

TEMA 5

OS ÁCIDOS NUCLEICOS

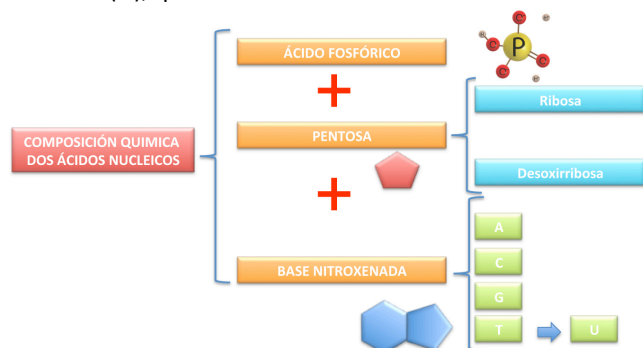
1.- OS COMPOÑENTES DOS ÁCIDOS NUCLEICOS

Os **ácidos nucleicos** son macromoléculas biolóxicas de carácter ácido que se descubriron no interior do núcleo das células eucariotas. Distingúranse dos outros compoñentes do núcleo, porque eran moi ricas en fósforo, concretamente en ácido fosfórico.

1.1.- Composición química

Os ácidos nucleicos son polímeros formados pola unión de nucleótidos. Os nucleótidos son as unidades simples que se van repetindo ao longo dunha cadea. Cada unha destas unidades está formada pola seguinte asociación de moléculas:

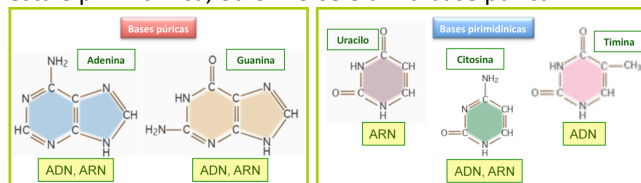
- **Ácido fosfórico** (H_3PO_4). Encóntrase nos nucleótidos en forma de ión fosfato.
- **Pentosa**. Pode ser de dous tipos: a ribosa, que é a que se encontra nos nucleótidos do ácido ribonucleico (ARN), ou a 2-desoxirribosa, que forma parte do ácido desoxirribonucleico (ADN). En ningún caso se encontran os dous tipos de pentosas na mesma cadea. O nome de ribosa procede das iniciais do nome do laboratorio, Rockefeller Institute of Biochemistry, no que se identificou por primeira vez esta molécula, e da terminación -osa propia dos glúcidos. O nome 2-desoxirribosa fai referencia a que é unha ribosa na que falta un grupo hidroxilo (-OH) no segundo carbono.
- **Base nitroxenada**. Segundo a súa estrutura existen dous tipos de bases:
 - **Púricas**. Derivan dunha molécula de purina e son, a **adenina** (A) e mais a **guanina** (G).
 - **Pirimidínicas**. Derivan dunha molécula de pirimidina e son, a **citosa** (C), a **timina** (T), que é exclusiva do ADN, e o **uracilo** (U), que é exclusivo do ARN.



1.2.- Nucleósidos

Os nucleósidos fórmanse pola unión dunha pentosa cunha base nitroxenada, mediante un **enlace N-glicosídico** entre

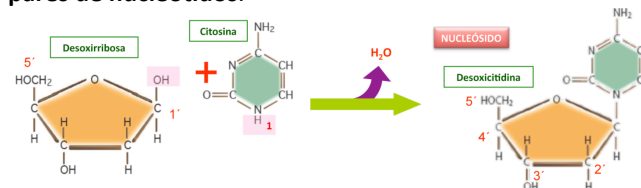
o carbono 1' da pentosa e o N-1 da base nitroxenada, se esta é pirimidínica, ou o N-9 se é unha base púrica.



1.3.- Nucleótidos

Os nucleótidos fórmanse pola unión dun nucleósido e un ácido fosfórico, mediante un enlace entre o grupo hidroxilo do carbono 5' da pentosa e o ácido fosfórico. Este enlace recibe o nome de **enlace éster fosfórico**. Os nucleótidos teñen un forte carácter ácido debido ao grupo fosfato que se ioniza.

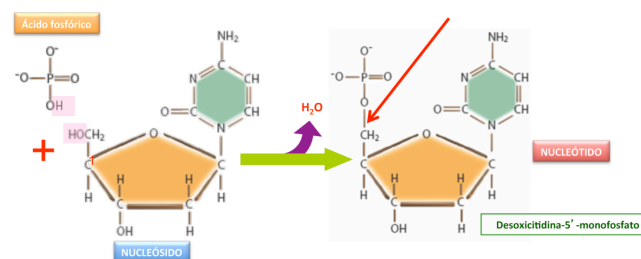
Nos ácidos nucleicos bicatenarios, cada nucleótido asóciase a outro da cadea complementaria formando **pares de nucleótidos**.



1.3.1- Nucleótidos

Os nucleótidos cumpren varias funcións entre as que destacamos as seguintes:

- Forman parte dos ácidos nucleicos (ADN, ARN)
- Intermediarios de enerxía: fosfatos de adenosina (AMP, ADP, ATP)
- Segundo mensaxeiro de receptores hormonais: (AMP cíclico)
- Transportadores de moléculas: (UDP)
- Coenzimas: (flavinnucleótidos, piridin-nucleótidos, coenzima A)



1.4.- Cadeas de ácidos nucleicos

As cadeas de ácidos nucleicos presentan dous extremos: o **extremo 5'**, onde hai un grupo fosfato unido ao carbono 5' do primeiro nucleótido, e o **extremo 3'**, onde hai un radical hidroxilo unido ao carbono 3' do último nucleótido.

Os ácidos nucleicos sintetízanse mediante encimas capaces de engadirlle nucleótidos ao extremo 3'. Entre o radical hidroxilo (-OH) do carbono 3' do último nucleótido e o radical fosfato do carbono 5' do nucleótido que se engade, fórmase un **enlace fosfodiéster**.

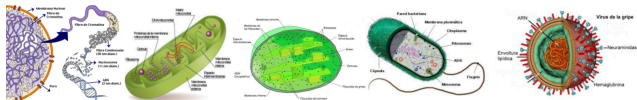
2.- O ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO (ADN)

O ácido desoxirribonucleico ou ADN está constituído por dúas cadeas de nucleótidos enroladas formando unha dobre hélice. Cada cadea está formada por un polímero de desoxirribonucleótidos de adenina, guanina, citosina e timina. Non existen desoxirribonucleótidos de uracilo. O ácido desoxirribonucleico presenta unha estrutura común en todas as células, aínda que é distinta nalgúns virus.

A súa masa molecular é moi elevada. Por exemplo, o ADN humano ten unha masa molecular de $3,6 \times 10^{12}$ u e contén $5,6 \times 10^9$ pares de nucleótidos.

Segundo o modelo celular, o ADN pódese encontrar en distintos lugares da célula e presentar distintas características:

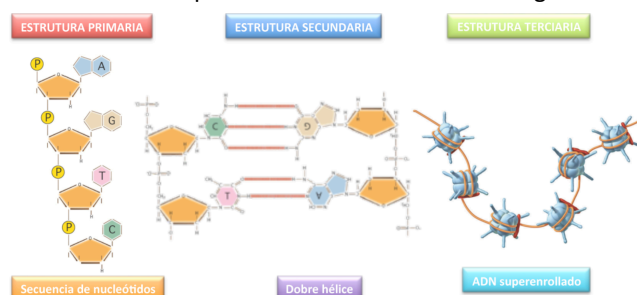
- **ADN de células eucariotas.** Encóntrase principalmente no núcleo, pero tamén nas mitocondrias e nos cloroplastos.
- **ADN nuclear.** Está unido a unhas proteínas básicas, denominadas histonas, e a unha pequena cantidade dun grupo heteroxéneo de proteínas, denominadas proteínas non histónicas. Esta asociación coñécese como fibra de cromatina.
- **ADN de mitocondrias e cloroplastos.** Este tipo de ADN é semellante ao das células procariotas.
- **ADN de células procariotas.** Está asociado a proteínas parecidas ás histonas, a ARN e a proteínas non histónicas, formando unha condensación denominada nucleóide, que, a diferenza do núcleo, non está delimitado por ningunha membrana envolvente.



Tamén nos virus se observaron proteínas básicas asociadas ao ADN.

O ADN presenta diferentes rangos de complexidade estrutural e pódense distinguir tres niveis estruturais:

- **Estrutura primaria** ou secuencia de nucleótidos.
- **Estrutura secundaria** ou dobre hélice.
- **Estrutura terciaria** ou ADN superenrolado, que xorde da torsión da dobre hélice sobre si mesma. A estrutura terciaria do ADN pode condensarse máis ata chegar a unha



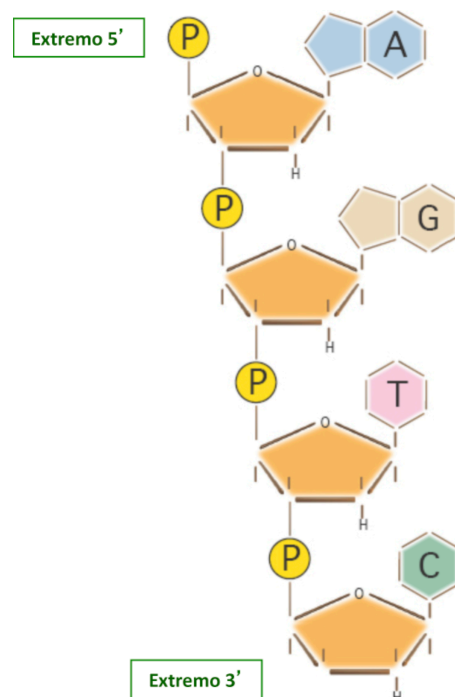
superespiralización cando se inicia a mitose, momento en que a fibra de cromatina se compacta para formar os cromosomas.

2.1.- Estrutura primaria do ADN

A estrutura primaria do ADN é a secuencia de nucleótidos dunha soa cadea ou febra, que pode presentarse como un simple filamento estendido ou ben lixeiramente dobrado sobre si mesmo. Nunha cadea pódese distinguir un esqueleto de polidesoxirribosas-fosfato e unha secuencia de bases nitroxenadas.

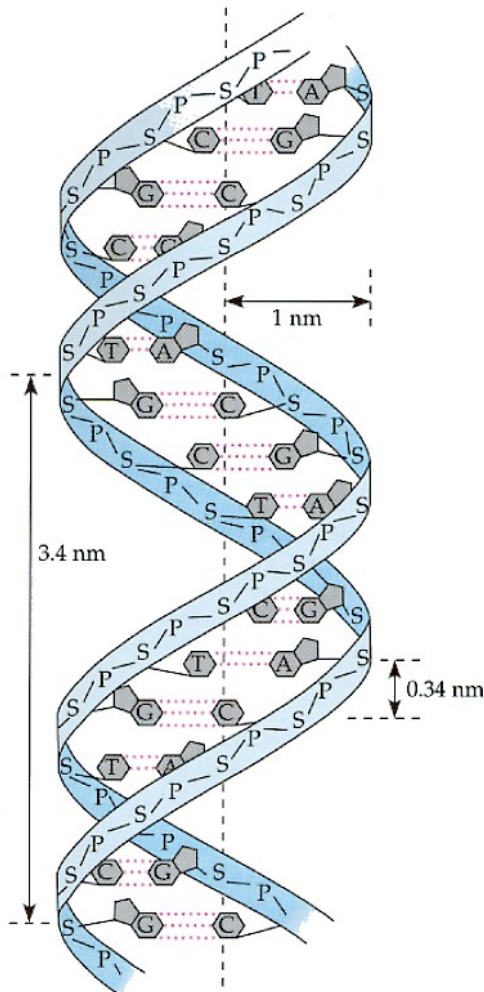
O número de febras diferentes de ADN que se pode formar combinando os catro tipos de nucleótidos (A, G, C e T) é moi elevado. Por exemplo, cos $5,6 \times 10^9$ pares de nucleótidos do ADN humano, poderíanse facer $4^{5600000000}$ tipos diferentes de ADN.

Estas innumerables combinacións permiten, a través da secuencia de bases nitroxenadas, estruturar unha determinada información, a chamada **información xenética**. Igual que con vinte e seis letras se poden formar moitas palabras diferentes, e combinándoas convenientemente, estrúcturase a información da linguaxe por palabras.



2.2.- Estrutura secundaria do ADN

A estrutura secundaria do ADN corresponde á disposición no espazo de dúas febras ou cadeas de polinucleótidos que forman unha dobre hélice, coas bases nitroxenadas enfrontadas e unidas mediante enlaces de hidróxeno. Esta estrutura deduciuse a partir dos seguintes datos experimentais que foron proporcionando diversos investigadores:



• **A densidade e viscosidade das dispersións acuosas do ADN eran superiores ás esperadas**, é dicir, ás que se calcularan a partir da súa composición química e a súa masa molecular. Isto fixolles supoñer aos investigadores que as cadeas de ADN debían de unirse entre elas por medio de pontes de hidróxeno entre os grupos $-NH_2$, $-CO-$ e $-NH-$ das súas bases nitrogenadas.

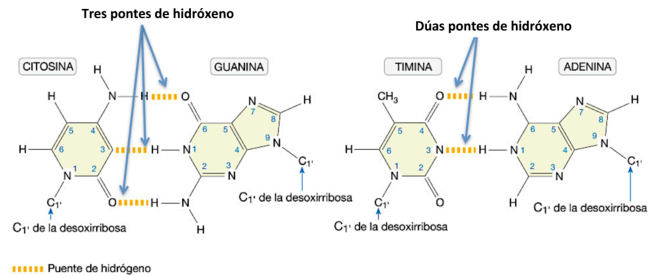
• **Todos os ADN teñen tantas moléculas de adenina (A) como de timina (T), e tantas de citosina (C) como de guanina (G).** Ao realizar análises químicas da frecuencia de aparición de nucleótidos, o químico Edwin Chargaff en 1950 observou que se cumprían as seguintes igualdades:

$$\frac{n.^{\circ} \text{ moléculas de adenina}}{n.^{\circ} \text{ moléculas de timina}} = 1$$

$$\frac{n.^{\circ} \text{ moléculas de citosina}}{n.^{\circ} \text{ moléculas de guanina}} = 1$$

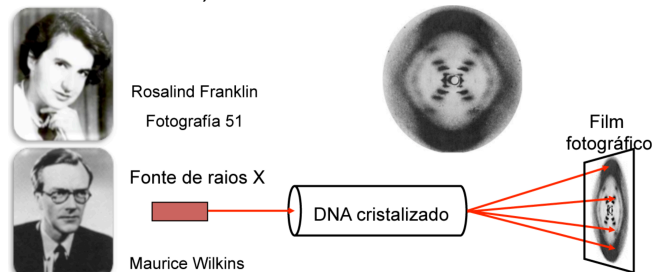
$$\frac{n.^{\circ} \text{ moléculas de citosina}}{n.^{\circ} \text{ moléculas de guanina}} = 1$$

Isto implicaba que as pontes de hidróxeno se establecían entre as adeninas (A) e as timinas (T) e, por outro lado, entre as citosinas (C) e as guaninas (G) e, polo tanto, existía unha complementariedade entre as bases. Debido ás características destas moléculas, entre as bases



complementarias adenina (A) e timina (T) establécense dúas pontes de hidróxeno, e entre as bases complementarias citosina (C) e guanina (G), tres pontes de hidróxeno.

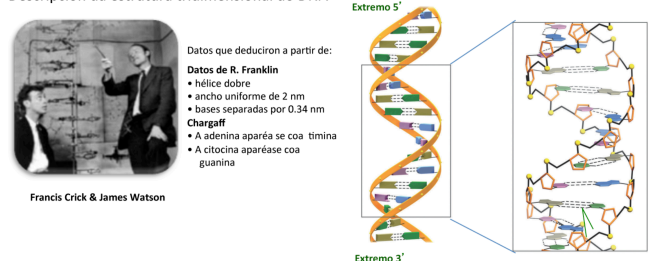
• **O ácido desoxirribonucleico ten unha estrutura fibrilar de 20 Å de diámetro.** Cada parella de nucleótidos está separada da seguinte por unha distancia de 3,4 Å e cada volta da dobre hélice está formada por dez pares de nucleótidos, o que supón unha lonxitude de 34 Å por volta de hélice. Estas conclusións elaboráronse grazas ás análises mediante difracción de raios X dos físicos Rosalind Franklin e Maurice Wilkins, nos anos 1950 e 1953.



2.2.1.- Modelo da dobre hélice do ADN

Os físicos James Watson e Francis Crick, en 1953, baseándose en todas estas achegas científicas sobre a estrutura do ADN, estableceron o **modelo da dobre hélice do ADN**.

Descrición da estrutura tridimensional do DNA

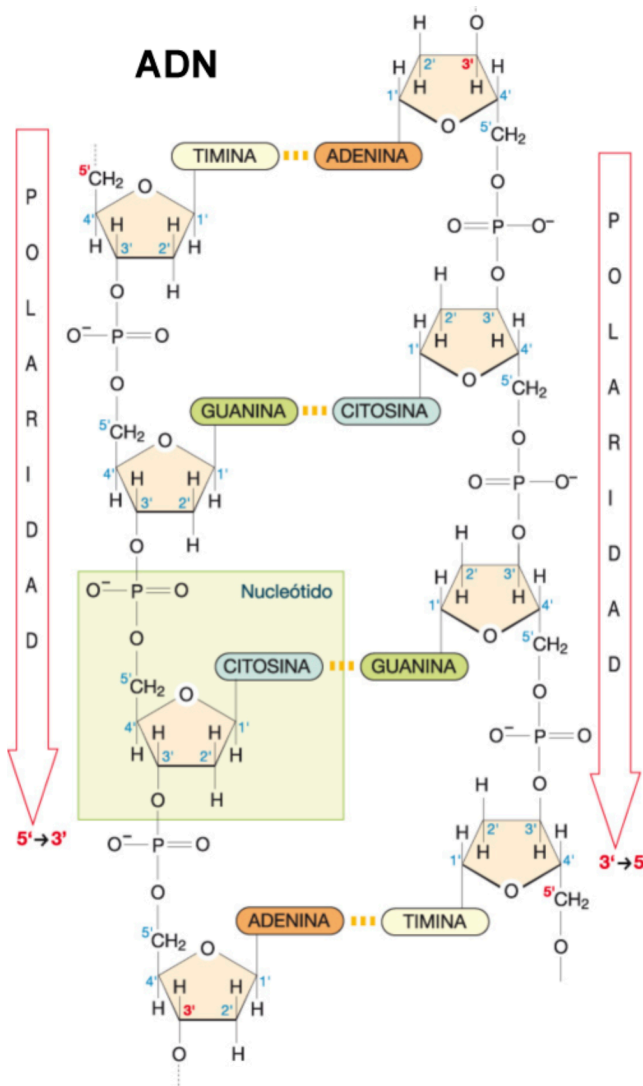


• O ADN é unha dobre hélice de 20 Å de diámetro, formada por dúas cadeas de polinucleótidos enroscadas arredor dun eixe imaxinario. Os grupos hidrófobos ($-CH_3$ e $-CH=$) das bases dispóñense cara ao interior da molécula, establecéndose interaccións hidrofóbicas que proporcionan, xunto coas pontes de hidróxeno, **estabilidade** á macromolécula. As pentosas e os grupos fosfato quedan no exterior e a ionización destes últimos proporciona o **carácter ácido** desta macromolécula.

• As cadeas de ADN que forman a dobre hélice son:

- **Antiparalelas.** Teñen os enlaces $5' \rightarrow 3'$ orientados en sentidos contrarios.

- **Complementarias.** As dúas cadeas non son iguais senón que, se nunha hai timina, na outra, ao mesmo nivel, hai



adenina. Da mesma forma, se nunha hai citosina na outra, ao mesmo nivel, hai guanina. Polo tanto, a secuencia de cada cadea é diferente, aínda que as dúas son complementarias entre si.

O enrolamento da dobre hélice é **dextroxiro** e **plectonímico**, é dicir, que para que se separen as dúas cadeas unha debe xirar con respecto á outra.

A dobre hélice de ADN en estado natural é moi estable; pero se unha dispersión de fibras de ADN se quenta ata os 100°C, as dúas febras da dobre hélice sepáranse, é dicir, prodúcese a **desnaturalización** do ADN.

Se este ADN desnaturalizado arrefría por debaixo de 65 °C, as dúas febras volven unirse. Esta restauración da dobre hélice chámase **renaturalización**.

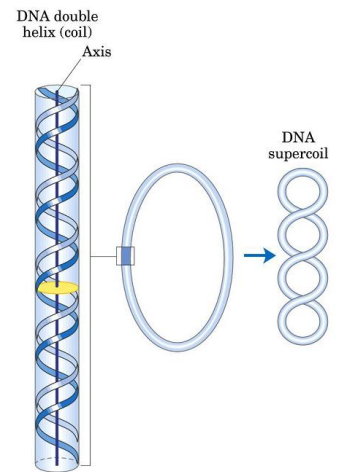
Grazas a estes procesos, pódense hibridar cadeas de ADN de diferentes individuos para coñecer o grao de parentesco entre eles.

2.3.- Estrutura terciaria do ADN

As moléculas de ADN circular, como o ADN bacteriano ou o ADN mitocondrial, presentan unha estrutura terciaria, na que a fibra de 20 Å se encontra retorcida sobre si mesma formando unha superhélice. Esta disposición

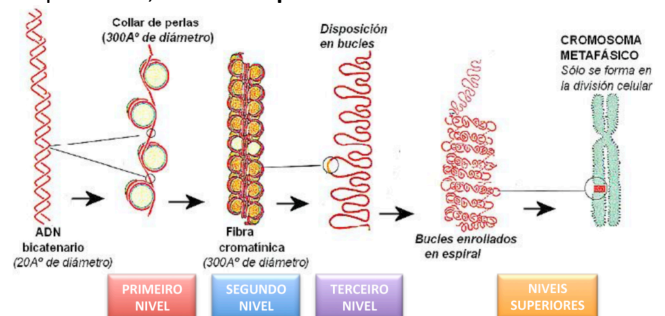
denomínase estrutura terciaria do ADN ou ADN superenrolado.

Os superenrolamentos xéranse porque unha das cadeas dá máis voltas á dereita ca a outra e a tensión aumenta. Para a súa duplicación, o ADN desespirálizase, é dicir, desfázanse voltas á dereita, grazas ao cal a tensión diminúe e se produce a relaxación da molécula.



2.4.- Niveis de empaquetamento

O ADN consegue unha elevada condensación grazas aos diferentes niveis estruturais que presenta, aínda que en todas as células eucariotas, o ADN se empaqueta aínda máis, grazas á súa unión coas histonas. No caso dos espermatozoides, as cadeas de ADN únense a outro tipo de proteínas, chamadas **protamínas**.



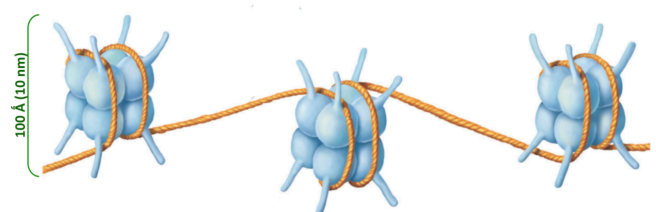
Grazas á asociación con estas proteínas, o ADN presenta diferentes niveis de empaquetamento:

- **Primeiro nivel de empaquetamento ou fibra de cromatina de 100 Å.** Tamén chamado «colar de perlas», está constituída pola fibra de ADN de 20 Å (dobre hélice) asociada a histonas, proteínas básicas de baixa masa molecular. Aproximadamente, hai a mesma cantidade en masa de histonas que de ADN.

Este colar de perlas encóntrase no núcleo durante a interfase do ciclo celular de todas as células eucariotas, menos nos espermatozoides.

Estruturalmente, esta fibra de cromatina está constituída por unha sucesión de partículas de 100 Å de diámetro denominadas **nucleosomas**.

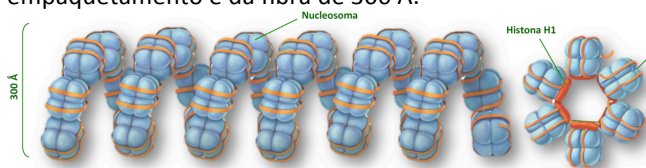
Cada nucleosoma está formado por un **octámero de histonas** (oito moléculas de catro tipos diferentes de histonas: dúas moléculas de H2A dúas moléculas de H2B,



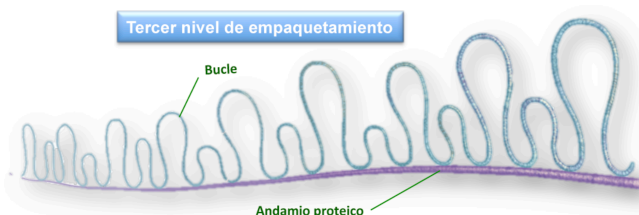
dúas moléculas de H3 e outras dúas de H4) e por unha fibra de ADN de 200 pares de bases de lonxitude. A fibra de ADN esténdese desde o extremo que une o nucleosoma anterior, pasando pola parte que se enrola sobre o octámero ata o extremo que une o nucleosoma posterior. O ADN que hai entre un octámero e o seguinte denomínase **ADN espazador**.

Esta fibra de cromatina de 100 Å encóntrase en forma laxa. Pero se o nucleosoma se asocia a unha molécula de histona H1, a fibra acúrtase e pasa a estar condensada. A fibra de cromatina de 100 Å tamén recibe o nome de filamento **nucleosómico** ou **nucleofilamento**.

- **Segundo nivel de empaquetamento ou fibra de cromatina de 300 Å.** Tamén chamado «**solenóide**», fórmase polo enrolamento sobre si mesma da fibra de cromatina de 100 Å condensada, é dicir a que contén a histona H1. En cada volta hai seis nucleosomas e seis histonas H1 que se agrupan entre si e que forman o eixe central da fibra de 300 Å. Isto provoca un acurtamento dunhas cinco veces a lonxitude do «colar de perlas». Durante a interfase, no núcleo encóntrase a maior parte da cromatina, a eucromatina, en forma de fibras de 100 Å. En cambio, nos cromosomas o nivel máis baixo de empaquetamento é da fibra de 300 Å.



- **Terceiro nivel de empaquetamento ou «dominios en forma de bucle».** A fibra de 300 Å forma unha serie de bucles, denominados **dominios estruturais en forma de bucle**, de entre 20000 e 70000 pares de bases de lonxitude. Estes bucles quedan estabilizados por un **andamio proteico** ou **armazón nuclear**. Moitas veces encóntranse enrolados sobre si mesmos formando prominencias duns 600 Å de grosor.



- **Niveis superiores de empaquetamento.** A fibra de 300 Å unicamente consegue reducir a lonxitude da fibra de ADN de 20 Å entre unhas 35 ou 40 veces. En cambio, o grao de empaquetamento na fase de división é de entre 100 e 1000 veces, e nos cromosomas é case de 10000. Por exemplo, un cromosoma humano, que mide só 5,5 µm de lonxitude, contén 4 cm de fibra de ADN, o que significa



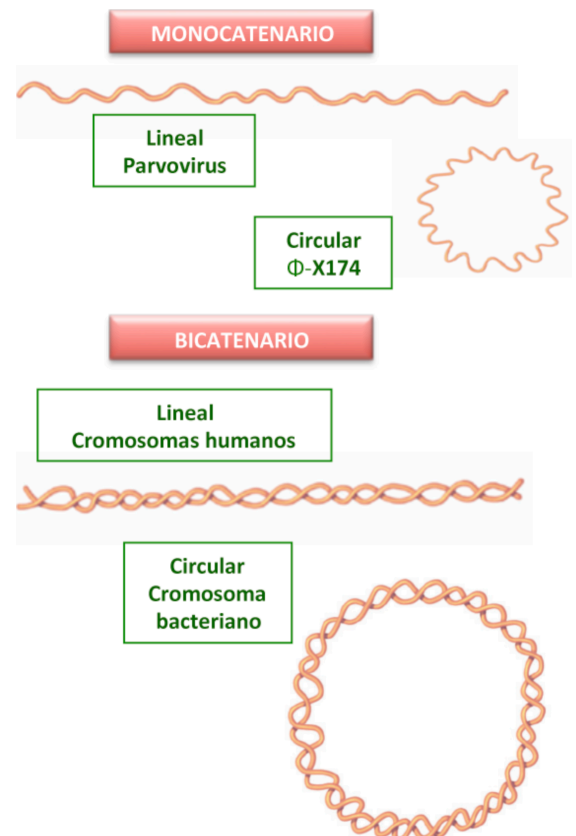
unha redución da lonxitude dunhas 7000 veces.

Os niveis superiores de pregamento non se coñecen aínda con exactitude, pero no cromosoma observouse un eixe de **proteínas SMC**, que conteñen histonas e topoisomerasas e que manteñen a estrutura dos cromosomas condensados. O cromosoma en metafase presenta o grao máximo de empaquetamento da fibra de cromatina.

2.5.- Tipos de ADN

As moléculas de ADN pódense clasificar atendendo a diversos criterios. Segundo o número de cadeas que forman, clasifícanse en:

- **ADN monocatenario.** É moi pouco frecuente. Encontrause en forma lineal nos parvovirus, e en forma **circular** no virus ϕ -X-174.
- **ADN bicatenario.** É o que presentan a maioría dos organismos. O ADN bicatenario pode presentar superenrolamentos ou estar concatenado. Atendendo á súa forma poden ser:
 - **Lineal.** O ADN do núcleo das células eucariotas é lineal e tamén o dalgúns virus como o bacteriófago λ e o virus do herpes.
 - **Circular.** O ADN é circular nas bacterias, nas mitocondrias, nos cloroplastos e nalgúns virus como o SV40 e o virus do polioma.
- Segundo o tipo de moléculas que serven de soporte no empaquetado do ADN para reducir a súa lonxitude, pódense distinguir:
 - **ADN asociado a histonas.** Encóntrase no núcleo das células eucariotas, excepto nos espermatozoides.



• **ADN asociado a protaminas.** Está presente no núcleo dos espermatozoides.

• **ADN procariota.** Encóntrase asociado a proteínas parecidas ás histonas, a ARN e a proteínas non histónicas. Nos virus tamén se observaron asociacións con proteínas básicas propias ou con histonas da célula parasitada. A lonxitude do ADN é, en xeral, maior canto maior é a complexidade do organismo. Por exemplo, no virus do polioma a lonxitude do ADN é de 1,7 μm ; na bacteria *Escherichia coli*, é de 1,36 mm; nas células de *Drosophila*, de 11,2 cm; nas do ourizo de mar, de 0,57 m; nas do galo, de 0,93 m; nas do can, de 1,89 m, e nas do ser humano, de 2,36 m.

Nalgúns tipos de organismos a lonxitude do ADN non garda relación coa súa complexidade. Certas especies presentan **ADN supernumerario**, é dicir, teñen moito máis ADN do que se necesita para codificar a súa estrutura e fisioloxía. Aínda non se sabe con exactitude cal é a función deste ADN supernumerario.

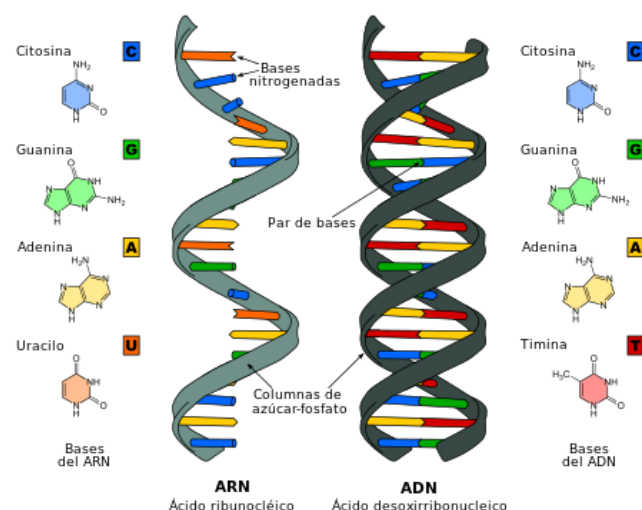
3.- O ÁCIDO RIBONUCLEICO (ARN)

A finais do século XIX o biólogo Friedrich Miescher e o químico e fisiólogo Félix Hoppe-Seyler, ao investigar o material nuclear dos leucocitos descubriron unha substancia descoñecida ata ese momento, o **ácido ribonucleico**.

O ácido ribonucleico ou ARN está constituído por nucleótidos de ribosa e catro das bases nitrogenadas: adenina, guanina, citosina e uracilo. Non hai timina, coma no ADN. Estes ribonucleótidos únense entre si mediante enlaces fosfodiéster (dous enlaces estér seguidos) en sentido 5' $\rightarrow$ 3', igual ca no ADN.

O ARN é case sempre **monocatenario**, excepto nalgúns casos como nos reovirus en que é **bicatenario**. Encóntrase en moitos tipos de virus e nas células procariotas e eucariotas. Nestas últimas hai de cinco a dez veces máis ARN ca ADN.

Existen varios ARN diferentes, coa mesma composición química, pero que presentan distinta estrutura e función.

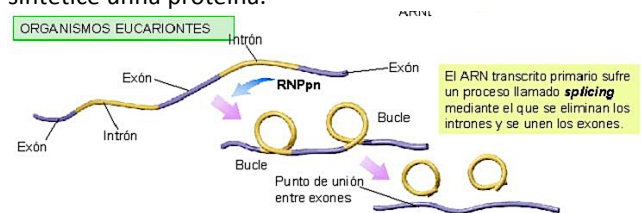


3.1. ARN mensaxeiro

O **ARN mensaxeiro (ARNm)** é monocatenario, xeralmente lineal, e cunha masa molecular entre 200000 e 1000000 u. Copia a información contida no ADN e lévaa deica os ribosomas, para que se sinteticen as proteínas a partir dos aminoácidos que achegan os ARNt.

O ARNm ten unha estrutura diferente segundo o tipo de célula:

• **ARNm eucariótico.** Presenta algunhas zonas con dobre hélice, debido á complementariedade das bases entre diferentes segmentos, e zonas mono catenarias que dan lugar aos denominados **lazos en ferradura**. Encóntrase asociado a proteínas formando partículas ribonucleoproteicas, é. o pre-ARN mensaxeiro. É **monocistrónico** xa que leva información para que se sintetice unha proteína.

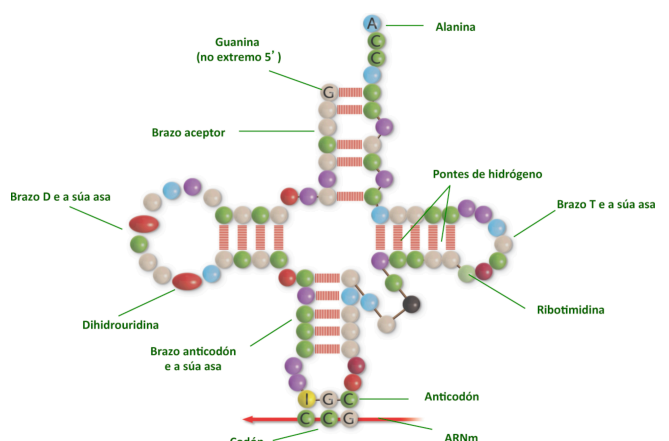


• **ARNm procariótico.** Non adopta a estrutura do ARN eucariótico e non presenta intróns. Non ten carapucha nin cola de poli-A e empeza cun nucleótido trifosfato non invertido, por exemplo: pppG- ... Ademais, pode ser **policistrónico**, é dicir, pode conter información para dúas ou máis cadeas polipeptídicas.



3.2.- ARN de transferencia

O **ARN de transferencia (ARNt)** ou ARN soluble (ARNs) ten entre 70 e 90 nucleótidos, a súa masa molecular é aproximadamente de 25000 u, e encóntrase no citoplasma en forma de molécula dispersa. Hai uns cincuenta tipos de ARNt.



Transporta aminoácidos determinados ata os ribosomas, onde, segundo a secuencia especificada nun ARN mensaxeiro (transcrito, á súa vez, do ADN), se sintetizan as proteínas.

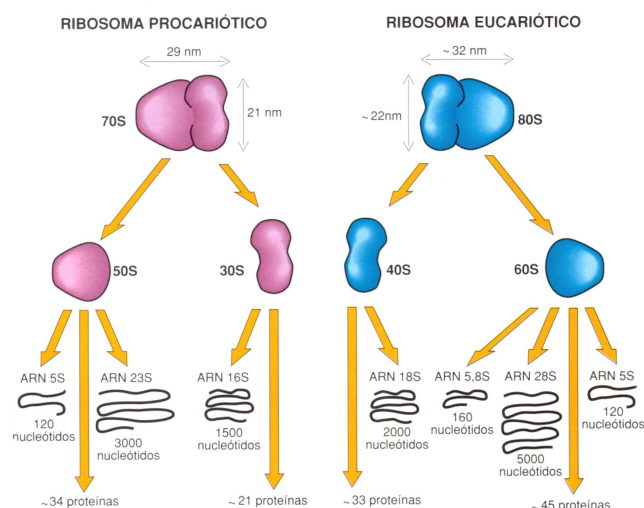
O ARNt presenta dous tipos de zonas distintas, unhas con estrutura secundaria en dobre hélice, debido á complementariedade entre as bases duns segmentos e as doutros, e outras con estrutura monocatenaria, que forman asas ou bucles. Esta molécula presenta forma de folia de trevo, pero se se observa en tres dimensións, pódese distinguir unha estrutura terciaria en forma de L. Entre os nucleótidos que forman os ARNt, ademais de A, G, C e U, aparecen outras bases nitroxenadas como a dihidrouridina (UH₂), a ribotimidina (T) e a inosina (I), que constitúen o 10 % dos ribonucleótidos totais do ARNt.

3.3.- ARN ribosómico

O **ARN ribosómico (ARNr)** constitúe os ribosomas e representa o 60 % da masa destes orgánulos. Unidos ás proteínas ribosómicas orixinan lugares adecuados para a unión co ARNm e destes cos ARNt, que son os portadores dos aminoácidos que forman as proteínas.

O ARNr presenta segmentos monocatenarios e segmentos en dobre hélice, debido á presenza de pares de segmentos con secuencias complementarias.

A masa molecular do ARNr oscila entre 500000 e 1700000 u. En xeral, a masa dos ARNr e dos ribosomas adóitase expresar segundo o coeficiente de sedimentación de Svedberg, que se expresa en unidades Svedberg (S). As células procariotas presentan ribosomas de 70S, mentres que nas células eucariotas os ribosomas son de 80S.



3.4.- ARN nucleolar

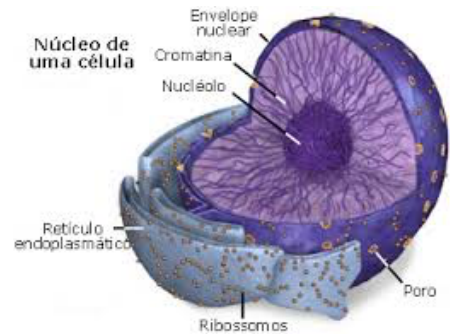
O **ARN nucleolar (ARNn)** é o compoñente principal do nucléolo.

Orixínase a partir de diferentes segmentos de ADN, o principal deles denomínase rexión organizadora nucleolar. A partir deste ADN, fórmase no nucléolo un ARN nucleolar de 45 S. Este ARN nucleolar asóciase a proteínas,

procedentes do citoplasma e forman unha ribonucleoproteína.

Esta gran molécula escíndese en tres ARN e engádesse un ARN de 5 S, tamén con proteínas, que se sintetizou no nucleoplasma, doutro segmento do ADN.

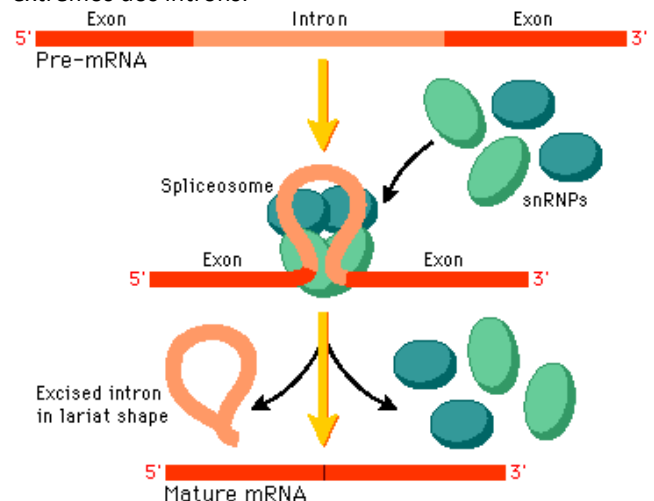
A partir deles fórmanse as dúas subunidades ribosómicas, unha de 40 S e outra de 60 S, que atravesan a membrana nuclear e pasan ao citoplasma, onde ao chegar un ARNm, se asocian dando lugar a un ribosoma de 80 S.



3.5.- ARN pequeno nuclear

O **ARN pequeno nuclear (ARNpn)** é de tamaño moi pequeno e encóntrase no núcleo das células eucariotas. Tamén se denomina ARNu, polo seu elevado contido en uridina.

O ARNpn únese a certas proteínas do núcleo formando as ribonucleoproteínas nucleares (RNPpn) que actúan eliminando os intróns, no proceso de maduración do ARNm, grazas ás secuencias complementarias dos extremos dos intróns.



3.6.- ARN de interferencia

O **ARN de interferencia (ARNi)** é de dobre cadea e presenta só de 20 a 25 nucleótidos. É utilizado por determinadas encimas para recoñecer ARN mensaxeiros concretos, pola complementariedade das bases cunha das súas cadeas. Despois dégradaos, impedindo que estes ARNm orixinen proteínas.

Considérase que o ARN de interferencia constitúe un mecanismo de auto control da célula. Foron descubertos en 1998 e actualmente iníciouse a súa utilización para o tratamento de infeccións víricas, do cancro e tamén das enfermidades hereditarias.