

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ASIGNATURA: GENÉTICA

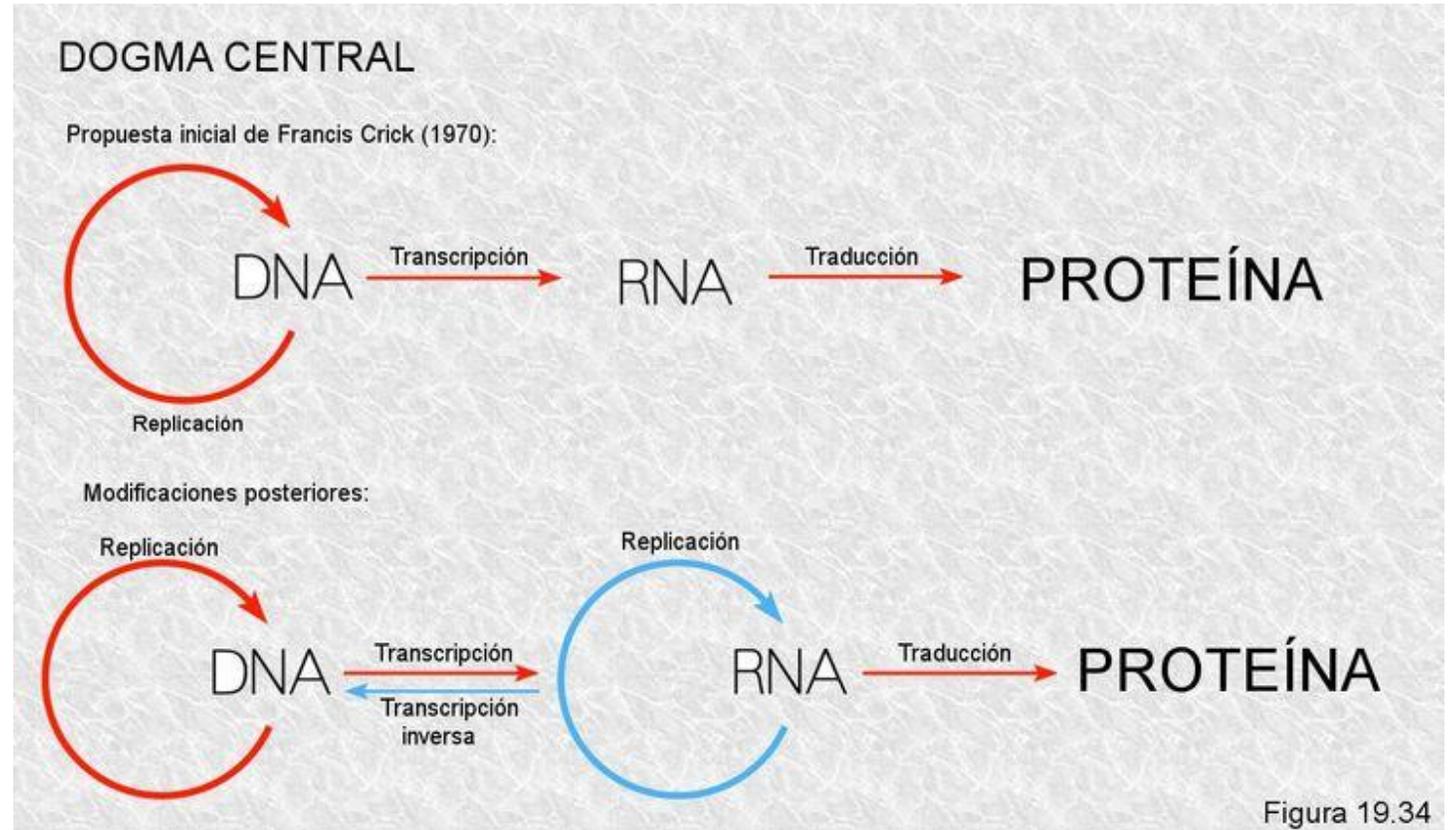
Karina Paredes Páliz PhD.



Unach

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
Libres por la Ciencia y el Saber

Dogma central de la Biología Molecular



Replicación del ADN

- El proceso de **replicación de ADN** es el mecanismo que permite al ADN duplicarse (es decir, sintetizar una copia idéntica).
- Es un proceso que cumple las siguientes características:
 1. Complementariedad de bases
 2. Semiconservativo
 3. Bidireccional
 4. Secuencial

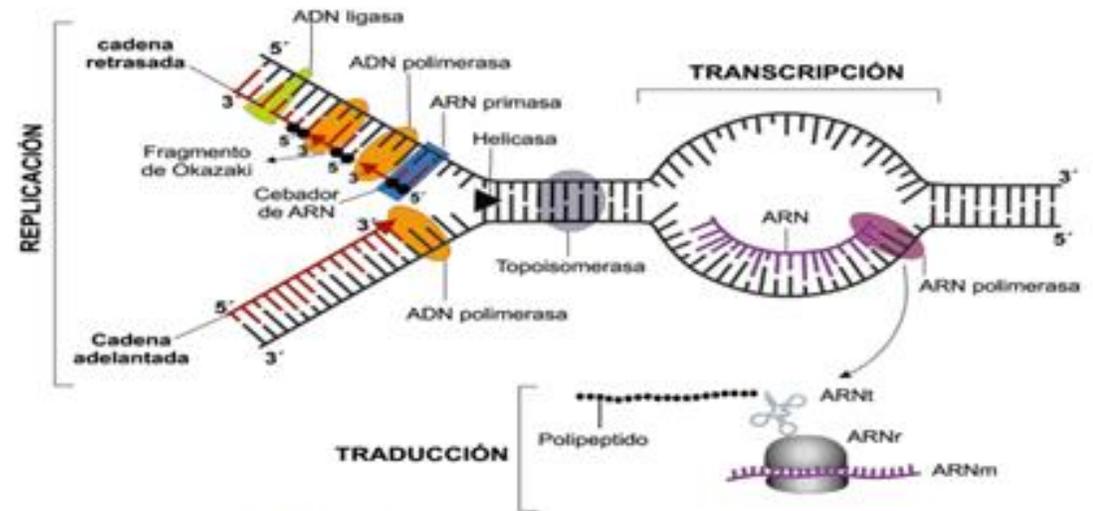


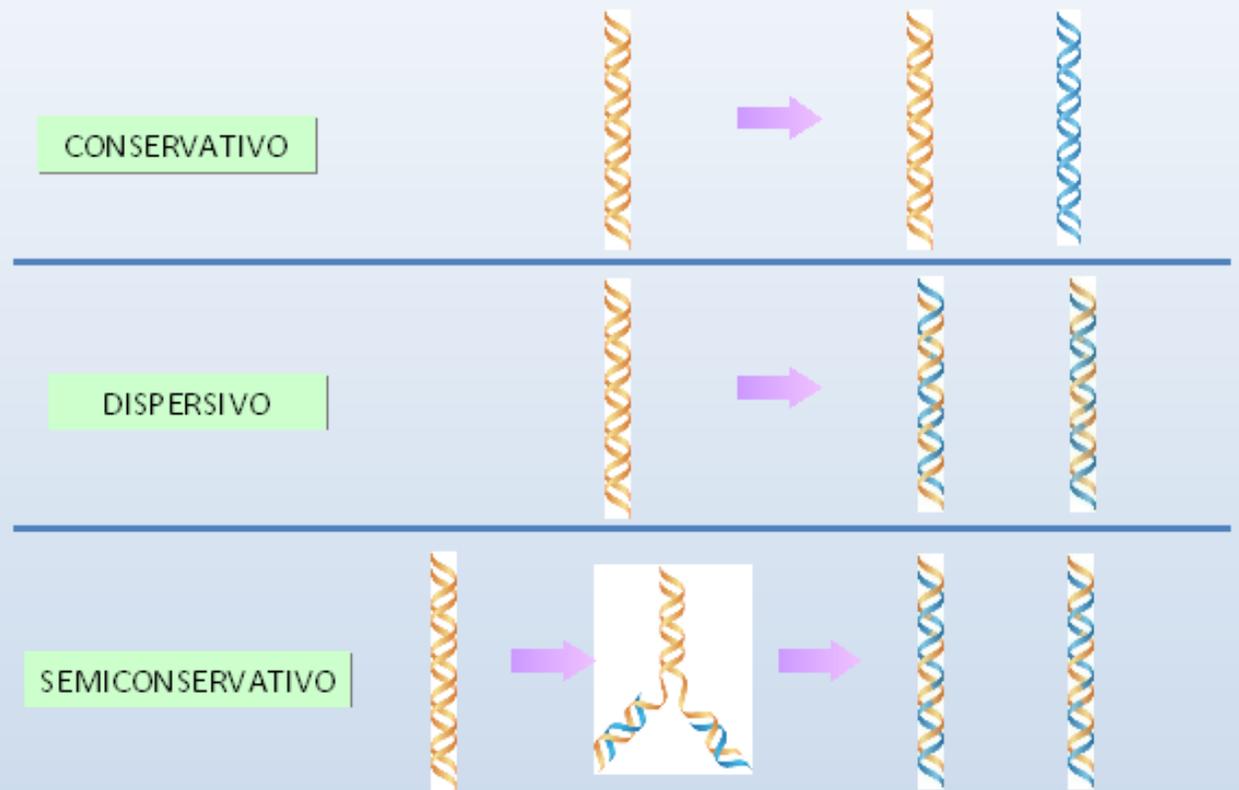
Figura 2. Mecanismo de replicación, transcripción y traducción.

Replicación del ADN

Hasta que finalmente se pudo demostrar que la replicación es **semiconservadora**, se consideraron tres posibles modelos para el mecanismo de la replicación:

- **Semiconservador** (modelo correcto). En cada una de las moléculas hijas se conserva una de las cadenas originales.
- **Conservador**. Se sintetiza una molécula totalmente nueva, copia de la original.
- **Dispersor, o dispersante**. Las cadenas hijas constan de fragmentos de la cadena antigua y fragmentos de la nueva.

Posibles modelos en la replicación del ADN

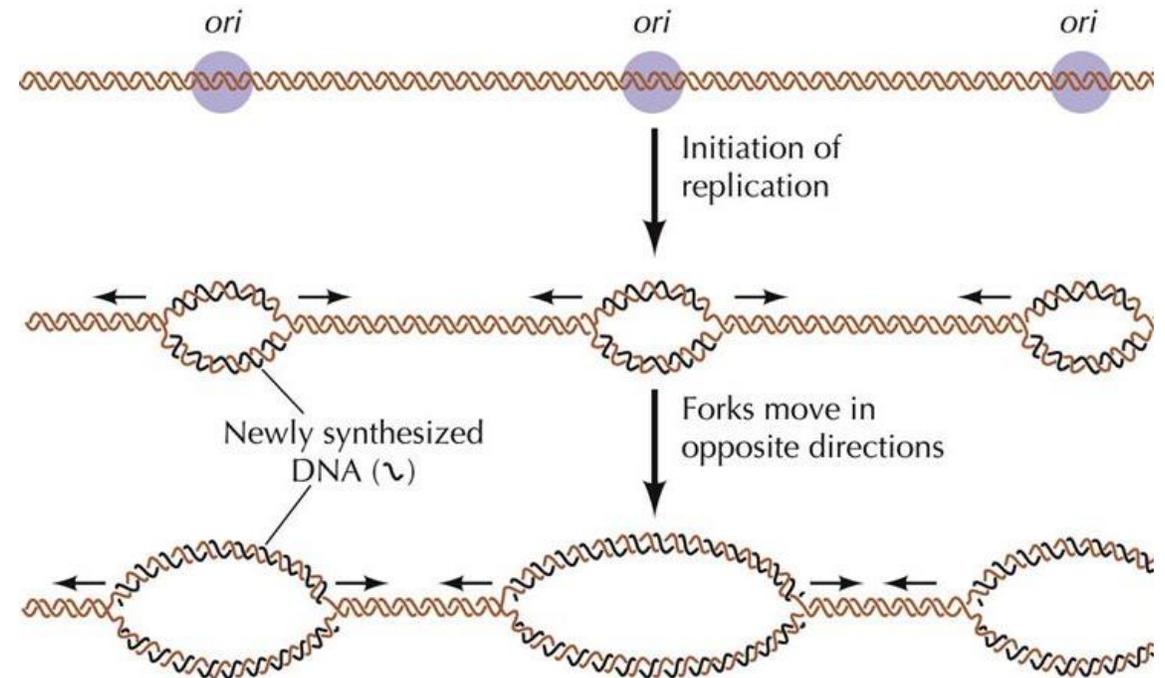


Origen de Replicación

- ORI es el sitio donde debe **iniciar la copia del material genético** en cada ciclo celular. En los organismos procariontes, cuyos genomas son relativamente sencillos, hay un solo origen de replicación (replicón) en tanto que en los eucariontes, con genomas más amplios y complejos, se encuentran varios orígenes de replicación.
- Según algunos autores, existen 330 orígenes en el genoma de 14 Mb de la levadura común, y probablemente más de 10 000 en los metazoarios.

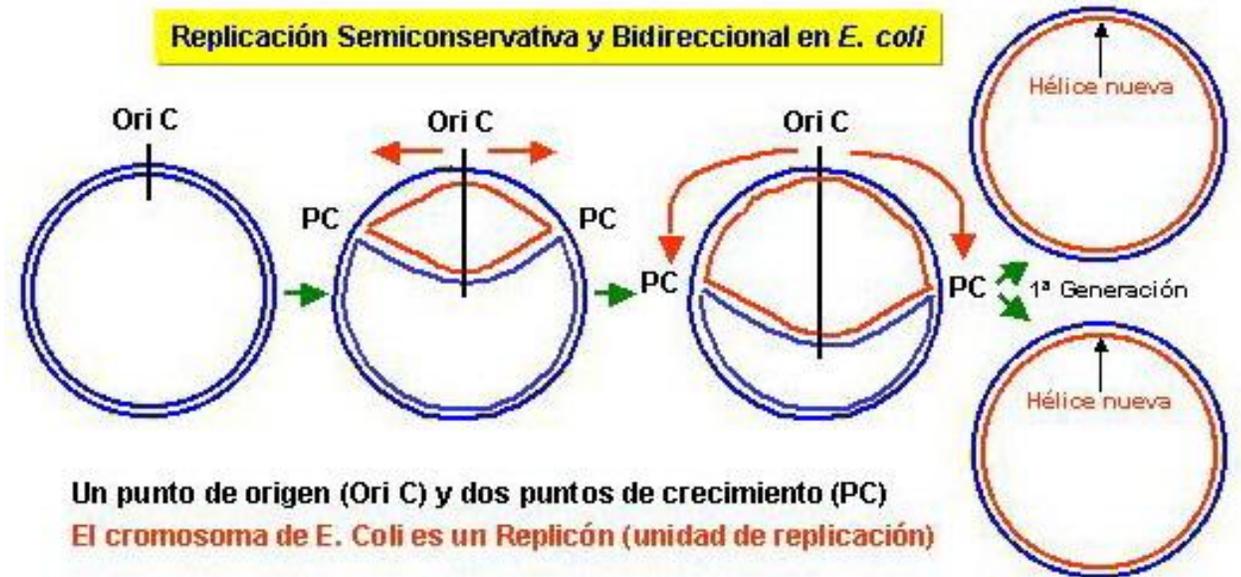
Orígenes de replicación en cromosomas eucarióticos

Múltiples orígenes, cada uno produce una horquilla de replicación



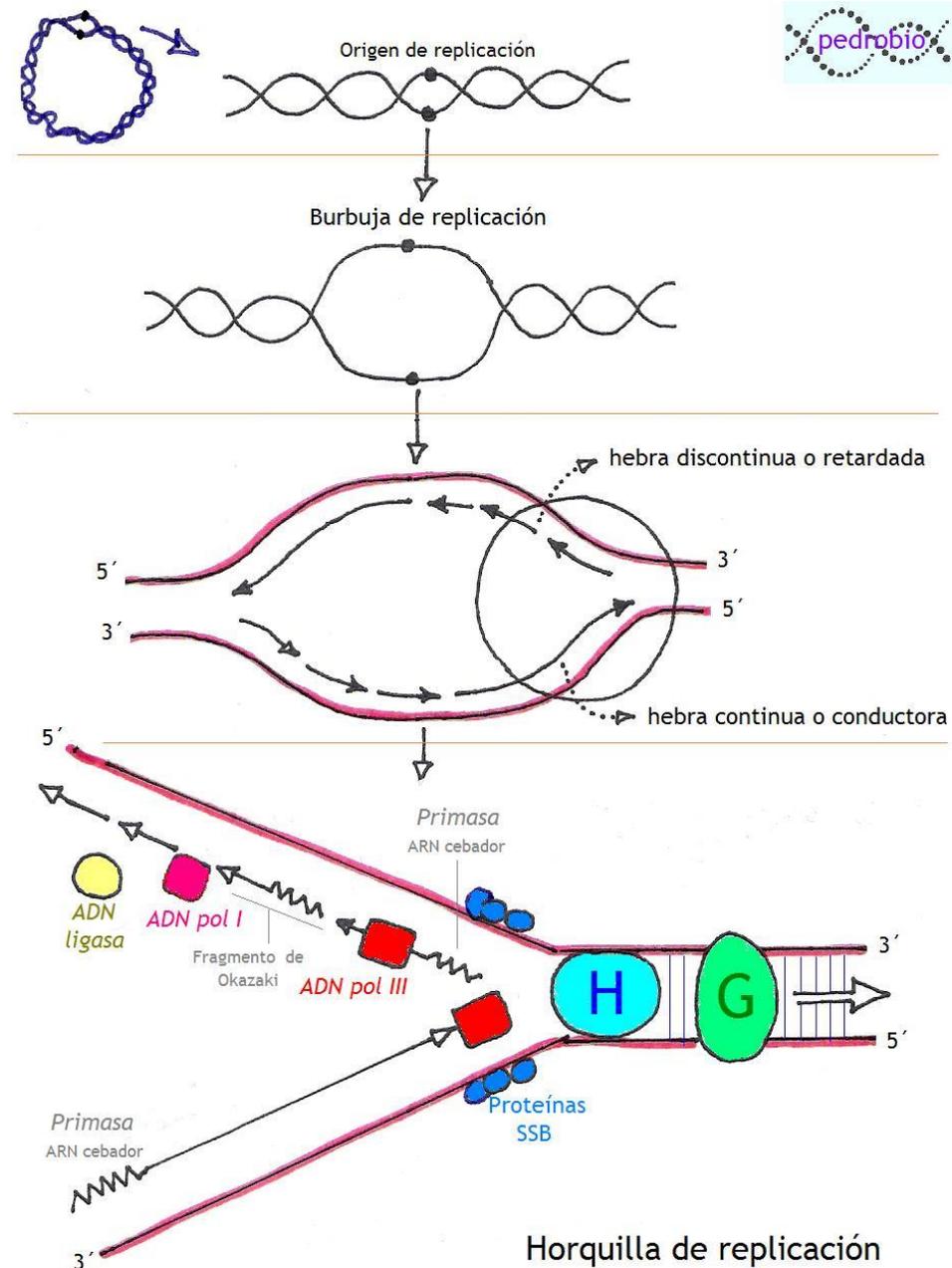
THE CELL 5e, Figure 6.13

- Los experimentos realizados por **Cairns (1963)** con la bacteria *Escherichia coli* permitieron determinar la existencia de ese punto fijo u origen de replicación a partir del cual el genoma empezaba a replicarse al cual denominaron **OriC**.
- Los experimentos consistían en mantener un cultivo de *E. coli* creciendo en un medio que contenía timidina tritiada (timina marcada con tritio), de forma que el ADN quedara marcado radiactivamente pudiendo efectuarse una autorradiografía. A continuación se observaba al microscopio.



Horquillas de replicación y Bidireccionalidad

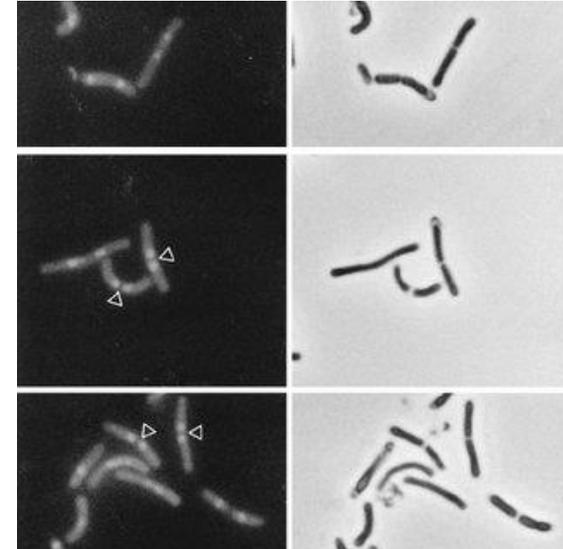
Debido a que en la célula ambas cadenas de la doble hélice de ADN se duplican al mismo tiempo, éstas deben separarse para que cada una de ellas sirva de molde para la síntesis de una nueva cadena. Por eso, la replicación avanza con una estructura en forma de horquilla formándose una burbuja u ojo de replicación.



Secuencialidad

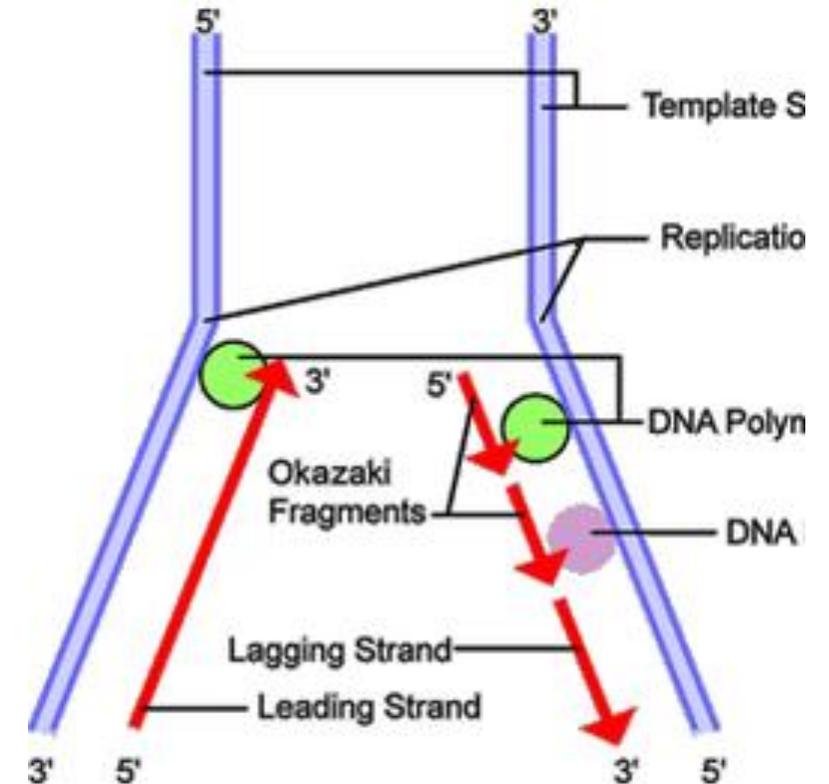
Sueoka y Yoshikawa (1963) realizaron estudios genéticos de complementación de mutaciones que permitieron determinar que desde los orígenes la replicación avanza de forma secuencial. Trabajaron con *Bacillus subtilis* porque era posible obtener cultivos sincronizados de forma que todas las células del cultivo estuvieran en la misma fase del ciclo celular. El método consistía en la **conjugación bacteriana de cepas silvestres con cepas mutantes** incapaces de sintetizar determinados aminoácidos.

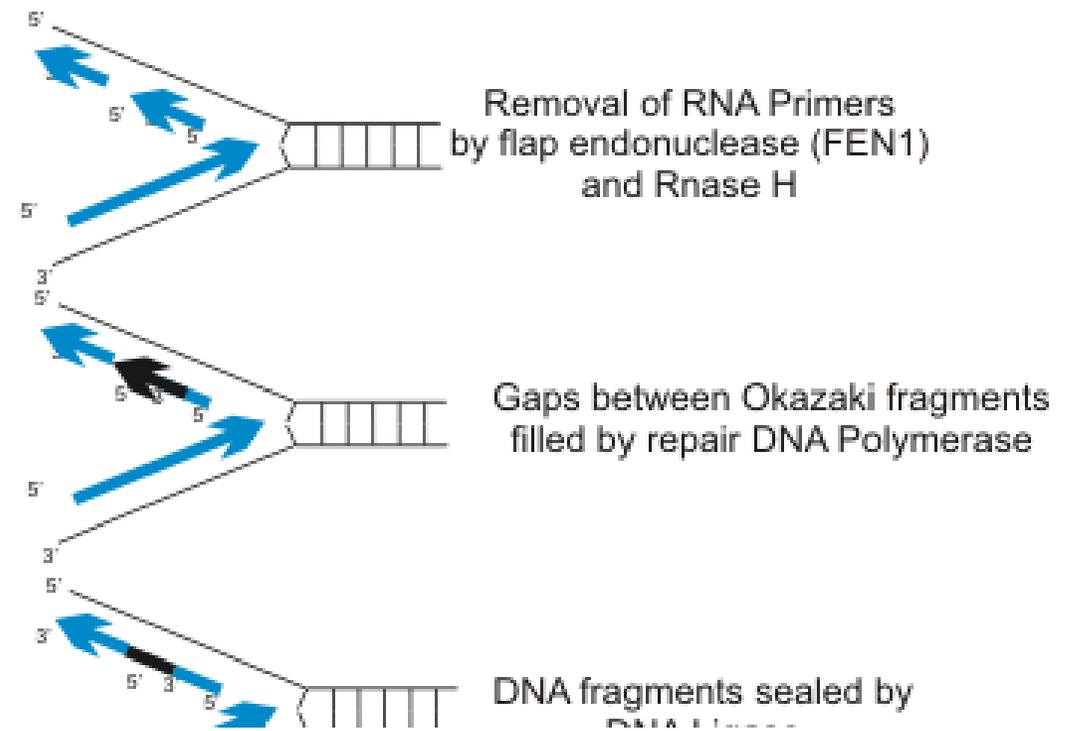
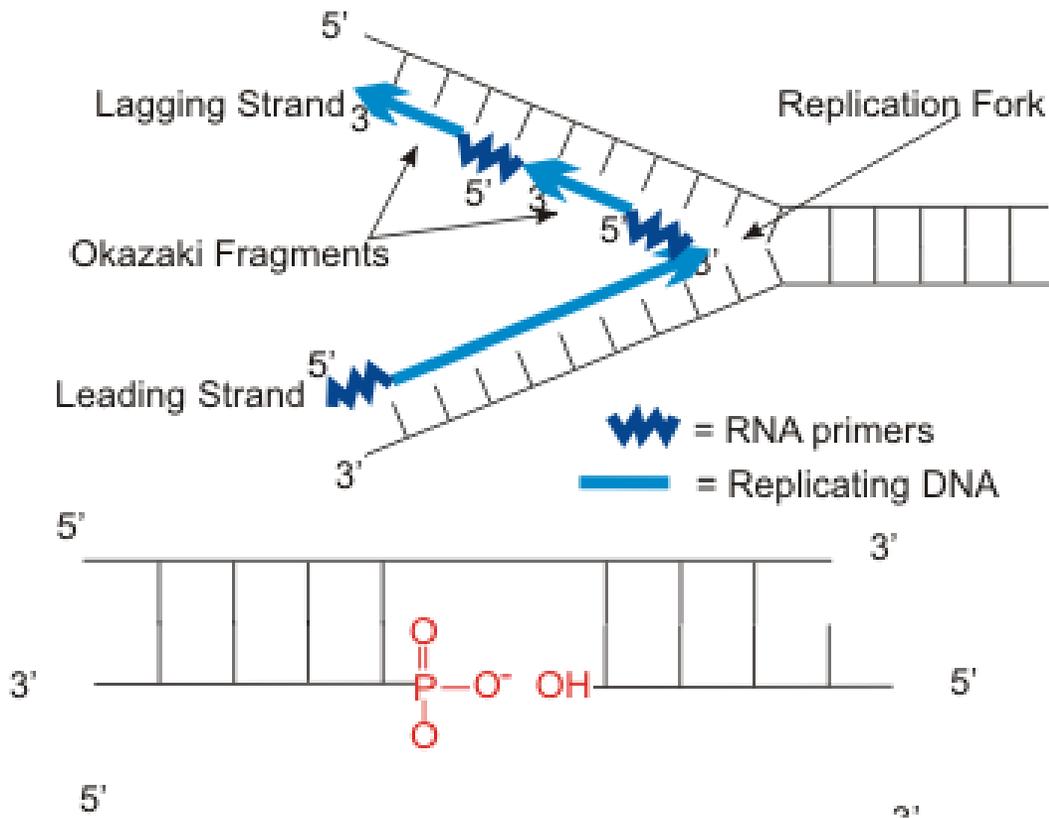
Los primeros genes en replicarse en la bacteria donadora serían los primeros en transferirse, el experimento permitió demostrar, a partir de las frecuencias relativas de los diferentes genes en las bacterias receptoras, que la replicación sigue un orden **(es secuencial)**.



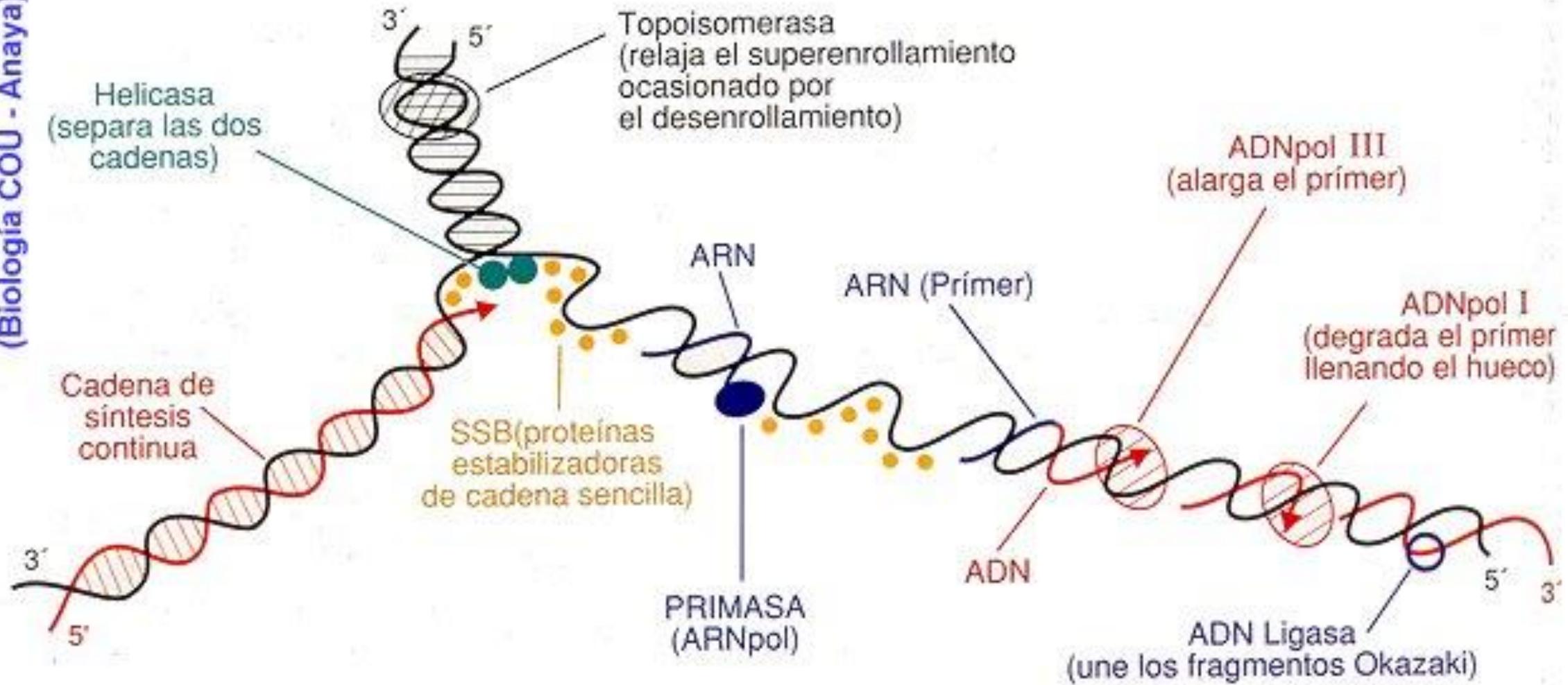
Semidiscontinuidad

- La replicación siempre se produce en sentido $5' \rightarrow 3'$, siendo el extremo 3'-OH libre el punto a partir del cual se produce la elongación del ADN. Esto plantea un problema, y es que las cadenas tienen que crecer simultáneamente a pesar de que son **antiparalelas**, es decir, que cada cadena tiene el extremo 5' enfrente con el extremo 3' de la otra cadena. Por ello, una de las cadenas debería ser sintetizada en dirección $3' \rightarrow 5'$.
- Este problema lo resolvieron los científicos japoneses Reiji Okazaki y Tsuneko Okazaki en la década de 1960, al descubrir que una de las nuevas cadenas de ADN se sintetiza en forma de trozos cortos que, en su honor, se denominan **fragmentos de Okazaki**. Su longitud suele variar entre 1000 y 2000 nucleótidos en las bacterias y entre 100 y 400 nucleótidos en eucariontes.

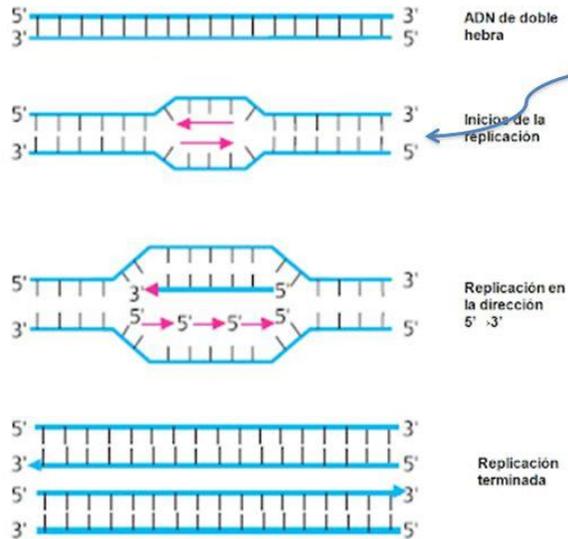




La cadena que se sintetiza en el mismo sentido que avanza la horquilla de replicación se denomina **hebra adelantada** (en inglés, *leading strand*, que a veces se traduce por líder o conductora) y se sintetiza de forma continua por la ADN polimerasa, mientras que la que se sintetiza en sentido contrario al avance se denomina **hebra rezagada o retrasada** (en inglés, *lagging strand*), cuya síntesis se realiza de forma discontinua teniendo que esperar a que la horquilla de replicación avance para disponer de una cierta longitud de ADN molde.



Etapas de la Replicación

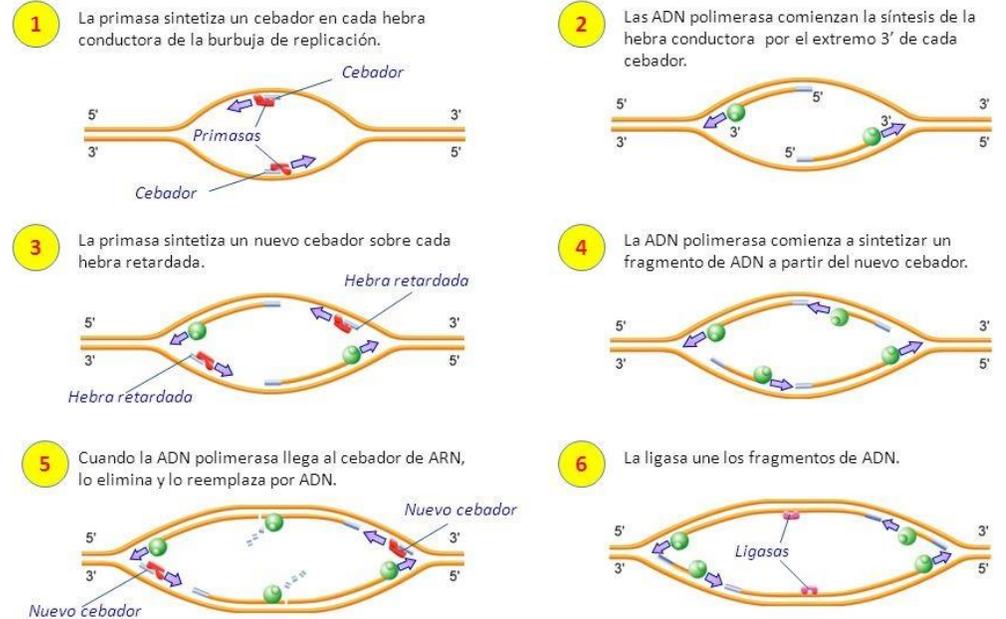


I. Inicio: es el punto en donde se regula el proceso

II. Elongación

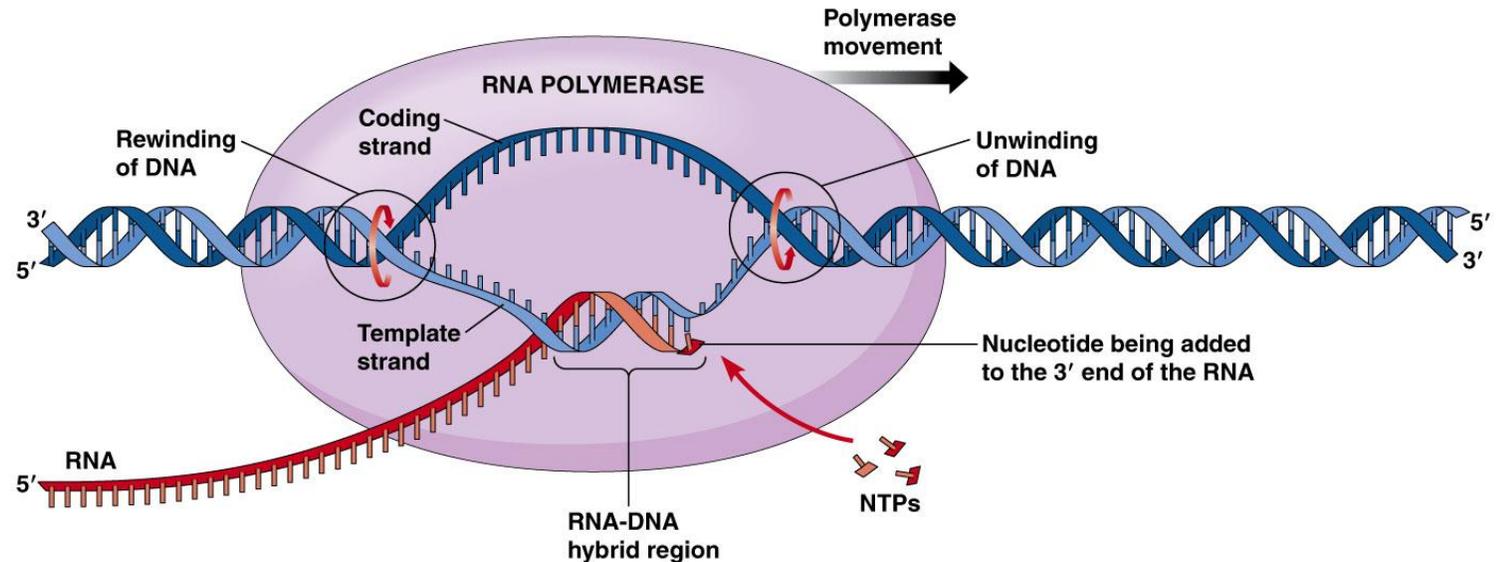
III. Terminación

El mecanismo de elongación



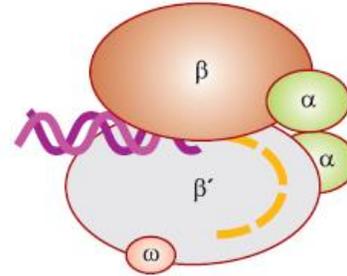
Transcripción del ADN en ARN

- La **transcripción del ADN** es el primer proceso de la expresión genética, mediante el cual se transfiere la información contenida en la secuencia del **ADN** hacia la secuencia de proteína utilizando diversos **ARN** como intermediarios.
- Durante la transcripción genética, las secuencias de ADN son copiadas a ARN mediante una enzima llamada **ARN polimerasa** la cual sintetiza un ARN mensajero que mantiene la información de la secuencia del ADN. De esta manera, la transcripción del ADN también podría llamarse síntesis del ARN mensajero.

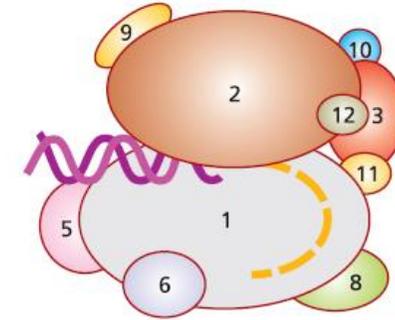


© 2012 Pearson Education, Inc.

PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
UN SOLO TIPO DE ARN	TRES TIPOS DE ARN
POLIMERASA PARA SINTETIZAR ARNm, ARNt Y ARNr	POLIMERASAS



• **Figura 4-1** Estructura molecular de la polimerasa de RNA (*Thermus aquaticus*) en procariontes.

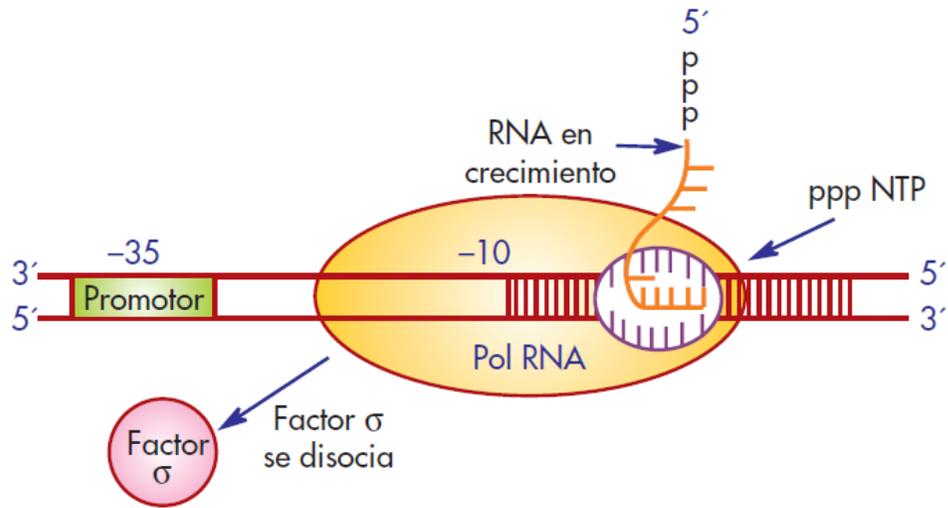


• **Figura 4-2** Estructura molecular de la polimerasa de RNA tipo II de eucariontes.

Tipos y estructura de las polimerasas de ARN

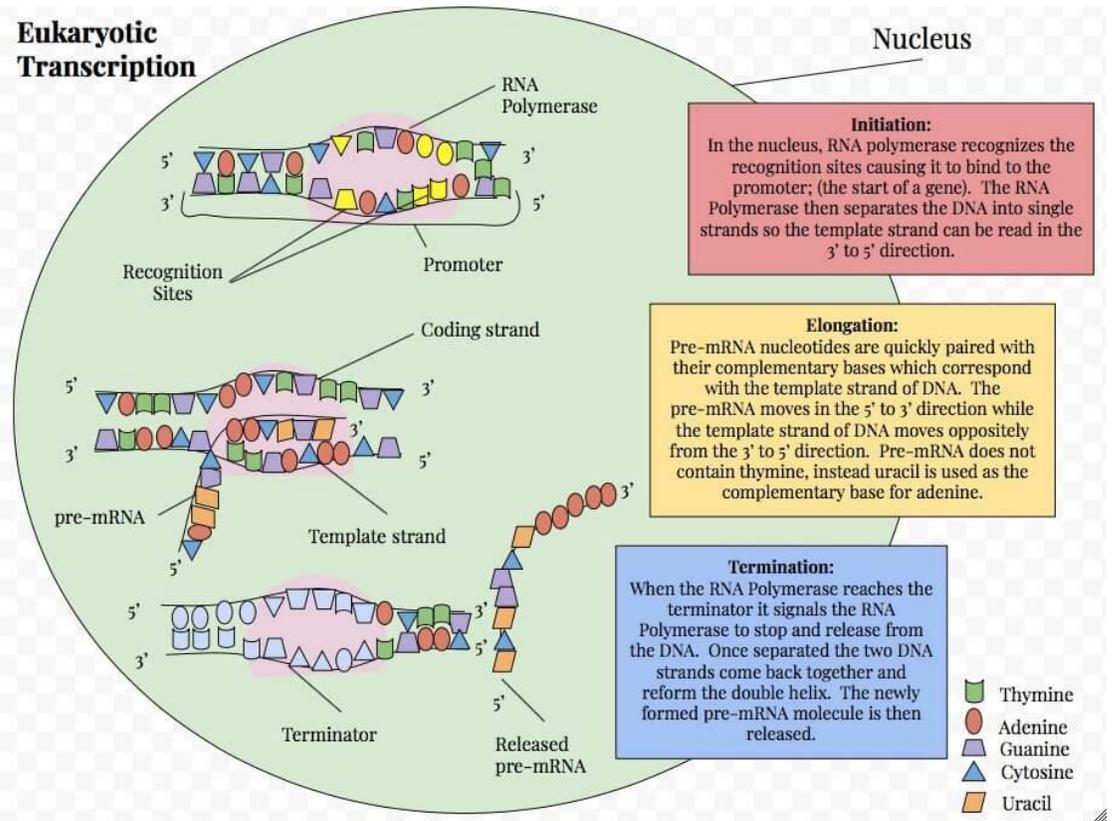
- La estructura de la polimerasa de RNA de *E. coli* comprende **cuatro subunidades proteínicas** [**2 α (37 kD)**, **β (151 kD)** y **β' (156 kD)**] y una accesoria denominada factor σ del cual existen varios tipos que varían en su peso molecular desde 28 a 70 kD.
- Este factor (Sigma) es determinante en el reconocimiento del sitio de iniciación en la transcripción; además, posee actividad de helicasa que permite la apertura del DNA. La síntesis de nucleótidos la realizan las otras cinco proteínas se denomina **holoenzima**.

	Localización	Moléculas por célula	Actividad relativa	Genes transcritos	Transcrito primario	nº subunid. accesorias	Inhibidor
I	Nucléolo	40.000	50-70%	rRNA 28S, 18S, 5,8S	pre-rRNA grande (45S)	13	-
II	Nucleoplasma	40.000	20-40%	mRNA, snRNA	hnRNA	12	α -amanitina
III	Nucleoplasma	20.000	3-10%	tRNA, rRNA 5S, snRNA, miRNA	pre-tRNA, pre-rRNA pequeño	14	α -amanitina (poco)
Org	Mitocondrias y cloroplastos	?	?	RNA organulares	No hay maduración	0	Rifampicina



• **Figura 4-4** Crecimiento en dirección 5' → 3'; a los 12 nucleótidos transcritos, el factor σ se disocia.

Eukaryotic Transcription



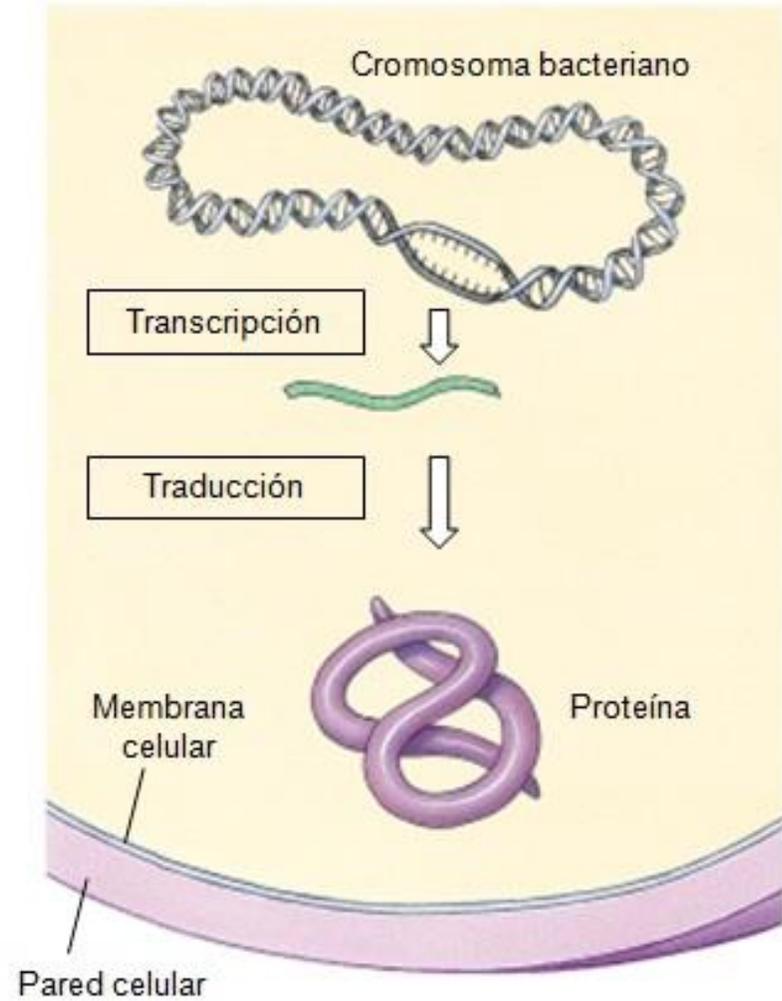
Initiation:
In the nucleus, RNA polymerase recognizes the recognition sites causing it to bind to the promoter; (the start of a gene). The RNA Polymerase then separates the DNA into single strands so the template strand can be read in the 3' to 5' direction.

Elongation:
Pre-mRNA nucleotides are quickly paired with their complementary bases which correspond with the template strand of DNA. The pre-mRNA moves in the 5' to 3' direction while the template strand of DNA moves oppositely from the 3' to 5' direction. Pre-mRNA does not contain thymine, instead uracil is used as the complementary base for adenine.

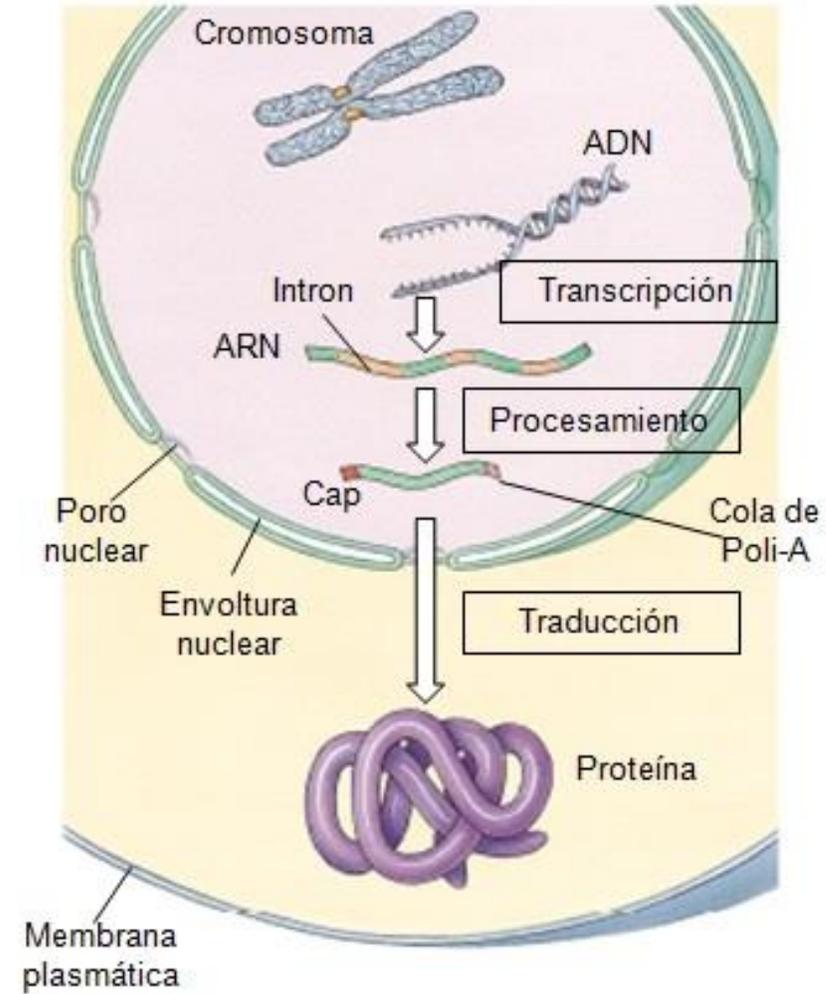
Termination:
When the RNA Polymerase reaches the terminator it signals the RNA Polymerase to stop and release from the DNA. Once separated the two DNA strands come back together and reform the double helix. The newly formed pre-mRNA molecule is then released.

- Thymine
- Adenine
- Guanine
- Cytosine
- Uracil

Transcripción de ADN y Traducción del ARNm por procariotas



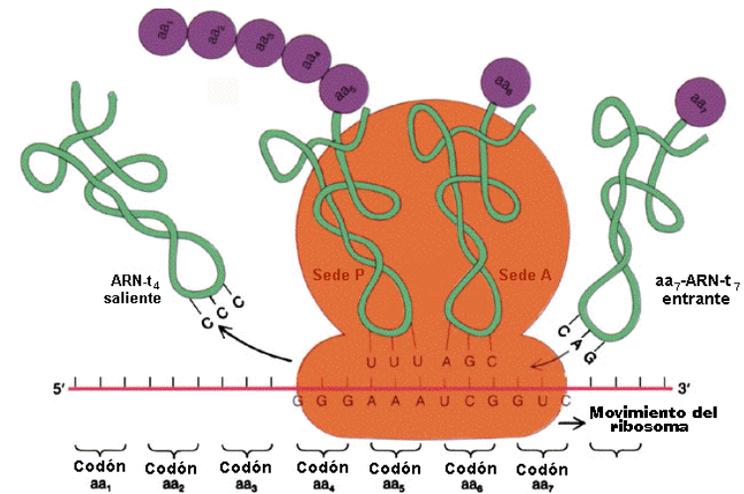
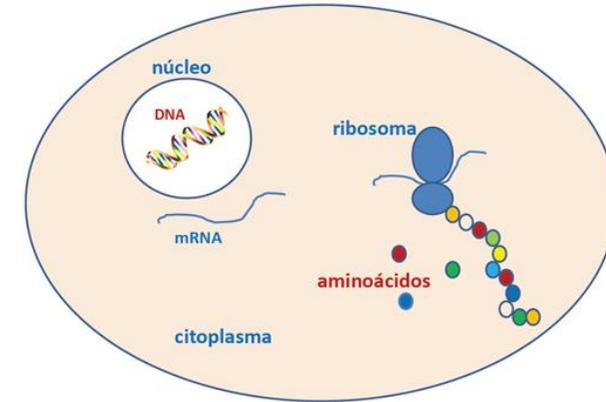
Transcripción de ADN y Traducción del ARNm por eucariotas



Traducción del ARN

- Las proteínas, por su tamaño, no pueden atravesar la membrana plasmática de la célula; por eso, existe en su interior un mecanismo que las construye (síntesis) según las necesidades que tenga en ese momento la célula.

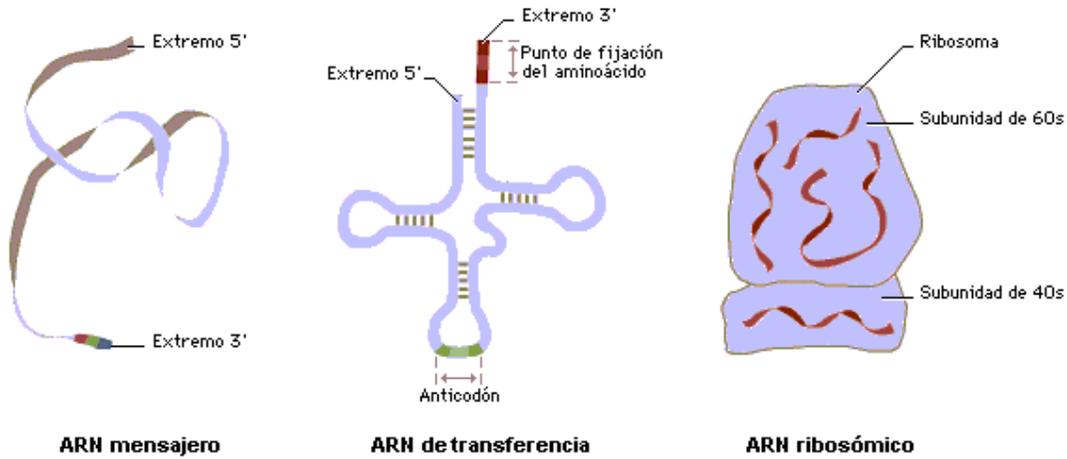
¿Dónde se forman las proteínas?



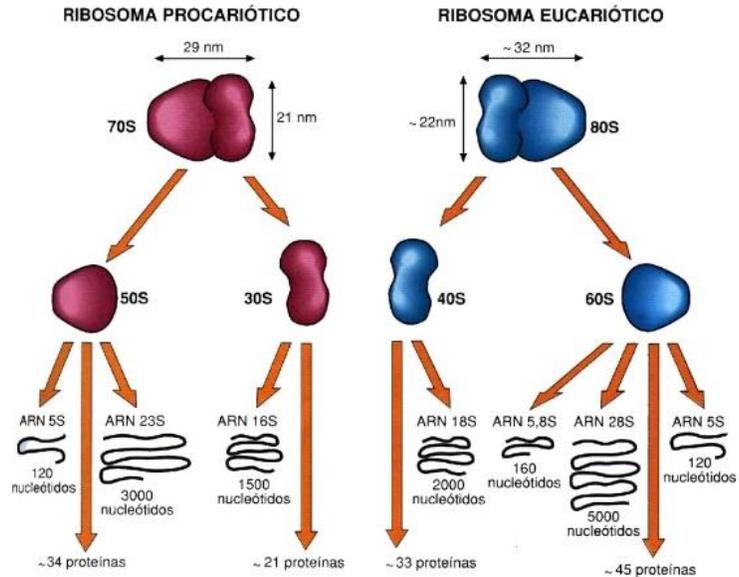
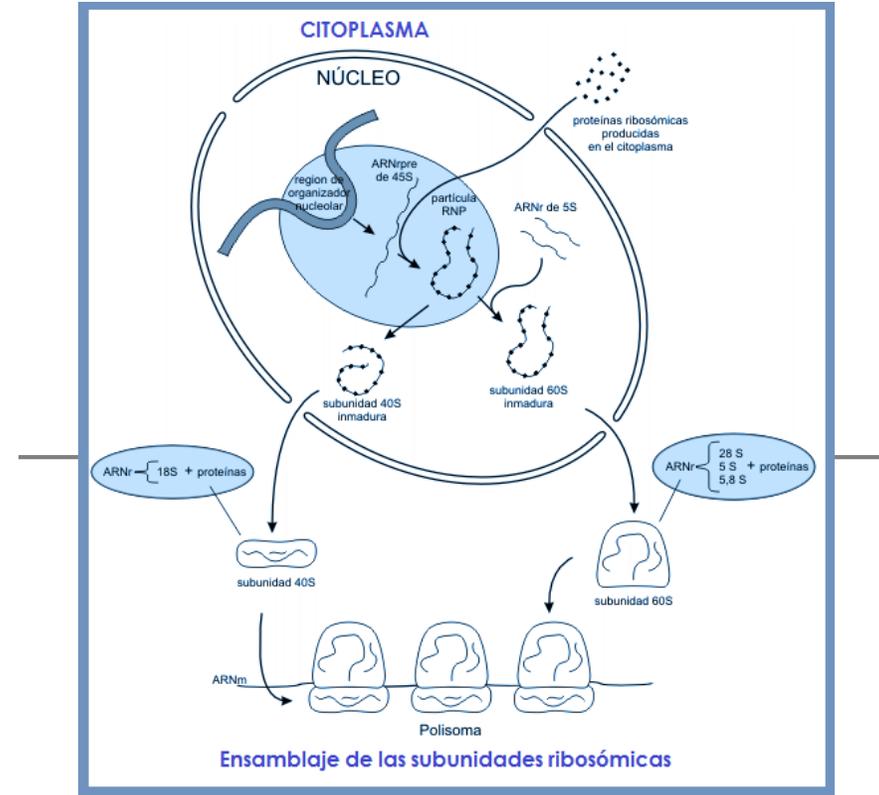


Requerimientos para la traducción

- Es necesario el **ARNm** que contiene la información de la proteína que se va a sintetizar.
 - La presencia de determinados **aminoácidos**.
 - La participación de **ARNt** que transfiera los aminoácidos al ribosoma.
 - Proteínas enzimáticas (Aminoacil tARN, peptidil transferasa) y no enzimáticas, denominadas **factores de traducción**.
 - Ribonucleósidos trifosfatados como fuente de energía (**GTP, ATP**).
 - **Ribosomas** compuestos por ARNr y proteína.
-



© Microsoft Corporation. Reservados todos los derechos.



Ribosomas	Subunidades	ARN-r	Proteínas ribosomales
Procarióticos: 70S 66% ARN, 34% proteínas	Grande: 50S	23S: 2.904 bases	31 diferentes (L1-L31)
	Pequeña: 30S	5S: 120 bases	
Eucarióticos: 80S 60% ARN, 40% proteínas	Grande: 60S	28S: 4718 bases	49 diferentes (L1-L49)
		5,8S: 160 bases	
	Pequeña: 40S	5S: 120 bases	
		18S: 1874 bases	

Código genético

El código genético está compuesto por **codones** (codon= 3 bases nitrogenadas) que definen el proceso de **traducción**

- 61 codones para aminoácidos (existen 20 aminoácidos diferentes)
- 3 codones de terminación

Segunda Letra

		Segunda Letra				
		U	C	A	G	
Primera letra	U	UUU UUC	UCU UCC	UAU UAC	UGU UGC	U C
		UUA UUG	UCA UCG	UAA UAG	UGA UGG	A G
	C	CUU CUC	CCU CCC	CAU CAC	CGU CGC	U C
		CUA CUG	CCA CCG	CAA CAG	CGA CGG	A G
A	AUU AUC	ACU ACC	AAU AAC	AGU AGC	U C	
	AUA AUG	ACA ACG	AAA AAG	AGA AGG	A G	
G	GUU GUC	GCU GCC	GAU GAC	GGU GGC	U C	
	GUA GUG	GCA GCG	GAA GAG	GGA GGG	A G	

El código genético es **universal**

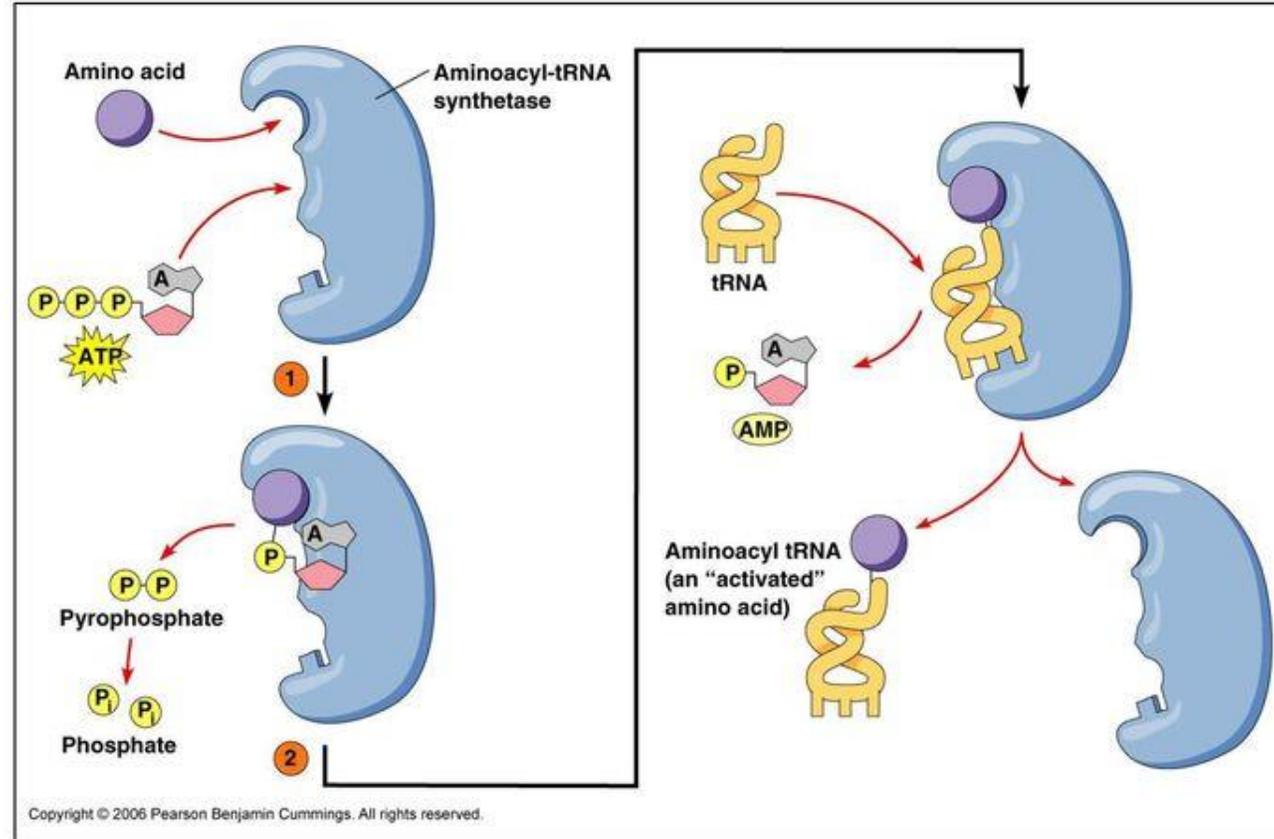
El código genético es **redundante** (varios codones para un mismo aminoácido)

Ejemplo: El aminoácido **glicina** está codificado por **GGU, GGC, GGA y GGG**

Aminoacil-tRNA

Sintetasa: Antes que un aa sea llevado por tRNA debe estar unido a éste covalentemente, las enzimas responsables de esta unión son las **aminoacil-tRNA sintetetas** (20 tipos).

Realiza la activación de los aa formando un enlace éster entre el carboxilo de un aa y el 3'OH de tRNA



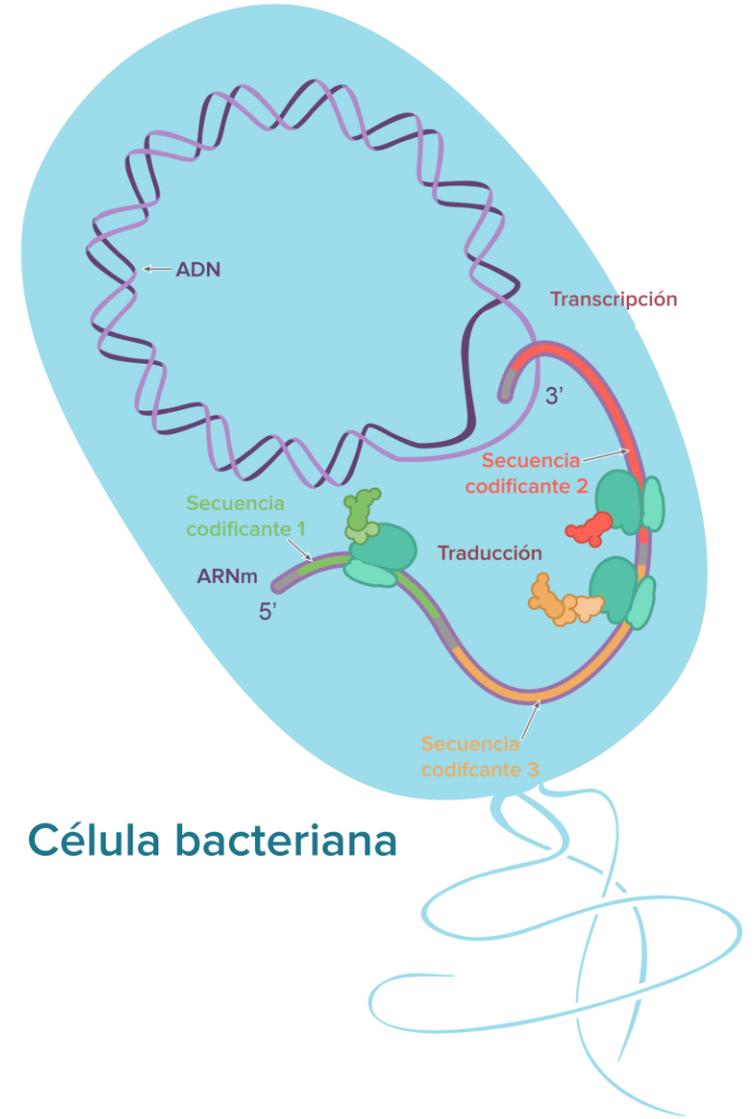
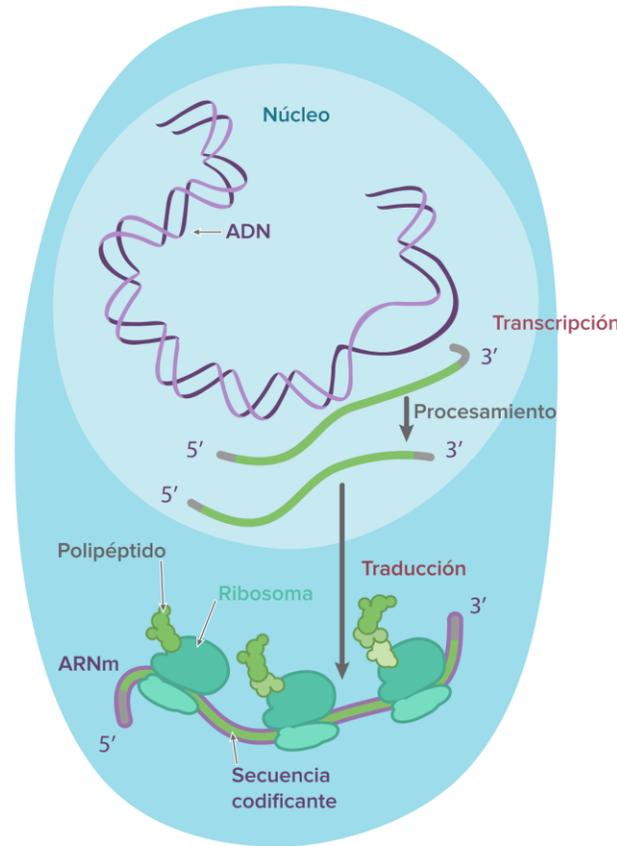
Aminoacil-tRNA transferasas,

reconocen los nucleótidos al menos en dos regiones distintas de las moléculas de tRNA.

Después de unir el aa otra aminoacil revisa el producto final y si no es correcto lo hidroliza

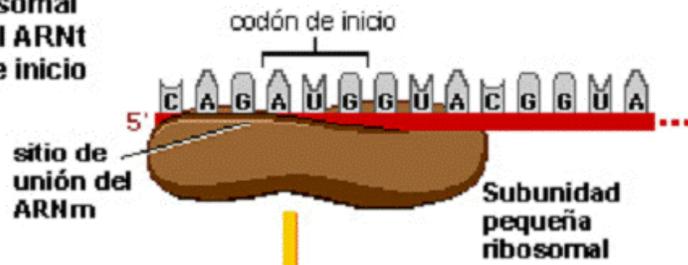
Etapas de la Traducción

Célula eucarionte

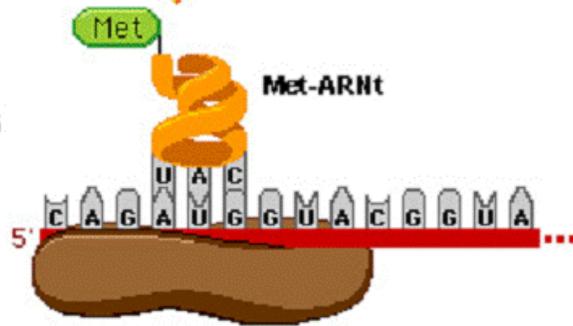


Célula bacteriana

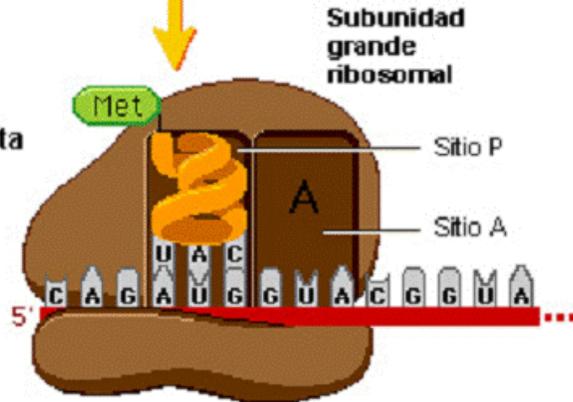
La unidad ribosomal pequeña liga al ARNm en la región de inicio del codón



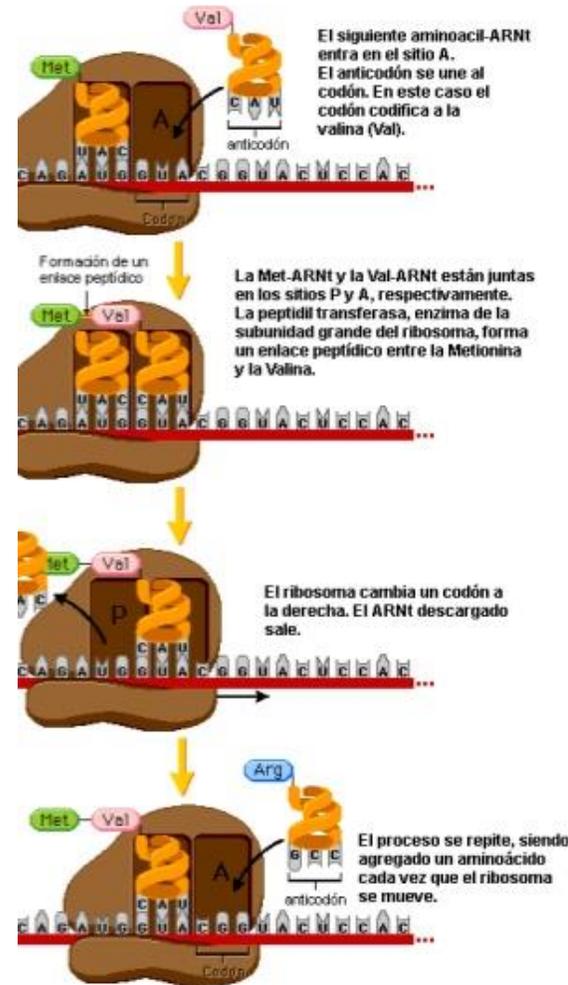
La Met-ARNt se une al codón de inicio AUG



La unidad ribosomal grande, une y completa el complejo de inicio

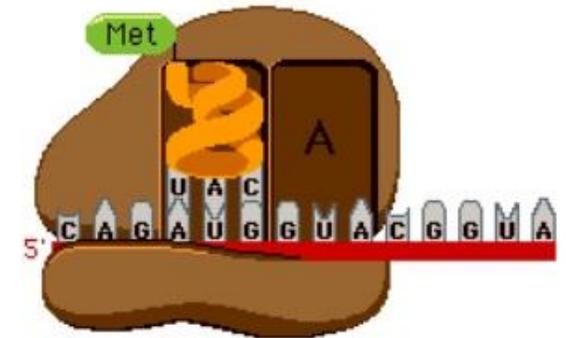


Complejo de inicio completado: en este punto la Met-ARNt es unido a AUG del ARNm en el sitio P del ribosoma. El siguiente codón se coloca en el sitio A



Elongación

eEF-1a
eEF-1b
eEF-2



Una vez aceptado el ARNt correspondiente al segundo codón del ARNm, el aminoácido de su extremo aceptor entra en la cavidad peptidil transferasa. Se produce un dipéptido (dos aminoácidos unidos mediante enlace peptídico) que queda unido al segundo ARNt.

Terminación

