



Pontificia Universidad Católica de Chile
Facultad de Ciencias Biológicas
BIO141C - Biología de la Célula
Secciones 1, 2, 3, 4, 9, 10
2° Semestre, 2020

Taller 2

Ácidos Nucleicos y Flujo de la Información génica

Dra. Alicia Nogueras

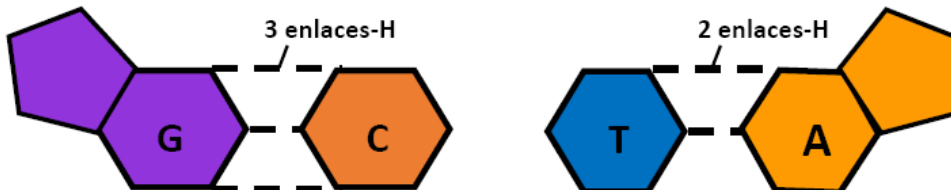
Instructores: Daniela Orellana – Carlos Santana

En el DNA de ciertas células bacterianas, el 32% de los nucleótidos corresponde a la Adenina. ¿Cómo es posible determinar el porcentaje de los otros nucleótidos? Indique los valores correspondientes.

APAREAMIENTO DE BASES

Regla de Chargaff

<u>Purinas</u>	<u>Pirimidinas</u>	<u>Pares</u> Base	<u>Enlaces-H</u>
Adenina (A)	Timina (T)	A = T	2
Guanina (G)	Citosina (C)	C \equiv G	3



La Regla de Chargaff nos indica que:

- Habrá la misma cantidad de nucleótidos de Adenina que de Timina
- Habrá la misma cantidad de nucleótidos de Guanina que de Citocina

Por lo tanto, si hay un 32% de nucleótidos de Adenina, habrá un 32% de nucleótidos de Timina, esto suma un 64%.

El 36% restante, se divide entre los nucleótidos de Guanina y de Citocina, por lo tanto habrá:

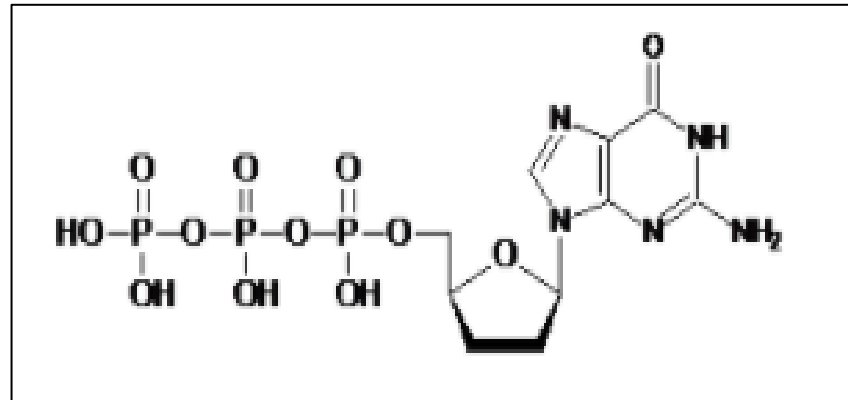
- 18% de nucleótidos de Guanina
- 18% de nucleótidos de Citocina

Suponga que la velocidad de replicación del DNA es de unos 100 nucleótidos por segundo en las células humanas ¿Cuál es el número mínimo de orígenes de replicación que una célula humana debería tener para replicar su DNA una vez cada 24 horas? Recuerde que una célula humana contiene dos copias de su genoma, una heredada de la madre y la otra del padre, y cada una consta de 3×10^9 pares de nucleótidos.

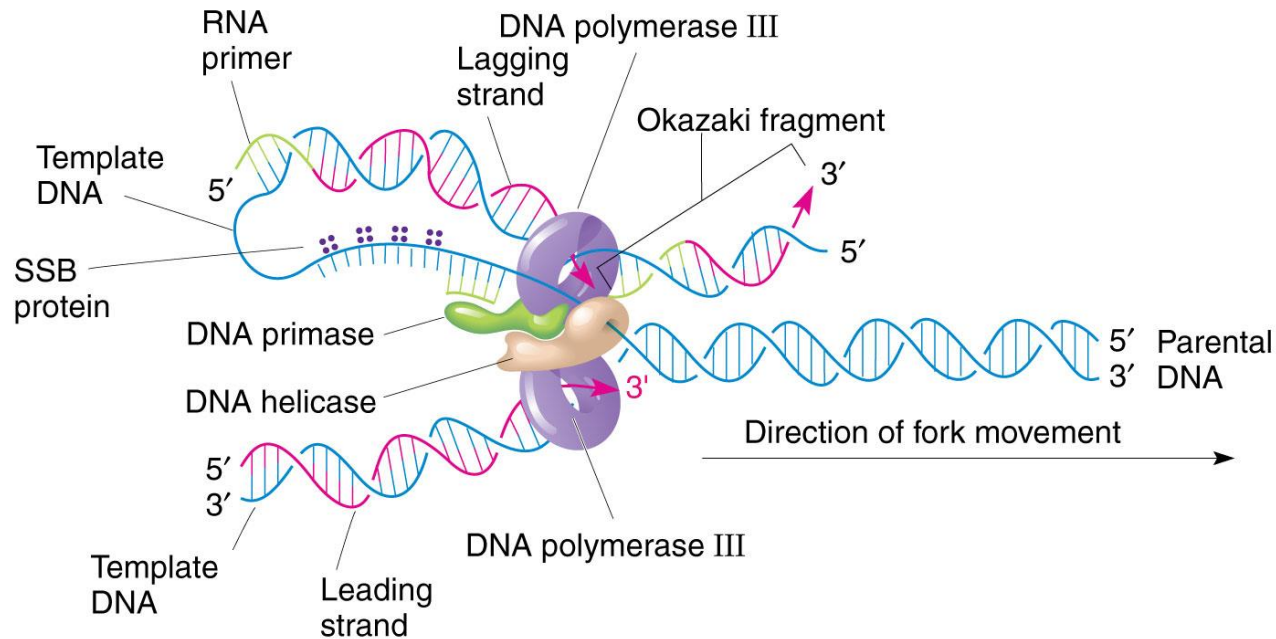
Suponga que la velocidad de replicación del DNA es de unos 100 nucleótidos por segundo en las células humanas. ¿Cuál es el número mínimo de orígenes de replicación que una célula humana debería tener para replicar su DNA una vez cada 24 horas? Recuerde que una célula humana contiene dos copias de su genoma, una heredada de la madre y la otra del padre, y cada una consta de 3×10^9 pares de nucleótidos.

- El número total de nucleótidos a sintetizar son $3 \times 10^9 \times 2$ (uno materno, uno paterno) = 6×10^9 nucleótidos totales
- 24 hrs corresponden a $(24 \times 60 \times 60) = 86400$ segundos, por lo tanto se requieren replicar 6×10^9 nucleótidos / 86400 segundos $\rightarrow 69444,4$ nucleótidos/seg.
- La procesividad de la polimerasa es de 100 nucleótidos/seg $\rightarrow 69444,4$ nucleótidos seg^{-1} / 100 nucleótidos seg^{-1}
- Necesito 695 orígenes de replicación.

Indique las principales enzimas y proteínas que participan en la replicación del DNA ¿Qué papel desempeña cada una? ¿A qué complejo se le llama replisoma? Si la DNA polimerasa agregara un dideoxynucleótido (ver figura) a una cadena en síntesis ¿podría luego agregar otro nucleótido a la cadena? Explique



Indique las principales enzimas y proteínas que participan en la replicación del DNA ¿Qué papel desempeña cada una? ¿A qué complejo se le llama replisoma?



© 2010 Pearson Education, Inc.

En la replicación de ADN, se denomina **replisoma** o complejo de replicación al conjunto de proteínas de una horquilla de replicación.

DNA Polimerasa III: Agrega nucleótidos de ADN a la hebra naciente.

Primasa: Agrega el primer/partidor de ARN para la síntesis de la nueva hebra.

Helicasa: Separa las hebras rompiendo los puentes de hidrógeno entre ambas.

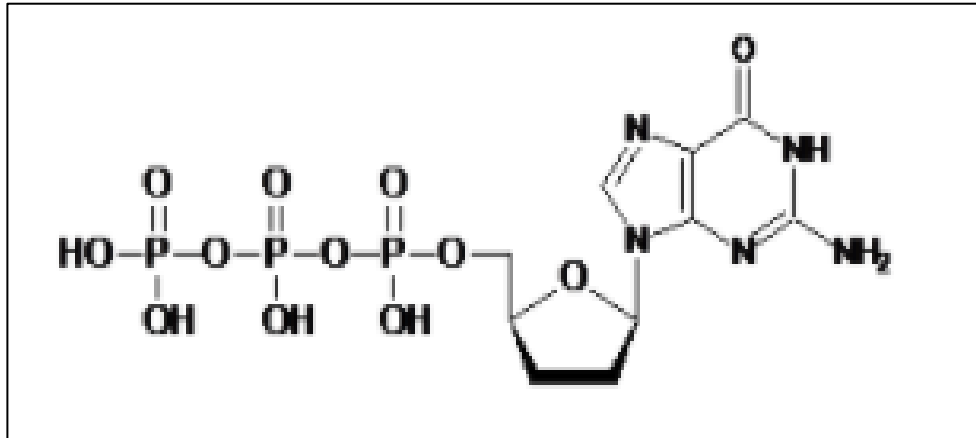
SSB: Se unen a la hebra de ADN previamente separada y evita que se vuelva a aparear con la hebra complementaria.

Topoisomerasa: Reduce la tensión por desenrollamiento del ADN, puede cortar 1 hebra o las 2.

DNA Polimerasa I: Saca los primers de ARN

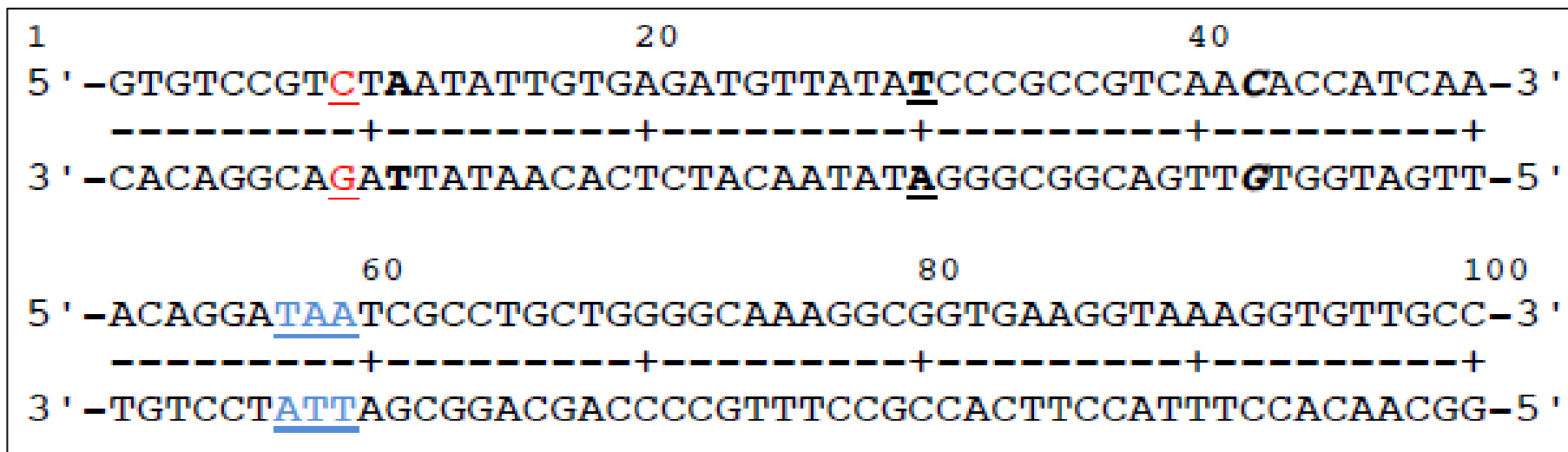
DNA Ligasa: Une los fragmentos de Okazaki

Si la DNA polimerasa agregara un dideoxinucleótido (ver figura) a una cadena en síntesis ¿podría luego agregar otro nucleótido a la cadena? Explique

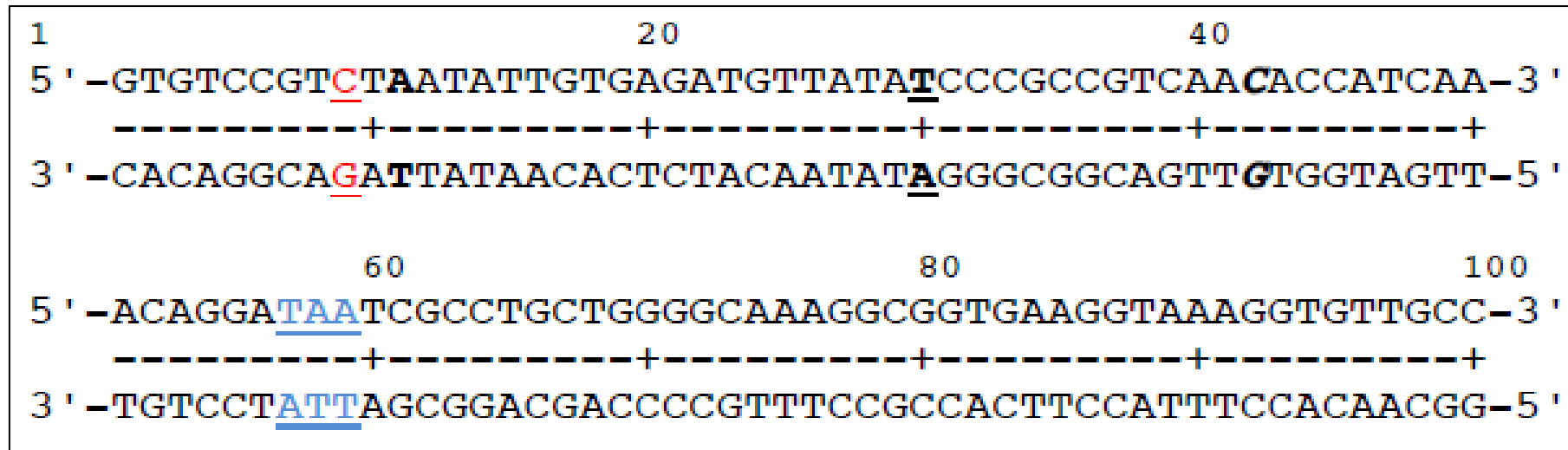


- Podría agregarlo en una primera instancia porque posee el grupo trifosfato en el 5' que permite la formación del enlace fosfodiéster.
- Luego de agregado este nucleótido, no se podría agregar ninguno más porque NO tiene el OH necesario para la formación del enlace fosfodiéster con el siguiente nucleótido.

Abajo se muestra una secuencia de DNA de 100 pares de bases que codifica para una proteína hipotética. En este problema, la transcripción comienza e incluye el par de bases C/G subrayado en la posición 9. La RNA polimerasa se mueve de izquierda a derecha sobre el DNA.



a) ¿Qué hebra se utiliza como molde para la transcripción, la de abajo o la de arriba?



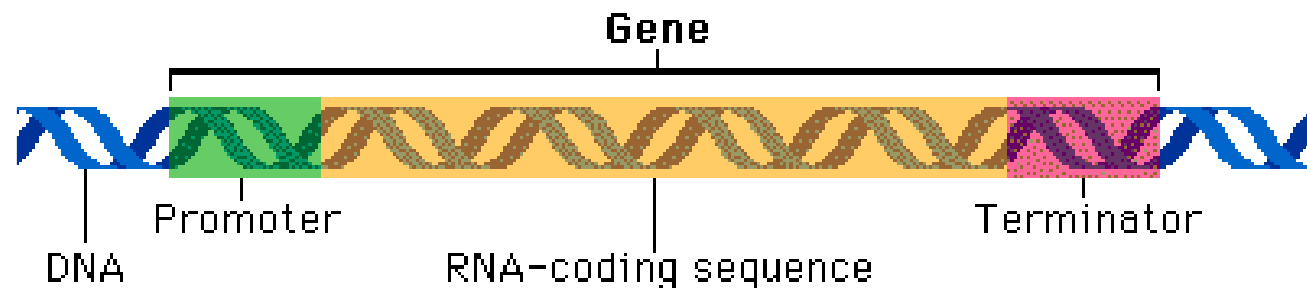
La hebra de DNA que tiene la misma secuencia que el RNA, se llama **CODIFICANTE** o **sentido**.
La hebra de DNA de la cual se copia el RNA es la hebra **MOLDE, NO CODIFICANTE** o **antisentido**.

Se utiliza la hebra que va en sentido 3' → 5', es decir, la de abajo

b) ¿Dónde estaría el promotor con respecto al inicio de la transcripción?

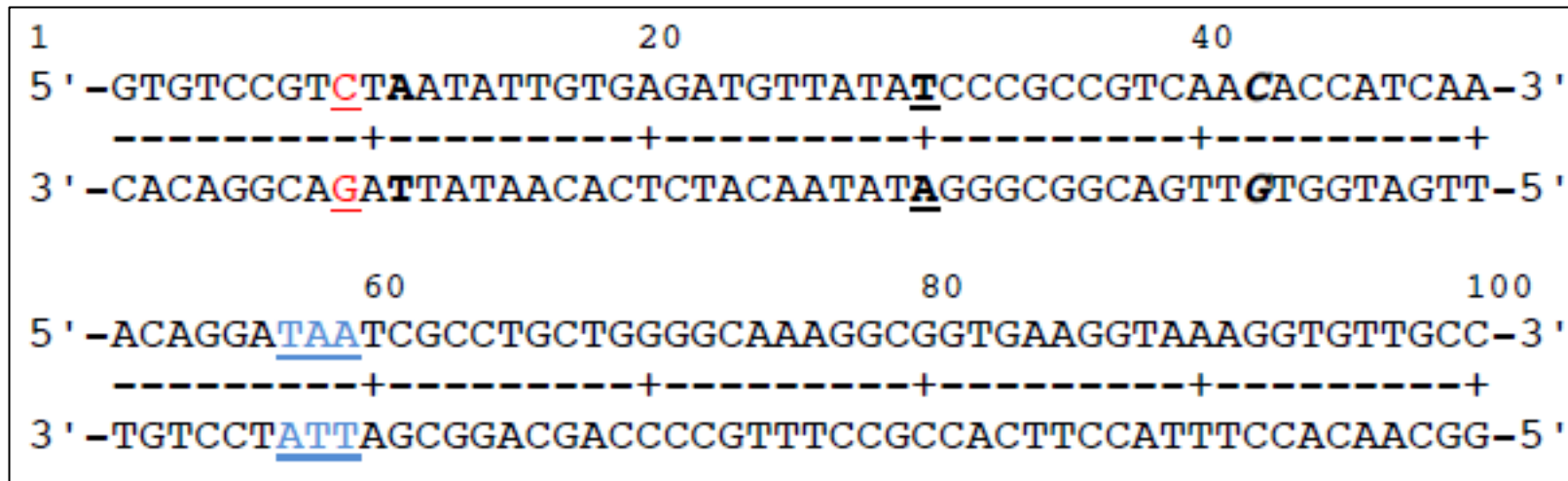
```
1                20                40
5' -GTGTCCGTCTAATATTGTGAGATGTTATATCCCCGCCGTCAACACCATCAA-3'
-----+-----+-----+-----+
3' -CACAGGCAGGATTATAACACTCTACAATATAAGGGCGGCAGTTGTGGTAGTT-5'

        60                80                100
5' -ACAGGATTAATCGCCTGCTGGGGCAAAGGCGGTGAAGGTAAAGGTGTTGCC-3'
-----+-----+-----+-----+
3' -TGCCTATTAGCGGACGACCCCGTTTCCGCCACTTCCATTTCCACAACGG-5'
```



Estaría río arriba del nucleótido 1 (a la izquierda)

c) ¿Cuáles son los nucleótidos del mRNA sintetizado? Indique los extremos 5' y 3' del mRNA. ¿En qué nucleótidos empieza la traducción? ¿En cuáles termina?



5'CUAAUAUUGUGAG**AUG**-UUA-UAU-CCC-GCC-GUC-AAC-ACC-AUC-AAA-CAG-GAU-AAU-CGC-CUG-CUG-GGG-CAA-AGG-CGG-**UGA**-AGGUAAAGGUGUUGCC-3'.

d) ¿Cuál es la secuencia de la proteína resultante? Indique el amino (NH₃⁺) y carboxilo (COO⁻) terminal de la proteína. (para responder esta pregunta use el código genético al final de la guía)

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

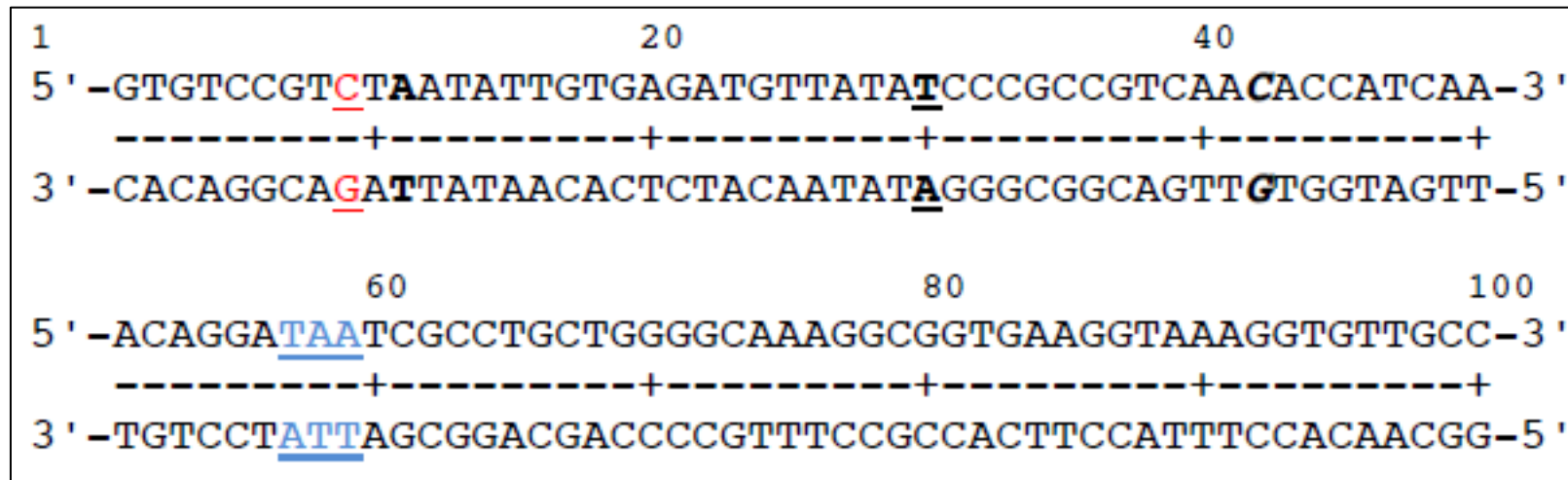
Traducir los tripletes:

5'CUAAUAUUGUGAG**AUG**-UUA-UAU-CCC-GCC-GUC-AAC-ACC-AUC-AAA-CAG-GAU-AAU-CGC-CUG-CUG-GGG-CAA-AGG-CGG-**UGA**-AGGUAAAGGUGUUGCC-3'

En este caso sería:

-NH₃⁺Met-Leu-TYr-Pro-Ala-Val-Asn-Thr-Ile-Lys-Gln-Asp-Asn-Arg-Leu-Leu-Gly-Gln-Arg-Arg-COO-

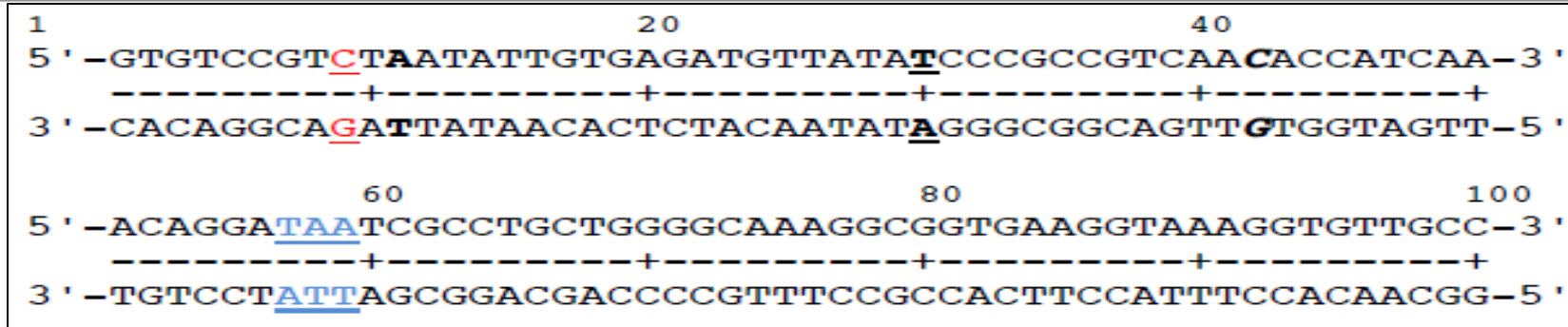
e) Los nucleótidos TAA subrayados ¿codifican para un codón de stop de la proteína? Explique brevemente.



5'CUAAUAUUGUGAGAUG-UUA-UAU-CCC-GCC-GUC-AAC-ACC-AUC-AAA-CAG-GAU-AAU-CGC-CUG-CUG-GGG-CAA-AGG-CGG-UGA-AGGUAAAGGUGUUGCC-3'

No. No coinciden con los tripletes determinados a partir del AUG de la proteína, así que no codifican para un codón de término

f) Si ocurriera una mutación que resulta en la inserción de un par nucleotídico G/C (hebra de arriba/hebra de abajo) inmediatamente después del par de bases en posición 11 (en negrita) ¿Qué efecto tendría esta inserción en el mRNA y la proteína resultante?



5'CUAAUAUUGUGAGAUG-UUA-UAU-CCC-GCC-GUC-AAC-ACC-AUC-AAA-CAG-GAU-AAU-CGC-CUG-CUG-GGG-CAA-AGG-CGG-UGA-AGGUAAAGGUGUUGCC-3'

5'CUAGGAUAUUGUGAGAUG-UUA-UAU-CCC-GCC-GUC-AAC-ACC-AUC-AAA-CAG-GAU-AAU-CGC-CUG-CUG-GGG-CAA-AGG-CGG-UGA-AGGUAAAGGUGUUGCC-3'

El mRNA sería distinto, pero no tendría Implicancia en la formación de la proteína, ya que no corre el marco de lectura

g) Una mutación diferente resulta en la sustitución del par T/A en posición 30 (negrita y subrayado) con un par G/C. ¿Cómo afectará esta mutación a la proteína producida?

5'CUAAUAUUGUGAG**AUG**-UUA-UAA-CCC-GCC-GUC-AAC-ACC-AUC-AAA-CAG-GAU-AAU-CGC-CUG-CUG-GGG-CAA-AGG-CGG-**UGA**-AGGUAAAGGUGUUGCC-3'

NH₃⁺Met-Leu-Tyr-Pro-Ala-Val-Asn-Thr-Ile-Lys-Gln-Asp-Asn-Arg-Leu-Gly-Gln-Arg-Arg- COO-

5'CUAAUAUUGUGAG**AUG**-UUA-UAG-CCC-GCC-GUC-AAC-ACC-AUC-AAA-CAG-GAU-AAU-CGC-CUG-CUG-GGG-CAA-AGG-CGG-**UGA**-AGGUAAAGGUGUUGCC-3'

NH₃⁺Met-Leu- COO-

El triplete **UAU** → **UAG**, pasando de una Tyr a un codón de Stop, por lo que la proteína se truncaría.

h) Una tercera mutación ocurre resultando en la sustitución del par C/G en posición 42 (negrita y cursiva) por un par T/A. ¿Cómo afecta esta mutación a la secuencia de la proteína producida?

5'CUAAUAUUGUGAG**AUG**-UUA-UAU-CCC-GCC-GUC-AAC-ACC-AUC-AAA-CAG-GAU-AAU-CGC-CUG-CUG-GGG-CAA-AGG-CGG-**UGA**-AGGUAAAGGUGUUGCC-3'

NH₃⁺Met-Leu-TYr-Pro-Ala-Val-Asn-Thr-Ile-Lys-Gln-Asp-Asn-Arg-Leu-Gly-Gln-Arg-Arg- COO⁻

5'CUAAUAUUGUGAG**AUG**-UUA-UAU-CCC-GCC-GUC-AAU-ACC-AUC-AAA-CAG-GAU-AAU-CGC-CUG-CUG-GGG-CAA-AGG-CGG-**UGA**-AGGUAAAGGUGUUGCC-3'

NH₃⁺Met-Leu-TYr-Pro-Ala-Val-Asn-Thr-Ile-Lys-Gln-Asp-Asn-Arg-Leu-Gly-Gln-Arg-Arg- COO⁻

El triplete AAC → AAU, pasando de Asn a Asn, en este caso, una mutación silente.