

NUCLEÓTIDOS Y ÁCIDOS NUCLEICOS

- 8.1 Algunos conceptos básicos 273
- 8.2 Estructura de los ácidos nucleicos 279
- 8.3 Química de los ácidos nucleicos 291
- 8.4 Otras funciones de los nucleótidos 300

Una estructura tan hermosa tenía que existir.

—James Watson, *The Double Helix*, 1968

Los nucleótidos desempeñan una amplia variedad de funciones en el metabolismo celular. Garantizan los intercambios. También actúan como señales químicas en los sistemas celulares, en respuesta a hormonas y otros estímulos extracelulares, y son también componentes estructurales de una serie de cofactores enzimáticos e intermediarios metabólicos. Por último, son los constituyentes de los ácidos nucleicos: ácido desoxirribonucleico (DNA) y ácido ribonucleico (RNA), que son los depositarios moleculares de la información genética. La estructura de cada una de las proteínas, y en último término de todas las biomoléculas y de cada uno de los componentes celulares, es producto de la información programada en la secuencia de nucleótidos de los ácidos nucleicos de la célula. La capacidad de almacenar y transmitir información genética de una generación a la siguiente es un requisito básico de la vida.

Este capítulo ofrece una visión general de la naturaleza química de los nucleótidos y los ácidos nucleicos presentes en las células. En la Parte III examinaremos más detalladamente la función de los ácidos nucleicos.

8.1 Algunos conceptos básicos

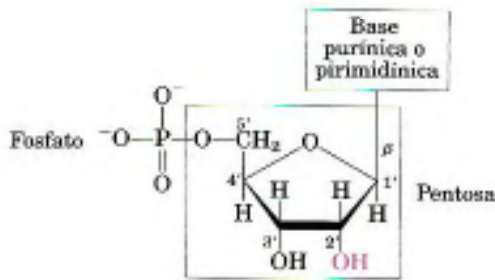
Los nucleótidos, componentes básicos de los ácidos nucleicos En el DNA celular se encuentran especificadas las secuencias de aminoácidos de todas las proteínas y las secuencias de nucleó-

tidos de todas las moléculas de RNA. Un segmento de DNA que contenga la información necesaria para la síntesis de un producto biológico funcional (proteína o RNA) recibe el nombre de **gen**. Una célula corriente tiene muchos miles de genes y, por tanto, no resulta sorprendente que las moléculas de DNA suelen ser muy grandes. Las únicas funciones conocidas del DNA son el almacenamiento y la transmisión de la información biológica.

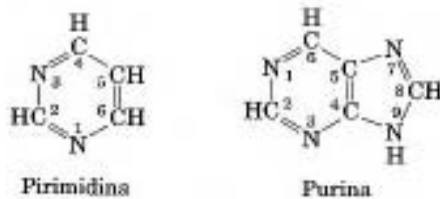
En la célula hay varias clases de RNA, que cubren una amplia variedad de funciones. Los **RNA ribosómicos (rRNA)** son componentes de los ribosomas, complejos que llevan a cabo la síntesis de proteínas. Los **RNA mensajeros (mRNA)** actúan como intermediarios, transportando la información desde un gen o unos pocos genes hasta el ribosoma, donde se sintetizan las proteínas. Los **RNA de transferencia (tRNA)** son moléculas adaptadoras que traducen con fidelidad la información genética contenida en el mRNA a secuencias específicas de aminoácidos. Además de estas clases principales, existe una amplia variedad de RNA que desempeñan funciones específicas, los cuales se describen en profundidad en la Parte III.

Los nucleótidos y ácidos nucleicos están formados por bases y pentosas características

Los nucleótidos están formados por tres componentes: (1) una base nitrogenada, (2) una pentosa y (3) un fosfato (Fig. 8-1). La molécula sin el grupo fosfato se denomina **nucleósido**. Las bases nitrogenadas derivan de dos compuestos parentales, **pirimidina** y **purina**. Las bases y las pentosas presentes en los nucleótidos comunes son compuestos heterocíclicos. Los átomos de carbono y de nitrógeno de las estructuras parentales se numeran de modo convencional con el fin de facilitar la nomenclatura y la identificación de sus muchos derivados. Las convenciones adoptadas para los anillos de pentosa siguen las reglas descritas en el Capítulo 7, pero a los números de los átomos de carbono de las pentosas de los nucleótidos se les



(a)



(b)

FIGURA 8-1 Estructura de los nucleótidos. (a) Estructura general con la numeración convencional del anillo de la pentosa. Se muestra la estructura de un ribonucleótido. En los desoxirribonucleótidos un —H reemplaza al grupo —OH del carbono 2' (en rojo). (b) Los compuestos parentales de los que derivan las bases purínicas y pirimidínicas de los nucleótidos y de los ácidos nucleicos, con especificación de las convenciones para la numeración.

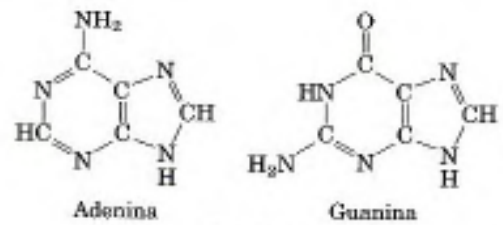
añade el signo prima (') para distinguirlos de los átomos numerados de las bases nitrogenadas.

La base está unida covalentemente (por el N-1 en las pirimidinas y el N-9 en las purinas) a través de un enlace *N*-β-glucosídico con el carbono 1' de la pentosa, y el fosfato está esterificado con el carbono 5'. El enlace *N*-β-glucosídico se forma por eliminación de agua (un grupo hidroxilo de la pentosa y un hidrógeno de la base), como ocurre en la formación de los enlaces *O*-glucosídicos (véase Fig. 7-31).

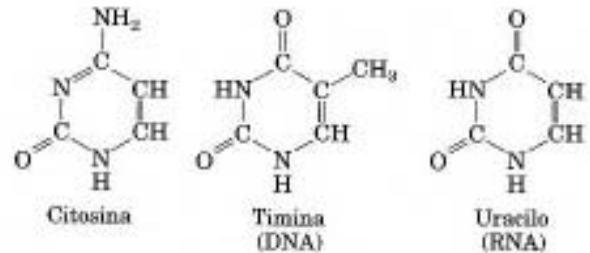
Tanto el DNA como el RNA contienen dos bases purínicas principales, la **adenina** (A) y la **guanina** (G). El DNA y el RNA contienen también dos bases pirimidínicas principales. La **citocina** (C) se encuentra en ambos tipos de ácido nucleico. Pero la segunda base pirimidínica es **timina** (T) en el DNA y **uracilo** (U) en el RNA. Es muy poco frecuente que se encuentre timina en el RNA o uracilo en el DNA. En la Figura 8-2 se muestran las estructuras de las cinco bases principales y en la Tabla 8-1 se resume la nomenclatura de sus correspondientes nucleótidos y nucleósidos.

Los ácidos nucleicos contienen dos tipos de pentosas. Los desoxinucleótidos del DNA contienen 2'-desoxi-*D*-ribosa y los ribonucleótidos del RNA *D*-ribosa. En los nucleótidos, ambos tipos de pentosas se hallan en la forma β-furanosa (anillo pentagonal cerrado). El anillo de la pentosa (Fig. 8-3) no es plano, sino que presenta diversas conformaciones distorsionadas, designadas generalmente como formas "ahuecadas".

En la Figura 8-4 se muestran las estructuras y los nombres de los cuatro **desoxirribonucleótidos** principales (desoxirribonucleósidos 5'-monofosfato), las unidades estructurales del DNA, y los cuatro **ribonucleótidos** principales (ribonucleósidos 5'-monofosfato), las unidades estructurales de los RNA. En el



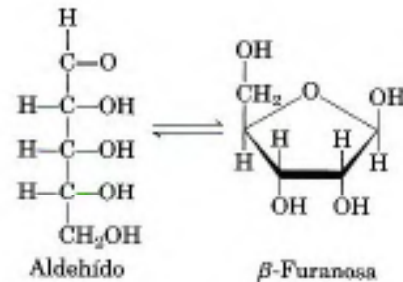
Purinas



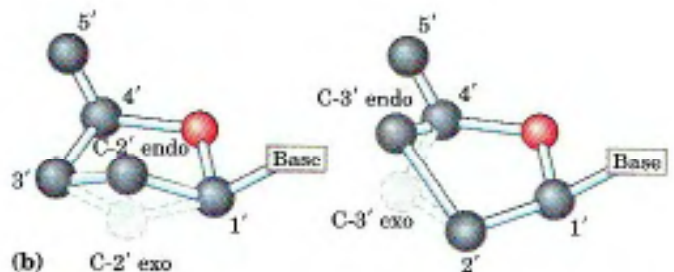
Pirimidinas

FIGURA 8-2 Bases purínicas y pirimidínicas principales de los ácidos nucleicos. Algunos de los nombres comunes de estos compuestos reflejan las circunstancias de su descubrimiento. La guanina, por ejemplo, se aisló por vez primera del guano (estiércol de aves) y la timina se aisló por primera vez de tejido del timo.

DNA, largas secuencias específicas de A, T, G y C almacenan la información genética.



(a)



(b)

FIGURA 8-3 Conformaciones de la ribosa. (a) En disolución, las formas lineal (aldehído) y cíclica (β-furanosa) de la ribosa libre están en equilibrio. El RNA contiene sólo la forma cíclica, β-*D*-ribofuranosa. La desoxirribosa sufre una interconversión similar en disolución, pero en el DNA sólo se encuentra como β-2'-desoxi-*D*-ribofuranosa. (b) Los anillos de ribofuranosa pueden existir en cuatro conformaciones distintas. En todos los casos, cuatro de los cinco átomos están contenidos en un solo plano. El quinto átomo (C-2' o C-3') se encuentra en el mismo lado (endo) o en el lado opuesto (exo) del plano que el átomo C-5'.

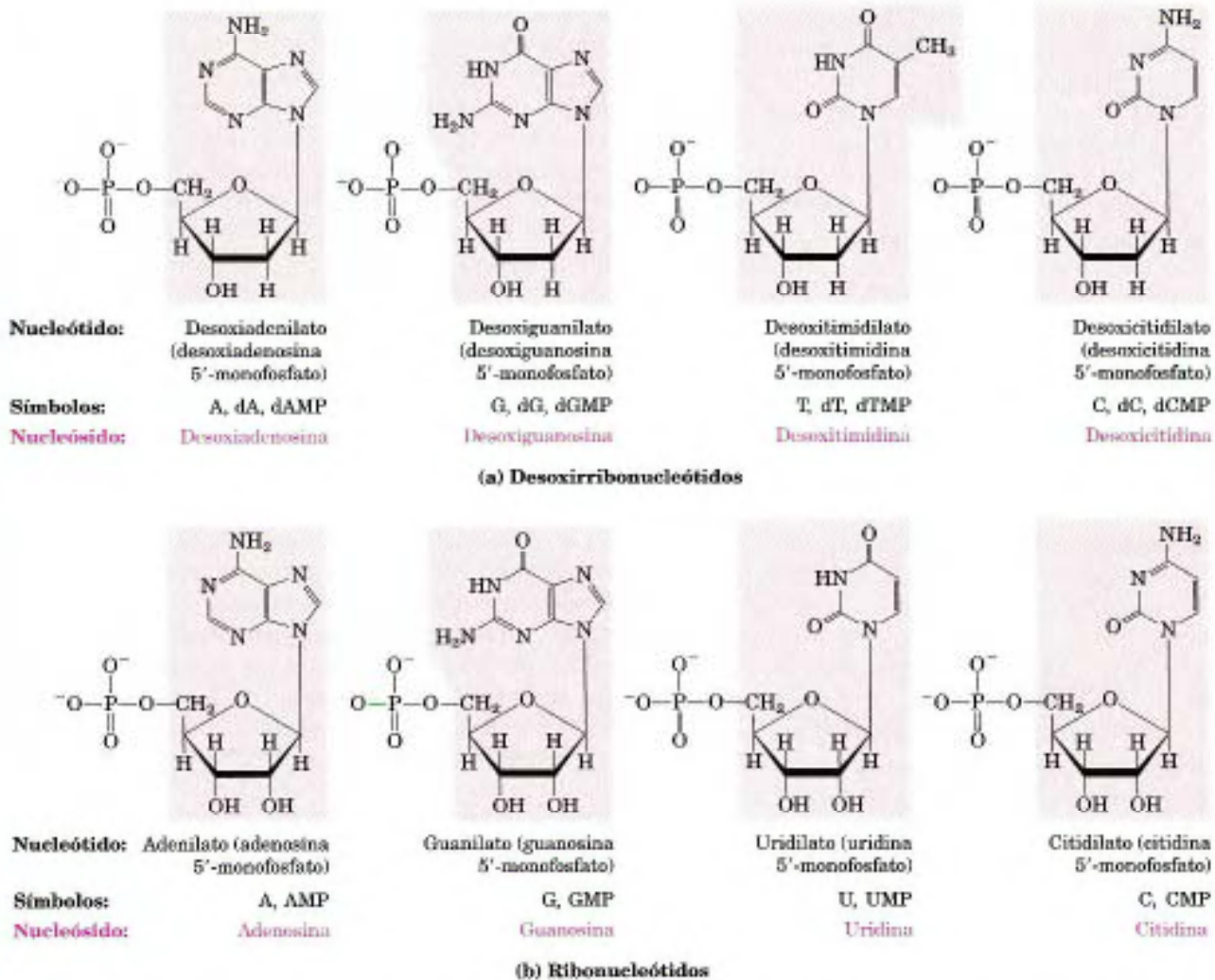


FIGURA 8-4 Desoxirribonucleótidos y ribonucleótidos de los ácidos nucleicos. Todos los nucleótidos se muestran en su forma libre a pH 7,0. Los nucleótidos del DNA (a) suelen simbolizarse por A, G, T y C, y en ocasiones por dA, dG, dT y dC; los del RNA (b) por A, G, U y C. En su forma libre, los desoxinucleótidos se suelen abreviar como dAMP, dGMP, dTMP y dCMP; los ribonucleótidos, como AMP, GMP,

UMP y CMP. En cada nucleótido, el nombre más común va seguido por el nombre completo entre paréntesis. Todas las abreviaturas suponen que el grupo fosfato se encuentra en posición 5'. La parte nucleosídica de cada molécula está sombreada en rojo. En esta ilustración y en las siguientes no se muestran los carbonos cíclicos.

TABLA 8-1 Nomenclatura de los nucleótidos y de los ácidos nucleicos

Base	Nucleósido	Nucleótido	Ácido nucleico
Purinas			
Adenina	Adenosina	Adenuilato	RNA
	Desoxiadenuosina	Desoxiadenuilato	DNA
Guanina	Guanosina	Guanilato	RNA
	Desoxiguanosina	Desoxiguaniato	DNA
Pirimidinas			
Citosina	Citidina	Citidilato	RNA
	Desoxicitidina	Desoxicitidilato	DNA
Timina	Timidina o desoxitimidina	Timidilato o desoxitimidilato	DNA
Uracilo	Uridina	Uridilato	RNA

Nota: "nucleósido" y "nucleótido" son términos genéricos que incluyen tanto las formas ribo- como las desoxiribo-. Obsérvese que los ribonucleósidos y los ribonucleótidos se designan aquí simplemente como nucleósidos y nucleótidos (p. ej., la riboadenosina se denomina adenosina) y los desoxirribonucleósidos y desoxirribonucleótidos como desoxinucleósidos y desoxinucleótidos (p. ej., la desoxirriboadenosina se denomina desoxiadenosina). Ambas nomenclaturas son aceptables, pero se utilizan más comúnmente las denominaciones más cortas. La timina es una excepción; se utiliza el nombre ribotimidina para poner de manifiesto su presencia poco habitual en el RNA.

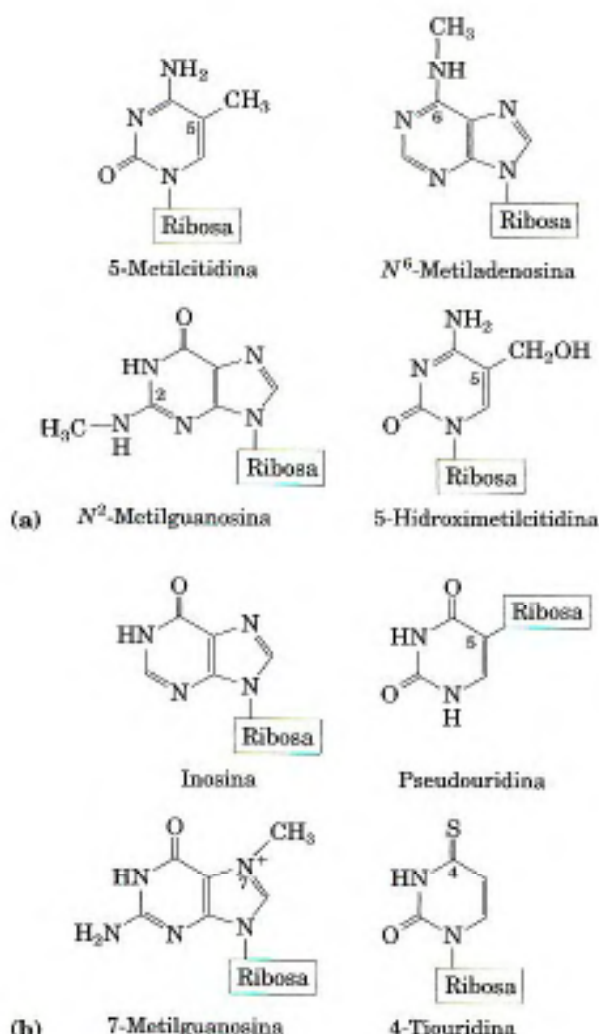


FIGURA 8-5 Algunas bases purínicas y pirimidínicas secundarias en su forma nucleosídica. (a) Bases poco abundantes en el DNA. La 5-metilcitosina está presente en el DNA de los animales superiores, la N^6 -metiladenosina en el DNA bacteriano y la 5-hidroximetilcitosina en las bacterias infectadas por diversos bacteriófagos. (b) Algunas bases poco abundantes presentes en los tRNA. La inosina contiene la base hipoxantina. Obsérvese que la pseudouridina, como la uridina, contiene uracilo; se distinguen por el punto de unión a la ribosa: en la uridina, el uracilo se une por el N-1, el punto de unión normal para las pirimidinas, mientras que en el pseudouracilo se une a través del C-5.

A pesar de que la mayoría de nucleótidos contienen solamente estas cuatro bases, el DNA y el RNA contienen también otras bases secundarias (Fig. 8-5). En el DNA, las más comunes son las formas metiladas de las bases principales; en algunos DNA víricos, ciertas bases pueden estar hidroximetiladas o glucosiladas. Las bases alteradas o poco comunes del DNA sirven a menudo como señales específicas para la regulación o la protección de la información genética. En el RNA, y en especial en el tRNA, se encuentran también bases secundarias de muchos tipos (véase Fig. 26-24).

La nomenclatura de las bases secundarias puede resultar confusa. Muchas tienen nombres comunes, al igual que las bases principales, como, por ejemplo, la hipoxantina, cuyo nucleó-

sido inosina se muestra en la Figura 8-5. Para las formas sustituidas de estas bases, cuando la sustitución tiene lugar en un átomo de los anillos de purina o pirimidina, la convención más habitual (la utilizada aquí) consiste simplemente en indicar por su número la posición en el anillo donde se ha producido la sustitución; por ejemplo, 5-metilcitosina, 7-metilguanina y 5-hidroximetilcitosina (mostradas en su forma nucleosídica en la Fig. 8-5). El elemento (N, C, O) al cual está unido el sustituyente no está especificado. Las convenciones cambian cuando el átomo sustituido es exocíclico (no incluido en el anillo), en cuyo caso se identifica el tipo de átomo y se indica la posición del anillo a la que está unido mediante un superíndice. El nitrógeno amínico unido al C-6 de la adenina se denominará N^6 ; análogamente, el oxígeno carbonílico y el nitrógeno amínico en C-6 y C-2 de la guanina se denominarán O^6 y N^2 , respectivamente. Ejemplos de esta nomenclatura son la N^6 -metiladenosina y la N^2 -metilguanósina (Fig. 8-5).

Las células contienen también nucleótidos con grupos fosfato en posiciones diferentes del carbono 5' (Fig. 8-6). Los **ribonucleósidos 2',3'-monofosfato cíclicos** son intermediarios aislables y los **ribonucleósidos 3'-monofosfato** son productos finales de la hidrólisis del RNA por ciertas ribonucleasas. Otros ejemplos son la adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (cAMP) y la guanosina 3',5'-monofosfato cíclico (cGMP), que se comentan al final de este capítulo.

Los nucleótidos sucesivos de los ácidos nucleicos están unidos por enlaces fosfodiéster

Los nucleótidos sucesivos del DNA y el RNA están unidos covalentemente mediante "puentes" de grupos fosfato, en los cuales

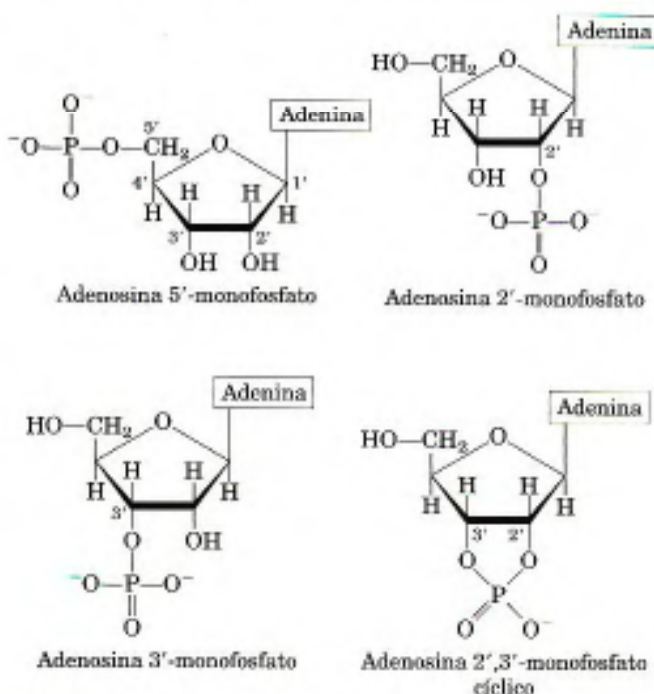


FIGURA 8-6 Algunos monofosfatos de adenosina. Las adenosinas 2'-monofosfato, 3'-monofosfato y 2',3'-monofosfato cíclico son compuestos intermedios de la hidrólisis enzimática y alcalina del RNA.

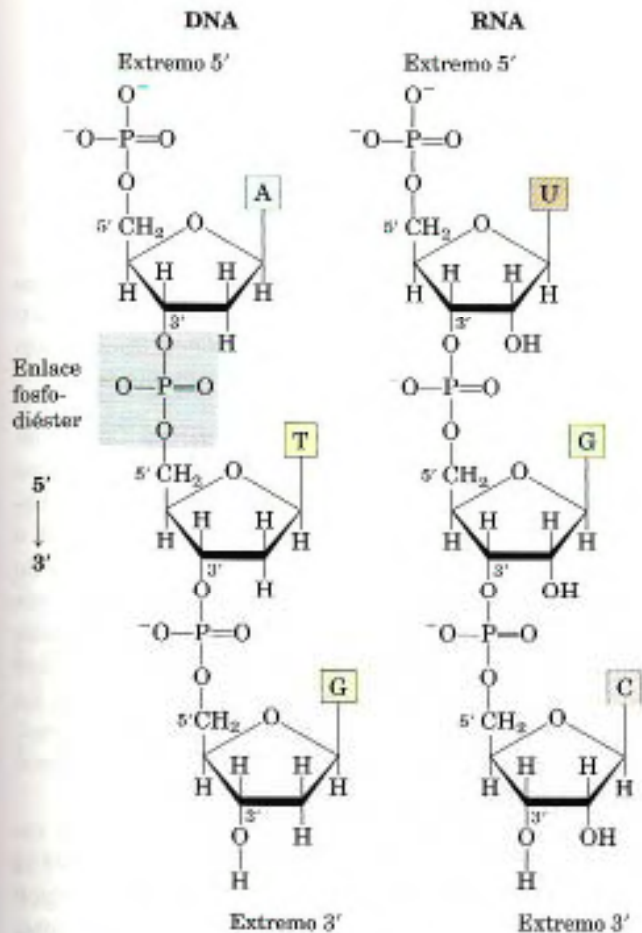


FIGURA 8-7 Enlaces fosfodiéster del esqueleto covalente del DNA y el RNA. Los enlaces fosfodiéster (uno de los cuales está sombreado en el DNA) unen los nucleótidos sucesivos. Las cadenas de azúcar-fosfato son muy polares en ambos tipos de ácido nucleico. El extremo 5' carece de nucleótido en la posición 5' y el extremo 3' carece de nucleótido en la posición 3'.

el grupo hidroxilo en 5' de un nucleótido está unido al grupo hidroxilo en 3' del nucleótido siguiente mediante un **enlace fosfodiéster** (Fig. 8-7). Por tanto, los esqueletos covalentes de los ácidos nucleicos consisten en residuos alternados de fosfato y pentosa, mientras que las bases nitrogenadas pueden considerarse como grupos laterales unidos al esqueleto a intervalos regulares. Los esqueletos covalentes del DNA y el RNA son hidrofílicos. Los grupos hidroxilo de los residuos de azúcar forman enlaces de hidrógeno con el agua. Los grupos fosfato tienen un pK_a cercano a 0 y se encuentran completamente ionizados y cargados negativamente a pH 7. Las cargas negativas están generalmente neutralizadas por interacciones iónicas con cargas positivas de proteínas, iones metálicos o poliaminas.

Todos los enlaces fosfodiéster tienen la misma orientación a lo largo de la cadena (Fig. 8-7), con lo cual cada cadena lineal de ácido nucleico tiene una polaridad específica y extremos 5' y 3' diferenciados. Por definición, el **extremo 5'** carece de nucleótido en posición 5', mientras que el **extremo 3'** carece de nucleótido en posición 3'. Otros grupos (con frecuencia uno o más grupos fosfato) pueden estar presentes en uno o en ambos extremos.

El esqueleto covalente del DNA y el RNA experimenta una lenta hidrólisis no enzimática de los enlaces fosfodiéster. Al contrario del DNA, el RNA en el tubo de ensayo se hidroliza rápidamente en condiciones alcalinas; los grupos hidroxilo en 2' del RNA (ausentes en el DNA) están directamente implicados en el proceso. Los primeros productos de la acción del álcali sobre el RNA son 2',3'-monofosfatos cíclicos, los cuales son rápidamente hidrolizados para producir una mezcla de 2'- y 3'-nucleósidos monofosfato (Fig. 8-8).

Las secuencias de nucleótidos de los ácidos nucleicos pueden representarse esquemáticamente, tal como se ilustra a continuación para un segmento de DNA de cinco nucleótidos. Los grupos fosfato se representan con el símbolo P y cada una de las desoxirribosas mediante una línea vertical que va

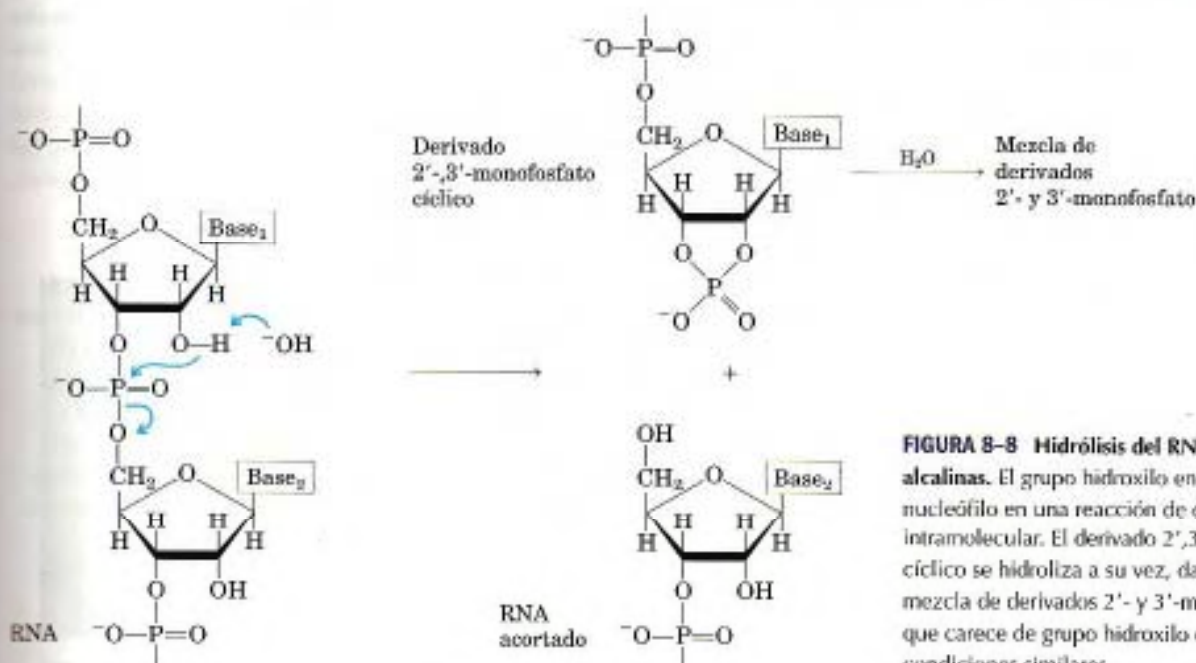
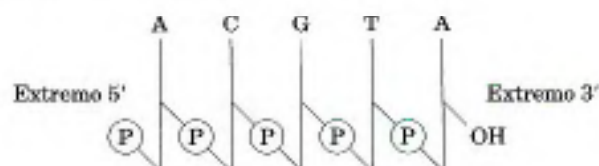


FIGURA 8-8 Hidrólisis del RNA en condiciones alcalinas. El grupo hidroxilo en 2' actúa como nucleófilo en una reacción de desplazamiento intramolecular. El derivado 2',3'-monofosfato cíclico se hidroliza a su vez, dando lugar a una mezcla de derivados 2'- y 3'-monofosfato. El DNA, que carece de grupo hidroxilo en 2', es estable en condiciones similares.

del C-1' en la parte superior de la línea vertical al C-5' en la inferior (hay que señalar que en los ácidos nucleicos el azúcar se encuentra siempre en su forma de anillo cerrado, β -furanosa). Las líneas que conectan nucleótidos (que pasan a través de (P)) se dibujan uniendo en diagonal el punto medio (C-3') de la desoxirribosa de un nucleótido con el extremo inferior (C-5') del siguiente.



Por convención, la estructura de una cadena o hebra sencilla de ácido nucleico se escribe siempre con el extremo 5' a la izquierda y el 3' a la derecha; es decir, en la dirección 5' \rightarrow 3'. Otras representaciones más sencillas de este pentanucleótido son: pA-C-G-T-A_{OH}, pApCpGpTpA y pACGTA.

Un ácido nucleico de cadena corta se denomina **oligonucleótido**. El calificativo "corta" es en cierto modo arbitrario, aunque el término oligonucleótido se utiliza a menudo para polímeros de hasta 50 nucleótidos. Los ácidos nucleicos de mayor longitud se denominan **polinucleótidos**.

Las propiedades de las bases de los nucleótidos influyen en la estructura tridimensional de los ácidos nucleicos

Las pirimidinas y purinas libres son compuestos débilmente básicos y por ello se denominan bases. Tienen una serie de propiedades químicas que afectan a la estructura, y en último término la función, de los ácidos nucleicos. Las purinas y pirimidinas presentes en el DNA y el RNA son moléculas altamente conjugadas (Fig. 8-2). Esta propiedad tiene efectos importantes sobre la estructura, la distribución electrónica y la capacidad de absorción de la luz de los ácidos nucleicos. La resonancia entre los átomos del anillo hace que la mayoría de los

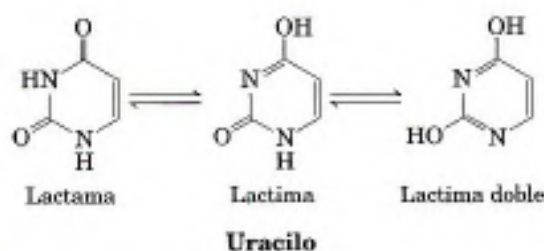


FIGURA 8-9 Formas tautoméricas del uracilo. A pH 7,0, predomina la forma lactama; las otras formas adquieren más importancia al disminuir el pH. Las otras pirimidinas libres y las purinas libres también poseen formas tautoméricas, pero son mucho menos abundantes.

enlaces tengan el carácter de doble enlace parcial. Como consecuencia de este hecho, las pirimidinas son moléculas planas y las purinas casi planas, con una ligera deformación. Las bases purínicas y pirimidínicas libres pueden existir en dos o más formas tautoméricas según el pH. Por ejemplo, el uracilo se presenta en las formas de lactama, lactima y lactima doble (Fig. 8-9). Las estructuras de las purinas y de las pirimidinas mostradas en la Figura 8-2 son los tautómeros predominantes a pH 7,0. Por efecto de la resonancia, todas las bases de los nucleótidos absorben la luz UV y los ácidos nucleicos se caracterizan por una fuerte absorción a longitudes de onda cercanas a 260 nm (Fig. 8-10).

Las bases purínicas y pirimidínicas son hidrofóbicas y relativamente insolubles en agua en el pH celular cercano a la neutralidad. A pH ácido o alcalino las bases adquieren carga y aumenta su solubilidad en agua. Las interacciones hidrofóbicas de apilamiento, que sitúan paralelamente los planos de los anillos de dos o más bases (de forma análoga a una pila de monedas) son uno de los dos tipos principales de interacción entre las bases. El apilamiento también incorpora una combinación de interacciones de van der Waals y dipolo-dipolo entre las bases. El apilamiento de las bases ayuda a minimizar el contacto con el agua y es de gran importancia en la estabilización de la estructura tridimensional de los ácidos nucleicos, como describiremos más adelante.

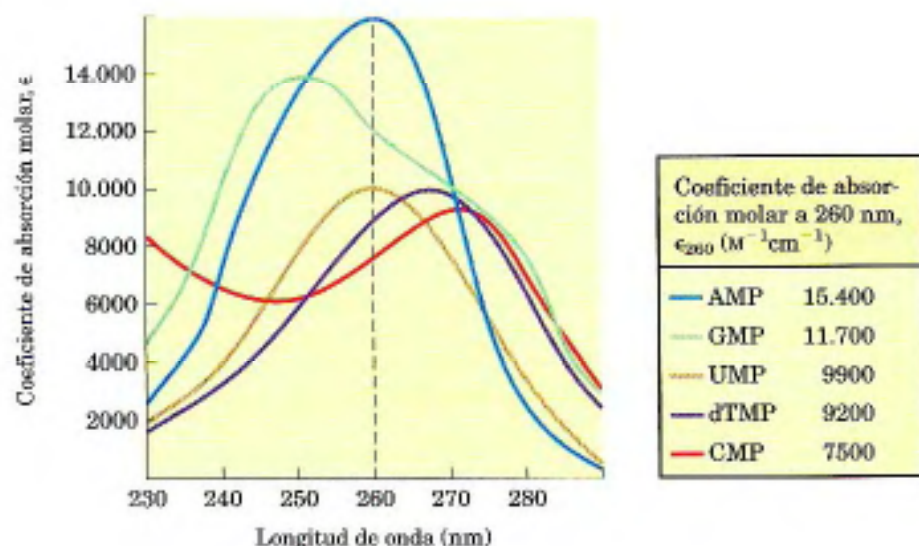


FIGURA 8-10 Espectros de absorción de los nucleótidos más comunes. Los espectros muestran la variación del coeficiente de absorción molar con la longitud de onda. Los coeficientes de absorción molar a 260 nm y pH 7,0 (ϵ_{260}) se muestran en la tabla. Los espectros de los ribonucleótidos y desoxirribonucleótidos correspondientes, así como los de los nucleósidos, son esencialmente idénticos. Para las mezclas de nucleótidos se utiliza la longitud de onda de 260 nm (líneas discontinuas verticales) para las mediciones.

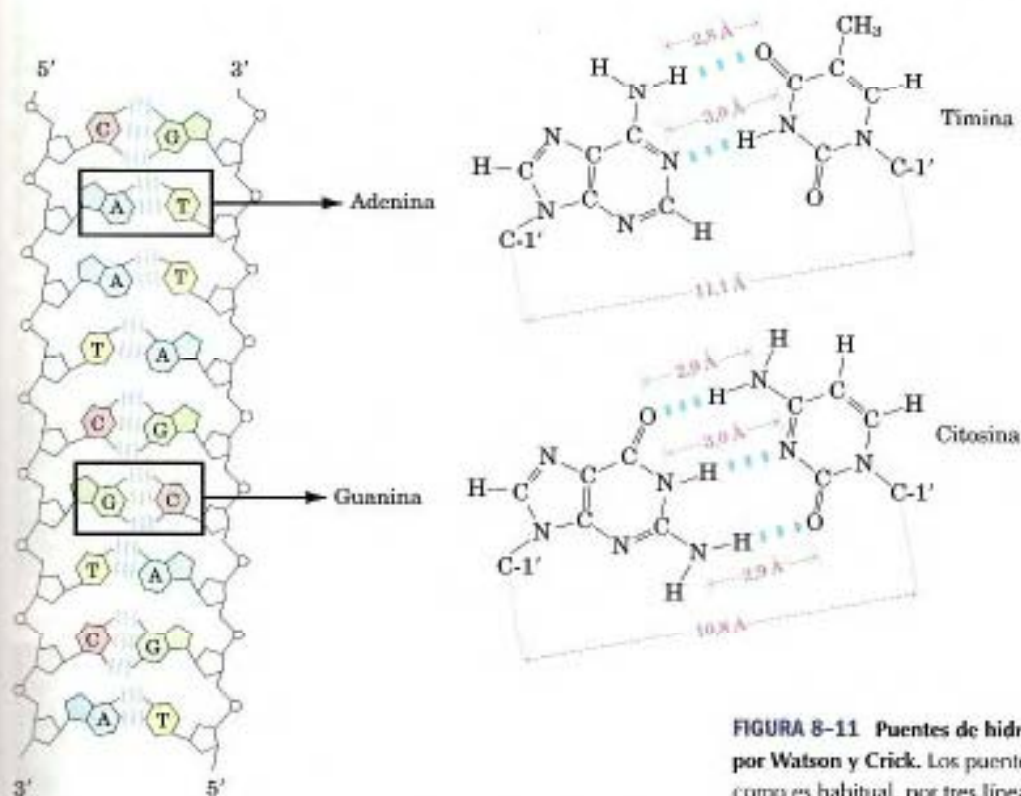


FIGURA 8-11 Puentes de hidrógeno de los pares de bases definidos por Watson y Crick. Los puentes de hidrógeno están representados, como es habitual, por tres líneas azules.

Los grupos funcionales más importantes de las purinas y pirimidinas son los grupos carbonilo y los átomos de nitrógeno del anillo y los grupos amino exocíclicos. La formación de enlaces de hidrógeno, en los que participan los grupos amino y carbonilo, constituye el segundo tipo principal de interacción entre las bases en las moléculas de ácidos nucleicos. Los enlaces de hidrógeno entre las bases permiten la asociación complementaria de dos (y en ocasiones de tres o cuatro) cadenas de ácido nucleico. Los patrones de enlaces de hidrógeno más importantes fueron definidos por James D. Watson y Francis Crick en 1953; en éstos, A se une específicamente con T (o U) y G se une con C (Fig. 8-11). Estos dos tipos de **pares de bases** predominan en el DNA y el RNA de doble cadena, y los tautómeros que se muestran en la Figura 8-2 son los responsables de estos apareamientos. Este apareamiento específico de las bases permite la duplicación de la información genética, como trataremos más adelante en este capítulo.

RESUMEN 8.1 Algunos conceptos básicos

- Un nucleótido está formado por una base nitrogenada (purina o pirimidina), un azúcar pentosa y uno o más grupos fosfato. Los ácidos nucleicos son polímeros de nucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster entre el grupo hidroxilo en 5' de una pentosa y el grupo hidroxilo en 3' de la siguiente.
- Existen dos tipos de ácidos nucleicos: RNA y DNA. Los nucleótidos del RNA contienen ribosa y las bases pirimidínicas comunes uracilo y citosina. En el DNA los nucleótidos contienen 2'-desoxirribosa y las bases pirimidínicas comunes timina y citosina. Las purinas principales son, tanto en el DNA como en el RNA, la adenina y la guanina.

8.2 Estructura de los ácidos nucleicos

El descubrimiento de la estructura del DNA por parte de James Watson y Francis Crick en el año 1953 fue un momento culminante en la historia de la ciencia, del que surgieron disciplinas completamente nuevas y que repercutió en el curso de otras muchas que ya estaban establecidas. Nuestros conocimientos actuales acerca de cómo se almacena y utiliza la información genética de una célula se basan en investigaciones que han sido posibles gracias a este descubrimiento. El conocimiento de las características principales del proceso de la información genética es en la actualidad requisito previo para la reflexión en cualquier área de la bioquímica. En este apartado nos centraremos en la estructura del DNA y en los pormeno-



James Watson



Francis Crick

res de su descubrimiento y también presentaremos los avances más recientes acerca de la estructura del RNA.

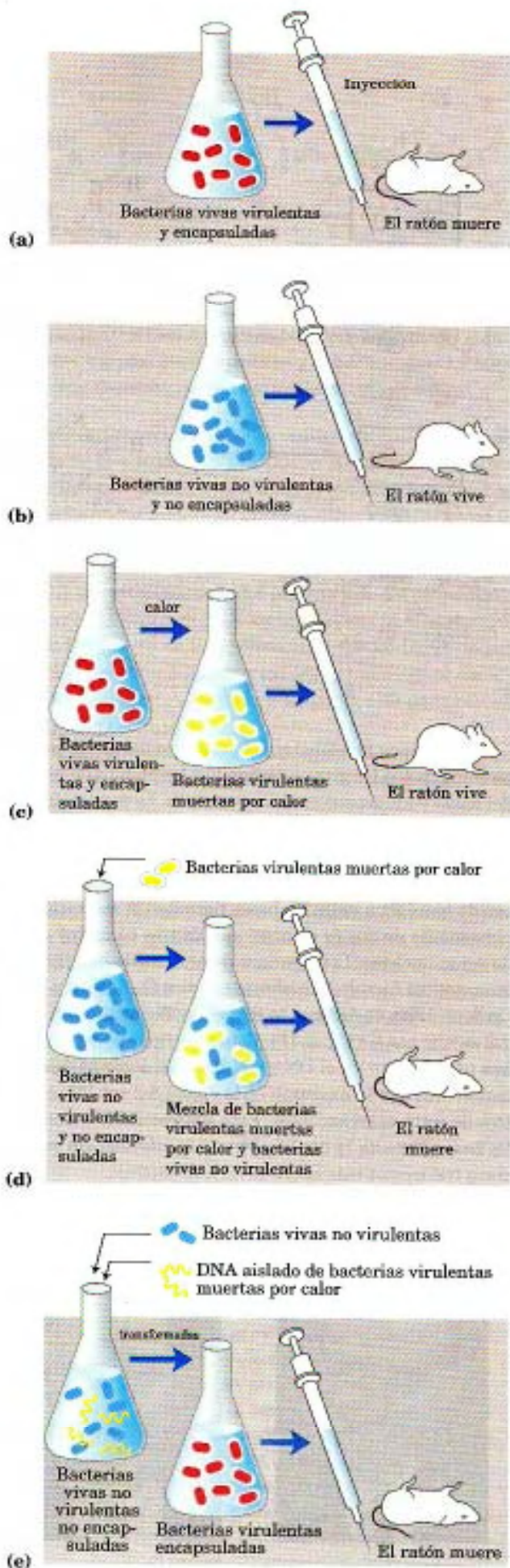
Como en el caso de la estructura de las proteínas (Capítulo 4), en ocasiones resulta de utilidad describir la estructura de los ácidos nucleicos en términos de niveles de complejidad jerarquizados (estructuras primaria, secundaria, terciaria). La estructura primaria de un ácido nucleico está definida por su estructura covalente y su secuencia de nucleótidos. Cualquier estructura regular y estable adoptada por algunos o por todos los nucleótidos de un ácido nucleico puede ser considerada como estructura secundaria. Todas las estructuras consideradas en el resto de este capítulo pueden englobarse bajo el epígrafe de estructura secundaria. En general, se considera estructura terciaria el plegamiento complejo de los grandes cromosomas en el nucleóide bacteriano o en la cromatina eucariótica; la estructura terciaria se trata en el Capítulo 24.

El DNA almacena información genética

La investigación bioquímica del DNA empezó con Friedrich Miescher, que realizó los primeros estudios químicos sistemáticos del núcleo celular. En 1868, Miescher aisló una sustancia que contenía fósforo, a la que denominó "nucleína", a partir de núcleos de células del pus (leucocitos) obtenidas de vendajes quirúrgicos. Encontró que la nucleína estaba formada por una parte ácida, que conocemos actualmente como DNA, y una parte básica, de proteína. Más tarde, Miescher encontró una sustancia ácida similar en la cabeza de las células del espermatozoide de salmón. A pesar de que purificó parcialmente la nucleína y estudió sus propiedades, la estructura covalente (primaria) del DNA (tal como se muestra en la Fig. 8-7) no se conoció con total seguridad hasta finales de la década de 1940.

Miescher y muchos otros sospechaban que la nucleína (el ácido nucleico) estaba asociada de algún modo con la herencia celular, pero la primera prueba directa de que el DNA era el depositario de la información genética llegó en 1944 con Oswald T. Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty, quienes hallaron que el DNA extraído de una cepa virulenta (que causa una enfermedad) de la bacteria *Streptococcus pneumoniae*, conocida también como neumococo, podía transformar genéticamente una cepa no virulenta de este mismo organismo, convirtiéndola en una forma virulenta (Fig. 8-12). Avery y sus

FIGURA 8-12 El experimento de Avery-MacLeod-McCarty. (a) Cuando se inyecta a ratones, la cepa encapsulada de neumococo es letal (b) mientras que la cepa no encapsulada es inocua (c) al igual que las células muertas por acción del calor de la cepa encapsulada. (d) Investigaciones anteriores a cargo del bacteriólogo Frederick Griffith habían demostrado que bacterias virulentas muertas por calor (inofensivas para los ratones) añadidas a una cepa viva no virulenta transformaban permanentemente esta última, convirtiéndola en una cepa encapsulada, virulenta y letal. (e) Avery y colaboradores extrajeron el DNA de neumococos virulentos muertos por calor, eliminando la proteína en la medida de lo posible, y añadieron este DNA a bacterias no virulentas. El DNA penetró en las bacterias no virulentas, que resultaron transformadas permanentemente en una cepa virulenta.



colaboradores concluyeron que el DNA extraído de la cepa virulenta transportaba el mensaje genético hereditario de la virulencia. No todos aceptaron estas conclusiones, pues impurezas de naturaleza proteica presentes en el DNA podían haber sido el verdadero transportador de la información genética. Esta posibilidad quedó pronto descartada, al observarse que el tratamiento del DNA con enzimas proteolíticas no destruía la actividad transformadora, mientras que el tratamiento con desoxirribonucleasas (enzimas que hidrolizan el DNA) sí lo hacía.

Un segundo experimento importante aportó pruebas adicionales de que el DNA es portador de información genética. En 1952, Alfred D. Hershey y Martha Chase utilizaron marcaje con fósforo (^{32}P) y azufre (^{35}S) radiactivos para demostrar que cuando el virus bacteriano (bacteriófago) T2 infecta a su célula huésped (*E. coli*) es el DNA de la partícula vírica, que contiene fósforo, no la proteína de la cápside del virus, que contiene azufre, el componente que penetra en la célula huésped y aporta la información genética para la replicación del virus (Fig. 8-13). Estos importantes experimentos y muchos otros han demostrado que el DNA es el único componente cromosómico que contiene la información genética en las células vivas.

Las moléculas de DNA tienen diferente composición de bases

Un elemento de gran importancia en el descubrimiento de la estructura del DNA fue el trabajo de Erwin Chargaff y colaboradores a finales de la década de 1940. Encontraron que las cantidades de las cuatro bases de los nucleótidos del DNA variaban según el organismo y que las cantidades relativas de ciertas bases estaban muy relacionadas. Estos datos, acumulados a partir de los DNA de un gran número de especies diferentes, permitieron a Chargaff concluir que:

1. La composición de bases del DNA normalmente varía de una especie a otra.
2. Las muestras de DNA aisladas a partir de tejidos diferentes de la misma especie tienen la misma composición de bases.
3. La composición de bases del DNA de una determinada especie no varía con la edad del organismo, ni con su estado nutricional, ni con las variaciones ambientales.
4. En todos los DNA celulares, independientemente de la especie, el número de residuos de adenina es igual al de residuos de timina (es decir, $A = T$) y el número de residuos de guanina es igual al número de residuos de citosina ($G = C$). A partir de estas relaciones se deduce que la suma de los residuos de purina es igual a la suma de los residuos de pirimidina; es decir, $A + G = T + C$.

Estas relaciones cuantitativas, denominadas en ocasiones "reglas de Chargaff", fueron confirmadas posteriormente por muchos investigadores. Fueron esenciales para la deducción de la estructura tridimensional del DNA y dieron pistas sobre cómo está codificada la información genética en el DNA y se transmite de una generación a la siguiente.

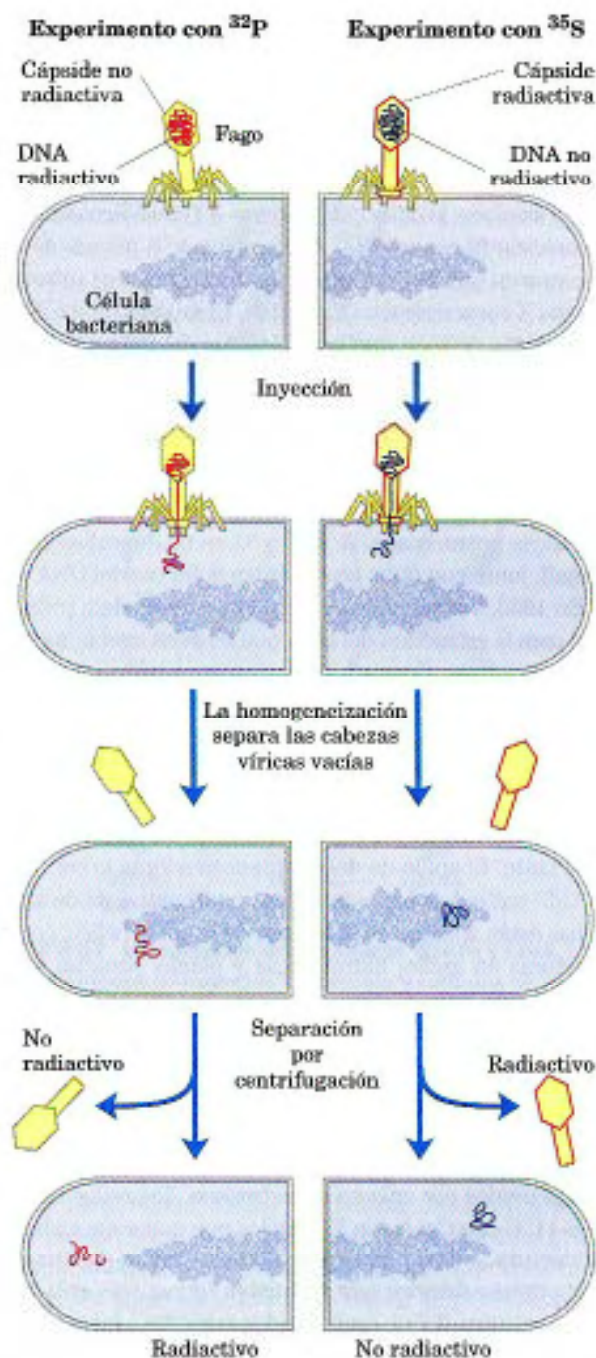


FIGURA 8-13 El experimento de Hershey-Chase. Se prepararon dos muestras de partículas de bacteriófago T2 marcadas isotópicamente. Una marcada con ^{32}P en los grupos fosfato del DNA y la otra con ^{35}S en los residuos aminoácidos que contienen azufre de las proteínas de la cápside. (El DNA no contiene S y las proteínas víricas no contienen P.) Suspensiones separadas de bacterias no marcadas fueron infectadas con las dos muestras de fagos marcados. Cada suspensión de células infectadas fue agitada en un homogeneizador para romper la unión entre las cápsides víricas y las bacterias. Se separaron por centrifugación las cápsides víricas vacías ("fantasmas") y las bacterias. Las células infectadas por el fago marcado con ^{32}P contenían ^{32}P : el DNA vírico marcado había penetrado en las células, y los fantasmas víricos no contenían radiactividad. Las células infectadas con el fago marcado con ^{35}S no contenían radiactividad, mientras que los fantasmas víricos contenían ^{35}S . Después de la eliminación de las cubiertas del virus se observó la presencia de progenie vírica en ambas suspensiones: el mensaje genético para la replicación de los virus debía haber sido introducido por el DNA de los virus y no por su proteína.

El DNA es una doble hélice

Rosalind Franklin y Maurice Wilkins utilizaron un poderoso método analítico, la difracción de rayos X (véase Recuadro 4-4), para analizar fibras de DNA. A principios de la década de 1950 demostraron que el DNA produce un diagrama de difracción de rayos X característico (Fig. 8-14). El análisis de los diagramas permitió deducir que las moléculas del DNA son helicoidales, con dos periodicidades a lo largo del eje longitudinal, una primaria de 3,4 Å y otra secundaria de 34 Å. El problema consistía, pues, en la construcción de un modelo tridimensional de la molécula de DNA que pudiera explicar no sólo los datos de difracción de rayos X sino también las equivalencias específicas entre bases, $A = T$ y $G = C$, descubiertas por Chargaff, junto con otras propiedades químicas del DNA.

En 1953, Watson y Crick postularon un modelo tridimensional para la estructura del DNA que tenía en cuenta todos los datos disponibles. Consiste en dos cadenas helicoidales enrolladas alrededor del mismo eje, formando una doble hélice dextrógira (en el Recuadro 4-1 se describen las estructuras helicoidales dextrógiras y levógiras). Los esqueletos hidrofílicos formados por la desoxirribosa y los grupos fosfato alternados están en el exterior de la doble hélice, en contacto con el agua circundante. El anillo de desoxifurano adopta la conformación C-2' endo. Las bases purínicas y pirimidínicas de ambas cadenas están apiladas en el interior de la doble hélice, con sus estructuras en anillo, hidrofóbicas y planas situadas a muy corta distancia unas de otras y en posición perpendicular al eje longitudinal de la hélice. La relación espacial de las dos cadenas da lugar a la formación de un **surco mayor** y un **surco menor** en la superficie de la doble hélice (Fig. 8-15). Cada base de una cadena está apareada en el mismo plano con una base de la otra cadena. Watson y Crick hallaron que los pares de bases unidos por enlaces de hidrógeno, ilustrados en la Figura 8-11, G con C y A con T, eran los que mejor encajaban en la estructura, a la vez que explicaban las reglas de Chargaff. Es importante observar que se pueden formar tres enlaces de hidrógeno entre G y C, simbolizados por $G=C$, mientras que solamente se pueden formar dos entre A y T, simbolizados por $A=T$. Ésta es una de las razones de la mayor dificultad para



Rosalind Franklin,
1920-1958



Maurice Wilkins

separar las hebras apareadas del DNA cuanto mayor sea la relación de pares de bases $G=C$ con respecto a los $A=T$. Otros apareamientos diferentes tienden, en mayor o menor medida, a desestabilizar la estructura en doble hélice.

Cuando Watson y Crick construyeron su modelo tuvieron que decidir desde el principio si las hebras del DNA debían ser **paralelas** o **antiparalelas**, es decir si sus enlaces 5', 3'-fosfodiéster debían tener la misma dirección o bien direcciones opuestas. La disposición antiparalela proporcionó el modelo más satisfactorio. Trabajos posteriores con DNA polimerasas (Capítulo 25) aportaron argumentos experimentales a favor de que las hebras eran efectivamente antiparalelas, conclusión que fue definitivamente confirmada por análisis de difracción de rayos X.

Para explicar las periodicidades observadas en el diagrama de difracción de rayos X de fibras de DNA, Watson y Crick construyeron diversos modelos moleculares hasta llegar a una

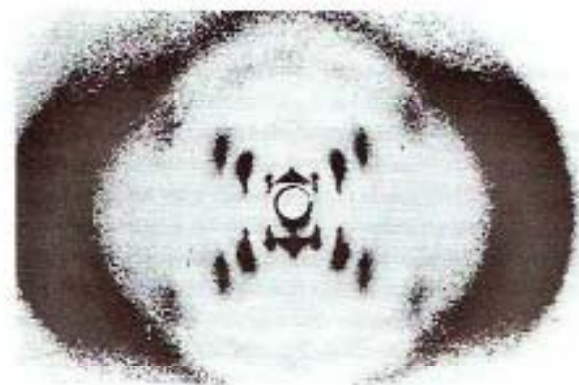


FIGURA 8-14 Diagrama de difracción de rayos X del DNA. Las manchas centrales en forma de cruz revelan la presencia de una estructura en hélice. Las bandas más intensas a la derecha y a la izquierda corresponden a la distancia entre las bases.

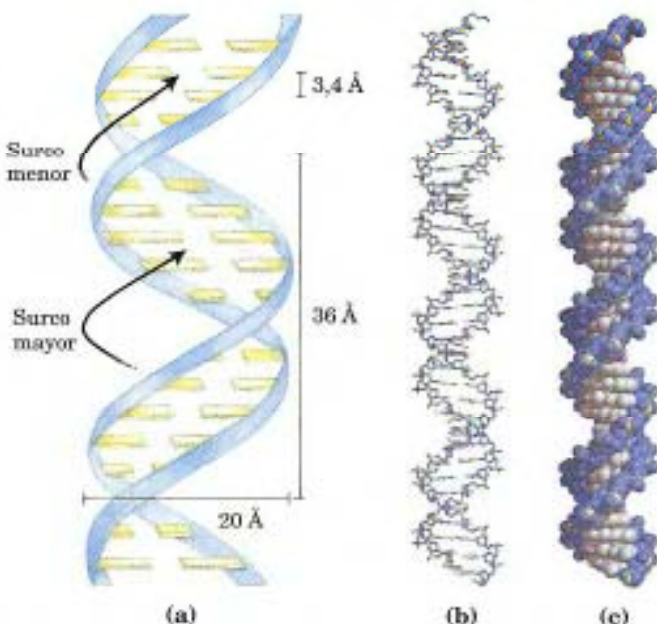


FIGURA 8-15 Modelo de Watson y Crick de la estructura del DNA. El modelo original de Watson y Crick tenía 10 pares de bases por vuelta y 34 Å (3,4 nm) por vuelta de hélice. Mediciones posteriores han mostrado que hay 10,5 bases por vuelta y 36 Å (3,6 nm) por vuelta. (a) Representación esquemática que muestra las dimensiones de la hélice. (b) Modelo lineal que muestra el esqueleto covalente y el apilamiento de las bases. (c) Modelo de esferas.

estructura con las bases apiladas verticalmente dentro de la doble hélice y separadas por una distancia de 3,4 Å; la repetición secundaria de unos 34 Å se explicaba por la incorporación de 10 pares de bases en cada vuelta completa de la doble hélice. En disolución acuosa, la estructura es ligeramente diferente y posee 10,5 pares de bases por vuelta (Fig. 8-15).

Como muestra la Figura 8-16, las dos cadenas polinucleotídicas antiparalelas del DNA de doble hélice no son idénticas ni en secuencia ni en composición. En cambio, son **complementarias** entre sí. Siempre que hay adenina en una cadena, se encuentra timina en la otra; de igual forma, la presencia de guanina en una cadena implica la presencia de citosina en la otra.

La doble hélice o el dúplex del DNA se mantiene unido por dos tipos de fuerzas: los enlaces de hidrógeno entre los pares de bases complementarias (Fig. 8-11) y las interacciones de apilamiento de las bases. La complementariedad de las hebras del DNA se debe a los enlaces de hidrógeno de los pares de bases. Las interacciones de apilamiento de las bases, que son esencialmente inespecíficas por lo que respecta a la identidad de las bases apiladas, contribuyen principalmente a la estabilidad de la doble hélice.

Las principales características del modelo del DNA en doble hélice están apoyadas por un gran número de resultados

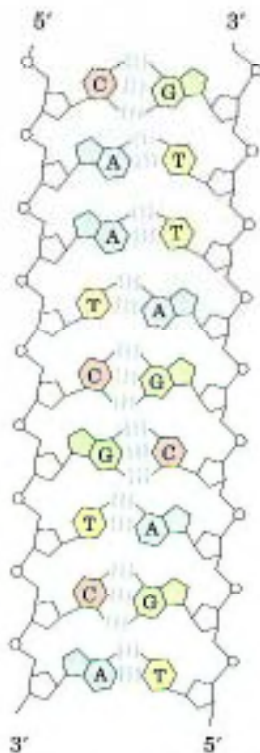


FIGURA 8-16 Complementariedad de las hebras del DNA de doble hélice. Las cadenas antiparalelas complementarias del DNA siguen las reglas de apareamiento propuestas por Watson y Crick. Las dos cadenas antiparalelas apareadas tienen diferente composición: la cadena de la izquierda tiene una composición $A_2 T_2 G_1 C_3$; la de la derecha, $A_2 T_1 G_3 C_1$. La secuencia también es diferente cuando ambas cadenas se leen en dirección $5' \rightarrow 3'$. Obsérvese las equivalencias de bases: $A = T$ y $G = C$ en el dúplex.

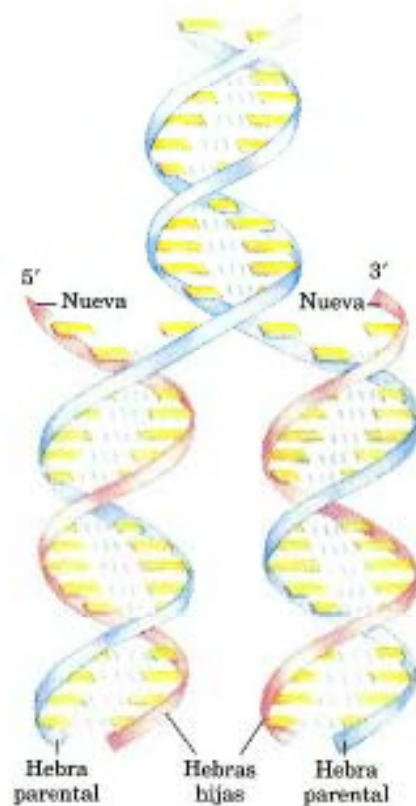


FIGURA 8-17 La replicación del DNA según Watson y Crick. Las hebras preexistentes o "parentales" se separan y cada una de ellas sirve de molde para la biosíntesis de una hebra complementaria "hija".

de tipo químico y biológico. Además, el propio modelo sugirió de inmediato un mecanismo para la transmisión de la información genética. La característica fundamental del modelo es la complementariedad de las dos hebras del DNA. Watson y Crick comprendieron, mucho antes de disponer de pruebas experimentales en su favor, que la replicación de la estructura podía tener lugar naturalmente a través de (1) la separación de las dos hebras y (2) la síntesis de hebras complementarias de cada una de ellas. Puesto que los nucleótidos de cada hebra nueva están unidos según una secuencia determinada por las reglas de apareamiento de bases explicadas anteriormente, cada hebra preexistente hace de molde para dirigir la síntesis de la hebra complementaria (Fig. 8-17). Estas hipótesis se confirmaron experimentalmente, comenzando así una revolución en nuestra comprensión de la herencia biológica.

El DNA adopta diferentes formas tridimensionales

El DNA es una molécula extraordinariamente flexible. Es posible una rotación considerable alrededor de una serie de enlaces de las cadenas de azúcar-fosfato y las fluctuaciones térmicas pueden provocar la curvatura, el estiramiento y el desapareamiento (fusión) de las hebras. En el DNA celular se observan muchas desviaciones significativas de la estructura de Watson y Crick, y muchas de ellas pueden jugar un papel importante en el metabolismo del DNA. Estas variaciones estructurales no tienen en general ningún efecto sobre las propiedades funda-

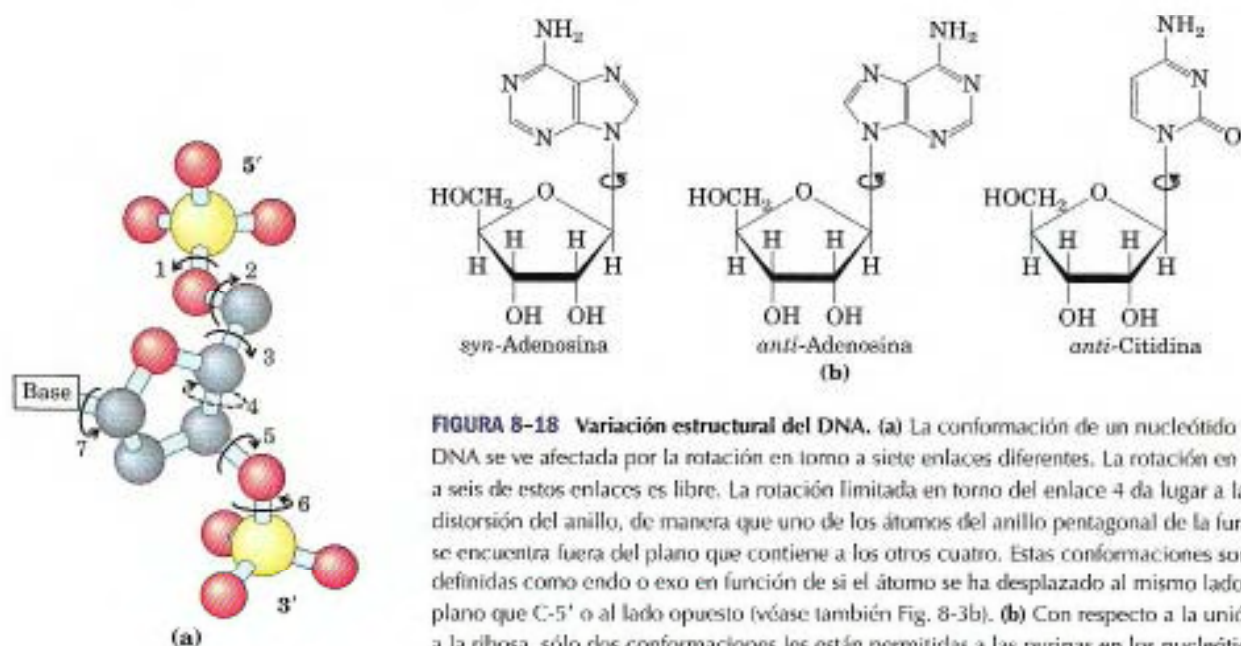


FIGURA 8-18 Variación estructural del DNA. (a) La conformación de un nucleótido en el DNA se ve afectada por la rotación en torno a siete enlaces diferentes. La rotación en torno a seis de estos enlaces es libre. La rotación limitada en torno del enlace 4 da lugar a la distorsión del anillo, de manera que uno de los átomos del anillo pentagonal de la furanosa se encuentra fuera del plano que contiene a los otros cuatro. Estas conformaciones son definidas como endo o exo en función de si el átomo se ha desplazado al mismo lado del plano que C-5' o al lado opuesto (véase también Fig. 8-3b). (b) Con respecto a la unión a la ribosa, sólo dos conformaciones les están permitidas a las purinas en los nucleótidos, la anti y la syn. Las pirimidinas generalmente se encuentran en la conformación anti.

mentales del DNA definidas por Watson y Crick: la complementariedad de las hebras, las hebras antiparalelas y el requerimiento de pares de bases A=T y G=C.

La variación estructural del DNA refleja tres aspectos: las diferentes conformaciones posibles de la desoxirribosa, la rotación alrededor de enlaces adyacentes que constituyen el esqueleto de fosfodesoxirribosa (Fig. 8-18a) y la libre rotación en torno del enlace glucosídico C-1'-N (Fig. 8-18b). Debido a impedimentos estéricos los nucleótidos purinicos y pirimidinicos están limitados a dos conformaciones estables de la desoxirribosa que se denominan *syn* y *anti* (Fig. 8-18b). Las pirimidinas están limitadas generalmente a la conformación

anti a causa de la interferencia estérica entre el azúcar y el oxígeno carbonílico C-2 de la pirimidina.

La estructura de Watson y Crick se conoce también como **forma B del DNA** o DNA B. La forma B es la estructura más estable que puede adoptar un DNA de secuencia al azar en condiciones fisiológicas y es el punto de referencia estándar en los estudios sobre las propiedades del DNA. Las **formas A** y **Z** del DNA son dos variantes estructurales que han sido caracterizadas a fondo en estructuras cristalinas. Estas tres conformaciones del DNA se muestran en la Figura 8-19. La forma A predomina en disoluciones relativamente pobres en agua. El DNA está todavía estructurado en una doble hélice dextrógira,



FIGURA 8-19 Comparación de las formas A, B y Z del DNA. Todas tienen 36 pares de bases. Las bases se muestran en gris, los fosfatos en amarillo y las ribosas y los oxígenos de los fosfatos en azul. El color azul es usado en los restantes capítulos para representar las hebras del DNA. La tabla resume algunas propiedades de las tres formas del DNA.

pero la hélice es más gruesa y el número de pares de bases por vuelta es de 11, en lugar de los 10,5 del DNA B. El plano de los pares de bases de la forma A tiene una inclinación de unos 20° con respecto al eje de la hélice. Estos cambios estructurales hacen que el surco ancho sea más profundo y el surco estrecho más superficial. Los reactivos utilizados para promover la cristalización del DNA tienden a deshidratarlo y por eso muchos DNA cortos cristalizan en forma A.

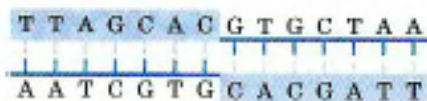
El DNA Z supone una desviación mucho más radical de la forma B; la diferencia más clara es la rotación a izquierdas (levógira) de la hélice. Contiene 12 pares de bases por vuelta y la estructura es más delgada y alargada. Las cadenas del DNA adoptan un plegamiento en zigzag. Ciertas secuencias de nucleótidos se pliegan más fácilmente que otras en hélices Z levógiras. Los ejemplos más característicos son las secuencias en las que se alternan pirimidinas y purinas, sobre todo aquellas en las que se alternan C y G o 5-metil-C y G. Con el fin de formar la doble hélice levógira del DNA Z las purinas adoptan la conformación *syn* y las pirimidinas conservan la conformación *anti*. En el DNA Z el surco mayor es apenas perceptible, mientras que el surco menor es estrecho y profundo.

No está claro aún que el DNA A se halle en las células, pero hay datos a favor de la presencia de fragmentos cortos (zonas) de DNA Z en procariontes y eucariotas. Estas regiones pueden tener un papel en la regulación de la expresión de algunos genes o en la recombinación genética.

Algunas secuencias de DNA adoptan estructuras no habituales

Se han encontrado, dentro de cromosomas grandes, otras variaciones estructurales dependientes de la secuencia que pueden afectar a las funciones y al metabolismo de fragmentos de DNA situados en su inmediata vecindad. Por ejemplo, siempre que se encuentren cuatro o más adeninas consecutivas en una

Palíndromo



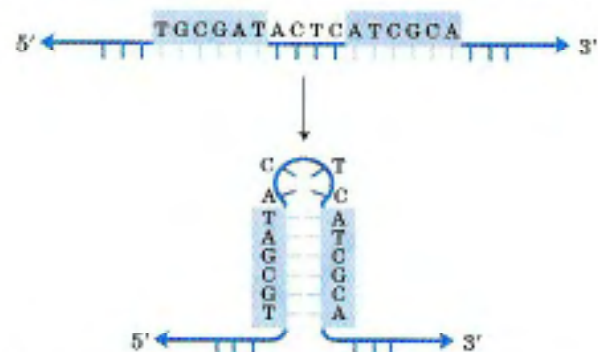
Repetición especular



FIGURA 8-20 Palíndromos y repeticiones especulares. Los palíndromos son secuencias de los ácidos nucleicos de doble cadena que poseen un eje binario de simetría. Para superponer una repetición (secuencia sombreada) sobre la otra debe realizarse una rotación de 180° alrededor del eje horizontal y posteriormente otra alrededor del eje vertical, tal como muestran las flechas coloreadas. Por su parte, una repetición especular presenta una secuencia simétrica en cada hebra. La superposición de una repetición sobre la otra implica una única rotación alrededor del eje vertical.

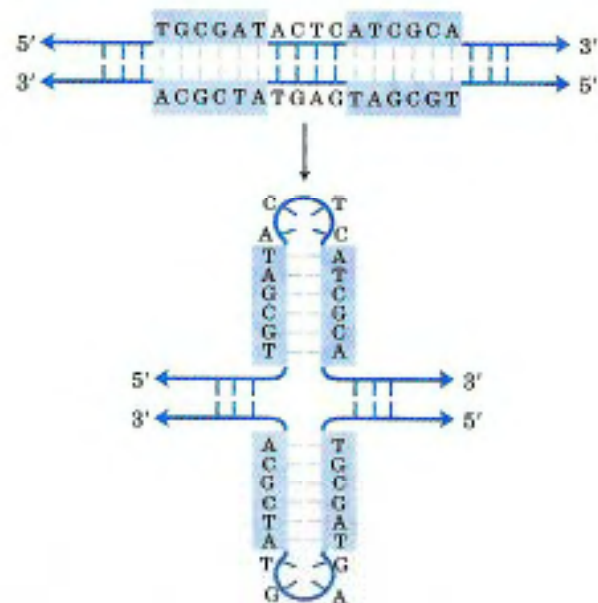
de las hebras se produce la curvatura de la hélice. Seis adeninas seguidas causan una curvatura de aproximadamente 18° . La curvatura producida por ésta y otras secuencias puede tener importancia en la unión de algunas proteínas al DNA.

Un tipo de secuencia bastante común en el DNA es el **palíndromo**. Un palíndromo es una palabra, frase o verso que suena igual leyéndola del derecho o del revés; por ejemplo, "Dáble arroz a la zorra el abad". Este término se aplica a regiones del DNA con **repeticiones invertidas** de secuencia de bases con simetría binaria en las dos hebras del DNA (Fig. 8-20). Estas secuencias son autocomplementarias en cada una de las hebras y tienen el potencial de formar estructuras en **horquilla** o estructuras **cruciformes** (Fig. 8-21). Cuando la secuencia repetida invertida se encuentra en ambas hebras del DNA, recibe el nombre de **repetición especular**. Las repeti-



(a)

Horquilla



(b)

Cruciforme

FIGURA 8-21 Horquillas y cruciformes. Las secuencias palíndromicas del DNA (o del RNA) pueden formar estructuras alternativas mediante apareamiento de bases intracatenario. (a) Cuando está implicada únicamente una de las hebras del DNA (o del RNA) se denomina estructura en horquilla. (b) Cuando están implicadas las dos hebras de un dúplex de DNA, la estructura se denomina cruciforme. El sombreado en azul resalta las secuencias asimétricas que pueden aparearse alternativamente con una secuencia complementaria en la misma hebra o en la hebra opuesta.

ciones especulares no tienen secuencias complementarias en la misma hebra y no pueden formar estructuras en horquilla o cruciformes. Secuencias de este tipo existen en casi todas las moléculas de DNA grandes y pueden ocupar entre unos pocos y varios miles de pares de bases. Se desconoce en qué medida los palíndromos adoptan la estructura cruciforme en las células; en *E. coli*, se ha demostrado la existencia in vivo de algunas estructuras cruciformes. Las secuencias autocomplementarias hacen que las hebras sencillas de DNA (o RNA) aisladas se plieguen en disolución en forma de estructuras complejas con múltiples horquillas.

Varias estructuras inusuales del DNA constan de tres o cuatro hebras de DNA. Estas variantes estructurales merecen ser estudiadas porque suelen ser los lugares donde comienzan

o son regulados importantes procesos del metabolismo del DNA (replicación, recombinación, transcripción). Los nucleótidos que participan en los pares de bases de Watson y Crick (Figura 8-11) pueden formar puentes de hidrógeno adicionales, sobre todo con los grupos funcionales que se encuentran en el surco mayor. Por ejemplo, un residuo de citidina (si está protonado) puede aparearse con la guanósina de un par de bases G=C, y la timidina puede aparearse con la adenósina de un par de bases A=T (Figura 8-22). Los átomos N-7, O⁶ y N⁶ de las purinas, que participan en los puentes de hidrógeno del DNA triplex, son conocidos como **posiciones de Hoogsteen** y el apareamiento, que no sigue el patrón de Watson y Crick, se denomina **apareamiento de Hoogsteen**, en honor de Karst Hoogsteen, quien en 1963 sugirió por primera vez la po-

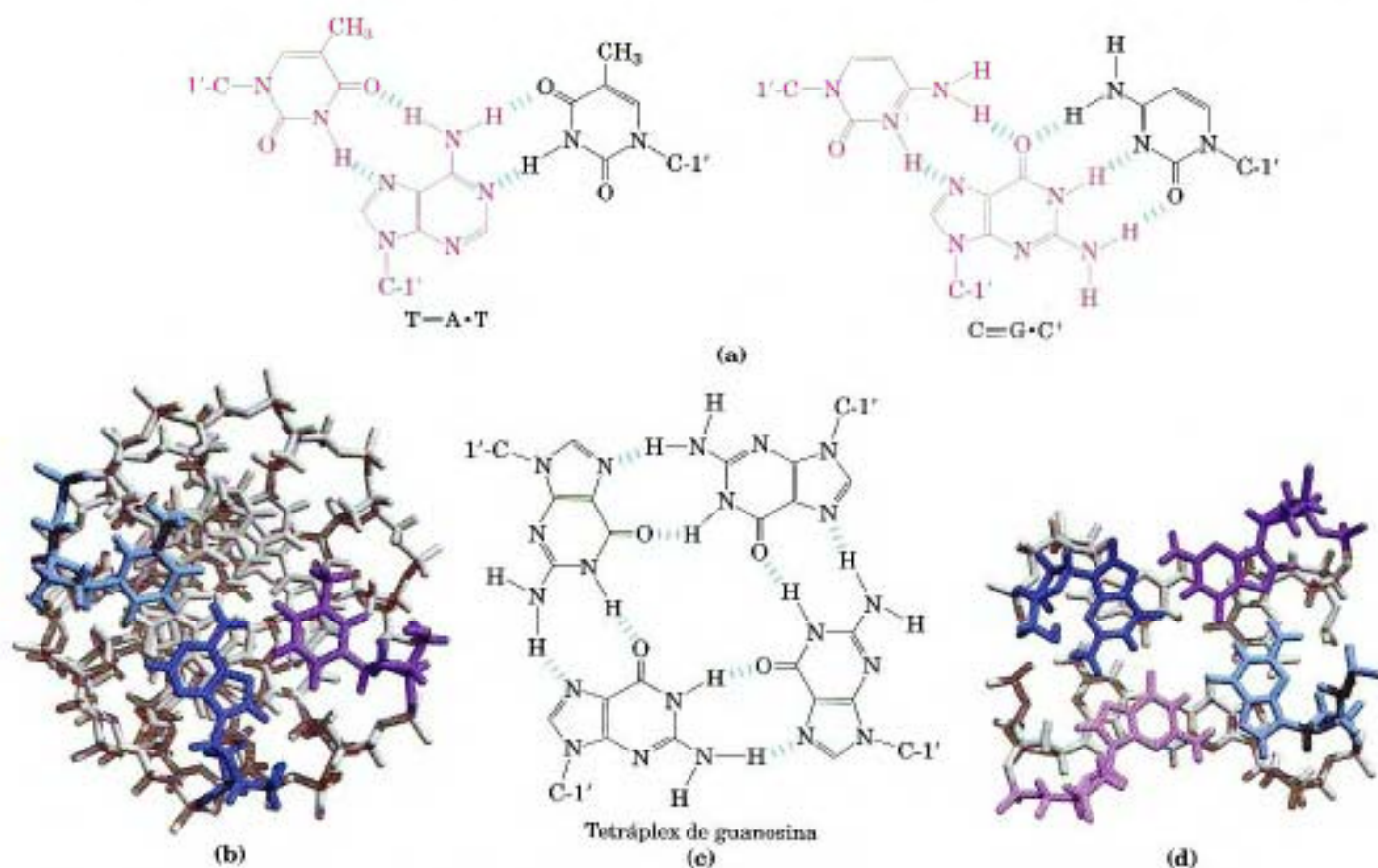


FIGURA 8-22 Estructuras de DNA con tres y cuatro hebras. (a) Patrones de apareamiento de una forma de DNA triplex bien caracterizada. El par de Hoogsteen se muestra en rojo. (b) DNA de hélice triple con dos hebras de pirimidina [poli (T)] y una hebra de purina [poli (A)] (de PDB ID 1BCE). Las hebras azul oscuro y azul claro son antiparalelas y están asociadas por patrones de apareamiento normales de Watson y Crick. La tercera hebra (toda de pirimidinas) (púrpura) es paralela a la hebra de purina y está apareada con puentes de hidrógeno distintos de los de Watson y Crick. La vista es desde un extremo y se representan cinco tripletes. Sólo el triplete más cercano al observador está coloreado. (c) Patrón de apareamiento de bases en la estructura del tetráplex de guanósina. (d) Dos cuartetos sucesivos de un tetráplex de guanina (tetráplex G) (de PDB ID 1QDG), vistos desde un extremo y con el más cercano al observador en color. (e) Posibles variantes en la orientación de las hebras en un tetráplex G.

sibilidad de esta modalidad de apareamiento. Estos apareamientos permiten la formación de **DNA triplex**. Los triplex mostrados en la Figura 8-22 (a, b) son más estables a pH bajo porque el triplete $C \equiv G \cdot C^+$ requiere una citosina protonada. En el triplex, el pK_a de esta citosina es $>7,5$, mientras que su valor normal es de 4,2. Los triplex también se forman más fácilmente con largas secuencias que contengan sólo pirimidinas o sólo purinas en una de las hebras. Algunos triplex contienen dos hebras de pirimidina y una hebra de purina, otros contienen dos hebras de purina y una de pirimidina.

También es posible el apareamiento de cuatro hebras para formar un tetráplex (también llamado cuadráplex), pero sólo se forma con facilidad en secuencias de DNA con una alta proporción de residuos de guanosina (Fig. 8-22c, d). El tetráplex de guanosina, o **tetráplex G**, es muy estable en un amplio abanico de condiciones. La orientación de las hebras en el tetráplex puede variar, como se muestra en la Figura 8-22c.

Una estructura muy exótica, conocida como **DNA H**, se halla en regiones de polipurina o de polipirimidina que también incorporen una repetición especular. Un ejemplo sencillo es un fragmento largo de residuos de T y C alternados (Figura 8-23). El DNA H se caracteriza por una estructura en triple cadena [Fig. 8-22 (a, b)]. Dos de las tres hebras del DNA H contienen pirimidinas y la tercera purinas.

En el DNA celular, los sitios de reconocimiento de muchas proteínas que se unen a secuencias específicas (Capítulo 28) tienen secuencias palindrómicas y en las regiones implicadas en la regulación de la expresión de algunos genes eucarióticos se encuentran secuencias de polipurina y polipirimidina que pueden formar hélices triples o incluso DNA H. En principio, hebras de DNA sintético, diseñadas para aparearse con estas secuencias y formar hélices triples, podrían alterar la expresión génica. El control del metabolismo celular mediante estos métodos tiene cada vez mayor importancia comercial por sus potenciales aplicaciones en medicina y agricultura.

Los RNA mensajeros codifican las cadenas polipeptídicas

Vamos a desviar momentáneamente nuestra atención de la estructura del DNA a la expresión de la información genética que contiene. El RNA, el segundo tipo de ácido nucleico de la célula, desempeña muchas funciones. En la expresión génica, actúa como intermediario en la conversión de la información codificada en el DNA en la secuencia de aminoácidos de las proteínas funcionales.

En los eucariotas, el DNA se encuentra en su mayor parte confinado en el núcleo, mientras que la síntesis de proteínas tiene lugar en los ribosomas del citoplasma. Por lo tanto, una molécula distinta del DNA debe transportar el mensaje genético necesario para la síntesis de proteínas desde el núcleo hasta el citoplasma. Ya en la década de 1950, el RNA fue considerado como el candidato lógico; se encuentra tanto en el núcleo como en el citoplasma y el aumento de la síntesis proteica está acompañado de un aumento de la cantidad de RNA en el citoplasma y de un aumento de su velocidad de recambio. Éstas y otras observaciones impulsaron a algunos investigadores

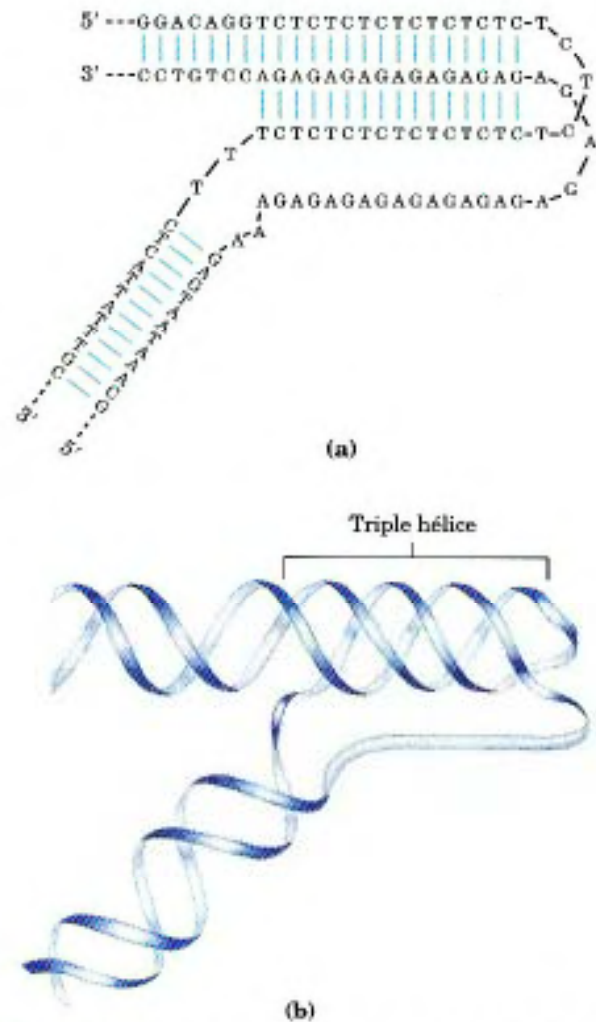


FIGURA 8-23 DNA H. (a) Una secuencia de residuos T y C alternados puede considerarse como una repetición especular centrada en uno de los residuos de T o C centrales. (b) Estas secuencias forman una estructura no habitual en la que las hebras de la mitad de la repetición especular están separadas y la hebra que contiene las pirimidinas (residuos de T y C alternos) está plegada sobre la otra mitad, formando una hélice triple. La hebra de purinas (en la que se alternan residuos de A y G) queda sin aparear. Esta estructura produce una curva cerrada en el DNA.

a proponer que el RNA transporta la información genética desde el DNA hasta los ribosomas, donde se sintetizan las proteínas. En 1961, François Jacob y Jacques Monod presentaron una teoría unificada (esencialmente correcta) de los diversos aspectos de este proceso. Propusieron el nombre de RNA mensajero (mRNA) para la porción de RNA celular total que traslada la información genética desde el DNA a los ribosomas, donde los mensajeros actúan como molde para especificar las secuencias de aminoácidos de las cadenas polipeptídicas. A pesar de que la longitud de los mRNA de genes diferentes puede variar mucho, los mRNA de un gen determinado tienen normalmente un tamaño definido. El proceso de formación del mRNA sobre un molde de DNA se conoce como transcripción.

En los procariotas, una única molécula de mRNA puede codificar una o varias cadenas polipeptídicas. Si únicamente

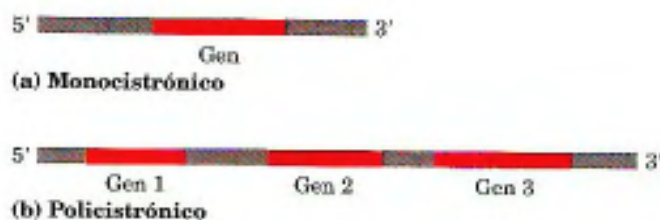


FIGURA 8-24 mRNA procariótico. Diagramas esquemáticos de un mRNA monocistrónico (a) y de otro policistrónico (b) de procariotas. Los segmentos rojos representan al RNA que codifica un producto génico; los segmentos grises representan RNA no codificante. En el transcrito policistrónico, los tres genes están separados por RNA no codificante.

contiene información para la síntesis de un solo polipéptido, el mRNA es **monocistrónico**; si codifica dos o más polipéptidos diferentes, el mRNA es **policistrónico**. Los mRNA eucarióticos son, en su mayoría, monocistrónicos. (El término "cistrón", en lo que respecta a esta discusión, es sinónimo de un gen. El término tiene sus raíces históricas en la genética, pero su definición genética rigurosa va más allá del ámbito de este texto.) La longitud mínima de un mRNA viene determinada por la longitud de la cadena polipeptídica que codifica. Por ejemplo, una cadena polipeptídica de 100 residuos aminoácidos requiere una secuencia codificante de RNA de al menos 300 nucleótidos, puesto que cada aminoácido está codificado por un triplete de nucleótidos (éste y otros detalles de la síntesis proteica son tratados en el Capítulo 27). Sin embargo, los mRNA transcritos a partir del DNA son siempre un poco más largos de lo estrictamente necesario para codificar una secuencia (o secuencias) polipeptídica(s). El RNA no codificante adicional incluye secuencias que regulan la síntesis proteica. En la Figura 8-24 se resume la estructura general de los mRNA procarióticos.

Muchos RNA tienen estructuras tridimensionales complejas

El RNA mensajero es sólo una de las varias clases de RNA celulares. Los RNA de transferencia actúan como moléculas adaptadoras en la síntesis proteica; unidos covalentemente a un aminoácido por un extremo, se aparean con el mRNA de forma que los aminoácidos se unen a la cadena polipeptídica en proceso de crecimiento con la secuencia correcta. Los RNA ribosómicos son componentes de los ribosomas. También se conoce una amplia variedad de RNA con funciones especiales, incluyendo algunos con actividad enzimática (denominados ribozimas). Todos ellos se describen en detalle en el Capítulo 26. Las diversas y a menudo complejas funciones de estos RNA son reflejo de una diversidad de estructuras mucho más rica que la observada en el DNA.

El producto de la transcripción del DNA es siempre un RNA de cadena sencilla. Las monohebras tienden a adoptar una conformación helicoidal dextrógira, determinada por las interacciones de apilamiento de las bases (Fig. 8-25). Las interacciones de apilamiento son más fuertes entre dos purinas que entre

una purina y una pirimidina o entre dos pirimidinas. La interacción purina-purina es tan fuerte que una pirimidina que se encuentre entre dos purinas suele ser desplazada de la estructura de bases apiladas para que las dos purinas puedan interactuar. Cualquier secuencia autocomplementaria de la molécula dará lugar a estructuras más complejas. El RNA puede formar pares de bases con regiones complementarias de RNA o de DNA. Las reglas estándar de apareamiento son idénticas a las del DNA: G se aparea con C y A con U (o con los raros residuos de T de algunos RNA). Una diferencia es que el apareamiento entre residuos de G y U, muy raro en el DNA, es bastante frecuente en el RNA (Fig. 8-27). Las hebras de RNA o de RNA y DNA se aparean de modo antiparalelo, como en el DNA.

A diferencia de la doble hélice del DNA, no existe una estructura secundaria regular y simple que pueda servir de referencia para la estructura del RNA. Las estructuras tridimensionales de muchos RNA, al igual que en las proteínas, son complejas y únicas. Las interacciones débiles, y en especial las interacciones de apilamiento de las bases, tienen un papel importante en la estabilización de la estructura, al igual que en el DNA. Allí donde se encuentran secuencias complementarias, la estructura en doble hebra predominante es la que equivale a la doble hélice dextrógira en forma A. En el laboratorio se han conseguido hélices en forma Z (en condiciones de alta fuerza iónica o elevada temperatura). No se ha observado la forma B en el RNA. Son frecuentes las interrupciones en la hélice A regular a causa de bases no apareadas o incorrectamente apareadas en una o en las dos hebras y ello da lugar a la formación de protuberancias o bucles internos (Fig. 8-26). Los bucles en



FIGURA 8-25 Típico apilamiento dextrógira de un RNA de cadena sencilla. Las bases se muestran en color gris, los átomos de fósforo en amarillo y las ribosas y los oxígenos de los fosfatos en verde. El verde es usado en los siguientes capítulos para representar el RNA, del mismo modo que el azul se usa para representar el DNA.

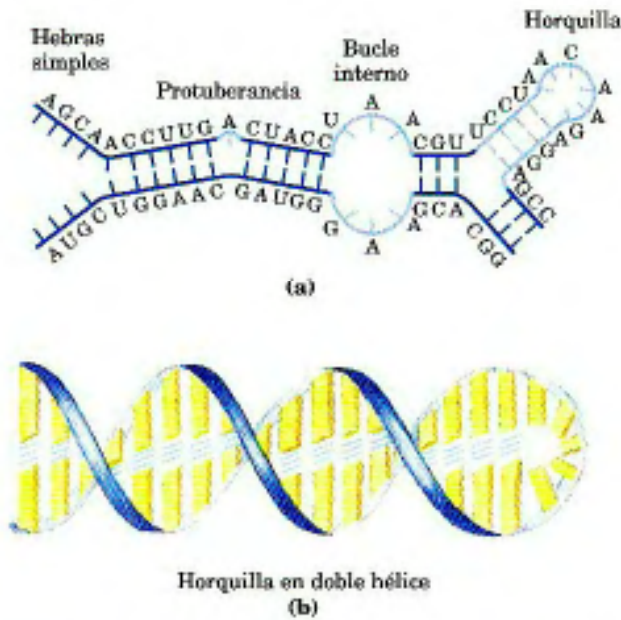
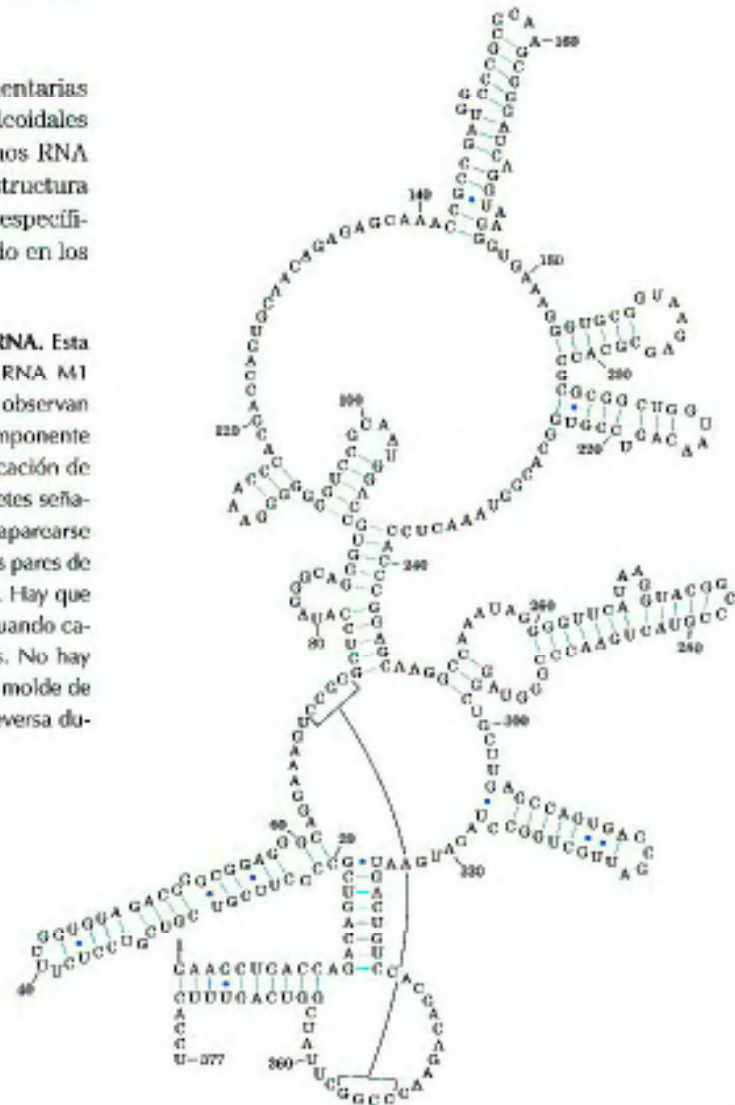
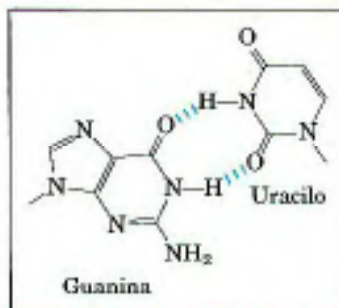


FIGURA 8-26 Estructura secundaria del RNA. (a) Protuberancia, bucle interno y bucle en horquilla. (b) Las regiones apareadas adoptan generalmente una estructura en hélice dextrógira en la forma A, como se muestra para una horquilla.

horquilla se forman entre secuencias autocomplementarias cercanas. El potencial de formación de estructuras helicoidales con apareamiento de bases es muy grande en muchos RNA (Fig. 8-27) y las horquillas resultantes son el tipo de estructura secundaria más común en el RNA. Ciertas secuencias específicas cortas, tales como UUCG, se encuentran a menudo en los

FIGURA 8-27 Estructuras helicoidales apareadas de un RNA. Esta ilustración muestra la posible estructura secundaria del RNA M1 componente del enzima RNasa P de *E. coli*, en la que se observan muchas horquillas. La RNasa P contiene también un componente proteico (no representado). Este enzima actúa en la modificación de los RNA de transferencia (véase Fig. 26-23). Los dos corchetes señalan secuencias complementarias adicionales que pueden aparearse en la estructura tridimensional. Los puntos azules indican los pares de bases G—U (en el recuadro) que no son de Watson y Crick. Hay que señalar que los pares de bases G—U se forman solamente cuando cadenas de RNA presintetizadas se pliegan sobre sí mismas. No hay RNA polimerasas (los enzimas que sintetizan RNA sobre un molde de DNA) que inserten un U enfrente de un molde de C o viceversa durante la síntesis de RNA.



extremos de las horquillas de RNA y se ha observado que forman bucles particularmente rígidos y estables. Es posible que estas secuencias tengan un papel importante en la nucleación del plegamiento de las moléculas de RNA en su estructura tridimensional precisa. Otros enlaces de hidrógeno diferentes a los enlaces estándar definidos por los apareamientos de Watson y Crick también contribuyen a la estructura. Por ejemplo, el grupo 2'-hidroxilo de la ribosa puede formar un enlace de hidrógeno con otros grupos. Algunas de estas propiedades pueden comprobarse con claridad en la estructura del fenilalanina-tRNA de levadura —el tRNA responsable de insertar residuos de Phe en los polipéptidos— y en dos erzimas de RNA o ribozimas, cuyas funciones, como las de las proteínas erzimáticas, dependen de la estructura tridimensional (Fig. 8-28).

El análisis de la estructura del RNA y de la relación entre estructura y función es un tema emergente de investigación, que presenta un grado de complejidad equivalente al del análisis de la estructura de las proteínas. La importancia del conocimiento de la estructura del RNA crece a medida que aumenta la información sobre el número de funciones que estas moléculas llevan a cabo.

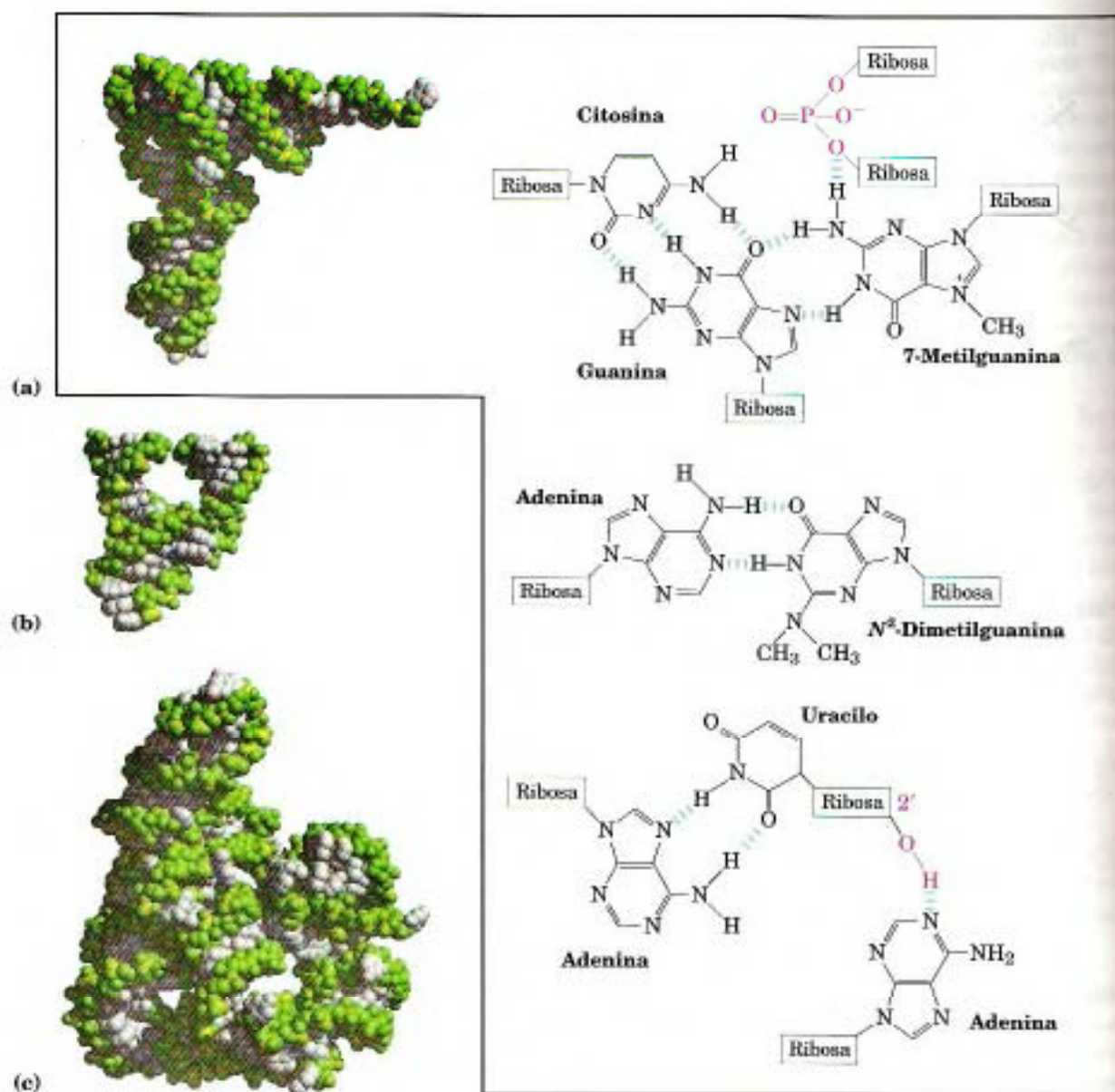


FIGURA 8-28 Estructura tridimensional del RNA. (a) Estructura tridimensional del fenilalanina-tRNA de levadura (PDB ID 1TRA). En este tRNA se encuentran algunos apareamientos de bases no habituales. Obsérvese también la participación de un oxígeno de la ribosa del enlace fosfodiéster en un enlace de hidrógeno, y de un grupo 2'-hidroxilo en otro (ambos en rojo). (b) Ribozima en cabeza de martillo (llamado así porque la estructura secundaria en el centro activo recuerda a la cabeza de un martillo) de algunos virus vegetales (obtenido de PDB ID 1MME). Los ribozimas, o enzimas de RNA,

catalizan una amplia variedad de reacciones, principalmente del metabolismo del RNA y de la síntesis proteica. Las complejas estructuras tridimensionales de estos RNA reflejan la complejidad inherente a la catálisis, tal como se ha descrito para los enzimas proteicos en el Capítulo 6. (c) Segmento de mRNA, con las características de un intrón, del protozoo ciliado *Tetrahymena thermophila* (obtenido de PDB ID 1GRZ). Este intrón (un ribozima) cataliza su propia escisión entre dos exones en una hebra de mRNA (tratado en el Capítulo 26).

RESUMEN 8.2 Estructura de los ácidos nucleicos

- Hay muchos datos a favor de que el DNA contiene la información genética. En concreto, el experimento de Avery-MacLeod-McCarty reveló que el DNA aislado de una cepa bacteriana puede incorporarse y transformar las células de otra cepa, confiriéndoles algunas de las características heredables de la cepa

donante. El experimento de Hershey-Chase mostró que el DNA de un virus bacteriano, pero no así su cápside proteica, contiene el mensaje genético para la replicación del virus en la célula huésped.

- Como resultado de la síntesis de muchos datos publicados, Watson y Crick propusieron que el DNA nativo consiste en dos cadenas antiparalelas dispuestas en forma de doble hélice dextrógira. Los

pares de bases complementarios A=T y G=C se forman mediante puentes de hidrógeno dentro de la hélice. Los pares de bases están apilados perpendicularmente al eje mayor de la doble hélice, separados por 3,4 Å y con 10,5 pares de bases por vuelta.

- El DNA puede adoptar diferentes formas estructurales. Dos variantes de la forma de Watson y Crick, o DNA B, son el A y el Z. Algunos cambios dependientes de secuencia provocan la curvatura de la molécula de DNA. Hebras de DNA con secuencias apropiadas pueden formar bucles en horquilla/cruciformes o DNA triplex o tetráplex.
- El RNA mensajero transfiere la información genética del DNA a los ribosomas para la síntesis proteica. El RNA de transferencia y el RNA ribosómico también están implicados en la síntesis proteica. El RNA puede ser estructuralmente complejo; las cadenas sencillas de RNA pueden formar horquillas, regiones de doble cadena y bucles complejos.

8.3 Química de los ácidos nucleicos

Para entender las funciones de los ácidos nucleicos, debemos conocer sus propiedades químicas y sus estructuras. En el DNA, el papel de depositario de la información genética depende en parte de su estabilidad intrínseca. Las transformaciones químicas del DNA en ausencia de un catalizador enzimático son generalmente muy lentas. Sin embargo, el almacenamiento de la información a largo plazo sin que sufra alteraciones es tan importante para la célula que incluso reacciones muy lentas que alteren la estructura del DNA pueden tener significado fisiológico. Procesos tales como la carcinogénesis y el envejecimiento pueden estar íntimamente ligados a la lenta acumulación de alteraciones irreversibles en el DNA. También son importantes las alteraciones no destructivas, como la separación de las hebras previa a la replicación o a la transcripción del DNA. Además de proporcionarnos información sobre procesos biológicos, el conocimiento de la química de los ácidos nucleicos nos ha dotado de una poderosa gama de metodologías que tienen aplicación en biología molecular, medicina y medicina legal. A continuación examinaremos las propiedades químicas del DNA y algunas de estas tecnologías.

El DNA y el RNA de doble hélice pueden desnaturizarse

Las disoluciones de DNA nativo que haya sido cuidadosamente aislado son muy viscosas a pH 7,0 y temperatura ambiente (25 °C). Cuando una disolución de estas características se somete a valores extremos de pH o a temperaturas superiores a los 80 °C, su viscosidad desciende rápidamente, lo cual indica que el DNA ha sufrido un cambio en su estado físico. El calor y los valores extremos de pH provocan la desnaturización o la fusión del DNA de doble hélice, del mismo modo que desnaturizan las proteínas globulares. La rotura de los enla-

ces de hidrógeno de los pares de bases y del apilamiento de las bases provoca el desenrollamiento de la doble hélice, ya sea totalmente, dando lugar a dos hebras sencillas completamente separadas una de otra en toda su extensión, o bien parcialmente (desnaturización parcial). La desnaturización no rompe ningún enlace covalente del DNA (Fig. 8-29).

La renaturalización del DNA es un proceso rápido de un solo paso, siempre que todavía exista un segmento en doble hélice de una docena o más residuos que mantenga unidas las dos hebras. Cuando la temperatura y el pH retornan a valores situados dentro de los márgenes biológicos, los segmentos desenrollados de las dos hebras vuelven a enrollarse espontáneamente o a **hibridar** para restablecer el dúplex intacto (Fig. 8-29). Sin embargo, si las dos hebras están completamente separadas, la renaturalización se produce en dos pasos. En el primero, relativamente lento, las dos hebras se "encuentran" mediante colisiones al azar hasta formar un fragmento corto de doble hélice complementaria. El segundo paso es mucho más rápido: las bases no apareadas restantes entran en registro y se aparean sucesivamente como en una "cremallera" para formar la doble hélice.

Las interacciones de apilamiento de las bases de los ácidos nucleicos provocan una disminución de la absorción de la luz UV, en relación con la absorción de una disolución de nucleótidos libres de la misma concentración; la absorción disminuye todavía más cuando se forma la doble cadena. Este fenómeno

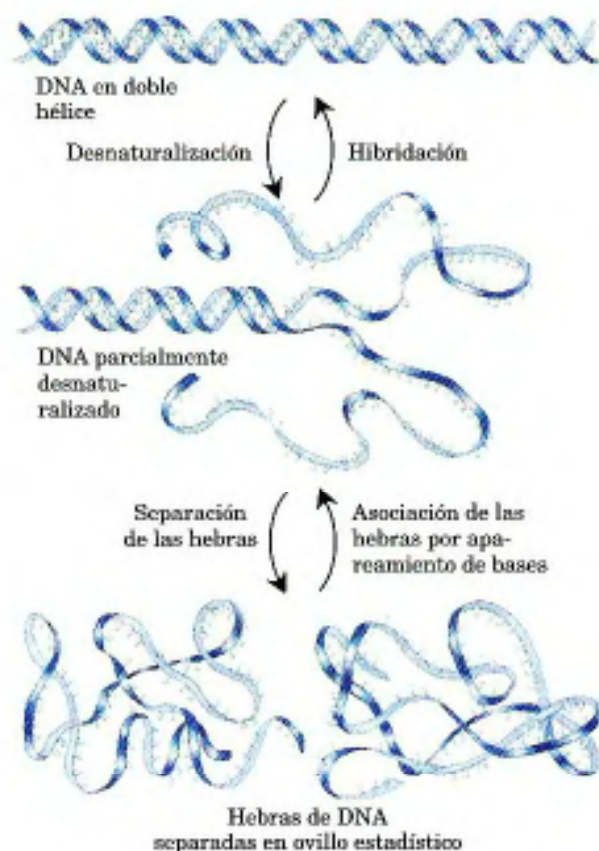
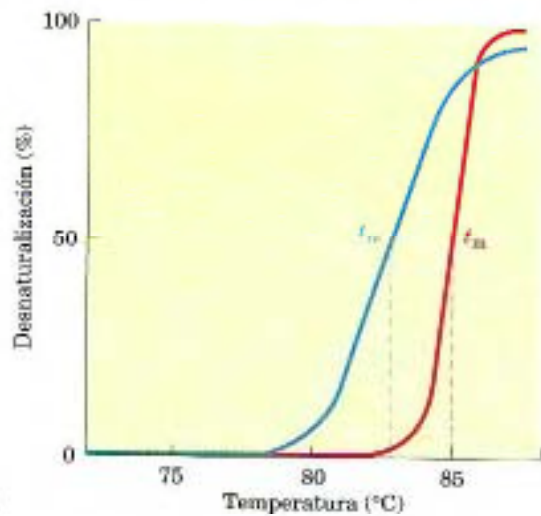


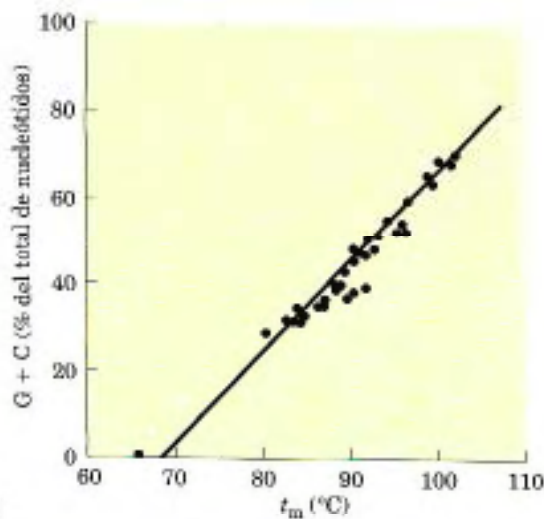
FIGURA 8-29 Desnaturización e hibridación (renaturalización) reversible del DNA.

se denomina efecto hipocrómico. La desnaturalización de un ácido nucleico de doble cadena produce el efecto contrario, es decir, un incremento de la absorción, denominado efecto hiperocrómico. La transición del DNA de cadena doble a la forma de cadena sencilla desnaturalizado puede seguirse, por tanto, midiendo la absorción de luz UV.

Las moléculas de DNA de origen bacteriano o vírico en disolución se desnaturalizan cuando se calientan lentamente (Fig. 8-30). Cada especie de DNA tiene una temperatura de desnaturalización característica, el punto de fusión (t_m): cuanto mayor es el contenido de G=C, más alto es el punto de fusión del DNA. Ello es debido a que los pares de bases G=C, con tres puentes de hidrógeno, requieren más energía calórica para disociarse que los pares A=T. La determinación cuidadosa de la temperatura de fusión de una muestra de DNA, en condiciones de pH y fuerza iónica definidas, puede proporcionar una estimación de su composición en bases. Si se contro-



(a)



(b)

FIGURA 8-30 Desnaturalización térmica del DNA. (a) Desnaturalización o curva de fusión de dos muestras de DNA. La temperatura en el punto medio de la transición (t_m) es el punto de fusión; depende del pH, de la fuerza iónica y del tamaño y composición de bases del DNA. (b) Relación entre la t_m y el contenido de G=C de un DNA.

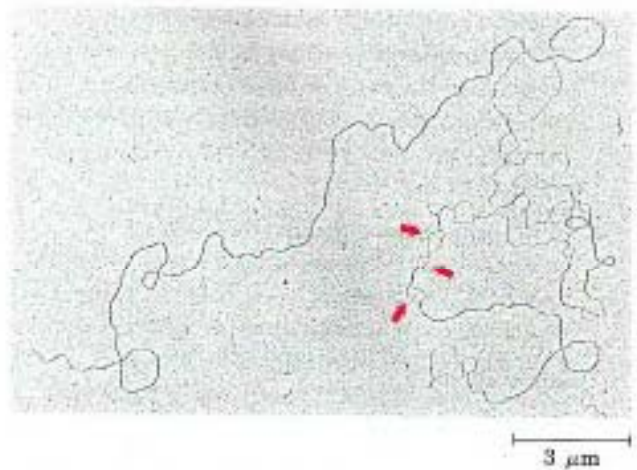


FIGURA 8-31 DNA parcialmente desnaturalizado. Este DNA fue parcialmente desnaturalizado y a continuación fijado para impedir su renaturalización durante la preparación de la muestra. El sombreado empleado para visualizar el DNA en esta micrografía electrónica aumenta su diámetro unas cinco veces e impide ver los detalles de la hélice. Sin embargo, pueden obtenerse medidas de longitud y las regiones de cadena sencilla se distinguen fácilmente de las de cadena doble. Las flechas señalan algunas burbujas de cadena sencilla, donde se ha producido desnaturalización. Las regiones que se desnaturalizan son altamente reproducibles y ricas en pares de bases A=T.

lan las condiciones de desnaturalización, las regiones ricas en pares A=T se desnaturalizarán específicamente, mientras que la mayor parte del DNA seguirá en forma de doble hebra. Estas regiones desnaturalizadas (burbujas) pueden observarse con el microscopio electrónico (Fig. 8-31). La separación de las hebras del DNA *debe* tener lugar in vivo durante procesos como la replicación y la transcripción. Como veremos, los lugares del DNA donde se inician estos procesos suelen ser ricos en pares A=T.

Los ácidos nucleicos de doble hebra formados por dos hebras de RNA o por una de RNA y otra de DNA (híbridos RNA-DNA) también pueden desnaturalizarse. Los dúplex de RNA son más estables que los dúplex de DNA. A pH neutro, un RNA de doble hélice se desnaturaliza a una temperatura 20 °C superior a la temperatura de desnaturalización de una molécula de DNA de secuencia comparable. La estabilidad de un híbrido RNA-DNA es normalmente intermedia entre la del RNA y la del DNA. Se desconoce la base física de estas diferencias de estabilidad térmica.

Los ácidos nucleicos de especies diferentes pueden formar híbridos

La capacidad de dos hebras complementarias de DNA para aparearse entre sí puede ser aprovechada para detectar secuencias de DNA similares en dos especies diferentes o en el genoma de una misma especie. Si los dúplex de DNA aislados de células humanas y de ratón se desnaturalizan completamente por acción del calor y a continuación se mezclan y mantienen a 65 °C durante muchas horas, una gran parte del DNA se renaturalizará. La mayor parte de las cadenas de DNA de

ratón se unirán a cadenas complementarias de DNA de ratón formando un dúplex de DNA de ratón; análogamente, la mayoría de moléculas de DNA humano hibridarán con hebras humanas complementarias. Sin embargo, una parte de las moléculas del DNA de ratón se asociará con DNA humano para dar lugar a **dúplex híbridos**, en los que fragmentos de la cadena de DNA de ratón estarán apareados con fragmentos de DNA humano (Fig. 8-32). Este fenómeno pone de manifiesto una herencia evolutiva común; diferentes organismos poseen generalmente un cierto número de proteínas y RNA con funciones similares y, a menudo, estructuras similares. En muchos casos, los DNA que codifican estas proteínas y estos RNA tienen secuencias similares. Cuanto más cercana sea la relación evolutiva entre dos especies, mayor será el grado de hibridación de sus DNA. Por ejemplo, el DNA humano hibrida mucho más con el DNA de ratón que con el de levadura.

La hibridación de hebras de DNA de origen diferente es la base de un conjunto de poderosas técnicas, esenciales para la práctica de la genética molecular moderna. Es posible detectar un gen o una secuencia específica de DNA en presencia

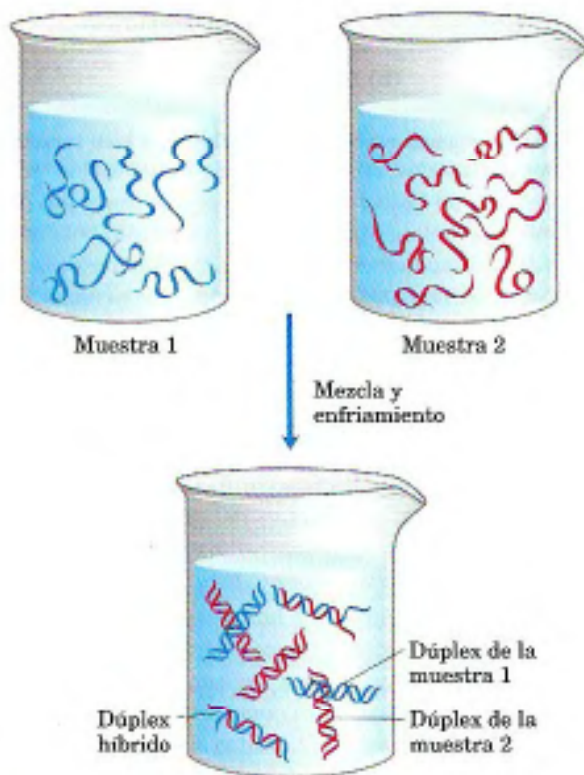


FIGURA 8-32 Hibridación del DNA. Dos muestras de DNA que deben compararse se desnaturalizan completamente por calor. Cuando las dos disoluciones se mezclan y se enfrían lentamente, las hebras de DNA de cada muestra se asocian con las hebras complementarias normales para formar dúplex. Si los dos DNA tienen secuencias que presentan una homología significativa, también tienden a formar dúplex parciales o híbridos entre sí: cuanto más similares sean las secuencias de los dos DNA, mayor será el número de híbridos formados. La formación de híbridos puede medirse usando diferentes procedimientos. Generalmente, uno de los DNA está marcado con un isótopo radiactivo para simplificar las mediciones.

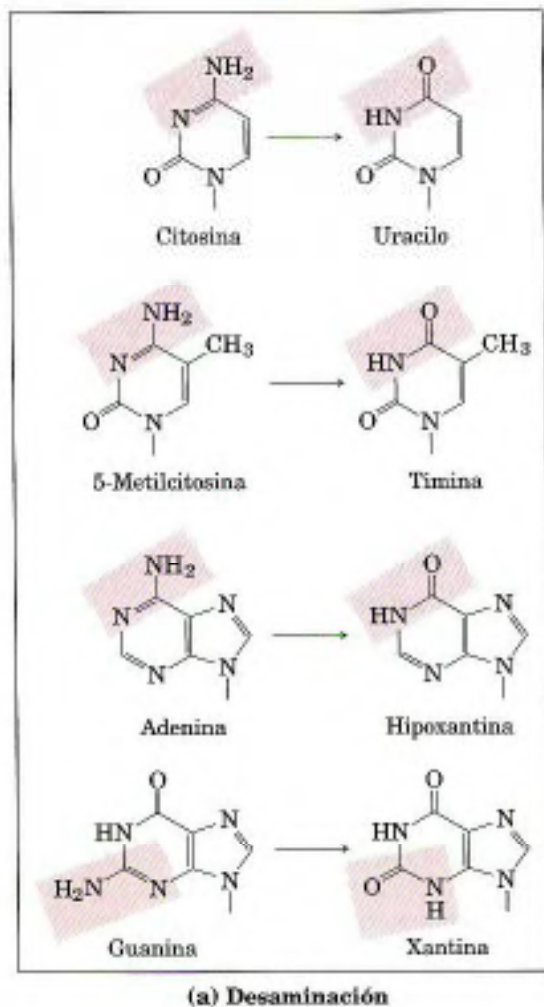
de otras muchas secuencias si se dispone de artemano de la hebra de DNA complementario adecuada (normalmente marcada de algún modo) que pueda hibridarse con ella (Capítulo 9). El DNA complementario puede pertenecer a una especie diferente o a la misma especie; en algunos casos es sintetizado en el laboratorio, utilizando técnicas que se describen más adelante en este capítulo. Las técnicas de hibridación pueden modificarse para detectar un RNA específico en lugar de un DNA. El aislamiento e identificación de genes y RNA específicos se basa en estas técnicas y las nuevas aplicaciones de esta tecnología hacen actualmente posible la exacta identificación de un individuo a partir de un único cabello presente en la escena de un crimen o la predicción de la aparición de ciertas enfermedades en un individuo, décadas antes de que se puedan apreciar los primeros síntomas (véase Recuadro 9-1).

Los nucleótidos y los ácidos nucleicos experimentan transformaciones no enzimáticas

Las purinas y pirimidinas, junto con los nucleótidos de los que forman parte, experimentan una serie de alteraciones espontáneas de su estructura covalente. Estas reacciones son normalmente *muy lentas*, pero resultan fisiológicamente significativas a causa de la muy baja tolerancia de la célula a alteraciones de su información genética. Las alteraciones en la estructura del DNA que dan lugar a cambios permanentes en la información genética codificada por la molécula se denominan **mutaciones**. Hay muchas pruebas a favor de una estrecha relación entre la acumulación de mutaciones en un organismo y los procesos de envejecimiento y el cáncer.

Varias bases sufren la pérdida espontánea de sus grupos amino exocíclicos (desaminación) (Fig. 8-33a). Por ejemplo, en condiciones intracelulares típicas, la desaminación de una citosina (del DNA) para dar lugar a uracilo se produce en aproximadamente una de cada 10^7 citosinas cada 24 h. Ello equivale a unas 100 mutaciones espontáneas por día en una célula de mamífero. La desaminación de la adenina y la guanina es aproximadamente 100 veces más lenta.

La lenta reacción de desaminación de la citosina parece inocua a primera vista, pero es casi con toda seguridad la razón de que el DNA contenga timina en lugar de uracilo. El producto de la desaminación de la citosina (uracilo) es reconocido enseguida como extraño y es eliminado por un sistema de reparación (Capítulo 25). Si el DNA contuviera normalmente uracilo, el reconocimiento de los uracilos procedentes de la desaminación de la citosina sería más difícil y los uracilos no reparados causarían cambios permanentes en la secuencia al aparearse con adeninas en la replicación. La desaminación de la citosina provocaría una disminución gradual en la cantidad de pares de bases $G \equiv C$ y un aumento en los $A = U$ en el DNA de todas las células. En milenios de evolución, la desaminación de la citosina podría acabar con los pares de bases $G \equiv C$ y con el código genético que los utiliza. Es posible que la fijación de la timina como una de las cuatro bases del DNA haya sido un momento crucial de la evolución, que hizo posible el almacenamiento de la información genética a largo plazo.



Otra reacción importante de los desoxinucleótidos es la hidrólisis del enlace *N*- β -glucosídico entre la base y la pentosa (Fig. 8-33b). Esta reacción se da con mucha mayor facilidad en las purinas que en las pirimidinas. En el DNA se pierde una de cada 10^5 purinas cada 24 h en condiciones celulares típicas (10.000 por célula de mamífero). La despurinación de los ribonucleótidos y del RNA es mucho más lenta y normalmente no se considera fisiológicamente significativa. En el laboratorio puede acelerarse la pérdida de purinas por tratamiento con ácido diluido. La incubación del DNA a pH 3 provoca la eliminación selectiva de las bases purínicas y produce un derivado denominado ácido apurínico.

Otras reacciones están favorecidas por ciertos tipos de radiación. La luz UV puede inducir la condensación de dos grupos etileno para formar un anillo de ciclobutano. En la célula, la misma reacción entre bases pirimidínicas adyacentes da lugar a dímeros de pirimidina en ciclobutano. Éstos se observan con mayor frecuencia entre residuos adyacentes de timina en la misma hebra del DNA (Fig. 8-34). Un segundo tipo de dímero de pirimidina, llamado fotoproducto 6-4, también se forma durante la irradiación UV. Las radiaciones ionizantes (rayos X y rayos gamma) pueden provocar la abertura de los anillos y la fragmentación de las bases, así como roturas en el esqueleto covalente de los ácidos nucleicos.

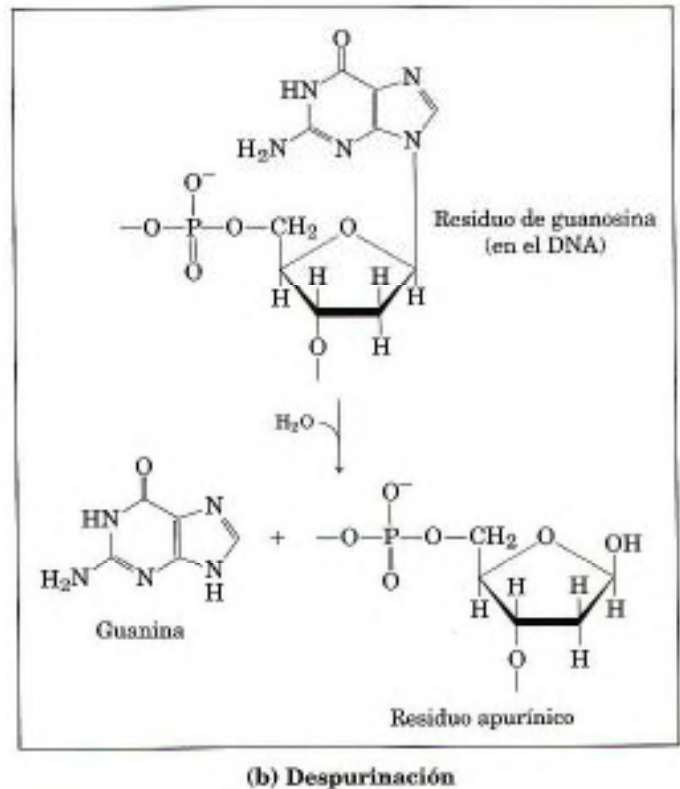


FIGURA 8-33 Algunas reacciones no enzimáticas bien caracterizadas de los nucleótidos. (a) Reacciones de desaminación. Sólo se muestra la base. (b) Despurinación, en la cual se pierde una purina por hidrólisis del enlace *N*- β -glucosídico. La desoxirribosa restante después de la despurinación se convierte rápidamente de la forma β -furanósica a la forma aldehído (véase Fig. 8-3). Otras reacciones no enzimáticas están ilustradas en las Figuras 8-34 y 8-35.

Prácticamente todas las formas de vida están expuestas a la acción de radiaciones de alta energía, capaces de provocar cambios químicos en el DNA. La radiación en la región del UV cercano (con longitudes de onda entre 200 y 400 nm), que representa una porción significativa del espectro solar, puede producir la dimerización de las pirimidinas y otros cambios químicos en el DNA de las bacterias y de las células cutáneas en humanos. Estamos expuestos a un campo permanente de radiación ionizante en forma de rayos cósmicos, que pueden penetrar profundamente en la tierra, así como a radiación emitida por elementos radiactivos tales como radio, plutonio, uranio, radón, ^{14}C y 3H . Los rayos X utilizados en exámenes médicos son otra forma de radiación ionizante. Se estima que los UV y las radiaciones ionizantes son responsables de aproximadamente el 10% del total de lesiones en la estructura del DNA causadas por agentes medioambientales.

El DNA también puede ser dañado por reactivos químicos introducidos en el medio ambiente por la industria. Pueden no ser peligrosos en sí mismos, pero su metabolización por las células puede convertirlos en productos que sí lo sean. Dos clases principales de estos agentes (Fig. 8-35) son: (1) agentes desaminantes, en particular el ácido nítrico (HNO_2) o compuestos que pueden formar metabólicamente ácido nítrico o nitritos, y (2) agentes alquilantes.

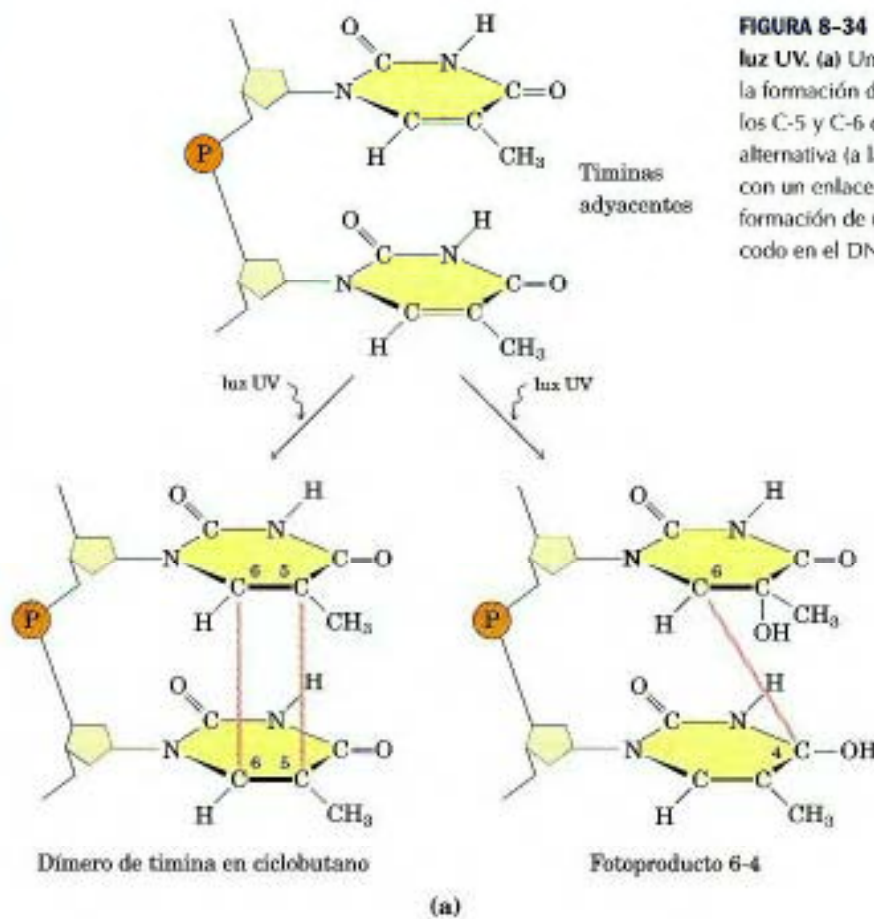
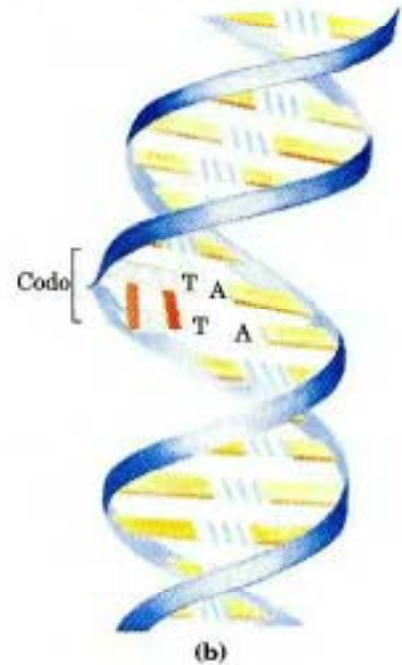
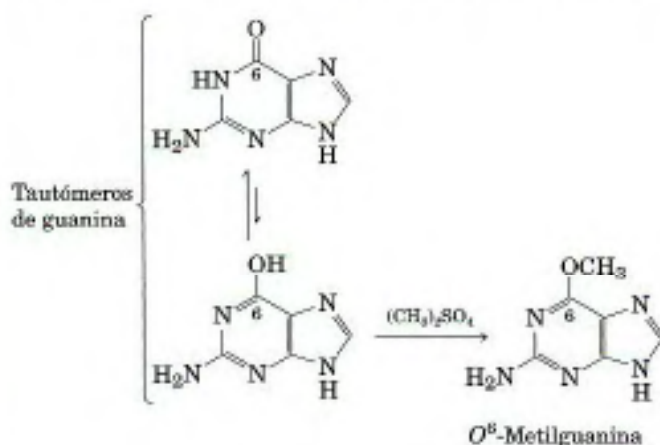


FIGURA 8-34 Formación de dímeros de pirimidina inducida por la luz UV. (a) Un tipo de reacción (a la izquierda) tiene como resultado la formación de un anillo de ciclobutano en el que están implicados los C-5 y C-6 de residuos adyacentes de pirimidina. Una reacción alternativa (a la derecha) tiene como resultado un fotoproducto 6-4, con un enlace entre el C-6 de un residuo y el C-4 del vecino. (b) La formación de un dímero de pirimidina de ciclobutano introduce un codo en el DNA.



El ácido nitroso, formado a partir de precursores orgánicos como nitrosaminas y sales de nitrito y nitrato, es un reactivo que acelera poderosamente la desaminación de las bases. El bisulfito tiene efectos similares. Ambos compuestos se usan como conservantes en alimentos preparados para evitar el crecimiento de bacterias tóxicas. Parece ser que su utilización no aumenta significativamente el riesgo de cáncer, probablemente porque las cantidades empleadas son pequeñas y su efecto sobre el DNA resulta despreciable.

Los agentes alquilantes pueden alterar ciertas bases del DNA. Por ejemplo, el compuesto dimetilsulfato, muy reactivo (Fig. 8-35b), puede metilar un residuo de guanina y dar lugar a *O*⁶-metilguanina, que no puede aparearse con la citosina.



Muchas reacciones similares son producidas por agentes alquilantes normalmente presentes en las células, como por ejemplo la *S*-adenosilmetionina.

Es posible que la fuente más importante de alteraciones mutagénicas en el DNA sean los procesos oxidativos. Las especies que contienen oxígeno reactivo, como el peróxido de hidrógeno, los radicales hidroxilo y los radicales superóxido aparecen durante la irradiación o como productos secundarios del metabolismo aeróbico. De estas especies los radicales hidroxilo son responsables de la mayor parte de las lesiones oxidativas del DNA. Las células poseen un elaborado sistema de defensa para destruir las especies de oxígeno reactivas, del que forman parte enzimas tales como la catalasa y la superóxido dismutasa, que convierten especies de oxígeno reactivas en productos inocuos. Sin embargo, una fracción de estos agentes oxidantes escapa inevitablemente a las defensas celulares y se producen lesiones en el DNA, que resultan de un conjunto amplio y complejo de reacciones que van desde la oxidación de la desoxirribosa y de las bases hasta la rotura de las hebras. Todavía no se dispone de estimaciones exactas sobre el alcance de estas lesiones, pero está claro que el DNA de todas las células humanas está sometido cotidianamente a la acción de millares de reacciones oxidativas perjudiciales.

Lo que antecede es simplemente una muestra de las reacciones que lesionan el DNA mejor conocidas. Muchos compuestos cancerígenos presentes en la comida, el agua o el aire ejercen sus efectos a través de la modificación de las bases del

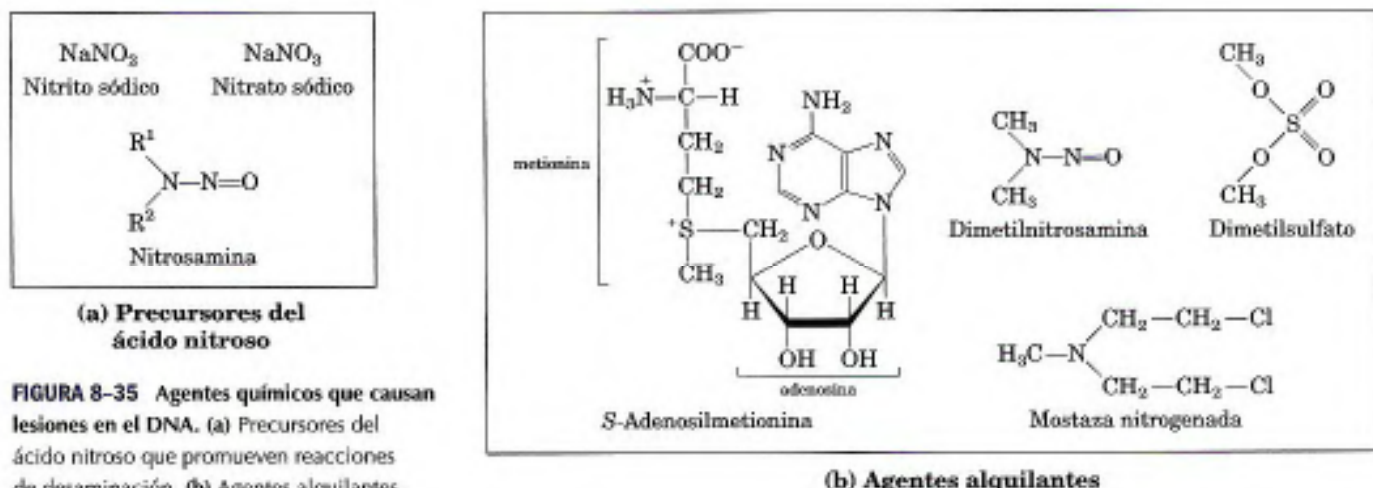


FIGURA 8-35 Agentes químicos que causan lesiones en el DNA. (a) Precursores del ácido nitroso que promueven reacciones de desaminación. (b) Agentes alquilantes.

DNA. En la célula, sin embargo, la integridad del DNA como polímero se mantiene mejor que la del RNA o de las proteínas, gracias a que el DNA es la única macromolécula que posee sistemas bioquímicos de reparación. Estos procesos de reparación (descritos en el Capítulo 25) amortiguan en gran medida el impacto de las lesiones en la estructura del DNA.

Algunas bases del DNA están metiladas

Algunas bases del DNA sufren con frecuencia metilación enzimática. La adenina y la citosina se encuentran metiladas con más frecuencia que la guanina y la timina. La metilación de estas bases suele restringirse a ciertas secuencias o regiones de la molécula de DNA. En algunos casos se conoce la función de la metilación; en otros es todavía desconocida. Todas las DNA metilasas conocidas utilizan *S*-adenosilmetionina como dador de grupos metilo. En *E. coli* existen dos sistemas de metilación principales. Uno de ellos actúa como parte de un mecanismo de defensa celular que ayuda a distinguir el DNA propio de la célula del DNA extraño marcando su propio DNA con grupos metilo y destruyendo el DNA (extraño) que no tiene grupos metilo (conocido como mecanismo de restricción-modificación, descrito en el Capítulo 9). El otro sistema metila los residuos de adenosina en la secuencia (5')GATC(3'), convirtiéndola en *N*⁶-metiladenosina (Fig. 8-5a). Este proceso está catalizado por la Dam metilasa (*DNA adenine methylation*), que funciona como parte de un sistema de reparación de pares de bases incorrectos formados ocasionalmente durante la replicación del DNA (véase Fig. 25-20).

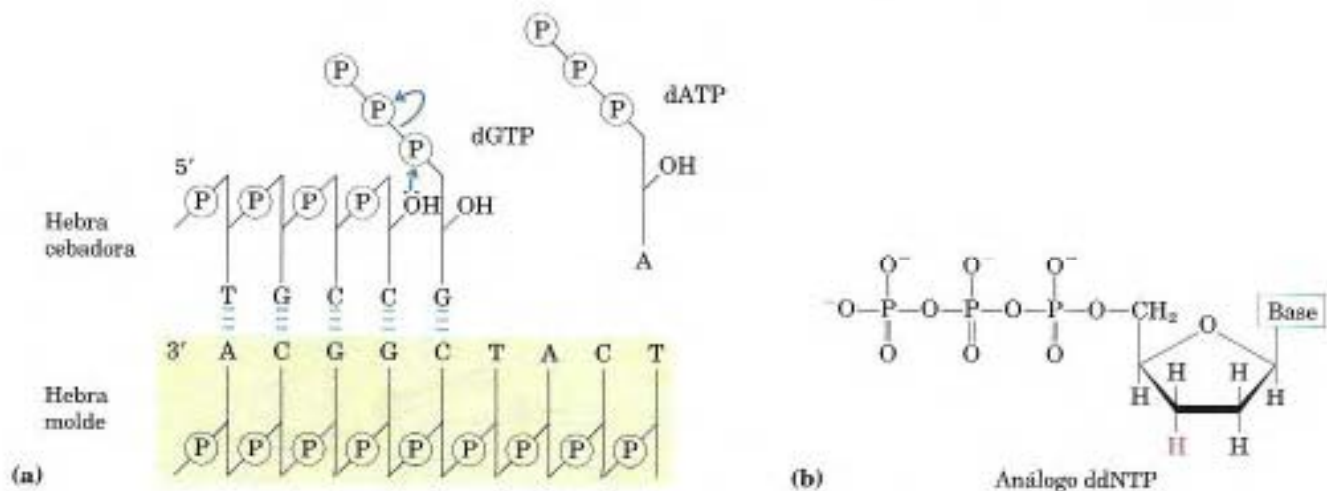
En las células eucarióticas, aproximadamente el 5% de los residuos de citidina del DNA se encuentran metilados en forma de 5-metilcitidina (Fig. 8-5a). La metilación es muy frecuente en las secuencias CpG, lo que origina grupos metil-CpG simétricos en ambas hebras del DNA. El grado de metilación de las secuencias CpG varía en diferentes regiones del DNA eucariótico. La metilación suprime la migración de los segmentos de DNA llamados transposones o elementos transponibles, descritos en el Capítulo 25. La metilación de la citosina también tiene un significado estructural. La presencia de 5-metilcitosina en

una secuencia CpG alternante aumenta considerablemente la tendencia de esta secuencia a adoptar la conformación Z.

Es posible determinar la secuencia de largas cadenas de DNA

La propiedad más importante del DNA como depositario de la información genética es su secuencia de nucleótidos. Hasta finales de la década de 1970, determinar la secuencia de un ácido nucleico de tan sólo cinco o diez nucleótidos era una tarea difícil y laboriosa. El desarrollo de dos nuevas técnicas en el año 1977, una por Alan Maxam y Walter Gilbert y la otra por Frederick Sanger, hizo posible la secuenciación de moléculas de DNA muy largas con una facilidad inimaginable hacia tan sólo unas pocas décadas. Estas técnicas se desarrollaron gracias a una mejor comprensión de la química de los nucleótidos y del metabolismo del DNA y se basan en métodos electroforéticos que permiten la separación de hebras de DNA que difieren en un solo nucleótido. La electroforesis de DNA es similar a la de proteínas (véase Fig. 3-19). Frecuentemente se utiliza poliacrilamida como matriz de los geles en el análisis de DNA cortos (hasta unos centenares de nucleótidos); para la separación de DNA más largos se emplea normalmente agarosa.

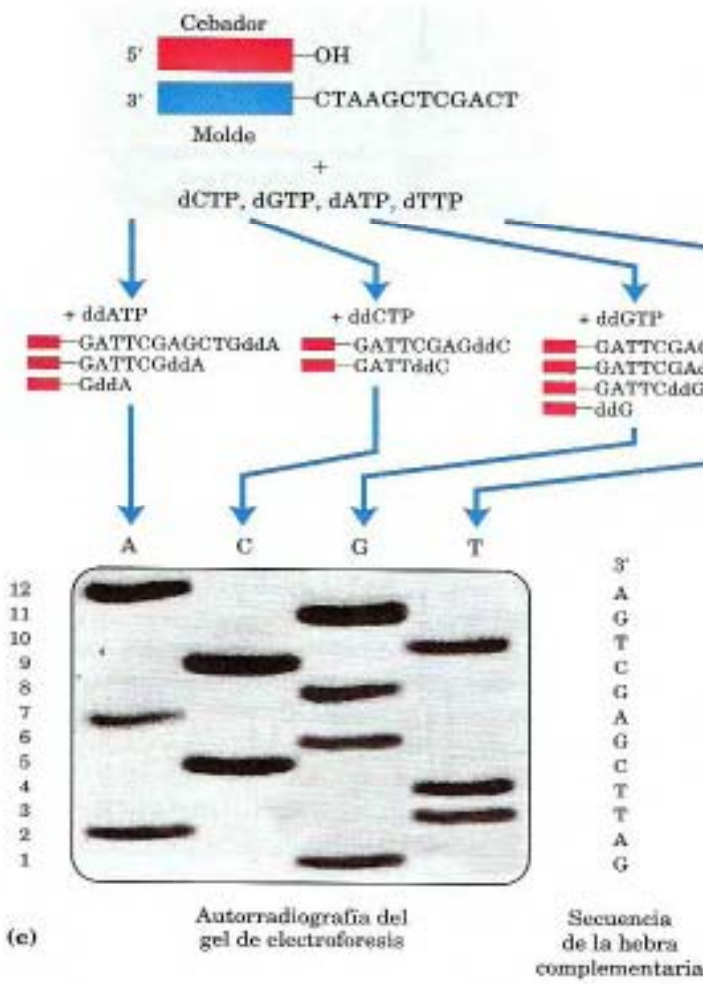
Tanto en el método de Sanger como en el de Maxam y Gilbert, el principio general consiste en generar cuatro grupos de fragmentos marcados. La reacción que da lugar a cada uno de los grupos es específica de base, de manera que las longitudes de los fragmentos corresponden a posiciones de la secuencia del DNA donde se halla una determinada base. Por ejemplo, en el caso de un oligonucleótido de secuencia pAATCGACT, marcado en el extremo 5' (el extremo de la izquierda), una reacción que corte el DNA después de cada C generará dos fragmentos marcados de cuatro y siete nucleótidos, mientras que una reacción que corte el DNA después de cada G tan sólo generará un fragmento marcado de cinco nucleótidos. Al estar los fragmentos marcados radiactivamente en el extremo 5', sólo se observarán los fragmentos del lado 5' del corte. Los tamaños de los fragmentos corresponden a las posiciones relativas de los residuos C y G en la secuencia. Cuando se separan por elec-



troforesis en el mismo gel los grupos de fragmentos correspondientes a cada una de las cuatro bases, se produce un "escalonado" de bandas a partir del cual puede leerse directamente la secuencia de bases (Fig. 8-36). Mostramos solamente el método de Sanger porque es de uso más general y es técnicamente más sencillo. Este método requiere la síntesis enzimática de una hebra de DNA complementaria a la hebra analizada, usando

FIGURA 8-36 Secuenciación del DNA por el método de Sanger. Este método utiliza el mecanismo de síntesis de DNA por las DNA polimerasas (Capítulo 25). (a) Las DNA polimerasas requieren un cebador (un oligonucleótido corto) al que añadir los nucleótidos y una hebra molde que dirija la selección de cada uno de los nuevos nucleótidos que han de incorporarse a la secuencia. En las células, el grupo hidroxilo en 3' del cebador reacciona con el desoxinucleósido trifosfato entrante (dNTP), formando un nuevo enlace fosfodiéster. (b) El procedimiento de secuenciación de Sanger utiliza análogos del tipo didesoxinucleósido trifosfato (ddNTP) para interrumpir la síntesis del DNA. (El método de Sanger también es conocido como el método de los didesoxi.) Cuando se inserta un ddNTP en lugar de un dNTP se detiene la continuación de la cadena a causa de la ausencia del grupo hidroxilo en 3' en el análogo, necesario para la siguiente reacción.

(c) El DNA que se ha de secuenciar se utiliza como hebra molde y se hibrida con un cebador corto, marcado con radiactividad o con fluorescencia. Mediante la adición de pequeñas cantidades de un único ddNTP, por ejemplo ddCTP, a una reacción por lo demás normal, las hebras sintetizadas detendrán su crecimiento en algunas posiciones en las que normalmente se encuentre dC. A consecuencia de la mayor cantidad de dCTP en relación a ddCTP, la probabilidad de que se incorpore el análogo en los casos en que deba incorporarse dC es pequeña. Sin embargo, la cantidad de ddCTP es suficientemente grande para asegurar que cada nueva hebra sintetizada incorpore al menos un ddC en algún punto durante la síntesis. El resultado es una disolución que contiene una mezcla de fragmentos marcados acabados en un residuo de C. Cada residuo de C genera un conjunto de fragmentos de una longitud determinada, de forma que el tamaño de los fragmentos, separados por electroforesis, indica la localización de los residuos C en la secuencia. Este procedimiento se repite separadamente para cada uno de los cuatro ddNTP y la secuencia puede leerse directamente a partir de una autorradiografía del gel. Los fragmentos de DNA más cortos migran a mayor velocidad, de manera que los más cercanos al extremo inferior del gel representan las posiciones de los nucleótidos más cercanos al cebador (extremo 5') y la secuencia se lee de abajo arriba (en la dirección 5' → 3'). Obsérvese que la secuencia obtenida corresponde a la hebra complementaria a aquella que está siendo analizada.



un "cebador" que está marcado radiactivamente y didesoxinucleótidos.

La secuenciación del DNA se realiza actualmente de modo automático, mediante una variante del método de Sanger, en la cual los didesoxinucleótidos utilizados en cada reacción están marcados con fluoróforos que emiten luz de diferente color (Fig. 8-37). Esta tecnología permite obtener secuencias de miles de nucleótidos en unas pocas horas. Se han secuenciado los genomas completos de muchos organismos (véase Tabla 1-4) y en la actualidad se está trabajando en proyectos de secuenciación de DNA a gran escala. El más ambicioso de estos programas es el Proyecto Genoma Humano, que ha permitido determinar la secuencia de los tres mil doscientos millones de pares de bases del DNA de una célula humana (Capítulo 9).

Sequenciación del DNA por el método de los didesoxi

La síntesis química de DNA ha sido automatizada

Otra de las tecnologías que ha favorecido el progreso de la bioquímica es la síntesis química de oligonucleótidos de cualquier secuencia. H. Gobind Khorana y colaboradores fueron los primeros en desarrollar la metodología química necesaria para la síntesis de ácidos nucleicos en la década de 1970. El perfeccionamiento y la automatización de estos métodos han hecho posible la síntesis rápida y precisa de hebras de DNA. Esta síntesis se lleva a cabo con la cadena en crecimiento unida a un soporte sólido (Fig. 8-38) y se basa en principios similares a los empleados por Merrifield para la síntesis de péptidos (véase Fig. 3-29). La eficiencia de cada paso de adición es muy elevada, lo que hace posible sintetizar rutinariamente polímeros de 70 u 80 nucleótidos en el laboratorio y en algunos laboratorios cadenas mucho más largas. La posibilidad de disponer de polímeros de DNA con secuencias previamente diseñadas y a precios relativamente asequibles está teniendo un gran impacto en todas las áreas de la bioquímica (Capítulo 9).

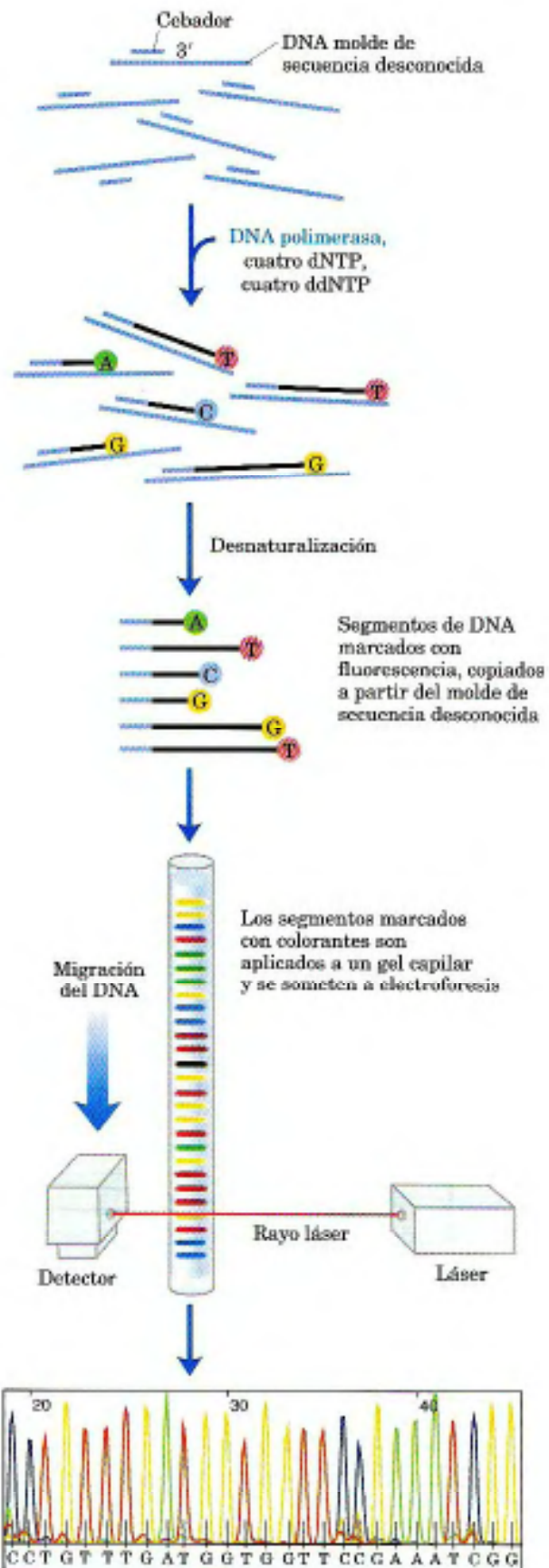


FIGURA 8-37 Una estrategia para la automatización de las reacciones de secuenciación del DNA. Cada didesoxinucleótido usado como cebador para la síntesis de DNA en el método de Sanger puede unirse a una molécula fluorescente que confiere a todos los fragmentos terminados en este nucleótido un color determinado. Los cuatro ddNTP se añaden a un único tubo. Los fragmentos de DNA coloreado resultantes se separan a continuación por tamaño mediante electroforesis en un único gel contenido en un tubo capilar (una modalidad electroforética que permite separaciones más rápidas). Todos los fragmentos de una longitud determinada migran a través del gel en un solo pico y el color asociado a cada uno de ellos se detecta utilizando un rayo láser. La secuencia del DNA se lee a partir de la secuencia de los colores de los picos a medida que van pasando por el detector y la información obtenida se envía directamente a un ordenador que determina la secuencia.

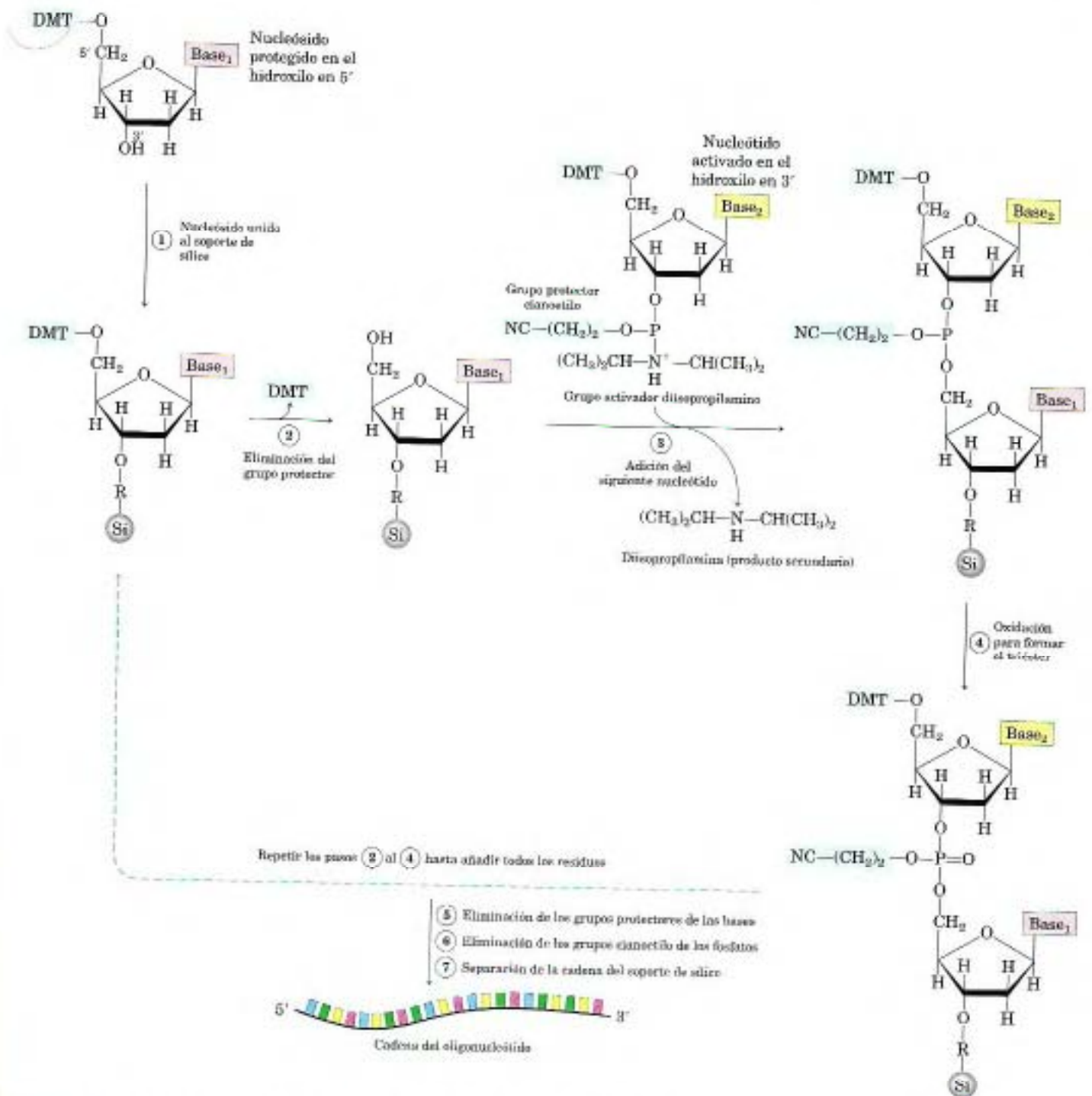


FIGURA 8-38 Síntesis química de DNA. La síntesis automatizada de DNA es conceptualmente análoga a la síntesis de polipéptidos sobre un soporte sólido. El oligonucleótido deseado se construye sobre un soporte sólido (sílice) nucleótido a nucleótido mediante la repetición de una serie de reacciones químicas con los precursores de los nucleótidos adecuadamente protegidos. ① El primer nucleótido (que será el extremo 3') se une al soporte de sílice por el grupo hidroxilo en 3' (a través de un grupo de unión, R) y su grupo hidroxilo en 5' está protegido por un grupo ácido lábil, el dimetoxitritilo (DMT). Los grupos reactivos de las bases también están protegidos químicamente. ② El grupo protector DMT es eliminado mediante lavado con ácido (el grupo DMT tiene color, de manera que la reacción puede seguirse espectrofotométricamente). ③ El siguiente nucleótido es activado con

un grupo diisopropilamino y se hace reaccionar con el nucleótido unido para dar lugar a un enlace 5',3', que en el paso ④ es oxidado con yodo para generar un enlace fosfotriéster. (Uno de los oxígenos del fosfato lleva un grupo protector cianoetilo.) Las reacciones ② a ④ se repiten hasta añadir todos los nucleótidos. En cada paso el exceso de nucleótido es eliminado con anterioridad a la adición del siguiente. En los pasos ⑤ y ⑥ se eliminan los grupos bloqueantes de las bases y de los fosfatos, y en el paso ⑦ se separa el oligonucleótido del soporte sólido y finalmente se purifica. La síntesis química de RNA es algo más compleja a causa de la necesidad de proteger el grupo hidroxilo en 2' de la ribosa sin que se produzcan efectos adversos en la reactividad del grupo hidroxilo en 3'.

RESUMEN 8.3 Química de los ácidos nucleicos

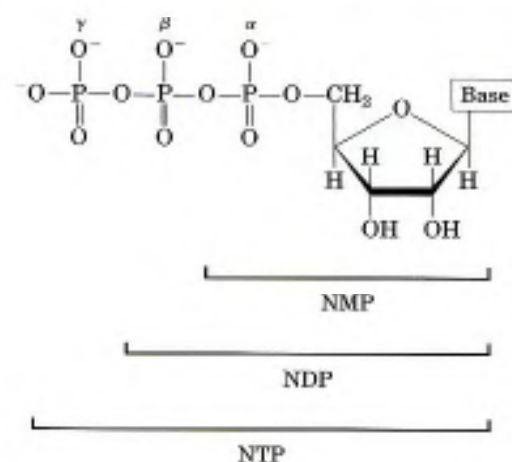
- El DNA nativo se desenrolla y sus hebras se separan reversiblemente (fusión) por efecto del calor o los pH extremos. Los DNA ricos en pares G=C tienen temperaturas de fusión superiores a las del DNA rico en pares A=T.
- Los DNA de cadena sencilla desnaturalizados pueden formar dúplex híbridos, cuyo grado de hibridación depende del grado de similitud de las secuencias. La hibridación es la base de importantes técnicas para el estudio y aislamiento de genes específicos y RNA.
- El DNA es un polímero relativamente estable. Reacciones espontáneas, tales como la desaminación de ciertas bases, la hidrólisis de los enlaces base-azúcar *N*-glucosídicos, la formación de dímeros de pirimidina inducida por radiación y el daño oxidativo, ocurren muy lentamente; sin embargo, son importantes por la baja tolerancia de las células a los cambios en el material genético.
- Se puede determinar la secuencia del DNA y se pueden sintetizar polímeros de DNA mediante protocolos simples automatizados que incorporan métodos químicos y enzimáticos.

8.4 Otras funciones de los nucleótidos

Además de las funciones que les corresponden como subunidades de los ácidos nucleicos, los nucleótidos también desempeñan otras funciones en la célula: actúan como transportadores de energía, componentes de cofactores enzimáticos y mensajeros químicos.

Los nucleótidos transportan energía química en las células

Los ribonucleótidos pueden presentar uno, dos o tres grupos fosfato unidos covalentemente al grupo hidroxilo en 5' de la ribosa. Se los conoce como nucleósidos mono-, di- y trifosfato,



Abreviaturas de los ribonucleósidos 5'-fosfato			
Base	Mono-	Di-	Tri-
Adenina	AMP	ADP	ATP
Guanina	GMP	GDP	GTP
Citosina	CMP	CDP	CTP
Uracilo	UMP	UDP	UTP

Abreviaturas de los desoxirribonucleósidos 5'-fosfato			
Base	Mono-	Di-	Tri-
Adenina	dAMP	dADP	dATP
Guanina	dGMP	dGDP	dGTP
Citosina	dCMP	dCDP	dCTP
Timina	dTMP	dTDP	dTTP

FIGURA 8-39 Nucleósidos fosfato. Estructura general de los nucleósidos 5'-mono-, di- y trifosfato (NMP, NDP y NTP) y sus abreviaturas estándar. La pentosa es 2'-desoxi-D-ribose en los desoxirribonucleósidos fosfato (dNMP, dNDP y dNTP).

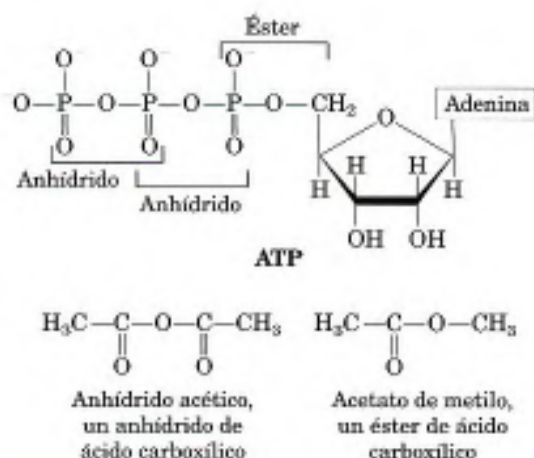


FIGURA 8-40 Los enlaces éster fosfato y anhidrido de ácido fosfórico del ATP. La hidrólisis de un enlace anhidrido libera más energía que la hidrólisis de un éster. Como comparación, se muestran un anhidrido y un éster de un ácido carboxílico.

respectivamente (Fig. 8-39). Partiendo de la ribosa, los tres grupos fosfato se suelen denominar α , β y γ . La hidrólisis de los nucleósidos trifosfato proporcionan la energía química para impulsar una amplia variedad de reacciones celulares. La adenosina 5'-trifosfato, ATP, es, con diferencia, el más ampliamente utilizado, aunque el UTP, el GTP y el CTP también se emplean en reacciones específicas. Los nucleósidos trifosfato también actúan como precursores activados en la síntesis de DNA y RNA, tal como se verá en los Capítulos 25 y 26.

La hidrólisis del ATP y otros nucleósidos trifosfato es una reacción que libera energía como consecuencia de la estructura química del grupo trifosfato. El enlace entre la ribosa y el fosfato α es de tipo éster. Los enlaces α,β y β,γ son anhidridos de ácido fosfórico (Fig. 8-40). La hidrólisis del enlace éster libera aproximadamente 14 kJ/mol en condiciones estándar, mientras que la de cada uno de los enlaces anhidrido libera aproximadamente 30 kJ/mol. La hidrólisis del ATP a menudo juega un importante papel termodinámico en las biosíntesis. Cuando se acopla con una reacción que presenta una variación de energía libre positiva, la hidrólisis del ATP desplaza el equilibrio del proceso global en favor de la formación de producto (recuérdese la

relación entre la constante de equilibrio y la variación de energía libre descrita por la Ec. 6-3 de la p. 195)

Los nucleótidos de adenina forman parte de muchos cofactores enzimáticos

Un buen número de cofactores enzimáticos que llevan a cabo una amplia gama de funciones químicas incluyen la adenosina como parte de su estructura (Fig. 8-41). No tienen ninguna relación estructural entre ellos, aparte de la presencia de adenosina. En ninguno de ellos la porción de adenosina de la molécula participa directamente en su función primaria, pero si se elimina la adenosina de sus estructuras el resultado suele ser una drástica reducción de su actividad. Por ejemplo, la eliminación del nucleótido de adenina (3'-fosfoadenosina difosfato) del acetoacetil-CoA, el derivado del acetoacetato con el coen-

zima A, reduce su reactividad como sustrato de la β -cetoacil-CoA transferasa (un enzima del metabolismo lipídico) en un factor de 10^6 . Aunque el papel de la adenosina no se ha estudiado en detalle, con seguridad tiene relación con la energía de unión entre el enzima y el sustrato (o cofactor), que está implicada tanto en la catálisis como en la estabilización del complejo enzima-sustrato inicial (Capítulo 6). En el caso de la β -cetoacil-CoA transferasa, el nucleótido parece actuar como un "asidero" de fijación que ayuda a tirar del sustrato (acetoacetil-CoA) para colocarlo en el interior del sitio activo. Es posible describir funciones parecidas para las porciones de nucleósido de otros cofactores nucleotídicos.

Podemos preguntarnos ¿por qué se usa adenosina en estas estructuras en lugar de otra molécula de gran tamaño? La respuesta puede estar relacionada con cuestiones de economía evolutiva. Ciertamente, la adenosina no es la única molécula

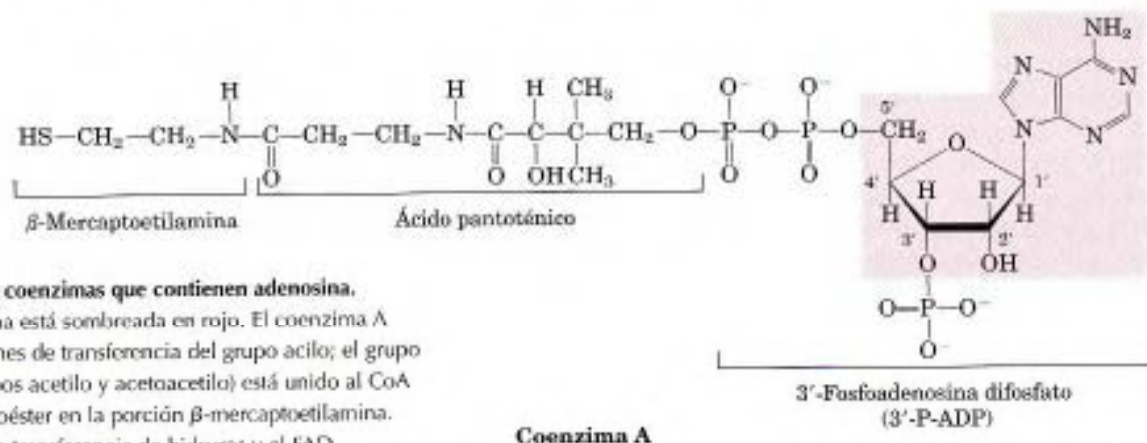
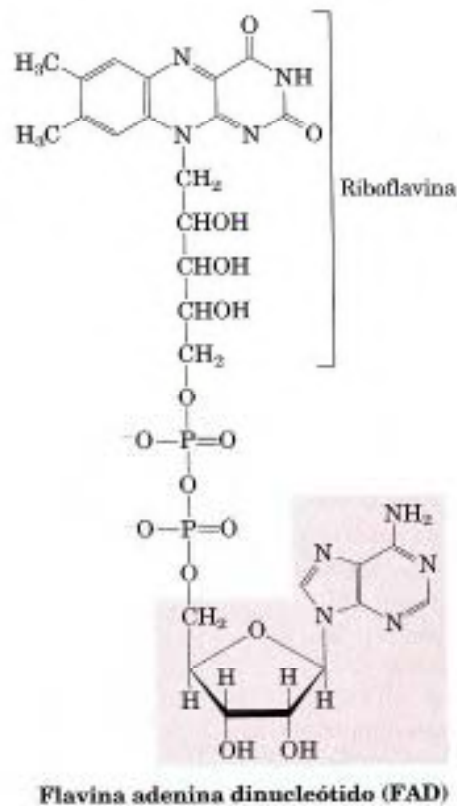
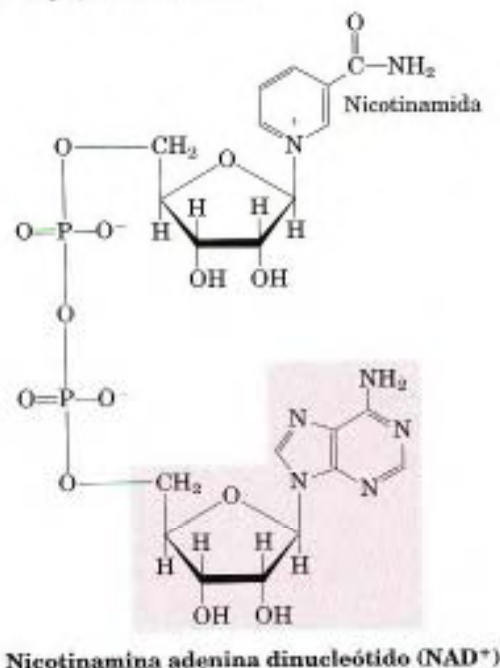


FIGURA 8-41 Algunos coenzimas que contienen adenosina.

La fracción de adenosina está sombreada en rojo. El coenzima A (CoA) actúa en reacciones de transferencia del grupo acilo; el grupo acilo (tal como los grupos acetilo y acetoacetilo) está unido al CoA a través de un enlace tioéster en la porción β -mercaptoetilamina. El NAD⁺ participa en la transferencia de hidruros y el FAD, la forma activa de la vitamina B₂ (riboflavina), en la transferencia de electrones. Otro coenzima que incorpora adenosina en su estructura es la 5'-desoxiadenosilcobalamina, la forma activa de la vitamina B₁₂ (véase Recuadro 17-2), que participa en las transferencias intramoleculares de grupos entre carbonos adyacentes.



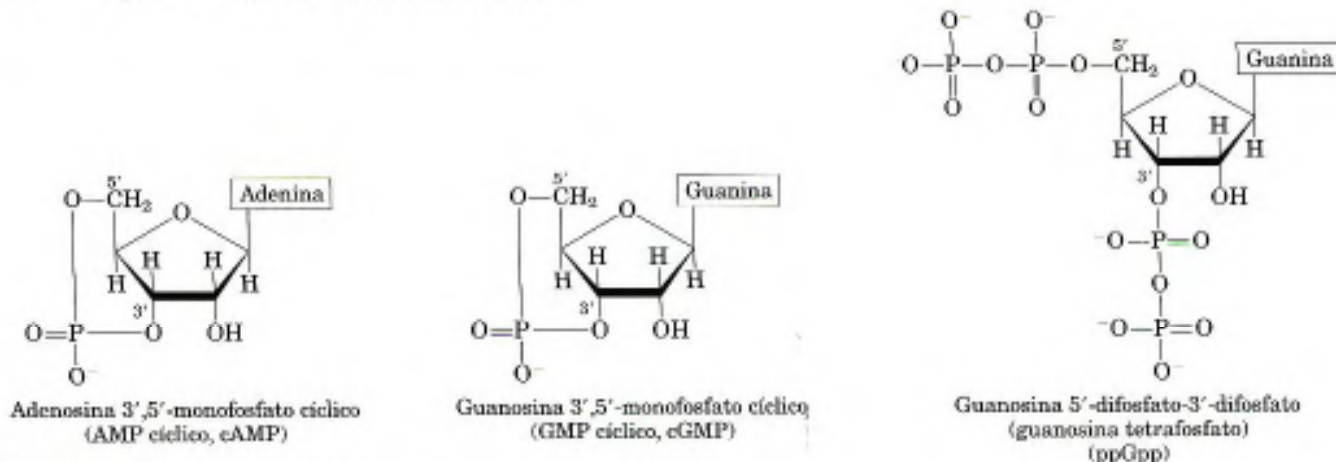


FIGURA 8-42 Tres nucleótidos reguladores.

que puede aportar una cantidad suficiente de energía potencial de unión. Es posible que la importancia de la adenosina radique no tanto en alguna característica química concreta cuanto en la ventaja evolutiva de usar un compuesto con múltiples funciones. Una vez el ATP se convirtió en la fuente universal de energía química, los sistemas evolucionaron para sintetizar ATP con mayor eficiencia que otros nucleótidos; puesto que el ATP es abundante, resulta lógica su elección como parte de una amplia variedad de estructuras. Esta economía se hace extensiva a la estructura de las proteínas. Un único dominio proteico capaz de fijar adenosina puede utilizarse en una amplia variedad de enzimas diferentes. Este tipo de estructura, denominada **plegamiento de unión de nucleótidos**, se encuentra en muchos enzimas que unen ATP y cofactores nucleotídicos.

Algunos nucleótidos son moléculas reguladoras

Las células responden a su entorno exterior captando señales hormonales y de otro tipo. La interacción de estas señales químicas extracelulares ("primeros mensajeros") con los receptores de la superficie celular suele promover la producción de **segundos mensajeros** en el interior de la célula, que, por su parte, provocan cambios adaptativos en el interior de la célula (Capítulo 12). El segundo mensajero es a menudo un nucleótido (Figura 8-42). Uno de los más comunes es la **adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMP cíclico o cAMP)**, que se

forma a partir del ATP, en una reacción catalizada por la adenilil ciclasa, asociada a la cara interna de la membrana plasmática. El AMP cíclico tiene funciones reguladoras en prácticamente todas las células que no pertenezcan al reino vegetal. El nucleótido guanosina 3',5'-monofosfato cíclico (cGMP) se encuentra en muchas células y tiene también funciones reguladoras.

Otro nucleótido regulador, el ppGpp (Fig. 8-42), se produce en las bacterias como respuesta a la disminución de la síntesis proteica provocada por la eliminación de los aminoácidos del medio de cultivo. Este nucleótido inhibe la síntesis de las moléculas de rRNA y tRNA (véase Fig. 28-24), necesarias para la síntesis proteica, evitando así la producción innecesaria de ácidos nucleicos.

RESUMEN 8.4 Otras funciones de los nucleótidos

- El ATP es el portador central de energía química en las células. La presencia de la adenosina como parte de una variedad de cofactores cruzados puede estar relacionada con los requerimientos energéticos de la interacción.
- El AMP cíclico, formado a partir de ATP en una reacción catalizada por la adenilil ciclasa, es un segundo mensajero común producido en respuesta a hormonas u otras señales químicas.

Palabras clave

Los términos en **negrita** están definidos en el glosario.

gen 273
 RNA ribosómico (rRNA) 273
 RNA mensajero (mRNA) 273
 RNA de transferencia (tRNA) 273
 nucleótido 273
 nucleósido 273
 pirimidina 273
 purina 273
 desoxirribonucleótidos 274
 ribonucleótido 274
 enlace fosfodiéster 277

extremo 5' 277
 extremo 3' 277
 oligonucleótido 278
 polinucleótido 278
 par de bases 279
 surco mayor 282
 surco menor 282
 forma B del DNA 284
 forma A del DNA 284
 forma Z del DNA 284
 palíndromo 285

horquilla 285
 cruciforme 285
 DNA triplex 286
 tetráplex de G 287
 DNA H 287
 mRNA monocistrónico 287
 mRNA policistrónico 288
 mutación 293
 segundo mensajero 302
 adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMP cíclico, cAMP) 302