

BLOQUE III.

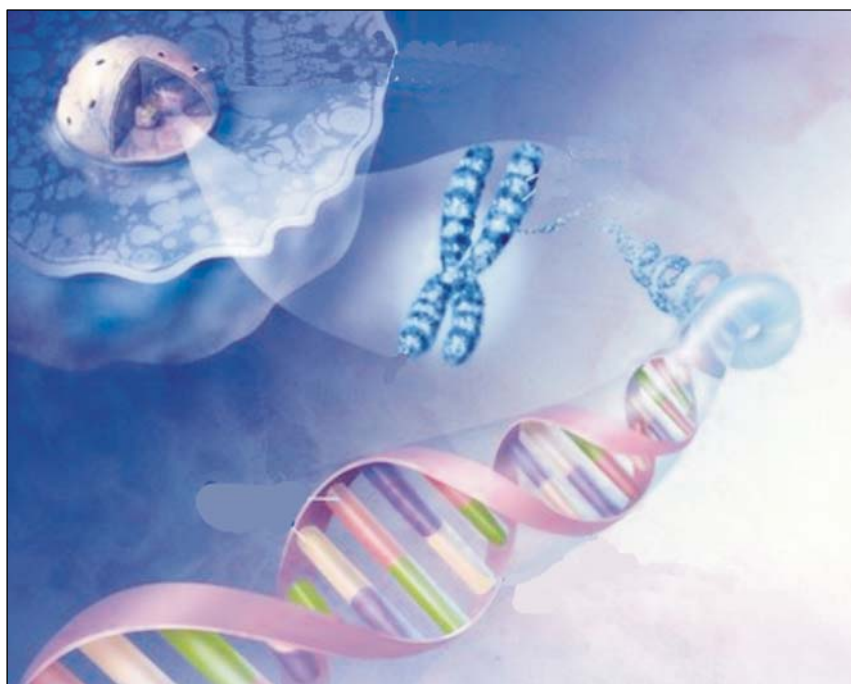
A HERDANZA. XENÉTICA MOLECULAR.

UNIDADE 19. XENÉTICA MOLECULAR. A BASE MOLECULAR DA HERDANZA.

CONTIDOS

XENÉTICA MOLECULAR. A BASE MOLECULAR DA HERDANZA.

- 1. XENÉTICA MOLECULAR: O FLUXO E A EXPRESIÓN DA INFORMACIÓN XENÉTICA.**
- 2. OS ÁCIDOS NUCLEICOS COMO PORTADORES DA INFORMACIÓN XENÉTICA.**
 - 2.1. EXPERIENCIA DE GRIFFITH (1928)**
 - 2.2. EXPERIENCIA DE AVERY E COLABORADORES (1944)**
 - 2.3. EXPERIENCIA DE HERSHEY E CHASE (1952)**
- 3. XENE: CONCEPTO E ESTRUTURA.**
- 4. REPLICACIÓN: A CONSERVACIÓN DA INFORMACIÓN XENÉTICA.**
 - 4.1. REPLICACIÓN SEMICONSERVATIVA DO ADN: O EXPERIMENTO DE MESELSON E STAHL**
 - 4.2. MECANISMO XERAL DE REPLICACIÓN DO ADN**
- 5. TRANSCRICIÓN: PRIMEIRA ETAPA DA EXPRESIÓN DA INFORMACIÓN XÉNICA.**
- 6. O CÓDIGO XENÉTICO OU CLAVE XENÉTICA.**
- 7. TRADUCIÓN: SEGUNDA ETAPA DA EXPRESIÓN DA INFORMACIÓN XÉNICA.**



A HERDANZA. XENÉTICA MOLECULAR.

UNIDADE 19. XENÉTICA MOLECULAR. A BASE MOLECULAR DA HERDANZA.

1. XENÉTICA MOLECULAR: O FLUXO E A EXPRESIÓN DA INFORMACIÓN XENÉTICA.

Sabemos que a **Xenética** é a ciencia que **estuda os mecanismos da herdanza**. O descubrimento da **estrutura do ADN** e o **descifrado do código xenético** abriu unha nova rama da Xenética, a **Xenética Molecular**, que estuda:

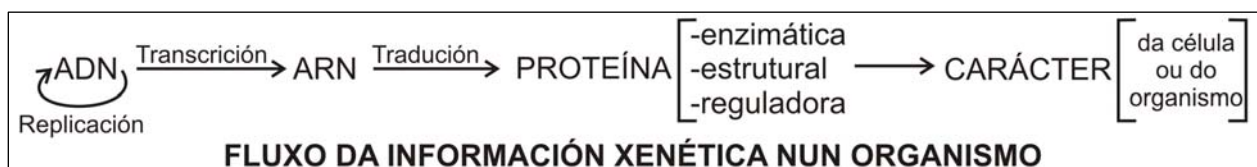
- A **codificación** da información xenética nos cromosomas: **código xenético**.
- O **procesamento** da información xenética: **transcrición e tradución**.
- A **copia e reparto** da información xenética cando a célula se divide: **replicación**.
- A **modificación** da información xenética: **mutación**.
- O **control** dos procesos anteriores: **regulación da expresión xénica**.

A **Xenética Molecular** investiga a **natureza dos xenes e como a información que conteñen flúe e se expresa**.

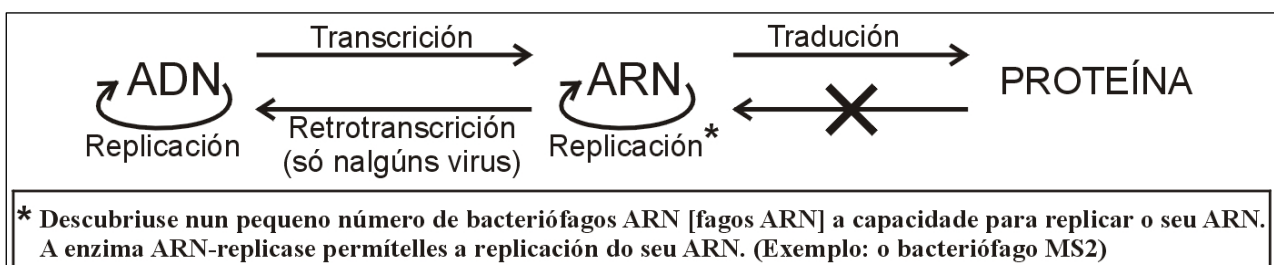
Hoxe sabemos que o ADN explica todos estes fenómenos, aínda que nalgúns virus o papel vaino realizar o ARN.

Como se expresa a información xenética, é dicir, como se transmite a información xenética desde o ADN até a aparición dun carácter?

O chamado **primeiro principio da bioloxía** ou **dogma central da bioloxía** esclarece o asunto:



O chamado **segundo principio da bioloxía** indícanos que **a transmisión inversa da información, desde as proteínas até o ADN, non é posíbel**, só algúns **virus-ARN¹** son quen de utilizar este ARN como matriz para que se formen as secuencias do ADN, **retrotranscrición**:



ACTIVIDADE 01

¹ É o caso, por ex., do **VIH, virus da SIDA**, un **retrovirus**, porque é quen de realizar a **retrotranscrición** grazas á acción da enzima **retrotranscritase** ou **transcritase inversa**.

2. OS ÁCIDOS NUCLEICOS COMO PORTADORES DA INFORMACIÓN XENÉTICA.

Que molécula contén a información xenética? Cando no século pasado se soubo que os xenes estaban nos cromosomas e que estes estaban formados por ADN e proteínas, houbo que dilucidar se eran as proteínas, na súas secuencias de aminoácidos, ou era o ADN, na súa secuencia de nucleótidos, quen contiña a información hereditaria.

As experiencias de *Griffith* (1928), *Avery e colaboradores* (1944) e *Hershey e Chase* (1942) demostraron o papel do **ADN como portador da información xenética en todos os seres vivos**, agás nos chamados **virus-ARN**, onde esta función estará nas mans do ARN.

2.1) EXPERIENCIA DE GRIFFITH (1928)

En 1928, **Griffith** demostrou que un tipo de bacterias mortas podían modificar o material hereditario doutro tipo de bacterias.

Traballaba coa bacteria *Diplococcus pneumoniae* que provoca a pneumonía nos mamíferos, e pode aparecer baixo a forma de distintas **cepas**².

Unha das cepas da bacteria presenta unha **cápsula de polisacáridos** que a defende do ataque do sistema inmune do organismo infectado. Como non poden ser destruídas, estas bacterias son **virulentas**³ e causan a **pneumonía**. As súas colonias presentan a superficie lisa: **cepas S** (de *smooth* = liso).

Hai outra cepa non virulenta, non ten cápsula polisacáridica, que é destruída polo organismo infectado. As súas colonias presentan unha superficie rugosa: **cepas R** (de *roug* = rugoso).

Cando se cultivan por separado tanto as colonias S como as R transmitirán as súas características aos seus descendentes (salvo algunha posíbel mutación).

Sen embargo, calquera tipo de bacteria é sensíbel á calor, e se a temperatura se eleva abondo, as bacterias morren pola calor e xa non poden dividirse.

Griffith proporcionou a primeira proba dun posíbel intercambio de material xenético entre bacterias coa seguinte experiencia:

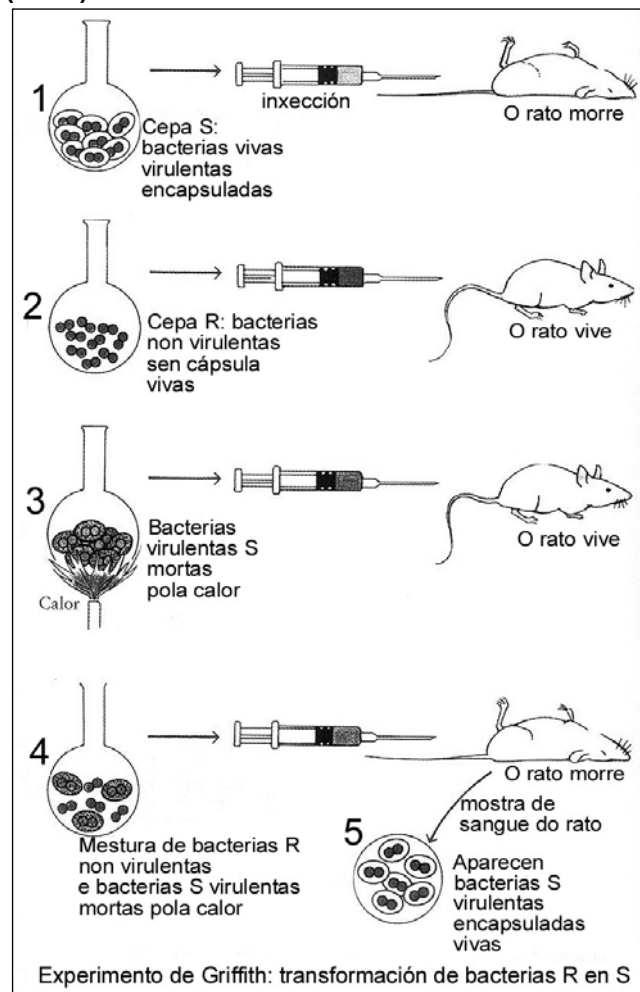
→ Inxectou en ratos **bacterias tipo S** (*virulentas*); os ratos morrían.

→ Inxectou en ratos **bacterias tipo R** (*non virulentas*); os ratos seguían vivos e no seu corpo non se recuperaban *bacterias R* porque todas eran destruídas.

→ Inxectou en ratos **bacterias tipo S** (*virulentas*) **mortas pola calor**; os ratos seguían vivos e non se recuperaban bacterias.

→ Inxectou en ratos **bacterias tipo R** (*non virulentas*) e **bacterias tipo S** (*virulentas pero mortas pola calor*); neste caso o rato morría de pneumonía e recuperábanse **bacterias tipo S** (*virulentas*) que estaban vivas.

Estas experiencias demostraron que se producía un cambio ou **transformación** das **bacterias tipo R** en **bacterias tipo S**, por medio da transferencia dalgunha substancia activa ou **principio transformante**.

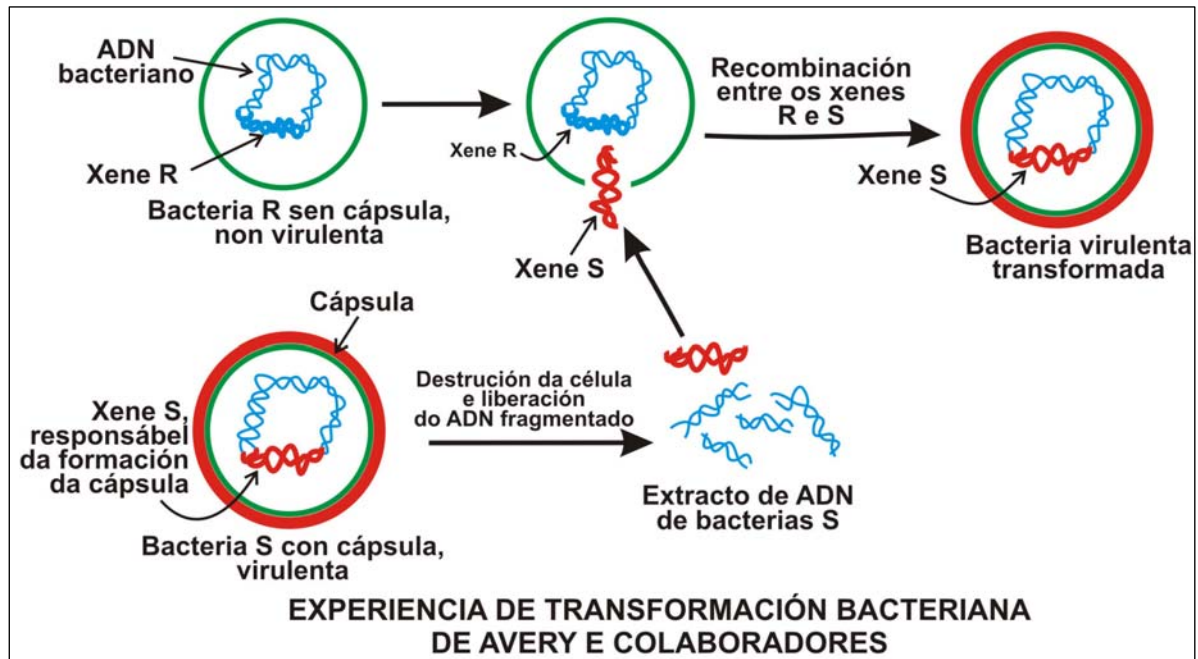


²**Cepa bacteriana:** é unha **variedade** (ou *raza*) dunha determinada bacteria **que presenta características propias** que se manifestan nas colonias específicas que medran nas placas de cultivo. Así, as colonias dunha determinada cepa, *cepa 1*, van presentar características diferentes ás colonias doutra cepa, *cepa 2*, en canto á súa forma, tamaño, textura superficial, brillo, etc..

³**Virulencia:** capacidade que ten un microorganismo para producir unha doenza.

2.2) EXPERIENCIA DE AVERY E COLABORADORES (1944)

Avery, MacLeod e McCarthy descubriron e demostraron, no ano 1944, que **o axente responsábel da transformación, o principio transformante, era o ADN**. O seu experimento consistiu en extraer ADN das *bacterias tipo S mortas pola calor* e mesturar directamente este extracto de ADN con *bacterias de tipo R*. O resultado foi que, en pouco tempo, apareceron *bacterias vivas virulentas de tipo S*. **Esta experiencia demostrou que o ADN é o material xenético**, quer dicir, o ADN é o material hereditario responsábel, neste caso, da formación da cápsula polisacárida que provoca a acción virulenta.



A **transformación bacteriana** sucede cando, a través dun mecanismo que propicia a súa penetración, o ADN transformante se introduce no citoplasma bacteriano e alí, en base a un dobre entrecruzamento, ten lugar a recombinación co fragmento homólogo do cromosoma bacteriano. A bacteria receptora quedará transformada porque un fragmento do seu ADN, que determina unha serie de características, será substituído por outro fragmento homólogo, procedente doutra bacteria, que lle conferirá outros caracteres diferentes.



2.3) EXPERIENCIA DE HERSHEY E CHASE (1952)

Aínda que o experimento de Avery e colaboradores deixaba clara a evidencia do ADN como molécula portadora da información xenética, as resistencias no mundo científico non desapareceron totalmente e foi necesaria a experiencia de **Hershey e Chase** para confirmar as conclusións de Avery e os seus.

Hershey e Chase traballaron co **bacteriófago**⁴ T₂, un virus ADN que ataca bacterias. Nos seus cultivos utilizaron:

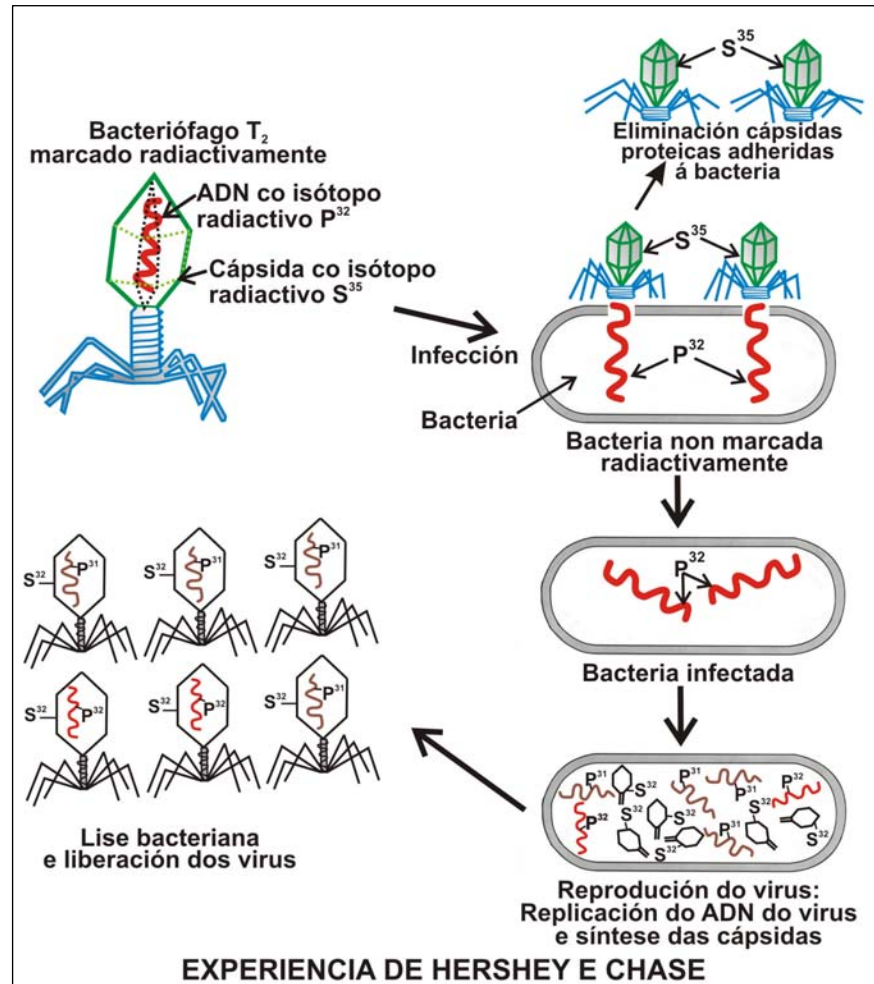
- S³², xofre **non** radioactivo e S³⁵, xofre **radioactivo**
- P³¹, fósforo **non** radioactivo e P³², fósforo **radioactivo**

1/ Nun medio de cultivo radioactivo (con S³⁵ e P³²) conséguense exemplares do virus **bacteriófago** T₂ marcados radioactivamente con S³⁵ nas súas proteínas e P³² no seu ADN.

2/ Inféctase unha bacteria non radioactiva con fagos destes que están marcados radioactivamente.

3/ Após que varios **fagos** inoculen o seu ADN no interior do citoplasma bacteriano, elimínanse mecanicamente as cápsidas proteicas que quedaron fóra marcadas con S³⁵.

4/ O ADN vírico marcado radioactivamente con P³² replícase no interior da bacteria formando múltiples ADN replicados e as súas cápsidas proteicas correspondentes. Reprodúcese así activamente o virus e dá lugar a moitos novos virus que acabarán por destruír a bacteria (lise bacteriana) e espallaranse polo medio á procura de outras bacterias que infectar.



5/ Na análise dos virus liberados observamos:

- Non aparece ningunha cápsida proteica con S³⁵ radioactivo.
- Todas as cápsidas presentan proteínas con S³² non radioactivo.
- Só algúns ADNs (os que penetraron na bacteria para infectala) presentan P³² radioactivo na súa molécula.
- A maioría dos ADNs presentan P³¹ non radioactivo.

CONCLUSIÓNES:

Se non aparecen cápsidas con marcador radioactivo S³⁵ e a maioría dos ADNs son P³¹ non radioactivos, significa que foi o ADN inoculado marcado con P³² radioactivo a molécula responsable

1º da formación (replicación) de novos ADNs P³¹ porque o medio xa non é radioactivo;

2º da formación das novas cápsidas proteicas todas non radioactivas S³²;

e polo tanto queda demostrado que o ADN é o material hereditario portador da información xenética.

ACTIVIDADE 02

⁴ Os **bacteriófagos**, tamén chamados abreviadamente **fagos**, son **virus** que atacan e destrúen **bacterias**.

3. XENE: CONCEPTO E ESTRUCTURA.

→ Concepto mendeliano de xene.

Mendel chamou **factor hereditario** á *unidade material hereditaria que transmite os caracteres* (=particularidades morfolóxicas e fisiolóxicas dun individuo) *de pais a fillos*. O que Mendel denominou **factor hereditario** foi renomeado no século XX co apelativo de **xene**.

→ Concepto molecular de xene.

O coñecemento da estrutura molecular do xene permitiu definir o xene como unha **secuencia de desoxirribonucleótidos de ADN** (= un fragmento de ADN) **que contén información para sintetizar unha proteína ou un polipéptido**⁵.

De xeito máis detallado diremos que un **xene** é un **fragmento de ADN que actúa como unha unidade de transcrición** e forma un ARN.

Esta unidade de transcrición ou xene está constituída por:

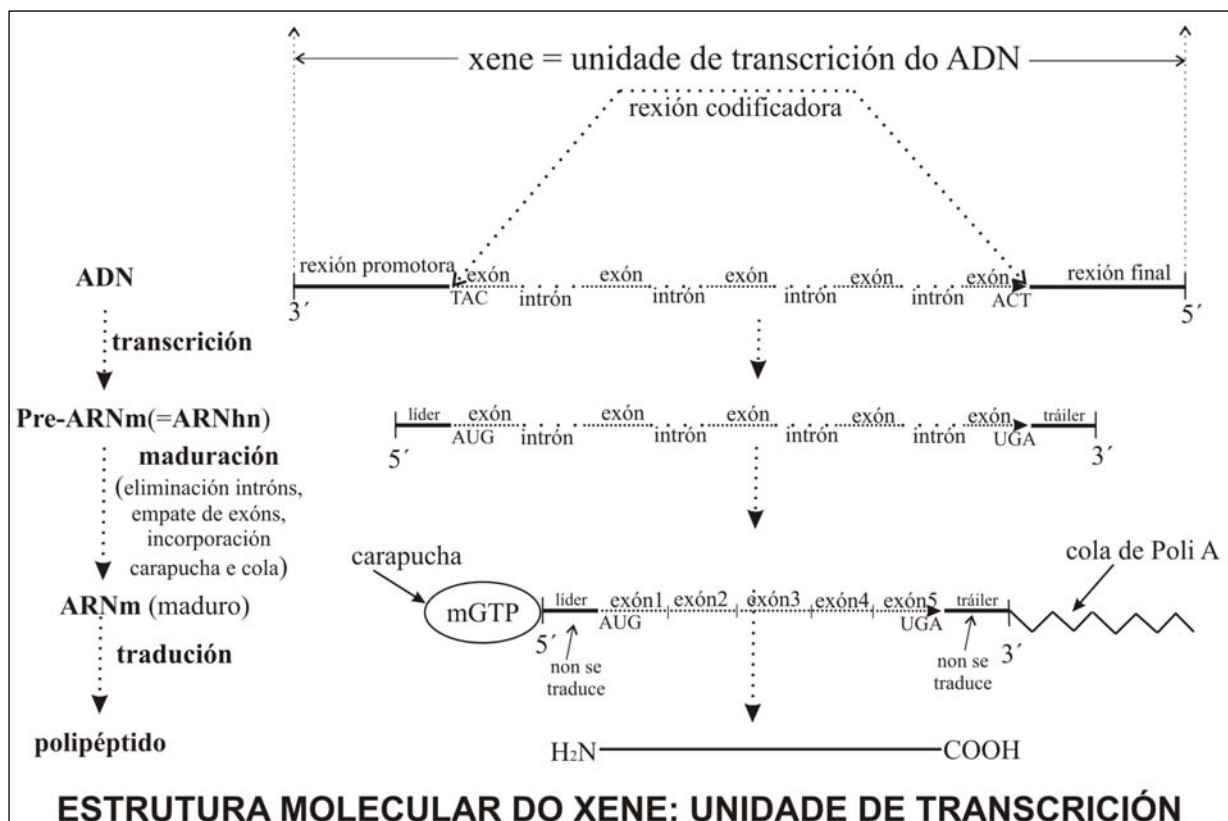
1/ Rexión codificadora.

■ **Nas células eucariotas** contén secuencias informativas, os **exóns** e secuencias non informativas, os **intróns**, que serán eliminadas do ARNm.

■ **Nas células procariotas** non hai intróns, por iso dise que *os xenes das células procariotas son continuos ou non fragmentados*, mentres que *os xenes das células eucariotas son descontinuos ou fragmentados*.

2/ Rexión promotora. Aquí únese a enzima que permite a transcrición (ARN-polimerase).

3/ Rexión final. Aquí están os sinais que permiten rematar co proceso de síntese do ARNm.



⁵ É mellor dicir que o xene contén información para formar un polipéptido (e non unha proteína) porque hai proteínas formadas pola unión de varios polipéptidos (proteínas con estrutura cuaternaria).

4. REPLICACIÓN: A CONSERVACIÓN DA INFORMACIÓN XENÉTICA.

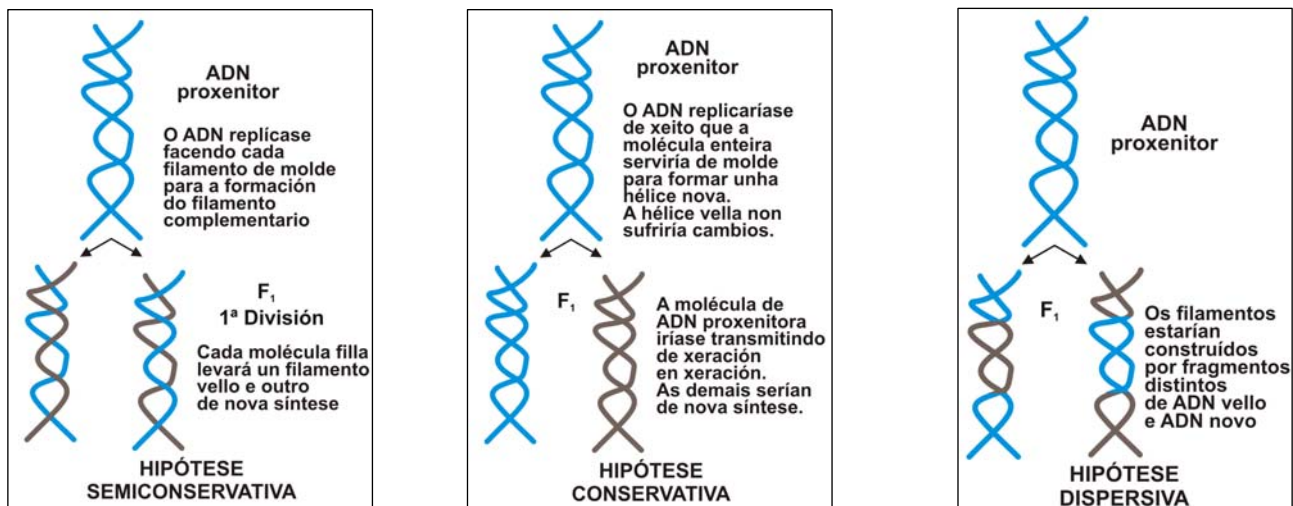
A **replicación** do ADN é o **proceso que permite**, a partir dunha molécula de ADN proxenitora, **sintetizar dúas moléculas idénticas ao ADN orixinal**. Sucede na fase S da interfase e é imprescindible para realizar a división celular.

4.1) REPLICACIÓN SEMICONSERVATIVA DO ADN: O EXPERIMENTO DE MESELSON E STAHL

Como a estrutura do ADN ten unha dupla hélice, os propios *Watson e Crick*, que en 1953 descubriron a estrutura do ADN, propuxeron que o mecanismo da súa replicación consistiría nunha *autocopia*, quer dicir, **cada cadea serviría de molde para a síntese dunha nova cadea complementaria**, de xeito que o resultado final sería a formación de dúas moléculas de ADN fillas idénticas entre si e idénticas tamén á molécula proxenitora.

Este modelo implicaría que, en cada molécula filla, unha das cadeas procedería do ADN proxenitor e a outra formárase por nova síntese. Daquela, para o modelo ser certo, **a replicación do ADN sería semiconservativa**.

Pero tamén foron propostos outros dous posibles modelos de replicación do ADN e, afinal, estas tres hipóteses —1/**Hipótese semiconservativa**, 2/**Hipótese conservativa** e 3/**Hipótese dispersiva**— sometéronse ás probas experimentais deseñadas por *Meselson e Stahl* en 1958. Os seus resultados demostraron que o ADN se replica segundo o **modelo semiconservativo**.

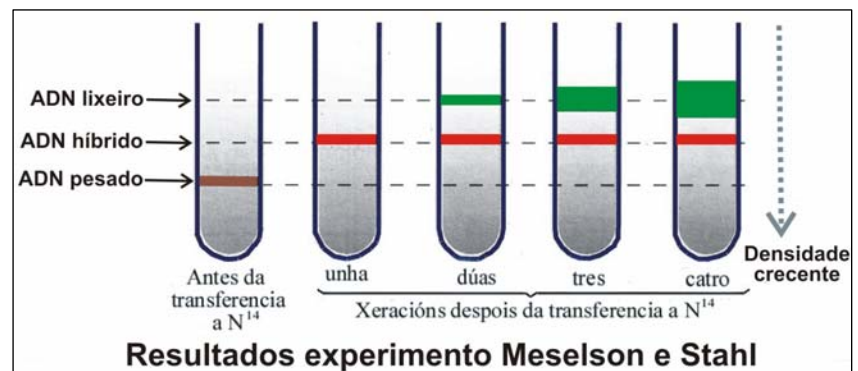


EXPERIMENTO DE MESELSON E STAHL.

Meselson e Stahl cultivaron células de *Escherichia coli* durante bastante tempo nun medio de cultivo cunha fonte de N que contiña o isótopo⁶ pesado N¹⁵, en vez do normal N¹⁴. Así conseguiron que o ADN tivera N¹⁵ en vez de N¹⁴.

O ADN con N¹⁵ posúe unha densidade maior que o ADN con N¹⁴ polo que, a partir dunha mostra de ADN, é posíbel separar por centrifugación ambas formas: o *ADN pesado* [con N¹⁵] sedimenta no tubo de centrifugado nunha posición máis baixa do que o *ADN lixeiro* [con N¹⁴].

Transferiron células con N¹⁵, xeración P (proxenitora), a outro medio de cultivo que só contiña N¹⁴. Cando se duplicaron,



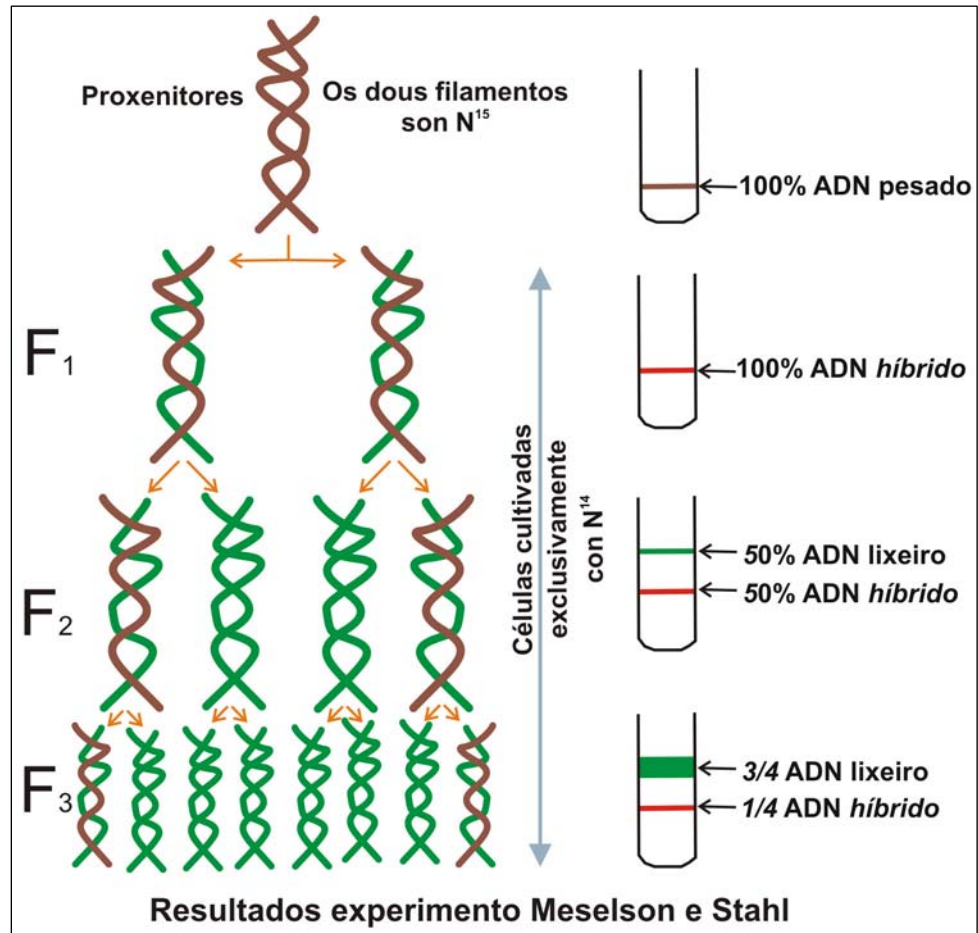
Resultados experimento Meselson e Stahl

⁶ **Isótopos:** Átomos con diferente masa atómica debido a que presentan un número diferente de neutróns. Os isótopos teñen idéntico comportamento químico. Coñécense dous isótopos do N, o N¹⁴, *nitróxeno lixeiro*, e N¹⁵, *nitróxeno pesado*. Se facemos medrar células só con N¹⁴ ou N¹⁵, obteremos células con *ADN lixeiro* ou *ADN pesado*, segundo o N que incorporen ás súas bases nitrogenadas.

primeira xeración filial (F_1), illouse o seu ADN e foi centrifugado, obténdose só unha banda, que se denominou *ADN híbrido*, situada a medio camiño entre o *ADN lixeiro* e o *ADN pesado*. Este resultado era o que cabería agardar se o ADN das células fillas contivera unha cadea con N^{15} (procedente da molécula proxenitora) e outra cadea con N^{14} (de nova síntese). Isto permitiu descartar a hipótese conservativa.

Logo de dúas xeracións, é dicir, cando se obtivo a segunda xeración filial (F_2), observáronse dúas bandas: unha coa densidade igual que a do *ADN lixeiro* e outra coa densidade correspondente ao *ADN híbrido*, cousa que cadraba coa proposta de Watson e Crick, descartándose de vez a hipótese dispersiva. Deste xeito, **Meselson e Stahl demostraron que a replicación (=duplicación) do ADN é semiconservativa**, como fora proposto por *Watson e Crick*.

Meselson e Stahl completaron os seus experimentos con outro ensaio. Isolaron *ADN híbrido* da primeira xeración filial (F_1) e sometérono a desnaturalización con temperaturas de 80°C , separando os dous filamentos do dúplex de ADN. Logo, mediante centrifugación, comprobaron que un filamento era *lixeiro* e o outro *pesado*.



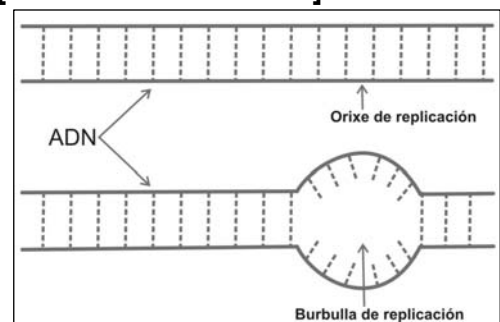
►4.2a) MECANISMO XERAL DE REPLICACIÓN DO ADN [LER E COMPRENDER]

O proceso de replicación é semellante tanto nas células procariotas como nas células eucariotas: cada filamento, cadea ou fibra do **dúplex** (=dobre hélice) de ADN parental sepárase e actúa como molde ou patrón para a síntese dunha nova cadea que terá unha secuencia complementaria de bases. **A complementariedade entre as bases nitroxenadas** ($G \equiv C$ e $A = T$), como acontece nos demais procesos onde se transmite información xenética (transcrición e tradución), **constitúe a esencia da replicación do ADN**.

Vexamos como transcorre:

1) A separación dos filamentos comeza nun punto concreto do cromosoma denominado **orixe de replicación** e a partir deste fórmase unha estrutura denominada **burbulla de replicación** que se estende ao longo da **cromatina** e dá lugar á **galla de replicación** (pola súa forma de Y), onde os dous filamentos do ADN parental están separados e actúan como moldes para a síntese de dúas novas cadeas de ADN.

2) A enzima **helicase** rompe as pontes de hidróxeno do dúplex de ADN e separa as dúas cadeas para que sirvan de molde. Como o desenrolamento do dúplex dá lugar a superenrolamentos no resto da molécula, actúan as enzimas **topoisomerases** que eliminan as tensións. A **topoisomerase I** actúa cortando un filamento e a **topoisomerase II** cortando os dous filamentos. Logo de eliminar as tensións, as topoisomerases empatan as cadeas novamente.



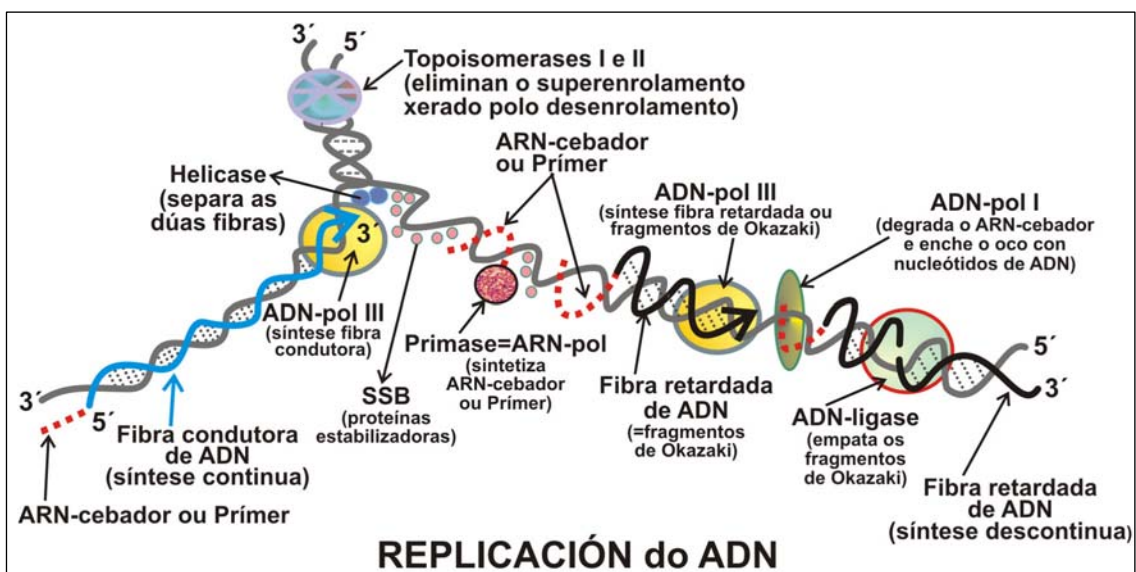
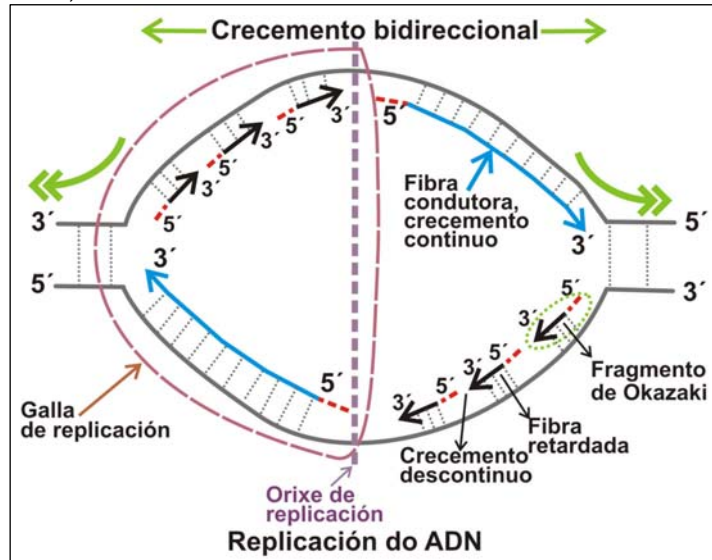
3) Xa separadas as dúas cadeas, as **proteínas SSB** ou **proteínas estabilizadoras** únense ás cadeas simples de ADN para estabilizar a súa separación e evitar o reviramento.

4) O **proceso de replicación é bidireccional**, con **helicases** traballando nun sentido e no outro da **burbulla de replicación**.

5) A enzima **ADN-polimerase**, sintetizadora do filamento polinucleotídico complementario, só actúa en presenza dun **cebador**. Por iso actúa primeiramente a enzima **ARN-polimerase** denominada **primase** que sintetiza un **corto fragmento de ARN** (≈ 10 nucleótidos) denominado **primer** ou **cebador**.

6) Logo intervén a **ADN-polimerase III** que sintetiza unha fibra de ADN a partir de desoxirribonucleótidos trifosfato (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) **sempre na dirección 5' \rightarrow 3'**. Esta fibra é de **crecemento continuo** e denomínase **fibra condutora**.

7) Sobre a outra fibra que é antiparalela, a **ARN-polimerase** (ou **primase**) sintetiza un **primer** ou **cebador** duns 40 nucleótidos de ARN; logo, a **ADN-polimerase III** empalma a continuación uns 1.000 nucleótidos de ADN formándose o chamado **fragmento de Okazaki**, así vaise construíndo a **fibra retardada**. Estes **fragmentos de Okazaki** sintetízanse a medida que se vai abrindo a galla de replicación.



8) Afinal intervén a enzima **ADN-polimerase I** que:

a) elimina os segmentos de ARN-cebador (ou primer) grazas á súa **función exonucleasé** (=pode hidrolizar ácidos nucleicos);

b) enche os ocos que deixa libres o ARN-cebador con nucleótidos de ADN.

Para rematar intervén a enzima **ADN-ligase** que une entre si os diferentes fragmentos. Esta fibra, que se forma empalmado os **fragmentos de Okazaki**, é de **crecemento descontínuo** e recibe o nome de **fibra retardada**.

9) O proceso continúa até a replicación total do ADN.

É importante subliñar que a **ADN-polimerase** cumpre dúas funcións:

a) **Polimerización**; percorre a fibra molde e **selecciona o desoxirribonucleótido-trifosfato que teña a base complementaria á aquela que ofrece o molde**. Nese momento cataliza a súa hidrólise dando lugar a un resto de pirofosfato (P-P) e ao nucleótido-monofosfato que, utilizando a enerxía desprendida na hidrólise, se incorpora mediante un enlace fosfodiéster á cadea de ADN en formación.

b) **Autocorrección**; se detecta un erro no apareamento das bases complementarias elimina o último nucleótido (posúe actividade exonucleasé) e introduce o nucleótido adecuado.

►4.2b) MECANISMO XERAL DE REPLICACIÓN DO ADN: RESUMO [ESTUDAR E MANEXAR]

- ✳ Semellante céls. procariotas/eucariotas
- ✳ Esencia proceso: complementariedade das bases

① **Separación fibras:**

⇒ orixe de replicación

⇒ burbulla de replicación

⇒ galla de replicación

② **Helicase**, rompe pontes de H, separa as fibras:

⇒ desenrolamento

⇒ superenrolamento

⇒ actuación **topoisomerases** I e II eliminan superenrolamento (cortan, eliminan tensións, empatan)

③ **Proteínas estabilizadoras, SSB**: estabilizan separación dúas fibras molde

④ **Replicación**: proceso bidireccional

⑤ **Formación da fibra condutora** (medranza continua, sempre sentido 5'→3'⁷)

⇒ ARN-polimerase ou Primase → formación ARN-cebador ou Prímer

⇒ ADN-polimerase III, formación da fibra condutora

⑥ **Formación da fibra retardada** (medranza descontinua, sempre sentido 5'→3')

⇒ ARN-polimerase ou Primase → formación ARN-cebador ou Prímer

⇒ ADN-polimerase III → 1.000 desoxirribonucleótidos: **fragmentos de Okazaki**

⇒ ADN-polimerase I

- elimina o cebador, función exonuclease (hidroliza ácidos nucleicos)
- enche con desoxirribonucleótidos os ocos que deixa o cebador

⇒ ADN-ligase, une os fragmentos de Okazaki

- ✳ Dúas funcións da ADN-polimerase: -polimerización
-autocorrección

ACTIVIDADE 03

⁷ A **polaridade dun filamento** ou **cadea** dun ácido nucleico, sexa **ADN** ou **ARN**, indica o **sentido de orientación dos seus dous extremos libres**: 5' e 3'. Na posición 5' do C da pentosa está situado o último fosfato do filamento, e na posición 3' da pentosa do outro extremo estaría só un -OH.

5. TRANSCRICIÓN: PRIMEIRA ETAPA DA EXPRESIÓN DA INFORMACIÓN XÉNICA.

A **transcrición** é a **síntese e procesamento** (≠maduración) do **ARN**. Consiste no **paso dunha secuencia de ADN a outra de ARN** (ARNr, ARNm ou ARNt).

A **transcrición** é a primeira etapa da **expresión xénica** (=conversión da información xenética que contén o xene nunha proteína).

►5.1a) MECANISMO XERAL DE TRANSCRICIÓN [LER E COMPRENDER]

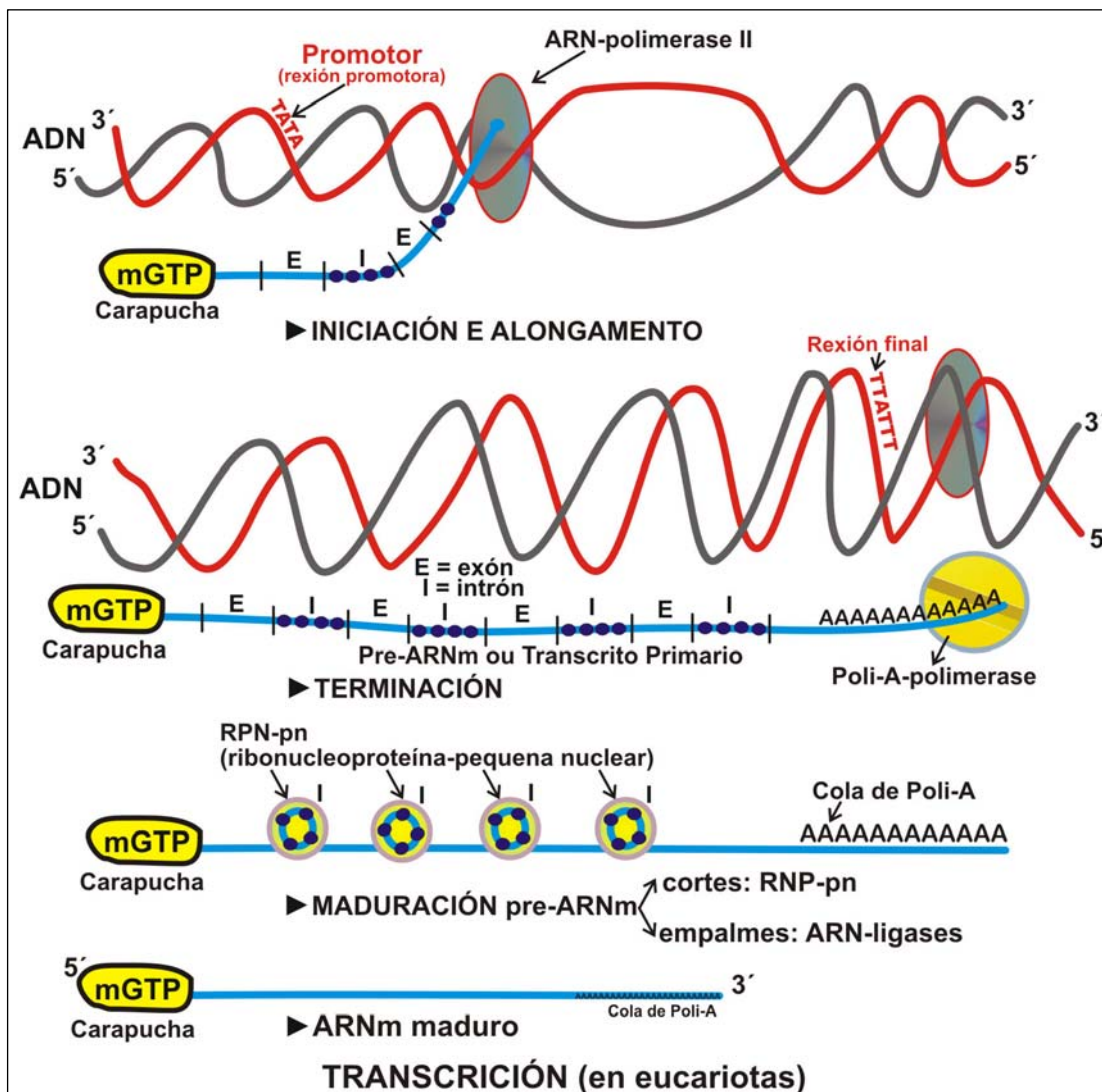
Quen intervéñen na transcrición?

- Fibra molde de ADN
- Ribonucleótidos-trifosfato de A, G, C e U
- ARN-polimerases (I, II, III)
- ARN-ligases

A **TRANSCRICIÓN NAS CÉLULAS EUCARIOTAS** transcorre nestes pasos:

1) **Iniciación**. O inicio da transcrición vén marcado no xene polo chamado **promotor** ou **rexión promotora** que está definido pola **secuencia TATA**.

2) **Alongamento**. Despois de unirse ao **promotor** a enzima **ARN-polimerase II** (para a síntese do ARNm) vaia desprazando sobre a **rexión codificadora do xene** ou fibra molde do ADN en dirección 3'→5' e, ao mesmo tempo, vai sintetizando o ARN complementario na dirección antiparalela 5'→3', é dicir, ten lugar a **polimerización do ARN**. Unha vez transcritos uns 30 nucleótidos engádesse no extremo 5' a **carapucha** de **metil-guanosina-trifosfato** (mGTP). A síntese do **ARNm** continuará transcribindo tanto as secuencias xénicas con información, **exóns**, como as secuencias non informativas, **intróns**.



3) **Terminación.** A síntese de ARNm remata cando aparece no xene a **rexión final**, que se corresponde coa *secuencia TTATTT*. Pouco despois actúa a enzima **poli-A-polimerase** que **engade no extremo 3' un segmento de uns 200 ribonucleótidos de adenina**, este segmento recibe o nome de **cola** ou **poli A**; este ARN inmaturo formado coñécese con calquera destes tres nomes:

pre-ARNm = ARN-hn = transcrito primario

4) **Maduración** ou **Procesamento**. Este **pre-ARNm** ou **transcrito primario** vai ser madurecido por dúas *enzimas* que eliminarán os fragmentos non informativos que chamamos **intróns**:

* **Ribonucleoproteína pequena nuclear, RNP-pn**, corta e elimina os intróns;

* As **ARN-ligases** empalman os exóns.

►5.1b) MECANISMO XERAL DE TRANSCRICIÓN: RESUMO [ESTUDAR E MANEXAR]

⊛ Transcrición: 1ª etapa da expresión xénica
(información do xene→proteína→carácter)□

Nas células eucariotas

①Iniciación

►►Promotor (Rexión promotora)□

⇒secuencia TATA

②Alongamento

►►ARN-polimerase II

⇒únese ao promotor

⇒desprázase sobre fibra ADN molde (3'→5'), **rexión codificadora** do xene

⇒sintetiza ARNm complementario en sentido 5'→3' (polimerización ARNm)□

⇒engádesse a **carapucha** m-GTP no extremo 5' (empatados 30 ribonucleótidos)□

③Terminación

►►Rexión final

⇒secuencia TTATTT

⇒enzima **poli A-polimerase**, engade no extremo 3' a **cola** (200 nucleótidos de Adenina)

⇒fórmase o **pre-ARNm = ARN-hn = transcrito primario**

④Maduración ou procesamento

►►pre-ARNm

⇒eliminación intróns

•2 enzimas →**RNP-pn**, corta e elimina intróns

→**ARN-ligases**, empatan os exóns

O proceso de transcrición nas células eucariotas acontece no núcleo celular, no nucleoplasma.

5.2) PRINCIPAIS DIFERENZAS NA TRANSCRICIÓN ENTRE CÉLULAS EUCARIOTAS E CÉLULAS PROCARIOTAS

➤ ARN-polimerases:

- Eucariotas: Hai tres ARN-polimerases diferentes.
- Procariotas: Unha soa ARN-polimerase sintetiza todos os ARN.

➤ ARNm:

- Eucariotas: é **monocistrónico** (leva copia dun segmento de ADN con información para fabricar só unha proteína⁸); **precisa dun proceso de maduración.**
- Procariotas: **moitos ARNm son policistrónicos** (levan información para sintetizar máis de unha proteína); **non precisa proceso de maduración** pois carece de exóns e intróns.

➤ Lugar da transcrición:

- Eucariotas: **no nucleoplasma**; unha vez formados os ARN atravesan a membrana nuclear polos poros nucleares e actúan no hialoplasma.
- Procariotas: **no hialoplasma**; o ARNm pode iniciar a súa tradución mesmo antes de que remate totalmente a transcrición xa que as células procariotas non presentan nin membrana nuclear, nin núcleo diferenciado e, ademais, o ARNm non necesita madurar por carecer de intróns.

5.3) RETROTRANSCRICIÓN OU REVERSOTRANSCRICIÓN

A **retrotranscrición** é o proceso que permite sintetizar ADN a partir da información contida no ARN grazas á acción da enzima **retrotranscritase**, **reversotranscritase** ou **transcritase inversa**. Os **retrovirus** son un tipo de virus, como é o caso do VIH (Virus da Inmunodeficiencia Humana ou virus da SIDA), que conteñen ARN e retrotranscritase.

6. O CÓDIGO XENÉTICO OU CLAVE XENÉTICA.

Sabemos que a través do **ARNm** a información xenética do ADN é transportada até os **ribosomas** onde o proceso de **tradución** permite que a información xenética se exprese coa síntese de proteínas.

O código xenético é un sistema de información que relaciona a secuencia de bases dun ARNm –que procede dun ADN– coa secuencia de aminoácidos da proteína resultante.

As **características básicas** do código xenético son:

- 1) Constituído por **tripletes de bases, os codóns, cada triplete codifica un aminoácido**. Estes codóns áchanse na secuencia de bases do ARNm que é un transcrito do ADN.
- 2) **Os codóns non están solapados senón que se dispoñen de forma contigua**, sen que nada os separe.
- 3) O código xenético é un **código dexenerado** porque **un aminoácido está codificado por máis de un triplete** (agás a metionina e o triptófano).
- 4) Hai **tripletes de inicio** da lectura da mensaxe e **tripletes mudos ou de parada**. O **código xenético está fundamentado na relación de correspondencia que hai entre a secuencia de tripletes ou codóns e a secuencia de aminoácidos**.
- 5) O código xenético é **dexenerado pero non ambiguo**: dexenerado porque existen varios tripletes ou codóns que codifican para o mesmo aminoácido, pero **non é ambiguo** porque un mesmo triplete non codifica para aminoácidos distintos: **a cada triplete correspóndelle só un aminoácido**.

⁸ Nas células eucariotas comprobouse ultimamente que **un xene pode codificar varias proteínas** pois pode madurar de diferentes maneiras dependendo de como se eliminan os intróns. Sábese tamén que **varios xenes poden estar implicados na síntese dunha mesma proteína**.



- 6) O código xenético é universal pero con excepcións, quer dicir, o mesmo código é utilizado por todos os seres vivos, desde as bacterias até os organismos pluricelulares máis complexos. Pero tamén é certo que existen algunhas excepcións como acontece coas **mitocondrias** e algúns **protozoos ciliados**, que presentan un código xenético con pequenas variantes.

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

| | |
|--------------------------------|--|
| Terceira Letra (extremo 3') | |
|--------------------------------|--|

CÓDIGO XENÉTICO ou CLAVE XENÉTICA

Severo Ochoa iniciou o desciframento ou decodificación do código xenético logo de descubrir a enzima **polinucleótido-fosforilase**, enzima que **pode unir ribonucleótidos sen necesidade de molde**.

Deste xeito sintetizou un ARN de só un ribonucleótido, por exemplo o U, *poli-U*, e en presenza de todos os aminoácidos sintetizou un polipéptido formado exclusivamente por *fenilalanina*. Así quedou claro que *o codón da fenilalanina era UUU*.

Un *poli-A* daba lugar a un polipéptido de *lisina* [codón AAA], e un *poli-C* un polipéptido de *prolina* [codón CCC]. Após foise descubrindo todo o código xenético e quedou confirmada a **colinearidade entre os tripletes de nucleótidos e os aminoácidos**.

O código xenético presenta un alfabeto de 4 letras: A, U, G e C, e, xa que logo, poden formarse $4 \cdot 4 \cdot 4 = 64$ palabras de tres letras (tripletes).

Existen 64 tripletes diferentes para codificar 20 aminoácidos e polo tanto existirán varios tripletes diferentes para codificar un mesmo aminoácido. Este feito coñécese como **dexeneración do código xenético**, quer dicir, o código xenético está dexenerado e isto representa unha vantaxe porque se se produce un erro na copia dun nucleótido poderíase manter o mesmo aminoácido na proteína.

Ademais, de só existiren 20 tripletes con sentido, teríamos $64 - 20 = 44$ tripletes sen sentido e iso provocaría que calquera pequeno erro desencadeara a interrupción da biosíntese. Coa clave actual habería un aminoácido diferente e iso, agás que pertencera ao centro activo dunha enzima, non tería por que ser demasiado perigoso.

ACTIVIDADE 04

7. TRADUCIÓN: SEGUNDA ETAPA DA EXPRESIÓN DA INFORMACIÓN XÉNICA.

A tradución é a etapa da expresión xénica na que se biosintetiza a proteína.

►7.1a) MECANISMO XERAL DE TRADUCIÓN [LER E COMPRENDER]

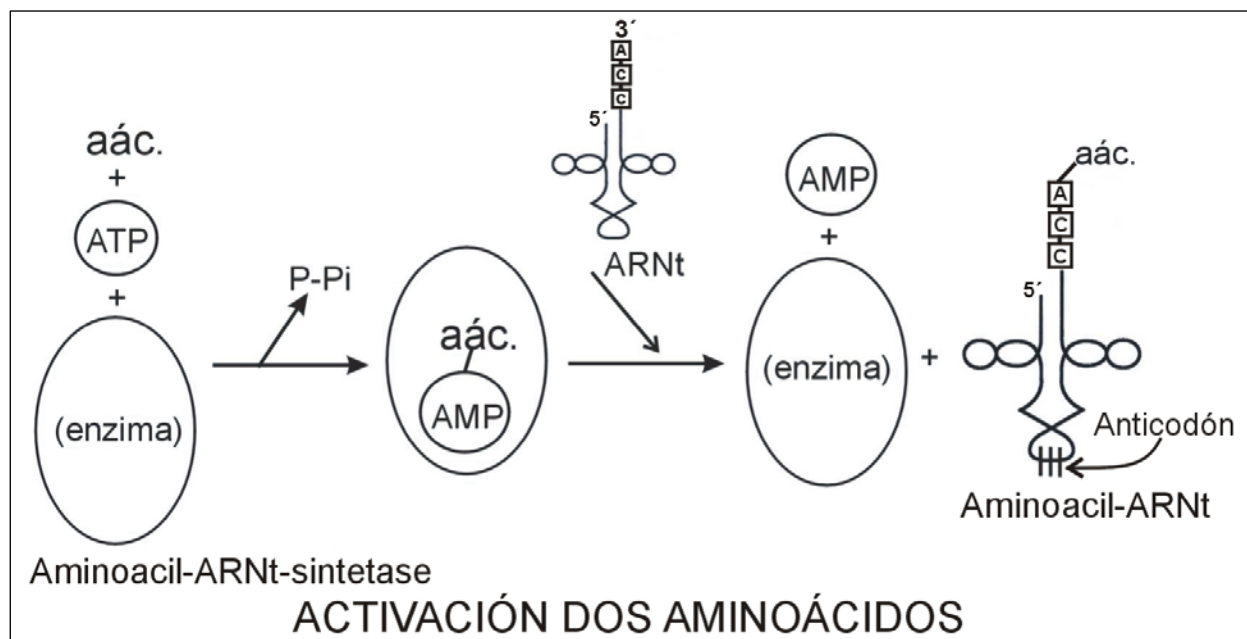
Distinguimos dous pasos:

A) Activación dos aminoácidos.

B) Fases da tradución propiamente ditas.

A) ACTIVACIÓN DOS AMINOÁCIDOS

- Transcorre no **citosol**.
- Obxectivo: unión dos distintos aás. con cadanseu ARNt específico para dar os **aminoacil-ARNt**.
- Existe unha enzima específica para cada aá. chamada **aminoacil-ARNt-sintetase**.
- Precísase **achega enerxética** do ATP.



B) FASES DA TRADUCIÓN

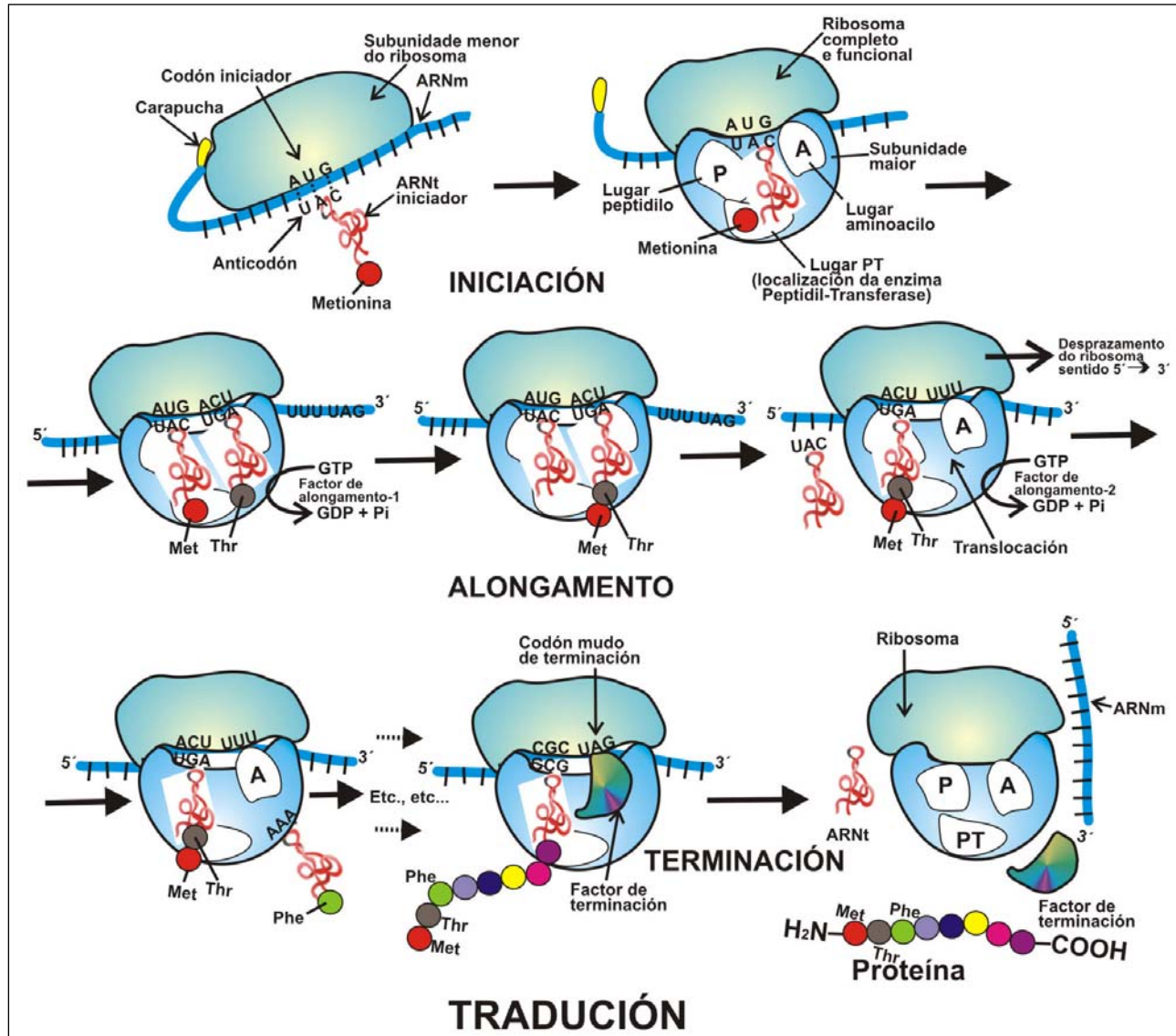
►INICIACIÓN

- O ARNm únese á subunidade pequena do ribosoma, **complexo de iniciación**, e sobre o **sinál iniciador** da tradución, que é o **codón AUG**, asóciase o primeiro aminoacil-ARNt (que en eucariotas achega *metionina* e en procariotas achega *formil-metionina*) co seu **anticodón** (UAC).
- Únese a subunidade grande do ribosoma onde atopamos tres lugares específicos:
 - ★ **lugar P** (peptidilo) que ocupa o ARNt^{Met} (=aminoacil-ARNt que achega o aá. metionina)
 - ★ **lugar A** (aminoacilo) que está libre para recibir ao segundo ARNt co seu aá. correspondente.
 - ★ **lugar PT** onde se asociará a enzima **peptidil-transferase** que cataliza a unión dos aminoácidos.
- Necesítase tamén enerxía proporcionada pola GTP e a intervención **de factores de iniciación** (FI).

►ALONGAMENTO DA CADEA

- **Unión dos sucesivos aás.** que se van engadindo á cadea polipeptídica no seo dos ribosomas.
- A unión de cada aminoácido supón os seguintes pasos:
 - ★ O lugar P está ocupado inicialmente polo ARNt^{Met}. O lugar A, que está baleiro, acepta o aminoacil-ARNt complementario do seguinte codón, ACU, do ARNm, que neste caso é o ARNt^{Thr} co seu anticodón UGA. Necesítase a presenza do **factor de alongamento-1** (FA-1) e a **enerxía** subministrada pola GTP.
 - ★ **Formación dun enlace peptídico** entre os dous primeiros aminoácidos, neste caso a Met e a Thr. Esta reacción é catalizada pola enzima **peptidil-transferase asentada no lugar PT**. Como sucede? A Met rompe o seu enlace co ARNt e establece o enlace peptídico facendo reaccionar o seu grupo carboxilo (-COOH) co grupo amino (-NH₂) da Thr. O resultado é a formación dun **dipéptido** (*Met-Thr*) unido ao ARNt da treonina (Thr) e asentado no lugar A. **O enlace peptídico sempre se establece entre o -COOH do último aá. da cadea polipeptídica e o -NH₂ do aminoácido de nova incorporación.**

★ O ribosoma desprázase tres nucleótidos ao longo do ARNm na dirección 5'→3'. Este desprazamento provoca a expulsión do ARNt da Met do lugar P e a **translocación** de todo o *complexo peptidil-ARNt-ARNm* do lugar A ao lugar P. O lugar A queda libre e recibirá outro aminoacil-ARNt (que no caso que comentamos será O ARNt^{Phe}). Necesítase a presenza do **factor de alongamento-2** (FA-2) e a **enerxía** subministrada pola GTP.



► TERMINACIÓN

- Pasados varios ciclos de alongamento, a síntese da cadea remata **ao aparecer no lugar A un dos tres codóns de terminación do ARNm** (UAA, UAG, UGA). Neste caso un **factor de terminación** (FT) únese ao codón de terminación (UAG no noso caso) e impide que se asente no lugar A calquera outro aminoacil-ARNt.
- Prodúcese logo a ruptura do enlace entre a proteína e o ARNt, quedando a cadea proteica cos seus dous extremos N-terminal e C-terminal libres.

A acción antibacteriana de moitos antibióticos débese a que inhiben a tradución.

►7.1b) MECANISMO XERAL DE TRADUCIÓN: RESUMO [ESTUDAR E MANEXAR]

⊛ Tradución: biosíntese de proteínas

✓Activación aminoácidos

①Unión aminoácidos con cadanseu ARNt

⇒formación **aminoacil-ARNt**

⇒no citosol ou hialoplasma

⇒precísase: **aminoacil-ARNt-sintetase** (enzima) + **ATP** (enerxía)

✓Fases da tradución

①Iniciación

■Complexo de iniciación

⇒**subunidade pequena**+**sinal iniciador** do ARNm (AUG)+**aminoacil-ARNt^{Met}**

⇒unión **subunidade grande**, que ten tres lugares:

●**lugar P (peptidilo)**, ocupado polo aminoacil-ARNt^{Met} (=ARNt^{Met})

●**lugar A (aminoacilo)**, libre para recibir o segundo aminoacil-ARNt

●**lugar PT**, onde se asenta a enzima **peptidil-transferase** (une os aás.)

⇒**GTP** (enerxía)+ **factores de iniciación** (FI, son proteínas)

②Alongamento da cadea

■Unión dos sucesivos aminoácidos; estes son os pasos:

⇒lugar P, ocupado polo ARNt^{Met}

⇒lugar A, **codón** ACU, é ocupado polo ARNt^{Thr} co seu **anticodón** UGA

⇒GTP + factor de alongamento-1 (FA-1)

⇒**formación dun enlace peptídico** coa intervención da **peptidil-transferase**

⇒**desprazamento do ribosoma** sobre o ARNm, tres nucleótidos, sentido 5'→3'

●**expulsión** do ARNt da Met

●**translocación** do complexo peptidil-ARNt-ARNm do lugar A ao P

●lugar A queda libre e recibe, neste caso, ao ARNt^{Phe}

●GTP + factor de alongamento-2 (FA-2)

③Terminación da síntese

■Ao aparecer calquera dos tres codóns mudos -de terminación-

⇒codón mudo (UAA, UAG, UGA)

⇒factor de terminación (FT) sitúase no lugar A

⇒sóltese a cadea polipeptídica acabada de formar

⇒disociación do ribosoma nas súas dúas subunidades.

ACTIVIDADE 05