

TEMA 12: XENÉTICA MOLECULAR

1. O ADN COMO PORTADOR DA INFORMACIÓN XENÉTICA.
2. CONCEPTO DE XENE.
3. FLUXO DA INFORMACIÓN XENÉTICA NOS SERES VIVOS.
4. DUPLICACIÓN OU REPLICACIÓN DO ADN.
5. A TRANSCRICIÓN. SÍNTESE E PROCESAMENTO (MADURACIÓN) DO ARN.
6. O CÓDIGO XENÉTICO.
7. A TRADUCIÓN. SÍNTESE DE PROTEÍNAS.
8. REGULACIÓN DA EXPRESIÓN XÉNICA.
9. MUTACIÓNS.

1. O ADN COMO PORTADOR DA INFORMACIÓN XENÉTICA.

A moderna ciencia da Xenética orixinouse cando Gregor Mendel descubriu que as características hereditarias estaban determinadas por unidades hereditarias que se transmitían dunha xeración á seguinte de maneira uniforme e predicible. Iniciouse neste momento (finais s. XIX) unha carreira científica que tiña como obxectivo primordial solucionar dous problemas, en principio moi distintos, pero como se viu máis tarde, moi relacionados entre si:

- O primeiro problema foi identificar exactamente o material xenético, a súa localización e natureza química. O desenvolvemento desta liña de investigación deu lugar a unha rama da xenética denominada **Xenética Molecular**.
- O segundo problema consistía en descubrir o modo en que se transmiten e herdán de xeración en xeración as manifestacións dese material xenético, é dicir, os caracteres biolóxicos. Creouse así outra rama da xenética chamada en honor a Mendel **Xenética Mendeliana**.

En canto ó primeiro problema, antes de que se identificara a molécula portadora da mensaxe xenética xa se sabía que esta debía cumprir certos requisitos:

1. Que se replique ou duplique exactamente antes da división celular.
2. Que a súa estrutura sexa o suficientemente estable para que os cambios hereditarios (mutacións) só se produzan raramente.
3. Que poida levar calquera tipo de información biolóxica necesaria.
4. Que transmita a información á célula.

Por outra parte, eran xa coñecidos os acontecementos que ocorrían nas células durante a mitose e a meiose. Os protagonistas de ambos procesos son sen dubida os cromosomas. Parecía evidente, polo tanto, que o material xenético había que buscalo nos cromosomas. Dada a composición nucleoproteica destas estruturas, os ácidos nucleicos (ADN) e as proteínas eran as substancias candidatas a almacenar a información xenética. As proteínas son moléculas complexas e a súa actividade biolóxica xa estaba probada por aqueles anos. Os ácidos nucleicos, pola contra, considerábanse moléculas simples e non se concibía que puidesen almacenar tal cantidade de información.

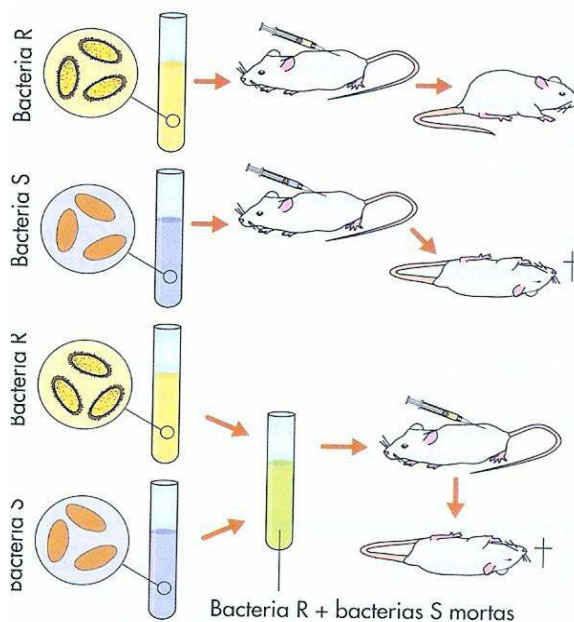
Frederick Griffith foi un bacteriólogo británico que traballaba, na década dos anos 20 do século

pasado, con *Streptococcus pneumoniae* ou pneumococo, unha bacteria que causa neumonía en humanos e animais. Griffith investigaba para conseguir unha vacina para esta enfermidade, e descubriu que hai dúas cepas distintas:

- **cepa S:** patóxena, virulenta. Con cápsula.
- **cepa R:** inocua, non virulenta. Sen cápsula.

Cando se inxectaban no rato bacterias vivas da cepa S, este morría e no seu sangue atopábanse numerosos pneumococos S. Cando se inxectaban bacterias vivas da cepa R o rato non sufría dano algún; sucedía o mesmo cando se inxectaban bacterias mortas pola calor da cepa S. Porén, ó inocular ó mesmo tempo bacterias de cepas R con bacterias S mortas producíase a enfermidade e o rato morría.

Griffith concluíu que unha substancia á que denominou **principio transformante** procedente das bacterias S mortas, transformara as bacterias R en S, xa que se illaron vivas e coa cápsula polisacárida. Este experimento serviu de base para outros posteriores que tratarían de determinar a natureza dese principio transformante.



En 1944, Avery, McLeod e McCarthy obtiveron un extracto filtrado de bacterias da cepa S mortas por calor. No laboratorio repartiron ese extracto en diferentes tubos, pero en cada caso eliminaron unha das moléculas compoñentes do pneumococo: proteínas, glúcidos, lípidos e ARN. Mesturaron eses extractos con pneumococos da cepa R. En tódolos tubos produciuse a transformación de bacterias R a S. Polo tanto, nengunha desas substancias (proteínas, lípidos glúcidos e ARN) eran as responsables da transformación, porque a súa ausencia non evitaba que esta sucedera.

Porén, ao eliminar o ADN nun experimento similar, non se produciu o cambio. Deduciron por tanto que o axente transformante, é dicir, o transmisor do carácter xenético S, era o ADN.

A pesar desta proba demostrativa de que o ADN era o principio transformante, a comunidade científica resistiuse a aceptar a importancia xenética do ADN.

En 1952, **Hershey e Chase** pecharon definitivamente a polémica e demostraron mediante marcado radioactivo de proteínas e ADN que este último era o material xenético. Con todo, seguía a ser preciso demostrar como un composto tan simple podía almacenar e transmitir tanta información. A resposta proporcionouna o progresivo coñecemento da súa estrutura. Dende que, no ano 1953 **Watson e Crick** mostraron o seu **modelo de dobre hélice**, que explicaba como se podía almacenar e transmitir a información xenética, xa ninguén dubidou da función e importancia do ADN.

2. CONCEPTO DE XENE

O enfoque mendeliano ou Xenética Mendeliana estuda os modelos de transmisión da información, independentemente da natureza química do xene. O xene é a unidade de herdanza, polo tanto é unha unidade de información hereditaria.

A Xenética Molecular ocúpase da natureza dos xenes e da súa expresión. Os **xenes** defínense como **segmentos de ADN que conteñen a información necesaria para, mediante transcrición e tradución, sintetizar unha proteína.**

Os xenes dos procariotas son unidades continuas, ou sexa, que un segmento de ADN contén toda a información necesaria para a síntese dunha proteína; sen embargo, os **xenes dos eucariotas encóntranse fragmentados**: cada xene consta dunha serie de secuencias que codifican fragmentos da proteína (**exóns**) separadas por outras secuencias, máis ou menos longas, que non codifican ningunha cadea peptídica (**intróns**). Ademais, tanto en procariotas como en eucariotas, existen secuencias que non se transcriben, pero que desempeñan un papel fundamental na regulación da expresión xénica, pois constitúen sinais que indican o inicio ou o final do xene que se vai transcribir.

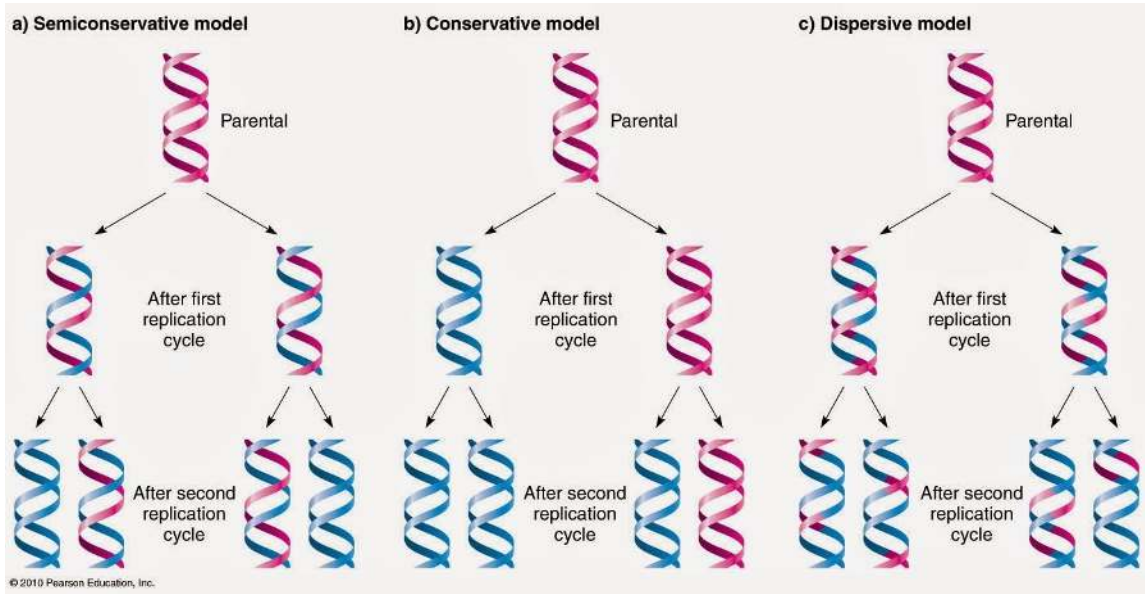
O conxunto de tódolos xenes dun organismo constitúe o **Xenoma**.

3. FLUXO DA INFORMACIÓN XENÉTICA NOS SERES VIVOS.

O ADN é o portador da información xenética. É polo tanto unha molécula que almacena a información que se transmite dunha célula a outra de xeración en xeración. Para iso ha de duplicarse transmitindo a mesma mensaxe nas dúas copias. A este proceso chámasele **replicación**. A mensaxe xenética contida no ADN é a especificación das proteínas que debe sintetizar a célula. Desde a mensaxe do ADN ata as moléculas de proteínas pásase por dous procesos:

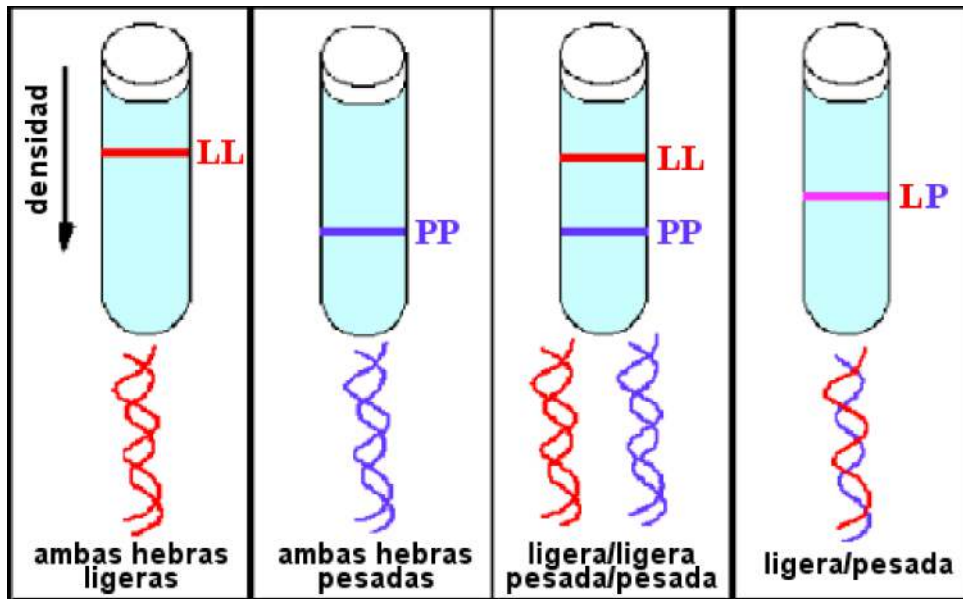
- **Transcrición**, que consiste en que a mensaxe dun fragmento de ADN é copiado (transcrito) nunha molécula de ARN, que por tanto conterá a mesma información xenética.
- **Tradución**, que consiste na síntese da proteína especificada pola mensaxe do ADN seguíndose as instrucións do ARN.

Establécese así o que se coñece polo “**dogma central da Bioloxía Molecular**”, segundo o que a transferencia ou fluxo de información segue os pasos do ADN ó ARN e deste ás proteínas:



- 4

outra situada máis cara ó fondo, correspondente ó ADN pesado. A continuación cultivaron as bacterias que contiñan o ADN pesado nun medio con N^{14} e deixáronas reproducirse unha única vez. Illaron o ADN das células fillas resultantes e centrifugárono. No tubo da centrifuga atoparon unha única banda que se situaba nunha zona intermedia. Este resultado é acorde coa hipótese semiconservativa, pois segundo ela as células fillas deberían presentar un ADN mixto, cunha cadea orixinal que contería N^{15} , e outra de nova síntese que contería N^{14} . Repetiron o experimento deixando que as bacterias se reproduciran durante varias xeracións e en tódolos casos os resultados atopados foron os esperados segundo a hipótese semiconservativa.



4.1. MECANISMO DA DUPLICACIÓN.

O proceso da replicación é semellante en organismos procariotas e eucariotas, pero é nos primeiros onde se coñecen máis detalles, en concreto a máis estudada é a replicación en *E. coli*.

A duplicación é un proceso complexo no que interveñen máis de 50 proteínas distintas agrupadas en complexos multienzimáticos. Os enzimas que interveñen son os seguintes:

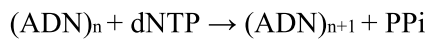
- **Helicasas:** separan as dúas febras do ADN ó romper as pontes de hidróxeno que manteñen unidas as bases complementarias.
- **Topoisomerasas:** a actividade das helicasas provoca torsións no ADN que producen superenrolamentos que son eliminados polas topoisomerasas.
- **Proteínas SSB (proteínas enlazantes de cadea sinxela):** manteñen as dúas febras complementarias separadas.
- **ADN polimerasas:** son os enzimas encargados de sintetizar as novas cadeas de ADN (cataliza a formación de enlaces fosfodiéster entre nucleótidos consecutivos) tomando como molde as orixinais. Presenta as seguintes características:

- Necesita unha cadea molde de ADN, que percorre en sentido $3' \rightarrow 5'$ e sobre a que

sintetiza a cadea complementaria.

- Une nucleótidos en sentido 5' → 3'; é dicir, a nova cadea formada crece neste sentido. Os nucleótidos que se van engadindo son os que se sitúan previamente fronte ós correspondentes nucleótidos complementarios do ADN molde.

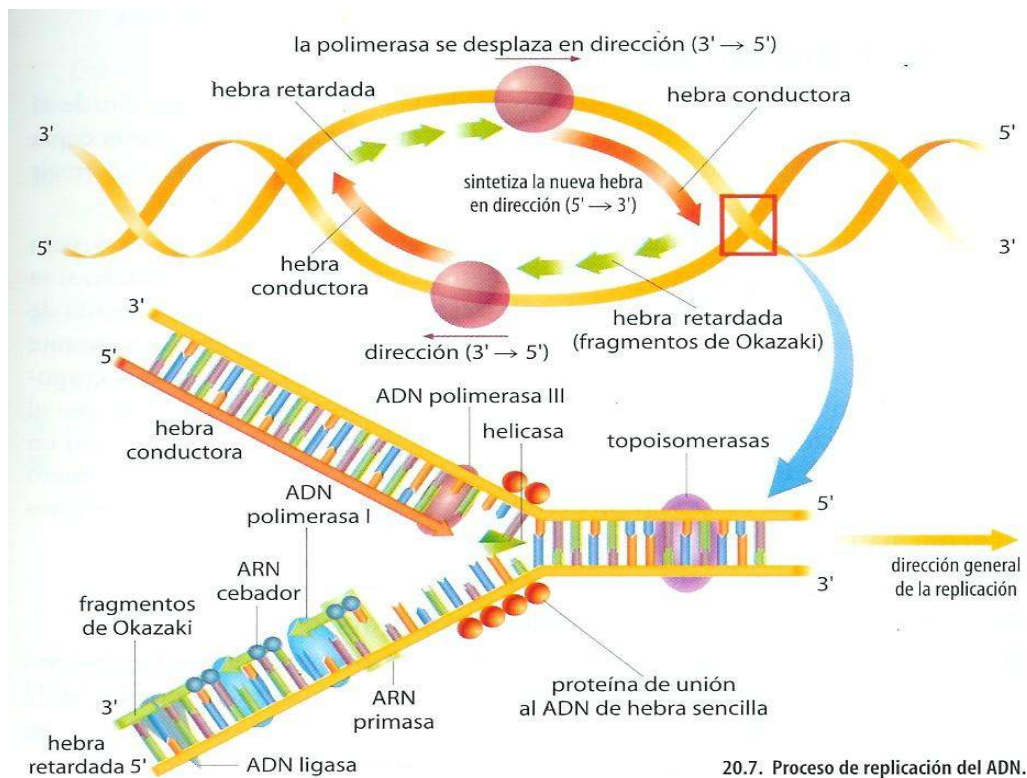
- Utiliza nucleótidos trifosfato (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) os cales proporcionan ó mesmo tempo a enerxía necesaria para a unión:



- Non pode comezar a síntese por si mesma, pois só pode engadir nucleótidos sobre o extremo 3' libre dunha cadea polinucleotídica previa. Por este motivo é necesario que exista unha cadea curta de ARN (40-50 nucleótidos), denominada **ARN cebador** ou **primer**.

- **ARN polimerasa** ou **Primasa**: a súa acción é necesaria para que actúe posteriormente a ADN polimerasa e consiste en sintetizar un pequeno fragmento de ARN, o ARN cebador, ó que a ADN polimerasa engadirá novos nucleótidos.
- **Exonucleasas**: elimina os anacos de ARN cebador.
- **Ligasas**: unen fragmentos de ADN.

O proceso de duplicación ten lugar da seguinte maneira:



O paso previo para que poida actuar a ADN polimerasa é o desenrolamento e apertura da dobre hélice. A separación das cadeas na que interveñen os enzimas helicasas e topoisomerasas comeza en puntos concretos chamados puntos de iniciación, a partir dos cales vanse separando as dúas febras do ADN formando a chamada “**burbulla de replicación**”. Os dous extremos da burbulla por onde continúa a separación reciben o nome de “**forçadas de replicación**”. A partir do punto de inicio, situado no centro da burbulla, a duplicación ten lugar **bidireccionalmente**. A síntese iníciase a ADN polimerasa que sintetiza o ARN cebador ó que posteriormente engadirá novos nucleótidos a ADN polimerasa.

Dado que a ADN polimerasa percorre o ADN molde en sentido $3' \rightarrow 5'$, a síntese dunha das hebras é continua, xa que, a medida que se abre a dobre hélice, o enzima ADN polimerasa vai avanzando e engadindo novos nucleótidos á cadea en formación, denominada **febra condutora**. Sen embargo, como a outra cadea é antiparalela, a ADN polimerasa debería percorrela en sentido $5' \rightarrow 3'$, engadindo nucleótidos á febra en formación en sentido $3' \rightarrow 5'$, o cal non é posible. A síntese neste caso é descontínua e prodúcese en segmentos separados. Esta cadea denomínase **febra retardada** pois a súa síntese é máis lenta que a da febra condutora. Os segmentos de ADN sintetizados deste xeito coñécense co nome de **fragmentos de Okazaki** e constan de 1000 a 2000 nucleótidos. Cada fragmento de Okazaki require un ARN cebador para iniciar a síntese dunha secuencia de nucleótidos.

Posteriormente, e trala eliminación dos ARN cebadores pola acción das enzimas exonucleasas, a ADN polimerasa engade ó extremo $3'$ do ADN acabado de sintetizar os desoxirribonucleótidos que substitúen ó anaco de ARN. Finalmente, unha ligase forma o enlace fosfodiéster que acaba de unir os fragmentos da febra retardada.

5. A TRANSCRICIÓN. SÍNTESE E PROCESAMENTO (MADURACIÓN) DO ARN.

Cando se soubo que as proteínas se sintetizan no citoplasma resultou evidente que tiña que existir un intermediario entre os xenes do núcleo e as fábricas de proteínas que son os ribosomas. Este mensaxeiro tiña que ser un polinucleótido e debía ter unha vida curta. O **ARN mensaxeiro** é o intermediario que transporta a información dos xenes ás proteínas. Para trasladar esta información é preciso que se sintetice o ARNm a partir do patrón ou molde de ADN.

A **transcrición** consiste na formación ou síntese dunha molécula de ARN complementaria dun fragmento (xene) dunha das cadeas de ADN. A síntese de ARN cumpre unha serie de requisitos:

- Tódolos ARN, mensaxeiros, ribosómicos e transferentes, sintetízanse a partir de nucleótidos trifosfato, a través de reaccións catalizadas polos enzimas **ARN polimerasas** e grazas á información contida no ADN, que serve de patrón ou molde.

A síntese prodúcese por complementariedade e asimetría. A cadea de ARN que se forma é complementaria dun fragmento dunha das cadeas de ADN que compón a dobre hélice. Será un fragmento dunha ou doutra en función das secuencias de nucleótidos específicos que reconece a **ARN polimerasa**. Na cadea de ARN non aparecerá a base Timina, que se substituirá por Uracilo.

- O resultado do proceso de transcrición é un **ARN transcrito primario** que só nalgúns casos será ARN mensaxeiro. Noutros sufrirá un proceso de maduración para converterse nos ARN

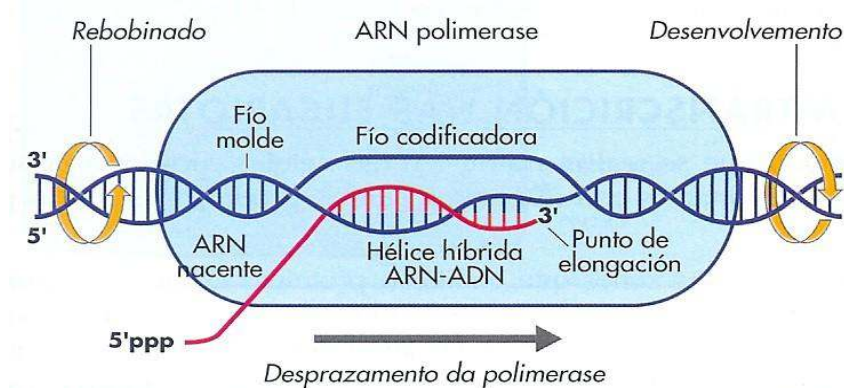
que interveñen na síntese de proteínas (mensaxeiros, ribosómicos e transferentes).

- Existen notables diferencias entre a síntese de ARN nas células procarióticas e nas eucarióticas.

○ TRANSCRICIÓN EN PROCARIOTAS.

A transcripción descubriuse en bacterias, concretamente en *E. coli*. Nas células procariotas lévase a cabo mediante un proceso no que se distinguen as seguintes fases: **iniciación** ou ensamblaxe das moléculas; **elongación** ou crecemento da cadea de ARN; **terminación** ou conclusión da síntese e separación dos distintos compoñentes, e, nalgúns casos, **maduración** ou transformación do ARN transcrito.

- **Iniciación:** O ADN patrón ou molde posúe en distintos lugares dunha ou doutra cadea os chamados **centros promotores** (constituídos por unha determinada secuencia de bases) que indica o lugar de unión da ARN polimerasa. A función das secuencias promotoras é indicar onde comeza a transcripción e cal das dúas febras (fíos) do ADN debe ser transcrita.
- **Elongación:** A ARN polimerasa separa os fíos de ADN formando unha “burbulla” que percorre o ADN na dirección de lectura do fío patrón: de 3’ a 5’. A dirección de síntese do ARN é de 5’ a 3’. A incorporación de ribonucleótidos ó fío de ARN en formación prodúcese grazas á enerxía que achega a hidrólise dos enlaces fosfato.



- **Terminación:** Existen tamén sinais de terminación no ADN molde que son recoñecidas polo ARN polimerasa e que desencadean a separación do enzima, do ADN e do ARN transcrito.
- **Maduración:** Nos procariotas o ARNm, sintetizado polo ARN polimerasa tradúcese directamente nos ribosomas do citoplasma. Sen embargo a formación de ARNr e ARNt require un proceso de maduración do ARN transcrito primario.

○ TRANSCRICIÓN EN EUCARIOTAS.

A transcripción que se produce no núcleo das células eucariotas presenta dúas diferencias importantes con respecto á que se produce nas células procariotas:

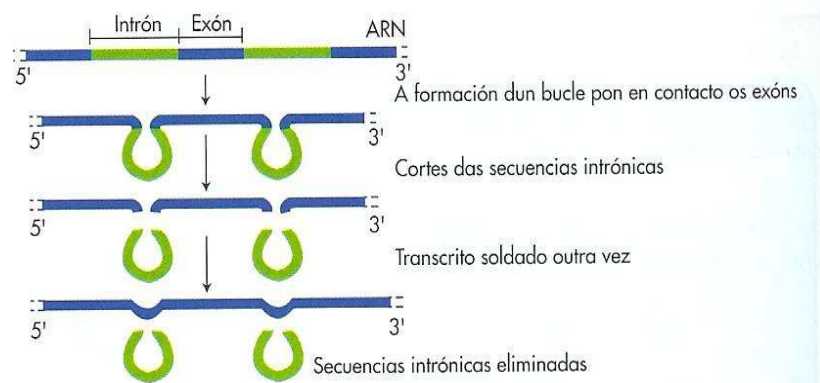
- A maior parte dos xenes que codifican proteínas (xenes estruturais) están fragmentados, é dicir, son descontinuos. As interrupcións son secuencias intermedias que non codifican

proteínas e que se denominan **intróns**. As rexións que cifran proteínas chámanse **exóns**. Transcribíense tanto uns coma outros e no proceso de maduración elimínanse as secuencias de intróns para formar un ARN mensaxeiro que contén a información continua para a síntese de proteínas

- Existen tres tipos de **ARN polimerasas** distintas, cada unha das cales cataliza a síntese dun ARN distinto.

Do mesmo xeito que na nas procariotas, a transcripción desenvólvese mediante un proceso no que se distinguen as seguintes fases:

- **Iniciación:** O promotor esta formado por unha secuencia de T e A, chamada **TATA box**, que é recoñecida pola ARN polimerasa.
- **Elongación:** A cadea de ARN crece de 5' a 3' e transcribíense exóns e intróns. No extremo 5' do ARN sintetizado engádesse un casquete ou carapucha de metilguanósina trifosfato (metil-GTP), que protexe este extremo do ataque das nucleasas cando o ARN sae do núcleo cara os ribosomas citoplasmáticos.
- **Terminación:** Cando a ARN polimerasa transcribe a secuencia de finalización, a transcripción termina, e actúa outro enzima que engade no extremo 3' do ARN transcrito unha cola de poli-A formada por uns 150-200 ribonucleótidos de Adenina.
- **Maduración:** Os **ARN transcritos primarios** conteñen secuencias intercaladas (as que corresponden ós intróns) que non codifican ningún péptido, polo que deben ser eliminadas. Isto realízase mediante cortes entre os intróns e os exóns: os intróns dóbranse en forma de bucle e elimínanse, mentres que os exóns empálmanse dando como resultado o ARNm funcional.



O ARN mensaxeiro xa maduro sae ó citoplasma coa información necesaria para a síntese da proteína. Pero precísase a tradución desta información, almacenada mediante unha linguaxe de nucleótidos, a unha linguaxe de aminoácidos.

○ **REVERSOTRANSSCRICIÓN OU TRANSCRICIÓN INVERSA.**

O dogma central da bioloxía considera que o fluxo de información xenética discorre dende o ADN ata o ARN e dende este ata as proteínas. Con todo, descubriuse que tódolos virus con ARN que producen tumores, como o virus da SIDA poden producir unha enzima denominada **transcriptasa inversa**,

mediante a cal son capaces de sintetizar unha cadea de ADN complementaria do ARN vírico. Esta enzima é importante porque está implicada no proceso de infección dunha célula polo virus e a transformación da célula infectada en célula cancerosa.

6. O CÓDIGO XENÉTICO.

A información contida en moitos xenes necesita ser traducida a secuencias de aminoácidos. O **código xenético** é a relación de correspondencia entre os tripletes de nucleótidos (bases nitroxenadas) do ARNm e a secuencia de aminoácidos da proteína.

Nun ácido nucleico existen catro nucleótidos diferentes que se representan polas súas bases, mentres que as proteínas están formadas por vinte aminoácidos. Cantas bases codificarán un aminoácido?

Se fose unha base por aminoácido, só se poderían codificar catro. Dúas bases tamén resultan insuficientes: só existen $4^2 = 16$ posibles modos de agrupar as catro bases de dous en dous, co que habería ambigüidade na mensaxe xenética. Con todo, se tres bases codifican un aminoácido, as combinacións posibles son $4^3 = 64$; sobran tríos para os 20 aminoácidos. Por iso se pensou que a unidade de codificación (**codón** ou **tripleto**) estaría composta por tres nucleótidos ou bases, feito que foi demostrado experimentalmente.

		Segunda Letra								
		U		C		A		G		
Primera Letra	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	Try	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	Iso	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
		AUC	Iso	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
		AUA	Iso	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
		Tercera Letra								

©BIOINNOVA
genetics.com

Neste punto da investigación, o seguinte problema foi establecer que tripleto correspondía a cada aminoácido. Isto logrouse gracias a un enzima descuberto en 1955 por **Severo Ochoa**, a **polinucleótido fosforilasa**, coa que conseguiu a síntese de cadeas de ARN in vitro. Este descubrimento foi esencial para descifrar o código xenético entre 1961 e 1965, gracias ós traballos realizados polos laboratorios de Nirenberg, Khorana e o propio Ochoa.

Aínda que cada codón só ten un significado, varios codóns poden ter o mesmo significado; ademais hai tripletes “sen sentido”, que non codifican ningún aminoácido e son sinais de terminación.

CARACTERÍSTICAS DO CÓDIGO XENÉTICO:

- É **dexenerado** ou **redundante**, é dicir, varios codóns codifican para un mesmo aminoácido. Na maior parte dos casos estes codóns difiren unicamente na última das bases. Isto fai que algunhas das mutacións que se producen no ADN non produzan cambios na proteína sintetizada.
- É **universal**, é dicir, é o mesmo para todos os organismos (coa excepción de mitocondrias e ciliados).
- É **altamente específico**, pois cada codón codifica un só aminoácido.
- **Non presenta solapamentos nin discontinuidades**, é dicir, os tripletes interprétanse un tras outro en dirección 5'→ 3' e unha base non pode pertencer ó mesmo tempo a dous tripletes consecutivos, nin pode quedar solta sen pertencer a ningún.

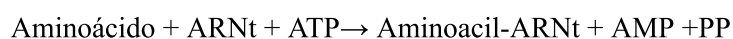
7.A TRADUCCIÓN. SÍNTESE DE PROTEÍNAS.

É o proceso mediante o cal se sintetiza unha proteína a partir dun ARN mensaxeiro que previamente transcribiuse dun xene do ADN. Ten lugar nos ribosomas, polo tanto no citoplasma.

O ARNm contén a información nunha secuencia de nucleótidos. Para que se produza a tradución cómpre que se estableza a correspondencia entre nucleótidos e aminoácidos que determina o código xenético, a través de moléculas adaptadoras. Estas moléculas son os ARN transferentes que presentan dous sitios de unión: o **anticodón** (secuencia de nucleótidos que é complementaria do codón do ARNm) e o **extremo 3'** (coa secuencia CCA onde se unirán os aminoácidos).

Na tradución están implicados: o ARNm que leva a mensaxe, os ribosomas que son os orgánulos nos que ten lugar o proceso, o ARNt que se encarga de transportar aminoácidos desde o citoplasma ata os ribosomas na orde que lle dita o ARNm para a súa incorporación á cadea de proteínas, varios enzimas e factores, ATP e GTP que aportan enerxía, e aminoácidos.

Antes de que o inicio da síntese teña lugar debe producirse a **activación dos aminoácidos**, que consiste na unión de cada tipo de aminoácido a un ARNt específico, cada aminoácido únese ó ARNt que contén o codón coa secuencia adecuada. A unión establécese no extremo 3' do ARNt grazas ó enzima **aminoacil-ARNt-sintetasa** e require enerxía que proporciona o ATP:



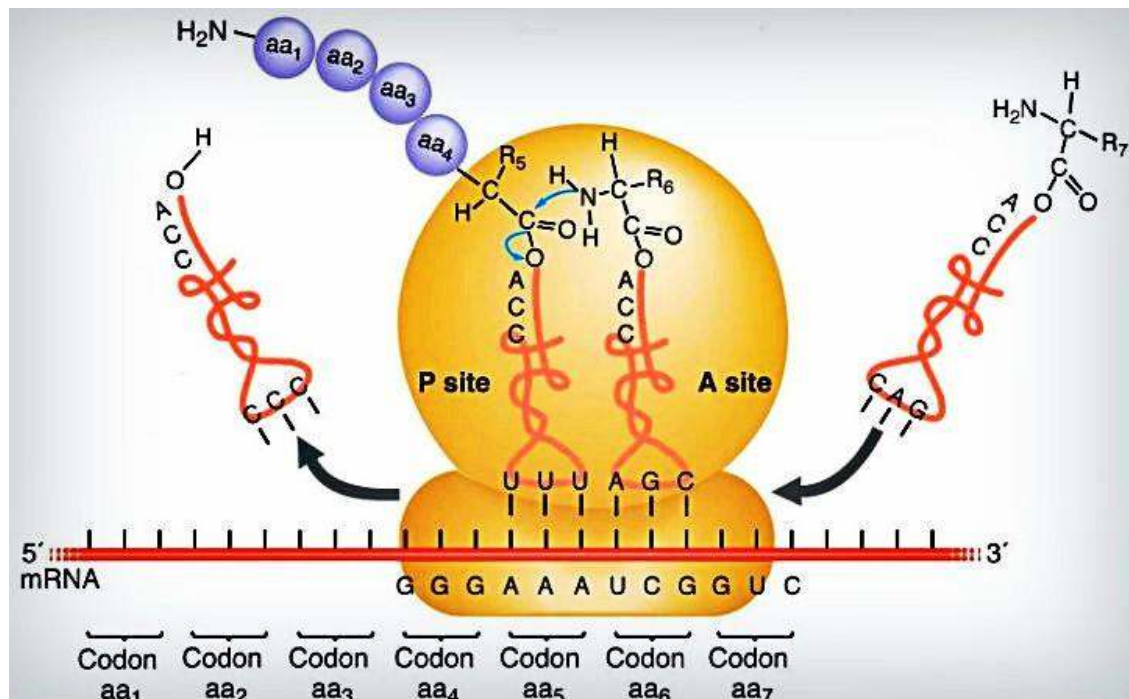
No proceso de tradución poden distinguirse varias etapas:

- **Fase de iniciación:** A tradución comeza no extremo 5' da molécula do ARNm e desprázase cara o extremo 3'. O extremo 5' da cadea de ARNm (en eucariotas a carapucha) únese á subunidade menor do ribosoma ata que esta se sitúa sobre o primeiro codón de iniciación (**AUG**) que atopa. Entón únese tamén o ARNt que leva o anticodón complementario ó codón de iniciación, que leva o aminoácido metionina (por elo tódalas proteínas recen sintetizadas posúen metionina no seu extremo N-terminal, despois, en moitos casos, esta metionina

elimínase). A continuación únese a subunidade maior do ribosoma; o complexo de iniciación está xa completo e disposto para a elongación da cadea polipeptídica. Nesta fase son necesarios uns factores denominados factores de iniciación (FI) e enerxía que é aportada polo GTP.

- Fase de elongación:** Consiste na unión de sucesivos aminoácidos á cadea polipeptídica en formación. A subunidade maior dos ribosomas ten dous sitios de unión para os ARNt: o centro P (peptidil) e o centro A (aminoacil). Inicialmente o centro P está ocupado polo ARNt iniciador unido á metionina e o centro A está libre. Neste sitúase un determinado codón do ARNm ó que se unirá o ARNt co anticodón complementario, co seu correspondente aminoácido. Unha vez ocupado este lugar, a metionina sepárase do seu ARNt e únese mediante un enlace peptídico ó segundo aminoácido. A unión é catalizada pola enzima **peptidil-transferasa**. Entón prodúcese a **translocación**: o ARNt sen aminoácido abandona o ribosoma, este desprázase un codón en dirección 3' e o peptidil-ARNt ocupa o sitio P, polo que o proceso pode continuar nun novo ciclo de elongación. A repetición de sucesivos ciclos de elongación xera a cadea polipeptídica, que medra do extremo amino- terminal ó carboxilo terminal. Nesta fase son necesarios factores de elongación (FE) e enerxía que é aportada polo GTP.
- Fase de terminación:** Cando chega ó sitio A algún dos codóns de terminación, **UAA**, **UAG** e **UGA** non se une ningún ARNt, pois ningún os reconece. O lugar A é ocupado entón por un factor de terminación (FR) o que provoca a liberación da proteína e a separación do ARNt e do ARNm do ribosoma, quen ademais se disocia nas súas dúas subunidades ata chegar a un novo comezo de síntese.

A tradución dunha molécula de ARNm pode realizarse por varios ribosomas simultaneamente. Esta é a causa de que se observen no microscopio electrónico os **polirribosomas ou polisomas**.



8. REGULACIÓN DA EXPRESIÓN XÉNICA.

A adaptación ás circunstancias ambientais nas que se desenvolve a vida da célula provoca que se precise a regulación para conseguir nos seres unicelulares o aproveitamento do medio externo, e nos seres pluricelulares a coordinación entre células diferenciadas (especializadas).

O control da actividade de calquera célula lévase a cabo por mecanismos de regulación que determinan en que medida se producen as substancias activas, como por exemplo os enzimas. A produción das diferentes proteínas non é outra cousa que a expresión dos xenes. Ó regular a expresión xénica estase regulando a actividade da célula.

O principal punto de regulación da expresión xénica é a transcripción.

○ PROCARIOTAS. O OPERÓN.

As bacterias están obrigadas a responder continuamente ós cambios producidos no ambiente externo e, polo tanto, utilizan en cada momento só aquela fracción de información xenética que resulta realmente necesaria para dar resposta á variación de factores ambientais (nutrientes, temperatura...). A principios dos anos 60 **Jacob** e **Monod** propuxeron un modelo denominado **operón** para a regulación da expresión xénica nas bacterias. Un **operón** é un conxunto de xenes (que máis adiante se denominarán xenes estruturais) que codifican as proteínas que interveñen nun determinado proceso metabólico, máis un centro de control ou secuencia asociada que permite, ou non, a transcripción do conxunto de xenes.

Os elementos que compoñen o modelo do operón son:

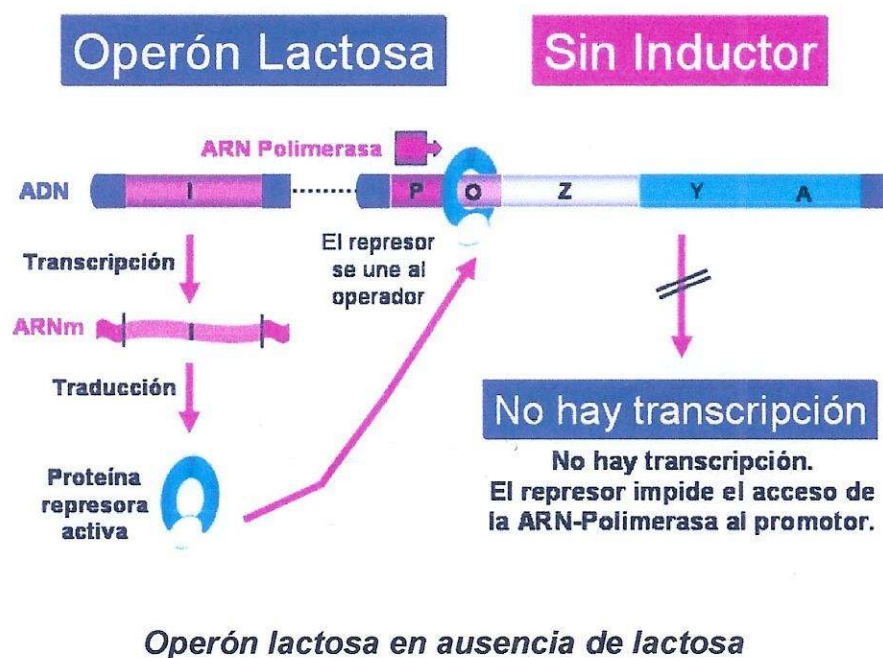
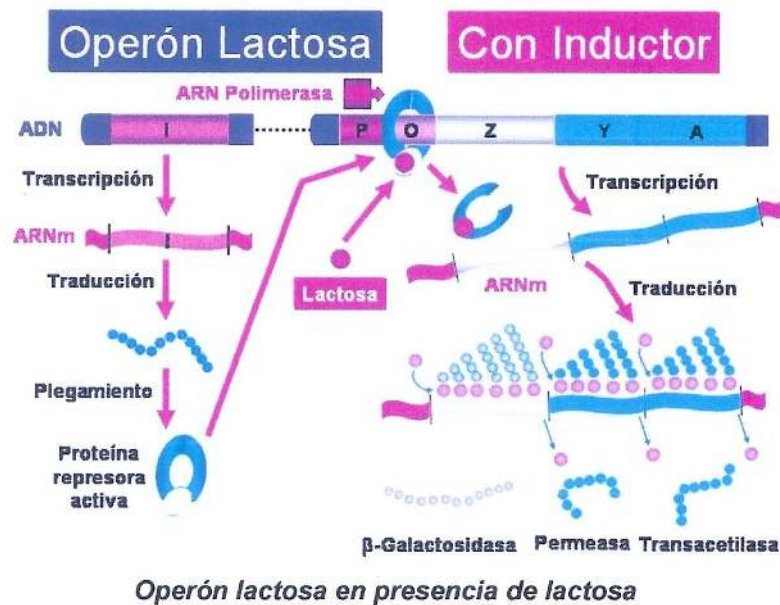


Elementos del operón lactosa

- **Xenes estruturais: (Z, Y, A...)**, codifican as proteínas (E1, E2, E3...) que participan conxuntamente nun determinado proceso e que por elo deben sintetizarse simultaneamente.
- **Xenes reguladores: (I)**, codifican para unha proteína represora que pode impedir a transcripción dos xenes estruturais e polo tanto é o axente que controla materialmente a expresión.
- **Promotor: (P)**, que esta próximo ós xenes estruturais e que é a secuencia a que se une a ARN-polimerasa para a transcripción.
- **Operador: (O)**, é unha rexión intercalada entre o promotor e os xenes estruturais e que posúe unha secuencia característica que cando é recoñecida pola proteína represora, bloquea o operador impedindo o avance da ARN-polimerasa, de forma que a transcripción interrómtese e se produce unha represión xénica (os xenes non se expresan).

O primeiro operón que se propuxo (Jacob e Monod) é o **operón lactosa** ou **operón lac** de *E. coli*. Cando a bacteria se atopa nun medio rico en lactosa e pobre en glicosa, emprega o disacárido como fonte de carbono. No metabolismo da lactosa interveñen tres enzimas que están codificados por xenes estruturais contiguos e que seguen ó operador.

Cando hai glicosa no medio, o xene regulador transcríbese e produce unha proteína represora que posúe dous lugares de unión. Un deles bloquea ó operador e, como consecuencia diso, os xenes estruturais non se transcriben. Se hai lactosa, pero non glicosa, a lactosa, que actúa como **indutor**, únese ó outro lugar da proteína represora provocándolle un cambio conformacional que a volve inactiva e que lle impide a unión ó operador. Entón é cando se produce a transcripción dos xenes estruturais e se sintetizan os enzimas que conducen ó metabolismo da lactosa.



- **EUCARIOTAS.**

En procariotas a síntese de proteínas debe responder de forma rápida e precisa ós cambios no ambiente. En eucariotas pluricelulares, nos que todas as células dun organismo son xeneticamente idénticas e todas conteñen todos os xenes, durante o proceso de diferenciación celular (especialización das células en determinadas funcións) en cada tipo celular anúlanse gran parte dos xenes que conteñen, quedando só activos aqueles necesarios para a súa supervivencia e os necesarios para realizar a súa función. A anulación prodúcese por superempaquetamento da cromatina que contén os xenes non necesarios, o que deixa inaccesible o ADN para a ARN polimerasa e así impide a transcripción. Esta cromatina superenrolada, non transcribible, denomínase **heterocromatina**, mentres que a transcribible chámase **eucromatina**.

O control dos xenes transcribibles realízase fundamentalmente a través das hormonas. As **hormonas lipídicas**, que poden atravesar a membrana plasmática (tamén lipídica), entran na célula, únense a un receptor e diríxense cara ó núcleo onde activan a transcripción de certos xenes. As **hormonas proteicas**, ó non poder atravesar a membrana actúan a través dun segundo mensaxeiro (o AMPc).

9. MUTACIÓNS.

O material xenético (ADN) non é inmutable, senón que pode sufrir variacións bruscas e espontáneas, non predicibles as que chamamos **Mutacións**, que poden ter importantes consecuencias para o individuo no que se manifestan ou pasar inadvertidas. Estas alteracións por outra parte poden ser negativas para o individuo no que se manifestan, pero enormemente vantaxosas para a especie á que pertence, xa que aumentan a variabilidade xenética, sen a cal non sería posible a evolución dos seres vivos por selección natural.

9.1. TIPOS DE MUTACIÓNS

Segundo o **grao de afectación**:

- **Prexudiciais** para o organismo, xa que poden resultar letais e provocar a morte do portador
- **Beneficiosas**, cando aumentan a probabilidade de supervivencia do organismo.
- **Neutras**, cando non producen beneficios pero tampouco prexuizos significativos.

Segundo as **células afectadas** clasifícanse en dous tipos:

- **Somáticas.** Afectan as células somáticas e, polo tanto, as que proceden delas por mitose. afectan ao individuo e poden causar nalgúns casos enfermidades graves, pero non se transmiten a descendencia polo que non teñen un papel importante na evolución.
- **Xerminais.** Son as que afectan aos gametos. non afectan ao individuo pero si que se transmiten a descendencia.

Segundo a **cantidade de material xenético afectado**:

- **Mutacións xénicas.** Producen alteracións na secuencia de nucleótidos dun xene.
- **Mutacións cromosómicas.** As alteracións afectan á secuencia dos xenes dun cromosoma.
- **Mutacións xenómicas.** Producen cambios que afectan o número de cromosomas das células.

9.2. MUTACIÓNS XÉNICAS OU PUNTUAIS.

Son as mutacións en sentido estrito pois o cambio afecta directamente á estrutura molecular do xene, é dicir, á secuencia de nucleótidos.

As mutacións xénicas aparecen fundamentalmente por dúas causas:

- Erros non corrixidos durante a duplicación do ADN → **Mutacións espontáneas.**
- A acción de determinados axentes físicos (radiación UV, raios X...) ou químicos (ácido nitroso...) denominados axentes mutáxenos → **M. inducidas.**

A clasificación das mutacións xénicas pódese establecer segundo o tipo de alteración do ADN:

- Por substitución de bases nitroxenadas:
 - **Transición:** cambio dunha base por outra do mesmo tipo, púrica por púrica ou pirimidínica por pirimidínica.
 - **Transversión:** supón o cambio dunha base púrica por unha pirimidínica ou viceversa.
- **Delecións:** perda de un ou máis nucleótidos.
- **Insercións:** ganancia ou adición de un ou máis nucleótidos.

A transcendencia da mutación dependerá da importancia que tivese a secuencia alterada sobre a secuencia de aminoácidos da proteína que codifica ou sobre o control da transcrición, así:

- Pode ser causa de enfermidades moi severas:
 - Anemia falciforme: mutación nunha das cadeas de Hemoglobina.
 - Cancro: mutación que afecta os xenes que controlan a división celular (como resultado esta altermase e prodúcese unha proliferación celular).
- Outras veces son **silenciosas: mutación dun triplete noutro que codifica para o mesmo aminoácido.**
- Noutros casos supoñen cambios equivalentes: exemplo Glu por Asp.
- Se a diferenza entrambos aminoácidos é radical, a nova proteína non consegue a súa configuración habitual e perde a súa funcionalidade biolóxica.

9.3. MUTACIÓNS CROMOSÓMICAS.

Afectan a estrutura dos cromosomas polo que é posible detectalas ó microscopio. A secuencia de bases nitroxenadas dos xenes non esta alterada, pero existen cambios no número de xenes ou na súa disposición lineal nos cromosomas. Diferéncianse dous tipos segundo que a alteración afecte ó número ou a orde dos xenes nos cromosomas:

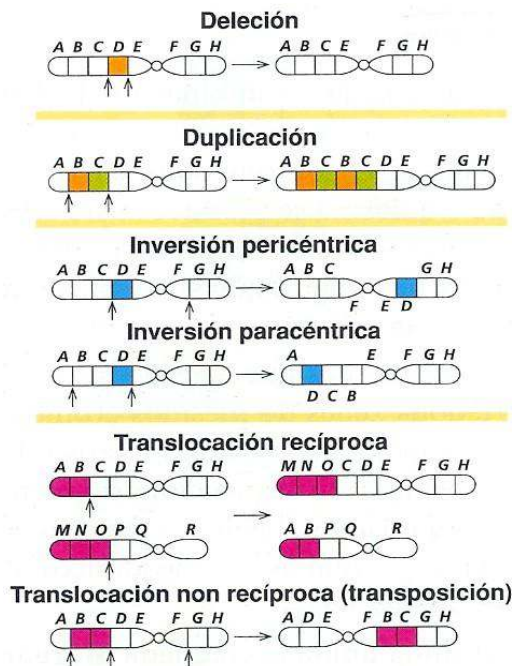
Alteracións pola existencia dun número de xenes incorrecto:

- **Deficiencias ou Delecións:** consisten na perda dun fragmento do cromosoma e en consecuencia dalgúns xenes, xa sexa nun extremo (deficiencia) ou noutro lugar (deleción).
- **Duplicación:** un segmento do cromosoma encontrase repetido polo que existe un exceso dos xenes correspondentes.

Alteracións na orde dos xenes:

- **Inversións:** a disposición dos xenes dun fragmento cromosómico esta invertido.
- **Translocacións:** un fragmento cromosómico cambia de posición trasladándose a outro lugar

do mesmo cromosoma, o seu homólogo ou a outro calquera.



9.4. MUTACIÓNS XENÓMICAS OU NUMÉRICAS.

Consisten na alteración do nº de cromosomas dunha especie polo que se poden detectar facilmente ó estudar o cariotipo dun individuo.

Distínguense dous tipos:

- ◆ **Euploidias:** alteración no nº de xogos cromosómicos.
Denomínase xogo cromosómico ó conxunto formado por un cromosoma de cada tipo, polo que os individuos diploides ($2n$) normais teñen nas súas células somáticas dous xogos cromosómicos.
Subdivídense en:
 - ❖ Monoploidias: unicamente existe un xogo cromosómico, é dicir, n cromosomas.
 - ❖ Poliploidias: a anomalía consiste na existencia de máis de dous xogos cromosómicos. Poden ser triploides ($3n$), tetraploides ($4n$)...
- ◆ **Aneuploidias:** non existe alteración do nº de xogos cromosómicos completos. Só falta ou sobra algún cromosoma. Poden ser:
 - ❖ Nulisomias: ($2n-2$). Falta unha parella de cromosomas. Letal.
 - ❖ Monosomias: ($2n-1$)
 - ❖ Trisomias: ($2n+1$). Trisomia 21- Síndrome de Down
 - ❖ Tetrasomias: ($2n+2$)

9.4. MUTACIÓNS E EVOLUCIÓN.

No ano 1858 foron presentados os traballos de Wallace e Darwin sobre a selección natural na Sociedade Linneana de Londres. En novembro de 1859 Darwin publicou “A orixe das especies por medio da selección natural”. Posteriormente, esta teoría incorporou os descubrimentos da xenética. Na actualidade, a síntese coñécese como neodarwinismo; segundo esta visión, a variación xenética dos individuos aparece por azar mediante mutacións e os principais motores que impulsan a evolución son a selección natural, a deriva xenética e o fluxo xenético.

- **Papel das mutacións na evolución**

Sen variación xenética non hai biodiversidade. A principal fonte de variacións xenéticas son as mutacións, que orixinan novos alelos e xenes. A mutación é frecuente en bacterias e virus, pero non tanto en organismos eucariotas. Nestes, para que unha mutación inflúa ten que producirse en células xerminais.

As mutacións con frecuencia son dañinas. Algunhas, coma as que orixinaron os alelos dos experimentos de Mendel ou os grupos sanguíneos humanos, son neutrais. Outras, coma as que determinaron o crecemento do cerebro humano, son favorables para a nosa especie nun ambiente determinado.

Algunhas mutacións puntuais poden codificar cambios favorables na actividade das proteínas. Do mesmo xeito, as duplicacións de xenes, ao ampliar a masa xenética, poden favorecer a evolución. As traslocacións, se non conlevan perda de xenes, tamén poden favorecer a biodiversidade.

- **A selección natural**

Os membros dunha poboación presentan diferencias nos seus rasgos herdables, que lles permiten adaptarse con diferente eficacia ó medio ambiente no que viven. Os individuos que posúan determinadas características hereditarias estarán mellor adaptados, sobrevivirán mellor e terán máis posibilidades de se reproducir que os que non as posúan.

Co tempo, a selección natural fará que a poboación aumente a frecuencia das adaptacións máis favorables a este ambiente. Se o ambiente cambia, ou se a poboación se despraza a un novo ambiente, a selección natural favorecerá a aqueles individuos que estean mellor adaptados ó novo medio, o que pode dar lugar a novas especies.

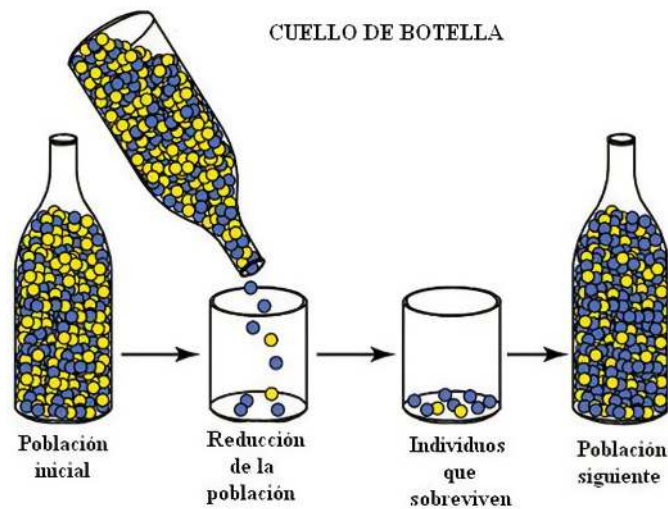
Temos un exemplo desto co caso da bolboreta do bidueiro, que seguro que coñecemos.

- **A deriva xenética e o fluxo xenético**

Se lanzamos cen veces unha moeda ó aire, 50% das veces sairá cara e o outro 50% sairá cruz, aproximadamente. Se a tiramos dez veces, pode saír sete veces cara e tres cruz. Así, en poboacións pequenas a frecuencia dos diferentes alelos pode ter fluctuacións aleatorias impredecibles. Este fenómeno de variacións é coñecido como deriva xenética.

Unha poboación pode diminuír por causas naturais, coma a variación do nivel freático ou por intervención humana, coma a caza ou a explotación abusiva. Tamén pode darse un caso de deriva

xenética por colonización dun hábitat illado por parte dunha pequena poboación. Nos casos referidos, despois de varias xeracións pode aumentar a poboación e quedar fixados os alelos potenciados pola deriva xenética, nunha proporción moi diferente á que tiñan na poboación orixinal.



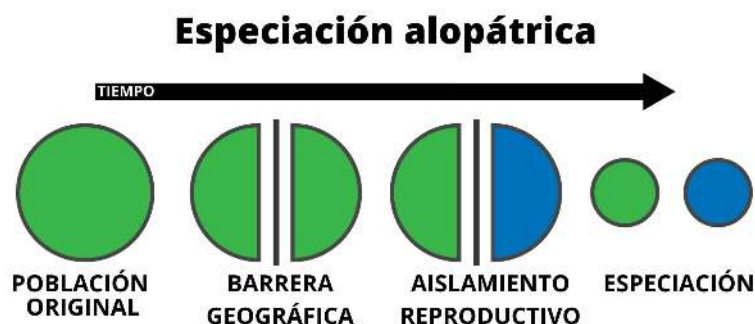
O fluxo xenético prodúcese cando individuos dunha poboación, en número moi variable, migran a outra poboación illada da mesma especie. Ó cruzarse producen descendentes que integrarán os alelos dos recién chegados cos da poboación receptora.

- **A especiación**

Unha especie é un conxunto de organismos ou poboacións cuxos membros poden cruzarse e ter descendencia fértil. Se se interrompe o intercambio xenético entre dúas ou máis poboacións, a ocorrencia de mutacións será diferente en cada unha delas. A presión da selección natural e da deriva xenética sobre os diversos alelos existentes pode diferir en cada unha delas. Isto pode dar lugar á aparición de especies diferentes, nun proceso denominado especiación.

Existen dous modelos de especiación: alopátrica e simpátrica.

Na especiación alopátrica o cesamento de intercambio xenético ocorre por illamento xeográfico. Un exemplo é a colonización por un proxenitor ancestral de diversas illas do arquipélago das Galápagos con diferentes ecosistemas. A separación produciu a aparición de diversas especies de pinguíns diferentes en cada illa, nun proceso de 2 millóns de anos.



Na especiación simpátrica a interrupción pode deberse a barreiras que impiden o cruzamento entre individuos, como distintas épocas de apareamento, diferenzas de tamaño ou incompatibilidade entre gametos; ou por barreiras producidas despois da fecundación, como produción de hñíbridos estériles ou con problemas de desenvolvemento, entre outras.

