

GENÈTICA MOLECULAR

1. L'ADN COM PORTADOR DE LA INFORMACIÓ GENÈTICA

La moderna ciència de la Genètica es va originar quan Gregor Mendel va descobrir que les característiques hereditàries estaven determinades per unitats hereditàries que es transmetien d'una generació a la següent de manera uniforme i previsible. Es va iniciar en aquest moment (finals s.XIX) una carrera científica l'objecte primordial de la qual era solucionar dos problemes, en principi molt distints, però, com es va veure més tard, molt relacionats entre si.

El primer problema va ser el d'identificar exactament el material genètic, la seva localització i la seva naturalesa química. El desenvolupament d'aquesta línia d'investigació ha donat lloc a una branca de la Genètica denominada **Genètica Molecular**.

El segon problema consistia a descobrir la manera que es transmetien i s'hereten de generació en generació les manifestacions d'aquest material hereditari, és a dir, els caràcters biològics. Es va crear així altra branca de la Genètica anomenada, en honor de Mendel, **Genètica Mendeliana**.

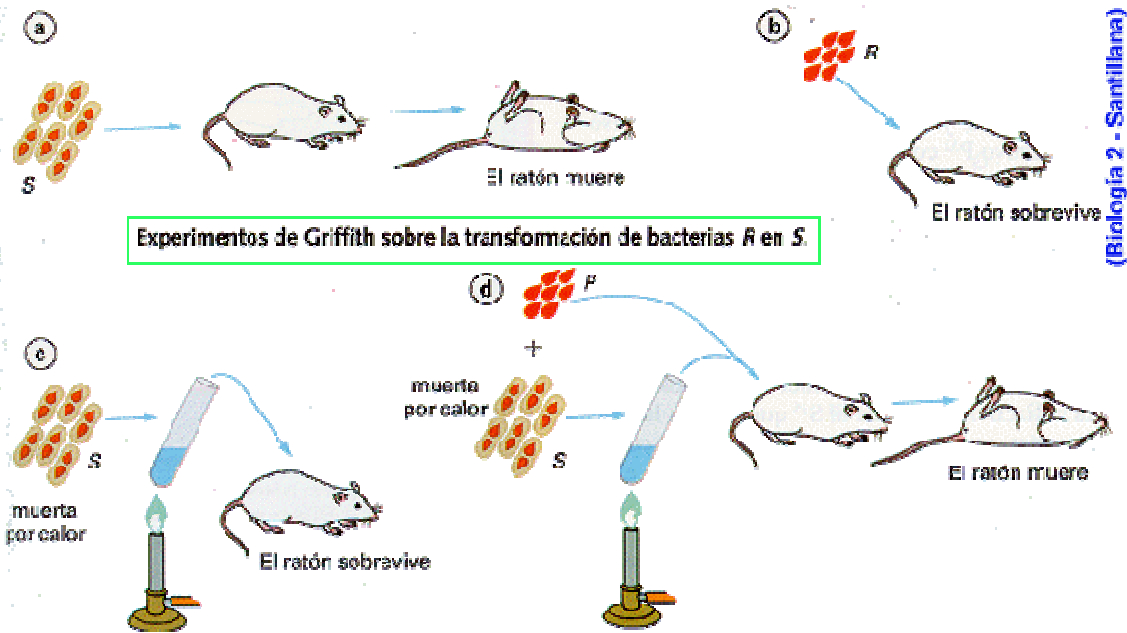
En quant al primer problema, un pas previ a iniciar la recerca i identificació del material genètic consisteix a establir els requisits que ha de complir. S'estableixen 4 requisits generals que s'espera que compleixi el material genètic:

1. Que es repliqui exactament abans de la duplicació cel·lular.
2. Que la seva estructura sigui prou estable perquè els canvis hereditaris (mutacions) només es produeixin rarament.
3. Que pugui dur qualsevol tipus d'informació biològica necessària.
4. Que transmeti la informació a la cèl·lula.

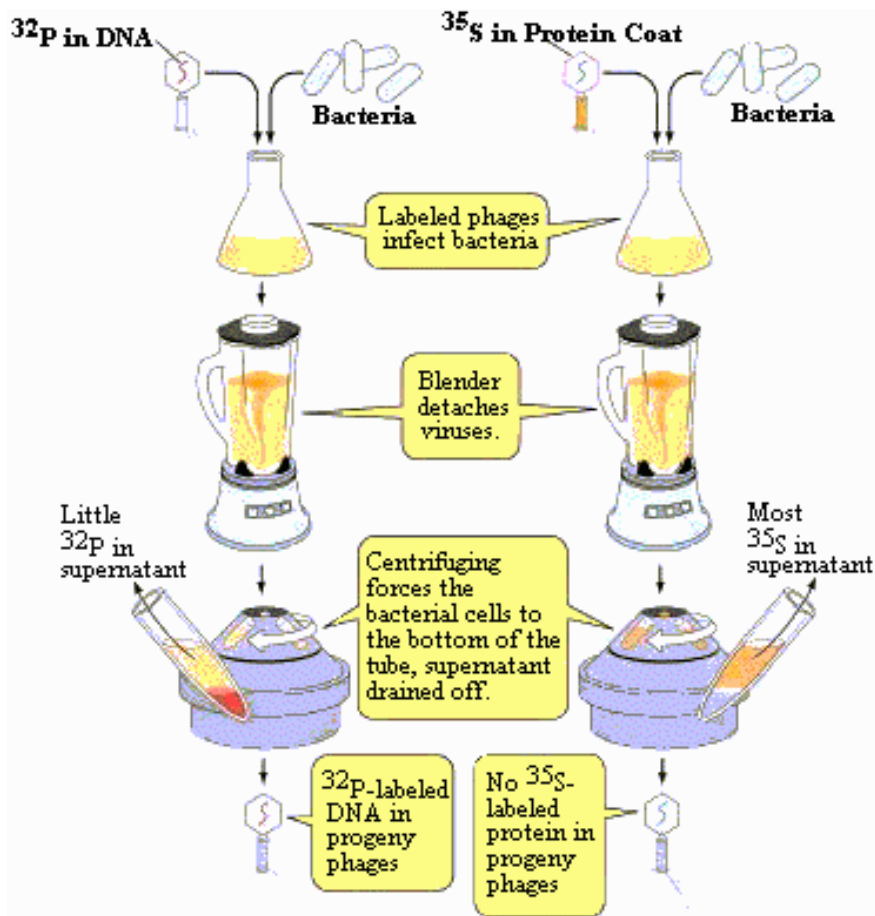
Per altra banda, eren ja coneguts els esdeveniments que ocorrien en les cèl·lules durant la mitosi i la meiosi. Els protagonistes d'ambdós processos són, sens dubte, els cromosomes i l'atenció dels científics es va dirigir cap a ells per les següents raons:

1. Es dupliquen amb precisió i es divideixen amb exactitud en la mitosi proporcionant a cada cèl·lula un joc complet de cromosomes.
2. El seu comportament durant la meiosi concorda amb el que s'ha d'esperar de l'herència, que es deu a les contribucions d'ambdós progenitors.
3. L'encreuament que sofreixen durant la meiosi subministra una font important per a la variabilitat que s'observa entre els individus d'una mateixa espècie.
4. A més existeixen proves considerables que les aberracions cromosòmiques poden estar associades a l'herència de característiques específiques.

Semblava evident, per tant, que el material genètic calia buscar-lo en els cromosomes. A la fi del s.XIX es va aconseguir aïllar el compost que forma els cromosomes i va resultar ser una substància desconeguda fins a llavors que es va anomenar ADN. Les investigacions sobre l'estructura de l'ADN van arribar a la seva culminació en 1953 amb la publicació del model de doble hèlix de Watson i Crick. Amb tots les dades que es tenien, l'ADN semblava complir totalment els requisits per a ser el material hereditari, només faltava aconseguir una prova concloent que identifiqués definitivament l'ADN amb el material genètic. Aquesta evidència es va tenir a partir de les investigacions de Avery, McLeod i McCarty sobre transformació bacteriana, al demostrar que extractes d'ADN d'un determinat tipus de bacteris patògens, quan s'afegia a altre tipus de bacteris genèticament distints i inofensives, provocava la seva transformació, és a dir, els bacteris que captaven els extractos d'ADN adquirien característiques genètiques dels bacteris donants i es tornaven patògens. Aquesta experiència clau en la història de la genètica és una ampliació de les experiències prèvies de Griffith amb infeccions de ratolins.



Altra prova que l'ADN és el material genètic es va obtenir arran dels experiments de Hershey i Chase amb virus bacteriòfags i el bacteri *Escherichia coli*. Van marcar amb isòtops radioactius els components del virus, les proteïnes amb ^{35}S i l'ADN amb ^{32}P . Després de la infecció van observar que a l'interior del bacteri només apareixia fòsfor marcat, però no sofre, el que demostrava que el material genètic del virus era l'ADN, mentre que les proteïnes de la càpsida mancaven d'informació genètica i ni tan sols penetraven en el bacteri.



2. DEFINICIÓ DE GEN

En el moment que es va identificar el material genètic, calia definir les "unitats hereditàries" de les quals va parlar Mendel desconeixent la seva naturalesa. Actualment es denominen **gens** i es poden definir com **segments d'ADN que contenen la informació necessària per a, mitjançant transcripció i traducció, sintetitzar una proteïna**. Són les unitats estructurals i funcionals de l'herència, transmises de pares a fills a través dels gamets i regulen la manifestació dels caràcters heretables. Es diu que un gen s'expressa quan es descodifica, és a dir, quan es transcriu i es tradueix i origina la proteïna que codifica. Els gens dels procariotes són unitats contínues, o sigui, que un segment d'ADN conté tota la informació necessària per a la síntesi d'una proteïna; no obstant això, els gens dels organismes eucariotes es troben fragmentats: cada gen consta d'una sèrie de seqüències que codifiquen fragments de la proteïna (**exons**) separades per altres seqüències, més o menys llargues, que no codifiquen cap cadena peptídica (**introns**). Es calcula que gairebé el 90% del total d'ADN no codifica seqüència proteica alguna i formarien el que alguns autors anomenen "ferralla genètica". A més, tant en procariotes com en eucariotes, existeixen seqüències que no es transcriuen, però que ocupen un paper fonamental en la regulació de l'expressió gènica, doncs constitueixen senyals que indiquen l'inici o el final del gen que es va a transcriure.

De fet **un gen és una seqüència de nucleòtids portadora d'informació per a realitzar una funció**. Així la definició és vàlida tant per gens que codifiquen una seqüència polipeptídica com per gens que codifiquen molècules funcionals d'ARN que no són traduïdes (ARNm o ARNt, per exemple).

El concepte de gen s'ha ampliat al llarg de la història de la biologia. Apart de Mendel i Morgan, la primera definició important la va establir Baddle i Tatum amb la expressió "*Un gen, un enzim*", establint que els gens codifiquen la funcionalitat dels enzims que determinen el metabolisme cel·lular. No obstant això és fals, ja que:

1. Molts gens codifiquen proteïnes que no actuen com a enzims
2. Alguns gens codifiquen seqüències polipeptídiques que formen part de proteïnes, més grans (és a dir una proteïna correspon a varis gens)
3. Com ja s'ha dit algunes seqüències funcionals no es tradueixen.
4. I per últim, alguns gens poden madurar de diferents formes codificant varies proteïnes.

3. REPLICACIÓ DE L'ADN

La necessitat que el material genètic es autoduplici exactament és la primera exigència que ha de complir. Ja en el model de Watson i Crick es plantejava la possibilitat que els brins de la doble hèlix se separessin i cadascuna servís de matriu per a formar la cadena complementària. Aquest procés va rebre el nom de replicació. Existeixen tres models de replicació:

1. Conservatiu, quan el patró es conserva intacte i els dos brins de la nova molècula són producte de la polimerització de desoxinucleòtids.
2. Semiconservativa, quan cada una de les molècules resultants conté un bri original (que actua com a patró) i un bri nou construït sobre el motlle mitjançant polimerització de desoxinucleòtids complementaris.
3. Dispersiva. Tots els brins tenen parts noves i parts originals.

La hipòtesi vàlida és la **semiconservativa** com van demostrar Meselson i Stahl. Van cultivar bacteris *E.coli* en un medi que contenia com única font de nitrogen clorur amònic marcat amb ^{15}N fins que va arribar un moment que l'ADN només presentava en les seves bases nitrogenades ^{15}N . Posteriorment van canviar el medi de cultiu per un altre amb ^{14}N normal. Els bacteris de la primera generació presentaven al seu ADN ^{14}N i ^{15}N en igual quantitat.

Mecanisme de replicació en procariotes

El procés de replicació és similar tant en els organismes procariotes com en els eucariotes, però és en els primers on més es coneixen els detalls; en concret la més estudiada és la replicació en *E.coli*.

És un procés complex en el qual intervenen més de 50 proteïnes distintes agrupades en complexos multienzimàtics. L'enzim principal es denomina **ADN-polimerasa** i perquè actuï és necessari que existeixin en el

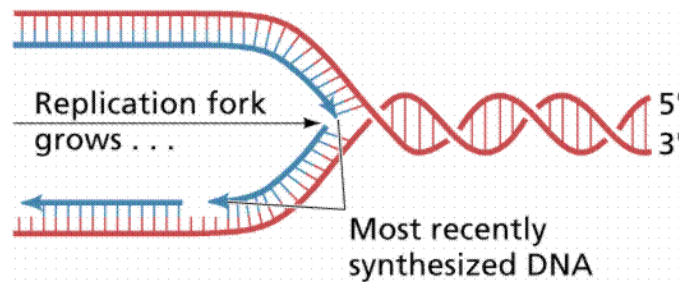
medi ions Mg^{2+} i una barreja de 4 desoxirribonucleòtids-trifosfat (dATP, dGTP, dCTP i dTTP). És suficient amb que falti un dels quatre perquè no actuï la ADN-polimerasa. Bàsicament aquest enzim realitza dues funcions:

1. Recorre els brins del motlle i selecciona a cada moment el desoxirribonucleotid-trifosfat que tingui la base complementària (G-C, A-T). Una vegada localitzat, la ADN-polimerasa catalitza la seva hidròlisi separant un grup pirofosfat (P-P) i unint la resta (desoxirribonucleòtid-monofosfato) a la cadena d'ADN que s'està formant mitjançant un enllaç fosfodièster. L'energia necessària per a aquesta unió s'obté de la hidròlisi del grup pirofosfat. Aquesta és la funció polimeritzadora de la ADN-polimerasa.
2. La ADN-polimerasa és també autocorrectora ja que després d'unir cada nucleòtid comprova si s'han produït errors abans d'incorporar el nucleòtid següent. Si detecta un error, elimina l'últim nucleòtid col·locat i ho substitueix pel correcte.

No obstant això la ADN-polimerasa ha de resoldre dos problemes relacionats amb la seva activitat catalítica:

1.- La ADN-polimerasa és capaç d'anar llegint els brins que actuen de motlle en sentit $3' \rightarrow 5'$ i va sintetitzant la nova cadena en sentit $5' \rightarrow 3'$. Aquest últim bri rep el nom de **bri conductor**. No obstant això, el bri motlle complementari discorre en sentit antiparal·lel, és a dir, $5' \rightarrow 3'$ i la ADN-polimerasa no pot llegir-la en aquest sentit. Per a solucionar aquest problema, l'ADN-polimerasa sintetitza petits fragments d'ADN anomenats **fragments de Okazaki** que creixen en sentit $5' \rightarrow 3'$ igual que el bri conductor i més tard s'uneixen per a formar el bri complet, que en aquest cas es diu **bri alentit** perquè se sintetitza més lentament.

2.- Altre problema que planteja l'activitat catalítica de la ADN-polimerasa és que és incapaç d'iniciar per si sola la síntesi d'una nova cadena d'ADN i necessita un curt fragment de ARN, anomenat **ARN-encebador (o "primer")**, que actuï com iniciador de les rèpliques i que s'elimina posteriorment de l'ADN format.



En resum, el procés complet de la replicació de l'ADN en *E.coli* és el següent:

El pas previ perquè pugui actuar la ADN-polimerasa és el desenrollament i obertura de la doble hèlix d'ADN. La separació de les cadenes comença en punts concrets anomenats punts d'iniciació (Ori-C). A partir d'ells es van separant els dos brins d'ADN formant la anomenada bombolla de replicació. Els dos extrems de la bombolla per on continua la separació reben el nom de forques de replicació.

La síntesi de les cadenes complementàries comença amb la síntesi del ARN cebador que és una curta cadena d'ARN amb una seqüència complementària d'una de les porcions dels brins de l'ADN i enfront de la qual es col·loca. En el bri que té el sentit $3' \rightarrow 5'$ la ADN-polimerasa va col·locant nucleòtid rera nucleòtid a continuació del ARN encebador (o "primer"). Aquest bri complementari que va creixent en sentit $5' \rightarrow 3'$ és el bri conductor. En el bri oposat de l'ADN original no es pot realitzar el mateix procés perquè discorre en sentit $5' \rightarrow 3'$. Per tant, a continuació de l'ARN encebador (o "primer") es col·loca un fragment de Okazaki i, després d'aquest, un nou ARN encebador (o "primer") seguit d'altre fragment de Okazaki.

En aquest moment actua una ribonucleasa que elimina el ARN encebador (o "primer") que està entre dos fragments de Okazaki. El buit que queda és emplenat per la ADN-polimerasa I. El procés continuaria amb la col·locació d'un nou ARN encebador (o "primer"), altre fragment de Okazaki, eliminació del ARN encebador i omplert del buit per la ADN-polimerasa. I així successivament. El bri que se sintetitza d'aquesta manera és l'alentida i creix en sentit $3' \rightarrow 5'$.

La replicació portada a terme per l'ADN-polimerasa és un procés molt exacte, sobretot per la seva activitat autocorrectora. No obstant això, encara així es produeix un error d'aparellament de bases per cada 10^7 parells de bases. En un bacteri això podria resultar suficient degut al fet que el seu cromosoma només posseeix $3 \cdot 10^3$ parells de bases. No obstant això en l'ADN humà existeixen $3 \cdot 10^9$ parells de bases i durant el desenvolupament embrionari, a partir del zigot l'ADN humà es duplica 10^{15} vegades, pel que la informació genètica aviat es perdria.

Per a augmentar més encara la perfecció de la replicació de l'ADN existeix un complex enzimàtic que detecta el nucleòtid mal aparellat, l'elimina i regenera la seqüència correcta. D'aquesta manera s'assoleix arribar a una perfecció d'un error cada 10^{10} parells de bases. Aquest procés es coneix amb el nom de **correcció postreplicativa**.

4. TRANSCRIPCIÓ

Altra de les exigències que ha de complir el material genètic és que sigui capaç de transmetre la informació que conté a la resta de la cèl·lula. Com el material genètic és ADN i es troba molt protegit, ha d'existir una molècula que transporti aquesta informació al citoplasma (travessant l'embolcall nuclear en el eucariotes). Aquesta molècula és el ARNm. A més, a partir de l'ADN també s'han de sintetitzar els altres tipus de ARN. El procés de síntesi de ARN a partir de l'ADN es denomina **transcripció genètica**. L'enzim encarregat de portar a terme aquest procés la **ARN-polimerasa** que catalitza la unió dels ribonucleòtids-trifosfat (ATP, GTP, CTP i UTP) segons una seqüència determinada; per a això utilitza com motlle o patró una de les dues cadenes del segment d'ADN (un gen) que es va a transcriure. La seqüència de ARN transcrit és complementària d'una de les dues cadenes del gen amb l'excepció que la base complementària de la A és l'U. L'energia necessària per a la unió dels ribonucleòtids s'obté de la hidròlisi dels ribonucleòtids-trifosfat que alliberen un grup pirofosfat. És, per tant, semblant al que ocorre en la duplicació de l'ADN.

La transcripció varia en alguns detalls en els organismes procariotes i eucariotes.

1.- **TRANSCRIPCIÓ EN PROCARIOTES**: Només existeix un tipus de ARN-polimerasa que catalitza la síntesi de tots els ARN. En el cas del ARNm, la seva síntesi transcorre en 4 etapes:

- a) **Iniciació**: En tots els gens hi ha una seqüència característica denominada **promotor** que indica on ha de començar la síntesi del ARNm i quin dels dos brins de l'ADN ha de ser transcrita.
- b) **Elongació**: Després d'unir-se al promotor, la ARN-polimerasa s'acobla a una de les cadenes de l'ADN i desenrotlla aproximadament una volta d'hèlix, amb el que queda al descobert el bri d'ADN que actuar com patró. L'enzim es desplaça pel bri patró d'ADN en sentit $3' \rightarrow 5'$, mentre que la cadena de ARNm es va formant en sentit $5' \rightarrow 3'$ conforme s'afegeixen nucleòtids. A mesura que l'enzim es desplaça, l'ADN recupera la seva configuració inicial de doble hèlix.
- c) **Terminació**: La ARN-polimerasa segueix afegint ribonucleòtids fins que es troba amb el **senyal de terminació**, el que marca el final de la síntesi del ARN, la nova cadena s'allibera en forma d'un sol bri, encara que en alguns casos, quan presenta seqüències autocomplementàries, adopta estructura secundària.
- d) **Maduració**: En els procariotes els gens són continus, no tenen introns, pel que les molècules de ARNm no necessiten cap tipus de transformació prèvia a la traducció pels ribosomes. No obstant això, els ARNt i ARNr no se sintetitzen com a tals, sinó que provenen de molècules de ARN, anomenat **ARN transcrit primari**, que precisen un procés de maduració.

2.- **TRANSCRIPCIÓ EN EUCARIOTES**: **Presenta dues diferències** fonamentals respecte a la de procariotes: (1) els gens estan fragmentats, posseeixen introns i exons, pel que tots els ARN necessiten un **procés de maduració** a partir del ARN transcrit primari, i (2) **existeixen tres classes d'ARN-polimerasa** diferents, cadascuna de les quals catalitza la síntesi d'un ARN distint. La que sintetitza l'ARNm és la **ARN-polimerasa II**. La síntesi de ARNm en eucariotes transcorre també en 4 fases:

1. **Iniciació**: El **promotor** està format per una seqüència de T i A, anomenada **TATA box**, que és reconeguda per la ARN-polimerasa II.
2. **Elongació**: La diferència amb els procariotes és que, quan s'han transcrit unes 30 bases del gen, al ARNm se li afegeix en l'extrem 5' una **caputxa** formada per una guanosín-trifosfat metilada (metil-GTP). Mentrestant, la cadena de ARNm continua creixent (en sentit $5' \rightarrow 3'$) a uns 30 nucleòtids per segon, transcrivint-se tant els exons com els introns.

3. **Terminació:** Quan la ARN-polimerasa II transcriu la seqüència de finalització, la transcripció acaba i actua altre enzim que afegix en l'extrem 3' del ARNm una cua de poli-A formada per uns 150-200 ribonucleòtids de
4. **Maduració:** Els ARNm transcrits primaris contenen seqüències intercalades (les quals corresponen als introns) que no codifiquen cap pèptid, pel que han de ser eliminades. Això es realitza mitjançant talls entre els introns i els exons: els primers s'enrotllen en llaços i s'eliminen, mentre que els segons s'empalmen i formen una molècula de ARNm que conté els nucleòtids necessaris per a sintetitzar la proteïna.

5. EL CODI GENÈTIC

Un gen és un fragment d'ADN que conté la informació necessària per a la síntesi d'una proteïna. Atès que la informació genètica està continguda en seqüències de bases nitrogenades, cal transformar aquesta informació en cadenes d'aminoàcids per a formar les proteïnes.

Els àcids nucleics estan formats per 4 classes de nucleòtids mentre que les proteïnes estan formades per 20 aminoàcids. És necessari establir una correlació entre les bases i els aminoàcids per a esbrinar de quina manera la informació continguda en l'ADN és capaç d'ordenar la síntesi d'una determinada proteïna.

Si a cada aminoàcid correspongués un sol nucleòtid llavors només es podrien codificar 4 aminoàcids. Si fossin dos nucleòtids els quals codifiquen un aminoàcid, les possibles combinacions serien $4^2=16$ i tampoc serien suficients. Les combinacions de 3 nucleòtids són $4^3=64$ amb el que és possible codificar els 20 aminoàcids i sobrarien codis. Es pot imaginar segons això l'ADN format per una successió de grups de 3 nucleòtids, cridats **triplets**, corresponent cadascun a un aminoàcid.

Aquest plantejament teòric ha estat demostrat experimentalment i, efectivament, el codi de cada aminoàcid està contingut en un triplet de nucleòtids de l'ADN. **Aquest codi que associa a cada aminoàcid un grup de 3 nucleòtids es denomina codi genètic.** Es considera que té aquestes propietats:

1. és **degenerat** perquè existeixen més triplets que aminoàcids hi ha per a codificar,
2. i **universal** ja que sense tot just variacions és utilitzat per tots els éssers vius, encara que amb l'excepció dels mitocondris, que utilitzen un codi genètic lleugerament diferent per a traduir la informació continguda en els seus petits cromosomes circulars.

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

Codi genètic. Fixa't en l'equivalència entre triplets i aminoàcids.

En aquest punt de les investigacions, el següent problema era establir quin triplet corresponia a cada aminoàcid. Això es va assolir gràcies a un enzim descobert en 1955 per Severo Ochoa, la polinucleòtid-fosforilasa, que catalitza la síntesi de polinucleòtids. Aquesta síntesi es pot realitzar en presència de qualsevol dels nucleòtids-fosfat que formen els àcids nucleics. Si en el medi de la reacció només existeixen, per exemple, nucleòtids d'U, l'enzim sintetitza un àcid nucleic amb U com única base nitrogenada (poli-U). Amb aquest enzim i el bacteri *E.coli*. Nirenberg va aconseguir començar a desxifrar el codi genètic; usant poli-U com ARNm el bacteri sintetitzava proteïnes formades únicament per l'aminoàcid fenilalanina (Phe), pel que el seu codi havia de ser forçosament UUU. De la mateixa manera es va establir que el codi de la Pro era CCC, el de la Lys AAA i el de la Gly GGG. Per a triplets amb bases nitrogenades distintes el procés és molt més complicat, però finalment s'ha arribat a establir el codi genètic complet, sabent-se actualment el significat dels 64 triplets.

6. TRADUCCIÓ GENÈTICA

És el **procés mitjançant el qual se sintetitza una proteïna a partir d'un ARNm** que, prèviament, s'ha transcrit en un gen de l'ADN. Té lloc en els ribosomes, per tant al citoplasma.

Perquè la informació continguda en la seqüència de bases del ARNm sigui traduïda a una seqüència d'aminoàcids d'una proteïna ha d'existir una molècula intermediària que solucioni dos problemes: (1) perquè cada aminoàcid es col·loqui en el seu triplet corresponent del ARNm cal que aquest triplet sigui descodificat, i (2) la grandària molecular d'un triplet de nucleòtids és molt major que el d'un aminoàcid.

Aquesta molècula intermediària és l'ARNt i el seu funcionament durant la traducció es deu fonamentalment a la seva estructura secundària en forma de fulla de trèbol. Es presenta doblegat disposat en 4 braços formats per dobles cadenes d'ARN enfrontades i unides per les seves bases per ponts d'Hidrogen, i tres bucles en els extrems d'aquests braços que no tenen els seus nucleòtids aparellats. El braç que no té bucle presenta en la seva cadena més llarga (extrem 3') sempre el triplet CCA que és el qual s'uneix a l'aminoàcid precisament per la A. El bucle del braç oposat posseeix un triplet d'ancoratge que és complementari d'un triplet del ARNm. Aquests dos tipus de triplets reben diferents noms: el del ARNm es diu **codó** i el corresponent del ARNt **anticodó**. **Cada molècula de ARNt és específica de cada aminoàcid**, de tal manera, que **segons l'anticodó d'ancoratge que posseeixi, subjecta pel triplet CCA a un o altre aminoàcid** dels quals existeixen lliures en el citoplasma de la cèl·lula. La fixació d'un aminoàcid al triplet CCA del ARNt exigeix una prèvia activació d'aquest aminoàcid per una molècula de ATP que allibera un grup pirofosfat i es precisa la intervenció d'un enzim, la **aminoacil-ARNt-sintetasa**, específic de cada aminoàcid. El complex aminoàcid-ARNt units rep el nom de complex **de transferència** i constitueix la forma que els aminoàcids són transportats i units per a formar les cadenes de proteïnes.

Exemple: el triplet que codifica l'aminoàcid Metionina (Met) és AUG. Quan en una posició determinada d'una proteïna ha de col·locar-se uneixi Met, en el ARNm apareix el triplet (codon) AUG. Sobre aquest codó només podrà col·locar-se aquell ARNt que posseeixi un triplet (anticodó) complementari, és a dir UAC.

Aquest ARNt du a l'altre extrem de la seva molècula, unit al triplet CCA l'aminoàcid Met que haurà estat unit per l'enzim Metionil-ARNt-sintetasa formant un complex de transferència amb Met (representat per ARNtMet).

Tant en els procariotes com en els eucariotes, el mecanisme de la síntesi de proteïnes es pot considerar dividit en tres etapes successives: iniciació, elongació i terminació.

1. **Iniciació de la síntesi de proteïnes:** **Fan falta dues senyals d'iniciació perquè comenci la síntesi de proteïnes: el triplet iniciador AUG, que codifica la Metionina, i la caputxa de metil-GTP de l'ARNm**, de tal manera que la traducció comença pel triplet AUG més pròxim a la caputxa. Amb l'energia que produeix la hidròlisi del metil-GTP la subunitat menor del ribosoma s'uneix al ARNm en la zona pròxima a la caputxa (extrem 5'), formant el complex **d'iniciació**, i es col·loca el ARNt iniciador, que està carregat amb l'aminoàcid Metionina i posseeix el anticodó complementari al AUG (per això, totes les proteïnes acabades de sintetitzar posseeixen metionina en la seva extrem N-terminal; després, en molts casos, aquesta Met s'elimina). Al final d'aquesta etapa d'iniciació la subunitat major del ribosoma s'acobla amb el complex d'iniciació per a formar un ribosoma complet dotat de tres espais o llocs de fixació: el lloc **P**, que queda ocupat pel ARNtMet, i el lloc **A**, que està lliure per a rebre a un segon ARNt carregat amb el seu corresponent aminoàcid.
2. **Elongació de la cadena polipeptídica:** **consisteix en la unió de successius aminoàcids que es van afegint a la cadena polipeptídica dins els ribosomes**. Pot considerar-se com la repetició de cicles d'elongació, cadascun dels quals consisteix a afegir un nou aminoàcid. Cada cicle d'elongació consta de tres fases:
 - a. Primera fase: el lloc P està ocupat inicialment pel ARNtMet i **en el lloc A, que està buit, s'introdueix el ARNt carregat amb el seu corresponent aminoàcid**, que el seu anticodó és complementari al triplet següent al AUG (en l'esquema ACU); s'allotja per tant el ARNt amb el anticodon UGA, que duu la Treonina (ARNtThr).
 - b. Segona fase: la Metionina, que està unida pel seu grup carboxil al ARNt, trenca aquest enllaç i **s'uneix, mitjançant enllaç peptídic, al grup amino** de la Treonina, que, al seu torn, està enllaçada al seu ARNt. El resultat és la formació d'un dipéptid (Met-Thr) unit al ARNt de la Treonina i allotjat en el lloc A

- c. Tercera fase: El ribosoma es desplaça al llarg del ARNm exactament 3 nucleòtids en sentit 5'→3'. Això provoca l'expulsió del ARNt de la Met del lloc P, mentre que el ARNt de la Treonina, juntament amb el dipèptid que duu unit, passen del lloc A a el lloc P, deixant buit el primer, amb el que es torna a la primera fase i s'inicia altre cicle d'elongació que, en l'esquema correspon a la Fenilalanina (Phe).
3. Terminació de la síntesi de proteïnes: La síntesi de la cadena polipeptídica es deté quan apareix, durant la tercera fase d'un cicle d'elongació, en el lloc A un dels tres codons de terminació en el ARNm (UAA, UAG o UGA). En aquest moment un factor proteic de terminació (RF) s'uneix al codó de terminació i impedeix que algun complex de transferència s'allotgi en el lloc A, amb el que al desplaçar-se el ribosoma queda lliure l'extrem C-terminal de la proteïna, i per tant la proteïna mateixa, havent acabat la seva síntesi.

7. REGULACIÓ DE L'EXPRESSIÓ GÈNICA

La supervivència en ambients sovint hostils i canviants ha obligat als éssers vius a adoptar un conjunt d'estratègies encaminades a regular amb la màxima eficàcia l'expressió dels seus gens. Per això, per a aprofitar adequadament les fonts energètiques que disposen, que no sempre són abundants, i evitar el malgastament d'energia, les cèl·lules procariòtiques i eucariòtiques sintetitzen a cada moment només aquelles proteïnes que necessiten.

Els bacteris estan obligats a respondre contínuament als canvis produïts en l'ambient extern i, per tant, utilitzen a cada moment solament aquella fracció d'informació genètica que resulta realment necessària per a donar resposta a la variació de factors ambientals (nutrients, temperatura, etc.). A principis dels anys seixanta, Jacob i Monod van proposar un model denominat **operó** per a la regulació de l'expressió gènica en els bacteris. Un operó és un conjunt de gens que codifiquen proteïnes diferents implicades en processos bioquímics molt relacionats (per exemple els enzims que intervenen en una mateixa via metabòlica); tots aquests gens es localitzen en el cromosoma uns prop d'uns altres, amb la finalitat de que la regulació de la seva expressió es realitzi de forma coordinada. En cada operó es diferencien les següents parts:

- Els gens estructurals** (GE1, GE2, GE3,) que codifiquen la síntesi de les proteïnes enzimàtiques (I1, I2, I3,) que participen en un determinat procés bioquímic.
- El **gen regulador** (R) que codifica la síntesi d'una proteïna repressora i és l'agent que controla materialment l'expressió.
- El promotor (P) que està pròxim als gens estructurals i que és la zona on s'uneix la RNA-polimerasa i decideix l'inici de la transcripció.
- L'operador (O) que és una regió intercalada entre el promotor i els gens estructurals i que posseeix una seqüència característica que quan és reconeguda per la proteïna repressora, bloqueja l'operador impedit l'avanç de la RNA-polimerasa amb el que la transcripció s'interromp i es produeix una repressió gènica (els gens no s'expressen).

Exemple de regulació de l'expressió gènica: **operó lactosa**: el procés seguit és el següent: el gen regulador es transcriu i se sintetitza la proteïna repressora que bloqueja l'operador i impedeix la síntesi dels enzims I1, I2, I3, encarregats de metabolitzar la lactosa i transformar-la en els productes 1, 2, 3 i P (producte final). La lactosa aportada per al medi de cultiu és capaç d'unir-se a la proteïna repressora i provocar-li un canvi que la torna inactiva, pel que, a l'arribar la lactosa a un nivell determinat de concentració, s'inactiva tota la proteïna repressora i l'operador es desbloqueja; els gens estructurals s'expressen (es transcriuen i tradueixen) i els enzims I1, I2, I3,.... catalitzen la transformació de la lactosa en el producte P; a mesura que descendeixen els nivells de lactosa, la proteïna repressora torna a activar-se, es bloqueja l'operador i l'expressió dels gens estructurals torna a reprimir-se.

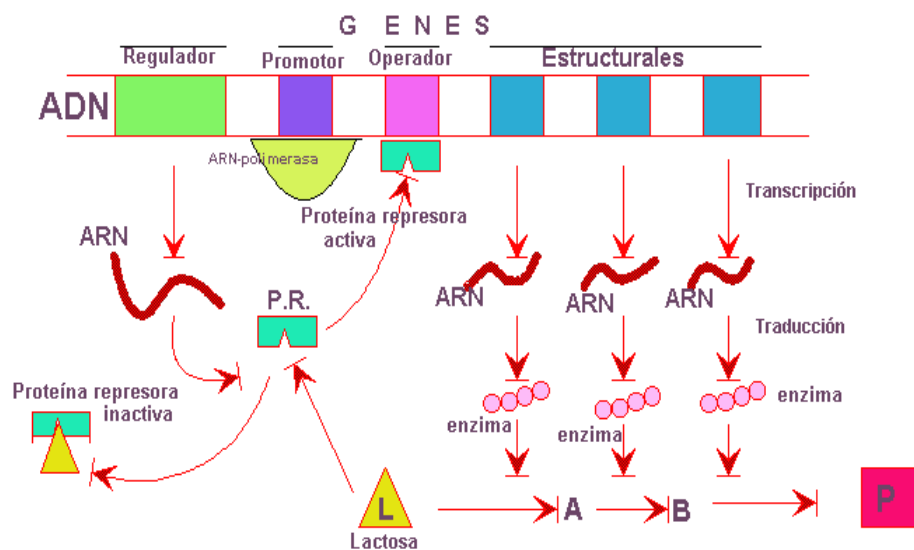
En els éssers pluricel·lulars existeix també una **especialització** de les cèl·lules que respon a determinats factors de l'ambient intern. Aquesta especialització duu amb si la diferenciació de teixits en l'organisme pluricel·lular. Encara que totes les cèl·lules d'un mateix organisme posseeixen el mateix ADN, els mateixos gens, aquests no s'expressen en totes per igual; per exemple, els gens de la hemoglobina només s'expressen en els eritròcits. Els mecanismes que regulen l'expressió gènica constitueixen, per tant, el fonament molecular de la diferenciació

cel·lular, procés pel qual, ja durant el desenvolupament embrionari, determinats gens es reprimeixen i uns altres s'expressen en diferents tipus cel·lulars per a donar lloc més tard als diferents teixits d'un organisme.

El mecanisme més important i generalitzat de regulació de l'expressió gènica, tant en bacteris com en eucariotes, és el control sobre la transcripció. En els teixits dels organismes pluricel·lulars la majoria de les decisions encaminades a produir unes proteïnes i no unes altres es realitza mitjançant l'activació de la transcripció d'uns gens i la repressió d'uns altres.

L'activació de la transcripció es porta a terme freqüentment per mitjà d'una descondensació de la cromatina. Enfront de senyals reguladors del medi intern, generalment de naturalesa hormonal, la cromatina d'una regió determinada es descondensa durant un període de temps curt però suficient perquè es transcriguin els gens localitzats en aquesta zona.

En les plantes es dóna un cas especial de regulació de l'expressió gènica en el qual és la llum la qual exerceix una funció activadora de determinats gens vegetals. La llum, a més de ser font d'energia per a la fotosíntesi, controla el desenvolupament de la planta mitjançant un procés anomenat fotomorfogènesi que decideix la grandària que ha d'arribar a la planta, el nombre de fulles, quan ha de florir i fructificar i, finalment, el temps que ha de durar fins que envelleix i mor.



QÜESTIONS

- 1) Indica en quin sentit:
 - a) Llegeix la ADN-polimerasa el bri motlle.
 - b) Creix el bri conductor.
 - c) Creix el bri alentit.
 - d) Llegeix la ARN-polimerasa el bri motlle.
 - e) Creix el ARN durant la transcripció.
 - f) Recorre el ribosoma la cadena de ARNm.
 - g) Creix la proteïna durant la traducció.
- 2) Explica el paper del ARNt en la traducció.
- 3) Defineix els següents termes:
 - a) Fragment d'Okazaki.
 - b) ARN-encebador (o "primer")
 - c) Caputxa de metil-guanosín trifosfat.

- d) Complex de transferència.
 - e) Complex d'iniciació.
 - f) ARN transcrit primari.
 - g) Anticodó i codó.
- 4) Indica quins aminoàcids duen els complexos de transferència que els seus anticodons són: CUU, UAU, GUG.
- 5) Indica quins anticodons duen els complexos de transferència els aminoàcids de la qual són: Phe, Met, Val, Cys.
- 6) Explica quina importància van tenir en el seu moment i per quin els següents investigadors:
- a) Avery, McLeod i McCarty.
 - b) Hershey i Chase.
 - c) Meselson i Stahl.
 - d) Severo Ochoa.
 - e) Nirenberg.
- 7) Donada la següent cadena d'ADN:
- 8) 3'.....TATACGTAACACTTTTCGATGATTTGATCG.....5'
- 9) Dedueix la proteïna que codifica.
- 10) Donada la següent cadena de ARNm:
- 11) 5'.....AUAUGAAUUAUCGCCCCGAUAGGACCUAAAC.....3'
- a) Dedueix la proteïna que codifica.
 - b) Dedueix la seqüència del gen responsable de la seva síntesi.
- 12) Donada la següent cadena peptídica:
- 13) N-terminal.....Met-Lys-Arg-Phe-Lys-His-Pro-Gly.....C-terminal
- a) Dedueix la seqüència del gen responsable de la seva síntesi.