

## **Tema 25. Los ácidos nucleicos. Replicación y Transcripción**

2º Bachillerato: La célula y la base fisicoquímica de la vida y Bloque 3: La base de la herencia
--

### **SUMARIO**

#### **25.1. Introducción**

#### **25.2. Composición química**

##### **25.2.1. Los nucleótidos**

#### **25.3. El ADN: Estructura**

##### **25.3.1. Tipos de ADN**

##### **25.3.2. Desnaturalización del ADN (OPCIONAL)**

#### **25.4. El ARN**

##### **25.4.1. Función del ARN**

##### **25.4.2. El ARN mensajero (ARNm)**

##### **25.4.3. El ARN soluble o transferente (ARNt)**

##### **25.4.4. ARN ribosómico (ARNr)**

##### **25.4.5. ARN nucleolar (ARNn)**

#### **25.5. Replicación del ADN**

##### **25.5.1. Replicación del ADN en procariotas.**

##### **25.5.2. Replicación del ADN en Eucariontes**

#### **25.6. Transcripción del ADN**

##### **25.6.1. Transcripción del ADN en Procariontes**

##### **25.6.2. Transcripción del ADN en Eucariontes**

## **25.1. Introducción**

Los ácidos nucleicos son las moléculas biológicas más estudiadas en los últimos años, por ser los responsables de las funciones biológicas de los seres vivos.

Son las moléculas rectoras de todos los procesos vitales, pues contienen mensajes y las instrucciones para llevarlos. Son, en definitiva, moléculas portadoras de la información genética necesaria para que los seres vivos se desarrollen adecuadamente. Lo que un individuo es, o podría llegar a ser, está determinado por sus ácidos nucleicos; éstos son, por tanto, moléculas transmisibles a la descendencia. Incluso los virus, seres que están en la frontera entre lo vivo y lo inerte y que carecen de la mayor parte de las moléculas biológicas, tienen ácidos nucleicos responsables de sus características.

## **25.2. Composición química**

Químicamente son macromoléculas lineales formadas por la polimerización de unos monómeros llamados nucleótidos.

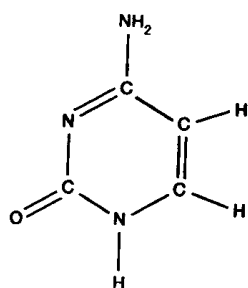
### **25.2.1. Los nucleótidos**

Son moléculas formadas por la unión de tres componentes: una pentosa, una base nitrogenada y el ácido ortofosfórico ( $\text{PO}_4\text{H}_3$ ).

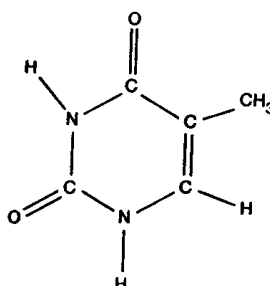
La **pentosa** puede ser  $\beta$ -D-ribofuranosa o  $\beta$ -D-desoxirribofuranosa.

Las **bases nitrogenadas** son compuestos con carácter básico que llevan átomos de nitrógeno en su molécula. Las que se pueden encontrar en los ácidos nucleicos son:

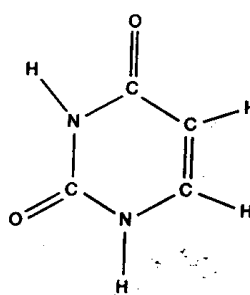
#### **BASES PIRIMIDÍNICAS**



**Citosina**

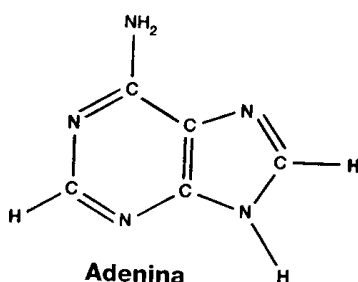


**Timina**

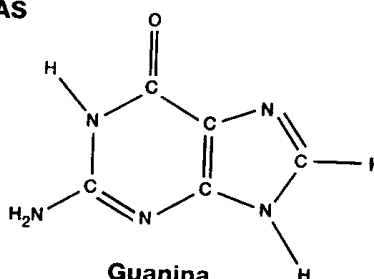


**Uracilo**

#### **BASES PÚRICAS**



**Adenina**



**Guanina**

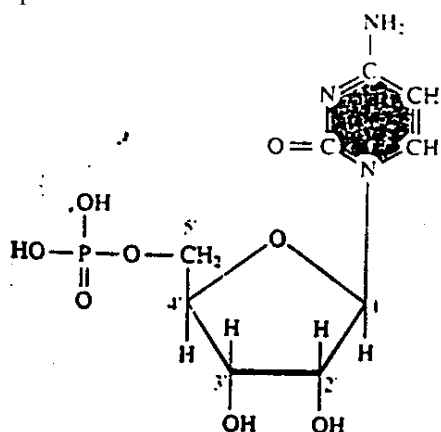
**PÚRICAS**, derivadas de la purina. Son la Adenina (A) y la Guanina (G).

**PIRIMIDÍNICAS**, derivadas de la pirimidina. Son la Citosina (C), Timina (T) y Uracilo (U).

Los compuestos formados por la unión de la pentosa y la base nitrogenada se denominan **nucleósidos**. Esta unión se produce por un enlace N-glucosídico entre el carbono 1 de la pentosa y el nitrógeno 1 de las pirimidínicas, o el nitrógeno 9 de las púricas. Para diferenciar la numeración en la base y en la pentosa se emplea en ésta los números con el signo (').

Los nucleósidos se nombran con un prefijo indicativo de la base nitrogenada, al que se añade el sufijo -osina (si la base es púrica), o el sufijo -idina (si es pirimidínica). Se denominan ribonucleósidos o desoxirribonucleósidos según sea la pentosa.

Cuando al nucleósido se une el ácido ortofosfórico, se obtiene el **nucleótido**. Esta unión es de tipo éster y se produce entre el -OH del carbono 5' o 3' de la pentosa y un -OH del ácido ortofosfórico.



Los nucleótidos se nombran como los nucleósidos, pero indicando a continuación, pero indicando a continuación la posición del fosfato esterificado. Ej. citidina 5' fosfato es la formulada más arriba. También pueden unirse más grupos fosfatos a continuación del primero, lo cual se indica con el prefijo correspondiente. Ej. Guanosín 5' trifosfato (GTP); el ATP, etc.

Algunos nucleótidos no forman ácidos nucleicos, tienen una función propia con gran importancia biológica. Ejemplos:

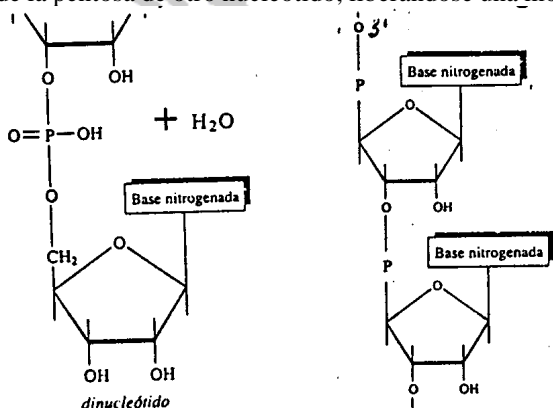
- Los nucleótidos con más de un grupo fosfato poseen una energía muy alta debida a los enlaces entre los grupos fosfato. Esto significa que para formarse requieren un gran aporte energético, y que su hidrólisis libera gran cantidad de energía, utilizada en muchos procesos celulares. Se trata de **moléculas acumuladoras de energía**.



- El **AMP cíclico (AMPC)**, en este nucleótido el fosfato se une a los carbonos 5' y 3' de la ribosa. Se le llama segundo mensajero por actuar de intermediario entre hormonas o neurotransmisores y la respuesta celular.
- **Coenzimas**, como el FAD (flavín adenín dinucleótido), NAD<sup>+</sup> (nicotín adenín dinucleótido) y NADP<sup>+</sup> (nicotín adenín dinucleótido fosfato); que actúan en enzimas deshidrogenasas durante la respiración celular.

### 25.2.2. Polinucleótidos

La unión de nucleótidos se realiza entre un grupo -OH del fosfato del nucleótido y el -OH de la posición 3' de la pentosa de otro nucleótido, liberándose una molécula de agua.



El compuesto formado (dinucleótido) tiene posibilidad de unirse a más nucleótidos, de la misma forma, y así se obtienen trinucleótidos, tetranucleótidos y, por último, polinucleótidos, si el nº es muy elevado.

Estos polinucleótidos o ácidos nucleicos son largas cadenas lineales en las que hay un eje formado por pentosa-fosfato-pentosa-fosfato-... y de él quedan colgantes las bases nitrogenadas. El extremo 5' de la cadena es el que posee un grupo fosfato libre unido al carbono 5' de un nucleótido. El 3' es el que tiene libre el -OH en posición 3', de otro nucleótido.

Dado que la pentosa de los nucleótidos puede ser ribosa o desoxirribosa, tenemos dos tipos de ácidos nucleicos:

- **ADN (ácido desoxirribonucleico)**, en el que todas las pentosas son desoxirribosas, y
- **ARN (ácido ribonucleico)**, en el que todas las pentosas son ribosas.

Con excepción de los virus, ambos tipos de ácidos nucleicos se encuentran, simultáneamente, en todos los seres vivos.

### **25.3. El ADN**

#### **I) ESTRUCTURA PRIMARIA**

Es la secuencia de nucleótidos encadenados. Todos llevan desoxirribosa y las bases nitrogenadas pueden ser A, G, C y T, pero no se encuentra Uracilo (U).

En estas cadenas tan largas es donde radica la información genética y, dado que todos los ADN tienen el mismo esqueleto (fosfato-desoxirribosa), las diferencias entre ellos se deben a la distinta secuencia de sus bases nitrogenadas. Así, el ADN presente en diferentes especies e incluso en distintos individuos de la misma especie se caracteriza por una secuencia determinada de sus bases nitrogenadas; esto es la causa de la síntesis de diferentes proteínas en cada uno de ellos.

#### **II) ESTRUCTURA SECUNDARIA**

A principios de la década de los cincuenta, Wilkins y Franklin utilizaron métodos de difracción de rayos X para intentar averiguar la estructura del ADN. En estos experimentos se bombardea una sustancia determinada con rayos X y, según sea la distribución de sus átomos, aparecen diferentes figuras, características de grupos atómicos determinados (**lauegramas**). Se llegó a la conclusión de que la molécula de ADN debía ser muy larga y delgada, y con **estructura helicoidal**.

Por otra parte, Chargaff había averiguado que la cantidad de bases púricas, en todos los seres vivos, era igual a la de bases pirimidínicas y, concretamente, que existe el mismo porcentaje de A que de T y el mismo de G que de C. Esta relación  $A = T$ ;  $C = G$ , se le llama "**principio de equivalencia de bases**".

Partiendo de estos datos, **Watson y Crick** (1953) elaboraron un modelo espacial del ADN, conocido como modelo de **la doble hélice**.

Este modelo indica que la molécula de ADN está constituida por dos cadenas (**bicatenaria**) de polinucleótidos **antiparalelas** (dispuestas en sentidos opuestos). Una de las cadenas se dispone en el sentido  $5' \rightarrow 3'$ , y la otra, en sentido  $3' \rightarrow 5'$ .

Las bases nitrogenadas de ambas cadenas están enfrentadas, por lo cual establecen enlaces por puentes de H entre ellas. Estos enlaces mantienen unidas ambas cadenas, y para que exista un paralelismo en toda su longitud, es necesario que enfrente de una base púrica (de mayor tamaño) se sitúe una pirimidínica (de menor tamaño). Si hubiese dos bases púricas enfrentadas, aparecería un abultamiento en la doble cadena, y si fuesen dos pirimidínicas un adelgazamiento.

Por otra parte, la A forma dos puentes de H con la T, y la G tres con la C. Así queda explicado el "principio de equivalencia de bases". Existe una correspondencia entre las bases de ambas cadenas. Una es **complementaria** de la otra.

Ambas cadenas se enrollan a lo largo de un eje imaginario común. Este enrollamiento es **dextrógiro y plectonémico**, es decir, que no pueden ser separadas sin desenrollarlas girando una respecto a la otra (como los hilos de una cuerda). Las bases nitrogenadas se sitúan en el interior de la doble hélice mientras que la pentosa y el ácido fosfórico forman el esqueleto externo; los planos de las bases quedan

perpendiculares al eje de la hélice. Cuando el eje se recorre en sentido descendente el giro es a favor de la agujas del reloj.

Según el modelo descrito, el grosor de la doble hélice es de 2 nm o 20 Å. Cada 0'34 nm = 3,4 Å se encuentra un par de bases complementarias y cada 3'4 nm o 34 Å la doble hélice da un giro completo, por lo cual en cada uno de ellos existen diez pares de nucleótidos.

El modelo propuesto cumple los principios de unidad y diversidad requeridos al material hereditario: unidad en cuanto que el ADN de todos los seres vivos está constituido por cadenas de tan sólo cuatro tipos de nucleótidos; a pesar de ello, el nº de secuencias posibles y, por tanto, la diversidad de la información almacenada es prácticamente infinita.

El modelo visto es aceptado actualmente para el ADN en disolución. No obstante, estudios recientes han demostrado la coexistencia de otros niveles estructurales distintos en las hebras de ADN que podrían actuar como zonas de reconocimiento específico en los procesos de transcripción del código genético (ADN en la forma Z). En la forma B, descrita, los pares de bases tienen una disposición horizontal y el eje de la hélice las atraviesa por el centro. La forma A, que aparece cuando se produce una hidratación (el contenido en agua aumenta hasta cerca del 75 %), se caracteriza por poseer los pares de bases inclinados y desplazados hacia el exterior, ya que el eje de la hélice no pasa por el centro de la misma. La forma Z es levógira, a diferencia de las anteriores, y presenta un aspecto en zigzag.

### III) ESTRUCTURA TERCIARIA. ESTRUCTURA DE LA CROMATINA

Dada la enorme longitud del ADN, debe existir un plegamiento importante que, al lograr un mayor empaquetamiento, permita su adaptación al volumen del núcleo celular, o incluso en la cápsida de un virus. Es la sustancia fundamental del núcleo, formado por ADN asociado a histonas, fija muy bien los colorantes básicos. Al ME aparece como una estructura granular, aparentemente amorfa.

Las histonas ( $H_1$ ,  $H_{2A}$ ,  $H_{2B}$ ,  $H_3$  y  $H_4$ ) son de bajo peso molecular y muy parecidas, aún entre especies diferentes, excepto la  $H_1$  que presenta formas especiales para distintas células.

El **nucleosoma** es la subunidad estructural fundamental de la cromatina. Consta de un núcleo en forma de disco de 10 Å (1 nm), constituido por un octámero de histonas (dos copias de cada una de las  $H_{2A}$ ,  $H_{2B}$ ,  $H_3$  y  $H_4$ ), en torno al cual se enrollan helicoidalmente dos hebras de ADN bicatenario, formado por 146 pares de bases que rodean al octámero (mediado por la  $H_1$ ), y entre 50 y 75 pares de bases forman el ADN ligador (linker) entre dos nucleosomas.

Los nucleosomas son el primer nivel de empaquetamiento del ADN; reducen su longitud e indudablemente permiten el enrollamiento y compactación más eficazmente, tal y como se requiere durante la mitosis y la meiosis.

Aunque la mayor parte del ADN eucariótico responde a esta forma de organización, hay regiones de unos 200 pb (lugares hipersensibles a las nucleasas), que parecen estar libres de nucleosomas y son, por tanto, muy sensibles a la acción de las nucleasas. Su función tiene que ver con la replicación y transcripción. Numerosas regiones promotoras (ver replicación y transcripción) son sensibles a las nucleasas. Sin embargo, se sabe por investigaciones actuales que la replicación discurre a través del ADN nucleosómico sin que se desplacen las histonas.

Los diferentes nucleosomas se unen por segmentos de ADN bicatenario, y dan a la cromatina aspecto de **collar de perlas** (las "perlas" son los nucleosomas, y el hilo de engarce, el ADN). Todo ello da lugar a las fibras de cromatina de unos 10 nm de grosor, que constituyen la **fibra de cromatina unidad**.

Las **fibras de 30 nm o 300 Å** representan un mayor nivel de empaquetamiento, caracterizado por un enrollamiento del collar de perlas sobre sí mismo, en una ordenación helicoidal, adoptando la forma de un **solenoides**. Cada vuelta de esta estructura consta de seis nucleosomas unidos entre sí mediante la  $H_1$ , unido a su vez al ADN espaciador.

La compactación de la fibra de 300 Å para producir la fibra de 2000 Å que se observa en los cromosomas metafásicos se puede explicar mediante la formación de una segunda estructura de tipo solenoide resultado del enrollamiento de la fibra de 300 Å.

Si se eliminan las histonas de un cromosoma, el ADN se descompacta, dejando una estructura proteica denominada armazón o esqueleto. Está formada por unos 12-20 tipos de proteínas no histónicas. Estas

proteínas parecen más implicadas en la estructura del cromosoma que en el control de la expresión génica, aunque esto último aún no puede descartarse.

## Estructura del cromosoma

A la luz del microscopio óptico, cada cromátida está formada por un filamento arrollado en espiral (**cromonema**), el cual puede sufrir enrollamientos localizados (**cromómeros**); el tamaño, nº y posición de éstos a lo largo del cromonema es constante para una especie dada.

En el estudio de los cromosomas politénicos de *Drosophila* (cromosomas formados por endomitosis y que constan de más de un millar de copias de cromatina), aparecen unas bandas oscuras o cromómeros (se corresponden con la fibra de 300 Å), alternándose con unas interbandas más claras (“puffs” cromosómicos o anillos de Balbiani) de enrollamiento más laxo. Se ha demostrado que sólo hay transcripción activa en los “puffs”, en los que, al parecer, cada uno de ellos se corresponde con un gen. Los brazos de los cromosomas plumosos (de oocitos de anfibios) están cubiertos por una matriz de ARN y también son lugares de transcripción activa.

La estructura del cromosoma eucariótico se demuestra mediante las técnicas de bandeo G, C y R que revelan patrones de bandas consistentes en los cromosomas mitóticos. Por medio de estos patrones podemos distinguir todos los cromosomas humanos.

- Las bandas C (**heterocromatina constitutiva**) aparecen alrededor de los centrómeros. Estas bandas están constituidas principalmente por ADN satélite, el cual parece tener un papel estructural en el cromosoma. Se obtienen tiñendo con Giemsa tras tratamiento de los cromosomas con NaOH; consta de numerosas repeticiones de corta secuencia. La cromatina facultativa representa regiones cromosómicas o cromosomas que pueden ser activados de forma permanente o inactivados específicamente en determinados casos, como ocurre con los cromosomas X; en el caso de la hembras XX, uno de los dos cromosomas X se activa (eucromatina), el otro se inactiva (heterocromatina, formando durante la interfase la cromatina sexual o corpúsculo de Barr).
- Las bandas G (Giemsa) representan presumiblemente la **heterocromatina intercalar** y, tampoco parecen tener un papel activo en la transcripción. Están formadas por grupos de cromómeros resultado de la compactación de otros menores, los cuales, a su vez, resultan de la formación de lazos por parte de la fibra de 300 Å.
- Las bandas R (inversas) aparecen entre las G y representan **eucromatina intercalar**, que es la región de los genes estructurales que se transcriben. Su patrón claro-oscuro es opuesto al patrón de bandas G (inversa).

Por técnicas de hibridación se sabe que, el 10 % del cromosoma eucariótico es ADN satélite, el 15 % es medianamente repetitivo, y el 70 % es ADN de copia única en el cual no hay repetición.

El ADN medianamente repetitivo está formado por ADN disperso; son genes necesarios en muchas copias (histonas, para formar ARNr y ARNt, etc.), y por genes que se han duplicado y divergido (genes de la familia de las globinas).

	Heterocromatina constitutiva centromérica.	Heterocromatina intercalar	Eucromatina
<b>Relación de bandas</b>	Bandas C	Bandas G	Bandas R
<b>Localización</b>	Centromérica	Brazos cromosómicos	Brazos cromosómicos
<b>Estado en interfase</b>	Condensada	Condensada	Dispersa
<b>Actividad genética</b>	Inactiva	Probablemente inactiva	Activa
<b>Relación con cromómeros</b>	Cromómeros centromérica	Cromómeros intercalares	Entre cromómeros

El centrómero y los telómeros son regiones funcionalmente específicas de un cromosoma. Los **centrómeros** aislados a partir de cromosomas de levaduras tienen tres áreas consenso. Parecen estar libres de nucleosomas y están rodeados por proteínas que se unen a los microtúbulos (cinetocoros).

Los **telómeros** (los dos extremos de los cromosomas eucarióticos), tienen que evitar la tendencia a adherirse de los extremos rotos, también deben evitar su degradación por las exonucleasas y deben



permitir, por último, que los extremos cromosómicos sean correctamente duplicados. Se protegen mediante repeticiones en tándem de un corto segmento (5 a 8 pb)<sup>1</sup>. La cadena 5' → 3' se replica mediante cebadores (ver apartado 25.5.1.). Siempre es la cadena de ADN telomérica rica en G la que termina como cadena sencilla, formando un saliente 3' de doce a quince nucleótidos. Por lo tanto, el proceso de replicación normal de una molécula lineal de ADN deja una finalización incompleta.

Para evitarlo, las secuencias teloméricas son añadidas a los extremos de los cromosomas sin el uso de un ADN molde, por una enzima llamada telomerasa<sup>2</sup>. El nº de repeticiones varía, y el mecanismo que lo controla es desconocido.

En ocasiones, un segmento final de la cromátida puede aparecer casi separado del resto por una constricción secundaria (satélite o sat); otras constricciones secundarias contienen el organizador nucleolar (NOR). Se trata de una zona del cromosoma en la que están los genes que codifican los ARNr, indispensable para la formación de los ribosomas.

En ausencia de los telómeros, los cromosomas se pegan, sufren cambios estructurales y se comportan de forma anómala.

Actualmente se está estudiando el papel de la longitud de los telómeros en el envejecimiento (senescencia) celular y en la formación de tumores.

En las células somáticas, a medida que aumenta el nº de divisiones, se acortan los cromosomas, es decir, el telómero disminuye de tamaño y la telomerasa carece de actividad. En células germinales y en individuos unicelulares, no se acortan los telómeros, pudiendo dividirse de forma indefinida.

Se especula con la posibilidad de que la telomerasa influya en el nº de divisiones de las células cancerosas, ya que, al no disminuir de tamaño los telómeros, significaría que éstas fabricarían su propia telomerasa y, así, dividirse de forma indefinida.

Al disminuir la longitud del telómero cuando se produce una nueva división de las células somáticas, se piensa que es el reloj que determina la pérdida de la capacidad proliferativa de las células y por lo tanto del envejecimiento celular.

A la luz del microscopio electrónico, el cromosoma funcional y activo corresponde a la estructura en fibra de 30 nm, que aparece bajo forma de eucromatina ya descrita. No obstante, esta hipótesis está siendo sustituida por otra que propone la existencia de un eje proteico no histónico, al que se adhieren las fibras de cromatina unidad, formando bucles.

**OPCIONAL. La estructura de un cromosoma metafásico según modelo de Laemmli (1977) es la siguiente:**

Cada una de las dos cromátidas consta de un núcleo-filamento formado por una sola molécula de ADN, subdividida en dominios de ADN (**microconvólvulas**)<sup>3</sup>. Al microscopio de barrido presentan el aspecto de mazorcas de maíz.

Las microconvólvulas densamente replegadas se suceden en orden lineal y disposición helicoidal, entorno a un entramado de proteínas no histónicas, de un extremo a otro de la cromátida.

Si se eliminan selectivamente las histonas, cada microconvólvula se desorganiza y se despliega el ADN que lo contiene, lo que demuestra que la molécula de ADN es única y continua en el cromosoma.

### **25.3.1. Tipos de ADN**

Existen ADN lineales (en células eucarióticas y algunos virus) y circulares (en bacterias y en ciertos virus). Aunque en algunos virus la cadena de polinucleótidos es única (bacteriófago  $\Phi$ X174), habitualmente, tanto la mayoría de los virus como en todas las células eucarióticas y procarióticas, el ADN es bicatenario.

<sup>1</sup> La secuencia telomérica en el hombre es TTAGGG y está repetida de 250 a 1000 veces en los extremos del cromosoma. Se trata de una secuencia altamente conservada, que se encuentra en todos los vertebrados.

<sup>2</sup> El enzima contiene un segmento de ARN (160 pb) que contiene una región complementaria a la secuencia de ADN telomérico rica en G. En realidad se trata de una transcriptasa inversa, que utiliza los nucleótidos de ARN como molde para polimerizar nucleótidos de ADN.

<sup>3</sup> En la ultraestructura del cromosoma, la fibra de 300 Å organizada según el modelo del solenoide o de las superbolitas, se une a un entramado central de proteínas no histónicas formando las **microconvólvulas**. De este modo se consigue aumentar el grado de empaquetamiento

En condiciones de laboratorio es posible conseguir un **ADN triple**. Este ADN tiene una tercera cadena de ADN intercalada en el surco mayor de la doble hélice en una secuencia específica. Se cree que el estudio de este tipo de ADN triple puede ser de gran utilidad terapéutica y en el estudio y cartografía del genoma humano.

Muchos ADN bicatenarios de virus tienen extremos cohesivos, y pueden aparearse fácilmente formando círculos, ya que los extremos son complementarios. Fago  $\lambda$  (de E. coli)

abc

a'b'c'

### **25.3.2. Desnaturalización del ADN (OPCIONAL)**

Si una disolución de ADN se calienta suficientemente (punto de fusión), se pueden romper los puentes de H existentes entre las bases nitrogenadas enfrentadas, y las dos hebras de la hélice se separan (desnaturalización). También se puede conseguir la desnaturalización por variaciones de pH y por concentraciones salinas elevadas.

Los enlaces de H, a pesar de ser débiles individualmente, confieren estabilidad estructural al ADN ya que contienen gran cantidad de ellos. A mayor nº de enlaces, mayor será la  $t^a$  de desnaturalización. En consecuencia, como el par G-C tiene tres enlaces y el A-T dos, cuanto mayor sea el contenido del primero, mayor será la  $t^a$  requerida para la desnaturalización.

La desnaturalización es un proceso reversible, y al enfriar lentamente, se pueden conseguir la renaturalización por una nueva unión de las cadenas. Si mezclamos ADN de diferentes especies, podemos conseguir ADN híbrido, en los que cada una de las hebras es de distinta procedencia. Para que esto sea posible, es necesario que ambas cadenas tengan tramos completos suficientemente largos.

Este método de hibridación se emplea para estudios filogenéticos, en los que se intenta averiguar el grado de parentesco de la especie. También se utiliza en medicina legal para investigar la autoría de un delito a partir de restos de sangre, pelos, etc.

### **25.4. El ARN**

Es también una macromolécula, formada por la polimerización de ribonucleótidos en cadena lineal. Cada ARN, al igual que el ADN, se caracteriza por la secuencia de sus bases nitrogenadas.

Se diferencia del ADN, química y estructuralmente, por las siguientes características.

- Las pentosas de todos los nucleótidos son ribosas. Esto hace más inestable al ARN, ya que en cada nucleótido hay un -OH libre en posición 2'; que posibilita una mayor facilidad para la hidrólisis.
- En el ARN no hay Timina, en su lugar existe Uracilo, el resto de las bases son comunes. También, el ARN presenta una mayor diversidad de bases ya que, además de las citadas, existen otras en el ARN transferente (ARNt) como dihidrouracilo, pseudouracilo, dimetilguanina, etc.
- Las moléculas de ARN son más cortas que las de ADN.
- Salvo pocas excepciones (reovirus) no forman dobles cadenas, aunque puedan existir regiones dentro de una misma molécula que se aparen por ser sus bases complementarias. La evidencia más convincente para esto es que las bases complementarias de ARN no se encuentran en las proporciones correspondientes (relaciones de Chargaff).

#### **25.4.1. Función del ARN**

La función del ARN es la de llevar a cabo el mensaje genético, es decir, realizar una serie de procesos por los que las células fabrican sus proteínas a partir de la información codificada en el ADN.

Para ello, la secuencia de bases de una zona del ADN se copia (**transcripción**) en una secuencia de bases de ARN. Este último lleva, por tanto, una copia de la información genética a los ribosomas, orgánulos celulares encargados de sintetizar las proteínas correspondientes (**traducción**) expuesta en el tema anterior. Transcripción y traducción constituyen el dogma central de la Biología molecular.

Algunos virus (reovirus) almacenan el mensaje genético en forma de ARN, que puede ser uni o bicatenario (virus de la gripe, virus del SIDA).

Para realizar los procesos de transcripción y de traducción se necesitan varios tipos de ARN, que se diferencian en su estructura, localización y función.



Recientemente se ha descubierto, en un pequeño nº de fagos de ARN (R17, F2, MS2, ...), que éste puede actuar como molde para su propia replicación. El MS2 codifica solamente tres proteínas; una proteína de su cubierta, otra de anclaje y una subunidad del enzima RNA replicasa. Ésta se combina con tres proteínas de la célula (para su síntesis el ARN del fago ha actuado como ARNm), para formar la ARN replicasa que permite que el ARN de cadena sencilla del fago se replique a sí mismo.

#### **25.4.2. El ARN mensajero (ARNm)**

Constituye del 2-5 % del total del ARN celular. Son cadenas lineales de longitud variable que se sintetizan en el núcleo celular. Tienen una secuencia de bases nitrogenadas igual a la de una de las dos hebras de la doble hélice de ADN (con la salvedad de sustituir la Timina por Uracilo). Sale por los poros nucleares y se asocia a los ribosomas para dirigir la síntesis proteica, según el mensaje que lleva.

Para cada proteína que se va a sintetizar existe una molécula de ARNm distinta. Actúa, por tanto, transportando la información desde el núcleo hasta el lugar de la síntesis proteica. Tiene una vida muy corta (minutos), ya que si no fuera destruido, continuaría la síntesis proteica indefinidamente.

La mayoría de los ARNm de procariotas contienen la información de varios genes (son **policistronicos**). Cada gen se traduce independientemente. El ribosoma que termina la traducción del primer gen puede continuar o no en el segundo gen después de la disociación.

En los eucariotas, sin embargo, los ARNm son monocistronicos ya que su reconocimiento por el ribosoma depende de la caperuza 5' (cada ARNm tiene una sola caperuza).

#### **25.4.3. El ARN soluble o transferente (ARNt)**

Representa el 10 % del total. Se le llama soluble por estar formado por cortas cadenas (75-95 nucleótidos), lo que facilitó el descubrimiento de su secuencia de bases. Ya hemos indicado antes que posee un 10 % de bases distintas. Todos los distintos tipos de ARNt de una célula tienen la misma forma general. Dado que dos ARNt deben situarse a la vez en el ribosoma durante la traducción, es lógico que tengan las mismas dimensiones y estructura.

Es una cadena con estructura secundaria, ya que tiene ciertas regiones con bases complementarias, que se unen dando lugar a unos "brazos". Las zonas que no se aparean forman "bucles". Todo esto da lugar a una estructura típica en forma de **hoja de trébol**, aunque en realidad, hay un plegamiento posterior en forma de L, en lo que se ha llamado **"estructura en bumerang"**. La transcripción de los ARNt es completamente normal, no implica bases raras. Un procesamiento posterior hasta el tamaño normal por varias nucleasas que eliminan trozos del principio y del final. A continuación el ARN acortado es modificado, frecuentemente por la adición de grupos metilo. Seguramente estas bases raras impiden el emparejamiento normal de las bases y son las responsables de parte de los bucles formados por las bases no emparejadas.

La función del ARNt es la de unirse a los aminoácidos del citoplasma celular y transportarlos a los ribosomas para la síntesis proteica. Cada ARNt se une a un tipo de aminoácido.

El extremo 3' siempre lleva una secuencia terminal CCA y el aminoácido se une al -OH del carbono 3' de la Adenosina. El extremo 5' está fosforilado y lleva Guanina.

Cada "bucle" tiene una función particular. Uno de ellos actúa como lugar de unión al ribosoma; otro actúa en el reconocimiento de las enzimas aminoacil-ARNt-sintetasas, que unen los aminoácidos con su correspondiente ARNt (**brazo aceptor**). Por el "bucle" opuesto se une al ARNm gracias a la presencia de tres bases nitrogenadas (**anticodon**) que forman puentes de H con otras tantas bases del este ARNm (**codón**). Para que esta unión sea posible, es imprescindible que las bases de uno y otro ARN sean complementarias. De esta forma sólo uno de los 64 posibles ARNt podrá mantenerse unido y permitirá que el aminoácido que porta el extremo 3' se una a la cadena polipeptídica en formación. Así, los ARNt relacionan el mensaje del ARNm con la secuencia de aminoácidos constituyentes de las proteínas.

En las bacterias se conocen unos 50 ARNt (menos de los 64 precisos según el código genético) debido al fenómeno del tambaleo descrito por Crick.

Al parecer cualquier sitio del ARNt puede estar implicado en el reconocimiento del aminoácido correspondiente y no sólo las tres bases del anticodon (a estos lugares de reconocimiento se les llama elementos de identidad).

Frecuentemente se define el gen como la longitud de ADN que codifica una proteína. Pero, tanto los ARNt como los ARNr están codificados por genes pero no son traducibles a proteínas. Por eso el ARNt y el ARNr son las principales excepciones a esta regla general.

#### **25.4.4. ARN ribosómico (ARNr)**

Constituye el 80-85 % de todos el ARN celular y, por tanto, es el más abundante. También tiene zonas plegadas en doble cadena y se asocia con proteínas para formar ribosomas. En *E. coli* constituyen hasta el 25 % de la masa celular.

Existen varias moléculas de ARNr que se pueden diferenciar por su Pm. Éste está relacionado con la velocidad con que sedimentan al ser sometidos a una intensa fuerza centrífuga. Para medirlo se emplea el coeficiente de sedimentación, cuyos valores se expresan en Svedberg (S).  $1\text{ S} = 10^{-13}$  segundos.

El coeficiente de sedimentación para los ribosomas completos de las células eucarióticas es de 80 S, mientras que en las células procarióticas es de 70 S. Cada ribosoma tiene dos subunidades y varios ARNr de diferentes coeficientes de sedimentación.

Las subunidades 50S y 30S de *E. coli* juntas sedimentan a 70S. La 30S tiene 21 proteínas y una molécula de ARNr 16S y la 50S tiene 34 y dos moléculas de ARNr (23S y 5S). Las tres moléculas de ARNr transcritas (16S, 23S y 5S) son transcritas como una sola pieza larga de ARN que luego es cortada y modificada.

En eucariotas hay cuatro segmentos de ARNr en el ribosoma. La subunidad ribosómica menor tiene un ARN de 18S y la subunidad mayor tiene tres segmentos (5S, 5'8S y 28S). Todos estos fragmentos, excepto el 5S, son transcritos como parte de una misma pieza (lo hacen en la región organizadora nucleolar). El ARNr menor también se produce a partir de un gen repetido pero en un punto distinto del genoma (en *Drosophila* en el gen 2).

#### **25.4.5. ARN nucleolar (ARNn)**

En el núcleo celular existen otras modalidades de ARN, que son en realidad precursores de alguno de los tipos ya citados, o pequeñas moléculas que intervienen en la maduración del ARN o del ADN desde el principio de su síntesis hasta que adquieren su configuración funcional.

El ARNn se origina a partir de diferentes segmentos de ADN, uno de los cuales se llama **región organizadora nucleolar** (en *Drosophila*, varios genes dispuestos en tandem en los cromosomas sexuales). A partir de este ADN, se forma en el nucleolo un ARN de 45 S que se escinde en tres, precursores de los ya citados.

En el organizador nucleolar se forma el nucleolo, lugar de montaje de ribosomas. Las distintas proteínas ribosómicas que se fabrican en el citoplasma migran al núcleo y al nucleolo para formar los ribosomas.

#### **25.5. Replicación del ADN**

Todas las células están capacitadas para sintetizar bases nitrogenadas a partir de moléculas sencillas. El proceso es diferente, según se trate de las bases púricas o pirimidínicas. Resumimos brevemente:

- Síntesis de nucleótidos pirimidínicos.** Su obtención presenta dos fases: una inicial, en la que se forma el anillo pirimidínico, y otra en la que se forman los nucleótidos, al unirse con la fosforribosa.
- Síntesis de los nucleótidos púricos:** Esta síntesis consta de una compleja secuencia de reacciones enzimáticas con las cuales se va construyendo sobre una ribosa el doble anillo de las purinas. Esta secuencia, que consta de siete reacciones, requiere, sucesivamente, una molécula de glutamina, una de glicina, una de folato, otra de glutamina, una de  $\text{CO}_2$ , ácido aspártico y otra molécula de folato. Al final de la secuencia se obtiene un ácido inosítico, a partir del cual, mediante sucesivas aminaciones, se forma el AMP y el GMP.

El mecanismo de **replicación** (o duplicación) del ADN está en concomitancia con la configuración espacial de la molécula según el modelo indicado por Watson y Crick.

El ADN se duplica sólo una vez en el curso de un ciclo celular, y permite que las células hijas contengan la misma información genética que la célula madre. Previa a la replicación debe producirse una separación de los nucleótidos que están unidos por puentes de H.

Para que empiece la replicación deben darse varios pasos:

- Reconocimiento del lugar de origen por las proteínas apropiadas. El E. Coli el lugar se conoce como OriC (245 pares de bases) y es reconocido por **proteínas iniciadores** que abren la doble hélice.
- Apertura y estabilización de este sitio. Las proteínas iniciadoras participan en la unión de **primosomas** (una primasa que, como veremos, crea los cebadores de ARN, y una ADN helicasa, que va desenrollando el ADN). Recientemente se ha descubierto una proteína (desconectora) que impide todo este mecanismo, por lo que, probablemente, esta proteína pueda ser un componente muy importante en el control del ciclo celular.  
Las proteínas ssb (llamadas de unión a cadena sencilla) mantienen estabilizada la cadena abierta (sencilla) de ADN durante el proceso
- Horquilla de replicación en ambos sentidos (continua y discontinua). Posteriormente, en presencia de la ADN-polimerasa los nucleótidos libres (dAMP, dGMP, dTMP, dCMP) se disponen en forma adecuada ( $A = T$ ,  $C \equiv G$ ) y constituyen la cadena complementaria. Así pues la replicación es **semiconservativa** (como demostraron Messelson y Stahl en E. coli y Taylor en eucariontes vegetales).

### 25.5.1. Replicación del ADN en procariotas.

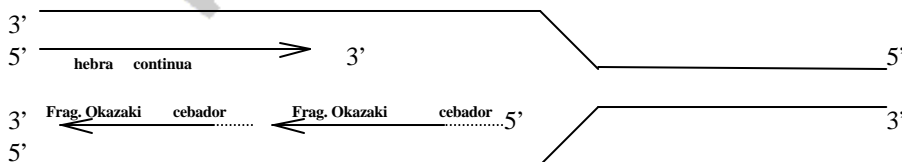
La replicación del ADN en procariotes presenta una serie de peculiaridades que pueden resumirse en los siguientes puntos:

- La replicación del ADN en E. coli es **bidireccional**. Se conoce muy bien su longitud 1'1 mm, y la secuencia ( $4.5 \times 10^6$  pares de bases) de la molécula única. Se adhiere a un punto de la membrana celular, a partir de la cual comienza el proceso de duplicación.
- El ADN se sintetiza por medio de la ADN-polimerasa. En E. coli existen tres tipos, también en eucariontes, pero menos caracterizadas; no sólo intervienen en la replicación, sino también en la reparación.
- La ADN-polimerasa sólo copia en dirección  $5' \rightarrow 3'$  (Kornberg, 1956); luego en una cadena (la  $3' \rightarrow 5'$ ) sí coincide con este sentido (**hebra conductora**) y en ella la replicación es continua ya que empieza con el cebador  $3'-OH$  necesario. Pero no la otra hebra complementaria; en ella, la síntesis de ADN es **discontinua**. En esta cadena, existe, pues, una replicación en pequeños segmentos de 1000-2000 nucleótidos en procariotas y 150 en eucariotas (**fragmentos de Okazaki**), que se unen en presencia de una ADN-ligasa y dan lugar a la **hebra retardada**. El proceso necesita de un **ARN cebador** que lo inicie, al no poder hacerlo la ADN-polimerasa.

El cebador es sintetizado por la ARN polimerasa (enzima de la transcripción) o, una primasa (otra ARN polimerasa distinta). Contiene entre 2 y 60 nucleótidos según la especie y se encuentra en el inicio de cada segmento de Okazaki. Este cebador corto proporciona el grupo  $3'-OH$  que necesita la ADN polimerasa III. Ésta continúa hasta alcanzar el ARN cebador del fragmento de Okazaki sintetizado previamente. En este punto se para y la ADN polimerasa III abandona el ADN.

La ADN polimerasa I, elimina el ARN cebador y completa el fragmento de Okazaki sustituyendo los nucleótidos de ARN por los correspondientes de ADN. Cuando acaba su actividad los fragmentos de Okazaki previos ya están casi completos.

La ADN ligasa es el enzima encargado de establecer el enlace fosfodiéster final entre los fragmentos, en una reacción que consume energía.



Los fragmentos de Okazaki (ver esquema) son los que biosintetizan en dirección opuesta a la del movimiento de la **horquilla de replicación**, es decir, por adición de nucleótidos al extremo  $3'$  y gracias a la acción previa del ARN cebador.

Hay evidencias de que la síntesis de la hebra continua y discontinuas están coordinadas. Ha surgido el modelo del replisoma, en el que las dos copias de la ADN polimerasa III están unidas entre sí y trabajan concertadas con el primosoma.

La terminación de la replicación de un cromosoma circular no presenta problemas importantes. La cadena continua de un molde cierra la cadena discontinua que empezó en el otro sentido. Una topoisomerasa libera los dos círculos y la ADN polimerasa I y la ligasa los cierran.

La velocidad de replicación en procariontes es de 30-35  $\mu\text{m}/\text{minuto}$ , lo que significa la incorporación de 45000 nucleótidos por minuto a 37 °C. Los mutantes deficientes en ADN-polimerasa I condujeron al descubrimiento de la II y la III. La última es la principal responsable de la replicación; forma un gran complejo denominado holoenzima-ADN-polimerasa III.

La ADN-polimerasa I funciona como auxiliar en la replicación (retira los nucleótidos de ARN de los fragmentos de Okazaki los sustituye por otros de ADN) y también puede actuar en procesos de reparación de ADN. Se desconoce, por ahora, el papel de la ADN-polimerasa II.

#### Resumen de los enzimas implicados en la replicación del ADN de la E. Coli

ENZIMA	FUNCIÓN
ADN polimerasa I	Rellenado del hueco y eliminación del cebador
ADN polimerasa II	?
ADN polimerasa III	Replicación del ADN
• Subunidad $\alpha$	Replicación del ADN
• Subunidad $\beta$	Replicación del ADN
• Subunidad $\gamma$	Replicación del ADN
• Subunidad $\delta$	Replicación del ADN
• Subunidad $\epsilon$	Exonucleasa 3' $\rightarrow$ 5'
• Subunidad $\theta$	Replicación del ADN
• Subunidad $\tau$	Replicación del ADN
Proteína iniciadora	Se une al origen de replicación
Subunidades de ARN polimerasa	ARN cebador en algunos sistemas
Primasa	ARN cebador en algunos sistemas
ADN ligasa	Cierra huecos de las cadenas de ADN
Helicasa	Desenrolla el ADN para la replicación
Proteína ssb	Estabilidad de la cadena sencilla
ADN topoisomerasa I	Superenrollamiento del ADN
ADN topoisomerasa II	
• Subunidad $\alpha$	ATPasa
• Subunidad $\beta$	Corte y cierre del ADN

#### 25.5.2. Replicación del ADN en Eucariontes

Los cromosomas eucarióticos tienen gran cantidad de ADN. Si estas moléculas se replicasen a partir de un único punto, como en E. coli, el proceso duraría meses. Las células eucarióticas disponen de **múltiples puntos de replicación**.

En 1968, Huberman y Riggs demostraron que el ADN posee unas unidades de replicación llamadas **replicones**, dispuestos en hilera que dan lugar a los denominados "ojos" o "burbujas". La longitud promedio es de 30  $\mu\text{m}$  y hay unas 30.000 en un conjunto haploide de cromosomas de mamíferos. Por tanto, en cada cromosoma existen cientos de puntos donde se inicia la replicación. Cada uno replica 100-150 nucleótidos frente a los 2000 de procarionte.

Cada horquilla de replicación avanza a una velocidad de 0'5-1  $\mu\text{m}/\text{minuto}$ , que puede ser hasta 50 veces más lenta que la registrada en E. coli (en Drosophila la velocidad es de 2600 nucleótidos/minuto).

La síntesis de ADN en eucariontes también es **bidireccional**<sup>4</sup>. Durante las primeras fases de la división celular, el ciclo es muy rápido, no hay prácticamente crecimiento y la fase S es muy corta; posteriormente

<sup>4</sup> Las moléculas lineales (cromosomas) tienen el problema de completar el último fragmento de Okazaki ya que una ARN cebador justo en el extremo del molde 3'  $\rightarrow$  5' no puede ser reemplazado por la ADN polimerasa I. En eucariotas, el enzima telomerasa, añade repeticiones de una corta secuencia de nucleótidos en cada extremo del cromosoma.

se va alargando y así, en anfibios, la fase S dura 1 h en blastómeros, 20 h en células somáticas y 200 h en gametos. Esta desigualdad se debe al aumento de los puntos de replicación con el desarrollo. Asimismo debe existir un mecanismo que impida la reanudación de la replicación, el cual es aún desconocido.

ADN polimerasas eucarióticas	
ENZIMA	FUNCIÓN
ADN polimerasa $\alpha$	Replicación discontinua de los cromosomas.
ADN polimerasa $\beta$	Reparación de los cromosomas.
ADN polimerasa $\gamma$	Replicación del ADN mitocondrial.
ADN polimerasa $\delta$	Replicación continua de los cromosomas
ADN polimerasa $\epsilon$	Probablemente replicación de los cromosomas

Por lo que hace referencia a los **nuevos nucleosomas**, se generan simultáneamente con la replicación del ADN, por lo que se ven rápidamente en las fibras hijas (la distribución de los nucleosomas, al parecer, también es semiconservativa; los nucleosomas "antiguos" permanecen en la hebra conductora y los "nuevos" aparecen en la retardada).

Al mismo tiempo que se va replicando, el ADN se transcribe; durante la fase S puede verse al microscopio electrónico cómo los ARNm surgen de ambas cromátidas.

La presencia de mutaciones no es muy frecuente, dada la gran estabilidad del material genético (la frecuencia de las mutaciones espontáneas es de  $10^{-7}$ ). En procariotas es mayor, dado que producen muchos más seres por generación y los mecanismos de regulación son menos sofisticados. Además, conviene recordar que, la ADN polimerasa, además de catalizar la replicación, mantiene una actividad autocorrectora, lo que constituye un mecanismo de prevención de errores.

## 25.6. Transcripción del ADN

La primera fase para conseguir la biosíntesis de proteínas a partir del mensaje contenido en el ADN consiste en el paso de esa información desde el ADN hasta el ARN (transcripción) catalizado por la ARN polimerasa-ADN dependiente. Se trata de estructuras polipeptídicas múltiples capaces de sintetizar ARN a partir de una porción de ADN que sirve de molde. En los eucariontes las hay de tres tipos: I (para los ARNr 5'8 S, 18 S y 28 S), la II (ARNm) y la III (ARNt y ARNr 5 S)

Nos centraremos en la transcripción del ARNm.

Experimentos de hibridación entre ADN y ARN demuestran que el ARN no se copia a partir de ambas cadenas de un segmento dado de ADN (hay alguna rara excepción).

Esta etapa es muy importante en la regulación genética, ya que la velocidad con la cual un gen se expresa depende de la frecuencia con que el ARN polimerasa comience su transcripción.

Normalmente, los ARN no pueden utilizarse directamente, sino que deben sufrir una serie de modificaciones para que resulten funcionales; esto se conoce con el nombre de **procesamiento del ARN**. Estas modificaciones son:

- Clivaje de un gran precursor en ARN más pequeños.
- Agregación terminal de nucleótidos, como el poli A (cola de nucleótidos de Adenina) del extremo 3' y la cubierta o caperuza de nucleótidos (cap) que se agrega al 5'.
- Modificaciones de los nucleótidos, como metilaciones, frecuentes en el ARNt y ARNr.

Dos evidencias demuestran la complementariedad entre el ADN y el ARN encontrado en el citoplasma:

- 1ª) está demostrado que los ARN producidos por distintos organismos tienen proporciones de bases muy parecidas a las proporciones encontradas en el ADN y
- 2ª) la posibilidad de producir hibridaciones entre el ADN y ARN. La existencia de esta complementariedad es una indicación muy convincente de que el ADN actúa como molde sobre el cual se forma el ARN complementario.

### 25.6.1. Transcripción del ADN en Procariontes

**ARNm.** Término acuñada por Jacob y Monod para definir una molécula copiada del ADN, de vida media muy corta y rápido recambio. En E. coli, la vida media de la molécula es de 2 minutos; esto supone que aún



no ha terminado de transcribirse cuando ya está traduciéndose en proteínas. Se destruye con ribonucleasa.

Otra particularidad del ARN es su **heterogeneidad**. En *E. coli*, el término medio de un cistron de ARNm (el largo de ADN que codifica un polipéptido) es de 900 a 1500 nucleótidos (300-500 aa). El largo puede ser mayor si se copian varios cistrones adyacentes (mensajeros policistrónicos). Aproximadamente el 90-95 % del ADN de *E. coli* codifica ARNm.

En ARNm es complementario del ADN; una de las cadenas sirve de molde, por lo que se dice que la transcripción es asimétrica.

Otra particularidad es que se une rápidamente a los ribosomas y forma parte de los **polirribosomas**. En procariontes, los ARN se transcriben utilizando exclusivamente una ARN polimerasa, que cataliza la formación a partir de ATP, GTP, CTP, UTP y **ADN molde**. Este enzima es capaz de reconocer las señales de comienzo y terminación en los sitios precisos.:

**En la transcripción podemos definir tres etapas**

- 1) **Iniciación**. Para las distintas células la transcripción no puede ser un proceso continuo sino selectivo. Por lo tanto, la ARN polimerasa ha de ser selectiva. Los mecanismos de regulación de la transcripción requieren: 1ª) que las zonas de inicio y final de los fragmentos de ADN transcribibles (genes) estén marcadas y, 2ª) Algunos segmentos transcribibles pueden estar reprimidos.

Presupone el reconocimiento por la ARN polimerasa, mediante su factor  $\sigma$  (sigma), de los **promotores** en el ADN. La secuenciación reciente de muchos promotores ha mostrado que poseen secuencias comunes. Hay **secuencias conservadas** (tienen exactamente la misma secuencia de nucleótidos en distintos promotores). Sin embargo, si hay alguna variación en la secuencia, pero algunos nucleótidos son muy abundantes, decimos que forman una **secuencia de consenso**<sup>5</sup>. Cuando la polimerasa está unida a la región promotora está en posición de comenzar la polimerización a partir de seis u ocho nucleótidos más allá de la caja de Pribnow.

Hay promotores que pueden ser reconocidos con más eficiencia que otros o lo que hay son varios factores sigma que permiten la transcripción de distintos genes en circunstancias diferentes (proteínas de choque térmico que probablemente protegen a las células frente a las  $t^a$  elevadas..

- 2) **Alargamiento**. La **ARN polimerasa** copia de forma exacta la secuencia de nucleótidos de ADN y progresa a una velocidad de 30 nucleótidos/seg, en dirección 5'→3'. En *E. coli* hay 300 genes que se transcriben por la misma enzima; por lo tanto, no es raro que esta enzima sea compleja (Pm 490.000). Contiene, además de un factor  $\sigma$  (sigma) indicado, que se libera al comienzo de la transcripción para volverse a usar en otras zonas del ADN, el núcleo del enzima que tiene cuatro subunidades encargado de la transcripción.

La ARN polimerasa añade nucleótidos a los extremos libres 3'-OH, como en la replicación del ADN, de forma creciente de acuerdo con las reglas de la complementariedad. Sin embargo, a diferencia de la ADN polimerasa, no parece que pueda corregir "errores" a medida que avanza. Conforme la ARN polimerasa se desplaza a lo largo del ADN, se va produciendo superenrollamiento en la molécula de ADN.

- 3) **Terminación**. Se produce cuando la enzima llega a una señal de detención. Allí hay un factor  $\rho$  (rho) de terminación, que es una proteína con actividad ATPásica. Sin ella la ARN polimerasa continúa transcribiendo (lectura sobrepasada). Hay terminadores independientes de rho.

Existe una señal que supone la separación del ARN recién transcrito, la disociación de la polimerasa y el cierre del bucle de ADN.

En procariontes puede haber dos tipos de señales: a) la simple o  $\sigma$ -independiente, que consiste en una secuencia concreta de bases de ADN (un palíndromo rico en G y C, seguido de varias T) llamado terminador, que supone que en ARN transcrito adquiera una estructura secundaria de horquilla, lo que detiene el proceso de transcripción, y b) la terminación compleja, o  $\sigma$ -dependiente, que requiere la presencia de la proteína  $\sigma$ . Al parecer la formación de la horquilla sigue existiendo como señal de pausa, tras la cual la proteína  $\sigma$  provocaría la liberación de la molécula de ARN y la disociación de la polimerasa.

---

<sup>5</sup> la secuencia TATAAT, conocida como caja de Pribnow, localizada a unos diez nucleótidos de la primera base transcrita.



La transcripción está acoplada a la biosíntesis de proteínas. Además, en procariontes existe la posibilidad de que no haya membrana nuclear, lo que permite que los ribosomas se unan al ARNm a medida que éste se transcribe. Por otra parte, hay que recordar que tanto la síntesis de ARN como la de proteínas comienza en el extremo 5' del ARNm.

El ARNm transcrito contiene secuencias de nucleótidos que serán traducidos en aa y también segmentos anteriores y posteriores al segmento codificante. El segmento traducible siempre empieza con el codon de iniciación AUG (ver tema anterior), y termina con cualquiera de los codones sin sentido.

En el segmento transcrito hay un grupo de nucleótidos hasta la señal de iniciación (**líder**), y otro posterior a codon sin sentido (**trailer**). Estas secuencias juegan un papel en el reconocimiento y la estabilidad estructural del ARNm en el ribosoma durante el proceso de traducción; la región líder también puede tener funciones reguladoras.

### **25.6.2. Transcripción del ADN en Eucariontes**

Lo más específico del proceso en estos organismos es la presencia de tres ARN polimerasas, a diferencia de lo que ocurre en procariontes, donde sólo existe una. Se las denomina ARN I, II y III.

La ARN polimerasa I transcribe el organizador nucleolar, es decir los grandes ARNr (5'8 S, 18 S, 28 S).

La ARN polimerasa II, es la que sintetiza el ARNm.

La ARN polimerasa III, sintetiza ARNr 5S y los ARNt.

Una Primasa se encarga de la síntesis del cebador durante la replicación del ADN.

La transcripción puede visualizarse con el ME. Las conclusiones que se deducen son las siguientes:

1. El **molde para la transcripción** es un complejo de proteínas que responde a la estructura de los nucleosomas.

2. La **síntesis de ARN** en eucariontes comienza y termina en sitios precisos del ADN. Los factores de transcripción reconocen secuencias específicas para el ARNm en el “promotor”, son ricas en T y A denominadas “TATAbox” (caja de Hogness) y CAAT. La regulación de la transcripción eucariótica es un área de investigación muy activa.

El segmento transcrito primario es más largo que el ARNm citoplasmático y se llama ARN nuclear heterogéneo (ARNhn). Hay segmentos de ADN dentro de los genes que transcriben ARN pero que nunca son traducidos a secuencias de aa de las proteínas (**intrones**), se eliminan del ARNhn antes de su transporte al citoplasma. Los segmentos del gen situados entre los intrones (**exones**), sí son traducidos. Cuando se híbrida un ARNm en el que se han eliminado los intrones son el gen original, pueden verse claramente el resultado de la eliminación.

La eliminación de los intrones y la unión de los exones se conoce como maduración o procesamiento, puede suceder de dos formas distintas: autoprocesamiento y procesamiento enzimático

3. **Autoprocesamiento.** Cech y Altmann (premios Nobel 1989) demostraron las propiedades autocatalíticas del ARN (**ribozimas**). No era necesaria la presencia de enzimas para la eliminación de los intrones. La estructura secundaria del ARNhn coloca muy juntos los extremos de los intrones y debe estar presente un nucleótido de la Guanina (GMP, GDP o GTP), el intrón actúa como enzima<sup>6</sup>. El autoprocesamiento también se ha encontrado en genes de mitocondrias y levaduras. La eliminación de los intrones del ARNm nuclear se lleva a cabo mediante los espliceosomas (complejo de ARN y proteínas), no así sucede con los intrones mitocondriales.

En algunos casos se ha observado **procesamiento alternativo**. Por ejemplo, un intrón puede ser retenido ocasionalmente en el ARNm o bien corte y empalme pueden llevarse a cabo en sitios distintos, dando lugar con ello a que un solo gen produzca varios ARNm distintos (se ha observado este procesamiento en la formación de anticuerpos)

La secuencia de terminación es TTATTT, parecida a los terminadores “independientes de rho” de los procariontes. Entre ambos sitios, la cadena de ARN crece de forma gradual (empieza realmente en la “caja” TATA.

---

<sup>6</sup> El intrón liberado puede continuar su actividad enzimática usando su propia secuencia como molde y actuando sobre ARN con secuencias complementarias (como endonucleasa cortando cadenas de ARN, como polimerasa, transferasa o ligasa).

4. En los genes que transcriben activamente, las ARN polimerasas se encuentran muy cerca unas de otras; hay así una molécula de enzima por cada 200 pares de bases de ADN. Con una velocidad de alargamiento de 20-30 nucleótidos/seg se puede calcular que una cadena media de ARN puede completarse cada 10 segundos.
5. El ARN naciente se asocia con proteínas a medida que se transcribe y produce partículas de ribonucleoproteínas, más que ARN libre. El procesamiento de los ARN precursores en ARN más cortos puede empezar también antes de que se complete la cadena de ARN, interviene la enzima poli-A-polimerasa que añade al extremo final 3' un segmento de unos 200 ribonucleótidos de Adenina (segmento poli A). Al cabo de 30 nucleótidos transcritos se añade la caperuza (cap) (metil-guanosín-trifosfato) al extremo 5' (protege al ARNm frente a la degradación por nucleasas, favorece el reconocimiento por ribosoma y facilita el transporte al citoplasma).
6. En los eucariontes, la envoltura nuclear introduce una barrera entre la transcripción y la síntesis de proteínas, ya que el ARNm debe transportarse al citoplasma antes de usarse.

En otros lugares distintos del núcleo, como las mitocondrias y los cloroplastos, existe también transcripción. En estos orgánulos, los ARN se transcriben por una única enzima muy simple.

### **ARNm EUCARIÓTICO**

Aquí el proceso es más complejo que en procariontes, dado que se debe salvar la barrera nuclear. Se deben cubrir una serie de pasos.

- a) Transcripción del ADN para formar los precursores del ARNm (ARN intrónico o ARNhn). No es simultánea con la traducción, tal y como sucede en procariotas, ya que esta sucede en el citoplasma.
- b) Procesamiento intranuclear de estos precursores, eliminación de intrones.
- c) Transporte de los ARNm hacia el citoplasma y asociación con los ribosomas para proceder a la traducción.

Los ARN eucarióticos se caracterizan porque:

- Son mayoritariamente monocistrónicos a diferencia de los procariontes.
- Son mucho más estables que los procariontes.
- Son mucho más largos que lo necesario para codificar un mensaje. Así, la globina consta de 140 aa y se podría calcular unos 438 nucleótidos en su ARNm; sin embargo, la longitud de la molécula es de 650-700 nucleótidos.
- Existen unas modificaciones posteriores en el sentido de añadir en el extremo 3' el segmento poli A, lo que le da estabilidad, y en el 5', el casquete de metilguanosina.

### **Resumen Maduración del ARNm**

- 1º Asociación, según se va sintetizando el ARNm con proteínas (favorecen el empaquetamiento), dando lugar al ARNhn, verdadero sustrato de los siguientes cambios.
- 2º En extremo 5', antes de finalizada la transcripción, se adiciona la caperuza cap (7-metilguanosina fosfato o Gppp).
- 3º Finalizada la transcripción, en el extremo 3' se adiciona la cola poliA.
- 4º En eucariontes se eliminan los intrones.

En los virus de ARN que producen tumores (sida), pueden producir ADN polimerasa dependiente de ARN (transcriptasa inversa o retrotranscriptasa), y son capaces de sintetizar una cadena de ADN complementaria del ARN vírico.

Recientemente se han descubierto casos de autorreplicación o autoduplicación del ARN, según la cual un ARN puede actuar de molde y sintetizar otra molécula idéntica a él. Este proceso se observó en fagos de

ARN: uno de ellos, el MS2 sólo disponen de información genética para tres proteínas: la de la cubierta, una proteína de anclaje y la tercera para una parte de la enzima ARN replicasa responsable de la autoduplicación de su ARN.

www.eltemario.com