

XENÉTICA MOLECULAR

1. O fluxo da información xenética

A **xenética clásica**, segundo o enfoque mendeliano, estuda os modelos de transmisión da información, independentemente da información química dos xenes. Así, un xene é a unidade de herdanza e a súa expresión determina o fenotipo do individuo. En cambio, a **xenética molecular** ocúpase da natureza dos xenes e da súa expresión. Os xenes están compostos por moléculas de ADN que conteñen a información necesaria para o desenvolvemento dun novo individuo e, por tanto, o que se herda é fundamentalmente unha molécula informativa. Neste caso o **xene** se entende como un fragmento de ADN que se expresa cando a información que contén se traduce para formar proteínas cunha función biolóxica específica.

Na década de 1940 **Beadle e Tatum** foron os primeiros en establecer a existencia dunha relación directa entre a molécula de ADN e a secuencia de aminoácidos dunha enzima. Así, propuxeron a hipótese de “**un xene, unha enzima**”, segundo a cal un xene contén a información para que os aminoácidos únense nunha determinada orde e formen unha enzima.

Con todo, o ADN atópase no núcleo e a síntese de proteínas realízase nos ribosomas, situados no citoplasma, polo que é necesario levar a información desde o núcleo aos ribosomas. Isto explícase a través do **dogma central da bioloxía molecular**, enunciado por **Francis Crick** en 1970, polo que a información xenética contida no ADN é transcrita en forma de ARN e traducida en proteínas segundo o esquema: ADN → ARN → Proteína.

O ADN é capaz de autoduplicarse antes dunha división celular mediante un proceso de **replicación**. Ademais, transmite a súa información a unha molécula de ARNm polo proceso de **transcrición**, e o ARNm transmíteo a unha secuencia de aminoácidos dunha proteína no proceso denominado **tradución**, no que interveñen o ARN ribosómico (ARNr), compoñente fundamental dos ribosomas e o ARN transferente (ARNt), que transporta os aminoácidos ata os ribosomas. Posteriormente este dogma completouse co proceso de **retrotranscrición**, mediante o que algúns virus transmiten a súa información de ARN a ADN.

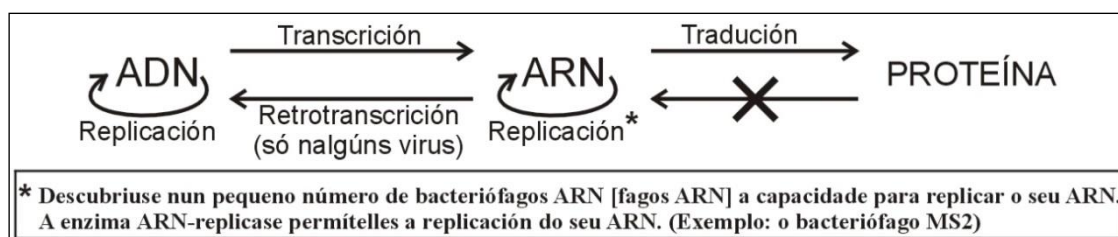


Ilustración 1. Dogma central da bioloxía molecular.

2. A replicación

A **replicación do ADN** é o proceso que permite, a partir dunha molécula de ADN sintetizar unha copia nova, orixinándose dúas moléculas de ADN con secuencias idénticas. Prodúcese de forma coordinada coa división celular, durante a fase S da interfase, para asegurar que as dúas células fillas reciban a mesma dotación xenética que posuía a célula proxenitora.

A **replicación do ADN** é o mecanismo que permite sintetizar unha copia idéntica dunha molécula de ADN grazas ás enzimas **ADN polimerases**. Esta duplicación do material xenético é de tipo **semiconservativo** (demostrado por Messelson e Stahl en 1957 cultivando cepas de *Escherichia coli* con ADN lixeiro e pesado), o que indica que as dúas cadeas complementarias do ADN orixinal, ao separarse, serven de molde cada unha para a síntese das novas cadeas. Desta forma, as dúas moléculas de ADN resultantes da copia teñen unha cadea orixinal e unha cadea de nova síntese.

2.1 Características da replicación

Existen varias características que deben ser destacadas no proceso de replicación:

- **Carácter semiconservador:** como a estrutura do ADN ten unha hélice dobre, Watson e Crick propuxeron en 1953 o mecanismo da súa replicación, consistindo nun proceso no que cada cadea serve de molde para a síntese dunha nova cadea complementaria, de xeito que as novas moléculas de ADN serían idénticas entre si e idénticas tamén á molécula proxenitora. Neste modelo de replicación semiconservativo cada molécula nova de ADN, presenta unha cadeas procedente da molécula inicial de ADN e a outra fórmase por nova síntese. Esta hipótese foi demostrada por **Meselson e Stahl** en 1958, analizando a división de bacterias *Escherichia coli* en medio con nitróxeno pesado. Cando as bacterias pasaban dun medio rico en N^{14} a outro rico en N^{15} , estas incorporaban o N^{15} ás cadeas de ADN de nova síntese ao dividirse.
- **Síntese simultánea, secuencial e bidireccional:** a síntese do ADN comeza en puntos concretos da molécula, denominados **orixes de replicación**. En procariotas o proceso é monofocal, xa que no seu cromosoma circular só existe unha orixe de replicación. En cambio, en eucariotas o proceso é multifocal, pois en cada un dos cromosomas lineais existen múltiples orixes de replicación. Isto permite que a replicación sexa máis rápida xa que o tamaño dos cromosomas eucariotas é maior que nos procariotas. Nos puntos onde se orixina a replicación prodúcese unha apertura local da dobre hélice e comeza a síntese **simultánea** das dúas novas fibras. Como consecuencia as dúas cadeas vanse alongando de forma progresiva por adición **secuencial** de nucleótidos. Ademais, a separación das cadeas proxenitoras que comeza en cada orixe, progresa en ambas direccións, polo que se a replicación é **bidireccional**.

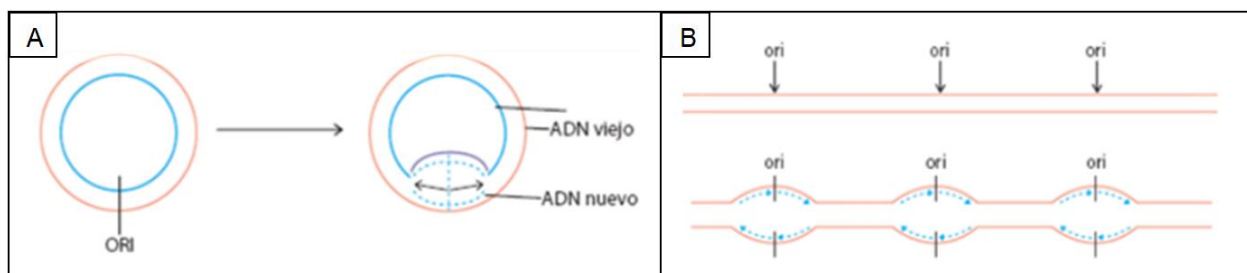


Ilustración 2. Orixes de replicación. A: Orixes de replicación en procariotas. B: Orixe de replicación único en eucariotas.

- **Carácter asimétrico e descontínuo:** a síntese das novas cadeas de ADN é realizada polas ADN polimerases, as cales leen as cadeas molde de ADN en sentido $3' \rightarrow 5'$ e sintetizan as cadeas complementarias en sentido $5' \rightarrow 3'$. Isto é debido a que estas enzimas só poden engadir nucleótidos unindo o extremo $5'$ destes ao extremo $3'$ libre da cadea en crecemento. O principal problema da replicación xorde ao replicar ambas cadeas de forma simultánea xa que o sentido de ambas é antiparalelo.

Ao abrirose a burbulla de replicación, unha das cadeas molde vaíse expoñendo no sentido de lectura correcto para a ADN polimerase, de 3' → 5', polo que pode realizar a síntese da cadea complementaria en sentido 5' → 3' simplemente avanzando pola cadea de ADN molde. A nova cadea sintetizada recibe o nome de **cadea adiantada** (ou líder).

Por contra a outra cadea molde oposta queda exposta en sentido 5' → 3', polo que a ADN polimerase non pode lela nesa dirección a medida que se abre a burbulla. A síntese da súa cadea complementaria require dun mecanismo que sofre certo desfase coa síntese da fibra adiantada, polo que se denomina **cadea retardada**. Este mecanismo consiste na síntese descontinua da cadea complementaria mediante fragmentos de ADN, denominados **fragmentos de Okazaki**, a medida que o avance da burbulla libera suficiente cantidade de ADN monocatenario como para que a ADN polimerase o poida ler en sentido correcto e usar como molde.

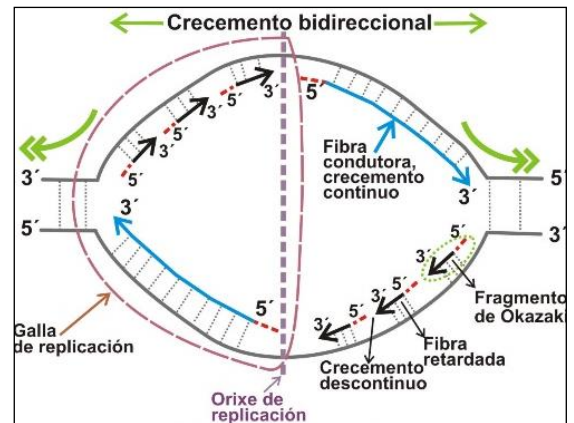


Ilustración 3. Síntese asimétrica e descontinua do ADN.

2.2 Mecanismo xeral de replicación do ADN

O proceso de replicación é semellante tanto nas células procariotas como nas células eucariotas. Cada cadea da dobre hélice de ADN sepárase e actúa como molde para a síntese dunha nova cadea, que terá unha secuencia complementaria de bases. A complementariedade entre as bases nitrogenadas ($G \equiv C$ e $A = T$) constitúe a esencia da replicación do ADN, como acontece nos demais procesos onde se transmite información xenética (transcrición e tradución).

Nas **células procariotas** o mecanismo ocorre da seguinte maneira:

1. A **separación das cadeas de ADN** comeza nun punto concreto do cromosoma denominado orixe de replicación e a partir deste fórmase unha estrutura denominada **burbulla de replicación** que se estende ao longo da cromatina e da lugar a dúas **gallas de replicación** (pola súa forma de Y), onde as cadeas de ADN están separadas e actúan como molde para a síntese das novas cadeas.
2. A enzima **helicase** rompe as pontes de hidróxeno entre as cadeas de ADN complementarias e as separa para que poidan ser usadas como molde pola ADN polimerase. O proceso de replicación é bidireccional, con helicases traballando nas dúas gallas da burbulla de replicación.
3. Como o desenrolamento da dobre hélice dá lugar a superenrolamentos no resto da molécula, as enzimas **topoisomerases** actúan a continuación eliminando as tensións producidas. Isto fano producindo cortes nunha ou nas dúas cadeas para que se desenrolem, volvendo a unilas trala liberación das tensións.
4. Xa separadas as dúas cadeas, as **proteínas estabilizadoras** (proteínas SSB) únense ás cadeas simples de ADN para estabilizar a súa separación e evitar o novas torsións.
5. Para que a ADN polimerase III poida comezar a síntese da cadea complementaria precisa dun extremo 3' ao que engadir os novos nucleótidos. Isto conségueno grazas á **ARN polimerase** (ou primase), encargada de sintetizar un **cebador** (un fragmento duns 10

- nucléotidos de ARN, xa que esta enzima si que pode unir nucleótidos aínda sen ter un extremo 3' libre inicial.
6. Unha vez sintetizado o cebador intervén a **ADN polimerase III** que sintetiza a cadea de ADN complementaria empregando desoxirribonucleótidos trifosfato (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), sempre na dirección 5' → 3'. Os desoxirribonucleótidos incorpóranse á cadea crecente como desoxirribonucleótidos monofosfato, liberándose pirofosfato (PPi) en cada reacción de incorporación $ADN_n + dNTP \rightarrow ADN_{n+1} + PPi$. Na cadea adianta este proceso continua ata que se completa a síntese da cadea. É importante subliñar que a ADN polimerase III ademais da función de **polimerización** tamén é capaz de realizar unha **autocorrección**. Se detecta un erro no emparellamento das bases complementarias elimina o último nucleótido (posúe actividade exonucleasa) e introduce o nucleótido adecuado.
 7. Na **cadea de ADN antiparalela**, a galla de replicación avanza en sentido 5'→3' polo que a ADN polimerase non pode sintetizar a cadea complementaria de forma continua. Por esta razón, a medida que a galla de replicación vai avanzando, a ARN-polimerase sintetiza un cebador de ARN para que logo a ADN polimerase III engada uns 1.000 nucleótidos de ADN, formando un **fragmento de Okazaki**. Esta operación vaise repetindo a medida que a galla de replicación avanza e queda dispoñible un segmento de ADN suficientemente grande para que actúen a ARN e ADN polimerases no sentido correcto, formando así cadea retardada.
 8. Cando as ARN e ADN polimerase III rematan de sintetizar as cadeas complementarias, interveñen a enzima **ADN polimerase I** que elimina os cebadores de ARN grazas á súa función exonucleasa e enche os ocos que deixa libres con nucleótidos de ADN; e a enzima **ADN ligase**, que une entre si estes fragmentos.
 9. O proceso continúa ata a replicación total do ADN.

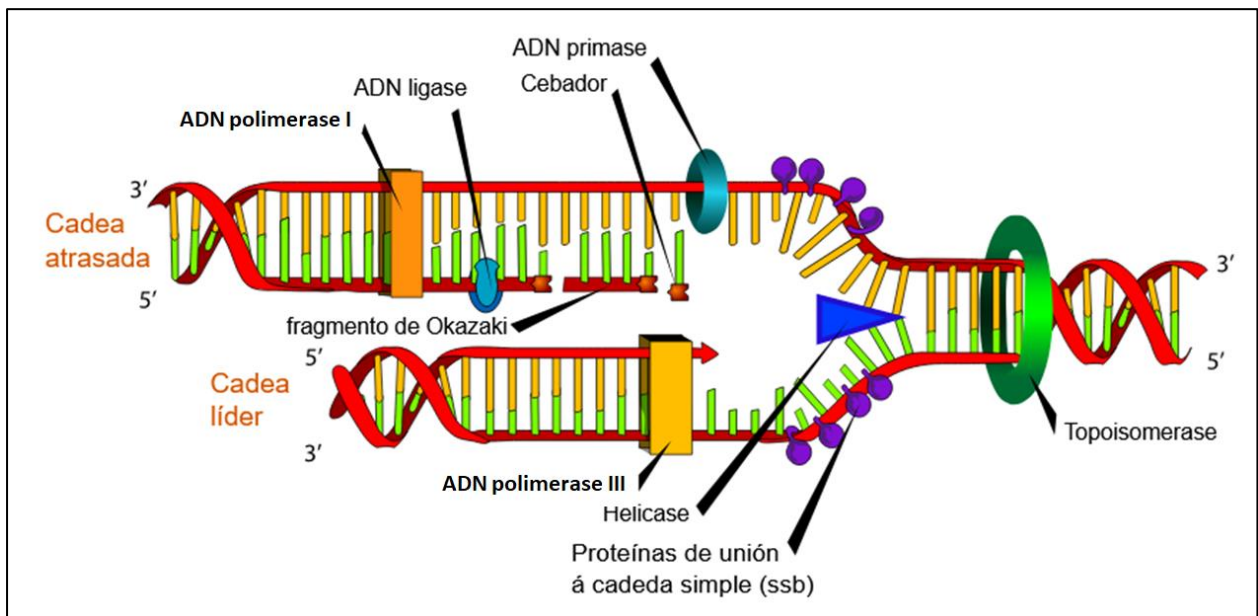


Ilustración 4. Replicación do ADN.

2.3 Principais diferenzas na replicación entre células procariotas e eucariotas

Existen diferenzas en canto ao proceso en eucariotas.

- **ADN eucariota é máis grande que o ADN procariota:** debido a isto fórmanse varias burbullas de replicación (poden chegar a 100), que se activan á vez en cada cromosoma de forma coordinada e denomínanse replicóns. En bacterias e virus só hai unha burbulla de replicación.
- **ADN está asociado a histonas:** isto presenta unha dificultade engadida ao avance das burbullas de replicación, polo que é preciso desmontar os octámeros de histonas. Trala replicación a cadea adiantada queda coas histonas existentes mentres que para a cadea retardada sintetízanse histonas novas.
- **Tamaño dos fragmentos de Okazaki:** nos eucariotas o tamaño dos fragmentos de Okazaki é menor que nos procariotas.
- **Complexidade das ADN polimerases:** nos eucariotas as ADN polimerases son máis numerosas e complexas.

3. A transcrición

A **transcrición** é o proceso encargado da síntese dunha molécula de ARN a partir da información xenética contida na rexión codificante dun ADN. Consiste no paso dunha secuencia de ADN a outra de ARN, podendo ser este un ARN ribosómico, mensaxeiro ou transferente.

O proceso de transcrición é notablemente similar nos diversos organismos aínda que unha vez sintetizados o seu procesamento é diferente segundo a función que desempeñen.

3.1 Concepto molecular e funcional de xene

A transcrición é a primeira etapa da expresión xénica, da conversión da información xenética que contén o xene nunha proteína.

Desde o punto de vista da xenética molecular un **xene** defínese como un fragmento de ADN que posúe as secuencias necesarias (estruturais e reguladoras) para codificar e expresar un produto xénico, sexa este un ARN funcional de calquera tipo ou unha proteína.

Esta definición implica dúas características nos xenes:

- **Existencia de dous tipos de secuencias no xene con funcións diferentes:** as **secuencias estruturais** son as que codifican a información que será transcrita, mentres que as **secuencias reguladoras** non se transcriben, pero regulan a transcrición das secuencias estruturais.
- **Dous tipos de produtos xénicos:** a partir das secuencias codificadoras poden producirse dous tipos de moléculas funcionais, **ARN** e **proteínas**. Para a formación dos ARN requírese a transcrición e, no seu caso, a maduración posterior, mentres que para a formación de proteínas é preciso a transcrición e tradución do ARNm.

De forma estrutural, nun xene poden distinguirse as seguintes **rexións**:

- **Rexión promotora:** sen función codificante. Comprende secuencias que actúan como lugar de unión para os enzimas e factores de transcrición (secuencias promotoras).
- **Rexión estrutural ou codificadora:** define a secuencia do produto ou produtos xénicos e presenta diferenzas entre as células procariotas e eucariotas.
 - **Células procariotas:** toda a rexión é codificante, polo que os ARN que se producen na transcrición son continuos e non precisan maduración.
 - **Células eucariotas:** a rexión está formada por intróns (rexións non codificantes) e exóns (rexións codificantes). Ao transcribirse esta rexión prodúcese un transcrito primario (pre-ARN ou ARN heteroxéneo nuclear) que ten que ser procesado para eliminar os intróns e convertelo nun ARN maduro.
- **Rexión final:** comprende os sinais que permiten rematar o proceso de transcrición (secuencias terminadoras).

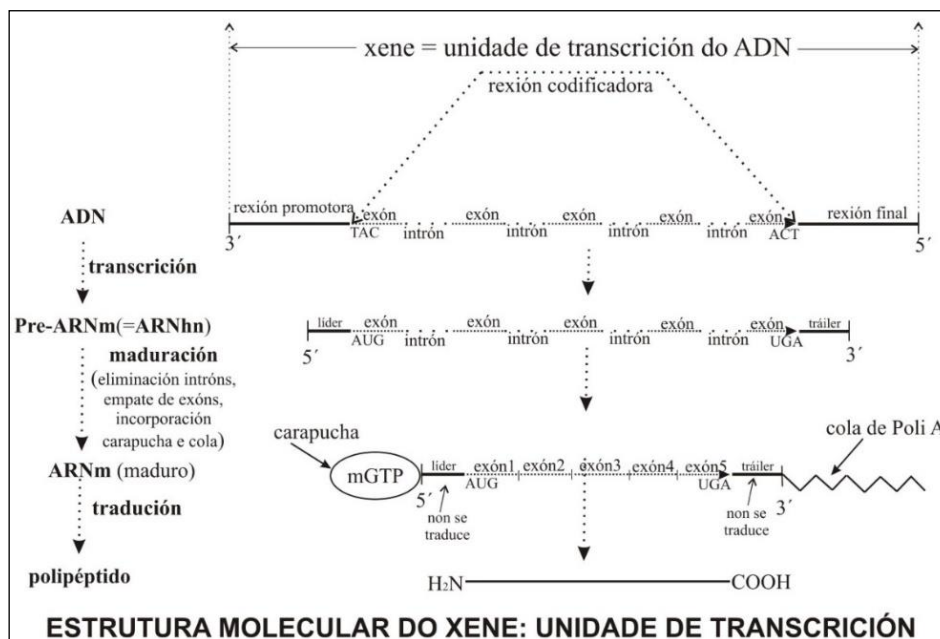


Ilustración 5. Transcrición e maduración dun xene eucariota.

3.2 Mecanismo xeral da transcrición de ARN

Todos os organismos, eucariotas e procariotas, sintetizan o ARN conforme a unha reacción catalizada pola **ARN polimerase**. Esta ARN polimerase fabrica ARN utilizando ADN como molde e, a diferenza da ADN polimerase, non necesita cebador para comezar a síntese do ARN.

O **funcionamento da ARN polimerase** é moi parecido ao da ADN polimerase na replicación, pero neste caso, en lugar de desoxirribonucleótidos, empréganse ribonucleótidos trifosfato (ATP, CTP, GTP e UTP). A reacción global é a seguinte: $ARN_n + NTP \rightarrow ARN_{n+1} + PPi$.

Como modelo, explícase a continuación o proceso de **transcrición dun ARN mensaxeiro** nas células eucariotas. As fases que comprende son as seguintes:

- **Iniciación:** o inicio da transcrición está determinado no xene pola rexión promotora, a cal posúe a secuencia de nucleótidos TATA. A ARN polimerase debe recoñecer esta rexión para iniciar a transcrición, e esta é posible grazas á unión dun grupo de proteínas chamadas factores de transcrición.

- **Alongamento:** despois de unirse ao promotor, a enzima **ARN polimerase II** (específica para a síntese do ARNm) desprázase sobre a rexión codificadora do xene en dirección 3'→5' e, ao mesmo tempo, sintetiza o ARN complementario na dirección antiparalela 5'→3'. Unha vez transcritos uns 30 nucleótidos engádense no extremo 5' unha **carapucha** de metilguanosa-trifosfato (mGTP) que protexe ao ARN da degradación polas exonucleases e ademais serve de sinal de transporte do ARNm cara os ribosomas. A síntese do ARNm continua transcribindo a rexión codificante do xene, tanto as secuencias xénicas con información, exóns, como as secuencias non informativas, intróns.
- **Terminación:** a síntese de ARNm remata cando aparece no xene a rexión final, que se corresponde coa secuencia TTATTT (no ARN transcríbese como AAUAAA). Despois duns 10-30 nucleótidos desta secuencia unha nucleasa específica realiza un corte liberando o ARN transcrito, ao cal a enzima poliA polimerase engade posteriormente no extremo 3' unha cola de unhas 200 adeninas, a **cola poliA**. Esta cola de adeninas proporciona ao ARN inmaduro unha maior estabilidade e axuda no transporte desde o núcleo cara o citoplasma.
- **Maduración ou procesamento:** para que transcrito primario sexa completamente funcional é preciso eliminar os intróns. Este proceso é levado a cabo mediante un proceso de corte e empalme catalizado por un complexo macromolecular denominado **complexo de empalme** ou **spliceosoma**, constituído por un grupo de ribonucleoproteínas nucleares pequenas. Unha vez eliminados os intróns, o transcrito xa é un ARN mensaxeiro maduro.

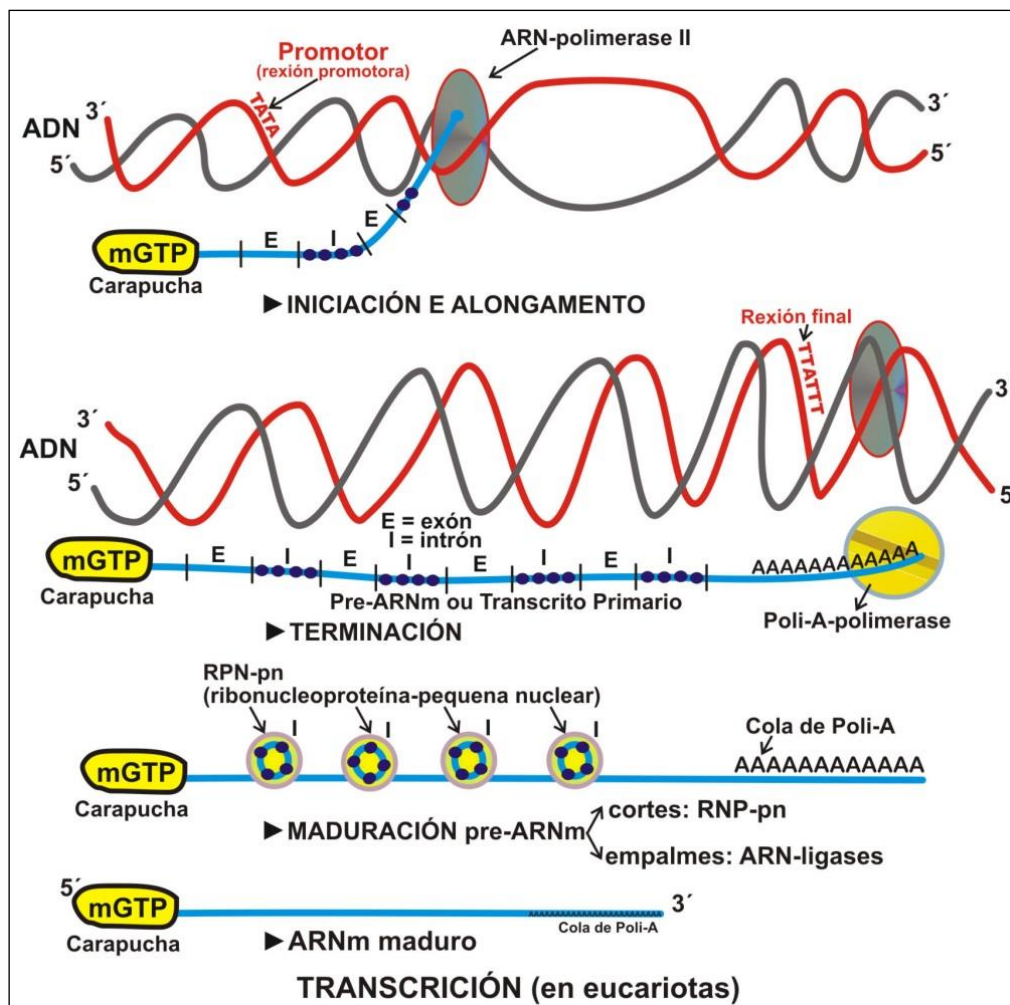


Ilustración 6. Transcripción dun ARN mensaxeiro eucariota.

3.3 Principais diferenzas na transcrición entre células eucariotas e procariotas

A transcrición nos organismos eucariotas, como adoita suceder con outros procesos é máis complexa, coa participación dun número maior de enzimas, proteínas (como factores de transcrición) e presenza de fases adicionais para obter o ARNm maduro. As principais diferenzas enuméranse nos seguintes puntos:

- **ARN polimerases:** os tipos de ARN polimerases varían entre as células procariotas e eucariotas:
 - **Células procariotas:** só existe unha ARN polimerase, a cal sintetiza os tres tipos de ARN, mensaxeiro, ribosómico e transferente.
 - **Células eucariotas:** existen tres tipos de ARN polimerases, cada unha delas especializada na transcrición dun tipo de ARN:
 - **ARN pol I:** localízase no nucléolo e sintetiza os ARNr (28S, 18S e 5S).
 - **ARN pol II:** localízase no nucleoplasma e sintetiza principalmente os precursores dos ARNm, os pre-ARNm (ARNhn).
 - **ARN pol III:** localízase no nucleoplasma e sintetiza os ARNt e ARNr 5S.
- **ARNm:** en eucariotas é **monocistrónico**, leva a información para fabricar unha única proteína, mentres que en procariotas é **policistrónico**, é dicir, leva información para fabricar máis de unha proteína.
- **Maduración do ARNm:** en eucariotas o pre-ARNm sofre modificacións para converterse nun ARN maduro: adición dunha carapucha no extremo 5', dunha cola de poliA no extremo 3' e eliminación de intróns. Os ARNm de procariotas non precisan de maduración, pois carecen de exóns e intróns.

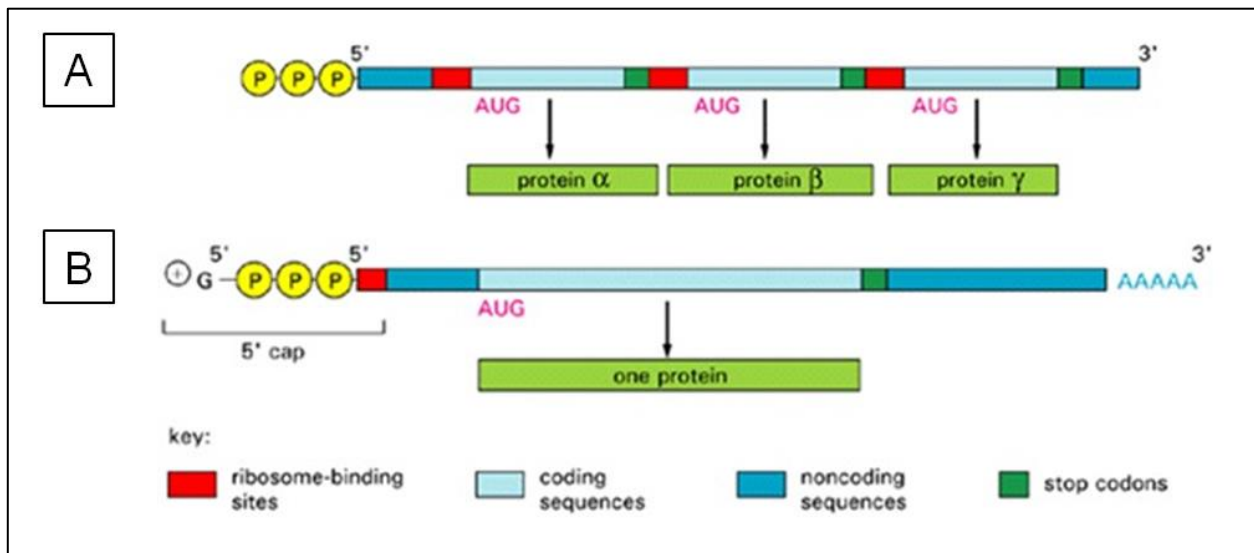


Ilustración 7. ARN mensaxeiros. A: ARNm procaritota. B: ARNm eucariota.

- **Lugar da transcrición e tradución:**
 - **Células eucariotas:** ten lugar no núcleo. Unha vez formado o ARNm atravesa a envoltura nuclear polos poros nucleares e realizan a súa función no citoplasma, onde son traducidos a proteínas polos ribosomas. Ademais, a transcrición e a tradución son procesos independentes, illados no espazo e no tempo.

- **Células procariotas:** a transcripción ten lugar no citoplasma. O ARNm pode iniciar a súa tradución mesmo antes de que remate totalmente a transcripción xa que as células procariotas non presentan núcleo diferenciado e o ARNm non necesita madurar por carecer de intróns. Nos organismos procariotas a transcripción e a tradución son procesos que ocorren no mesmo espazo e de forma simultánea. A medida que o ARN é sintetizado xa pode comezar a ser traducido.

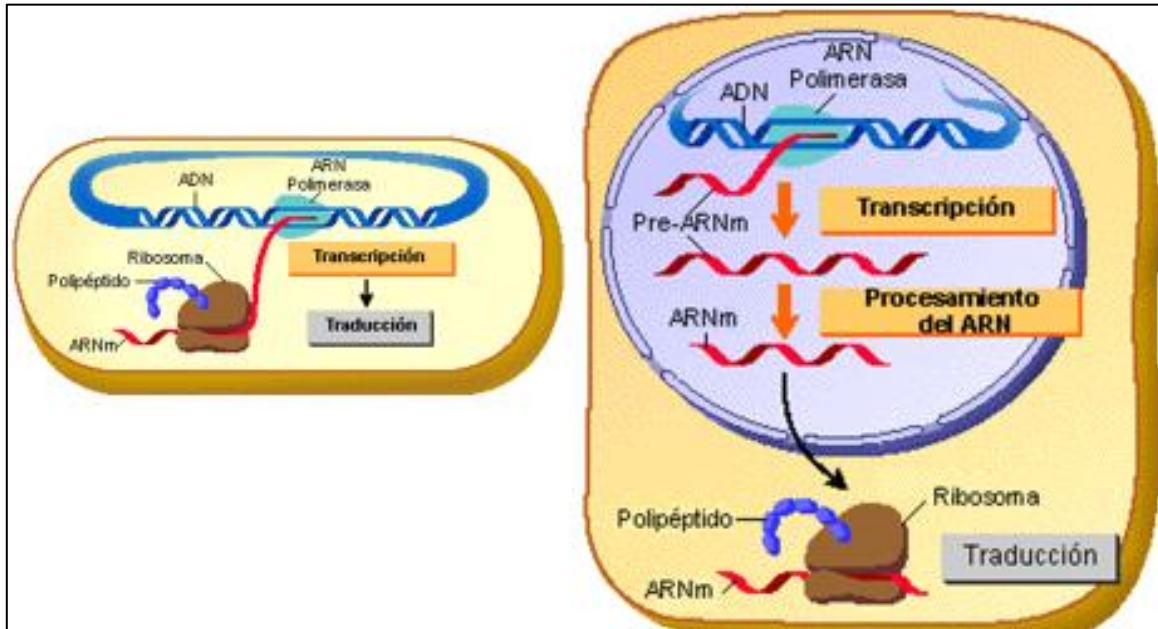


Ilustración 8. Transcripción e tradución dun ARNm en células procariotas e eucariotas.

3.4 Retrotranscrición e replicación de ARN

A **retrotranscrición** é o proceso que permite sintetizar ADN a partir da información contida no ARN grazas á acción da enzima **retrotranscritase** (reversotranscritase ou transcritase inversa). Este proceso dáse nos retrovirus, un tipo de virus ARN como o VIH (Virus da Inmunodeficiencia Humana), que almacenan a súa información xenética en forma de ARN.

Outros virus ARN, que tamén almacenan a súa información xenética en forma de ARN, replican o seu material xenético empregando como molde o seu propio ARN e as súas ARN polimerases.

Estes dous procesos só ocorren en virus, e considéranse unha excepción no dogma central da bioloxía molecular.

4. A tradución

4.1 Código xenético

A información xenética do ADN é transportada a través do ARNm ata os ribosomas, onde o proceso de tradución permite a expresión desta información en forma de proteínas. Para poder levar a cabo este proceso é necesario un sistema que relacione as secuencias de nucleótidos dos ARN mensaxeiros cos aminoácidos que forman as proteínas, e ese sistema é o **código xenético**.

As principais **características do código xenético** son as seguintes:

- Como o ARNm é un polímero lineal de 4 nucleótidos e as proteínas son polímeros de 20 aminoácidos, o número mínimo de nucleótidos para codificar cada aminoácido é de tres nucleótidos ($4^3 = 64$ tripletes posibles).
- Cada triplete de nucleótidos do ARNm (**codón**) determina un aminoácido. Dado que existen máis codóns (64) que aminoácidos (20), o código xenético é **dexenerado** pois diferentes codóns poden codificar para un mesmo aminoácido pero **non ambiguo**, xa que cada codón sempre codifica un mesmo aminoácido.
- Existen tres **codóns de terminación**, que non codifican para ningún aminoácido (UAA, UAG e UGA) e un **codón de iniciación** (AUG) que codifica para metionina.
- **Non hai solapamentos** nin espazos en branco entre tripletes, de maneira que cada nucleótido só pertence a un triplete.
- É “**universal**”, pois o mesmo triplete codifica para o mesmo aminoácido en diferentes especies. Existen algunhas excepcións a esta universalidade, como nas mitocondrias e nalgúns protozoos. Por exemplo, o codón AGA que no núcleo se traduce como arxinina (Arg), na mitocondria é un codón de terminación.

		Segunda Letra								
		U		C		A		G		
Primeira Letra (extremo 5')	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	Terceira Letra (extremo 3')
		UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U	
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg		
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg		
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg		
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U	
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser		
	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg		
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg		
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U	
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly		
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly		
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly		

Ilustración 9. Código xenético.

4.2 Mecanismo xeral da tradución de proteínas

No proceso de tradución podemos distinguir dúas fases: a activación dos aminoácidos que se utilizarán para fabricar a proteína e a síntese da proteína.

Activación dos aminoácidos

Para poder participar no proceso de tradución os aminoácidos deben unirse aos seus ARNt específicos para formar os distintos **aminoacil-ARNt**. Esta reacción ten lugar no citosol, precisa enerxía aportada polo ATP e é mediada pola enzima aminoacil-ARNt sintetase.

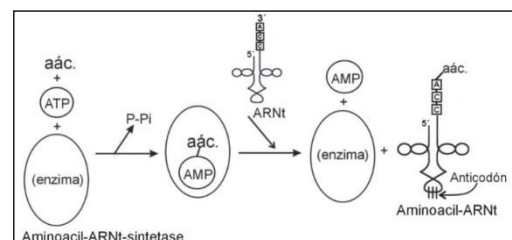


Ilustración 10. Activación dos aminoácidos.

Síntese das proteínas

O primeiro aspecto básico que debe ser tratado é o sentido no que se realiza a síntese de proteínas: a secuencia de nucleótidos do ARNm lese de 5' a 3', mentres que a secuencia de aminoácidos do polipéptido constrúese desde o extremo amino ao carboxilo.

Iniciación da cadea polipeptídica: o ARNm únese á subunidade menor dos ribosomas, e a estes asóciase o aminoacil-ARNt complementario ao primeiro codón do ARNm. Esta asociación ten lugar por complementariedade de bases entre o codón do ARNm e o anticodón do ARNt. A este grupo de moléculas únese a subunidade ribosómica maior, con consumo de enerxía e participación de factores de iniciación, formándose o complexo ribosomal activo. O primeiro triplete ou codón que se traduce é xeralmente o AUG, que corresponde co aminoácido metionina en eucariotas e fenilmetionina en procariontes.

Alongamento da cadea polipeptídica: o complexo ribosomal posúe dous centros de unión para os aminoacil-ARNt. O **centro peptidil** ou centro P, onde se sitúa o primeiro aminoacil-ARNt, e o **centro aceptor** ou centro A, onde se sitúa o seguinte aminoacil-ARNt. Nesta etapa suceden dous procesos, nos cales participan diferentes factores de alongamento:

- **Formación do enlace peptídico:** o extremo carboxilo do aminoácido inicial únese co extremo amino do aminoácido seguinte mediante enlace peptídico grazas á enzima **peptidil transferasa**, liberando o primeiro aminoácido do seu ARNt. O centro P queda entón ocupado por un ARNt sen aminoácido, que sae do ribosoma, e o centro A queda ocupado por un dipeptidil-ARNt.
- **Translocación ribosomal:** trala formación do enlace peptídico ten lugar a translocación ribosomal, desprazándose o complexo ribosomal un codón sobre o ARNm, situando o dipeptil-ARNt no centro P e, segundo a terminación do terceiro codón, unindo o terceiro aminoacil-ARNt no centro A.

A operación repítese, formando un tripéptido no centro A, seguido dunha nova translocación e chegada dun novo aminoacil-ARNt. Estes pasos pódense repetir múltiples veces, segundo o número de aminoácidos que conteña o polipéptido.

Terminación da cadea polipeptídica: o final da síntese ocorre cando o ribosoma chega a un codón de terminación (UAA, UAG ou UGA), que indican a finalización da síntese da cadea polipeptídica. Os factores de terminación impiden que chegue un novo aminoacil-ARNt ao centro A e facilitan a separación das dúas unidades ribosómicas e do ARNm. O polipeptidil-ARNt sepárase do ribosoma e logo a enzima **peptidil transferasa** rompe o enlace entre a cadea polipeptídica e o ARNt, liberando o polipéptido.

Pregamento e asociación de cadeas: a medida que se vai sintetizando a cadea polipeptídica esta vai adoptando unha estrutura secundaria e terciaria. A conformación final, supón xeralmente algún cambio como a perda de aminoácidos no extremo amino terminal, fosforilación de aminoácidos, unión dalgún grupo prostético, etc. Finalmente, se a proteína posúe estrutura cuaternaria, ten lugar a asociación de varias cadeas polipeptídicas.

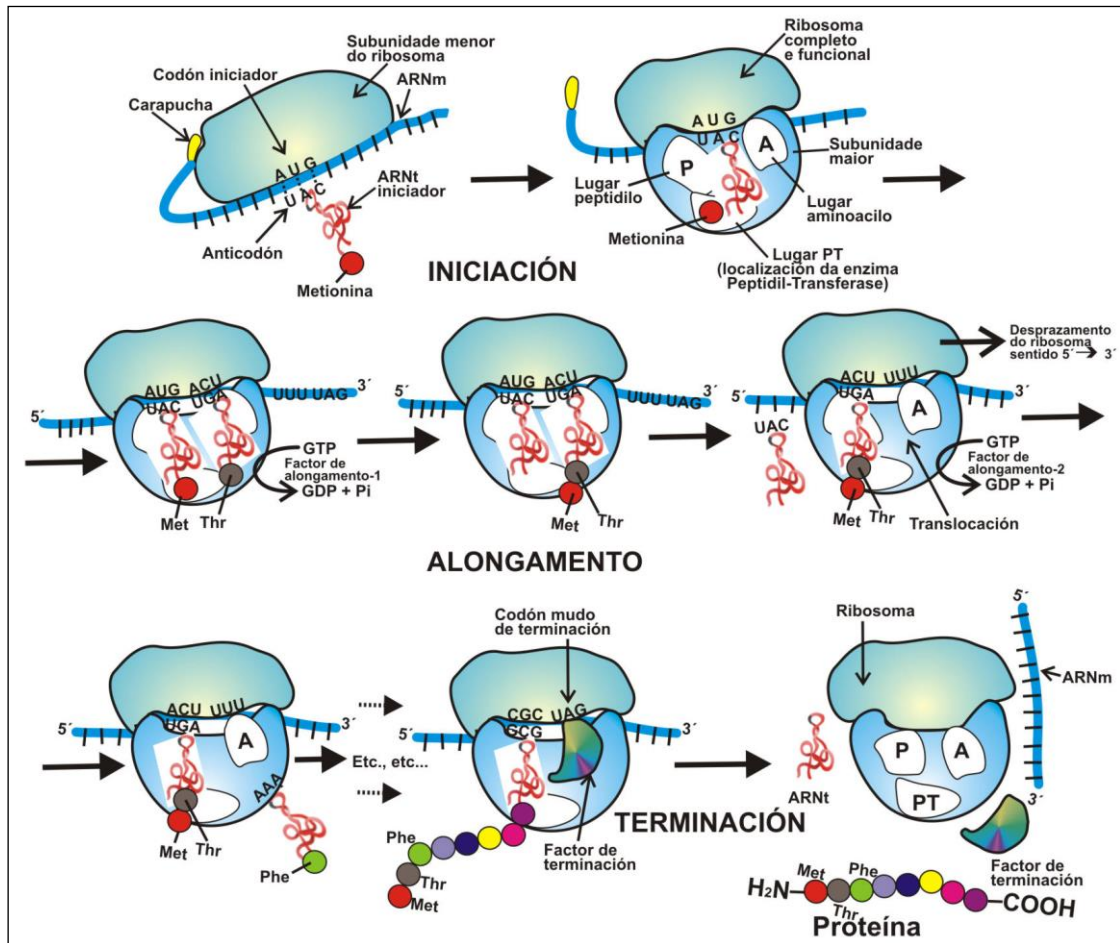


Ilustración 11. Tradución de proteínas.

5. A regulación da expresión xénica

As células non sintetizan de forma continua todas as proteínas que teñen codificadas no ADN xa que isto produciría un gasto innecesario de enerxía e recursos e dificultaría a regulación do metabolismo. En lugar diso, na célula existe unha **regulación da expresión dos xenes**, e esta é imprescindible para que a célula sintetice as moléculas que precisa no momento e na cantidade adecuados.

O sistema de regulación xénica está baseado principalmente no control da transcrición, pois a cantidade de proteínas sintetizadas depende directamente do ARNm presente no citoplasma. Como o ARNm ten un tempo de vida determinado e a cantidade de ARNm sintetizado regula os niveis enzimáticos, a regulación da síntese dos ARNm convértese nun punto de control eficiente para controlar o metabolismo celular.

5.1 Regulación da expresión xénica en procariontes: operón

Nas células procariontes a síntese de ARNm é regulada directamente pola presenza ou ausencia do substrato dunha reacción química. Este mecanismo de regulación xénica foi descuberto por **Jacob e Monod** nas bacterias e denomínase **operón**.

Un operón é un conxunto de xenes que codifican a formación de proteínas diferentes, pero todas elas están implicadas en procesos bioquímicos estreitamente relacionados como, por exemplo, o conxunto de enzimas que interveñen na síntese ou degradación dun determinado composto. Todos estes xenes localízanse próximos entre si no mesmo cromosoma, facilitando a regulación da súa expresión xénica se realice de xeito coordinado.

En cada operón distínguense as seguintes secuencias:

- **Promotor (P):** é a rexión na que se une a ARN polimerase para iniciar a transcrición. Sitúase próxima aos xenes estruturais.
- **Operador (O):** é unha rexión intercalada entre o promotor e os xenes estruturais, que controla a transcrición, podendo inducila ou reprimila. Os **operóns inducibles** son activados mediante un inductor para que comece a transcrición dos xenes estruturais, mentres que os **operóns reprimibles** son desactivados por un represor que impide a síntese dos xenes estruturais.
- **Xene regulador (R):** sintetiza a proteína reguladora que se une ao operador, inducendo ou reprimindo a expresión xénica. As proteínas represoras ao unirse ao operador impiden o avance da ARN polimerase.
- **Xenes estruturais (XE1, XE2, XE3,...):** sintetizan as proteínas e enzimas que participan nun determinado proceso bioquímico.

Un exemplo ben coñecido deste tipo de regulación xénica é o **operón lac**. Este operón regula a síntese das enzimas necesarias para procesar a lactosa, as cales só se producen cando esta está presente no medio, polo que se trata dun operón inducible.

Os xenes presentes neste operón son os seguintes:

- **Xenes estruturais:** β -galactosidase (lac Z), permease (lac Y) e transacetilase (lac A). Cada un dos tres xenes está precedido por un sitio de unión a ribosomas que dirixe independentemente a tradución de cada xene.
- **Xene regulador (lac I):** codifica o represor lac, unha molécula difundible que provoca a represión do operón ao unirse ao operador. Este xene transcríbese a partir do seu propio promotor, independentemente dos xenes estruturais.

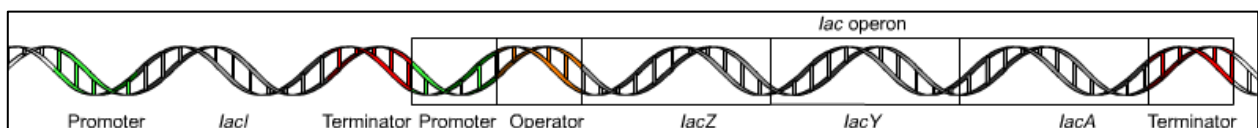


Ilustración 12. Operón lactosa.

En **ausencia de lactosa** os xenes do operón lac están reprimidos, pois a proteína represora, produto da expresión do xene I, está unida ao operador impedindo o avance da ARN polimerase.

En **presencia de lactosa** o operón actívase, producindo a síntese das enzimas que a metabolizan a lactosa. Nesta situación a lactosa actúa como inductor, uníndose ao represor lac e impedindo que este se una ao operador. Ao quedar libre o operador, a ARN polimerase pode continuar a lectura e transcrición dos xenes estruturais, producindo as enzimas que metabolizan a lactosa. Unha vez sintetizadas estas enzimas procesan a lactosa converténdoa en glicosa e galactosa, deixando ao represor libre, que se une outra vez ao operador para reprimir a expresión destas enzimas.

O mecanismo de funcionamento é práctico e eficiente. Cando hai lactosa no medio a célula precisa expresar os xenes implicados no seu metabolismo. Se non hai lactosa no medio, non son necesarias as proteínas requiridas para ese metabolismo, así que o operón permanece reprimido pola unión do represor Lac.

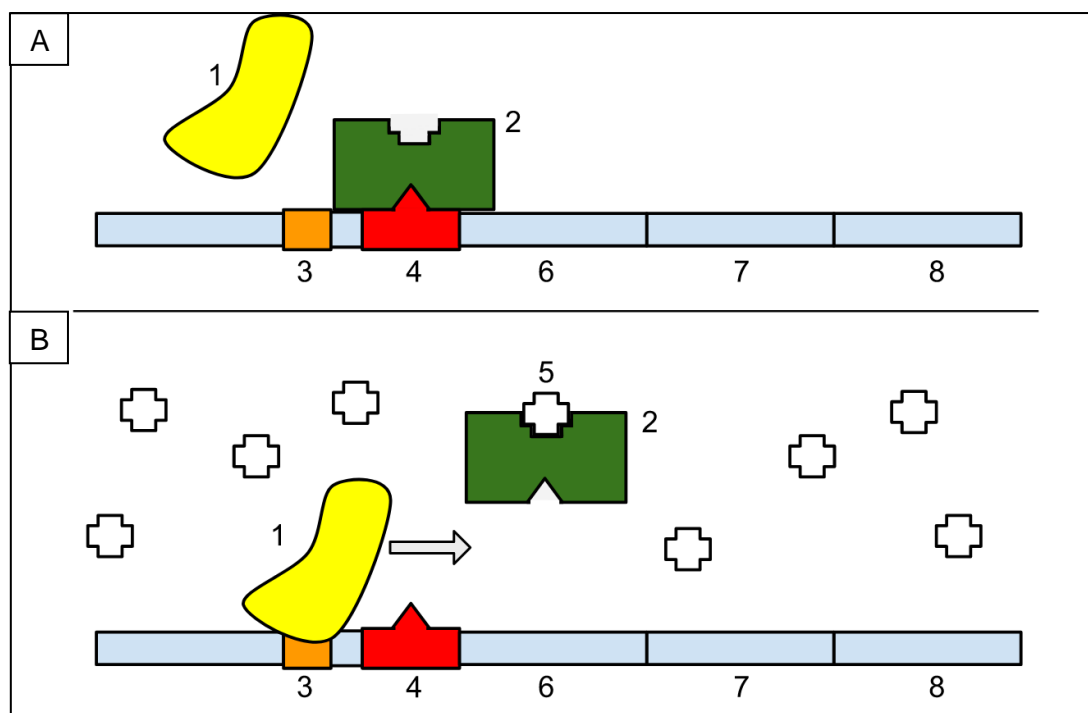


Ilustración 13. Funcionamento do operón lactosa. A: Operón Lac reprimido. B: Operón Lac activo. (1. ARN pol, 2. Represor, 3. Promotor dos xenes estruturais, 4. Operador, 5. Lactosa, 6. Lac Z, 7. Lac Y, 8. Lac A).

5.2 Regulación da expresión xénica en eucariotas

En células eucariotas a regulación da expresión xénica desempeña un papel fundamental na diferenciación celular. Nestes organismos, ademais da regulación mediante xenes reguladores e estruturais, existen complexos proteicos reguladores da estrutura do ADN, facilitando ou dificultando o acceso da maquinaria transcricional aos xenes.

A regulación da expresión xénica en eucariotas pode actuar a distintos niveis:

- **Control pre-transcricional:** depende do grao de condensación da cromatina xa que o inicio da transcripción require o acceso da maquinaria molecular responsable do proceso á fibra de ADN que se vai transcribir. Isto explica que a heterocromatina (cromatina moi condensada) e xenes que se atopan en rexións temporalmente condensadas non se transcriban.
- **Control transcricional:** depende da unión da ARN polimerase ao promotor do xene. Aquí participan os factores de transcripción, proteínas activadoras ou represoras que facilitan ou impiden o achegamento da ARN polimerase ao promotor. O funcionamento destes factores está controlado pola concentración de hormonas do medio interno, as cales poden realizar a súa función na célula directamente ou a través de segundos mensaxeiros como o AMP cíclico (AMPC).
- **Control post-transcricional:** trátase, principalmente, da degradación do ARNm tras o seu tempo de vida característico.

6. As mutacións

6.1 Concepto de mutación

Unha **mutación** é un cambio que se produce no material xenético debido a erros na replicación ou no reparto dos cromosomas durante a meiose.

Estes erros producidos ao azar moitas veces son **prexudiciais**, orixinando enfermidades ou deficiencias que poden chegar a ser letais para o organismo, aínda que xeralmente son recesivas e permanecen ocultas. Outras veces as mutacións aportan algunha vantaxe para o organismo e se consideran **beneficiosas**, mentres que en outros casos as mutacións non implican nin prexuízo nin beneficio, polo que se consideran **silenciosas** ou **neutras**.

Ademais, segundo o tipo de célula afectada as mutacións poden ser **somáticas**, se afectan ás células corporais; ou **xerminais**, se afectan ás células reprodutoras, sendo estas últimas herdables e transmisibles á descendencia.

6.2 Orixe das mutacións

Mutacións endóxenas

As mutacións endóxenas son o tipo de mutación máis frecuente e teñen a súa orixe en procesos ou axentes propios do interior celular en condicións normais. Poden orixinarse por:

- **Erros na replicación:** é producida polo emparellamento dunha base nitroxenada cunha base non complementaria, debido a erros cometidos polas polimerases que non son corrixis. Calcúlase que a taxa de mutación na especie humana anda en 1 mutación por cada 100.000 gametos.
- **Reaccións espontáneas no ADN:** as bases nitroxenadas do ADN poden experimentar reaccións espontáneas, sen intervención de enzimas, que cambian a súa estrutura, e que de non ser corrixis polos sistemas de reparación da lugar a mutacións. Un exemplo é a desaminación que experimenta a citosina transformándose en uracilo, a cal ocorre de forma espontánea unhas 100 veces ao día.
- **Subprodutos celulares:** na célula fórmanse compostos químicos que reaccionan coas bases nitroxenadas ou cos nucleósidos modificándoos. Os mutáxenos endóxenos máis frecuentes son as especies reactivas de osíxeno (anión superóxido e radical hidroxilo), radicais libres producidos polo metabolismo oxidativo, especialmente na mitocondria.
- **Transposóns:** son fragmentos móbiles de ADN que poden cambiar de posición dentro do seu cromosoma ou entre varios, producindo variacións cromosómicas novas.

Mutacións esóxenas ou inducidas

As mutacións esóxenas están provocadas por axentes físicos, químicos e biolóxicos alleos á célula, denominados mutáxenos esóxenos. Diferéncianse os seguintes tipos:

- **Mutacións inducidas por axentes físicos:** destacan os efectos das radiacións:
 - **Radiación ultravioleta (UV):** é un compoñente da luz solar que provoca danos superficiais nas células da pel, formando dímeros de timina que impide que estas

bases se emparellen coas adeninas complementarias, ademais de paralizar a replicación.

- **Radiacións ionizantes** (raios X, ou raios γ): teñen un maior poder de penetración, afectando a todo tipo de tecidos. Entre os danos que ocasionan destacan a rotura dos aneis das bases e do esqueleto covalente do ADN.
- **Mutacións inducidas por axentes químicos:** prodúcese pola acción directa de substancias químicas presentes no ambiente, xa sexan naturais ou artificiais. Algúns destes axentes actúan como mutáxenos directos, mentres que outros precisan transformarse en carcinóxenos mediante a acción de certos enzimas. Segundo a alteración que producen poden clasificarse en:
 - **Modificadores das bases nitroxenadas:** destacan os axentes alquilantes como o etilmetanosulfato (EMS) ou as nitrosaminas, que orixinan modificacións puntuais.
 - **Análogos das bases nitroxenadas** : son substancias similares ás bases, que poden ocupar o seu lugar no ADN e provocar erros de emparellamento. Por exemplo, o 5-Bromouracilo pode substituír á timina.
 - **Substancias intercalantes:** son moléculas que se intercalan na cadea de ADN provocando mutacións por inserción ou delección. Un exemplo é o benzopireno, presente no fume e nos alcatráns do tabaco.
- **Mutacións inducidas por axentes biolóxicos:** algúns axentes biolóxicos, como os virus, poden producir cambios na expresión dos xenes ao inserir neles fragmentos de ADN de células infectadas previamente. Isto pode dar lugar á transformación da célula nunha célula cancerosa, como ocorre cos virus da hepatitis B ou o virus do papiloma humano.

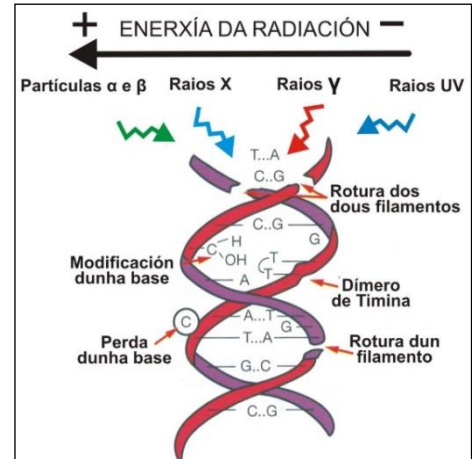


Ilustración 14. Efectos dos mutáxenos físicos.

6.3 Tipos de mutacións

Segundo a cantidade de material de ADN afectado as mutacións poden clasificarse en tres tipos:

Mutacións xénicas ou puntuais

Cambian a secuencia de un ou varios dos nucleótidos dun xene. Poden producirse por substitución, inserción ou delección de nucleótidos:

- **Substitución:** poden ser **transicións**, se se produce o cambio dunha base por outra da mesma natureza (base púrica por outra base púrica, ou base pirimidínica por outra pirimidínica), ou **transversións**, se a substitución é de unha base púrica por unha pirimidínica, ou viceversa.
- **Inserción e delección de nucleótidos:** o aumento ou perda de nucleótidos na cadea pode cambiar a pauta de lectura dos tripletes do xene, sobre todo cando os tripletes insertados ou perdidos non son múltiplo de tres.

Mutacións cromosómicas

Afectan a un segmento do cromosoma alterando a disposición e viabilidade dos xenes. As principais mutacións cromosómicas son:

- **Delección:** é a perda dun fragmento do cromosoma, o cal implica a perda de xenes.
- **Duplicación:** sucede cando unha rexión dun cromosoma se repite. O fragmento duplicado pode quedar no mesmo cromosoma.
- **Inversión:** a localización dun grupo de xenes está invertida dentro dun mesmo cromosoma debido a que un fragmento do cromosoma vira 180° ficando invertido respecto da súa posición primitiva.
- **Translocación:** é a inserción dun segmento dun cromosoma noutro cromosoma. Se a translocación sucede entre cromosomas homólogos un deles queda cun fragmento duplicado (duplicación) e o outro sufrirá a perda dese mesmo fragmento (delección), mentres que se o intercambio de fragmentos se produce entre dous cromosomas non homólogos denomínase translocación recíproca.

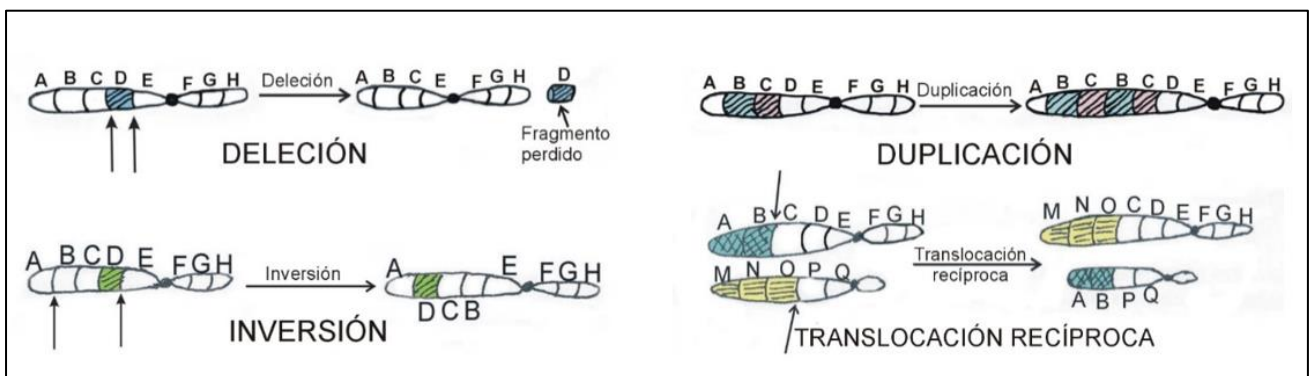


Ilustración 15. Mutacións cromosómicas.

Mutacións xenómicas

Alteran o número normal de cromosomas dunha especie, por defecto ou por exceso, modificando o conxunto do seu xenoma. As principais mutacións xenómicas:

- **Aneuploidía:** afecta só a unha ou varias parellas de cromosomas, por perda ou ganancia de cromosomas. Poden ser
 - **Monosomía:** é a perda dun cromosoma nunha parella de homólogos ($2n - 1$ cromosomas).
 - **Polisomía:** é a ganancia de cromosomas dunha parella de homólogos. Poden ser trisomías cando hai un cromosoma extra ($2n + 1$), tetrasomía cando hai dous cromosomas extra ($2n + 2$), etc. Un exemplo moi estudado é a trisomía do par 21, responsable da síndrome de Down.
- **Euploidía:** afecta a todo o xogo de cromosomas do individuo. Pode ser de dous tipos:
 - **Haploidía (monoploidía):** pérdese un dos cromosomas de cada unha das parellas de cromosomas homólogos, pasando a dotación xenética de $2n$ a n .
 - **Poliploidía:** fórmase máis dun xogo completo de cromosomas. Poden ser triploidías ($3n$), tetraploidías ($4n$), etc.



6.4 Importancia das mutacións na evolución dos seres vivos

As alteracións do ADN poden ter distintas repercusións nas células e nos individuos que as sofren en función do tipo de mutación e xenes que afecte. Se a mutación afecta ao ADN dunha célula somática só terá efectos nela e nas posibles células fillas que orixine por mitose, mentres que se a afectada é unha célula xerminal a mutación transmitirase á descendencia e será herdable.

O feito de que as mutacións poidan herdarse, xunto cos procesos de recombinación xenética e reprodución sexual constitúen os principais **mecanismos de variabilidade xenética** nas poboacións. A variabilidade xenética prodúcese de varias maneiras:

- **Mutación:** a maioría das mutacións supoñen a aparición de variantes xénicas que afectan negativamente ao organismo que as posúen, polo que tenden a ser eliminadas por selección natural. Porén, as variantes beneficiosas poden supoñer unha vantaxe para o organismo, fixándose na poboación e contribuindo á evolución a da especie.
- **Recombinación xenética:** consiste no intercambio de información entre cromosomas homólogos, permitir mesturar os xenes existentes dos cromosomas e formar gametos con novas combinacións xénicas.
- **Reprodución sexual:** o proceso de reprodución sexual produce novas combinacións xénicas na descendencia debido ao mecanismo de produción de gametos nos proxenitores. A meiose distribúe de forma aleatoria os cromosomas homólogos nos gametos, polo que cada gameto resultante é diferente dos demais. Isto explica que os descendentes sexan parecidos aos proxenitores, pero non iguais.

A existencia dos mecanismos de variabilidade xenética garante a existencia e continuidade da evolución dos seres vivos. A selección natural actúa nas poboacións exercendo unha presión selectiva en función da adaptación dos individuos ao medio no que viven. Os individuos que posúan variacións que ofrezan unha mellor adaptación ao medio perdurarán e deixarán máis descendencia que aqueles pouco adaptados, evolucionando as especies co paso do tempo.

Licenzas das ilustracións

Ilustración	Recurso
Ilustración 1: Dogma central da bioloxía molecular.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.
Ilustración 2: Orixe de replicación.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.
Ilustración 3: Síntese asimétrica e descontínua do ADN.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.
Ilustración 4: Replicación do ADN.	Autoría: LadyofHats. Licencia: CC0. Procedencia: https://gl.wikipedia.org/wiki/Replicaci%C3%B3n_do_ADN#/media/Ficheiro:DNA_replication_gl.svg
Ilustración 5: Transcrición e maduración dun xene eucariota.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.
Ilustración 6: Transcrición dun ARN mensaxeiro eucariota.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.
Ilustración 7: ARN mensaxeiros.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.
Ilustración 8: Transcrición e tradución dun ARNm en células procaríotas e eucariotas.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.
Ilustración 9: Código xenética.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.
Ilustración 10: Activación dos aminoácidos.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.
Ilustración 11: Tradución de proteínas.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.
Ilustración 12: Operón lactosa.	Autoría: Llull~commonswiki Licencia: Dominio público. Procedencia: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lac_operon1.png#/media/File:Lac_operon1.png
Ilustración 13: Funcionamento do operón lactosa.	Autoría: T A RAJU Licencia: CC BY-SA 3.0. Procedencia: https://en.wikipedia.org/wiki/Lac_operon#/media/File:Lac_Operon.svg
Ilustración 14: Efectos dos mutáxenos físicos.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.
Ilustración 15: Mutacións cromosómicas.	Procedencia: Guías para o bacharelato (LOMCE), Consellería de Cultura, Educación, Formación Profesional e Universidades.