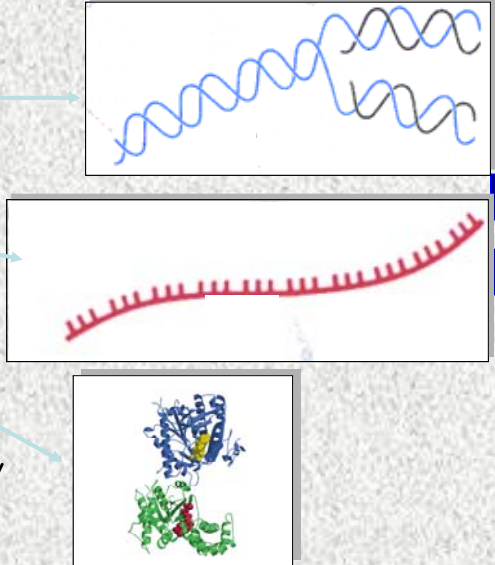
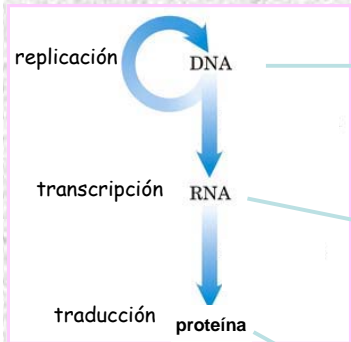
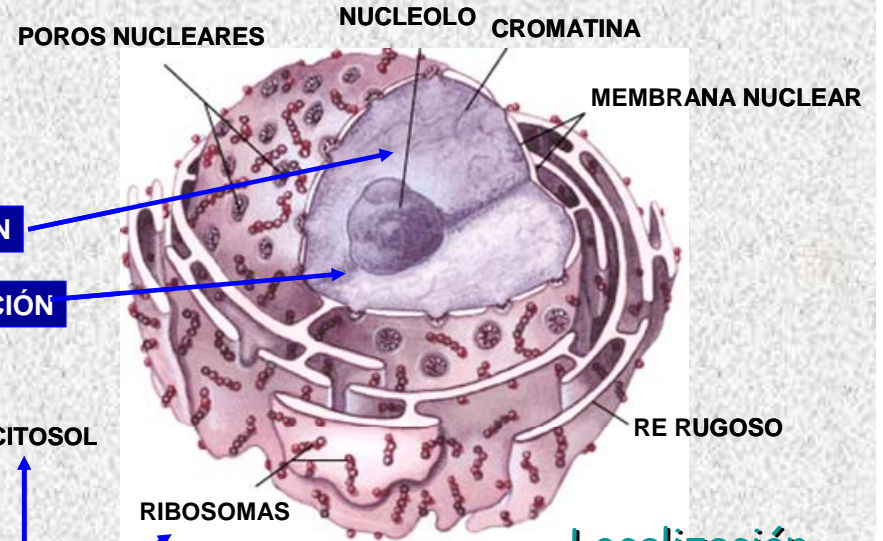


# Metabolismo de la información



El dogma central de la biología y genética moleculares.



REPLICACIÓN

TRANSCRIPCIÓN

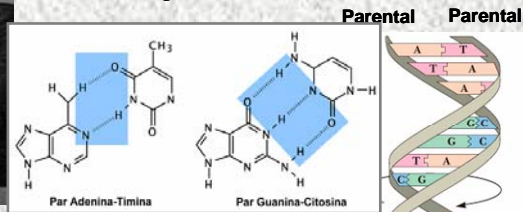
TRADUCCIÓN

Localización



Watson y Crick Nature (1953), 171:737

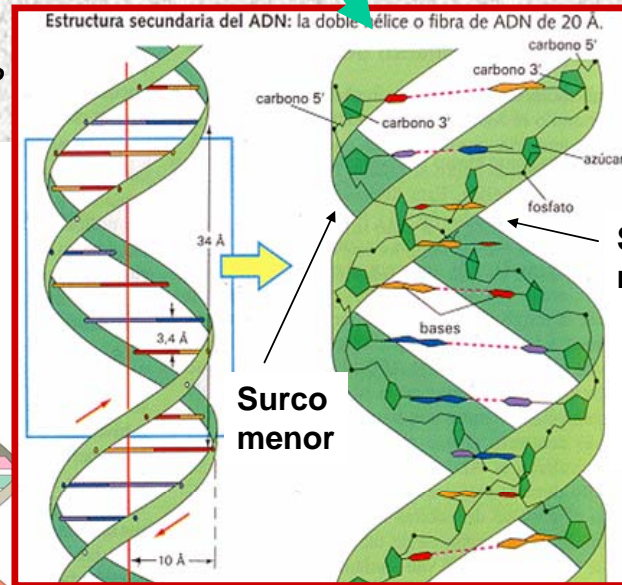
*“No ha escapado a nuestro conocimiento que el apareamiento específico entre bases que hemos postulado sugiere un mecanismo para el copiado del material genético”*



*“Si se conociera el orden real de las bases de una de las dos cadenas sería posible escribir el orden exacto de las bases de la otra, en virtud del apareamiento específico entre bases. Así, una cadena es como si fuera el complemento de la otra, y es esta característica la que sugiere cómo el DNA podría duplicarse a sí mismo”*

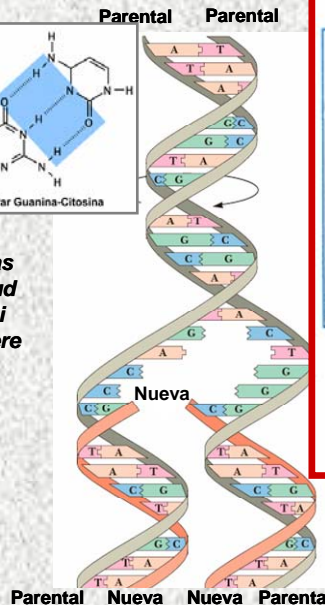
Cada hebra de DNA actuaría como MOLDE para dirigir la formación posterior de una hebra complementaria, dando lugar a dos pares de hebras de DNA donde antes sólo existía una.

B-DNA

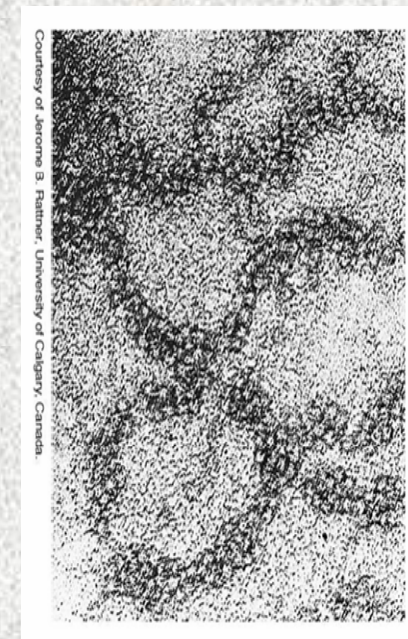
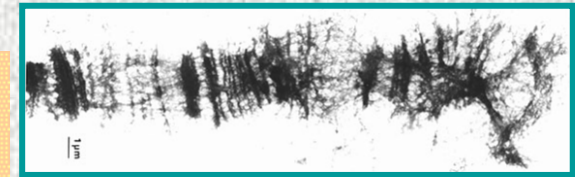
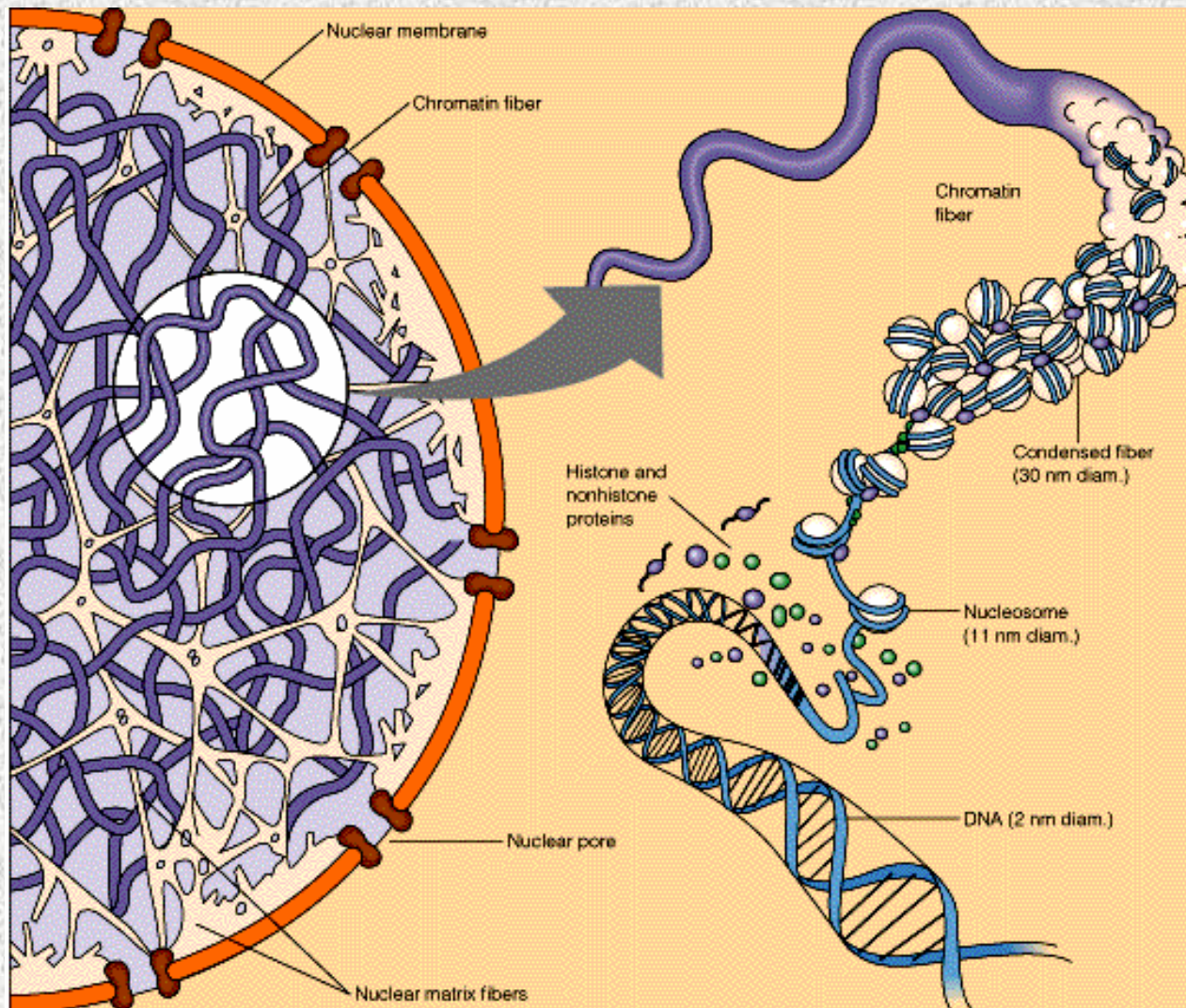


Surco mayor

Apilamiento de bases nitrogenadas y dimensiones

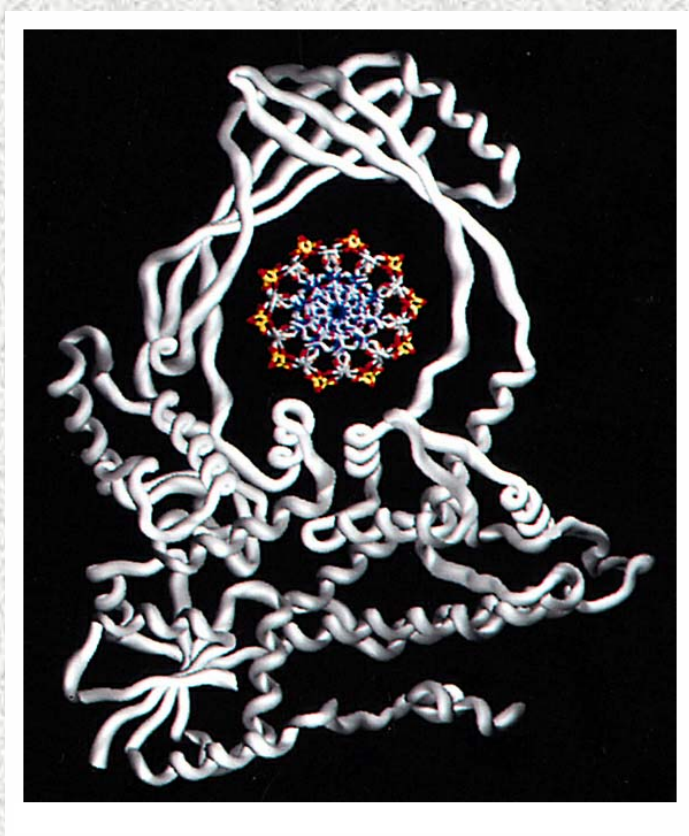


# Empaquetamiento del DNA en el núcleo

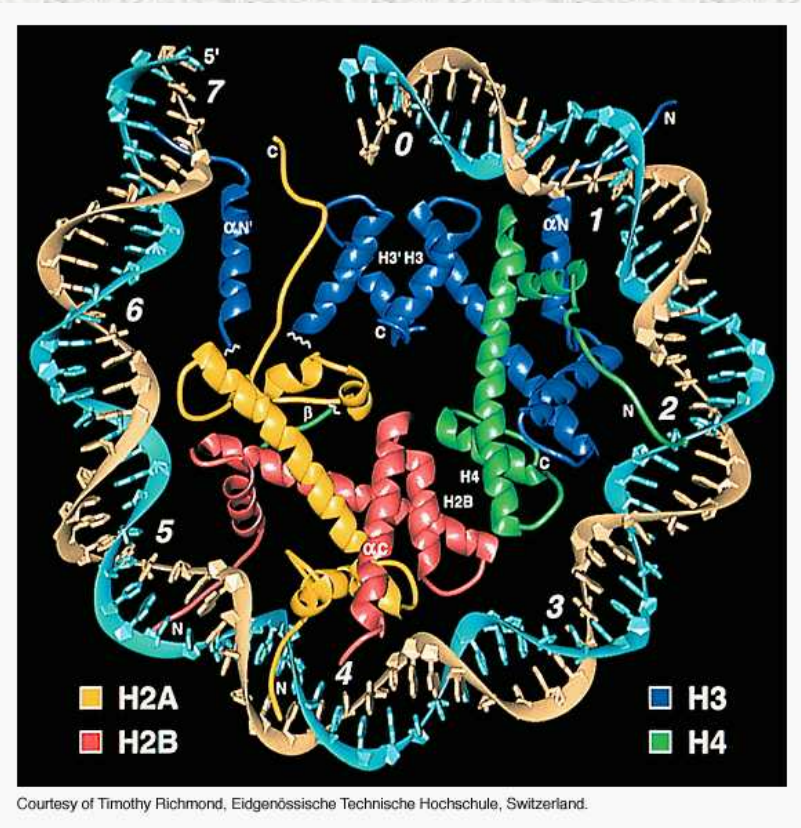


Microscopía electrónica de fibras de cromatina

# Asociación del DNA<sub>dh</sub> a proteínas



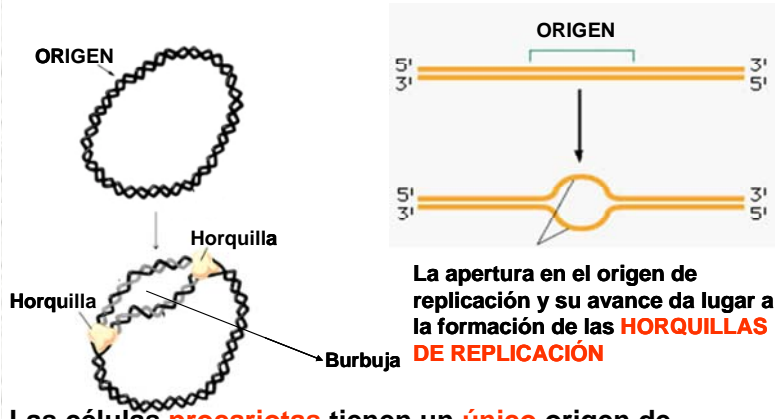
Asociación de DNA a topoisomerasa



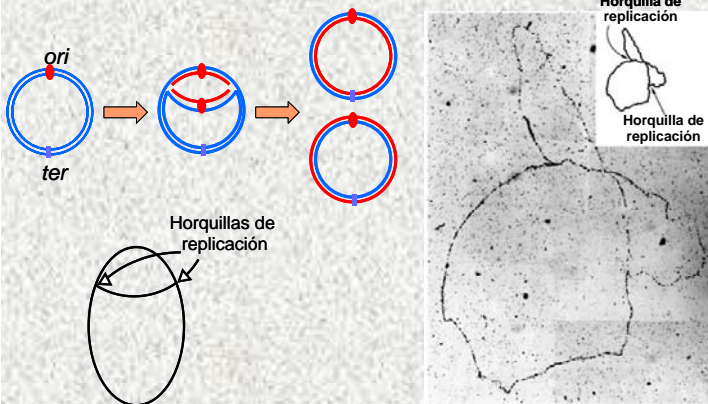
Nucleosoma

## ¿Dónde se inicia la replicación a lo largo de la molécula de DNA?

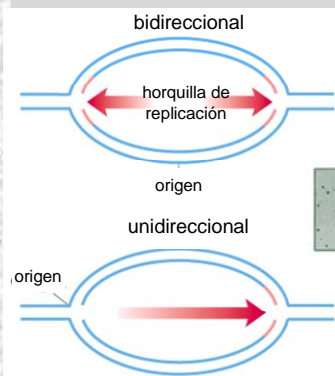
La iniciación de la replicación tiene lugar en sitios concretos de la molécula de DNA: **ORÍGENES DE REPLICACIÓN**.



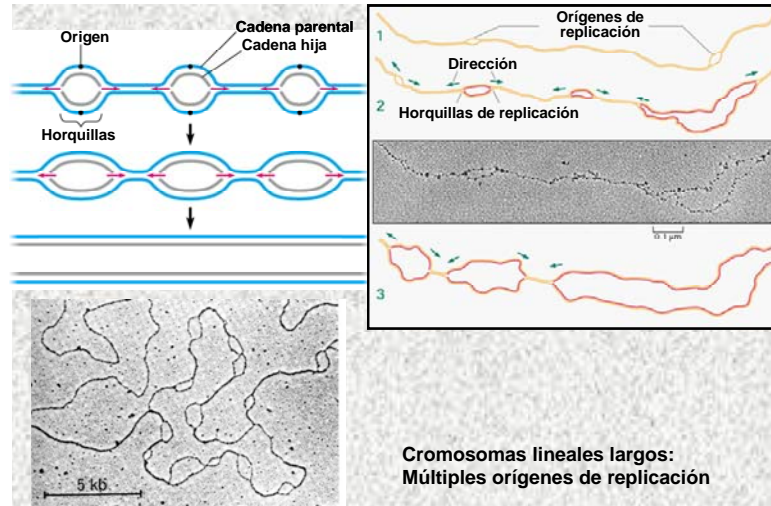
Las células **procariontas** tienen un **único** origen de replicación.



Cromosomas circulares: Normalmente un único origen de replicación



## Bidireccional



Cromosomas lineales largos:  
Múltiples orígenes de replicación

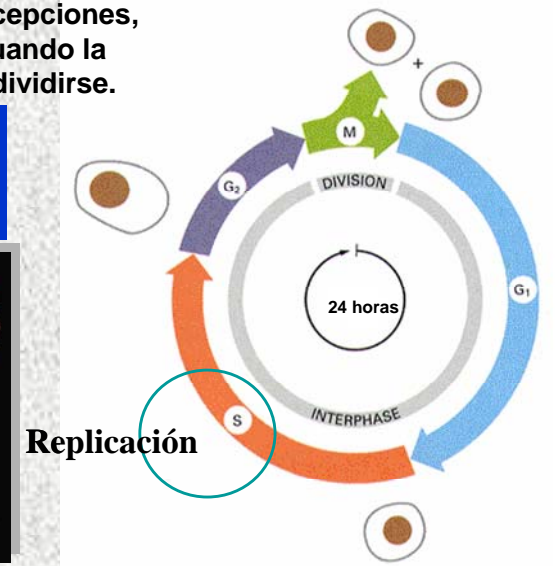
## REPLICÓN: Unidad de replicación del DNA

- Un replicón es: todo el DNA del fago, cromosoma procarionta, virus, plásmido
- En eucariotas hay tantos replicones como orígenes de replicación

## ¿Cuándo tiene lugar la replicación del DNA?

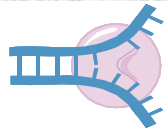
Normalmente, salvo algunas excepciones, la replicación tiene lugar sólo cuando la célula se está preparando para dividirse.

Cada replicón se replica una sola vez durante el ciclo celular en la fase S.

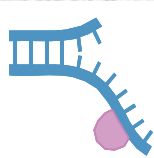


## PROTEÍNAS DE LA HORQUILLA DE REPLICACIÓN DE *E. coli*

proteína	función
SSB	Unión al DNA hebra simple
helicasa	Apertura de la doble hélice
primasa	Síntesis del RNA cebador
DNA polimerasa III	Elongación de las hebras copia
Dna polimerasa I	Relleno de huecos, exciscebadores
DNA ligasa	ligación
DNA girasa (DNA topoisomerasa)	Superenrollamiento



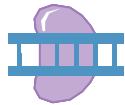
**Helicasa:** separa las dos cadenas de la doble hélice



**Proteínas de unión que estabilizan el DNA monocatenario lineal**



**Primasa:** sintetiza el fragmento de RNA cebador



**DNA polimerasa III:** une nucleótidos para formar las nuevas hebras

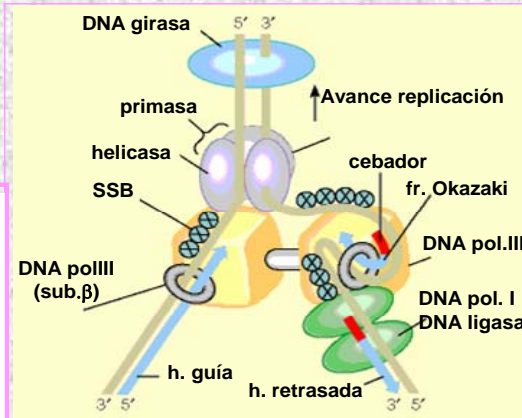


**DNA polimerasa I (Exonucleasa)** elimina el RNA cebador y inserta las bases correctas



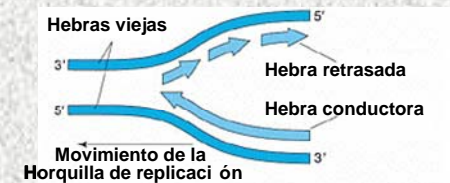
**Ligasa** une los fragmentos de Okazaki y sella otras posibles rupturas.

## REPLISOMA: UNA COMPLEJA MAQUINARIA DE REPLICACIÓN

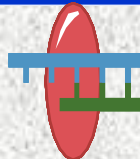
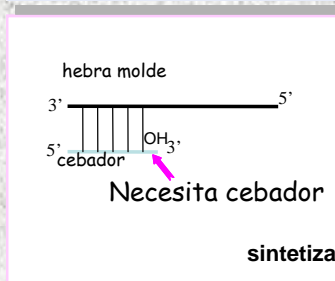


La cadena se sintetiza en la dirección 5' → 3'

En el proceso de replicación se requiere la participación y ensamblaje, en la horquilla de replicación, de un conjunto de proteínas con funciones distintas.

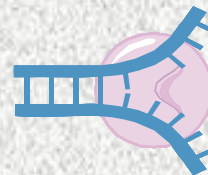


### Requieren un 3'-OH libre para elongar

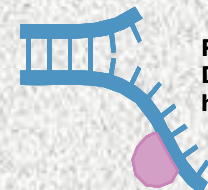


**Primasa:** sintetiza el fragmento de RNA cebador o primer

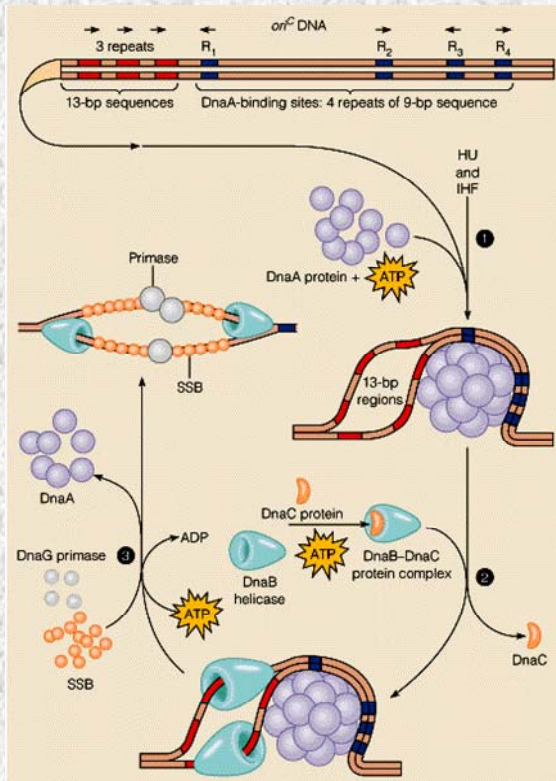
### Molde: DNA de cadena sencillo extendido



**Helicasa:** separa las dos cadenas de la doble hélice, rompe los puentes de hidrógeno, requiere ATP



**Proteínas de unión a DNA monocatenario lineal (SSB):** estabilizan el DNA monocatenario lineal impidiendo que se forme de nuevo la doble hélice



**INICIACION:** reconocimiento de una secuencia específica

DnaA + ATP reconoce el sitio *oriC*  
 Se produce el desenrollamiento del DNA  
 La helicasa sigue desenrollando a partir de ese punto  
 SSB se une al DNA para estabilizarlo  
 La primasa sintetiza el RNA cebador

## En la elongación intervienen las DNA polimerasas

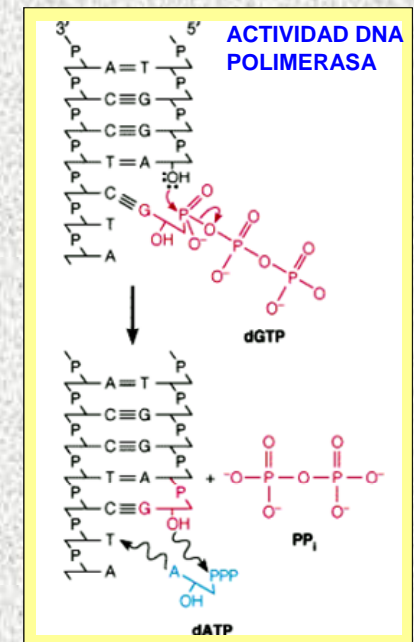
Tres etapas  
**INICIACIÓN**  
**ELONGACIÓN**  
**TERMINACIÓN**

### DNA POLIMERASAS

Dos requisitos:  
 VELOCIDAD Y FIDELIDAD

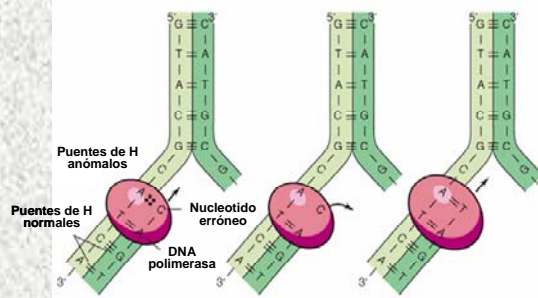
enzimas esenciales en la replicación  
 necesitan cebador  
 actividad correctora de errores (exo 3'→5')

Tipos en procariontes:  
 DNA polimerasa I      replicación y reparación  
 DNA polimerasa II     reparación  
 DNA polimerasa III    replicación



## FIDELIDAD DE LA REPLICACIÓN

Especificidad del emparejamiento de las bases



Añaden nucleótidos con una frecuencia de error aproximada de 1 nucleótido incorrecto por cada 1000 nucleótidos

Frecuencia muy elevada

Corrección correctora: **Actividad exonucleasa 3' → 5'**

La frecuencia de errores desciende como mínimo a 1 nucleótido incorrecto por cada millón de nucleótidos añadidos

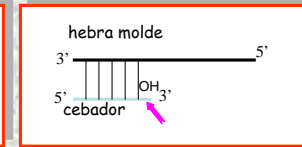
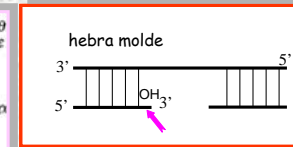
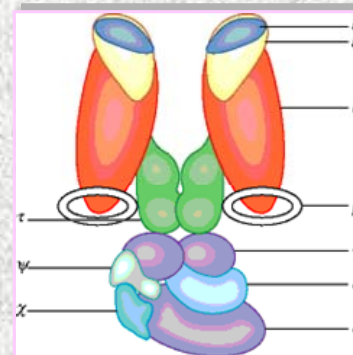
ENZIMA	Dominio sintético	Dominio corrector	Tasa de error	
			Sin corrección	Con corrección
DNA polimerasa I, <i>E. coli</i>	aa 200-600	N-terminal	10 <sup>-5</sup>	5 x 10 <sup>-7</sup>
DNA polimerasa III, <i>E. coli</i>	subunidad α	subunidad ε	7 x 10 <sup>-6</sup>	5 x 10 <sup>-9</sup>
DNA polimerasa I, T4	C-terminal	N-terminal	5 x 10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-7</sup>
DNA polimerasa I, T7	?	118-145	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
Transcriptasa inversa		ninguno	10 <sup>-4</sup>	-

## DNA Polimerasa III

Responsable de la replicación *in vivo*: actividad **replicasa**

Molde con hueco grande

Molde cebado



Organización: **Dímero asimétrico**

Subunidad α: actividad polimerasa 5' → 3'

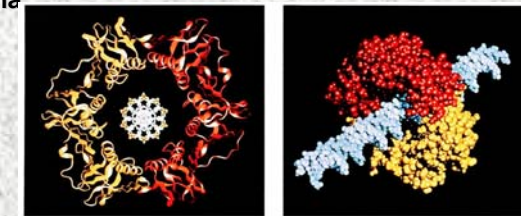
Subunidad ε: actividad exonucleasa 3' → 5'

Subunidad τ: responsable de la dimerización

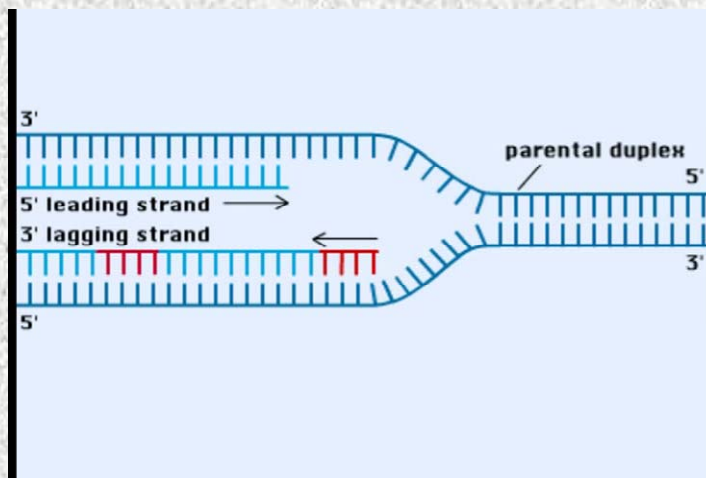
Subunidad β: componente de procesividad

Complejo γ: aumenta de procesividad

Enzima **multimérica** constituida por distintas subunidades: Holoenzima al menos 10 subunidades

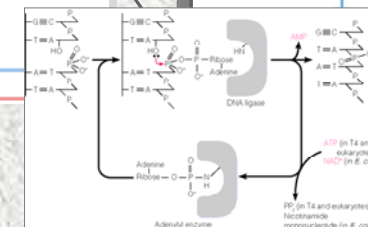
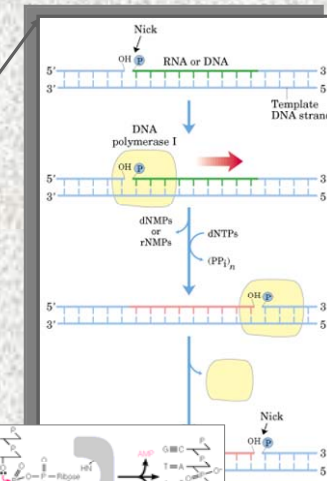
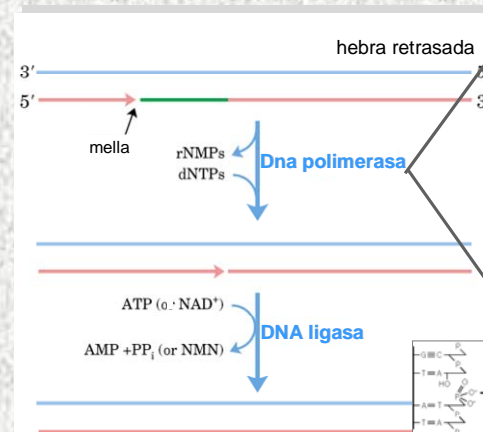


La **carga de la pinza** se produce **sólo una vez** por turno de replicación sobre la **cadena conductora**.

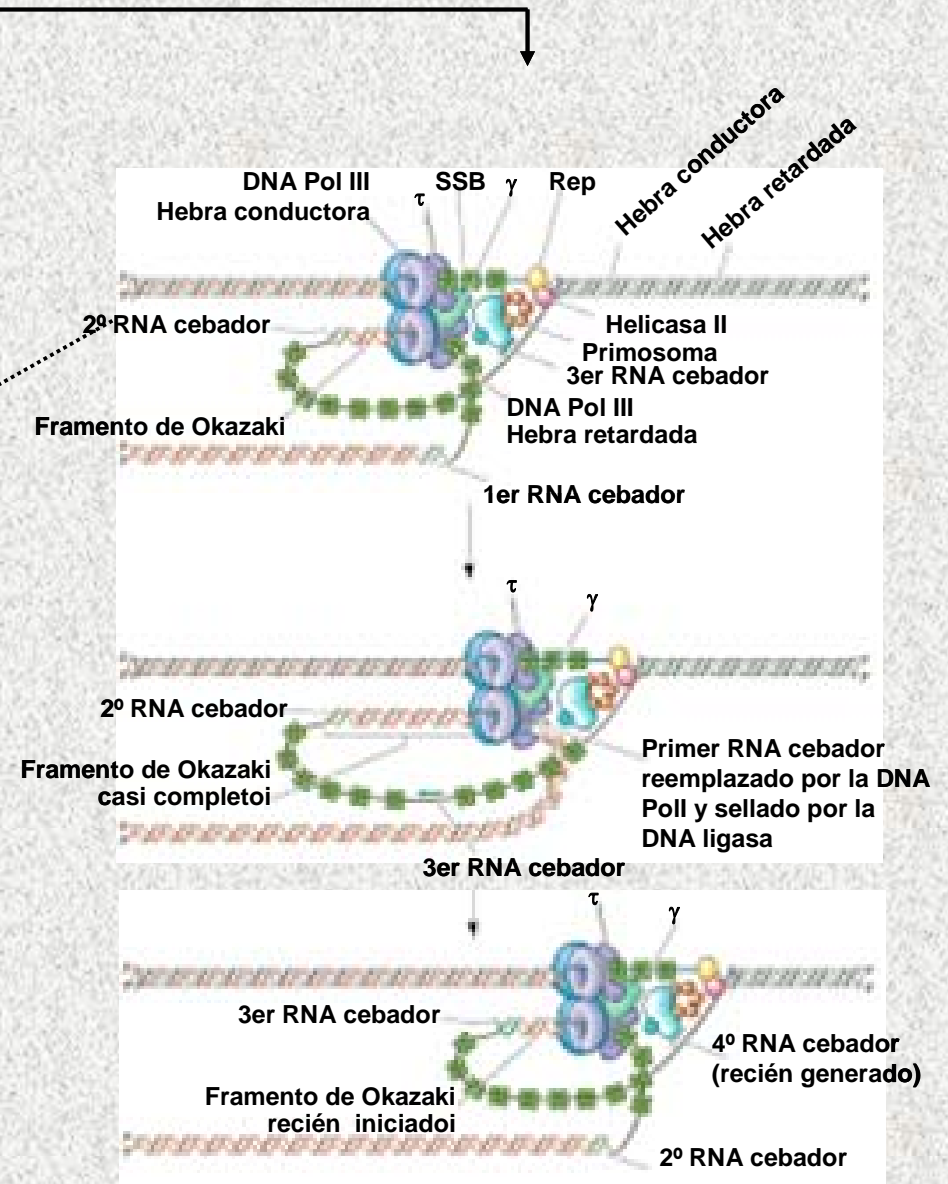
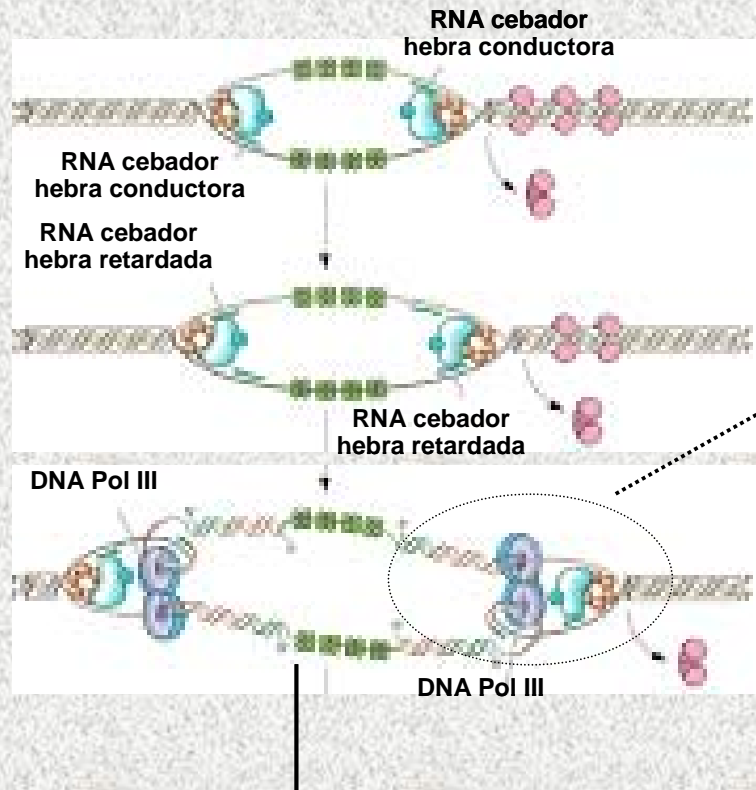


En la **cadena retardada**, la polimerasa debe unirse de nuevo en la iniciación de la **síntesis de cada fragmento** de Okazaki y debe dissociarse cuando se alcanza el extremo 5' de la cadena hija de DNA ya existente.

En la hebra retrasada actúa **DNA polimerasa I**  
actividades enzimáticas: pol 5' → 3', exo 5' → 3' y 3' → 5'



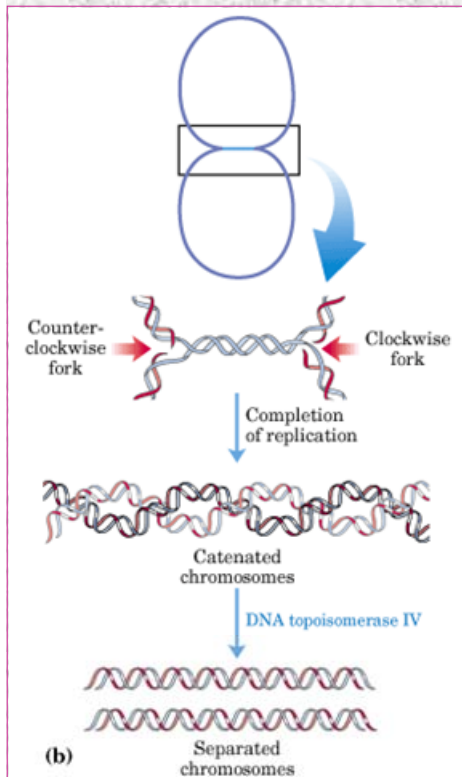
# REPLICACIÓN DNA EN *E.coli*



Para eliminar el problema topológico de la síntesis de la hebra retardada



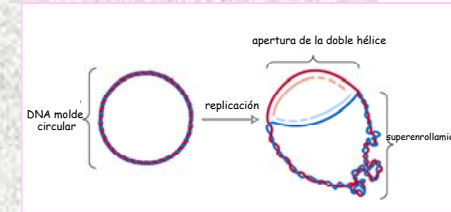
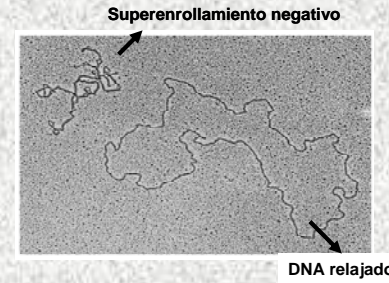
# Terminación



TERMINACIÓN  
papel de las topoisomerasas



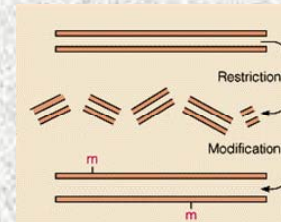
- **DNA BICATENARIOS LINEALES**  
Rotación de la hélice progenitora sobre su eje.  
Cadenas largas: problema mecánico
- **DNA CIRCULARES**  
Según avanza la horquilla, el segmento de DNA por delante abandona el superenrollamiento negativo e incluso pasa a tener un superenrollamiento positivo, lo que dificulta el avance



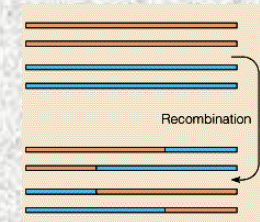
## DNA TOPOISOMERASAS

Alteran el grado y tipo de superenrollamiento del DNA

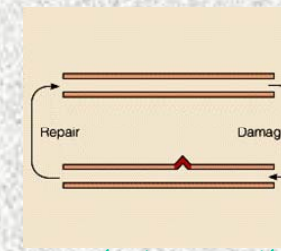
- Facilitan el avance de la horquilla de replicación
- Permiten la separación o la creación de DNA circulares entrelazados
- Eliminación de nudos o enredos en DNA lineales muy largos
- Esenciales en replicación, transcripción y recombinación



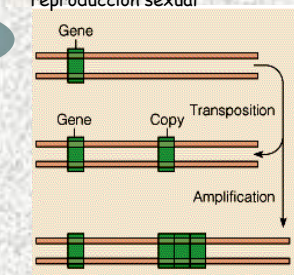
restricción y modificación  
protección celular y útil en la tecnología del DNA recombinante



recombinación génica  
redistribución de los contenidos de un genoma, p.ej. durante la reproducción sexual



mutagénesis y reparación  
respuestas metabólicas a lesiones del DNA

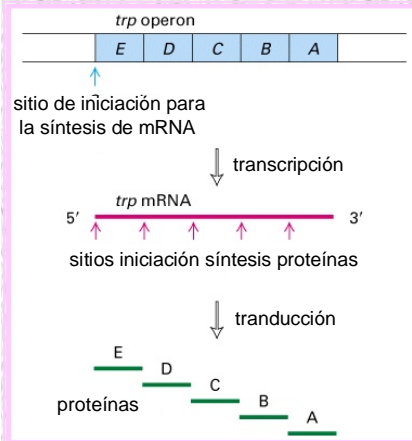


reordenamientos génicos  
transposiciones de segmentos de DNA de un cromosoma a otro  
amplificación génica  
aumento del número de copias de un fragmento de DNA

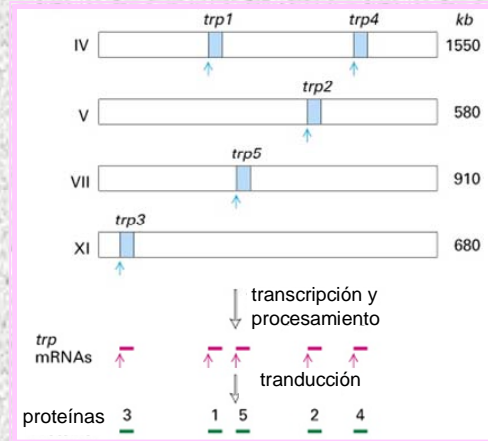
**GEN:** "una unidad de DNA que contiene la información que especifica la síntesis de un producto simple"

ENZIMA MULTIFACÉTICA

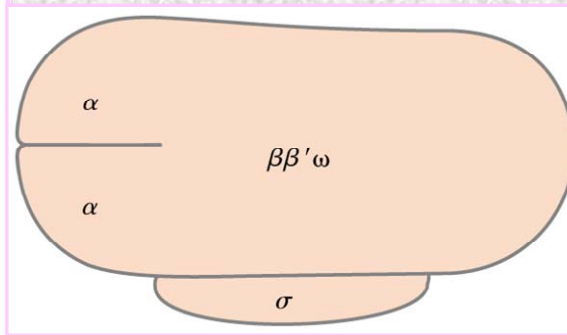
**genes procariontes**



**genes eucariontes**



RNA polimerasa de *E. coli*: múltiples subunidades



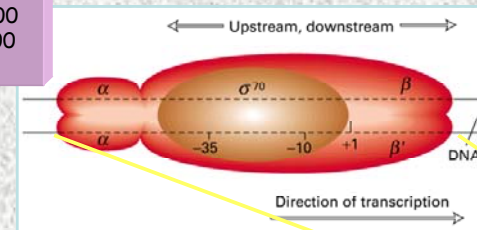
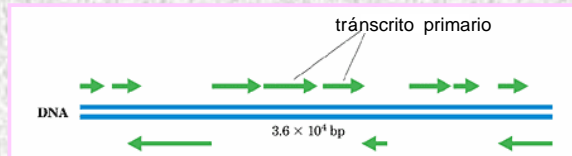
- Un único tipo
- Holoenzima de 465 kDa
- Núcleo polimerasa  $\alpha_2\beta\beta'\omega$
- Factor  $\sigma$ : reconocimiento del promotor

**FUNCIONES**

- Reconoce el sitio iniciación
- Desenrolla la doble hélice de DNA
- Sintetiza el RNA
- Enrolla la zona transcrita
- Reconoce el sitio de terminación

- Se transcriben sólo las secuencias con información: **LOS GENES**
- Sólo una de las hebras es **MOLDE**

Nº GENES	
virus	200
bacteria	2000
<i>Drosophila</i>	13000
humano	30000



¡Se mueve como los gusanos!  
Compresión  
Expansión

- Dirección de síntesis **5' → 3'**
- Antiparalela y complementaria al molde

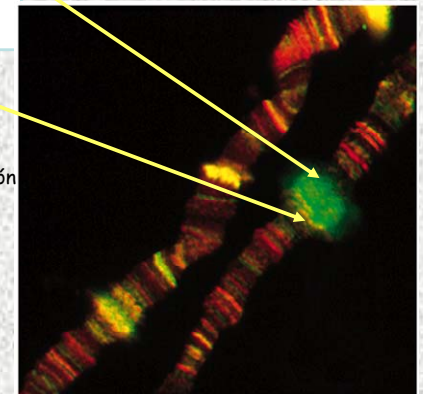
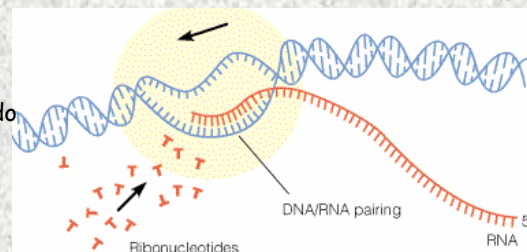
(5') **CGCTATAGCGTTT** (3')  
 (3') **GCGATATCGCAA** (5')  
 (5') **CGCUAUAGCGUUU** (3')

Hebra codificadora de DNA  
 Hebra molde de DNA  
 transcrito primario

**ETAPAS**

- Iniciación** Formación de la burbuja de transcripción
- Elongación** Incorporación de nucleótidos
- Terminación** Parar a la polimerasa

- Sustratos activados: **NTPs**
- Es un proceso regulable por proteínas: que genes van a ser transcritos y cuando

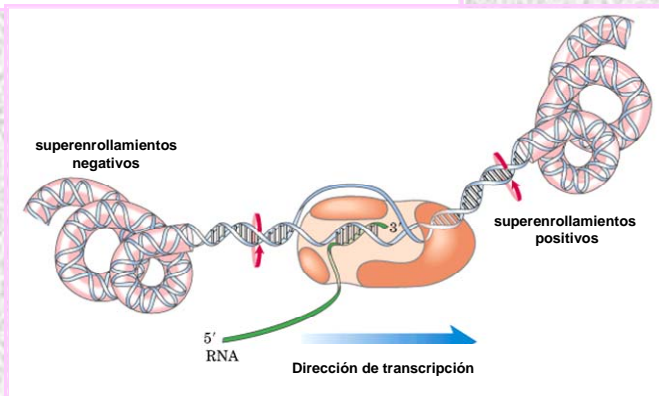
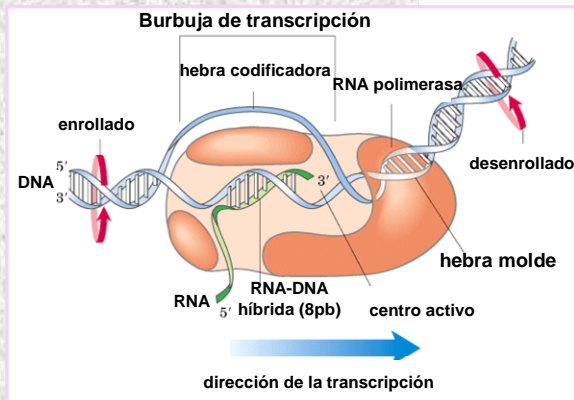
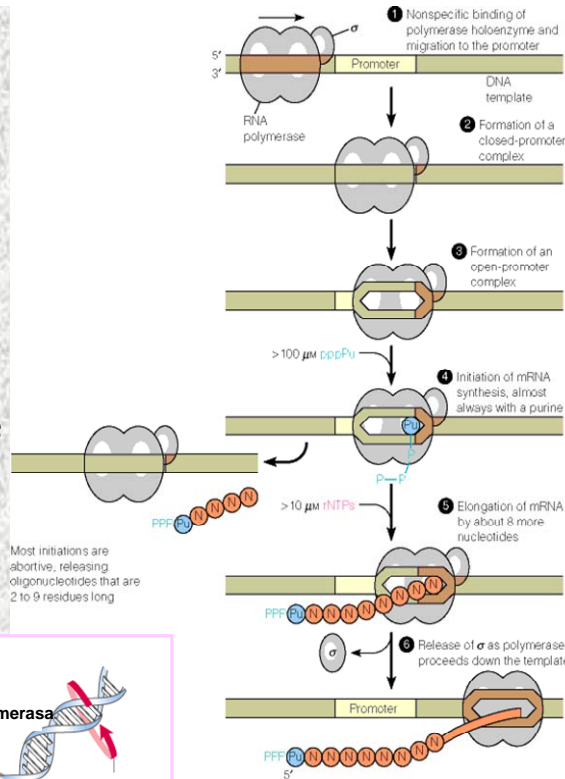


## INICIACIÓN

¿cómo sabe la RNA polimerasa donde iniciar la síntesis?

### El factor $\sigma$

- Únicamente la holoenzima puede iniciar la transcripción
- El factor  $\sigma$  asegura la unión al promotor
- Variedad de factores activados por factores ambientales
- Una iniciación/s



Otras enzimas que ayudan: **TOPOISOMERASAS**

## ANATOMIA DE UN PROMOTOR

PROMOTOR PARA:

OPERÓN *Trp*

*tRNA<sup>tyr</sup>*

$\lambda$ P2

OPERÓN *Lac*

*recA*

*lexA*

T7A3

	-35 region	Spacer	-10 region	Spacer	Transcribed →
OPERÓN <i>Trp</i>	G T T G A C A	N <sub>17</sub>	T T A A C T	N <sub>7</sub>	A
<i>tRNA<sup>tyr</sup></i>	C T T T A C A	N <sub>16</sub>	T A T G A T	N <sub>7</sub>	A
$\lambda$ P2	G T T G A C A	N <sub>17</sub>	G A T A C T	N <sub>6</sub>	G
OPERÓN <i>Lac</i>	C T T T A C A	N <sub>17</sub>	T A T G T T	N <sub>6</sub>	A
<i>recA</i>	C T T G A T A	N <sub>16</sub>	T A T A A T	N <sub>7</sub>	A
<i>lexA</i>	G T T C C A A	N <sub>17</sub>	T A T A C T	N <sub>6</sub>	A
T7A3	G T T G A C A	N <sub>17</sub>	T A C G A T	N <sub>7</sub>	A
	T T G A C A		T A T A A T		

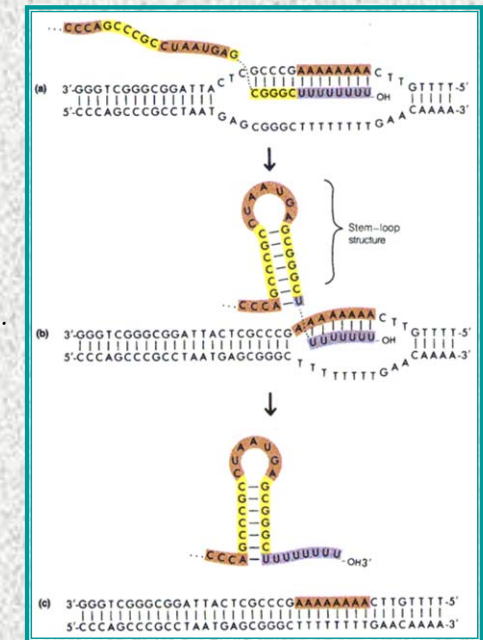
secuencia consenso

## TERMINACIÓN

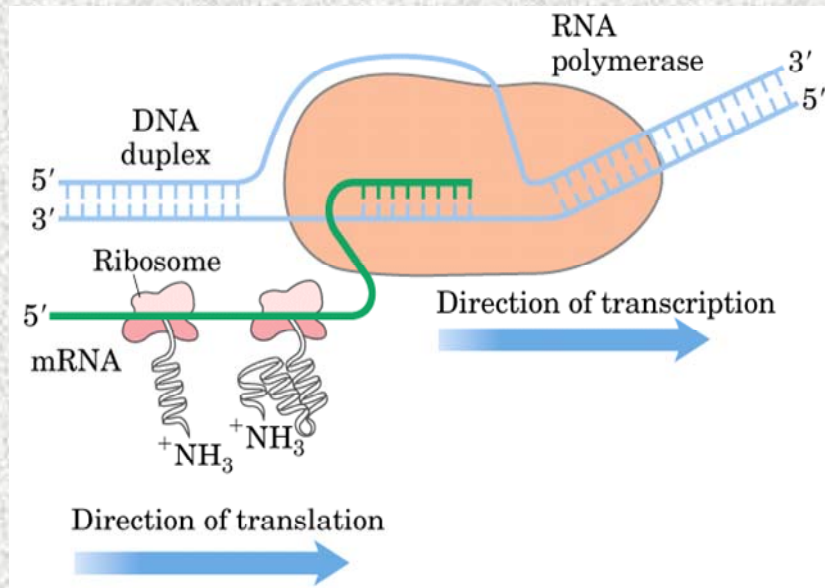
Ricas en G-C  
Formación de est.2<sup>a</sup> en horquilla  
6 residuos U al 3'

...a veces se necesitan proteínas como...

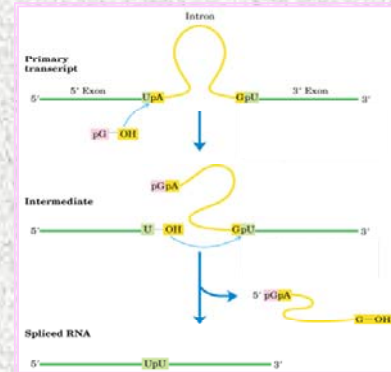
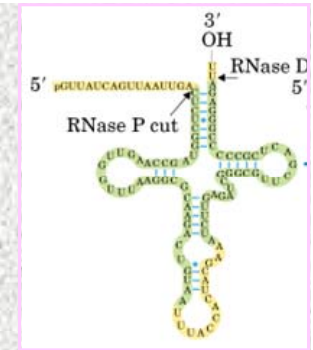
la proteína rho



En una bacteria: **transcripción-traducción acoplada, no hay núcleo**  
 En una c. eucarionte: **hay maduración del mRNA y transporte fuera del núcleo**



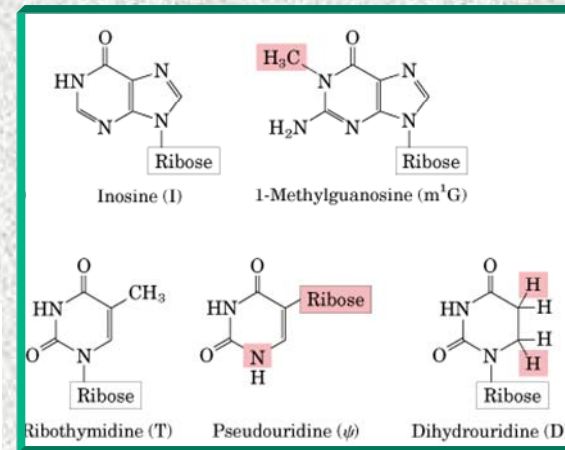
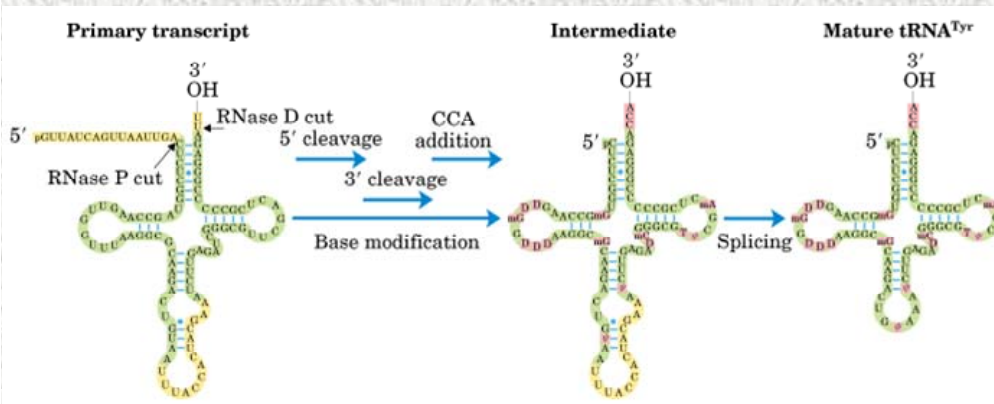
● Se eliminan secuencias terminales



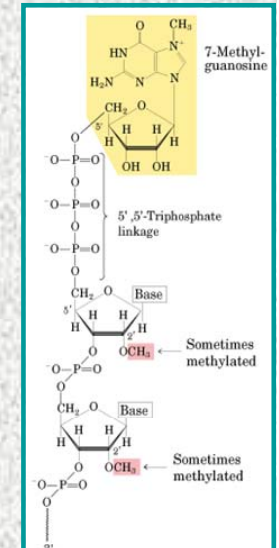
● Se eliminan secuencias internas que no contienen información: **INTRONES**

● La eliminación puede ser catalizada por el propio intrón: **RIBOZIMAS**

tRNA



● Se modifican las bases nitrogenadas

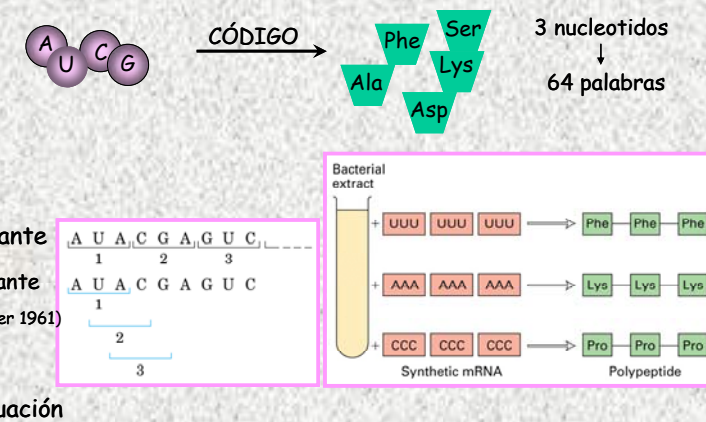
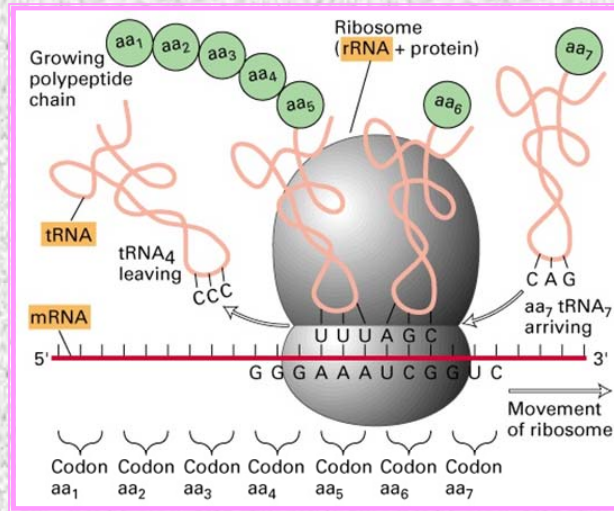


# Tres tipos de RNA participan en el proceso de traducción

**mRNA** transporta la información genética según un código. Palabras de tres bases **MOLDE**

**tRNA** es la clave para decifrar las palabras del código **ADAPTADOR**

**rRNA** se asocia con proteínas para formar los ribosomas **LOCALIZACIÓN**



no solapante

solapante

(Crick y Brenner 1961)

no puntuación

## CÓDIGO GENÉTICO

### 2ª LETRA DEL CODÓN

1ª LETRA DEL CODÓN

	U	C	A	G
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys
C	CUU Leu CUC Leu	CCU Pro CCC Pro	CAU His CAC His	CGU Arg CGC Arg
A	AUU Ile AUC Ile	ACU Thr ACC Thr	AAU Asn AAC Asn	AGU Ser AGC Ser
G	GUU Val GUC Val	GCU Ala GCC Ala	GAU Asp GAC Asp	GGU Gly GGC Gly
	GUA Val GUG Val	GCA Ala GCG Ala	GAA Glu GAG Glu	GGA Gly GGG Gly

Sinónimos: GCU, GCC

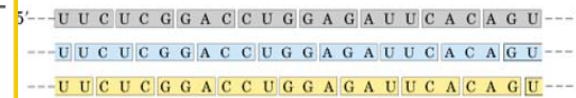
Iniciador: AUG

Terminador: UAA, UAG, UGA

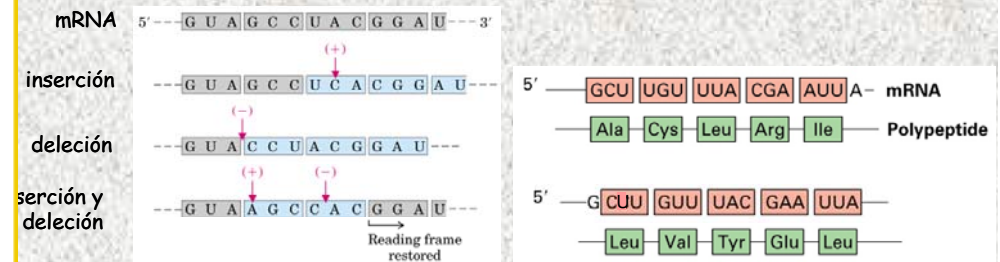
### degenerado

#### Degeneracy of the Genetic Code

Amino acid	Number of codons
Ala	4
Arg	6
Asn	2
Asp	2
Cys	2
Gln	2
Glu	2
Gly	4
His	2
Ile	3
Leu	6
Lys	2
Met	1
Phe	2
Pro	4
Ser	6
Thr	4
Trp	1
Tyr	2
Val	4

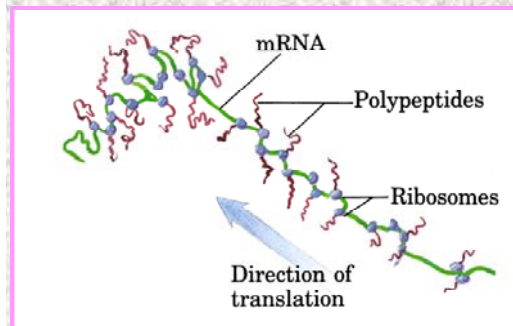


tres marcos de lectura posibles: UNO SÓLO VÁLIDO

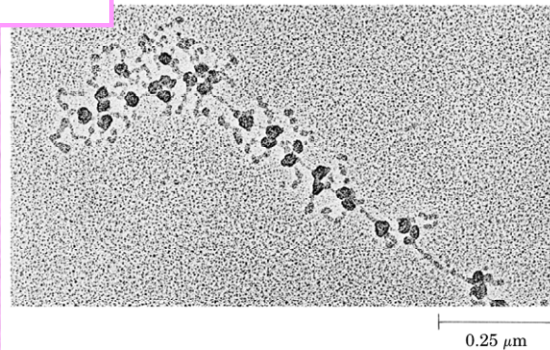


Mutaciones alteran el marco de lectura

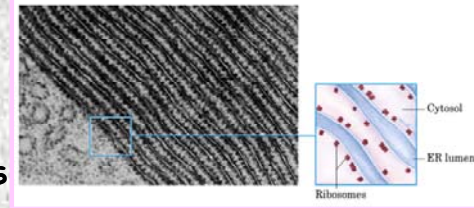




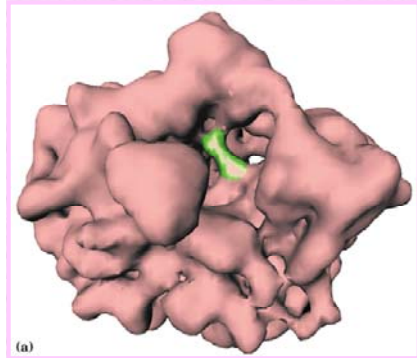
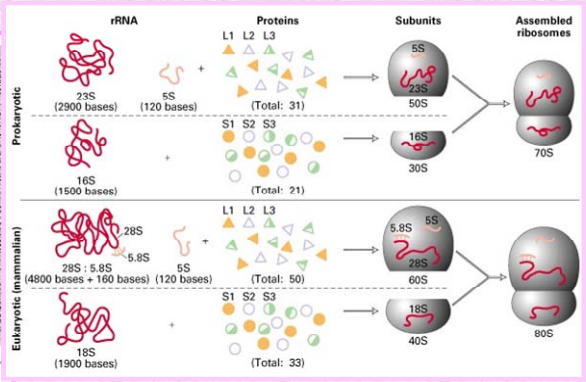
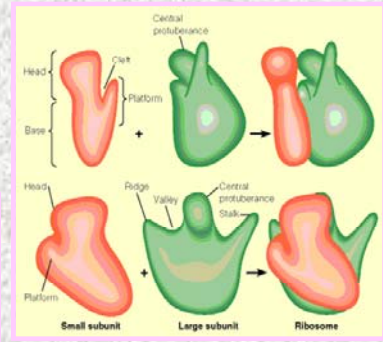
**POLIRRIBOSOMAS o POLISOMAS**



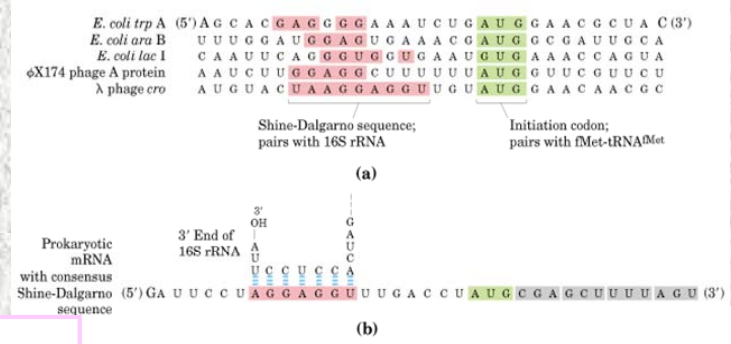
**Localización: RIBOSOMAS**



citosol  
mitocondrias y cloroplastos  
retículo endoplásmico

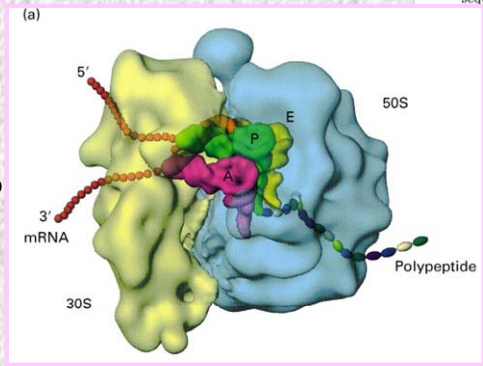


**¿Cómo reconoce el ribosoma al RNA?**

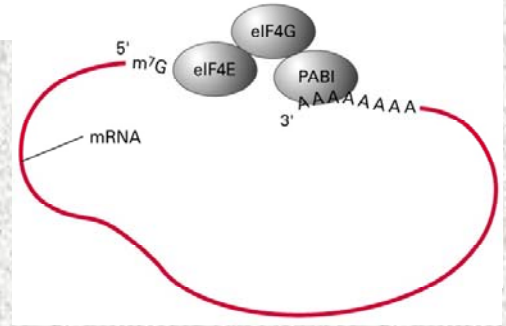


**PROCARIONTES**  
una secuencia específica

sitio P: unión del peptidil-tRNA  
sitio A: unión del aminoacil-tRNA  
sitio E: unión del tRNA descargado



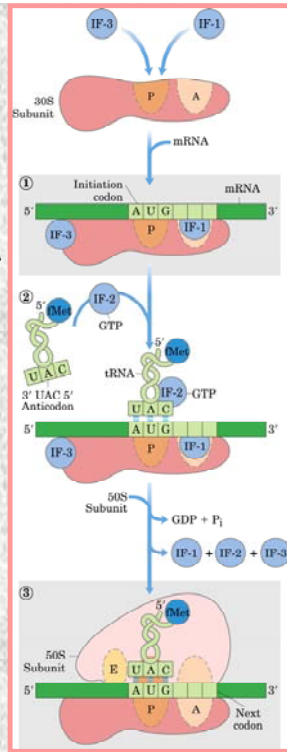
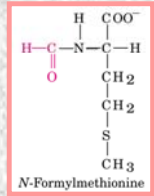
**EUCARIONTES**  
casquete 5'



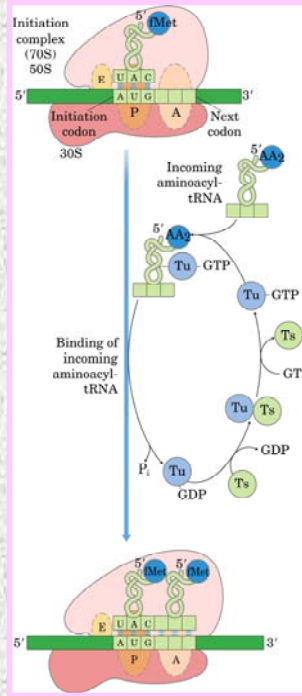
# INICIACIÓN

aminoacil-tRNA iniciador

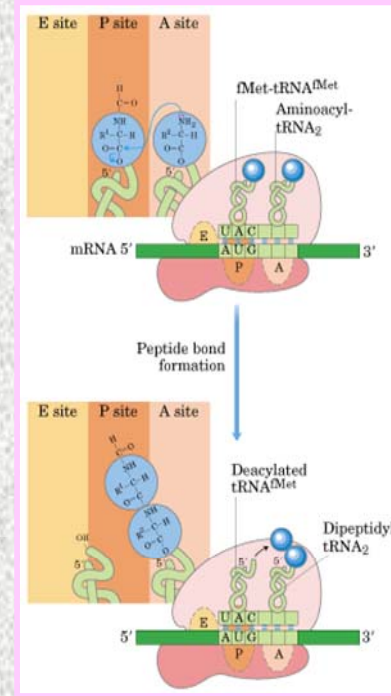
PROCARIOTES: fMet-tRNA  
EUCARIONTES: Met-tRNA



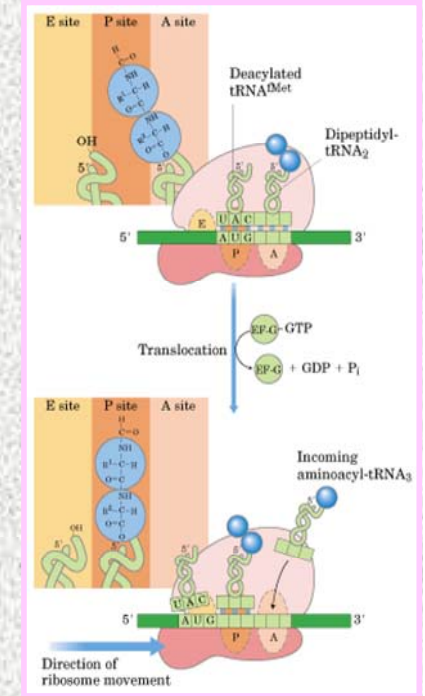
# ELONGACIÓN



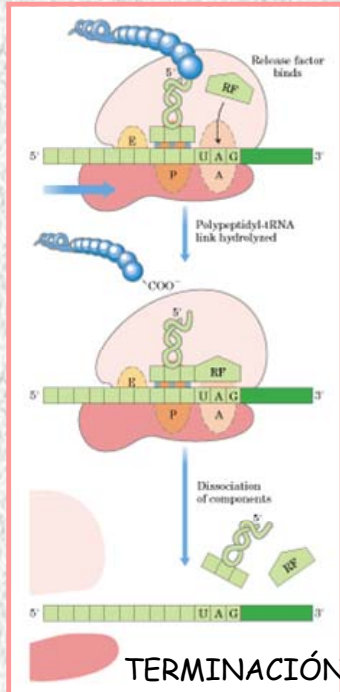
incorporación aminoacil-tRNA



formación del enlace peptídico



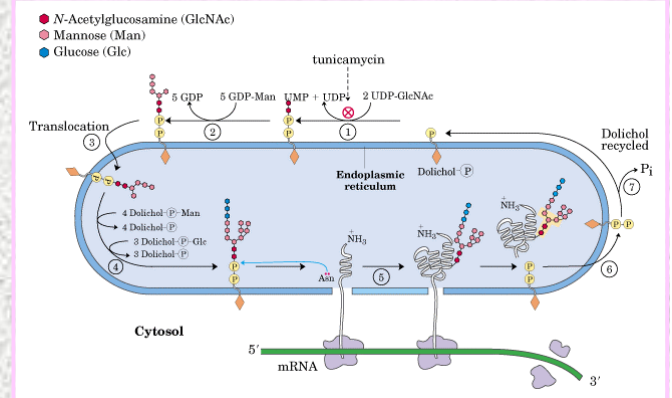
translocación



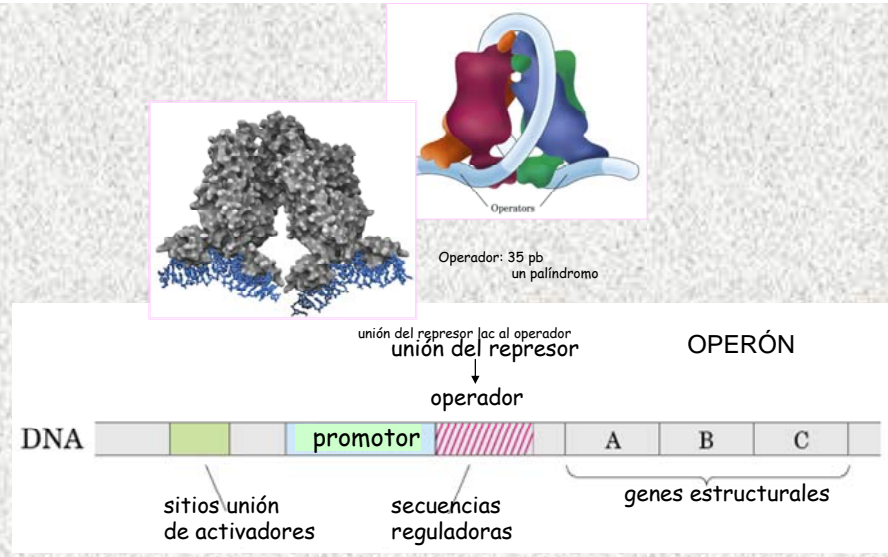
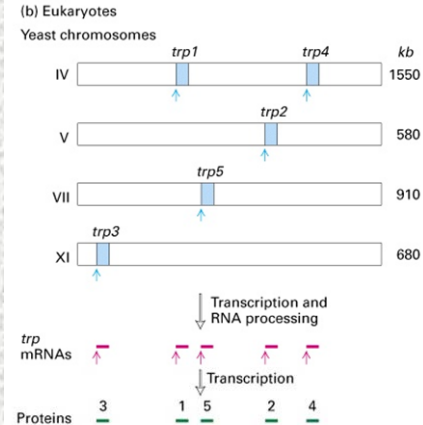
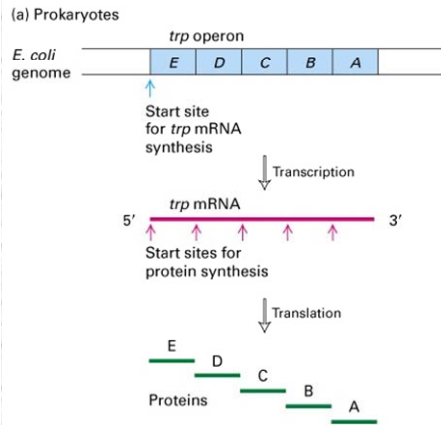
TERMINACIÓN

# Modificaciones postraduccionales

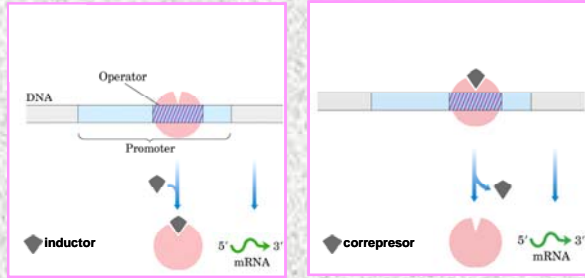
Eliminación de Met terminales  
Bloqueo de aminoácido amino-terminal  
Formación de puentes disulfuro  
Glicosilación  
Pérdida del péptido señal



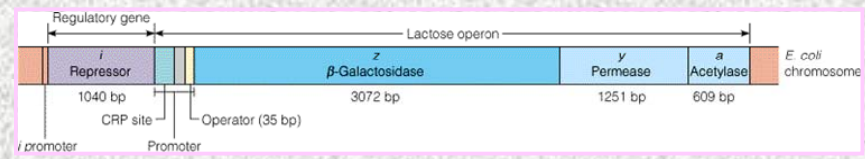
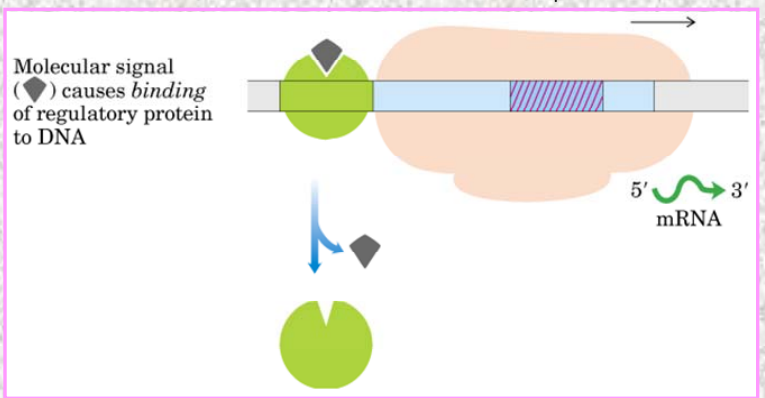




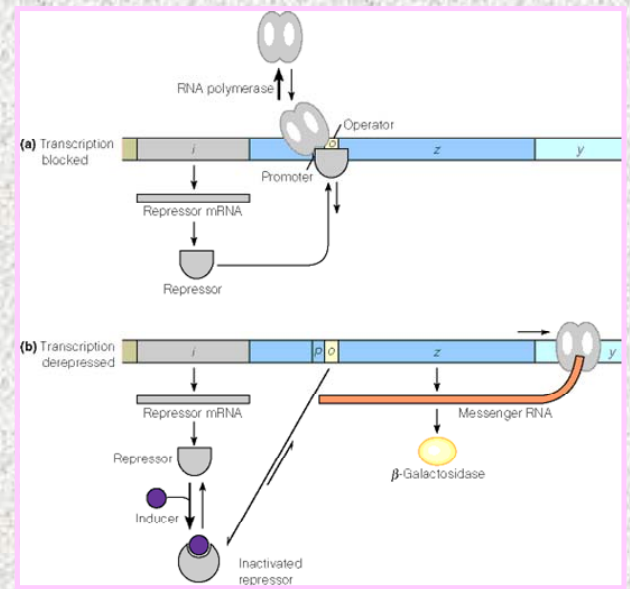
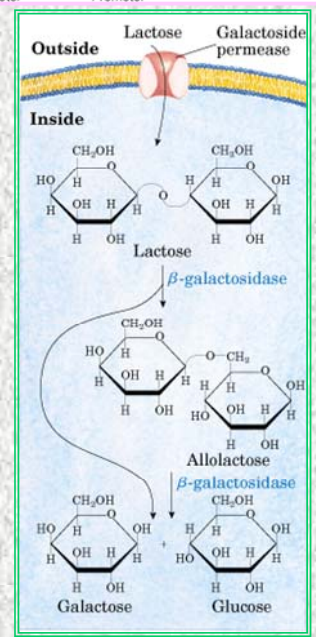
**REGULACIÓN NEGATIVA**



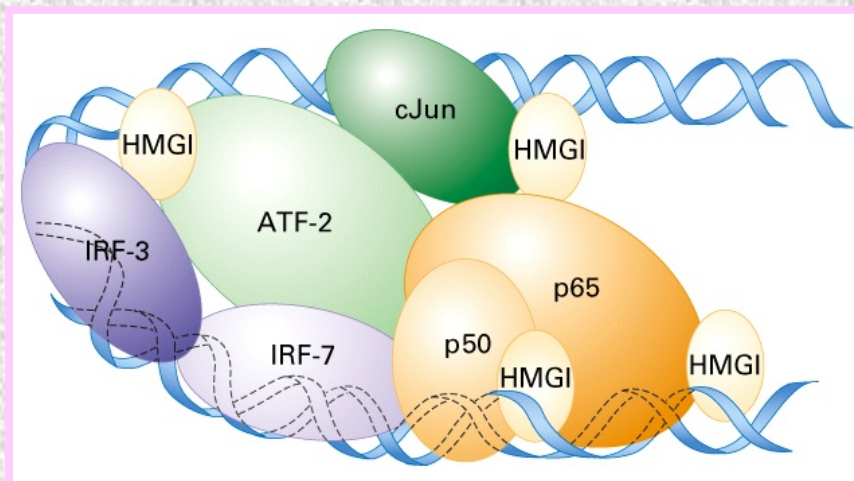
**REGULACIÓN POSITIVA**  
unión del activador facilita la transcripción



**Operón lactosa**

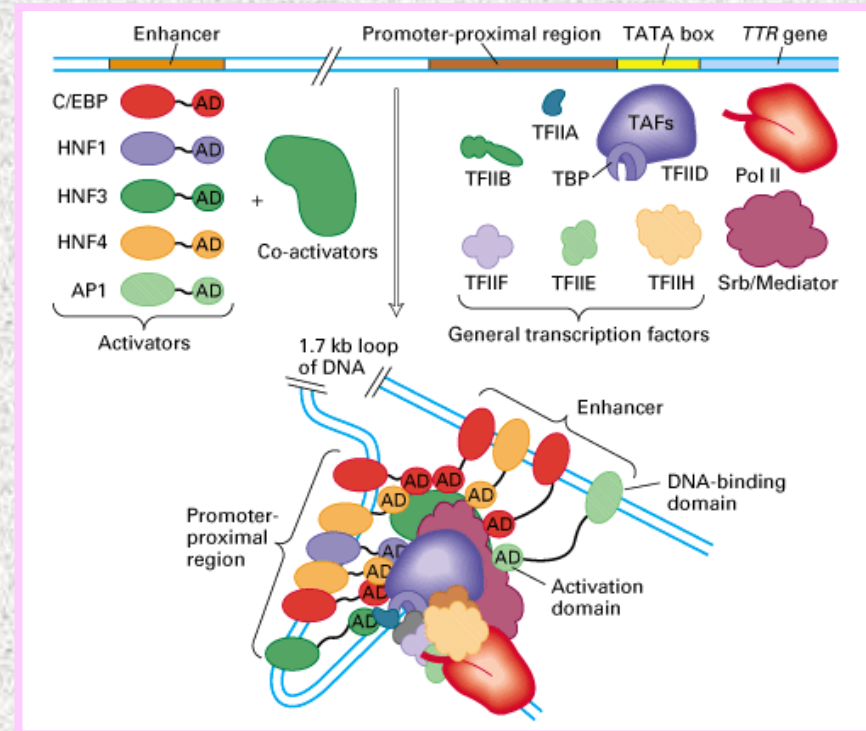


## En eucariontes la situación es más compleja



Activación de la expresión del interferón  $\beta$  en secuencias amplificadoras y mediante factores de transcripción

Varios activadores y represores que actúan de forma conjunta



Regulación de la transcripción del gen que codifica la transtirretina de hepatocitos