



GUÍA INFORMACIÓN GENÉTICA

Descubriendo los ácidos nucleicos.

Los ácidos nucleicos fueron aislados por primera vez por el bioquímico suizo Miescher en 1869. Durante su investigación de las funciones del núcleo, Miescher extrajo un material de una fracción nuclear cruda de leucocitos presentes en pus obtenido de vendajes quirúrgicos. El material extraído tenía una Mr alta, era ácido y contenía cantidades apreciables de fósforo. Miescher lo nombró **nucleína**. Ahora se sabe que es un complejo de un ácido nucleico y una proteína (lo que actualmente se llama nucleoproteína).

De las experiencias de trasplante de núcleo realizadas tanto en células animales como en células vegetales, se ha demostrado que el núcleo es la estructura que contiene la información genética en las células eucariontes. Para responder a esto se ha planteado la siguiente interrogante:

¿Qué molécula es la responsable de la transmisión hereditaria?

La evidencia experimental que permitió dilucidar la naturaleza química de la información hereditaria fueron los experimentos de TRANSFORMACIÓN GENÉTICA, realizados en bacterias por el biólogo inglés F. Griffith en 1928.

Griffith estudió los cultivos de neumococo (bacteria que causa la neumonía en el hombre, *Streptococcus pneumoniae*), encontrando una cepa que producía la enfermedad y otra que no la causaba, por lo que presentaban morfología diferente:

- A. Una era la **CEPA S**: colonias de superficie lisa y brillante, presentan una envoltura o cápsula de polisacáridos, cepa que produce la enfermedad, por lo tanto presentan un carácter de virulencia o patogenicidad.
- B. Otra, la **CEPA R**: colonias de superficie rugosa y de color mate, no presentan cápsula por lo no son patógenas, es decir no producen la enfermedad.





Griffith al inyectar las cepas S y R a ratones de laboratorio observó que:

- la cepa S poseía cápsula y provocaba la muerte de los ratones
- la cepa R carecía de cápsula y era inofensiva para los ratones
- la cepa R se originaba por mutaciones en la cepa virulenta S.
- el material genético es un portador activo de la información genética, por lo tanto:
 - Si se calentaba la cepa S hasta destruirla y se inyectaba en los ratones estos no desarrollaban la enfermedad, pero si se inyectaba la cepa S muerta y la inofensiva R los ratones morían.
 - Griffith pudo comprobar que las nuevas bacterias S vivas presentaban propiedades de la cepa R y de la cepa S por lo que demostró que la información hereditaria se había transmitido de una cepa a otra mientras habían estado juntas.

Como conclusión, Griffith planteó dos hipótesis:

- 1.- La cepa S muerta por el calor fue reanimada o iresucitó!
- 2.- La cepa R viva fue modificada por algún "**factor transformador**"

ACTIVIDAD N° 1.

1. ¿Qué ventajas presenta el uso de bacterias para este tipo de experimento?

2. ¿Qué ocurre con las bacterias cuando se exponen a altas temperaturas?

3. ¿Por qué al mezclar bacterias encapsuladas muertas con bacterias no encapsuladas vivas el ratón muere?

4. ¿A qué se llama factor de transformación?

5. ¿Por qué las bacterias hijas resultantes heredaban el fenotipo virulento?

6. ¿Cuál es la naturaleza química de lo que causa la transformación?

En 1944 los biólogos americanos Avery, MacLeod y McCarty separaron los distintos tipos de moléculas que se encuentran en las células S muertas y estudiaron su capacidad de



transformación por separado. Estas pruebas demostraron en primer lugar que los polisacáridos no transformaban a las células rugosas, por lo tanto la cubierta de polisacárido, aunque claramente estaba implicada en la virulencia, corresponde solamente a la expresión fenotípica de dicha virulencia. De acuerdo con todo esto indique:

ACTIVIDAD N° 2.

¿De qué forma los investigadores antes mencionados demostraron que el PRINCIPIO TRANSFORMANTE corresponde al ADN y no a otras sustancias orgánicas, observe la imagen y explique

Experimento de Avery, MacLeod y McCarty
¿Cuál es la naturaleza química del principio transformante?



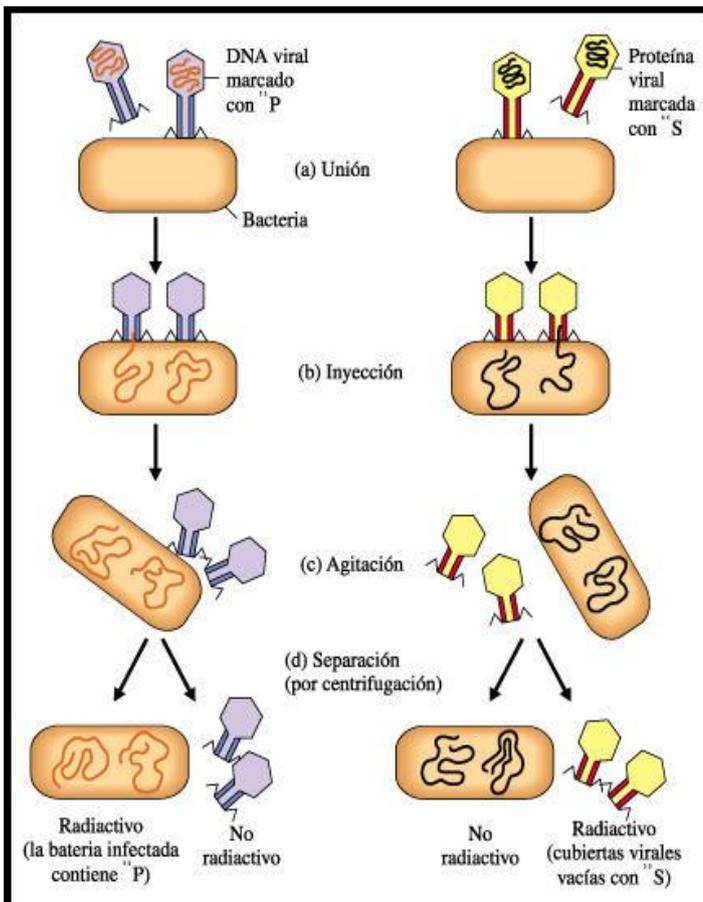
Tratamiento para eliminar...	efecto
proteínas	transformación
ARN	transformación
polisacáridos	transformación
lípidos	transformación
ADN	ausencia de transformación

¿Transformación?

Los experimentos de Avery y sus colaboradores eran definitivos, pero muchos científicos se resistieron a aceptar como material genético al ADN. La prueba definitiva se obtuvo en 1952 por Alfred Hershey y Martha Chase, usando el fago T2.

ACTIVIDAD N° 3

1. ¿Qué es un fago?





2. Describa la experiencia realizada por estos investigadores.

3. Analice la investigación.

4. ¿Qué conclusiones pudieron obtener estos estudiosos?

COMPOSICIÓN MOLECULAR DE LOS ACIDOS NUCLEICOS.

Los **ácidos nucleicos** son macromoléculas, polímeros formados por la repetición de monómeros llamados nucleótidos, unidos mediante enlaces fosfodiéster. Se forman, así, largas cadenas o polinucleótidos, lo que hace que algunas de estas moléculas lleguen a alcanzar tamaños gigantes (de millones de nucleótidos de largo).

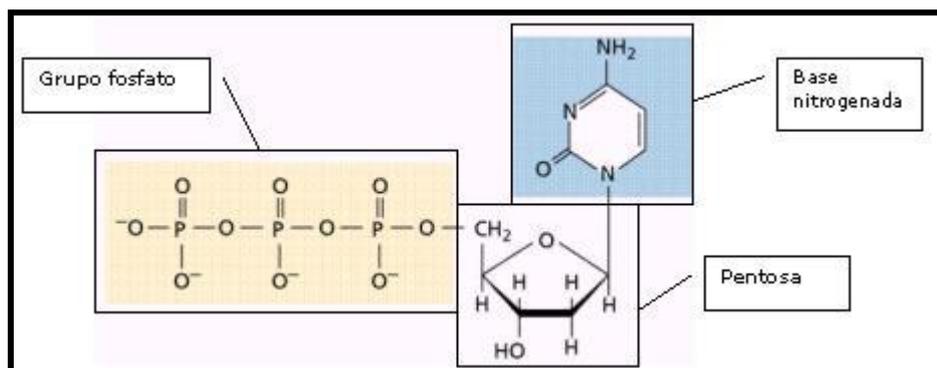
Actualmente se sabe que los organismos procariontes y eucariontes, contienen tanto ADN como ARN. En contraste, los virus pueden contener ADN o ARN, pero NO ambos.

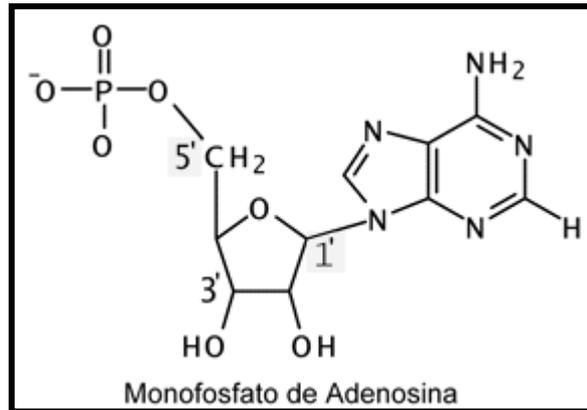
Existen dos tipos de ácidos nucleicos: **ADN** (ácido desoxirribonucleico) y **ARN** (ácido ribonucleico),

Los bloques de construcción son los **Nucleótidos**. El ADN (ácido desoxirribonucleico) es un polímero de alto peso molecular formado por la combinación de cuatro monómeros. Cada nucleótido está conformado por moléculas más pequeñas:

- una base nitrogenada (purina o pirimidina),
- un azúcar (desoxirribosa) y (ribosa) y
- un grupo fosfato

Los cuatro tipos de nucleótidos difieren solamente en el tipo de base nitrogenada, la cual puede ser una de las purinas (**adenina o guanina**) o una de las pirimidinas (**citocina, uracilo y timina**).





Esquema de un nucleótido

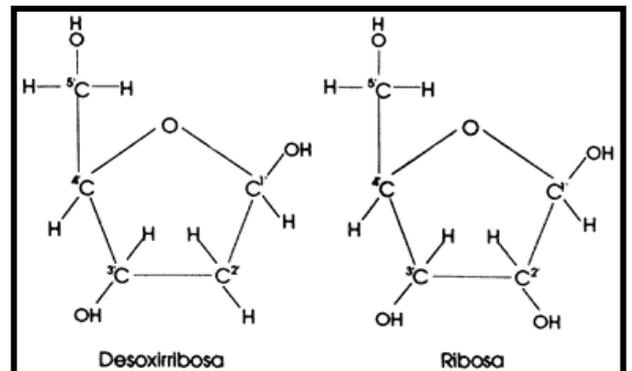
Si analizamos el tipo de azúcar:

El ARN contiene un azúcar **D-ribosa** y el ADN contiene **2D-Desoxirribosa**.

Ambos azúcares tienen configuración de anillo.

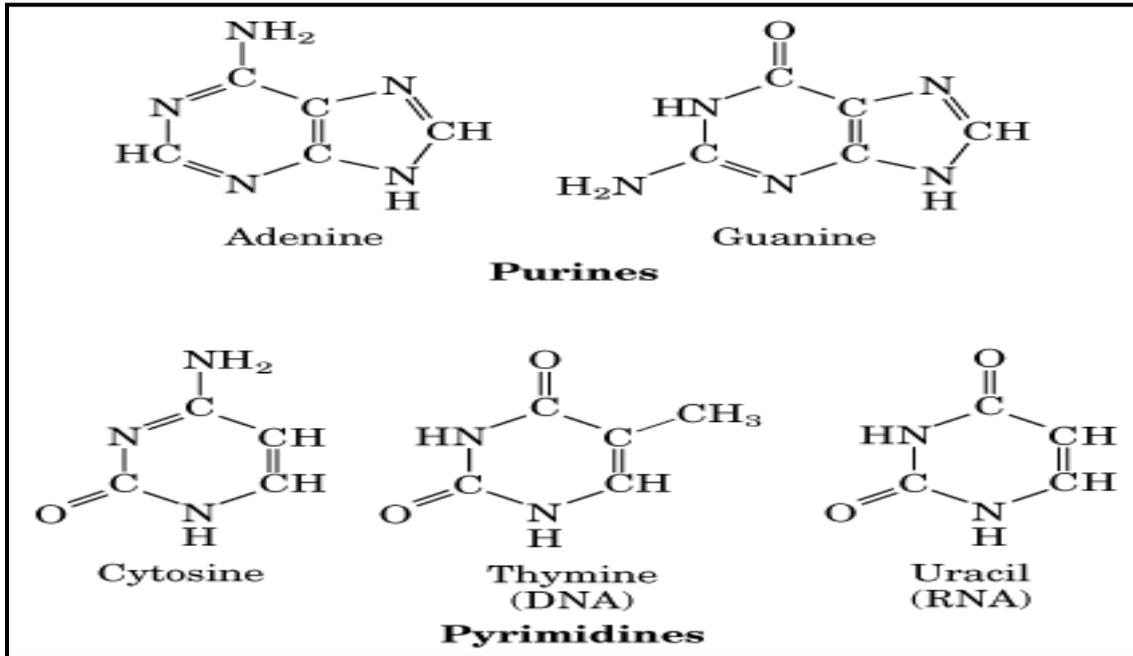
ACTIVIDAD N° 4: Observa y luego responde:

¿Qué diferencias puedes establecer entre ambos azúcares?



Las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos pueden ser:

- **Purinas o púricas:** Poseen 2 anillos y son ADENINA (A) y GUANINA (G)
- **Pirimidinas o pirimídicas:** Poseen un anillo y son CITOSINA (C) TIMINA (T) URACILO (U).



ACTIVIDAD N° 5.

1. ¿Qué moléculas forman un nucleótido?

2. ¿Qué tipos de enlaces químicos están presentes en el DNA?

3. Si una cadena de DNA está conformada por las siguientes secuencias de bases nitrogenadas: ATCGAA, ¿cuál es la cadena complementaria?

Un avance en conocer como estaban organizados los nucleótidos en el ADN fue realizado por: Erwin Chargaff en 1950, quien rompió moléculas de ADN y separo las bases. Realiza un estudio de la composición de bases del ADN expresadas como porcentaje del total para diferentes especies.

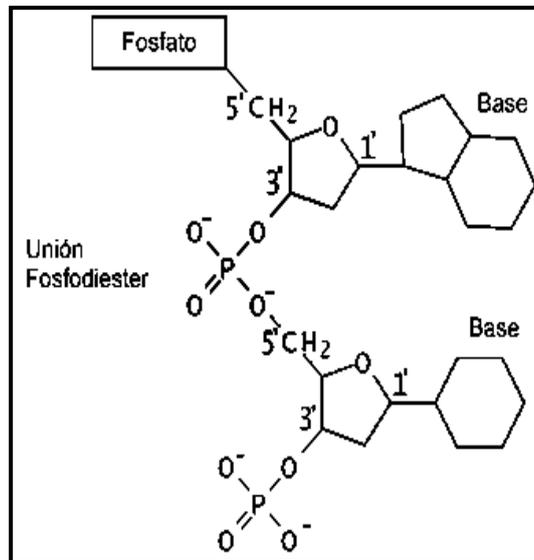
Especie	PURINAS		PIRIMIDINAS	
	Adenina	Guanina	Citosina	Timina
Hombre	30.4	19.6	19.9	30.1
Buey	29.0	20.2	21.2	28.7
Bacteria	24.7	26.0	25.7	23.6
Erizo de mar	32.8	17.7	17.3	32.1



Observa la tabla ¿puedes establecer alguna relación entre las bases?

FACTORES QUE ESTABILIZAN EL ADN.

¿Cómo se unen los nucleótidos entre sí?

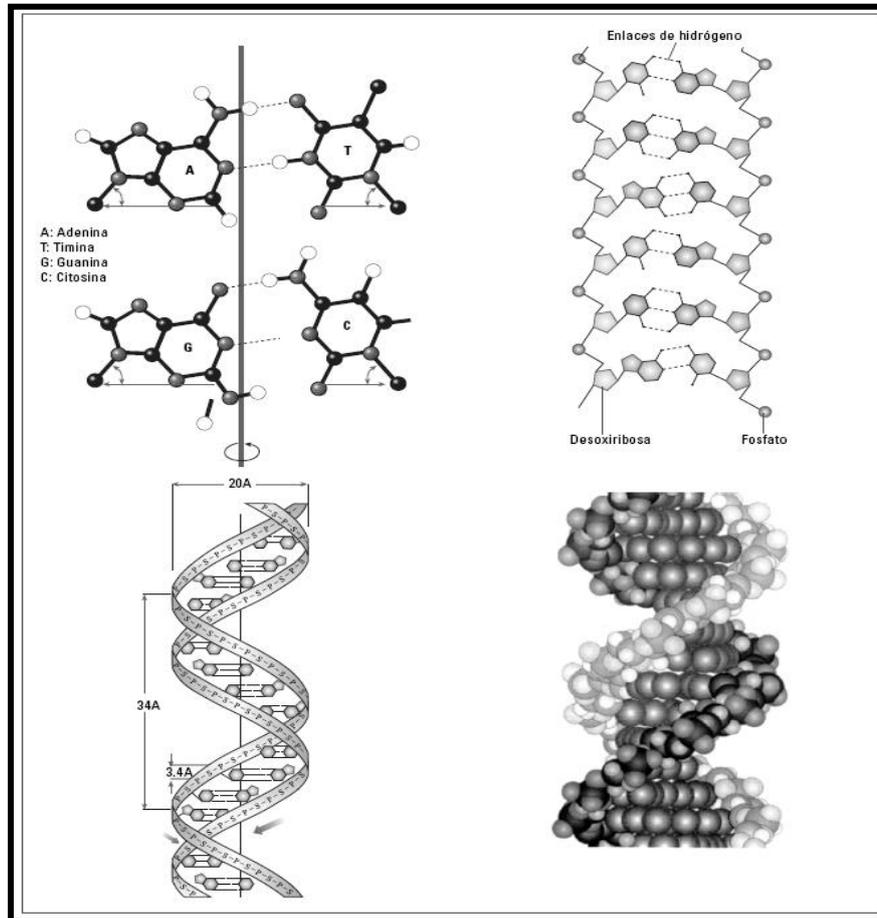


ESTRUCTURA DEL ADN

El modelo estructural presentado por Watson y Crick para la molécula del ADN es la siguiente:

1. Tiene 2 hebras de cadenas enrolladas en forma de **doble hélice**.
2. Las dos cadenas no son iguales, son complementarias, una base **púrica** se aparea con una base **pirimidica** (G-C y A-T).
3. La guanina y la citosina se unen mediante un puente **triple de hidrogeno** y la adenina y timina con un puente **doble de hidrogeno**.
4. Las cadenas están orientadas en forma contraria (**antiparalelas**), una va en dirección azúcar-fosfato 3'---5' la otra va fosfato-azúcar 5'---3'.
5. La molécula de ADN es **bastante larga**, pero su diámetro es pequeño (0,000002 cm.)

Para su estudio emplearon los rayos X y propusieron un modelo para la estructura del ADN: este estaría formado por dos cadenas de polinucleótidos con tendencia a girar hacia la derecha, formando una doble hélice alrededor de un eje central. Su estructura se asemeja a una escala con los peldaños formados por los pares de bases nitrogenadas y los lados de la escala hecha de fosfatos y de azúcares. Es una molécula con una estructura tridimensional en alfa-hélice y cada filamento con una orientación antiparalela.



ACTIVIDAD N° 6:

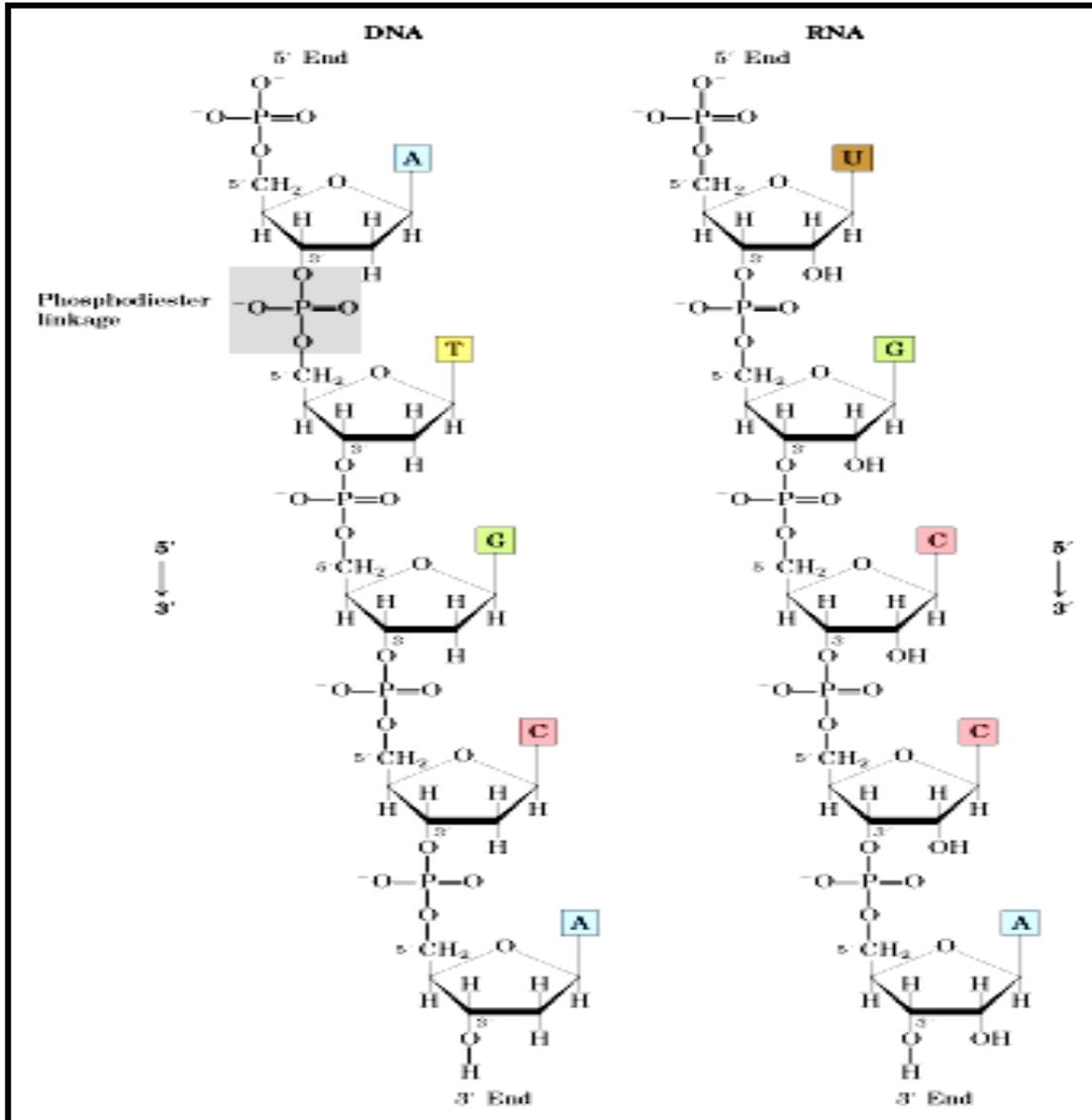
1. ¿Cual es el ancho entre las bases nitrogenadas?

2. ¿Cual es la distancia entre cada vuelta de la hélice?

3. ¿Cuantos pares de bases nitrogenadas hay en cada vuelta de la hélice?



DIFERENCIAS BÁSICAS ENTRE ADN Y ARN



ADN	ARN
Posee azúcar desoxirribosa	Posee azúcar ribosa
Posee la base pirimidica Timina (T)	Posee la base pirimidica Uracilo (U)
La molécula es doble (bicatenaria)	La molécula es monocatenaria
La molécula es helicoidal (escalera de caracol)	La molécula es lineal



REPLICACIÓN DEL ADN

Una vez que se comprobó que el ADN era el material hereditario y se descifró su estructura, lo que quedaba era determinar cómo esta molécula copiaba su información, es decir, su replicación. En 1953, James Watson y Francis Crick propusieron el **modelo semiconservativo** o bidireccional. Este modelo supone que el ADN doble hélice separa sus dos cadenas y cada una sirve de modelo para sintetizar una nueva cadena siguiendo las reglas de especificidad (guanina con citosina y adenina y timina) de las bases nitrogenadas.

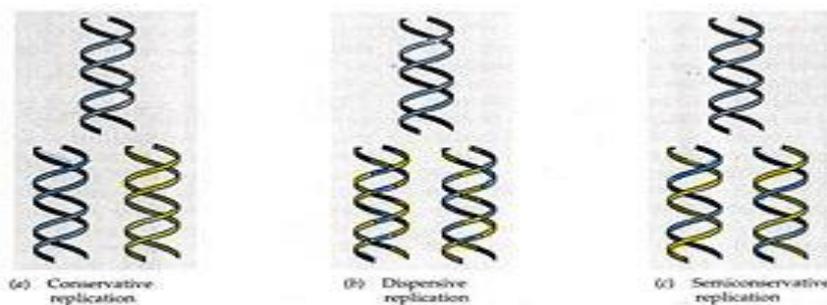
Años después, en 1957, **Matthew Meselson** y **Franklin W. Stahl** fueron quienes confirmaron experimentalmente este modelo.

Más tarde se postularon otros dos modelos de replicación que no han tenido mucha Aceptación hasta hoy, uno se llamó modelo conservativo y el otro modelo dispersivo.

Semiconservativa (correcta): En cada una de las moléculas hijas se conserva una de las cadenas parentales.

Conservativa: Se sintetiza una molécula totalmente nueva.

Dispersiva: Las cadenas hijas constan de fragmentos de la cadena antigua y fragmentos de la nueva.



Para comprobar ¿Cuál de las tres hipótesis era correcta?, Meselson y Stahl (1958) cultivaron bacterias (*Escherichia coli*) en un medio con nitrógeno pesado (N^{15}) en vez de nitrógeno normal (N^{14}). El experimento de Meselson-Stahl permitió demostrar la hipótesis de que la replicación es semiconservativa. Para ello se hicieron crecer células de *Escherichia coli* en presencia de Nitrógeno-15, un isótopo del nitrógeno más pesado de lo habitual. En consecuencia, el isótopo se adhirió a las cadenas de ADN, haciéndolas más pesadas.

Una vez conseguido el primer objetivo, las células fueron transferidas a un medio que contenía Nitrógeno-14, es decir, un medio más ligero, y se les dejó replicarse. El ADN fue extraído para hacer una centrifugación



En la primera generación se obtuvo una única banda de ADN con densidad intermedia. En la segunda generación se obtuvieron dos bandas, una con densidad ligera y otra con densidad intermedia o semihíbrida. En la tercera generación se obtuvieron dos bandas, una ligera (que ocupaba el 75%) y otra intermedia (que ocupaba el 25% restante).

La banda intermedia o híbrida representa una molécula de ADN que contiene una cadena pesada (parental) y otra ligera (recién sintetizada). Las cadenas ligeras representan una molécula de ADN en la que las dos cadenas han sido sintetizadas (no estaban cuando las células se pusieron en presencia de nitrógeno-15).

El hecho de que cada vez haya más cadenas ligeras y se mantenga el número de cadenas intermedias demuestra que la replicación del ADN es semiconservativa. Si fuera conservativa, aparecería siempre una banda pesada y el resto ligeras. Si fuera dispersiva sólo aparecerían bandas híbridas de densidad intermedia en todas las generaciones.

La duplicación del ADN se produce según las siguientes normas:

1. Es **semiconservativa**
2. Es **bidireccional**
3. Presenta un **punto de inicio**, que es único en procariontes y varios en organismos eucariontes.
4. Es **semidiscontinua**.
5. Avanza por adición de mononucleótidos en el sentido **5' → 3'**
6. La iniciación requiere un **extremo hidróxilo libre** proporcionado por un **ARN cebador**

La REPLICACION DEL ADN se lleva a cabo por una serie de proteínas que actúan coordinadamente formando una **compleja maquinaria celular**.

Las enzimas más importantes son:

1. **TOPOISOMERASAS**: desenrollan el ADN y relajan la tensión. Se destaca la **ADN girasa**.
2. **HELICASA**: separan las dos hebras del ADN para que cada una actúe de molde. Enzima que consume ATP.
3. **ADN POLIMERASA**: enzima capaz de sintetizar una cadena nueva de ADN. Para que se active necesita:
 - a) 4 desoxinucleótidos trifosfato (dNTP).
 - b) Una cadena de ADN que sirva de molde.
 - c) Un extremo 3' OH que sirva de iniciador.

NOTA: el ADN pol incorpora un nuevo nucleótido en el extremo 3' OH y copia la cadena molde en dirección 3' ----- 5' y la cadena nueva crece de 5' ----- 3' colocando el nucleótido correspondiente.

Existen tres formas distintas de ADN pol:

- ADN pol III: responsable de la copia de la cadena hija.
- ADN pol II: repara pequeñas roturas en una hebra de ADN. EXO, 3 5



1. Determina la función de cada una de las enzimas que forman el complejo estabilizador de la molécula de ADN en la duplicación:

a) HELICASA

b) TOPOISOMERASA O GIRASA

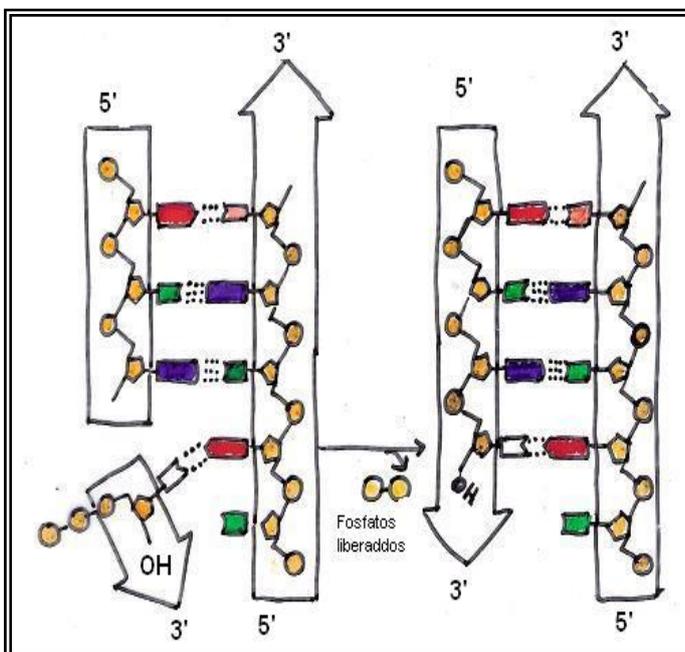
c) SSB.

2. Describe la función del primosoma.

3. Qué es un cebador

4. Como se llama la enzima que sintetiza a la molécula de ADN.

MECANISMO DE REPLICACION DEL ADN



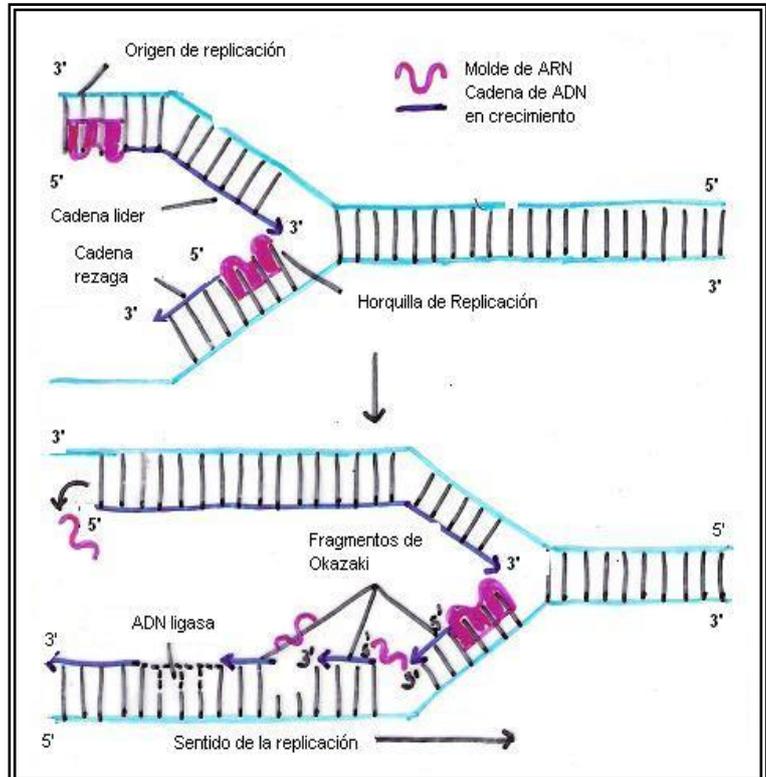
Los ladrillos de la construcción del ADN corresponden a los **trifosfatos de nucleósidos** que pierden dos de sus fosfatos cuando se unen al C 3' de azúcar en el extremo de crecimiento de la cadena.



La replicación avanza por adición de mononucleótidos en el sentido 5' ----- 3'.

La **cadena líder** sintetiza **continuamente** hacia la **Horquilla de replicación**.

La **cadena rezagada** sintetiza en pequeñas porciones en forma **discontinua**, porciones llamadas **Fragmentos de Okazaki**.



1. Describe cómo ocurre la síntesis de ADN en la cadena continua cuyo sentido corre de 5'----- 3'.

2. Describe cómo ocurre la síntesis en la cadena discontinua cuyo sentido corre de 3' ----5'.

3. ¿A que denominamos fragmentos de OKAZAKI y donde se ubican?

4. ¿Dónde actúan y que función tienen las enzimas ADN polimerasa I y la enzima ligasa?

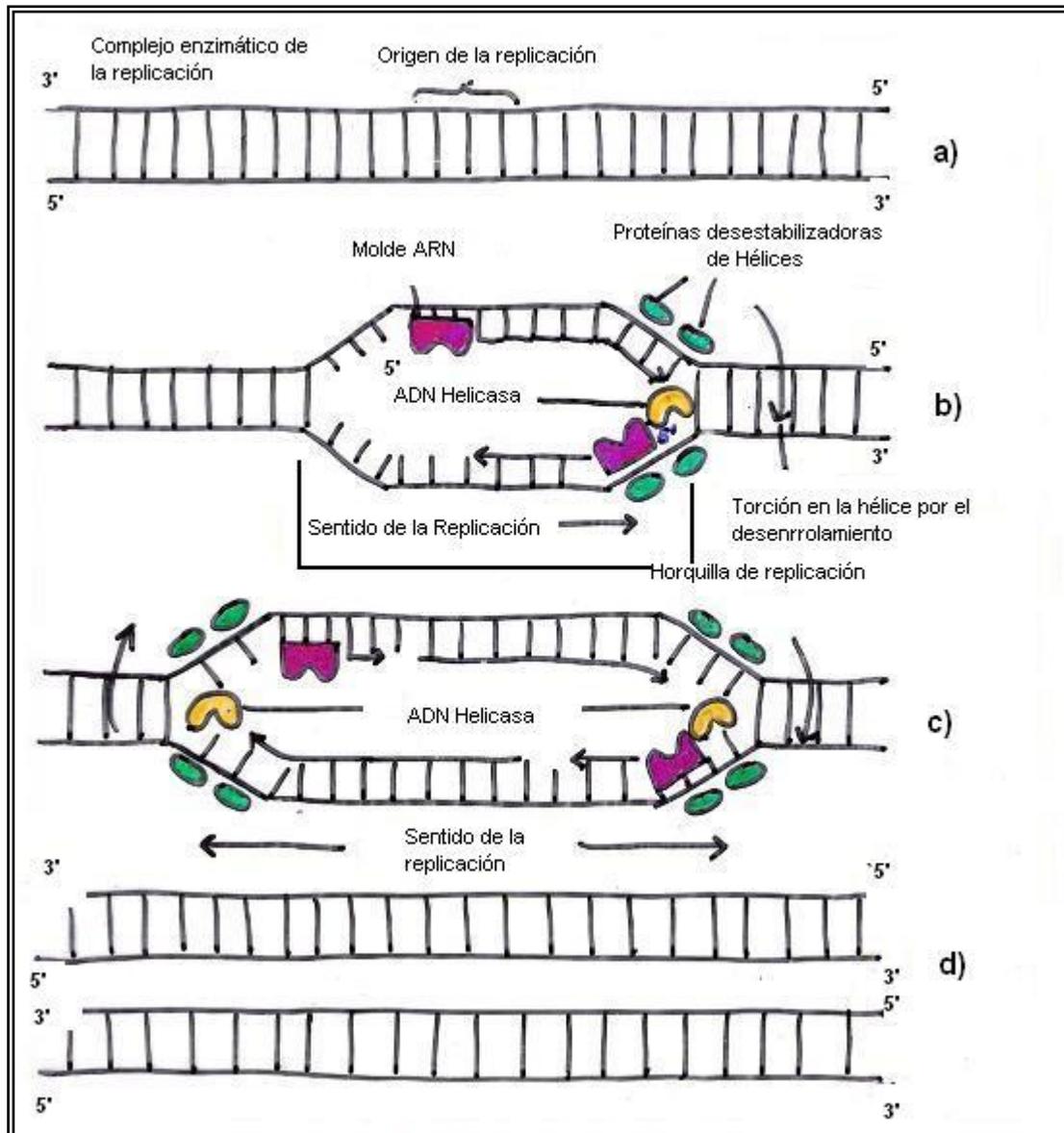
5. Explica ¿por qué NO actúa la enzima ADN polimerasa en el extremo 5 de la cadena discontinua?

6. ¿Qué función cumple la enzima ADN polimerasa II?



Aunque existen algunas diferencias entre procariontes y eucariontes y los principios generales de la duplicación son universales, el proceso es básicamente igual:

- La secuencia de nucleótidos en el origen de replicación del ADN actúa como **señal de iniciación**.
- La enzima **helicasa** separa las dos hebras de la doble hélice para que sirvan de molde. El desenrollamiento de la hélice da lugar al superenrollamiento en los extremos de la horquilla de replicación, actuando entonces las enzimas **topoisomerasas** que liberan esta tensión. La topoisomerasa I corta una hebra y la topoisomerasa II (denominada **girasa** en *E. coli*) Una vez liberada la tensión vuelven a sellar la doble hélice.
- Mientras se separan las dos hebras se van uniendo las **proteínas estabilizadoras (SSB)**, de forma que se mantengan separadas ambas hebras y se establezca la horquilla de replicación.
- El proceso de duplicación es **bidireccional**; hay dos horquillas de replicación por cada burbuja de replicación.
- La **primasa** (una ARN-polimerasa) sintetiza los fragmentos de ARN que sirven de cebador (**primer**) para la ADN-polimerasa.
- La ADN-polimerasa III incorpora en dirección 5'---- 3' los nucleótidos, formando una nueva hebra de **crecimiento continuo** denominada hebra **conductora**.
- Sobre la otra hebra antiparalela, primero, a unos mil nucleótidos del origen de replicación, se sintetizarán unos cincuenta nucleótidos de ARN que servirán para que la ADN-polimerasa III incorpore los desoxinucleótidos, formándose los fragmentos de Okazaki a medida que se va abriendo la horquilla. Una vez formados, la **ADN-polimerasa I**, gracias a su función exonucleasa, irá eliminando los tramos de ARN y los irá rellenando con ADN, sintetizados gracias a su actividad polimerasa.
- Finalmente interviene la **ADN-ligasa**, que empalma entre sí los distintos fragmentos de la hebra de crecimiento discontinuo, denominada **hebra retardada**.



- La síntesis del ADN se inicia en una secuencia específica de bases: **origen de replicación**.
- Las bandas se separan de su origen y se desenrollan por la **ADN helicasa**. Las **proteínas desestabilizadoras** evitan que una cadena sencilla forme nuevamente una doble. La síntesis opera en una dirección 5' ---- 3'.
- En tanto que la cadena nueva crece en una dirección, el desenrollamiento y la replicación se inician al otro lado del sitio de origen, por lo tanto la replicación ocurre en ambos sentidos.
- Al completarse la replicación con la formación de las dos moléculas hijas, cada una de ellas contiene una cadena recién sintetizada.



Instituto Nacional
Nivel 4° Medio
Depto. Biología