

ALGUNOS ASPECTOS SOBRE EL PROCESAMIENTO DEL RNA

Por: G. Bedoya
L. F. Barrera *

INTRODUCCION

A partir del momento en que se identifica el DNA como material genético, aparecen una serie de interrogantes con respecto a la forma en que esta molécula produce un fenotipo determinado dentro de una especie o hace que se diferencien las especies entre sí, sabiendo que todas poseen dicho DNA como material genético. En 1941, Beadle y Tatum trabajando con el hongo *Neurospora* lanzan la hipótesis "un gen-una enzima", hipótesis que ha servido, con algunas modificaciones, para dilucidar la compleja relación entre el DNA (gen) y el fenotipo (producto final del gen), de tal forma que en los años 60s ya se tenía un esquema de la función primaria del DNA, que consistía a grandes rasgos en lo siguiente: El DNA se utiliza como molde para sintetizar un RNA, el cual sirve a su vez de molde para que se unan los aminoácidos (translación) y formen un polipéptido, que actuando como una enzima lleva a cabo una reacción bioquímica, la cual ha de conducir al fenotipo (Fig.1).

Investigaciones posteriores demostraron que este mecanismo presentaba una serie de reacciones en las que intervenían tres tipos de RNA, a los cuales se les llamó RNA ribosomal (rRNA), que forma parte de los ribosomas e interviene en la translación, RNA transportador (tRNA), interviene también en la translación y, RNA mensajero (mRNA), el cual porta el código transcrito a partir del DNA y dice cuales aminoácidos y en que orden deben de encontrarse en el polipéptido a formarse. Estas moléculas de RNA se sintetizan usando el DNA como molde. Los estudios de estas moléculas de RNA mostraron que para ser funcionales requerían de un procesamiento luego de ser transcritas. Dicho procesamiento consiste en una serie de reacciones enzimáticas que transforman el producto primario de la transcripción en una molécula de RNA funcionalmente madura. Entre las enzimas que intervienen en estas reacciones se pueden mencionar las endo y exonucleasas que alteran el tamaño de la molécula transcrita y enzimas que agregan nucleótidos al extremo 5' ó 3' de la molécula cortada por las anteriores (Fig.2)

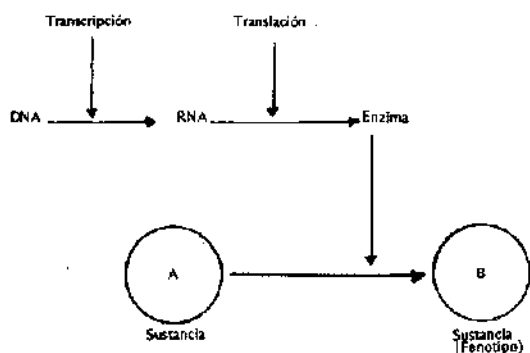


Figura 1.
En la cual se muestra la acción primaria del material genético en una forma simple, es decir, cuando el fenotipo resulta de una reacción bioquímica única, lo cual es meramente hipotético, puesto que el fenotipo generalmente es el resultado de varias reacciones bioquímicas que interactúan entre sí.

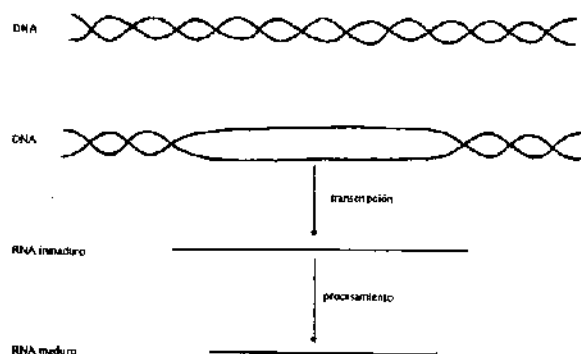


Figura 2.
En la cual se presenta un esquema simple de la transcripción (del Hn RNA (RNA heterólogo) y su procesamiento para producir una molécula de RNA funcional.

* Profesores Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Los estudios en el campo del procesamiento del RNA han avanzado de forma rapidísima en los últimos cuatro años con la utilización de las técnicas de: hibridización DNA-RNA, DNA-DNA, los métodos de secuenciamiento del DNA y la recombinación aditiva en procariotes para la manipulación génica (ingeniería genética).

PROCESAMIENTO DEL RNA EN PROCARIOTES

Procesamiento del tRNA.

El tRNA maduro presenta una forma de trébol (Fig.3) y tiene como característica importante que en procariotes (y algunos eucariotes) estudiados termina por su extremo 3' en CCA, siendo éste el que se adhiere al aminoácido; además, en las asas se encuentran algunos nucleótidos "raros" tales como 5-metil citosina (m5C), 1-metil adenosina (m1A), pseudouridina ψ y dihidrouridina (D).

Estas moléculas no se transcriben tal y como se analizan en forma madura, puesto que sufren algunas modificaciones.

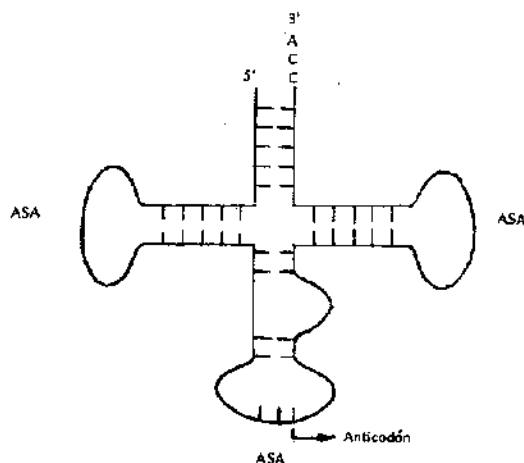


Figura 3.

La cual muestra un modelo de la molécula de tRNA con sus extremos 5' y 3', sus asas y el anticodón, este modelo se refiere a una molécula de tRNA funcional.

Muchos de los conocimientos en el procesamiento del tRNA se han realizado en el sistema del tRNA para tirosina en *Escherichia coli* (Smith, 1976). Los genes para dicho tRNA han sido secuenciados y aislados, identificándose de esta forma dos reacciones nucleotídicas para la maduración del tRNA tyr. Con el fin de llevar a cabo la identificación se aisló un tRNA tir inmaduro de una cepa mutante para enzimas de procesamiento y se encontró que dicho tRNA tyr inmaduro poseía 41 nucleótidos extras en el extremo 5' incluyendo 5' trifosfato y 5 nucleótidos extra en el extremo 3' (Fig.4) (Altman y Smith, 1971).

En el procesamiento del extremo 5' se identificó una RNAasa P (Robertson, Altman y Smith, 1979), la cual partía el RNA. Los análisis en dicha enzima (no completamente purificada) muestran que es una nucleoproteína compuesta de RNA y proteína (Guthrie, 1979), que reconoce sitios espe-

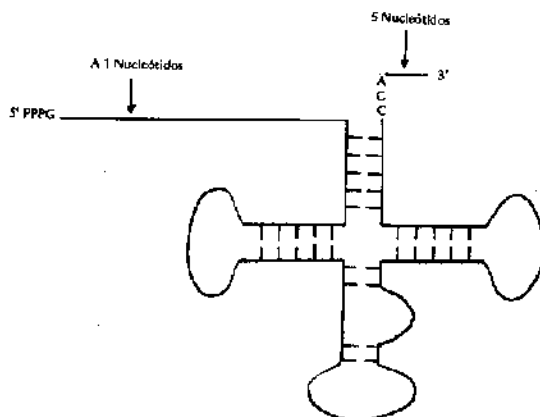


Figura 4.

La molécula de tRNA tirosina sin procesar, en el extremo 5' presenta 41 nucleótidos extra, los cuales terminan en un nucleótido de guanina con 3 fosfatos y en el extremo 3' presenta 5 nucleótidos extra. Estas secuencias extra deben ser cortadas durante el procesamiento.

cíficos para separar los nucleótidos sobrantes en el extremo 5' del tRNA y de esta forma madurar dicho sitio. Para la maduración del extremo 3' se han realizado varias experiencias; sin embargo, dicho proceso no ha sido bien caracterizado, aunque la mayoría de autores sugieren que se requieren dos tipos de reacciones, en las cuales debe actuar primero una endonucleasa y luego una exonucleasa (Bikoff y Geffer, 1975). Se ha usado, por ejemplo, un tRNA tyr inmaduro el cual contiene, además de una secuencia 5' precursora, 16 nucleótidos extra en el extremo 3' (Sekiya et al, 1979). Estos nucleótidos extra formarían una lupa con 5 pares de bases, la cual puede ser reconocida por una endonucleasa específica, permaneciendo 6 nucleótidos que pueden ser removidos por una exonucleasa. Muchos otros grupos han sugerido la acción de exonucleasa para la maduración del extremo 3' en el tRNA tyr (Bikoff, Shimura y Schedl, 1979) pero la enzima no ha sido aún bien identificada. Una fuerte candidata para realizar dicha acción es la RNAasa D (Ghosh y Deutscher, 1979) la cual retira nucleótidos que previamente se han agregado "in vitro" al extremo 3' de un tRNA; por ejemplo, residuos de citidina marcados y agregados por medio de la nucleotidil transferasa de conejo.

Por último, se tienen evidencias de que la RNAasa P interviene en el procesamiento de otros tRNA diferentes al de tirosina y de esta forma en cepas que tienen mutaciones para dicha enzima se han aislado más de 30 tRNA precursores, cuyo análisis y caracterización en geles de poliácridamida ha mostrado que algunos se transcriben en forma monomérica, como el tRNA tyr, pero otros contienen dos, tres y hasta cinco secuencias de tRNAs diferentes, por ejemplo, un precursor contiene tRNA met, tRNA gln y un tercer tRNA no identificado (Ikemura y Shimura, 1975).

Procesamiento del rRNA.

El rRNA en procariotes consta de tres tipos de moléculas con densidades de 23S, 16S y 5S respectivamente.

Muchos de los conocimientos que se tienen actualmente en este campo se han obtenido en la bacteria *E. coli* en la cual existen siete unidades que transcriben para rRNA y se encuentran dispersas en el genoma. Contienen una subunidad para 16S rRNA, 23S rRNA y 5S rRNA; además, uno o más tRNAs (Nomura, Morgan y Jaskunas, 1977). Los cistrones para los tRNAs están localizados ya sea en la región espaciadora entre 16S y 23S o hacia la región 3' terminal de estos y más allá de 5S. Tres de las siete unidades contienen tRNA ala y tRNA ileu en la región espaciadora 16S y 23S (Fig.5), mientras que cuatro de ellos contienen sólo tRNA glu en dicha región, en una unidad aparece tRNA trip y tRNA asp en el extremo 3':

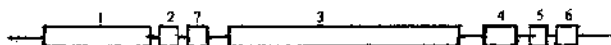


Figura 5.

En esta figura se representa un esquema de la unidad transcripcional del rRNA en *E. coli*, en la cual el No. 1 representa el rRNA 16S, el No.2 el tRNA de isoleucina, el No. 7 el tRNA de alanina, el No. 3 el rRNA 23S, el No. el rRNA 5S, el No.5 el tRNA de aspártico, el No. 6 el tRNA de triptofano. Esta unidad se transcribe completa y luego sufre procesamiento.

Los operones para rRNA han sido aislados, ya sea usando transducción por fagos o por los métodos de recombinación de DNA y además se han secuenciado.

Ordinariamente el rRNA sufre un procesamiento acoplado a la transcripción; sin embargo, en una cepa mutante para RNAasa III se han aislado moléculas 30S rRNA precursoras, las cuales se han usado como sustrato para el análisis del procesamiento del rRNA; utilizando esta molécula para algunos experimentos se ha ideado un modelo para la maduración del 16S rRNA y 23S rRNA. Por ejemplo, cuando se tratan moléculas 30S con RNAasa III se producen precursores 16S, 23S y 5S los cuales han sido llamados P16SIII, P23SIII y P5SIII, así como fragmentos que contienen tRNAs. Estos precursores son iguales a los que han sido aislados de bacterias a las cuales se les ha dado un pulso de isótopo radioactivo, haciéndose de esta forma experimentos con enzimas tRNAasas para analizar la maduración del P16SIII y se ha encontrado que dicho precursor forma una doble cadena de RNA originando una asa o lupa, cuyo tallo es el sustrato para enzimas tales como RNAasa III, RNAasa P y RNA asa M16 (Fig.6).

Lo mismo ocurre para la maduración del P23SIII, pero la enzima que parte el tallo aún no ha sido identificada.

En cuanto a la maduración del 5S rRNA se tienen evidencias que se transcribe unido al rRNA 23S y una RNAasa E es la responsable de llevar a cabo su maduración (Ghora y Apirion, 1979).

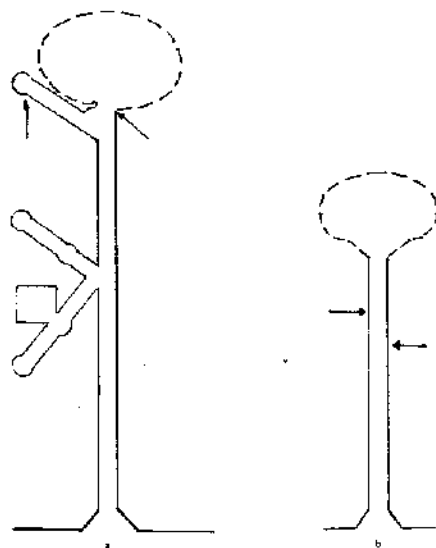


Figura 6.

Esta figura representa los rRNAs 16S (a) y 23S (b), sin procesar, las flechas indican los lugares de corte por las nucleasas y las líneas punteadas representan las moléculas maduras.

PROCESAMIENTO DEL RNA EN EUCARIOTES

Introducción.

En los eucariotes se ha descubierto que no se da colinearidad entre los genes y el RNA transcrito; es decir, al hacer hibridización DNA-RNA se observa que el RNA maduro es más corto que el DNA copia. Lo anterior se debe a que en una unidad transcripcional se presentan secuencias intermedias, "intrones" los cuales no aparecen en el RNA maduro, puesto que este consta de secuencias llamadas "exones" las cuales van a ser las funcionales Gilbert, 1978; Tonegawa et al, 1979; Slikano et al, 1973). Los intrones, por lo tanto, deben ser partidos y retirados del RNA inmaduro y los exones unidos para formar el RNA maduro (Fig.7). A este proceso se le ha dado el nombre de "splicing" (corte y reunión) y es considerado actualmente como parte del procesamiento del RNA en eucariotes. Esta forma de procesamiento se ha encontrado en los tres tipos de RNA (tRNA, rRNA y mRNA) estudiados hasta la fecha.

Procesamiento del tRNA.

Cada célula eucariótica contiene alrededor de 100 especies de tRNA cuyas cadenas oscilan entre 73 y 93 nucleótidos (Sprinzl et al, 1980).

Existen muchas evidencias que muestran la organización de los genes tRNA en eucariotes y la cual depende del tipo de organismo. Por ejemplo, pueden ser monoméricos (de transcripción simple) o estar formando grupos como en *Drosophila melanogaster* en la cual se presenta un grupo de ocho genes tRNA (Hoveman et al, 1980), de los cuales hay un tRNA arg, tres tRNA asp, un tRNA ileu y tres tRNA lys; también se pueden presentar transcripciones diméricas, por ejemplo; *Shizosacharomyces pombe*.

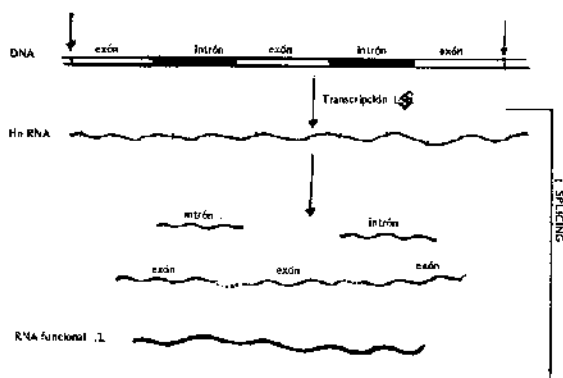


Figura 7.
La figura representa un esquema de una unidad transcripcional en eucariotes con sus "exones" e "intrones" y su procesamiento "splicing" para producir un RNA funcional.

Dentro de los tRNA inmaduros se han localizado intrones, por ejemplo, en el tRNA tyr de levadura (Goodman et al, 1977), tRNA tyr de *Neurospora* (Selker et al, 1980).

Utilizando cepas mutantes sensibles a la temperatura se han aislado tRNAs precursores por ejemplo, en levadura (Hoper et al. 1979). Se ha encontrado que el tRNA en eucariotes posee una secuencia extra en el extremo 5' a la cual se le ha dado el nombre de "líder", una secuencia intermedia "intrón" y una secuencia extra en el extremo 3' "trailer"; además las bases raras no han sido modificadas en el tRNA precursor y no aparece la secuencia CCA en el extremo 3'. De esta forma, la maduración del tRNA en eucariotes requiere los siguientes pasos:

- 1) Retirar la secuencia líder para madurar el extremo 5'
- 2) Retirar el "trailer".
- 3) Retirar la secuencia intermedia "intrón" por medio de "splicing".
- 4) Agregar CCA al extremo 3' por medio de la ribosil transferasa.
5. Modificar nucleótidos para dar las bases raras.

Estos procesos presentan un orden específico y algunos se llevan a cabo en el núcleo y otros se pueden hacerse tanto en el núcleo como en el citoplasma (Melton, De Robertis y Cortese, 1980).

Un ejemplo en el procesamiento del tRNA en eucariotes es proporcionado por el tRNA de los hongos *S. pombe* y *S. cerevisiae*, estudiado por Schmidt y Soll (1979).

El estudio llevado a cabo mostró que los tRNA precursores eran de mayor tamaño que los tRNA maduros. Como se muestra en la figura 8, las secuencias laterales son subsecuentemente removidas por la acción de nucleasas específicas, las cuales pueden reconocer estructuras parecidas a tRNA en los tRNA precursores.

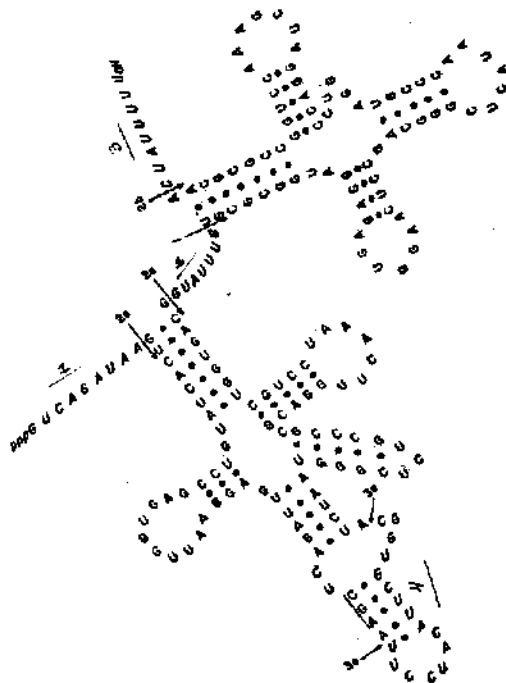


Figura 8.
Se representa la secuencia de un tRNA precursor de *Shizosaccharomyces pombe* obtenido a partir de la transcripción de un gen integrado en el plásmido pYM118. En esta molécula aparecen las secuencias para el tRNA serina y tRNA metionina, además, secuencias que deben ser escindidas durante la maduración de dichos tRNAs; ellas son: la líder (1), la espaciadora (2), el "trailer" (3), el "intrón" (4). Las flechas indican los lugares donde se deben llevar a cabo los cortes para la maduración.

Las secuencias intermedias son removidas al nivel del tRNA por la enzima ligadora. Esta enzima posee dos actividades, posiblemente en proteínas separadas: primero la secuencia intermedia es partida específicamente y entonces las dos moléculas de tRNA son religadas.

La transcripción exitosa de los genes de tRNA en extractos nucleares de *Xenopus* ha provisto una fuente de precursores definidos. Los resultados en este sistema mostraron que el extracto nuclear de *Xenopus* contenía todas las enzimas necesarias para el procesamiento exacto de los tRNA precursores, incluyendo aquellos requeridos para la remoción de secuencias intermedias. Un fragmento de DNA de *S. pombe* lleva un gen para tRNA ser y tRNA met. Este RNA precursor tiene 191 nucleótidos con una secuencia intermedia de 16 nucleótidos, seguida de un espaciador de siete nucleótidos. Restos nucleotídicos adicionales en la forma de una secuencia "líder" (nueve nucleótidos) y una secuencia "trailer" fueron encontrados flanqueando la configuración dimérica de tRNA. El primer paso en el procesamiento del transcripto primario es un clivaje por endonucleasa en el extremo 3' del espaciador. Este clivaje genera el extremo 5' maduro del tRNA met y un tRNA ser precursor que contiene la secuencia intermedia, la secuencia "líder" y el espaciador. Las reacciones restantes del proceso se presentan inde-

pendientemente para los dos tRNA e incluyen la remoción de la secuencia intermedia del tRNA ser precursor como paso final.

Procesamiento del rRNA.

Se espera que el procesamiento del rRNA en eucariotes también presente el mecanismo de "splicing" puesto que se han identificado "intrones" en 28S rRNA de *Drosophila melanogaster* (White y Hogness, 1977), 21S del rRNA mitocondrial en *S. cerevisiae* (Bos, Heyting y Borst, 1979) y rRNA de cloroplastos en *Chlamydomonas reinhardtii* (Rochaix y Malnue, 1978).

Procesamiento del mRNA.

Inicialmente las secuencias intermedias "intrones" fueron descubiertas al hacer hibridización del mRNA y el DNA copia pues se observaron lupas al microscopio electrónico formadas por el DNA en aquellos lugares donde habían sido escindidos los intrones (Fig.9). Luego del análisis por medio de secuenciamiento de diferentes cistrones se encontró que aparecían intrones en muchos de ellos, por ejemplo en el de globina (Konkel, Tilgiman, 1978), inmunoglobulina (Bernard, Hozumi y Tonegawa, 1978), albúmina (Catterall et al, 1978), etc..

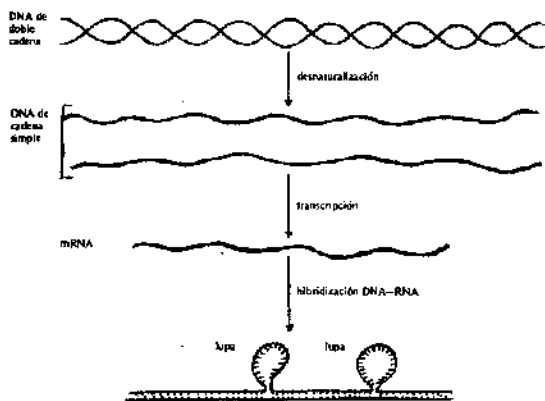


Figura 9. Esquema de la hibridización del DNA copia con el RNA mensajero. Las lupas representan los lugares donde fueron escindidos los "intrones".

El número de "intrones" en un cistron puede variar desde uno hasta siete y como existen evidencias de que dichas secuencias son transcritas, es necesario que el RNA inmaduro sufra "splicing" para producir mRNA.

El "splicing" debe ser un mecanismo extremadamente preciso para que no se corte ni más ni menos del RNA necesario en la codificación de la proteína, puesto que si sobran o faltan nucleótidos en un mRNA cambiaría la proteína, lo cual sería fatal para su funcionamiento. Para dicho procesamiento se han propuesto varios mecanismos:

- 1) Podría existir una secuencia específica la cual sería reconocida por una proteína cortadora.
- 2) Podría darse una hibridización intramolecular del RNA, la cual proveería una señal para la proteína cortadora.
- 3) Por último, si se diera una hibridización intermolecular del RNA, esto podría proveer una señal de corte.

Los dos primeros mecanismos no aportaron evidencias a favor y en cambio si muchas en contra (Catterall et al. 1978; Breathneck et al, 1978), por lo tanto, se ha propuesto la tercera teoría para el procesamiento del mRNA (Murray y Holliday, 1979).

En el modelo se asume lo siguiente:

- 1) El precursor del mRNA hnRNA (RNA heterólogo) tiene una vida media de 20 a 30 minutos (Davidson Britten, 1973).
- 2) El mRNA es más corto y de 5-10 veces menos complejo que el hn RNA (Lewin, 1975; Perry y otros, 1976).
- 3) La transcripción primaria del hn RNA contiene los exones e intrones y es una copia colinear del DNA transcrito.

En las células que producen determinada proteína debe procesarse el hn RNA para formar un mRNA específico para ella. El modelo dice que en tal célula debe producirse un RNA que recibe el nombre de "partidor" (splicer RNA), el cual debe hibridizar con el hn RNA para indicar los puntos donde deben darse los cortes. La hibridización entre el hn RNA y el RNA "partidor" puede ser de 3 formas (Fig.10):

- 1) Hibridización entre el RNA "partidor" y los exones del hn RNA (Fig. 10a).
- 2) Hibridización entre el RNA "partidor" y los "intrones" del hn RNA (Fig. 10b).
- 3) Hibridización entre el RNA "partidor" tanto con "exones" como "intrones" del hnRNA (Fig. 10c).

Cualquiera de las tres posibilidades sería viable y cumpliría las exigencias estereoquímicas para que los intrones se partan y los extremos de los "exones" sean unidos.

Se han encontrado varias evidencias que le dan solidez al modelo anterior, por ejemplo en adenovirus 2, se producen muchos RNAs pequeños, llamados virus-asociados (VA) los cuales se han tomado como candidatos para ser RNA "partidores" en el procesamiento del RNA viral necesario para la formación de las proteínas del virus. Las moléculas VA han sido secuenciadas (Ohe y Weissman, 1971; Harris y Roeder, 1971). Se conocen además los "exones" e "intrones" del RNA viral necesarias para las proteínas de infección (Akusjarvi y Peterson, 1979) y se encontró que las

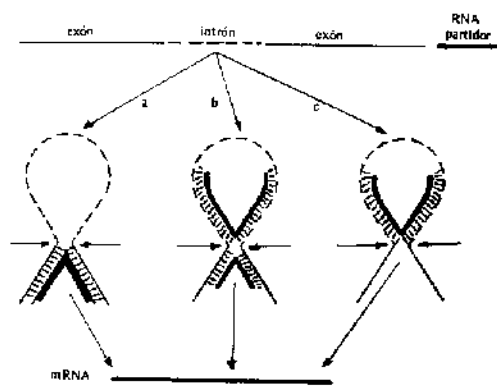


Figura 10.

Tres posibles modelos de la forma en que se lleva a cabo la hibridación entre el Hn RNA y el "RNA partidor" para llevar a cabo el procesamiento "splicing", las flechas indican los lugares donde parten las endonucleasas para retirar los intrones.

partículas VA hibridizan con el RNA viral inmaduro tanto en los "intrones" como en los "exones" (forma 3 del modelo).

Un ejemplo concreto del procesamiento del mRNA se encuentra en las inmunoglobulinas. Las inmunoglobulinas son proteínas encontradas en los organismos más evolucionados y que defienden el organismo contra enfermedades, causan el rechazo de los injertos de piel e implantaciones de órganos. Por tal motivo, dichas moléculas son denominadas anticuerpos. Además, los anticuerpos son producidos por dos tipos de células: los linfocitos B (producidos en la médula ósea) y los linfocitos T (producidos en el timo), ambos tipos conocidos generalmente como glóbulos blancos.

Las inmunoglobulinas presentan en su estructura dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas livianas (L), unidas entre sí por medio de enlaces disulfuro. Además, presentan polisacáridos, clasificándose por tanto, como glicoproteínas.

Por otra parte, se ha encontrado que los primeros 110 aminoácidos de la cadena proteica varían entre las diferentes inmunoglobulinas, mientras que el resto de la cadena permanecía relativamente constante. La primera parte constituye la región variable (V) mientras el resto conforma la región constante (C).

Las cadenas livianas (L) presentan una región constante y una región variable. Las regiones constantes pueden ser de dos tipos: kappa (κ) y lambda (λ). Las cadenas kappa y lambda se diferencian entre sí por diferencias en mutaciones puntuales que se heredan como factores mendelianos.

Brack et al. (1978) estudiaron un gen de cadena liviana de la inmunoglobulina del ratón. Por medio de técnicas de ingeniería genética, el equipo de Brack fue capaz de demostrar que secuencias nucleotídicas que permanecían separadas en el embrión eran unidas para formar un gen completo

de inmunoglobulina por medio de los procesos de "splicing" y recombinación somática.

Se conocen dos subtipos de cadena lambda en el ratón, lambda I y lambda II, las cuales están caracterizadas por secuencias específicas en la región constante (C), C lambda I y C lambda II. Los estudios de secuenciación de aminoácidos han establecido hasta ahora siete regiones V lambda I diferentes y una región V lambda II. Consideraciones estadísticas sugieren que el ratón es capaz de sintetizar mucho más de siete regiones del subtipo V lambda I. Las dos cadenas de subtipo lambda muestran estar codificadas en un par de segmentos de DNA, uno para V y otro para C, que permanecen en secciones separadas del DNA del embrión. Las técnicas de ingeniería genética sugirieron que no hay más que unas pocas copias (y probablemente sólo una copia) por genoma haploide del segmento de DNA que codifica cada una de las cuatro regiones de cadena lambda, V lambda I, C lambda I, V lambda II y C lambda II. Se concluyó, por tanto, que las múltiples regiones V lambda I observadas en mielomas debían haber sido generadas por un proceso somático.

Los resultados indicaron que en el DNA del embrión, una secuencia de un gen lambda I completo consiste de dos partes separadas. El primer segmento consiste de los primeros péptidos ("líderes") y los péptidos de la región variable (V). Las dos secuencias de codificación están separadas por una secuencia intermedia de 93 nucleótidos (I₁). En el segundo segmento, la secuencia codificadora está también interrumpida por una secuencia intermedia de 1.250 bases (I₂), que separa los péptidos de la región constante (C) y aproximadamente 13 residuos peptídicos cerca de la unión de las regiones variable y constante (J). En el DNA de un mieloma productor de cadenas lambda I, la secuencia lambda I es rearmada como resultado de una o más recombinaciones que involucran ambos segmentos. Una recombinación toma lugar en los extremos de las secuencias V y J para reunir las dos secuencias separadas (Fig.11).

Al parecer, el rearmado somático puede ser un mecanismo para el control génico en la diferenciación celular. Una manera de aumentar la efectividad de este mecanismo de creación génica es el cambio de segmentos de DNA introduciéndolos en unidades de transcripción. Las secuencias de DNA recientemente introducidas son entonces aprovechables para el "splicing" con las secuencias preexistentes. El uso evolutivo de tales secuencias depende de la emergencia de mutaciones que conduzcan a nuevas señales de "splicing" en ciertas posiciones de la unidad de transcripción.

Un caso en el que este mecanismo se manifiesta durante el proceso normal de diferenciación celular es el proporcionado por la inmunoglobulina. La secuencia J muestra jugar un papel principal proveyendo un "puente" entre la recombinación del DNA y el "splicing" del RNA. Su mitad izquierda contiene probablemente una secuencia nucleotídica para un sitio específico de recombinación con el segmento V del DNA, mientras la secuencia en la mitad derecha esta-

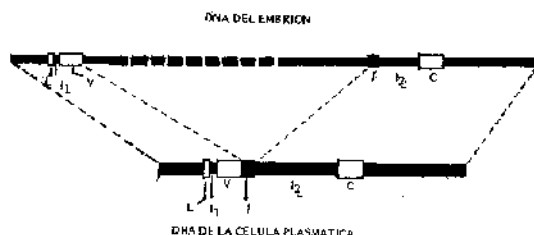


Figura 11.

En la figura se muestra la recombinaison somática por medio de la cual se origina la unidad transcripcional de un mieloma a partir de la unidad que se encuentra en una célula embrionaria. En este esquema L representa una secuencia "líder", I₁ e I₂ representan secuencias intermedias, V es la secuencia de la región variable y C la secuencia constante de las cadenas livianas, en J se encuentran las señales para el "splicing".

ría seguramente involucrada en el "splicing" del RNA que conecta las secuencias V y C.

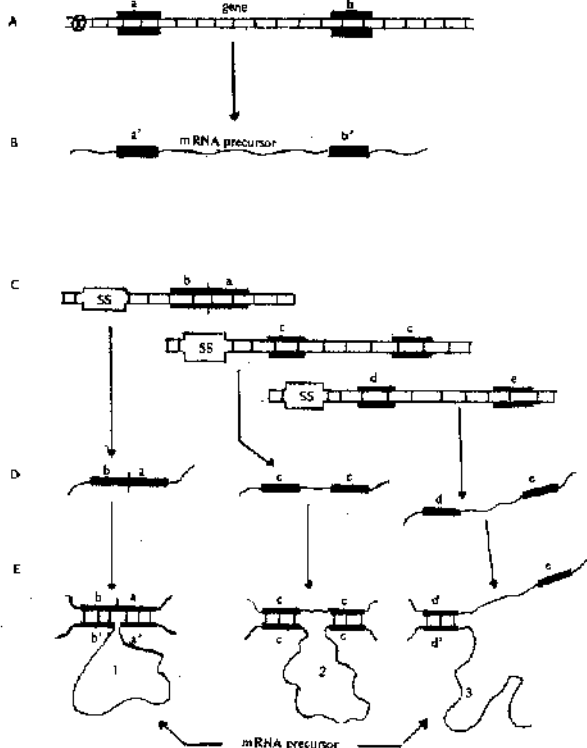
El procesamiento del RNA como un mecanismo para la regulación genética y la diferenciación celular.

Davidson y Britten (1973) y Bonner et al. (1973) lanzaron una teoría que involucra el procesamiento del RNA como un mecanismo para la regulación genética. Teniendo en cuenta que en los organismos eucarióticos un 75% de su DNA está formado por secuencias no repetidas intercaladas con secuencias repetidas, se ha sugerido que las secuencias repetidas son los elementos de control para la expresión de las secuencias no repetidas, las cuales serían los genes estructurales. Davidson, Roy y Britten (1979) han lanzado un modelo para explicar la forma como estos elementos repetitivos llevan a cabo el control de la expresión genética (este modelo se explica en la figura 12).

Un resultado interesante sugiere que el papel del "splicing" es importante en la diferenciación celular. Abelson (1979) describe un experimento que se hizo con el virus SV-40, el cual se hizo crecer en una línea celular de teratocarcinoma de ratón (F9). Esta línea celular es semejante a las células madres totipotentes, ya que pueden originar diferentes tipos de células; SV40 puede infectar células diferenciadas pero no las F9. Se ha encontrado que el DNA del SV40 llega al núcleo de las células F9 y transcribe un RNA viral inmaduro que no es procesado y por tanto no funcional. Estos resultados sugieren que las células diferenciadas tienen la habilidad y por lo tanto las enzimas para procesar el mRNA del SV40, pero las células indiferenciadas carecen de él.

Figura 12.

Elementos del modelo de regulación propuesto por Davidson, Roy y Britten. En A se muestra una unidad transcripcional constitutiva (CTU) la cual funcionaría en todo tipo de células, a y b representan secuencias repetitivas e l es el sitio de iniciación de la transcripción en dicha unidad. B representa el RNA transcrito a partir de A, al cual se le da el nombre de RNA transcrito constitutivamente (sin regulación, CT). Este RNA debe ser procesado para llevar a cabo su función. C muestra 3 formas posibles de las unidades regulatorias de



transcripción integrada (IRTU) con sus secuencias repetidas (a, b), (c,c) y (d,e), respectivamente, las cuales pueden hibridizar con el producto de CTU. SS representa la nucleoproteína que regula la expresión de las IRTU por medio de señales externas, por ejemplo: señales hormonales. D representa los 3 posibles productos de la transcripción de las unidades mostradas en C (son RNAs). E muestra 3 formas posibles de duplex al darse el apareamiento entre los productos de la transcripción de las IRTU con el producto de la transcripción del CTU. Estos duplex serían indispensables para llevar a cabo el "splicing" y la formación del mRNA, quien sería el que se expresa en las células en las cuales se lleve a cabo este procesamiento.

BIBLIOGRAFIA

- Abelson, J. 1979. *Ann. Rev. Biochem.* 48:1035-1069.
- Akusjaravi, G., and Pettersson, U. 1979. *Cell* 16, 841-850.
- Altman, S., Smith, J. D. 1971. *Nature New Biol.* 16:25-73.
- Bernard, O., Hozumi, N., and Tonegawa, S. 1978. *Cell* 15, 1133-1144.
- Bikoff, E. K., LaRue, B., Gefter, M. 1975. *J. Biol. Chem.* 250:6248-55.
- Bonner, J., Garrard, W., Gottesfeld, J., Holmes, D. S., Sevall, J. S., and Wilkes, M. M. 1973. *Cold Spring Harbor Symposium of Quantitative Biology* 38,303-310.
- Bos, J. L., Heytin, C., Borst, P. 1978. *Nature* 275:336-338.
- Brack, C., Hiram, M., Lenhard-Schuller, R., Tonegawa, S. 1978. *Cell* 15, 1-14.
- Breathneck, R., Benoist, C., O'Hara, K., Gannon, F., Chambon, P. 1978/*Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.* 75, 4853-4857.
- Catterall, J. F., O'Malley, Robertson, M.A., Staden, R., Tanaka, Y., and Brownlee, G.G. 1978. *Nature*, 275, 510-515.
- Davidson, E.H., and Britten, R.J. 1973. *Quarterly Review of Biology*, 48, 565-613.
- Davidson, E. H., and Britten, R. 1979 *Science*. 204, 1052-1059.
- Ghosh, B. K., and Apirion, D. 1979. *Cell*(3): 1055-1066.
- Ghosh, R. K., Deutscher, M. P. 1978. *Nucleic Acids Res.* 5, 3831-42.
- Gilbert, W. 1978. *Nature*, 271, 501.
- Goodman, H. M., Olson, M. V. and Hall, B.B. 1977. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 74,5453-5457.
- Guthrie, C., Seidman, J. G., Comer, M.M.; Bock, R.M., Schmidt, R.J., Barrell, B. G., McClain, W.H. 1975. *Brookhaven Symp. Biol.* 26,106-23.
- Harris, B. and Roeder, R. G. 1978. *Journal of Biological Chemistry.* 253, 813-846.
- Hopper, A.K., Banks, F. and Evangelidis, V. 1978. *Cell* 14, 211-219.
- Hovemann B., Sharp, S., Yamada, H. and Soll, D. 1980a. *Cell*, 19, 889-895.
- Ikemura, T., Shimura, Y., Sakano, H., Ozeki, H. 1975. *J. Mol. Bio.* 96, 69-86.
- Konkel, D.A., Tilghman, S.M. and Leder, P. 1978. *Cell* 15, 1125-1132.
- Lewin, B. 1975a. *Cell* 4, 11-20.
- Melton, D.A., De Robertis, E.M. and Cortese, R. 1980. *Nature* 284, 143-148.
- Murray, V. and Holliday, R. 1979. *Genetical Research*, 34, No.2.
- Nomura, M., Morgan, E.A., Jaskunas, S.R. 1977. *Ann. Rev. Genet.* 11, 297-347.
- Ohe, K. and Weissman, S.M. 1971. *Jourm. Of Biol. Chem.* 246, 6991-7001
- Perry, R.P., Bard, E., Hames, B.D., Kelley, D.E. and Schibler, U. 1976. *Progress In Nucleic acid Research and Molecular Biology* 19,275-292.
- Robertson, H. D., Altman, S., Smith, J. 1972. *J. Biol. Chem.* 247, 5243-51.

- Rochaix, J. D., Malnoe, P. 1978. *Cell* 15, 661-70.
- Sakano, H., Rogers, J. H., Huppi, K., Brack, C., Traunecker, A., Maki, R., Wall, R. and Tonegawa, S. 1979. *Nature* 277, 627-633.
- Schmidt, O., Hoveman, B., Silverman, S., Yamada, H., Mao, J., and Soll, D. 1980. (P. Mildner and B. Reiss, eds). Pergamon Press, Oxford and New York, pp. 179-188.
- Selker, E., and Yanofsky, C. 1980. *Nucl. Acids Res.* 8, 1033-42.
- Smith, J. D., 1976. *Prog. Nucl. Acid. Res. Mol. Biol.* 16, 25-73.
- Sprinzi, M., Grueter, R., Spelzhaus, A., and Gauss, D. H. 1980. *Nucl. Acids Res.* 8, r1-r22.
- Tatum, E. L. 1959. *Science*, 1711-15.
- White, R., Hogness, D. S. 1977. *Cell* 10, 177-92,