

T9. INTRODUCCIÓN A LA BIOLOGÍA MOLECULAR. NIVELES ESTRUCTURALES DE LOS ÁC. NUCLÉICOS

Estructura de los ácidos nucleicos

Los **nucleótidos** participan en multitud de funciones celulares:

- Actúan como transmisores de energía (ATP)
- Actúan como señales químicas en los sistemas celulares en respuesta a las hormonas u otros estímulos extracelulares (AMPc)
- Son componentes extracelulares de una serie de coenzimas e intermedios metabólicos (NAD⁺, FAD, NADP⁺)
- Son los constituyentes de los ác. nucleicos.

Estos están constituidos por tres componentes característicos: **una base nitrogenada + una pentosa (azúcar) + al menos un grupo fosfato.**

Nucleósido: base nitrogenada + azúcar

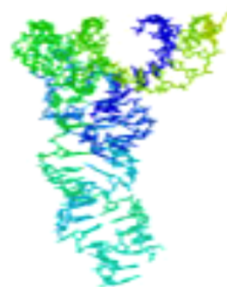
Nucleótido: base nitrogenada + azúcar + ácido fosfórico

Además, los nucleótidos son los **constituyentes de los ácidos nucleicos:**

Ác. Desoxirribonucleico (ADN)



Ác. Ribonucleico (ARN)



Presentan importantes diferencias químicas, estructurales y funcionales.

Macromoléculas minoritarias (1,5% del peso)

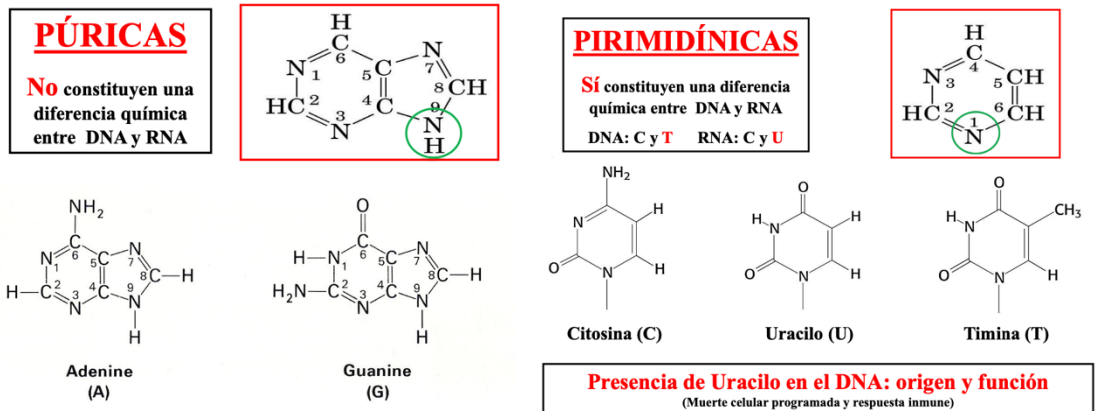
POLIMEROS LINEALES DE NUCLEÓTIDOS

Son las principales moléculas participantes en el almacenamiento y la decodificación de la información genética. Además, desempeñan papeles estructurales y catalíticos en la células.

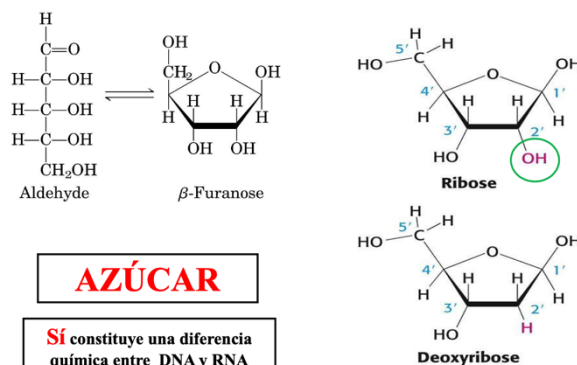
Las **bases nitrogenadas** son moléculas planas, aromáticas, heterocíclicas; que derivan de la purina o de la pirimidina,

Las **bases púricas** más comunes son la **Adenina (A)** y la **Guanina (G)**. Ambas aparecen tanto en el ADN como en el ARN. Por otro lado, las **bases pirimidínicas** principales son

la **Citosina (C)**, el **Uracilo (U)** y la **Timina (T)**. La citosina se encuentra en ambos tipos de ác. nucleicos, mientras que la timina solo aparece en el DNA y el uracilo es exclusivo del RNA.



Las bases nitrogenadas se unen a una **pentosa** (mediante el **N-1 en las pirimidinas** y el **N-9 en las purinas**), a través de un **enlace N-β-glucosídico** con el **C'-1 de la pentosa**. A los átomos de las pentosas de los nucleótidos se les añade el signo prima (') para distinguirlos de los átomos de las bases nitrogenadas.



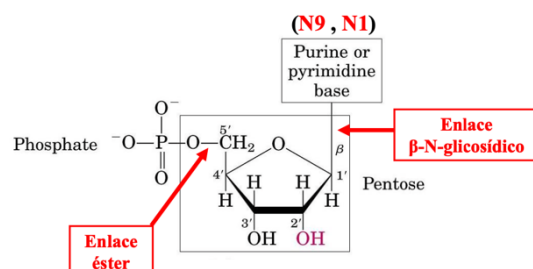
En los **ribonucleótidos**, la pentosa es la **D-ribosa**, mientras que en los **desoxirribonucleótidos** el azúcar es la **2'-desoxi-D-ribosa**. Ambos tipos de pentosas se encuentran en forma β.

El compuesto resultante de la unión de una base más la pentosa es un nucleósido.

El **grupo fosfato** se une en la posición 5' de la pentosa, normalmente (también puede aparecer en la posición 2' y 3'; como en el caso de AMPc); mediante un **enlace éster**.

La base + la pentosa + el fosfato confeccionan el nucleótido.

ENLACES ENTRE LOS DIFERENTES ELEMENTOS

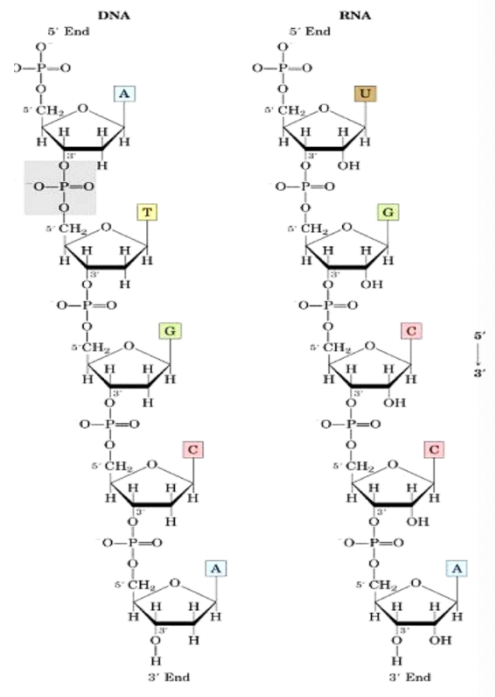


Los nucleótidos de los ácidos nucleicos están unidos por enlaces fosfodiéster: estructura primaria

Los nucleótidos se unen unos a otros para formar DNA o el RNA. La unión se realiza mediante “puentes” de grupos fosfatos; en los cuales el grupo -OH en la posición 5' de un nucleótido está unido al grupo -OH del siguiente mediante un **enlace fosfodiéster**.

El esqueleto de los ác. nucléicos consisten en **residuos de fosfatos y pentosa**, quedando las **bases nitrogenadas como grupos laterales**.

Todos los enlaces fosfodiéster tienen la misma orientación a lo largo de la cadena, con lo cual cada cadena lineal de ácido nucleico tiene una **polaridad específica** y extremos 5' y 3' diferenciados.



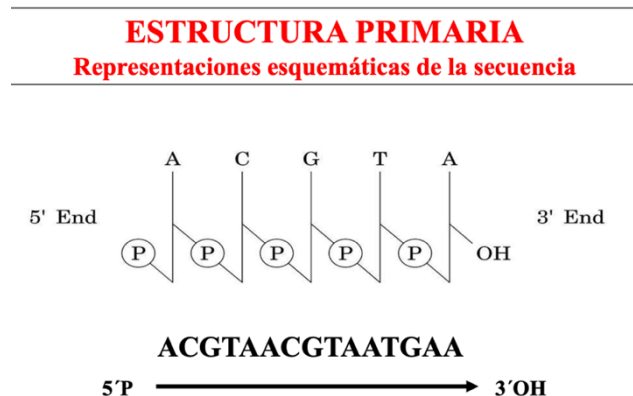
El residuo terminal cuyo C-5' no está unido a otro nucleótido se conoce como **extremo 5'**, mientras que el residuo terminal cuyo C-3' no está unido a otros se llama **extremo 3'**. Por convención, la secuencia de residuos nucleotídicos en un ác. nucleico se escribe, de izquierda a derecha, del extremo 5' hasta el 3'.

Enlaces fosfodiéster

Parte constante:
esqueleto azúcar-fosfato

Parte variable:
Secuencia de bases

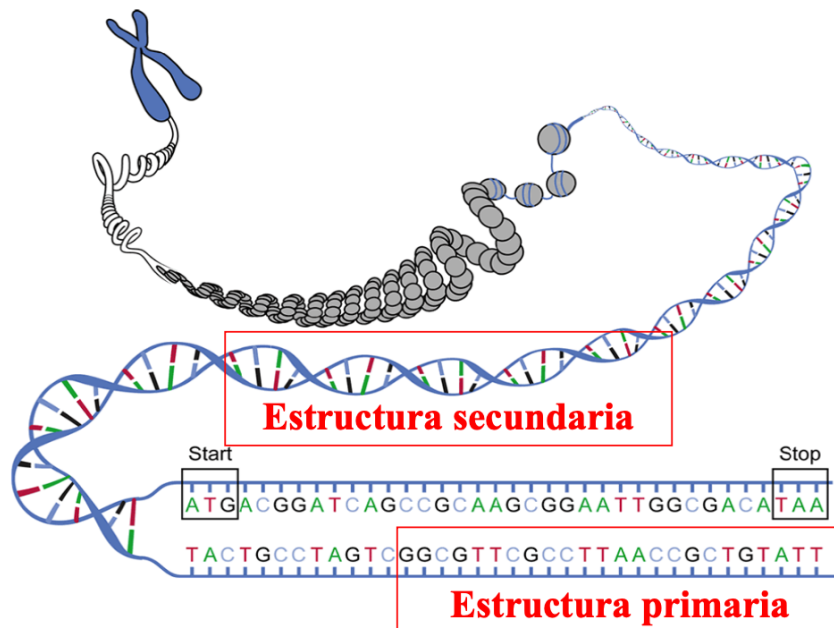
Importancia de la
POLARIDAD:
extremos 3'-OH y 5'-P



Un ác. nucleico de cadena corta se denomina oligonucleótido (generalmente hasta 50 nucleótidos); mientras que los de mayor longitud se denominan polinucleótidos.

Niveles superiores de organización del DNA

(Compactación x 100.000 veces)



Nacimiento de la biología molecular: organización estructural del DNA



E. Chargaff

A=T y G=C

R. Franklin y M. Wilkins

Imágenes de difracción de Rx

En el descubrimiento de la estructura del DNA resultó de gran importancia el trabajo de **Erwin Chargaff** (1940). Las reglas de Chargaff fueron esenciales para la deducción de la estructura tridimensional de DNA y la forma en que se codifica y transmite la información genética; siendo una de las más importantes:

En todos los DNA de diferentes especies, el número de los residuos de adenina es igual al de los residuos de timina (A=T), y el número de residuos de guanina es igual al de citosina (G=C)

Por otro lado, **Rosalin Franklin y Maurice Wilkins** utilizaron la **difracción de rayos X** para analizar fibras DNA. Demostraron que el DNA produce un diagrama de difracción de rayos X característico que permitió deducir que las moléculas de DNA son helicoidales, y que sus bases aromáticas planas forman un apilamiento paralelo al eje de la fibra.

Principales características del DNA

En 1953, **Watson y Crick** postularon un **modelo tridimensional** para el DNA.

- a) Existen dos cadenas de polinucleótidos enrolladas alrededor de un eje común, formando una **estructura de doble hélice-helicoidal**.
- b) Las dos cadenas del DNA son **antiparalelas** (transcurren en direcciones opuestas), pero cada una forma una **hélice dextrógira**.
- c) Las **bases** se encuentran **internas** en la hélice, **perpendiculares al eje**; y las cadenas de azúcares y fosfatos (**esqueletos azúcar-P**) se sitúan **externos (polares)**. Esto minimiza las repulsiones entre los grupos fosfatos cargados. La superficie de la doble hélice contiene dos hendiduras de ancho desigual: **surcos mayor y menor (gran importancia para el reconocimiento e interacción con proteínas)**.

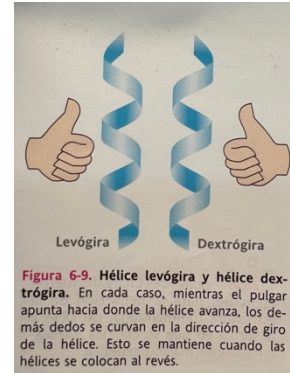
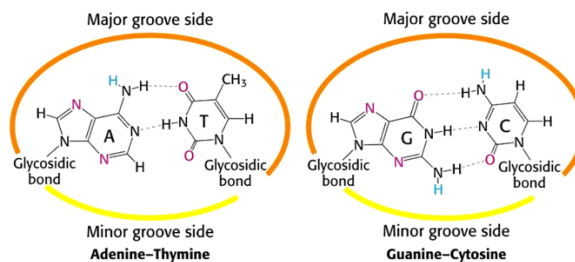


Figura 6-9. Hélice levógira y hélice dextrógira. En cada caso, mientras el pulgar apunta hacia donde la hélice avanza, los demás dedos se curvan en la dirección de giro de la hélice. Esto se mantiene cuando las hélices se colocan al revés.



- d) Cada base está unida por **puentes de hidrógeno** a una base de la hebra opuesta, para formar un par de bases plano. Cada residuo de adenina debe formar pareja con un residuo de timina (**A=T**), y cada residuo de guanina debe aparearse con un residuo de citosina (**G=C**) y viceversa.

PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS

Estructura doble-helicoidal. Dos cadenas **antiparalelas** con disposición helicoidal en torno a un eje común (plectonémica)

Dextrógira

Bases internas perpendiculares al eje. Esqueletos azúcar-P externos (polares)

Ø 20 Å; distancia entre bases 3.4 Å; 10 residuos/vuelta (34 Å)

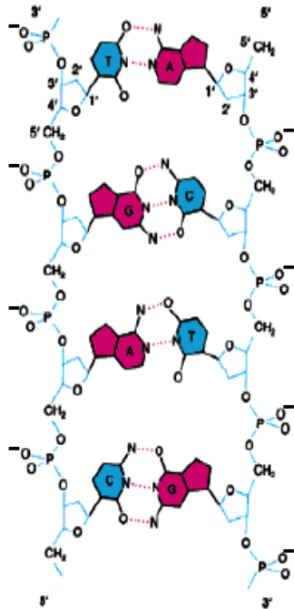
Surcos mayor y menor

Cadenas unidas por puentes de hidrógeno entre las bases (A=T ; G=C)

La secuencia de bases transporta la información genética

Fuerzas que estabilizan la estructura secundaria del DNA

La doble hélice del DNA se mantiene unida mediante distintos tipos de fuerzas: los **enlaces de hidrógeno** entre los pares de bases complementarias y las **interacciones de apilamiento** de las bases.



Puentes de Hidrógeno
entre bases enfrentadas de las dos cadenas
polinucleotídicas

Interacciones hidrofóbicas
entre bases adyacentes de la misma cadena
polinucleotídica
(fuerzas de apilamiento)

Interacciones electrostáticas
de los grupos fosfato con el agua y
contraiones (Mg^{2+} , proteínas con carga+)

Entre G y C se pueden formar tres enlaces de hidrógeno, mientras que solamente se pueden establecer dos entre T y A.

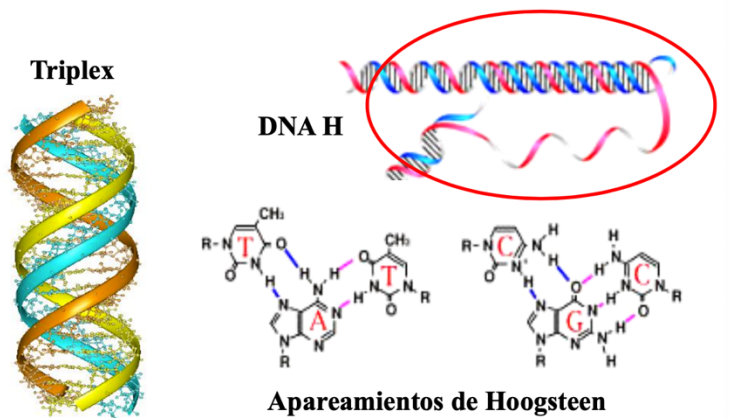
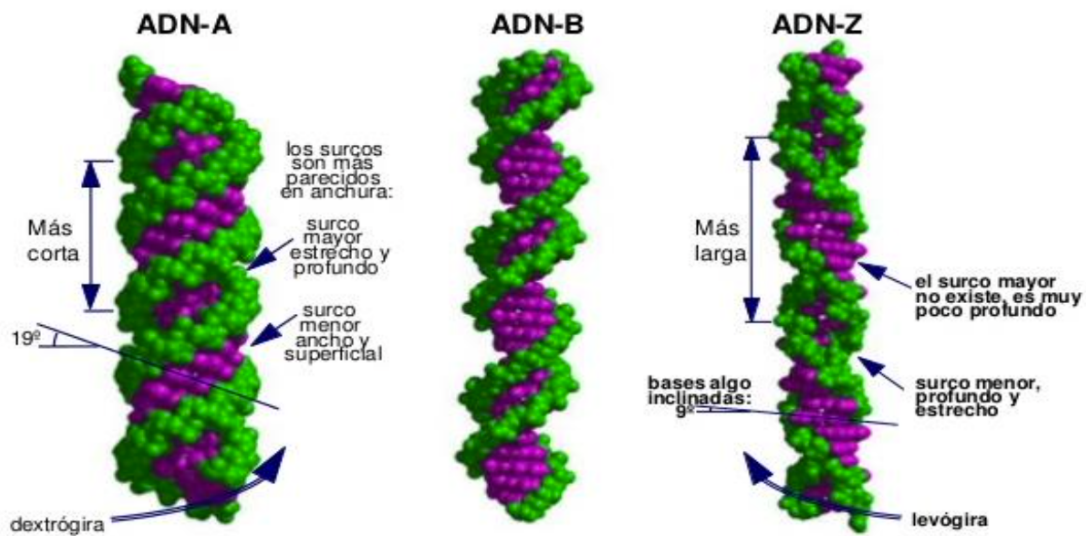
El DNA puede adoptar otras estructuras

El DNA es una molécula **muy flexible y dinámica**, que puede presentar numerosas variaciones estructurales. **Esto no afecta a la información genética pero sí a su expresión.**

La estructura de Watson y Crick se conoce también como **forma B del DNA** o **DNA-B**. La forma B es la estructura más estable que puede adoptar un DNA de secuencia al azar en condiciones fisiológicas.

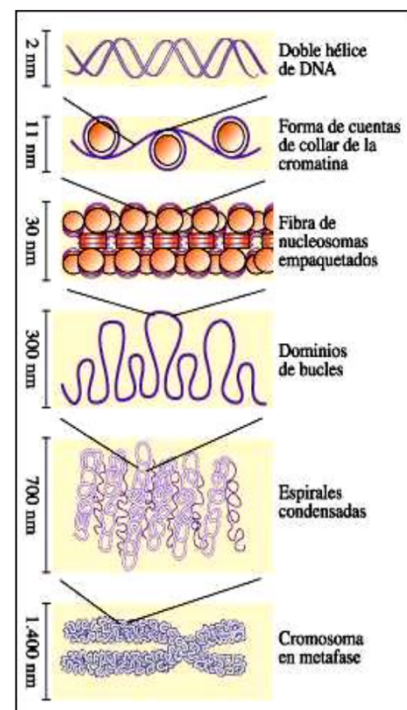
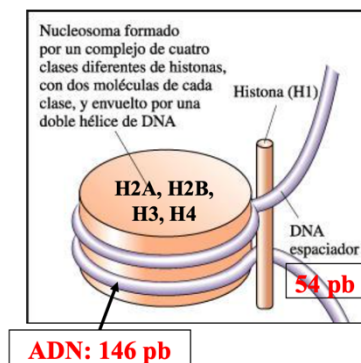
La **forma A** (variante estructural) predomina en disoluciones relativamente pobres en agua. El DNA está estructurado con una doble **hélice dextrógira**. La hélice es **más gruesa y el número de pares de bases por vuelta es de 11** en lugar de los 10,5 de la forma B. El plano de los pares de base de la forma A tiene una inclinación de unos 20° con respecto al eje de la hélice. Esto hace que **el surco mayor sea más profundo y el surco menor más superficial**.

La **forma Z** (variante estructural) supone una mayor desviación de la forma B. Es una **hélice levógira**. Contiene 12 pares de bases por vuelta, y la estructura es **más delgada y alargada**.

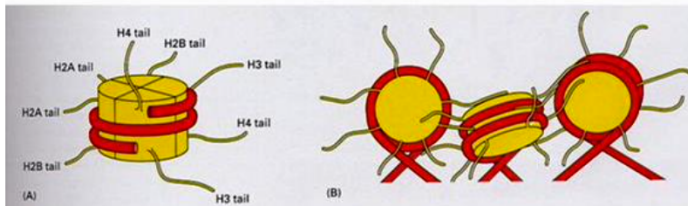


Niveles superiores de organización del DNA: el nucleosoma

Los **nucleosomas** son las unidades básicas de la cromatina. Cada nucleosoma consta de un fragmento de DNA de alrededor de 200 pb y un octámero de dos unidades de cada una de las **histonas H2A, H2B, H3 y H4**. Las histonas forman una estructura central con **146 pb del DNA** enrollados en dos vueltas alrededor formando una hélice levógira. *La forma es bastante similar a la de un hilo que forma un ovillo alrededor de un carrete.*



Tipo	Peso Molecular	Nº Residuos	Nº Residuos básicos	Nº Residuos ácidos
H1	21 000	215	65	9
H2A	14 000	129	30	9
H2B	13 800	125	39	8
H3	15 300	132	33	11
H4	11 300	102	27	8



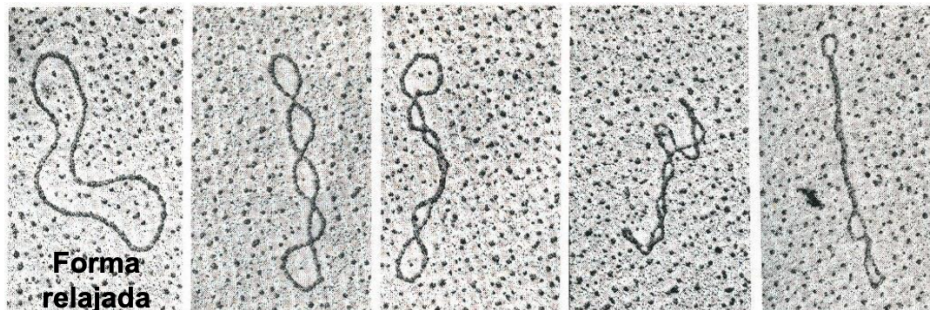
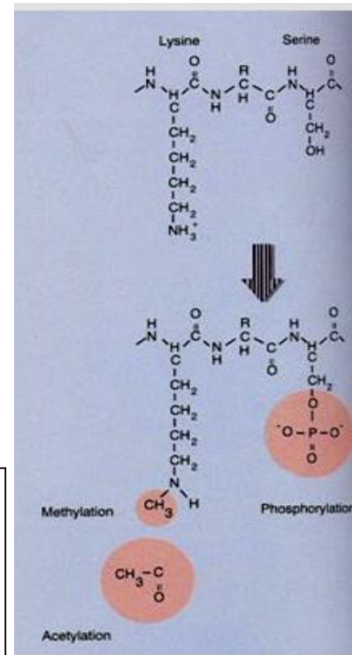
Las histonas se modifican de forma covalente-reversible

Metilaciones: Grupos amino de Lys, Arg e His

Acetilaciones: Grupo ϵ -amino Lys

Fosforilaciones: Grupo OH Ser

Las modificaciones modifican la carga $\rightarrow$ organización del nucleosoma y la actividad génica (**Regulación Epigenética**)



SUPERENROLLAMIENTO: diferentes grados = TOPOISÓMEROS



Forma de compactación y REGULACIÓN DE LOS PROCESOS que implican al DNA

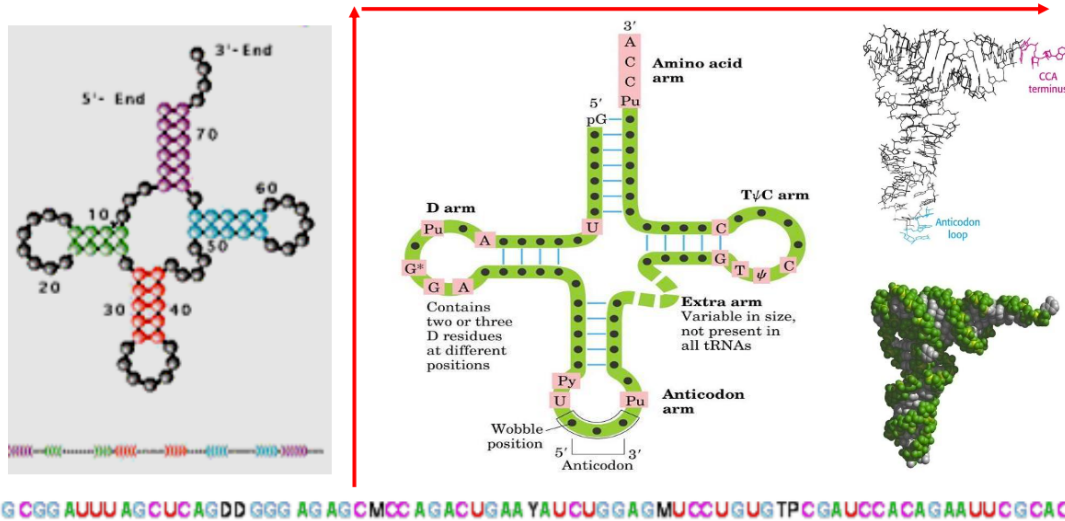
Controlado enzimáticamente por **TOPOISOMERASAS**



TOPOISOMERASAS: dianas de antibióticos

Organización estructural del RNA

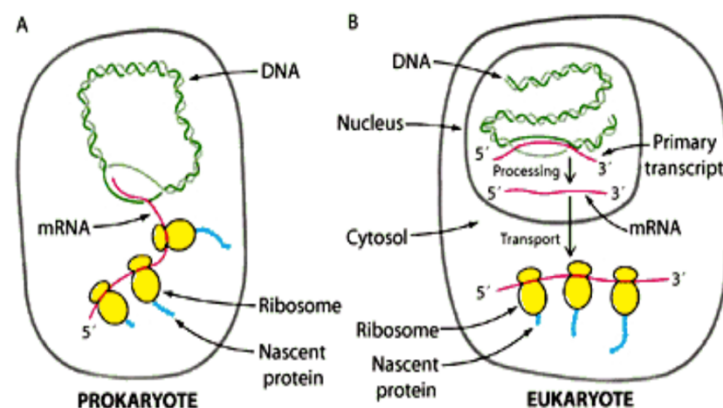
En origen “todas” las moléculas de **RNA** son **monocatenarias**, pero, por **plegamiento sobre sí mismas** adoptan una **disposición tridimensional característica** que les permite **desempeñar su función**.



Estructura en hoja de trébol de los tRNA. Los puntos grandes representan residuos nucleotídicos, mientras que las líneas azules representan pares de bases. Los residuos característicos y/o invariables comunes a todos los tRNA aparecen en rosa. En el extremo del brazo del anticodón se encuentra en bucle del anticodón, que contiene siempre siete nucleótidos no apareados. Pu: nucleótido purínico; Py: nucleótido pirimidínico; G: guanilato o 2'-o-metilguanilato.

Un segmento de DNA que contiene la información necesaria para la síntesis de un producto biológico funcional (proteína o RNA) se denominan **gen**. Las células tienen miles de genes, lo que explica que las moléculas de DNA sean muy grandes.

La **organización génica** de procariotas y eucariotas es diferente; siendo la vía de **expresión génica en las eucariotas mucho más compleja**.



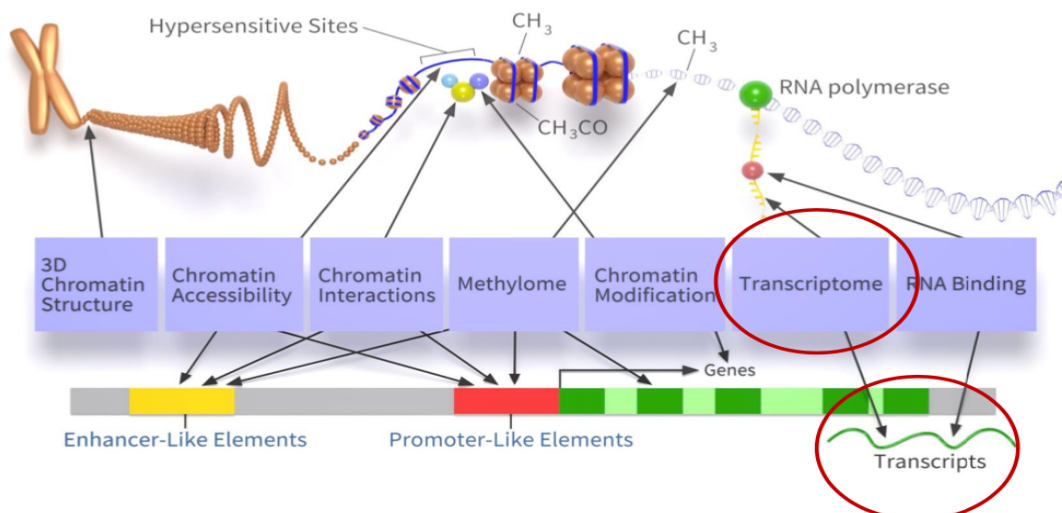
Solo el **1'5-2%** de las secuencias del DNA aparecen en **proteínas**.
¿Qué función tiene el DNA restante?

The ENCODE Project: ENCyclopeia Of DNA Elements

El **proyecto ENCODE**, en el que han trabajado 442 científicos durante diez años, ha hallado que el 80% del ADN contiene elementos vinculados a funciones bioquímicas, desterrando la idea de que gran parte del ADN es simplemente 'basura' evolutiva y obligando a redefinir el concepto de gen como unidad mínima heredada. Hasta ahora la ciencia se había centrado en un 2% del genoma, la que se pensaba que tenía una utilidad.

Lo que muestra el proyecto ENCODE es que el ADN y la regulación bioquímica de la célula es mucho más compleja de lo que nunca ha podido imaginarse, ya que gran parte del ADN no codificante, que no se expresa en proteínas, tiene funciones de regulación, por lo que pueden relacionarse con enfermedades y convertirse en dianas terapéuticas.

Conclusión ENCODE: el **80% del genoma es funcional** (basado principalmente en el hecho de que el 75% del genoma a veces se transcribe).



El vínculo entre DNA y las enzimas (en su gran mayoría proteínas) es el RNA. El DNA de un gen se **transcribe** para producir una molécula de RNA que es complementaria con el DNA. La secuencia de RNA es **traducida** a la secuencia correspondiente de aa para formar una proteína. Esta transferencia de información biológica se resume en el llamado **dogma central de la biología molecular** (Crick, 1958).



Moléculas de RNA presentes en procariotas y eucariotas y su función:

ARN ribosómicos (rRNA): es el **componente principal estructural de los ribosomas**. Desempeña un papel tanto catalítico como estructural de la **síntesis protéica**.

ARN transferasas (tRNA): **transporta los aminoácidos en forma activada al ribosoma** para la síntesis protéica.

ARN mensajeros (mRNA): molde/**plantilla para la síntesis protéica**.

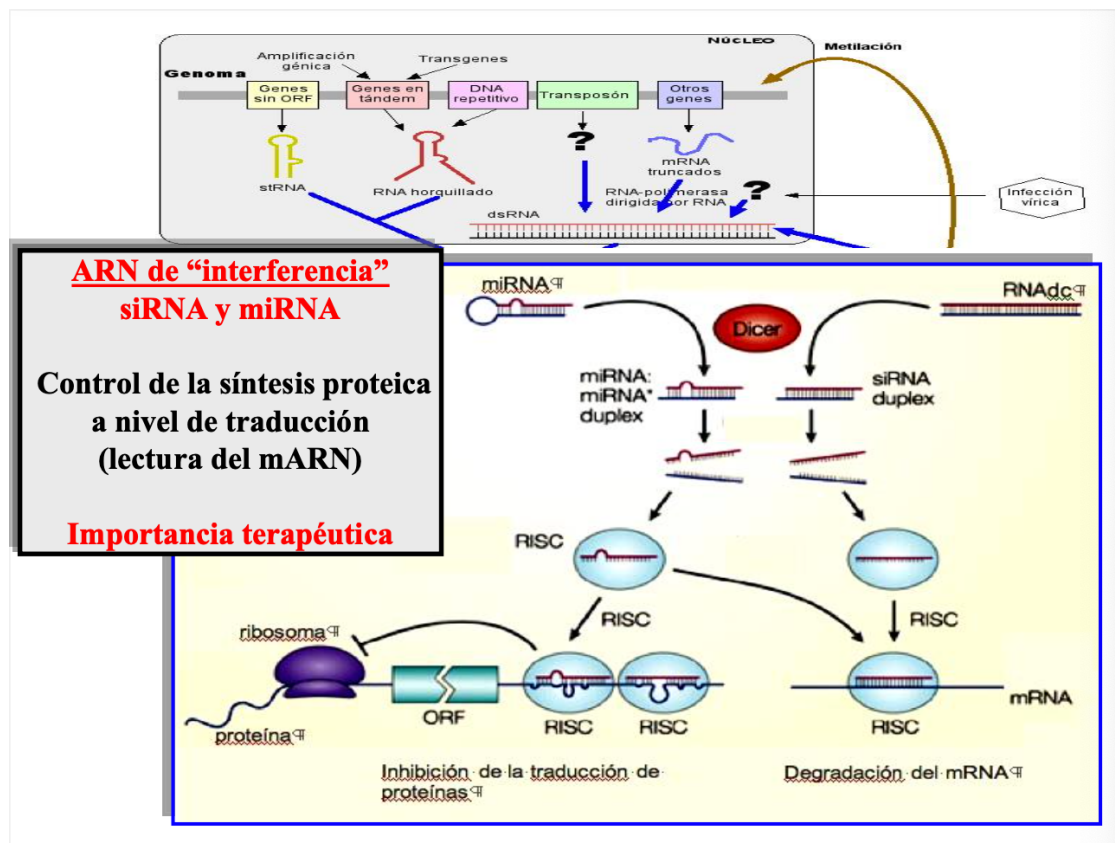
Otras moléculas de RNA y su función: algunas exclusivas de eucariotas

ARN heterogéneos nucleares (hnRNA): en eucariotas, el mRNA formado inicialmente es una molécula más grande llamada hnRNA, que contiene largas porciones de secuencias intermedias llamadas intrones, que no codifican proteínas. La modificación postranscripcional elimina los intrones. Son **precursores nucleares de los mensajeros eucarióticos**.

ARN pequeños nucleares (snRNA): se encuentran en el núcleo de las células eucariotas. Participan en la maduración del hnRNA (SNURPS).

ARN pequeños citoplásmicos (scRNA): ayudan a **dirigir a las proteínas recién sintetizadas hacia sus destinos celulares (SCURPS)**.

ARN de “interferencia” (siRNA y miRNA): sistema de control de la lectura del mRNA.

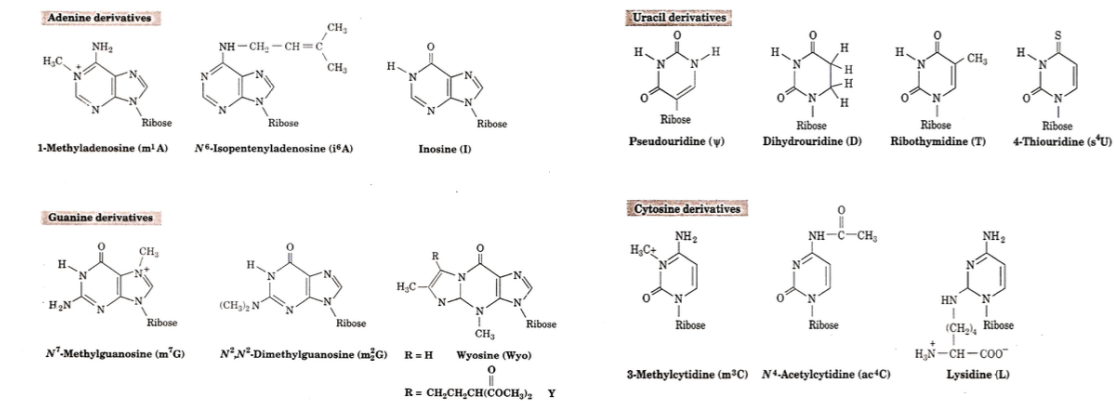


Nucleótidos: aspectos IMPORTANTES

Modificación de bases: importancia biológica

RNA

Modificación de bases esencial para su actividad.
Las modificaciones son enzimáticas e irreversibles.

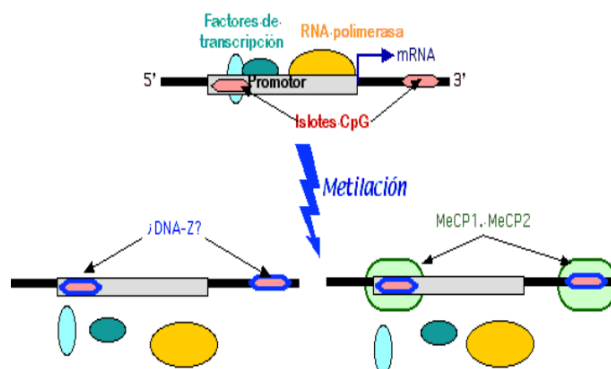


DNA

Metilación: importante mecanismo de regulación epigenética

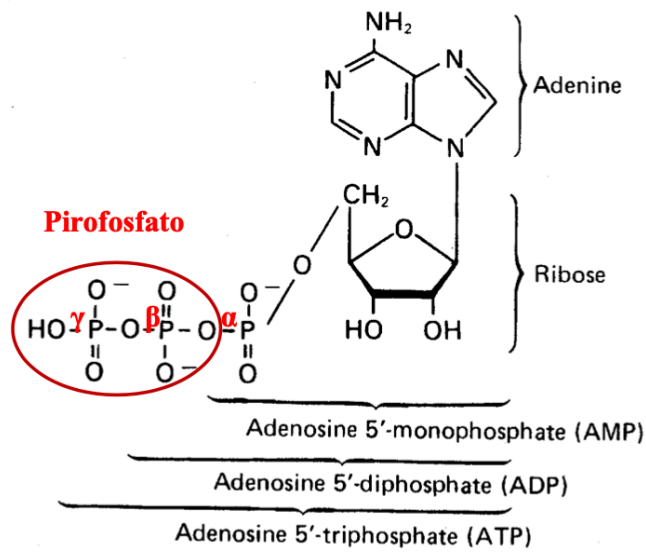
La metilación del DNA y las histonas generalmente hace que el DNA metilado se empaquete formando heterocromatina, que no se transcribe. El patrón de metilación del DNA se puede transmitir de una célula a otra en un proceso llamado epigenética. Se trata de una parte del desarrollo y diferenciación celular. La metilación es anormal en muchas neoplasias.

Transcripción: síntesis de ARN a partir de una plantilla de ADN.



- ✓ - Se produce en zonas ricas en G y C (islotos CpG)
- ✓ - Modificación principal: metilación de la posición 5 de la citosina (5mC)
- ✓ Enzimática y **reversible** (DNA-metiltransferasas y desmetilasas)
- ✓ **Importante en el desarrollo y patologías (cáncer)**

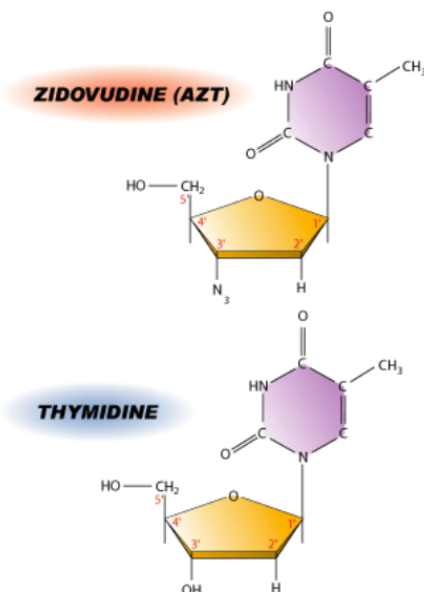
Los sustratos de la síntesis de DNA y RNA son los nucleótidos trifosfato



- ✓ **Síntesis:** unión de nucleótidos mediante enlaces éster
 - DNA: DNA polimerasas (DNApol)
 - RNA: RNA polimerasas (RNApol)
- ✓ **Degradación:** ruptura de los enlaces éster entre nucleótidos
 - DNA: DNA nucleasas (DNAsas)
 - RNA: RNA nucleasas (RNAsas)

Exonucleasas
 Endonucleasas
Endonucleasas de restricción

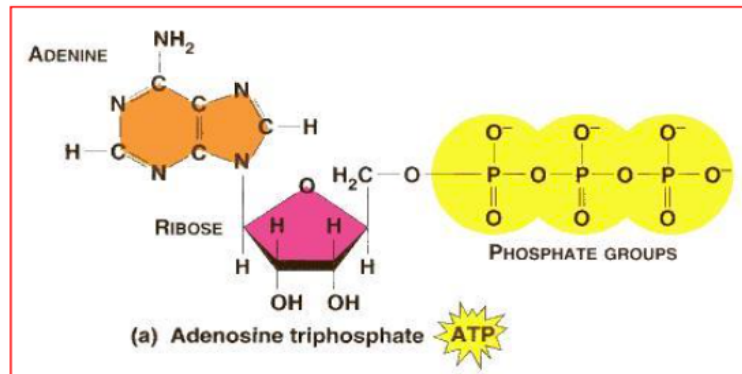
Derivados sintéticos de nucleótidos pueden tener utilidad terapéutica



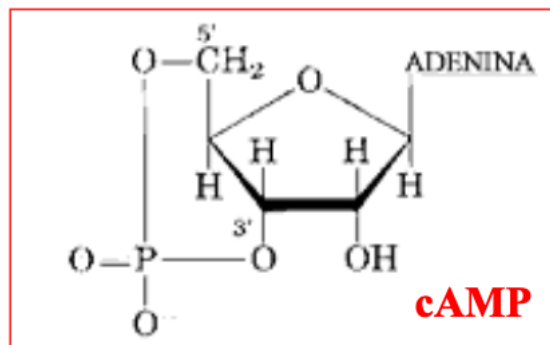
MW 267.24	
NAME	3'-Azido-3'-deoxythymidine
SYN	AZT; Azidothymidine; Zidovudine; Retrovir; ZDV
COMP	GLAXO WELLCOME

Los nucleótidos pueden tener otras funciones

ATP: ribonucleótido constituido por adenina y ribosa, a la que se le une de forma secuencial tres grupos fosfato por medio de un enlace fosfoéster seguido de dos enlaces fosfoanhídrico. La importancia biológica del ATP radica en la gran energía libre que se libera tras la ruptura de uno de los enlaces fosfoanhídricos (por acción de la ATPasa) dando lugar a ADP (libera -30,5KJ/mol).



cAMP: el adenosín trifosfato cíclico es un nucleótido que actúa como segundo mensajero, participando en rutas de transducción de señales en las células.



CoA: la coenzima A actúa como transportador de acetilo y otros grupos acilo (cuando se une el grupo acilo a la CoA mediante enlace tioéster se forma el derivado acil-CoA), desempeñando un papel central en el metabolismo.

