

MATERIA
Biología humana

TITULACIÓN
Grao en Enfermería

unidade
didáctica
1

Biología molecular humana

Juan Andrés Parga Martín

Área de Anatomía e Embriología Humana
Departamento de Ciencias Morfológicas
Facultade de Medicina

unidadesdidácticas
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA





Esta obra atópase baixo unha licenza internacional Creative Commons BY-NC-ND 4.0. Calquera forma de reprodución, distribución, comunicación pública ou transformación desta obra non incluída na licenza Creative Commons BY-NC-ND 4.0 só pode ser realizada coa autorización expresa dos titulares, salvo excepción prevista pola lei. Pode acceder Vde. ao texto completo da licenza nesta ligazón: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.gl>

© Universidade de Santiago de Compostela, 2022

Deseño e maquetación
J. M. Gairí

Edita
Edicións USC
www.usc.gal/publicacions

DOI
<https://dx.doi.org/10.15304/9788419155726>

MATERIA: Bioloxía humana

TITULACIÓN: Grao en Enfermería

PROGRAMA XERAL DO CURSO

BLOQUE I BIOLOXÍA MOLECULAR

Unidade I. Bioloxía molecular humana

Tema 1. Visión xeral das células. Procariotas. Eucariotas

Tema 2. O material hereditario: organización, transmisión e expresión

Tema 3. Xenes e cromosomas

Tema 4. Cambios do material xenético: mutacións xénicas e anomalías cromosómicas

Tema 5. Replicación e reparación do DNA

Tema 6. Síntese e maduración do RNA

Tema 7. Síntese de proteínas. Pregamento. Degradación

Tema 8. Ciclo celular. División celular

Tema 9. Bioloxía humana da reprodución: gametoxénese e fecundación

Tema 10. Bioloxía humana do desenvolvemento: segmentación e embrioxénese

Unidade II. Bioloxía celular

Tema 11. Núcleo celular

Tema 12. Retículo endoplásmico

Tema 13. Complexo de Golgi. Lisosomas

Tema 14. Mitocondrias. Peroxisomas

Tema 15. Citoesqueleto. Estada interna

Tema 16. Membrana plasmática e transporte de membrana

Tema 17. Sinalización celular. Receptores

Tema 18. Parede celular. Matriz extracelular. Interaccións entre as células e a súa contorna

Tema 19. Morte e renovación celular

ÍNDICE

CONTEXTUALIZACIÓN

Presentación
Xustificación

COMPETENCIAS E OBXECTIVOS

Competencias
Obxectivos

CONTIDOS BÁSICOS

- T1 Visión xeral das células. Procariotas. Eucariotas
 - Introdución
 - Que é unha célula
 - Teoría celular
 - Célula. Tipos de células. Orixe evolutiva da célula eucariota
 - Organismos pluricelulares
 - Virus
- T2 O material hereditario: organización: xenes e cromosomas
 - Estrutura do ADN
 - Cromosomas
 - Proxecto Xenoma Humano
 - Tipos de secuencias de ADN e as súas características
 - Xene: estrutura e función
- T3 Replicación e reparación do ADN
 - Replicación do ADN
 - Recoñecemento do punto de orixe e desenrolamento da dobre hélice
 - Síntese da febras novas e ligazón dos fragmentos de ADN
 - ADN polimerases
 - Outros enzimas do replisoma
 - Replicación do ADN telomérico
 - Erros de replicación
 - Reparación do ADN
 - Reparación directa do dano
 - Reparación de rotura da dobre febra
 - Síntese de ADN «sobre o dano»
- T4 Cambios do material xenético: mutacións xénicas e anomalías cromosómicas.
 - Mutacións xénicas
 - Anomalías cromosómicas
 - Anomalías numéricas
 - Anomalías estruturais
 - Efecto da idade sobre os cambios no ADN

- T5 Ciclo celular. División celular
 - Ciclo celular
 - Regulación do ciclo celular
 - Mitose
 - Meiose
- T6 Transmisión. Herdanza e padróns de herdanza
 - Introdución á xenética mendeliana
 - Conceptos básicos da xenética
 - Padróns de herdanza
 - Herdanza autosómica dominante
 - Herdanza autosómica recesiva
 - Herdanza ligada ao sexo
 - Herdanza mitocondrial
 - Expresión monoalélica e dose xenética
 - Factores que alteran o padrón de herdanza.
- T7 Expresión. Síntese e maduración do ARN
 - Expresión da información xenética
 - Síntese de ARN
 - Modificacións post-transcripcionais do ARN
 - Corte e empalme de ARNm
- T8 Síntese de proteínas. Pregamento. Degradación
 - Código xenético
 - ARN transferinte
 - Ribosomas
 - Pregamento de proteínas
 - Degradación de proteínas
- T9 Bioloxía humana da reprodución: gametoxénese e fecundación
 - Gametoxénese feminina
 - Diferenciación inicial
 - Crecedemento
 - Maduración posnatal
 - Maduración folicular
 - Control hormonal da ooxénese
 - Ciclo ovárico e ovulación
 - Gametoxénese masculina
 - Diferenciación inicial
 - Crecedemento
 - Maduración
 - Control hormonal da espermatoxénese
 - Fecundación
 - Transporte dos gametos
 - Fecundación
- T10 Bioloxía humana do desenvolvemento: segmentación e embrioxénese

De cigoto a blástula
Embrioxénese
Estimación da idade embrionaria

ACTIVIDADES

Interactiva 1- Estatística básica en xenética- árbores xenealóxicas

Xustificación

Desenvolvemento

Obxectivos

Interactiva 2- Problemas e casos clínicos de xenética

Xustificación

Desenvolvemento

Obxectivos

Interactiva 3- Illamento de ADN en laboratorio

Xustificación

Desenvolvemento

Obxectivos

Interactiva 4- Manexo de microscopio e observación de preparacións (gametoxénese)

Xustificación

Desenvolvemento

Obxectivos

Interactiva 5- Traballos de investigación en xenética

Xustificación

Desenvolvemento

Obxectivos

Interactiva 6- Desenvolvemento embrionario

Xustificación

Desenvolvemento

Obxectivos

PRINCIPIOS METODOLÓXICOS

AVALIACIÓN DA UNIDADE DIDÁCTICA

ANEXOS

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía básica

CONTEXTUALIZACIÓN

Presentación

A unidade didáctica BIOLOXÍA MOLECULAR HUMANA forma parte da materia BIOLOXÍA HUMANA (4.5 ECTS), que se imparte no primeiro curso e primeiro semestre do Grao en Enfermaría na Universidade de Santiago de Compostela, Campus de Santiago de Compostela. A materia está dividida en dous bloques: Biología molecular e Biología celular. Esta unidade impártese na primeira e serve de introdución así como base para a segunda parte da materia e outras materias.

Esta unidade didáctica, como parte dunha materia de formación básica e de primeiro curso, está dirixida a estudantes que están iniciando a súa formación universitaria no eido da saúde. Estes alumnos adoitan ter unha boa base dos contidos que se tratarán na unidade didáctica, pois son tratados durante o bacharelato, e busca desenvolver as súas capacidades analíticas e de razoamento.

A unidade didáctica organízase en 10 temas, que se traballan en 12 horas de clases expositivas presenciais e 6 h de clases interactivas.

Xustificación

Esta unidade didáctica busca dotar o profesional de enfermaría de coñecementos básicos sobre o funcionamento básico da célula, centrándose naqueles mecanismos moleculares implicados no procesamento da información celular en células humanas, que determinará a nosa natureza: que nos une e nos diferencia doutros seres vivos, como as células adquiren a súa identidade e como se transmite a outras células e á descendencia do individuo.

Tal e como recolle a Lei 2/1974, de 13 de febreiro de colexios profesionais e os Estatutos da Organización Colexial de Enfermaría de España, a profesión de enfermaría precisa de individuos que «adquiriron os coñecementos e aptitudes suficientes acerca do ser humano, dos seus órganos, das súas funcións bio-psico-sociais en estado de benestar e de enfermidade», e as «intervencións de enfermaría deben de estar baseadas en principios científicos, humanísticos e éticos». A biología celular e molecular está na base do funcionamento de todos os seres vivos. Nesta unidade didáctica empezamos vendo a diversidade de organismos para entender que significa estar vivo e que nos fai humanos desde un punto de vista científico (T1); veremos os mecanismos comúns que empregan todos os seres vivos como a organización do material xenético (T2); a súa replicación, os mecanismos de reparación e os cambios no material xenético que suceden como consecuencia de erros no proceso e a súa transmisión a nivel celular e interxeracional (T3-T6); a súa expresión como ARN e como proteínas (T7-T8); e rematamos vendo aspectos claves do proceso de formación dun ser humano, o desenvolvemento embriolóxico (T9-T10).

COMPETENCIAS E OBXECTIVOS

Competencias

Entre as competencias da materia que se traballan nesta unidade atópanse as seguintes:

- CB1. Que os estudantes demostren posuír e comprender coñecementos nunha área de estudo que parte da base da educación secundaria xeral, e que se adoita atopar a un nivel que, aínda que se apoia en libros de texto avanzados, inclúe tamén algúns aspectos que implican coñecementos procedentes da vangarda do seu campo de estudo;
- CB2. Que os estudantes saiban aplicar os seus coñecementos ao seu traballo ou vocación dunha forma profesional e posúan as competencias que adoitan demostrarse por medio da elaboración e defensa de argumentos e a resolución de problemas dentro da súa área de estudo;
- CB3. Que os estudantes teñan a capacidade de reuniren e interpretaren datos relevantes (normalmente dentro da súa área de estudo) para emitiren xuízos que inclúan unha reflexión sobre temas relevantes de índole social, científica ou ética;
- CB4. Que os estudantes poidan transmitir información, ideas, problemas e solucións a un público tanto especializado como non especializado;
- CB5. Que os estudantes desenvolvesen aquelas habilidades de aprendizaxe necesarias para emprenderen estudos posteriores cun alto grao de autonomía.
- CG6. Basear as intervencións da enfermaría na evidencia científica e nos medios dispoñibles.
- CT1. Capacidade de aplicar os coñecementos á práctica.
- CT2. Capacidade para o traballo en equipo.
- CT3. Motivación.
- CT5. Capacidade para a resolución de problemas.
- CT7. Capacidade de análise e síntese.
- CT11. Habilidades interpersoais.
- CT12. Planificación e xestión do tempo.
- CT13. Habilidade para traballaren de maneira autónoma.
- CT14. Habilidades de xestión da información (habildade para buscar e analizar información proveniente de diversas fontes).
- CT16. Habilidades de investigación.
- CT17. Habilidades básicas de manexo de computadores.
- CE1. Coñeceren e identificaren a estrutura e función do corpo humano. Comprenderen as bases moleculares e fisiolóxicas das células e os tecidos.

Obxectivos

Os obxectivos xerais da materia son coñecer e identificar a estrutura do corpo humano e comprender as bases moleculares e fisiolóxicas de células e tecidos. Outros

obxectivos máis específicos veñen determinados polas competencias a desenvolver, e detállanse a continuación. (Indícase entre parénteses aquelas competencias que se traballan)

- **Posuír e comprender os coñecementos de bioloxía básica** e ser capaces de desenvolver habilidades de aprendizaxe e investigación de xeito autónomo (CB1, CB5, CT3, CT13, CT16, CE1)
- **Ter capacidade de interpretar información sobre a bioloxía**, aplicala para a resolución de problemas e casos clínicos, de xeito individual ou en grupos (CB1, CB3, CG6, CT1, CT2, CT5, CT7, CT11, CT13)
- **Formular, argumentar e expoñer ideas** oralmente así como elaborar documentos escritos sobre enfermidades xenéticas, adaptarse a uns prazos e normas, colaborar con outras persoas, empregando unha terminoloxía técnica axeitada (CB2, CB4, CT2, CT12, CT14, CT16, CT17, CE1)
- **Relacionar os contidos da materia** coa súa aplicación no desenvolvemento embrionario (CB1, CT1, CE1)
- **Participar** activamente nas clases teóricas e prácticas, mostrar unha actitude positiva cos seus compañeiros, os docentes e os materiais e medios dispoñibles. (CT3, CG23)

CONTIDOS BÁSICOS

T1 Visión xeral das células. Procariotas. Eucariotas

Introdución

Somos células. Cada un de nós está composto por millóns de células, que son as responsables dos nosos pensamentos, os nosos actos, as nosas respostas e interaccións co mundo que nos rodea. Cada un de nós foi no seu día unha única célula, que se dividiu dando lugar a outras células, que se dividiron e creceron e se diferenciaron, especializándose para dar lugar a outras células distintas e produciren tecidos e órganos tan complexos como o ollo, as mans, ou o sangue. O propósito da materia é entender aspectos básicos da forma, funcionamento e desenvolvemento do ser humano, durante a súa vida e ao longo da súa historia evolutiva, dende o punto de vista da propia célula.

Neste capítulo, centrarémonos naqueles aspectos básicos que constitúen unha célula, e faremos un pequeno repaso sobre a evolución que deu lugar a células máis complexas e organismos pluricelulares, como o ser humano. Evolutivamente, todos os seres vivos coñecidos neste planeta presentan unha serie de características comúns.

Que é unha célula

A maior parte das células son invisibles para o ollo humano. Para o seu descubrimento e estudo é necesario o uso de aparatos que nos permitan recadar información sobre a súa forma e actividade. O instrumento que permitiu o

establecemento do eido da bioloxía celular é o **microscopio**. Un microscopio é, en termos básicos, un conxunto de lentes que permite ver obxectos pequenos a grandes aumentos (verase en maior detalle na **Actividade Interactiva 4**).

Os primeiros microscopios empezaron a usarse ao redor de 1650 para a observación de estruturas moi pequenas, invisibles para o ollo humano.

O primeiro en describir unha célula foi Robert Hooke en 1665, quen observando unha lámina de cortiza utilizou o termo «*cellula*» (do latín «cuarto pequeno») para se referir á parede de células vexetais. Pero a súa identidade como compoñentes de plantas ou animais tardou en recoñecerse. No ano 1676, Anton van Leeuwenhoek, cun microscopio mellorado, describe «animáculos», pequenos microorganismos que se podían atopar na auga dos charcos, como protozoos, e mesmo observou o movemento de espermatozoides.

Estas observacións e similares foron replicadas por outros investigadores e curiosos, e viuse facilitada pola mellora das técnicas de preparación de microscopios. As células vexetais eran facilmente recoñecibles. Pero as células animais, sen unha parede, tardaron máis tempo en ser recoñecidas como as unidades que formaban todos os tecidos animais.

Teoría celular

A partir do ano 1839, Theodor Schwann e Matthias Schleiden formularon os primeiros postulados da **teoría celular**:

1. Todos os animais e plantas están formados por células, e
 2. a célula é a unidade básica (morfolóxica e funcional) dos organismos.
- Posteriormente en 1858 Rudolf Virchow incorporou o terceiro postulado:
3. «*Omnis cellula e cellula*», todas as células proceden doutras células.

Aínda que no seu momento non foron admitidas universalmente, co tempo a veracidade destes postulados foi recoñecida. A estes tres postulados clásicos, habitualmente engádenselle outros tres, máis recentes no tempo:

4. o ADN é o material que contén a información e que se transmite dunha célula ás seguintes mediante divisións celulares. Este ADN contén o programa xenético que permite sintetizar ARN e proteínas que levarán a cabo as reaccións químicas propias de cada tipo de célula;
5. as células dos organismos de especies próximas evolutivamente son basicamente iguais, tanto estrutural como bioquimicamente. A estrutura máis evidente é a membrana plasmática, que separa a célula do medio exterior e serve para definir os seus límites;
6. as células son capaces de xerar enerxía para manter a súa estrutura e levar a cabo estas reaccións químicas.

Célula. Tipos de células. Orixe evolutiva da célula eucariota

Aínda que estas características son comúns para todas as células, non todas son iguais. O tamaño pode variar moito (dende uns poucos micrómetros, μm , na maioría das bacterias, ata varios centímetros, no caso dos ovos dalgunhas aves).

A presenza de parede celular é común en bacterias, fungos e plantas, pero non se atopa en células animais. O microscopio electrónico permitiu observar estruturas máis pequenas, como os virus, e incluso membranas no interior das células.

As células pódense clasificar en base á presenza dun núcleo delimitado por membrana. Os **eucariotas** serían células nas que o ADN está separado do resto dos compoñentes e a maior parte do metabolismo por unha membrana. A este compartimento chámase núcleo, e á membrana envoltura nuclear. Pola contra, os **procariotas** non teñen un núcleo definido e o material xenético está exposto a todo tipo de reaccións que suceden no interior destas células procariotas. Aínda que o número de xenes en procariotas é menor que en eucariotas, en conxunto os procariotas teñen unha maior diversidade xenética e tamén bioquímica, podendo levar a cabo reaccións que non poderían os eucariotas.

No ano 1977 descubriuse que os procariotas son en realidade dous grupos con características distintas, dando lugar aos dominios **Bacteria** e **Arquea**.

As principais características presentes en eucariotas que non se atopan en procariotas son as seguintes:

- a presenza de envoltura nuclear ao redor dos ácidos nucleicos (núcleo), cun nucléolo;
- ADN lineal, monocistrónico, que dá lugar a un ARNm que sofre un proceso de maduración;
- orgánulos endomembranosos ben desenvolto, como retículo endoplasmático, aparello de Golgi, mitocondrias, peroxisomas;
- Ribosomas de 80S.

Algunhas das diferenzas tradicionalmente asumidas entre procariotas e eucariotas (ADN sen ou con histonas, ausencia ou presenza de citoesqueleto, formil-metionina ou metionina como aminoácido inicial nas proteínas...) hoxe en día sábese que se comparten entre arqueas e eucariotas. Outras características, como o tamaño total ou o do seu ADN aínda se manteñen, aínda que hai algunhas excepcións que fan difícil o seu uso como marcadores diferenciais. Estas similitudes, así como análises filoxenéticas, mostraron que arqueas e eucariotas estarían máis proximamente emparentadas ca os procariotas bacterias e arqueas.

Evolutivamente, as células eucariotas proceden de arqueas. No ano 1967 Lynn Margulis propuxo a teoría endosimbiótica, que propón que as actuais células eucariotas proceden da simbiose de dous ou máis procariotas, unha delas unha arquea, que mantería a maior parte das súas características, e outra unha bacteria, que se incorporaría ao interior da arquea e se convertería nas actuais mitocondrias (e cloroplastos, nas células vexetais). A separación do material xenético daquel metabolismo implicado na produción de enerxía (especialmente cando este metabolismo implica a moléculas derivadas de osíxeno) permitiu ás novas células acadar a complexidade e tamaño que hoxe en día presentan as células eucariotas.

Organismos pluricelulares

O aumento de tamaño e complexidade das células eucariotas permitiu, ademais, a aparición de organismos pluricelulares. Aínda que hai especies procariotas que viven en pequenas colonias, todas as células presentes son funcional e morfoloxicamente iguais. Nas células eucariotas, co aumento do tamaño do núcleo e a acumulación de ADN permitiu que houbera máis información xenética que permitía unha expresión diferencial. Como resultado, unhas poucas células puideron especializarse en tarefas concretas.

Así, as primeiras especializacións permitiron que houbera reprodución sexual, mediante a cal dous individuos distintos podían combinar o seu material xenético para producir un individuo con características herdadas dos outros dous, e ao mesmo tempo diferentes de cada un deles por separado. Evolutivamente, isto permitía que a selección natural puidese actuar de xeito independente en xenes distintos, acelerando enormemente a evolución.

Co tempo, outros tipos celulares fóronse xerando, cada un deles especializándose nunha ou nunhas poucas funcións (ver o tema *T10 Biología humana do desenvolvemento*). Para lograr a complexidade de organismos pluricelulares, porén, precisábase de novas capacidades que están ausentes ou moi limitadas en organismos procariotas:

- Comunicación celular, que permite o funcionamento coordinado do conxunto de células.
- Adhesión selectiva célula-célula, que permite a formación de tecidos formados por células idénticas e a relación de células coas que comparten unha función común.
- Memoria celular (epixenética), que permite a permanencia ao longo do tempo das características morfolóxicas e fisiolóxicas dunha célula especializada.

Nos seres humanos, conviven células eucariotas (as que teñen o xenoma humano), con células procariotas e outras eucariotas que colonizan as superficies. Na maioría dos casos esta convivencia non ten efectos negativos sobre a saúde do individuo, e mesmo algunhas destas relacións teñen efectos beneficiosos.

Ademais, tamén se poden atopar outras estruturas acelulares con interese biomédico: os virus.

Virus

Os **virus** son complexos de biomoléculas (ácidos nucleicos e proteínas) carentes de vida. Aínda que poden evolucionar e controlar aspectos bioquímicos de células ás que infectan, fóra das células son bioquimicamente inertes.

Evolutivamente, crese que derivan de xenes móbiles, «**provirus**» fragmentos de ADN que son capaces de pasar dunha célula a outra. Aínda que non están asociados á aparición dunha enfermidade específica, os provirus poden producir mutacións ao integrarse no ADN.

Os **transposóns** son similares aos pro-virus, pero intégranse en lugares do xenoma ben determinados. Debido a isto, si que se asocian con mutacións que

adoitan afectar a xenes concretos, e polo tanto presentarse como un cadro clínico concreto.

Os **plásmidos** son moléculas de ADN bicatenario circular, presentes en procariotas, que se poden replicar de xeito independente do ADN bacteriano. Ademais, os procariotas teñen mecanismos que permiten compartir e empregar estes plásmidos, de xeito que poden funcionar como vectores para a transmisión de información xenética (p. ex. resistencia a antibióticos).

Os virus actuais poden proceder de plásmidos e provirus que adquiriron unha cuberta proteica, o que lles permite saír da célula, manterse inalterados no seu exterior (virións) e infectar outras células, reiniciando a súa replicación como fan plásmidos e provirus.

Virusoides, *virinos* e *viroides* son outros complexos con aspectos similares a virus, pero con características particulares a cada un deles.

Os **prións** son glicoproteínas sen ácidos nucleicos asociados, que teñen certa actividade catalítica que permite a transmisión de características non xenéticas (xeralmente asociadas á configuración tridimensional e á capacidade de proteínas de agregarse e precipitar). Tamén teñen importancia biomédica, asociada coa aparición de enfermidades dexenerativas como o Kuru, ou a enfermidade de Creutzfeldt-Jacob.

T2 O material hereditario: organización: xenes e cromosomas

Estrutura do ADN

O ADN, presente en células humanas en núcleo e mitocondrias, é a molécula que contén a información xenética. Aínda que hoxe está xeralmente aceptado, este coñecemento é relativamente recente. Historicamente, sabíase que había «algo» que permitía a transmisión dunha xeración á seguinte, pero a súa natureza non foi coñecida ata o século XX.

Os primeiros experimentos que permitiron distinguir o papel do ADN fronte ás proteínas son os de Avery, McLeod e McCarty en 1944, que traballando con distintas cepas de *Streptococcus pneumoniae* observaron que o ADN (e non proteínas ou ARN) era capaz de transformar estas bacterias.

A confirmación do papel do ADN como transmisor da información xenética foi confirmado en virus por Hershey e Chase en 1952. Infectaron con virus un cultivo de células, puxeron as células nun «batedor» e logo centrifugaron células e virus para separalos. Observaron que o material incorporado ás células procedentes dos virus era o ADN, e non as proteínas.

No ano 1950 Erwin Chargaff analizou a composición de nucleótidos de diversos organismos, e atopou que as cantidades de guanina (G) eran iguais ás de citosina (C), e as de timina (T) eran iguais ás de adenina (A), aínda que as cantidades destas parellas eran distintas en distintas especies. Hoxe en día coñécese como «regra de Chargaff» (A=T, e C=G)

Esta observación xunto con estudos de difracción de raios X de Rosalind Franklin permitiron a James Watson e Francis Crick presentar en 1953 o **modelo da dobre hélice**.

O modelo da dobre hélice permitiu formular o **dogma central da bioloxía**, que di que a información xenética está conservada no ADN, que se pode replicar para dar máis copias, ou transcribirse a ARN, e este ARN pode traducirse a proteína.

Cromosomas

O ADN non se presenta illado na célula, senón que se asocia con proteínas. Isto permite a regulación da utilización deste ADN, a súa organización e redución en lonxitude, necesarias para o correcto funcionamento celular.

A **cromatina** consiste en ADN e proteínas requiridas para o seu compactado e regulación. O ADN enrólase en octámeros de histonas, dando lugar a **nucleosomas**. Esta unidade básica de organización dá lugar a unha forma pouco condensada de cromatina, cun grosor duns 11 nm. Coa axuda dunha histona distinta ás que forman os octámeros, a cromatina pode presentarse nunha forma máis compacta e grosa, duns 30 nm de diámetro. Outras proteínas (condensinas, cohesinas...) permiten un enrolamento maior, importante para a organización no núcleo e tamén durante a división do núcleo e reparto do material xenético.

Cando a célula non está dividíndose a fibra de ADN preséntase como cromatina con distintos graos de compactado: **euromatina**, pouco condensada e funcional, e **heterocromatina**, que representa segmentos máis compactos e que son inactivos transcricionalmente.

O grao máximo de empaquetado do ADN acádase na metafase da división nuclear, a mitose. Neste momento son visibles co microscopio óptico os **cromosomas**, ADN altamente enrolado que permite a separación ordenada dos segmentos de ADN que conforma o xenoma humano.

Cada un dos cromosomas ten dúas **cromátides**, resultado da duplicación do ADN (ver T3 Replicación e reparación do ADN). Estas cromátides conteñen a mesma información xenética, e están destinadas a separarse e levar a información a células distintas. As cromátides están unidas por un **centrómero**, unha constrición nos cromosomas que ademais terá funcións como a organización do cinetocoro durante a división celular. Os cromosomas poden presentar outras constricións secundarias, comunmente asociadas a segmentos que codifican para o ARN ribosómico. Nos extremos atópanse os **telómeros**, estruturas de ADN repetitivo que manteñen a integridade do cromosoma.

En función da localización do centrómero, en humanos podemos clasificar os cromosomas en **metacéntricos**, se o Centrómero está situado cara á metade do cromosoma, **submetacéntricos** se se desvía e a cantidade de ADN é claramente superior nun lado, e **acrocéntricos**, cando practicamente todo o ADN se sitúa a un lado do Centrómero e só queda un pouco de ADN no outro extremo. Chámanse brazos aos segmentos que quedan entre centrómero e telómero; o brazo de maior lonxitude recibe o nome de brazo longo ou q e, o de menor, brazo curto ou p.

O conxunto de cromosomas dun individuo, con indicación do número, tamaño e forma constitúen o **cariotipo**, que é típico de cada especie. Na especie humana o común son 46 cromosomas, 22 pares de autosomas e os gonosomas ou cromosomas

sexuais: XX nas mulleres e XY nos homes. O **cariograma** é a representación dun xeito ordenado e por pares de microfotografías dos cromosomas tinguidos. Outra forma de representalo é mediante un **ideograma**, esquemas representativos dos cromosomas do cariotipo que fan máis doada a visualización das distintas estruturas do cromosoma.

A orde dos cromosomas adoita seguir os criterios da conferencia de París de 1971, que ordena os cromosomas segundo dous criterios:

- Tamaño: os máis grandes numéranse primeiro, recibindo números máis baixos.
- Morfoloxía: os cromosomas metacéntricos numéranse primeiro.

Esta clasificación resulta en 7 grupos de cromosomas autosómicos:

Grupo A: pares 1-2-3 / M-S-M

Grupo B: pares 4-5 / S

Grupo C: pares 6-12 / S

Grupo D: pares 13-14-15 / A

Grupo E: pares 16-17-18 / M-S-S

Grupo F: pares 19-20 / M

Grupo G: pares 21-22 / A

Para poder ver algunhas estruturas do cromosoma adóitanse empregar distintos métodos de tinguidura:

- Bando G- Emprega Giemsa, que tingue máis intensamente rexións heterocromáticas, xeralmente con alto contido de A-T.
- Bando Q- Emprega Quinacrina, o resultado é similar ao do bando G, pero permite a súa visualización con luz UV.
- Bando R- Resulta en bandas inversas ao bando G, tinguido máis intensamente rexións ricas en G-C e transcricionalmente máis activas.

Tamén se poden empregar sondas fluorescentes, que permiten detectar rexións do cromosoma específicas, ou mesmo cromosomas enteiros.

Proxecto Xenoma Humano

Unha vez establecido o papel central que ten o ADN como molécula portadora da información xenética, fíxose evidente a necesidade de coñecer o contido dese ADN. No ano 1975 Frederick Sanger introduce un método de secuenciación que permite a coñecemento dos nucleótidos que compoñen pequenos fragmentos de ADN: neste método de Sanger baseáronse con algunhas modificacións as primeiras máquinas de secuenciación semi-automáticas.

Esta tecnoloxía permitiu propor e lanzar o Proxecto Xenoma Humano no ano 1990, un proxecto de secuenciación internacional, cos seguintes obxectivos:

1. Identificar os aproximadamente 100 000 xenes humanos no ADN.
2. Determinar a secuencia de 3 000 millóns de bases químicas que conforman o ADN.
3. Gardar a información en bases de datos.

4. Desenvolver de modo rápido e eficiente tecnoloxías de secuenciación.
5. Desenvolver ferramentas para a análise de datos.
6. Dirimir as cuestións éticas, legais e sociais que se derivan do proxecto. No eido da medicina, engadíanse dous obxectivos:
7. Identificar ou achar os xenes que causan certas enfermidades (prevención, diagnóstico e tratamento).
8. Curar e determinar a predisposición a certas enfermidades.

O proxecto completouse no ano 2003 coa publicación do xenoma de referencia, un borrador do xenoma humano no que só unhas rexións de difícil análise quedaban por secuenciar. No ano 2021 un novo proxecto completou boa parte destas rexións non secuenciadas, sendo secuenciado totalmente no ano 2022.

Tipos de secuencias de ADN e as súas características

O proxecto xenoma humano puxo en evidencia algunhas das cousas que ata o momento non se coñecían. Entre elas, que o **número de xenes** non era tan alto como se pensaba, reducíndose de 100 000 estimados a menos de 25 000. Menos do 2 % codificaba para proteínas (transcríbese a ARN e logo tradúcese a proteínas), aínda que case a metade se transcribe en ARN. En base a isto, pódese clasificar o ADN do xenoma humano en:

1. ADN que se transcribe e se traduce a proteína: 2 %
2. ADN que se transcribe, pero non se traduce: 43 %
3. ADN que non se transcribe nin se traduce: 55 %

Outro descubrimento é que o **ADN é altamente repetitivo**. Case a metade do ADN está composto por xenes (dos cales só unha pequena porción se traduce, que se corresponde a rexións intrónicas) e **secuencias de copia única** que se atopan entre xenes. O resto está composto por secuencias de ADN que se poden atopar **repetidas ao longo do xenoma**. Aquelas secuencias cunha lonxitude curta, dun 300 pares de bases, pb, denomínanse SINEs (do inglés «*Short Interspersed Nuclear Elements*») e un exemplo é a familia Alu, que constitúe por si soa o 10 % do xenoma. Aquelas secuencias cunha lonxitude longa (máis de 6 000 pb) denomínanse LINEs (do inglés «*Long Interspersed Nuclear Elements*») e son na súa maioría retrotransposóns que asemellan unha molécula de ARN integrada no xenoma nuclear. Ademais deste ADN atopamos no xenoma humano secuencias de **ADN repetitivo en tándem**, isto é, secuencias curtas que se atopan repetidas unha tras outra. Poden ter unha grande importancia para a célula aínda que non codifiquen proteínas, xa que a miúdo as copias en tándem inducen a conformación heterocromática, e poden afectar así a expresión de xenes na súa proximidade. Así, o ADN macrosatélite consiste en pequenas rexións de ADN que se repiten milleiros de veces, e que se atopan principalmente en centrómeros e telómero. No ADN minisatélite, a secuencia de ADN é relativamente grande, pero repítese menos veces que no macrosatélite. No ADN microsátélite a secuencia é de só 1-6pb, polo que tamén recibe o nome de STR (do inglés «*Short Tandem Repeat*»), e teñen importancia en certas enfermidades neurolóxicas así como en medicina forense.

En resumo, en base ás repeticións, temos

1. ADN de copia única: 45-50 %
 - 1.1. Rexión codificante: 1-2 %
 - 1.2. Rexión intrónica: 24-26 %
 - 1.3. ADN interxénico 20-22 %
2. ADN repetitivo disperso: 40-51 %
 - 2.1. LINEs 18-22 %
 - 2.2. SINEs 13-16 %
 - 2.3. Transposóns: 3-4%
 - 2.4. Retrotransposóns (con LTR): 8-9 %
3. ADN satélite (macro, mini, micro): 3 %
4. Duplicacións de ADN: 5 %

Cabe destacar que aínda que unha boa parte do ADN non codifica para proteína ou é ADN repetitivo, estímase que un 80 % do xenoma ten algún tipo de función.

Xene: estrutura e función

O ADN humano está disposto en cromosomas, e cada cromosoma presenta distintos tipos de ADN, tal e como vimos en seccións anteriores. Pero antes do descubrimento do papel do ADN na transmisión xenética xa se empregaba o termo «xene» como unidade básica da herdanza.

Un **xene** é unha secuencia de ADN que codifica para un produto funcional. É, polo tanto, unha unidade física, cunha lonxitude determinada de pares de bases e unha localización nun cromosoma, que a célula pode empregar para transcribir e dar lugar a unha molécula cunha función determinada para o seu funcionamento.

As proteínas están codificadas por xenes. O ARN que codifica para proteínas denomínase **ARN mensaxeiro**, porque serve para levar unha información, a mensaxe, entre o núcleo, onde se sitúa a maior parte do ADN eucariota, e o citoplasma, onde se produce a tradución a proteínas. (ver T8 Síntese de proteínas)

Os xenes poden tamén codificar para outras moléculas distintas de proteínas. Nestes casos, o produto final será un ARN, que non necesita tradución para ter unha función celular. Se hai uns 20 000 xenes que codifican para proteínas, outros 25 000 codifican para ARNs que non se traducirán. Estes pódense dividir en **ARN de pequeno tamaño**, que codifican para **ARN ribosómico** e **ARN transferinte** (ambos implicados na tradución de proteínas a partir do ARNm), e outros menos coñecidos como microARN ou siARN (de «micro RNA» e «small interfering RNA», respectivamente; ambos implicados na regulación dos niveis de ARNm e a súa tradución) e snRNAs, snoRNAs, que interveñen no procesamento doutros ARNs; ou **ARN non codificantes de cadea longa**, (lncRNA), a maioría con función reguladora sobre os ARNm.

T3 Replicación e reparación do ADN

Replicación do ADN

Toda célula procede doutra célula, tal e como postulaba a teoría celular. Cada vez que unha célula se divide para dar lugar a dúas células fillas, os contidos da célula repártense de xeito máis ou menos aleatorio. Pero para o correcto funcionamento da célula requírese que a información xenética contida no ADN do núcleo se duplique e se reparta de igual xeito nas células fillas. Neste tema imos centrarnos no proceso de duplicación do ADN, e veremos o reparto noutro apartado (ver T5 Ciclo celular. División celular).

No momento en que propuxeron o seu modelo da dobre hélice, Watson e Crick indicaron que «o apareamento [de bases] específico que postulamos suxire inmediatamente un posible mecanismo de copiado para o material xenético»: as bases presentes en ambas as febras da dobre hélice son complementarias, o que implica que a información que contén unha única destas febras abonda para reconstituír a dobre hélice orixinal. Esta característica é precisamente a que empregan todas as células para duplicar o seu material xenético: as dúas febras que compoñen a hélice de ADN sepáranse e cada unha serve de molde para sintetizar unha nova dobre cadea. O resultado é unha dobre hélice, na que unha febra é a orixinal e a outra é unha nova copia: **a duplicación do ADN é semiconservativa**. Aínda que o proceso semella sinxelo, a célula desenvolveu numerosos mecanismos para poder levar a cabo este proceso de xeito fidedigno.

A replicación do ADN pódese dividir en varias etapas: recoñecemento do punto de orixe, desenrolamento da dobre hélice, síntese das febras novas e ligazón dos fragmentos de ADN que se sintetizaron.

Recoñecemento do punto de orixe e desenrolamento da dobre hélice

A replicación comeza nun punto de orixe. No xenoma humano, hai entre 10 000 e 100 000 destes puntos de orixe separados uns 30 000 - 300 000 pb. Estes puntos de orixe non están predeterminados en humanos. Isto contrasta co que sucede nas bacterias, cun xenoma miles de veces máis pequeno, onde hai un único punto de orixe ben definido.

En cada cromosoma humano hai múltiples puntos onde se poden unir proteínas que forman un «complexo de recoñecemento de orixe», ou ORC. A este complexo pódenselle unir máis proteínas que forman un complexo de pre-replicación (pre-RC).

Este complexo pode ser activado unha única vez por ciclo celular, pero non sempre se activa. Só un 10-15 % deles se activan, durante a fase S do ciclo celular, e parece estar influenciado polo estado da cromatina. Durante a interfase, non todo o ADN está igualmente condensado. En células nai, con pouca heterocromatina e gran velocidade de replicación, o número de puntos de orixe é maior que en células diferenciadas, con grandes rexións de heterocromatina facultativa e menor frecuencia de divisións.

Cómpre destacar que durante a replicación tamén se ve afectada a estrutura dos nucleosomas. A medida que vai avanzando o furco de replicación, uns poucos octámeros de histonas vanse separando do ADN para permitir a replicación. Posteriormente volverán conformar os nucleosomas con novas histonas, por medio dun complexo de ensamblado de cromatina. O resto manteñen a súa conformación durante este proceso.

Como resultado da activación o complexo ten actividade **helicase**: rompe os enlaces de hidróxeno entre os pares de bases e separa as cadeas complementarias. Como resultado, fórmase a **burbulla de replicación** ou **replicón**.

Síntese da febras novas e ligazón dos fragmentos de ADN

Unha vez aberto o ADN pódense unir outras proteínas que intervirán no proceso de replicación. Este complexo proteico recibe o nome de **replisoma**.

A síntese de ADN ten tres características xerais:

- É bidireccional: a medida que se abre o ADN en ámbolos dous sentidos, sintetízase a cadea complementaria nas dúas direccións e usando as dúas cadeas. A cada unha destas adoita chamárselle **furco de replicación**.
- A síntese de ADN é en sentido $5' \rightarrow 3'$: as cadeas de ADN son antiparalelas. Os enzimas encargados da síntese de ADN a partir das súas subunidades (os desoxi-nucleótidos) son os ADN polimerases. Son capaces de unir o grupo fosfato dun nucleótido (situado no carbono $5'$ dunha molécula de desoxiribosa) co extremo $3'$ libre da cadea de ADN previamente sintetizada
- A síntese dunha cadea será continua, pero a da complementaria será descontinua: debido a esta propiedade, a medida que se van separando as hélices do ADN orixinal a polimerase poderá ir polimerizando ADN de dous xeitos: continuo cando sintetiza unha nova febra en sentido $5' \rightarrow 3'$; e semidescontinuo, cando sintetiza a febra *complementaria* á fibra $5' \rightarrow 3'$ orixinal (ver a continuación).

ADN polimerases

Os enzimas responsables de sintetizar ADN son as **ADN polimerases**. En eucariotas hai cinco ADN polimerases coñecidas, denominadas coas letras gregas: α , β , γ , δ e ϵ . As α , δ e ϵ son as encargadas da replicación do ADN.

A **polimerase ϵ sintetiza de xeito continuo** unha febra $5' \rightarrow 3'$. Para isto necesita: unha **febra molde en sentido $3' \rightarrow 5'$** , os desoxirribonucleótidos trifosfato (**dNTPs**) que irá engadindo, complementarios á febra molde, e un único **cebador** ou «primer», unha molécula de ADN, xeralmente de pequeno tamaño, cun extremo $3'$ libre ao que poder enlazar o grupo fosfato dos dNTPs que se están engadindo nese momento á cadea. A enerxía requirida para formar o novo enlace é proporcionada pola hidrólise dun grupo fosfato do desoxirribonucleótido trifosfato (dNTP).

As **polimerases α e δ** ocúpense da síntese descontinua. Para poder sintetizar ADN en aparente sentido $3' \rightarrow 5'$, a polimerase α é capaz de engadir uns 20 nucleótidos

de dNTPs a unha molécula de ARN, creando un híbrido ARN-ARN complementario á febra orixinal. Sobre este híbrido, que actúa como cebador, pode actuar a polimerase δ , de forma similar a como o fai a polimerase ϵ descrita no anterior parágrafo. Esta polimerización é semidescontinua porque a medida que se vai abrindo o ADN orixinal vaise repetindo este proceso e creando fragmentos pequenos de ADN, denominados **fragmentos de Okazaki** (na honra do seu descubridor, Reiji Okazaki).

Deste xeito, a medida que se vai abrindo a dobre hélice orixinal, vanse xerando dúas febras de xeito case simultáneo. A que se sintetiza de xeito continuo en sentido $5' \rightarrow 3'$ denomínase tamén **febra condutora, líder ou guía**. A que se sintetiza de xeito semidescontinuo, como se sintetiza con certo retardo, tamén recibe o nome de **febra retardada ou atrasada**.

Outros enzimas do replisoma

Ademais das polimerases, para estes procesos requírense outras proteínas con distintas actividades:

- As **proteínas de unión a ADN de febra sinxela** (SSB), que permiten manter as febras separadas pola helicase como febras sinxelas ou monocatenarias e impedir a re-ligazón coa febra complementaria separada. Ademais, evita a degradación do ADN por parte da propia célula, que recoñece o ADN de cadea sinxela como alleo.
- As **topoisomerases** que permiten liberar a tensión acumulada ao producirse o desenrolamento nunha rexión do ADN, e que adoita provocar o superenrolamento en rexións continuas. Estes enzimas cortan unha das febras e a volven unir unha vez que se produciu un xiro sobre a outra febra da dobre hélice.
- A **primase** é un enzima con actividade ARN polimerase. Este é capaz de sintetizar un pequeno fragmento de ARN complementario a unha secuencia de ADN. Mentres que as ADN polimerases requiren un cebador para poder engadir dNTPs, a primase só necesita unha cadea de ADN para usar como molde. Este enzima está asociado á polimerase α para crear o cebador que usará a polimerase δ .
- A **abrazadeira corrediza** (xunto co cargador de abrazadeira) permite manter a polimerase unida á cadea de ADN. En eucariotas esta función é levada a cabo pola proteína PCNA. Na cadea atrasada, a abrazadeira coa polimerase δ continúan a súa síntese ao chegar o cebador de ARN-ADN.
- A **RNase H** degrada o ARN que sintetizou a primase. Así cando a polimerase δ está replicando o ADN, o ARN que iniciaba o fragmento de Okazaki anterior é desprazado e ocúpase coa cadea de ADN complementario correspondente.
- A **ADN ligase** é capaz de unir dous fragmentos contiguos de ADN, permitindo selar os espazos deixados pola síntese semidescontinua na febra atrasada.

Replicación do ADN telomérico

Os cromosomas eucariotas son longas moléculas lineais de ADN. Isto implica que durante a replicación, haberá unha rexión no extremo 3' de cada unha das febras da hélice que non se replicará, e dará lugar a un extremo de ADN monocatenario. A medida que a célula replica repetidas veces o seu ADN, isto comportaría unha progresiva redución da lonxitude dos cromosomas.

Os telómeros, as rexións terminais dos cromosomas, están conformados por ADN microsatélite, repeticións en tándem da secuencia 5'-TTAGGG-3'. Para evitar o acurtado dos telómeros, algunhas células como as células nai ou as células xerminais que darán lugar a gametos, presentan un enzima denominado telomerase. A **telomerase** pode engadir repeticións da secuencia de ADN anteriormente descrita sen necesidade dunha febra de ADN molde. Para iso, a telomerase actúa como transcriptase inversa, dun xeito semellante a como actúan os retrovirus: sintetizando ADN a partir dun molde de ARN. Esta molécula de ARN atópase na propia telomerase, polo que poden engadir múltiples copias da secuencia telomérica ao extremo dos cromosomas.

Erros de replicación

Durante a duplicación do ADN trátase de obter dúas copias de ADN idénticas á orixinal. O feito de que as bases sexan complementarias facilita que este proceso sexa preciso, pero o aparellamento espontáneo das bases ten unha taxa de erro de 1 cada 100 pares de bases.

Esta taxa de error vese reducida co emprego de polimerases, que non só catalizan a formación do enlace nucleotídico, senón que tamén é capaz de ler a febra molde e seleccionar o nucleótido que corresponde. Esta característica permite reducir a taxa de error ata 1 de cada 100 000 pares de bases.

Un terceiro mecanismo baséase na capacidade de corrección de erros na replicación. As ADN polimerases δ e ϵ , ademais de poder sintetizar ADN en sentido 5'→3', son capaces de escindir nucleótidos en sentido inverso ao da síntese, en sentido 3'→5'. Esta actividade exonuclease permite que unha vez que a polimerase incorporou un nucleótido equivocado ao ADN, pode «volver atrás» retirando os nucleótidos erróneos e volver a retomar a actividade polimerase no sentido 5'→3'. En conxunto, a taxa de erro en humanos está calculada en 1 de cada 100 000 000 pares de bases.

A célula presenta ademais outros mecanismos para reducir aínda máis esta taxa de erro e aumentar a fidelidade na copia do ADN

Reparación do ADN

O ADN é unha molécula que é susceptible de sufrir reaccións químicas. Estas reaccións poderían introducir modificacións ou danos que afectasen á información contida no ADN. O núcleo permite a separación do ADN do citoplasma, onde

sucedan moitas das reaccións do metabolismo, precisamente para evitar estas modificacións. Pero a célula dispón de mecanismos máis activos para reverter os cambios que sofre o ADN.

Reparación directa do dano

A maior parte das modificacións que afectan o ADN son reparadas por eliminación e substitución. Estas poden ser clasificadas en tres tipos:

- Reparación por excisión de base: elimínase unicamente a base nitroxenada dos nucleótidos afectados. Intervén unha ADN glicosilase que corta o enlace entre a desoxiribosa e a base nitroxenada. O exemplo máis común é a eliminación de uracilo, que é típico do ARN e non do ADN.
- Reparación por excisión do nucleótido: implica o corte dunha cadea curta de ADN e a súa reposición. Xeralmente acóplase co proceso de transcrición, aínda que tamén hai outras vías menos eficientes. O complexo TFIIH, asociado coa transcrición, é capaz de recoñecer erros nas febras que están transcricionalmente activas, separar as febras de ADN e producir un dobre corte na cadea de ADN (endonucleases). Ese espazo pode ser logo completado con ADN polimerases e ligases. O exemplo máis común é a eliminación dos dímeros de pirimidina provocados polos raios UV.
- Reparación de desaxustes: suceden cando hai dúas bases enfrontadas que non son complementarias. A maquinaria celular é capaz de identificar cal das dúas é a antiga (orixinal) e a máis nova (copia), unirse á febra máis nova e eliminar unha rexión que inclúe a base desaparellada. O exemplo típico son erros de síntese de ADN que escapan á actividade exonuclease das ADN polimerases.

Reparación de rotura da dobre febra

As roturas que afectan as dúas febras de ADN son especialmente perigosas porque interrompen a continuidade da información. Así poden causar anomalías cromosómicas que resulten fatais para a célula. A reparación pode ser empregando como molde o cromosoma homólogo onde non se produciu a rotura no ADN, nun proceso denominado recombinación homóloga. Polo tanto copia a información dun cromosoma procedente dun proxenitor ao outro cromosoma. Ou pode ser mediante a unión dos extremos libres sen febra molde ningunha (NHEJ, do inglés «*nonhomologous end joining*») e polo tanto tende a cambiar a información no ADN. O exemplo típico son as radiacións ionizantes ou axentes quimioterapéuticos.

Síntese de ADN «sobre o dano»

Algúns enzimas son capaces de detectar danos no ADN no momento de síntese de ADN, recoñecer o tipo de erro e sintetizar unha nova febra coa secuencia

correcta que debería de haber. É típico na copia de ADN sobre dímeros de pirimidina provocados polos raios UV.

T4 Cambios do material xenético: mutacións xénicas e anomalías cromosómicas.

Darwin publica «A orixe das especies» en 1859. Nela hai dúas ideas: os organismos actuais son descendentes modificados de antepasados comúns; e a forza principal que dirixe é a selección natural. A selección actúa sobre a variabilidade pre-existente.

De onde xorde esta variabilidade?

Mutacións xénicas

Unha **mutación** é un cambio na secuencia de ADN que presenta unha célula. Este cambio pode afectar a unha única base, ou poden estar afectados segmentos máis grandes, incluso cromosomas enteiros.

Os efectos das mutacións son diversos en función das células afectadas: se afectan a **células somáticas** só se verá afectado o individuo que porta a mutación, e durante a súa vida. Se afecta as **células xerminais** (as que darán lugar a gametos, ver T9. Bioloxía humana da reprodución: gametoxénese e fecundación), poden transmitirse á descendencia e ter efectos en múltiples individuos ao longo de xeracións.

As mutacións poden ser **espontáneas**, debidas ás funcións propias das células. Como explicamos con anterioridade, poden aparecer por erros durante o proceso de replicación do ADN, ou mesmo por erros no apareamento dos cromosomas homólogos durante a meiose. Tamén pode ser pola integración de elementos xénicos como os transposóns que están presentes no xenoma humano, ou como resultado de radicais libres producidos polo metabolismo normal da célula. As mutacións tamén poden ser causadas por axentes externos, dando lugar ás mutacións **inducidas**. É o caso de substancias químicas que provocan alteracións no ADN, radiacións coma os raios X ou os raios UV.

As mutacións poden **afectar a secuencia de nucleótidos** de múltiples formas.

- Polimorfismos dun único nucleótido (ou SNPs, polas súas siglas en inglés), só hai un nucleótido de diferenza entre o ADN orixinal e o mutado. O caso típico é unha substitución dun nucleótido por outro.
- Indels, cando hai insercións ou deleccións. Poden ser dun único nucleótido ou perdas ou duplicacións de segmentos máis grandes.
- Variacións no número de copia (CNV), que suceden a rexións repetitivas do ADN, cando o número de repeticións varía entre o xenoma orixinal e o mutado. Son exemplos as rexións STR (*short tandem repeats*) e as variacións estruturais (SVs).
- Un caso particular son as expansións por repeticións de trinucleótidos, pois estas secuencias atópanse con certa frecuencia na parte codificante de proteínas, e pode ter un efecto importante na saúde. A secuencia repetida é de tipo CNG (onde N é un nucleótido calquera), e está asociada a

enfermedades neurodegenerativas coma ataxias, distrofias, a enfermidade de Huntington ou o síndrome do X fráxil. Resulta chamante que a miúdo se observan fenómenos de **anticipación**: a maior número de repeticións, maior é a gravidade, esta desenvólvese antes, e é máis probable que os descendentes teñan o mesmo síndrome agravado.

- A heteroplasmia mitocondrial é un caso especial, xa que o xenoma mitocondrial non presenta cromosomas homólogos, pero si pode haber varias copias do xenoma na mesma mitocondria, e preséntanse moitas mitocondrias nunha célula.

As mutacións poden **afectar o xene** de diferentes formas

- Ganancia de función. O xene presenta unha nova función, distinta da orixinal. Adoitan ser dominantes, pois a presenza dun único alelo abonda para aportar esa nova función. É o caso de mutacións que interveñen na xeración de novas especies, pero tamén en enfermidades como a enfermidade de Huntington ou a acondroplasia.
- Perda de función. O xene perde total ou parcialmente a función orixinal. Poden estar asociadas a caracteres recesivos, cando basta un dos alelos para manter a función orixinal. Cando un dos alelos non chega para levar a cabo a función normal, entón fálase de haploinsuficiencia, e entón este carácter é dominante.
- Dominante negativa. É o caso particular no que a perda da función dun xene afecta de xeito negativo á función dos xenes normais. Un exemplo típico é a osteoxénese imperfecta, na que a mutación dunha única molécula de coláxeno afecta a estrutura da tripla hélice de coláxeno.

En función de cal sexa o cambio no ADN, e onde estea situada a mutación, pode **afectar as proteínas** de distinta forma:

Se a mutación no ADN é tal que non afecta a secuencia de aminoácidos (pola natureza degenerada do código xenético, ver T8. Síntese de proteínas. Pregamento. Degradación), logo non haberá cambio na proteína e será unha **mutación silenciosa**.

Se a mutación afecta a secuencia de aminoácido, introducindo un aminoácido distinto, fálase de **mutación de cambio de sentido**. Se está nunha rexión con pouca importancia para a función da proteína ou o aminoácido que se sintetiza ten unhas características similares ao orixinal, tampouco terá grande efecto sobre a función da proteína (conservadora). Se o aminoácido polo que se substitúe lle confire unhas propiedades moi distintas, a proteína verase alterada.

Se a mutación afecta a secuencia de nucleótidos de xeito que o codón resultante é de terminación (UAA, UAG ou UGA), o ribosoma interromperá a síntese da cadea polipeptídica e a proteína quedará truncada, podendo afectar enormemente á proteína. A estas chamaselles **mutacións sen sentido**.

Se a mutación supón unha perda ou ganancia de nucleótidos, a proteína resultante pode ter aminoácidos adicionais ou menos aminoácidos que a proteína normal. Pero se a mutación afecta o marco de lectura (mutacións que implican insercións ou delecións de nucleótidos nun número que non é múltiplo de 3), os codóns resultantes no ARNm que o ribosoma emprega para a síntese de proteína veranse alterados, e unha rexión da proteína será totalmente distinta da orixinal.

Algunhas mutacións que non suceden directamente na rexión codificante da proteína poden afectar a súa síntese. Isto sucede se afecta rexións que afectan a transcrición e o procesamento do ARNm, como a rexión promotora, rexións reguladoras e os sitios de corte e empalme (*splicing*) do ARN.

Anomalías cromosómicas

As anomalías cromosómicas son relativamente frecuentes, debidas a erros na separación dos cromosomas na meiose. Están presentes nun 10 % dos espermatozoides e ata un 25 % dos óvulos, de xeito que un porcentaxe relativamente grande de embarazos presentará anomalías cromosómicas que causarán o aborto espontáneo de xeito temperán. As anomalías cromosómicas poden afectar o número de cromosomas que presenta a célula, ou a estrutura destes cromosomas.

Anomalías numéricas

As anomalías numéricas afectan o número de cromosomas que recibe unha célula. O exceso ou defecto no número de cromosomas adoita ter graves consecuencias para a célula, e pódense detectar dun xeito doado nun cariograma típico.

POLIPLOIDÍAS

Os cromosomas aparecen en case todas as células humanas en pares de homólogos: dous cromosomas análogos, un procedente da nai e outro do pai. A maior parte das células son, polo tanto, diploides. Destaca a excepción dos gametos e células xerminais, que son haploides, cunha única dotación cromosómica.

As poliploidías son alteración no número de cromosomas que afectarán a todos os cromosomas. Resultan en defectos graves en humanos, resultando en abortos espontáneos de xeito precoz. As máis comúns son:

- As **triploidías** son alteracións nas que aparecen tres conxuntos de cromosomas ($2n + n = 69$ cromosomas). Están causadas por dispermia (fecundación dun óvulo por máis dun espermatozoide), pola fusión dun óvulo fecundado cun corpúsculo polar ou por erros na meiose que orixinen gametos diploides.
- As **tetraploidías** son alteracións nas que aparecen catro conxuntos de cromosomas ($2n + 2n = 92$ cromosomas). Aparecen como consecuencia dun fallo mitótico que acontece nas primeiras etapas do desenvolvemento ou por fusión das membranas de dous cigotos diploides.

ANEUPLOIDÍAS

As aneuploidías aparecen cando só un dos cromosomas está afectado, non todo o conxunto de cromosomas. A causa máis frecuente é a non segregación de cromosomas homólogos durante a meiose I ou a non separación das cromátides irmás durante a meiose II.

Nas **monosomías** as células presentan só unha copia dun cromosoma, cando nas células diploides o común son dúas. Todas resultan en aborto espontáneo, salvo a monosomía do cromosoma sexual X, que resulta no síndrome de Turner: Mulleres cun cariotipo 45X0.

Nas **trisomías** as células presentan tres copias dun cromosoma. Só aquelas trisomías que involucran a cromosomas cun número baixo de xenes son compatibles coa vida: trisomía do cromosoma 21 (síndrome de Down), trisomía do 18 (síndrome de Edwards) e trisomía do 13 (síndrome de Patau).

Nalgúns casos tamén pode haber erros nos dous gametos que formen un cigoto, sen que haxa un cambio no número de cromosomas resultantes: un dos gametos achega dous cromosomas homólogos, o outro non aporta ningún. Neste caso os dous cromosomas homólogos proceden dun dos proxenitores, e por iso recibe o nome de disomía uniparental.

Anomalías estruturais

A análise microscópica e de bandeado de cromosomas pon de manifesto un padrón característico dunha especie, conservado entre cromosomas homólogos de distintos individuos. Alteracións na organización do cromosoma, arranxos na disposición ou forma do cromosoma, revelan anomalías na estrutura dos cromosomas. Se este arranxo non supón ganancia ou perda de ADN esta anomalía estrutural será equilibrada, pero se hai un cambio na cantidade de material xenético respecto unha célula diploide normal dise que é desequilibrada.

As **delecións** son aquelas anomalías nas que se perde material xenético, podendo afectar ao extremo dun cromosoma (deleción terminal) ou a unha rexión interna dun cromosoma (deleción intersticial), esta última requirindo dúas roturas na cadea lineal de ADN e a fusión entre dúas das resultantes.

Algunhas das delecións son microscopicamente visibles e son detectadas cun bandeado cromosómico. Outras son máis pequenas, dando lugar a microdelecións, que non se aprecian no bandeado pero poden dar lugar a graves defectos.

As **insercións** supoñen a incorporación de grandes fragmentos de ADN, xeralmente duplicación de segmentos doutros cromosomas da célula.

As **inversións** suceden como consecuencia da rotura do cromosoma e reinserción en sentido inverso do cromosoma. Estas anomalías, ao contrario que as anteriores, poden ser equilibradas e non manifestarse nas persoas que as portan, aínda que si que afectarán o apareamento dos cromosomas homólogos na meiose, afectando a descendencia. Pode incluír o centrómero do cromosoma (inversión pericéntrica) ou afectar só a un dos brazos do cromosoma (inversión paracéntrica)

As **traslocacións** son intercambios de fragmentos entre cromosomas. Poden ser **recíprocas** (se dous cromosomas distintos intercambian segmentos de ADN), ou

robertsonianas, cando dous cromosomas acrocéntricos se fusionan, perdendo o ADN satélite.

Os **cromosomas en anel** son o resultado da fusión dos extremos dun cromosoma, adquirindo unha forma circular a partir dun cromosoma orixinalmente lineal.

Un **isocromosoma** é o resultado dunha división incorrecta, que separa os brazos curtos e os brazos longos dun cromosoma (en vez de separar cromátides irmás). Como resultado, orixínanse cromosomas nos que se duplican os xenes dun brazo e pérdense todos os xenes doutro (semellante ao que sucede en monosomías e trisomías, pero afectando a unha metade dun cromosoma).

Efecto da idade sobre os cambios no ADN

Non todos os cambios no ADN son igualmente probables. Os xenes máis grandes teñen maior probabilidade de acumular mutacións polo feito do seu tamaño. Pero tamén hai determinadas rexións que tenden a acumular mutacións, debido en moitos casos á secuencia de nucleótidos ou por ser puntos de recombinación.

Un dos factores que ten máis influencia é a idade das persoas. Co tempo, a probabilidade de que ocorra unha mutación acumúlase, e os mecanismos implicados na reparación dos erros poden perder a súa eficacia. Isto asóciase cun aumento no risco de padecer cancro coa idade. Tamén afecta á taxa de mutacións ou con anomalías cromosómicas que aparecen na descendencia, cando as células afectadas son os gametos. Así, coa idade das nais adoitan aparecer máis anomalías cromosómicas nos bebés, debido a erros durante a meiose que é especialmente longa nas células xerminais femininas. Por outra banda, os pais tenden a transmitir un maior número de mutacións puntuais, porque os espermatozoides son o resultado de múltiples rondas de divisións mitóticas e duplicación de ADN.

T5 Ciclo celular. División celular

Lembremos que un dos postulados da teoría celular é que «toda célula procede doutra célula». As células humanas son capaces de dar lugar a células idénticas entre si mediante un proceso de mitose. Algunhas células son capaces de dividirse e dar lugar a células que teñen só parte do material xenético, pero que permiten a reprodución sexual: dúas células únense para dar lugar a unha célula distinta das orixinais, e con todo o material xenético correspondente á célula orixinal. O proceso que dá lugar a estas células é a meiose. Independentemente do tipo de división celular, o material xenético en células eucariotas debe ser repartido entre as células fillas dun xeito moi preciso.

Ciclo celular

O **ciclo celular** é unha serie secuencial, ordenada e regulada de eventos que lle acontecen á célula en cada división celular. Todas as células que se dividen deben de sintetizar unha copia do ADN, tal e como vimos no tema anterior, e só cando esta división se completa pode empezar a mitose e a división dos compoñentes celulares.

Estas etapas chámanse **interfase**, cando o núcleo está nunha fase de repouso aparente, pero a célula está metabolicamente moi activa; e **fase M** (de Mitose) cando se divide o núcleo. As células embrionarias, capaces de dividirse moi rapidamente, alternan entre unha fase M e unha interfase.

Durante a interfase, as células teñen que sintetizar unha copia do seu ADN, para poder transmitir unha copia a cada unha das células fillas e ter dúas copias de si mesma; esta etapa chámase **fase S**. A maioría das células ademais presentan etapas de crecemento durante a interfase: a etapa de crecemento que sucede entre o final da fase M e o inicio da fase S chámase **fase G1** (de *growth 1*), e a fase de crecemento que sucede entre o final da fase S e o inicio da fase M chámase **fase G2**. Estas fases poden ter unha duración máis ou menos longa, o que vai resultar en diferenzas na duración do ciclo celular: mentres que unhas células poden tardar unhas horas en dividirse, outras tardan semanas ou meses.

Un caso particular son as células que deixan de dividirse. Algunhas células poden saír transitoriamente do ciclo celular, dando lugar a unha etapa chamada **fase G0**. Se as condicións son favorables, as células poderían volver iniciar o ciclo celular. Nalgunhas ocasións as células abandonan completamente o ciclo celular: son as denominadas células postmitóticas.

Regulación do ciclo celular

O proceso está moi regulado mediante mecanismos que evitan que a célula complete unha fase e entre noutra cando as circunstancias non son axeitadas. Son os denominados puntos de control e distínguense os seguintes no ciclo celular eucariota:

Entre G1 e S- A célula debe asegurarse que as condicións externas son as axeitadas e o ADN está íntegro antes de iniciar a fase S.

Entre G2 e M. A célula debe asegurarse de que o ADN está correctamente replicado antes de iniciar a división.

Entre a metafase e a anafase (na fase M). A célula debe asegurarse que as cromátides irmás se separan correctamente, dividindo de xeito correcto o material xenético entre as células fillas, antes de completar a división celular.

O ciclo celular está regulado por proteínas quinases, que actúan engadindo un grupo fosfato a outras proteínas. Estas quinases denomínanse **quinases dependentes de ciclinas** (CDKs, de *cyclin dependent kinases*, polas súas siglas en inglés), porque están reguladas por ciclinas.

As **ciclinas** son un tipo de proteínas que son capaces de unirse ás CDKs formando heterodímeros, e regulan a actividade das mesmas. As CDKs están presentes dun modo máis ou menos constante ao longo do ciclo celular. Mais os tipos de Ciclinas presentes en cada momento na célula e os seus niveis varían ao longo do ciclo celular. Ao longo do ciclo celular, a célula inicia a transcrición e tradución duns poucos tipos de ciclina, e a súa degradación regulada tamén permitirá a transición dunha fase á seguinte. A combinación de Ciclina-CDK será típica de cada fase de ciclo celular, e actuarán fosforilando unhas proteínas concretas, regulando a actividade

destas proteínas. Pero ademais do control por parte de ciclinas, existen outros mecanismos que regulan a actividade das quinases.

A **quinase activadora de CDKs (CAK)** é capaz de fosforilar a propia CDK nunha rexión da proteína, a denominada asa T. Esta asa está só exposta tras a unión da CDK a unha ciclina. A fosforilación por parte da CAK permite que o dímero ciclina-CDK sexa especialmente activo e regule a actividade doutras proteínas.

Hai outros sitios capaces de ser fosforilados, pero que actúan inhibindo a actividade da CDK. Como exemplo, a proteína Wee1 é unha quinase que engade un grupo fosfato noutra rexión da proteína. Isto provoca que o complexo ciclina-CDK estea inactivo, aínda que fora antes activado coa CAK. Só cando se perde ese grupo fosfato pola actividade da fosfatase Cdc25 o complexo ciclina-CDK poderá actuar sobre outras proteínas.

Outras proteínas poden tamén actuar sobre as CDKs para inhibilas de xeito irreversible ou provocar a súa degradación e eliminación.

Mitose

A **mitose** ten como obxectivo dividir unha célula e dar lugar a dúas células idénticas xeneticamente. Durante a fase S duplicouse o ADN, así como o centrosoma (un par de centríolos que terá función de organización de microtúbulos durante a fase M).

Ao finalizar a fase G₂, cambios no citoesqueleto provocarán que a célula perda adherencia, a súa morfoloxía será máis redondeada, deteranse os movementos de vesículas intracelulares e desorganizaranse o retículo endoplasmático e o complexo de Golgi.

Os cambios no citoesqueleto durante a **profase** permitirán o ensamblado do citoesqueleto nun fuso mitótico ao redor do núcleo. Dentro do núcleo os cromosomas empezarán a condensarse e os nucléolos a desaparecer. Ao final desta fase empeza a desorganizarse a envoltura nuclear e no centrosoma dos cromosomas fórmanse os cinetocoros, un en cada unha das cromátides irmás.

Durante a **prometafase** a envoltura nuclear desaparece e os microtúbulos chegan ata o cinetocoro. Cando os cromosomas están ben orientados esta unión vólvese estable.

Durante a **metafase** os cromosomas acadan a súa máxima condensación e alíñanse na placa ecuatorial da célula.

Só cando os cromosomas están aliñados se produce a **anafase**, e os cromosomas empezan a migrar cara aos polos, e os polos empezan a separarse entre si.

Durante a **telofase** a envoltura nuclear volve organizarse ao redor dos cromosomas separados, os cromosomas deixan de estar condensados e reaparece o nucléolo.

Unha vez dividido o núcleo completárase a **citocinese**, co estrangulamento do citoplasma por parte dun anel contráctil. Este anel faise máis estreito ata que acaba dividindo o citoplasma orixinal en dúas partes, cada unha cun núcleo. Coa

reorganización do citoesqueleto os orgánulos celulares volven á posición típica nunha célula, organizados polo centrosoma.

Meiose

A meiose, a diferenza da mitose, busca xerar células xeneticamente diferentes entre elas. Isto débese a un proceso de entrecruzamento entre os cromosomas homólogos, xerando combinacións únicas de xenes que non estaban presentes nos cromosomas parentais. Ademais as células xeradas son 4 (no só dúas), e son haploides (non diploides). Dúas células haploides poden unirse entre si para dar lugar a unha célula diploide, e en conxunto isto aumenta enormemente a variabilidade xenética, o que ten vantaxes a nivel evolutivo.

A diferenza entre mitose e meiose atópase na profase. Durante a **profase I meiótica**, ademais do descrito para a mitose, prodúcese 5 etapas:

Leptoteno: os cromosomas duplicados na fase S empézanse a condensar.

Cigoteno: fórmanse unións entre cromosomas homólogos (o procedente da nai co procedente do pai).

Paquiteno: prodúcese o entrecruzamento de cromátides de cromosomas homólogos, dando lugar a cromátides que son combinacións dos cromosomas orixinais.

Diploteno: os cromosomas empezan a separarse, aínda que son visibles os puntos de unión entre os cromosomas que xa se entrecruzaron.

Diacinese: os cromosomas acaban de separarse.

Ao final desta profase os cromosomas homólogos quedan orientados cara a un polo celular, e sepáranse os cromosomas homólogos (non as cromátides irmás), co que na anafase I se separan os homólogos e ao final da telofase I se reduce o número de cromosomas en cada núcleo. É por isto que a meiose I tamén se chama división reducional.

Na **meiose II** a célula compórtase como se sufrise unha mitose: as cromátides irmás que hai en cada cromosoma oriéntanse a cada polo na profase II e sepáranse na anafase II, co que ao final da meiose II cada célula ten unha única copia de cada cromosoma.

T6 Transmisión. Herdanza e padróns de herdanza

Introdución á xenética mendeliana

Gregor Mendel foi un frade austríaco que estudou a transmisión das características de chícharos (*Pisum sativum*) que cultivaba. Tras analizar matematicamente a frecuencia na que aparecían, propuxo en 1865 unha serie de regras básicas que describían e explicaban as súas observacións, que se poden resumir do seguinte modo:

Lei da segregación: os caracteres dun individuo atópanse determinados por parellas de elementos (xenes), que se herdan de cada proxenitor. Estes xenes non se mesturan, e só un deles se transmitirá á descendencia.

Lei de distribución independente: xenes responsables de distintos caracteres transmítense de xeito independente.

Lei de uniformidade: os descendentes de individuos puros (homocigotos) son idénticos entre si na primeira xeración.

A pesar das implicacións deste traballo, a súa importancia pasou desapercibida ata que no ano 1900 o seu traballo foi redescuberto e recoñecido.

As características que estudou Mendel tiñan certas particularidades que permitían que se comportasen dese xeito: eran caracteres monoxenéticos (isto é, estaban determinados por un único xene), e estaban suficientemente lonxe nos cromosomas dos chícharos como para que houbera entrecruzamento entre eles durante a meiose. As dúas primeiras leis reflicten o comportamento dos cromosomas na meiose, mentres que a terceira ten relación coa dominancia dos xenes analizados.

Conceptos básicos da xenética

A terminoloxía empregada hoxe en día inclúe conceptos non establecidos na época de Mendel, que teñen en conta aspectos moleculares da xenética. Antes incluso do establecemento do papel clave que xoga o ADN, na década de 1940, T.H. Morgan estudando a mosca do vinagre (*Drosophila melanogaster*) identificou os cromosomas como as estruturas celulares que conteñen a información xenética.

Os cromosomas son moléculas lineais de ADN e proteínas, e os xenes están localizados en rexións específicas dentro dos cromosomas. Un **locus** é a localización ou posición física concreta dun xene nun cromosoma. Cada cromosoma terá múltiples *loci* (plural de locus), que aparecerán na mesma orde en cromosomas de individuos distintos da mesma especie.

O **xenotipo** é a constitución xenética dun individuo. Pode referirse ao conxunto de todos os xenes, ou indicar o contido xenético nun locus concreto. O **fenotipo** será a expresión do xenotipo influída polo ambiente, a manifestación a nivel morfolóxico, bioquímico e fisiolóxico desta interacción.

Os seres humanos somos diploides, o que significa que temos dous xogos de cromosomas, un herdado de cada un dos nosos proxenitores, e dúas copias de cada xene, un en cada loci deses cromosomas. As copias de cada xene non teñen por que ser iguais: as mutacións (ver T4 Cambios no material xenético) nun xene xerarán dúas variantes lixeiramente distintas. Un **alelo** é cada unha das variantes dun xene, cando este presenta dúas ou máis formas. Habitualmente o alelo orixinal denomínase «normal», «natural», «común» ou «salvaxe» e o mutante recibe un nome relacionado coa alteración producida ou o fenotipo que o acompaña. Un xene é **polimórfico** cando a hai dous ou máis alelos que aparecen no mesmo locus nunha poboación. A aparición ocasional dunha mutación non se considera, ten que aparecer cunha relativa frecuencia.

Os alelos estarán situados no mesmo locus, e poden ser distintos en cromosomas homólogos (p. ex. cando se herdán xenes distintos da nai e do pai). Se os dous xenes que hai nun locus son idénticos, ese individuo será **homocigoto** nese locus. Se os dous xenes nun locus son distintos alelos, ese individuo será

heterocigoto. Se nun locus o individuo só presenta un xene (p. ex. os varóns para xenes localizados no cromosoma X e Y), entón será **hemocigoto**.

Se o alelo mutante é capaz de expresarse cando se atopa en heterocigose co alelo normal, dise que este é **dominante**. Será **dominancia completa** cando o fenotipo do heterocigoto portador dun alelo mutante é idéntico ao fenotipo dun homocigoto dese alelo. A **dominancia incompleta ou semidominancia** sucede cando o fenotipo do homocigoto é máis acentuado que o do heterocigoto (p. ex. unha enfermidade máis grave). A **codominancia** prodúcese cando os produtos xénicos de dous alelos distintos se expresan e teñen efecto fenotípico, e polo tanto maniféstase no heterocigoto. Se se precisan as dúas copias do alelo mutante, unha en cada cromosoma homólogo, ese alelo é **recesivo**.

Padróns de herdanza

A nivel sanitario os caracteres monoxenéticos adoitan manifestarse como síntomas dunha enfermidade: o efecto dos xenes obsérvase nas alteracións do funcionamento «normal» que produce. Para poder determinar como se transmitiu un xene e poder predicir cal é a probabilidade de que apareza na seguinte e futuras xeracións (*risco de recorrencia*) son útiles as árbores xenealóxicas: unha representación esquemática onde se indican características relevantes para a análise dos individuos obxecto de estudo. Información que se adoita incluír é cales son os antepasados dos individuos, cales son os descendentes e que membros desta familia manifestan a enfermidade. Para a correcta interpretación resulta útil indicar o sexo dos individuos que conforman a árbore, así como características que permitan interpretar as relacións xenéticas (parentesco) entre os individuos das árbores.

A análise de árbores xenealóxicas permite inferir a localización cromosómica dos caracteres monoxenéticos responsables da enfermidade. Así, pódense clasificar en:

- Herdanza autosómica. Cando un xene responsable dun carácter monoxenético está localizado nun autosoma (cromosomas 1-22).
- Herdanza ligada ao sexo. Cando un xene está localizado no cromosoma X ou no cromosoma Y.
- Herdanza pseudoautosómica. Aqueles caracteres que, aínda estando localizados nun cromosoma sexual (X ou Y), a súa localización nestes cromosomas ocasiona que se comporten como caracteres autosómicos.
- Herdanza mitocondrial. Os xenes están localizados no cromosoma mitocondrial.

Neste tema centrarémonos nos padróns das enfermidades máis comúns (as asociadas a autosomas e ligadas ao cromosoma X) e no caso máis sinxelo (cando o locus é bialélico, podendo actuar os alelos asociados á aparición da enfermidade como dominantes ou recesivos). Veremos brevemente os padróns atípicos e os factores que poden alterar os padróns de herdanza, que tamén serán tratados nas actividades interactivas 1 e 2.

Herdanza autosómica dominante

Este tipo de herdanza está asociada a aqueles xenes que, localizándose o seu locus nun autosoma, presentan dominancia en heterocigose, isto é, o carácter que codifican exprésase aínda que o xene normal tamén está presente.

A dominancia é incompleta na maior parte das enfermidades autosómicas dominantes, sendo a afección moito máis grave no homocigoto. En ocasións, os individuos homocigotos para estes caracteres sofren unha morte temperá, e a frecuencia de individuos homocigotos na poboación é reducida ou case nula. Por isto, a unión máis frecuente é a dun individuo heterocigoto afectado cun individuo san. Nun 50 % dos casos os descendentes serán sans, e nun 50 % serán heterocigotos que estarán afectados.

As árbores xenealóxicas de herdanza autosómica dominante tenden a presentar un igual número de homes e mulleres afectados, e ambos os sexos poden transmitir a doenza. O padrón de transmisión é vertical: a enfermidade aparece en todas as xeracións, pero os individuos non afectados só terán descendentes non afectados.

Herdanza autosómica recesiva

Debido a que só os homocigotos presentarán a enfermidade, as unións que poden dar lugar a individuos afectados son as que involucran a dous portadores, un portador e un afectado, ou dos afectados. O risco de recorrencia é, respectivamente, dun 25 %, 50 % e 100 %.

Igual que na autosómica dominante, homes e mulleres están igualmente afectados e poden transmitir a enfermidade con igual risco, pero o padrón de transmisión é horizontal, sendo os proxenitores de afectados frecuentemente portadores que non presentan a enfermidade (dando lugar a aparentes saltos xeracionais).

Herdanza ligada ao sexo

A determinación do sexo en humanos sucede por causas xenéticas.

Dende un punto de vista biolóxico, son femininos os individuos que producen gametos grandes e tipicamente con mobilidade reducida, e considéranse masculinos os individuos que producen gametos pequenos e móbiles. En humanos (e outras especies) ademais presentan órganos que facilitan a fecundación interna, así como en femias os órganos que permiten o desenvolvemento dos embrións resultantes da fecundación.

En humanos e outros mamíferos xurdiu un **xene determinante da masculinidade** (que derivou en SRY), e por evolución quedou fixado nun cromosoma que ademais acumulou outros xenes beneficiosos para o desenvolvemento de gónadas e diferenciación masculina, e pasou a chamarse **cromosoma Y**. Co tempo este cromosoma Y e o seu homólogo, o **cromosoma X**, diverxeron: perderon algúns dos xenes que tiñan e especializáronse, presentando certas características que os diferencia do resto dos cromosomas humanos.

A presenza de SRY durante o desenvolvemento embrionario determina a expresión de SOX9 e a diferenciación das células de Sertoli, que serán as responsables da diferenciación dos testículos e a síntese de testosterona, responsable de moitos dos caracteres sexuais masculinos.

En ausencia de SRY as gónadas diferéncianse en ovarios, non dexeneran os condutos de Müller e fórmase o útero, a vaxina e as trompas uterinas.

Unha pequena rexión dos cromosomas X e Y aínda garda homoloxía, permitindo o entrecruzamento e a correcta meiose e segregación destes cromosomas. Esta pequena rexión é a responsable da **herdanza pseudoautosómica**.

HERDANZA LIGADA AO CROMOSOMA X

O cromosoma X é un cromosoma relativamente grande, con máis de 1000 xenes, moitos deles asociados con distintas enfermidades.

Mentres que as mulleres tipicamente teñen dous cromosomas X, podendo ser homocigotas ou heterocigotas para os locus deste cromosoma, os varóns só presentan un cromosoma X e un Y, polo que serán **hemigotos** para a maior parte dos xenes neste cromosoma.

A expresión de xenes por parte dun só dos cromosomas X abunda para unha expresión normal a nivel celular, polo que se require algún mecanismo de **compensación de dose**. Nas células somáticas das mulleres un dos cromosomas X sofre unha **inactivación aleatoria** durante o desenvolvemento. As células que derivan dunha célula cun cromosoma X inactivado presentarán ese mesmo cromosoma inactivado. Isto resulta nun padrón de expresión común para todas as células descendentes, e como consecuencia as mulleres son mosaicos xenéticos respecto ao cromosoma X.

Debido a isto, as mulleres heterocigotas para un locus do cromosoma X poden manifestar a enfermidade nun grao distinto en función de que cromosoma estea inactivo nas súas células, e polo tanto se as células están expresando un alelo ou outro. Só un 40 % das enfermidades ligadas a X seguen un padrón tipicamente recesivo, e só un 30 % un padrón tipicamente dominante, mentres que un 30 % das enfermidades non poden describirse deste xeito porque o alelo recesivo se continúa a expresar nun número significativo de células.

Herdanza recesiva ligada a X. Os caracteres recesivos ligados a X aparecen en maior frecuencia en varóns, porque basta con que o X que herdán conteña o xene responsable da característica para que manifesten a enfermidade.

Un varón afectado non transmitirá a afección aos seus descendentes varóns. Pero todas as descendentes mulleres dun varón afectado serán portadoras.

O 50 % dos descendentes varóns dunha portadora estarán afectados. Porén, as mulleres descendentes dunha portadora non estarán afectadas salvo que o varón estea afectado.

Se unha muller está afectada e o varón non o está, ningunha das fillas estará afectada, aínda que poden ser portadoras.

Aquelas enfermidades que se poden clasificar como recesivas ligadas a X son moi infrecuentes, e a probabilidade de que unha muller sexa homocigótica

é practicamente nula, salvo en afeccións con pouco efecto sobre a saúde como o daltonismo.

Herdanza dominante ligada a X. Os caracteres dominantes ligados a X aparecen en maior frecuencia en mulleres, porque basta con que un dos cromosomas X porte o alelo responsable para que se manifeste a enfermidade.

Os homes afectados con mulleres normais non teñen fillos afectados, pero todas as fillas estarán afectadas.

A metade dos descendentes das mulleres afectadas tamén estarán afectados, con independencia do seu sexo.

HERDANZA LIGADA A Y

O cromosoma Y é pequeno e contén moi poucos xenes, case todos relacionados coa diferenciación sexual. A transmisión está limitada a individuos varóns, que herdarán o cromosoma Y do seu pai, denominándose a **transmisión holándrica**.

O cromosoma Y preséntase de xeito individual na maior parte dos casos, polo que os xenes presentaríanse en **hemigose**. Diferénciase, polo tanto, dos padróns de herdanza comentados ata o momento en que para un locus non se presentan dous alelos alternativos.

HERDANZA PSEUDOAUTOSÓMICA

A **rexión pseudoautosómica** é unha rexión do ADN nos cromosomas sexuais que teñen homoloxía (isto é, consérvase a similitude entre o cromosoma X e o Y), e permite a recombinación homóloga durante a meiose. Ademais, estes xenes non se inactivan no cromosoma X, polo que a súa expresión mantense ao longo da vida igual que xenes autosómicos.

Estes xenes teñen un padrón de herdanza moi similar ao descrito nas leis de Mendel. A rexión involucrada é relativamente pequena, polo que só uns poucos xenes están localizados nesta rexión.

O xene SRY, responsable da determinación do sexo, está moi próximo a esta rexión pseudoautosómica. Debido a isto, obsérvase que algunha vez durante a meiose en varóns que a recombinación entre o cromosoma X e o Y incluía o xene SRY. O resultado é a translocación do xene SRY ao cromosoma X, que dá lugar a gametos con cromosomas X co xene SRY, e gametos con cromosomas Y sen o xene SRY. Os descendentes poderían ser varóns XX (cando o SRY se localiza no cromosoma X) ou mulleres XY (no que o xene SRY está ausente no Y), aínda que a miúdo os caracteres sexuais non estarán ben definidos e poden ter problemas de fecundidade.

Herdanza mitocondrial

O ADN mitocondrial é unha molécula de ADN circular e bicatenario, máis parecido ao ADN bacteriano que ao eucariota, sen histonas nin intróns. O tamaño é menor de 17 000 pares de bases e contén só 37 xenes.

O ADN mitocondrial ten catro características típicas que afectarán o padrón de herdanza observado:

Herdanza materna: as nais transmiten a través do óvulo as mitocondrias a todos os descendentes.

Gran número de copias: cada célula presenta milleiros de mitocondrias, e cada mitocondria pode ter máis dun xenoma mitocondrial.

Homoplasmia e heteroplasmia: a **homoplasmia** describe a situación na que todas as copias de ADN mitocondrial nunha célula son iguais. **Heteroplasmia** refírese á presenza de máis dunha variante de ADN mitocondrial dentro da mesma célula.

Segregación replicativa: en células heteroplásmicas durante a división celular as mitocondrias repártense entre as células fillas dun xeito aleatorio. Por isto, algunhas das copias de ADN mitocondrial poden volverse máis abundantes ou poden ver reducido o seu número e mesmo eliminarse totalmente.

Expresión monoalélica e dose xenética

A maior parte dos caracteres monoxenéticos cun locus autosómico seguen as leis de Mendel. A expresión bialélica é aquela na que se expresan os dous alelos, un en cada locus dos cromosomas homólogos, un procedente da nai e outro do pai.

Algúns xenes, con todo, non se expresan de igual modo a partir de cromosomas homólogos. A expresión desequilibrada dáse cando se expresa máis un dos alelos que o outro. A expresión monoalélica sucede cando só un dos alelos se expresa. En ambos os casos os mecanismos epixenéticos que regulan a expresión xénica poden ser os responsables.

Factores que alteran o padrón de herdanza.

Hai factores que alteran os padróns de herdanza descritos e que poden dificultar a interpretación de árbores xenealóxicas.

Penetrancia reducida. Describe os casos nos que unha persoa ten un fenotipo normal, distinto do esperado polo xenotipo que porta.

Penetrancia dependente da idade. A miúdo a enfermidade non se presenta no momento do nacemento, senón que se inicia ao longo da vida do individuo.

Expresividade variable. Algunhas enfermidades poden presentarse con distintos síntomas e gravidades en individuos portadores do mesmo alelo.¹

Pleiotropía. Un mesmo xene pode expresarse en múltiples tipos celulares e en cada tipo afectar a distintos aspectos da súa bioloxía.

Novas mutacións. As mutacións «de novo» son mutacións que non están presentes previamente na familia, senón que aparecen nun individuo.

¹ Penetrancia incompleta e expresividade variable son dous termos distintos e independentes. Unha enfermidade con penetrancia incompleta non vai presentar ningún síntoma, mentres que unha enfermidade con expresividade variable vai presentar síntomas, que poden variar dun individuo a outro e poden ter distinta gravidade.

Trastornos influídos ou limitados polo sexo. algúns caracteres autosómicos preséntanse de xeito distinto en homes e mulleres, podendo estar presente só nun dos sexos.

Epistasia (e letalidade). Refírese a aquelas condicións nas que a expresión dun xene pode estar alterada ou enmascarada por outros xenes con herdanza independente. Nalgúns casos a expresión dun xene en conxunción con outro provoca letalidade e morte durante o desenvolvemento dos individuos afectados. Como consecuencia poden ocorrer cambios nos padróns esperados na descendencia e resulta moi difícil identificalos.

A **heteroxeneidade xenética** (multiplicidade de causas dunha enfermidade ou multiplicidade de efectos dun xene) é un mecanismo capaz de explicar como un mesmo fenotipo pode estar causado por diversos xenes, ou como un mesmo xene pode causar múltiples manifestacións.

T7 Expresión. Síntese e maduración do ARN

Ata o momento tratamos o ADN como unha molécula que almacena información, como esta información se copia e se transmite e os problemas asociados a cambios nesta información xenética. Neste tema e no seguinte trataremos de como esta información se usa e as súas consecuencias. Revisaremos algúns conceptos xa mencionados (como a relación entre xenotipo e fenotipo), e outros servirannos para entender mellor os temas de desenvolvemento, como os mecanismos moleculares inherentes no ADN que regulan a expresión dos xenes durante a embrioxénese.

Expresión da información xenética

As células eucariotas conservan case toda a súa información xenética no núcleo. Pero a maior parte dos procesos relacionados co funcionamento celular dentro dun organismo pluricelular están relacionados con procesos citoplasmáticos levados a cabo por proteínas. A transcripción do ADN en ARN e a posterior tradución do ARN en proteínas deben polo tanto transmitir a información e facela aplicable. Para isto a célula debe de interpretar o código xenético.

Como se indica no dogma central da bioloxía, a transcripción é o proceso polo que se obtén ARN a partir de ADN. O ARN así formado ten algunhas vantaxes sobre o ADN. Nunha molécula de ADN (como un cromosoma ou o xenoma da mitocondria) pode haber información para moitas moléculas de ARN distintas. O tamaño do ARN é polo tanto menor, polo que pode atravesar os poros do núcleo e chegar ao citoplasma. Ademais, unha destas rexións de ADN pode estar silenciada (e non se transcribe a ARN) ou pódense obter ata miles de copias. A expresión é regulable e permite amplificar enormemente a mensaxe. E aínda que a estabilidade do ARN é menor que a do ADN, esta característica permite que a regulación ao longo do tempo sexa máis precisa.

Os ARN mellor coñecidos son os **ARN mensaxeiro** (ARNm), o **ARN ribosómico** (ARNr) e o **ARN transferinte** (ARNt). Estes tres participan na tradución. Pero hai outros

moitos que teñen outras funcións na célula, case todos relacionados coa regulación da expresión xénica. Neste tema centrarémonos no ARNm, empregándoo como modelo de síntese de ARN, e no seguinte, T8. Síntese de proteínas. Pregamento. Degradación, veremos a súa relación co ARNr e o ARNt.

Síntese de ARN

A síntese de ARN a partir de ADN é moi similar á duplicación dunha das febras de ADN, con dúas diferenzas importantes:

- A secuencia cópiase aproveitando a complementariedade de bases, de forma similar ao proceso de copia do ADN, pero en vez de empregar a base Adenina o ARN emprega Uracilo.
- Só se vai duplicar unha das febras, denominada febra molde (o ARN será moi parecido ao da febra de ADN complementaria, denominada febra codificante, a excepción do cambio anteriormente mencionado).

O proceso pódese dividir en distintas fases consecutivas: unión da ARN polimerase e inicio, elongación e terminado da transcrición.

As **ARN polimerases** son as encargadas da síntese do ARN. A unión da ARN polimerase é un proceso no que interveñen múltiples proteínas, denominadas **factores de transcrición**. Estas proteínas facilitan ou reducen a capacidade da ARN polimerase a unirse ao lugar de inicio da transcrición, denominado «**promotor**». Deste xeito regulan de xeito activo os niveis de expresión dos xenes. Estes factores de transcrición pódense unir ao ADN tanto corrente abaixo (cara ao extremo 3' e no mesmo sentido da transcrición) ou corrente arriba (cara ao extremo 5' e en sentido contrario ao da transcrición), frecuentemente en lugares que non se van a transcribir. Algúns dos factores de transcrición non se unen directamente ao ADN, senón que se unen a outros factores de transcrición, regulando a actividade destes.

En eucariotas, hai 3 tipos distintos de ARN polimerases, grandes complexos multiproteicos que actúan como un único enzima. Cada unha das ARN polimerases ten un comportamento algo diferente:

- ARN polimerase I: encárgase da transcrición de ARNr no nucléolo, máis concretamente dos transcritos 28S, 18S e 5.8S (o transcrito 5S, tamén involucrado na síntese de ribosomas, faise fóra do nucléolo pola ARN polimerase III).
- ARN polimerase II: encárgase da síntese dos transcritos primarios de ARNm, a maioría dos snRNAs, snoRNA e miRNAs. Esta polimerase atópase en grupos, formando agregados xunto con cromatina laxa no nucleoplasma celular.
- ARN polimerase III: sintetiza os ARNt, o anteriormente mencionado ARNr 5S e outros ARN pequenos. Atópase no nucleoplasma.

Nos seguintes parágrafos empregaremos o proceso de síntese de ARNm por parte de ARN polimerase II como exemplo.

A ARN polimerase II pode recoñecer varios elementos na rexión do promotor, que non sempre están presentes: unha **secuencia iniciadora (Inr)**, onde se iniciará a transcrición; a **caixa TATA**, unha secuencia do tipo 5'-TATAAA-3', xeralmente localizada

uns 25 nucleótidos corrente arriba do sitio de inicio; un **elemento de recoñecemento de TFIIB (BRE)**, corrente arriba da caixa TATA; e un **elemento promotor corrente abaixo (DPE)**, localizado corrente abaixo do Inr.

O TFIIB é un **factor de transcrición xeral**, un tipo de proteínas que se requiren para que a ARN polimerase poida unirse ao ADN e iniciar a transcrición. Existen múltiples factores de transcrición xerais da ARN polimerase II, nomeados como TFII e unha maiúscula (p. ex. TFII E ou TFII D). Múltiples destes factores de transcrición únense ao promotor antes de que se una a ARN polimerase II, formando o chamado **complexo de preinicio**. O primeiro que se une é o TFII D, que se une á caixa TATA grazas a unha proteína denominada **proteína de unión a TATA, TBP**. Aínda que inicialmente identificada por unirse á caixa TATA, TBP pode unirse a outros promotores. Unha vez unido ao ADN é capaz de modificar a conformación da dobre hélice, permitindo a unión doutros factores de transcrición.

Ademais de factores de transcrición xerais, outros **factores de transcrición reguladores** pódense unir, regulando a unión doutras proteínas como proteínas coactivadoras que facilitan a formación do complexo de preinicio.

Un dos últimos factores de transcrición xerais en engadirse ao complexo, o TFII H, ten tanto actividade helicase (que permite a apertura da dobre hélice) como actividade quinase (que fosforila e activa a ARN polimerase II), permitindo o inicio da transcrición.

Unha vez iniciada a transcrición, a ARN polimerase sintetiza unha cadea de **ARN complementaria ao ADN**. Os nucleosomas son desensamblados e reensamblados ao paso da polimerase sen que os compoñentes individuais se separen do ADN ao que estaban asociados, mantendo así o estado transcricional do ADN asociado.

O **terminado da transcrición** para a polimerase II non é tan importante como para as outras ARN polimerases. Existe un punto de corte corrente abaixo dunha secuencia AAUAAA, que ademais serve como sitio de unión dunha das modificacións da nova molécula de ARN, a poli-adenilación, que veremos máis adiante. A ARN polimerase II pode seguir engadindo nucleótidos a unha cadea de ARN que non terá funcionalidade e que xeralmente se degrada axiña.

Modificacións post-transcricionais do ARN

Os ARN producidos son denominados transcritos primarios. Estes transcritos primarios a miúdo se verán modificados para exercer a súa función. No caso dos transcritos primarios que darán lugar a ARNm, tamén adoitan chamarse **ARN heteroxéneo nuclear (nhrNA)**, pola localización e a diversidade de tamaño, considerablemente maior que o ARNm.

A edición do ARN permite modificar a secuencia do ARN, introducindo cambios na secuencia que non están directamente codificados no ADN. As modificacións máis comúns son:

- Modificación de nucleótidos: moitos dos nucleótidos inicialmente engadidos pola ARN polimerase veranse modificados quimicamente, dando lugar a outras moléculas lixeiramente distintas. No extremo 5'

do ARNm engádesse un nucleótido de guanosina particular: non só está metilado, senón que está unido no seu extremo 5' ao inicio 5' do ARNm. Isto dará lugar a dous extremos 3' na molécula de ARN, polo que será menos susceptible á degradación por parte dalgunhas nucleases. A esta modificación chámasele **tapa 5'**, por situarse nese extremo do ARN.

- Adición de segmentos de ARN. Á molécula de ARN tras ser cortada engádeselle unha secuencia de máis de 50 nucleótidos de adenina, denominada **cola poli (A)**. Esta secuencia é engadida por unha poli(A) polimerase que é capaz de engadir adenosina sen molde. Esta cola dálle estabilidade á molécula, e o seu tamaño está asociado a maior permanencia no tempo do ARN. Tamén parece estar relacionado coa exportación fóra do núcleo, para a súa tradución.
- Eliminación de segmentos de ARN: moitas das secuencias inicialmente sintetizadas non se atoparán na molécula de ARN final. No caso do ARNr, hai **secuencias espaciadoras**, que serán eliminadas do ARN dando lugar a fragmentos máis pequenos. Así, un transcrito primario ten un tamaño orixinal de 45S, que posteriormente será procesado dando lugar a tres segmentos de 18, 5.8 e 28S, e as secuencias espaciadoras eliminaranse.

Corte e empalme de ARNm

Nas moléculas de ARNm eucariotas, hai secuencias no transcrito primario que non aparecerán no ARN maduro. Estas secuencias separan partes que aparecerán contiguas no ARNm. Os **intróns** serán as secuencias que serán eliminadas do transcrito primario, mentres que os **exóns** son as secuencias que permanecen e serán atopadas no ARN maduro.

Os intróns serán eliminados durante o procesamento do ARN, tras a adición da tapa 5' e da cola poli(A). A este proceso denomínaselle empalme do ARN, corte e empalme ou splicing. O proceso ten que ser moi preciso, porque a perda ou ganancia dun único nucleótido implicaría un cambio na pauta de lectura, e resultaría nun produto proteico distinto á molécula orixinal.

O **espliceosoma** é o conxunto de proteínas e ARN encargados do proceso de corte e empalme do ARN. Aínda que algúns intróns son capaces de realizar este proceso dun xeito autocatalítico, no núcleo de eucariotas superiores só se detectou o procesamento mediado por espliceosomas. O espliceosoma está composto por ARN nucleares pequenos (snRNA), asociados a proteínas, que conforman ribonucleoproteínas nucleares pequenas (snRNPs).

O espliceosoma é capaz de recoñecer a secuencia do ARN e determinar de xeito específico o punto de corte e empalme. Neste proceso suxire que a **secuencia GU** indica o inicio do exón, e a **secuencia AG** marca o extremo 3' da secuencia a eliminar. Outras secuencias dentro do intrón tamén poden ter importancia no proceso.

O procesado dun mesmo transcrito pode dar lugar a varios ARNm distintos. Existen distintos **procesados alternativos** que permiten flexibilidade á hora do procesamento dos intróns dun xeito regulado. Unha mesma molécula de ARN

pode dar lugar a un ARNm con todos os exóns, eliminar algún dos exóns xunto cos intróns, seleccionar distintos puntos de corte e empalme dentro dun intrón e mesmo conservar unha rexión de ARN que actúa como intrón. Esta flexibilidade permite que unha mesma molécula de ADN dea lugar a múltiples moléculas de ARN funcionais distintas, con grande importancia evolutiva.

T8 Síntese de proteínas. Pregamento. Degradación

Tanto ADN como ARN son ácidos nucleicos, cunha natureza similar, o que permite unha complementariedade de bases e a transcrición da información. Pero as proteínas son moi distintas, en vez de nucleótidos están compostas por aminoácidos. A primeira pregunta que se debe facer un sobre como o ARNm, con catro nucleótidos, é capaz de sintetizar proteínas compostas por 20 aminoácidos distintos é saber cal é a relación entre os nucleótidos e os aminoácidos

Código xenético

O **código xenético** é a relación entre a secuencia nucleotídica dun ADN e a secuencia de aminoácidos da proteína correspondente. Vén determinado pola forma na que unha célula obtén unha molécula de ARN a partir dun conxunto de nucleótidos no ADN e logo se traduce a unha proteína. A existencia deste código fíxose evidente cando mutacións, que afectan o ADN, teñen reflexo na secuencia de aminoácidos dunha proteína.

A primeira aproximación para descifrar o código xenético foi puramente matemática: o número de nucleótidos (4) ou dobretes de nucleótidos ($4^2=16$ combinacións) non eran abondo para codificar 20 aminoácidos. Con tripletes de 4 nucleótidos podería haber 64 combinacións distintas, suficientes para os 20 aminoácidos. Mediante aproximacións experimentais confirmouse a hipótese de que 3 nucleótidos, un codón, codifican para un aminoácido. Demostrouse tamén que e **dexenerado** (algúns dos 20 aminoácidos poden estar codificados por máis dun triplete), **unívoco** (un triplete sempre codifica para o mesmo aminoácido) e **non solapado** (cada nucleótido forma parte dun codón, e non afectarían á secuencia en máis dun aminoácido). Salvo algunhas excepcións, o código xenético é universal, isto quere dicir, o mesmo ARN daría lugar á mesma proteína en organismos filoxeneticamente moi alonxados, suxerindo unha orixe común única.

Hoxe en día coñecemos este código xenético e podemos deducir, a partir da secuencia de ARN, a secuencia de aminoácidos que terá a proteína resultante da súa tradución. A continuación veremos como a célula é capaz de ler a molécula de ARN, a maquinaria que usa e a correspondencia entre os mecanismos moleculares e o código xenético.

A tradución nas células eucariotas sucede no citoplasma, en **ribosomas** libres no citosol ou unidos á membrana do retículo endoplasmático. Para a tradución, ademais do ARNm e os ribosomas, precísanse moléculas de **ARN transferinte**. Estas moléculas son en definitiva as que son capaces de *de-codificar* a información contida

no ARN e a partir deste transferir o aminoácido correcto á molécula peptídica en formación. Para iso, deben ser «cargados» co aminoácido correcto, mediante a axuda dunha **aminoacil-ARNt transferase**. Por último, hai distintos **factores proteicos** que regulan o proceso. Veremos como funcionan estes de forma individual e en conxunto.

ARN transferinte

Os **ARN transferintes** (ARNt) son as moléculas adaptadoras que permiten relacionar a secuencia de ARN cos aminoácidos correspondentes. Distintos aminoácidos poden unirse a moléculas de ARNt distintas e posteriormente (e coa axuda dos ribosomas) estes ARNt actúan como intermediarios entre a secuencia de nucleótidos do ARNm e a secuencia de aminoácidos da proteína resultante.

Todos os ARNt son moi parecidos, de pequeno tamaño e con abundantes nucleótidos modificados (en vez de A, U, G e C, presentan outros nucleótidos modificados postranscripcionalmente). Ademais presentan un pregamento especial, que orientan no espazo a dous sitios especializados:

O **segundo lazo do ARNt** (se imaxinamos o ARNt como unha folla de trevo, a folla do medio) contén unha secuencia trinucleotídica que se denomina **anticodón**. Recibe este nome porque é complementario a un (ou uns poucos) codóns. Os anticodóns dos ARNt xeralmente represéntanse en sentido 3'→5', para que sexa máis doado identificar a complementariedade cun codón dos ARNm, expresados en sentido 5'→3'.

O número de ARNt é menor que o número de posibles codóns. O mesmo ARNt pódese unir a máis dun codón e transferir, polo tanto, o mesmo aminoácido tras unirse a distintos codóns no ARNm. A flexibilidade dun ARNt a unirse a codóns distintos radicaba na terceira posición do seu anticodón (o nucleótido situado no extremo 5', complementario ao nucleótido na posición 3' do codón) e deu lugar á hipótese da oscilación, que se confirmou experimentalmente para varios ARNt. Isto explica en parte a natureza dexenerada do código xenético.

No **extremo 3' da molécula de ARNt** (se imaxinamos o ARNt como unha folla de trevo, o extremo do talo da folla), hai unha secuencia (CCA) á que se une, mediante un enlace éster, un aminoácido. O nome do aminoácido que se une a un determinado ARNt indícase mediante un superíndice, de xeito que o primeiro ARNt descuberto, o que pode unirse a alanina será ARNt^{Ala}. O enzima encargado de unir o aminoácido preciso a un ARNt é a **aminoacil-ARNt sintetase (aaRS)**. As células humanas teñen 20 aaRS, unha para cada aminoácido. Unha aaRS unírase a un aminoácido, e posteriormente recoñecerá aquela (ou aquelas) moléculas de ARNt que se correspondan con ese aminoácido. Este recoñecemento é moi específico, identificando a aaRS non só a rexión do codón do ARNt, senón tamén o extremo 3' da molécula de ARNt. A continuación uníranse mediante un enlace covalente o aminoácido á molécula de ARNt, e a mesma aaRS verifica de novo que o ARNt se corresponde co aminoácido engadido. Cando o aminoácido está unido, o ARNt pasará a chamarse aminocil ARNt (p. ex. alanil ARNt^{Ala}).

Ribosomas

Os ribosomas son estruturas compostas de ARN ribosómico e proteínas. Os ribosomas prodúcense no **nucléolo**, onde se transcribe o ARN 45S que dará lugar a ARN 28S, 5.8S e 18S. O ARN 5S, transcrito no núcleo fóra do nucléolo, e proteínas, sintetizadas no citoplasma, incorporaranse ao nucléolo, onde se combinarán coas moléculas de ARNr para dar lugar a dúas subunidades, unha grande de 60S e a pequena de 40S. Estas subunidades serán exportadas fóra do núcleo de xeito independente.

Para que se inicie a tradución en eucariotas, ademais dos mencionados (ARNm, ARNt e ribosomas cargados) precísanse **factores de iniciación**, denominados eIFs. O factor eIF2 únese a un metionil tRNA^{Met} iniciador (este tRNA^{Met} iniciador é distinto do tRNA^{Met} usado posteriormente durante a elongación da cadea polipeptídica e ten afinidade por este eIF2). Estes únense xunto con outros eIFs á **subunidade pequena do ribosoma**, que se atopa no citoplasma, obténdose así un **complexo preiniciativo 43S**, que é común para o inicio da tradución de calquera ARNm.

O ARNm, que tamén debeu de ser exportado do núcleo, únese pola tapa 5' (e a cola poli(A)) a outros eIFs, que facilitan que o ARNm non presente estruturas secundarios e se manteña como unha molécula de cadea sinxela. Posteriormente o complexo de preinicio e o ARNm con eIFs uníranse para iniciar a tradución, que se produce ao perderse parte das eIFs presentes ata ese momento no complexo de preinicio. A subunidade pequena varre o ARNm ata atopar a **secuencia Kozak** (ACCAUGG), onde AUG é o codón de inicio ao que complementa o metionil tRNA^{Met} iniciador. Só entón se une a **subunidade grande do ribosoma** e empezará a **fase de elongación**.

A subunidade grande ten tres sitios de unión a ARNt, denominados **sitio A**, **sitio P** e **sitio E**. Nun primeiro momento o metionil tRNA^{Met} iniciador está localizado no sitio P, estando libre o sitio A onde pode chegar un novo aminoacil tRNA. Este proceso é regulado por **factores de elongación (EFs)**, que facilitan a unión de novos aminoacil tRNAs ao ribosoma. Cando un aminoacil ARNt axeitado (co anticodón correspondente ao seguinte codón no ARNm que se está lendo) chega ao ribosoma, o EF reacciona e libera o aminoacil ARNt, que queda situado no sitio A. O ribosoma tamén pode verificar se o anticodón do ARNt e o codón do ARNm son complementarios, e en caso contrario desprazar o aminoacil ARNt incorrecto. Deste xeito, a taxa de erro é menor de 1 cada 10 000 aminoácidos incorporados.

Cando hai dous ARNt ocupando os sitios P e A, o ribosoma cataliza a **formación dun enlace peptídico**, transferindo o péptido (ou polipéptido) do ARNt localizado no sitio P ata o ARNt localizado no sitio A. O extremo COOH do péptido (ou polipéptido) únese ao NH₂ do novo aminoácido, de xeito que a síntese de proteínas sucede dende o extremo N-terminal (o primeiro aminoácido presenta este sitio libre) ata o extremo C terminal (que queda libre no último aminoácido que se incorpora). O enlace entre o aminoácido e a ARNt é de alta enerxía: a rotura do enlace aminoácido-ARNt libera a enerxía suficiente para catalizar a formación do enlace peptídico e non se precisa de enerxía adicional. Nese momento queda o sitio P cun tRNA baleiro e o sitio A contén un ARNt coa cadea polipeptídica.

A continuación sucede unha **translocación**, de xeito que o ARNt baleiro pasa do sitio P ao sitio E, o peptidil ARNt pasa do sitio A ao sitio P, e queda o sitio A baleiro. Cando o ARNt baleiro deixa libre o sitio E, o ribosoma queda co peptidil tRNA localizado no sitio P, estando libre o sitio A, onde pode chegar un novo aminoacil tRNA. Esta é unha situación análoga á descrita ao inicio da elongación, o que permite que se reinicie o ciclo. A cadea polipeptídica crecerá un péptido por cada un dos codóns que teña o ARNm, ata a chegada dun codón de terminación.

Múltiples ribosomas poden traducir un ARNm ao mesmo tempo: o inicio da tradución iníciase antes do completado doutra previa. As estruturas transitorias así formadas reciben o nome de **polirribosomas**. Os polirribosomas permiten a síntese rápida de proteínas sen precisar un aumento na transcrición, e viuse asociado tanto a ribosomas libres no citoplasma como asociados á membrana do retículo endoplasmático.

Dos 64 posibles codóns (4^3 posibles combinacións de nucleótidos), 3 deles (UAA, UAG e UGA) non codifican para un aminoácido: son os **codóns de terminación** ou parada. Cando o ribosoma chega a un destes codóns, non hai un aminoacil ARNt que se incorpore. Nese momento un factor de liberación (RF) ocupa o sitio A e libera a cadea polipeptídica, o ARNt localizado no sitio P e o ARNm. As dúas subunidades do ribosoma sepáranse e quedan libres para traducir outras moléculas de ARNm.

Pregamento de proteínas

Para que os péptidos formados de hai pouco poidan cumprir o seu papel, teñen que adquirir a configuración axeitada. Algúns péptidos adquieren a conformación axeitada espontaneamente a medida que son sintetizados nos ribosomas. Pero en moitos casos as proteínas requiren a axuda de proteínas especializadas para a adquisición da morfoloxía axeitada. Estas proteínas denomínanse **chaperonas**.

As chaperonas poden actuar a medida que o polipéptido emerxe do ribosoma, a miúdo empregándose múltiples chaperonas para acadar unha configuración axeitada. As chaperonas axudan á ensamblaxe e formación de agregados multiproteicos, así como manter os péptidos sintetizados de hai pouco sen adquirir unha conformación definitiva, ata chegar ao seu destino intracelular.

As chaperonas tamén poden actuar sobre proteínas pregadas incorrectamente. Pódense distinguir dúas clases ou familias de chaperonas en función do mecanismo que empregan:

As **Hsp70** únense a rexións hidrofóbicas de proteínas en proceso de síntese ou rexións mal pregadas e facilitan a súa conformación correcta.

As **Hsp60** encapsulan un péptido mal pregado e crean un ambiente hidrofílico que permite o cambio conformacional do péptido. Cando o péptido é liberado presenta unha nova conformación.

Se a pesar destas estratexias a conformación tridimensional da proteína non é a correcta, a célula pode marcar as proteínas para a súa degradación. Doutro xeito estas proteínas adoitan formar agregados insolubles que interfíren co funcionamento da célula e ocasionan danos celulares.

Degradación de proteínas

As células posúen mecanismos destinados á degradación selectiva de proteínas. Isto permite a eliminación de proteínas mal pregadas, que poderían interferir co funcionamento celular, así como proteínas cunha vida curta, que precisan ser eliminadas pouco despois de ser sintetizadas. Este proceso está regulado por *ubiquitinación* e implica a *proteasomas* para a degradación proteica.

A **ubiquitina** é un polipéptido pequeno que se une a outras proteínas mediante un complexo de enzimas, unha con función activadora (E1), outra conxugante (E2) e outra ligase (E3). A actuación secuencial destas proteínas causa a unión de moléculas de ubiquitina a residuos de lisina en proteínas. Distintas formas de ubiquitina ligase (E3) son capaces de recoñecer secuencias de aminoácidos para regular a súa ubiquitinación. Así poden recoñecer secuencias que están no medio de proteínas, chamadas **degróns**, pero xeralmente é o extremo N terminal o que é recoñecido. O destino dependerá da tendencia a ubiquitinarse, habendo proteínas máis resistentes á ubiquitinación (maior duración na célula), ou máis susceptibles de ser ubiquitinadas (proteínas de vida curta). A miúdo as proteínas son estables nunhas condicións, pero ao cambiar o estado da célula modifícanse no extremo N terminal e serven como diana da actuación da E3 ligase, marcándoas para a súa dexeneración. Noutros casos é o mal pregamento o que desencadea a ubiquitinación.

Outro mecanismo alternativo á ubiquitinación é a **SUMOlación**, no que en vez de ubiquitina as proteínas destinadas a degradación incorporan unhas moléculas denominadas SUMO (de *small ubiquitin-related modifiers*)

A adición destas cadeas marcan as proteínas para a súa degradación polo proteasoma. Os **proteasomas** son estruturas cilíndricas de gran tamaño con actividade proteolítica. Están compostos por subunidades anulares, dúas tipo β no medio e dúas tipo α , que xuntas forman a rexión central. A maiores hai dúas «tapas» nos extremos. Mentres que as tapas son as encargadas de recoñecer a ubiquitina, son as unidades anulares centrais as que teñen **actividade proteolítica** orientada cara ao interior do cilindro, que permite a degradación de proteínas.

Os proteasomas son moi abundantes, atopándose tanto no núcleo coma no citoplasma. As proteínas mal pregadas que se atopan no retículo endoplasmático son exportadas ao citosol, onde poderán ser degradadas polo proteasoma.

Outra vía de degradación de proteínas é a **autofaxia**. Este proceso implica a fusión de vesículas no lisosoma, que degrada de xeito pouco selectivo os contidos vesiculares. Este mecanismo pode eliminar pequenas seccións do citoplasma, grandes orgánulos ou pode estar mediado de forma máis selectiva polas propias chaperonas.

T9 Biología humana da reprodución: gametoxénese e fecundación

Ata o momento centrámonos nos mecanismos que regulan o funcionamento da célula de xeito «individual»: como conserva a información xenética, como a duplica, e finalmente como utiliza a información xenética. Incluso cando se divide, a información das células fillas é basicamente a mesma. Nos dous últimos temas

estudiaremos un mecanismo evolutivamente tardío de xeración de variabilidade, a reprodución sexual, e como a partir dunha única célula se xera un novo individuo tan complexo como o ser humano.

A reprodución en humanos é unha **reprodución sexual**: células haploides (cunha única dotación cromosómica) fusiónanse para dar novos individuos. Estes individuos son diferentes entre si e diferentes aos proxenitores. Ademais é anisogámica: os gametos son moi distintos, tendo funcións diferentes.

A **gametoxénese** refírese ao proceso a partir do cal se producen células capaces de levar a cabo a reprodución sexual. Polo tanto, a gametoxénese ten como obxecto: obtención de células haploides (23 cromosomas) e capaces de fecundación (modificación funcional e morfolóxica).

Gametoxénese feminina

A ooxénese ou gametoxénese feminina ten como obxectivo a formación de células sexuais femininas. Estas células chamaranse oocitos mentres estean no ovario. Só cando son expulsadas do ovario, mediante a ovulación, poderán chamarse óvulos.

A maior parte da ooxénese sucede no ovario (máis concretamente próxima á cortiza ovárica, dentro dos foliculos ováricos). O proceso sucederá dende antes do nacemento ata a menopausa. Pódense distinguir varias etapas, cada unha cuns roles específicos: diferenciación inicial, crecemento e maduración.

Diferenciación inicial

A orixe celular dos gametos femininos pódese situar no ectodermo primitivo, só dúas semanas tras a fecundación. Estas células posteriormente migran ao saco vitelino, onde se poden identificar na terceira semana. Regresan ao embrión na quinta semana, migrando polo tubo dixestivo, ata chegar á parede do mesenterio na parede dorsal do corpo. Xa nas cristas xenitais empezaranse a diferenciar dando lugar ás **oogonias ou ovogonias** (células diploides, 2n).

Crecedemento

Entre o segundo e o quinto mes aumenta o número de oogonias por **divisións mitóticas**, ata chegar a ter varios millóns de oogonias.

A partir do quinto mes iníciase a división meiótica. As células pasan a chamarse **oocitos primarios**. Esta división meiótica detense en diplotene da profase I da meiose. Estas células quedan detidas nesta fase ata a puberdade.

Durante este tempo as células aumentan de tamaño. Ademais a célula acumula ribosomas, ARN e proteínas, que permitirán ter unha reserva tras a fecundación. Rodeando a cada oocito atopamos **células foliculares**, células nutricias que forman xunto co oocito unha estrutura funcional chamada foliculo. As células foliculares manteñen os oocitos primarios neste estadio, sen progresar na meiose,

pero apórtanlles os nutrientes necesarios para o seu crecemento. Nestas fases iniciais as células foliculares son aplanadas e o folículo denomínase «folículo primordial».

Despois do nacemento non se xeran novos oocitos. É máis, durante a infancia dexeneran ata o 90 % dos oocitos xerados por divisións mitóticas e posterior meiose, mediante fenómenos de atresia.

Maduración posnatal

A partir da **puberdade** (menarquía), debido á influencia hormonal aparecen as primeiras ovulacións e menstruacións.

Para iso, as hormonas influencian o crecemento e división das células foliculares, dando lugar, de xeito consecutivo, a folículos primarios, secundarios e terciarios ou maduros.

Ao redor do día 12-14 do ciclo menstrual complétase a primeira meiose, obtense o **oocito secundario** e un **corpúsculo polar** (división asimétrica). O corpúsculo polar apenas ten citoplasma, non é funcional e acabará dexenerando.

Horas antes da ovulación iníciase a **segunda meiose** e detense en metafase II (oocito II en metafase II). A meiose só se completará se hai fecundación (pódese falar de óvulo fecundado e fórmase o segundo corpúsculo polar).

Maduración folicular

Os oocitos están acompañados de células foliculares, como se mencionou anteriormente. Os cambios que lles suceden ás células xerminais femininas serán dirixidos ou irán acompañados de adaptacións por parte das células foliculares, que tamén veremos na actividade Interactiva 4- Manexo de microscopio e observación de preparacións (gametoxénese).

As oogonias, ao inicio da gametoxénese, están «espidas», non van acompañadas de células foliculares.

Tras o inicio da meiose (oocito I) as células foliculares dispóñense ao carón dos oocitos. Nas fases iniciais son aplanadas. O oocito cun único estrato de células aplanadas é chamado **folículo primordial**. As células foliculares encárganse de secreción dun factor chamado IMOs (inhibidor da maduración do oocito) que mantén o oocito neste estado.

A partir da puberdade as células foliculares crecen e adquiren forma cuboide, piramidal, e o folículo pasa a chamarse **folículo primario**. As células foliculares empezarán a diferenciarse en distintos tipos, e as que rodean e forman a parede do folículo pasan a chamarse células da granulosa. Aparecerá a zona pelúcida, matriz extracelular do oocito, entre o oocito e as células foliculares. Ademais prodúcese unha lámina basal ao redor das células da granulosa, separando o folículo do estroma ovárico.

O **folículo primario crece** en tamaño e número de células. As células da granulosa proliferan e forman varias capas. Por fóra da granulosa e da lámina basal organízanse as células do estroma ovárico, para dar lugar á teca folicular. Co

crecemento a teca folicular vólvese máis complexa. A interna vólvese vascular e glandular (secreción de hormonas), a externa capsular (tecido conectivo).

Folículo secundario, tamén chamado vesicular, obtense por maduración do primario. Dentro temos un oocito I. O folículo tende a deformarse e adquirir unha forma oval, o oocito vaise facendo excéntrico. Aparecen ocos nas células da granulosa, que se enchen de líquido folicular, pasando a chamarse **antros ou cavidades antrais** (en número variable).

Folículo terciario, folículo de Graaf ou maduro. O oocito xa é secundario (oocito II): finalizou a primeira meiose e iniciou a meiose II. O antro é único, o oocito é totalmente excéntrico, aínda que queda rodeado de células da granulosa que formarán a **coroa radiada**. Queda elevado nun grupo de células da granulosa chamado **cúmulo oovíxero ou oóforo**. Algúns autores consideran as células da coroa radiada parte do cúmulo oóforo. O folículo maduro aumentará de tamaño ata chegar a ser tan grande que xeralmente causa unha deformación na superficie do ovario antes da ovulación.

Control hormonal da ooxénese

A ooxénese está controlada hormonalmente polo «**eixe hipotálamo hipofisario gonadal**».

Hipotálamo. Produce a hormona liberadora de gonadotropinas.

Hipófise (ou pituitaria, en concreto o lóbulo anterior)- Produce as gonadotropinas: FSH (hormona folículo estimulante) e a LH (hormona luteinizante).

A **hormona folículo estimulante (FSH)** controla o desenvolvemento folicular. Tamén favorece a produción de estróxenos polas células do folículo (células da granulosa) no ovario. Tamén estimula a produción de inhibina por parte do ovario, e a inhibina reduce a produción de FSH, para regular o ciclo.

A **hormona luteinizante (LH)** é a principal responsable da ovulación. Tamén favorece a produción de andróxenos (p. ex. testosterona) por parte das células da teca interna (de aí o nome de glandular), a produción de proxesterona por parte do corpo lúteo, e a produción de prostaglandinas e colaxenase que favorecerían unha ovulación efectiva.

Ovario. O ovario produce distintas hormonas (estroxenos, proxesterona, andróxenos, entre outras) en resposta ás gonadotropinas anteriormente mencionadas.

Ciclo ovárico e ovulación

As gonadotropinas regularán o **ciclo ovárico**: procesos cíclicos (ocorren cada aproximadamente 28 días) que regulan a preparación do aparato xenital feminino para a ovulación e implantación temperá do óvulo fecundado.

FASE PROLIFERATIVA, FOLICULAR OU PRE-OVULATORIA

Comprende os primeiros 14 días. Os máis activos son os últimos 9 días. Neste tempo prepáranse os folículos ováricos para a ovulación. Sempre maduran uns cantos (9-15). Este desenvolvemento vaise apreciar na superficie do ovario. Producirase un aumento nos niveis de estróxenos (e da FSH). No útero aumenta a vascularización e o tamaño de determinadas glándulas secretoras, producindo un aumento no grosor do endometrio uterino.

FASE SECRETORA OU LUTEÍNICA

Un aumento marcado nos niveis de LH (tamén se ve no nivel da FSH) desencadea a **ovulación**. Provoca a rotura do folículo e a expulsión do oocito. As células foliculares que quedan, xunto coas células da teca, transfórmanse en corpo lúteo (ao redor do día 22). As células veranse máis globulosas, e producirán activamente proxesterona e estróxenos. A proxesterona favorecerá un maior engrosamento do endometrio, a súa maior vascularización e a estimulación de secrecións endometriais ricas en glicóxeno.

Se non hai fecundación producirase a menstruación. Os vasos sanguíneos colapsan, o que provoca a morte celular das capas máis superficiais, que se acaban desprendendo (nalgúns textos a isto denomínaselle como unha terceira fase, a **fase isquémica**). Tamén dexenera o corpo lúteo, as células luteínicas son lisadas e fagocitadas, e o seu espazo ocúpase por deposicións de coláxeno que cambian o aspecto: o corpo lúteo convértese en corpo branco ou corpus albicans.

Se sucede fecundación o corpo lúteo non dexenera, senón que se converte en **corpo lúteo xestacional**: aumenta a produción de proxesterona e tamén a cantidade de estróxenos por parte das células da teca. O corpo lúteo xestacional axuda a manter os niveis hormonais que permiten o embarazo mentres non sexa a placenta a que asuma o papel de síntese hormonal (a partir do 2º mes).

Gametoxénese masculina

É a formación das células sexuais masculinas (espermatozoides haploides). O proceso é equivalente ao da ooxénese, con moitas similitudes:

Diferenciación inicial

Íncianse na segunda semana no ectodermo primitivo, migra á parede do saco vitelino na 3ª semana. Ao redor da 5ª semana migran á gónada primitiva. A partir deste momento xa non serán células xerminais, senón **espermatogonias**. As espermatogonias permanecen latentes dende ese momento.

Crecremento

A partir da puberdade aumenta considerablemente o número de espermatogonias mediante mitoses. Neste momento aumentan de tamaño e empezan a diferenciación a **espermatoxito I ou primario**.

Prodúcese a primeira meiose, dando lugar a dous **espermatoxitos II ou secundarios**. Estes continúan coa meiose II que producen 4 **espermátidas** ou espermatídes.

As espermátidas teñen unha morfoloxía redondeada e hai pontes intercelulares que manteñen conectadas numerosas espermatídes. Isto facilita que o crecremento (e maduración) sexa sincrónico e se produza por ondas. Tamén se produce nun contexto espacial concreto: desde a lámina basal (máis primitivo e menos maduro) cara ao lumen.

Maduración

Denomínase **espermioxenia ou espermioxénese** á maduración e diferenciación morfolóxica das espermatídes a espermatozoides.

As espermatídes seguen asociados ás células de Sertoli.

- Hai unha transformación profunda do aparello de Golgi, que se converte nunha vesícula con encimas proteolíticas denominada **acrosoma**.
- Os centríolos xeran axonema ((9x2)+2), un **flaxelo** ou cola do espermatozoide.
- As mitocondrias concéntranse ao redor do flaxelo, dando lugar á **vaina mitocondrial**.
- O **núcleo condénsase**, empacitando o ADN mediante substitución das histonas por protamínas, co que o ADN ocupa menos espazo.
- O **citósol** na súa maior parte pérdese e será posteriormente fagocitado (o corpo residual) pola célula de Sertoli.

As células de Sertoli e as de Lewdig controlan o proceso de espermatoxénese. A espermatoxénese sucede nas invaxinacións das células de Sertoli. Estas células funcionan como barreira hemato-testicular.

Control hormonal da espermatoxénese

O eixe hipotálamo hipofisario gonadal tamén controla a espermatoxénese **Hipotálamo**. Produce a hormona liberadora de gonadotropinas. Actuará sobre hipófise.

Hipófise. Produce dúas hormonas:

A hormona folículo-estimulante (FSH, recibe o mesmo nome, papel similar en homes) promove a espermatoxénese: estimula produción de proteína fixadora de andróxenos (ABP) nas células de Sertoli. Isto axuda a concentrar a Testosterona, faina menos liposoluble concentrándoa. Tamén favorece a produción de inhibina, con efecto negativo.

A hormona estimuladora de células intersticiais (ICSH), que tamén recibe o nome de LH. Favorece a produción de andróxenos por parte da célula de Lewdig.

Testículo: produce a testosterona e inhibina en resposta ás hormonas anteriores, así como pequenas cantidades de estróxenos.

Fecundación

Transporte dos gametos

O **oocito ovulado** está rodeado pola coroa radiada, que é recoñecida polas fimbrias das trompas. Unha vez captado pola trompa é levado de forma pasiva ata a parte alta do útero. A fecundación adoita suceder na parte ampular das trompas, e é no 3º ou 4º día cando chega ao útero.

Os **espermatozoides** pasan dos túbulos seminíferos ao epidídimo con líquido testicular. Este líquido é bastante simple, con poucos compoñentes. No epidídimo o espermatozoide completará a súa maduración, que dura 12 días, e van modificar algunhas glicoproteínas para bloquear a súa capacidade de fecundación. Algúns autores denomínanlo **decapacitación**. Posteriormente vai polo conduto deferente, onde os espermatozoides se enriquecen con secrecións da próstata e as vesículas seminais. Estas secrecións achegan nutrientes ao espermatozoide, así como protección, densidade, e permiten o movemento do flaxelo.

A **exaculación** permite o paso dos espermatozoides ao tracto feminino. O movemento de espermatozoides e contraccións uterinas permiten o paso dende a vaxina e o útero ata chegar ás trompas uterinas. Durante este paso prodúcese a **capacitación do espermatozoide**, pérdense as proteínas que as envolven (glicoproteínas) e permiten a activación do espermatozoide para a fecundación.

Fecundación

A fecundación é a fusión dos dous gametos. Adoita suceder na bocha das trompas de Falopio.

Fálase de 3 fases da fecundación, unha por cada barreira

- 1) **Penetración da coroa radiada**, con enzimas que permiten a separación de células da zona radiada.
- 2) **Ancoraxe e penetración da zona pelúcida**. Glicoproteínas da zona pelúcida serven para a ancoraxe do espermatozoide. A ancoraxe desencadea a **reacción acrosómica**: o acrosoma libera enzimas que degradarán a zona pelúcida e isto ademais axuda a que outros espermatozoides non poidan ancorarse.
- 3) Unión e **fusión coa membrana plasmática do oocito**: O espermatozoide recoñece a membrana do oocito e fúndense as membranas plasmáticas das dúas células. Neste momento xa se pode falar de óvulo fecundado. Finaliza a segunda división meiótica e xera o segundo corpúsculo polar.

Suceden unha serie de procesos que evita a polispermia (fecundación por máis dun espermatozoide) e iníciase a segmentación.

T10 Bioloxía humana do desenvolvemento: segmentación e embrioxénese

De cigoto a blástula

A fecundación activa a maquinaria celular do cigoto, producíndose unha serie de divisións mitóticas rápidas e consecutivas. Aumenta o número de células, sen cambiar o tamaño do cigoto, que está limitado pola zona pelúcida que aínda se conserva. Estas divisións darán lugar á **mórula**, un conxunto compacto dunhas poucas células con aspecto de amora.

A partir do 5º ou 6º día iníciase o proceso de formación da blástula. Nestes momentos o embrión atópase entrando no corpo do útero e perderá a membrana pelúcida, o que lle permite aumentar de tamaño. Se ata o momento tiñamos unha bóla ou esfera de células maciza, as células en división organizaranse, no seu interior aparece unha gran cavidade rechea de líquido segregado polas propias células que se denomina **blastocèle**. As células redistribuíranse e darán lugar a unha esfera oca. Neste momento coñécese o embrión como **blástula ou blastocisto**.

As células que forman ese embrión van empezar a especializarse en dúas poboacións diferentes: no interior da esfera oca apréciase un grupo de células, que se denominan **masa celular interna ou embrioblasto**, que serán as que por división e diferenciación dean lugar ao individuo que vai nacer. Mentres que as células que se dispoñen na periferia e forman precisamente esa esfera oca denomínanse **trofoblasto**, e terá principalmente unha función de nutrición cara ás células que derivarán do embrioblasto en períodos posteriores do desenvolvemento. Esta reorganización débese en gran medida á formación de distintos tipos de unións entre as células. Mentres que as unións que hai entre as células da masa celular interna seguen sendo unións tipo GAP, as células do trofoblasto son unións estreitas.

A asociación duns tipos celulares con outros, neste momento e ao longo do resto do desenvolvemento, vai estar mediado pola presenza de distintas moléculas de adhesión presentes nas membranas plasmáticas das células. As **cadherinas** son un exemplo destas moléculas de adhesión, con importante función morforreguladora, ou de regular a forma dos tecidos en desenvolvemento. Estas moléculas permiten establecer conexión con células veciñas que presentan o mesmo tipo de cadherinas, dando lugar a unións entre células do mesmo tipo denominadas **homofílicas**. Cando se establecen unións entre tipos distintos de células, que expresan distintas moléculas de adhesión, fálase de **unións heterofílicas**. A medida que as células se diferencian e dan lugar a distintos tecidos, distintos tipos de cadherina vanse ir expresando, e estes tipos poderán variar non só no tecido, senón dentro dun mesmo tecido pode variar co tempo. Pode modificarse así o padrón de asociación espacial e temporalmente.

Da blástula ou blastocisto obtéñense as **células nai embrionarias**, máis concretamente da masa celular interna ou embrioblasto. Como comentamos as células do embrioblasto son capaces de proliferar e dan lugar a todas as células dun individuo. Estas características pódense manter cando as células se cultivan, isto é, levan ao laboratorio e achéganselles os nutrientes e factores necesarios para seguir proliferando ou diferenciándose a distintos tipos celulares, que se poden utilizar para substituír tecidos que dexeneran como consecuencia de distintas enfermidades. É por iso o enorme interese que teñen estas células nai embrionarias na **terapia celular**.

Embrioxénese

As células do trofoblasto actuarán sobre células do epitelio uterino da nai, permitindo a invasión do trofoblasto en capas máis profundas. Ademais da súa implantación no corpo do útero, o embrión ten a capacidade de atravesar e implantarse en distintos epitelios, podendo dar lugar a **embarazos ectópicos**. Aínda que o embrión pode sobrevivir e crecer durante semanas en localizacións como a parede abdominal do intestino ou a trompa de Falopio, estas localizacións non permiten un desenvolvemento normal, o que conduce á morte prematura do embrión, e a miúdo poden ir acompañadas de complicacións para a propia vida da nai, polo que convén facer un seguimento nas primeiras etapas do embarazo e determinar o lugar de implantación do embrión.

Nos días seguintes á implantación o sincitiotrofoblasto irá invadindo capas cada vez máis profundas do endometrio e formaranse lagoas trofoblásticas, grandes cavidades que permitirán a comunicación coas arterias maternas presentes no endometrio. Esta estrutura desenvolverase dando lugar á placenta, que posteriormente permitirá o intercambio de osíxeno e nutrientes entre o sangue materno e do embrión en formación.

As células do embrioblasto tamén continúan proliferando e dando lugar a distintas estruturas. Estas células embrionarias utilizan basicamente os mesmos mecanismos que empregaran os embrións durante as seguintes semanas de desenvolvemento. Considérase **embrioxénese** ao período que culmina ás 8 semanas de desenvolvemento polo cal se desenvolve o padrón corporal na especie humana. Intervenien distintos procesos:

- **proliferación e morte celular**, que establece o número de células
- **diferenciación ou especialización celular**, que van determinar a expresión duns xenes nunhas células distintos dos que expresan outras, e que vai determinar a función que un determinado tipo de célula teña nun determinado tecido ou órgano
- **interacción ou comunicación entre células**, que participan no desenvolvemento e que permite coordinar distintas poboacións celulares no corpo e ao longo do tempo
- e tamén **migración celular** ou desprazamento relativo dunhas células con respecto a outras, permitindo que unhas células orixinadas nun determinado lugar, nun contexto celular determinado, cheguen a outro lugar onde se verán rodeadas doutras células distintas.

O embrioblasto empezase a diferenciar en dous tecidos, dando lugar ao denominado **embrión bilaminar**, pola disposición en dúas láminas que forman estes tecidos. Ao tecido que se localiza na parte superior denomínase **epiblasto**, e á inferior **hipoblasto**. O espazo que queda por encima do epiblasto dará lugar á **cavidade amniótica**, mentres que por baixo do hipoblasto formarase o **saco vitelino**. Cavidade amniótica e saco vitelino son estruturas extraembrionarias, non darán lugar a tecidos presentes no individuo tras o nacemento. Aínda que cada un dos embrións dará lugar a un individuo, algunhas das estruturas extraembrionarias poden ser comúns en embarazos xemelares, que a miúdo comparten placenta ou corion.

Na terceira semana de desenvolvemento o epiblasto engrosarase e un grupo de células empezará a migrar entre o epiblasto e o hipoblasto. Este fenómeno denomínase **gastrulación**. A partir destas células do hipoblasto orixinaranse dúas novas capas, que xunto coas células do epiblasto que queda arriba forman tres capas embrionarias, **ectodermo, mesodermo e endodermo** e pasa de considerarse un embrión bi-laminar a un **embrión tri-laminar**.

1. ectodermo dá lugar a células da pel e do sistema nervioso,
2. mesodermos aos músculos e ósos,
3. endodermo dará lugar principalmente a órganos do sistema dixestivo e respiratorio.

Nas seguintes semanas iranse desenvolvendo aos poucos as distintas estruturas que darán lugar a todos os órganos do corpo. Destacan os **somit**s, masas de células de mesodermo que darán lugar a músculos e ósos, entre outros tecidos, e os **arcos farínxeos ou branquiais**, compostos de tecido ectodérmico, mesodérmico e endodérmico e que darán lugar a estruturas da cara e do pescozo.

Estimación da idade embrionaria

Estas estruturas, somitas e arcos farínxeos, tamén son útiles para establecer a idade do embrión. Ao longo do desenvolvemento vanse ir desenvolvendo cada vez máis somitas e arcos farínxeos, ata un máximo de 28 somitas e entre 4 e 6 arcos farínxeos, algúns dos cales só se poden apreciar en momentos moi concretos do desenvolvemento.

Ademais de somitas e arcos farínxeos tamén se pode coñecer a idade do embrión en desenvolvemento pola lonxitude céfalo caudal, ou CRL polas súas siglas en inglés, de *crown rump length*. A distancia entre a coroa da cabeza ata a curvatura glútea no extremo oposto. P. ex. un embrión duns 10mm, apenas un centímetro, tería uns 35 días.

Durante as próximas semanas os distintos tecidos van madurando e a forma do embrión adquire características cada vez máis identificables coa forma humana. A formación de novos tecidos e órganos acontece de xeito secuencial, dando lugar a cambios morfolóxicos típicos de cada semana e que poden ser empregados para determinar a idade embrionaria e predicir o momento do nacemento.

A partir das 8 semanas, apenas dous meses desde o momento da fecundación, todas as estruturas e órganos están presentes e basicamente formados. O resto do tempo ata o momento do nacemento, o feto estará nutréndose e as estruturas formadas durante o período embrionario crecerán e madurarán para preparar o novo individuo para a vida extrauterina.

ACTIVIDADES

As actividades descritas refírense ás clases interactivas. Con estas actividades búscase integrar os coñecementos adquiridos durante as expositivas e afianzar os coñecementos.

Interactiva 1- Estatística básica en xenética- árbores xenealóxicas

Xustificación

Nesta actividade traballárase de xeito interactivo a herdanza. Servirá de introdución ás árbores xenealóxicas e permite ver, de primeira mano, os padróns de herdanza máis comúns.

Desenvolvemento

De forma individual ou por parellas, recrearase unha árbore xenealóxica. Pártese dun modelo de herdanza ou dunha enfermidade cun padrón de herdanza coñecido.

A continuación, con axuda dunha moeda, créase cal será o xenotipo dos proxenitores, e cal será o xenotipo para cada un dos descendentes. O número de descendentes virá determinado pola propia duración da actividade.

Obxectivos

Ser capaz de elaborar árbores xenealóxicas. Ser capaz de elaborar diagramas de Punnett. Interpretar os resultados dun cruzamento. Calcular o risco de recorrencia.

Interactiva 2- Problemas e casos clínicos de xenética

Xustificación

A partir dos coñecementos xerados na anterior práctica, os alumnos deben de interpretar correctamente árbores xenealóxicas e resolver cuestións relacionadas con estas.

Desenvolvemento

En grupos reducidos, tratarán de resolver problemas presentados en clase polo profesorado. Os problemas poden ter unha única solución ou poden ter unha resposta aberta. Os alumnos deberán de expoñer a súa resposta, explicar o seu razoamento e defendelo fronte a posibles críticas feitas polos seus compañeiros, en forma de debate curto.

Obxectivos

Os estudantes deben de dar as respostas con precisión. A velocidade de resolución será tida en conta, así como a capacidade de explicar a forma de resolver os casos aos seus compañeiros. A capacidade de debate será tamén considerada de xeito individual e tamén no conxunto da clase.

Interactiva 3- Illamento de ADN en laboratorio**Xustificación**

Introdución a técnicas básicas de laboratorio. Neste caso, o interese radica en familiarizar o alumno coa interpretación da linguaxe científica e ser capaz de seguir as indicacións, ou ter as ferramentas necesarias para suplir aquelas carencias que se presenten.

Desenvolvemento

Mediante o uso de reactivos de laboratorio, en parellas ou grupos pequenos, e a partir de distintas mostras biolóxicas, tratarase de illar e observar o material xenético de distintas mostras biolóxicas. O protocolo será achegado polo profesorado, que guiará o alumnado ao longo da práctica.

Obxectivos

O alumno deberá ser capaz de seguir un protocolo científico. Se o resultado é o esperable, debería obter unha mostra de ADN. No caso de que a mostra non resulte na obtención dunha cantidade significativa de ADN, debería de ser capaz de recoñecer que aspectos puideron influír no resultado obtido. En calquera caso, debe redactar a súa experiencia dun xeito que sexa entendible polos seus compañeiros.

Interactiva 4- Manexo de microscopio e observación de preparacións (gametoxénese)**Xustificación**

Introdución a técnicas básicas de laboratorio. Neste caso, os alumnos usarán un microscopio óptico de luz transmitida.

Desenvolvemento

Os alumnos, cada un cun microscopio dos laboratorios de prácticas, deberán observar preparacións de cortes onde poderán observar mostras de ovario e de testículo, representativas de gametoxénese en ambos os sexos.

Obxectivos

O alumno deberá ser capaz de manexar o microscopio ao final da práctica. Tamén serán quen de recoñecer a estrutura de folículos en distintos graos de maduración, así como os tipos celulares máis significativas de ovarios e testículos. Entregarán un informe escrito ao final da clase, onde se recollerán as súas observacións (en forma de debuxos), así como indicios do uso correcto do microscopio.

Interactiva 5- Traballos de investigación en xenética**Xustificación**

Nesta actividade traballarase a busca e presentación de información, relacionada con contidos da materia.

Desenvolvemento

Ao principio do curso aconsellaráselles realizar os cursos de Competencias en información, ofertados polas bibliotecas da facultade. Tamén decidir unha enfermidade sobre a que tratará o seu traballo, ou ben por elección libre, ou ben dentro dun grupo de alternativas que se propoñen. No caso de dúbidas planearase a realización de tutoría. Este traballo será realizado de xeito independente, fóra dos horarios de clase. No día da práctica, os alumnos deberán entregar a súa actividade escrita (subila a través das plataformas da USC) e presentala de forma oral.

Obxectivos

O alumno deberá ser capaz de comunicarse de xeito oral e escrito, segundo os criterios de calidade estándar para a comunicación científica. Empregaranse rúbricas similares ás presentadas no anexo desta unidade didáctica para avaliar esta actividade.

Interactiva 6- Desenvolvemento embrionario**Xustificación**

Esta actividade busca que o alumno recapitule as primeiras etapas de desenvolvemento embrionario, mediante a gamificación e a aprendizaxe baseada en proxectos.

Desenvolvemento

En grupos, os alumnos disporán dun taboleiro onde tratarán de modelar o desenvolvemento embrionario, dende un cigoto ata un individuo completo. Deberán de coñecer que etapas ten o desenvolvemento embrionario e como progresan para poder completar a actividade.

Obxectivos

O alumno deberá recoñecer as distintas estruturas que xorden ao longo do desenvolvemento embrionario, a súa nomenclatura, entender o seu padrón de aparición temporal e relacionalo coa información de clases expositivas. O resultado que obteñan da actividade serviralles para refrescar coñecementos e permitiralles avaliar en que partes poden ter máis dificultades e nas que deben reforzar os coñecementos.

Algunha das actividades pode ser substituída por outra equivalente, con obxectivos similares, en función dos recursos materiais dispoñibles.

PRINCIPIOS METODOLÓXICOS

As actividades formativas con presenza do profesorado que se desenvolverán nesta unidade didáctica son:

- **12 sesións expositivas**, nas que o/a docente explicará os conceptos propios da materia con apoio de medios audiovisuais e informáticos. Pode ter formatos diferentes (teoría, exemplos xerais, directrices xerais da materia e casos clínicos), fomentando o espírito crítico e a participación activa, facilitando a adquisición das competencias. A metodoloxía empregada será a sesión maxistral.
- **6 sesións interactivas de laboratorio**, onde un número reducido de estudantes, de xeito individual ou divididos en grupos de traballo de entre dúas e cinco persoas, seguindo os protocolos preparados para ese efecto, traballan aspectos relacionados cos contidos da unidade didáctica. Estas sesións desenvólvense nos laboratorios de bioloxía da facultade, o que facilita o uso das técnicas experimentais e de laboratorio básicas, manexo dos equipos apropiados e a interacción entre os alumnos e co profesorado. Está limitado pola duración das sesións e polos recursos materiais dispoñibles para estas prácticas, que se busca que reflectan o material e técnicas habituais nun laboratorio.

As metodoloxías inclúen sesións maxistras (para as expositivas), aprendizaxe baseada en proxectos, aprendizaxe baseada en problemas, estudo de casos, aprendizaxe colaborativa, grupos de discusión e gamificación.

AVALIACIÓN DA UNIDADE DIDÁCTICA

A avaliación desta unidade didáctica farase:

Mediante o exame final (cun valor desta unidade equivalente ao 50 % no total da materia). Desta forma avalíanse principalmente os contidos das clases expositivas. A proba é un exame tipo test, con cinco opcións posibles e unha única opción correcta.

Mediante avaliación continua, que supón un 50 % da nota correspondente. Esta nota virá dada por:

- Actividades para facer nas clases, tanto expositivas como interactivas.
- Capacidade de resolución de problemas baseados nos contidos presentados nas clases expositivas e traballados en seminario, así como o manexo da linguaxe e capacidade de transmitir os coñecementos á hora
- Traballos relacionados coas clases interactivas, nos que se avalían competencias dificilmente medibles nun exame.
- As actitudes, comportamentos e capacidade de expresión que demostren os alumnos tanto nas clases expositivas como nas interactivas.

ANEXOS

Táboa 1 Rúbrica da presentación oral

	0	1	2	3
Explicación técnica	Non menciona moitos puntos importantes, céntrase en cousas sen importancia	Pouca profundidade, pero en xeral ben	Boa explicación técnica en practicamente todos os aspectos	Excelente explicación, contido ben abordado, fala amodo e con claridade
Explicación persoal	Non aclara nada o crea confusión	Inténtao, pero custa entender aspectos importantes	Explicación clara dos aspectos máis confusos da explicación técnica	Complementa a explicación técnica perfectamente, demostra coñecer o tema
Vocabulario empregado	Usa demasiados retrouso, confunde termos	Usa algún retrouso, falla algo o vocabulario	Excelente uso do vocabulario, claro en ambas partes	
Aspectos de confianza	Fala demasiado baixo, vacilante ou apurado, necesita papel para todo	Pouca seguridade, organización incorrecta do tema	Xestícula correctamente, boa entoación Usa apoio ocasionalmente	
Aspectos "estéticos"	Postura física inadecuada, incorrección evidente	Boa expresión, agradable "conversa"		
Tempo*	Moi longo (-1/min)	Axustanse ó tempo		

Táboa 2 Rúbrica da presentación escrita

	-1	0	1	2
Orixinalidade	Copiado nalgunha parte (plaxio) -10	En xeral, orixinal, pero demasiadas citas literais	Ben desenvolto	Redacta ideas, nótase o traballo orixinal
Contido	Irrelevante	En xeral bien, pero inclúe cousas non relevantes	Axustado ó esperado	Bo desenvolvemento
Búsqueda de información		Non indica criterios de búsqueda	Indica que se buscou, aínda que algúns aspectos quedan flojos	Axústase o buscado ó reflexado
Palabras chave		Non indicados termos de búsqueda	Indica todos os términos de búsqueda	Indica palabras chave, ben elixidas, axustadas a contido
Recursos usados		Non indica recursos usados	Sólo un tipo de recurso usado	Gran variedade de recursos, ben aproveitados
Fontes de información	Non incluídas	Algúns, pero incompletas	Incluídas, pero mal citadas	Pódese coñecer a información usada
Instrucións formais	Non se axustou ó pedido		En xeral, axustado a instrucións	Axustouse en todo momento

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía básica

- ALBERTS, Bruce, D. Bray, J. Lewis, M. Raff M, K. Roberts y J. Watson. (2016): *Biología molecular de la célula* (6ª ed.) Omega.
- BECKER, Waive, O. Kleinsmith y J. Hardin. (2006): *El mundo de la célula*. (6ª ed.) Pearson Addison-Wesley.
- KARP, Gerald. (2019): *Biología celular y molecular: Conceptos y experimentos*. (8ª ed.) McGraw Hill.
- MOORE, Keith L., T.V.N. Persaud, M.G. Torchia (2020): *Embriología Clínica*. (11ª ed.) Elsevier Saunders.
- NUSSBAUM, Robert L., R.R. McInnes, H.H. Willard. (2016): *Thompson & Thompson. Genética en Medicina*. (8ª ed.) Elsevier Masson.



Unha colección orientada a editar materiais docentes de calidade e pensada para apoiar o traballo do profesorado e do alumnado de todas as materias e titulacións da universidade

unidadesdidácticas
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA