CAPITULO 6

Ácidos nucleicos

Los *ácidos nucleicos* son compuestos aislados originalmente de un material rico en núcleos celulares; de allí su nombre.

Contienen carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y fósforo, poseen carácter acídico y se encuentran en todos los seres vivientes. Son macromoléculas formadas por polimerización, en cadenas lineales, de unidades estructurales llamadas *nucleótidos*.

Los ácidos nucleicos son sustancias del más alto rango biológico; a ellos les están asignadas importantísimas funciones: a) Son depositarios de la información genética y responsables de su transmisión de padres a hijos y de una generación celular a otra. b) Tienen un papel fundamental en la síntesis de proteínas en las células y dirigen el ensamble correcto de aminoácidos en secuencias definidas. En última instancia, la individualidad y el potencial funcional de cada ser son determinados por la información contenida en sus ácidos nucleicos.

En primer término presentaremos las unidades constituyentes, los nucleótidos.

NUCLEOTIDOS

Los nucleótidos, unidades estructurales de ácidos nucleicos, son sustancias formadas por unión de: a) base nitrogenada, b) monosacárido de cinco carbonos (aldopentosa) y c) ácido ortofosfórico.

Bases nitrogenadas. Por hidrólisis de nucleótidos se obtienen sustancias derivadas de los núcleos heterocíclicos *pirimidina* y *purina*. Se habla de bases pirimidínicas o pirimídicas y bases purínicas o púricas. En la figura 6-1 se indica la constitución de esos núcleos y la numeración de sus elementos. La purina se considera derivada de pirimidina por fusión a ésta de un núcleo imidazol. Ambos ciclos tienen todos sus átomos ubicados en el mismo plano.

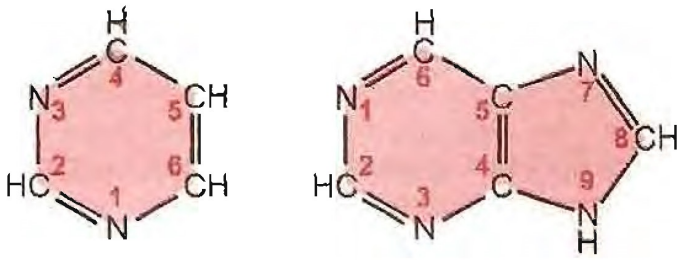


Fig. 6-1. La numeración de los elementos del núcleo pirimidina se hace en sentido distinto al de purina. Sólo las numeraciones de carbonos 2 y 5 coinciden en ambos núcleos.

Cinco bases derivadas de estos núcleos participan en la composición de ácidos nucleicos; tres de ellas son pirimídicas y dos púricas. Las bases pirimídicas son *timina* (5-metil-2,4-dioxipirimidina), *citosina* (2-oxo-4-aminopirimidina) y *uracilo* (2,4-dioxipirimidina) (fig. 6-2).

Las bases púricas son *adenina* (6-aminopurina) y *guanina* (2-amino-6-oxipurina) (fig. 6-3).

Las fórmulas de bases pirimídicas y de guanina en las figuras 6-2 y 6-3 respectivamente, corresponden a la forma cetónica o lactama, predominante en productos naturales. En menor proporción se encuentran isómeros (tautómeros) de forma enólica o lactima (se producen por desplazamiento hacia el oxígeno del H unido al N

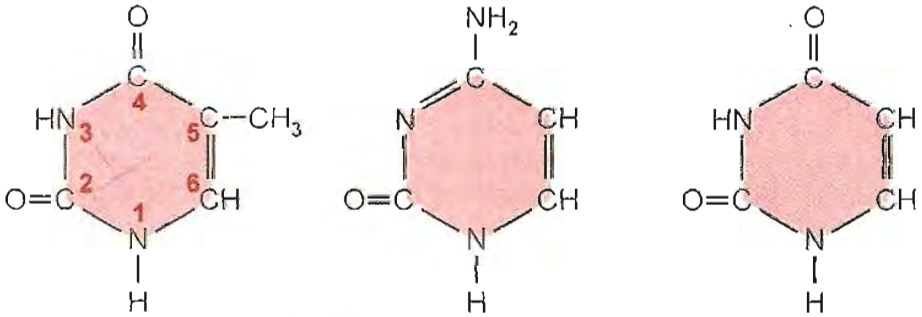


Fig. 6-2. Bases pirimídicas.

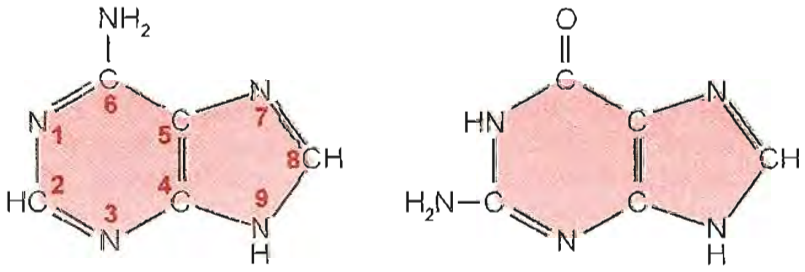


Fig. 6-3. Bases púricas.

vecino). Eventualmente, los ácidos nucleicos pueden contener una pequeña cantidad de otras bases, en general derivadas de las anteriores, como 5-metil-citosina, por ejemplo.

Bases pirimídicas y púricas tienen la propiedad de absorber radiaciones en la región ultravioleta del espectro, con un máximo a la longitud de onda de 260 nm. Esta característica se debe a la naturaleza aromática de las bases y se utiliza para detectar su presencia en una muestra y estimar su concentración por espectrofotometría.

Aldopentosas. El monosacárido integrante de la molécula de ácidos nucleicos puede ser *D-ribosa* o *D-2-desoxirribosa*. Según la pentosa presente, se distinguen ácidos ribonucleicos (ARN o RNA en las siglas inglesas) y ácidos desoxirribonucleicos (ADN o DNA). Las aldopentosas de ácidos nucleicos adoptan la forma furanosa (fig. 6-4).

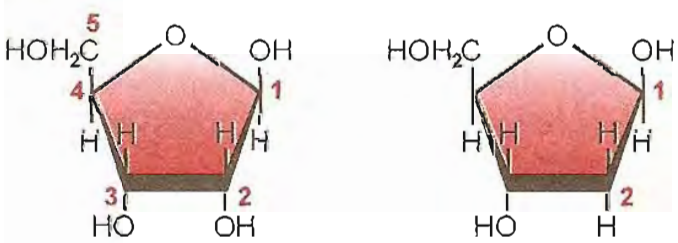


Fig. 6-4. Aldosas componentes de ácidos nucleicos.

Ribosa o desoxirribosa se unen al nitrógeno 9 de bases púricas o al nitrógeno 1 de bases pirimídicas mediante enlace glicosídico β (está in-

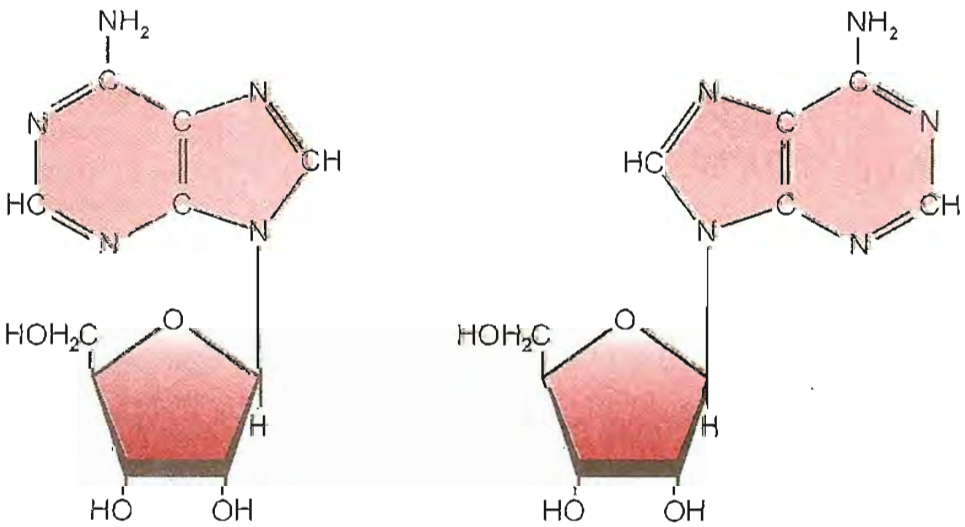


Fig. 6-5. Adenosina (nucleósido). A la izquierda se muestra la forma *sin*. a la derecha, la forma *anti*.

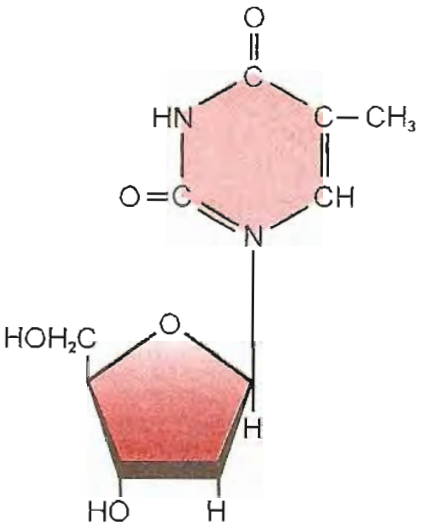


Fig. 6-6. Timidina (nucleósido).

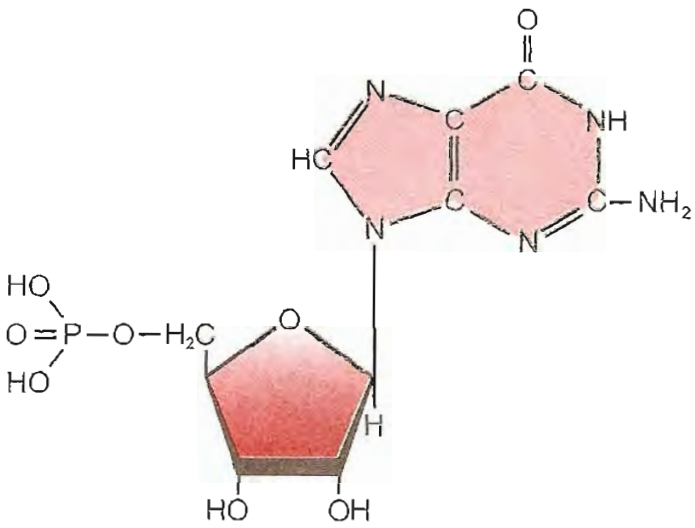


Fig. 6-7. Acido guanílico o guanosina monofosfato (nucleótido, forma *anti*).

teresado el carbono 1 de la pentosa, en configuración β). La unión glicosídica permite libre rotación; la disposición espacial relativa de la base nitrogenada y del monosacárido puede variar entre los dos extremos representados en la figura 6-5, correspondientes a las formas *sin* y *anti*. Esta última es termodinámicamente más favorable.

El compuesto formado por una base nitrogenada, púrica o pirimídica, y aldopentosa, se llama *nucleósido*.

Un nucleótido se forma por esterificación con ácido ortofosfórico del hidroxilo de carbono 5 de la ribosa o desoxirribosa de un nucleósido. La tabla 6-1 presenta los nucleósidos y nucleótidos más comunes.

ACIDOS NUCLEICOS

Los nucleótidos se unen entre sí por enlaces éster; el fosfato forma un "puente" desde carbono 5 de la pentosa de un nucleótido al carbono 3 de la pentosa del nucleótido anterior. La primera unidad de la cadena tiene libre su fosfato, mientras la pentosa del último nucleótido tiene libre el hidroxilo de carbono 3. Se habla así de extremos 5' y 3' de la cadena (fig. 6-8). Esta estructura básica es válida para los dos tipos de ácidos nucleicos.

La notación 5 prima (5') y 3 prima (3'), referida a nucleótidos, indica numeración de carbo-

Tabla 6-1. Nucleósidos y nucleótidos más comunes

Base +	*Aldopentosa* =	*Nucleósido* +	*Acido fosfórico* =	*Nucleótido*	*Abrev.*
Adenina	Ribosa	Adenosina	Ac. fosfórico	Acido adenílico o adenosina monofosfato	AMP
Adenina	Desoxirribosa	Desoxiadenosina o d-adenosina	Ac. fosfórico	Acido desoxiadenílico o d-adenosina monofosfato	dAMP
Guanina	Ribosa	Guanosina	Ac. fosfórico	Acido guanílico o guanosina monofosfato	GMP
Guanina	Desoxirribosa	Desoxiguanosina o d-guanosina	Ac. fosfórico	Acido desoxiguanílico o d-guanosina monofosfato	dGMP
Timina	Desoxirribosa	Desoxitimidina o d-timidina	Ac. fosfórico	Acido desoxitimidílico o d-timidina monofosfato	dTMP
Citosina	Ribosa	Citidina	Ac. fosfórico	Acido citidílico o citidina monofosfato	CMP
Citosina	Desoxirribosa	Desoxicitidina o d-citidina	Ac. fosfórico	Acido desoxicitidílico o d-citidina monofosfato	dCMP
Uracilo	Ribosa	Uridina	Ac. fosfórico	Acido uridílico o uridina monofosfato	UMP

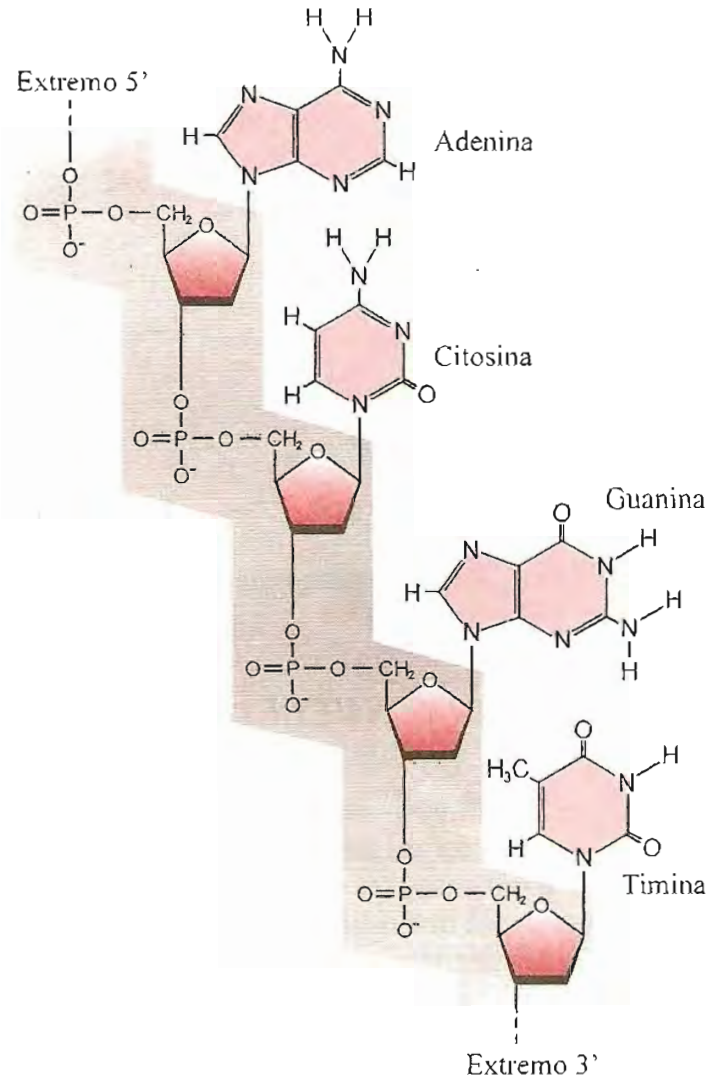


Fig. 6-8. Estructura básica de una cadena polinucleotídica. Sobre fondo gris, fosfatos y pentosas que forman la "columna vertebral" o hebra continua del ácido nucleico.

nos de la pentosa. Para átomos de las bases nitrogenadas se usa directamente el número correspondiente

La existencia de este tipo de enlace entre nucleótidos ha sido confirmada mediante estudios con agentes (álcalis, enzimas) que específicamente escinden un tipo de unión determinado. El análisis de los productos resultantes ha permitido establecer la disposición en la cadena.

Según la pentosa integrante de la molécula, se distinguen ácidos desoxirribonucleicos (ADN o DNA) y ribonucleicos (ARN o RNA). Entre estos dos tipos de compuestos existen diferencias estructurales que exigen su consideración por separado.

ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO

El ácido desoxirribonucleico se encuentra en su casi totalidad en núcleos celulares; más precisamente, en el material que forma la cromatina. Hay también una pequeña cantidad de ADN en mitocondrias y cloroplastos.

Todas las células somáticas de individuos de una misma especie tienen igual contenido de ADN. En humanos, la cantidad de ADN por célula es de 6×10^{-6} µg (microgramo) o 6 pg (picogramo). Las gametas masculina y femenina poseen la mitad. Estas cantidades permanecen constantes y no se modifican con la edad ni por factores ambientales o nutricionales.

ADN es una molécula lineal de gran longitud; a veces alcanza a medir centímetros, esto es, magnitudes macroscópicas. En cambio, su eje transversal es de 2 nm y por ello la hebra se corta fácilmente durante los procedimientos de separación y purificación. En la célula se encuentra densamente empaquetada: el cromosoma humano más pequeño, con una longitud de 2 µm, aloja una molécula de ADN de 30 millones kDa y 1,4 cm de largo. Si pudieran colocarse extendidas, una a continuación de otra, las moléculas de ADN de los 46 cromosomas de una célula somática humana, alcanzarían una longitud de casi 2 metros.

Por hidrólisis de ácido desoxirribonucleico se obtienen los nucleótidos constituyentes. La hidrólisis de éstos, a su vez, da lugar a bases púricas y pirimídicas, desoxirribosa y ácido fosfórico. Las bases púricas que participan en la constitución de ADN son *adenina* (A) y *guanina* (G), y las pirimídicas, *timina* (T) y *citosina* (C). En notaciones abreviadas, se acostumbra indicar las bases con la letra inicial de su nombre.

La proporción de bases en ácido nucleico aislado de distintas especies es característica para cada una; sin embargo, existen relaciones fijas entre las bases en todas las muestras de ácido desoxirribonucleico, cualquiera sea su origen. Por ejemplo, el contenido molar de bases púricas es siempre igual al de bases pirimídicas, es decir, la suma de moléculas de adenina más las de guanina es igual a la de timina más citosina (A + G = T + C). Además, las relaciones adenina/timina y guanina/citosina son siempre iguales a la unidad, esto es, el número de moléculas de adenina es igual al de timina (A = T), y el de guanina, al de citosina (G = C).

Observaciones de este tipo, debidas a estudios de Chargaff y el análisis mediante difracción de rayos X realizado por Wilkins y Franklin, sirvieron de base a Watson y Crick para elaborar, en 1953, su modelo molecular del ADN. La descripción adelantada por estos autores recibió amplia aceptación. La estructura del ADN propuesta por Watson y Crick estaba en perfecto acuerdo con hallazgos previos sobre proporciones de bases e imágenes de rayos X; también

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA Facultad de Ciencias Médicas

brindaba un modelo para explicar satisfactoriamente la capacidad de esta molécula de duplicarse durante la división celular y servir de depositaria de información genética.

Estructura molecular de ADN

La molécula de ácido desoxirribonucleico está formada por dos cadenas polinucleotídicas, enrolladas en hélice alrededor del mismo eje. El ADN es una *doble hélice*.

En cada una de las hélices, la hebra continua está constituida por la sucesión de desoxirribosas y fosfatos tendidos como puentes entre C5' de una pentosa y C3' de la anterior (sector de la molécula sobre fondo gris en la figura 6-8, donde se representa sólo una cadena). En la doble hélice, desoxipentosas y fosfatos, francamente hidrófilos, quedan situados en el exterior de la molécula y toman contacto con el medio acuoso. Las bases púricas y pirimídicas, estructuras planas muy poco polares, escapan del contacto con el solvente y se orientan hacia adentro, en dirección perpendicular al eje central. La figura 6-9, imitada de la original de Watson y Crick, es una representación muy esquemática de la doble hélice. En ella están indicadas como dos cintas las cadenas formadas por desoxirribosas y fosfatos. Los "travesaños" perpendiculares al eje central y dispuestos como peldaños de una escalera de caracol, representan las bases púricas y pirimídicas.

Cada vuelta de hélice tiene una extensión de 3,4 nm y cada base está a 0,34 nm de la siguiente, es decir, una vuelta completa de hélice comprende diez bases nitrogenadas (fig. 6-9). El diámetro o sección transversal de la molécula es de 2 nm.

Si pudiéramos mirar la molécula desde cualquiera de sus extremos, comprobaríamos que el enrollamiento se hace en el sentido del giro de las agujas del reloj; la hélice es *derecha* o *dextrógira*.

La cadena polinucleotídica se forma por los "puentes" de fosfato entre carbono 5' de una desoxirribosa y el 3' de la pentosa del nucleótido vecino. En el ADN, las dos cadenas son *antiparalelas*; esto es, ambas siguen una dirección opuesta. Mientras en una de ellas las uniones fosfato van de carbono 5' a carbono 3' de las pentosas, la otra está orientada en sentido opuesto (de carbono 3' a carbono 5'). En cada punta de la molécula se encuentra el extremo 5' de una cadena y el 3' de la otra (fig. 6-10).

La estructura primaria de estas cadenas, es decir, el ordenamiento o secuencia de nucleótidos,

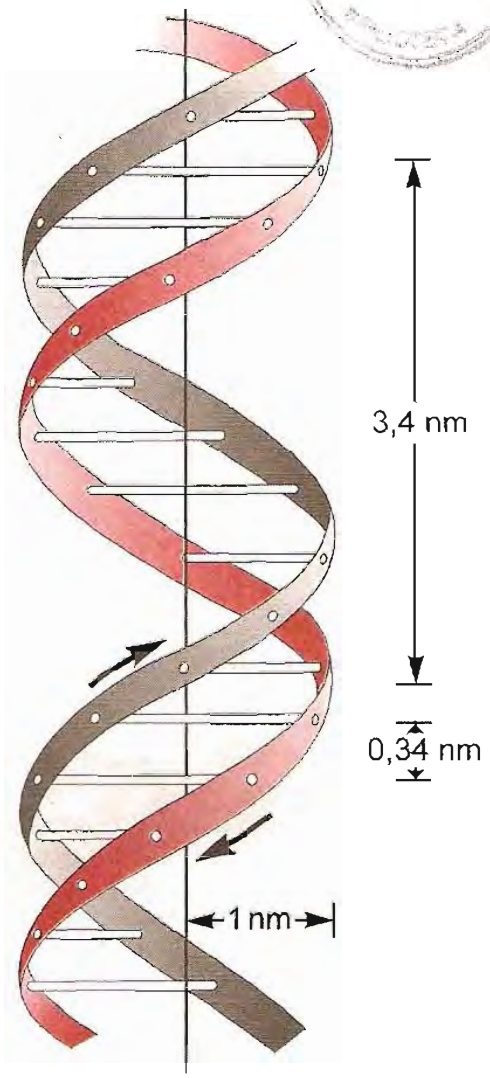


Fig. 6-9. Representación muy esquemática de la doble hélice de ácido desoxirribonucleico (ADN), según el modelo de Watson y Crick.

es un aspecto de gran importancia en el estudio de ADN. Dadas las enormes dimensiones de la molécula, frecuentemente constituida por cientos de miles a millones de unidades, las posibilidades de formar ordenamientos diferentes con las cuatro bases A, G, T y C son extremadamente grandes.

La información genética está precisamente contenida en la molécula de ADN, "cifrada" o "codificada" en su secuencia de bases. Como se verá más adelante, el ordenamiento de nucleótidos en los trozos de ADN correspondientes a los genes, indica la secuencia con la cual habrán de disponerse los aminoácidos al construir una proteína.

La secuencia se suele indicar, en forma abreviada, con las iniciales de nucleósidos constituyentes, separadas por p para indicar los fosfatos de unión, por ej., pApGpCpTpApCpT... o, más simplemente, suprimiendo las p, AGCTACT... Así como en las cadenas polipeptídicas los aminoácidos se nombran en el sentido que va desde el extremo N-terminal al C-terminal, en los

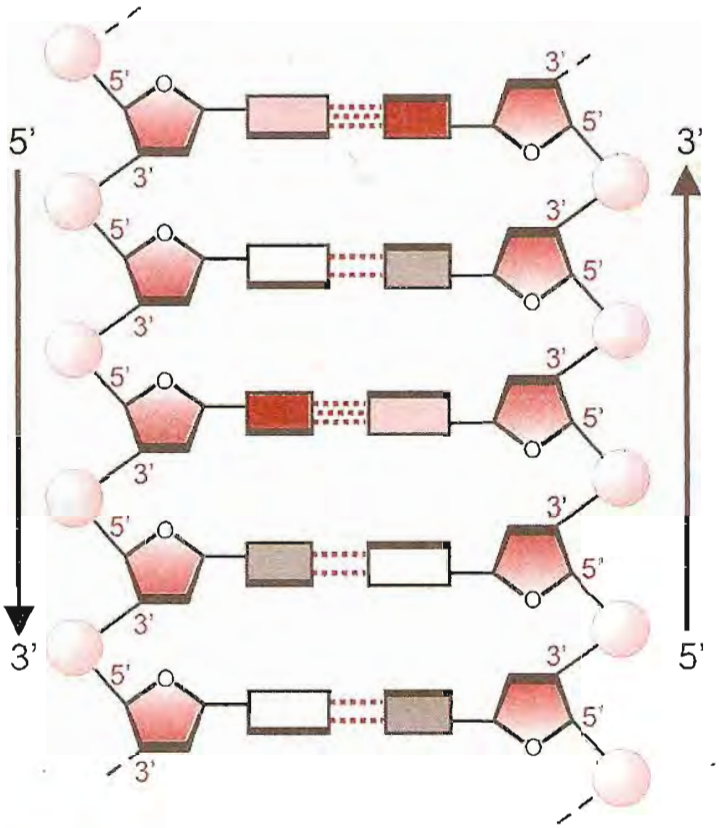


Fig. 6-10. Esquema de un segmento de molécula de ADN en el cual se muestra el apareamiento de las cadenas en la doble hélice. Nótese cómo la orientación de las uniones de fosfatos (esferas rosadas) en una de las cadenas tiene un sentido opuesto al de la otra. Las líneas de puntos rojos representan los enlaces tipo puente de hidrógeno que mantienen apareadas las bases, indicadas como rectángulos: guanina: rosa, citosina: rojo, adenina: blanco y timina: gris.

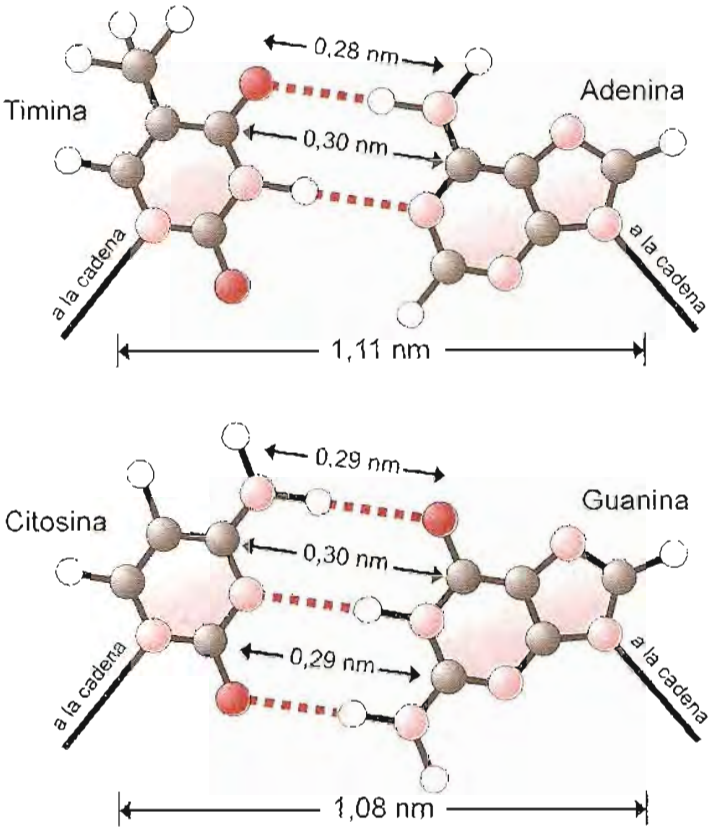


Fig. 6-11. Uniones puente de hidrógeno (líneas de puntos rojos) entre pares de bases del ADN. Adenina siempre está unida a timina por dos enlaces de este tipo. Guanina se enfrenta con citosina, a la cual está ligada por tres uniones de hidrógeno (Watson). C: esferas negras, O: rojas, N: rosadas, H: blancas.

polinucleótidos las unidades se mencionan comenzando desde el extremo 5'.

Sanger, en Inglaterra, y Maxam y Gilbert, en EE.UU., idearon métodos muy eficientes y prácticos para determinar la secuencia de bases en ácidos nucleicos. Ellos han facilitado notablemente los estudios de estas sustancias.

Las bases púricas y pirimídicas de cada cadena se dirigen perpendicularmente hacia el eje central, y se aparean en forma definida con los de la otra.

El espacio comprendido entre las dos hélices no permite alojar dos bases púricas a la par, pero resulta demasiado grande para dos bases pirimídicas, que quedarían muy alejadas, sin poder establecer uniones o atracciones entre ellas. En cambio, el espacio o "luz" existente entre las dos hebras es el adecuado para acomodar un par purina-pirimidina. Las bases se unen y mantienen enfrentadas mediante enlaces puente de hidrógeno. Adenina y timina forman dos uniones de hidrógeno al aparearse; guanina y citosina establecen entre sí tres enlaces de hidrógeno (fig. 6-11). Estos son los únicos apareamientos estables posibles: cada adenina de una de las cadenas está siempre enfrentada por timina de la otra; cada citosina, por guanina.

La doble hélice es una estructura muy estable gracias a los enlaces de hidrógeno entre las bases. Estas fuerzas, individualmente débiles, resultan significativas al multiplicarse a lo largo de la molécula, constituida por enorme número de pares de bases.

Otras fuerzas contribuyen, aún más significativamente que los puentes de hidrógeno, al mantenimiento de la doble hélice. Se trata de las interacciones hidrofóbicas y fuerzas de van der Waals en los pares de bases apilados en el interior de la molécula.

Si bien la doble hélice es un conjunto compacto, tiene flexibilidad como para arquearse y hasta enrollarse sobre sí misma o sobre otras estructuras. Esta propiedad es importante, pues le permite interaccionar con otras moléculas y también "empaquetarse" en muy pequeños volúmenes.

Es conveniente destacar dos aspectos relacionados con la estructura y función de ADN: a) Las dos cadenas constituyentes de una molécula de ADN no son idénticas, sino *complementarias*; los apareamientos A-T y G-C se producen

cuando una cadena posee adenina exactamente frente a timina de la otra y guanina frente a citosina. b) Las cadenas son *antiparalelas*, una marcha en sentido 5'→ 3' y la otra en dirección 3'→ 5'. Estos principios de complementariedad y antiparalelismo se aplican en todos los procesos en los cuales estas moléculas participan, como los de duplicación o replicación, transcripción y traducción, términos que serán definidos en los capítulos 19 y 20.

El enrollamiento de las dos cadenas de desoxirribosas y fosfatos forma dos surcos o estrías en la superficie de la molécula, paralelas a los giros de la hélice. Uno de ellos es mucho más ancho que el otro (fig. 6-12). En el fondo de esos surcos quedan expuestos átomos componentes de las bases púricas y pirimídicas. Especialmente a nivel del surco mayor, las bases pueden establecer interacciones con proteínas u otras sustancias.

Conformaciones de la doble hélice. La estructura de ADN descripta de acuerdo con la propuesta de Watson y Crick, ampliamente confirmada por estudios posteriores, corresponde a la llamada conformación B, la más común en las condiciones reinantes en la célula (fig. 6-12). Existe otra forma, designada A, más ancha y más corta que la hélice B, tiene 11 pares de bases en lugar de 10 por cada vuelta de hélice, que abarca una longitud de 2,8 nm en vez de 3,4 nm. Desaparece la diferencia entre los surcos, ambos son prácticamente de igual profundidad. Esta forma no se encuentra en condiciones fisiológicas; se produce cuando el ADN está pobremente hidratado; es característica de dobles hélices de ARN o formadas por ARN y ADN.

La adquisición de métodos para sintetizar cadenas cortas de ADN (oligonucleótidos) permitió estudiar la conformación de dobles hélices con secuencias definidas. Se comprobó que cadenas formadas por sucesión alternada de guaninas y citosinas (GCGC...) adoptan una conformación muy diferente de la B, a la cual se la llamó Z. La doble hélice cambia el sentido de su enrollamiento, se hace levógira en lugar de dextrógira; el surco menor es más profundo y el mayor prácticamente desaparece (fig. 6-13). La molécula es más delgada y elongada y presenta 12 pares de bases por vuelta. La cadena de desoxirribosas y fosfatos dibuja una línea en zigzag (de allí el nombre Z), no directa como en la forma B. Aún no se conoce si el ADN Z tiene algún papel funcional. De cualquier manera, los estudios en moléculas sintéticas han puesto de manifiesto que determinadas secuencias de nucleótidos admiten cambios en la conformación de la doble hélice y pueden llegar a alterar el acceso a las bases ubicadas en el fondo de los surcos, modificando la amplitud y profundidad de éstos. El fenómeno quizás tenga significación. La actividad del ADN es modulada

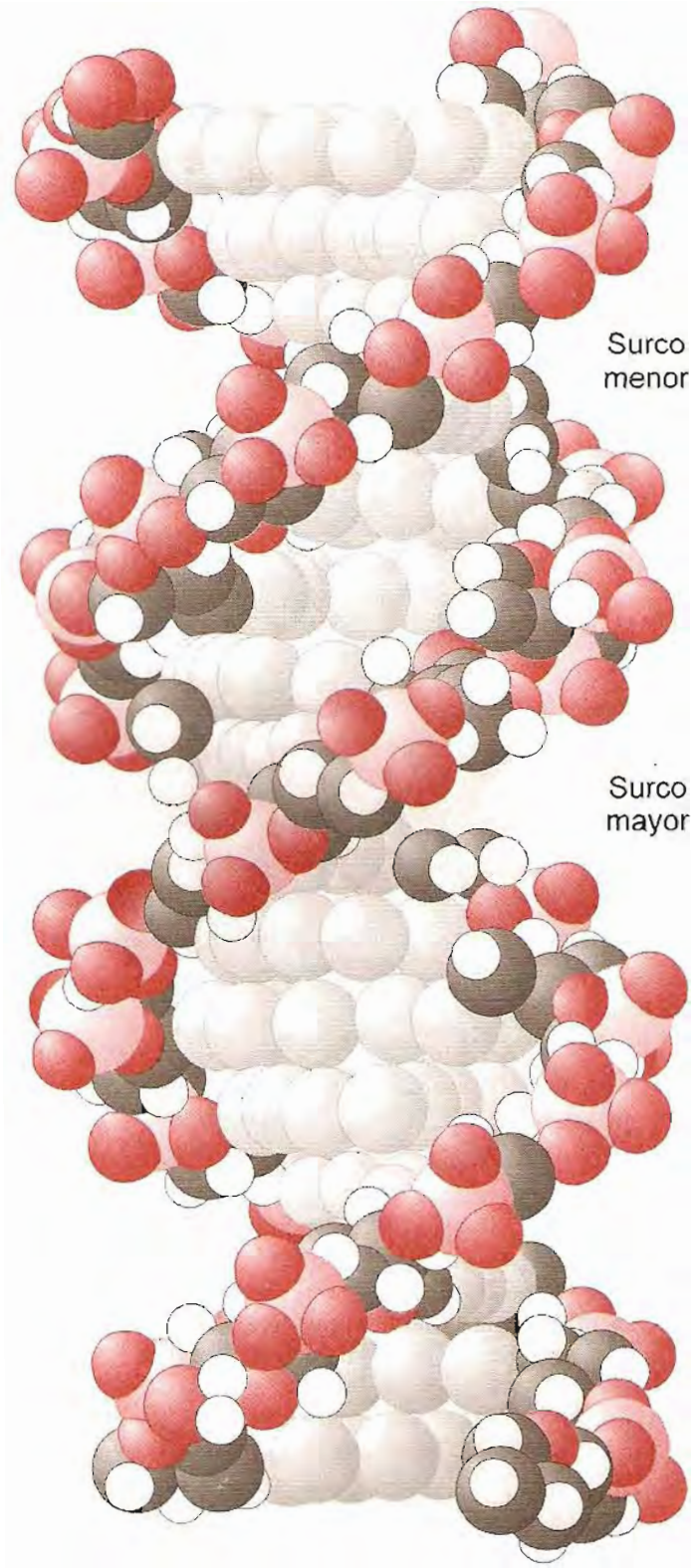


Fig. 6-12. Modelo molecular compacto de ácido desoxirribonucleico (ADN), conformación B. Nótense los surcos mayor y menor paralelos a las espiras de la doble hélice. Los elementos que forman la hebra continua: C: negro; O: rojo; H: blanco; P: rosado. Elementos de los pares de bases: gris.

por proteínas que se unen a él en sitios precisos. Cambios conformacionales podrían favorecer o dificultar la fijación de esas proteínas reguladoras. Igual significación tendría la presencia de bases metiladas en ciertos sectores de la doble hélice. La molécula de ADN no sólo almacena información genética; también posee, como parte de su estructura, señales para el control de su propia actividad.

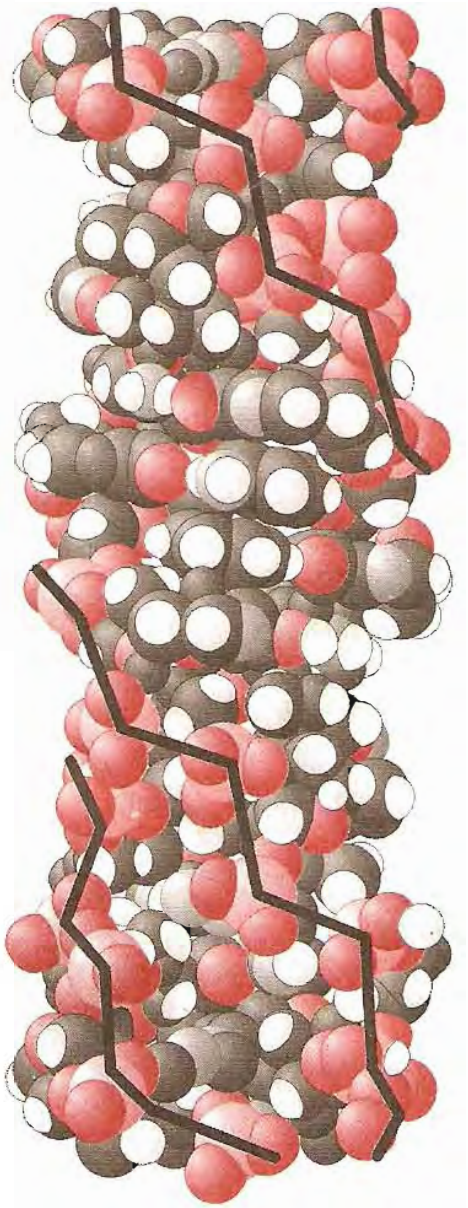


Fig. 6-13. Modelo molecular espacial compacto de ADN, conformación Z. La molécula es más delgada y elongada que en la forma B; el sentido del giro es hacia la izquierda (levógiro) y la cadena sigue una línea quebrada, en zigzag. C: negro, O: rojo, H: blanco, N: gris, P: rosado.

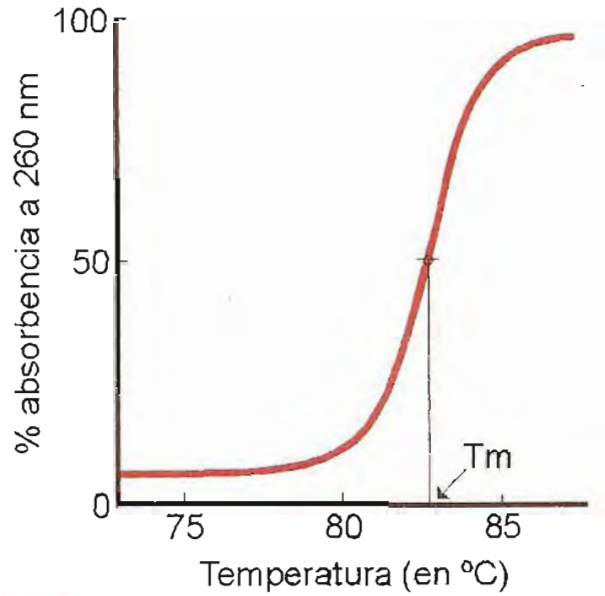


Fig. 6-14. Curva de desnaturalización del ADN. Se determina la variación de absorbencia a 260 nm al aumentar la temperatura (efecto hipercrómico). Cuando se ha producido separación completa de las dos hélices, la absorbencia no aumenta más aunque se incremente la temperatura. Tm: temperatura de fusión, corresponde a la temperatura a la cual se ha desnaturalizado 50% del ADN.

Desnaturalización de ADN

La doble hélice se mantiene por las uniones puente de hidrógeno entre pares de bases y por interacciones de las bases apiladas en el interior de la molécula. Estas fuerzas le dan una estructura compacta y cierta rigidez.

Diversos agentes (calentamiento, álcalis fuertes, urea, formamida) debilitan dichas fuerzas y promueven la separación de las cadenas; el proceso es llamado *desnaturalización*. Las hebras polinucleotídicas desenrolladas tienen una estructura flexible y adoptan disposición al azar.

La desnaturalización de ADN en solución puede ser seguida espectrofotométricamente, midiendo la absorción de luz ultravioleta a 260 nm; ADN al estado nativo absorbe menos que las dos cadenas separadas, fenómeno llamado *hipocromicidad*. Si se somete la solución a calentamiento lento, se registra la absorción de luz ultravioleta (a 260 nm) a distintas temperaturas, y se representan los resultados en un sistema de coordenadas, se obtiene una curva sigmoide (fig. 6-14). A medida que aumenta la temperatura, se produce incremento de absorción (efecto hipercrómico). Cuando se llega al máximo de desnaturalización, la densidad óptica no aumenta más con el calentamiento, indicando que las cadenas se han separado totalmente.

La temperatura a la cual la mitad del ADN está desnaturalizado (correspondiente al punto medio o de inflexión de la curva), es la temperatura de fusión o *Tm*. El valor es característico para cada ADN en condiciones definidas de concentración salina y pH. Para ADN aislados de distintos organismos, oscila entre 80°C y 100°C. La determinación del valor de Tm es útil para conocer aproximadamente la composición en bases de un ADN. Como el par G-C está unido por tres puentes de hidrógeno y el par A-T por dos, cuanto mayor es el contenido de G-C, el ADN es más resistente a la desnaturalización y mayor su temperatura de fusión.

Renaturalización

El proceso de desnaturalización de ADN es reversible en condiciones controladas de pH y concentración iónica. Si se disminuye lentamente la temperatura en la solución donde el ADN se había desenrollado completamente, se produ-

ce reasociación de las cadenas y se restablece la estructura original de doble hélice. Este proceso se puede seguir espectrofotométricamente a 260 nm y obtener una curva que es prácticamente la inversa de la de desnaturalización. La renaturalización por enfriamiento lento se llama *templado* del ADN (en la literatura inglesa se utiliza el término *reannealing*). Al encontrarse cadenas complementarias, reconstituyen la doble hélice.

La velocidad de renaturalización tiene interés por su relación con aspectos de la estructura del ADN en las células.

Si en un determinado ADN existen muchas zonas de igual secuencia (*secuencias repetitivas*), el tiempo de templado es menor, pues es más fácil para una cadena dada encontrar un trozo complementario con el cual reasociarse. En cambio, segmentos cuya secuencia es única en todo el ADN de una célula necesitarán un tiempo prolongado para alcanzar su cadena complementaria y volver a formar la doble hélice.

En preparaciones de ADN de mamíferos, se puede demostrar la presencia de fragmentos repetidos muchas veces. Es el llamado ADN *altamente repetitivo*, del cual pueden existir cientos de miles a millones de copias. Estos segmentos se reasocian rápidamente después de la desnaturalización, pues existen muchas posibilidades de encuentro de dos trozos complementarios. Las porciones de ADN altamente repetitivo de más de seis pares de bases de longitud son designadas también ADN *satélite*. En los cromosomas se las ha localizado en sitios próximos al centrómero y en los extremos o telómeros. Es frecuente encontrar repeticiones en tándem de uno a seis nucleótidos; son los llamados *microsatélites*. Otra parte del ADN está representada por trozos *moderadamente repetitivos*, que comprenden secuencias presentes entre cientos y miles de copias en el ADN total; éstos se reasocian con menor velocidad que el anterior. Una tercera fracción, que en mamíferos comprende alrededor del 60% del ADN total, corresponde a secuencias que sólo se encuentran en una a tres copias, razón por la cual se reasocian muy lentamente. En general, se acostumbra llamarla ADN *de copia única*. En bacterias, prácticamente la totalidad del ADN es de copia única.

Hibridación. Si se mezclan, en condiciones adecuadas, ADN desnaturalizado de dos organismos diferentes, algunos segmentos pueden tener trozos complementarios que forman dobles hélices "híbridas" (una cadena de cada uno de los organismos). Este tipo de hibridación de ADN permite estudiar la proximidad o distancia evolutiva entre dos especies diferentes. ADN desnaturalizados pertenecientes a seres filogenéticamente próximos, formarán moléculas híbridas en mayor proporción que los muy apartados. Por ejemplo, ADN humano forma dobles hélices híbridas en mayor proporción con ADN de mono rhesus que con ADN de ratón.

Cromatina

El ADN nuclear de células de eucariotas (poseen núcleo rodeado por una membrana) se encuentra en los cromosomas, cada uno de los cuales aloja una molécula de ADN (dos moléculas inmediatamente después de la replicación, cuando se forman las *cromátidas hermanas*). Estas enormes moléculas están densamente "empaquetadas" en los complejos nucleoproteicos que forman la *cromatina*. La organización de ésta experimenta cambios durante el ciclo celular. En la interfase, en el núcleo sólo se detecta un retículo irregular de cromatina extendida y no se visualizan cromosomas. Al iniciarse la mitosis, más precisamente al final de la profase, la cromatina se condensa en formaciones discretas, los *cromosomas*, que alcanzan máxima densidad en la metafase.

Las nucleoproteínas que forman la cromatina tienen ADN y una variedad de proteínas nucleares. Las más abundantes de estas proteínas son las *histonas*, de carácter básico. Más del 20% de los aminoácidos constituyentes de las histonas está representado por lisina y arginina. Los grupos libres ionizables de estos aminoácidos tienen carga positiva, que establece atracciones electrostáticas con grupos negativos de fosfatos de las cadenas de ADN. Se trata de interacciones de moléculas policatiónicas con moléculas polianiónicas. Se han aislado cinco tipos diferentes de histonas en el núcleo, denominados Hl, H2a, H2b, H3 y H4, cuya masa molecular oscila entre 11 y 21 kDa. Sólo se encuentran en células de eucariotas.

Las otras proteínas asociadas a ADN constituyen un conjunto heterogéneo en el cual se incluyen polipéptidos con funciones estructurales, como el grupo de proteínas de alta movilidad (HMG, de *high-mobility group*), proteínas regulatorias de la actividad génica (ej. *Fos, Myc*) y las enzimas necesarias para la síntesis y procesamiento de ácidos nucleicos en el núcleo (por ej., ADN y ARN polimerasas).

Estudios con difracción de rayos X y microscopia electrónica han permitido describir la disposición de la cromatina y explicar cómo la enorme molécula de ADN se "empaqueta" en cromosomas (en promedio, se calcula que cada cromosoma humano aloja una doble hélice de ADN de 4 cm de longitud).

A intervalos regulares, la molécula de ADN da dos vueltas sobre un núcleo constituido por un octámero de histonas H2a, H2b, H3 y H4 (dos unidades de cada una). Este tipo de estructura, en la cual una hélice se enrolla a su vez sobre un eje, se llama *superhélice*.

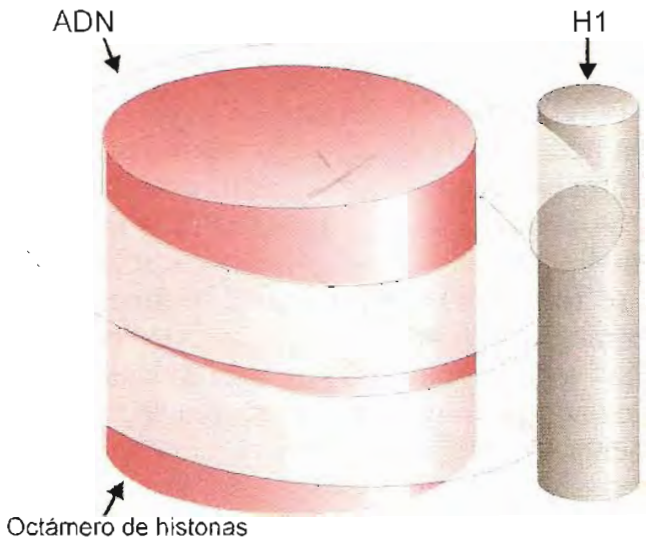


Fig. 6-15. Representación esquemática de un nucleosoma. La doble hélice de ADN se enrolla en una superhélice de dos vueltas sobre un núcleo constituido por un octámero de histonas (cilindro central). El cilindro más delgado a la derecha, en el lugar donde la doble hélice entra y sale del nucleosoma, es histona H1.

Las vueltas de superhélice sobre el "carretel" formado por las histonas abarcan una longitud de 146 pares de bases. El núcleo de histonas y la superhélice constituyen una partícula llamada *nucleosoma* (fig. 6-15). Una unidad de histona H1 está asociada a la doble hélice de ADN en el lugar de su entrada y salida del nucleosoma. El conjunto de nucleosomas y H1 recibe el nombre de *cromatosoma*. El ADN, después de dar dos vueltas sobre las histonas, se extiende en un trozo de unos 50 a 60 pares de bases (ADN espaciador) antes de volver a formar una superhélice alrededor de otro octámero de histonas y así sucesivamente. Este segmento de ADN "libre" entre nucleosomas adyacentes puede ser más corto, a veces sólo de 8 pares de bases. El conjunto de nucleosomas es visible al microscopio electrónico y aparece como cuentas de rosario enlazadas por la hebra de ADN. Esta ristra de nucleosomas, de 10 nm de sección, se presenta extendida durante la interfase. En el momento de iniciación de la mitosis, se produce la condensación. Se ha propuesto que la serie de cromatosomas se enrolla en "solenoide" de seis unidades por vuelta (fig. 6-16), que forma una fibra de 30 nm de sección transversal. Probablemente las histonas H1 juegan un papel en esta condensación, pues quedan todas ubicadas en la parte interior, formando el centro del solenoide. La larga fibra con los nucleosomas densamente agrupados en solenoide, a su vez se pliega en asas o bucles. Para los cromosomas mitóticos, esta estructura sería mantenida por uniones cruzadas en la cromatina.

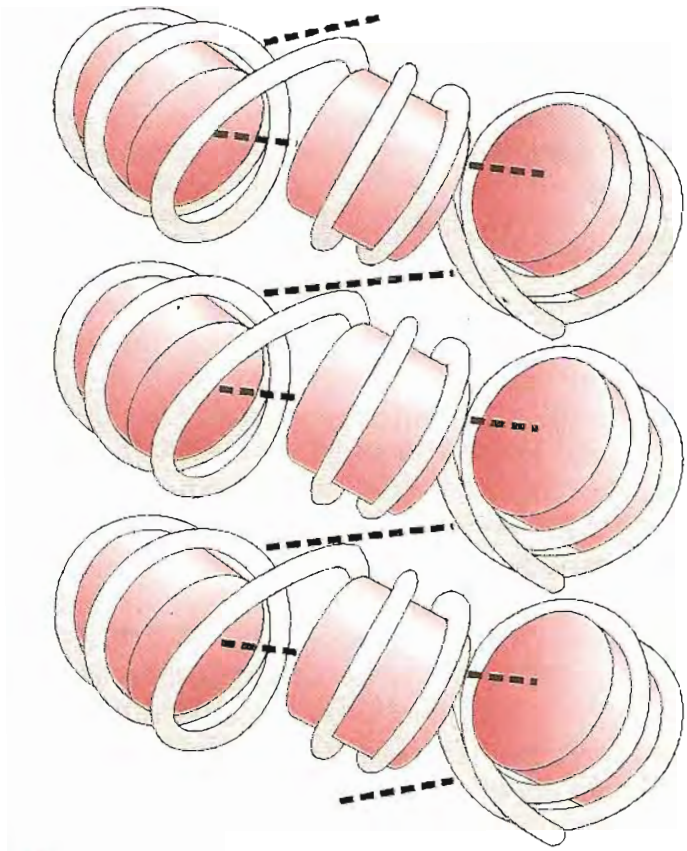


Fig. 6-16. Empaquetamiento de ADN. Los nucleosomas se disponen en solenoide, enrollándose sobre un eje central; cada vuelta comprende seis nucleosomas. La línea de trazos indica el sentido del enrollamiento. Se han representado sólo los cromatosomas situados al frente y no los de atrás.

La imagen que comúnmente se tiene de los cromosomas es la de su forma más condensada, en metafase. Las dos cromátidas hermanas resultantes de la duplicación se unen a nivel del *centrómero,* sitio donde se ensambla el *cinetocoro,* complejo proteico al cual se unen los microtúbulos del huso mitótico. Los microtúbulos separan las cromátidas en la anafase. El ADN del centrómero en la levadura tiene una secuencia rica en A-T de 88 pares de bases de longitud, flanqueada por dos regiones conservadas cortas. En células de mamíferos, la secuencia es más larga y está flanqueada por gran cantidad de ADN repetido, el ADN *satélite*. Los extremos del cromosoma son los *telómeros*, correspondientes a los terminales 5' y 3' de la molécula de ADN. En ellos se encuentran cientos de secuencias cortas repetidas (TTAGGG). Su función es proteger de la degradación los extremos de los cromosomas.

Durante la interfase, los cromosomas adoptan una estructura difusa; sin embargo, parte de la cromatina permanece condensada, visible al microscopio en la periferia del núcleo. Se trata de porciones inactivas de ADN y recibe el nombre de *heterocromatina*. Generalmente contiene ADN con secuencias repetidas miles de veces (satélites) o modificado covalentemente (metilación de citosinas). La mayor parte de la heterocromatina se encuentra cerca de los centrómeros y telómeros.

En las células de hembras de mamíferos, uno de los cromosomas X permanece en su totalidad como heterocromatina (corpúsculo de Barr). El resto de la cromatina, no detectable como heterocromatina, es denominada *eucromatina*. Si bien no hay pruebas concluyentes al respecto, se acepta generalmente que la eucromatina comprende las regiones de ADN "activo", suficientemente extendidas como para permitir la transcripción (pág. 353).

ADN circular

Bacterias. La información genética de organismos procariotas (sin núcleo) como las bacterias, se encuentra en un cromosoma único constituido por una doble hélice de ADN que no tiene extremos libres; la molécula se cierra sobre sí misma formando un círculo. Al parecer, el ADN bacteriano no está organizado en nucleosomas, aunque es común observar acúmulos compactos de material genético. Inicialmente se pensó que no estaba asociado a proteínas y se lo consideraba un ADN "desnudo". Sin embargo, se han aislado varias proteínas de pequeña masa, semejantes a las histonas, con capacidad para formar complejos con ADN de bacterias.

Para dar una idea del tamaño del ADN bacteriano, se referirán algunos datos del cromosoma de *Escherichia coli*, bacteria de la flora intestinal, cuyo ADN ha sido intensamente estudiado. El cromosoma de *E. coli* tiene unos 4 millones de pares de bases o 4.000 kilobases (para simplificar, se usa corrientemente el múltiplo kilobase, que corresponde a mil pares de bases). Como el peso promedio de un par de nucleótidos es 660 Da, la molécula tiene una masa de $2{,}6 \times 10^9$ Da; su longitud es 1,36 mm, notablemente menor que el de cromosomas de animales superiores.

Si el anillo se extiende sobre un plano, formando un círculo (fig. 6-17 A), se dice que el ADN está "relajado". Es más común encontrarlo enrollado sobre sí mismo, en superhélices (fig. 6-17 B). La existencia de enzimas especiales que catalizan superenrollamientos y la energía invertida en estos procesos, indican que deben tener importancia funcional.

Plásmidos. Además de un cromosoma en el cual se almacena la casi totalidad de la información genética, muchas bacterias poseen otras moléculas de ADN circular, de pequeño tamaño (de 2 a 200 kilobases), que se duplican independientemente y contienen información genética accesoria. Estas pequeñas moléculas de ADN

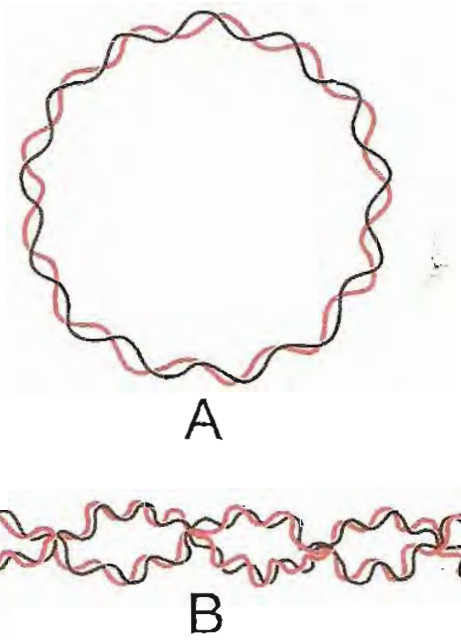


Fig. 6-17. ADN circular bacteriano. **A:** ADN circular "relajado". **B:** el mismo ADN circular enrollado sobre sí mismo en superhélice.

extracromosomal son llamadas *plásmidos*. Comúnmente los genes responsables de la resistencia a antibióticos están contenidos en estos plásmidos. Pueden ser transferidos de una bacteria a otra a través de las paredes celulares, razón por la cual los genes incluidos en ellos se han difundido ampliamente.

Existen técnicas que permiten separar plásmidos de una preparación de bacterias y obtenerlos puros, libres de ADN cromosomal.

Mitocondrias. En mitocondrias y cloroplastos se ha aislado ADN con características semejantes a las del cromosoma de bacterias, aunque de tamaño menor. Es un ADN circular constituido por unos 15.000 pares de bases (15 kilobases). El de mitocondrias humanas posee 16.569 pares de bases, cuya secuencia ha sido determinada; contiene información para la síntesis de ARN y de algunas proteínas propias de la organela.

La mitocondria no es autosuficiente desde el punto de vista genético, ya que la mayor parte de sus proteínas son sintetizadas por la célula con información contenida en ADN nuclear.

La existencia de este ADN mitocondrial, con características similares al de bacterias, es una evidencia a favor de la hipótesis que postula a la mitocondria como el estado evolutivo actual de una bacteria en relación endosimbiótica con la célula.

Genoma

Todos los individuos de una especie tienen la misma cantidad de ADN en cada una de sus células. En organismos diploides con reproducción sexual, las células somáticas contienen el doble del existente

en células gaméticas (haploides). La totalidad de ADN en cada célula es denominado *genoma*; éste representa el "capital genético" característico del individuo.

El tamaño del genoma guarda relación con la complejidad del organismo, pero esta relación no es simple. Por ejemplo, la bacteria *Escherichia coli* contiene en su cromosoma único algo más de 4 millones (4×10^6) de pares de bases (pb); la levadura *Sacharomices cerivisiae*, $1{,}4 \times 10^7$ pb; la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, $1{,}7 \times 10^8$ pb; el *Homo sapiens*, 6×10^9 pb. El aumento en la cantidad de ADN por célula en eucariotas con respecto a procariotas es mucho mayor que el esperado según las necesidades del incremento de información y complejidad. Entre eucariotas se observan algunos hechos llamativos: existen especies de peces y anfibios cuyos genomas son mucho más grandes (hasta 10^{11} pb) que los de mamíferos. Como se explicará más adelante, el ADN en exceso del esperado según la complejidad del individuo, se debe a la existencia de extensas porciones del genoma que, al parecer, son funcionalmente inactivas, no poseen información genética.

El genoma o contenido total de ADN de una célula haploide humana (espermatozoide u óvulo) está distribuido en 23 cromosomas, 22 autosómicos y uno sexual (X o Y) y comprende 3 mil millones de pares de bases. Las células diploides tienen un total de 46 cromosomas; cada uno de los 22 cromosomas autosómicos tiene un homólogo. Las moléculas de ADN de cromosomas homólogos son similares, pero no necesariamente idénticas. Un cromosoma de cada par procede del padre y el otro de la madre. Cada célula diploide tiene además dos cromosomas sexuales; en la mujer dos X y en el hombre, un X y un Y.

ACIDO RIBONUCLEICO

El ácido ribonucleico es un polinucleótido cuyas principales diferencias estructurales con ADN son las siguientes: a) El azúcar presente es D-ribosa en lugar de D-2-desoxirribosa. b) En el ácido ribonucleico no existe la base pirimídica timina; en cambio, se encuentra *uracilo*. Las bases restantes son las mismas presentes en ADN (adenina, guanina y citosina). c) La molécula de ARN está formada por una cadena polinucleotídica, no dos como en ADN. Sin embargo, comúnmente la cadena de ARN se dobla en horquilla y se enrolla sobre sí misma, en trozos que remedan la doble hélice de cadenas antiparalelas. Para ello, por supuesto, deben existir segmentos complementarios.

Si bien la constitución química del ARN no difiere mucho de la de ADN, existe gran disparidad en cuanto a propiedades funcionales. La molécula de ARN tiene mayor flexibilidad conformacional y capacidad para ejercer diversas funciones (ver pág. 373).

Como la molécula posee sólo una cadena, no es requisito que se cumplan las relaciones molares entre purinas y pirimidinas observadas en ADN. La cantidad de guaninas no es necesariamente igual a la de citosinas, ni la de adeninas a la de uracilos.

En las células existen cuatro tipos principales de ácido ribonucleico: mensajero (ARNm), ribosómico (ARNr), de transferencia (ARNt) y ARN nuclear pequeño.

Acido ribonucleico mensajero (ARNm)

Representa aproximadamente 5% del total de ácido ribonucleico de la célula. Se lo encuentra distribuido en el núcleo y citoplasma. La masa molecular y composición en bases son muy variables.

Su papel fisiológico es transmitir información genética desde ADN nuclear hacia el sistema de síntesis de proteínas en citoplasma y servir de guía para el ensamble de aminoácidos en el orden correcto.

El ARN nuclear es muy heterogéneo y alcanza gran tamaño, su masa es a veces más de 10^6 Da. Las grandes moléculas sintetizadas en el núcleo son sometidas a un proceso designado *splicing* en la literatura inglesa (las cadenas originales son seccionadas en trozos, algunos de los cuales vuelven nuevamente a unirse y terminan formando las hebras de ARNm que pasan al citoplasma). Aproximadamente 20% del ARN original es utilizado para formar ARNm; el resto es degradado. El llamado *ARN nuclear heterogéneo* (ARNnh) incluye las grandes moléculas precursoras de ARNm, las intermediarias del *splicing* y las de los productos finales del procesamiento, los ARNm "maduros", de longitud mucho menor que la del precursor. El ARNnh se asocia a proteínas para formar ribonucleoproteínas nucleares heterogéneas (RNPnh).

Los ARNm procesados son modificados en ambos extremos, al 5' terminal se le une 7-metilguanosina trifosfato. Este nucleósido trifosforado serviría como "marcador" para el reconocimiento del ARNm por parte del sistema de síntesis de proteínas; también contribuye a la estabilidad del ARNm, protegiendo el extremo 5' de la acción de enzimas hidrolíticas. El extremo 3' terminal fija un polímero constituido por 100 a 250 unidades de ácido adenílico o AMP, al cual se lo llama *poli-A*. Al parecer, esta "cola" de poli-A otorga estabilidad al ARNm. El ARNm es el más lábil de los ácidos ribonucleicos, su vida media en células de mamíferos es de unas 6 horas. El de bacterias es aún de más corta duración.

Si se mezclan en condiciones adecuadas ADN desnaturalizado y ARN, pueden producirse asociaciones en doble hélice si existen en las cadenas secuencias complementarias. Se produciría hibridación ADN-ARN, con apareamientos G-C, A-U y T-A.

Acido ribonucleico de transferencia (ARNt)

Este tipo de ARN, también llamado soluble, es el de menor tamaño molecular; su masa es de unos 25 kDa; su cadena contiene alrededor de 75 nucleótidos.

ARNt participa en la síntesis de proteínas transportando aminoácidos libres del citosol hasta el lugar de ensamble. Actúa como molécula adaptadora, que asegura la ubicación de cada aminoácido en el sitio correspondiente. En cada célula existen distintas especies de ARNt, específicos para cada uno de los aminoácidos. Se conoce la secuencia de nucleótidos o estructura primaria de ARNt aislados de diferentes organismos. En estas moléculas es relativamente frecuente la presencia de nucleósidos distintos de A, U, G y C, como dihidrouridina, seudouridina, inosina y derivados metilados o dimetilados de A, U, G y C.

Los primeros estudios indicaron que la molécula de ARNt semeja, en su disposición general, una hoja trilobulada (fig. 6-18). La cadena polinucleotídica posee segmentos complementarios que se aparean antiparalelamente. Aproximadamente la mitad de los residuos constituyentes del ARNt están enfrentados en cuatro zonas de doble hélice. Existen también porciones desplegadas de la cadena; son los lóbulos o "asas" de la molécula. El asa central contiene un grupo de tres bases, el *anticodón*, responsable de la especificidad de aminoácido y de la función de adaptador. El conjunto de esta "hoja de trébol" posee un tallo (uno de los segmentos en doble hélice), en cuyo extremo se encuentran los terminales 5' y 3' de la molécula. En el extremo 5' existe un resto guanosina (G) o citidina (C). En el 3', todos los ARNt presentan la secuencia CCA para los tres últimos nucleótidos. El aminoácido se une por enlace tipo éster entre el carboxilo del aminoácido y el –OH de carbono 3' de ribosa de la última adenosina. Debido a esta función de fijar el aminoácido, el tallo es llamado *brazo aceptor*. Hay también un brazo extra, indicado en la figura como lóbulo adicional, cuya extensión varía en distintos ARNt.

Modelos posteriores, construidos según resultados de estudios por difracción de rayos X,

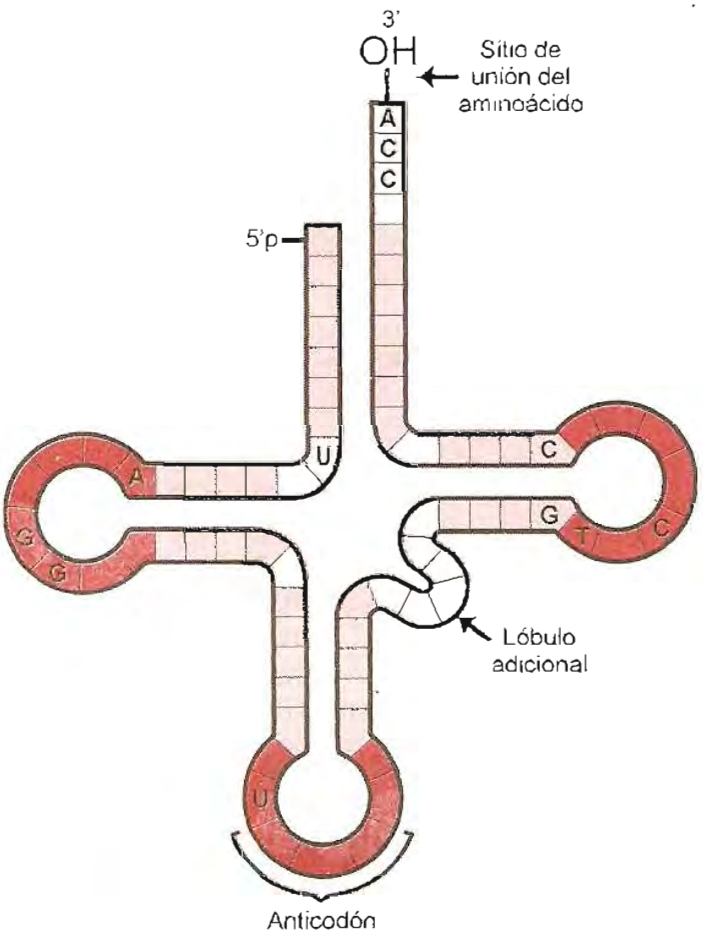


Fig. 6-18. Representación esquemática de una molécula de ARNt. En rojo se muestran las tres asas o lóbulos. Los trozos en los cuales hay apareamiento de la cadena corresponden a los cuatro segmentos de doble hélice (en rosado). El terminal 3' posee la secuencia CCA; a este extremo se une el aminoácido transportado por el ARNt. Las bases señaladas con letras son invariables en todos los ARNt.

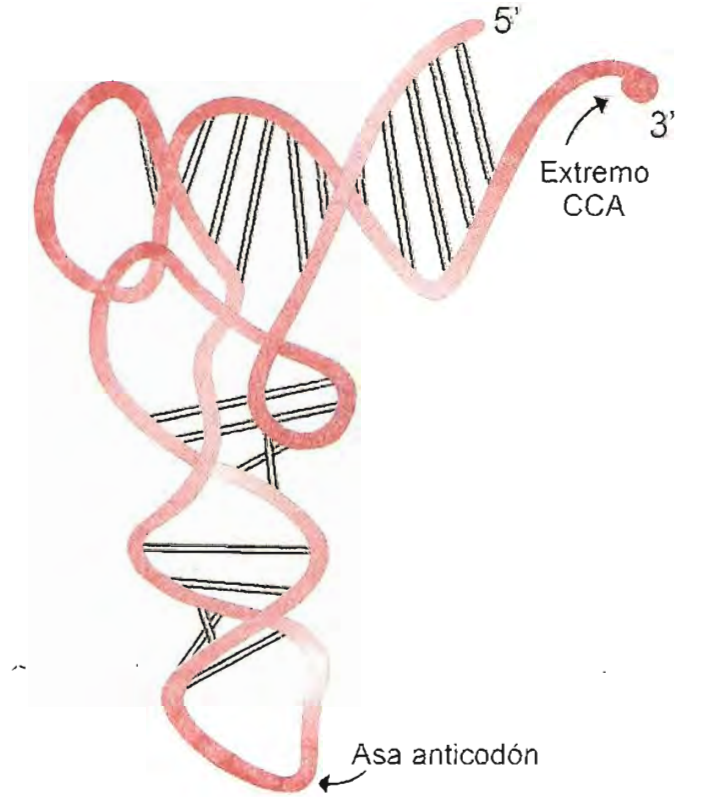


Fig. 6-19. Esquema de la disposición tridimensional del ARNt.

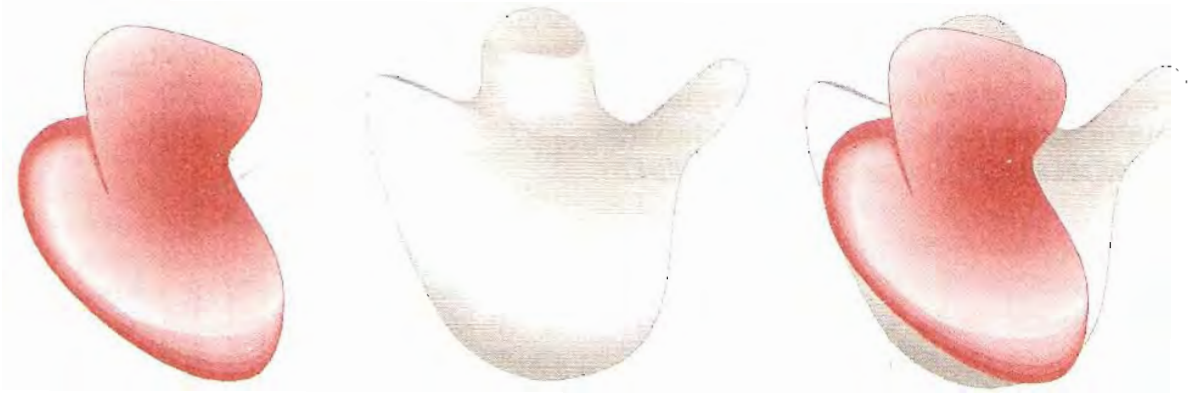


Fig. 6-20. Ribosoma. **A:** Partícula menor. **B:** Partícula mayor. **C:** Ensamble de las dos partículas para formar el ribosoma.

demostraron que la molécula tiene, en conjunto, forma de L (fig. 6-19). El sitio aceptor del aminoácido está en uno de los extremos de la L y en el otro, el asa anticodón. Si bien esta estructura es más fidedigna, el esquema trilobular sigue siendo útil para representar la molécula.

Acido ribonucleico ribosomal (ARNr)

Es la especie más abundante; constituye aproximadamente 80% del ARN contenido en la célula.

Es el núcleo prostético de nucleoproteínas componentes de *ribosomas*, pequeños gránulos localizados en el citoplasma, libres o unidos a retículo endoplasmático rugoso. Más de 55% de la masa del ribosoma corresponde a ARN; el resto, a proteínas.

Los ribosomas de organismos eucariotas tienen coeficiente de sedimentación de 80 S (unidades Svedberg); están constituidos por dos partículas: la mayor, de 60 S, integrada por 3 moléculas de ARN (de 28 S, 5,8 S y 5 S) y alrededor de 45 proteínas diferentes. Su masa es de 2.700 kDa. La partícula menor tiene una molécula de ARN (de 18 S) y unas 30 proteínas; su coeficiente de sedimentación es de 40 S y la masa, 1.300 kDa. Las bacterias poseen ribosomas de 70 S con una partícula mayor de 50 S y una menor de 30 S (los valores no son aditivos porque S depende no sólo del tamaño, sino también de la forma).

Las moléculas de ARNr presentan plegamientos definidos y numerosos segmentos en doble hélice. El ARNr de cada partícula cumple un papel importante, tanto desde el punto de vista estructural como funcional. Si se agregan en un medio adecuado todas las moléculas de ARNr y las proteínas constituyentes de la partícula, ésta se ensambla espontáneamente.

Se ha confeccionado un modelo tridimensional de ribosomas con el cual se trata de explicar su función en la síntesis de proteínas. Ambas partículas componentes del ribosoma poseen una forma irregular (fig. 6-20).

Al microscopio electrónico es posible detectar conjuntos formados por varios ribosomas unidos a una hebra de ARNm como cuentas de un rosario; esos conjuntos son denominados *polisomas*.

Acido ribonucleico nuclear pequeño

Otras partículas con ARN existentes en las células integran las *ribonucleoproteínas nucleares pequeñas* (la notación en inglés es snRNP; también se las llama *snurps*) y las *ribonucleoproteínas citosólicas pequeñas* (scRNP). El ARN de snRNP tiene menos de 300 restos nucleotídicos; es rico en uracilo, razón por la cual se designan anteponiendo la letra U a las siglas (UsnRNP). Se han aislado varias especies de estas partículas, que se distinguen con un número a continuación de la U (U1, U2, U6). Las snRNP intervienen en el procesamiento de ARNm en el núcleo.

VIRUS

Los virus son partículas formadas por ácidos nucleicos rodeados de proteína, con capacidad para reproducirse a expensas de las células que invaden. Son agentes de numerosas enfermedades, tanto en animales como en vegetales. Algunos de ellos producen desarrollo de tumores en el organismo hospedador. Existen virus, llamados *bacteriófagos*, que atacan a bacterias.

Básicamente están constituidos por una cubierta de naturaleza proteínica llamada *cápsida*, con ácido nucleico en su interior. La cápsida se forma por asociación de unidades polipeptídicas o *capsómeros*, dispuestos regularmente en forma simétrica. Gracias a esta disposición, los virus

presentan por lo general conformaciones geométricas, a veces poliédricas, otras cilíndricas. En los virus más simples, la cubierta está formada por un solo tipo de unidades polipeptídicas; en los más complejos, existen distintas clases de unidades, e incluso suelen asociarse a ellas lípidos o hidratos de carbono.

En el interior de la cápsida, protegido por ella, se aloja el material genético del virus, constituido por ADN o ARN. Se utiliza el término *virión* para designar a la forma completa de un virus, consistente de ADN o ARN rodeado por una cubierta. A diferencia de los organismos pro- y eucariotas, en los cuales se encuentran los dos tipos de ácido nucleico, en los virus sólo existe uno de ellos. Los virus que atacan a células animales pueden contener ADN o ARN. Estas moléculas son de una sola hebra en algunos casos, o presentan estructura de doble hélice en otros. Por su pequeño tamaño relativo, es más fácil aislar moléculas de ADN intactas en virus que en organismos más complejos. Esto ha impulsado su utilización como prototipos en numerosos estudios de su estructura y función. Uno de los virus más pequeños es el bacteriófago ϕX174, con una sola hebra compuesta por 5.386 nucleótidos. Esta molécula de ADN fue la primera en la cual se determinó íntegramente la secuencia de bases.

En la figura 6-21 se muestra la estructura de un virus de vegetales, el del mosaico del tabaco. Tiene una cadena de ARN enrollada en hélice, cubierta por múltiples unidades polipeptídicas; el conjunto es un bastoncito cilíndrico. El ARN de este virus posee 6.400 nucleótidos y la cápsida está compuesta por 2.130 unidades iguales, dispuestas helicoidalmente.

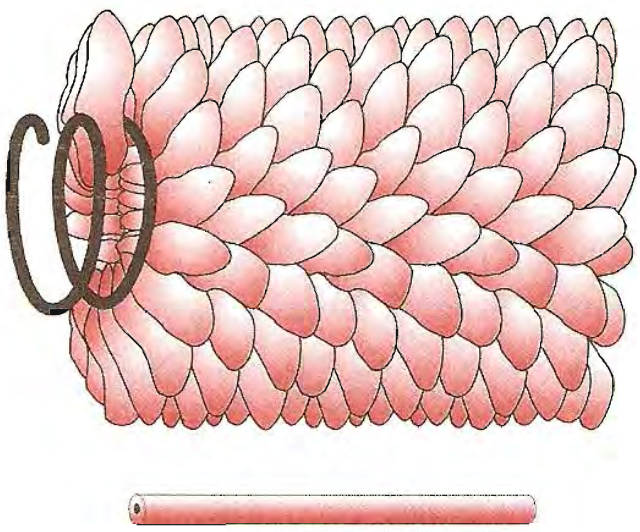


Fig. 6-21. Virus del mosaico del tabaco; se representa esquemáticamente la hélice de ARN en el interior y unidades polipeptídicas de cubierta. Debajo se muestra un virus completo con su forma de bastoncillo cilíndrico.

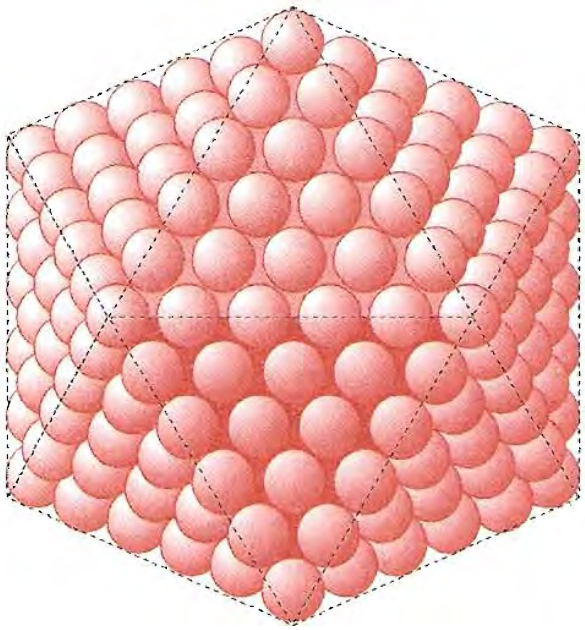


Fig. 6-22. Adenovirus (simetría icosaédrica).

La figura 6-22 presenta un esquema de *adenovirus*, cuya cubierta está formada por 252 capsómeros dispuestos según la simetría de icosaedro. En el interior de esta cubierta se encuentra ADN de doble hélice.

Los bacteriófagos serie T poseen estructura más compleja. Las proteínas de cubierta forman una "cabeza" poliédrica dentro de la cual está contenido el ADN con la información genética del virus. Además tienen un tallo hueco formado por proteínas con capacidad contráctil y seis filamentos en su base que le permiten fijarse a la pared de la bacteria atacada (fig. 6-23).

El ácido nucleico encerrado en la cápsida contiene información necesaria para sintetizar las proteínas del virus. Estos se multiplican invadiendo una célula en la cual introducen su ácido nucleico, y la obligan a reproducir nuevas partículas virales. Se comportan como parásitos perfectos, que utilizan la maquinaria metabólica y la energía de las células invadidas para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos del propio virus.

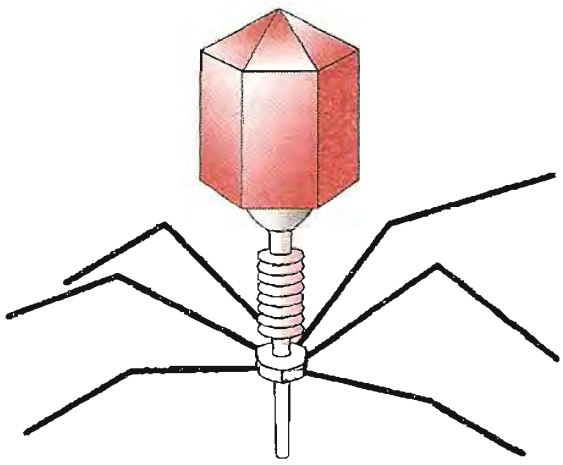


Fig. 6-23. Bacteriófago T4.

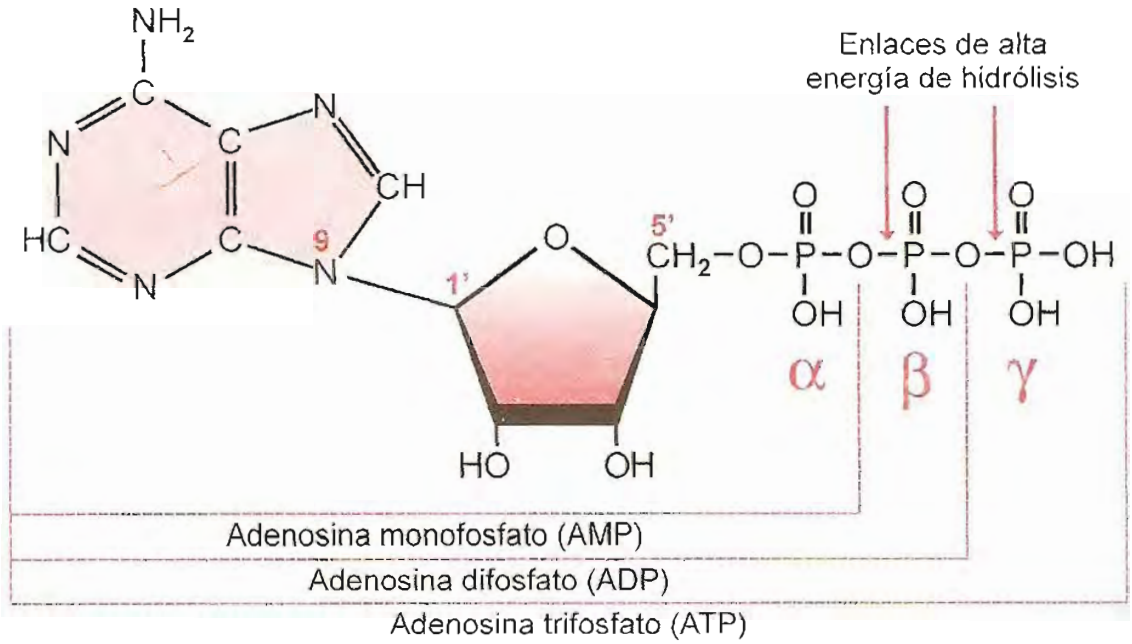


Fig. 6-24. Adenosina trifosfato (ATP).

Viroides. Son agentes infecciosos que causan enfermedades en vegetales. A diferencia de los virus, en los cuales el genoma está protegido por una cubierta proteica, el viroide es sólo ácido nucleico. Están constituidos por una molécula circular de ARN de hebra única, de alrededor de 300 nucleótidos.

NUCLEOTIDOS LIBRES

Existen sustancias de tipo nucleotídico con funciones muy importantes, no como constituyentes de ácidos nucleicos, sino libres o integrando moléculas de tamaño relativamente pequeño.

En esta categoría se encuentran nucleósidos difosforados y trifosforados, derivados de los ribonucleótidos de la tabla 6-1 por adición de uno o dos restos de ácido ortofosfórico. El más abundante en el organismo es *adenosina trifosfato* (*ATP*). Este compuesto es el más importante mediador en reacciones de transferencia de grupos fosforilo, acompañadas por notables cambios de energía. La hidrólisis de los enlaces entre el segundo (β) y tercer (γ) fosfato y entre el primero (α) y segundo, tiene un ΔG francamente negativo, razón por la cual se dice que el ATP es un compuesto "rico en energía" (ver pág. 121). Al hidrolizarse la unión entre los fosfatos segundo y tercero, el ATP se convierte en adenosina difosfato (ADP). Si éste pierde otro resto fosforilo, se obtiene adenosina monofosfato (AMP) (fig. 6-24). El guanosina trifosfato (GTP) es otro nucleótido que participa en procesos muy importantes. CTP y UTP también intervienen en reacciones de transferencia de grupo fosforilo.

Tanto ribonucleósidos como desoxirribonucleósidos trifosforados son compuestos básicos necesarios para la síntesis de ARN y ADN respectivamente.

En el organismo, nucleósidos mono y difosforados son convertidos en trifosforados por procesos de captación de la energía liberada durante la oxidación de combustibles ingresados con los alimentos (fosforilación oxidativa) o por transferencia de energía a partir de intermediarios metabólicos ricos en ella (fosforilación a nivel de sustrato) (ver págs. 156 y 166).

Entre los nucleósidos difosforados hay varios que participan en reacciones de transferencia de moléculas utilizadas en procesos de síntesis o conjugación. Por ejemplo, uridina difosfato-glucosa (UDPGlc), uridina difosfato-galactosa (UPD Gal) y uridina difosfato-glucurónico (UDPGlu) actúan como importantes intermediarios en el metabolismo. Citidina difosfato-colina (CDPcolina) transfiere colina para síntesis de fosfolípidos y

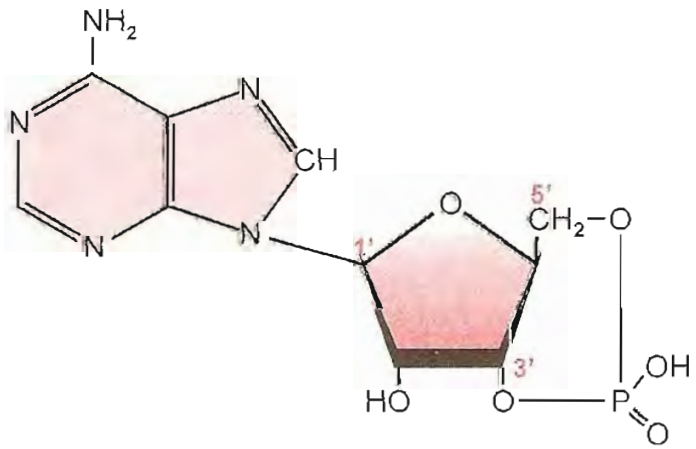


Fig. 6-25. Adenosina monofosfato-3',5'-cíclico (AMP cíclico).

fosfoadenosina fosfosulfato (PAPS) transfiere grupos sulfato.

Otros nucleótidos integran factores indispensables para la acción de enzimas. Estos factores, llamados coenzimas, a menudo presentan estructura nucleotídica.

Algunos nucleótidos sirven como intermediarios en sistemas de transmisión de señales (pág. 406), por ejemplo, el AMP-3', 5'-cíclico, así llamado porque el fosfato forma un ciclo entre carbonos 3' y 5' de la ribosa (fig. 6-25). Este compuesto se forma en el organismo a partir de ATP por acción de *adenilato ciclasa*, enzima regulada por distintas hormonas. El AMP cíclico es un mensajero químico, intermediario de esas hormonas.

El guanosina monofosfato-3',5'-cíclico (GMP cíclico) es otro importante nucleótido que actúa como mensajero intracelular.

RESUMEN

Acidos nucleicos. Desempeñan muy importantes funciones: a) son depositarios de la información genética: b) tienen un papel principal en la síntesis de proteínas en la célula. Son macromoléculas poliméricas lineales; las unidades estructurales son nucleótidos. *Nucleótidos*, formados por unión de una base nitrogenada, aldopentosa y ácido ortofosfórico. Las bases nitrogenadas son de dos tipos: pirimídicas y púricas. Entre las primeras se encuentran timina (T), citosina (C) y uracilo (U); entre las segundas, adenina (A) y guanina (G). La aldopentosa es D-ribosa en ácido ribonucleico (ARN o RNA) o D-2-desoxirribosa en ácido desoxirribonucleico (ADN o DNA); la pentosa se une por enlace β-glicosídico a N1 de bases pirimídicas o a N9 de bases púricas, para formar *nucleósidos*. Por esterificación con ácido ortofosfórico del C5' de la pentosa de un nucleósido se obtiene un *nucleótido*. Los ácidos nucleicos son polinucleótidos; las unidades se unen mediante enlaces éster entre fosfato de un nucleótido con el OH de C3' de la pentosa de otro.

ADN. Se encuentra en núcleos celulares formando cromatina; una cantidad muy pequeña está localizada en mitocondrias. Los individuos de la misma especie tienen igual cantidad de ADN en cada célula (6 pg en humanos). Las gametas femenina y masculina contienen la mitad. Las moléculas de ADN alcanzan enormes longitudes, del orden de centímetros, mientras el eje transversal es de 2 nm. Por hidrólisis de ADN se obtienen nucleótidos con las bases púricas adenina (A) y guanina (G) y las pirimídicas timina (T) y citosina (C). En toda muestra de ADN, cualquiera sea su origen, se mantiene una relación definida entre cantidad de bases púricas y pirimídicas: A + G es siempre igual a T + C. A/T y G/C son siempre iguales a 1. La molécula de ADN es una doble hélice formada por cadenas polinucleotídicas enrolladas sobre el mismo eje. La sucesión de desoxirribosas y fosfatos tendidos entre C5' y C3' de pentosas forman la hebra continua de cada cadena. Bases púricas y pirimídicas, estructuras planas, se proyectan hacia el interior en sentido perpendicular al eje de la doble hélice. El primer nucleótido de cada cadena tiene libre el fosfato unido a C5' (extremo 5'); el último nucleótido no tiene esterificado el C3' de su desoxirribosa (extremo 3' o fin de la cadena). Cada vuelta de hélice tiene una extensión de 3,4 nm y entre las bases hay una distancia de 0,34 nm. Una vuelta de hélice comprende 10 bases nitrogenadas. La hélice es dextrógira o derecha (se enrolla en el sentido de las agujas del reloj). Las dos cadenas del ADN son *antiparalelas*: una marcha en sentido 5'→3', y la otra, 3'→5'. El enrollamieno de las hélices forma dos surcos paralelos a las cadenas, uno más ancho (surco mayor).

La secuencia de nucleótidos en las cadenas tiene gran importancia, ya que el ordenamiento de bases constituye la "clave" o "código" con el cual se inscribe la información genética. Las bases púricas y pirimídicas de cada cadena, dirigidas hacia el eje central, se enfrentan de manera definida. Siempre frente a adenina de una cadena se ubica timina en la otra; este par A-T se mantiene unido por dos enlaces de H; guanina de una hélice se aparea con citosina de la otra mediante tres puentes H. La doble hélice es muy estable, no sólo por la multitud de enlaces H entre pares de bases, sino también por interacciones hidrofóbicas y de van der Waals que mantienen las bases apiladas en el interior de la molécula. Como consecuencia del apareamiento de bases, las dos cadenas no son iguales sino *complementarias*.

El calentamiento y algunos reactivos químicos debilitan los enlaces de H y producen separación de ambas cadenas. Este proceso es llamado desnaturalización; por espectrofotometría a 260 nm se comprueba que la absorbencia aumenta cuando las cadenas se separan (efecto hipercrómico). La temperatura a la cual la mitad del ADN en una muestra está desnaturalizada corresponde a la temperatura de fusión o Tm. La determinación de Tm da idea de la composición de bases. A mayor proporción de G-C, mayor Tm. Si se deja enfriar lentamente ADN desnaturalizado, las cadenas se reasocian y vuelven a formar dobles hélices (templado). En pruebas de reasociación de ADN desnaturalizado se comprueba la existencia, en células de eucariotas, de ADN altamente repetitivo, moderadamente repetitivo y de copia única. Es posible lograr asociación de cadenas de ADN procedentes de organismos diferentes cuando en ellas existen zonas complementarias (hibridación).

El ADN de células eucariotas se encuentra asociado a proteínas, formando *cromatina*. Esas proteínas son de carácter básico (histonas). En la cromatina, la molécula de ADN, a intervalos regulares, da dos vueltas sobre un núcleo constituido por un octámero de histonas (las dos vueltas abarcan 146 pares de bases). El núcleo de histonas y la superhélice de ADN forman un *nucleosoma*. Los nucleosomas están conectados por un tramo de ADN de una extensión de unos 50 pares de bases. Estas estructuras se encuentran extendidas durante la interfase; al iniciarse la mitosis, se empaquetan en un solenoide de 6 nucleosomas por vuelta. La *heterocromatina* es cromatina altamente condensada, inactiva. En bacterias, plásmidos, mitocondrias y cloroplastos se encuentra ADN circular.

ARN. Polinucleótido; difiere estructuralmente del ADN: a) ribosa en lugar de desoxirribosa; b) uracilo en vez de timina; c) formado por una sola cadena. Se distinguen ARN mensajero (ARNm), ARN de transferencia (ARNt) y ARN ribosomal (ARNr). *ARNm*: constituye aproximadamente 5% del ARN total en la célula; se encuentra en núcleo y citoplasma. Su masa y composición son muy variables. En todos los ARNm el extremo 5' se une a 7-metilguanosina trifosfato y el extremo 3' tiene un trozo de 100 a 250 unidades de ácido adenílico ("cola" de poli-A). El ARNm transmite información genética desde ADN nuclear a citoplasma, donde se realiza la síntesis de proteínas. Es el ARN más lábil. Si se mezclan ADN desnaturalizado y ARN con segmentos complementarios, se forman dobles hélices "híbridas" ADN-ARN. *ARNt*: o soluble, es el de menor masa (25 kDa), formado por unos 75 nucleótidos. Transporta aminoácidos hacia el lugar de síntesis de proteínas. Presenta bases poco frecuentes en otros ARN, como dihidrouridina, seudouridina, inosina y A, G, U, C metiladas. La molécula tiene en conjunto forma de L, posee tres asas y segmentos en doble hélice. El extremo 5' está formado por un resto G o C; en el extremo 3', los tres últimos nucleótidos son siempre CCA. A este extremo se une el aminoácido. *ARNr*: es el más abundante en la célula (aproximadamente 80% del total). Es grupo prostético de nucleoproteínas que forman los ribosomas, partículas constituidas por una partícula mayor (60 S) compuesta por 3 moléculas de ARN y alrededor de 45 de proteína, y una partícula menor (40 S), 1 molécula de ARN y unas 30 de proteína. Ambas porciones presentan conformación irregular y se asocian durante la síntesis de cadenas polipeptídicas. Al microscopio electrónico, se ven conjuntos de varios ribosomas "enhebrados" a una molécula de ARNm como cuentas de un rosario (polisomas). Otros tipos de ARN son ARN nuclear pequeño que integra partículas designadas con las siglas snRNP y citosólico pequeño (scRNP).

Virus. Agentes de enfermedades en animales y vegetales. Se reproducen a expensas de la célula que invaden. Son partículas formadas por ácidos nucleicos rodeados de proteínas. La cubierta proteínica se llama cápsida, formada por unidades polipeptídicas o capsómeros. En el interior de la cápsida se aloja el material genético, constituido por ADN o ARN, comúnmente de una sola hebra.

Nucleótidos libres. En el organismo se encuentran nucleótidos con dos o tres restos ortofosfato. Los enlaces de los dos últimos fosfatos tienen alta energía de hidrólisis. El más abundante es adenosina trifosfato (ATP), principal portador de energía en seres vivos. GTP también cumple funciones importantes. Nucleósidos difosforados (UDP, CDP y PAPS) transfieren moléculas en procesos de síntesis. Otros nucleótidos forman parte de coenzimas. AMP-3',5'-cíclico y GMP-3',5'-cíclico tienen importante papel como "mensajeros" químicos.