

UNIDADE 4: A INFORMACIÓN XENÉTICA E OS ÁCIDOS NUCLEICOS. INICIACIÓN Á BIOLOXÍA MOLECULAR.

1 . A Bioloxía Molecular

A bioloxía molecular é a ciencia que estuda a estrutura, a función e todos os aspectos dos ácidos nucleicos, e outras macromoléculas presentes nas células. Esta disciplina relaciónase coa bioquímica e a xenética.

O ADN é a molécula onde se almacena a información xenética. Esta está «escrita» nos xenes, fragmentos do ADN con significado biolóxico, e contén as instrucións para o funcionamento da célula. Para facer efectivas estas instrucións, exprésase e transforma mediante os procesos de transcrición e tradución. Para que a mensaxe xenética non se perda, aínda que a célula morra, a natureza creou un excelente método de copiado: a replicación .

2. Os Ácidos Nucleicos

2.1. Composición e tipos

Os ácidos nucleicos son polímeros formados pola unión de nucleótidos. Cada nucleótido, á súa vez, está composto polos seguintes elementos:

- Un **grupo fosfato**, derivado do ácido fosfórico (H_3PO_4).
- Un **glícido ou monosacárido** de cinco átomos de carbono (pentosa), que pode ser a ribosa ou a desoxirribosa. Estes dous glícidos diferéncianse entre si só nun átomo de osíxeno ausente na desoxirribosa.
- Unha **base nitroxenada**: adenina (A), guanina (G), citosina (C), timina (T) ou uracilo(U).

Figura 3.1. Esquema xeral dun nucleótido de ARN e de ADN

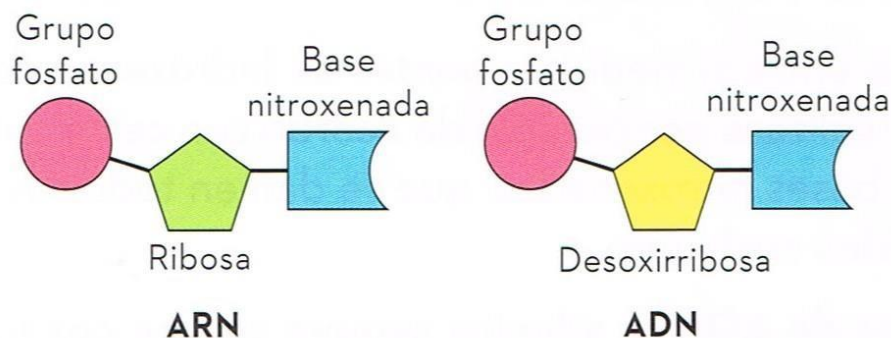
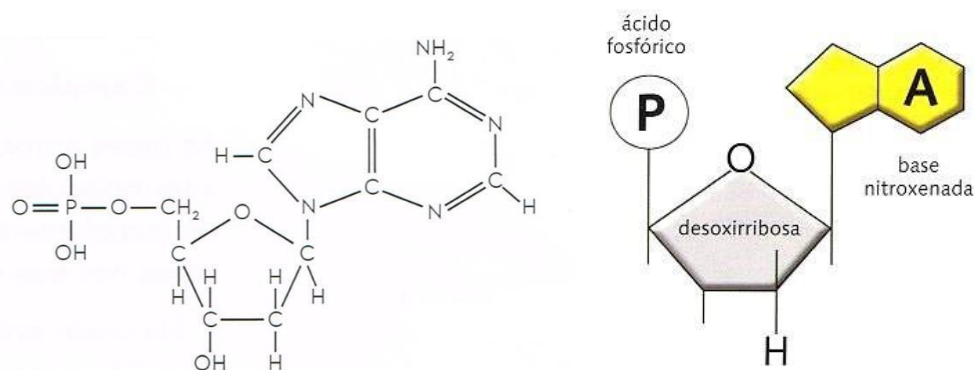
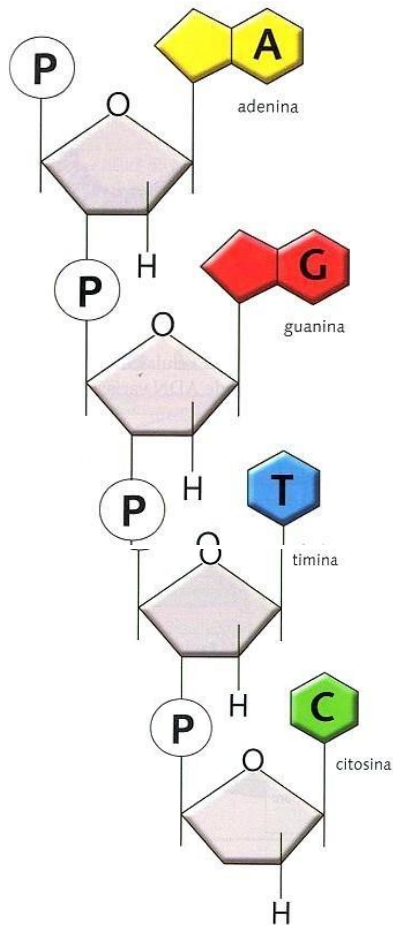
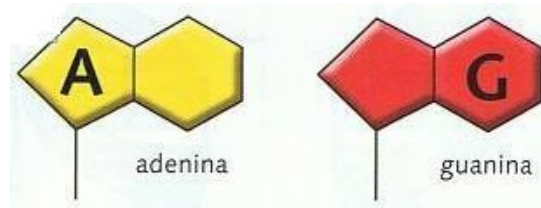


Figura 3.2. Esquema dun nucleótido de adenina con desoxirribosa.





En función do glícido e as bases nitroxenadas que os forman, distínguense dous tipos de ácidos nucleicos: o ácido ribonucleico, ou **ARN**, e o ácido desoxirribonucleico, ou **ADN**. O ARN está composto por ribosa e as súas bases nitroxenadas son adenina, a guanina, a citosina e ouracilo, mentres que o **ADN** está composto por desoxirribosa e adenina, guanina, citosina e timina.



2.2.Estrutura e función dos ácidos nucleicos

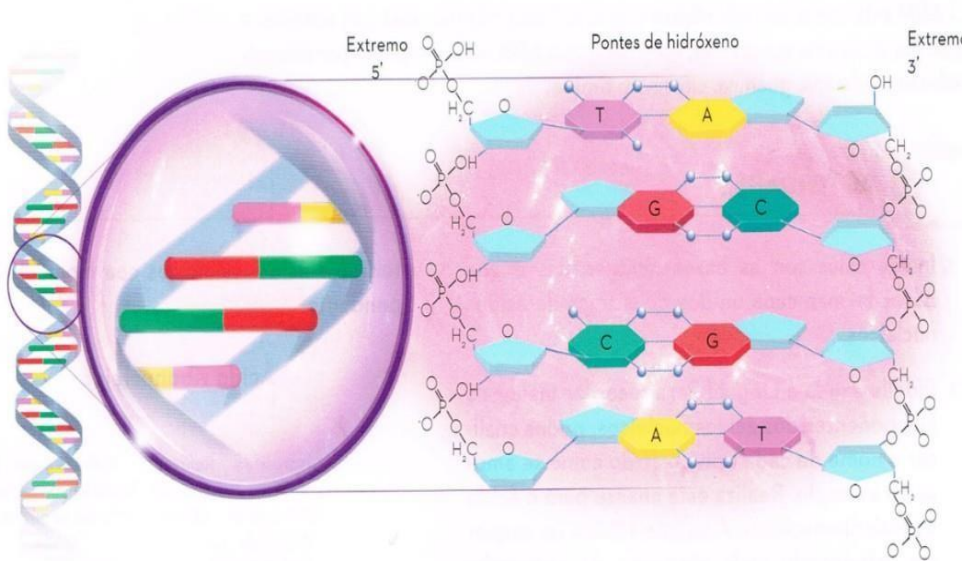
Os ácidos nucleicos organizanse en estrutura primaria e estrutura secundaria:

- A **estrutura primaria** consiste na unión de miles ou millóns de nucleótidos entre si, que forman longas cadeas ou fibras. Cada grupo **fosfato dun nucleótido únese ao glícido** (ribosa ou desoxirribosa) do seguinte nucleótido, mediante un enlace **fosfodiéster**, deixando libres as bases nitroxenadas.
- A **estrutura secundaria**, que estudaremos só para o ADN, consiste na unión de dúas cadeas de polinucleótidos a través das súas bases nitroxenadas e enroladas espacialmente en forma de hélice. Segundo o modelo de Watson e Crick, a dobre hélice de ADN ten **dúas cadeas antiparalelas complementarias**:
 - ✓ Antiparalelas porque teñen sentidos distintos, na que unha cadea está invertida respecto a outra (unha vai de 5' a 3' e a outra 3' a 5').
 - ✓ Complementarias en canto a súa secuencia de bases nitroxenadas (C-G e A-T).

As bases nitroxenadas únense entre si mediante **pontes de H**. Esta unión realízase por parellas dacordo cun certo criterio de complementariedade das bases nitroxenadas, que se dan en todos os procesos nos que interveñen ácidos nucleicos:



- ❖ Na unión entre nucleótidos de ADN, a adenina sempre se une coa timina (A-T) e a guanina coa citosina (G-C).
- ❖ Na unión entre nucleótidos de ARN, todas as bases emparéllanse do mesmo modo, exceptoa adenina, que se une ao uracilo (A-U).



TIPOS DE ARN

Existen tres tipos principais de ARN:

- ARN mensaxeiro (ARNm),
- o ARN de transferencia (ARNt), que se xeran ambos no núcleo celular,
- e o ARN ribosómico (ARNr), que se atopa no citoplasma.

Tipo ARN	Función
ARNm	leva a mensaxe xenética do ADN á maquinaria celular encargada de fabricar as proteínas
ARNt	transfire as moléculas necesarias (aminoácidos) que se atopan libres no citoplasma a esta maquinaria
ARNr	forma os ribosomas.

FUNCIÓNS DO ADN

O ADN está no núcleo celular das células eucariotas e no citoplasma das procariotas e as súas principais funcións son as seguintes:

- 1) **Almacena** a información xenética.
- 2) Transmite esta información, mediante copias idénticas na **replicación**.
- 3) **Dirixe** os procesos de expresión da información xenética mediante os procesos de transcrición e tradución, nos que se realiza a síntese de proteínas, que son as moléculas con maior actividade e funcións na célula.

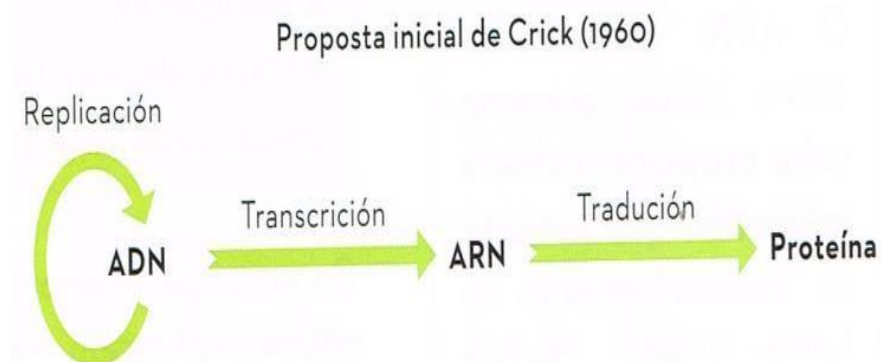
Coñecendo as súas funcións, pódese concluír que o ADN é unha molécula fundamental para a célula

3. A mensaxe xenética. Dogma central da bioloxía molecular

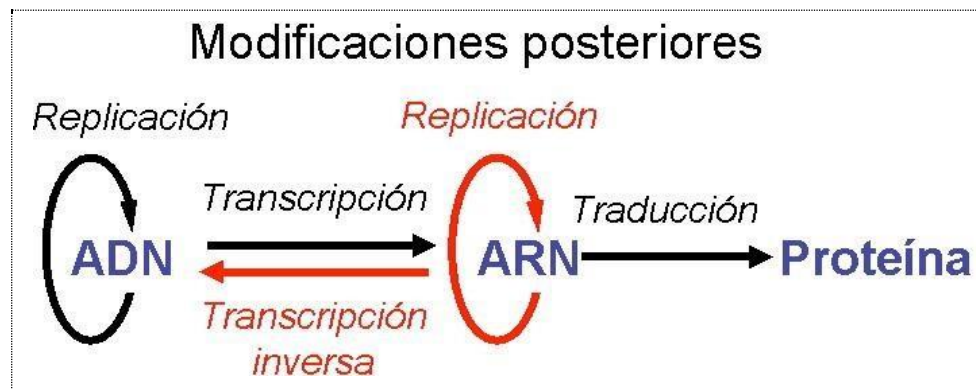
A información ou **mensaxe xenética do ADN** ten que chegar aos centros de procesamento correspondentes, os **ribosomas**, e sufrir os procesos de transformación necesarios para que se realicen as instrucións que contén.

Tras numerosos experimentos e estudos, na década de 1960, Watson e Crick, estableceron a dirección do fluxo que seguía a información xenética na célula, no que se chamou «O dogma central da bioloxía molecular».

- Durante o **ciclo celular**, a información xenética flúe desde o ADN ata o ARNm proceso de **transcrición**.
- ARNm únese aos **ribosomas** e participa xunto co ARNt na síntese de proteínas, proceso de **tradución**.
- **Durante a fase S do ciclo celular**, a información xenética cópiase desde a **molécula de ADN** e xera dúas copias de moléculas de ADN que serán o material xenético de dúas células fillas, **replicación**.



Na actualidade o esquema do dogma central da bioloxía molecular cambiou un chisquiño xa que podemos seguir outras rutas ficando do seguinte xeito:



3.1.A replicación do ADN

A replicación é o proceso polo cal o ADN sintetiza unha copia complementaria de si mesmo. Ten lugar na fase S do ciclo celular, no núcleo das células eucariotas ou no citoplasma das células procariotas.

Os procesos relacionados directamente coa expresión da información xenética: replicación, transcripción e tradución, consisten, en última instancia, en reaccións químicas, e neles interveñen uns axentes fundamentais:

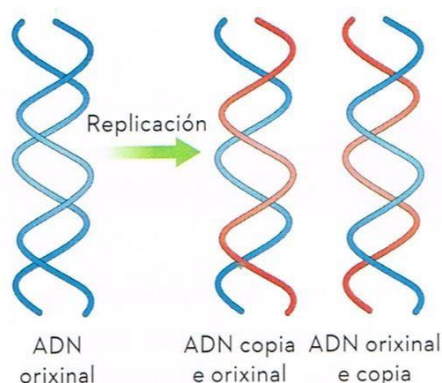
- os **enzimas** un tipo de proteínas con función catalítica que aceleran as reaccións química ao facilitar a orientación adecuada,
- así como a proximidade das **moléculas que van unirse**.

3.1.1.CARACTERÍSTICAS DA REPLICACIÓN DO ADN

A replicación do ADN presenta dúas características:

- **Semiconservativa**, porque en cada nova molécula se mantén unha cadea do ADN orixinal, afibra molde.
- **Bidireccional**, porque a síntese da nova cadea realízase en ambos os sentidos da forza de replicación

Figura 3.6. Replicación semiconservativa do ADN.



3.1.2. IMPORTANCIA BIOLÓXICA DA REPLICACIÓN do ADN

A replicación, asegurando a conservación da información xenética desde a célula nai as células fillas, garante a copia exacta dunha molécula de ADN cunha secuencia de nucleótidos características.

Isto implica a perpetuidade no tempo dunha secuencia de nucleótidos e da información xenética. En ocasións, prodúcese erros no proceso de copia, orixinando **mutacións** que abren a porta á evolución.

4.A EXPRESIÓN DA INFORMACIÓN XENÉTICA

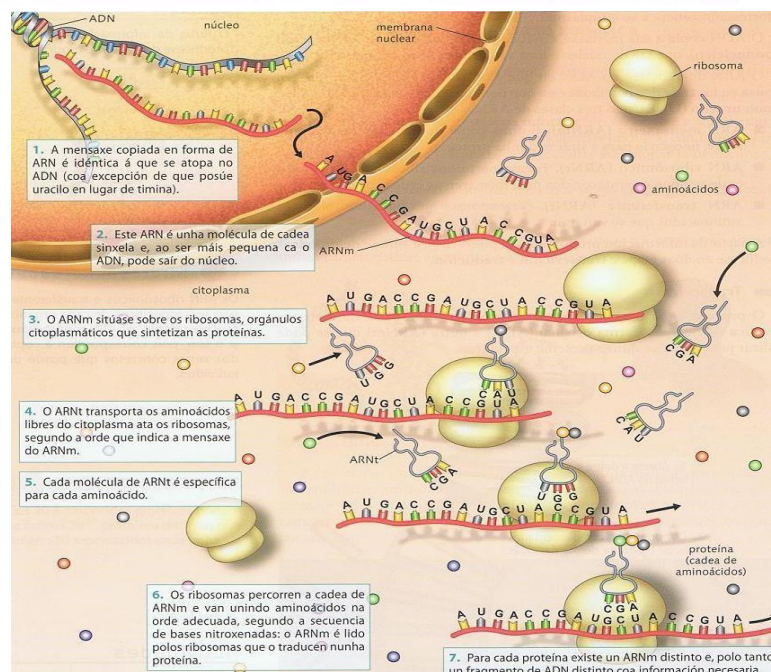
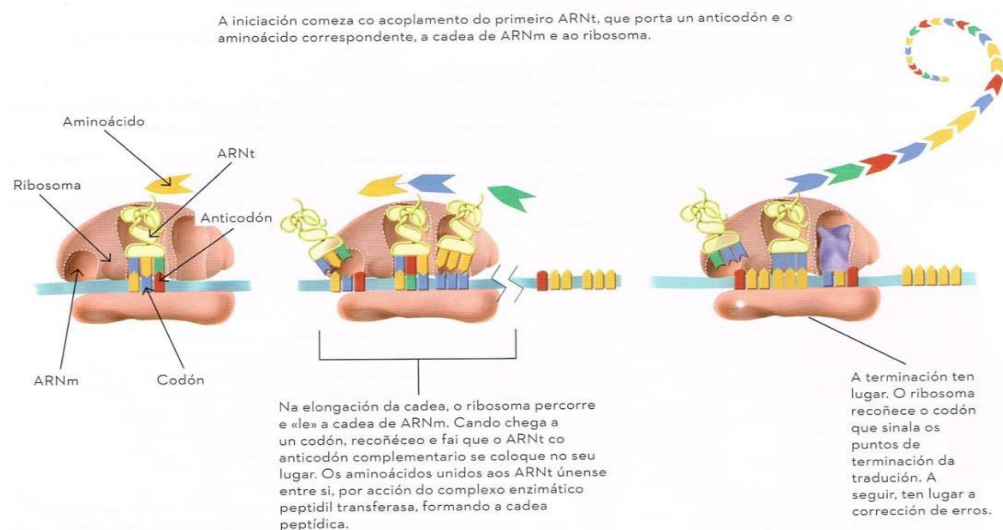
A información xenética exprésase, é dicir, transfórmase desde instrucións codificadas no ADN a proteínas que servirán para constituír a célula e que esta leve a cabo as súas tarefas. Os procesos de expresión da información xenética son a transcrición e a tradución.

4.1. Transcrición xenética

A transcrición é o proceso polo cal se sintetiza unha cadea de ARNm a partir dun fragmento do ADN. Ten lugar no núcleo das células eucariotas ou no citoplasma das procariotas.

4.2. Tradución xenética

tradución é o proceso polo cal se sintetizan as proteínas a partir do ARNm e coa axuda do ARNt e os ribosomas. Ten lugar no citoplasma celular.



5. O código xenético

Como vimos, o ADN e o ARN conteñen unha mensaxe xenética, escrita en linguaxe das bases nitroxenadas dos seus nucleótidos, mentres que as proteínas son moléculas formadas por cadeas de aminoácidos ou polipéptidos. Como sabe a célula «traducir» as bases nitroxenadas a aminoácidos? Coa axuda do **código xenético**.

O código xenético é o «dicionario» que establece a correspondencia entre a linguaxe dos nucleótidos do ARNm e a linguaxe dos aminoácidos das proteínas. Denomínase código xenético a relación entre a secuencia de bases nitroxenadas do ADN (ou do ARNm) e a secuencia dos aminoácidos que constitúen unha proteína.

5.1. Organización e propiedades do código xenético

A organización do código xenético confírelle unhas propiedades únicas:

Os tripletes de bases

- O código xenético está organizado en tripletes: por cada tres bases nitroxenadas, denominadas triplete ou **codón**, codifícase un aminoácido.
- Combinando as catro bases nitroxenadas do ARNm: A, G, C e U, obtense **64 tripletes**. Cada triplete codifica para un só aminoácido dos 20 existentes, pero un aminoácido pode ser codificado por varios tripletes. A esta regra hai 2 excepcións:
 - O codón **AUG** codifica para a metionina, pero tamén sinala o lugar de **inicio** da tradución.
 - Os tripletes UAA (ocre), UAG (ámbar) e UGA (ópalo) son os **codóns STOP**, é dicir, marcan o remate do proceso de transcripción.

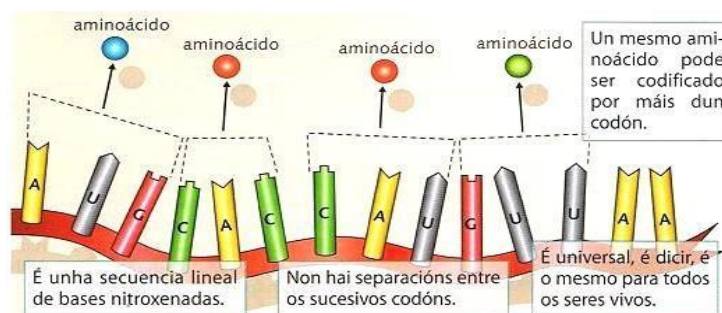
		Segunda base					
		U	C	A	G		
Primeira base	U	UUU } Phe UUC UUA } Leu UUG	UCU } UCC } Ser UCA UCG	UAU } Tyr UAC UAA } Stop UAG } Stop	UGU } Cys UGC UGA } Stop UGG } Trp	U C A G	Terceira base
	C	CUU } CUC } Leu CUA CUG	CCU } CCC } Pro CCA CCG	CAU } His CAC CAA } Gin CAG	CGU } CGC } Arg CGA CGG	U C A G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

Aminoácido	Abreviatura de tres letras	Abreviatura de una letra
Ácido aspártico	Asp	D
Ácido glutámico	Glu	E
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Cisteína	Cys	C
Fenilalanina	Phe	F
Glicina	Gly	G
Glutamina	Gln	Q
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Tirosina	Tyr	Y
Treonina	Thr	T
Triptófano	Trp	W
Valina	Val	V

5.2.Alteracións na lectura do código xenético

A lectura e descodificación do código xenético, levada a cabo polos ribosomas coa axuda dos ARNt, está deseñada para que **cada triplete codifique o seu aminoácido exacto**. Non obstante, ás veces, o ribosoma pode interpretar mal o triplete que le e mandar o sinal ao ARNt equivocado, que achegaría, deste xeito, un aminoácido codificado. Prodúcese así cambios na secuencia de aminoácidos da proteína, que poden dar lugar a cambios na súa función.

Propiedades do código xenético

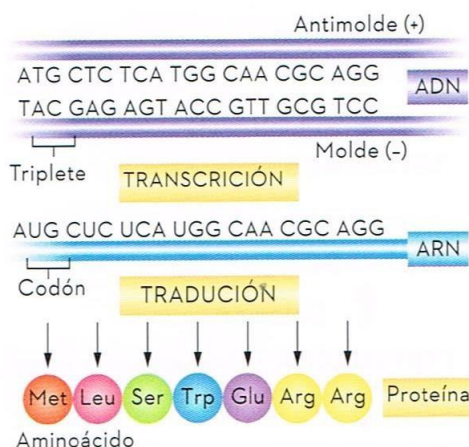


- É **dexenerado**, é dicir, redundante. Ao existir máis tripletes que aminoácidos, varios tripletes codifican para o mesmo aminoácido, polo que se pode afirmar que son tripletes sinónimos.
- **Non é ambiguo**, xa que cada triplete ou codón sempre codifica o mesmo aminoácido.
- É **universal**, pois utilízano a totalidade dos organismos coñecidos.
- É **unidireccional**, porque na tradución o ARNm lese nun único sentido de principio a fin, e lese sen interrupcións nin saltos.

Lectura e interpretación do código xenético

Ao desprazarse pola cadea de ARNm na tradución, o ribosoma le cada triplete ou codón e fai que o ARNt co anticodón correspondente, coas bases complementarias ás do codón, introduza o aminoácido necesario. Aínda que o ribosoma le toda a cadea de ARNm, non todas as rexións desta cadea se traducen, senón so aquelas «sinaladas» para ser codificadas.

Figura 3.10. Tradución de codóns a aminoácidos.



6.Mutacións

Nun sentido amplo, defínese mutación como **todo cambio do material xenético detectable e herdable**, sendo cambios xenotípicos que inclúen cambios na estrutura cromosómica ou no número de cromosomas. Pero nun sentido estrito, serán os cambios puntuais na secuencia de ADN, xeralmente ocasionados ó fallar os mecanismos de replicación do ADN.

As diferentes **teorías evolucionistas**, como explicacións que son da orixe das especies, consideran fundamental o papel dos cambios xenéticos, fonte da variabilidade sobre a cal actúan os mecanismos que regulan a evolución, sendo o máis aceptado a selección natural. Canto maior sexa o número de variantes, maior número de posibilidades de evolución. E dentro destas variacións as mutacións son a primeira fonte de variación, pero non a única.

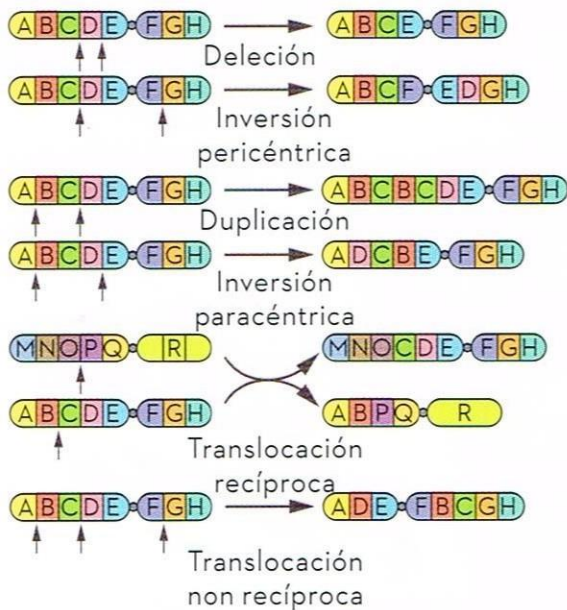
Para a clasificación das mutacións podemos facer dende diferentes puntos de vista, pero o máis común e importante é pola natureza da alteración que provocan. Ademais, as mutacións presentan unha serie de **características** e implicacións:

- ❑ Prodúcese por azar, como **erros na replicación**, ou por acción de **axentes mutáxenos**, como a radiación ultravioleta, substancias químicas como benzopireno, presente no tabaco, ou algúns virus.
- ❑ **Poden transmitirse á herdanza** se teñen lugar nos gametos.
- ❑ Non todas as mutacións teñen efectos, xa que **algunhas son «silenciosas»** aínda que lle afecten a xenes, non chegan a manifestarse na súa actividade biolóxica.
- ❑ **Non son nin boas nin malas por si mesmas**, senón que poden ter efecto bos ou malos para o individuo que as experimenta en función de diversos factores. Son unha das fontes de **variabilidade xenética** sobre as que progresa a evolución. Sen elas non xurdirían novos caracteres.

Figura 3.11. Mutacións xénicas



Figura 3.12. Mutacións cromosómicas.



a. Tipos de mutacións

As mutacións poden producirse en diferentes niveis estruturais. Por iso s distinguen varios tipos:

- **xénicas**, que lle afectan aos xenes;
- **cromosómica** relacionadas cos cromosomas,
- **e xenómicas**, cando lle afectan ao xenoma, dicir, ao número de cromosomas.

TIPO DE MUTACIÓN	Aféctalle a...	Mecanismos polos que se produce
XÉNICA	A secuencia de nucleótidos illados	• Substitución (cambio dun nucleótido por outro), • Adición (engádenselle un so nucleótido) ou • Deleción (elimínase un nucleótido)
CROMOSÓMICA	Fragmentos do cromosoma	• Adición, deleción, investimento (o fragmento inverte o seu sentido, • duplicación e translocación (o fragmento desprázase a outro cromosoma)
XENÓMICA	O número de cromosomas do xenoma	Erros na meiose. Poden xerar • poliploidía e haploidía (gañan ou perden xogos de cromosomas enteiros) e • aneuploidía (gáñanse ou perden cromosomas illados)

b. Mutacións e evolución

As mutacións son algo **natural e moi común no ámbito celular** en todos os organismos vivos. Aínda que desenvolveramos unha visión negada delas e as asociemos a enfermidades, as mutacións constitúen unha das grandes «ferramentas biolóxicas» para a biodiversidade: a **evolución**.

A variabilidade xenética causada polas mutacións fai que existan mensaxes xenéticas diferentes en organismos da mesma especie. As mutacións proporcionan certa variabilidade que permite que as especies poden adaptarse aos cambios ambientais, xa que fan posible que se poidan enfrontar a eles con ferramentas lixeiramente diferentes en cada individuo da especie.

Figura 3.13. As mutacións son fonte de variabilidade xenética e, en ocasións, supoñen vantaxes adaptativas para o individuo



A bolboreta *Biston betularia* presenta dúas variedades: branca e negra. Ao vivir sobre as cortizas claras dos bidueiros, as bolboretas brancas camúflanse, mentres que as negras destacan e son presas fáciles para os paxaros.



No século XIX, coa Revolución Industrial, as zonas próximas ás fábricas comezaron a contaminarse e as cortizas dos bidueiros ennegrecen. Agora as bolboretas negras camúflanse doadamente e as brancas destacan.

7. Enxeñaría xenética

A ovella Dolly, os alimentos transxénicos, a obtención de células nai... todo estes avances son posibles grazas a enxeñaría xenética.

A enxeñaría xenética é o conxunto de técnicas nas que se realiza unha manipulación do ADN de certos organismos.

Os organismos manipulados mediante enxeñaría xenética son organismos modificados xenéticamente, **OMG ou OGM**, en inglés. Dentro deles destacan os **organismos transxénicos**, que se obteñen pola introdución no seu xenoma dun ou varios xenes procedentes doutra especie.

a. Técnicas da enxeñaría xenética

Existen numerosas técnicas en enxeñaría xenética. Imos ver a continuación o sistema CRISP, técnicas do ADN recombinante, a reacción en cadea da polimerasa (PCR) e a clonación.

A.Sistema CRISP

É unha técnica utilizada para cortar fragmentos de xenes en lugares concretos que se basea no mecanismo natural que empregan as bacterias para defenderse dos virus. Co sistema CRISP pódense “editar” xenes e variar a súa secuencia específica de bases.

Cando a técnica estea perfeccionada poderase utilizar para substituír as secuencias xenéticas responsables de diferentes enfermidades polas correctas.

B.Técnica do ADN recombinante

A técnica do ADN recombinante **introduce artificialmente** no ADN dun organismo **fragmentos de ADN doutros organismos** da mesma ou de diferente especie.

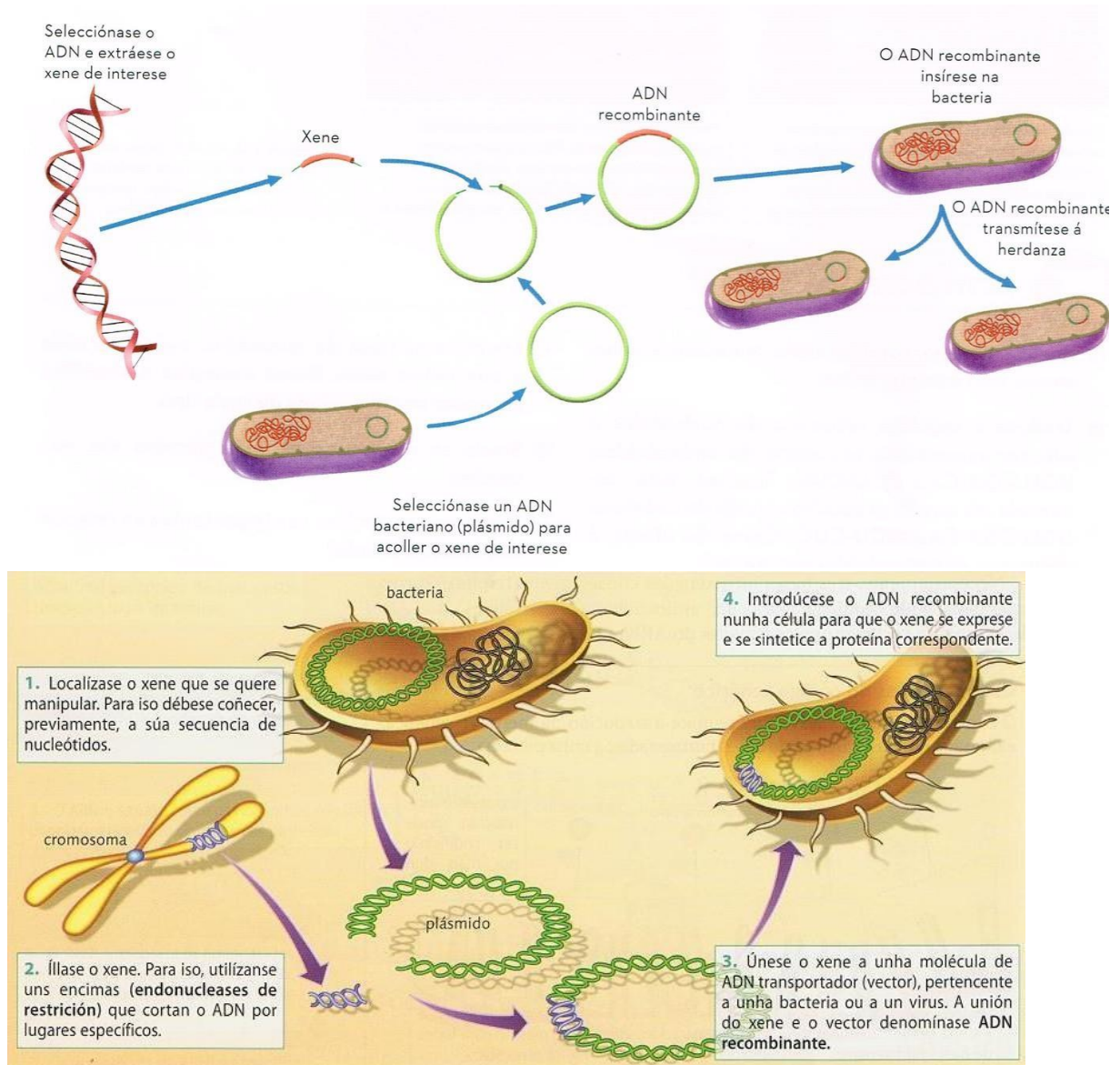
Técnica:

- 1º.- Selecciónase o ADN e extráese o xene de interese
- 2º.- Selecciónase un ADN bacteriano (plásmido) para acoller o xene de interese
- 3º.- O plásmido acolle o xene de interese e obtense o ADN recombinante
- 4º.- O ADN recombinante inxírese na bacteria
- 5º.- O ADN recombinante transmítese á descendencia

As principais aplicacións desta técnica en diferentes campos son as seguintes:

- 1) **Medicina:** produción de antibióticos mis eficaces e grandes cantidades de proteínas específicas, como a insulina.
- 2) **Agricultura:** mellora dos cultivos con organismos resistentes a herbicidas ou pragas o de maior valor nutritivo.
- 3) **Gandería:** animais con maior crecemento e máis resistencia as condicións ambientais adversas, e capaces de producir substancias útiles (hormonas).
- 4) **Tratamentos de residuos e contaminantes:** obtención de compost e humus a partir de lixo e restos vexetais, e eliminación do petróleo das mareas negras e os metais pesados.

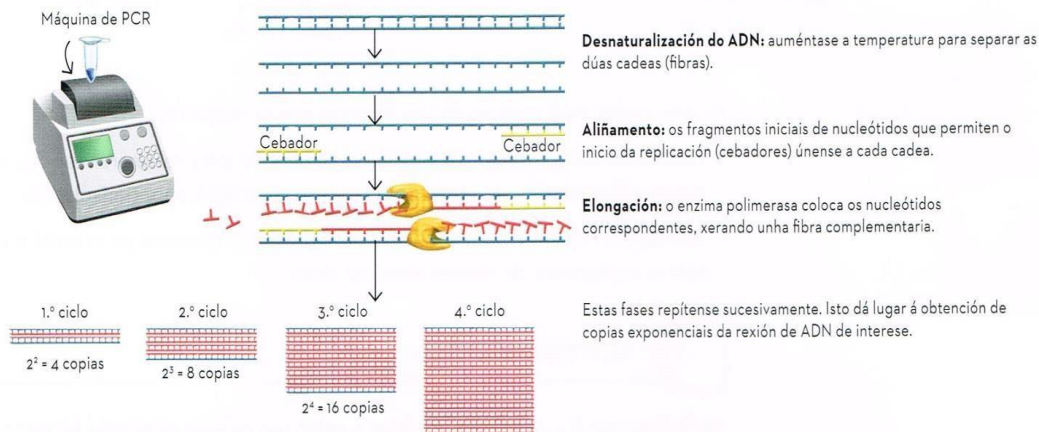
- 5) **Combustibles:** obtención de combustibles a partir de organismos vivos ou restos orgánicos, como o biodiésel.



C.Técnica da reacción en cadea da polimerasa (PCR)

A técnica da reacción en cadea da polimerasa, PCR, do inglés *polymerase chain reaction*, é unha técnica para a replicación de pequenos fragmentos de ADN in vitro partindo de mostras mínimas e un breve período de tempo.

Figura 3.15. Reacción en cadea da polimerasa POR.



Técnica:

- 1º.- **Desnaturalización do ADN:** auméntase a temperatura para separar as dúas cadeas (fibras)
 - 2º.- **Aliñamento:** os fragmentos iniciais de nucleótidos que permiten o inicio da replicación (cebadores) únense a cada cadea.
 - 3º.- **Elongación:** o enzima polimerasa coloca os nucleótidos correspondentes, xerando unha fibra complementaria.
- Estas fases repítense sucesivamente. Isto dá lugar á obtención de copias exponenciais da rexión de ADN de interese.

Aplicacións:

As aplicacións mis destacadas desta técnica en diferentes campos son as seguintes:

- **Medicina:** detección prenatal de enfermidades conxénitas e medicina forense.
- **Investigación científica:** obtención rápida de copias de ADN para empregalas en investigación, como o **Proxecto do Xenoma Humano**.

D.Clonación

A clonación é a **obtención, mediante enxeñaría xenética, de copias idénticas a orixinal**, xa sexa dun organismo, unha célula ou unha molécula de ADN.

Tipos de clonación:

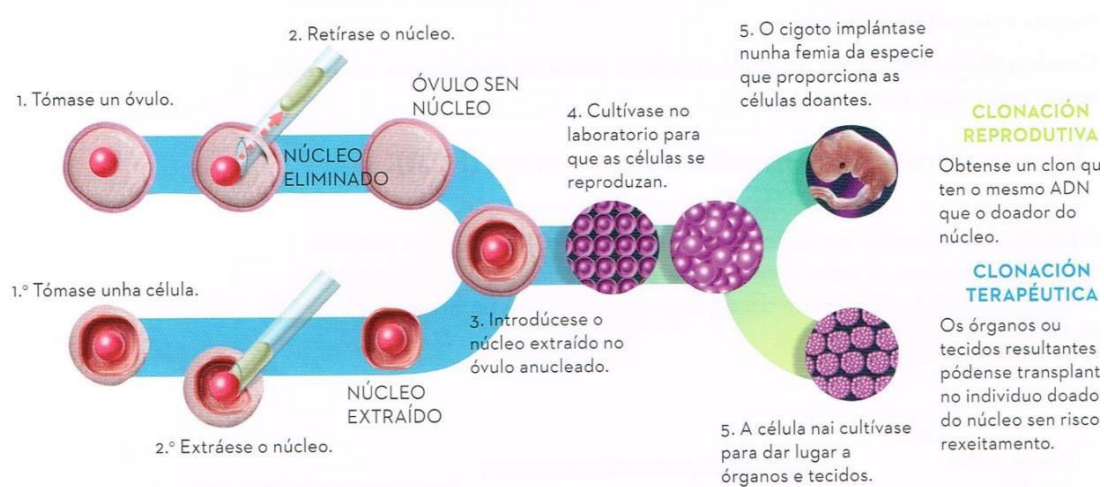
Hai dous tipos de clonación:

- clonación de células, con aplicacións **terapéuticas** fundamentalmente, ou
- clonación de organismos, como é a chamada clonación **reprodutiva**.

- **Proceso:**

1. Tómake un óvulo e retírase o núcleo
2. Tómake unha célula e extráese o núcleo.
3. Introdúcese o núcleo extraído da célula no óvulo anucleado.
4. Cultívase no células doantes no laboratorio para que as células se reproduzan.
- 5a. Na clonación reprodutiva: O cigoto implántase nunha femia da especie que proporciona as células doantes. Obtense un clon que ten o mesmo ADN que o doador do núcleo.
- 5b. Na clonación terapéutica: A célula nai cultívase para dar lugar a órganos e tecidos. Os órganos ou tecidos resultantes pódense transplantar no individuo doador do núcleo sen risco de rexeitamento.

Figura 3.16. Clonación.



Aplicacións:

As aplicacións mis comúns destas técnicas son as seguintes:

- **Clonación terapéutica:** obtención de células nai para rexenerar tecidos tratar enfermidades, así como de órganos compatibles para transplantes.
- **Clonación reprodutiva:** obtención de individuos idénticos ao orixinal e outros organismos da mesma serie, ou clons.

8. **Bioteecnoloxía**

A bioteecnoloxía é o conxunto de técnicas que utilizan organismos vivos ou as súas substancias para obter produtos de interese para os seres humanos.

a. **Bioteecnoloxía de onte e de hoxe**

Desde a antigüidade, os seres humanos utilizamos microorganismos para obter produtos como o pan, a cervexa, o viño, o queixo ou o iogur, sen chegar a coñecer as reaccións químicas

que había detrás destas transformacións. Os procesos de fabricación destes alimentos son **fermentacións** nas que interveñen lévedos (fungos) e constitúen exemplos de biotecnoloxía clásica.

Na actualidade coñecemos as reaccións de cada proceso e aumentamos a súa eficacia con técnicas de manipulación do ADN dos organismos implicados. Utilizando as técnicas desenvolvidas pola enxeñaría xenética cambiamos os métodos e definido unha biotecnoloxía moderna.

b.Organismos Transxénicos (OMG)

Denomínanse así aos organismos modificados xenéticamente, é dicir que conteñen xenes que non son propios e que lles foron introducidos por enxeñaría xenética. O motivo desta modificación é proporcionarlles algunha característica que non tiñan e que é de interese para nós.

Algúns exemplos de organismos transxénicos son:

- Tomates cun proceso de maduración máis lento do normal, o cal é interesante para favorecer, no caso da exportación a outros países, que cheguen en perfecto estado de conservación.
- Cereais resistentes a determinadas pragas de insectos (trigo, millo, soia, etc...) que ocasionan graves danos nos cultivos.
- Salmóns de crecemento rápido, cando estes son cultivados en piscifactorías para o seu comercio posterior.