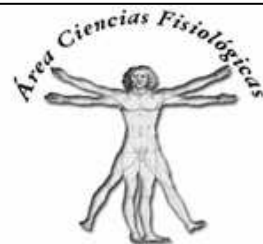




Área Ciencias Fisiológicas
Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra
Departamento de Medicina



“Ácidos Nucleicos”



Bioquímica - Reproducción Biolog.

Elaborado por:
Departamento Ciencias Fisiológicas.

Revisado por:
Lena Wu Rivas
José A. Tavárez R.
Mayo 2004.

Santiago, Rep. Dominicana
Área Ciencias Fisiológicas.
Departamento de Medicina. PUCMM

ÁCIDOS NUCLEICOS.

A. Introducción

Estructura Primaria.

En todas las células vivas hay ácidos nucleicos; en su mayoría están constituyendo las nucleoproteínas, complejos formados por proteínas básicas (protaminas e histonas) y ácidos nucleicos. Desde que Miescher aislara por vez primera una nucleoproteína, en 1869, se han puesto a prueba numerosas técnicas para separar los ácidos nucleicos de las proteínas a las que están unidas. Se sabe que no todos los ácidos nucleicos son iguales; en los tejidos constituidos por células provistas de grandes núcleos, como el Timo, predomina un tipo de ácido nucleico, llamado antes ácido timonucleico; en otras células, que tienen núcleos diminutos, como las levaduras, predomina un tipo distinto: ácido nucleico de levadura. Estos dos tipos de ácidos nucleicos se denominan hoy, atendiendo a su composición química, ácido desoxirribonucleico (ADN) y ribonucleico (ARN) respectivamente.

El ADN está fundamentalmente compuesto de fosfato, las bases púricas: adenina y guanina, las bases pirimídicas: uracilo; en lugar de la timina y el azúcar 2-desoxi-d-ribosa.

El ARN difiere del ADN por contener la base pirimídicas uracilo en lugar de la timina y el azúcar 2-desoxi-d-ribosa.

Los datos que hoy poseemos ponen de manifiesto la existencia de una fórmula química básica, común a ambos tipos de ácidos nucleicos y consistente en una cadena o esqueleto constituido por grupos alternados de fosfato de azúcar furanosa unidos por enlaces regulares 3'5'fosfodiester. Las bases púricas o pirimídicas se une a este esqueleto o cadena de azúcar – fosfato a través de enlaces Beta – N – glicósilo en la posición 1' de la ribosa o de la desoxirribosa.

A cada sub-unidad estructural, formada por una base nitrogenada y un azúcar, se le denomina nucleósido. A estos que contienen un fosfato en las posiciones 2', 3' ó 5' se les llama nucleótidos (el número seguido del signo (') indica la posición en la base. A los compuestos formados por asociación de dos o más nucleótidos, constituyendo pequeñas moléculas, se les denomina oligonucleótidos.

Estructura Secundaria.

Los diversos estudios fisicoquímicos del ADN en solución acuosa han demostrado que se trata de un polímero del elevado peso molecular (5×10 elevado a la sexta potencia) y que ofrece una configuración mas bien rígida y distendida. Entra las consecuencias de su elevado peso molecular de la rigidez de sus moléculas destaca la elevada viscosidad de las soluciones acuosas de ADN. Solución con 10 – 4 g/ml de ADN, es dos veces más viscosa que el agua. Otra consecuencia de las citadas propiedades de la

molécula de ADN es la gran finalidad con que las fuerzas de fricción (agitación a gran velocidad, paso a través de una pipeta o jeringa) reducen su peso molecular por rotura de su cadena. Es prácticamente imposible obtener a partir de material biológico ADN sin que tenga cierto grado de fricción, por lo que es muy probable que los pesos moleculares del ADN aislado (5 -10 a la sexta potencia) tengan poco que ver con el tamaño de la molécula del ADN en Vitro.

El ADN fibroso aislado tiene un modelo de difracción de rayos X muy neto, indicio experimental directo de una estructura secundaria muy regular. Watson y Crack propusieron en 1953 una estructura secundaria del ADN, que dedujeron de éstos modelos de difracción de rayos X, y que estaban de acuerdo con las observaciones de Chargaff (4), mostrando que ciertos pares de base de ADN, se presentan en cantidades equimoleculares. Esta estructura de Watson y Crack está constituida por dos cadenas de ADN que se enrollan helicoidalmente en torno a un eje central común, originando una molécula de cadena doble y de unos 20 Angstrom de diámetro. Las cadenas de azúcar-fosfato están situadas en la parte externa de estas hélices orientadas con dirección de enrollamiento a la derecha; las bases púricas y pirimídicas se encuentran enlazadas por puentes de hidrógeno, en la parte interna de las citadas hélices, con los planos de sus anillos orientados perpendicularmente al eje central. Sólo se tolera el apareamiento de bases entre la adenina y la timina o entre la guanina y citosina.

Nucleoproteínas.

Como se dijo anteriormente, los ácidos nucleicos se encuentran conjugados con proteínas. Las nucleoproteínas pueden degradarse el ADN y ARN en sus componentes.

B. Objetivos

1. Estudiar los ácidos nucleicos: clasificación, diferencias estructurales y funcionales, localización y sus componentes.
2. Analizar la importancia de la homogenización de las levaduras, pruebas de Bial, Biuret y de identificación de fosfatos y bases nitrogenadas en el reconocimiento de los componentes que forman los ácidos nucleicos.

C. Procedimiento

1. Suspensa 15 grs de levadura en 125 ml de NaOH 0.04 M y homogenice con licuador por 5 minutos. Transfiera el contenido a un matraz Erlenmeyer y caliente en un baño de María por 20 minutos. Luego debe centrifugar por 3 minutos y tomar el sobrenadante el cual llevará a un beaker (250ml) donde le agregarán gotas de ácido acético glacial hasta que el medio este ácido.

2. Tome la muestra y agregue 100mL de una solución de HCl/Etanol 95% (1:99). Proceda a centrifugar por 3 minutos. Tome precipitado y lave con Etanol 95%. Centrifugue nuevamente, tomando luego el precipitado.

- Tome una muestra del precipitado y haga la prueba de Biuret.

3. A cada tubo de ensayo con el precipitado restante de la muestra agregue 3mL de H_2SO_4 3N y lleve a baño de maría durante 3 minutos. Hecho esto realice las siguientes pruebas:

A. Identificación de la Ribosa.

Tome 4 tubos de ensayo y agregue lo siguiente en cada uno:

TUBOS	SUSTRATO	REACTIVO DE BIAL	HCl Concentrado
1	1mL H_2O destilada	1 mL	2.5 mL
2	1mL Ribosa 1mg/mL	1 mL	2.5 mL
3	1mL Ribosa 0.1mg/mL	1 mL	2.5 mL
4	1mL Precipitado	1 mL	2.5 mL

Lleve al calor por 5 minutos o hasta que observe un cambio de color

El reactivo de Bial está compuesto por iones férricos, etanol y orcinol. Consiste en la formación de un producto de color azul entre el furfural y el orcinol en medio clorhídrico. Es específico de pentosas.

B. Identificación Base Nitrogenada.

Agregue gotas de Hidróxido de amonio (NH_4OH) concentrado hasta obtener un medio básico y algunas gotas de Nitrato de Plata 0.1 M a una pequeña cantidad del precipitado obtenido que ha sido colocado en un tubo de ensayo. Observe.

C. Identificación de Fosfatos.

Agregue un poco del precipitado en un tubo de ensayo y añada Hidróxido de Amonio (NH_4OH) concentrado hasta obtener un medio básico, acidifique con algunas gotas de HNO_3 y agregue Molibdato de Amonio (1mL). Observe.