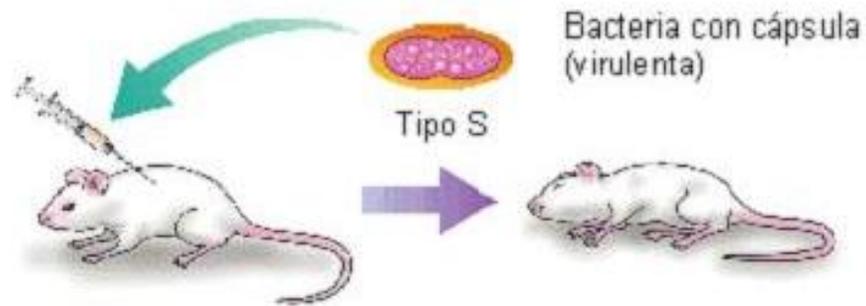


Historia del ADN

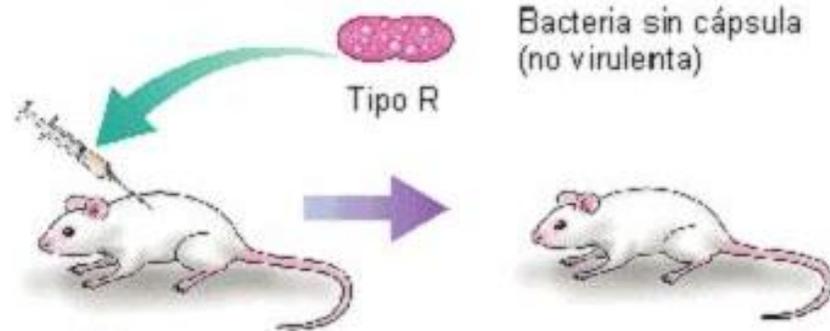
Factor de transformación

- ▶ En el año 1928 Frederick Griffith investigando una enfermedad infecciosa mortal, la neumonía, estudió las diferencias entre una cepa de la bacteria *Streptococcus pneumoniae* que producía la enfermedad y otra que no la causaba.
- ▶ La cepa que causaba la enfermedad estaba rodeada de una cápsula (cepa S, del inglés smooth, o sea lisa, que es el aspecto de la colonia en las placas de Petri).
- ▶ La otra cepa (la R, de rugosa, que es el aspecto de la colonia en la placa de Petri) no tiene cápsula y no causa neumonía.
- ▶ Griffith inyectó las diferentes cepas de la bacteria en ratones.
- ▶ La cepa S mataba a los ratones mientras que la cepa R no lo hacía.
- ▶ Mató utilizando calor bacterias de la cepa S y observó que no causaba neumonía cuando se la inyectaba.
- ▶ Cuando combinaba la cepa S muerta por calentamiento, con la cepa R viva e inyectaba la mezcla a los ratones, los ratones contraían la neumonía y morían.
- ▶ Las bacterias que se aislaban de los ratones muertos poseían cápsula y, cuando se las inyectaba, mataban otros ratones.
- ▶ Frederick Griffith fue capaz de inducir la transformación de una cepa no patogénica *Streptococcus pneumoniae* en patogénica. Griffith postuló la existencia de un factor de transformación como responsable de este fenómeno.

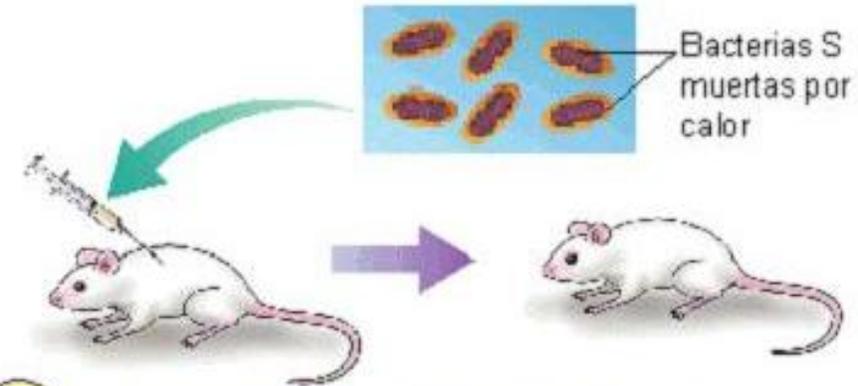
Experimento de Griffith



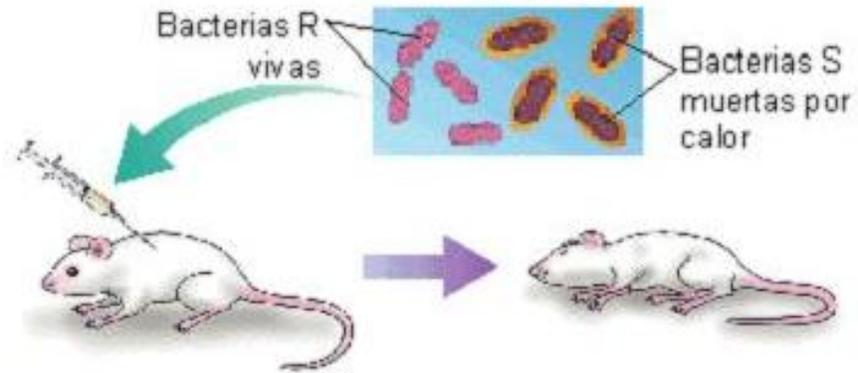
1 De los ratones muertos se extraen bacterias vivas de la cepa S



3 De los ratones inoculados no se extraen bacterias vivas, pues no crecen en el animal.



2 De los ratones inoculados no se extraen bacterias vivas



4 De los ratones muertos se extraen bacterias vivas de la cepa S

¿Qué es el factor de transformación?

- ▶ En 1944, Oswald Avery, Colin McLeod y Maclyn McCarty trataron de **identificar el factor de transformación (FT)**, que debía encontrarse en los neumococos S muertos por el calor.
 - Trataron los pneumococos S muertos por calentamiento con detergente para obtener un **lisado celular** (un extracto libre de células que contenía el FT). Este lisado contiene (entre otras cosas) el polisacárido de la superficie celular, las proteínas, el ARN y el ADN de los neumococos S.
 - Sometieron al lisado a diversos **tratamientos enzimáticos**
 - Inyectaron en ratones los neumococos de tipo R vivos junto con una fracción del lisado modificada enzimáticamente

Oswald Avery

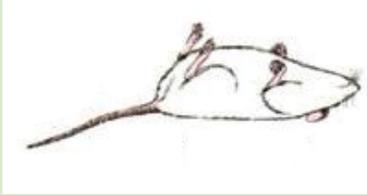
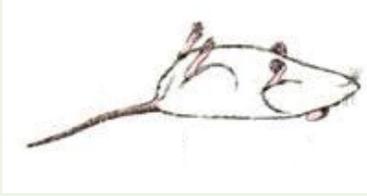
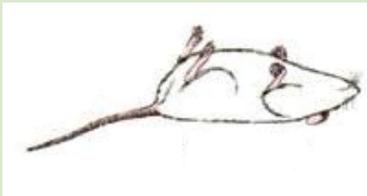
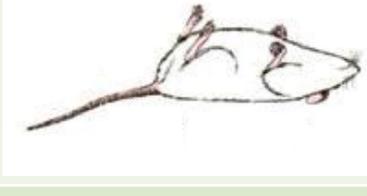
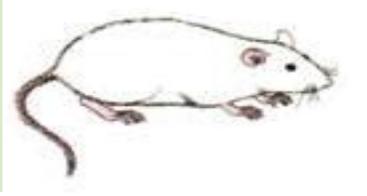


Colin McLeod



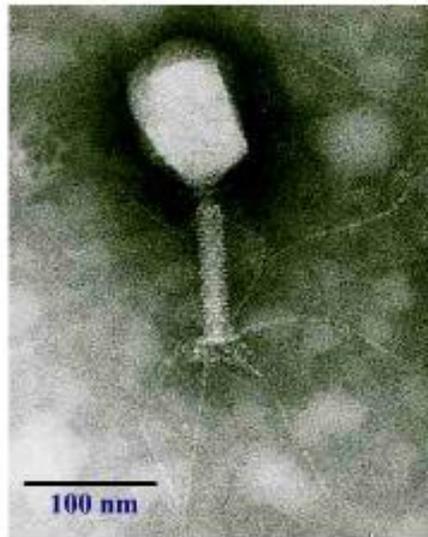
Maclyn McCarty



Tratamiento realizado sobre el lisado	Resultado	Conclusión
Ninguno		El FT está presente en el lisado
Se añadió la enzima SIII, que degrada la cápsula de polisacárido		El FT no era el polisacárido que estaba presente en el lisado
Se añadieron al lisado anterior (con el polisacárido degradado) las enzimas proteolíticas tripsina y quimiotripsina		El FT no era una proteína. Debía ser un ácido nucleico (ARN o ADN)
Se extrajeron los ácidos nucleicos del lisado anterior y se añadió la enzima ARNasa (que degrada el ARN)		El FT no era el ARN
Al extracto de ácidos nucleicos anterior se le añadió la enzima ADNasa (que degrada el ADN)		FT = ADN

Material genético, ¿ADN o proteínas?

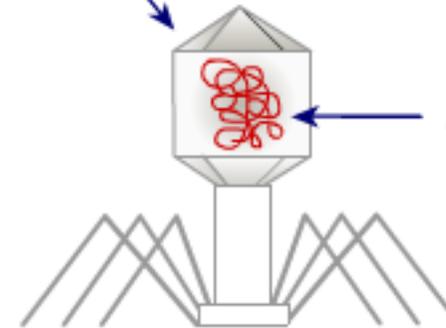
- ▶ En 1952 Alfred Hershey y Martha Chase, pertenecientes al grupo de biólogos del Cold Spring Harbor Laboratory, estudiaron la genética de los bacteriófagos, un bacteriófago o fago, es un virus que específicamente ataca e infecta una bacteria.



Bacteriofago T4

Un fago tenía una capa externa de proteína y un núcleo interno de ADN.

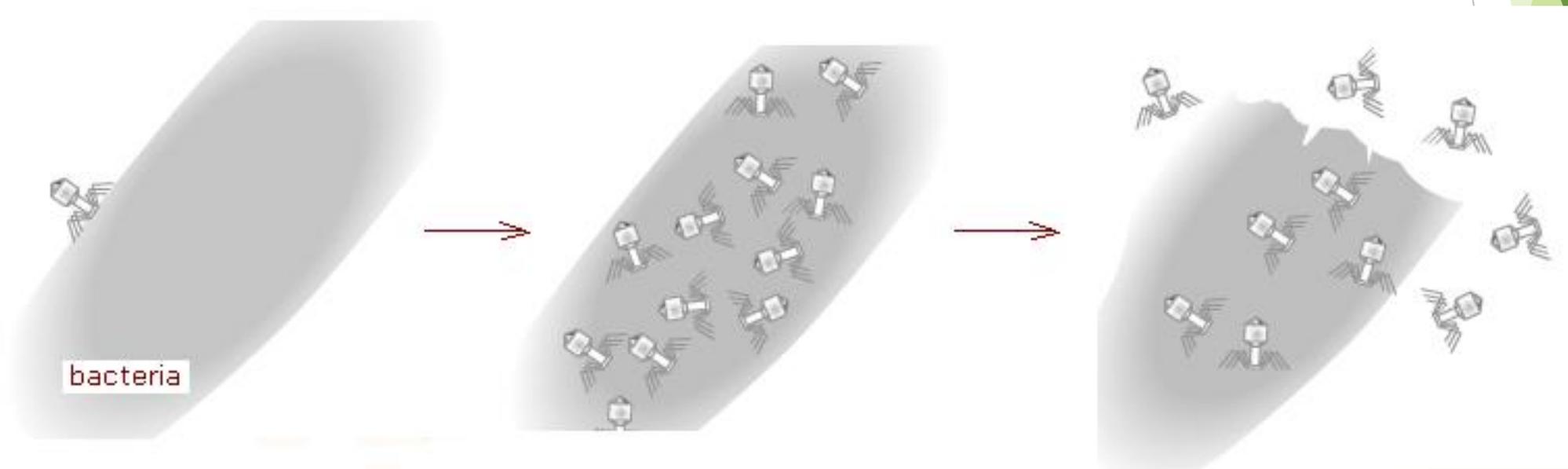
Capa externa de proteína



ADN

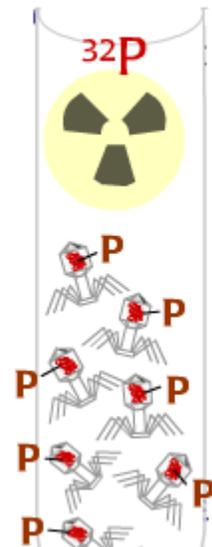
Fago

- ▶ El virus utiliza a la bacteria para reproducirse, de las observaciones con el microscopio electrónico, ellos conocían que durante la infección el virus ataca a la bacteria por sus colas, se pensaba que los genes eran introducidos en la bacteria anfitrión, los cuales eran dirigidos a las enzimas de la bacteria para replicar al virus.
- ▶ El siguiente dibujo nos muestra en forma muy esquemática los pasos en la reproducción del virus dentro de la bacteria y su ruptura con la distribución de nuevos virus.



- ▶ Lo que se trataba de determinar la causa de la transformación de la bacteria en una factoría de fagos, como lo sugería el trabajo de Avery, el ADN del fago era un principio transformador.
- ▶ De análisis previos se conocía que el ADN contiene átomos de fósforo P pero no azufre S, por otro lado las proteínas del virus contenían átomos de azufre pero no átomos de fósforo.
- ▶ Se utilizó átomos radiactivos de fósforo ^{32}P y azufre ^{35}S para marcar selectivamente el ADN y la proteína del virus y al realizar la experiencia se quería saber que componente entraba en la infección de la bacteria.

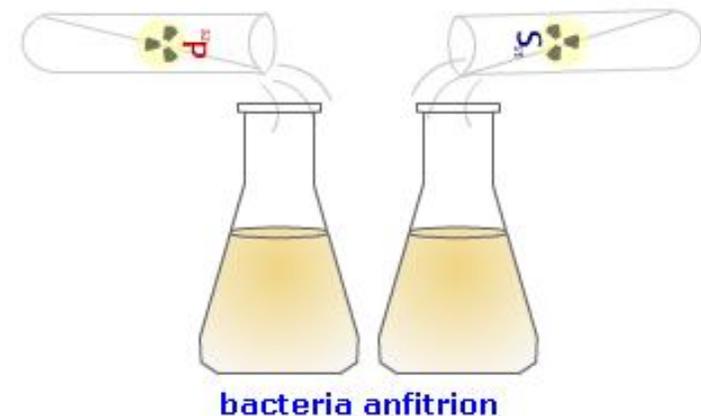
fosforo radiactivo en el ADN del virus



azufre radiactivo en la proteína del virus



- ▶ En dos experimentos paralelos, se combino a los virus marcados con los átomos radiactivos con las bacterias, se espero un tiempo suficiente para que los virus infecten a las bacterias y a este sistema se lo sometió a una licuadora.
- ▶ A continuación se sometió a las muestras a una centrifugación para separar los fagos de las bacterias, las bacterias son más grande y más pesadas que los virus, las bacterias se recogieron al fondo del tubo de ensayo, mientras que los fagos se quedaron en suspensión.
- ▶ Examinando luego las dos muestras se verificó:
 - ▶ los nuevos fagos provenientes de la bacteria infectada no contenían el azufre radiactivo, la cubierta del fago la cual esta echa de proteína no fue usada dentro de la bacteria para hacer un nuevo fago.
 - ▶ la muestra marcada con fósforo radiactivo ^{32}P , el mismo se encontraba en los nuevos fagos, por lo tanto el ADN del fago fue usado dentro de la bacteria para hacer nuevos virus.
- ▶ La cubierta del fago entrega el ADN dentro de la bacteria y es el ADN solamente el que lleva las instrucciones para replicar a los fagos dentro de la bacteria.



El ADN es el material genético.