

FLUJO DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

María de Lourdes Juárez Mosqueda

Objetivos temáticos:

1. Replicación del DNA
2. Transcripción del DNA
3. Traducción del RNA (síntesis de proteínas)

Introducción

La vida depende de la habilidad de las células para almacenar, reparar y traducir las instrucciones genéticas almacenadas en los cromosomas, los cuales consisten de ácido desoxirribonucleico (DNA) y proteínas. Las células procariotas solo contienen un cromosoma circular disperso en el citosol, mientras que las células eucariotas contienen diversos cromosomas lineales almacenados en el núcleo.

Los genes son secuencias específicas de nucleótidos en el DNA que codifican para las diversas proteínas y los ácidos ribonucleicos (RNAs) necesarios para la construcción y mantenimiento de un organismo.

En este capítulo se presenta un resumen de los mecanismos por los que fluye la información genética.

Replicación del DNA

Todos los organismos vivos deben de duplicar con exactitud su DNA antes de cada división celular. La replicación es el proceso por el cual una molécula de DNA da origen a dos nuevas moléculas hijas de DNA. En las células eucariotas, cuyo ciclo de división consta de las fases de G1, S, G2 y M, la síntesis del DNA se lleva a cabo durante la fase de S.

Ya que cada hebra de DNA contiene una secuencia de nucleótidos que es exactamente complementaria a la secuencia de nucleótidos de su hebra compañera, cada hebra puede

actuar como un templado, por lo que en la replicación la secuencia de nucleótidos de cada hebra del DNA es copiada por un apareamiento complementario de bases. Esta es semiconservativa pues cada cadena de las moléculas hijas de DNA conserva una cadena de la molécula original.

El replicón (unidad de replicación) constituye la parte mínima en el genoma que posee los elementos requeridos para el control de la replicación (sitio de origen o de inicio de la replicación y sitio de terminación). A partir del sitio de origen la síntesis de DNA ocurre hacia ambas direcciones (es bidireccional), desplazándose a lo largo de la hélice paterna y debido a su estructura en forma de “Y” recibe el nombre de horquilla de replicación.

Mecanismo

La replicación del cromosoma de las bacterias inicia en el sitio de origen de la replicación llamado *OriC* y procede hasta el sitio de terminación localizado aproximadamente a la mitad del cromosoma circular. En las células eucariotas cada cromosoma contiene muchos sitios de origen de la replicación, llamados *oriR*, que pueden estar localizados aproximadamente cada 10,000 pares de kilobases. En ambos tipos de células la replicación del DNA inicia cuando un complejo de proteínas se une a los sitios de origen y forman un centro proteico alrededor del cual el DNA se enrolla, lo que aparentemente estimula su abertura, desenrollamiento y la unión de las proteínas encargadas de la replicación.

Debido a la orientación antiparalela que presentan las dos cadenas en el DNA, el mecanismo de replicación requiere el crecimiento de una de las dos cadenas en dirección 5'

► 3' y la otra en dirección 3' ► 5'.

La DNA polimeraza es la enzima responsable de sintetiza las nuevas cadenas de DNA, sin embargo para iniciar su actividad requiere que unido al DNA templado se encuentre al menos una pequeña secuencia de ácido nucleico con un extremo OH-3' libre donde

adicionar los nucleótidos. Por este motivo el sistema depende de la actividad de la DNA primasa o iniciasa, la cual se une a los sitios de origen para sintetizar fragmentos cortos de RNA de 10 a 30 nucleótidos conocidos como iniciadores o cebadores (primer en inglés) para que estos sean alargados por las DNAs polimerasas.

En procariotas la cadena de DNA templado que tiene polaridad 3' 5' es sintetizada por la DNA polimerasa tipo III y en eucariotas por la DNA polimerasa δ , ambas avanzan en la misma dirección en la que se esta abriendo la doble hélice por lo que la síntesis de la cadena se lleva a cabo de manera continua empleando para ello un solo RNA cebador y es llamada la cadena líder. La otra cadena que toma como molde la cadena paterna con dirección 5' 3' es sintetizada también por la DNA polimerasa tipo III en procariotes mientras que en eucariotas por la DNA polimerasa α , ambas enzimas avanzan en dirección contraria a la que se va abriendo el DNA y sintetizan la llamada cadena retardada pues la van sintetizando en fragmentos de 100-200 nucleótidos (llamados fragmentos de Okasaki) que requieren la producción de diversos RNA cebadores.

Por otra parte, para que las hebras moldes se separen y se adicionen los desoxirribonucleótidos entrantes la enzima helicasa participa en la abertura del DNA; esta enzima junto con la primasa forman un complejo conocido como primosoma. Otras proteínas desestabilizadoras se unen de manera cooperativa al DNA paterno de cadena sencilla para dejar expuestos a los nucleótidos.

Para evitar el superenrollamiento positivo que ocasiona la abertura del DNA, la topoisomerasa II (también conocida en procariotas como girasa) se ubicada al frente de la horquilla de replicación y va removiendo tanto el superenrollamiento positivo como introduciendo un superenrollamiento negativo en el DNA.

Conforme se sintetiza el DNA los RNA iniciadores son removidos y reemplazados por DNA; en procariotas este proceso es llevado a cabo por la DNA polimerasa I mientras que en eucariotas por la DNAs polimerasas ϵ y β . Para generar una sola cadena de DNA, los cortes, producto de los nucleótidos adyacentes no unidos dejados por el proceso de reparación, son unidos por la DNA ligasa que cataliza la formación de enlaces fosfodiéster entre extremos de DNA, uno con un grupo 3'-OH y el otro con un grupo 5'-P.

En el caso de las células eucariotas la replicación de los extremos del DNA (telomeros) es realizada por una DNA polimerasa conocida como telomerasa, la cual consiste de proteínas y de un templado de RNA. Esta enzima se une al 5'TTGGGGTTG3' del DNA paterno través de su templado de RNA que es complementario (3'ACCCCAAC5') y cataliza la adición de otro repetido de 5'TTGGGGTTG3'. Este nuevo DNA sintetizado se pliega y forma una especie de pasador que puede funcionar como un primer para que la DNA polimerasa lo utilice para sintetizar a la hebra hija.

Transcripción del DNA

La transcripción es el proceso por el cual la secuencia de nucleótidos del DNA es usada para producir una molécula complementaria de RNA funcional (RNAm, RNAr, RNAt). La expresión de los genes siempre involucra la transcripción, por lo tanto éstos constituyen unidades de información en los cromosomas y es posible su analogía como unidades de transcripción. Los genes están delimitados por dos regiones importantes: un promotor y un terminador.

La información para la síntesis de una molécula de RNA se puede localizar en cualquiera de las dos hebras del DNA. La hebra que contiene la información para producir una molécula de DNA y que es leída por la RNA polimerasa es llamada la hebra templado o de sentido, la hebra de DNA complementaria al templado es referida como hebra antisentido.

La transcripción del templado de DNA es llevada a cabo por la RNA polimerasa, la cual tiene una dirección de síntesis 5' → 3', ésta no tiene actividad exonucleasa por lo que no tiene la capacidad de corregir errores durante la síntesis del RNA.

El primer nucleótido (punto de partida) de la secuencia del DNA codificador se numera como +1, el segundo como +2, etc., y se les da en nombre de secuencias río abajo; el nucleótido que precede al punto de inicio del gen se numera como -1, etc., y se les da el nombre de secuencias río arriba. La RNA polimerasa inicia la síntesis del RNA en el sitio marcado como +1.

La transcripción inicia con el reconocimiento en el DNA de la región del promotor que abarca unos 40 nucleótidos río arriba, éste no se transcribe pero es necesario para que se transcriba el gen. La RNA polimerasa por si sola no tiene la capacidad de reconocer al promotor, para ello es necesaria la presencia de proteínas conocidas como factores de transcripción que reconocen al promotor y ubican a la RNA polimerasa en el nucleótido marcado como +1. Cuando la RNA polimerasa reconoce y se une al promotor se induce la apertura de la doble hélice y la exposición de la secuencia templado. Las cadenas de RNA recién sintetizado comienza con G o A y el crecimiento es en dirección 5' → 3'.

Una vez que la RNA polimerasa inicia la síntesis del RNA ya no requiere de los factores de transcripción (factor Sigma en bacterias) y va llevando a cabo la polimerización de nucleótidos de acuerdo con las instrucciones del templado. Este proceso continua hasta que se llega a la región del terminador, el cual consiste de una secuencia de simetría invertida que usualmente es rica en pares de bases G-C. En las células procariotas una vez que la enzima transcribe la región del terminador, el RNA recién sintetizado sufre un apareamiento intracatenario formando una estructura en horquilla que es la señal que reconoce la RNA polimerasa para detener la adición de nucleótidos.

Las moléculas de RNAm en los procariotas no experimentan ninguna modificación después de que son sintetizadas. Muchas de ellas se traducen mientras están siendo sintetizadas.

En caso de las células eucariotas, en el núcleo se encuentran tres tipos de RNA polimerasas: la RNA polimerasa I transcribe los genes para los RNAr 18S, 5.8S y 28S; la RNA polimerasa II sintetiza los precursores de los RNAm y; la RNA polimerasa III sintetiza los RNAr 5S y todos los RNAt. El RNAm se deriva de una clase de precursores denominados transcritos primarios o pre-RNAm. Durante la transcripción de éstos, el extremo 5' de la cadena nascente se modifica casi de inmediato ya que se le adiciona un capuchón que consiste en la adición de una base modificada (7-metilguanina) que es importante para la maduración (empalme) y la estabilidad del futuro RNAm. En cuanto a la terminación la RNA polimerasa II transcribe más allá de la región de terminación, lo que constituye solo una parte de la señal de ruptura que reconoce la enzima para liberar al transcrito primario. Después de la liberación del transcrito primario una Poli A polimerasa añade de 100-250 residuos de A al extremo 3', proceso llamado poliadenilación. El RNAm es producido por el proceso de maduración del RNA transcrito primario, lo cual consiste en la eliminación de los intrones (secuencias de nucleótidos que no llevan información para la síntesis de una proteína) y el empalme de los exones (secuencias de nucleótidos que contienen la información para la síntesis de una proteína). El RNAm maduro es el que contiene la información para dirigir la síntesis de proteínas en el citoplasma de la célula.

Otra de las diferencias en la transcripción entre procariotas y eucariotas es que los RNAm son policistronicos en las primeras y monocistronicos en las segundas.

En las células procariotas por el corte de regiones espaciadoras de un transcrito primario se obtienen tres clases de RNAr y un RNAt. Otros transcritos contienen secuencias ordenadas de varios tipos de RNAt o varias copias de uno mismo. Un segundo tipos de modificación

consiste en la adición de nucleótidos al extremo 3' de algunos RNAt. En cuanto a las células eucariotas los precursores de los RNAt se transforman en maduros mediante una serie de modificaciones: escisión de una secuencia guía 5', empalme por eliminación de un intrón, sustitución del extremo 3' terminal UU por CCA. Por su parte, los RNAr son producidos a partir de un transcrito primario 45S el cual es cortado para producir un RNAr 28S, un RNAr 18S y un RNAr 5.8S. Los RNAr 5S son transcritos de otro grupo de genes. Todos se forman en el nucleolo en donde se asocian a las proteínas ribosomales.

Traducción del RNA (síntesis de proteínas)

La traducción es el proceso por el cual el alfabeto de cuatro letra (A, U, G, C) de la secuencia de nucleótidos del RNAm es traducido al alfabeto de aminoácidos de las proteínas. Este proceso esta reglamentado por el código genético, el cual es universal y consiste de un conjunto de reglas y características por medio de las cuales la secuencia de polinucleótidos de un gen es traducida a la secuencia de aminoácidos de una proteína. Hay 4 bases y 20 aminoácidos por lo tanto la correspondencia no es 1:1. El código genético para un aminoácido en particular consiste en una tripleta de bases (codón) que actúa como una palabra. Si cada aminoácido es codificado por una secuencia de 3 bases, esto da un total de 64 combinaciones posibles, por lo tanto algunos aminoácidos son codificados por más de un codón, por ello se dice que el código genético es degenerado. Además, los codones o tripletes no se superponen ni contienen espacios entre sí. Existen 3 codones que no codifican para ningún aminoácido (UAA, UAG, UGA llamados codones sin sentido o de terminación) y estos son la señal para que se termine la adición de aminoácidos. Otro de los codones, AUG, es el de inicio y codifica además para metionina.

La síntesis de proteínas se lleva a cabo en el citoplasma y consiste de cuatro etapas: activación, iniciación, elongación y terminación.

La activación requiere de la enzima aminoacil-RNAt sintetasa (existe una específica para cada uno de los aminoácidos y su RNAt correspondiente), ATP, aminoácidos y los RNAt. En este proceso los aminoácidos son activados por la unión de su grupo COO⁻ a una molécula de AMP (proveniente del ATP) formando un aminoácido adenilado, éste aminoácido es después transferido al grupo OH del extremo 3' del RNAt formándose el aminoacil-RNAt correspondiente.

La iniciación involucra la intervención de las subunidades ribosomales, el RNAm, el RNAt iniciador, GTP y los factores de iniciación (IFs). En las células procariotas el factor IF1 se une a la unidad ribosomal 70S para disociarla en sus subunidades 30S + 50S mientras que el factor IF3 previene que se vuelvan asociar. Para la unión del RNAm con la subunidad 30S también interviene el factor IF3, además el RNAm hacia el extremo 5', antes del codón de inicio, contiene una secuencia rica en purinas (AG) y por su parte el ribosoma contiene una secuencia de nucleótidos rica en pirimidinas (CU), llamada Shine Dalgarno, ambas se aparean y el factor IF3 las protege contra la degradación. El factor IF2 cataliza la unión dependiente de GTP del fmet-RNAt^{fmet} con la subunidad 30S, formándose el complejo de inicio 30S. Cuando el anticodon 3'UAC 5' del fmet-RNAt iniciador se aparean con el codón de inicio 5'AUG...3' del RNAm el factor IF3 se libera del complejo de iniciación y la subunidad 30S se une con la subunidad 50S liberándose con ello el factor IF1 y la formación del complejo de inicio 70S. Esta última unión hace que el factor IF2 adquiera actividad GTPasa e hidrolice al GTP (IF2-GDP).

En la etapa de alargamiento interviene el sitio físico del ribosoma llamado sitio P (peptidil RNAt) donde se localiza el fmet-RNAt^{fmet} iniciador y el sitio A (aminoacil RNAt) que es el sitio de interacción del aminoacil-RNAt entrante y factores de elongación. El alargamiento de la cadena se realiza por una serie repetitiva de tres pasos:

- a) Entrada del aminoacil-RNAt al sitio A del ribosoma
- b) Formación del enlace peptídico por la péptidil transferasa asociada a la subunidad grande del ribosoma.
- c) Transposición del sitio A al P del peptidil-RNAt (translocasa).

El codón del RNAm que se ubica en el sitio A del ribosoma es el que especifica la entrada del siguiente aminoacil-RNAt, el que contenga el anticodon complementario. Esta unión la catalizan los factores EF-Tu y EF-Ts en presencia de GTP. En cuanto el complejo EF-Tu-GDP se disocia del ribosoma 70S la peptidiltransferasa cataliza la formación del enlace peptídico entre los aminoácidos situados en el sitio P y el A. La transposición del peptidil-RNAt del sitio A al P del ribosoma requiere de GTP y del factor de elongación EF-G y consiste en el desplazamiento del ribosoma hacia el extremo 3' del RNAm con una distancia relativa a la longitud de un codon. Durante este el RNAt disociado sale expulsado del sitio P y el peptidil-RNAt que continúa unido a l RNAm vía codón-anticodón migra del sitio A al P y en el sitio A aparece un nuevo codón.

Cuando cualquiera de los codones de terminación ocupa el sitio A propician la unión de los factores de terminación, RF1, RF2 y RF3 cuya actividad se estimula por GTP. En presencia de estos factores la peptidiltransferasa cambia su actividad a una estereasa, hidrolizando la unión de la proteína recién sintetizada con el RNAt localizado en el sitio P, liberándose la proteína. El factor RFR (factor ribosomal de liberación) cataliza la liberación del RNAm y del RNAt del ribosoma 70S.

En eucariotas las subunidades ribosomicas son la 60S y 40S mientras que el RNAt iniciador es para metionina, la señal de iniciación no utiliza una secuencia rica en purinas, en su lugar para localizar el codón de inicio en el RNAm es importante el capuchón adicionado al

extremo 5' del RNAm y es el factor de inicio IF4 el que actúa como un motor para búsqueda del codón de inicio, utilizando ATP. Los demás pasos son similares a los ya descritos.