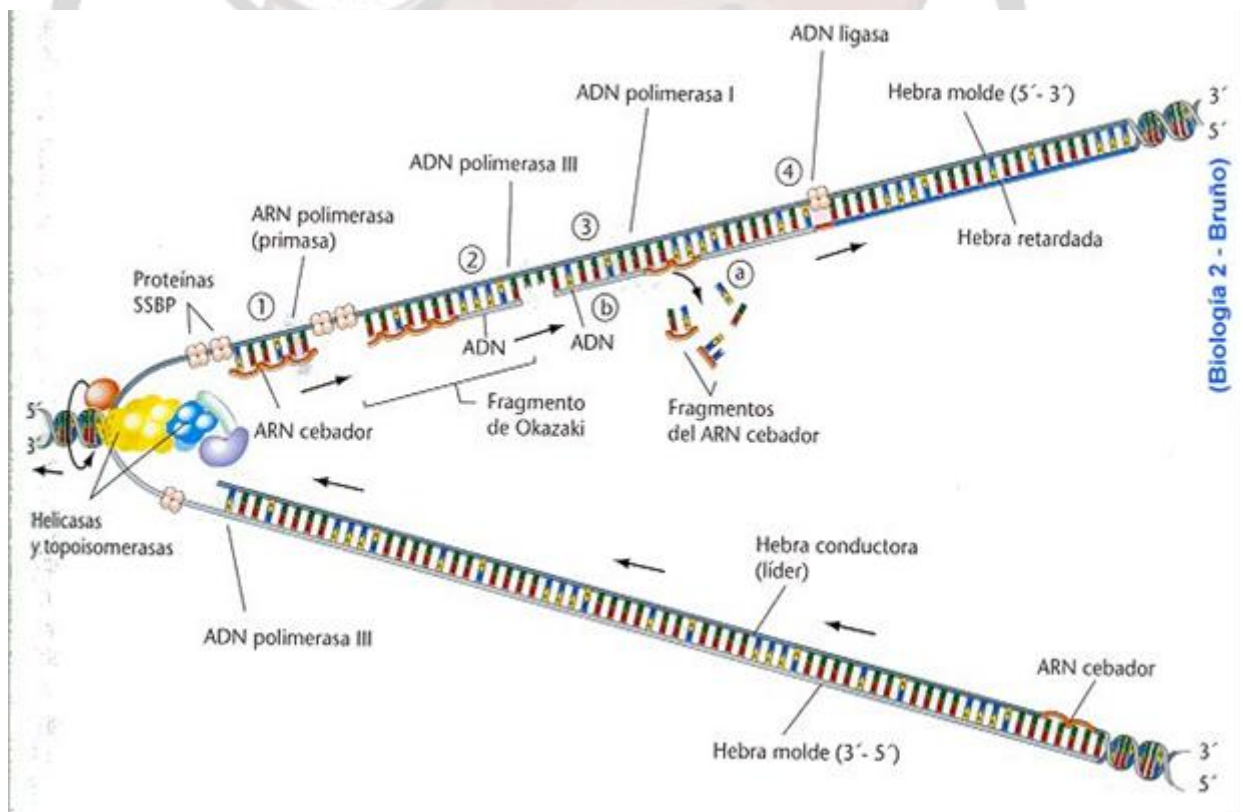
5. La síntesis real de las nuevas cadenas es catalizada por un grupo de enzimas conocidas como **ADN polimerasas** (*diferentes en procariotas y en eucariotas*), que van añadiendo los nucleótidos uno a uno. Las de **procariotas** son:

- **ADN polimerasa I:** rellena pequeños segmentos de DNA durante la reparación y replicación.
- **ADN polimerasa II:** no está claro su papel, se cree que puede servir como una polimerasa de reparación alternativa ante agentes externos, por si la polimerasa I fuera dañada por alguna mutación.
- **ADN polimerasa III:** es la que realiza la replicación.

La zona donde ocurre la replicación se observa al microscopio electrónico como una **burbuja de replicación**. Estos segmentos de ADN en replicación se llaman **replicones** (*en procariotas se forma sólo uno mientras que en eucariotas se constituyen entre 500 en levadura y 60.000 en los mamíferos*). En los extremos de la burbuja las cadenas forman una estructura en "Y" conocida como **horquilla de replicación**.

6. El proceso de replicación es **bidireccional** y siempre en el **sentido** de la cadena de **nucleótidos 5' - 3'**, pues las polimerasas sólo colocan y unen nucleótidos en ese sentido. Como la replicación sólo ocurre en un sentido y las dos cadenas del ADN son antiparalelas, se planteaba un problema sobre cómo se efectuaría la replicación en los dos brazos de la horquilla. La solución la halló **R. Okazaki**, al encontrarse que una cadena (la 5' - 3') se sintetiza continuamente como una sola unidad, es la **cadena adelantada o conductora**, mientras que la otra cadena (la 3' - 5') se forma de manera **discontinua**, como una serie de **fragmentos de Okazaki**, sintetizados cada uno en el sentido 5'-3', que después terminan uniéndose formándose la llamada **cadena retrasada o retardada**.

7. Por último, hay otra enzima, la **ADN ligasa** que conecta los fragmentos de ADN recién formados con la cadena de crecimiento de ADN.



REPLICACIÓN EN EUCARIOTAS.

La replicación del genoma eucariota transcurre de forma similar al descrito en el procariota, con algunas particularidades:

1. Es **semiconservativa y bidireccional**; sin embargo, se inicia a la vez en cientos o miles de puntos de un cromosoma, puesto que, si no fuese así, la replicación tardaría mucho tiempo en llevarse a cabo. Las horquillas son similares a las de las bacterias.

2. Las células eucariotas presentan varias ADN polimerasas: unas α y δ efectúan la replicación y otras β y ϵ reparan el ADN; además existe una polimerasa γ que se encarga de la replicación del ADN mitocondrial. La polimerasa α sintetiza los fragmentos de la hebra retrasada, y la δ la hebra líder.

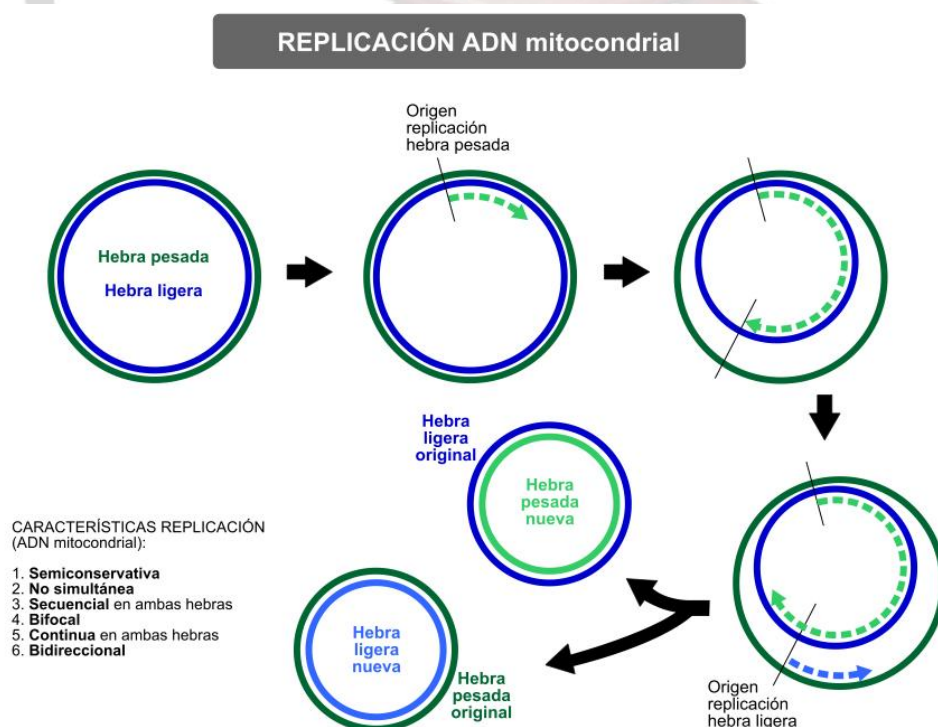
ENZIMA	FUNCIÓN
ADN Pol α	Síntesis Hélice retardada. Síntesis del cebador: 10 bases de ADN y 25 de ARN.
ADN Pol δ	Síntesis de la Hélice conductora.
ADN Pol ϵ	Polimerización de las Piezas de Okazaki.
ADN Pol β	Unión de los fragmentos de Okazaki (de aproximadamente 250 pb).
ADN Pol γ	Síntesis ADN mitocondrial.

3. Los cromosomas eucariotas son lineales, no circulares como los de procariotas, y esto plantea el problema de que sus extremos, llamados **telómeros**, no pueden ser replicados. Cuando se elimina el ARN cebador del extremo 5' de cada una de las hebras recién sintetizadas, el hueco que queda no lo pueden rellenar los enzimas ADN polimerasas porque no se encuentran extremos hidroxilos 3' libres sobre los que adicionar nuevos nucleótidos. Esta imposibilidad de replicar los extremos de cada cromosoma hace que el telómero se vaya acortando en cada etapa de replicación producida durante la división celular, lo que está relacionado con el envejecimiento y muerte de las células: al cabo de un número determinado de divisiones, tarde o temprano, se producirá la pérdida de una cantidad importante de material genético que provocará la muerte celular. En

algunas células como las células madre de los gametos y en las células cancerosas existen unas enzimas llamadas **telomerasas** (descubiertas por Elizabeth **Blackburn**, Carol W. **Greider** y Jack W. **Szostak**, que recibieron por ello el premio **Nóbel** en medicina en 2009) que son ribonucleoproteínas que contienen una hebra de ARN con la secuencia apropiada para actuar como molde para la síntesis de la secuencia telomérica, que se le añade a los extremos 3' de cada cromosoma para evitar su acortamiento en cada proceso de replicación.

4. Otra característica peculiar del cromosoma eucariota es que el ADN se encuentra asociado a histonas en forma de nucleosomas, por lo que, además de replicarse el ADN, deben replicarse también ellas. Al parecer, los nuevos nucleosomas se incorporan a la hebra retardada, mientras que los nucleosomas viejos permanecen en la hebra conductora.

Como se puede ver, la replicación del ADN mitocondrial es diferente a la del cromosoma de *E. coli*, existen dos orígenes de replicación diferentes para cada hélice y la replicación es unidireccional.



3.4. SISTEMA DE REPARACIÓN DE ERRORES.

La replicación es un mecanismo complejo que tiene que mantener al máximo la fidelidad de las copias. Por esta razón intervienen más de cincuenta proteínas diferentes agrupadas en un complejo multienzimático del tamaño de un ribosoma, denominado **replisoma**, que incluye, además de las proteínas y enzimas antes mencionadas, los enzimas correctores.

El enzima principal, el ADN polimerasa III, que cataliza la polimerización de los nucleótidos va escoltada por una serie de enzimas que detectan y corrigen las secuencias erróneas en la nueva cadena de ADN y son las responsables de la fidelidad de la replicación. 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 los **ADN polimerasa I y II** 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 los ADN polimerasas de iniciar una nueva cadena, parece ser que contribuye a incrementar la fiabilidad de la copia, pues suelen ser los primeros nucleótidos los que con mayor frecuencia presentan errores de apareamiento.

Corrección posreplicativa.

Para aumentar más la precisión de la replicación, existe una maquinaria enzimática que corrige los posibles errores cometidos por los **ADN polimerasa I y III** en el ADN recién sintetizados, que se denomina corrección posreplicativa. Esta corrección se realiza por medio de unas enzimas correctoras, agrupadas en el replisoma, que detectan el

nucleótido mal emparejado, lo eliminan y regeneran la secuencia correcta del siguiente modo:

Para detectar el nucleótido mal emparejado, debe reconocer la cadena recién sintetizada, en la que se encuentra el error, y diferenciarla de la cadena molde. Ambas cadenas son complementarias, pero mientras que la cadena molde tiene metiladas las adeninas de las secuencias **GATC**, existe un lapso de tiempo en que la recién sintetizada no las tienen metiladas y en ese intervalo de tiempo el complejo multienzimático reparador recorre la las hebras del ADN y descubre los posibles errores.

La eliminación se realiza mediante una endonucleasa que corta el segmento en el lugar donde se encuentra el nucleótido mal **emparejado**.

Por último, la secuencia correcta se regenera cuando el **ADN polimerasa I** rellena el hueco, utilizando como molde la cadena parental complementaria; entonces el extremo 3' del nuevo segmento se empalma con el extremo 5' de la hebra réplica por acción de una enzima **ADN ligasa**.

Lesiones más comunes:

1. **Despurinización** (pérdida de purinas)
2. **Alteraciones de bases nitrogenadas.** *Ej.: desaminación de la citosina que se convierte en uracilo.*
3. **Lesiones que afectan a varios nucleótidos.** *Ej.: dímeros de timina: enlaces entre dos timinas contiguas por efecto de los rayos U.V.*

Los sistemas de reparación provocan que quede solo **un par de bases equivocadas por cada 10⁹ pb replicadas**. Este error heredable constituye una **mutación puntual o génica**. Generalmente no supone ningún peligro para el individuo, y sin embargo permite una cierta variabilidad de la descendencia que posibilita la evolución.

3.5. PROCESO DE TRANSCRIPCIÓN Y MADURACIÓN.

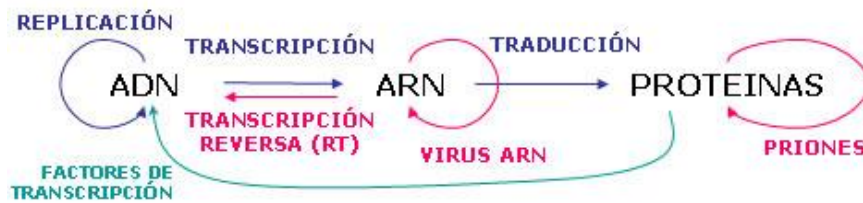
El ADN es el portador y transmisor de toda la información genética. De cómo son todas las moléculas del cuerpo. Mediante el código genético transmite al ARN el mensaje con el que el ARN ordenará los aminoácidos para constituir las moléculas proteicas, de modo que resulten específicas para cada especie.

El papel del ARN en la síntesis de proteínas ya se sospechaba en 1939. **Ochoa (1955)** descubrió cómo se producía la síntesis de ARN (Premio Nobel de Fisiología y Medicina, compartido con Kornberg, 1959).

El "**Dogma central de la biología molecular**" afirma que el flujo de información siempre será en este sentido: ADN-ARN-proteínas (**Crick, 1958**). El término dogma causó problemas a la comunidad científica. En su autobiografía, *What Mad Pursuit* (**Crick, 1988**), mismo se refirió al uso del mismo como incorrecto. Hoy en día sabemos que este dogma no siempre se cumple. Es el caso de priones, ribozimas y algunos virus:

- Virus pertenecientes a la clase de duplicación VI y VII de Baltimore: sintetizan ADN mediante la transcriptasa inversa, que tiene como molde ARN.
- Priones: estas proteínas libres de ácido nucleico se propagan en su naturaleza polipeptídica, sin ningún tipo de duplicación o transcripción. Afectan a proteínas de su misma secuencia, previamente existentes, alterando su conformación.
- Ribozimas: ARN con propiedades autocatalíticas que son capaces de modificarse y duplicarse a sí mismos, en ausencia de proteína y ADN.

Teniendo en cuenta esto, se podría representar así la “actualización del dogma”:



EL PROCESO DE TRANSCRIPCIÓN.

La transcripción es el paso de una molécula de ADN a una de ARN (ARNm, ARNr, ARNt).

a) En eucariotas.

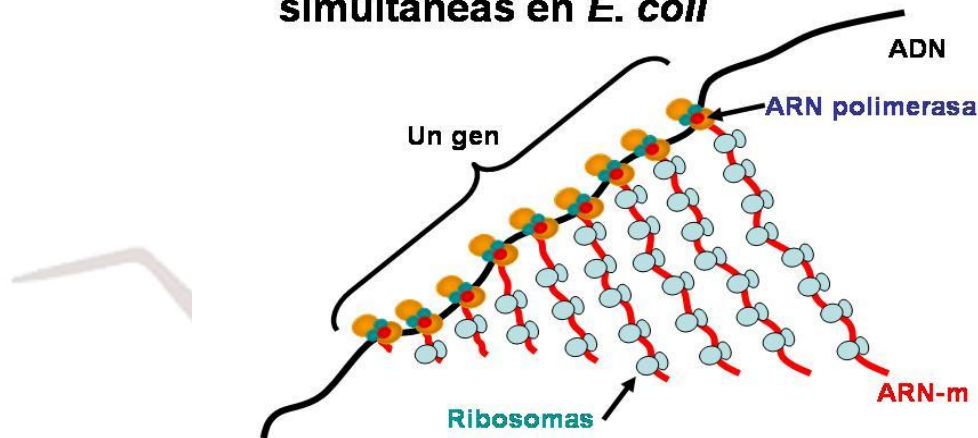
Existen tres tipos de ARN-polimerasas:

- **ARN-polimerasa I:** cataliza la síntesis de la molécula precursora del RNAr.
- **ARN-polimerasa II:** sintetiza la molécula precursora de ARNm.
- **ARN-polimerasa III:** sintetiza ARNt y ARNr 5 S

Estos enzimas trabajan en el núcleo, pero en mitocondrias y cloroplastos también hay transcripción.

La ARN polimerasa transcribe en 5' - 3' y en solo una de las hebras de ADN. Sobre el ADN se pueden observar muchas copias de ARN polimerasa trabajando al mismo tiempo, cada una con un transcrito de ARN cuya longitud va aumentando a medida que la polimerasa se aleja del lugar de iniciación, dando una figura en **forma de abeto**.

Transcripción y Traducción simultáneas en *E. coli*



En células eucariotas, existe una molécula de ARNm por gen, es decir, una molécula de ARNm tiene información para una proteína. Además, el ADN está asociado a histonas, por lo que para que se transcriba, éste ha de sufrir una serie de cambios como por ejemplo la eliminación de la histona H1 y adquisición de la estructura de fibra de 10 nm.

Propiedades de la transcripción.

1. Es **selectiva**: solo se transcriben las zonas del ADN con información genética. Hay zonas sin información que no serán transcritas.
2. **Monocatenaria**: solo se transcribe una de las cadenas. La cadena complementaria no suele tener información.
3. **Reiterativa**: una misma región de ADN puede estar siendo transcrita simultáneamente.

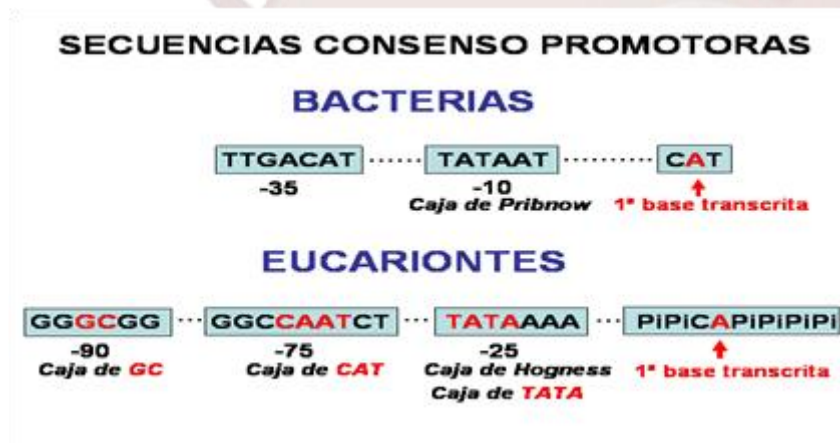
Fases de la transcripción.

1ª Iniciación:

La síntesis comienza en el núcleo y la cataliza la **RNA-polimerasa II**.

Existen dos señales de inicio denominadas Secuencias consenso (que están en una región de ADN llamada Región promotora):

- **La caja TATA (rica en A y T):** situada a 25 pb del inicio de la transcripción, hacia el extremo 5'. Es reconocida por el **Factor de transcripción (TF)**
- **CAAT:** algo más alejada.



2ª. Alargamiento.

El proceso de síntesis continúa en sentido 5' - 3' y al cabo de 30 nucleótidos transcritos, se añade una **caperuza: Metilguanosín-trifosfato**, en el extremo 5'. Se considera que tiene un papel importante en la síntesis de proteínas y que también protege al transcrito de ARN en crecimiento de su degradación por enzimas.

3ª. Finalización.

Parece relacionada con la secuencia **TTATT**.

Interviene una **poli A-polimerasa** que añade al extremo final 3' un segmento de 200 nucleótidos de A: cola de poli A que tiene varias funciones:

- Colabora en la exportación del ARNm maduro desde el núcleo.

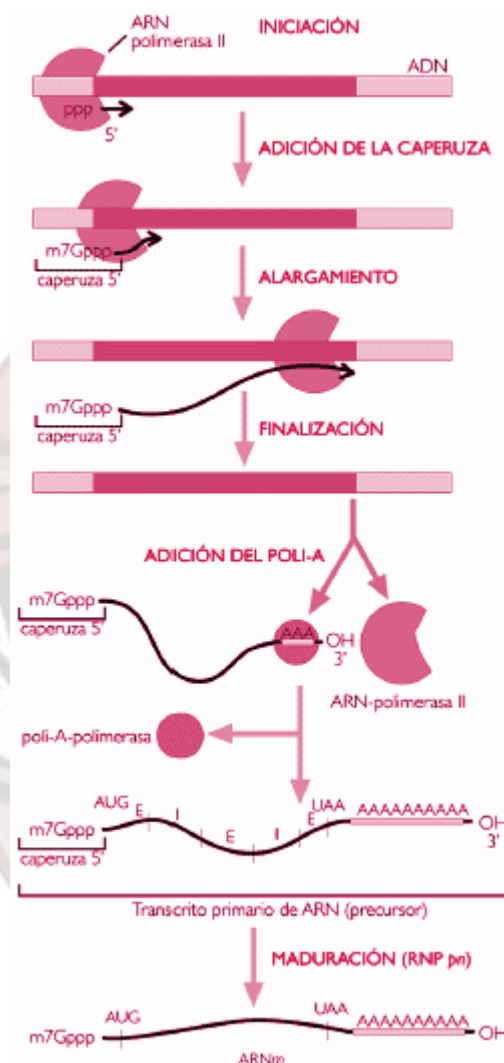
- Influye en la estabilidad de algunos ARNm en el citoplasma.
- Parece servir como una señal de reconocimiento para el ribosoma. Esta función, en combinación con la caperuza 5', podría permitir a un ribosoma determinar si el ARNm está intacto antes de consumir energía y precursores al iniciar su traducción.

Se obtiene así el **transcrito primario, o pre-ARNm o ARN heterogéneo nuclear (ARNhn)**.

4ª. Maduración.

En eucariotas los genes están formados por **exones** e **intrones** (secuencias no codificantes, pueden acumular muchas mutaciones durante la evolución sin que su funcionalidad se vea afectada), por lo que el ARNhn también tiene intrones que han de ser eliminados:

El ARNhn se rodea de las **Ribonucleoproteínas pequeñas nucleares (RNPpn)**, que se reúnen formando **Espliceosomas**, que son los encargados de eliminar o escindir los intrones (reconoce intrones que comienzan por GU y que acaban con AG) por un proceso llamado **Splicing**.



A continuación, actúan las **ARN ligasas** que empalman los exones. Este ARNm se exporta al citoplasma.

b) En bacterias.

En organismos procariotas sólo hay un tipo de ARN polimerasa; no existe maduración, puesto que los genes son continuos; y el ARN mensajero puede contener la información para varias cadenas polipeptídicas (policistrónico).

Iniciación. La ARN polimerasa se asocia al factor sigma cuando se llega a la región promotora con dos **secuencias consenso**:

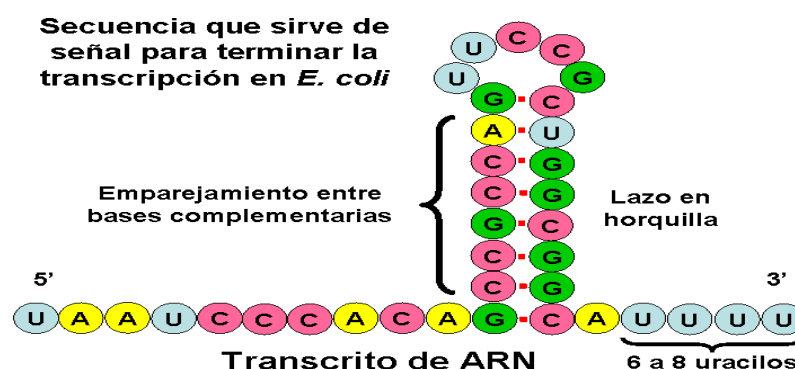
- **Secuencia -10:** en el extremo 5', a 10 nucleótidos antes del punto de inicio. Es similar a **TATATT**
- **Secuencia -35:** a 35 nucleótidos antes del punto de inicio. Es similar a **TTGACA**

Elongación. Se desenrolla una vuelta de hélice, se transcribe a partir de una sola hebra. El proceso continúa a 40 nucleótidos por segundo y se va sintetizando un ARN en **dirección 5' - 3'.**

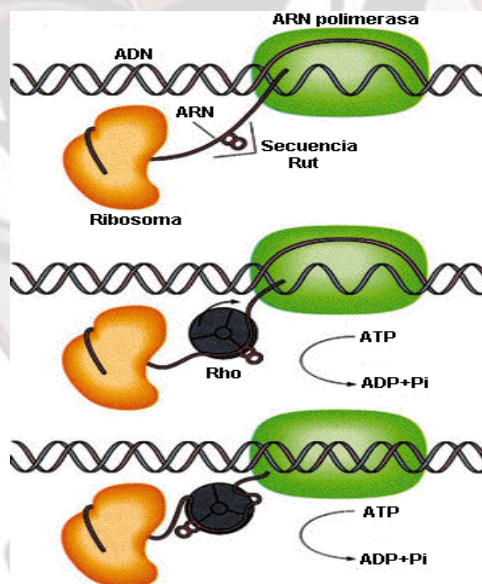
Finalización. Hay dos variantes según intervenga o no el factor rho, y se produce al llegar a una zona rica en G y C, se separa el ARN (que ya no necesita maduración) y se vuelve a formar la doble hélice.

Variantes de la finalización:

1ª. Secuencias terminadoras ricas en pares G-C que forman un lazo en horquilla, seguidas de 6 a 8 uracilos. Existencia de unas secuencias terminadoras de unos 40 pares de bases que contienen una región rica en pares GC seguida por una serie de 6 o más adeninas (A). Cuando esta región del ADN se transcribe da lugar en el ARN a una secuencia rica en pares GC seguida de 6 o más uracilos (U), la región rica en pares GC forma una estructura en forma de horquilla (por autoapareamiento). Este lazo en horquilla seguido de uracilos actúa como señal para la separación de la ARN polimerasa del ADN y terminación de la transcripción.



2ª. Terminación dependiente del factor rho. Terminación dependiente de la actuación del factor proteico rho (ρ) que es un hexámero formado por 6 subunidades. Los ARN que presentan señales de terminación dependientes de rho (ρ) no suelen presentar el lazo en horquilla seguido de uracilos. Para que se produzca la terminación de la transcripción, el factor rho (ρ) reconocería una secuencia específica del ARN denominada sitio rut y se uniría a ella para posteriormente tirar del ARN y soltarlo de la ARN polimerasa. Las secuencias rut suelen estar un poco antes (aguas arriba) del lugar en el que la ARN polimerasa termina la transcripción.



4. CONCLUSIÓN.

Desde la primera observación de *nucleína* hasta hoy, los numerosos avances en el conocimiento de ADN y ARN nos ha envuelto en una revolución científica que acerca a la sociedad debates relacionados con la secuenciación del ADN, la clonación, los OMG o la prevención, el diagnóstico y curación de enfermedades a partir de la utilización y alteración de la misma (por ejemplo, mediante el bloqueo de genes con ARN interferente, o la tecnología CRISPR, aún en estudio, que corregiría enfermedades heredadas mediante cirugía genética).

Al alumnado se le presentan los ácidos nucleicos en 4º de ESO para, posteriormente, en la materia de Biología 2º de Bachillerato profundizar en su conocimiento. Una práctica que resulta útil para que constaten la presencia de ADN en todas las células es la extracción del mismo, partiendo de muestras biológicas de hígado de pollo o guisantes, por ejemplo.

«Hay suficiente capacidad de almacenamiento en el ADN de una sola semilla de lirio o en un solo espermatozoide de salamandra como para almacenar la Enciclopedia Británica 60 veces. Algunas especies de las injustamente llamadas amebas "primitivas" tienen tanta información en su ADN como 1.000 Enciclopedias Británicas».

Richard Dawkins en su obra El relojero ciego.

5. BIBLIOGRAFÍA Y WEBGRAFÍA

Bibliografía:

- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2021). *Lehninger: Principios de bioquímica* (8ª ed.). W. H. Freeman.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J., & Stryer, L. (2019). *Bioquímica* (8ª ed.). W. H. Freeman.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2016). *Biología molecular de la célula* (6ª ed.). Ediciones Omega.

Webgrafía:

- Raisman, J. S., & González, A. M. (s.f.). *Hipertextos del área de biología: ADN y síntesis proteica*. Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Agrarias. Recuperado de <https://www.biologia.edu.ar/adn/adntema4.htm>
- Universidad Complutense de Madrid. (s.f.). *Estructura de los ácidos nucleicos*. Recuperado de <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-56185/02-Estructura%20de%20los%20%C3%A1cidos%20nucl%C3%A9icos.pdf>
- Biología-Geología.com. (s.f.). *Materiales didácticos de Biología y Geología*. Recuperado de <https://biologia-geologia.com/libro2biologia.html>