

Biología molecular

Recibido para publicación junio 20 de 2008. Revisado y aceptado febrero 10 de 2009

YISEL YOHANA GONZÁLEZ*, GUSTAVO GÓMEZ TABARES**

Se conoce como biología molecular a la subespecialidad de la ciencia dedicada al entendimiento de la estructura del ADN y el flujo de información biológica.

Este conocimiento ha permitido cruzar barreras naturales entre especies y colocar genes de cualquier organismo, en otro organismo receptor no relacionado, empleando la técnica del DNA recombinante.

Como consecuencia de la implementación de estas técnicas, se ha logrado la producción de fragmentos de ácidos nucleicos a gran escala, abriendo las puertas a la secuenciación de los ácidos nucleicos, y por ende a nuevas disciplinas como el diagnóstico molecular, la terapia génica o la obtención de organismos transgénicos

¿Qué es el DNA?

Podemos considerar que el DNA o ácido desoxirribonucleico es la molécula que contiene la información biológica de un organismo, de la cual dependen la estructura y función de los organismos, entre las que se incluye su transmisión física a las siguientes generaciones.

La mayor cantidad del DNA de los organismos eucarióticos se encuentra en el núcleo, en forma de un complejo molecular de ADN y proteínas histonas formando la cromatina nuclear; sin embargo, una pequeña fracción se localiza en las mitocondrias.

La información genética contenida en la molécula de DNA puede ser transmitida por replicación exacta o ser intercambiada por una serie de procesos que incluyen entrecruzamiento, recombinación, transposición y conversión. Esto provee medios que aseguran la adaptabilidad y diversidad

de los organismos; sin embargo, en algunos casos también puede desembocar en enfermedades.

Composición de los ácidos nucleicos

En 1953, Watson y Crick propusieron el modelo de la doble hélice para explicar la estructura secundaria para el DNA que revolucionó las Ciencias Biológicas pues tal estructura abría todo un camino de posibilidades para estudiar y comprender los mecanismos de la división celular y la transmisión de la información biológica de generación en generación; además abrió el camino para comprender cómo se expresa la información biológica en los procesos transcripción y traducción.

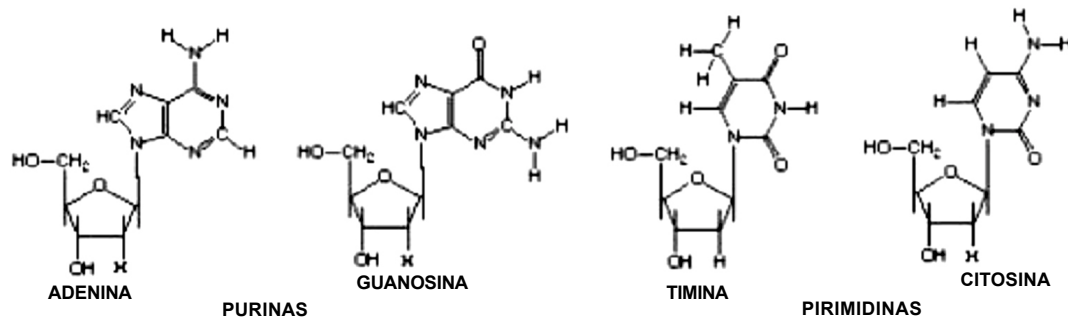
Existen dos tipos de ácidos nucleicos, DNA y RNA, que son polímeros de alto peso molecular constituidos por unidades elementales denominadas nucleótidos, los cuales, a su vez, están formados por tres componentes:

1. Una molécula de un azúcar de cinco carbonos o pentosa: ribosa en el caso del RNA y desoxirribosa en el caso del DNA.
2. Una base orgánica nitrogenada: son compuestos heterocíclicos cuyos anillos contienen compuestos además del carbono e hidrógeno, nitrógeno. Se dividen en:
 - Purinas: adenina y guanina.
 - Pirimidinas: citosina, timina y uracilo.

En todos los genomas analizados, las purinas y las pirimidinas se hallan en relación molecular 1:1. De acuerdo con el principio de complementariedad, la relación adenina + timina / guanina + citosina es de valor constante para cada especie animal.

* Residente rotante de la Universidad Surcolombiana. Neiva, Huila por Sección endocrinología e infertilidad.

** Profesor titular y distinguido, Universidad del Valle. Departamento de Ginecología y Obstetricia, Sección endocrinología e infertilidad.



3. Un grupo fosfato: los nucleótidos se unen químicamente entre sí, formando cadenas cuyo esqueleto está constituido por la unión entre un azúcar de un nucleótido y el fosfato del siguiente, quedando las bases nitrogenadas en la parte central, enfrentadas las de una cadena con las de la otra complementaria y formando entre sí puentes de hidrógeno, factor que da estabilidad a la doble hélice, unidas cada una al C₁ del azúcar (ver Figura 1).

Estas bases son las que rinden especificidad al ácido nucleico.

En la mayoría de los organismos, con excepción de algunos tipos de virus, DNA es una doble cadena de polinucleótidos mientras el RNA es una cadena simple de polinucleótidos. Los nucleótidos para el DNA son: adenina, guanina, timina y citosina. Los nucleótidos para el RNA son adenina, guanina, uracilo y citosina.

El DNA humano está presente en cada célula y tiene un tamaño de tres billones de nucleótidos; en él, algunas secuencias de nucleótidos son genes que codifican por alguna función biológica; sin embargo, más del 90%

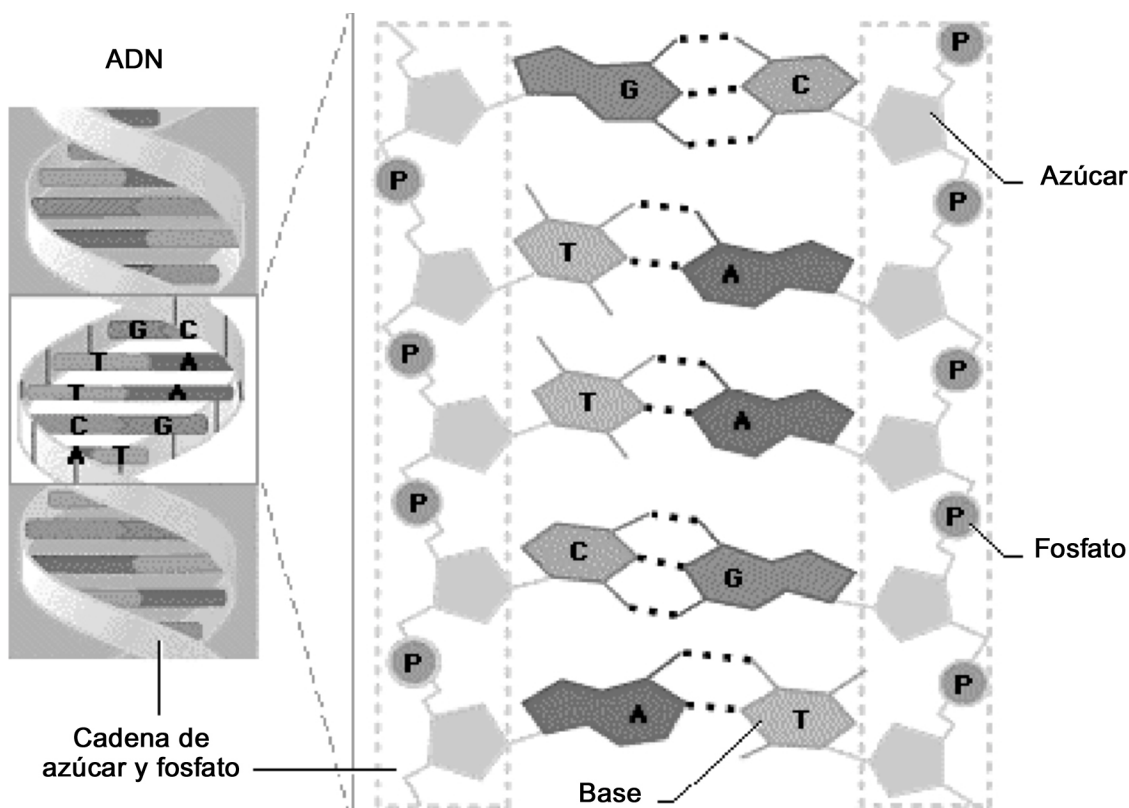


Figura 1. Composición del DNA. Tomado de aspectos básicos de la biología molecular. Miguel A. Dasi.

del genoma humano lo conforman regiones que no contienen genes que codifican por proteínas; desde el punto de vista práctico, puede ser extraído de cualquier célula para el estudio genético.

Características de la estructura del DNA

La estructura del DNA presenta las siguientes características:

1. La molécula de DNA está formada por dos cadenas de polinucleótidos enrolladas alrededor de un mismo eje, formando una doble hélice. Esta estructura tiene semejanza a una escalera de «caracol».
2. Las dos cadenas complementarias de polinucleótidos en el DNA son antiparalelas, ya que una de las cadenas empieza por el extremo donde se encuentra el residuo 5', mientras que la otra lo hace por el extremo donde se encuentra el residuo 3' (3' significa que en ese extremo, la desoxirribosa tiene el -OH del carbono 3' libre y 5' se refiere al carbono 5' de la desoxirribosa que llevará el fosfato).
3. Las bases nitrogenadas de los nucleótidos se orientan hacia el interior de la doble

hélice, mientras que los grupos fosfato y las moléculas de azúcar se orientan hacia el exterior conformando un esqueleto azúcar-fosfato.

4. Las bases de ambas cadenas están unas frente a otras y se unen a través de puentes de hidrógeno: dos entre la adenina y la timina ($A=T$) y tres entre la guanina y la citosina ($G=C$).
5. La longitud de cada vuelta en la hélice es de 3.4 nm un nanómetro es igual a 10^{-9} m).
6. La distancia entre un par de nucleótidos y otro es de 0.34 nm , por lo tanto, en cada vuelta debe haber 10 pares de nucleótidos (ver Figura 2).

Función del DNA

La función principal del DNA es mantener a través de un sistema de claves (código genético) la información para que ésta se exprese en una célula y se transmita a la descendencia durante el proceso de reproducción celular, por medio de la replicación para formar dos nuevas dobles hélices hijas.

La información biológica de los organismos se almacena en la secuencia específica de

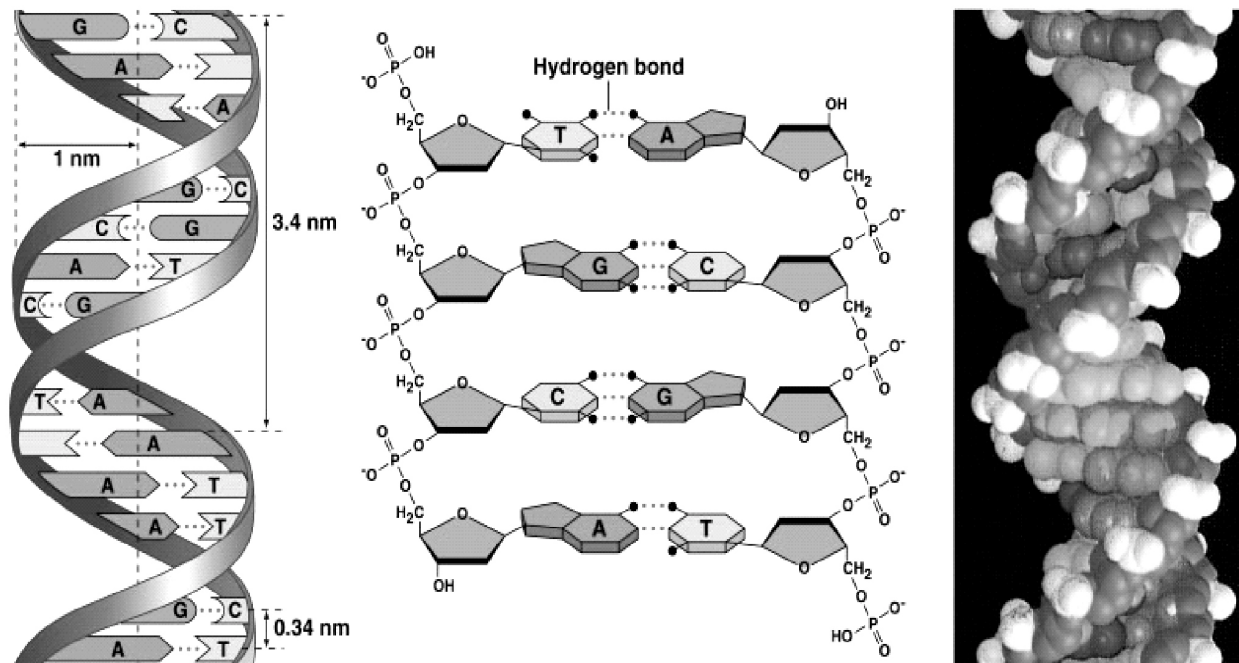


Figura 2. Estructura del DNA. Tomado de aspectos básicos de la biología molecular. Miguel A. Dasi.

nucleótidos de adenina, guanina, citosina y timina del DNA, que actúan como plantilla para la transcripción de RNA; una vez que se ha transcrito un RNA mensajero, los ribosomas se encargan de sintetizar una determinada proteína. El flujo de información desde el DNA hasta las proteínas es, de acuerdo con Francis Crick, “dogma central de la biología molecular”.

El RNA generalmente está formado por una sola cadena de nucleótidos, aunque existen algunos virus que poseen RNA de doble cadena. Este ácido, al igual que el DNA, está compuesto por nucleótidos cuya azúcar es la ribosa; una característica diferencia entre el DNA y el RNA es que además de tener azúcares diferentes, en el RNA la timina ha sido reemplazada por el uracilo.

De acuerdo con su función existen tres clases diferentes de RNA: RNAm (mensajero), RNAr (ribosomal) y RNAt (de transferencia). Recientemente se han aislado y estudiado otras clases de RNA que incluyen los RNAsn (RNA pequeños nucleares) y los RNAmi (micor RNA) que ejecutan funciones claves en la regulación de la homeostasis celular.

Replicación del DNA

Una característica del DNA es la replicación, la cual le permite formar copias exactas de sí mismo; esto ocurre durante el proceso de reproducción, por lo que la descendencia presenta características similares a sus progenitores.

El mecanismo de replicación de la molécula de DNA propuesto por Watson y Crick y confirmado experimentalmente por otros investigadores, se puede resumir en los siguientes puntos:

Separación de las dos cadenas que forman la doble hélice, de lo cual se encargan enzimas y proteínas que se encuentran en la célula eucariótica.

Por rompimiento de los enlaces de hidrógeno que une las bases nitrogenadas complementarias de ambas cadenas, la doble cadena se abre a manera de una cremallera, quedando las bases nitrogenadas expuestas al medio ambiente celular; así, cada una de las cadenas se convierte en un molde para que se forme una nueva secuencia complementaria.

Unión de los cebadores (‘primers’ o iniciadores) de RNA en una de las hebras separadas ($3' \rightarrow 5'$).

Unión de la DNA polimerasa a los lugares donde se encuentra el ‘primer’ para comenzar a copiar, de manera progresiva, la hebra de DNA, ya que la polimerasa necesita un cebador que le indique dónde empezar, por ser incapaz de copiar DNA monocatenario. El sentido de la síntesis es siempre $5' \rightarrow 3'$.

La elongación de las cadenas se produce por adición de nucleótidos complementarios a la cadena; este proceso ocurre mediante la formación de enlaces covalentes que unen un nucleótido 5’trifosfato libre al extremo 5’fosfato del último nucleótido de la cadena que está siendo sintetizada.

Al finalizar el proceso se producen dos moléculas idénticas de DNA.

De esta forma, de un DNA parental, tras su replicación, se obtienen dos moléculas hijas exactamente iguales (ver figura 3).

Características de la replicación del DNA

En la duplicación de la molécula de DNA se presentan las siguientes características:

Es semiconservativa ya que al final de la duplicación, cada molécula de DNA presenta una hebra original y una hebra nueva.

Es bidireccional, ya que a partir de un punto dado, la duplicación progresa en dos direcciones.

La replicación avanza adicionando mononucleótidos en dirección $5' \rightarrow 3'$.

Es semidiscontinua, ya que en una de las hebras (hebra conductora) se sintetizan filamentos bastante grandes y de forma continua, mientras que en la otra (hebra retardada) la síntesis es discontinua, ya que se van sintetizando fragmentos pequeños que se disponen de manera separada.

El proceso de duplicación del DNA es controlado enzimáticamente, asegurando así una alta fidelidad en la información que contiene la copia.

Entre las enzimas que participan en el proceso de replicación del DNA tenemos:

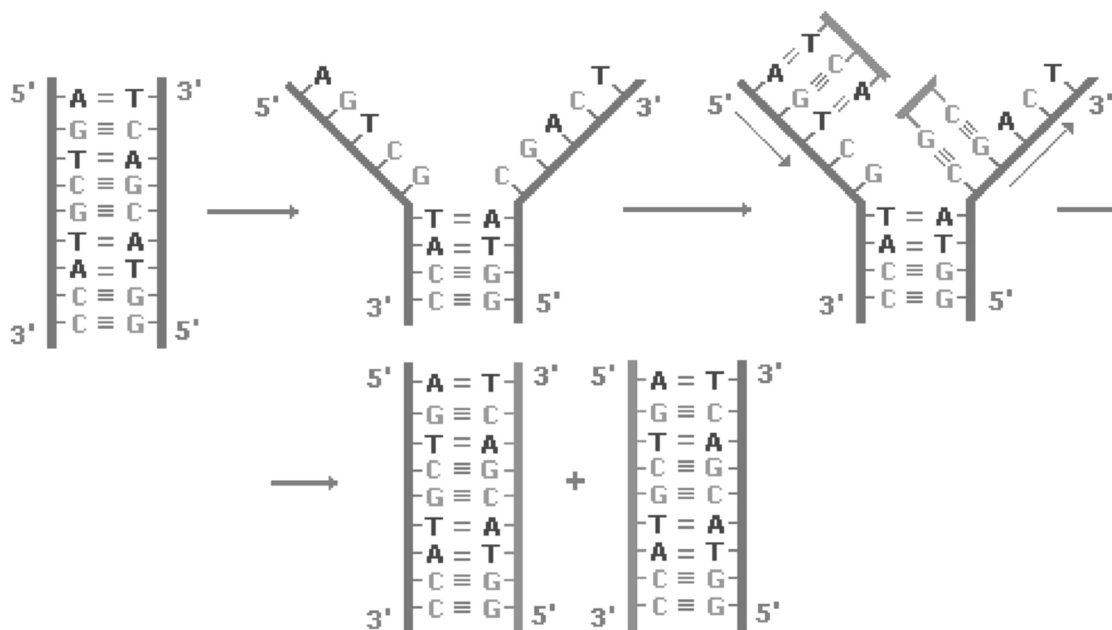


Figura 3. Replicación del DNA. Tomado de aspectos básicos de la biología molecular. Miguel A. Dasi.

DNA girasas: que desenrollan la doble hélice debido a unos cortes que puede realizar permitiendo así la entrada del complejo enzimático para que éste encuentre el origen de la replicación.

Helicasas: separan las dos hebras del DNA para que cada una actúe como molde.

DNA polimerasas: participan en la replicación y reparación del DNA.

Primasas: sintetizan al RNA cebador usando como molde una hebra del DNA.

Nucleasas: rompen una de las hélices, dando lugar a un origen de replicación; reparan lesiones del DNA.

Ligasas: unen fragmentos de DNA adyacentes a través de enlaces fosfodiéster.

En el proceso de inicio de la replicación, una vez abierta la cadena de DNA se unen otras proteínas adicionales (conocidas como proteínas de unión a cadena) denominadas SSB que no permiten que el DNA se vuelva a renaturalizar o forme estructuras secundarias (también intervienen otras enzimas denominadas topoisomerasas), evitando que se retuerzan y formen superenrollamientos cortando una o ambas hebras del DNA, aliviando los superenrollamientos (ver figura 4).

Transcripción y traducción para síntesis de proteínas

La transcripción del RNA consiste en copiar en forma de RNA un fragmento de una de las dos hebras del DNA. La información contenida en el DNA es transferida al RNAm, este proceso es dirigido por la holoenzima RNA polimerasa II. Este RNAm sintetizado, será transportado desde el núcleo a los ribosomas que se encuentran en el citoplasma.

La hebra de DNA que se va a servir de molde de transcripción tiene secuencias llamadas promotores, localizadas antes del gen (upstream) que serán reconocidas por una subunidad de la enzima RNA-polimerasa. La transcripción se iniciará a partir de un número determinado de nucleótidos después del centro promotor. En los organismos eucaróticos, la transcripción de genes que codifican por proteínas, se inicia con la síntesis de un RNA transcrito primario que es procesado para producir finalmente el RNAm. Normalmente este RNAm es exportado al citoplasma e interactúa con los ribosomas.

Ahora, a partir del RNAm se procede a la traducción; es decir, a construir un péptido siguiendo las órdenes escritas en el DNA y que tenemos transcritas en el RNAm.

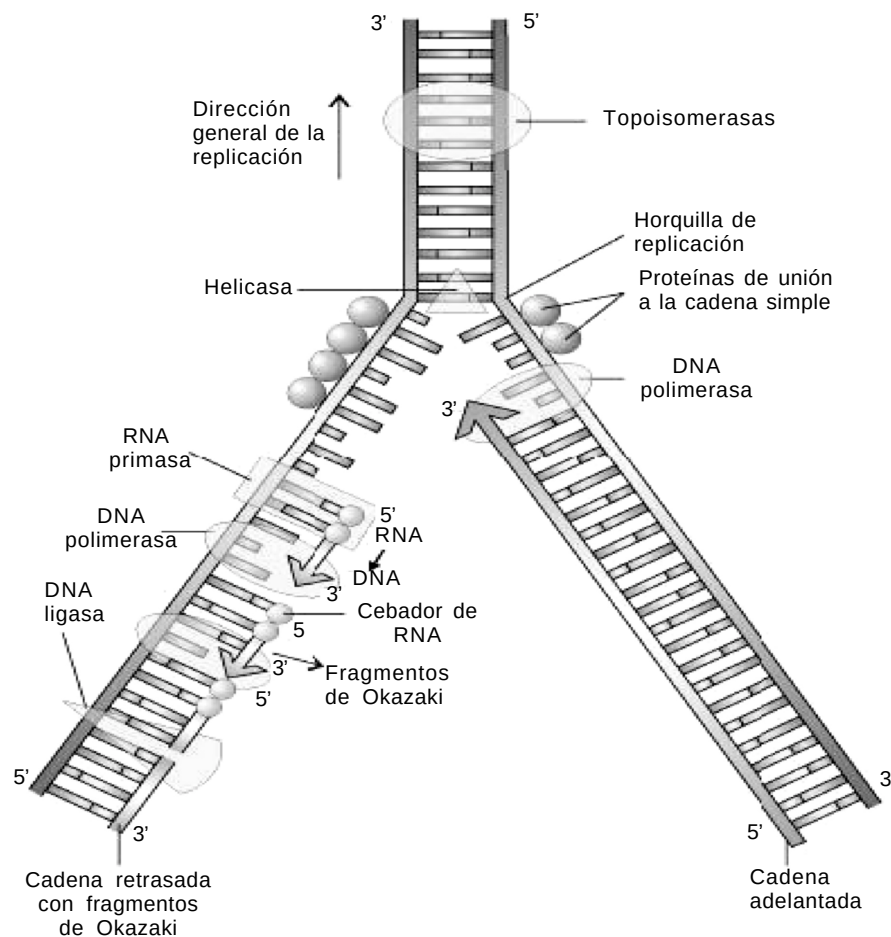


Figura 4. Replicación del DNA. Fuente: Haley, 1993.

Para que los ribosomas se unan al RNAm y se inicie la traducción, es necesario que un RNA ribosómico localizado en la subunidad pequeña del ribosoma, reconozca una zona del RNAm. Después, las dos subunidades del ribosoma se ensamblan y se desplazan por el RNAm hasta encontrar el codón de iniciación AUG que corresponde al aminoácido metionina. Este será, por lo tanto, nuestro primer aminoácido en el péptido.

Los codones, las unidades codificadoras del código genético, son grupos de tres nucleótidos (triplete), representado por las tres letras iniciales de las bases nitrogenadas (por ej., ACT, CAG, TTT).

Cuando estos tripletes están en el RNA mensajero se les llama codones. En el ribosoma cada codón del RNA mensajero interacciona con una molécula de RNA de transferencia (RNAt) que contenga el triplete complementario (denominado anticodón).

Cada RNAt porta el aminoácido correspondiente al codón de acuerdo con el código genético, de modo que el ribosoma va uniendo los aminoácidos para formar una nueva proteína de acuerdo con las «instrucciones» de la secuencia del RNAm (ver figura 5).

Existen 61 codones que corresponden a más de uno para cada aminoácido; tres codones indican la terminación de la síntesis, el fin de la secuencia codificante; estos codones de terminación o codones de parada son UAA, UGA y UAG (ver figura 6).

Se puede definir a un gen como una porción discreta de DNA que codifica una determinada proteína; en casos especiales, existen genes que codifican por dos clases de RNA: los genes de RNA ribosomal y los de RNA de transferencia.

Los genes eucarióticos son divididos pues son un rompecabezas de secuencias que codi-

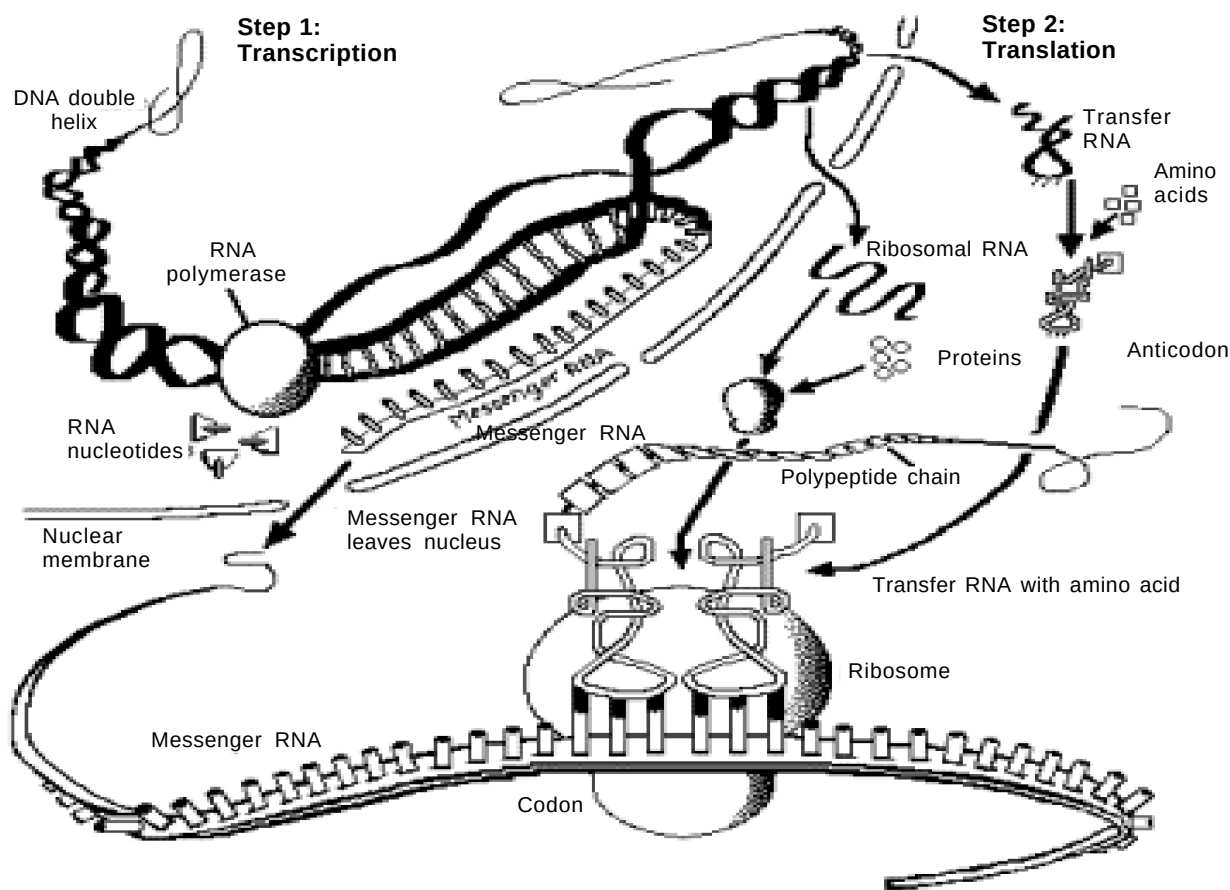


Figura 5. Síntesis de proteínas. Tomado de aspectos básicos de la biología molecular. Miguel A. Dasi.

		Segunda letra				
		U	C	A	G	
Primera letra (extremo 5')	U	UUU } phe UUC } UUA } leu UUG }	UCU } UCC } ser UCA } UCG }	UAU } tyr UAC } UAA stop UAG stop	UGU } cys UGC } UGA stop UGG trp	U
	C	CUU } CUC } leu CUA } CUG }	CCU } CCC } pro CCA } CCG }	CAU } his CAC } CAA gln CAG }	CGU } CGC } arg CGA } CGG }	U C A G
	A	AUU } AUC } ile AUA } AUG met	ACU } ACC } thr ACA } ACG }	AAU } asn AAC } AAA lys AAG }	AGU } ser AGC } AGA } arg AGG }	U C A G
	G	GUU } GUC } val GUA } GUG }	GCU } GCC } ala GCA } GCG }	GAU } asp GAC } GAA glu GAG }	GGU } GGC } gly GGA } GGG }	U C A G
		Tercera letra (extremo 3')				

Figura 6. Clave genética. Fuente: Crick, 1978.

fican por aminoácidos a las que se les denomina *exones* y porciones de nucleótidos que no codifican por secuencias de aminoácidos, los cuales se denominan *intrones*. Los intrones,

después de efectuada la transcripción, son eliminados durante el procesamiento del RNA y no se encuentran en el RNA mensajero maduro. Los exones, regiones codificadoras de DNA, finalmente aparecen en el citoplasma como moléculas únicas de RNAm (figura 7).

Además de los elementos antes mencionados, en la unidad de transcripción, existen zonas regulatorias que no codifican información sino que corresponden a sitios de unión de proteínas capaces de modificar positiva o negativamente la transcripción del gen. Estas zonas se encuentran generalmente antes del sitio de inicio de la transcripción y se conocen genéricamente con el nombre de promotor.

El inicio de la transcripción está generalmente dado por una secuencia de bases nitrogenadas estándar a la cual le siguen secuencias no codificantes que no son finalmente traducidas y que son importantes en la estabilidad del RNA mensajero. Del mismo modo exis-

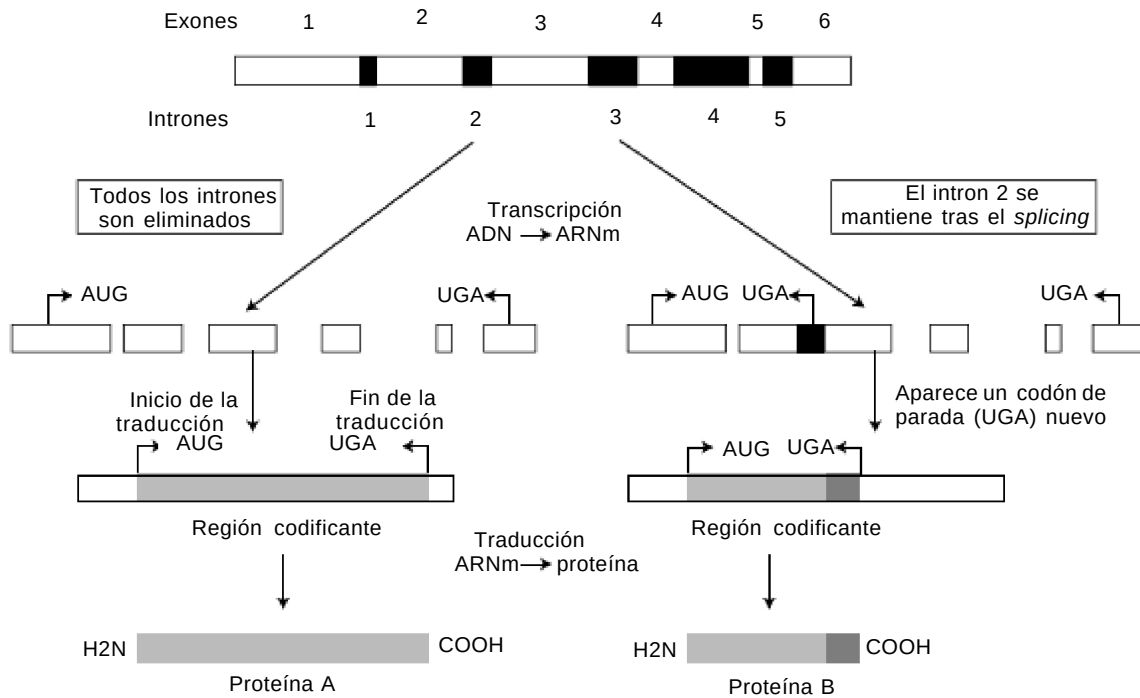


Figura 7. Transcripción de RNA. Tomado de principios básicos de biología molecular. Fernández-Luna.

ten zonas no traducidas en el extremo distal del DNA que codifican para una señal de poliadenilación que corresponde a una secuencia continua de adeninas que facilitan la maduración del DNA y el término de la transcripción (ver figura 8).

De acuerdo con los resultados obtenidos por el Proyecto Genoma Humano, existen aproximadamente entre 25.000 y 30.000 genes humanos. Si asumimos que el tamaño total del DNA

humano es de tres billones de nucleótidos, la porción codificadora o compuesta por genes es menos del 90%, es decir que la mayor parte del DNA humano no codifica, o sea su información nunca es traducida en una secuencia de aminoácidos de una molécula de proteína.

Aunque los datos son aún incompletos, se estima que en las células humanas existen aproximadamente 100.000 proteínas que conforman el proteomas humano.

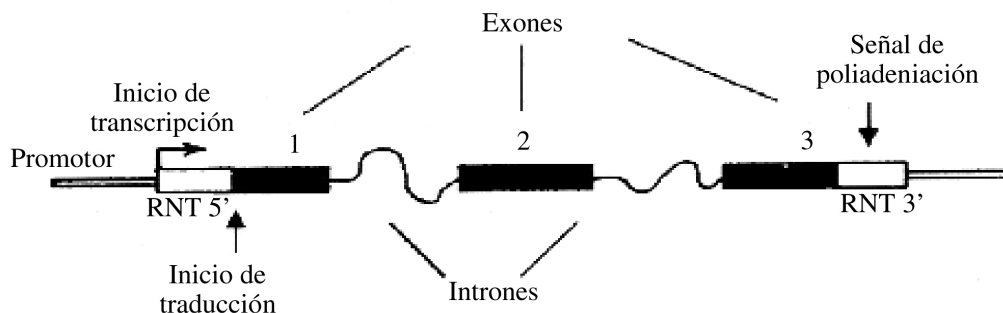


Figura 8. Transcripción de RNA. Tomado de Biología Molecular y Medicina: Conceptos Básicos. Silvana Zanlungo. Publicado en: Revista Médica de Chile, 1999.

Agradecimiento

Al Dr. Felipe García. Profesor Titular Universidad del Valle, Departamento de Biología Molecular por la revisión y corrección del texto.

Referencias

Fernández-Luna. Principios básicos de biología molecular: del almacenamiento de la información al desarrollo de la función, *Hematológico*, edición española 2006; 91 (Supl 1).

García Vallejo F. *Biología Molecular y Biotecnologías en Medicina*. Editorial Catorse. 2000.

Jiménez García LF, Merchant Larios H, Biología celular y molecular, *Science*, 2003.

Pandero A. *Biología molecular en la clínica*. Mc Graw-Hill Interamericana, 2000.

Paul. Baltimore, David. Darnell, James. *Biología celular y molecular*. Panamericana. Buenos Aires, 2002.

Zanlungo S, Rigotti A, Arrese M. Biología Molecular y Medicina: Conceptos Básicos. *Revista Médica de Chile*, 1999; 127: 839-847.