

TRABAJO PRÁCTICO N°6 2022

MECANISMOS GENÉTICOS BÁSICOS (PARTE II)

OBJETIVOS

- Que el/la estudiante comprenda cómo la información genética almacenada en el ADN se puede expresar mediante dos mecanismos genéticos básicos: SÍNTESIS DE ARN (TRANSCRIPCIÓN) Y SÍNTESIS PROTEICA (TRADUCCIÓN).
- Que el/la estudiante concluya que los cinco mecanismos genéticos básicos (los tres abordados en el TP anterior y los dos que estudiaremos en éste) no se dan aisladamente uno del otro, sino que forman parte de un sistema altamente integrado.

UNIDAD DE CONOCIMIENTO

CONOCIMIENTOS PREVIOS REQUERIDOS: Para abordar el presente Trabajo Práctico deberán repasarse los contenidos del Trabajo Práctico referido a Macromoléculas.

TEMARIO

DECODIFICACIÓN DEL ADN

1. Concepto general de expresión génica.
2. Transcripción: mecanismos y enzimas intervinientes. Señales de reconocimiento de la ARN polimerasa: promotores y secuencias consenso. Diferencias básicas del proceso en organismos procariontes y eucariontes. Inhibidores de la transcripción.
3. Procesamiento de los precursores de los ARN mensajeros: Modificaciones covalentes de los extremos: transcripto primario. Maduración por corte y empalme: espliceosoma. Importancia biológica del corte y empalme alternativo: ejemplos.
4. Código genético: características.
5. Traducción del ARN mensajero: función de los ARNt y los ribosomas. Interacción codón-anticodón. Hipótesis del Balanceo. Etapas de la biosíntesis proteica (activación de los aminoácidos, iniciación, elongación y terminación): requerimientos energéticos, enzimas, factores y cofactores involucrados en cada una de ellas. Modificaciones postraduccionales de las cadenas polipeptídicas. Diferencias fundamentales en el proceso de traducción en procariontes y eucariontes. Traducción en ribosomas libres o ligados al retículo endoplasmático en eucariotas. Inhibidores de la síntesis proteica: antibióticos y citostáticos.

VOCABULARIO ESPECÍFICO DEL TEMA

promotor - código genético - codón - anticodón - antibiótico - gen - locus - loci - alelo

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B. y otros. Biología molecular de la célula. Ed. Omega. Barcelona, (la edición más actual que consiga, la última edición disponible es la 6ta).
- De Robertis, E.; Hib, J. y Ponzio, R. Fundamentos de Biología celular y molecular. Editorial El Ateneo. 2004.
- Herrera, E. Elementos de Bioquímica. Editorial Interamericana. 1993
- Lehninger, A. Bioquímica. Editorial Omega. 2004
- Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith, Jeff Hardin, Pearson Addison Wesley. El mundo de la célula. 6ta edición

Material multimedia sugerido:

Transcripción

<https://www.youtube.com/watch?v=KT244xA5yfl>

<https://www.youtube.com/watch?v=bzgmkjfN10E>

Transcripción y traducción

<https://www.youtube.com/watch?v=h3b9ArupXZg>

Traducción

<https://www.youtube.com/watch?v=oefAl2x2CQM>

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

<https://www.youtube.com/watch?v=UB5ZkqLeP5Q>

Código genético

<https://www.youtube.com/watch?v=arFlt48yYXY>

UNIDAD DE ACCIÓN

En su casa: investigar usando como base el temario propuesto y contestar el cuestionario guía de estudio a manera de autoevaluación. Podrá además ejercitarse luego de la clase resolviendo los problemas adicionales.

En clase: resolver y discutir, con ayuda del docente, los problemas de aplicación para confirmar que los conceptos teóricos estudiados “en su casa” hayan sido integralmente comprendidos.

CUESTIONARIO GUÍA DE ESTUDIO

1. a) ¿Qué se entiende por expresión génica?
b) Explique el flujo de la información genética en eucariontes y procariontes.
c) ¿En qué tipos de virus el flujo de información es diferente al descrito en el inciso anterior?
d) Describa el proceso de transcripción inversa.
2. Las enzimas responsables de la síntesis de los ARN son ARN polimerasas-ADN dependientes:
a) ¿Cuáles son sus sustratos?
b) Escriba la reacción general catalizada por esta enzima.
c) ¿Cuáles son las diferencias más importantes entre ADN y ARN polimerasa?
¿Qué consecuencias tienen?
d) ¿A qué se denomina promotores y secuencias consenso?
3. Respecto a la transcripción en procariotas:
a) Mencione las etapas en las que se puede dividir.
b) Indique la estructura de la ARN polimerasa y la característica de los promotores.
Función de la subunidad σ .

- c) ¿Cómo se produce la unión de la ARN polimerasa al promotor?
- d) ¿Qué eventos marcan el final del proceso de iniciación?
- e) ¿A qué se denomina terminadores ρ -independientes y ρ -dependientes?
- f) Mencione algunos de los agentes químicos conocidos por inhibir la transcripción.

4. Establezca las diferencias básicas entre procariotas y eucariotas en cuanto a:

- a) ARN polimerasas.
- b) Promotores (secuencias consenso).
- c) Presencia en los cromosomas de agrupaciones de genes que se transcriben como un único ARNm.
- d) Acoplamiento de los procesos de transcripción y traducción.
- e) Procesamientos postranscripcionales de los ARN.

5. Los precursores de los ARN mensajeros sufren una serie de modificaciones antes de ser exportados al citosol, al respecto indique:

- a) ¿Cuáles son las modificaciones que dan por resultado el transcripto primario? ¿cómo se producen y en qué orden ocurren? ¿Todas ellas son post-transcripcionales? Justifique.
- b) ¿Qué funciones cumplen la caperuza y la cadena poliA?
- c) ¿Cómo se denomina el proceso a través del cual se eliminan los intrones? Explíquelo brevemente.
- d) ¿A qué se denomina ARN heterogéneo nuclear (ARN hn)?
- e) ¿En qué consiste el proceso de maduración alternativa del ARN? ¿Qué ventaja presenta, para algunos virus, la posibilidad de que este proceso se lleve a cabo?
- f) ¿Por qué se dice que en eucariotas superiores la maduración del ARN es un proceso muy flexible? ¿Qué relación tiene este hecho con la evolución de estos organismos?

6. El código genético es la clave a través de la cual podemos pasar de un alfabeto de 4 bases a otro de 20 aminoácidos. Al respecto indique:

- a) ¿A qué se denomina codón? ¿Cuántos codones distintos existen? ¿Por qué?
- b) Características del código genético.
- c) Función del ARNt en la traducción de la secuencia de nucleótidos del ARNm en la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica. ¿A qué se denomina anticodón? Explique brevemente la Teoría o Hipótesis del Balanceo.

7. Respecto a la síntesis proteica:

- a) Mencione las etapas en las que este proceso se lleva a cabo.
- b) Escriba la reacción correspondiente a la activación de los aminoácidos indicando claramente a qué extremo del ARNt se une el aminoácido y el nombre de la enzima que cataliza este proceso. ¿Se trata de una única enzima?
- c) Describa detalladamente los eventos que ocurren durante las etapas de iniciación, elongación y terminación de la traducción en procariotas. Indique claramente el gasto energético parcial y global de estos procesos.
- d) Confeccione un listado en el cual se enumeren las principales diferencias en este proceso entre procariotas y eucariotas.

8. En eucariotas, si bien la síntesis de proteínas comienza en ribosomas libres en el citoplasma (a excepción de algunas proteínas sintetizadas en ribosomas de la matriz mitocondrial) ocasionalmente puede terminar en ribosomas ligados al retículo endoplasmático:

- a) ¿De qué dependerá que esto ocurra o no?

b) Explique el mecanismo que permite el anclaje del ribosoma al lado citoplasmático del retículo endoplasmático. Mientras esto ocurre, ¿el ribosoma seguirá siendo traduccionalmente activo?

9. Respecto de los inhibidores de la síntesis proteica:

a) Mencione algunos de ellos indicando si son capaces de inhibir la traducción en procariontes, eucariontes o en ambos.

b) Indique cuáles de los compuestos descritos en a) podrán ser utilizados como antibióticos y cuáles como citostáticos.

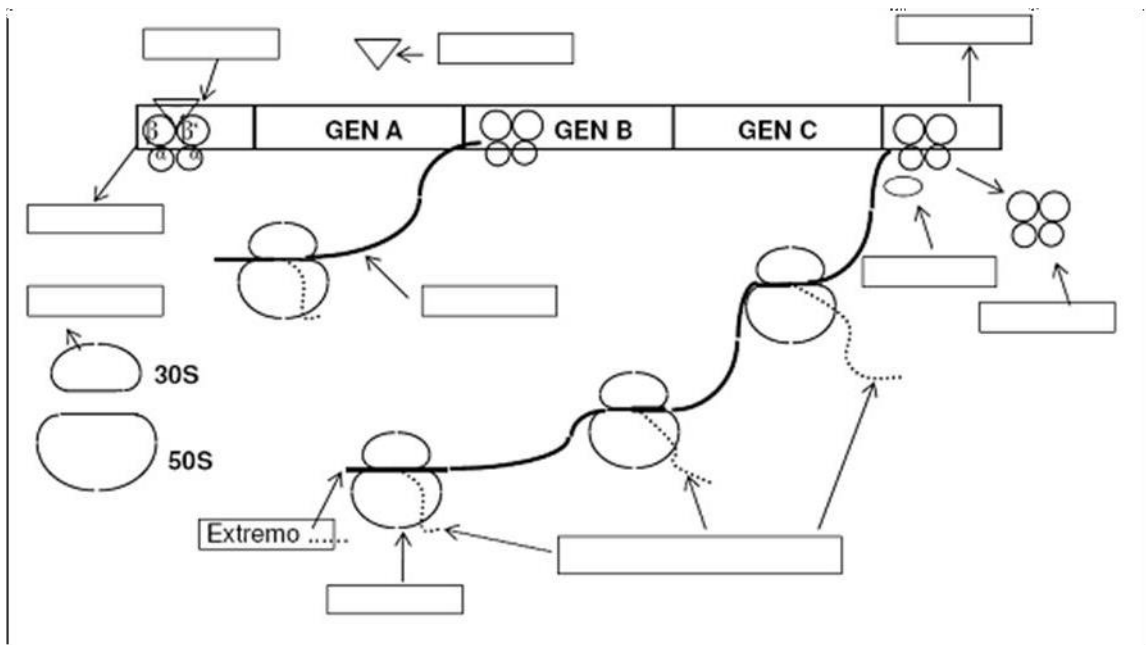
EJERCICIOS DE APLICACIÓN

En esta sección, hemos incluido problemas que relacionan los temas estudiados en este TP con problemáticas de importancia médica, identificados con el símbolo:



Al final de algunos de estos problemas encontrará un texto breve identificado como “**Lectura complementaria**” que brinda una breve explicación sobre el tema biomédico que se desarrolla en el mismo. Su lectura no resulta indispensable para la resolución del problema, pero brinda información útil para su futura formación como médico tanto generalista como especialista.

1. Complete el siguiente esquema y luego responda:



a) ¿Estos eventos están ocurriendo en un procarionte o en eucariota? Mencione claramente los indicios que le permiten inferirlo.

b) ¿Qué son las secuencias consenso? ¿Dónde se encuentran? ¿Cómo se denominan las más frecuentemente encontradas en este tipo de organismos?

c) ¿Cómo reconoce la enzima al promotor y qué ocurre con la enzima cuando empieza la transcripción?

d) El ARN mensajero formado: ¿Cuántos AUG y cuántos codones de finalización tendrá como mínimo? ¿Cómo se llama a este tipo de ARN mensajeros?

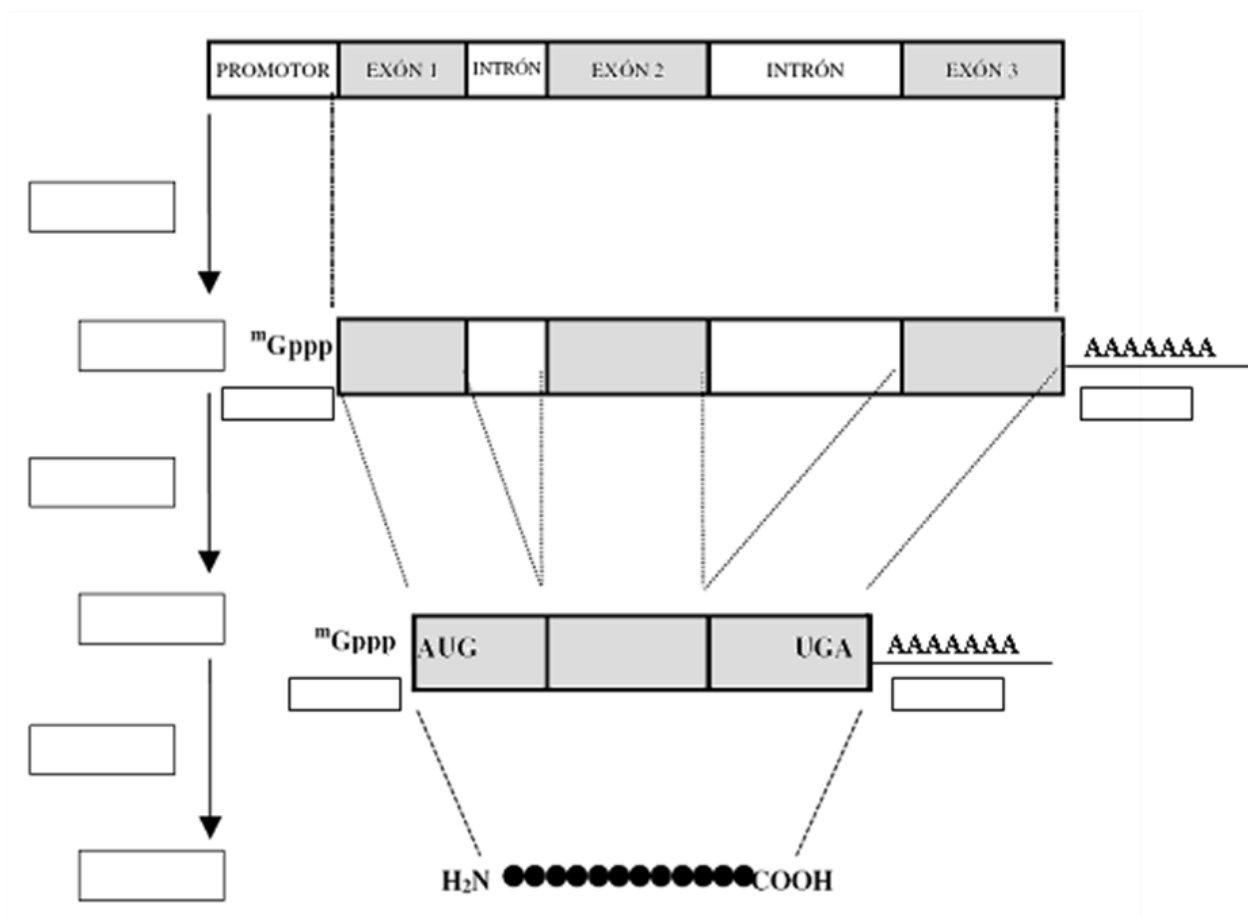


2. La rifampicina inhibe a la subunidad β de la ARN polimerasa dependiente de ADN de las micobacterias y otros microorganismos. Si bien dicha droga actúa sobre las mitocondrias de los mamíferos, sólo lo hace en concentraciones elevadas.

a) ¿Cuál es el efecto que produce la droga en micobacterias?

b) En el tratamiento de la tuberculosis se la utiliza asociada a otras drogas, ya que su administración solitaria permite que aparezcan microorganismos resistentes. En este caso, ¿cuál cree que será la causa de dicha resistencia?

3. a) Complete el siguiente esquema usando las palabras: corte y empalme (splicing), traducción, proteína, transcripción, casquete 5' (cap 5'), transcripto primario, ARNm, poliA.



b) ¿Cuándo se adicionan y qué función cumplen la caperuza y la cola poliA?

c) Describa brevemente cómo se lleva a cabo el proceso de splicing.

e) El proceso representado ¿ocurre en forma general en eucariotas, en procariotas o en ambos?

f) ¿Es posible a partir de un mismo transcripto de ARN generar distintos ARN maduros que codifiquen para diferentes proteínas? ¿Qué ventajas presenta esta situación? Ejemplifique el proceso utilizando el esquema anterior.

4. a) ¿Qué entiende por código genético? ¿Cuáles son las leyes del mismo?

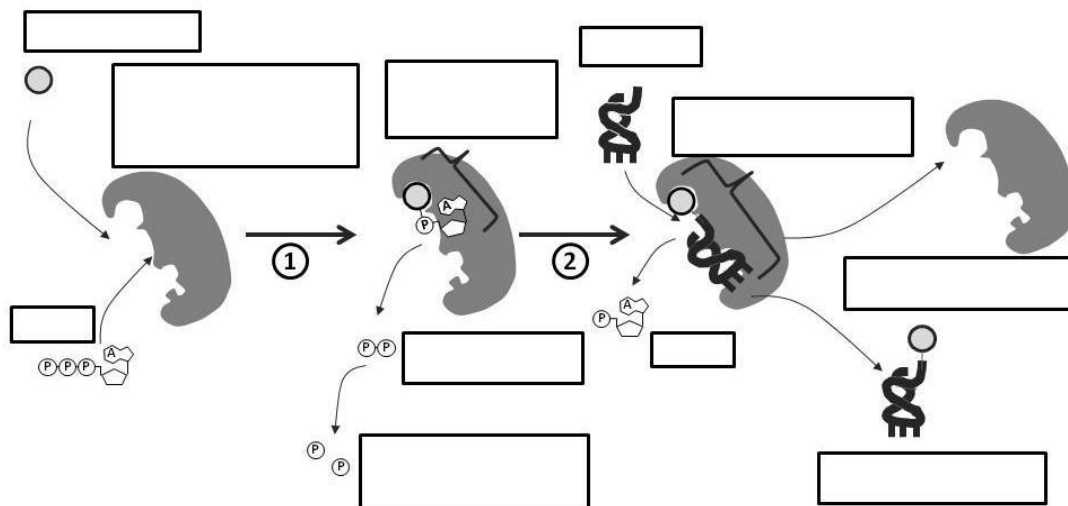
b) ¿Qué ventaja proporciona a la célula que el código genético sea degenerado?

- c) Observe el código genético: analice la correspondencia codón - aminoácido. ¿Qué característica observa en muchos de los codones que codifican para un mismo aminoácido?
- d) ¿Qué relación tiene lo descrito en c) con la existencia de 61 codones codificantes y sólo 40 ó 50 (según el tipo de organismo) ARNt distintos?

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

5. Consideremos a la síntesis proteica dividida en 4 etapas: activación de los aminoácidos, iniciación, elongación y terminación.

a) La **activación de los aminoácidos** es un proceso que tiene lugar en dos etapas (1 y 2): Complete el esquema con los siguientes términos (algunos de ellos pueden ser utilizados más de una vez): Pirofosfato, Fosfato inorgánico, Aminoácido, Aminoacil-ARNt sintetasa, Aminoacil-AMP, Aminoacil-ARNt, ARNt, AMP, ATP. Escriba las etapas 1 y 2 en forma de ecuaciones.



- b) ¿Cuántas enzimas capaces de catalizarla existen en la célula? ¿Por qué?
 c) ¿Cuál es el costo energético en enlaces de alta energía de este proceso?

6. Complete los gráficos de iniciación, elongación y terminación de la traducción en procariotas ubicando los siguientes términos (cada término puede ser utilizado más de una vez en cada gráfico):

GRÁFICO 1 (iniciación): ARNm; Codón de iniciación; Complejo de Iniciación 30S; fMet-ARNt; GDP; GTP; Pi; Factores de Iniciación IF1 e IF3; Factores de Iniciación IF1+ IF2 e IF3; Factor de Iniciación IF2; Secuencia Shine-Dalgarno; Sitio A; Sitio E; Sitio P; Subunidad 30S; Subunidad 50S.

¿Cuántos enlaces de alta energía son necesarios para llevar a cabo la iniciación de la traducción?

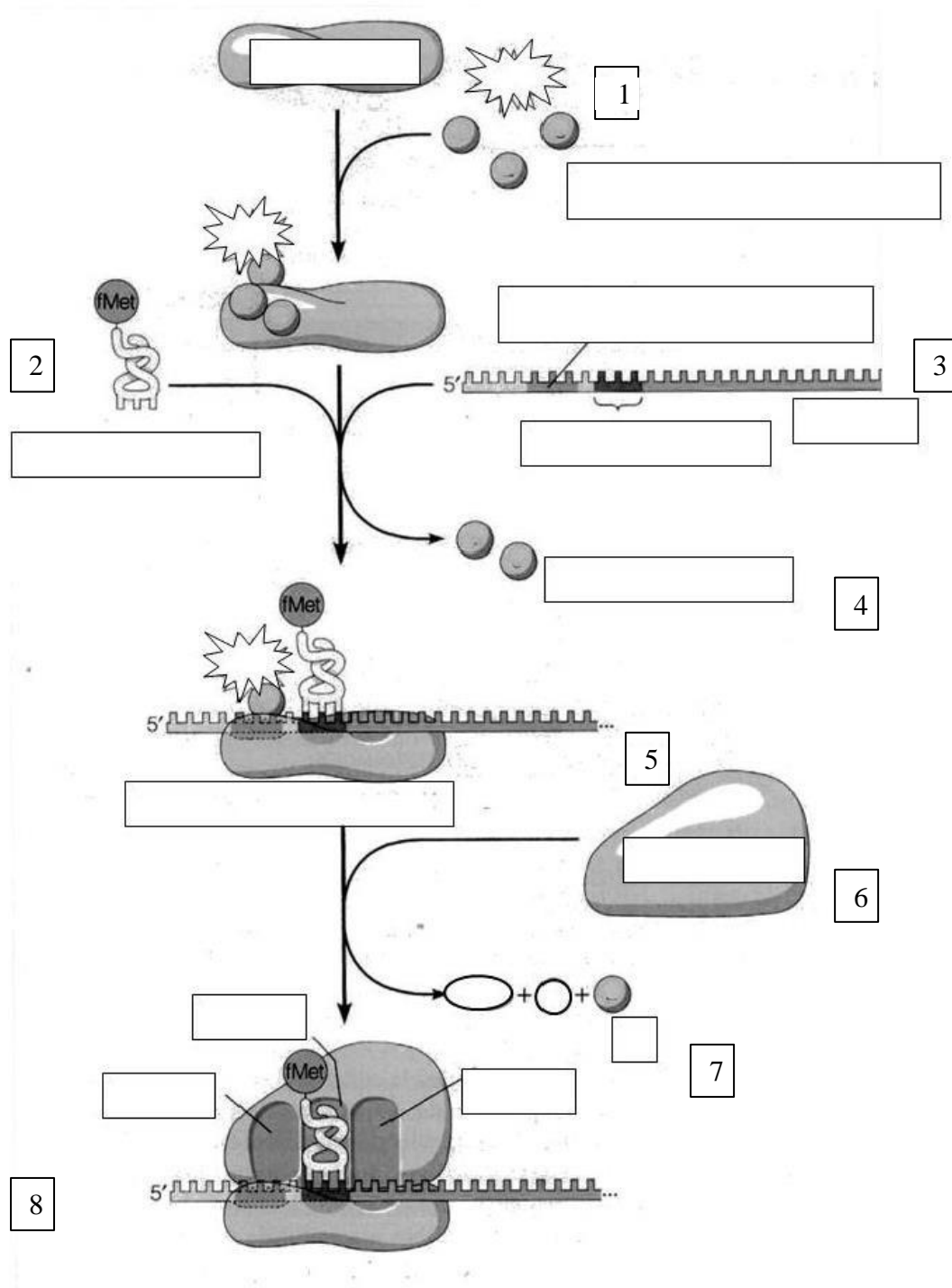


GRÁFICO 2 (elongación): AA-ARNt; Acción peptidil transferasa; ARNm; ARNt; Codón 1; Codón 2; GDP; GTP; Pi; Sitio A; Sitio E; Sitio P; Translocación
 ¿Cuántos enlaces de alta energía son necesarios para llevar a cabo un paso de elongación de la traducción?

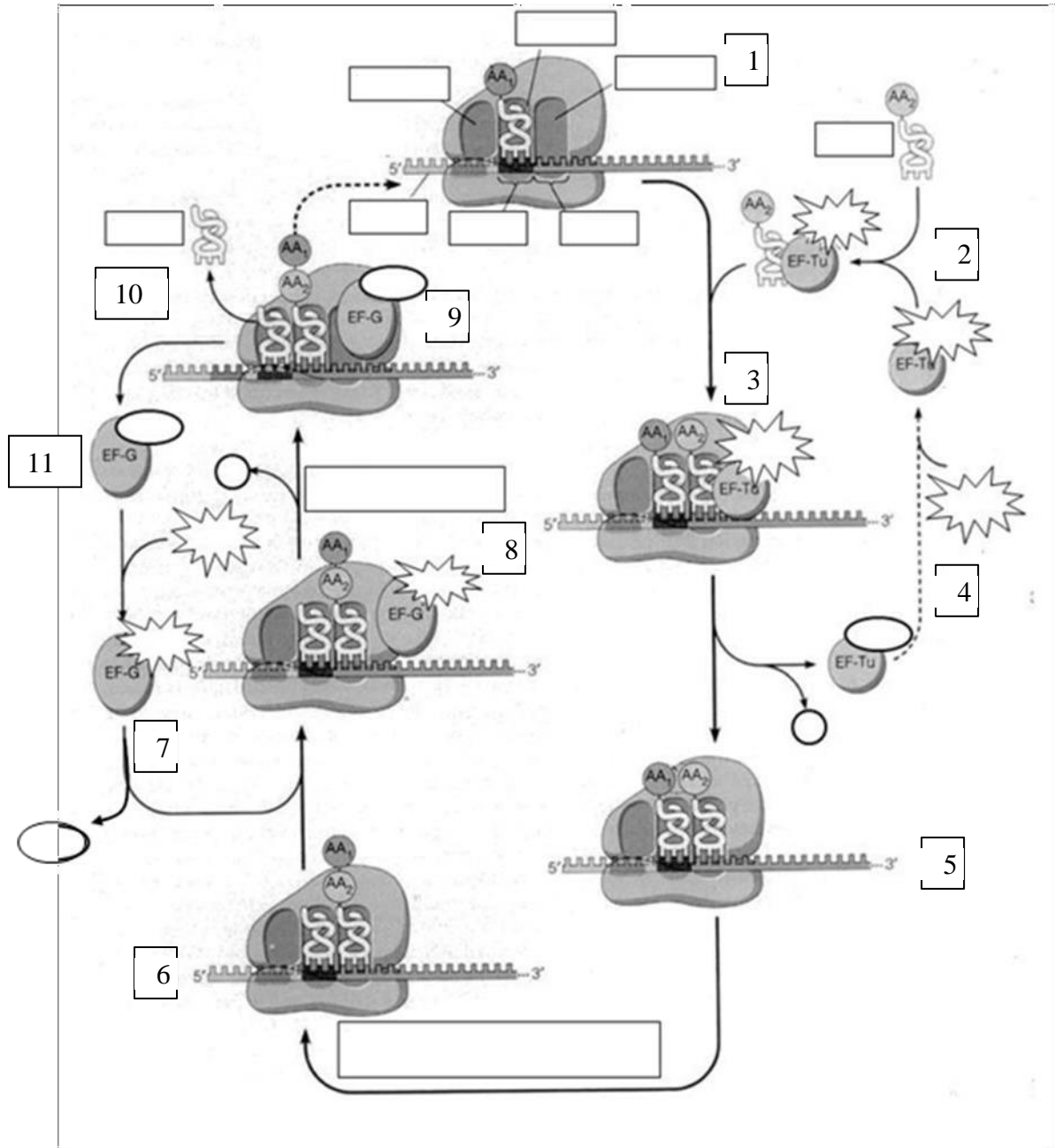
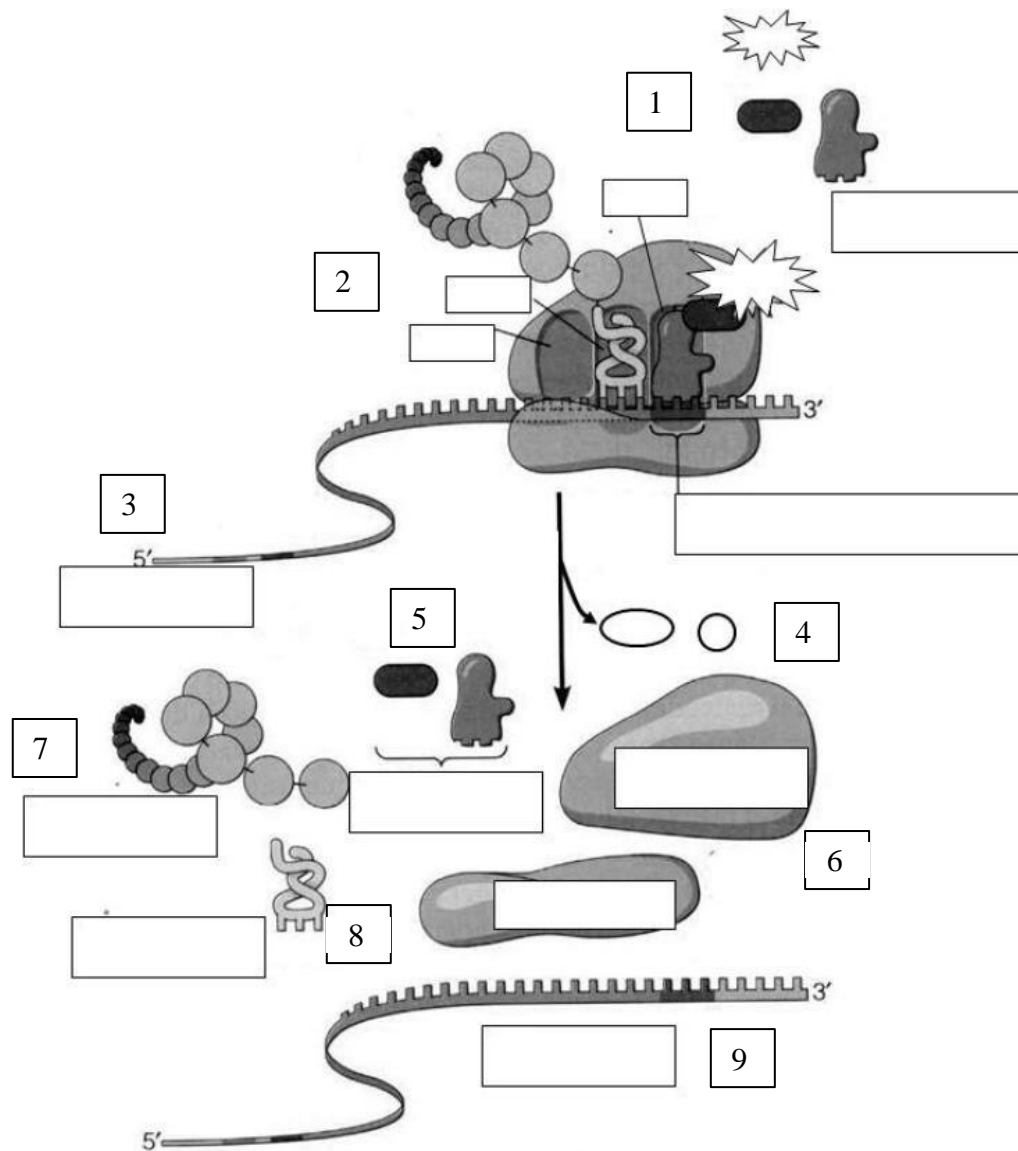


GRÁFICO 3 (terminación): ARNm; ARNt; Codón de stop; Factores de terminación; GDP; GTP; Pi; Péptido; Sitio A; Sitio E; Sitio P; Subunidad 30S; Subunidad 50S.

¿Cuántos enlaces de alta energía son necesarios para llevar a cabo la terminación de la traducción?



7- De las siguientes premisas, indicá con un X la opción correcta:

El ARN mensajero:

- 1) Es transcripto a proteínas empleando complejos supramacromoleculares denominados ribosomas
- 2) Contiene en su secuencia de restos de nucleótidos información que determina la estructura primaria de una proteína.
- 3) Se traduce en la dirección **3'→5'**.
- 4) Tiene replicación semiconservativa.
- 5) Transfiere los aminoácidos al péptido naciente.

La puromicina es considerado un inhibidor de la síntesis proteica dado que:

- 1) Altera la fijación de los aminoacil- ARNt al ARNm durante el proceso de traducción.
- 2) Se fija a la subunidad 30S del ribosoma.
- 3) Libera el material peptídico de los complejos ribosómicos.
- 4) Inhibe las enzimas activadoras de los aminoácidos.
- 5) Impide la formación de polisomas.

El alargamiento de la cadena peptídica abarca todos los elementos siguientes, excepto:

- 1) Peptidil-transferasa.
- 2) GTP
- 3) Factores Tu, Ts y G.
- 4) Formil-metionina-ARNt.
- 5) ARNm.

8. La hebra molde de una molécula de ADN doble hélice contiene la secuencia:

5'- C T T A A C A C C C C T G A C T T C G C G C C G T C G - 3'

- a) ¿Cuál es la secuencia de bases del ARNm que puede ser transcripto a partir de esta hebra?
- b) ¿Qué secuencia de aminoácidos podría ser codificada por la secuencia de bases del ARNm del inciso a) empezando desde el extremo 5'?
- c) Determine el costo energético, en término de grupos fosfato de alta energía consumidos, que se requieren para la biosíntesis de una cadena polipeptídica de 5 residuos de aminoácidos.
- d) Suponga que la otra hebra (no molde) de esta muestra de ADN es transcripta y traducida. ¿Sería la secuencia de aminoácidos igual que la encontrada en b)? Explique el significado biológico de su respuesta.

9. La siguiente secuencia polinucleotídica es un fragmento correspondiente al extremo 3' del ARNm que codifica para una proteína globular (E) con actividad catalítica y alostérica:

5'GCAGCAUUAUAUUCGAAGACGCAGCAUUAGUAAGAAAAUAAUGACAAAAAA-3'

301

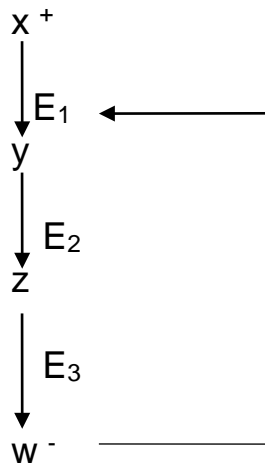
339

aminoácidos	anticodón del ARN _t que lo transporta*	aminoácidos	anticodón del ARN _t que lo transporta
valina (Val)	UAC	leucina (Leu)	UAA
aspartato (Asp)	GUC	glutamato (Glu)	UUC
alanina (Ala)	UGC	isoleucina (Ile)	UAU
arginina (Arg)	UCU	lisina (Lys)	UUU
glicina (Gly)	UCC	histidina (His)	AUG
fenilalanina (Phe)	GAA	codones de stop	UAA, UGA, UAG

*recuerde que toda secuencia de nucleótidos se escribe en dirección 5' → 3'

- a) ¿Cuál será la secuencia de aminoácidos correspondiente a este extremo de la proteína?
- b) Teniendo en cuenta que sólo se han numerado las bases codificantes del ARNm, ¿cuántos aminoácidos posee esta proteína?
- c) ¿Qué aminoácidos constituyen los extremos amino y carboxilo terminal?

- d) Recordando que se trata de una proteína globular, ¿cómo se plegará esta porción de la cadena polipeptídica?
- e) Esta proteína cataliza la primera reacción de la siguiente vía y está sometida a un control feed-back negativo por la sustancia “W-“, que es el producto final de este camino metabólico.



Sabiendo que hay restos de aminoácidos de esta porción de la proteína que están involucrados en el sitio activo y otros que pertenecen al centro alostérico (o regulador), ¿cuáles cree Ud. que serán éstos en cada caso, teniendo en cuenta la estructura de las sustancias que se unen a cada uno de los sitios?

f) Coloque al principio de cada una de las alteraciones en el ARNm enumeradas en la columna 1 (que surgen como consecuencia de las mutaciones del ADN), las letras de la columna 2 que corresponden a los efectos probables que tendrán estas mutaciones.

columna 1	columna 2
1-reemplazo de U(307) por A	a- mutación silenciosa
2-reemplazo de U(308) por A	b- corrimiento del marco de lectura
3-reemplazo de A(317) por G	c- proteína más corta y no funcional
4-reemplazo de C(326) por A	d- disminuye la afinidad de la proteína por su sustrato (“X ⁺ ”)
5-reemplazo de A(337) por G	e- disminuye la afinidad de la proteína por el ligando responsable del feed-back (“W-“)
6-inserción de dos A entre bases 304 y305	f- la vía disminuye la velocidad de generación de productos
	g- generación descontrolada de productos de la vía
	h- cambio conformacional severo e inactivación funcional.