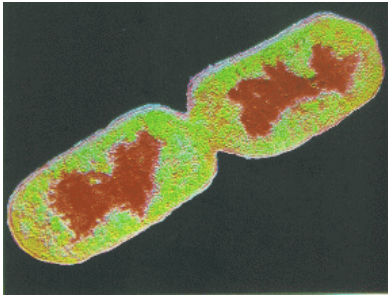
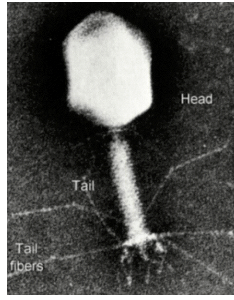


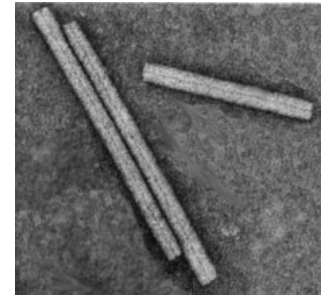
# BASE MOLECULAR DE LA HERENCIA



*E. coli* dividiéndose



Fago T4



Virus de mosaico del tabaco

- [Propiedades que debe reunir una molécula para ser el material hereditario.](#)
- [Características que debe reunir una especie para ser un buen material de investigación en un laboratorio de genética.](#)
- [Principales características de las bacterias.](#)
- [Experimentos que demuestran que el ADN es el material hereditario en bacterias: Transformación bacteriana.](#)
- [Principales características de los bacteriofagos de la serie T.](#)
- [El Ciclo Lítico.](#)
- [Experimentos que demuestran que el ADN es el material hereditario en bacteriofagos.](#)
- [Características del virus del mosaico del tabaco: TMV.](#)
- [Experimentos que demuestran que el ARN es el material hereditario en el virus del mosaico del tabaco.](#)

## PROPIEDADES QUE DEBE REUNIR UNA MOLÉCULA PARA SER EL MATERIAL HEREDITARIO

Las características o propiedades que debe reunir cualquier molécula para ser el material hereditario se deducen de la observación de las propiedades que tienen los organismos vivos.

- **ALMACENAR INFORMACIÓN BIOLÓGICA DE UNA FORMA ESTABLE.**
- **REPLICARSE Y TRANSMITIRSE DE UNA CÉLULA A OTRA Y DE UNA GENERACIÓN A LA SIGUIENTE.**
- **LLEVAR INFORMACIÓN PARA OTRO TIPO DE MOLÉCULAS Y ESTRUCTURAS.**
- **MUTACIÓN Y RECOMBINACIÓN.**

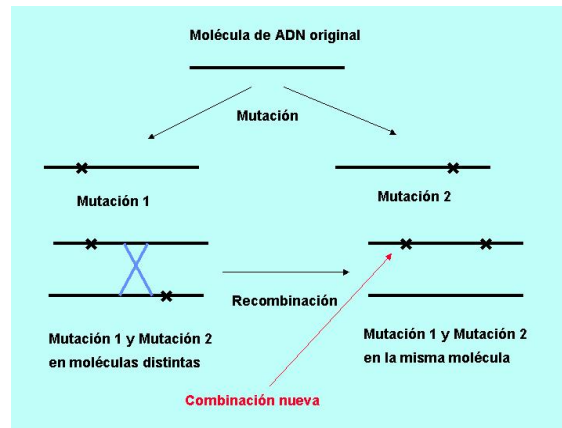
**Fuente Primaria de variabilidad genética: mutación.**

Las alteraciones o cambios en la molécula que contiene la información se denominan mutaciones. La mutación es la fuente primaria de variabilidad genética, si no existiera la mutación, no habría sido posible observar la enorme variabilidad existente de especies

diferentes, ni la variabilidad dentro de cada especie. Sin la mutación no se podría haber producido el proceso evolutivo.

### **Fuente secundaria de variabilidad genética: recombinación.**

La producción de nuevas combinaciones genéticas a partir de las generadas inicialmente por mutación se produce cuando dos moléculas de material hereditario intercambian información mediante el proceso de la recombinación. Dos mutaciones diferentes que se encontraban en moléculas de material hereditario distintas pueden reunirse en la misma molécula mediante la recombinación. Por consiguiente, la recombinación genera variabilidad produciendo combinaciones nuevas de mutaciones.



Esquema de mutación y recombinación



## **CARACTERÍSTICAS QUE DEBE REUNIR UNA ESPECIE PARA SER UN BUEN MATERIAL DE INVESTIGACIÓN EN EL LABORATORIO**

- **FÁCIL MANEJO Y MANTENIMIENTO EN EL LABORATORIO.**
- **OCUPAR POCO ESPACIO.**
- **REPRODUCIRSE EN POCO TIEMPO. GENERACIONES RÁPIDAS.**
- **ELEVADO NÚMERO DE DESCENDIENTES.**
- **VARIABILIDAD PARA CARACTERES FÁCILES DE ESTUDIAR.**

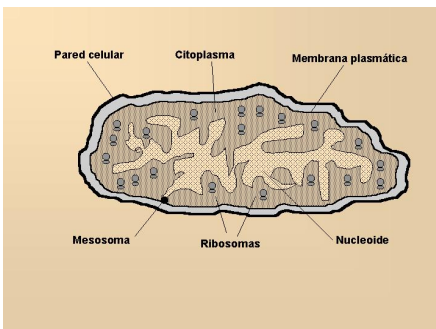
Las bacterias y los virus reúnen todas las características anteriormente mencionadas.

La elección del material de estudio, o de la especie con la que se va a realizar un determinado experimento es muy importante, ya que de ello depende el que podamos encontrar con mayor o menor dificultad las respuestas a las preguntas planteadas en el experimento.

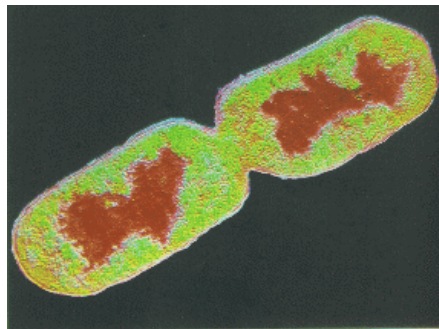
Para poder responder a la pregunta ¿Qué molécula es la que contiene la información?, fue necesario introducir en la investigación organismos con una organización biológica mas simple. Los organismos que se estaban manejando hasta el momento en la investigación genética, eran eucarióticos, con una organización biológica compleja, por tal motivo, se comenzaron a estudiar organismos procarióticos (bacterias) y virus.

## PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LAS BACTERIAS

La principal característica que diferencia las células procarióticas de las células eucarióticas es la ausencia de membrana nuclear y por consiguiente la falta de núcleo. Las bacterias (células procarióticas) carecen de núcleo y su material hereditario no está separado del resto del citoplasma mediante una membrana. De forma muy esquemática, una bacteria consta de fuera hacia dentro de los siguientes componentes: una pared celular de lipopolisacáridos, una membrana plasmática y el citoplasma celular. Dentro del citoplasma a su vez es posible distinguir los ribosomas necesarios para llevar a cabo la síntesis de proteínas durante la traducción de los ARN-mensajeros y el nucleoide bacteriano. El nucleoide bacteriano contiene de forma compactada la molécula portadora de la información (ADN) en asociación con otras moléculas (proteínas) y está en contacto con la membrana plasmática en un punto denominado mesosoma.



Esquema de una bacteria



Bacteria dividiéndose



ADN de bacteria reventada

Cuando se somete una bacteria a un choque osmótico es posible hacerla reventar y que su contenido salga al exterior, en particular, su ADN.

## EXPERIMENTOS QUE DEMUESTRAN QUE EL ADN ES EL MATERIAL HEREDITARIO EN BACTERIAS: TRANSFORMACIÓN BACTERIANA

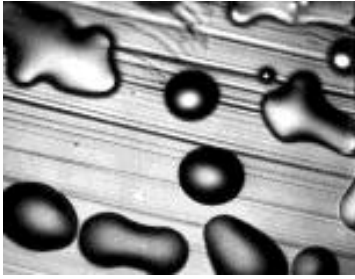
- [Transformación de neumococos no virulentos en virulentos: Principio Transformante \(Griffith 1928\).](#)
- [Transformación de neumococos no virulentos en virulentos: El Principio transformante es el ADN. Avery, McLeod y McCarthy \(1944\).](#)

### EXPERIMENTOS DE TRANSFORMACIÓN BACTERIANA DE GRIFFITH (1928). EL PRINCIPIO TRANSFORMANTE.

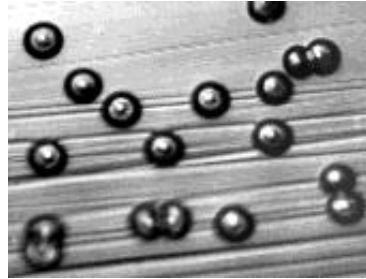
El material empleado por Griffith (médico inglés) fue la bacteria *Diplococcus pneumoniae* o neumococo y los ratones. Cuando se inyecta a un ratón con el esputo de una persona enferma (con neumonía) dicho ratón muere de septicemia a las 24 horas. Esta capacidad virulenta de los neumococos se debe a la presencia de una cápsula de polisacáridos (polímeros de glucosa + ácido glucurónico) que envuelve a la bacteria y la protege de la fagocitosis.

Para poder realizar cualquier estudio genético es necesaria la existencia de variabilidad para el carácter analizado. Griffith observó la existencia de diferentes tipos de neumococos:

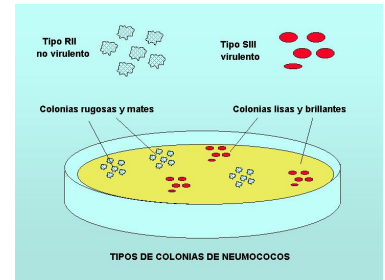
neumococos virulentos de tipo S que dan lugar a colonias con aspecto liso y brillante (producen la cápsula azucarada que los protege de la fagocitosis del huésped) y neumococos no virulentos (avirulentos) de tipo R que dan lugar a colonias de tipo rugoso y mate (carecen de la cápsula azucarada protectora).



Colonia de tipo S



Colonia de tipo R



Esquema colonias S y R

**Experimento control:** Griffith nunca había observado que los neumococos RII (no virulentos) mutarán o cambiarán a SIII (virulentos).

Griffith observó que si inyectaba a los ratones con neumococos de tipo RII (avirulentos) a las 24 horas seguían vivos (Figura A), mientras que si los inyectaba con neumococos SIII (virulentos) a las 24 horas los ratones morían (Figura B). Entonces decidió calentar los neumococos SIII (virulentos) para destruirlos y posteriormente inyectarlos a los ratones, encontrando que los ratones seguían vivos después de 24 horas (Figura C). Por consiguiente el calor, destruía el poder infeccioso de los neumococos SIII. Por último, inyectó a los ratones una mezcla de neumococos RII vivos (no virulentos) y de SIII (virulentos) previamente muertos por calor, encontrando que los ratones morían a las 24 horas y extrayendo de su sangre neumococos SIII vivos (Figura D).

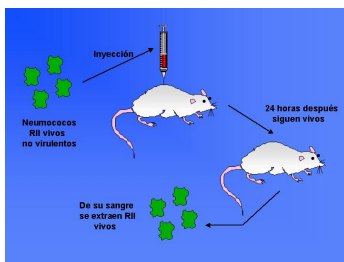


Figura A

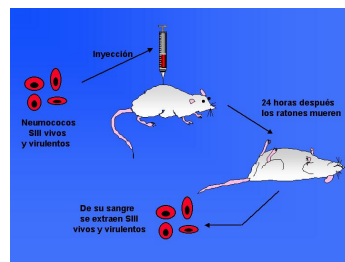


Figura B

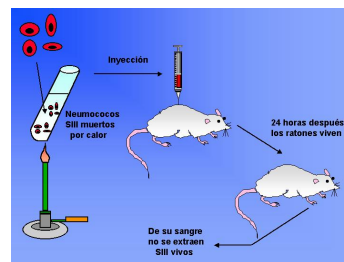


Figura C

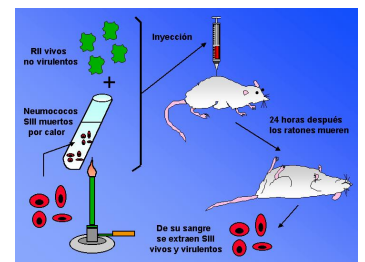
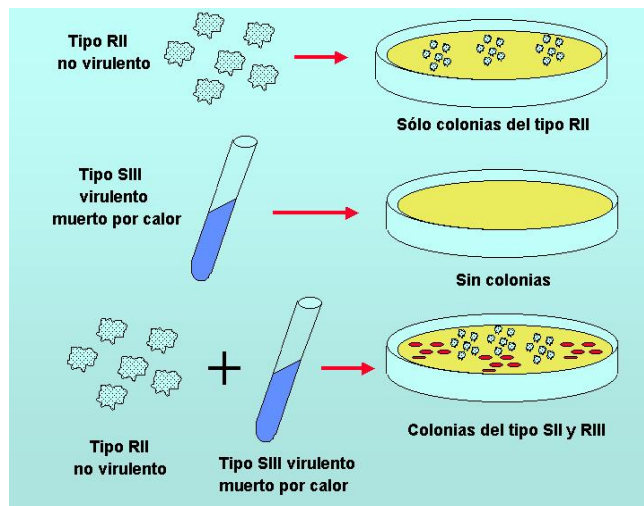


Figura D

**Conclusiones de Griffith:** puesto que los neumococos RII (avirulentos) nunca mutan a SIII (virulentos), en el último experimento (Figura D) se demuestra la existencia de una sustancia presente en los extractos de neumococos SIII muertos por calor que es capaz de transformar a los neumococos RII vivos en SIII vivos, dicha sustancia fue denominada por Griffith el Principio Transformante.

Estudios posteriores pusieron de manifiesto que la transformación de neumococos RII en SIII se podía realizar en tubo de ensayo sin necesidad de utilizar ratones en el experimento. Es decir, se puede mezclar en el mismo medio de cultivo líquido neumococos RII vivos con neumococos SIII previamente muertos por calor y obtener neumococos SIII vivos y virulentos.



Transformación de RII en SIII en tubo de ensayo



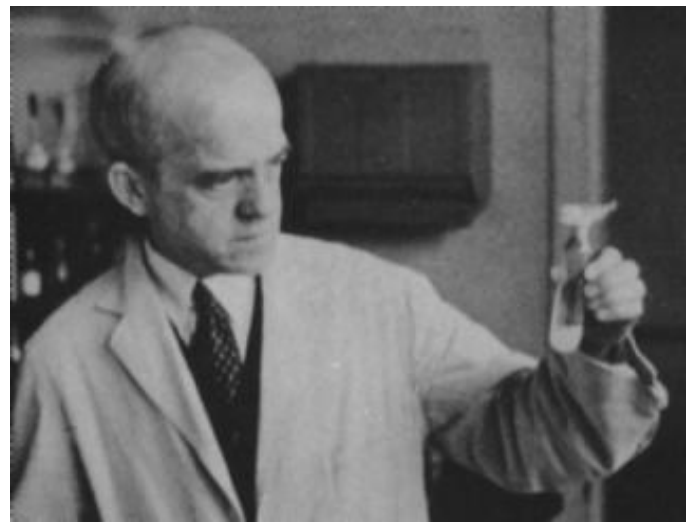
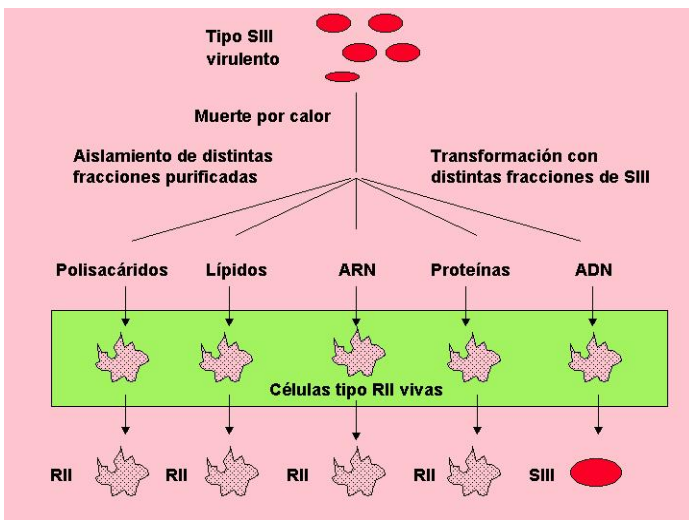
## EXPERIMENTOS DE TRANSFORMACIÓN BACTERIANA DE AVERY, McLEOD Y McCARTHY (1944). EL PRINCIPIO TRANSFORMANTE ES EL ADN.

Avery, McLeod y McCarthy mediante análisis químicos, enzimáticos y serológicos y utilizando técnicas de electroforesis, ultracentrifugación y espectroscopía aislaron a partir de los extractos de neumococos SIII (virulentos) muertos por calor cinco fracciones distintas con el mayor grado de pureza posible en la época. Estas cinco fracciones diferentes fueron una correspondiente a Polisacáridos, otra de Lípidos, una de Proteínas, otra de ARN y otra de ADN.

Con cada una de estas fracciones procedentes de SIII muertos por calor intentaron transformar las células RII vivas en SIII. Comprobaron que ninguna de las fracciones era capaz de transformar los neumococos RII en SIII excepto la fracción químicamente pura que contenía ADN (ácido desoxirribonucleico).

Para asegurarse de que solamente la fracción de ADN era capaz de transformar los neumococos RII en SIII, emplearon enzimas que degradan o digieren específicamente el ADN. Cuando trataban la fracción de ADN con estas enzimas y después intentaban transformar las células RII en SIII, no lo conseguían. Si trataban la fracción de ADN con enzimas que degradan específicamente el ARN y después intentaban la transformación, las células RII se transformaban en SIII. Si la fracción de ADN se trataba previamente con proteasas (enzimas que degradan las proteínas) también conseguían transformar los neumococos RII en SIII.

**Conclusiones de Avery, McLeod y McCarthy:** Teniendo en cuenta que la única fracción químicamente pura de los neumococos SIII muertos por calor que puede transformar los neumococos RII en SIII es el ADN, el Principio Transformante detectado por Griffith debe ser el ADN. Por tanto, la molécula responsable de convertir los neumococos no virulentos en virulentos es el ADN y, por consiguiente, en él debe residir la información genética.



Esquema de los resultados de Avery, McLeod y McCarthy (1944)

Fotografía de Oswald Avery trabajando en su laboratorio

La primera demostración de que el ADN es el material hereditario se debe, por tanto, a Avery, McLeod y McCarthy en 1944, pero la comunidad científica, en ese momento, no estaba preparada para aceptar sus resultados, ya que pensaban que el ADN era una molécula monótona que consistía en la repetición de un tetranucleótido y que no podía ser la molécula que almacenaba la información genética ya que no disponía de la variabilidad suficiente. Sin embargo, las proteínas eran muy variables y si eran consideradas como candidatos a ser el material hereditario.

**La transformación en bacterias:** para conseguir que una bacteria se transforme es necesario que el ADN exógeno o transformante penetre en su interior, posteriormente, el ADN exógeno o transformante debe integrarse en el ADN bacteriano, luego debe expresarse y, por último, tiene que transmitirse de una bacteria a otra.

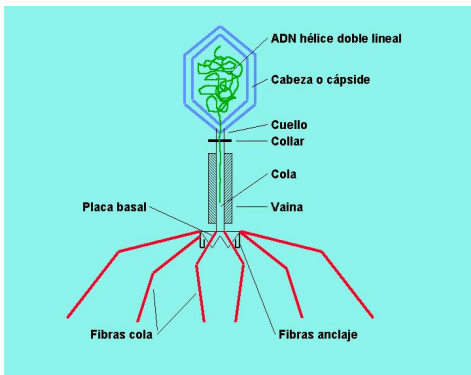


## PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS BACTERIOFAGOS O FAGOS DE LA SERIE T

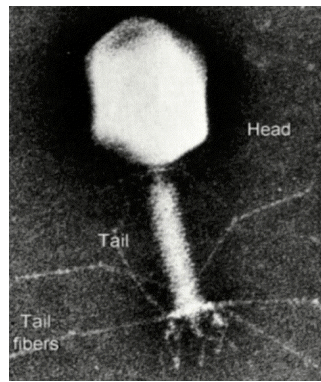
Twort (1915) y D'Herelle (1917) descubrieron la existencia de virus que se alimentan de bacterias o fagos. Posteriormente Delbrück y colaboradores (1938) sistematizaron los análisis genéticos en fagos que infectaban a la bacteria *E. coli*. Max Delbrück y Salvador Luria recibieron el Premio Nobel en 1969 por sus estudios con fagos.

Los virus que infecta a las bacterias (comedores de bacterias) se denominan bacteriofagos o fagos. Entre los virus que infectan a las bacterias, uno de los grupos más estudiados en genética, es la familia de los fagos de la serie T que infectan a la bacteria del tracto intestinal *Escherichia coli*. La organización biológica de estos virus es mucho más sencilla que la de las bacterias ya que solamente poseen dos tipos de compuestos que son el ADN y las proteínas.

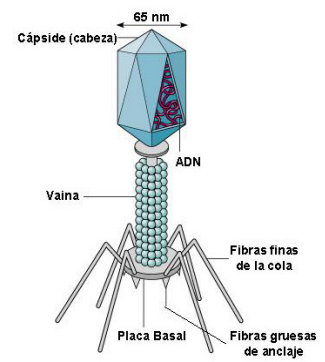
Los virus de la serie T, y en concreto el virus T4, posee una envoltura externa de naturaleza proteica denominada cápside o cabeza de forma icosaédrica en cuyo interior se encuentra ADN doble hélice lineal (el cromosoma del virus) altamente empaquetado. Además tienen una cola compuesta por una médula hueca envuelta por una vaina, una placa basal con fibras finas de la cola y fibras gruesas de anclaje.



Esquema del Fago T4



Fago T4



Esquema del Fago T4

La relación que existe entre las bacterias y los fagos que las infectan puede ser de dos tipos: Relación de tipo lítico y relación de tipo lisogénica.

**Relación Lítica:** Tiene lugar cuando los fagos infectan a la bacteria, se multiplican en su interior y la revientan o lisan liberándose nuevas partículas virales.

**Relación Lisogénica:** Tiene lugar cuando los fagos infectan a la bacteria y en lugar de lisanla inmediatamente, integran su ADN en el ADN bacteriano.

La relación que existe entre los virus de la serie T y la bacteria *E. coli* es de tipo lítico.



## CICLO LÍTICO

Las diferentes fases del ciclo, respuesta o relación de tipo Lítico son las siguientes: Adsorción, Inyección, Multiplicación Vegetativa, Maduración y Lisis.

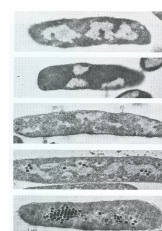
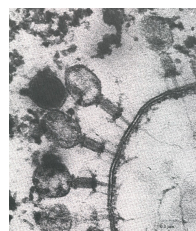
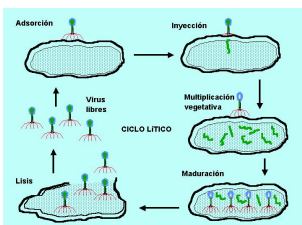
**Adsorción:** los fagos se pegan a la pared celular bacteriana mediante una reacción de reconocimiento tipo antígeno-anticuerpo, de manera que los fagos reconocen mediante las fibras de la cola los lipopolisacáridos de la pared bacteriana.

**Inyección:** El fago introduce su ADN en el interior de la bacteria.

**Multiplicación Vegetativa:** El ADN del fago se replica en el interior de la bacteria produciendo muchas copias.

**Maduración:** La información contenida en el ADN del fago se expresa y se producen las proteínas necesarias para formar la cápside, cola, fibras etc. Se ensamblan las distintas partes del virus. Al final del proceso de maduración, el ADN del virus se introduce en el interior de las cápsides apareciendo partículas virales completas en el interior de la bacteria.

**Lisis:** se produce una proteína que revienta las bacterias matándolas y liberándose nuevas partículas virales que pueden volver a infectar a otras bacterias.



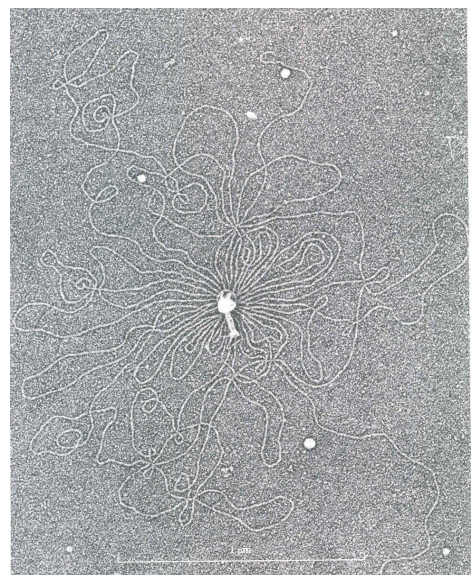
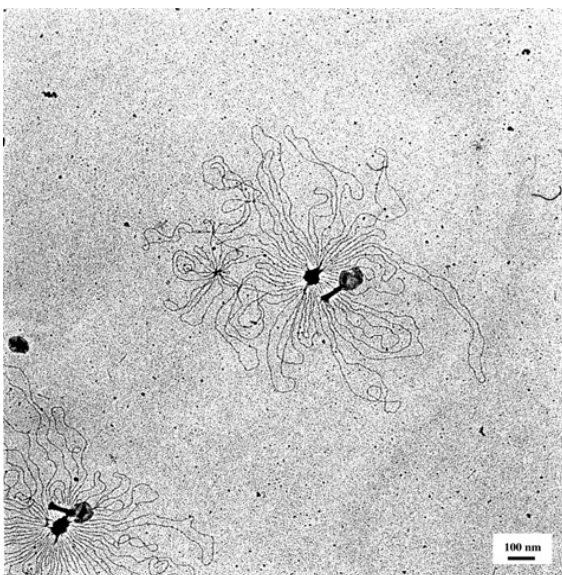
## EXPERIMENTOS CON FAGOS RADIATIVOS HERSHEY Y CHASE (1952).

El material que utilizaron Alfred Hershey y Marta Chase (1952) en sus estudios fue el virus *T4* que infecta a la bacteria *E. coli*. Dicho virus mantiene una relación de tipo lítico con esta bacteria.

Los virus de la serie T, como el *T4* cuando se aíslan y se someten a un choque osmótico pueden reventarse liberándose el ADN que estaba en el interior de su cápside.

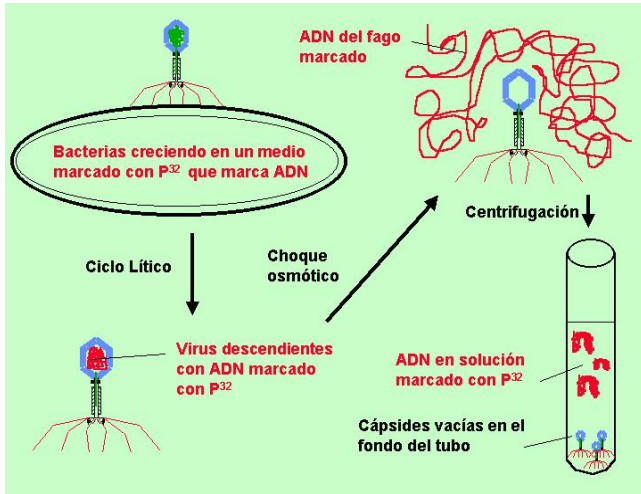
Hershey y Chase pensaron en alguna forma para marcar los virus *T4* solamente en su ADN y solamente en sus proteínas, se dieron cuenta de que el azufre (S) forma parte solamente de las proteínas pero no del ADN, y que el Fósforo (P) forma parte solamente del ADN pero no de las proteínas. Por tanto decidieron obtener dos colecciones de fagos diferentes, una colección de fagos *T4* marcados solamente en su ADN con Fósforo radiactivo ( $P^{32}$ ) y otra colección de fagos *T4* marcados solamente en sus proteínas con Azufre radiactivo ( $S^{35}$ ). Para conseguir este tipo de fagos *T4* llevaron a cabo dos experimentos, en uno de ellos infectaron bacterias de *E. coli* que crecían en un medio que con tenía  $P^{32}$ , los virus descendientes de la infección tenían marcado su ADN con  $P^{32}$ ; en el otro experimento infectaron bacterias de *E. coli* que crecían en un medio con  $S^{35}$ , los virus descendientes de la infección tenían marcadas sus proteínas con  $S^{35}$ .

Para comprobar que habían marcado correctamente los virus *T4*, unos solamente en el ADN y otra colección solamente en las proteínas, aislaron parte de los virus descendientes de las infecciones los sometieron a choque osmótico y centrifugaron en condiciones tales que las cápsides de los virus eran más pesadas y se iban al fondo del tubo después de la centrifugación, mientras que el ADN que había salido fuera de las cápsides, como consecuencia del choque osmótico, se quedaba en solución al finalizar la centrifugación. Cuando el experimento se hacía con virus marcados en su ADN con  $P^{32}$  el marcaje aparecía en solución y no en el fondo del tubo, mientras que si el experimento se realizaba con fagos marcados en sus proteínas con  $S^{35}$  el marcaje aparecía en el fondo del tubo donde estaban las cápsides y no en solución.



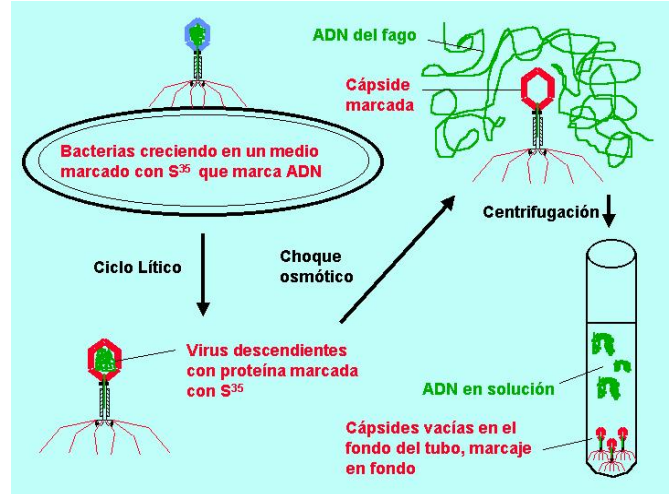


## Fago reventado por choque osmótico



Obtención fagos *T4* marcados en ADN

## Fago reventado por choque osmótico

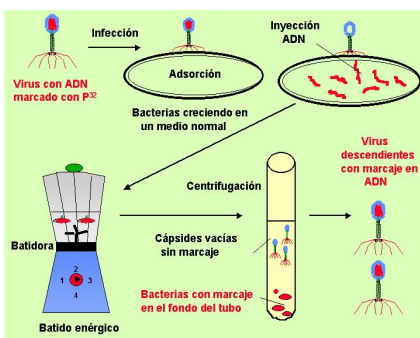


Obtención fagos *T4* marcados en proteínas

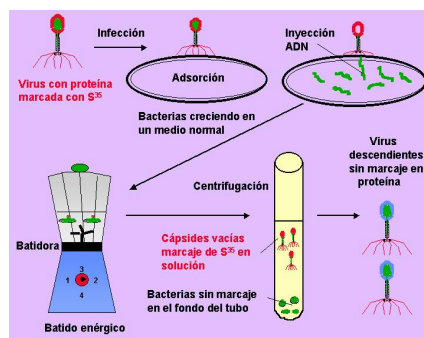
Una vez conseguidos los virus que tenían marcado solamente su ADN con  $P^{32}$  y los fagos *T4* que tenían marcadas solamente sus proteínas con  $S^{35}$ , prepararon dos nuevos experimentos.

En primer lugar, infectaron bacterias de *E. coli* que crecían en un medio normal con los fagos *T4* marcados en su ADN con  $P^{32}$  e inmediatamente después de la infección agitaron violentamente la mezcla en una batidora, de esta manera trataban de separar las bacterias de los fagos. Posteriormente centrifugaban de forma que las bacterias al ser más grandes y pesadas se depositaban en el fondo del tubo, mientras que las cápsides de los virus más pequeñas quedaban en solución. Después de centrifugar observaron que el marcaje correspondiente al  $P^{32}$  aparecía en el fondo del tubo donde estaban las bacterias, mientras que en la solución, donde estaban las cápsides de los fagos, no aparecía marcaje debido al  $P^{32}$  (Figura A). Algunos de los virus descendientes de esta infección tenían marcado su ADN con  $P^{32}$ .

El segundo experimento consistió en infectar bacterias que crecían en un medio normal con fagos marcados en sus proteínas con  $S^{35}$ , agitar inmediatamente después de forma brusca en una batidora la mezcla y centrifugar. En este caso, la mayor parte del marcaje (80%) correspondiente al  $S^{35}$  estaba en la solución, donde se encontraban las cápsides; mientras que en el fondo del tubo, lugar en el que estaban las bacterias, había muy poco marcaje debido al  $S^{35}$  de las proteínas (Figura B). Los virus descendientes de esta infección no tenían marcadas sus cápsides con  $S^{35}$ .



Infección con fagos *T4* marcados en ADN



Infección con fagos *T4* marcados en proteínas



De izquierda a derecha Marta

**Conclusiones de Hershey y Chase:** Prácticamente lo único que entra en las bacterias después de la infección por el fago *T4* es el ADN del fago, por dicho motivo, cuando se infecta con virus *T4* marcados en su ADN el marcaje aparece en el fondo del tubo donde están las bacterias y no en la solución. Además en este caso, los virus descendientes están marcados en su ADN, lo que indica que el único nexo de unión entre dos generaciones de fago *T4* es el ADN. Sin embargo, cuando se infecta con virus marcados en las proteínas, se detecta muy poco marcaje en el fondo del tubo, donde están las bacterias, estando la mayoría del marcaje en la solución, lugar en que se localizan las cápsides proteicas de los virus y no se observan virus descendientes marcados en sus proteínas. Por consiguiente, la molécula portadora de la información en los virus *T4* es el ADN y no las proteínas.

A pesar de que el experimento de Hershey y Chase (1952) no fue tan limpio como el de Avery, McLeod y McCarthy (1944), ya que existía un 20% de marcaje de proteínas que aparecía en el fondo del tubo cuando se infecta con fagos *T4* marcados con  $S^{35}$ , la comunidad científica si admitió en este momento que el material hereditario era el ADN y no las proteínas.

Este pequeño porcentaje de marcaje debido a proteínas que aparece en el fondo del tubo, se debe a que cuando los fagos de la *serie T* infectan a *E. coli*, como parte natural del proceso de infección, además de inyectar su ADN en el interior de la bacteria entran proteínas virales. Para evitar este problema en los experimentos, se puede mediante tratamiento con detergentes destruir la pared bacteriana (conseguir un protoplasto) y seguidamente añadir solamente ADN del virus *T4* sin cápside al medio. En estas condiciones el ADN de *T4* sin cápside puede penetrar en el interior de la bacteria y realizar un ciclo lítico completo, apareciendo fagos descendientes completos con sus cápsides y su ADN empaquetado en el interior, lo que significa que en el ADN reside la información para producir todas las proteínas del virus.

**Conclusión:** EL ADN es el material hereditario (la molécula portadora de la información) en el fago *T4*.

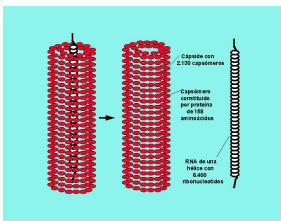
Alfred Hersey recibió el Premio Nobel por sus trabajos con fagos en 1969 junto con Max Delbrück y Salvador Luria.



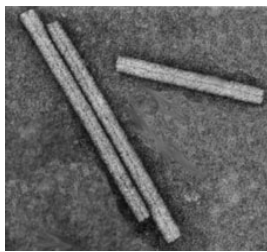
## **CARACTERÍSTICAS DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL TABACO (TMV)**

El virus del mosaico del tabaco (TMV) infecta a las plantas del Tabaco produciendo manchas necróticas en las hojas y pérdidas muy importantes en las cosechas. El TMV tiene una cápside cilíndrica formada por 2.130 capsómeros, siendo todos los capsómeros idénticos y estando constituidos por un polipéptido de 158 aminoácidos de longitud. Dichos capsómeros están dispuestos helicoidalmente dejando en el centro de la cápside un hueco donde se aloja el ARN de 6.400 ribonucleótidos de longitud y de una sola hélice de este virus.

En este virus se han desarrollado técnicas de reconstrucción de virus que permiten separar el ARN de la cápside y posteriormente volver a reconstruir el virus uniendo las cápsides con el ARN.



Esquema TMV



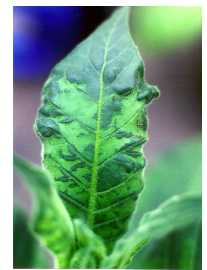
Tres virus TMV



Planta de tabaco sana



Planta infectada



Hoja infectada



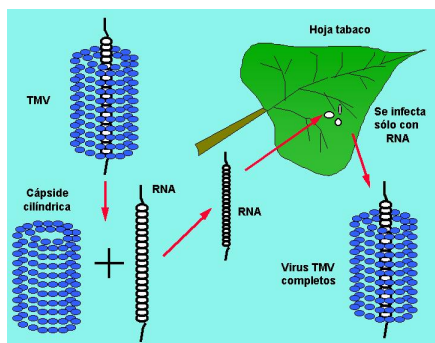
## EXPERIMENTOS QUE DEMUESTRAN QUE EL ARN ES EL MATERIAL HEREDITARIO EN EL VIRUS DEL MOSAICO DEL TABACO (TMV)

Fraenkel-Conrat y Williams (1955) demostraron que después de separar la cápside y el ARN del virus TMV era posible volver a reconstruir el virus con capacidad infectiva.

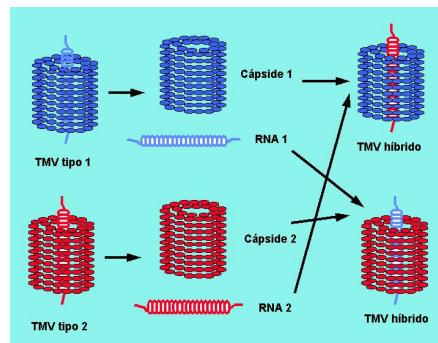
Fraenkel-Conrat y Singer (1957) comprobaron que era posible separar el ARN y la cápside de dos tipos de virus TMV diferentes y reconstruir virus con la cápside de un tipo y el ARN de otro tipo. Cuando estos virus híbridos con cápside de un tipo (tipo 1) y ARN de otro tipo (tipo 2) se utilizaban para infectar hojas de tabaco, los virus descendientes de la infección mostraban siempre un tipo de cápside (tipo 2) coincidente con el tipo de ARN (tipo 2) utilizado en la infección.

Fraenkel-Conrat y colaboradores (1957) y Gierer y Schramm (1956) comprobaron que al infectar plantas de tabaco solamente con el ARN aislado de partículas del virus TMV, se provocaban los síntomas normales de la infección y además era posible recuperar virus TMV completos a partir de las hojas de tabaco infectadas.

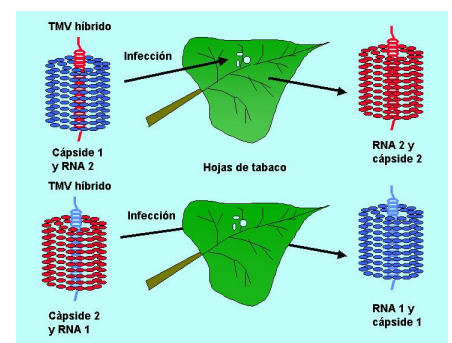
**Conclusiones de los experimentos de Fraenkel-Conrat y colaboradores:** Infectando solamente con el ARN del virus TMV es posible obtener virus TMV completos con cápside y ARN, y cuando se infecta con virus híbridos los virus descendientes poseen siempre una cápside coincidente con el tipo de ARN empleado para infectar; se deduce que la molécula portadora de la información, la que determina que aparezca la cápside del virus TMV es el ARN.



Infección de hojas de tabaco solamente con ARN de *TMV*



Reconstrucción de virus híbridos de *TMV*



Infección de hojas de tabaco con virus *TMV* híbridos

## CONCLUSIONES GENERALES

La respuesta a la pregunta que nos habíamos planteado al inicio de este capítulo ¿Qué

**molécula contiene la información genética?**, es que los ácidos nucleicos, el ADN en la mayoría de los organismos y el ARN en algunos virus, son el material hereditario y, por consiguiente, las moléculas que almacenan la información genética.

