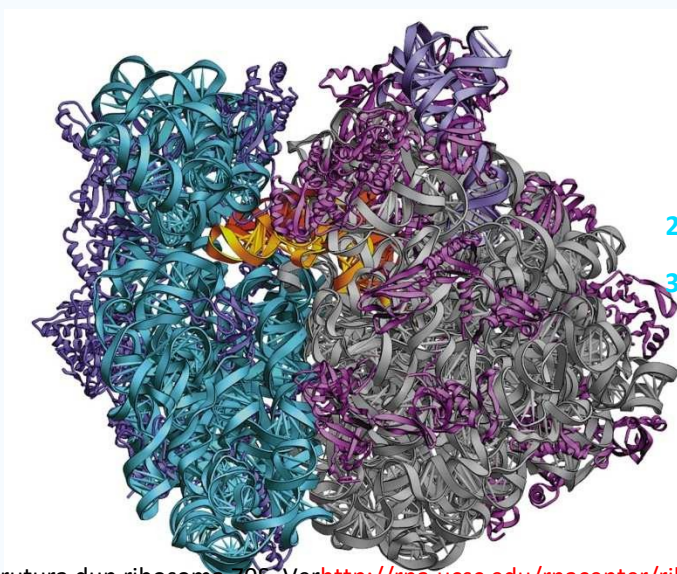


# Xenética Molecular



Estrutura dun ribosoma 70S. Ver [http://rna.ucsc.edu/rnacenter/ribosoma\\_images.html](http://rna.ucsc.edu/rnacenter/ribosoma_images.html)

## 1. O ADN COMO MATERIAL XENÉTICO

Griffith demostra que existe un principio transformador

Avery descobre a natureza molecular do xene

O ADN é a base do material xenético

## 2. O FLUXO DA INFORMACIÓN XENÉTICA

### 3. O ADN replícase a si mesmo

A replicación do ADN é semiconservativa

Durante a replicación ábrese a dobre hélice A replicación avanza a diferentes velocidades en cada cadea.

A replicación en eucariotas e procariotas ten algunhas diferenzas

## 4. O PASO DO ADN AO ARN É A TRANSCRIPCIÓN

Durante a transcrición, xéranse diferentes ARN.

Existen diferenzas na transcrición de eucariotas e procariotas. Nos eucariotas hai maduración do ARNm.

## 5. O PASO DO ARNm ÁS PROTEÍNAS É A TRADUCIÓN

O código xenético é a clave entre os nucleótidos do ARNm e os aminoácidos. Os tres tipos de ARN colaboran na tradución.

A tradución ocorre en varias fases

Tamén hai diferenzas na tradución de procariotas e eucariotas

## 6. CONTROL DA EXPRESIÓN XÉNICA

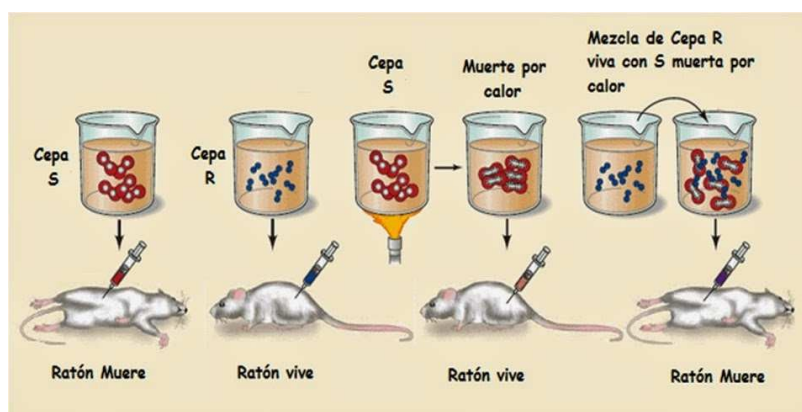
## 14.1 O ADN COMO MATERIAL XENÉTICO

O ADN foi illado por primeira vez en 1869 polo biólogo suízo Johan Friedrich Miescher, quen bautizou esa nova molécula como nucleína, xa que se atopaba no núcleo.

Pero non foi ata moito despois o descubrimento **ADN** como a molécula que contén a información xenética, e da composición e estrutura do mesmo. Estes descubrimentos constitúen é unha das historias máis emocionantes da bioloxía do século XX.

### Griffith demostra que existe un principio transformador

Os primeiros experimentos foron realizados por un médico inglés, F. **Griffith** (1928) que estaba interesado en desenvolver vacinas contra unha das bacterias que causa **pneumonía** (*Streptococcus pneumoniae*). Griffith sabía que estas bacterias, comunmente chamadas pneumococos, tiñan formas **virulentas** –causantes da enfermidade– e formas non virulentas ou **inofensivas** (**Fig. 14.1**). As cepas virulentas (cepa S, para lisa) estaban cubertas por unha cápsula de polisacárido lisa que a protexe do sistema inmunitario, e as cepas non virulentas (cepa R, para inglés áspero) carecían de cápsula e tiñan un aspecto rugoso.



**Figura 14.1.** Experimento de Griffith con cepas S e R de *Streptococcus pneumoniae*.

Fonte: <https://www.emaze.com/@ACTRWLOL/experiments-of>

Griffith estaba interesado en descubrir se as inxeccións de pneumococos virulentos mortos pola calor, podían usarse para inmunizar contra a pneumonía. Unha inxección da cepa S mataba os ratos mentres que a cepa R non. A cepa S, morta polo quecemento, non causaba pneumonía cando se inxectaba. Porén, cando combinou bacterias da cepa S mortas pola calor con bacterias vivas da cepa R, e inxectou esta mestura en ratos, os ratos contraeron pneumonía e morreron; Ademais, sorprendentemente, no sangue destes ratos mortos, Griffith atopou pneumococos vivos da cepa S. É dicir, nas bacterias mortas S había "algo" capaz de **transformar** as bacterias R previamente inocuas en patóxenos.

O fenómeno coñécese como **transformación bacteriana** (que por certo se usa moito en biotecnoloxía) e o que provocou a conversión Griffith chamouno "factor de transformación"

A partir deste experimento comezouse a buscar o principio transformador.

### Avery descobre a natureza molecular do xene

Foi algo máis tarde, en 1943, cando un grupo de científicos liderado polo bacteriólogo estadounidense O. **Avery** traballou de novo cos cultivos de pneumococos e descubriu a natureza do factor transformador. Comezaron a fraccionar o extracto de bacterias libres de células S onde estaba o factor transformador. Descubriron que podían eliminar proteínas, lípidos, polisacáridos e ARN do extracto sen diminuír a propiedade do extracto de transformar pneumococos R en S, pero non o ADN. Ademais, **purificou** o ADN presente no extracto e o xuntalo coas bacterias R, estas transformáronse en S.

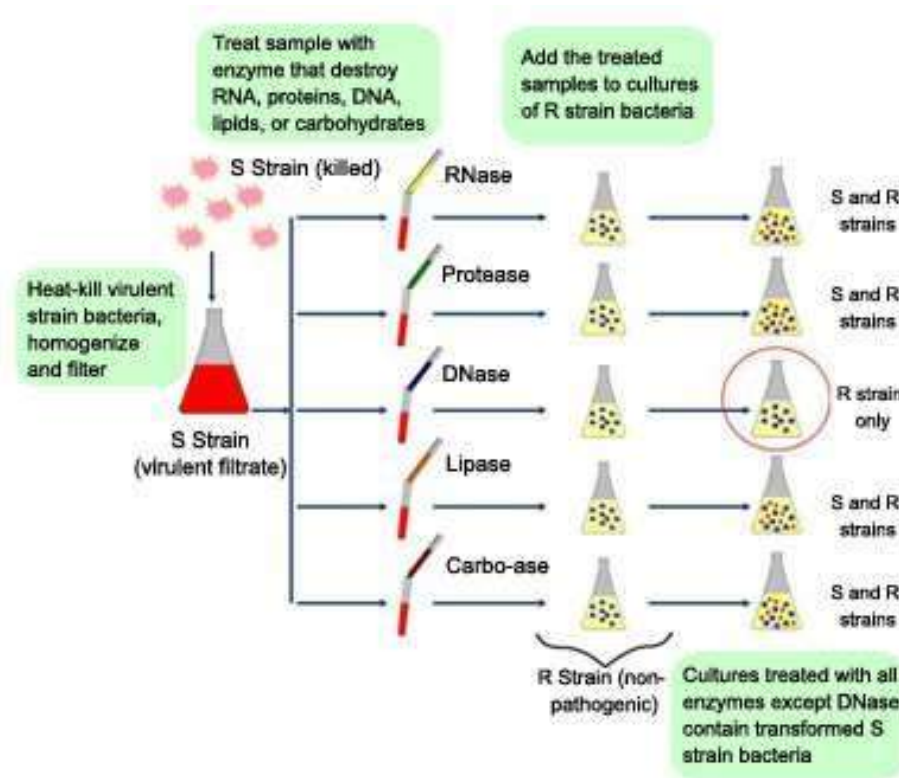
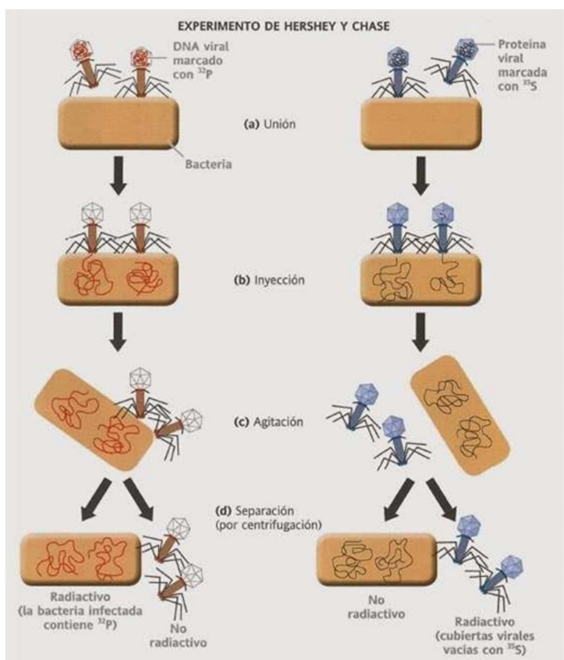


figura 14.2.

Experimento de Avery et al. Fonte: <http://nota.esbiología.mol.blogspot.com.gl/2014/03/breve-historia-da-biología-molecular.html>



Así, o ADN era o principio transformador, é dicir, era o ADN o que levaba a información

Pero era difícil admitir que os xenes estaban feitos de ADN, sabíase que o ADN era unha molécula "**monótona**" composta só por catro bases nitrogenadas diferentes, como podería ter abondo **variabilidade** como para levar toda a información xenética que necesitaban os seres vivos? Daquela, as proteínas eran as candidatas idóneas para tal función, pola súa gran complexidade e múltiples formas. Neste contexto, os resultados de Avery foron recibidos con considerable escepticismo e a actividade transformadora foi atribuída a impurezas proteicas. A obra apenas recibiu apoio.

Figura 14.3. Experimento de Hershey e Chase.

Fonte: <http://notesbiologymol.blogspot.com.es/2014/03/acido-desoxirribonucleico-dna.html>

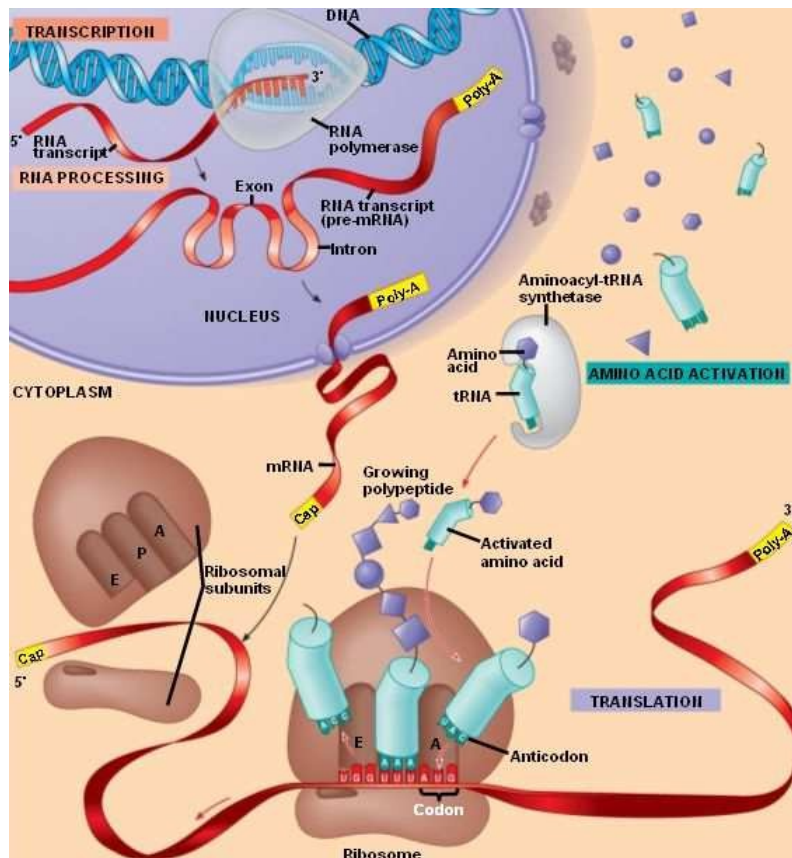
## O ADN é a base do material xenético

A comunidade científica quedou finalmente convencida de que o ADN era o material xenético grazas á investigación realizada por A. **Hershey** e M. **Chase** (1952) con bacteriófagos (Fig. 14.3). Estes fagos son un tipo de virus que infectan bacterias. Cando o **fago** infectar bacterias, **inxecta** o seu ADN na bacteria e deixa atrás a cápsula baleira. É dicir que o ADN contén a información necesaria e suficiente para reproducir novos fagos dentro da bacteria. Noutras palabras, o experimento indicaba que o ADN era o único portador da información xenética do fago.

Un ano despois Watson e Crick revelarían a estrutura da molécula de ADN.

## 14.2 O FLUXO DA INFORMACIÓN XENÉTICA

A información xenética que leva o ADN está contida en **secuencias de nucleótidos**. Esta información exprésase coa formación de proteínas, moitas delas encimas, que producirán os caracteres do individuo. Porén, estes compostos orgánicos fórmanse nos ribosomas do citoplasma e o ADN non sae do núcleo nas células eucariotas, polo que se necesita un intermedio de ADN, que é o ARN.



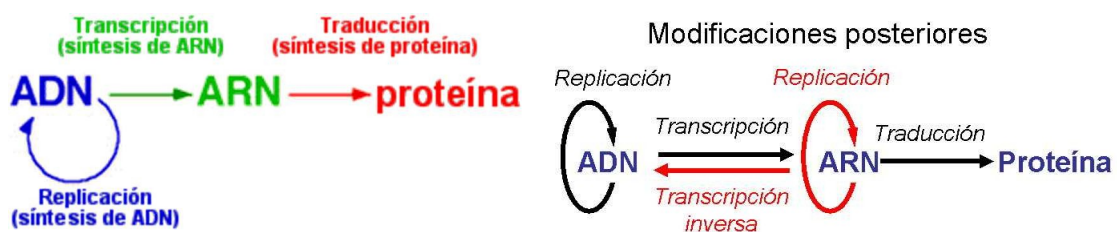
**Figura 14.4.** Esquema xeral da actividade xenética, desde a transcripción do ADN en ARN ata a tradución para formar unha proteína.

Fonte: <http://ioceline.morales.edu.glogster.com/protein-synthesis->

A **transcrición** é síntese de ARN a partir de ADN e **tradución** a formación de proteínas (**Fig. 14.4**). Na transcrición pasamos dos nucleótidos do ADN aos do ARN, transforma unha lingua noutra forma da mesma lingua; Por outra banda, na tradución prodúcese un cambio de linguaxe, pasamos da linguaxe dos nucleótidos de ARN á dos aminoácidos que forman as proteínas.

O **dogma central da bioloxía molecular**, di que o **fluxo da información xenética** que vai do ADN ao ARN e deste ás proteínas. Ademais a información hérdase de xeración en xeración mediante a replicación do ADN.

Este fluxo foi ampliado debido aos descubrimentos no mundo dos virus. Hai virus que non levan ADN como material xenético, senón ARN e son capaces de facer copias do seu ARN por medio dun encima chamado ARN replicase, polo que tamén se debe colocar no ARN un bucle de autorreplicación. Outros virus, chamados retrovirus, levan un encima chamado transcriptase inversa, capaz de sintetizar ADN a partir do seu ARN. Polo que agora exprésase un fluxo máis completo de información xenética.



**Figura 14.5**

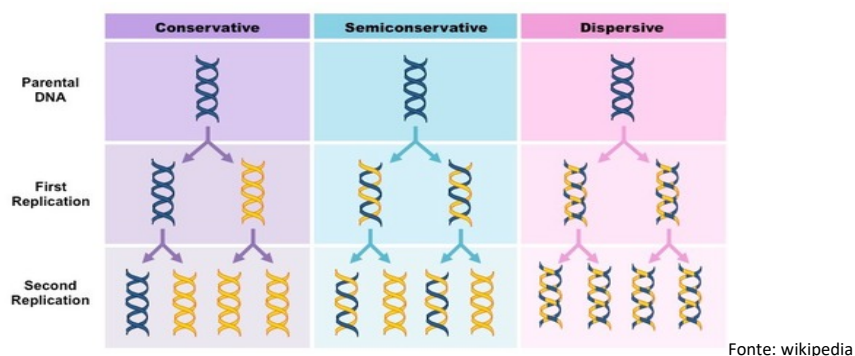
## 14.3 REPLICACIÓN DO ADN

Na **replicación** do ADN cada cadea orixinal actúa como molde para a síntese dunha nova cadea, xa que as bases nitroxenadas son complementarias. Este proceso ocorre na fase S do ciclo celular, antes da división celular. Unha vez que Watson e Crick revelaron a estrutura molecular do ADN coas dúas cadeas que ían en direccións opostas, plantouse o problema de como se replica o ADN e propuxéronse tres solucións:

**modelo conservativo** Neste modelo as dúas cadeas de ADN orixinal xúntanse de novo despois da replicación, de xeito que unha molécula contén as dúas cadeas orixinais antigas, e a outra molécula contén as dúas cadeas do material recen sintetizado.

**modelo semiconservativo** Neste caso as dúas cadeas de ADN orixinal sepáranse e serven de molde para a síntese dunha nova cadea de ADN. O resultado son dúas dobres hélices de ADN, ambas formadas por unha cadea antiga e outra nova.

**Modelo dispersivo** Nesta solución a dobre hélice orixinal divídese en segmentos de ADN bicatenario. Como no modelo conservativo, actúan como modelos para a síntese de novas moléculas da dobre hélice. Os segmentos reúnen-se en dobres hélices completas de ADN, cada unha con segmentos orixinais e novos intercalados.

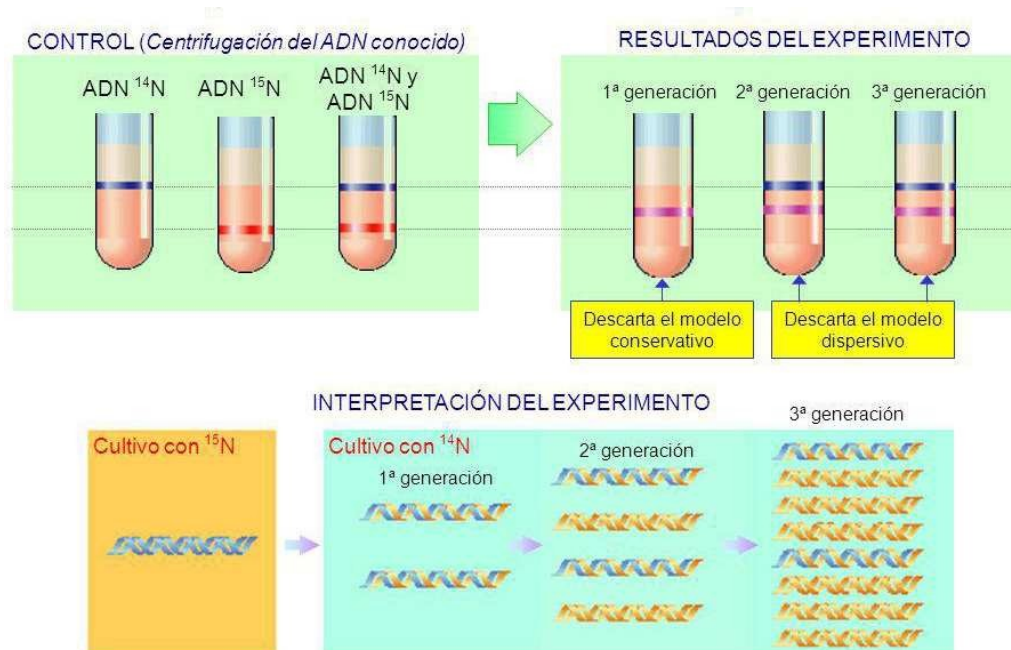


### A replicación do ADN é semiconservativa

Para investigar a forma de replicación do ADN, **Meselson** e **Stahl** idearon un experimento moi enxeñoso que se basea no uso de dous isótopos **nitroxeno**, o  $^{14}\text{N}$ , que é máis lixeiro, e o  $^{15}\text{N}$ , que é máis pesado.

Meselson e Stahl cultivaron bacterias en medio  $^{15}\text{N}$ , o isótopo pesado do nitroxeno, polo que o ADN sintetizado é pesado. Despois, as bacterias cambiaron a medio  $^{14}\text{N}$ . Illouse o ADN en diferentes momentos, correspondentes aos ciclos de replicación 0, 1 e 2. Despois do primeiro ciclo de replicación, o ADN tiña toda de densidade intermedia. Isto descarta o modelo conservador de replicación, que prevé que estará presente tanto ADN pesado como lixeiro, pero non estará presente ningún de densidade intermedia.

Despois do 2º ciclo de replicación vense dúas bandas de ADN, unha de densidade media e outra de densidade lixeira. Este resultado coincide exactamente co modelo **semiconservativo**: A metade debe ser de peso medio  $^{15}\text{N}$ - $^{14}\text{N}$  e a metade debe ser de peso lixeiro  $^{14}\text{N}$ - $^{14}\text{N}$ . Tamén descarta o modelo dispersivo de replicación, que prevé que nos sucesivos ciclos de replicación, a densidade de todas as moléculas de ADN diminuiría gradualmente.



**Figura 14.7.** O experimento de Meselson e Stahl. Fonte: <http://www.phschool.com/science/biologyplace/biocoach/transcription/mrnaeuk.html>

## Anexo 1: Enzimas implicadas no proceso de replicación

**Xirase** (topoisomerase 2): desenrola a dobre hélice. Corta as 2 cadeas que son despois unidas pola ligase

**Helicase:** rompe as pontes H, abre a dobre hélice

**Proteínas estabilizadoras:** (unión de ADN monocatenario) mantén as cadeas abertas e separadas, de xeito que as polimerases actúan

**ARN-primase:** sintetiza o cebador ou cebador para iniciar a replicación, que é o fragmento de ARN inicial, complementario o ADN. Engade nucleótidos na dirección 5'→3'.

**ADN-polimerase:** une cada nucleótido á cadea de formación na dirección 5'→3'. Ten tamén actividade exonuclease : corta enlaces entre nucleótidos no extremo da cadea

**ADN-ligase:** enlaza fragmentos de nucleótidos nunha mesma cadea

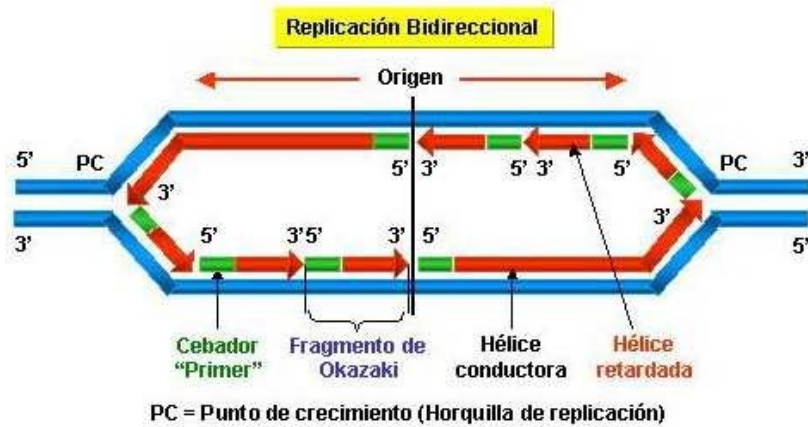
**ADN-endonuclease:** corta enlaces entre nucleótidos no interior da cadea

**ADN-exonuclease:** elimina fragmentos de nucleótidos erróneos no extremo dunha cadea

### Durante a replicación, ábrese a dobre hélice.

A replicación comeza cando o encima **helicase** recoñece unha secuencia de nucleótidos específica, o **punto de iniciación**, e rompe os enlaces de hidróxeno entre as bases producindo a apertura da dobre hélice, de xeito que nesa zona sepáranse as 2 cadeas de nucleótidos. Fórmase unha estrutura chamada **burbulla de replicación**, que se abre en ambas direccións xa que a replicación é **bidireccional** e dá lugar a dous **garfos de replicación** (**Fig. 14.8**), pola súa forma en Y, un en cada extremo da burbulla onde se forman as novas cadeas de ADN.

Como consecuencia da separación da dobre hélice, prodúcese superenrolamentos nas zonas limítrofes, polo que hai outros encimas, as **xirases** ou **topoisomerases**, que baixan a tensión e desenroscan as cadeas . Unha vez separadas as dúas cadeas, permanecen abertas grazas á acción de **Proteínas estabilizadoras** (SSB) que se unen aos fíos individuais e as estabilizan.



**Imaxe 14.8.** Unha burbulla de replicación completa.

Fonte: <http://apuntesbiologiamol.blogspot.com.es/2014/03/acido-desoxiribonucleico-adn.html>

## A replicación prodúcese a diferentes velocidades en cada cadea

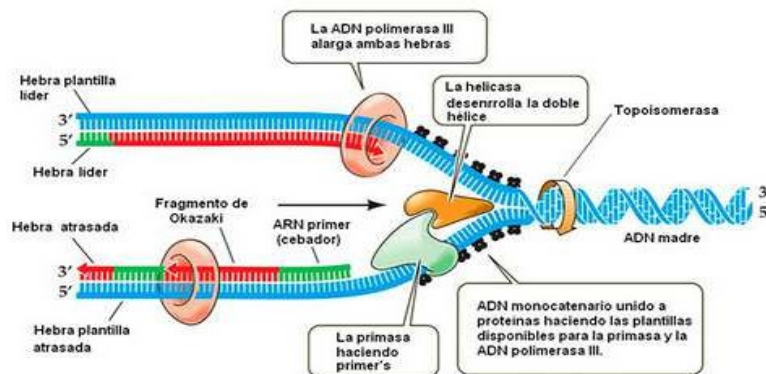
Cada un dos fíos abertos funciona como **molde** dun novo. A **ADN polimerase** é a principal encima, responsable de colocar os nucleótidos complementarios, que recolle como desoxinucleótidos trifosfato (dNTPs) e pasa a formar unha nova cadea (dNMPs) liberándose dous fosfatos. Non obstante, hai dous problemas:

1. A ADN polimerase pode alongar as cadeas pero non inicialas. Polo tanto, necesita un fragmento con algún extremo 3' ao que comezar a engadir nucleótidos de ADN, este fragmento é ARN e chámase primer ou **cebador**. Sintetízase por un encima chamado **Primase** (un tipo de ARN polimerase) que poden iniciar a cadea.
2. Todos os encimas polimerases coñecidos só engaden nucleótidos en **sentido** (5'→3'). En consecuencia, as dúas cadeas non se replican do mesmo xeito.

A replicación continua é posible na cadea molde (3'→5') onde o ADN-pol se move na dirección na que se abre o garfo e sintetiza o chamado **cadea adiantada**, ou **condutora (lider)**.

A ADN-pol que se move na outra cadea, na dirección oposta, sintetiza, a medida que o garfo avanza, pequenos fragmentos chamados **fragmentos de Okazaki** que inicianse cun cebador. Esta cadea que dúplase máis lentamente, denomínase **cadea retardada**.

Cando a cadea dobre se abre e queda unha parte da cadea aberta de lonxitude suficiente, a cadea descontinua forma un novo fragmento de Okazaki que comeza pola Primase, unha vez colocado o cebador, incorpóranse os nucleótidos de ADN coa axuda de ADN-pol ata alcanzar o cebador do fragmento de Okazaki anterior.



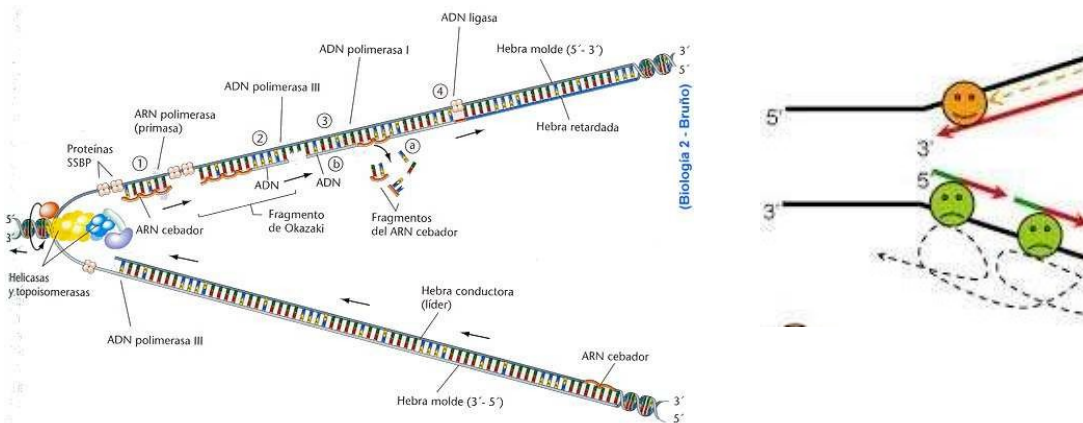
**Imaxe 14.9.**

Diagrama xeral do proceso de replicación dunha bifurcación de ADN cos encimas funcionando.

Para completar a replicación, elimínanse os cebadores, a ADN polimerase que actúa

como **exonuclease** elimina o fragmento de cebador anterior e substitúeo por nucleótidos de ADN para cubrir o oco.

Finalmente, o **ADN ligase** é o encima responsable de unir os fragmentos mediante un enlace fosfodiéster final na cadea de ADN en crecemento.



**Figura 14.10.** Á esquerda, detalle do garfo de réplica; Á dereita, un diagrama co movemento da ADN polimerase en ambas as cadeas. Fonte: <http://www.um.es/molecula/dupli00.htm>

Para garantir a fiabilidade da nova cadea, é necesario evitar posibles **erros**. A taxa de erro da ADN polimerase é moi baixa. O encima principal (ADN polimerase) **corrixe** todos os erros cometidos na replicación, xa que tamén ten actividade exonucleas, polo que antes de colocar un novo nucleótido comproba o anterior e, se está mal, retírao e volve colocalo.

Ademais, existe un sistema de revisión posterior no que están implicados outros encimas, como:

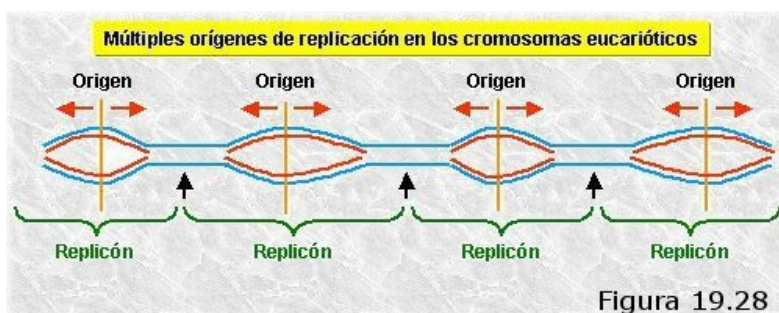
- \* Endonucleases que cortan o segmento incorrecto.
- \* ADN polimerases que enchen correctamente o oco.
- \* ADN ligases que unen os extremos corrixidos

## A replicación en eucariotas e procariotas ten algunhas diferenzas

A replicación do ADN segue os mesmos pasos tanto en procariotas como en eucariotas. En ambos é semiconservativa, avanzando en dirección  $5' \rightarrow 3'$ , semidiscontinua e bidireccional.

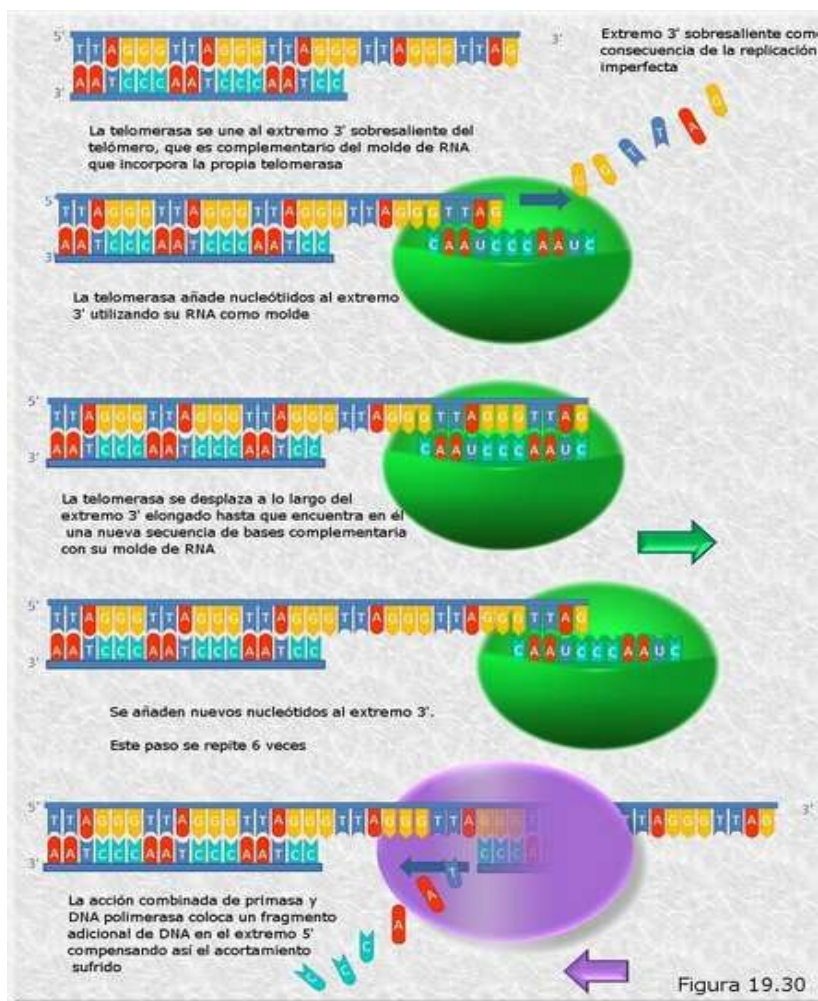
As células eucariotas teñen múltiples cromosomas, lineais, máis grandes e cun ADN moi empaquetado con **histonas** (proteínas básicas que se duplican durante a replicación), mentres que en procariotas é un só cromosoma, circular, máis pequeno e carece de histonas (só nas arqueas hai histonas).

- Nos procariotas, adoita haber un único orixe da replicación, mentres que hai moitos en eucariotas, (uns 30.000) xa que a replicación en eucariotas é máis lenta, posiblemente debido ao empaquetado con histonas e ao seu maior tamaño.
- Os fragmentos de Okazaki nas eucariotas son pequenos (de 100 a 200 nucleótidos), nos procariotas son máis grandes (duns 1000 a 2000 nucleótidos).
- Nos procariotas teñen tres tipos de ADN polimerases (pol I, pol II e pol III), mentres que os eucariotas teñen cinco ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  e  $\epsilon$ ).



## Acurtamento dos telómeros

Os **telómeros** son os fragmentos finais dos cromosomas de eucariotas.



Debido á forma lineal dos cromosomas eucariotas, fragmentos de ADN dos **telómeros** pérdense con cada replicación, porque ao eliminar o cebador de cada extremo, a ADN polimerase non ten un extremo 3' ao que se poden engadir nucleótidos. Por iso os telómeros levan secuencias repetidas de nucleótidos que non codifican proteínas.

O acurtamento destes fragmentos con cada replicación fai que unha célula eucariota só poida dividirse un número limitado de veces; cando os telómeros son demasiado curtos, os cromosomas vólvense inestables e prodúcese a morte celular. É por iso que o acurtamento dos telómeros está ligado ao envellecemento celular.

**Imaxe 14.11.** Actividade da telomerase nos extremos dos cromosomas.  
<http://www.bionova.org.es/biocast/documentos/>

figura/figtem19/imagenest19/paginasimagenes/image29.html

Certas liñas celulares que deben dividirse moitas veces, como as células embrionarias ou as células nai da medula ósea que fabrican células sanguíneas, teñen un encima **telomerase** que evita o acurtamento dos telómeros. (**Fig.14.11**). A telomerase é moi activa na maior parte das células cancerixenas.

Nos procariotas, xa que os cromosomas son circulares, non hai telómeros.

## Concepto de xene.

**No concepto clásico un xene é un fragmento de ADN que determina un carácter .**

Nos anos 50, coa avance da bioloxía molecular, tentouse definir máis o concepto de xene e estableceuse a teoría de un xene = un encima .

Agora sábese que algúns xenes codifican máis dun polipéptido e que unha proteína, especialmente as máis complexas, pode estar codificada por un conxunto de xenes diferentes, incluso localizados en cromosomas diferentes. Ademais, algúns xenes nin sequera codifican proteínas senón ARN cunha función propia (ARNt e ARNr, por exemplo) e polo tanto non se traducen, polo que a tradución non é necesaria para que un xene teña unha determinada función.

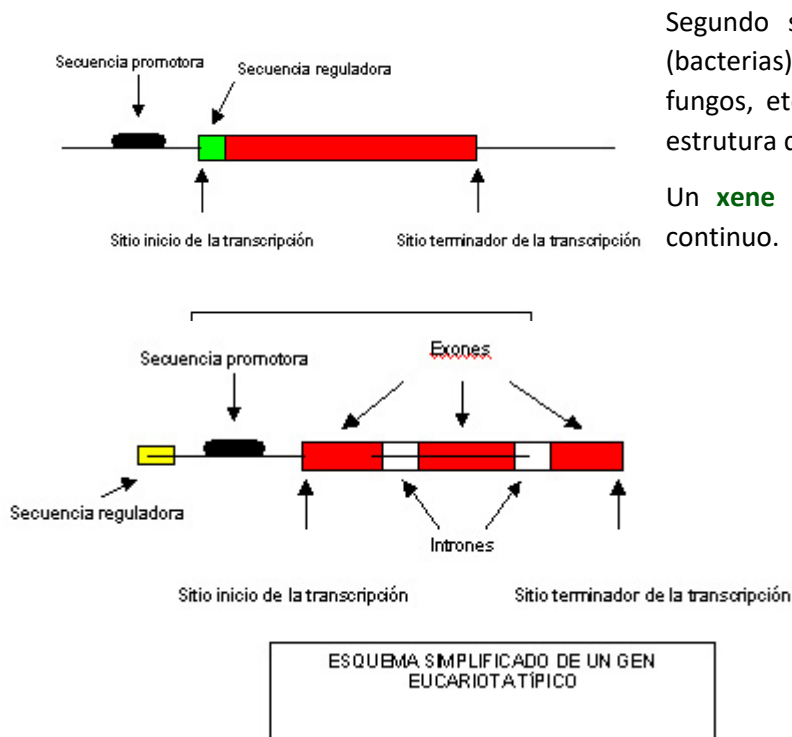
Ademais un xene tamén contén secuencias que non son codificantes e, polo tanto, nin se transcriben nin se traducen, como as secuencias reguladoras, que marcan o inicio e o final da transcripción.

Por outra banda, o xenoma contén unha gran cantidade de **ADN interxénico**, ata o 98%, de función descoñecida, que naquel momento se chamaba *ADN lixo* pero asúmese que ten un importante papel regulador.

Un xene é unha secuencia de ADN que contén información para a síntese dunha proteína ou para a síntese de certos tipos especiais de ARN (ARN de transferencia e ARN ribosómico), ademais de zonas de transcripción, un xene contén os elementos necesarios para regular a súa transcripción: as rexións promotoras e secuencias reguladoras

Un xene ocupa un lugar específico(locus) nun cromosoma específico.

As rexións reguladoras frecuentemente se atopan preto do xene, pero tamén se poden localizar en lugares moi afastados do xene, a miles de pares de bases afastados del.



<https://www.intramed.net/contenido.asp?contenido=42002>

Segundo se trate dun organismo procariota (bacterias) ou eucariota (animais, plantas, fungos, etc.), estas rexións varían, así como a estrutura dos xenes.

Un **xene procariota** contén información nun continuo.

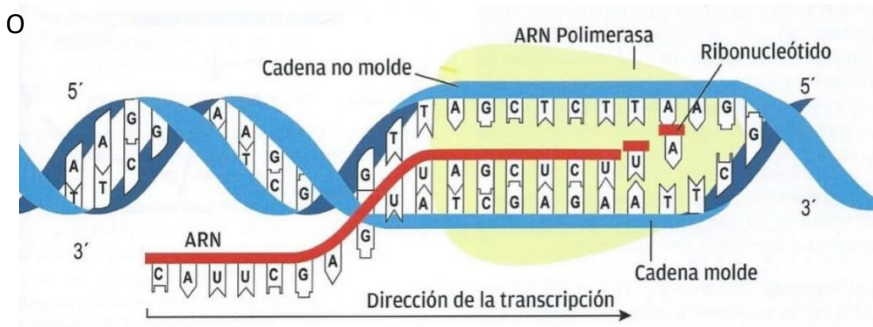
Por outra banda, na maioría dos **xenes eucariotas**, as secuencias codificantes atópanse en rexións chamadas "exóns" que son interrompidas por outros segmentos de ADN "non codificante", chamados "intróns".

(Fig.14.6).

## 14.4 A TRANSCRIPCIÓN

A formación de ARN a partir do ADN chámase **transcrición** e feito por encimas chamados **ARN polimerases**. É o proceso polo cal se pasa a información dunha secuencia de bases nitroxenadas dun fragmento de ADN a unha secuencia de bases nitroxenadas pertencentes ao ARN.

Permite que a información do ADN chegue ao resto dos orgánulos celulares e saia do núcleo no caso dos eucariotas.



Imaxe 14.12. Transcrición.

Só se vai copiar un fragmento do cromosoma (xene) e só dunha das cadeas chamada **cadea molde**, a cadea que se copia depende do xene .

O produto de ARN é complementario á cadea modelo e é case idéntico á outra cadea de ADN, chamada **cadea non molde (ou cadea codificante)**. Non obstante, hai unha diferenza importante: no ARN os nucleótidos T foron substituídos por nucleótidos U.

Este proceso ten lugar en catro fases: iniciación, elongación, terminación e maduración.

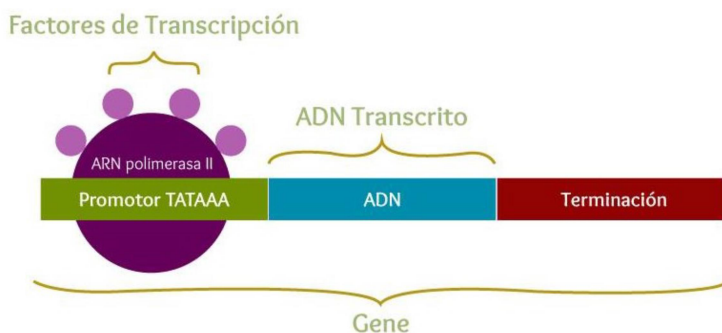
## Fases da transcripción

### Fase de iniciación.

A ARN polimerase únese a unha rexión específica de ADN chamada **promotor**, situado antes da unidade que se vai transcribir. Para recoñecer o sinal de ADN do promotor, o ARN-pol é axudado por proteínas, chamadas **factores de iniciación**.

O **promotor** ten secuencias específicas, **secuencias de consenso**, que recoñecen as ARN pol, unha das máis frecuentes, é TATAbox, presente en procariotas e en moitos xenes de eucariotas.

Unha vez unida, o ARN-pol vai desenrolando a hélice separando as dúas cadeas de ADN, formando unha burbulla de transcripción.

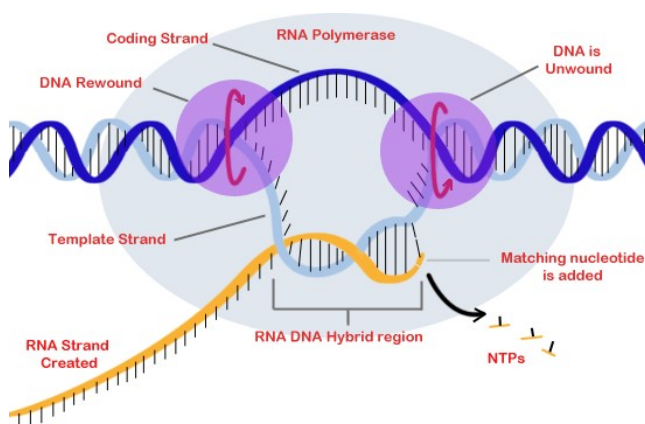


### Na fase de alongamento .

O sitio do ADN a partir do cal se transcribe o primeiro nucleótido coñécese como **sitio de iniciación**.

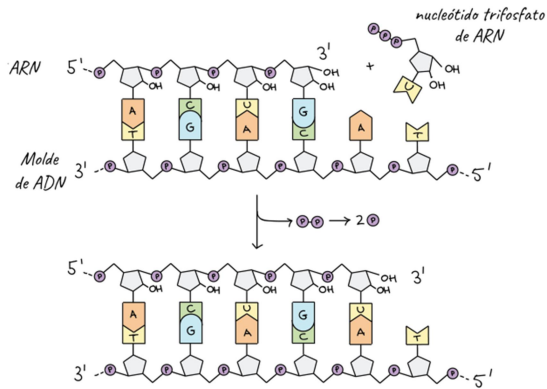
A ARN polimerase desenrola o ADN e engade nucleótidos na dirección 5'→3' complementarios a cadea molde . A medida que a ARN polimerase copia a rexión que se está a transcribir, vólvese a enrolar o ADN.

Temporalmente establécense enlaces de hidróxeno entre as bases complementarias, formando así un pequeno fragmento híbrido ADN-ARN que é inestable, polo tanto pronto se separa, deixando o ARN libre



**Imaxe 14.14.** Actividade da ARN polimerase na burbulla de transcripción.

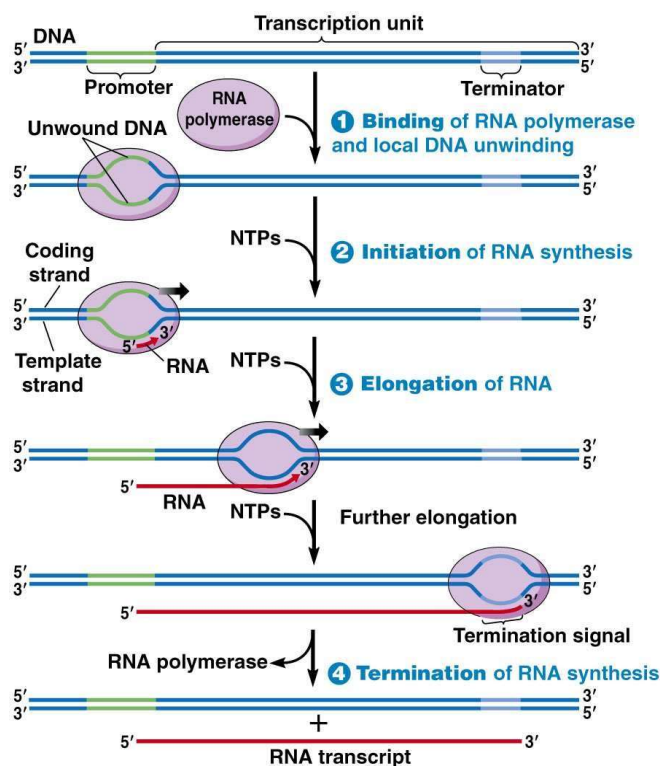
Fonte: <http://biology.tutorvista.com/cell/dna-transcription.html>



Os ribonucleótidos únense a un molde para formar unha cadea de ARN partindo de NTPs libres, na polimerización despréndense dous moléculas de P, quedando unidos os NMP.

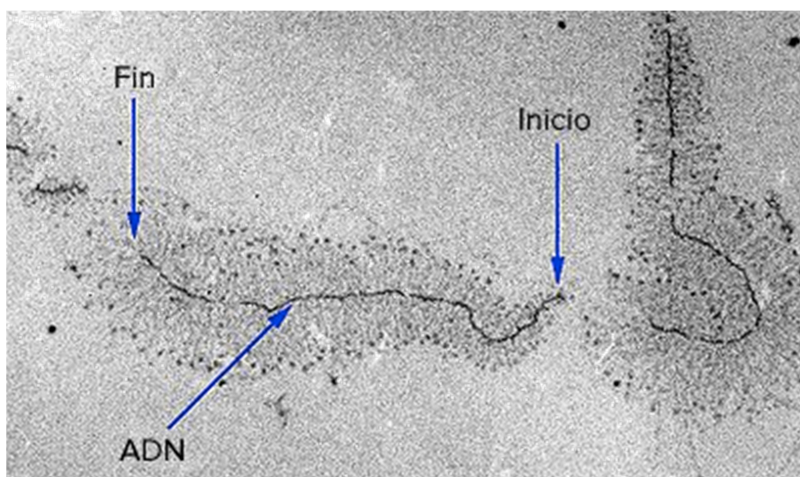
### Na fase de finalización.

A ARN polimerase continúa a transcripción ata chegar a unha zona onde hai unha secuencia de ADN que funciona como **senal de terminación**, en procariotas frecuentemente é unha secuencia palindrómica, o que favorece a formación dun bucle no ARN transcrito que sepárase do ADN.



© 2012 Pearson Education, Inc.

**Imaxe 14.13.** Desenvolvemento xeral do proceso de transcripción. Fonte: [pearson](https://www.pearson.com)



A imaxe mostra moitas ARN polimerases que transcriben ADN ao mesmo tempo, cada unha cunha "cola" de ARN. As polimerases preto do inicio do xene teñen colas de ARN curtas, que se fan máis e máis longas a medida que a polimerase transcribe máis do xene.

Imagen modificada de "[Transcription label en](#)(Se abre en una ventana nueva)", por el Dr. Hans-Heinrich Trepte ([CC BY-SA 3.0](#)).

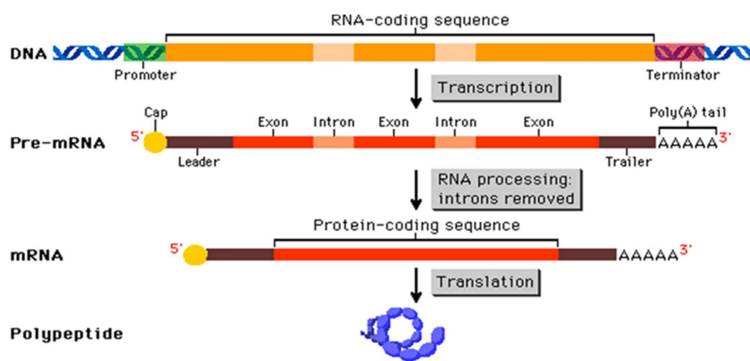
## Maduración do ARNm

Nas bacterias, as transcricións de ARN están listas para servir como ARNm e tradúcense en proteínas inmediatamente. Nos eucariotas a molécula que produce a transcrición chámase **pre-ARNm** ou **transcrito primario**, ten que experimentar algúns cambios para converterse nun ARN mensaxeiro

Nas eucariotas na fase de elongación, unha vez que se unen uns poucos nucleótidos da molécula de ARN transcrito, engádese un residuo metil-GTP no extremo 5' inicial, este **capucha** (cap en inglés) é un sinal para que o transcrito non sexa degradado polas exonucleases e axuda ao ARNm a unirse ao ribosoma.

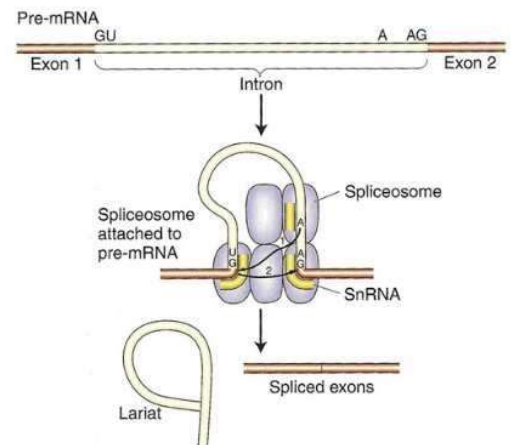
Na fase de finalización, despois de que o ARN se separa do ADN, engádese unha secuencia de 200 nucleótidos de adenina ao extremo 3', chamada **cola de poli-A**, que favorece o transporte da molécula dende o núcleo ata o ribosoma, e protexe a molécula da degradación.

A molécula de ARN contén **exóns**, que constitúen a mensaxe que se vai expresar, e **intróns** intercalados que transcríbense pero non se traducen, son a parte non codificante. Os intróns son eliminados mediante o **splicing** ou **empalme**. Coa axuda de ribocimas os intróns forman un bucle e cótanse, uníndose a continuación os exóns para formar o ARNm funcional



**Figura 14.14.** Correspondencia entre ADN (xene) e proteínas.

Fonte: <http://www.phschool.com/science/biologyplace/biocoach/transcription/mrnaeuk.html>



**Imaxe 14.15.** Proceso de corte intrón e empalme de exóns (splicing).

Fonte: <http://www.discoveryandinnovation.com/BIOL202/notes/lecture12.html>

Para que serve o empalme? Non se sabe exactamente, pero é necesario para unha correcta síntese de proteínas. Ademais, o splicing permite un proceso chamado splicing alternativo, no que se pode facer máis dun ARNm a partir do mesmo xene. A través do empalme alternativo, os eucariotas poden codificar un número maior de proteínas que os xenes que temos no noso ADN. A formación de moléculas de **ARNt** e **ARNr** ten lugar a partir de longas cadeas que, por acción encimática, sofren cortes en distintos lugares orixinando cadeas máis curtas que se pregan adquirindo a forma tridimensional que precisan realizar a súa función biolóxica; ademais, nas cadeas que van formar os ARNt prodúcese previamente modificacións nalgunhas das súas bases.

## Hai diferenzas na transcrición entre eucariotas e procariotas

Existen entre as células procariotas e as eucariotas, nas células procariotas non hai núcleo, polo que a transcrición e a posterior tradución teñen lugar ao mesmo tempo no citoplasma, mentres que nas eucariotas son procesos separados, a transcrición ten lugar no núcleo e a tradución no citoplasma

Nos eucariotas hai 3 tipos de ARN-**polimerase** (O ARN pol I- ARNr; ARNpol II- ARNm; e ARNpol III -ARNt e un pequeno fragmento de ARNr), nos procariotas só hai 1 tipo de ARN polimerase.

Nos eucariotas todos os ARNm maduran, nos procariotas (bacterias) non hai **exóns** nin **intróns**, só maduran o ARNt e o ARNr.

Nos eucariotas, todos os xenes estruturais son **monocistrónico**, isto significa que a molécula de transcrición do ARNm só leva información dunha proteína. En cambio en procariotas a maioría dos ARNm son **poli-cistrónicos**, conteñen información sobre máis dun polipéptido

## 14.5 A TRADUCCIÓN (SÍNTESE DE PROTEÍNAS)

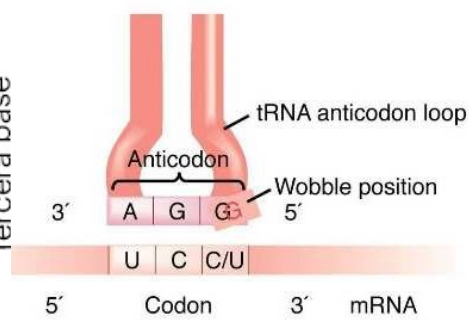
### O código xenético.

A mediados do s. XX comezou a analizar como unha secuencia de nucleótidos podía codificar unha secuencia de aminoácidos dunha proteína. A investigación confirmou que cada tres nucleótidos do ARNm chamados **codóns** codifican un aa. Hai 64 codóns que codifican un dos 20 aminoácidos ou un sinal de terminación ou iniciación para a síntese de proteínas.

O **código xenético** é a **correspondencia entre os codóns** (tripletes de nucleótidos) **do ARNm e os aminoácidos** que codifican.

**Severo Ochoa**, que recibiu o Premio Nobel de Fisioloxía e Medicina en 1959, colaborou co descubrimento do código

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



**Imaxe 14.16.** á esquerda táboa co código xenético, correspondencia entre ARNm e aminoácidos; á dereita, dexeneración do código.

Fonte: [https://genmolecular.com/synthesis-of-](https://genmolecular.com/synthesis-of-proteins-or-translation/)

[proteins-or-translation/](https://genmolecular.com/synthesis-of-proteins-or-translation/)

O código xenético ten as seguintes características:

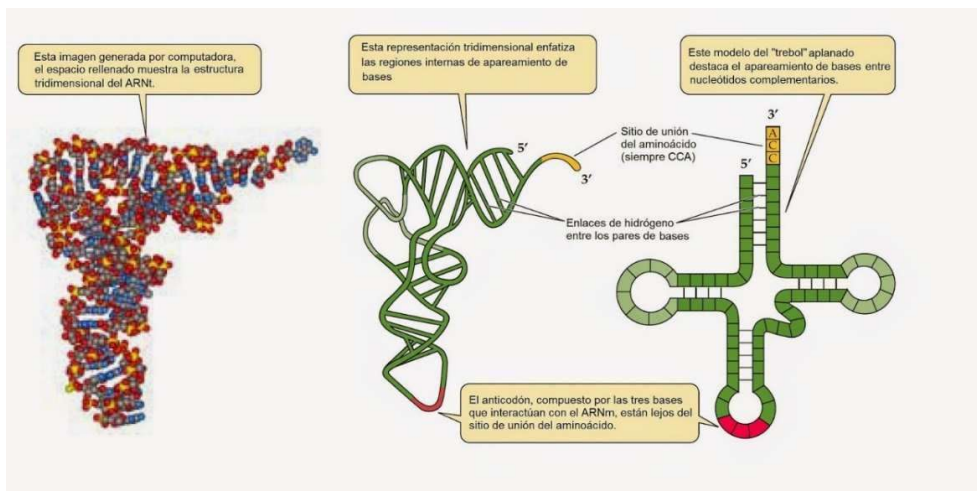
1. É **universal**, todos os organismos, incluídos os virus, usan o mesmo código xenético. Considérase universal a pesar de que se sabe que hai algunhas excepcións como nas mitocondrias e paramecios. Isto apoia a hipótese de que todos os organismos da Terra están relacionados e fai posible transferir xenes mediante técnicas de enxeñaría xenética .
2. É **dexenerado**, todos os aminoácidos están codificados por máis dun codón. Esta é unha vantaxe porque evita erros de lectura **Fig.14.16**), como se verá cando vexemos as mutacións.
3. É **non solapado**, non se superpoñen os codóns. Non ten discontinuidades.
4. É **unidireccional**, a mensaxe del ARNm se “le” sempre no sentido 5' --3', dende o codón que indica o comezo da proteína ata o que indica o seu final.

Ademais dos codóns que codifican os aa, existe un **codón de inicio**: AUG, que codifica metionina, e marca o principio da transcrición . Os codóns de terminación ou **codóns sen sentido**: UGA, UAG e UAA, non codifican ningún aa e participan na terminación.

## Os tres tipos de ARN colaboran na tradución.

A tradución é o proceso de síntese de proteínas que se realiza nos **ribosomas**, a partir da información contida no ARN mensaxeiro que é, á súa vez, unha copia dunha secuencia de ADN.

Os tres tipos de ARN están implicados na tradución:



### 14.17. Representación do ARNt cos tres bucles.

Fonte: <http://notas.bioteconologiageneral.blogspot.com.es/2014/09/codigo-genetico.html>

**ARNm (ARN mensaxeiro).** Molécula lineal, encárgase de transportar a información xenética do ADN aos ribosomas para que poida expresarse en forma de proteínas. A información lese en tripletes de nucleótidos chamados codóns.

**ARNt (ARN de transferencia)** Transporta os aminoácidos aos ribosomas, funcionan como un adaptador entre os aminoácidos e os codóns do ARNm. Un dos brazos leva un triplete de nucleótidos chamado **anticodón** complementario a un dos codóns.

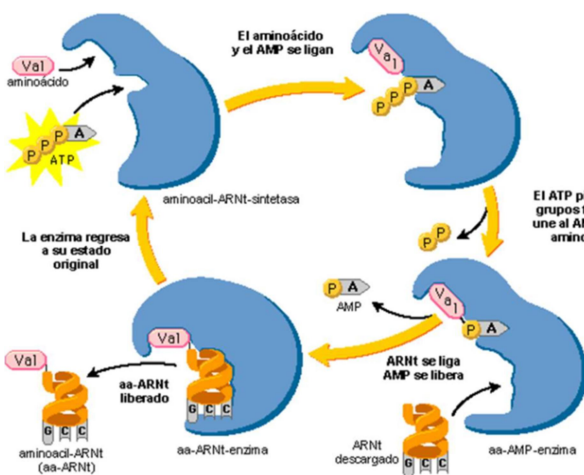
**ARNr (ARN ribosómico)** xunto coas proteínas forma os ribosomas (14.18). Os ribosomas proporcionan a estrutura onde se van a unir todos os elementos que participan na tradución, son responsables do apareamento dos codóns de ARNm cos anticodóns do aa-ARNt, e catalizan a formación dos enlaces peptídicos entre os aminoácidos.

Ademais destes 3 tipos de ARN (ARNt, ARNr e ARNm), a tradución require varios encimas (translocases, peptidasas e factores de iniciación, elongación e terminación), nucleótidos trifosfatos como fontes de enerxía (ATP e GTP) e aminoácidos.

## Fases da tradución

### Activación dos aa.

Anterior ao inicio da tradución. Para a síntese dunha proteína, partimos dos aa libres que están disoltos



no citosol. Os aminoácidos únense a molécula de ARNt ( extremo 3'), formando un aminoacil-ARNt. Esta reacción é catalizada po un encima específico para cada aa, a aminoacil-ARNt-sintetase, gastando unha molécula de ATP (Fig.14.19).

Así cada aminoácido únirase a un ARNt específico cun **anticodón**, que será **complementario** ao codón do ARNm que o codifica. Por exemplo, o ARNt cuxo anticodón é UAC levará metionina.

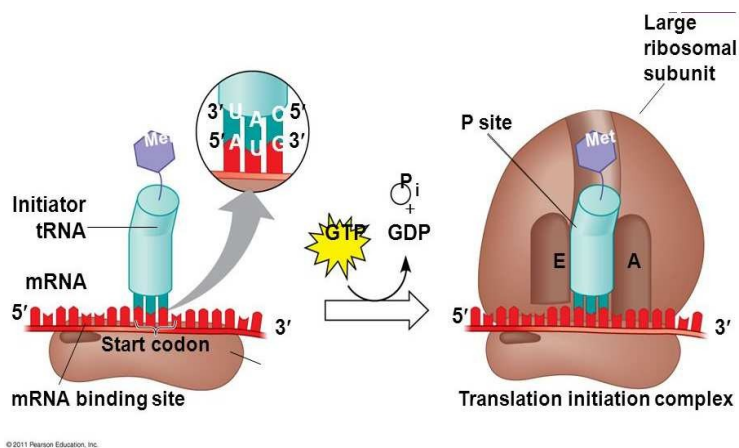
Imaxe 14.19. Proceso de activación do aminoácido polo encima

aminoacil-ARNt sintetasa para unirse ao ARNt que o transporta. Fonte: [http://www.lookforrdiagnosis.com/mesh\\_info.php?term=Aminoacil-ARNt+Sintetases&lang=2](http://www.lookforrdiagnosis.com/mesh_info.php?term=Aminoacil-ARNt+Sintetases&lang=2)

## Iniciación.

Está controlado por un grupo de encimas chamado **factores de iniciación** asociado coa subunidade menor do ribosoma. O ARNm lese en dirección 5' ---- 3'.

Os ribosomas conteñen tres sitios de unión para os ARNt: o **sitio A** (A de acceptor) que leva o ARNt co aminoácido que se vai unir á cadea de formación, o **sitio P** ( péptidil) que leva o ARNt coa cadea polipeptídica en formación e, no **sitio E** (saída) colócase o ARNt baleiro que xa deixou o aminoácido.



- A transcripción comeza coa unión do ARNm polo seu extremo 5' á subunidade menor.
- O ARNt iniciador cargado co primeiro aa (a metionina eucariotas, a formil-metionina en procariotas) únese ao sitio **sitio P** da subunidade menor, no codón de iniciación. O GTP proporciona a enerxía necesaria. O primeiro aa é o único que vai unirse ao sitio P, todos os demais aa uníranse no sitio A.

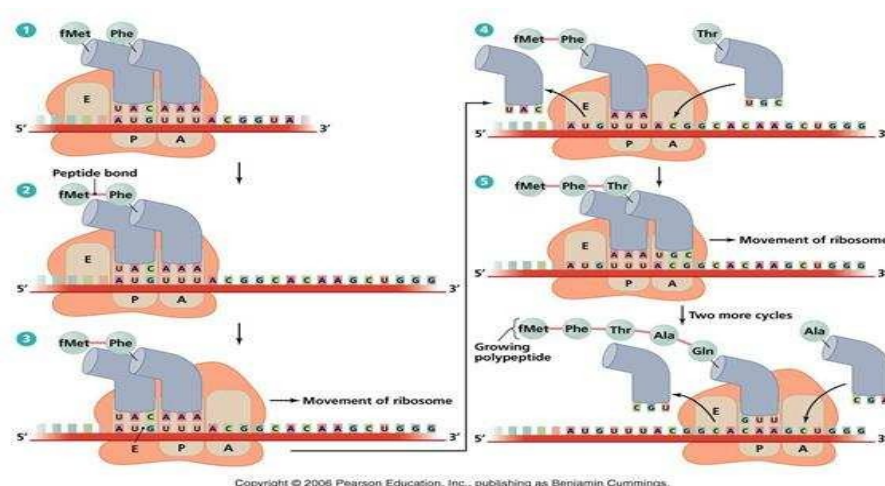
(Fig. 14.20) Iniciación á tradución para a síntese de proteínas. Fonte: pearson <http://slideplayer.com/slide/7958189/>

- Únase a subunidade maior do ribosoma, completándose o **complexo de iniciación**.

## Alongamento

Nesta etapa sintetízase a cadea peptídica pola unión dos sucesivos aa que van entrando no ribosoma transportados polos correspondentes ARNt. Están implicados varios encimas, coñecidos como **factores de alongamento** e enerxía que provén do GTP.

- Os aminoacil-ARNt (2) sitúnanse no **sitio A** do ribosoma, segundo o seu codón.
- **Imaxe 14.20.** O aa anterior (metionina) (1) rompe o seu enlace co ARNt e únese ao aa do sitio A. Fórmase un enlace peptídico entre os dous aa catalizado polo **encima peptidil-transferase**, un ribozima da subunidade maior
- O ribosoma desprázase ao longo do ARNm un codón, proceso chamado **translocación** do ribosoma, de xeito que o ARNt co dipéptido pasa do sitio A ao P, e o ARNt descargado colócase no sitio E e despois sae do ribosoma.
- O sitio A está libre para o seguinte aminoacil-ARNt, o proceso repítese e a cadea peptídica crece.

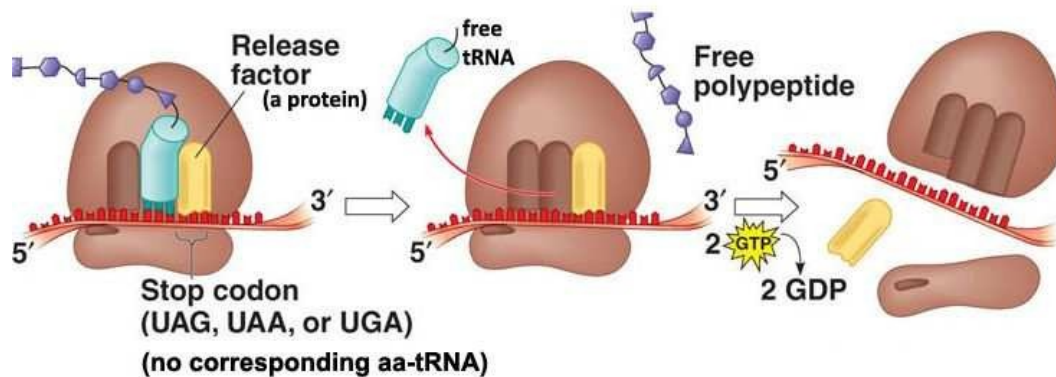


**Imaxe 14.21.**  
Alongamento da cadea peptídica no proceso de tradución.

Fonte: [Pearsons Inc.](http://Pearsons Inc.)

## Terminación.

Ocorre cando o ribosoma chega **codón de terminación**, únese a el un factor proteico de terminación que provoca a liberación da cadea polipeptídica unida ao último ARNt e a **disociación** das subunidades do ribosoma (Fig.14.22).



**Imaxe 14.22.** Finalización do proceso de tradución. Fonte: <http://www.proteinasynthesis.org/protein-synthesis-steps/>

Se o ARNm é moi longo, pode ser lido por varios ribosomas ao mesmo tempo, é dicir, a mesma proteína fórmase varias veces ao mesmo tempo. Esta estrutura de varios ribosomas unidos a un ARNm forma un polirribosoma ou **polisoma** (libres ou asociados a unha membrana)

Posteriormente, haberá unha **maduración** da proteína, que consiste na eliminación normalmente da metionina, formación de enlaces disulfuro, adición de grupos protéticos (oligosacáridos, lípidos, ...), modificación de determinados aa (metilacións, fosforilacións)... e as proteínas adquiren a súa conformación final tridimensional.

## 14.5 REGULACIÓN DA EXPRESIÓN XÉNICA.

Cada ser vivo posúe un gran número de xenes, pero todos estes xenes non se transcriben á vez, se non que a expresión dos xenes ten que adaptarse as necesidades da célula en cada momento.

As células teñen mecanismos programados para regular a síntese das súas diferentes proteínas, co que en cada momento sintetizan as proteínas que necesitan e nas cantidades adecuadas.

### Expresión xénica en procariotas

Os organismos procariotas son organismos unicelulares que carecen dun núcleo definido; polo tanto, o seu ADN flota libremente dentro do citoplasma celular. Para sintetizar unha proteína, os procesos de transcripción e de tradución ocorren case simultaneamente. Cando a proteína resultante xa non é necesaria, a transcripción detense. Polo tanto, nas células procariotas, o control da expresión xénica é principalmente a nivel **transcricional**.

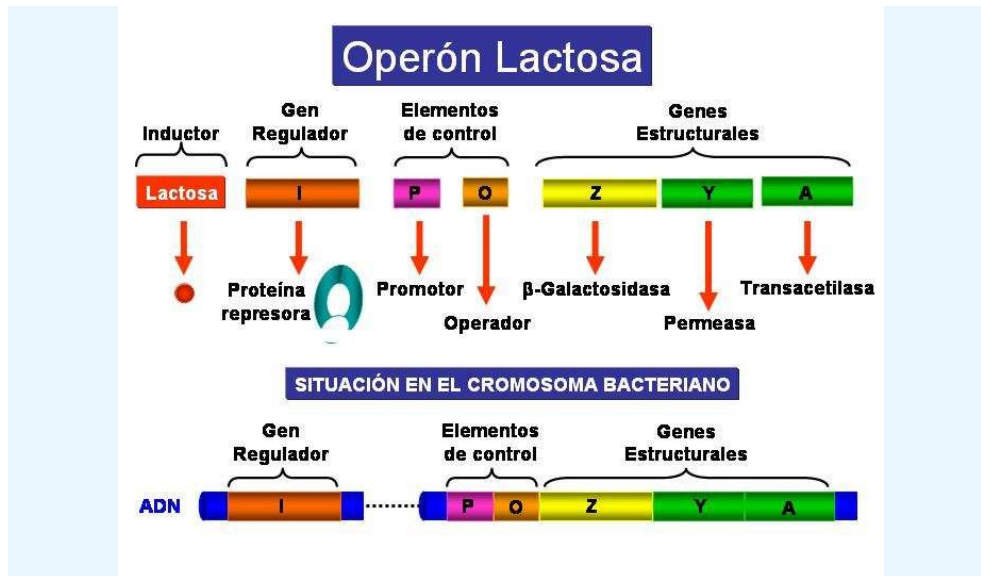
### O operón

O proceso de regulación xénica en **procariotas** (bacterias) foi estudiado, entre outros, polos franceses F. Jacob e J. L. Monod, que propuxeron un modelo de regulación para procariotas chamado modelo do operón.

O operón é unha unidade xenética formada por un conxunto de xenes que codifican proteínas con funcións relacionadas, e as secuencias reguladoras destes xenes.

O operón está formado por:

- promotor
- operador, continuo ao promotor, é o lugar de unión das proteínas reguladoras
- xenes estruturais, adxacentes ao operador que codifican proteínas implicadas nunha vía metabólica.
- xenes reguladores, que sintetizan a(s) proteína(s) reguladora(s) que se unen ao operador



Imaxe 14.23. Diagrama dos elementos do operón da lactosa.

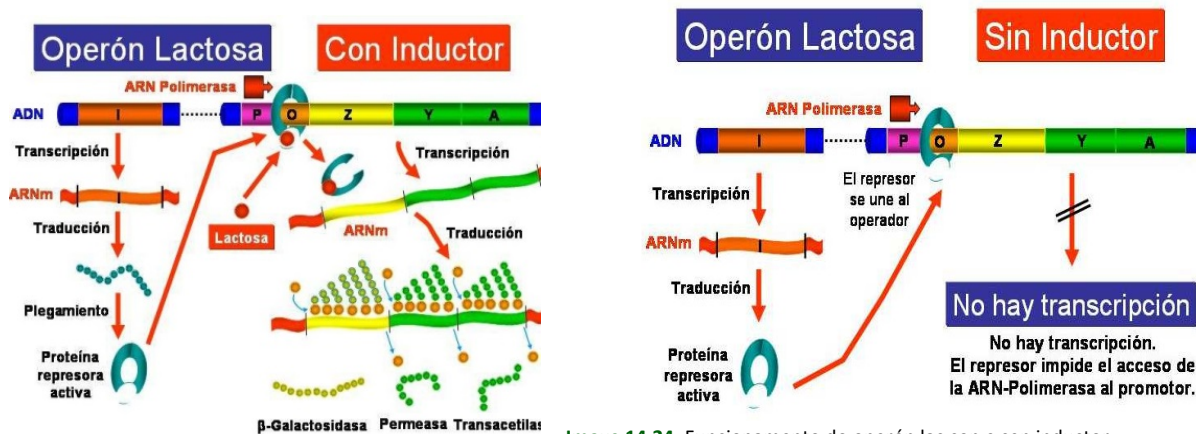
Os xenes estruturais transcríbense nunha única molécula de ARNm, e a súa transcrición é regulado por unha **proteína represora** codificada por xenes reguladores.

Un dos máis estudado é o operón de lactosa (en *Escherichia coli*), para abreviar chamado **operón lac**, que é un **operón inducible**, sendo o indutor a lactosa.

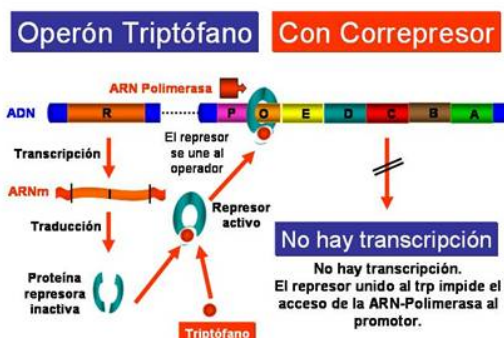
A lactosa é o **indutor** que actúa uníndose á proteína reguladora que cambia a súa conformación; e sepárase do operador, deixando libre acceso á ARN-polimerase. O encima ARN-pol pode entón unirse á rexión promotora e transcribir os xenes estruturais.

En consecuencia, a presenza de lactosa fai que se expresen os xenes estruturais do operón, necesarios para metabolizalo.

Pola contra, en ausencia do indutor (lactosa), a proteína represora únese ao operador e impide que a ARN polimerase se una á rexión promotora e, como consecuencia, os xenes estruturais non se transcriben.



Imaxe 14.24. Funcionamento do operón lac con e sen indutor.



Os **operóns repressibles** son aqueles operóns que en condicións normais si se expresan, pero, en resposta a un axente represor, inhíbese a transcrición dos xenes estruturais. Exemplos deste tipo son os operóns que codifican para a síntese de aminoácidos, como operón triptófano, histidina, etc...

## Regulación xénica en eucariotas

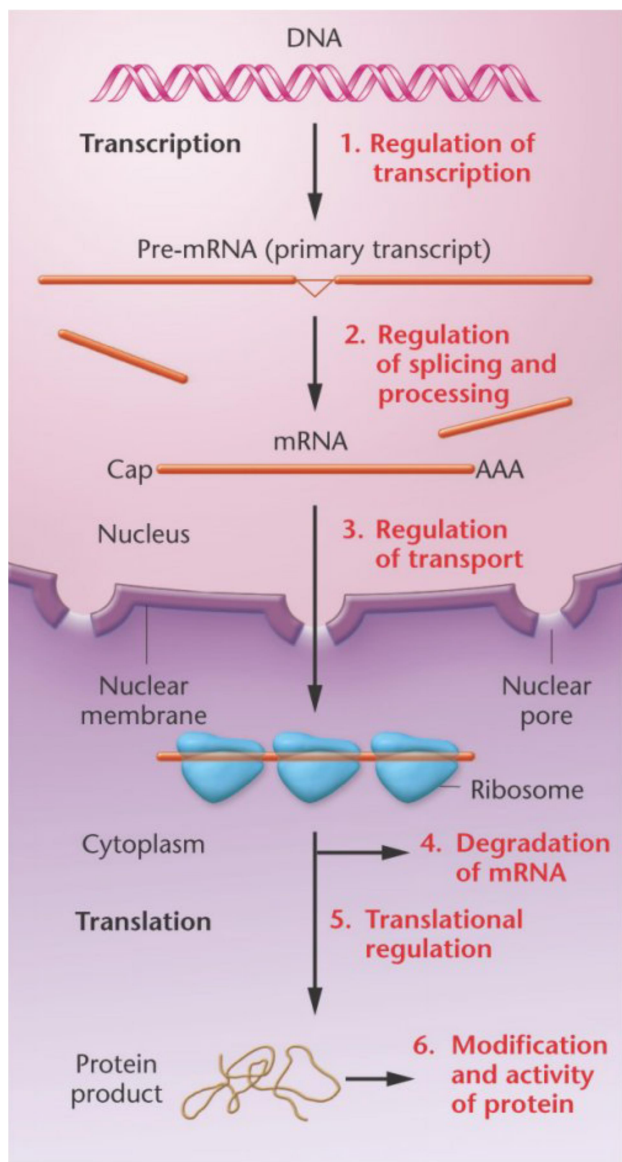
Os procesos de regulación xénica en eucariotas son moitos máis complexos. Nas células eucariotas, o ADN está contido dentro do núcleo de xeito que os procesos de transcripción e tradución están fisicamente separados pola membrana nuclear. A regulación da expresión xénica pode ocorrer en todas as fases do proceso.

Ademais, moitos organismos eucariotas son pluricelulares con células especializadas.

Todas as células somáticas dun organismo conteñen o mesmo ADN (con algunhas excepcións como os glóbulos vermellos..), pero os xenes que se expresan son distintos nas distintas células, por exemplo,

unha célula da retina non necesita as mesmas proteínas que as células do fígado.

Nos organismos eucariotas ten lugar un proceso de diferenciación celular no que as células totipotentes transfórmanse en células especializadas que forman parte dun tecido. Aínda non se coñecen os mecanismos exactos desta transformación, sabemos que cada estirpe celular posúe unha parte concreta do seu xenoma que queda bloqueada despois da diferenciación. Só existe reversibilidade deste proceso cando se desenvolve un cancro, enfermidade que consiste precisamente en que unha célula diferenciada volve a converterse en totipotente, desbloqueando o seu xenoma.



Copyright © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

Nas células eucariotas existen distintos niveis de control da expresión xénica:

- **Control da estrutura da cromatina.** Por exemplo, a cromatina máis aberta ou "relaxada" fai que un xene sexa máis dispoñible para a transcripción.
  - **Nivel transcricional.** Regulación polos factores de transcripción
  - **Nivel postranscricional.** Maduración do ARN e estabilidade do ARN despois da transcripción.
  - **Nivel de tradución.** Regulación da síntese proteica
  - **Nivel postraducional** modificación da proteína despois da síntese que modifica a súa actividade.

## Epixenética

É o estudo dos cambios na función dos xenes, que non afectan á secuencia do ADN, pero poden ser **herdables**.

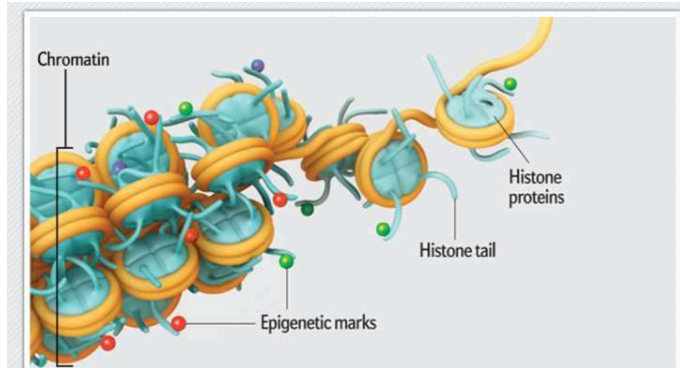
Estes cambios na expresión dos xenes dependen do medio, tanto do **ambiente** no que vive a célula como do medio no que vive o organismo.

Chámase epixenética porque o son **marcas** ou modificacións que afectan á expresión dos xenes tanto activándoos como desactivándoos. A mensaxe epixenética colócase enriba da mensaxe xenética (epi do grego, arriba), dos nucleótidos ou as histonas que os acompañan.

Cóñécense varios mecanismos de regulación epixenética, por exemplo:

- **Metilación** de bases de **ADN**, que os silencia e impide a expresión do xene que contén bases metiladas, desactivaría o xene.
- Modificación das **histonas**, as histonas acetiladas diminúen a súa afinidade polo ADN, o que distende a cromatina e favorece a transcripción, activando o xene.

Os cambios epixenéticos son reversibles, podendo modificarse ao longo dos anos dependendo do medio. Sábese que poden influír no envellecemento e no desenvolvemento de enfermidades como o cancro.

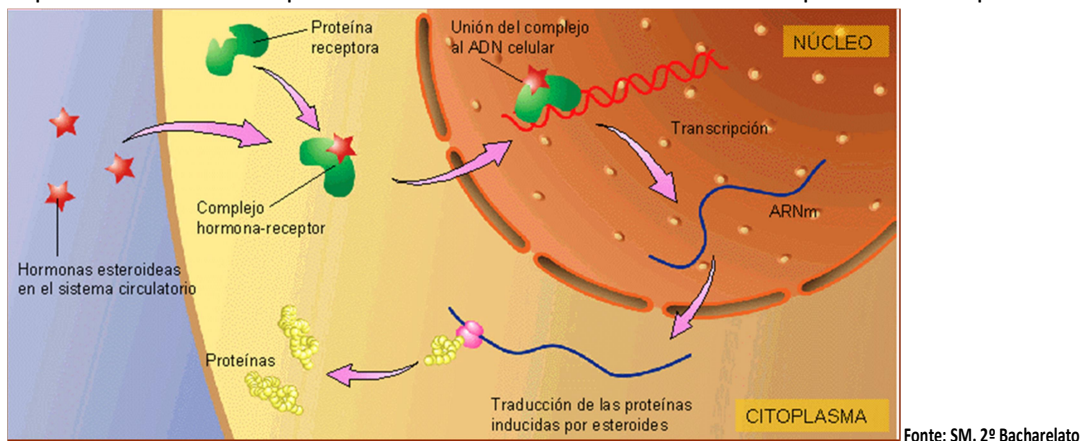


Imaxe 14.25. Marcas epixenéticas que controlan a expresión xénica. Fonte:

## Control hormonal

As hormonas regulan a expresión xénica mediante dous mecanismos xerais segundo a natureza da hormona:

- As hormonas **polipeptídicas**, interaccionan con receptores de membrana o que provoca a formación dun **segundo mensaxeiro** (normalmente AMPc) que transduce sinais ata o núcleo, modificándose a transcripción de determinados xenes.
- As hormonas **liposolubles** poden difundir pola membrana plasmática e únense a **receptores**, (proteínas) O complexo se trasloca ao núcleo, e xa dentro deste, e únese a determinadas secuencias do ADN chamadas elementos de resposta hormonal (**HRE**) , o que activa a transcripción de xenes específicos . Por exemplo as hormonas anabolizantes activan a produción de proteínas musculares.



Fonte: SM. 2º Bacharelato

## Estabilidade do ARN

Centos de xenes do xenoma codifican pequenas moléculas de ARN os **microARN** e os ARN de interferencia: **iARN** que conteñen fragmentos de secuencia de outros xenes. Ditos ARNs poden unirse co ARNm e provocar a súa degradación ou bloquear a síntese de proteínas. A expresión de ese xene en particular é silenciada. Esta regulación xoga un papel importante no desenvolvemento do organismo e no control das funcións celulares.

## CUESTIÓN E EXERCICIOS

1. Dada a seguinte cadea de ADN: 3'...ATCTGGTAC... 5', escribe o seu complemento. Fai o ARNm do exercicio anterior.
2. Dada unha cadea (cadea) de ADN 5'...CACAAAGAT... 3'
  - a) constrúe a vertente complementaria que debe acompañala
  - b) construír o ARNm que se formará a partir do complementario e poñer os aminoácidos aos que daría lugar.
3. Dado o seguinte fragmento de ARNm: 5'... AAU CUA UUC UCU AUU AAA ACC...3'
  - a) Escribe a molécula de ADN completa que orixinou o fragmento de ARNm inicial.
  - b) Escribe os aminoácidos traducidos polo fragmento de ARNm.
4. Consulta o código xenético, escribe o nome do polipéptido sintetizado polo seguinte fragmento de ADN: 3'...TAC GGA TTT CCG ATT... 5'
5. A neurohipófise segrega 2 hormonas que son dous pequenos polipéptidos, a oxitocina e a vasopresina, que son moi similares.
  - a) a secuencia de ADN que codifica a oxitocina é:  
TAC ACA ATA TAA GTT TTA ACG GGG GAA CAA ACT
  - Cal é a cadea polipeptídica correspondente? A secuencia de aminoácidos da vasopresina é:  
cys - tyr- phe - gln - asn - cys - pro - arg - gly
  - cal é a secuencia de ADN correspondente? Se hai máis dunha posibilidade, elixe a máis adecuada tendo en conta o apartado anterior
6. En xeral, o 70% do ADN que se transcribe é ARNr, o 25% ARNt e só o 5% restante é ARNm. Como explicas entón que a maior parte do ADN que se le é para codificar proteínas? Fai un esquema dunha secuencia de tradución proteica onde aparezan os 3 tipos de ARN mencionados e explica brevemente a función de cada un deles.
7. Se noutro planeta houberse un ADN formado por 6 nucleótidos diferentes, había 210 aminoácidos esenciais e o código xenético estivese formado por trillizos, ¿sería posible que existise un mecanismo de tradución igual ao da Terra? Razona a resposta.
8. Cando Watson e Crick (1951) describen por primeira vez o seu modelo de ADN din que "non se perde para nós que o emparellamento específico que postulamos (entre as bases) suxire inmediatamente un posible mecanismo reprodutivo para o material xenético". explica as túas palabras
9. Respostas curtas
  - a. Que función realiza a aminoacil-ARNt sintetasa?
  - b. Onde e en que tipo de células ten lugar a maduración do ARNm?
  - c. Que é a transcrición inversa?
  - d. Que función realiza a ARN-primasa?
  - e. Que indica o sinal palindrómico na secuencia de nucleótidos?
  - f. Que indican as secuencias de nucleótidos TATA?



### **Bibliografía e páxinas web**

- Biografía Arxentina. ADN como material xenético.  
<http://www.argenbio.org/index.php?action=novedades-e=140>
  - Contreras R. 2016. A guía de Bioloxía Que é un cistron? <http://biologia.laguia2000.com/genetica/que-es-un-cistron#ixzz4FLxvB3kw>
  - Experimentos de ADN <http://www.maph49.galeon.com/adn/experiment1.html>
  - Iglesias G. 2014. De Mendel ás moléculas. Tradución <https://genmolecular.com/protein-synthesis-or-translation/>
  - Lents, NH 2011. Experimento clásico: Meselson e Stahl. Visionlearning Vol. SCIRE-1 (6)  
<http://www.visionlearning.com/es/library/Adentro-de-la-Ciencia/58/Experimento-Cl%C3%A1sico:-Meselson-y-Stahl/187>
  - Vicioso, EF Blog de Bioloxía e Xeoloxía <http://biogeo.esy.es/BG2BTO/geneticamolecular.htm>
- Herráez, A. Exercicios de Bioloxía Molecular da Universidade de Alcalá