

TEMA 16. LA BASE MOLECULAR DE LA HERENCIA.

1.-El ADN como molécula portadora de la herencia.

1.1. Experiencias para su descubrimiento.

1.2. El material genético en procariotas y eucariotas.

2.- La replicación del ADN.

2.1. El mecanismo de la replicación.

2.2. Diferencias en la replicación de eucariotas y procariotas.

1.- EL ADN COMO MOLÉCULA PORTADORA DE LA HERENCIA

Hoy sabemos que la molécula portadora de la herencia es el ADN, pero esto se demostró a mitad del siglo XX.

Anteriormente no se conocía cuál era esa molécula pero si se sabía que debería cumplir una serie de requisitos:

- Ser químicamente estable, para que no sufriera alteraciones.
- Ser capaz de originar copias de sí misma (pervivencia de la información) y pasarla a las células hijas.
- Ser capaz de pasar la información de una generación a otra.
- Posibilidad de pequeños cambios que permitieran la variabilidad y así la evolución de los seres vivos.

El ADN fue descubierto por Miescher en 1869 pero se pensaba que eran las proteínas y no el ADN quien cumplía esos requisitos. El posterior descubrimiento de los cromosomas permitió comprobar que ambas moléculas los cumplían.

Los experimentos que demostraron que el ADN era la molécula portadora de la herencia fueron los siguientes:

- A) En 1928 GRIFFITH realizó un experimento con bacterias *Streptococcus pneumoniae* y ratones:
- Cultivó dos cepas bacterianas, la cepa R y la S.
 - La cepa S (Lisa) tenía cápsula y provocaba la muerte del ratón tras su infección.
 - La cepa R (Rugosa) carecía de cápsula y era inofensiva.
 - La cepa R se originaba como mutación de la cepa S.
 - Si la cepa S se calentaba hasta destruirla era inofensiva.
 - Si se inyectaba conjuntamente la cepa S muerta por calor y la R viva los ratones morían y en su sangre se encontraban bacterias S vivas.

- Griffith dedujo que la información genética (“factor transformante”) se había transferido de una cepa a otra y concluyó que:
 - La información genética está contenida dentro de la célula.
 - El material genético es un portador activo de la información genética

Experimento de Griffith (1928): transformación bacteriana

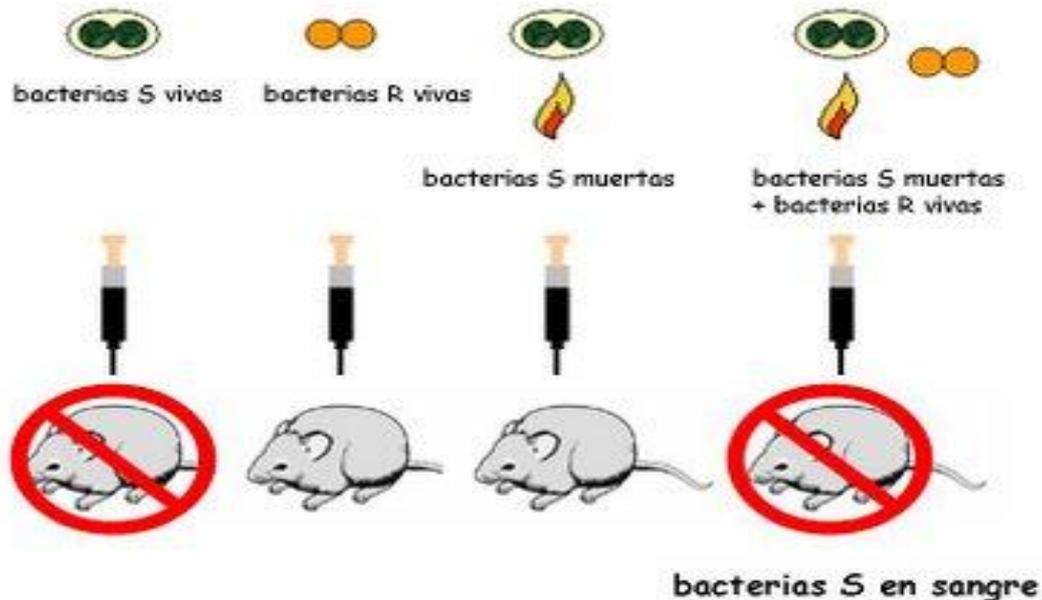


Fig. 16.1

- B) AVERY, McLEOD y McCARTY en 1944 dedujeron que ese factor dedujeron que ese “factor transformante” de Griffith era el ADN.
- C) En 1952, HERSHEY y CHASE demostraron que era el ADN y no una proteína el material genético. Realizaron experimentos con el bacteriófago T2.
- Marcaron los T2 con isótopos radioactivos, unos con ^{32}P y otros con ^{35}S .
 - Inocularon los virus a bacterias *E. coli*.
 - Los virus descendientes de los marcados con P radioactivo estaban también marcados, en cambio los marcados con S radioactivo no presentaban radioactividad.

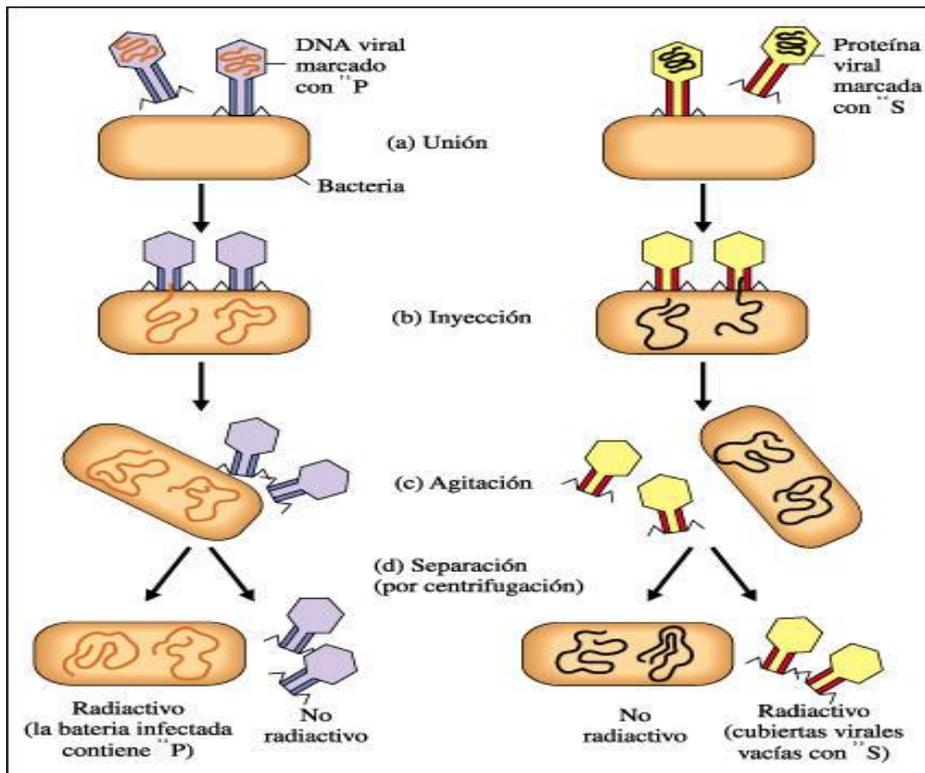


Fig. 16.2.

1.1. El material genético en procariontas y eucariontas.

La secuencia de ADN que codifica proteínas es diferente en eucariontas y procariontas:

- En procariontas prácticamente todo el ADN se utiliza para codificar proteínas.
- En eucariontas:
 - o Sólo un 10 % del ADN codifica proteínas.
 - o El ADN es altamente repetitivo.
 - o Las secuencias que codifican proteínas no suelen ser continuas sino que existen secuencias no codificadoras intercaladas. Los fragmentos codificadores se denominan **exones**, mientras que los no codificadores son los **intrones**. Por ejemplo el gen del citocromo c tiene 4 intrones. Parece ser que los intrones son una ventaja evolutiva ya que favorecen la recombinación meiótica (cuanto más evolucionada es una especie más intrones presenta). Aumentan la variabilidad genética.

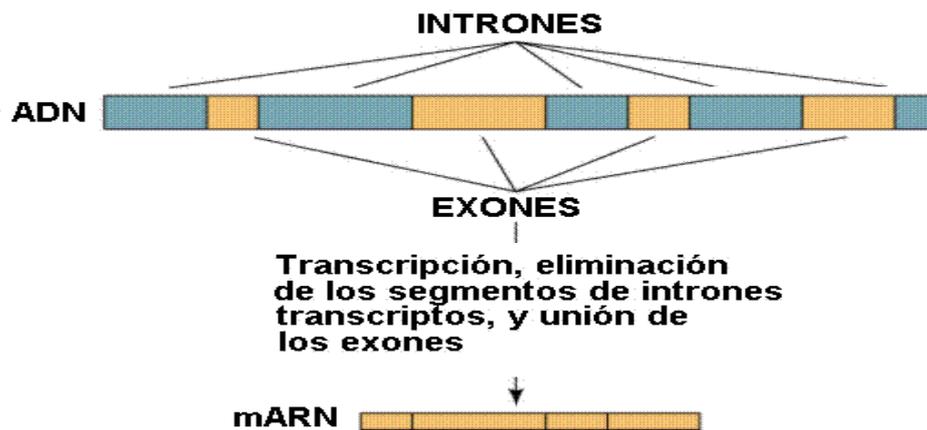


Fig. 16.3

2. REPLICACIÓN DEL ADN.

El ADN debe transmitirse fielmente a las células hijas. Por tanto debe formar copias exactas de sí mismo. Este proceso se conoce como Replicación o Duplicación del ADN.

Se propusieron varias hipótesis de los posibles procedimientos de la duplicación:

- CONSERVATIVA:** La cadena original se mantiene y se sintetiza otra nueva.
- SEMICONSERVATIVA:** Propuesta por Watson y Crick. La doble hélice se separa y se fabrica una nueva hebra para cada una. De esta manera, cada célula hija conserva una hebra original de la célula madre y una hebra nueva recién sintetizada.
- DISPERSIVA:** Las células hijas reciben fragmentos nuevos y antiguos al azar.

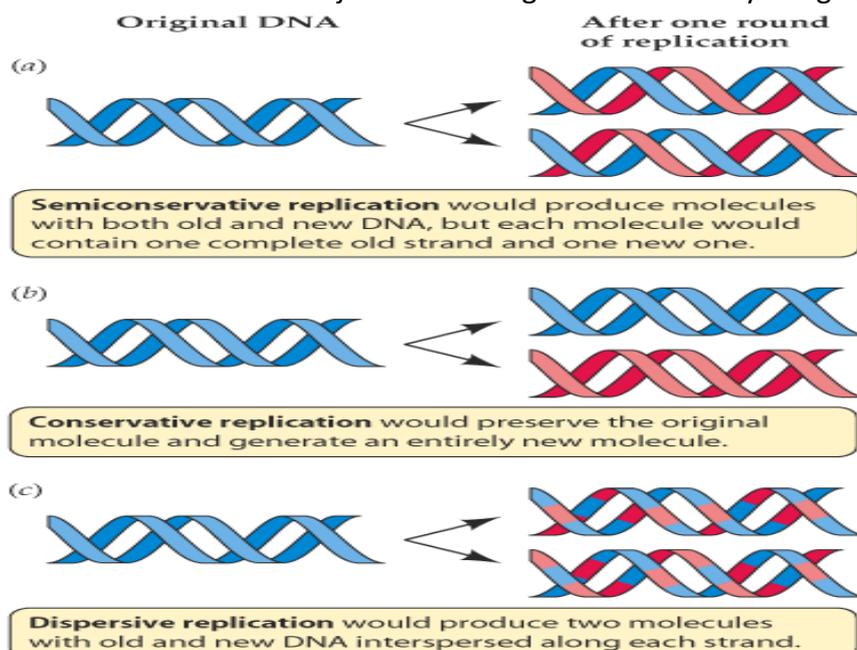
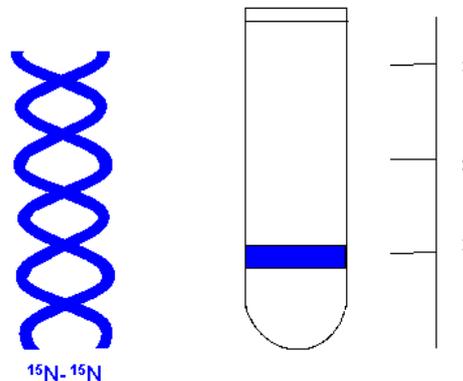


Fig. 16.4

Los experimentos de MESELSON y STAHL en 1957 demostraron que la hipótesis correcta era la SEMICONSERVATIVA.

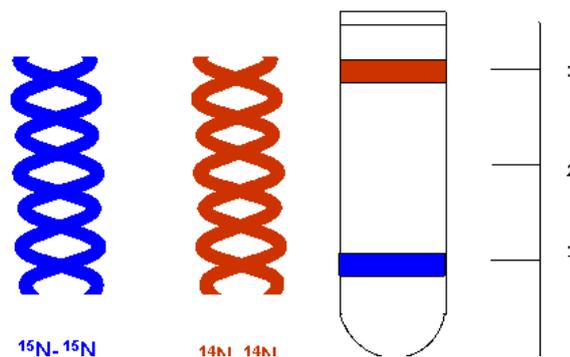
EXPERIENCIAS DE MESELSON Y STAHL

1) Meselson y Stahl cultivaron bacterias **E. coli** en un medio con ^{15}N (nitrógeno pesado) durante cierto tiempo para que todo el ADN estuviese formado por dos hebras de ^{15}N (^{15}N - ^{15}N) más pesadas. Si se centrifuga, este ADN más pesado migra hacia el fondo del tubo y se obtiene el resultado que se observa en la figura.



EXPERIENCIAS DE MESELSON Y STAHL

2) A continuación se cultivan las bacterias en nitrógeno 14 (^{14}N) más ligero durante 30 minutos, lo que dura un ciclo de replicación. Si la hipótesis de la síntesis **conservativa** fuese la correcta se debería obtener lo que se observa en la figura, una banda de ADN pesado ^{15}N - ^{15}N y otra con ADN ligero (^{14}N - ^{14}N) pero...



EXPERIENCIAS DE MESELSON Y STAHL

3) ... lo que se obtiene en realidad es lo que se observa en la figura: una sola banda en posición intermedia pues está formada por ADN mixto (^{15}N - ^{14}N). Esto es, todas las células hijas tienen un ADN con una hebra con ^{15}N y otra con ^{14}N .

La hipótesis **semi-conservativa** era la correcta.

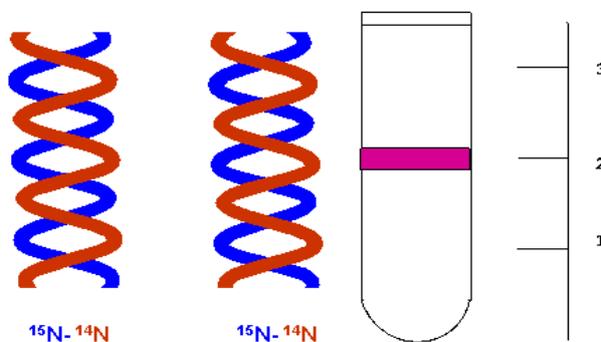


Fig. 16.5

2.1. Mecanismo de la replicación

Ocurre durante la fase S del ciclo celular (Fase de Síntesis del ADN).

Podemos dividirlo en varias fases:

a) INICIO DE LA REPLICACIÓN

En ciertas zonas de la doble hélice interviene una enzima, la **Helicasa**, que rompe los puentes de Hidrógeno de las bases y separa las dos hebras. El ADN se desenrolla por dos **Topoisomerasas** que eliminan las tensiones y una vez separadas las dos hebras se mantienen separadas por otras enzimas, las proteínas **SSB**.

b) FORMACIÓN DE LAS NUEVAS HEBRAS

Se lleva a cabo una síntesis de las hebras complementarias sobre cada una de las hebras originales del ADN, colocando las bases complementarias a las mismas.

Lo realiza una enzima, la **ADN-Polimerasa III** que necesita los siguientes requisitos:

- Necesita una hebra molde en sentido $3' \rightarrow 5'$ sobre la que sintetizar la complementaria.
- Une nucleótidos en sentido $5' \rightarrow 3'$, la nueva hebra va creciendo en este sentido.
- Utiliza nucleótidos trifosfato, que al mismo tiempo proporcionan la energía necesaria para la unión de la cadena nucleotídica, al romper el enlace que quedarse monofosfato.
- No puede comenzar la síntesis por sí misma, sólo puede añadir nucleótidos a un extremo $3'$ libre, no sabe empezar una cadena desde el principio. De este modo, necesita una cadena corta de ARN (40 o 50 nucleótidos) sobre la que seguir la síntesis. Esta cadena se denomina **CEBADOR** o **PRIMER**, que es sintetizado por una **Primasa** (ARN-polimerasa), que sintetiza ARN a partir de ADN como molde.

La doble hélice se va separando (igual que una cremallera) y se va formando la denominada "**burbuja de replicación**"

El proceso es bidireccional, avanza en las dos direcciones. Cada zona de avance se denomina "**Horquilla de replicación**" (por donde la ADN-pol III va avanzando).

La ADN-Pol III lee en sentido 5':3', por lo que la síntesis de una hebra es continua. Pero la otra hebra va en sentido 5':3' por lo que no es posible la síntesis en sentido 3':5'. En este caso la síntesis es discontinua en fragmentos separados, denominados "**Fragmentos de Okazaki**" que requieren un cebador cada uno. Posteriormente se deben eliminar los cebadores, mediante la enzima **ADN-Pol I** y rellena los huecos. Por último, se unen los fragmentos gracias a **Ligasas**.

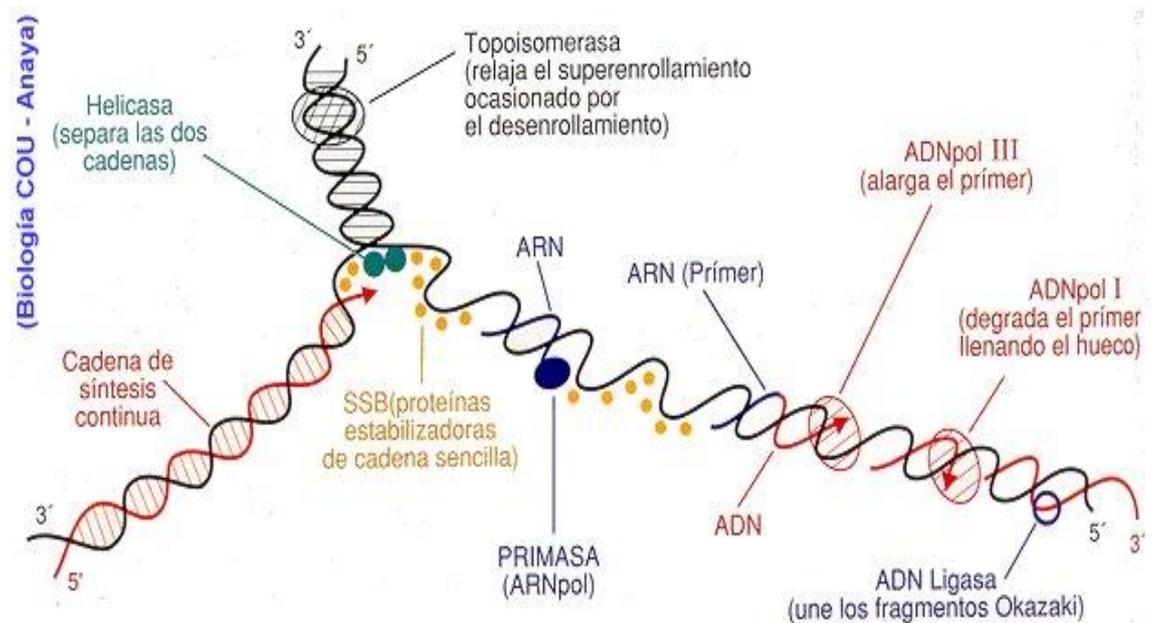


Fig. 16.6

C. FINALIZACIÓN

Cada hebra se vuelve a enrollar formando ahora dos nuevas cadenas.

Es un proceso muy rápido, alrededor de 45000 nucleótidos/minuto (en E.coli)

2.2. Diferencias de replicación en eucariotas y procarionas

Entre las células eucariotas y procarionas se dan las siguientes diferencias en cuanto al mecanismo de replicación:

- En eucariotas, deben sintetizarse también las histonas.
- En eucariotas los fragmentos de Okazaki son menores.
- En procarionas intervienen 3 ADN-Polimerasas mientras que en eucariotas 5.
- En procarionas la replicación tiene un único origen y en eucariotas hay múltiples puntos.
- La velocidad de replicación es menor en eucariotas.

2.3. Corrección de errores.

En este proceso de replicación es necesario detectar y corregir los errores que pudieran producirse en las copias. De manera que el ADN es la única molécula capaz de repararse a sí misma.

Si la ADN-Pol III coloca un nucleótido no complementario es eliminado por nucleasas. De este modo el número de errores es muy bajo (1 de cada 10^8 bases incorporadas), aún así existe un proceso de corrección postreplicativo en el que actúan varias enzimas:

- Endonucleasas, que detectan errores y cortan la cadena en esa zona.
- Exonucleasas, que eliminan el fragmento incorrecto.
- ADN Polimerasas que sintetizan la parte correspondiente al segmento eliminado (Pol I).
- ADN ligasas que unen el nuevo segmento al resto de la cadena.

A pesar de la corrección la fidelidad en la replicación no es absoluta, esto es importante para la variabilidad genética imprescindible en la evolución.

VÍDEOS REPLICACIÓN

- <http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/molgenetics/dna-rna2.swf>
- <http://www.youtube.com/watch?v=-EGKrYdQEHQ>
- <http://www.youtube.com/watch?v=T-g-G0-kehU>
- <http://www.youtube.com/watch?v=PM3D1U0MVPM&feature=related>