

11 - GENÉTICA MOLECULAR I.

LA EXPRESIÓN DEL ADN

-Después de que, a principios del siglo XX, surgiera la genética como ciencia y describiera los mecanismos de la herencia biológica, a mediados de ese siglo Watson y Crick describieron la estructura de la doble hélice del ADN, iniciando el desarrollo de una nueva rama de la genética, la **genética molecular**, que explica la organización del material genético, sus mecanismos de replicación y de expresión y los cambios que en él se producen.

1. EL ADN COMO SOPORTE DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

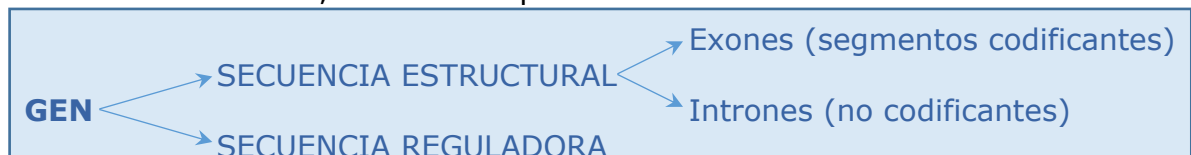
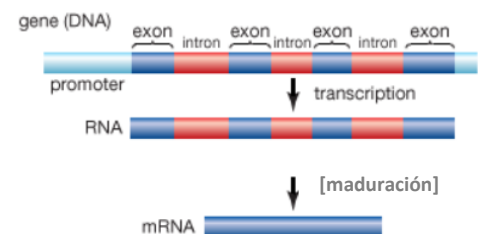
-Inicialmente se pensó que el material genético debía ser una proteína, pero en 1944, los experimentos de Avery (basados en los de Griffith en 1940) concluyeron que era el ADN.

-Las primeras hipótesis de funcionamiento del material genético propusieron, primero, que cada gen era el responsable de la síntesis de un enzima: hipótesis **un gen, un enzima** (un gen codifica un enzima). Posteriormente se comprobó que los genes controlaban proteínas en general, por lo que se propuso la hipótesis **un gen, una proteína**. Más tarde se comprobó que había proteínas, como la hemoglobina, formadas por varias cadenas polipeptídicas y se enunció la hipótesis **un gen, una cadena polipeptídica**.

-**ESTRUCTURA DE LOS GENES**: Un gen es la unidad funcional de la herencia, un fragmento de ADN que codifica una cadena polipeptídica, responsable de la expresión de un carácter en el organismo. Pero los genes no solo están formados por secuencias portadoras de información para sintetizar una cadena de aminoácidos, sino también por secuencias reguladoras de la expresión de esa información.

-La función de un gen es, entonces, almacenar, expresar, regular y transmitir la información genética.

-**EL GENOMA DE EUCARIOTAS**: se encuentra en el núcleo, organizado en **varias moléculas de ADN, lineales** y la mayor parte de ese ADN es no codificante. Muchos de los genes contienen **secuencias no codificadoras (intrones)** intercaladas entre las **secuencias codificadoras (exones)**. Los intrones del ADN se leen para la transcripción del ARNm, pero son eliminados del transcrito primario antes de su traducción. Además, como se vio, en la heterocromatina hay **secuencias estructurales no codificantes**. También se encuentran muchas **secuencias repetitivas** no codificantes, con función poco clara.



-**EL GENOMA DE PROCARIOTAS**: está organizado en un **único cromosoma, circular** (además de plásmidos en algunas) y la secuencia codificadora de cada gen es continua (**sin intrones**).

-**EL "DOGMA" CENTRAL DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR** era un concepto que indicaba cómo se producía el flujo -unidireccional- de la información genética contenida en el ADN, mediante tres procesos:



·El ADN se replica para transmitir la información genética, de una célula a otra o de un organismo a sus descendientes → **replicación**.

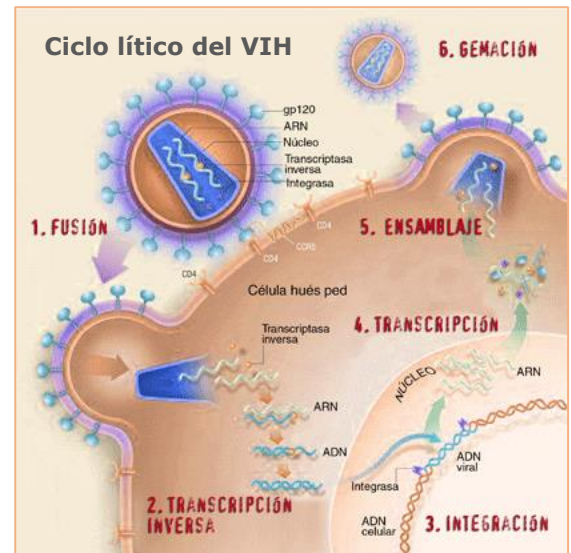
• Como el ADN es una macromolécula de gran tamaño que no puede salir del núcleo y los ribosomas que sintetizan las proteínas están en el citoplasma, se sintetiza previamente una molécula intermediaria, copia del fragmento de ADN que se debe expresar en una proteína, el ARNm → **transcripción**.

• La información del ARNm se traduce a una secuencia de aminoácidos → **traducción**.

• Pero al descubrirse los retrovirus y la transcriptasa inversa en los años 70 del siglo XX, este esquema tuvo que modificarse.



El **virus VIH** es un **retrovirus**: Su material genético es ARN monocatenario y al infectar una célula, para replicarse, la hace sintetizar una hebra complementaria de su ARN en ADN con el enzima **transcriptasa inversa** (o **retrotranscriptasa**), que aporta el propio virus y que, posteriormente, genera la otra hebra complementaria de ADN, quedando así el genoma del virus convertido en cadena doble de ADN, que se integra en el ADN celular, listo para que se produzca su transcripción y posterior traducción, responsable de la generación de copias del virus, que saldrán de la célula listos para infectar otras. Muchos **antirretrovirales** son inhibidores de la transcriptasa inversa.



<https://www.youtube.com/watch?v=36UDFKEpc2E&t=6s>

Se han descubierto procesos de retrotranscripción también en eucariotas, en los llamados **retrotransposones**.

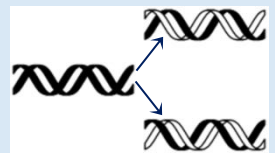
En algunos virus tipo fago (bacteriófagos) se da la replicación del ARN tomando como molde el mismo ARN, que también sirve de ARNm (síntesis proteica sin transcripción).

2. LA REPLICACIÓN DEL ADN

-A partir de una molécula de ADN se sintetizan dos moléculas idénticas a la original.

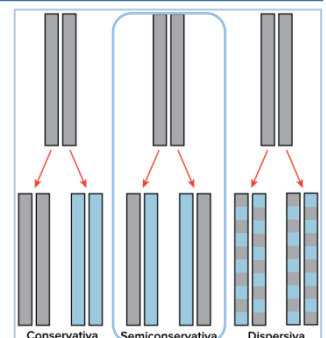
-En eucariotas, en el núcleo, en la fase S de la interfase, previa a la división celular.

Es SEMICONSERVATIVA: Las dos cadenas de la molécula de ADN original se separan y cada una sirve de molde para formar una nueva complementaria, permaneciendo unidas la original y la nueva → cada molécula hija está formada por una hebra molde original y otra nueva (complementaria).



-La **hipótesis conservativa** suponía que cada hebra original serviría de molde para la síntesis de una hebra hija complementaria pero las dos hebras hijas se unirían después entre sí y se recuperaría el ADN original. El **modelo dispersivo** suponía la ruptura de las hebras originales durante la replicación y, de alguna manera, se reordenarían en una molécula con una mezcla de fragmentos nuevos y originales en cada molécula de ADN resultante.

-El modelo de replicación a estudiar es el que se da en procariotas, muy parecido al de eucariotas salvo en aspectos que se indicarán posteriormente.



Recordemos: Todos los polinucleótidos (ADN y ARN) se alargan en sentido 5'→3', por incorporación de nuevos nucleótidos al extremo 3' de la cadena.

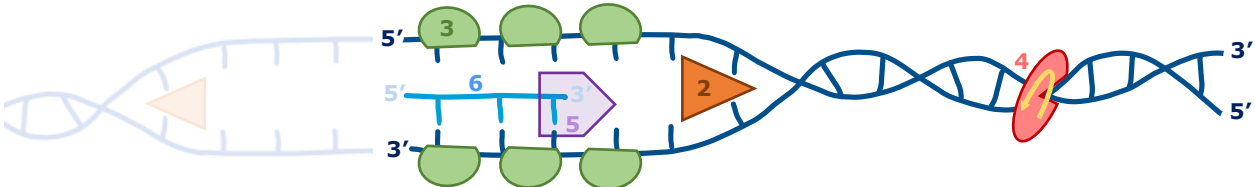


2.1. EL PROCESO GLOBAL DE REPLICACIÓN EN PROCARIOTAS

1. **Inicio:** El punto de inicio de la replicación está determinado por una secuencia concreta de nucleótidos llamada **origen de replicación**, al que se unen **proteínas iniciadoras**¹ y a partir del cual se avanza en ambos sentidos (la replicación es bidireccional).



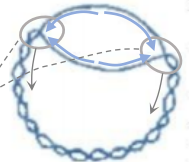
2. **Separación de las dos hebras:** La **helicasa**² se incorpora al origen de replicación marcado por las proteínas iniciadoras y avanza desde aquí, rompiendo los enlaces de hidrógeno de las bases complementarias y abriendo la doble hélice. Las dos hebras se mantienen separadas gracias a la unión de las **proteínas SSB**³.



3. **Desenrollamiento:** El avance de la helicasa a lo largo del ADN va provocando superenrollamiento de las regiones que quedan por delante. Para solucionarlo, actúa la **topoisomerasa**⁴ desenrollando, periódicamente, la doble hélice. Va cortando, desenrollando y uniendo de nuevo, sucesivamente, el ADN por delante de la helicasa.

4. **Síntesis del cebador:** Las **ADN polimerasas** son enzimas que añaden nucleótidos de ADN, pero sólo pueden añadir nucleótidos a una cadena ya existente, no pueden comenzar la síntesis de una nueva. Sin embargo, las ARN polimerasas sí pueden iniciar una cadena nueva. Por ello, la **ARN primasa**⁵ (una ARN polimerasa) sintetiza un pequeño segmento inicial de ARN (complementario de la hebra molde original) llamado **cebador**⁶, para que pueda actuar sobre él la ADN polimerasa.

5. **Elongación:** La **ADN polimerasa III** ahora tiene un cebador al que puede ir añadiendo nucleótidos de ADN, haciendo crecer así a la hebra recién sintetizada. Posteriormente, la **ADN polimerasa I** sustituirá los ribonucleótidos del cebador por desoxirribonucleótidos. Al microscopio electrónico, la zona de replicación se observa como una zona ensanchada, la **burbuja de replicación**, en cuyos extremos se localizan las **horquillas de replicación**, zonas en forma de Y donde se separan las hebras del ADN original y por donde avanza la helicasa con toda la maquinaria de replicación detrás.



6. **Terminación:** El proceso termina cuando las dos horquillas de replicación acaban encontrándose enfrentadas. Asociada en procariotas a secuencias específicas inhibitoras de las helicasas (poco conocida en eucariotas).

PROTEÍNAS QUE INTERVIENEN: Enzimas y proteínas no enzimáticas

- **Proteínas iniciadoras:** Reconocen el punto concreto de la cadena de ADN donde debe iniciarse la replicación, el **origen de replicación**, y facilitan la unión de la helicasa al ADN en ese punto.
- **ADN helicasa:** Va separando las dos hebras de la doble hélice de ADN, al romper los puentes de hidrógeno que mantienen unidas las bases complementarias.
- **Proteínas SSB:** Se unen al ADN monocatenario resultante, a las cadenas separadas por la helicasa, estabilizándolas, para evitar que vuelvan a unirse o a autoaparearse (unirse bases complementarias de la misma cadena).
- **ADN topoisomerasa:** Desenrolla la doble hélice evitando los *superenrollamientos*.
- **ARN primasa:** Forma un fragmento de **ARN cebador** para iniciar la replicación.
- **ADN polimerasas:** Catalizan la adición de nucleótidos de ADN por formación de enlaces fosfodiéster/nucleotídicos, **en sentido 5'→3'**. No pueden iniciar una cadena, pero sí pueden continuar una preexistente. En procariotas hay ADN polimerasa I, II y III.
- **ADN ligasa:** Une dos fragmentos de una cadena de ADN.

La ADN polimerasa II corrige errores producidos por agentes físicos

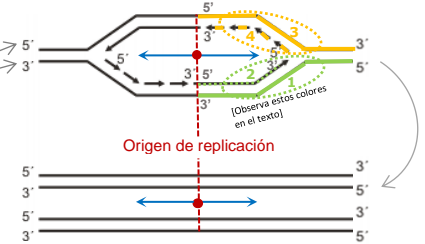
<https://www.youtube.com/watch?v=TEQMeP9GG6M>



2.2. EL PROBLEMA DE LA SÍNTESIS DE DOS CADENAS ANTIPARALELAS

La replicación empieza en el origen de replicación, a partir del cual las dos hebras se separan y van siendo copiadas simultáneamente en los dos sentidos: la replicación es bidireccional. Aquí aparece un problema en cada una de las dos horquillas de replicación por los motivos siguientes:

- Una hebra original tiene dirección $5' \rightarrow 3'$ y la otra $3' \rightarrow 5'$.
- Por lo anterior, una de las hebras nuevas deberá sintetizarse en dirección $3' \rightarrow 5'$ y la otra $5' \rightarrow 3'$.
- Pero **las ADN polimerasas añaden nucleótidos sólo en sentido $5' \rightarrow 3'$** , nunca en sentido contrario.



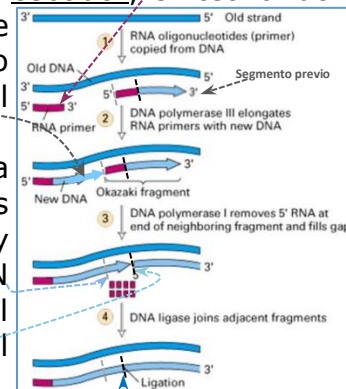
Vamos a explicar qué ocurre en la horquilla que avanza hacia la derecha en el dibujo

- En la cadena molde original que tenga dirección $3' \rightarrow 5'$ ¹ el proceso de replicación es continuo, *normal*, ya que su complementaria² se sintetiza y crece en sentido $5' \rightarrow 3'$ (sentido en el que la polimerasa añade siempre los nucleótidos, al extremo $3'$).
- La otra cadena molde original³ tiene sentido $5' \rightarrow 3'$, por lo que su complementaria⁴ debería sintetizarse y crecer en sentido $3' \rightarrow 5'$, lo que no es posible debido a la limitación de las polimerasas (solo añaden nucleótidos en sentido $5' \rightarrow 3'$). Por ello, el crecimiento de esta hebra se produce de forma discontinua, de forma que se van replicando pequeños fragmentos, cada uno en dirección $5' \rightarrow 3'$ -**fragmentos de okazaki**- que, globalmente, van haciendo a la cadena crecer en dirección $3' \rightarrow 5'$, acompañando a la hebra de replicación continua. Así, se distingue una **hebra conductora**² y una **hebra retardada**⁴ cuya replicación sigue los siguientes pasos repetidos para cada fragmento (se describe el proceso de síntesis de un segundo fragmento desde la síntesis de su cebador hasta su encuentro con el cebador del segmento sintetizado anteriormente).

1. Síntesis del cebador: La primasa sintetiza un cebador, pequeño fragmento de ARN complementario al ADN.

2. Elongación: La ADN polimerasa III empieza a añadir nucleótidos al OH libre del extremo $3'$ del cebador, sintetizando así el fragmento de Okazaki, hasta que se encuentra con el cebador del fragmento sintetizado anteriormente, momento en el que se detiene y se separa.

3. Sustitución del cebador por ADN: La ADN polimerasa I va eliminando los nucleótidos del ARN cebador anterior y sustituyéndolos por nucleótidos de ADN (tomando como cebador el extremo $3'$ del ADN recién sintetizado), hasta que llega al segmento de ADN anterior.



4. Unión de los fragmentos de Okazaki: La ADN ligasa une los fragmentos mediante un enlace fosfodiéster.

<https://www.youtube.com/watch?v=s3nDTGg73AU>

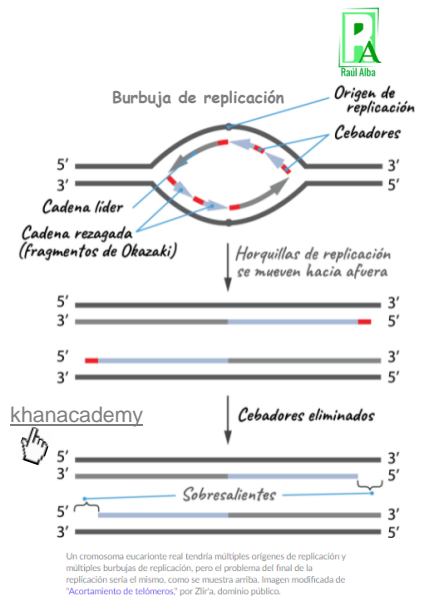
<https://www.youtube.com/watch?v=TNKWgcFPHqw>

2.3. DIFERENCIAS EN LA REPLICACIÓN EN EUCARIOTAS

- **Varios orígenes de replicación**, *replicones*, que se corresponden con varias burbujas de replicación.
- Las proteínas separadoras de las hebras son **RPA** (en lugar de SSB).
- Tiene lugar **en el núcleo** (en el citoplasma/nucleoide en procariotas).
- **Cinco tipos de ADN polimerasas** (en vez de tres), con funciones de elongación y corrección de errores.



- Hay **proteínas histonas** asociadas al ADN, que también se duplican durante la replicación.
- Al llegar a los telómeros del cromosoma, la ADN polimerasa I elimina los nucleótidos de ARN de los cebadores que quedan en los extremos (5' de las hebras hijas), pero no puede añadir nucleótidos de ADN porque necesita un cebador, con lo que **los telómeros se acortan con cada replicación**, fenómeno asociado a los procesos de envejecimiento y muerte celular.



3. LA TRANSCRIPCIÓN DEL ADN

-Una secuencia de ADN -un gen- es copiada en forma de ARN.

-En un segmento de ADN determinado, solo una de las dos hebras de la doble hélice del ADN contiene la información y se denomina **cadena codificante**. Este será el segmento de ADN que habrá que copiar (en ARN).
 -Para copiar el segmento de la cadena codificante, se toma la otra cadena como **cadena molde** y se sintetiza su complementaria (en ARN). El resultado es que la codificante, la que contiene la información que debe ser copiada, se ha copiado en forma de ARN, sustituyendo nucleótidos de T por U.



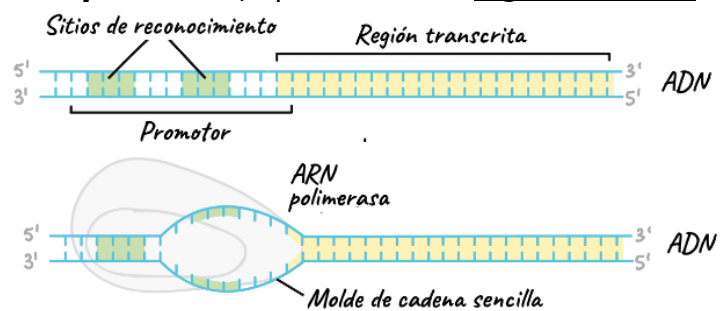
- Interviene el enzima **ARN polimerasa**, que va incorporando ribonucleótidos de A, C, G y U, complementarios de la cadena molde, en sentido 5'→3' (leyendo la cadena molde en sentido 3'→5').
- Proceso que ocurre en el núcleo en eucariotas.
- El resultado final es que una de las dos cadenas de ADN del gen es copiada, pero en ARN, con U en vez de T. Se pasa de una información en forma de secuencia de bases de ADN a otra en ARN.



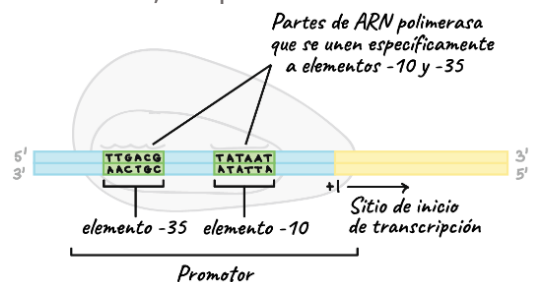
3.1. EL PROCESO DE TRANSCRIPCIÓN EN PROCARIOTAS

1. Iniciación: El punto de inicio de la transcripción está determinado por una secuencia de nucleótidos llamada **promotor**, que indica el lugar donde la

ARN polimerasa debe unirse al ADN y comenzar a transcribir en el sentido correcto. Cada gen (o grupo de genes, en bacterias) tiene su propio promotor. La ARN polimerasa reconoce al promotor, se une a él con la orientación correcta, separa las cadenas de ADN y las desenrolla, formando la burbuja de transcripción,



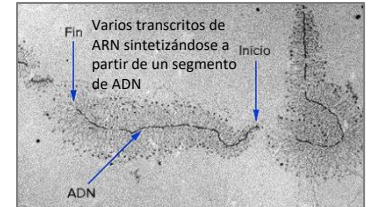
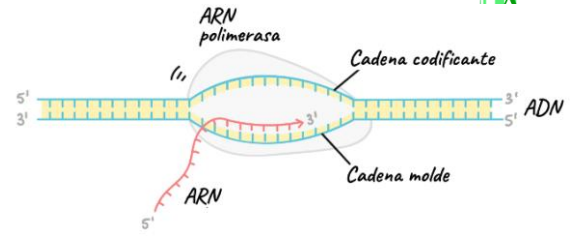
que se irá desplazando a lo largo del ADN. [En procariotas, el promotor tiene dos secuencias situadas 10 y 35 nucleótidos antes del inicio de la transcripción, reconocidas por la ARN polimerasa, que se colocará así en el lugar correcto y en la orientación adecuada para transcribir en un sentido y no en el contrario. La ARN polimerasa separa con facilidad las cadenas de ADN en el **elemento -10** -TATAAT- debido a la abundancia de pares A=T (unidas por dos puentes de H en vez de los tres de los pares C-G).]



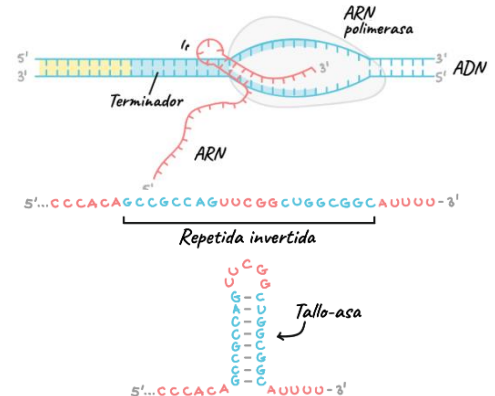
Setas venenosas como la *Amanita phalloides* producen una toxina que bloquea la acción de la ARN polimerasa



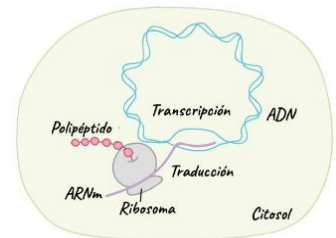
2. Elongación: La ARN polimerasa (que no necesita cebador) añade ribonucleótidos en sentido 5'→3' (el ARN crece en esta dirección), por lo que lee la cadena de ADN *-cadena molde-* que tiene sentido 3'→5' según su dirección de avance (copia, en ARN, la cadena 5'→3' *-cadena codificante-*). Va añadiendo ribonucleótidos complementarios a los desoxirribonucleótidos que encuentra en la cadena molde. La secuencia del transcrito (ARN) es casi igual a la de la cadena codificante (ADN), salvo que tiene U en vez de T. La ARN polimerasa va separando las dos cadenas de ADN para permitir la transcripción de nuevas porciones, cadenas que se vuelven a juntar por detrás del enzima una vez completada la transcripción de una porción, recuperándose así la doble hélice. El transcrito va separándose de la cadena molde por el extremo 5' a medida que es sintetizado.



3. Terminación: La transcripción continúa hasta que la ARN polimerasa encuentra la señal de terminación: una *secuencia terminadora* o **terminador** en el ADN, al final del gen. Como consecuencia, el ARN transcrito y la ARN polimerasa se liberan. En procariotas, el terminador es una secuencia *palindrómica* del ADN (igual secuencia si se leen las dos hebras en sentidos opuestos) formada por dos secuencias complementarias entre sí en cada cadena de ADN, separadas por unos pocos nucleótidos, de forma que en el transcrito de ARN esas secuencias complementarias hibridan entre sí, formando un lazo que interfiere en la ARN polimerasa haciendo que deje de transcribir y se libere.

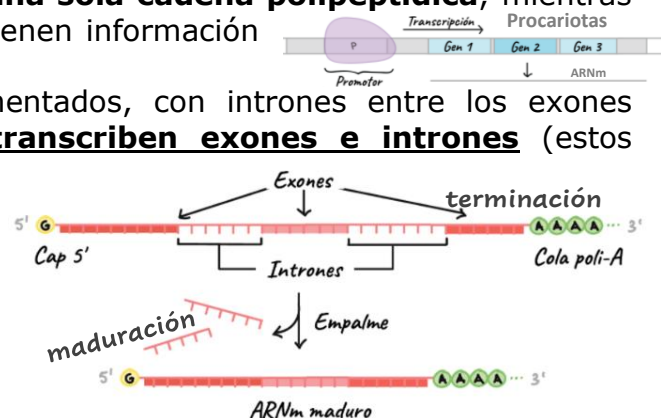


4. Maduración: En procariotas los **transcritos primarios** (moléculas de ARN obtenidas directamente de la transcripción) de ARNm pueden traducirse inmediatamente (pudiendo ocurrir la traducción mientras la transcripción aun no se ha completado), no es necesario un procesamiento posterior, por lo que no se da esta cuarta fase. Sí se da la maduración para los ARNt y ARNr (p. ej. procesos de corte y empalme).



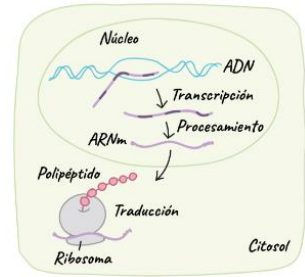
3.2. DIFERENCIAS EN LA TRANSCRIPCIÓN EN EUKARIOTAS

- Intervienen **factores de transcripción**: La transcripción se activa (o inactiva) por la unión de estas proteínas al ADN (en zonas próximas al promotor), que facilitan (o dificultan) la unión de la ARN polimerasa.
- Ocurre **en el núcleo**. Está **desacoplada de la traducción**.
- Hay **tres tipos de ARN polimerasas**: I, II y III, en vez de una sola.
- Un ARNm contiene **información para una sola cadena polipeptídica**, mientras que muchos ARNm de procariotas contienen información para la traducción de varias proteínas.
- La mayoría de los genes están fragmentados, con intrones entre los exones codificantes. En la transcripción **se transcriben exones e intrones** (estos últimos serán eliminados en el proceso de maduración).
- En la terminación: Al liberarse el ARN, un enzima une al extremo 3' una **cola poli-A**, secuencia de 100 a 200 nucleótidos de adenina. También se



añade la *caperuza 5'* o *cap-5'*, un Gppp (guanosina unida al ARNm mediante un puente trifosfato). Esto aumenta la estabilidad del ARNm.

• **En la maduración:** Los transcritos primarios de los tres tipos de ARN no son funcionales, tienen que sufrir el proceso de maduración en el núcleo. En el caso del ARNm, la maduración consiste, básicamente, en la **eliminación de los intrones y la unión de los exones** (*splicing*), resultando una secuencia continua de ARNm maduro que codifica un polipéptido y que ya puede salir al citoplasma a través de los poros nucleares. El enzima responsable es la *ribonucleoproteína pequeña nuclear*.



4. LA TRADUCCIÓN

Imágenes modificadas de [khanacademy](https://www.khanacademy.org)

-La traducción consiste en el paso de la información de secuencia de bases contenida en el ARNm a una secuencia de aminoácidos, para formar un polipéptido. Este proceso tiene lugar en el citoplasma, en los ribosomas, con la intervención de los ARNt. Se va a formar una cadena polipeptídica por ensamblaje de aminoácidos en el orden que dicta el ARNm (y, por tanto, la cadena codificante del ADN transcrito).

4.1. EL CÓDIGO GENÉTICO

-De forma similar a lo que ocurre con las normas de traducción de una lengua a otra, el código genético es el conjunto de reglas de traducción de una secuencia de nucleótidos de ARN a una secuencia de aminoácidos. Como en un diccionario bilingüe, la traducción es la correspondencia que existe entre cada combinación de bases del ARNm y cada aminoácido.

...AUCGCCGUACAAGUGCCU... → **CÓDIGO GENÉTICO** → ...aa1-aa2-aa3-aa4-aa5-aa6...

-Hay 20 aminoácidos diferentes → se necesitan, al menos, 20 combinaciones de bases -20 "palabras"- distintas de ARN que se correspondan con 20 aminoácidos.

-Hay 4 nucleótidos correspondientes a 4 bases distintas (cuatro letras con las que formar "palabras"). Con dos bases se pueden formar $4^2 = 16$ combinaciones diferentes (con cuatro letras diferentes se pueden formar 16 "palabras" de dos letras)*; con tres bases $4^3 = 64$ combinaciones distintas.

*AA AU AG AC UA UU UC UG CA CU CC CG GA GU GC GG → 16 combinaciones de dos bases no son suficientes para codificar 20 aminoácidos distintos. Se necesitan combinaciones de tres bases.

-Por ello, la codificación de los veinte aminoácidos se realiza con secuencias de tres bases ("palabras" de 3 letras) → **tripletes o codones**.

-CARACTERÍSTICAS DEL CÓDIGO GENÉTICO:

1. Universal: Las correspondencias entre tripletes y aminoácidos son las mismas para todos los seres vivos (ej. GCU codifica para Alanina en cualquier célula de cualquier organismo). En mitocondrias y ciertas bacterias hay excepciones → es *casi universal* o "el código genético *nuclear* es universal".

2. Degenerado: Hay aminoácidos codificados por más de un triplete, porque hay más tripletes -64- que aminoácidos -20-. Codones sinónimos: los que codifican el mismo aminoácido (ej. GCU – GCC – GCA – GCG son *sinónimos* → Alanina).

3. No solapado: No hay superposiciones, los codones no comparten bases, una base pertenece a un único triplete.

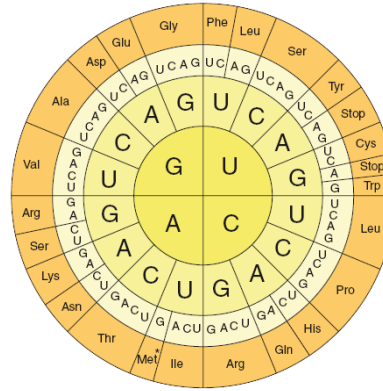
4. Sin comas o contiguo: La lectura de los tripletes es continua, sin espacios no leídos.

5. De los 64 codones, 61 codifican aminoácidos (1 de ellos es, además, el codón de inicio) y 3 son codones de terminación (o *stop* o *sin sentido*) que no codifican aminoácidos, sino que constituyen la señal para el fin de la traducción.

AUG → Met/Inicio

UAA, UAG, UGA → Terminación

5'	Segunda Base del Codón				3'
	U	C	A	G	
Primera base del Codón	U	Phe UUU Phe UUC Leu UUA Leu UUG	Ser UCU Ser UCC Ser UCA Ser UCG	Tyr UAU Tyr UAC Stop UAA Stop UAG	Cys UGU Cys UGC Stop UGA Trp UGG
	C	Leu CUU Leu CUC Leu CUA Leu CUG	Pro CCU Pro CCC Pro CCA Pro CCG	His CAU His CAC Gln CAA Gln CAG	Arg CGU Arg CGC Arg CGA Arg CGG
	A	Ile AUU Ile AUC Ile AUA Met AUG	Thr ACU Thr ACC Thr ACA Thr ACG	Asn AAU Asn AAC Lys AAA Lys AAG	Ser AGU Ser AGC Arg AGA Arg AGG
	G	Val GUU Val GUC Val GUA Val GUG	Ala GCU Ala GCC Ala GCA Ala GCG	Asp GAU Asp GAC Glu GAA Glu GAG	Gly GGU Gly GGC Gly GGA Gly GGG
Tercera base del Codón					



5'...AUCGCCGUACAAGUGCCU...3' $\xrightarrow{\text{traducción}}$ H₂N...Ile-Ala-Val-Gln-Val-Pro...COOH

Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Leu
Alanina	Arginina	Ác. aspártico	Asparagina	Cisteína	Ác. glutámico	Glutamina	Glicina	Histidina	Leucina
Ile	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val
Isoleucina	Lisina	Metionina	Fenilalanina	Prolina	Serina	Treonina	Triptófano	Tirosina	Valina

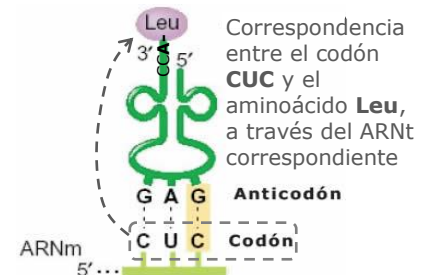
4.2. PASO PREVIO: UNIÓN DE CADA AMINOÁCIDO CON SU ARNt

-La lectura del ARNm, el paso de la secuencia de nucleótidos del ARNm a la de aminoácidos, se realiza con intervención de un intermediario: el **ARN de transferencia o ARN transferente**, ARNt, que es quien realmente "lee" los codones del ARNm. Los ARNt son el nexo entre cada codón y su aminoácido.

-**ARNt**: El brazo sin bucle (*brazo aceptor*) acaba en CCA en su extremo 3', donde presenta el aminoácido correspondiente (unido al nucleótido de **A**). El bucle del brazo opuesto (*brazo anticodón*) tiene un triplete, *anticodón*, complementario de otro, *codón*, del ARNm:

ARNt·anticodón – ARNm·codón

Cada molécula de ARNt es específica de un aminoácido concreto: el aminoácido que presenta dependerá del anticodón que tenga.

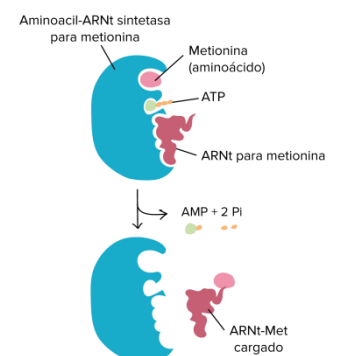


-ACTIVACIÓN PREVIA DE LOS AMINOÁCIDOS

•Para que tenga lugar la traducción, cada aminoácido debe *activarse*, unirse al extremo 3' de su ARNt correspondiente (el que tiene el anticodón específico).

•Se necesita 1ATP y un enzima, **aminoacil-ARNt-sintetasa** (uno para cada aminoácido; ej.: *metionil-ARNt-sintetasa*). La unión se lleva a cabo entre el -OH del extremo 3' del ARNt y el -COOH del aminoácido (enlace éster).

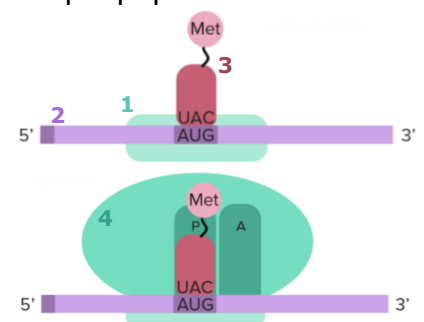
•Se forma aminoacil-ARNt (ej.: metionil-ARNt), que es la forma en que los aminoácidos son transportados al ribosoma para, en el proceso de la traducción, unirlos entre sí y formar las cadenas polipeptídicas.



4.3. FASES DE LA TRADUCCIÓN

(Modelo para eucariotas, aunque muy similar al de procariotas)

1. Iniciación: Se ensambla el complejo de iniciación: Se une la **subunidad pequeña del ribosoma**¹ al **ARNm**² por el **extremo 5'**, y el **Met-ARNt**³ al **codón AUG (codón de inicio)** y de metionina) del ARNm. El primer aminoácido será siempre metionina en todos los polipéptidos (formil-metionina -fMet- en procariotas). Finalmente, se incorpora la **subunidad grande del ribosoma**⁴ al complejo de iniciación, quedando ahora el ribosoma completo. En este se distinguen dos "sitios":



el sitio P *-peptidil-*, ahora ocupado por el Met-ARNt, y el sitio A *-aminoacil-*, vacío y listo para recibir un ARNt correspondiente al siguiente codón del ARNm. Factores de iniciación proteicos -IF- ayudan a ensamblar este complejo (aprovechando la energía liberada por el GTP del extremo 5' del ARNm, añadido en su proceso de maduración en eucariotas).

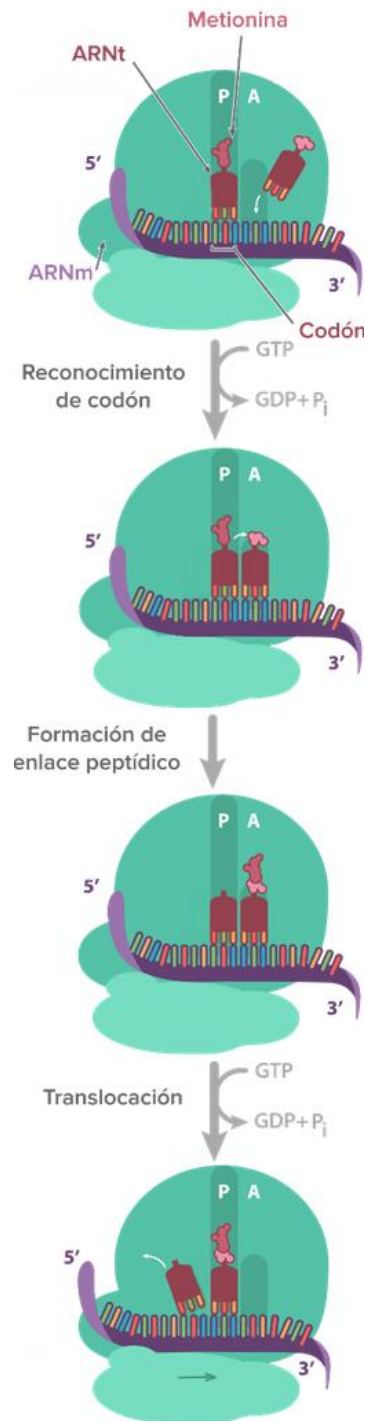
2. Elongación: La cadena polipeptídica se va alargando al añadirse nuevos aminoácidos a su extremo carboxilo mediante enlaces peptídicos. La **peptidil-transferasa** (ribozima* de la subunidad grande del ribosoma) va formando enlaces peptídicos con cada nuevo aminoácido incorporado. El ribosoma se va desplazando a lo largo del ARNm en dirección **5'→3'**, los ARNt se unen a los correspondientes codones sucesivos del ARNm y van añadiendo sus aminoácidos al extremo carboxilo (C-terminal) del polipéptido en crecimiento. Se produce por repetición de ciclos de elongación, que añaden un aminoácido al polipéptido y que constan de tres pasos:

- **Unión de un aminoacil-ARNt al sitio A.** El sitio P está ocupado por el codón de inicio unido a un ARNt con Met (o con un polipéptido en las siguientes rondas de elongación). El sitio A contiene el segundo codón (o posterior) y recibe a otro ARNt con su anticodón complementario que transportará, por tanto, al aminoácido codificado por el codón. Intervienen factores de elongación -EF- con gasto de GTP.

- **Formación del enlace peptídico.** La peptidil-transferasa cataliza la formación de un enlace peptídico entre el aminoácido recién incorporado al sitio A y la Met unida al ARNt del sitio P (o el último aminoácido de la cadena unida al ARNt del sitio P): la Met (o el último aminoácido de la cadena), unida al ARNt por su carboxilo, se separa de éste y establece un enlace peptídico con el grupo amino del aminoácido nuevo, todo ello por mediación de la peptidil-transferasa. En el sitio P queda ahora un ARNt sin aminoácido (o polipéptido). En la primera ronda, la Met del sitio P se ha unido al segundo aminoácido, el del sitio A y el resultado es la formación de una cadena de dos aminoácidos unida al ARNt del sitio A.

- **Translocación:** El ribosoma se desplaza por el ARNm justo un codón en dirección 3', lo que expulsa al ARNt del sitio P y cambia de posición *-transloca-* al ARNt que lleva el polipéptido, del sitio A al P. Este proceso es catalizado por factores de elongación -EF- que también utilizan GTP como fuente de energía. El siguiente codón del ARNm queda expuesto ahora en el sitio A, listo para la incorporación de otro ARNt (con su correspondiente aminoácido) y la repetición de otro ciclo de elongación.

3. Terminación: La síntesis del polipéptido termina -y este se libera- cuando se llega a un **codón de terminación -UAA, UAG, UGA-**. Los componentes de la maquinaria de traducción se separan y podrán volver a ser utilizados. Un factor de liberación (RF) se une al codón de terminación (en el sitio A), impidiendo que se una un aminoacil-ARNt y separando la cadena polipeptídica del ARNt del sitio P (por hidrólisis).



Recordemos que una molécula de ARNm puede ser leída simultáneamente por varios ribosomas, formando un *polisoma* o *polirribosoma*.

*Ribozima: ARN con actividad enzimática.

4.4. DIFERENCIAS PROCARIOTAS – EUCARIOTAS EN LA TRADUCCIÓN

- El primer aminoácido incorporado en una cadena polipeptídica es metionina en eucariotas y formil-metionina en procariotas.
- En procariotas, la transcripción está acoplada a la traducción y la porción de ARNm parcialmente transcrito ya puede ser traducida. En eucariotas, transcripción y traducción están separadas físicamente (núcleo-citoplasma), por lo que el ARNm debe ser transcrito completamente antes de ser traducido.
- En procariotas, muy frecuentemente, una molécula de ARNm puede codificar varios polipéptidos. Varios genes forman un *operón*, que se transcribe a partir de un promotor único.

Imágenes modificadas de: <https://es.khanacademy.org/science/biology/gene-expression-central-dogma/translation-polypeptides/a/the-stages-of-translation>

REPLICACIÓN	
PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
En el citoplasma	En el núcleo
Un solo origen de replicación	Varios orígenes de replicación
Proteínas de iniciación SSB	Proteínas de iniciación RPA
3 tipos de ADN polimerasa	5 tipos de ADN polimerasa
ADN sin histonas	ADN asociado a histonas, que también se replican
	Los telómeros se acortan en cada replicación

TRANSCRIPCIÓN	
PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
	Factores de transcripción
En el citoplasma	En el núcleo
Un solo tipo de ARN polimerasa	3 tipos de ARN polimerasa
Una molécula de ARNm frecuentemente tiene información para varias proteínas	Una molécula de ARNm tiene información para una sola cadena polipeptídica
ARN sin intrones	ARN con intrones entre los exones
	Cola Poli A en extremo 3'
	Caperuza 5'
ARNm no sufre maduración	ARNm sufre maduración: eliminación de intrones y empalme de exones

TRADUCCIÓN	
PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
Primer aminoácido: formil-Met	Primer aminoácido: Met
Traducción simultánea a la transcripción	Traducción posterior a la transcripción Separadas físicamente citoplasma/núcleo
Una molécula de ARNm frecuentemente codifica varios polipéptidos	Una cadena de ARNm codifica una sola cadena polipeptídica



Interviewer: Any special requests you would like to make?
 "I'd like to work from five to three."
 Interviewer: But that's absurd!
 takes off mask to reveal DNA



Boss: It says here that your translation skills are exceptional.
 "Yes."
 Boss: Alright, let's see them.



RESOLUCIÓN PRÁCTICA DE PROBLEMAS

ADN:

-Dada una hebra de ADN, debemos ser capaces de escribir la otra, su complementaria, incluida su polaridad (extremos 3' y 5'). Recordemos que las dos hebras de una cadena de ADN son antiparalelas (extremos 5' y 3' enfrentados).

-Dada una hebra de ADN como esta:

3'--CTTGCAAATTCGGCCATC--5'

Para escribir la otra, la complementaria, solo tenemos que ir añadiendo las bases complementarias de la primera:

3'--CTTGCAAATTCGGCCATC--5'

5'--GAACGTTTAAGCCGGTAG--3'

Y de esa manera tenemos la doble cadena de ADN completa, con su polaridad.

3'--CTTGCAAATTCGGCCATC--5'

5'--GAACGTTTAAGCCGGTAG--3'

TRANSCRIPCIÓN:

-Dado un segmento de ADN, debemos ser capaces de llevar a cabo la transcripción para generar el ARN correspondiente. La transcripción va a consistir en **copiar una de las dos hebras del ADN (la codificante) en ARN**.

-Se da este segmento de ADN y nos preguntan cuál sería el ARN resultado de la transcripción:

3'--CTTGCAAATTCGGCCATC--5'

5'--GAACGTTTAAGCCGGTAG--3'

Tenemos que saber cuál de las dos hebras es la hebra codificante, la que hay que copiar. Sin más información, no lo podemos saber, pero si nos dicen, por ejemplo, que "la transcripción ocurre de izquierda a derecha", ya lo podemos saber. Como todos los ácidos nucleicos se sintetizan en sentido 5' → 3', el ARN tendrá que sintetizarse en ese sentido y, por tanto, la hebra de ADN que hay que copiar tendrá ese mismo sentido 5' → 3'. Como nos dicen que la transcripción ocurre de izquierda a derecha, hay que copiar la hebra de ADN que, leída de izquierda a derecha, tiene sentido 5' → 3', es decir, la de abajo. Copiamos esa hebra (que equivale a escribir la complementaria de la molde, la de arriba) teniendo cuidado de sustituir T por U, ya que estamos sintetizando ARN:

3'--CTTGCAAATTCGGCCATC--5'

5'--GAACGTTTAAGCCGGTAG--3' **ADN**

transcripción →

5'--GAACGUUUAAGCCGGUAG--3' **ARN**

Si no nos dicen cuál es la hebra codificante ni en qué sentido ocurre la transcripción, debemos decidirlo nosotros, por ejemplo: "Suponiendo que la transcripción ocurre de izquierda a derecha, la hebra codificante sería entonces la de abajo...", y realizamos el procedimiento que acabamos de ver.

-¿Sabrías indicar el ARN sintetizado a partir de los siguientes segmentos de ADN si la transcripción se realiza de izquierda a derecha?

3'--CACTGCAGATTCGGTATCC--5'

5'--CCGGTGTCCCGCATTCT--3'

5'--GTGACGTCTAAGCCATAGG--3'

3'--GGCCACAGGGCGTAAGA--5'

-También se puede plantear el problema contrario: se da este segmento de ARN y se pide que se determine la secuencia de las dos hebras del ADN del que procede:

5'--**ACAUAGUUGAAGCCGGCCU**--3' **ARN**

Este ARN es la copia de la hebra codificante del ADN y esta tendrá el mismo sentido 5' → 3'. Copiamos entonces esa cadena, pero en ADN (sustituyendo U por T):

5'--**ACAUAGUUGAAGCCGGCCU**--3' **ARN**
 5'--**ACATAAGTTGAAGCCGGCCT**--3' **ADN**

Ahora solo hay que escribir la hebra complementaria de ADN, poniendo bases complementarias a las que ya tenemos, teniendo cuidado de poner bien los extremos 5' y 3':

5'--**ACAUAGUUGAAGCCGGCCU**--3' **ARN**
 5'--**ACATAAGTTGAAGCCGGCCT**--3' **ADN**
 3'--**TGTATTCAACTTCGGCCGGA**--5' **ADN**

Y así quedaría el fragmento de ADN del que procede el ARN dado.

5'--**ACATAAGTTGAAGCCGGCCT**--3'
 3'--**TGTATTCAACTTCGGCCGGA**--5'

TRADUCCIÓN:

-Se trata de generar una cadena de aminoácidos (cadena polipeptídica o polipéptido) a partir de un ARN mensajero (ARNm). Este tipo de problemas suelen plantearse desde el ADN, es decir, nos dan el ADN y tenemos que determinar el ARNm correspondiente (transcripción, vista en el apartado anterior) y, después, escribir la cadena de aminoácidos traducida por ese ARNm.

-Se da este segmento de ADN y nos piden el ARN mensajero resultado de la transcripción (que ocurriría de izquierda a derecha) y la cadena de aminoácidos resultante de la traducción:

3'--**CTTGCAAATTCGGCCATC**--5'
 5'--**GAACGTTTAAGCCGGTAG**--3' **ADN**

El ARN mensajero (ARNm) resultante de la transcripción, será el siguiente (como se vio en el apartado anterior):

5'--**GAACGUUUAAGCCGGUAG**--3' **ARNm**

Ahora señalamos los codones:

5'--**GAA CGU UUA AGC CGG UAG**--3'

Y los leemos consultando un código genético, asegurándonos de que empezamos por el extremo 5', ya que el ARN se lee en sentido 5' → 3'.

5'--**GAA CGU UUA AGC CGG UAG**--3'

↓ ↓ ↓ ↓ ↓
Glu-Arg-Leu-Ser-Arg y nos detenemos si llegamos a un codón de terminación, como en este caso el **UAG**. Ahora podemos indicar la polaridad (extremos amino y carboxilo): el primer aminoácido que se coloca siempre deja su grupo amino (-NH₂) libre y el último deja su grupo carboxilo (-COOH) libre.

H₂N-Glu-Arg-Leu-Ser-Arg-COOH

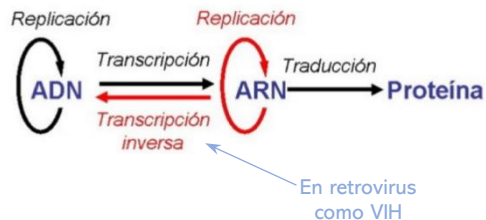
Deducir el ARNm o el ADN del que proviene una cadena de aminoácidos: No es posible, ya que el código genético es "degenerado" (un aminoácido puede estar codificado por más de un codón). Sí podríamos deducir una de las muchas posibilidades, eligiendo un codón (de los varios que pueda haber) para cada aminoácido.

- GEN**: Fragmento de ADN que codifica una cadena polipeptídica y que regula su propia expresión.
- GENOMA DE EUCARIOTAS**: Varias moléculas - Lineal – Hay ADN no codificante – Regiones repetidas
 - Genes con exones e intrones.



- GENOMA DE PROCARIOTAS**: Única molécula - Circular.

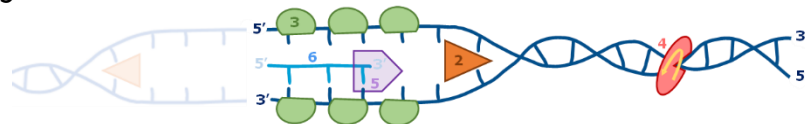
-**“DOGMA” CENTRAL DE LA BIOLOGÍA actualizado:**



REPLICACIÓN DEL ADN

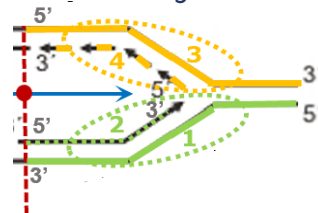
Síntesis de dos moléculas idénticas a partir de una original.

- Semiconservativa**: Cada una de las dos hebras de la cadena original sirve de molde y cada cadena resultante de ADN está formada por una hebra molde y otra nueva.
 - Las **ADN polimerasas no pueden iniciar una cadena**. Las **ARN polimerasas**, sí.
 - Las **polimerasas (ARN y ADN) añaden nucleótidos siempre al extremo 3'** (al C3' del último nucleótido) → Las cadenas de polinucleótidos se sintetizan (crecen) siempre en **sentido 5' → 3'**.
1. Inicio en un origen de replicación. Unión de proteínas iniciadoras.
 2. Separación de las hebras por la helicasa². Unión de las SSB³ para mantenerlas separadas.
 3. Desenrollamiento por la topoisomerasa⁴.
 4. Síntesis del cebador⁶ por la ARN primasa⁵.
 5. Elongación por las ADN polimerasas. La III alarga la cadena - La I sustituye el cebador por ADN. La ADN ligasa une fragmentos de ADN.
 6. **Terminación.**



- Hebra conductora**²: Se sintetiza de manera continua porque avanza en sentido 5'→3', pues su hebra molde¹ tiene el sentido contrario.
- Hebra retardada**⁴: Se sintetiza de forma discontinua, en pequeños **fragmentos -de Okazaki-** con sentido 5'→3' individualmente, que hacen avanzar globalmente en sentido 3'→5'. Su hebra molde³ tiene sentido 5'→3'.

Horquilla de replicación

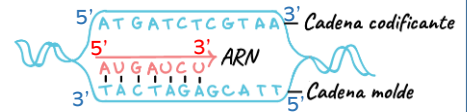


PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
Un origen de replicación	Varios orígenes de replicación
Proteínas separadoras SSB	Proteínas separadoras RPA
En citoplasma/nucleoide	En núcleo
3 tipos de ADN polimerasas	5 tipos de ADN polimerasas
Sin histonas en el ADN	Histonas asociadas al ADN también se replican

TRANSCRIPCIÓN DEL ADN

Copia de una secuencia de ADN en forma de ARN.

-Se copia una de las dos hebras del ADN -*hebra codificante*- tomando la otra como molde para la colocación de nucleótidos complementarios de ARN.



-La ARN polimerasa incorpora ribonucleótidos en **sentido 5'→3'**, sentido en el que se produce siempre la transcripción. Para ello, lee la hebra molde en sentido 3'→5'.

-Se obtiene un *transcrito primario*, que sufre un proceso de **maduración** (modificaciones).

PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
	<u>Factores de transcripción</u>
En citoplasma/nucleoplasma	En núcleo
Acoplada a la traducción	Desacoplada de la traducción
1 ARN polimerasa	3 tipos de ARN polimerasa
Un ARNm codifica varias proteínas	Un ARNm codifica una sola cadena polipeptídica
Genes y ARNm sin intrones	Genes y ARNm con intrones y exones
	Cola poliA y caperuza 5'
	<u>Maduración del ARNm</u> → elimina intrones

TRADUCCIÓN

Lectura de la información en forma de secuencia de bases del ARNm para pasar a una secuencia de aminoácidos.

EL CÓDIGO GENÉTICO

Correspondencia entre la información en forma de codones de ARN y cada aminoácido

· **20 aminoácidos - 64 codones**: 61 codifican aminoácidos.

AUG → Met/Inicio – 3 de terminación: **UAA - UAG - UGA**

· **Universal** · **Degenerado** · **No solapado** · **Sin comas**

0. **Activación de los aminoácidos**: Unión de cada aminoácido al extremo 3' de su correspondiente ARNt. Intervienen los enzimas **aminoacil-ARNt-sintetasa** y 1ATP. Se forma **aminoacil-ARNt**.

1. **Iniciación**: Unión de ribosoma, ARNm (extremo 5'), Met-ARNt, codón de inicio: complejo de iniciación.

2. **Elongación**: Adición de aminoácidos al extremo carboxilo del aminoácido anterior, por acción de la **peptidil-transferasa**, que forma enlaces peptídicos. Translocación del ribosoma. Lectura del ARNm en dirección **5'→3'**.

3. **Terminación**: Separación de todos los componentes al llegar a un **codón de terminación**.

· El primer aminoácido del polipéptido tiene su grupo NH₂ libre y el último, el COOH.

PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
Primer aminoácido: formil-Met	Primer aminoácido: Met
Acoplada a la transcripción	Separada físicamente de la transcripción
Un ARNm suele codificar varios polipéptidos	Un ARNm codifica un solo polipéptido