

Tema 7: ÁCIDOS NUCLEICOS

- Experimento de Griffith
- Naturaleza del ADN
- Experimento con bacteriófagos
- El Modelo Watson y Crick
- ARN
- Descubrimiento del código genético
- Experimento de Griffith

Durante mucho tiempo supo de la existencia de los ácidos nucleicos pero se desconocía su función. La primera experiencia que aporto información sobre la posible función de los ácidos nucleicos fue el experimento de Griffith.

Griffith trabajaba con bacterias que producían neumonía –neumococos– de dos tipos:

- Neumococos tipo R, estas bacterias tenían envolviendo a la célula una capsula, eran muy virulentas, es decir, que si se inyectaban a un ratón, en pocos días este moría de neumonía.
- Neumococos tipo S, estas bacterias no tenían capsulas y eran poco virulentas de manera que al inyectársela al ratón sufría una leve neumonía pero vivía.

Griffith estaba intentando obtener una vacuna que protegiese frente a las infecciones por neumococos tipo R y se le ocurrió lo siguiente:

Tomó neumococos tipo R, los mato a todos calentándolos, los mezclo con neumococos S vivos y esta mezcla se inyectó al ratón. Sorprendentemente el ratón moría y de su sangre se podían hallar neumococos vivos. Conclusión: los neumococos S han tomado algo que había en los neumococos R muertos y se han transformado en R, es decir, han adquirido la capacidad de fabricar la cápsula.

Griffith ya no hizo nada más, pero años después un discípulo suyo llamado Ávery decidió investigar qué sustancia era la que transformaba a los neumococos S en R e hizo lo siguiente: tomó los neumococos R, los mató, los rompió y separó diferentes componentes como son membranas, ribosomas, ácidos nucleicos, pared celular, etc, cada uno de esos componentes los mezcló por separado con neumococos S vivos y se los inyectó a los ratones. Sólo en el caso de la mezcla con los ácidos nucleicos los ratones morían. Conclusión: los ácidos nucleicos contienen la información necesaria para que los neumococos S fabriquen la cápsula, luego los ácidos nucleicos son moléculas que almacenan la información.

- Naturaleza del ADN

El experimento anterior hizo que los investigadores centrasen su atención en los ácidos nucleicos. Primero se centraron en su estructura y poco a poco fueron descubriendo lo siguiente: Se vio que un nucleótido está a su vez formado por dos moléculas que son un azúcar o un polisacárido que puede ser un azúcar a la que se le une una molécula de ácido fosfórico y una base nitrogenada, estas bases pueden ser de dos tipos:

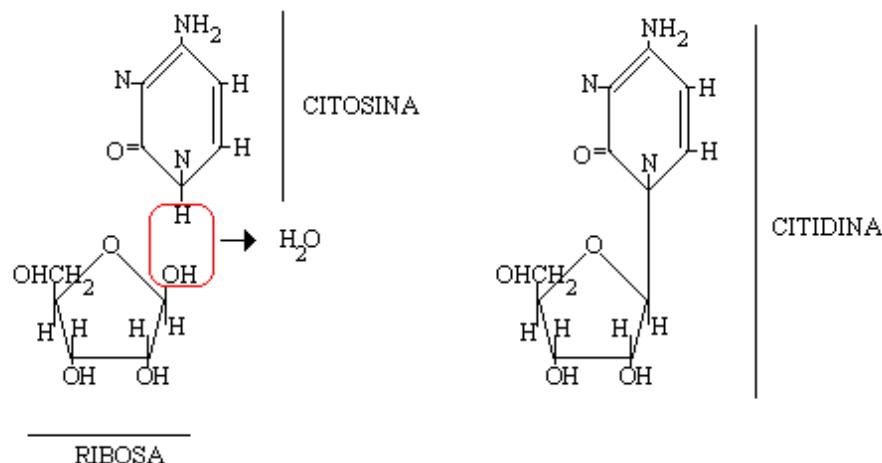
- Púricas (derivan de la purina) Son dos, adenina y purina
- Pirimidínicas (derivan de la pirimidina) Son tres, citosina, timina y uracilo

Todos estos compuestos contienen nitrógeno. Las bases púricas están formadas por dos anillos y la pirimidínica por un anillo.

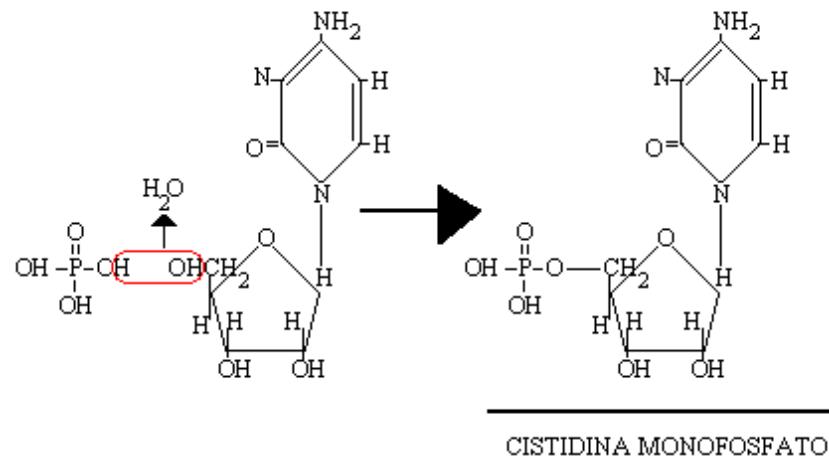
El azúcar y la base se unen mediante un enlace N-glucosídico que se establece entre el OH del carbono 1 del azúcar y el nitrógeno 1 de las bases pirimidínica o el nitrógeno que de las bases púricas desprende una molécula de agua.

La molécula que resulta se llama nucleósido

Nucleótido= azúcar + base nitrogenada + ácido fosfórico

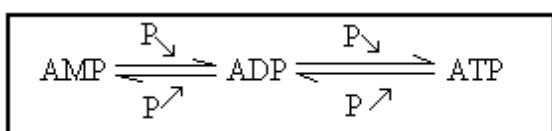


Para construir un nucleótido falta unir el ácido fosfórico, este se une mediante un enlace éster al carbono 5 del azúcar.



Para no confundir los carbonos del azúcar con los carbonos de la base, los bioquímicos han decidido que los carbonos del azúcar se enumeren como primas (1', 2', 3')

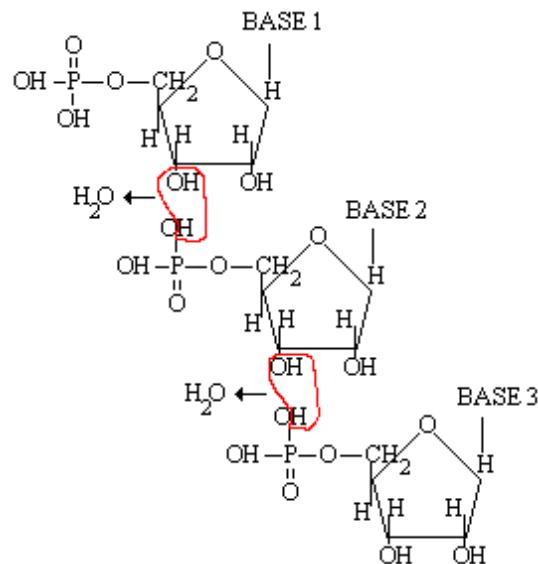
La función principal que tienen los nucleótidos es construir los ácidos nucleicos, pero además tienen otras funciones, por ejemplo: el nucleótido AMP puede ganar fosfatos y así participar en las reacciones en las que se transfiere energía. Si el AMP gana un fosfato se convierte en ADP y si gana otro se convierte en ATP:



Algunos nucleótidos son también parte de coenzimas muy importantes en el metabolismo como el FAD, el NAD o la coenzima A.

Otra función es actuar como segundo mensajero. Son moléculas que transmiten al interior de la célula mensajes que llegan desde fuera, es decir, mensajes. ¿ qué traen los primeros mensajeros? Las hormonas. Uno de los 2º mensajeros mas importantes es el AMP cíclico.

Para formar los ácidos nucleicos, los nucleótidos se unen entre si mediante enlaces fosfodiéster que se establecen entre el fosfato que está en posición 5' de un nucleótido y el OH que está en posición 3' del siguiente nucleótido.



Las cadenas de nucleótidos también tienen extremos distintos en uno de los extremos queda libre el fosfato que esta en posición 5' y por eso se llama extremo 5', ya que queda libre el OH de esa posición, para enumerar los nucleótidos los científicos han dicho que se enumeran a partir del 5'.

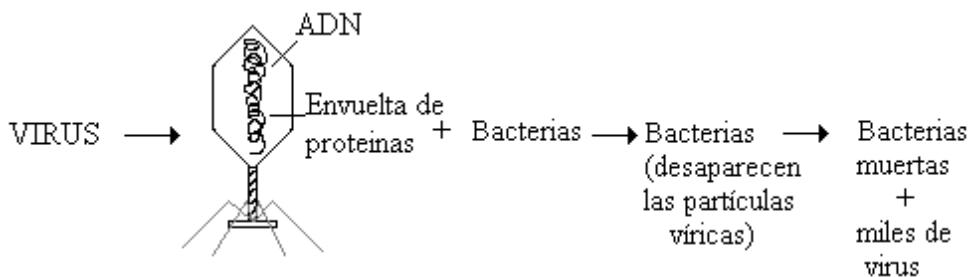
La única parte variable den los ácidos nucleicos es la secuencia de las bases nitrogenadas, es decir A, C, G y T en el ADN y A, C, G y U en el ARN.

Cuando se descubrió todos esto, los ácidos nucleicos parecían ser moléculas mas sencillas que las proteínas ya que podemos construir proteínas variando los 20 aminoácidos mientras que en el caso de los ácidos nucleicos solo podemos variar cuatro bases.

A esta observación se une el hecho de que los cromosomas que contienen el material genético de un ser vivo están constituidos en un 50% por ADN y otro 50% por proteínas. Por estos motivos, a pesar del experimento de Griffith muchos científicos seguían considerando que el material genético de un ser vivo eran las proteínas y no el ADN. Esta duda se resolvió con el siguiente experimento.

- El experimento de los bacteriófagos

Un bacteriófago es un virus que infecta y mata a las bacterias. Estos tienen una composición muy sencilla. Sólo constan de una molécula de ADN que esta encerrada en una envuelta de proteínas:



Explicación:

Si se ponían en contacto virus y bacterias después de un cierto tiempo, las partículas víricas parecía que desaparecían pero si se dejaba pasar más tiempo, aparecían las bacterias rotas y de su interior salían miles de virus. Para poder seguir a los virus Releif y Case construyeron dos tipos de virus:

- tipo: unos virus se construyeron utilizando fósforo 32 (un isótopo radioactivo). Este tipo de virus solo tenía radioactividad en el ADN, la envuelta no tenía porque no hay aminoácidos que contenga fósforo.
- tipo: se construyó utilizando azufre 35 (un isótopo radioactivo). Estos virus tenían radioactividad en la envuelta proteica porque tienen aminoácidos que contienen azufre pero no en el ADN porque ningún nucleótido contiene azufre.

Cada uno de estos virus se mezcló por separado con bacterias y se siguió la marcha de la radioactividad. Se encontró lo siguiente: la radioactividad procedente del P32 penetraba dentro de las bacterias mientras que la correspondiente al S35 se quedaba fuera, luego, lo que ocurría con los virus era lo siguiente:

El virus se pega por fuera a la bacteria a continuación le inyecta el ADN, este ADN contiene toda la información para fabricar nuevos virus de manera que poco a poco la bacteria se va llenando de virus hasta que explota liberando todos los virus. Con este experimento queda claro que el material genético de estos virus es el ADN y no las proteínas.

• Modelo de Watson y Crick

El experimento anterior dejó claro que el material genético de los seres vivos es el ADN, pero aún quedaba una cosa por aclarar, como una molécula tan sencilla en la que sólo varían 4 bases puede almacenar tanta información.

La respuesta a esta pregunta se encuentra en la estructura del ADN, dicha estructura fue descubierta por Watson Y Crick en 1950 y ella le valió el premio Nobel. No hicieron ningún experimento, solo fueron recopilando datos de otros investigadores y con ellos propusieron un modelo teórico que se comprobó que era cierto al 100%.

De todos los datos recopilados por Watson y Crick los más importantes fueron dos:

- El análisis de la molécula de ADN por difracción de rayos X. Este análisis indicaba que la molécula de ADN tenía forma de hélice
- Análisis de las secuencias de nucleótidos en ADN de distintas especies. Estos análisis se resumen en lo que se llama ley de Chargaff que dice que, en todas las moléculas de ADN se cumple que el porcentaje de adenina es igual al de timina y el de citosina igual al de guanina.

$$\begin{aligned} \% \text{ A} &= \% \text{ T} \\ \% \text{ C} &= \% \text{ G} \end{aligned}$$

Las cualidades que debía tener el ADN eran las siguientes:

- Tienes que ser capaz de almacenar mucha información
- Tiene que contener información para producir una copia de si mismo.
- En el proceso de copia debe producirse algún error, lo que asegura la producción de mutaciones, responsables de la evolución.
- Debe existir un mecanismo que descifre toda esta información y la convierte en algo útil para las células

El modelo que Watson y Crick propusieron fue el siguiente:

El ADN no es una hélice simple como la -hélice de las proteínas sino una doble hélice, se parece a una escalera de caracol en la que los pasamanos corresponden a las partes constantes de cada cadena de nucleótidos, es decir, las secuencias de azúcar y fosfato, los escalones son las bases de ambas cadenas que quedan enfrentadas, solo son posibles los siguientes enfrentamientos: A-T y C-G, es decir, siempre de enfrentan una base púrica (que tiene dos anillos) con una base pirimidínica (que tiene un anillo). El peldaño tiene por tanto una longitud de tres anillos. No son posibles los enfrentamientos púrica con púrica porque el peldaño sería demasiado grande, ni pirimidínica con pirimidínica ya que sólo tendría dos anillos, demasiado corto. Tampoco son posibles los enfrentamientos A-C ni G-t porque aunque tendría tres anillos, estas bases no forman entre sí puentes de hidrógeno.

Para que se formen los enlaces entre las bases, ambas cadenas tienen que colocarse de forma antiparalela.

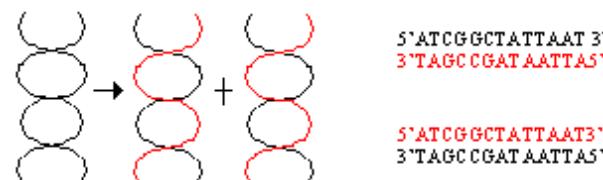
El diámetro de la hélice es de 20 Å, las bases están separadas 3,4 Å y desplazadas 36°, el enrollamiento es dextrógiro (hacia la derecha)

Esta molécula puede almacenar tanta información porque se trata de una molécula muy larga, mucho más que cualquier proteína, por ejemplo: si sacásemos ADN de una célula humana mediría 2 metros.

La información se encuentra en la secuencia de bases que hay en estas moléculas.

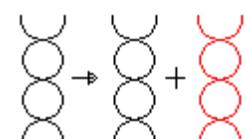
En su trabajo sobre el ADN, Watson y Crick, además de proponer una estructura también propusieron un modo de duplicación del ADN: Nosotros suponemos que antes de la duplicación los puentes de hidrógeno se rompen y las dos cadenas se desenrollan y se separan. Cada cadena actúa ahora como molde para formar una nueva cadena, al final tendremos dos moléculas, cada una de las cuales contiene una cadena antigua y una cadena nueva.

A este modelo de duplicación se le llama modelo semiconservativo.

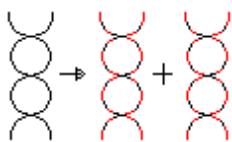


Otros posibles modelos de duplicación eran:

- Modelo conservativo ! las moléculas hijas están formadas por cadenas nuevas



- Modelo dispersivo ! las moléculas hijas contienen cadenas con fragmentos nuevos y antiguos



Posteriormente se demostró que el ADN se duplica según el modelo semiconservativo, la demostración la hicieron Meselson y Stahl en un experimento en el que analizaron ADN de diferentes densidades mediante ultra centrifugación en gradientes de Cesio

(CS)

- Tipos de ADN

En las células eucariota el ADN que encontramos consiste en moléculas de ADN bícatenario lineal, además este ADN está unido a proteínas histonas constituyendo lo que se llama fibra de cromatina, cuando esta fibra se condensa aparecen los cromosomas con su típica forma. Cada cromosoma tiene por tanto una molécula de ADN (1 cromosoma = 1 molécula de ADN).

En las bacterias, en las mitocondrias y en los cloroplastos, encontramos una molécula de ADN bícatenario circular, esto no significa que tenga forma de circulo sino que no tiene extremos libres. Cada célula contiene una sola molécula de ADN, es decir, un solo cromosoma y este ADN no está unido a proteínas.

En los virus encontramos todo tipo de ADN:

- ADN bícatenario lineal ! T pares (T2, T4, T8)
- ADN bícatenario circular ! SV40
- ADN monocatenario lineal ! MS2
- ADN monocatenario circular ! $\phi - x - 174$
- ARN ! SIDA

- ARN

Una vez demostrado que el ADN era el material genético de la célula, había que responder a la pregunta de en qué se traducía la información del ADN. Había evidencias que indicaban que la información del ADN servía para producir proteínas. Por ejemplo: el experimento de los bacteriófagos, o cuando el ADN se daña y se produce una mutación en alguna célula, aparece alguna proteína rara.

ADN es una secuencia de nucleótidos y las proteínas son secuencias de aa. Se pensó que debía haber un código que hiciera equivaler nucleótidos con aa, buscando ese código se descubrió que faltaba un paso intermedio y que en dicho paso participaba el ARN.

Pruebas a favor de ello son:

- En las células eucariotas el ADN está en el núcleo y nunca sale del núcleo, mientras que las proteínas se fabrican en el citoplasma. Los ARN sin embargo de salir y entrar del núcleo.
- Las células que fabrican muchas proteínas tienen muchos ARN y las que fabrican pocas tienen poco
- Hay virus que en lugar de ADN llevan ARN y a partir de ese ARN fabrican sus proteínas.

A partir de estos descubrimientos los bioquímicos se centraron en el estudio de los ARN y se fue descubriendo lo siguiente:

- son también polímeros pero los azúcares son ribosa
- las bases que llevan son A, G, C y U pero nunca T
- son monocatenarios y aunque a veces pueden formar doble hélice se trata de una sola cadena que está plegada
- se descubrió que existen varios tipos de ARN, son:
 - ARN mensajero: es una copia de fragmentos de una de las dos cadenas del ADN. Es capaz de salir del núcleo y pasar al citoplasma
 - ARN ribosomal: Formado por parte de los ribosomas y es capaz de leer la información que hay en el ARNm
 - ARN transferente: Transporta los aa que formarán la proteína.

ARN mensajero:

Son moléculas largas y lineales, su vida media es muy corta. Comienza siempre en el extremo 5' con una secuencia de nucleótidos que se llama secuencia *líder*. Esta secuencia sirve para que un ribosoma la reconozca y se pegue a ella, a continuación, viene una secuencia de nucleótidos que el ribosoma lee de 3 en 3, cada grupo de tres nucleótidos equivale a un aa en la proteína.

ARN ribosomal: Forma los ribosomas, 2/3 de un ribosoma es ARN ribosomal, el tercio restante son proteínas.

Existen varios tipos de ARN ribosomal que a su vez son diferentes en células procariotas y eucariotas

ARN transferente: son moléculas pequeñas y plegadas en forma de trébol, tienen tres brazos:

Brazo C– es el lugar por donde se une al ribosoma. Brazo anticodón– contiene 3 nucleótidos complementarios al ARNm. Brazo 3, según el anticodón que lleve, lleva unido un aa u otro.

• El descubrimiento del código genético

Lo llevó a cabo Severo Ochoa. Como se sabía, el ADN es una secuencia de nucleótidos que ha de traducirse en proteínas, que son secuencias aminoácidas, la equivalencia entre nucleótido y aa es lo que se llama Código Genético.

Sólo hay 4 nucleótidos diferentes mientras que hay 20 aa distintos, por tanto en este código un nucleótido no puede equivaler a un aa, 2 tampoco, ya que al combinar los 4 nucleótidos de 2 en 2 salen 16 combinaciones diferentes, de manera que la equivalencia en este código debe ser 3 nucleótidos = 1 aa teniendo así 64 combinaciones, de las que varias significan el mismo aa.

Lo que hizo Severo fue inventar un método para ver las equivalencias entre tripletes de nucleótidos y los aa. Su método consistió en fabricar artificialmente un ARN mensajero en el que sólo había uracilo, este lo puso en un tubo de ensayo junto con ribosomas y todo lo necesario para fabricar proteínas. La proteína que se fabricó solo tenía un aa diferente, la fenilalanina (phe). Luego concluyó, en el código genético $uuu=phe$. Con este mismo método otros investigadores acabaron por descubrir el significado de los 64 tripletes.

El código genético presenta las siguientes características:

- ◆ Es casi universal ! casi la totalidad de los seres vivos fabrican sus proteínas con el mismo código. Existen algunas excepciones, ya que un reducidísimo número de bacterias,

mitocondrias y cloroplastos tienen un código ligeramente distinto.
Que sea universal tiene 2 consecuencias importantes:

- Todos los seres vivos tenemos el mismo origen
 - Se pueden producir organismos transgénicos que produzcan organismos de interés humano
- De los 64 codones ! 61 son algún aa y 3 no significan nada, son señales de stop o fin de la proteína.
 - El código está degenerado ! varios codones significan el mismo aa
 - El código genético tiene balanceo en la 3^a base lo que quiere decir que cuando varios codones significan lo mismo varía la 3^a base