



Departamento de Ciencias.

Subsector : Biología.

Asignatura: Biología.

GUIA DE APRENDIZAJE

Estructura y función de los seres vivos: Expresión y manipulación del material genético

Nombre: _____

Nivel : 4 medio.

**Contenidos: material genético. Estructura y función del DNA.
Replicación del DNA.**

Objetivo. Analizar la estructura del ADN y los mecanismos de su replicación que permiten su mantención de generación en generación, considerando los aportes relevantes de científicos en su contexto histórico.

1. LOS EXPERIMENTOS QUE DEMOSTRARON QUE EL DNA ES EL MATERIAL GENÉTICO.

El concepto de gen fue introducido en 1860 por Mendel (factor mendeliano) y recién alrededor de 1920 se realizaron los primeros experimentos que revelaron al DNA como material genético.

El problema de la naturaleza física del gen era uno de los grandes problemas de la biología que había fascinado por años a los científicos.

La clave para el modelo de estudio fue una enigmática observación realizada en 1928 por Griffith en el curso de experimentos con una bacteria llamada neumococo que produce neumonía en humanos y que es generalmente letal en ratones.

La transformación bacteriana es un proceso en el cual se produce un cambio en las características de los organismos debido a transferencia génica. Fue descubierta en 1928 por Frederick Griffith mientras estudiaba los efectos en ratones de la infección por una bacteria que produce neumonía en humanos. Los neumococos con cápsula producen colonias lisas y brillantes, mientras que los que carecen de cápsula producen colonias rugosas de apariencia opaca. Los neumococos encapsulados que infectan ratones son extremadamente virulentos, es decir, tienen un tremendo poder para producir enfermedad. Una sola bacteria inyectada a un ratón puede multiplicarse rápidamente y causar la muerte del animal. La cápsula protege a las bacterias de las defensas del organismo.

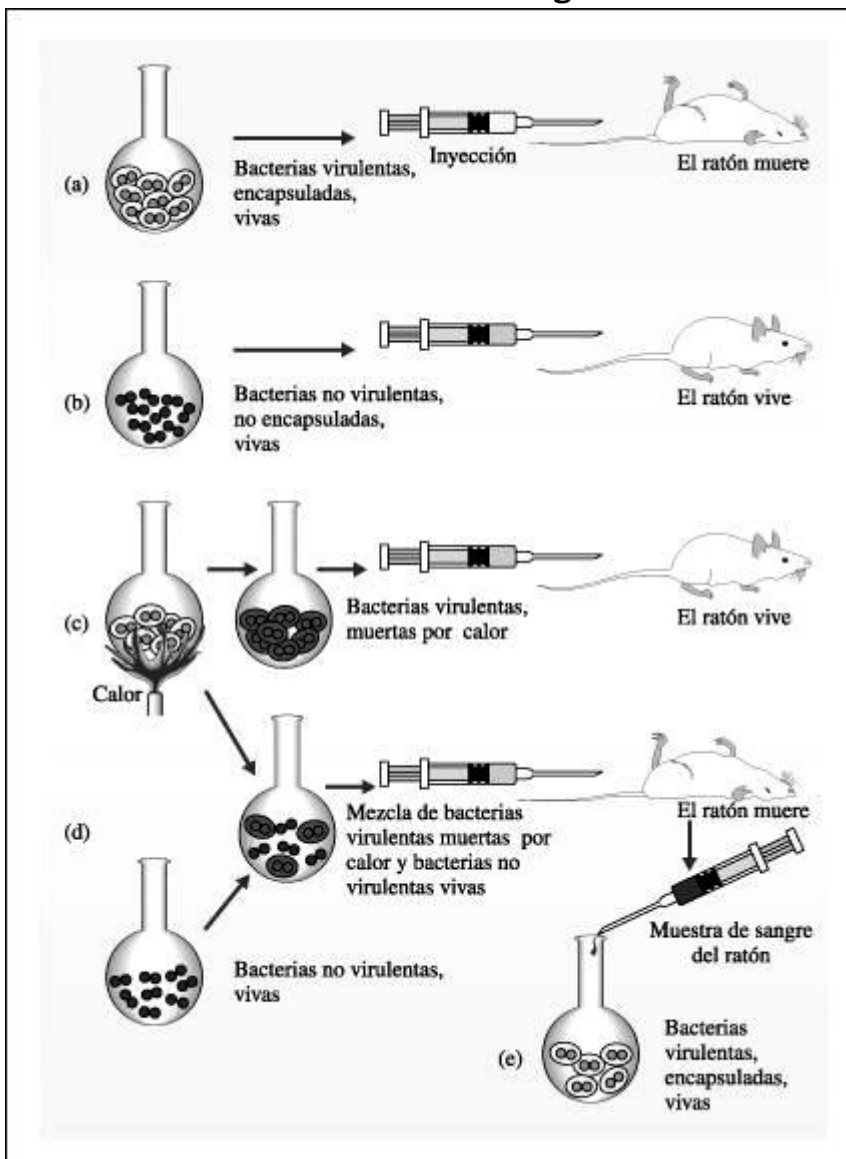
Griffith inyectó algunos ratones con neumococos de colonias lisas (encapsulados) virulentos, otros con estas mismas bacterias pero muertas por calor, y también inyectó algunos otros ratones con una mezcla de bacterias rugosas y bacterias lisas y muertas por calor. Tal como se esperaba, los ratones que recibieron neumococos lisos murieron, en cambio sobrevivieron los que recibieron neumococos lisos muertos o neumococos rugosos. Esto mostró que los restos celulares no eran capaces de causar daño y muerte del animal. Por sorpresa, también murieron los ratones que recibieron neumococos lisos muertos junto con neumococos rugosos. Griffith aisló de estos animales muertos las bacterias que tenían y se encontró con un hallazgo de crucial importancia.

La presencia de bacterias muertas encapsuladas había permitido que las bacterias vivas sin cápsula desarrollaran cápsula y se hicieran virulentas. Ni Griffith ni sus colegas supieron cómo había ocurrido esta transformación. Más aún, generaciones posteriores de estas bacterias mantuvieron el fenotipo virulento. **Esta transformación era heredable.**

Lo que muestra este experimento es que, de alguna manera desconocida en ese momento, los restos celulares de las bacterias virulentas convierten a las bacterias no virulentas en virulentas. Este proceso se llamó transformación y en la actualidad es utilizado corrientemente en procedimientos de biotecnología.

Dos años después se encontró en el laboratorio de Avery que se podía repetir el experimento dejando de lado la inyección en ratones. Se establecieron condiciones para la transformación bacteriana enteramente en cultivo. Oswald Avery descubrió que una cápsula de polisacáridos era la responsable de la virulencia de las bacterias y en 1944 se aisló en su laboratorio la sustancia responsable de la transformación, marcando el inicio de la genética molecular. Primero se logró transformar bacterias de colonias "R" en bacterias de colonias "S" cultivándolas en presencia de los restos de bacterias virulentas muertas por calor. Luego se comenzó a aislar los componentes químicos de las bacterias "S" y probar su capacidad de producir la misma transformación en las bacterias "R". Tal como se ilustra en la figura, el elemento transformante resultó ser el DNA, molécula ya conocida bioquímicamente como compuesta por apenas cuatro unidades diferentes. En esa época ya se había aislado DNA de las plantas y animales pero se creía que eran las proteínas las portadoras de la información genética. Sólo después que Watson y Crick determinaron la estructura del DNA quedó claro que esta molécula codificaba la información genética. Sin embargo, a pesar que el trabajo del grupo de Avery realizó numerosas pruebas para descartar que su preparación no estaba contaminada por proteínas, por muchos años se siguió pensando que el material genético debía ser proteína.

Fig. Primeras evidencias del DNA como material genético.



ACTIVIDAD N° 1.

1. ¿Qué ventajas presenta el uso de bacterias para este tipo de experimento?

2. ¿Qué ocurre con las bacterias cuando se exponen a altas temperaturas?

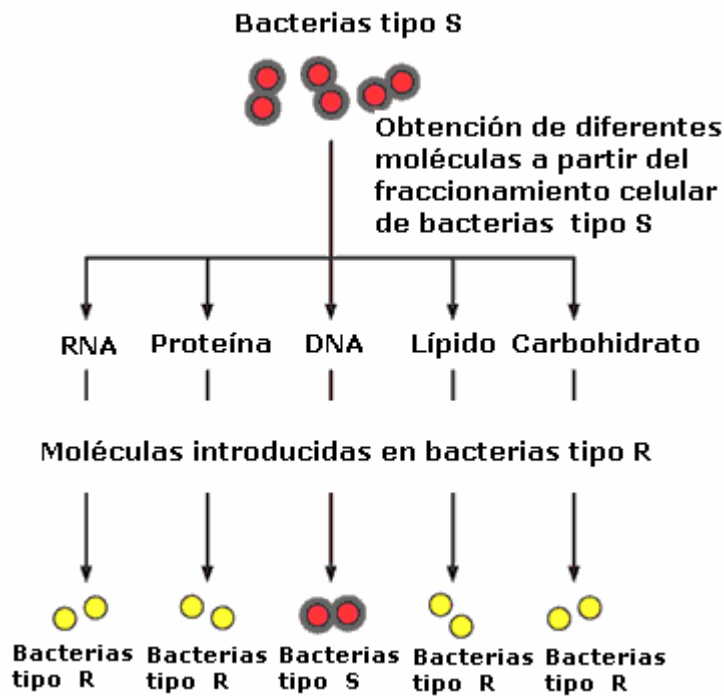
3. ¿Por qué al mezclar bacterias encapsuladas muertas con bacterias no encapsuladas vivas el ratón muere?

4. ¿A qué se llama factor de transformación?

5. ¿Por qué las bacterias hijas resultantes heredaban el fenotipo virulento?

6. ¿Cuál es la naturaleza química de lo que causa la transformación?

Fig. Experiencia de Avery, MacLeod y McCarty.



2. Ácidos nucleicos.

Los ácidos nucleicos son macromoléculas formadas por C, H, O, N y P, cuyas unidades monoméricas son los nucleótidos. Hay dos tipos: DNA y RNA, son los polímeros que portan el código para la formación de las proteínas.

El DNA es el material genético que los organismos heredan de sus padres. En él están los genes, porciones específicas de la macromolécula de DNA que programan las secuencias de aminoácidos y que corresponde a la estructura primaria de las proteínas. De este modo, y a través de las acciones de las proteínas, el DNA controla la vida de la célula y del organismo.

La era moderna de la biología molecular empieza en 1953 cuando Watson y Crick proponen correctamente la estructura del DNA como una doble hélice. Su modelo se basó en el análisis de difracción de rayos X y construcción de modelos utilizando réplicas de nucleótidos.

El DNA es el soporte universal de la información genética. En su estructura se encuentra la clave de la continuidad de la vida y de la expresión de la información génica en proteínas. Como la secuencia de nucleótidos es el único elemento variable en la molécula es evidente que debe ser también la propiedad que se utiliza para codificar las instrucciones genéticas. Así, todo el mensaje genético está escrito en un lenguaje de sólo cuatro letras. Otras propiedades del DNA igualmente cruciales para la vida son la complementariedad de las bases y la mantención de la estructura por enlaces de baja energía, fáciles de romper. El mecanismo para asegurar la réplica fiel del DNA y la copia de la información genética en una molécula que lleva el mensaje hacia el sitio donde se fabrican proteínas dependen de estas propiedades.

NUCLEÓTIDOS.

Los nucleótidos constituyen la unidad fundamental de los ácidos nucleicos y está formada por tres subunidades características:

- Un grupo fosfato (PO₄-2).
- Un azúcar de cinco carbonos (pentosa);
- Una base nitrogenada (púrica o pirimídica).

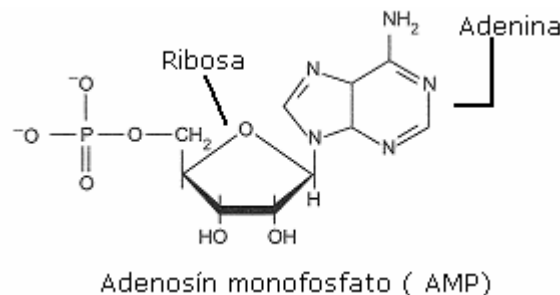


Fig: Estructura básica de un nucleótido.

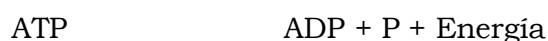
Los nucleótidos, además de su papel en la formación de estas dos importantes macromoléculas, el DNA y RNA, tienen funciones independientes y de vital importancia para la vida celular.

a) Funciones de los nucleótidos libres:

• Transportadores de energía, fundamentalmente, el sistema ATP/ADP

El principal portador de energía, es una molécula llamada ATP (adenosín trifosfato), que se forma a partir del AMP, al cual hay que agregarle dos fosfatos más. Los enlaces fosfatos del ATP son relativamente débiles y pueden romperse por hidrólisis, liberando 10 kilocalorías de energía por mol de ATP hidrolizado. La reacción puede ocurrir en sentido contrario si se aportan las 10 kilocalorías por mol.

Esta reacción se representa de la siguiente manera:



• **Coenzimas**, participan junto a enzimas en la transferencia de un grupo de átomos de una sustancia a otra. Las más comunes son las derivadas del dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD y NADP), los derivados de la flavina (FMN y FAD) y la coenzima A (CoA).

ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO (DNA).

Todos los organismos celulares, tanto procariotas como eucariotas, tienen DNA de doble cadena como molécula hereditaria.

En las células eucariotas, el DNA se encuentra en el núcleo y una pequeña cantidad en las mitocondrias y los cloroplastos. En las células procariotas, la molécula de DNA es bicatenaria, circular, cerrada y desnuda (libre de histonas).

a) Organización del DNA.

Al igual que en las proteínas, en la molécula de DNA se pueden describir varias estructuras:

Estructura primaria

Se trata de la secuencia de desoxirribonucleótidos a lo largo de la cadena polinucleotídica. Los desoxirribonucleótidos que forman el DNA son los de adenina, guanina, citosina y timina. La información genética está contenida en el orden exacto de los nucleótidos.

Estructura secundaria

La estructura secundaria de la doble hélice del DNA, permite explicar, además del almacenamiento de la información genética, el mecanismo de duplicación del DNA (replicación semiconservativa), para transmitir la información a las células hijas.

Watson y Crick (1953) postularon un modelo para la estructura tridimensional del DNA, basándose en los datos obtenidos mediante difracción de rayos X por Franklin y Wilkins, y en las leyes de equivalencia de bases de Chargaff que indica que el número de bases de adenina es igual al de timina, así como el número de guanina es igual a la de citosina.

El DNA está formado por dos hebras de nucleótidos con orientaciones opuestas que se entrelazan de manera helicoidal, formando una doble hélice. Se dice que la orientación de las hebras es antiparalela puesto que están dispuestas con direcciones 5' —3' opuestas. Las hebras se mantienen en posición mediante un preciso apareamiento entre los nucleótidos. En la cadena de nucleótidos, una unión química sólida (unión covalente) une el fosfato de un nucleótido con la desoxirribosa del nucleótido siguiente formando una hebra polinucleotídica. En cambio, las dos cadenas de nucleótidos están unidas entre sí por uniones transversales «débiles» (uniones de hidrógeno) complementarias entre las bases nitrogenadas de dos nucleótidos frente a frente. Una base es capaz de unirse por estos enlaces de hidrógeno solamente a una de las otras tres bases. La adenina se une sólo con la timina y la guanina se une sólo con la citosina. Así, las bases se complementan dos-a-dos. La adenina se encuentra apareada con la timina a través de dos puentes de hidrógeno, mientras que la guanina se aparea con la citosina mediante tres puentes de hidrógeno. Esto se conoce como apareamiento complementario y se debe a que la formación de puentes de hidrógeno está restringida a los pares G-C y A-T como consecuencia del tamaño, forma y composición química de las bases. La presencia de miles de estos puentes de hidrógeno contribuyen con la principal fuerza química que da estabilidad al DNA.

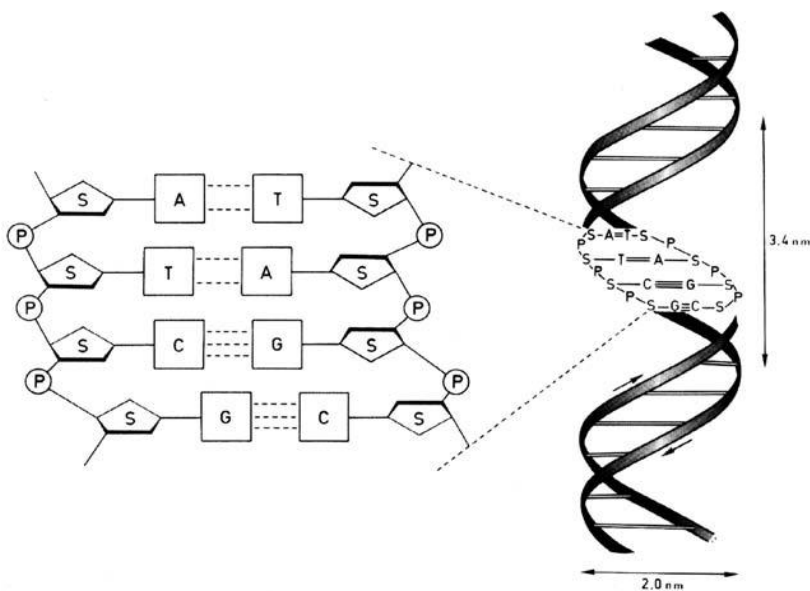


Fig. La estructura de doble hélice del DNA, según Watson y Crick.

Estructura terciaria

La forma de como se almacena el DNA en un volumen reducido es diferente en los procariontes y en los eucariontes.

Las bacterias contienen una sola molécula de DNA bicatenaria (doble hélice), desnuda (no asociada a proteínas) que tiene forma circular. En las mitocondrias y cloroplastos de las células eucariotas, el DNA presenta la misma estructura, lo que apoya la teoría endosimbionte de Margulis.

El DNA de los eucariontes, que desplegado mediría como un centímetro, debe empaquetarse para caber en un espacio de un micrómetro. Para conseguir el máximo empaquetamiento se une a proteínas de dos tipos: histonas y proteínas cromosómicas no histonas. Estas últimas incluyen miles de proteínas con funciones muy diversas, como la síntesis de RNA o de DNA, entre otras. Esta asociación DNA-proteínas forma una unidad estructural y funcional llamada cromatina.

La forma en que se pliega la molécula de DNA en el núcleo de las células eucariontes es importante por dos razones: permite disponer de grandes moléculas en poco espacio y determina la actividad de los genes.

Las histonas son proteínas estructurales que contienen gran cantidad de aminoácidos con carga positiva, por lo que se unen estrechamente al DNA. También se ha demostrado que son reguladoras de la actividad de muchos genes es decir son capaces de promover su expresión.

EVALUACION:

Las uniones entre nucleótidos de guanina y citosina requieren mucha energía para romperlas porque

- el enlace fosfodiéster es triple.
- el enlace fosfodiéster es doble.
- existe enlace de hidrogeno simple.
- existe enlace de hidrogeno doble.
- existe enlace de hidrogeno triple.

El modelo de la molécula de ADN fue propuesto por:

- Oswald Avery.
- James Watson.
- Frederick Griffith.
- Francis Crick.

- a. I y II. b. I y III. c. II y III. d. II y IV. e. III y IV.

El experimento de Frederick Griffith demuestra que:

- Solo los ratones tienen ADN.
- Los ratones no tienen ADN.
- Las bacterias no contienen ADN.
- Los virus no contienen ADN.
- El ADN es una molécula transformante.

El azúcar de un nucleótido de DNA es:

- La ribosa.
- La desoxirribosa.
- La timina.
- El uracilo.
- La adenina.

El concepto denominado **cromatina** se puede asociar correctamente a alguno de los siguientes organismos:

- Plantas
 - Hongos
 - Bacterias
- Sólo I
 - Sólo II
 - Sólo III
 - Sólo I y II
 - Sólo II y III.
-

REPLICACION DEL DNA.

Las células tienen la capacidad de duplicar o replicar su ADN; con ello mantienen la continuidad de la información genética de una generación a otra, lo que es clave para mantener la vida. En esta lección, conocerás los procesos moleculares involucrados en la replicación y sus etapas.

1. Importancia del proceso de replicación

La división celular (etapa M) es la fase del ciclo celular en la que se originan dos nuevas células idénticas entre sí, gracias a que cada una de ellas recibe una copia del material genético original. Por lo tanto, antes de dividirse la célula debe copiar o replicar su ADN; de esta manera, cada célula hija recibe un duplicado.

La división celular es importante para los organismos unicelulares pues es su forma de reproducirse, mientras que gracias a ella los organismos pluricelulares se desarrollan, crecen y reparan sus tejidos.

En el período S ocurre la replicación del ADN, para ello se necesita: una hebra de ADN patrón o molde; enzimas que aceleren y regulen el proceso; ATP que aporta la energía; muchísimas moléculas de diferentes tipos de nucleótidos, con los que se construirá la nueva molécula.

2. 1 La replicación es bidireccional, semiconservativa y semidiscontinua

A continuación se describe la secuencia de hechos que transcurre en el proceso de replicación.

1° Se separan las cadenas de nucleótidos, gracias a la ruptura de los puentes de hidrógeno que unen las bases nitrogenadas de ambas cadenas.

2° Al separarse las cadenas, se forma la horquilla de replicación, estructura en forma de "Y", por la que se desplazan las enzimas que catalizan la replicación del ADN.

3° El lugar donde se inicia la replicación se llama origen de la replicación. Es una secuencia específica de nucleótidos a la que se unen las enzimas que iniciarán el proceso. En el ADN de eucariontes, existen muchos orígenes de replicación, mientras que en el de procariontes, hay solo uno.

4° Desde cada origen, la replicación avanza bidireccionalmente, observándose una burbuja de replicación, que está formada por dos horquillas que avanzan en direcciones opuestas.

5° En la burbuja de replicación, las enzimas específicas van uniendo los nucleótidos complementarios a las bases nitrogenadas libres de la cadena original. La elongación de la nueva cadena complementaria siempre es en dirección $5' \rightarrow 3'$, ya que solo en el extremo $3'$ -OH se puede unir un nuevo nucleótido.

6° Como las cadenas son antiparalelas, una vez formada la horquilla solo una de ellas tiene su extremo $3'$ -OH libre y su cadena complementaria puede ser sintetizada sin interrupciones a medida que se abre la horquilla; a esta se le llama hebra continua, adelantada o conductora. A la cadena complementaria, de aquella hebra original que tiene $5'$ -P libre, se le conoce como discontinua o retrasada porque se sintetiza produciendo fragmentos cortos (fragmentos de Okazaki), que luego serán unidos por enzimas. Es por esto que la replicación es semidiscontinua.

7° Cuando las enzimas encargadas de la replicación llegan cerca de los extremos de la cadena molde, se encuentran con una secuencia de término, que indica el final del proceso.

8° Ahora, cada una de las moléculas de ADN resultantes contiene una de las cadenas del ADN de origen y otra nueva, por eso se dice que la replicación es semiconservativa.

9° Cada molécula de ADN resultante se convertirá en una de las dos cromátidas que formarán un cromosoma durante la mitosis.

LA ENZIMAS DEL PROCESO DE REPLICACION.

ADN pol I

- Corta el ARN cebador
- Repara errores de la síntesis del ADN
- Rellena con desoxirribonucleótidos el hueco resultante al eliminarse el ARN cebador.

ADN pol II

- Repara pequeñas roturas en las hebras del ADN (corrigiendo estos errores)

ADN pol III

- Interviene directamente en la polimerización del ADN, (seleccionando el dN adecuado).

Primasas (ARN polimerasas dependientes de ADN)

- Sintetizan el ARN cebador usando como molde una hebra de ADN

Girasas (topoisomerasas)

- Actúan desenrollando el ADN y evitando el sobreenrollamiento

Helicasas

- Rompe los puentes de hidrogeno y separa las dos hebras del ADN, para que cada una actúe de molde

Proteínas SSB (*single strand-binding*) (estabilizadoras)

- Se unen a las hebras, estabilizándolas (manteniéndolas separadas) mientras tiene lugar la replicación. Actúan conjuntamente con las helicasas

Nucleasas

- Rompen los enlaces fosfodiéster entre nucleótidos, dando lugar a un 'punto de origen' o inicio de replicación.

Ligasas

- Unen fragmentos adyacentes mediante enlaces fosfodiéster

ACTIVIDAD: REALICE EN SU CUADERNO UN MAPA CONCEPTUAL DEL PROCESO DE REPLICACION, INDICANDO LA ACCION DE LAS ENZIMAS.

RECOMENDACIONES:

ES IMPORTANTE QUE ESTA GUIA LA GUARDE JUNTO CON SU RESOLUCION A LAS ACTIVIDADES PROPUESTAS, YA QUE POSTERIORMENTE SERA REVISADA Y EVALUADA POR SU PROFESOR.

EN CASO DE ALGUNA DUDA O CONSULTA ESCRIBIR A E-MAIL: joselcontrerasr@hotmail.com SOLO DE LUNES A VIERNES ENTRE 16:30 a 18:00 HORAS.