



Programa de la asignatura:

# Biología molecular I

## U1

Replicación y genes



DCSBA



BIOTECNOLOGÍA



## Índice

Presentación de la unidad .....	3
Propósitos .....	3
Competencia específica .....	4
Ruta de aprendizaje .....	5
1.1 Replicación del DNA .....	6
1.1.1 Primeros estudios sobre replicación .....	6
1.1.2 Componentes involucrados en la replicación.....	10
1.1.3 Replicación en procariontes .....	16
1.1.4 Replicación en eucariontes .....	22
1.1.5 Corrección de errores.....	28
1.2 Genes .....	30
1.2.1 Código genético .....	30
1.2.2. Estructura de genes .....	32
Actividades .....	37
Autorreflexiones.....	37
Cierre de la unidad .....	38
Para saber más .....	39
Fuentes de consulta .....	40



## Presentación de la unidad

La biología molecular es una ciencia básica para la generación de herramientas biotecnológicas que cuenta con grandes áreas de oportunidad y aplicaciones en muchos aspectos de la vida del hombre y la sociedad. Sin embargo, antes de conocer las aplicaciones, técnicas y herramientas más empleadas debemos conocer los principios en los cuales se fundamenta. Temas que analizaremos dentro de esta asignatura.

En esta primera unidad analizarás cómo las células replican su material genético ya que de manera natural esto se lleva a cabo previo a la división celular. Identificarás la función de cada uno de los componentes que participan en este proceso y las diferencias que existen en él ya sea que se realice en células eucariotas o procariotas. Además, conocerás cuáles son las características del código genético y cómo están constituidos los genes.

## Propósitos



Esta unidad tiene el propósito de:

- Identificar la función de los componentes que participan en el proceso de replicación.
- Describir las etapas involucradas en el proceso de replicación del material genético.
- Diferenciar entre el proceso de replicación eucarionte y procarionte.
- Identificar las características del código genético.
- Analizar la estructura de un gen.



## Competencia específica



**Explicar** la estructura del código genético para comprender su mecanismo de replicación mediante la identificación de sus componentes.





## 1.1 Replicación del DNA

Antes de sumergirnos en el contenido de la asignatura, revisa la infografía que se muestra en la página anterior y que te permitirá tener un panorama completo de los contenidos que revisaremos en esta unidad, en caso de que tengas alguna pregunta o inquietud, consúltalo con tu docente en línea.

La replicación es el proceso en el cual se copia el ADN, este proceso es semiconservativo y bidireccional. Funciona igual tanto en procariontes como en eucariontes, salvo algún cambio determinado principalmente por las proteínas que participan.

En toda célula que se dividirá, la cromatina se duplica para repartirse por igual entre las células hijas. Cada cromatida solo tiene una doble hélice de DNA (Teoría del Monofilamento) y en cada cromatida de un cromosoma la doble hélice presenta una cadena vieja y otra recién sintetizada.

### Enlace

Recuerda que en la asignatura Bioquímica estudiaste la estructura de los ácidos nucleicos, tanto DNA como RNA por lo que en esta asignatura nos enfocaremos a los procesos mediante los cuales estas moléculas se modifican, duplican y generan proteínas.

### 1.1.1 Primeros estudios sobre replicación

#### Replicación

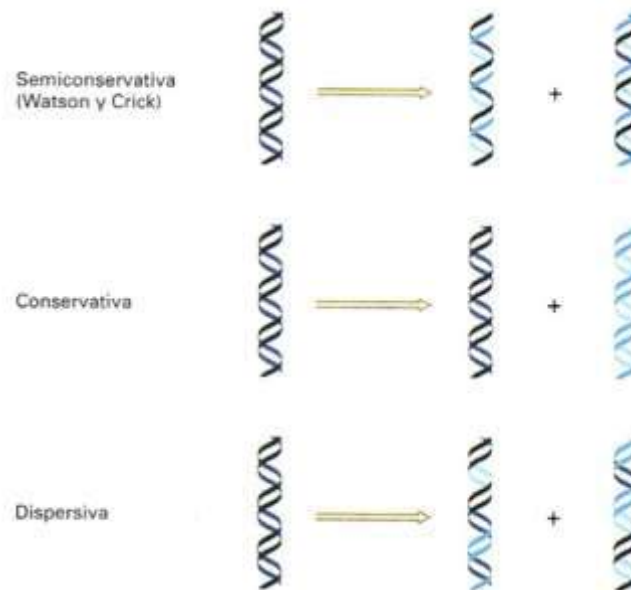
Es el mecanismo mediante el cual una molécula de DNA se duplica generando dos moléculas idénticas.

Cuando iniciaron los estudios del DNA no se conocían muchas características sobre esta molécula, mucho menos se sabía cuál era el mecanismo mediante el cual se duplicaba;



sin embargo, cuando se descubrió que estaba compuesta por dos hebras de ácido desoxirribonucleico, se generaron hipótesis sobre cómo era su proceso de replicación basándose en las posibles combinaciones que se generarían en las hebras de las dos moléculas hijas (Figura 1). Estos posibles mecanismos de replicación eran:

- A) **Semiconservativa:** donde las cadenas hijas tendrían una hebra materna y una hebra nueva.
- B) **Conservativa:** donde una de las moléculas hijas presenta las dos hebras originales y la otra molécula hija las dos hebras recién sintetizadas.
- C) **Dispersiva:** donde las cadenas hijas tendrían una mezcla de hebra materna y la recién sintetizada.



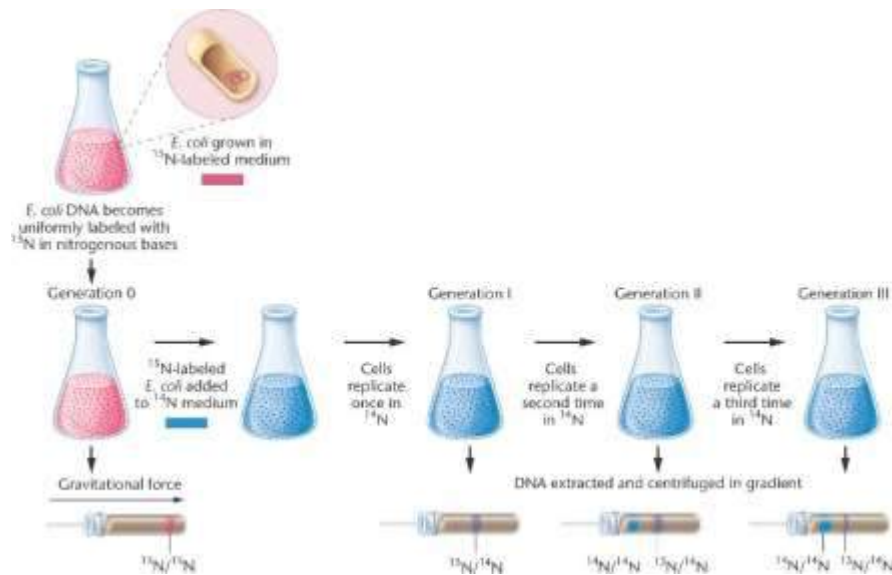
**Figura 1. Formas alternativas de replicación del DNA.** Las líneas de color azul claro representan las hebras sintetizadas de nuevo

*Tomado de: Griffiths, et. al., 2008*

Para discernir entre los tres modelos que se habían propuesto sobre la replicación celular, en 1958 Meselson y Stahl realizaron un experimento donde utilizaron dos isótopos diferentes del nitrógeno ( $^{14}\text{N}$  y  $^{15}\text{N}$ ). Estos isótopos se separan de manera diferencial cuando se realiza una centrifugación con CsCl debido a sus diferentes densidades, de tal forma que se puede observar dos bandas: la superior correspondiente al  $^{14}\text{N}$  (isótopo ligero) y la inferior al  $^{15}\text{N}$  (isótopo pesado).



Lo que hicieron estos científicos fue incubar la bacteria *Escherichia coli* en un cultivo con cloruro de amonio marcado con  $^{15}\text{N}$ , de manera que el microorganismo lo incorporara en todo su DNA. Posteriormente, transfirieron las células a un cultivo con  $^{14}\text{N}$  y las dejaron dividirse tomando muestras y analizando el DNA en cada ciclo de replicación, como se observa en la figura 2.

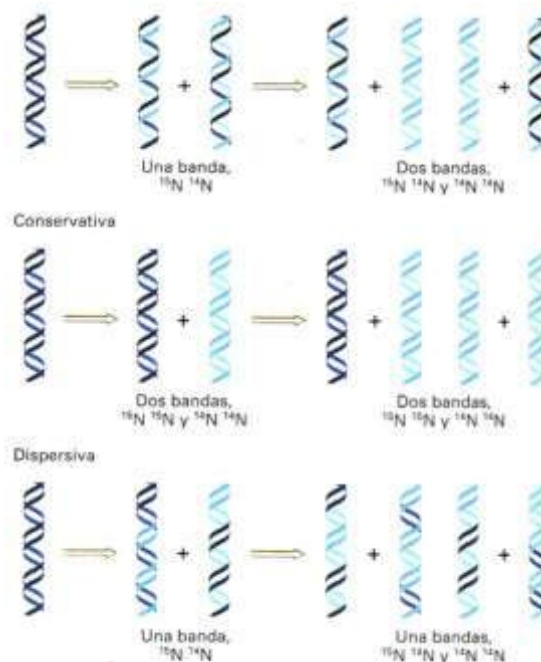


**Figura 2. Esquema del experimento realizado por Messelson-Stahl** correspondientes al isótopo ligero y al pesado. En la semiconservativa (parte superior) se observarían dos bandas, una del isótopo ligero y una de densidad intermedia; en la dispersiva (parte inferior) se observaría una banda intermedia.

Tomado de Griffiths, et. al., 2008.

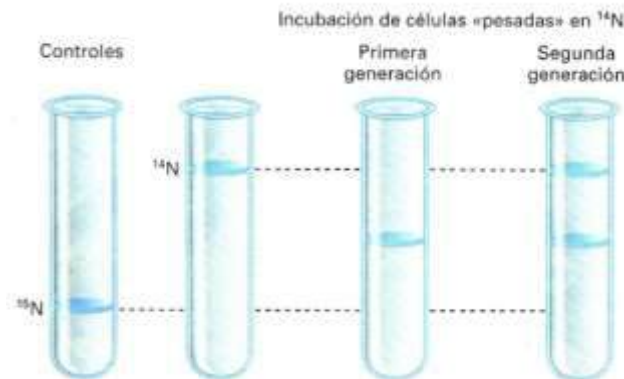
Las diferentes combinaciones que se podían generar en las hebras de las moléculas de DNA hijas, dependiendo de cada teoría, se muestran en la figura 3.





**Figura 3. Posibles resultados al experimento de Meselson y Stahl.** En el caso de que la replicación fuera conservativa (parte central) se esperaban dos bandas correspondientes al isótopo ligero y al pesado; en la semiconservativa (parte superior) se observarían dos bandas, una del isótopo ligero y una de densidad intermedia; en la dispersiva (parte inferior) se observaría una banda intermedia.

Los resultados que obtuvieron a partir de este experimento se observan en la figura 4. Donde al inicio del experimento únicamente se observaba una banda correspondiente al isótopo pesado debido a que éste era el único que conformaba el DNA. Cuando analizaron la muestra correspondiente al primer tiempo de generación, vieron que sólo estaba presente una banda, pero su densidad estaba entre la del isótopo pesado y la del ligero. En el segundo tiempo de generación esta banda intermedia permanecía, pero adicionalmente apareció otra, correspondiente a la densidad del isótopo ligero. Conforme aumentaban los tiempos de generación, la banda correspondiente a la de la densidad intermedia iba disminuyendo, mientras que la banda del isótopo ligero iba incrementándose. Estos resultados correspondieron con los esperados con la teoría de replicación semiconservativa (Lewin, 2008).



**Figura 4. Resultados del experimento de Meselson y Stahl.** Se muestran las bandas obtenidas por la centrifugación del DNA en un gradiente de CsCl en cada una de las generaciones

*Tomado de Griffiths, et. al., 2008.*

Los experimentos de Meselson-Stahl junto con los realizados por Taylor, Woods y Hughes, condujeron a la aceptación general del modelo de replicación semiconservativa. Estudios posteriores donde se emplearon otros organismos, han llegado a la misma conclusión, y también han apoyado la propuesta de Watson y Crick del modelo de doble hélice del DNA (Klug, *et. al*, 2008).

Posteriormente se realizaron muchos experimentos que permitieron comprender las características, etapas y factores que intervienen en el proceso de replicación del material genético. A continuación vamos a estudiar todos los detalles del proceso de replicación que gracias al trabajo de muchos científicos se ha podido elucidar.

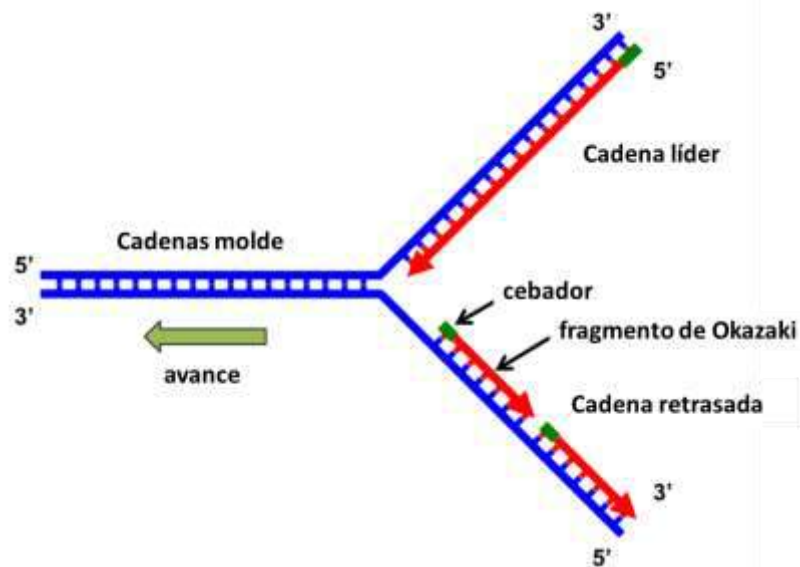
### 1.1.2 Componentes involucrados en la replicación

En el proceso de replicación participan numerosas enzimas, cofactores y moléculas que intervienen en diferentes etapas y bajo mecanismos distintos, por lo que antes de estudiar el proceso completo de replicación es necesario identificarlos y diferenciarlos.

**Cadenas de DNA.** Una molécula de DNA está compuesta por dos cadenas de desoxirribonucleótidos, sin embargo solo una de ellas puede servir de molde para la síntesis continua de DNA; la cadena sintetizada a partir de esa cadena molde es llamada **cadena líder**. Para poder sintetizar la cadena complementaria se requiere de muchos puntos de iniciación, debido a que la DNA polimerasa únicamente sintetiza en la dirección



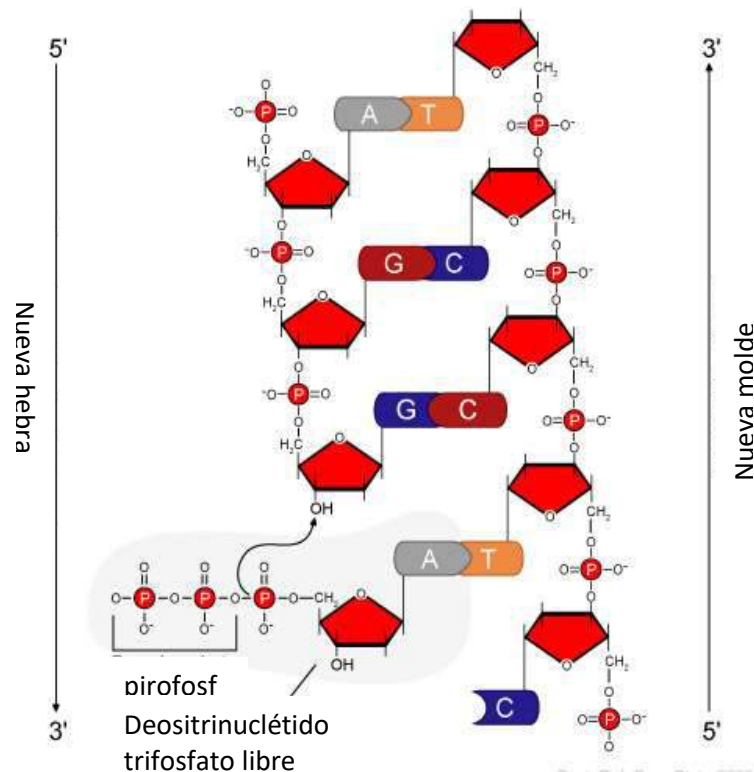
5'-3', por lo que esta cadena de DNA denominada **cadena retrasada**, es sintetizada en varios fragmentos (**fragmentos de Okazaki**) que posteriormente son unidos entre sí.



**Figura 5. Cadenas de DNA.** Se muestra cómo, a partir de las cadenas molde de DNA, se generan dos cadenas de DNA: una cadena líder y una retrasada formada por los fragmentos de Okazaki.

*Modificado de: <http://www.mdpi.com/2073-4425/4/1/1/htm>*

**DNA polimerasa.** Es la enzima encargada de incorporar nucleótidos a la cadena de DNA que se está sintetizando. Siempre lo realiza en la dirección 5'-3' debido a que agrega el nucleótido nuevo uniendo el fosfato de su extremo 5' al extremo 3'OH libre de la cadena que se está sintetizando.

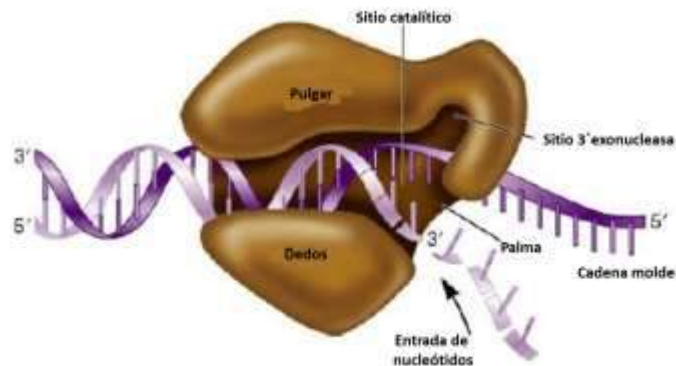


**Figura 6. Dirección de síntesis de la cadena de DNA.** La cadena nueva siempre se sintetiza en dirección 5' 3' uniendo el nucleótido trifosfato libre al extremo 3'OH libre de la nueva cadena.

Modificado de:

<https://wikispaces.psu.edu/pages/viewpage.action?pageId=112526682&navigatingVersions=true>

Esta enzima fue descubierta por primera vez en 1950 por Arthur Kronberg. Su estructura se caracteriza por parecerse a una mano derecha a medio cerrar (Figura 7). Haciendo relación a esa similitud, los dedos están formados por hélices, cuya parte superior entra la cadena molde; los nucleótidos se incorporarán por la zona del pulgar y el enlace fosfodiéster se formará en la palma de la mano, de manera que la cadena sintetizada saldrá por la zona de la muñeca.

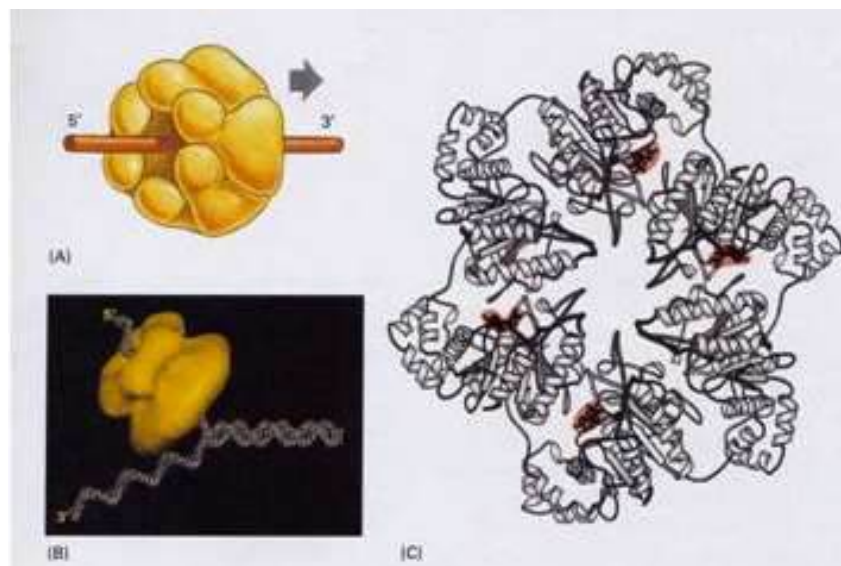


**Figura 7. Estructura de la DNA polimerasa.** Se identifican sus partes así como los componentes con los que reacciona la enzima.

*Modificado de: <http://www.slideshare.net/MsAllenBio/dna-replication-6839852>*

Se han identificado diferentes tipos de DNA polimerasas tanto en eucariontes como procariontes que presentan distintas propiedades. En la tabla 1 se muestran las características de las tres DNA polimerasas identificadas en bacterias.

**Helicasa (DnaB).** Es la enzima encargada de romper los puentes de hidrógeno que unen las dos hebras de DNA, lo que permite desnaturalizar la doble hélice. Para que pueda actuar debe formar un complejo con el DnaC que es un cargador de helicasa.

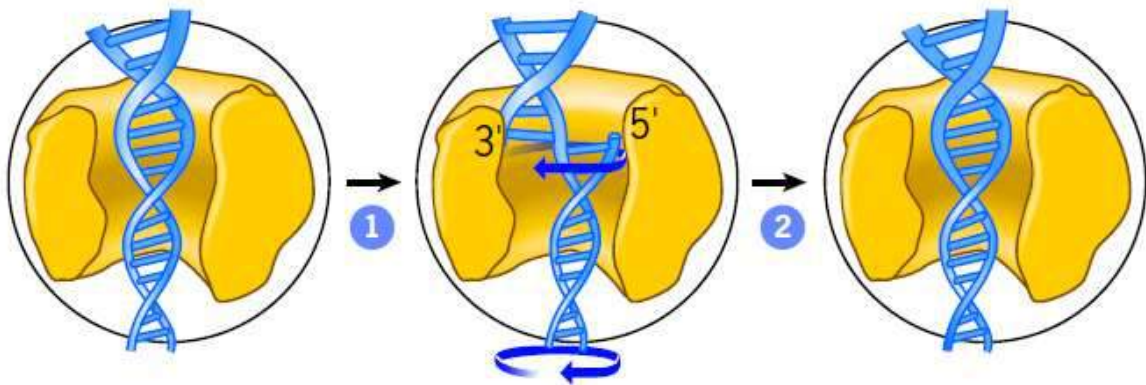


**Figura 8. Enzima helicasa.** A) Se observa en amarillo la enzima y de naranja la cadena de DNA a la que está unida; B) Se muestra un esquema sobre cómo actúa la enzima rompiendo los puentes de hidrógeno, C) Se muestra una representación de la estructura de la enzima.



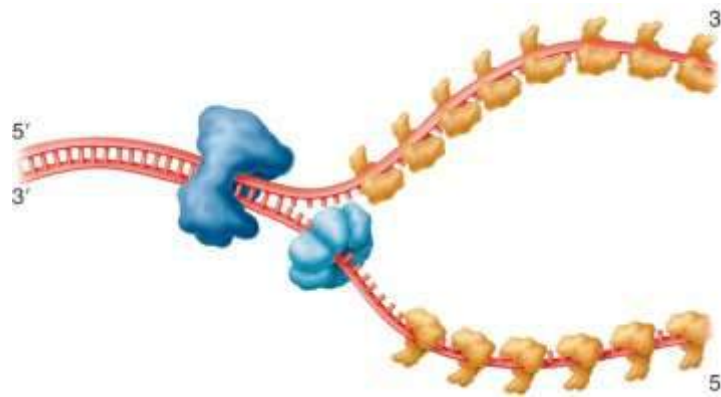
**Proteínas DnaA.** Es la proteína que reconoce el sitio de origen de la replicación. Aproximadamente son 20 los monómeros de DnaA que se unen al sitio y son enrollados por el DNA, cada monómero tiene un tamaño de 52 kDa.

**Topoisomerasa.** Es la enzima encargada de cortar la cadena de DNA en distintos puntos con el fin de disminuir la tensión del superenrollamiento ocasionado por la apertura de la doble hélice.



**Figura 9. Acción de las topoisomerasas.** Se muestra uno de los mecanismos mediante el cual se disminuye el superenrollamiento del DNA durante la replicación.

**SSBP.** Proteínas de unión a cadena sencilla (del inglés *single stranded binding proteins*). Son las encargadas de unirse a las hebras recién separadas de DNA para estabilizar esta conformación y mantener expuesta esta región a la acción de otras enzimas que permitirán la replicación.



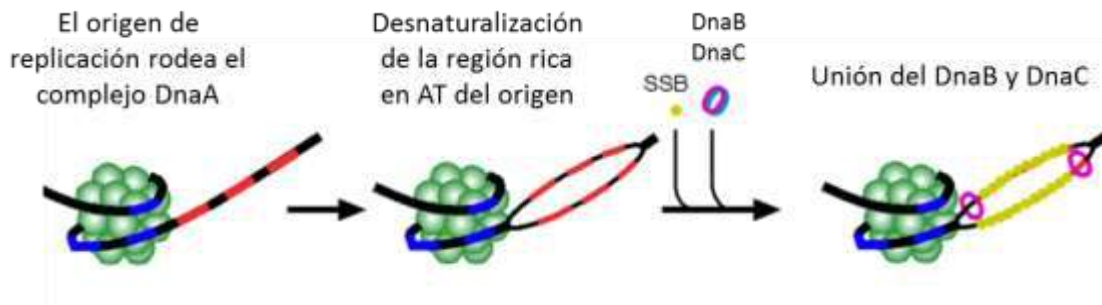
**Figura 10. Mecanismo de acción de las SSBP.** Se observan de color amarillo distintas unidades de SSBP unidas a las dos hebras de DNA que se han separado para evitar que se vuelvan a unir.



**Origen de replicación.** Es el sitio del cromosoma donde se da inicio la replicación. Es una porción de DNA que contiene una secuencia característica de bases, la cual será reconocida por la proteína DnaA para iniciar el proceso. En los organismos procariontes solo existe un origen de replicación, pero en los eucariontes existen varios a lo largo de todos los cromosomas.

**dNTPs.** Son desoxirribonucleótidos trifosfato, es decir nucleótidos de desoxirribosa con tres fosfatos unidos al grupo hidroxilo 5' de la desoxirribosa y dependiendo de la base nitrogenada serán dATP (con adenina), dTTP (con timina), dCTP (con citosina) o dGTP (con guanina).

**Cebador.** Es un fragmento corto de RNA de 5 a 15 nucleótidos de longitud, que es complementario a la cadena molde. Es indispensable para generar un extremo 3'OH libre en la cadena de DNA, para poder dar inicio a la síntesis.



**Figura 11. Mecanismo de acción de las proteínas Dna.** Como primera etapa el DNA se une al complejo de DnaA para desnaturalizarlo, posteriormente se unen los complejos de DnaB y DnaC.

*Modificado de <http://oregonstate.edu/instruct/bb331/lecture07/FigH3.html>*

Ahora que conocemos las enzimas y otros componentes que participarán en el proceso de replicación del DNA, podemos analizar el mecanismo por el cual esto sucede.



### 1.1.3 Replicación en procariontas

La identificación de que la replicación es semiconservativa y bidireccional indica únicamente el patrón de duplicación del DNA y la asociación entre las cadenas terminadas una vez que se ha completado la síntesis. Una cuestión mucho más compleja es cómo se produce la síntesis real de una larga cadena polinucleotídica complementaria sobre un molde de DNA. Como en la mayoría de los estudios de la biología molecular, esta pregunta se abordó inicialmente usando microorganismos, es por ello que primero se analizará la replicación en los organismos procariontes.

El DNA total que está contenido en la célula procarionta debe duplicarse para dividirse por fisión binaria, es por ello que tanto el cromosoma como los posibles plásmidos presentes deben replicarse. La replicación de una molécula de DNA es tanto rápida como precisa, la tasa de replicación es de aproximadamente 30 000 nucleótidos añadidos por minuto en bacterias y de alrededor de 3000 nucleótidos añadidos por minuto en células eucariotas.

El proceso de replicación en células procariontas lo podemos dividir en dos etapas: la formación del replisoma y el alargamiento de las cadenas. A continuación se describirá este mecanismo basándose en la replicación del cromosoma bacteriano.





## Formación del replisoma

### Identificación del sitio de replicación

El proceso de replicación general empieza en un sitio específico en las bacterias, en el caso particular de *E. coli* este sitio es llamado oriC. Esta región de aproximadamente 250 pb contiene varios sitios de unión para una proteína llamada DnaA.

### Apertura de la doble cadena

La DnaA se une al ATP y altera la topología del origen de replicación, lo que permite que se abra una agrupación de secuencias ricas en AT. Este paso facilita la posterior unión de las proteínas DnaB y DnaA, las cuales son helicasas que abren y desestabilizan más la hélice.

### Estabilización de la horquilla de replicación

A esta apertura del DNA que se forma primero en la región del origen de replicación y que posteriormente se va moviendo a lo largo del DNA a medida que va avanzando el proceso se le denomina horquilla de replicación. A esta abertura se unen las SSBP para estabilizar la conformación.

### Disminución de la tensión y superenrollamiento

Al proseguir la desespiralización del DNA, se produce una tensión de enrollamiento por delante de la horquilla de replicación, lo que genera un superenrollamiento, el cual se ve disminuido por la acción del DNA girasa. Este es una enzima que pertenece a la familia de las DNA topoisomerasas. La girasa hace cortes en una o en las dos cadenas de DNA, además de catalizar movimientos locales que tienen el efecto de deshacer los giros y los nudos formados durante el superenrollamiento.



## Formación del replisoma (Continuación)

### Unión del cebador

Una vez abierta la doble hélice de la cadena de DNA, se sintetiza el RNA cebador por la enzima primasa que no requiere de un extremo 3' libre para iniciar la síntesis. El cebador se une de manera complementaria al sitio de origen de replicación del DNA.

### Unión de la DNA polimerasa

Una molécula de DNA polimerasa se une a cada una de las cadenas de DNA que se van a sintetizar y se adhieren a ellas de una forma estable mediante unas pinzas deslizantes.

Una vez conformado el replisoma se inicia con la elongación de la cadena de DNA, mediante el siguiente mecanismo:



## Elongación de la cadena

### Adición de desoxirribonucleótidos

La DNA polimerasa III comienza a agregar nucleótidos a los RNA cebadores presentes tanto en la cadena líder como en la retardada; este proceso se realiza mediante la adición del nucleótido complementario, es decir si la base es adenina se pegará una timina; si la base es guanina se unirá una citosina y viceversa. Posteriormente se formarán los puentes de hidrógeno correspondientes, ya sean dos o tres, entre las bases complementarias. Este proceso siempre se llevará a cabo en la dirección 5'-3'.

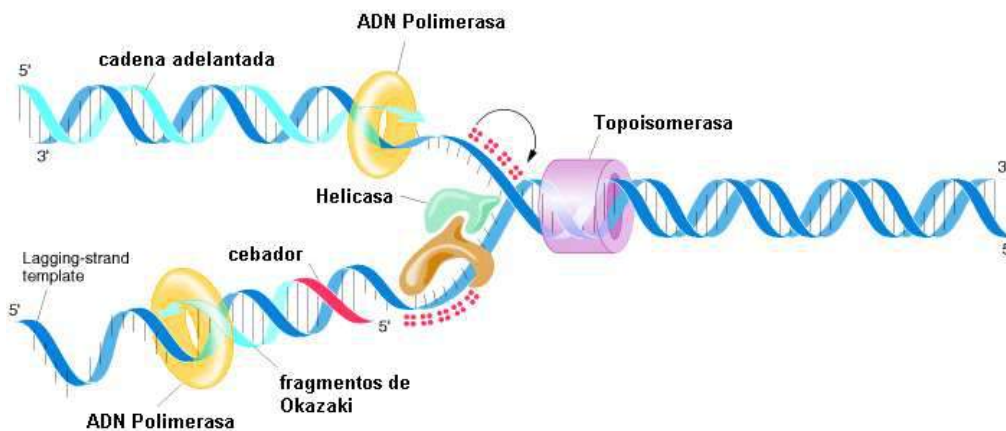
### Sustitución de los cebadores

Una vez formadas estas cadenas, es el turno de que la DNA polimerasa I elimine los ribonucleótidos de los cebadores, gracias a la acción de exonucleasa 5'-3'. Posteriormente esta enzima utiliza el extremo 3' de la cadena anexa para llenar el hueco que ha quedado, insertando nuevos desoxinucleótidos.

### Unión de las cadenas formadas

La DNA ligasa une los fragmentos de Okazaki entre sí mediante la formación de enlaces fosfodiéster para formar ahora una cadena continua.

Este proceso ocurre en toda la cadena de DNA circular presente en los cromosomas bacterianos, hasta que terminan por formarse las dos nuevas cadenas hijas (Figura 11).



**Figura 12. Esquema general del proceso de replicación.** Se observan las dos cadenas molde y la cadena líder y retrasada, así como las proteínas SSBP (rojo), las enzimas helicasa (verde), topoisomerasa (rosa) y DNA polimerasa (amarillo) involucradas.

*Tomado de Griffiths, et, al., 2008.*

## Enlace

Recuerda cómo es el proceso de replicación del DNA porque en la asignatura Biología molecular II aplicarás este principio en la técnica de PCR.

La replicación del DNA circular de las procariontas produce las llamadas estructuras en  $\theta$ , que se forman como resultado de las dos horquillas de replicación. La síntesis es simultánea en la dirección de las manecillas del reloj y en la dirección contraria. Para exponer las hebras sencillas de DNA, las dos hebras progenitoras deben girar. Por cada diez bases que se copian, el DNA debe dar una vuelta completa. Puede calcularse que en *E. coli* la horquilla de replicación necesita moverse a la velocidad de 800 bases por segundo, lo que requiere que el DNA progenitor se desenrolle a razón de 80 revoluciones por segundo (Smith y Wood, 1998).



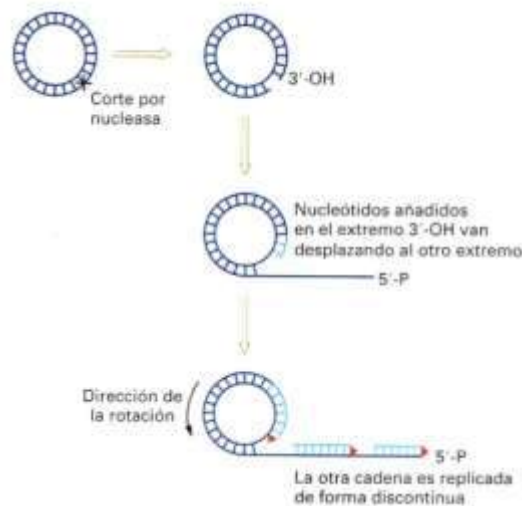
**Figura 13. Replicación en  $\theta$ .** Se muestra el mecanismo de replicación de un cromosoma bacteriano.

*Tomado de Martinko, 2009.*

Además del cromosoma, las bacterias pueden tener moléculas de DNA de menor tamaño con replicación autónoma, los **plásmidos**, cuyo proceso de replicación no está coordinado con la replicación del cromosoma. La información presente en los plásmidos no es vital para la célula, porque no codifica para ninguna proteína del metabolismo primario, pero si le proporciona ciertas ventajas evolutivas que le permiten desarrollarse en condiciones adversas, como cuando se encuentran en presencia de antibióticos.



El proceso de replicación del DNA plasmídico ocurre de manera muy similar al del cromosómico, a excepción de una característica: el mecanismo mediante el cual se lleva a cabo es denominado **círculo rodante**, debido a que una nucleasa genera un extremo 3' OH libre al que se van añadiendo nucleótidos gracias a la acción de la DNA polimerasa (Griffiths y *et. al.*, 2008). El proceso de alargamiento continúa como en el caso de la replicación del cromosoma, hasta que se completa la síntesis del plásmido completo.



**Figura 14. Replicación mediante el círculo rodante.** Se observa como el plásmido cortado en un extremo para poder iniciar la replicación mediante su rotación.

*Tomado de Griffiths y et. al., 2008.*

### 1.1.4 Replicación en eucariotas

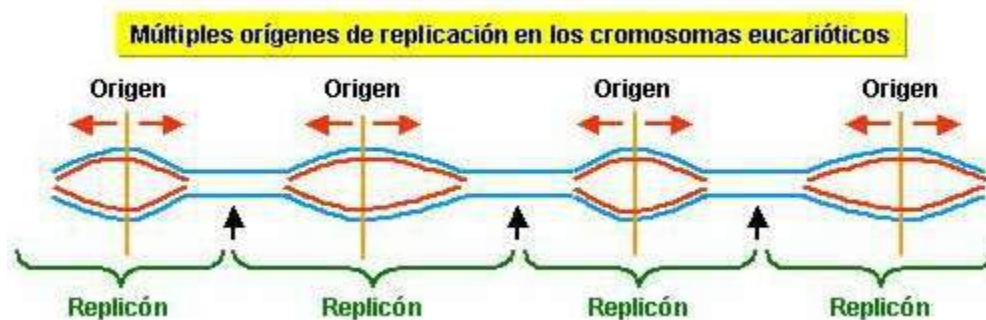
Una vez analizado el proceso de replicación en las células procariotas, pasemos a analizar cómo ocurre este proceso en las células eucariotas ya que sus cromosomas no tienen la misma estructura puesto que los cromosomas de las eucariotas son lineales, además de que presentan histonas que le ayudan en el empaquetamiento de su DNA.

En las células eucariotas, además del DNA cromosómico, está presente el DNA mitocondrial y el DNA cloroplástico, que son circulares como en el caso del cromosoma bacteriano.



La replicación en células eucariontes es similar a la bacteriana pero más compleja, a continuación vamos a mencionar las diferencias más importantes:

- La replicación en eucariontes se inicia en múltiples orígenes de replicación a diferencia del origen único que se encuentra en casi todos los cromosomas bacterianos. Esto tiene sentido puesto que hay múltiples cromosomas y cada uno contiene, al menos, un origen de replicación. Además, la replicación es más lenta en eucariontes que en procariontes y requiere múltiples orígenes de replicación en cada cromosoma para completar la tarea de replicación durante la fase S del ciclo celular.



**Figura 15. Orígenes de replicación eucariontes.** Las células eucariotas poseen múltiples orígenes de replicación.

Tomado de: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Multipl.ori.euc.jpg>.

- Los sitios de replicación eucariontes son más complejos, varían desde elementos de secuencia de replicación autónoma (ARS) relativamente cortos y reconocibles en levaduras en gemación, hasta dominios grandes de inicio de secuencia diversa en eucariontes pluricelulares.
- El origen de la replicación se reconoce por el complejo proteínico específico llamado complejo de reconocimiento de origen (ORC), el cual es un complejo de seis proteínas que permanece unido al origen durante todo el ciclo celular, donde recluta varias proteínas clave requeridas para el inicio de la replicación dependiente del ciclo celular (Cassimeris, *et. al.*, 2012).
- También en estas células hay diferentes tipos de DNA polimerasas como se observa en la siguiente tabla:

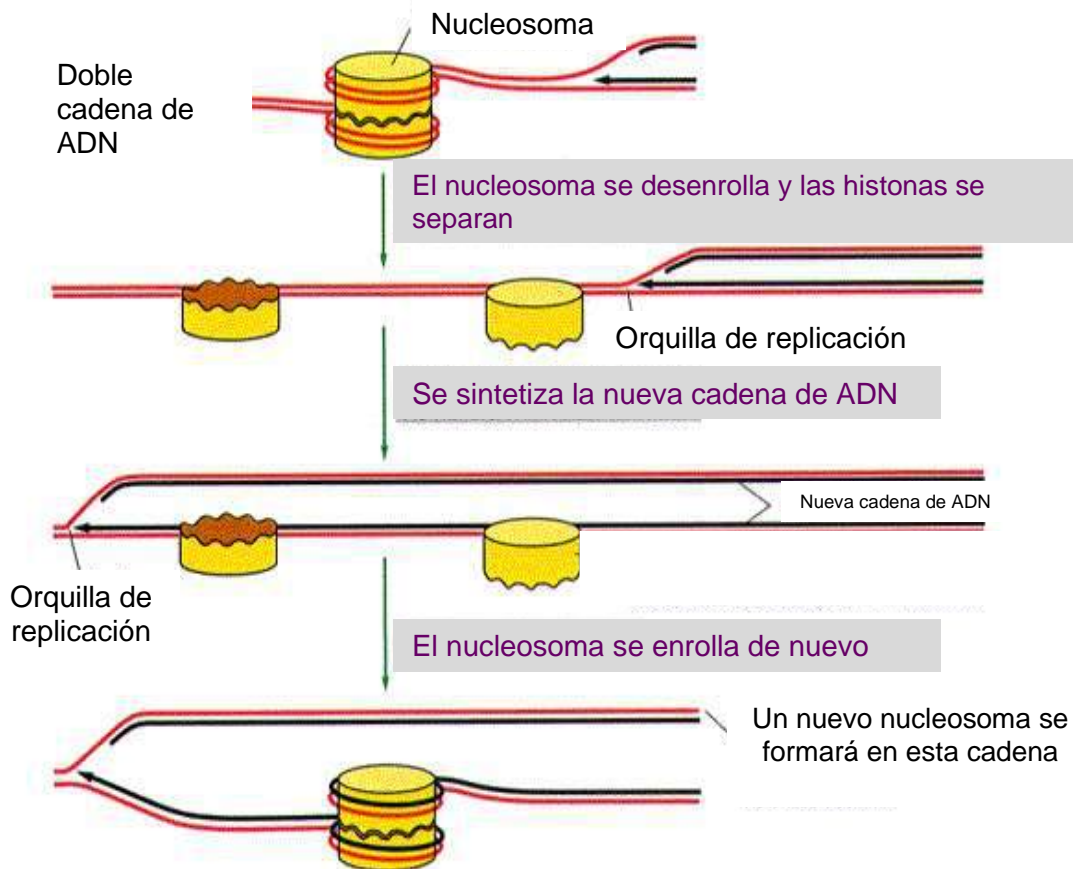


## Tipos de DNA polimerasa eucarionte

Tipo de DNA polimerasa	Compartimiento celular	Actividad primasa asociada	Función biológica
$\alpha$	Núcleo	Sí	Replicación de la hebra retardada.
$\beta$	Núcleo	No	Reparación del DNA
$\gamma$	Mitocondria	No	Reparación del DNA mitocondrial
$\Delta$	Núcleo	No	Replicación de la hebra retardada
$\epsilon$	Núcleo	No	Desconocida

- El mecanismo de desenrollamiento del DNA es diferente debido a que está unido a los nucleosomas formados por ocho histonas. Este proceso ocurre como se observa en la siguiente figura.

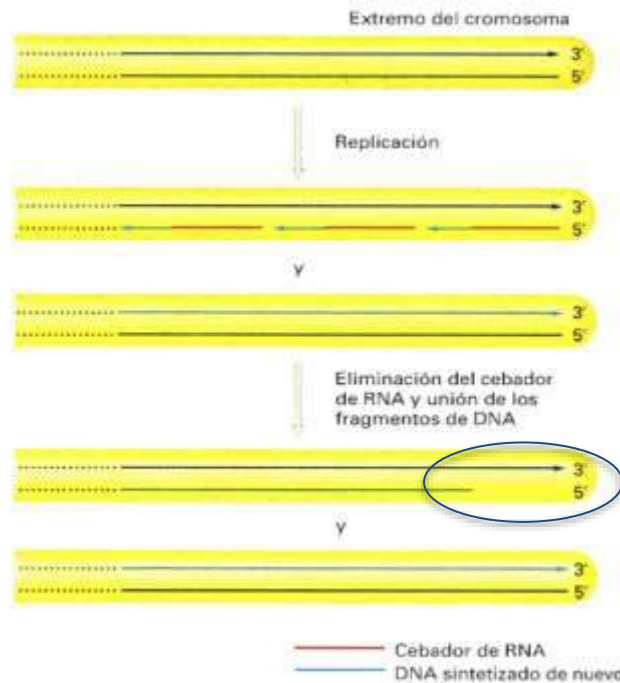




**Figura 16. Desenrollamiento del DNA eucarionte.** Durante el proceso de replicación el nucleosoma se desenrolla para dejar libre la molécula de DNA que podrá ser duplicada.

*Modificado de Lodish, et al., 2005.*

- La replicación del extremo de un cromosoma lineal plantea desafíos especiales que no existen para la replicación de una molécula de DNA circular. Dado que la síntesis de DNA requiere un cebador, proporcionado por un RNA pequeño, es imposible replicar por completo el extremo de la cadena retrasada en una molécula de DNA lineal. Incluso si el cebador se colocara en la parte terminal extrema de la molécula de DNA, su eliminación después de que se completa la replicación haría monocatenario el extremo mismo del DNA el cual estaría sujeto al ataque por nucleasas, con la pérdida potencial de información genética (Cassimeris, *et. al.*, 2012).

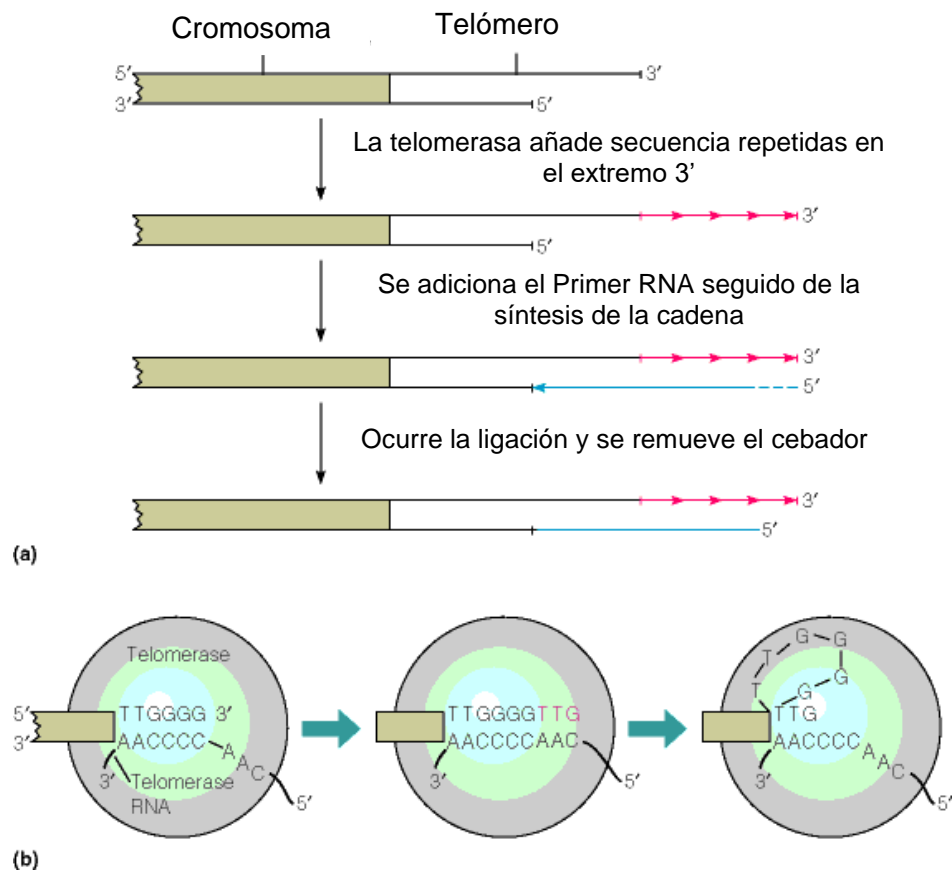


**Figura 17.** En los extremos de los cromosomas eucariotas, el extremo 5' de la cadena retardada queda más corto que el extremo 3'.

*Tomado de Griffiths, et. al., 2008.*

Para evitar este efecto, existen los **telómeros** que son secuencias de DNA repetidas, presentes en los extremos de cada cromosoma, que no tienen información para ninguna proteína y cuya función es evitar el acortamiento de los cromosomas. Durante la replicación. La cadena molde es alargada por la acción de una enzima denominada **telomerasa**, que contiene una pequeña molécula de RNA que es usada como molde para la adición de secuencias complementarias al extremo 3' de la cada de DNA.

De esta manera, como puedes observar en la Figura 18, la telomerasa añade secuencias repetidas al extremo 3' de la cadena molde, de manera que se puede realizar la replicación de la misma y evitar así el acortamiento.



**Figura 18. Telomerasa.** Se muestra el mecanismo de acción de la telomerasa que contiene una secuencia de RNA que es utilizada como molde para evitar el acortamiento de los cromosomas.

*Tomado de Lodish, et. al., 2005.*

Aún con la acción de la telomerasa, existen pruebas científicas que indican que durante la replicación de las células, es inevitable el acortamiento de los cromosomas y ésta es una de las causas del envejecimiento celular (Griffiths, *et. al.*, 2008).



**Figura 19. DNA mitocondrial en replicación.** Se muestra una fotografía del DNA mitocondrial que es una molécula circular, similar al DNA cloroplástico.

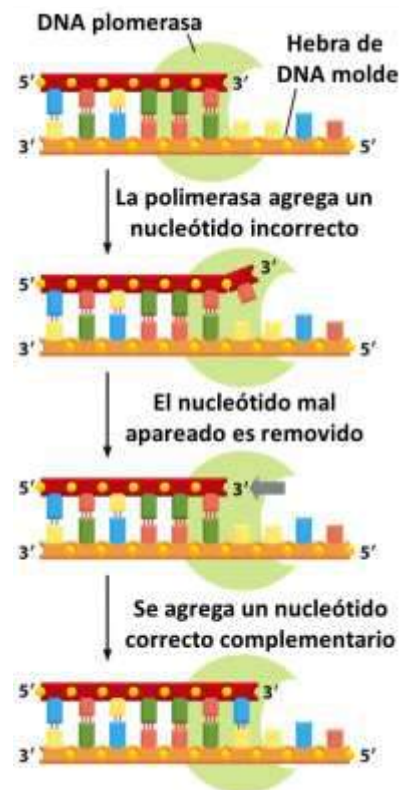
Tomado de

<http://pendientedemigracion.ucm.es/info/genetica/grupod/Replicacion/Replicacion.htm>.

### 1.1.5 Corrección de errores

El DNA se copia por medio del DNA polimerasa con gran exactitud, lo cual es necesario ya que la inserción de una base incorrecta es una mutación que puede producir un defecto en el organismo. Todas las DNA polimerasas procariontes tienen actividad exonucleasa y actúan de preferencia sobre bases con pares incorrectos. Si se introduce una base incorrecta en la hebra hija de DNA, la síntesis posterior de la hebra se bloquea hasta que se elimina la base. Esto se conoce como corrección de pruebas (*proofreading*).

La DNA polimerasa I de *E. coli* tiene una frecuencia de error de  $5 \times 10^{-5}$  (es decir, comete un error cada 500,000 nucleótidos), por lo que también tiene la capacidad de identificar esos errores y corregirlos eliminando la base mal insertada y agregando la adecuada. Este mecanismo lo logra gracias a su actividad de exonucleasa 3'-5'. Después de este proceso de corrección, la frecuencia de error disminuye a  $5 \times 10^{-7}$ . La DNA polimerasa III tiene una frecuencia de error sin corrección de  $7 \times 10^{-6}$  y con corrección de  $5 \times 10^{-9}$  (Robertis e Hib, 2005).



**Figura 20. Actividad correctora de la DNA polimerasa.** a) Una base es introducida incorrectamente ya que debería ser una T en vez de una C; b) La acción exonucleasa 3' -5' de la enzima actúa para romper el enlace fosfodiéster y eliminar así el nucleótido; c) Se incorpora el nucleótido correcto, en este ejemplo la T y prosigue la replicación.

Tomado de <http://oregonstate.edu/instruction/bi314/fall12/dnafix.html>

En los eucariontes, la actividad exonucleasa está asociada solamente a las polimerasas  $\delta$  y  $\epsilon$ . Sin embargo, no hay un nivel apreciablemente mayor de incorporación de bases equivocadas en el DAN eucarionte que en el de procariontes. Por tanto, debe llevarse a cabo una corrección de pruebas. Es posible que la falta de actividad exonucleasa asociada con otras polimerasas, especialmente la  $\alpha$ , pueda deberse a que se pierde una subunidad de la polimerasa durante el aislamiento de la enzima.

El DNA mitocondrial tiene una elevada velocidad de mutación y la DNA polimerasa y mitocondrial también carece de actividad exonucleasa demostrable.



## 1.2 Genes

Todo el material genético que conforma el DNA tiene cierta organización con el fin de que pueda ser leída y traducida a proteínas o moléculas de RNA catalíticas, es por ello que el lenguaje que se emplea para su entendimiento se denomina código genético. Este código tiene muchas características que han sido comprendidas poco a poco gracias a muchos experimentos realizados por distintos científicos.

### 1.2.1 Código genético

El código genético es la clave que nos permite conocer para qué está codificando el DNA. Ya sabemos que codifica para proteínas, sin embargo existen 20 tipos diferentes de aminoácidos con propiedades fisicoquímicas diferentes y solo hay cuatro clases de bases, por lo que la relación entre los nucleótidos en el mRNA (o el DNA) no puede ser una correspondencia sencilla 1:1. Si empleamos dos bases para codificar a un aminoácido, se podrían representar solo hasta 16 aminoácidos, pero un código donde tres bases codifiquen para un aminoácido, podría especificar 64 aminoácidos (es decir  $4 \times 4 \times 4 = 64$ ), lo que es más cercano al número de aminoácidos existente. A este principio se le llama **triplete del código** y fue descubierto en la década de 1960 gracias al análisis de múltiples experimentos como los realizados por Brenner y Crick y el de Khorana. Esto significa que la unidad de lectura del mRNA llamada **codón** posee tres bases.

El diccionario del código genético aparece en la figura 21. Obsérvese que a excepción de los códigos de metionina y el triptófano, todos los otros aminoácidos están codificados por más de un codón y se dice, por tanto, que el código es degenerado.



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

**Figura 21. Código genético.** Esta tabla identifica el aminoácido codificado por cada triplete. Se incluye un codón de inicio en azul y tres codones de paro en rojo.

Tomado de

[http://www.iespando.com/web/departamentos/biogeno/web/departamento/2BCH/B4\\_INFORMACION/T404\\_TRAS\\_TRADU/EJERCICIOS\\_sol.htm](http://www.iespando.com/web/departamentos/biogeno/web/departamento/2BCH/B4_INFORMACION/T404_TRAS_TRADU/EJERCICIOS_sol.htm)

El código genético posee una serie de características importantes (Mc Cormack, 2007):

- A) Es **universal**, lo utilizan todos los seres vivos conocidos excepto algunos casos excepcionales en pocos tripletes de bacterias. Aunque es importante señalar que no todos los codones están presentes en todas las células.
- B) **No** es **ambiguo** porque cada triplete tiene información para un aminoácido.
- C) Todos los codones **tienen sentido**. Codifican para un aminoácido o indican la terminación de la traducción.
- D) Es **degenerado** debido a que existen varios codones que tiene la información para un mismo aminoácido.



E) **Carecen de solapamiento.** Los codones no comparten bases nitrogenadas.

F) Es **unidireccional** ya que los codones se leen en dirección 5'-3'.

### 1.2.2 Estructura de genes

Los genes deben tener una estructura muy particular para que puedan ser funcionales. Existen algunas diferencias en la estructura de los genes de organismos eucariontes y procariontes. Muchos de los componentes de los genes se han encontrado gracias a la identificación de secuencias consenso.

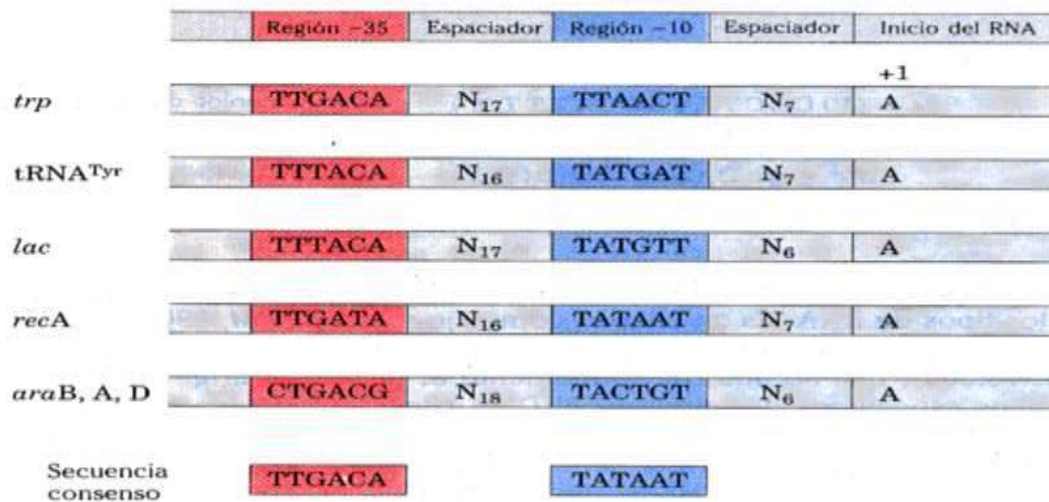
#### Gen

Secuencia de DNA presente en el genoma que tiene la información necesaria para la síntesis de RNA que generará un producto funcional, ya sea en forma de una molécula de proteína o de RNA. Constituye la unidad funcional para la transmisión de los caracteres hereditarios.

#### Secuencia consenso

Secuencia de nucleótidos que es idéntica o muy similar entre en varios organismos y que puede tener una misma función.





**Figura 22. Ejemplo de secuencias consenso.** Observa cómo se eligen las bases que se repiten en la mayoría de los casos.

Tomado de Nelson y Cox, 2009.

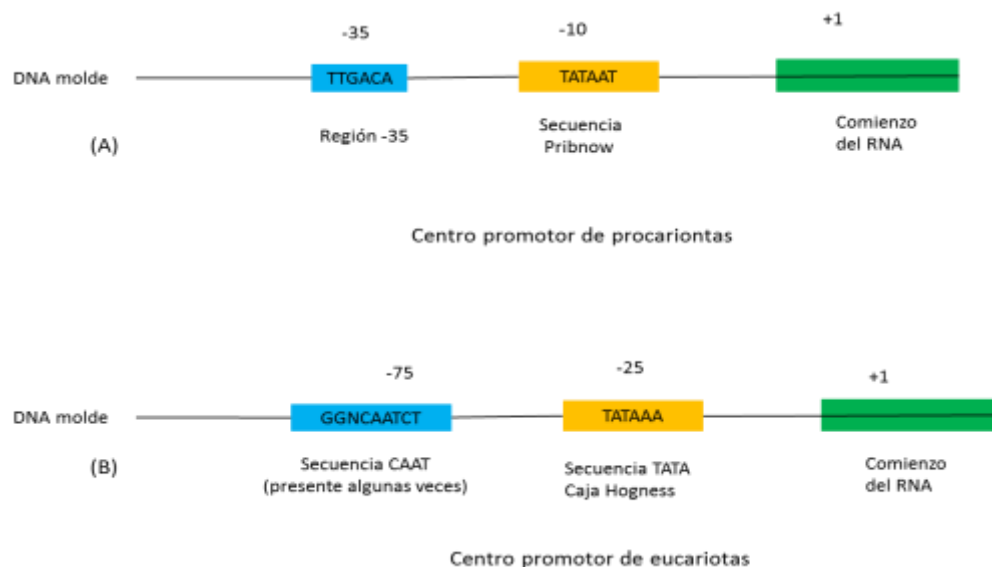
A continuación se explican cada uno de los componentes de los genes:

- **Sitio de inicio de la transcripción.** Es el punto en que realmente empieza la transcripción. En este sitio del gen se comienza con la cuenta de las pares de bases, es decir, este será el sitio +1, hacia la derecha de él aumentará la numeración (+2, +3, +4, etc.) y lo denominamos **región río abajo (downstream)** del gen, hacia la derecha de este punto la numeración disminuye (-1, -2, -3, etc.) y a esta región la llamamos **río arriba (upstream)**.
- **Sitio de inicio de la traducción.** Es el codón que codifica para el inicio de la traducción (ATG), está localizado río abajo aproximadamente a 50 pares de bases (pb) después del sitio de inicio de la transcripción, aunque esta distancia varía dependiendo del gen. Este espacio entre el sitio de inicio de la transcripción y el de la traducción se denomina región 5' no traducida (5' UTR, del inglés *UnTranslated Region*).
- **Exones.** Son las secuencias de codones que serán traducidas a proteínas. Son secuencias relativamente cortas de aproximadamente 100 a 200 pb.
- **Intrones.** Son secuencias que serán removidas del mRNA, de tal forma que no serán traducidas a proteínas. Son regiones relativamente largas mayores a 1 kb. Tanto los exones como los intrones se encuentran en la región río abajo.



- **Sitio de terminación de la traducción.** Es el codón que codifica para la terminación de la traducción (TAA).
- **Sitio de terminación de la transcripción.** Secuencia reconocida para llevar a cabo la terminación de la transcripción. El espacio entre el sitio de terminación de la traducción y el de transcripción es una región 3' no traducida (3' UTR) que aunque si se transcribe, no se traduce. Dentro de ella se incluye la secuencia AATAAA, necesaria para la poliadenilación, la cual le va a conferir estabilidad al mRNA, le permitirá al mRNA salir del núcleo y ser traducido.
- **Operador.** Es una secuencia corta de DNA que controla el acceso de la RNA polimerasa al promotor.
- **Regulador.** Es una secuencia corta de DNA que controla el tiempo y velocidad de transcripción de los genes.
- **Promotor.** Es la secuencia de DNA que es reconocida por la RNA polimerasa, a la cual se une para dar inicio a la transcripción. Esta secuencia varía dependiendo del organismo pero siempre se encuentra en la región río arriba.

En la siguiente figura puedes ver las secuencias consenso de los promotores más comunes en procariontas y eucariotas. En las procariontas se encuentra una secuencia denominada **Pribnow**, localizada en la posición -10 y -35. Por otro lado, en las células eucariotas, se encuentra la **caja TATA** (por su secuencia rica en A y T) en la posición -25 y la **secuencia CAAT** en la posición -75.



**Figura 23. Secuencias consenso de promotores.** A) Células procariontas y B) células eucariotas (b). El primer nucleótido que se transcribe recibe el número +1 y el adyacente por el lado 5' se señala como -1. Observa que en la secuencia CAAT aparece un nucleótido como N, eso quiere decir que puede ser cualquier de los existentes, es decir, A, T, G o C.

Tomado de Berg, et. al., 2007.

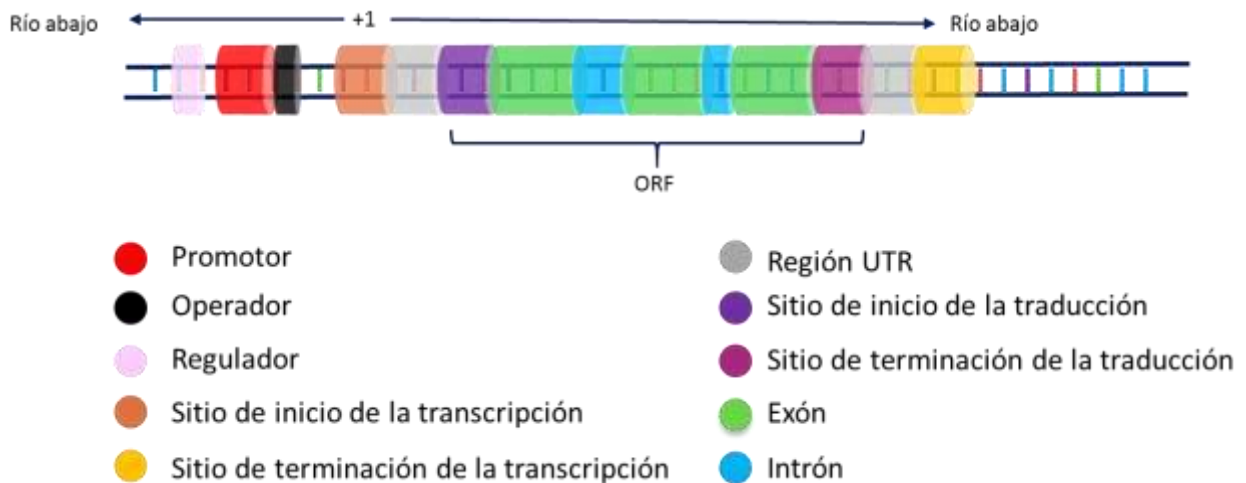


Ahora que identificamos cada uno de los componentes de los genes podemos definir lo que es un *open reading frame* (ORF).

## ORF

Del inglés *open reading frame*, se puede traducir como marco de lectura abierto. Consiste en un conjunto de tripletes que codificarán aminoácidos de una proteína. Está conformado por:

- Un sitio de inicio de la traducción.
- Codones que codifican para los aminoácidos de la proteína.
- Un sitio de terminación de la traducción.



**Figura 24. Estructura de un gen.** Se muestran los sitios de inicio y terminación de la transcripción y traducción, las regiones UTR, intrones, exones y el promotor. En la parte superior se identifica la región río arriba y abajo, en la parte inferior se muestran los componentes de un ORF.

Tomado de

[http://www.iespando.com/web/departamentos/biogeno/web/departamento/2BCH/B4\\_INFORMACION/T404\\_TRAS\\_TRADU/EJERCICIOS\\_sol.htm](http://www.iespando.com/web/departamentos/biogeno/web/departamento/2BCH/B4_INFORMACION/T404_TRAS_TRADU/EJERCICIOS_sol.htm)



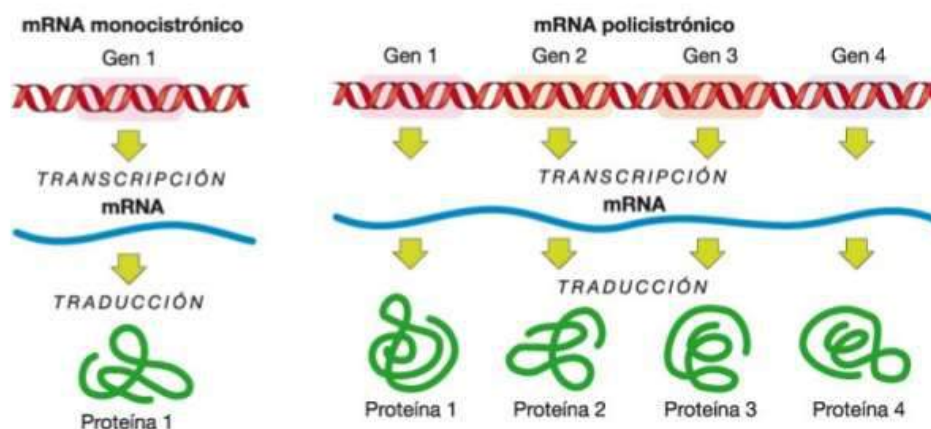
## Pseudogen

Secuencia que podría tener la información para un gen funcional pero que presenta mutaciones que ocasionan que no pueda expresarse.

En muchos casos el nombre de un gen es el mismo que el de la proteína para la cual codifica; por ello, para poder diferenciar en un texto cuando estamos hablando de uno o de otro, la escritura de tiene algunas distinciones:

- Los nombres de los genes deben escribirse en cursivas con la primera letra en minúscula. Ejemplo: *dnaA*.
- Los nombres de las proteínas no se escriben en cursivas y la primera letra debe ser mayúscula. Ejemplo: DnaA.

En muchas bacterias, los grupos de genes cuyos productos están implicados en una misma vía metabólica están agrupados en el cromosoma. En muchos casos son contiguos y les falta la señal que codifica para la terminación de la transcripción a los genes intermedios, por lo que sólo hay una señal de terminación al final de todos los genes. El resultado es que durante la transcripción se produce un mRNA largo, que codifica más de un gen. Ya que históricamente, en fagos y en bacterias, los genes se denominan citrones, este RNA se denomina mRNA **policistrónico** (Klug, *et. al.*, 2006).



**Figura 25. Diferencias entre el mRNA mono y policistrónico.** Del lado izquierdo se muestra como el mRNA monocistrónico genera únicamente una proteína, a diferencia del policistrónico (derecha) que se traduce en varias proteínas.



A los genes los podemos clasificar de acuerdo a cómo son regulados en:

- A) Genes constitutivos:** siempre se expresan en la misma cantidad sin importar las condiciones ambientales o el medio de cultivo. Algunos ejemplos serían genes ribosomales o la producción de actina o miosina ya que siempre se necesitan en la célula.
- B) Inducibles:** son aquellos que se empiezan a transcribir solo cuando está presente en el medio un compuesto denominado **inductor**.
- C) Reprimibles:** se producen sólo cuando se elimina del medio un compuesto denominado **represor**.

En la siguiente unidad se explicarán más a fondo estos conceptos al analizar el tema de regulación de la traducción.

## Actividades

**La elaboración de las actividades y evidencias de aprendizaje estarán guiadas por tu docente en línea**, mismo que te indicará, a través de la *Planeación didáctica del docente en línea*, la dinámica que tú y tus compañeros (as) llevarán a cabo, así como la fecha de entrega de tus productos.

Para el envío de tus trabajos utilizarás la siguiente nomenclatura: BBM1\_U1\_A1\_XXYZ, donde BBM1 corresponde a las siglas de la asignatura, U1 es unidad de conocimiento, A1 es el número de actividad, el cual debes sustituir considerando la actividad que se realices, en el caso de la evidencia de aprendizaje se deberá colocar EA; asimismo, XX son las primeras letras de tu nombre y la primera letra de tu apellido paterno y Z corresponde a la primera letra de tu apellido materno.

## Autorreflexiones

Para la parte de **autorreflexiones** debes de consultar el foro *Preguntas de Autorreflexión* para realizar la actividad correspondiente y enviarlo a la herramienta de *Autorreflexiones*. Cabe recordar que esta actividad tiene una ponderación del 10 % de tu evaluación.

Para el envío de tu autorreflexión utiliza la siguiente nomenclatura:



BBM1\_U1\_ATR\_XXYZ, donde BBM1 corresponde a las siglas de la asignatura, U1 es la unidad de conocimiento, XX son las primeras letras de tu nombre, y la primera letra de tu apellido paterno y Z la primera letra de tu apellido materno.

## Cierre de la unidad

Los cambios en el genoma que se transmiten a la descendencia y le confieren al organismo una ventaja en el ambiente donde habita, pueden modificar a la especie y de esta manera inducir un cambio evolutivo. Estos cambios pueden permanecer o eliminarse durante el proceso de replicación del material genético.

El proceso de replicación del DNA es la base para la comprensión de distintos fenómenos evolutivos, además permite comprender cómo es que se conservan ciertas características en los individuos durante mucho tiempo. La comprensión de este proceso te permitirá entender otros más complejos como la transcripción y traducción, conceptos que analizarás en la siguiente unidad, además te permitirá conocer el fundamento de muchas técnicas empleadas en la biología molecular.

La estructura del código genético no fue algo sencillo de identificar, esto se logró gracias al trabajo de muchos científicos que con su creatividad y persistencia comprendieron la función de cada uno de sus componentes. El diferenciar entre cada uno de sus elementos, te permitirá comprender mejor el procesamiento genético del que son sujetos y que analizaremos más adelante.



## Para saber más



Replicación:

<https://www.youtube.com/watch?v=WtRA-NsERKY>

<https://www.youtube.com/watch?v=DMbjl-uj6G8>

<https://www.youtube.com/watch?v=-EGKrYdQEHQ>

Diferencias en la replicación de eucariotas y procariontes:

<https://www.youtube.com/watch?v=pobJjivKqSA>

Código genético:

<https://www.youtube.com/watch?v=Rfc71nFYYgE>

Genes:

<https://www.youtube.com/watch?v=d9Je4mHwsRQ>

[https://www.youtube.com/watch?v=\\_QLO0QLopaE](https://www.youtube.com/watch?v=_QLO0QLopaE)



Genes:

<http://genomasur.com/lecturas/Guia11.htm>

## Fuentes de consulta



1. Alberts, Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2010) *Biología Molecular de la Célula*, 5a Edición, Ed. Garland Publishing, New York.
2. Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L. (2007) *Bioquímica*. Ed Reverté, España.
3. Cassimeris L., Lingappa V.R. Plopper G. (2011). México. *Lewin Células*. McGrawHill. Segunda edición.
4. De Robertis, E., Hib, J. (2005) *Fundamentos de Biología Celular y Molecular de De Robertis*. 4a Edición, Ed. El Ateneo, Argentina.
5. Griffiths, A.J.F., Miller, J.H., Suzuki, D.T., Lewontin, R.C., Gelbart, W.M.(2008) *Genética*, 7a Edición, Ed. Mc Graw Hill/Interamericana de España, S.A. pps. 241-266.
6. Klug W. S., Cummings M. R., Spencer C.A. (2008). España. *Conceptos de Genética*. Pearson Education.
7. Lewin, B. (2008) *Genes IX*, Ed. McGraw-Hill/Interamericana de México.
8. Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D., Darnell, J. (2005) *Biología Celular y Molecular*, 5ª Edición, Ed. Médica Panamericana, Argentina.





9. Martinko, J. (2009) *Brock Biología de los Microorganismos*, 12a Edición, Ed. Addison-Wesley, EEUU.
10. Nelson D.L., Cox M.M. (2009) España. *Lehninger Principios de Bioquímica*. México. Editorial Omega. Tercera edición.
11. Smith C. A. y Wood E. J. (1998). Estados Unidos de América. *Biología Molecular y Biotecnología*. Addison Wesley Iberoamericana.