

CAPÍTULO 8.

NÚCLEO

El núcleo es el organelo que diferencia las células eucarióticas de las procarióticas (Tabla 1.4). En las células eucarióticas, el material genético (ADN: ácido desoxiribonucleico) de cada especie se encuentra en el núcleo, excepto el ADN mitocondrial. En este capítulo se describen la organización del núcleo en interfase (período comprendido entre dos mitosis), la transcripción del ADN en ARN (ácido ribonucleico) y su control.

El núcleo ocupa generalmente una posición central en la célula y tiene una forma más o menos esférica de 5 a 10 μm diámetro. El núcleo está delimitado por una doble membrana llamada **la envoltura nuclear** que separa el citosol de la matriz nuclear o **nucleoplasma** (nucleolema). Dentro del núcleo se aloja el **nucléolo** y la **cromatina** esparcida en todo el nucleoplasma (Fig. 8.1). El nucleoplasma es el líquido del núcleo, equivalente al citosol, donde se encuentra la cromatina y el nucléolo.

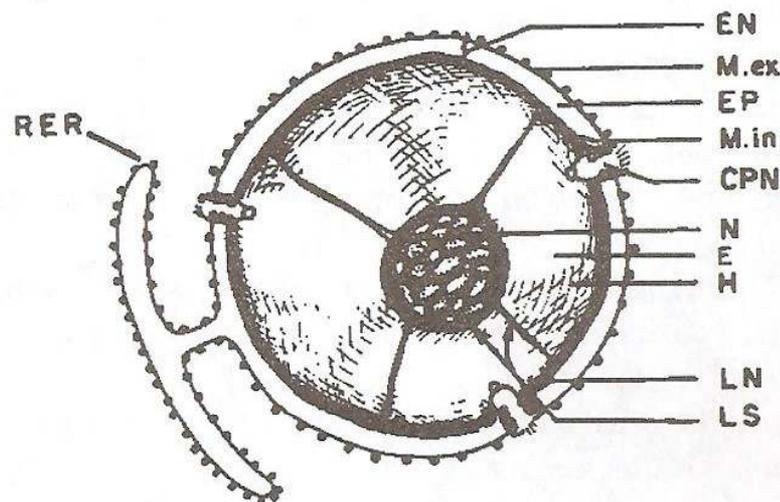


Figura 8.1. Núcleo en interfase.

EN: envoltura nuclear; M.ex: membrana externa; EP: espacio perinuclear; M.in: membrana interna; CPN: complejo del poro nuclear; LN: lámina nuclear; LS: láminas; N: nucléolo; H: heterocromatina; E: eucromatina; RER: retículo endoplásmico rugoso.

Algunos tipos de células en el organismo pueden contener más de un núcleo como las células del músculo esquelético voluntario, los osteoclastos, y los megacariocitos. También se encuentran células multinucleadas en algunas algas. En los protozoarios se encuentra un micronúcleo y un macronúcleo que tiene las características del núcleo de los eucarióticos.

8.1. ENVOLTURA NUCLEAR

La envoltura nuclear es la continuación del RER, pero adquiere otras estructuras que la caracterizan: el complejo del poro nuclear que le atraviesa y la lámina nuclear que se organiza del lado nucleoplásmico de la membrana interna. La luz entre las dos membranas de la envoltura nuclear se llama espacio perinuclear y es la continuación de luz del RER.

La **membrana externa**, como la membrana del RER, contiene ribosomas en su lado citosólico. En ciertas células, como los plasmocitos por ejemplo, se pueden poner en evidencia proteínas de secreción en el seno del espacio perinuclear. La **membrana interna** en su faz hacia el nucleoplasma está tapizada por la lámina nuclear, una zona muy densa a los electrones en ME (Fig. 8.1 LN). A nivel del complejo del poro nuclear, la membrana externa se continúa con la membrana interna formando la zona de la membrana del poro nuclear o **membrana del poro**, tridimensionalmente forman un canal de 120 nm de diámetro, donde se encuentra alojado el complejo del poro nuclear (Fig. 8.2 MP).

La **lámina nuclear** es una malla o red de proteínas adyacentes a la membrana interna de la envoltura nuclear. Esta red está constituida por tres proteínas fibrilares que pertenecen a la superfamilia de los filamentos intermedios (FI). Se denominan FI de tipo V o láminas A, B y C (antes se llamaban lamininas, pero se cambió el nombre para no confundirlas con las lamininas de la matriz extracelular). Esta red se observa en el ME, como arreglos ortogonales interconectados con el complejo de poro nuclear.

Las láminas B interactúan por un lado con proteínas transmembranosas de la membrana interna y por el otro lado con las láminas A y C (Fig. 7.20 A, B y C). Las láminas A y C a su vez interactúan en sitios específicos con la cromatina, lo que explica la presencia habitual de cromatina condensada en la periferia del núcleo, en contacto con la lámina nuclear. La lámina nuclear, como la cromatina, se discontinúa en los sitios de los complejos de los poros nucleares (Fig. 8.1). Las láminas A, B y C recubren también el nucléolo y lo conectan (Fig. 8.1 LS) con la lámina nuclear.

La lámina nuclear mantiene la forma de la envoltura nuclear y da soporte a la cromatina; podría servir también como sustrato para la formación de los com-

plejos de duplicación durante la síntesis ADN o duplicación del ADN. La fosforilación de las lámina A y C al final de la profase es responsable de la disociación de la lámina nuclear que conlleva a la vesiculación de la envoltura nuclear.

La estructura del **complejo del poro nuclear** (CPN) se conoce mejor actualmente que cuando se le denominaba poro nuclear (Fig. 8.2). El CPN tiene una forma de rueda rugosa con 120 nm de diámetro en promedio y 70 nm de longitud. Lejos de ser un poro simple a través de la envoltura nuclear, el CPN está compuesto por docenas de proteínas denominadas **nucleoporinas**, que forman una estructura muy bien organizada; su masa proteica es de 124 megakilodaltons. Se han caracterizado unas 100 nucleoporinas diferentes, muchas se encuentran distribuidas en subunidades múltiples de ocho. Aunque no se conoce la posición exacta de las diferentes nucleoporinas en el CPN, se ha podido determinar su forma y su organización por estudios morfológicos. Es una estructura altamente dinámica, se desorganiza durante la mitosis y se organiza rápidamente cuando se culmina la mitosis.

El centro del CPN consiste en una estructura cilíndrica que funciona como un transportador (Fig. 8.2 T). La organización interna de las proteínas en el transportador central del CPN no se conoce bien, pero se sabe que tiene a nivel central un anillo interno (Fig. 8.2 AI) de donde se proyectan radialmente 16 proteínas en forma de espículas (las Nuc 188p), ocho hacia el citoplasma, (Fig. 8.2 EC) y ocho hacia el núcleo (Fig. 8.2 EN). Cada espícula citoplasmática se une con una espícula nuclear en la periferia del CPN formando ocho rebordes externos (Fig. 8.2 RE). El centro de estos rebordes se une a un dímero de nucleoglicoporinas de 210 kD denominadas gp210 (Fig. 8.2 gp210). Por cada poro se encuentran 16 a 24 gp210. Estas son proteínas transmembranas de la membrana del CPN, que a nivel del espacio perinuclear se unen a otras proteínas diméricas, las cuales forman un anillo proteico en el mismo espacio perinuclear (Fig. 8.2 AEP). Así, la masa proteica del CPN está asociada a las gp210 transmembranas a nivel central de los ocho rebordes externos y es el punto de anclaje del CPN a la membrana del poro, quedando un espacio de 2 nm entre el CPN y la membrana. Existen otras proteínas transmembranas (Pom 121p y Pom 152p) en la membrana del poro a las cuales se les asigna la misma función que ejercen las gp210, porque la Pom152p entra en relación directa con las espículas.

Los dos extremos apicales de las espículas a nivel del reborde externo se unen a dos anillos paralelos proteicos, uno citoplásmico (Fig. 8.2 AC) y el otro nucleoplásmico (Fig. 8.2 AN). A veces, se observan ocho partículas y fibras sobre el anillo citoplásmico dirigidas hacia el citosol. Estas fibras sólo se han encontrado en los CPN de los oocitos de *Xenopus leavis*. Del anillo nucleoplásmico se extienden ocho filamentos dirigidos hacia el nucleoplasma que se unen a un anillo distal (Fig. 8.2 AD), formando una estructura similar a una canasta de pescar que se denomina canastilla del CPN (Fig. 8.2 Ct). El anillo nucleoplásmico AN está en contacto con las láminas A y C de la lámina nuclear (Fig. 8.2 LN).

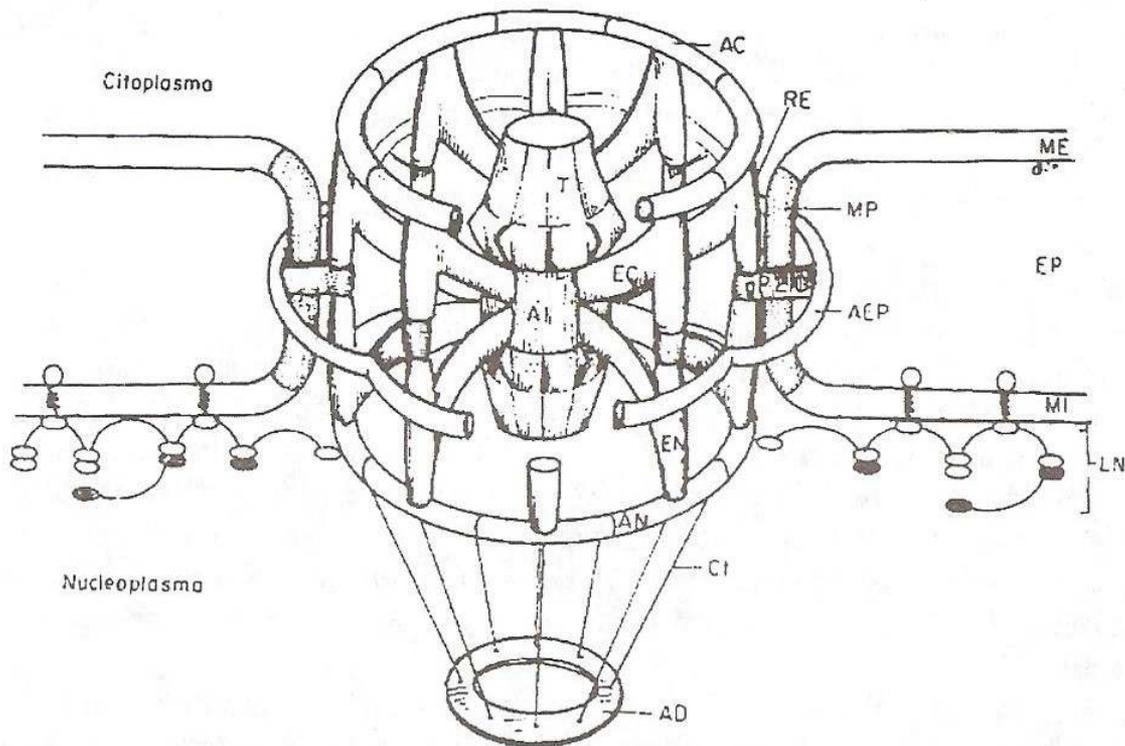


Figura 8.2. Esquema del complejo del poro nuclear.

ME: membrana externa; MI: membrana interna; EP: espacio perinuclear; MP: membrana del poro; LN: lámina nuclear; T: transportador; AI: anillo interno; EC: espículas citoplásmicas; EN: espículas nucleoplásmicas; RE: reborde externo; AC: anillo citoplásmico; AN: anillo nucleoplásmico; gp210: gliconucleoporina de 210 kD; AEP: anillo del espacio perinuclear; AD: anillo distal; Ct: canasta.

Actualmente se conoce mucho sobre el transporte molecular del núcleo al citoplasma (exportación) y del citoplasma al núcleo (importación) aunque queda todavía mucho por aclarar sobre los mecanismos y la regulación de este transporte a través del CPN.

La organización de las proteínas del CPN deja en su interior un espacio acuoso por donde pueden pasar rápidamente moléculas con un peso molecular del orden de 17 kD. Moléculas de 44 kD demoran en pasar 2 minutos en forma pasiva y moléculas del orden de 60 kD o más, demoran más tiempo en atravesar el CPN. El diámetro efectivo del espacio o poro acuoso se ha calculado de acuerdo al tamaño de las moléculas que deja pasar a través de él en forma pasiva y es del orden de 9 nm de diámetro. Este poro acuoso corresponde a un tamaño muy pequeño del total que ocupa el CPN que es 120 nm de diámetro.

La estructura del CPN no es rígida sino muy flexible y dinámica, pues permite el paso de moléculas a través de él incluso de diámetro más grande que 9 nm, por ejemplo las ADN polimerasas o ARN polimerasas que tienen en promedio 150 kD y son importadas al núcleo. La importación de grandes moléculas se realiza

por un transporte “activo”, ya que se requiere energía (ATP), se encuentran dos ATPasas en el CPN, una del lado citoplásmico y la otra del lado nucleoplásmico. También el CPN modifica estequiométricamente sus proteínas para permitir el paso de las moléculas a través de él. La importancia de la importación y de la exportación se deduce por el número tan elevado de CPN por núcleo, del orden de 4.000 a 5.000 en una célula de mamíferos.

Como ya se mencionó, el tamaño de la molécula determina la rapidez de su translocación a través del CPN; moléculas con peso molecular inferior a 5 kD lo hacen rápidamente, mientras que proteínas de mayor peso molecular a 40 kD pueden tomar hasta 30 minutos. Proteínas voluminosas como las ADN o las ARN polimerasas cambiarían su estructura globular a filamentosa y gracias a la hidrólisis del ATP serían importadas hacia el núcleo. Se admite que durante la infección viral, la importación del ADN se hace a través de los CPN.

Para la importación, las moléculas deben tener una **señal de localización nuclear** (NLS o péptido señal Nu) necesaria para ser reconocida por “receptores” del CPN, y para su translocación o importación al núcleo. Esta señal de localización nuclear puede encontrarse en cualquier sitio de la molécula, pueden ser señales de parche o en el extremo N-terminal de la proteína (Ver 5.2.2). Algunas moléculas importadas son reconocidas por la región glucídica de las nucleoglicoporinas de 210 kD del CPN. El reconocimiento de la proteína que va a ser importada puede realizarse a 0°C y no necesita ATP, pero, para su translocación se requiere la hidrólisis del ATP y el mantenimiento de la temperatura fisiológica que caracteriza a la célula eucariótica.

Existen factores citosólicos que intervienen también en la importación de proteínas al núcleo, unos permiten la interacción con el CPN y otros promueven el inicio de la translocación, ya sea independiente o dependiente de las regiones glucídicas de la nucleoglicoporinas. Por ejemplo, las proteínas de choque térmico 70 (hsp 70) intervienen en la importación de algunas moléculas, uniéndose principalmente a receptores de hormonas esteroides, incluso movilizan hacia el núcleo los receptores de los glucocorticoides aún en ausencia de la hormona. Algunas proteínas asociadas al citoesqueleto conectarían la región señal de localización nuclear de las proteínas destinadas al núcleo a otras proteínas o al CPN. Se están caracterizando las moléculas responsables del transporte a través del CPN.

La importancia de los intercambios núcleo-citoplasmáticos puede ser ilustrada por el caso de algunos componentes. Así, una célula que duplica su ADN requiere la importación al núcleo de aproximadamente 400.000 moléculas de histonas por minuto. Una célula de rápido crecimiento exporta hacia el citoplasma el equivalente de 12.000 ribosomas por minuto. La transferencia de ribosomas recién sintetizados se hace en forma de subunidades separadas. Esas subunidades tienen un tamaño del orden de 15 nm, lo que sobrepasa el diámetro efectivo del poro (9

nm). Para esta exportación, la ATPasa del lado citoplásmico es indispensable, mientras que el bloqueo de la ATPasa del lado nuclear no impide el proceso. Hay que anotar que la importación del citoplasma al núcleo de subunidades ribosomales no se produce. Se cree que de manera análoga a las NLS de las proteínas citoplásmicas importadas al núcleo, debe existir una señal para la exportación que permita el reconocimiento y la translocación a través del CPN e impedir su retorno, como péptidos de señales de “estancia” o “permanencia”.

En cuanto a la exportación de los ARNm, existe un reconocimiento de su cofía 5' (GpppG). Los ARNm se encuentran asociados a proteínas tanto en el núcleo como en el citosol en forma de ribonucleoproteínas. Las proteínas asociadas a los ARNm controlarían el adecuado reconocimiento para su exportación e impedirían su retorno al núcleo. El ARNm destinado a la exportación es liberado de sus proteínas asociadas y atraviesa el CPN en forma de hebra monocatenaria. A medida que el ARNm es translocado al citosol se asocia con proteínas citosólicas reformándose una ribonucleoproteína hasta que se inicie la traducción o síntesis de las proteínas.

Los ARNt son exportados por el transportador del CPN hacia el citosol de la misma manera. De este modo, el funcionamiento selectivo de los CPN restringe la síntesis de proteínas (traducción) sólo en el citosol. En consecuencia, podemos resumir la función esencial de la envoltura nuclear como el factor que separa, en espacio y tiempo, la **traducción** (paso de la información del ARN en proteínas realizada en el citosol) de la **transcripción** (paso de la información génica del ADN en ARN realizada en el núcleo). De esta manera, la envoltura nuclear impide la traducción de los ARN transcritos primarios permitiendo su maduración.

8.2. CROMATINA

La **cromatina** es el conjunto de fibras de ADN empaquetadas por las proteínas (histonas y no-histonas) que se encuentran dispersas en el nucleoplasma. Los **cromosomas** son las mismas fibras de cromatina que se supercondensan durante la mitosis y la meiosis.

La fibra de ADN (ácido desoxiribonucleico) es una doble hebra de nucleótidos en forma helicoidal que contienen la información genética. La totalidad del ADN de los cromosomas contiene la información genética de cada especie que es duplicada y transmitida de generación en generación. Un gen es una secuencia de nucleótidos del ADN que contiene las instrucciones para hacer un determinado ARN funcional que puede ser ARNm, ARNt, AR-Nr, ARNsn (*small nuclear* o de la partícula U), o ARNSRP (partícula de reconocimiento de señal, Fig. 5.8). Se puede decir que el ADN es un programa ultraminiaturizado para transmitir información, constituido de letras sucesivas: T (Timina), C (Citosina), A (Adenina)

y G (Guanina), denominadas bases nitrogenadas. Las tripletas de bases nitrogenadas contiguas corresponden a las letras del código genético, y cada tripleta se traducen en un aminoácido, y los aminoácidos contiguos forman una proteína.

La cantidad de ADN varía según la especie. Al ADN de un virus, por ejemplo el de la hepatitis B, tiene 3182 letras en su código genético que corresponde a una página de 3000 letras de nuestro alfabeto, o sea 100 letras por línea que forman una página de 30 líneas escritas. El ADN de una bacteria, por ejemplo *Escherichia coli*, tiene 3 millones de letras en su código genético, lo cual se traduce a un libro de 1000 páginas cada una de 3000 letras. La información genética en la mujer es doble, porque tiene 23 fibras de ADN o cromosomas paternos homólogos a los 23 maternos, incluyendo el par XX, mientras que el varón tiene una información genética no totalmente duplicada en sus cromosomas sexuales XY desiguales, lo que explica su susceptibilidad a algunas enfermedades genéticas que las mujeres generalmente no manifiestan, por ejemplo algunas hemofilias. Entonces, se puede considerar biológicamente a los varones como sexo “débil” aunque creen lo contrario! De otra parte, en el hombre y la mujer, la información genética contenida en el ADN mitocondrial no es duplicada, y es transmitida únicamente por la madre.

El ADN total de una célula humana está constituido por $6 \cdot 10^{18}$ pares de bases, lo que corresponde a una longitud de $2,04 \cdot 10^9$ metros y contiene información para 3 billones de letras, lo que representaría una enciclopedia de 1.000 volúmenes, cada uno con 1.000 páginas. Si se calcula que cada volumen tiene 5 cm de espesor y se colocan uno encima del otro haría una altura de 50 m aproximadamente. Entonces, ¿cómo se puede guardar tal cantidad de ADN o información en un núcleo que es microscópico? La respuesta se encuentra en el hecho de que las fibras de ADN están normalmente muy condensadas. Efectivamente, en la interfase, las fibras del ADN en el núcleo están “empaquetadas”, por histonas y por proteínas no-histónicas, como un hilo sobre su carrete, formando fibras más gruesas y conglomerados de **cromatina** dispersos en el núcleo. En mitosis o meiosis, las mismas fibras de cromatina se supercondensan ordenadamente formando los **cromosomas**.

Las proteínas no-histónicas incluyen numerosos tipos de moléculas con funciones muy diferentes, mientras que las **histonas** constituyen una familia restringida de proteínas, existiendo numerosos ejemplares de cada una de ellas en la cromatina. La masa total de histonas es casi equivalente a la del ADN de un núcleo. Las histonas son relativamente pequeñas (11 a 24 kD) y muy básicas debido a su riqueza en argininas y en lisinas. Estos aas cargados positivamente son los que interactúan con las cargas negativas de los grupos fosfatos del ADN.

La tabla 8.1 resume las características de las histonas. La presencia de histonas es una característica de las células eucarióticas. La estructura de las histonas H3 y H4 es muy constante en los diversos tipos de células eucarióticas, ya sean animales o vegetales. Ésto indica que las secuencias de aas de estas histonas han sido fijadas

muy temprano en la evolución, antes de la divergencia del reino animal y vegetal. También muestra que la función que ejercen está estrechamente unida a su estructura y que la mayoría de las mutaciones no son compatibles con la supervivencia de la célula. Las histonas H2A y H2B son más variables debido a las modificaciones que se realizan posteriormente a la transcripción de sus genes en ARNm. Las histonas H1 o histonas de unión son las más variables.

Tabla 8.1. Características de las histonas.

Tipo	Peso molecular (kD) aproximado	Características evolutivas	Variantes
H1	19 - 21	Muy variables	H1a, H1b, H1c, H1d, H1e, H1°, AK, H1t, H1.3.
H5*	25	?	
H2A	14	Variable	Postranscripcionales**
H2B	14	2/3 estable	Postranscripcionales**
H3	15	Muy estable	No se conocen
H4	11	La más estable	No tiene

* Es una histona de unión de mayor peso molecular. ** modificaciones que sufre un ARN luego de finalizada su transcripción; kD: peso molecular en kilodaltons.

La energía de unión favorece mucho más la formación de dímeros H3-H4 que la formación de dímeros de H3 entre sí o de H4 entre sí. Estos heterodímeros H3-H4 son por lo tanto muy estables y rápidamente se organizan en tetrámeros 2H3-2H4. Sobre estos tetrámeros de histonas 2H3-2H4 se añaden las histonas 2H2A-2H2B, constituyendo un octeto de histonas.

La estructura básica de la cromatina es el **nucleosoma**, formado por el octeto de histonas que constituyen su **núcleo** y por la fibra de ADN de 200 pares de bases (pb) (Fig. 8.3 A). El núcleo u octeto de histonas está organizado en forma cilíndrica con un surco central por donde entra y sale la fibra de ADN. En el sitio de entrada y salida de la fibra de ADN se localiza otra histona, la H1 denominada de unión por encontrarse entre el ADN de dos nucleosomas. La histona H1 estabiliza el nucleosoma permitiendo un contacto más estable del ADN sobre el núcleo de histonas. La H5 en los glóbulos rojos del pollo, cuando entran en divisiones celulares durante la hematopoyesis es reemplazada por la H1. Pero, las dos ejercen la misma función en la cromatina.

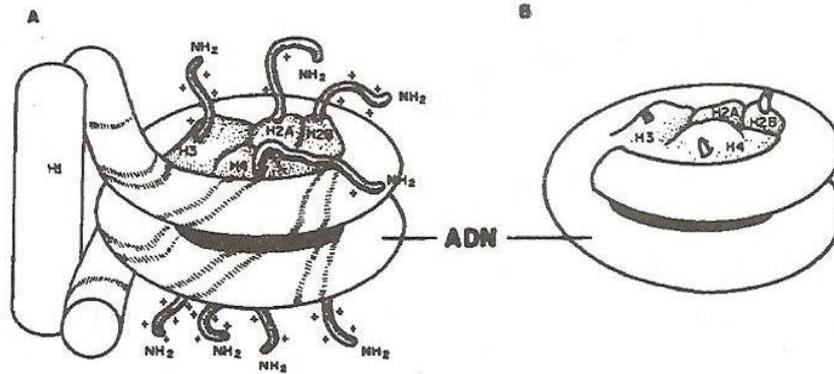


Figura 8.3. Esquemas de nucleosomas.

A. Un nucleosoma en relación con la histona H1; solo se ven las cuatro histonas superiores y la orientación de sus extremos N-terminal.

B. Nucleosoma reconstruido *in vitro* por dos giros del ADN (160 pares de bases) alrededor de un núcleo de histonas sin sus extremos N-terminal (NH₂).

(Whitlock y Stein, 1978 y de Grunstein, 1992).

La estructura del ADN localizado sobre el núcleo de los nucleosomas es principalmente β -hélice que presenta surcos mayores y menores. El nucleosoma se estabiliza por la interacción de los surcos mayores de la fibra del ADN ricos en adenina y timina (cargados negativamente en la periferia) con las regiones de las histonas altamente ricas en lisinas y argininas. Los nucleosomas están unidos entre sí por la fibra de ADN denominada ADN de unión, cuya longitud varia de 15 a 100 pb nucleotídicas, según la especie. Adicionalmente, las histonas H1 favorecen la estabilización de los nucleosomas al colocarse en el surco de entrada y salida del ADN (Fig. 8.4). El ADN nuclear se organiza en una fibra de nucleosomas de 10 a 11 nm de diámetro.

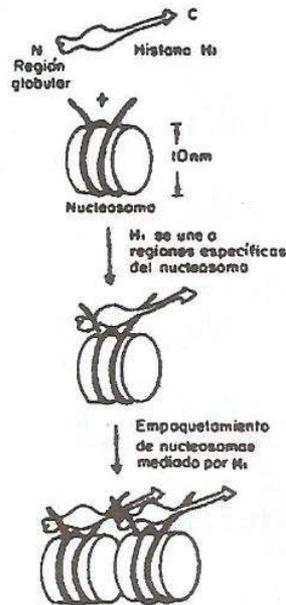


Figura 8.4. Esquema de la estabilización de los nucleosomas en la cromatina.

Unión de la histona H1 al nucleosoma estabiliza los nucleosomas adyacentes en las fibras de cromatina de 10 a 11 nm (Alberts y col., 1994).

La fibra de 10 a 11 nm se organiza por la participación de las histonas de unión H1 en el centro en fibras de 30 nm (Fig. 8.5 C). Para la organización de fibra de nucleosomas en una fibra de cromatina de 30 nm varios modelos se han propuesto, pero el más aceptado es el enrollamiento de la fibra de nucleosomas (fibra de 10 a 11 nm de diámetro), ordenándose en el mismo plano 6 nucleosomas, y así sucesivamente de 6 en 6 a lo largo de la fibra de 30 nm.

El mecanismo preciso de condensación de la cromatina de 30 nm hasta la formación del cromosoma no se conoce, pero el modelo más aceptado es el que se muestra en la figura 8.5. Según este modelo, las fibras de cromatina de 30 nm se agrupan a su vez formando regiones más o menos densas de cromatina en el núcleo (Fig. 8.5 D). No se conoce con exactitud este replegamiento o condensación en el seno del núcleo, se sabe que las proteínas no histónicas intervienen en la condensación de la cromatina de 30 nm en la base de los bucles que forman la cromatina de 300 nm (Fig. 8.5 D), tanto para la cromatina como para los cromosomas. La cromatina de 300 nm forma grumos o agregados que se organizan como gránulos grandes y pequeños de cromatina en la interfase. Para la formación del cromosoma durante la mitosis, la cromatina de 300 nm se organiza en fibras de 700 nm (Fig. 8.5 E), que es el equivalente de una región muy pequeña del cromosoma metafásico (Fig. 8.5 F). El centro del cromosoma es ocupado por proteínas no histónicas alrededor del cual se enrollan las fibras de 300 nm (Fig. 8.5 F nh). Todos los mecanismos de condensaciones descritos explican cómo la célula puede empaquetar tanto material genético en un núcleo microscópico.

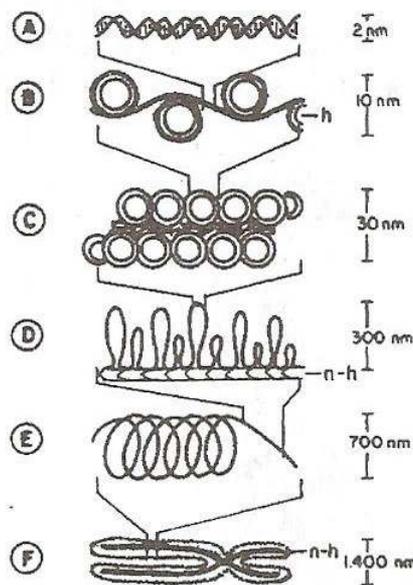


Figura 8.5. Modelo de condensación de las fibras de cromatina hasta la formación del cromosoma.

- A. Segmento de ADN bicatenario.
- B. Cromatina descondensada de 10 nm.
- C. Fibra de cromatina de 30 nm.
- D. Sección de cromatina de 300 nm.
- E. Sección del cromosoma condensada.
- F. Cromosoma metafásico.

(Modificado a partir de Kornberg y Klug, 1981; Alberts y col, 1994).

h: proteínas histónicas; n-h: proteínas no histónicas.

La cromatina eucariótica ha sido dividida en dos clases basándose en su aspecto de condensación durante la interfase y según su aspecto en el ME: la heterocromatina y la eucromatina.

La **heterocromatina** es la más condensada, la que se observa coloreada en el microscopio óptico (MO) y densa a los electrones en el ME, y generalmente considerada inactiva en la transcripción. Se localiza principalmente como una banda irregular en contacto con la lámina nuclear y alrededor del nucléolo, y en paquetes a través del nucleoplasma (Fig. 8.1). La heterocromatina se subdivide a su vez en constitutiva y facultativa. La **constitutiva** es altamente rica en secuencias repetidas que están presentes una detrás de otra y así sucesivamente (en serie o tándem) y comprenden aproximadamente el 10% del genoma en los mamíferos. La función de esta cromatina en interfase es todavía desconocida, pero se sabe que es inactiva en las células de un mismo organismo. Todos los cromosomas contienen bloques de heterocromatina constitutiva en la región del centrómero. Esos bloques representan frecuentemente 5 a 10% de la masa del cromosoma. Otros fragmentos de heterocromatina constitutiva están dispersas a lo largo de los brazos de los cromosomas; existen a menudo en la vecindad de los satélites de los cromosomas acrocéntricos, correspondientes a los organizadores nucleolares que se describen en el nucléolo. Muchas regiones de la heterocromatina constitutiva incluyen secuencias de nucleótidos relativamente simples y repetidas en tándem, como la heterocromatina de las regiones teloméricas de los cromosomas.

La heterocromatina **facultativa** consiste en una cromatina potencialmente activa en la transcripción. Por ejemplo, se puede encontrar una fibra de un cromosoma completamente condensada como heterocromatina en una célula, y en otra célula estar como eucromatina. La más conocida, es la heterocromatina facultativa del cuerpo de Barr en las hembras de mamíferos, donde se condensa uno de los dos cromosomas X. La mujer tiene a la vez células donde el cromosoma X de origen paterno es inactivado, y otras en el mismo tejido donde es el cromosoma materno el inactivo. Esta inactivación se realiza por la metilación del ADN del cromosoma inactivo. Desde luego, para las proteínas cuya síntesis está bajo el control del cromosoma X, las células de la mujer podrán expresar dos variantes genéticas diferentes en el mismo organismo. De otra parte, en ciertas anomalías genéticas, puede existir varios corpúsculo de Barr, y se puede enunciar la siguiente regla general: hay tantos corpúsculo de Barr como cromosomas X, menos uno. Así, por ejemplo, en la anomalía caracterizada por la presencia de 3 cromosomas X o trisomía X, las mujeres con esta anomalía cromosómica son llamadas "superhembra", se constata la presencia de dos corpúsculos de Barr en los núcleos de las células de estas mujeres. En el caso de XO, el síndrome de Turner, donde falta un cromosoma X, las células no contienen el corpúsculo de Barr, son individuos fenotípicamente femeninos, amenoréicos y estériles.

La **picnosis** del núcleo de una célula corresponde a la supercondensación de toda la cromatina del núcleo de manera irreversible e indica el sufrimiento y muerte

celular. La picnosis provoca el paro de la transcripción y la duplicación del ADN. En los mamíferos, los núcleos ortocromáticos de los normoblastos y los núcleos de los espermatozoides están completamente condensados y transcripcionalmente inactivos. La condensación de la cromatina en normoblastos es fisiológicamente programada y es irreversible mientras que la condensación de la cromatina en el núcleo de los espermatozoides es reversible.

Existen otras dos formas características de muerte celular según las modificaciones de la cromatina en el núcleo: cuando desaparece completamente la cromatina y el núcleo se observa como un fantasma sin contenido, se denomina **cariolisis**; y cuando la cromatina forma paquetes muy densos y dispersos en el núcleo se llama **cariorrexis**, como en la apoptosis.

La cantidad de heterocromatina presente en el núcleo varía con la actividad transcripcional, por ejemplo, poca heterocromatina se encuentra en las células cancerosas activas transcripcionalmente y mucha en las células especializadas en la transcripción de un tipo de ARNm como los plasmocitos. Generalmente, en una célula eucariótica, el 90% de la cromatina es inactiva para la transcripción, pero no toda se encuentra en forma de heterocromatina, mientras que el 10% de la cromatina total es activa transcripcionalmente y se encuentra en forma descondensada o **euromatina**.

De acuerdo con lo anteriormente descrito y con observaciones más finas en el ME, la cromatina en el núcleo está altamente organizada (Fig. 8.6). Actualmente, más allá de los conceptos de euromatina y de heterocromatina, se describen dos organizaciones distintas para la cromatina. La cromatina que se organiza en paquetes o en grumos de diferentes tamaños, denominados **gránulos de intercromatina** (Fig. 8.6 GI), y la cromatina que sale de estos grumos en forma de fibras se denominan **fibras de pericromatina** (Fig. 8.6 FP), generalmente de 10 a 11 nm de diámetro. Algunas de estas fibras de pericromatina son activas transcripcionalmente y se encuentran en las regiones de euromatina (Fig. 8.6 ADN). Los puntos de origen de la duplicación del ADN se encuentran preferencialmente en los gránulos de intercromatina localizados en la cromatina en contacto con la lámina nuclear.

8.3. TRANSCRIPCIÓN DEL ADN

8.3.1. Mecanismos generales

La transcripción del ADN es el proceso por el cual se forma una hebra monocatenaria de ARN antiparalela a una de las dos hebras del ADN, que le sirve de plantilla. La información genética del ADN es transcrita en ARN.

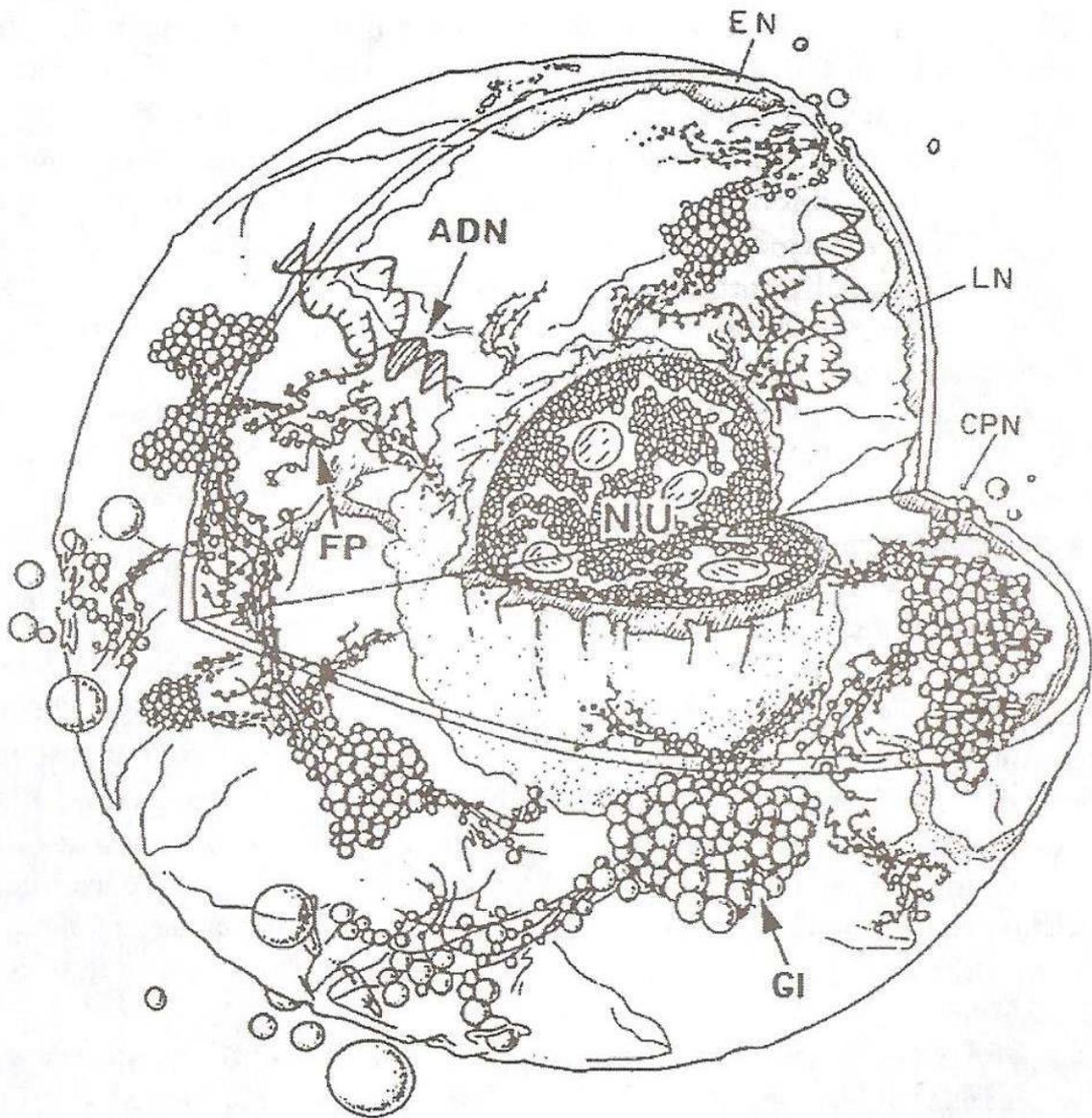


Figura 8.6. Modelo tridimensional del núcleo de una célula eucariótica.

FP: fibra de pericromatina; GI: gránulos de interchromatina; ADN: ácido desoxirribonucleico; NU: nucléolo; EN: envoltura nuclear; LN: lámina nuclear; CPN: poro nuclear (Spector, 1993).

La enzima que realiza la transcripción se llama **ARN polimerasa (ARNpoli)**. Los mecanismos de transcripción del ADN en ARN son mucho más complejos en los eucariotes que en los procariotes, tanto desde el punto de vista de los mecanismos de regulación, como del número de enzimas implicadas. En los procariotes hay una sola ARNpoli, mientras que en los eucariotes existen 3 ARNpolis que realizan la transcripción. La ARNpoli I sintetiza tres de los cuatro ARNr en el nucléolo (Ver 8.4). La ARNpoli II sintetiza los ARNm y dos ARNsn, y la ARNpoli III sintetiza los ARN de bajo peso molecular y de vida media muy larga como son los 60 ARNt, los cuatro ARNsn, un ARNr y el ARNSRP. Estas enzimas difieren entre otras por sus especificidades en las señales de arranque para la transcripción. Las

ARNpoli I y II reconocen una secuencia de más o menos 7 pb o promotor (más conocida como caja TATA para las ARNpoli II) (Ver 8.5.1.2). La localización de este promotor sobre la hebra de ADN es aproximadamente 30 pb antes del primer pb que determina el inicio de la transcripción denominado punto de iniciación de la transcripción (pit), mientras que la ARNpoli III reconoce generalmente dos regiones promotoras (regiones de control interno RCI) y a veces tres regiones localizadas después del punto de iniciación de la transcripción. Una célula de mamífero contiene 20.000 a 40.000 moléculas de cada polimerasa, y en general las I y II en relación con la III están en una proporción 2 a 1.

Si suponemos que una proteína en promedio tiene 500 a 1.000 aas, requeriría 1.500 a 3.000 pb del ADN para su codificación. Alrededor de 200 pb se encuentran en un nucleosoma, lo que significa que el ADN que contiene la información para una proteína está comprendida generalmente dentro de 7 a 14 nucleosomas.

8.3.2. Síntesis de los ARN mensajeros

Las moléculas de ARN recién sintetizadas por la enzima ARNpoli II son en general más grandes que su ARNm correspondiente. La ARNpoli II realiza la síntesis de un ARN transcrito primario (ARNtp, denominado también pre ARNm) a una velocidad de aproximadamente 30 nucleótidos por segundo, hasta que llega a la señal de finalización de la transcripción (Fig. 8.7 A pf). En los eucariotes el producto primario de la transcripción o ARNtp sufre modificaciones en el núcleo antes de formar un ARNm “maduro” y su transporte al citosol para su traducción en una proteína.

La **primera modificación** se efectúa en el extremo 5' del ARN que está siendo sintetizado, se le añade una cofia de 7 guanósín trifosfato (${}^7\text{Gppp}5'\text{G}$) al primer nucleótido 5' del ARN (Fig. 8.7 B). En los procariotes se le añade una cofia de 7 metil guanósín trifosfato ($\text{m}^7\text{Gppp}5'\text{G}$). Más tarde, esta cofia permitirá el paso del ARNm a través del complejo del poro nuclear, e intervendrá en la unión del ARNm a la pequeña sub-unidad del ribosoma en el citosol (Fig. 5.3.1 G; Fig. 5.3.2 J). Esta adición se produce rápidamente, a menudo aún antes que la transcripción del ARNtp se haya terminado, o sea es una modificación cotranscripcional. La **segunda modificación** la realiza otra enzima que añade en el extremo 3' del ARNtp una cola de 100 a 200 nucleótidos adenílicos, llamada cola poliadenílica o poli A (Fig. 8.7 C). La función exacta de la cola poli A no se conoce aún, pero se piensa que impide la degradación rápida de los ARNm porque los ARNm en el citosol que no poseen o pierden la cola poli A son rápidamente degradados.

En los eucariotes, el **tercer tipo de modificación** es a menudo la eliminación de regiones del ARNtp. Efectivamente, en 1977 se demostró que la mayoría de ARNm eucarióticos corresponden a segmentos no contiguos del ADN. En otros términos, las secuencias nucleotídicas del ADN expresadas (**exones**) en la secuencia

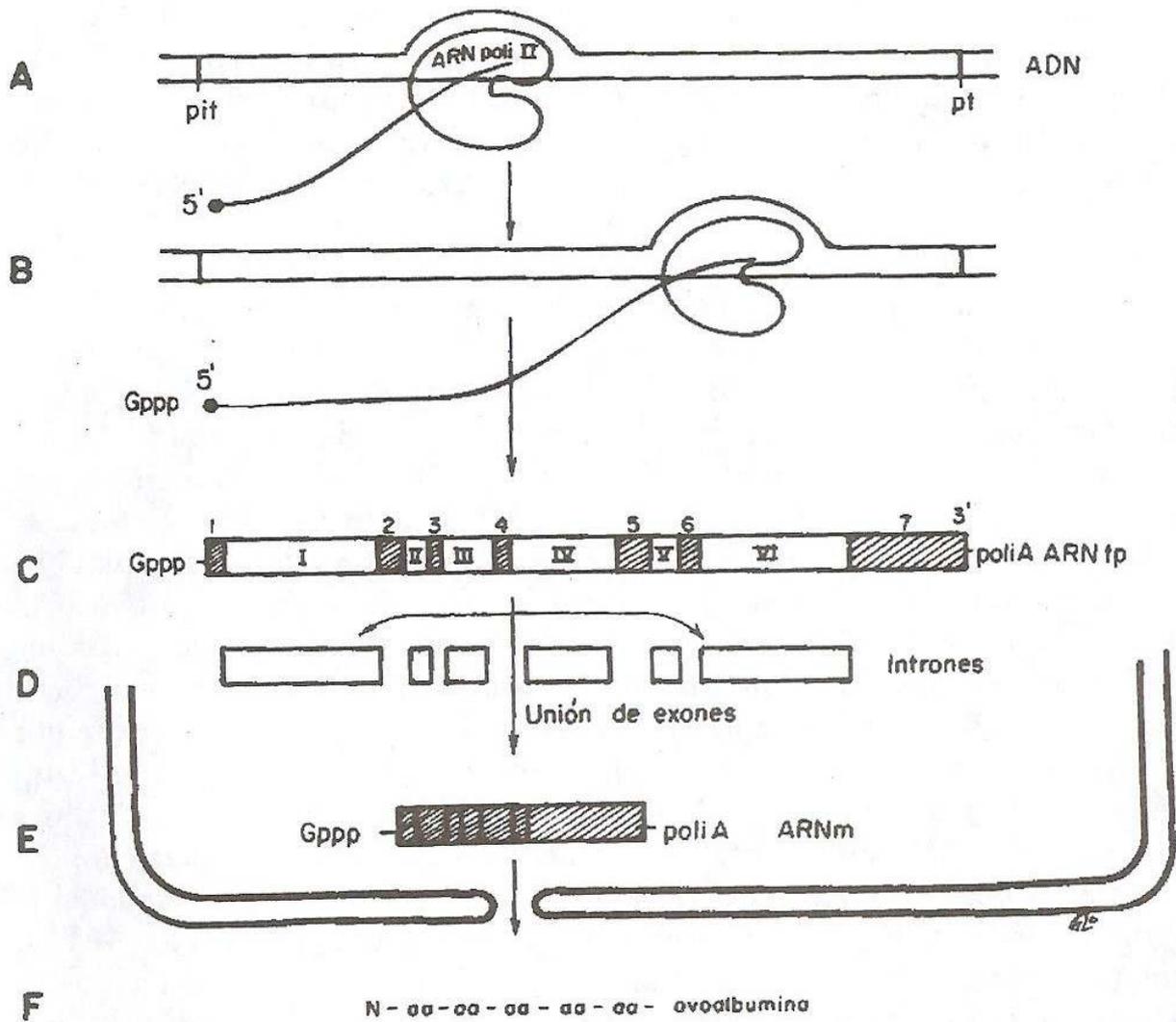


Figura 8.7. Esquema de la síntesis y maduración del ARNm de la ovoalbúmina.

A. Inicio de la transcripción por la ARNpoli II.
 B. Adición cotranscripcional de la cofia 7Gppp al extremo 5' del ARNtp.
 C. Adición postranscripcional de la cola poli-A en el extremo 3' del ARNtp de 8.000 nucleótidos. Los números romanos indican los intrones y los números arábigos los exones.
 D. Eliminación de los 6 intrones del ARNtp.
 E. Fusión de los 7 exones del ARNtp, formando el ARNm de 2.720 nucleótidos.
 F. El ARNm es exportado al citosol y traducido en la proteína.
 ADN: ácido desoxiribonucleico; pit: punto de iniciación de la transcripción; pf: punto de finalización de la transcripción; ARNpoli II: ARN polimerasa II; Gppp: cofia guanosil trifosfato; 5': extremo 5' del primer nucleótido del ARN en síntesis; ARNtp: ARN transcrito primario; ARNm: ARN mensajero; N: extremo amino terminal de la ovoalbúmina; C: extremo carboxi terminal de la ovoalbúmina; -aa-aa-: secuencia de aminoácidos.

de aminoácidos de una proteína son interrumpidas por secuencias intermedias no codificadoras (**intrones**) que no hacen parte del ARNm (Fig. 8.7 D y E). Los dos

tipos de secuencias son transcritos en el ARN_{tp}; los intrones son enseguida eliminados, y las secuencias vecinas o exones son reunidas y fusionadas (Fig. 8.7 D). Este proceso de eliminación de intrones y fusión de exones para formar un ARN_m definitivo se denomina maduración del ARN_{tp} (*splicing*) y se realiza en el núcleo antes de la exportación del ARN_m hacia el citosol. La adición de la cola poliA y la eliminación de intrones y fusión de exones son modificaciones postranscripcionales.

La eliminación de intrones es una reacción compleja que implica un reconocimiento preciso del sitio de ruptura a nivel del ARN_{tp}; el desfase de una base nucleotídica induciría un desplazamiento en el marco de lectura de los codones. La determinación de los sitios de ruptura se hace por el reconocimiento de secuencias en los dos extremos del intrón. Ella hace intervenir unas ribonucleoproteínas del núcleo, llamadas partículas U (*splicosomes*), constituidas por proteínas y un ARN_{sn} (*small nuclear*) (Fig. 8.8). Hay 6 clases de partículas U y se encuentra alrededor de un millón de ejemplares en la célula. Las partículas U tienen una característica importante y es que su ARN_{sn} posee una secuencia complementaria a las secuencias que limitan al intrón. Al complementarse las secuencias, la partícula U puede romper los extremos del intrón y fusionar los extremos de los dos exones. Las partículas U localizan con precisión en la cadena del ARN_{tp} los intrones, los reconocen y los eliminan, y al mismo tiempo fusionan los exones contiguos (Fig. 8.8). Varias partículas U pueden colaborar entre sí para eliminar un solo intrón, se han encontrado hasta cuatro partículas U colaborando en la eliminación de un intrón. Lo importante en este proceso es que son los ARN_{sn} que actúan como enzimas y las proteínas de la partícula U intervienen en la organización de su estructura. Otras moléculas de ARN pueden actuar también como enzimas como ocurre en el ARN_{tp} que elimina él mismo sus intrones en un proceso denominado automaduración (*autosplicing*).

Generalmente, los intrones están presentes en la mayoría de los genes de eucariotes y ausentes en los procariotes. Como se mencionó antes, un gen es la secuencia de ADN que tiene la información para un ARN funcional, cualquiera que éste sea, como ARN_m o ARN_{sn}. La existencia de intrones y del proceso de su eliminación aumenta la flexibilidad del potencial genético de la célula. En efecto, una modificación de los sitios de escisión pueden generar proteínas diferentes a partir del mismo ARN_{tp}. De otra parte, la separación de un gen en varios exones permite a la célula utilizar un mismo exón ya sea repitiéndolo en el seno del mismo gen, o ya sea en combinación con exones diferentes en diversos genes. Un mismo exón es así utilizado en varios genes cuando el mismo elemento funcional o estructural se requiere para proteínas diferentes.

A menudo los diferentes exones del mismo gen corresponden a secuencias de aas funcionales de diferentes proteínas. El gen del receptor LDL es un ejemplo que ilustra la repetición y la combinación de exones provenientes de genes que

controlan proteínas diferentes. Este gen tiene 18 exones, donde 13 codifican secuencias de aas similares a otras proteínas. Cinco de estos exones comunes son la repetición de un solo ejemplar en el gen que controla la proteína C9 del sistema de complemento. Tres otros son la repetición de un exón presente en un ejemplar del gen precursor del factor de crecimiento epidérmico, así como en tres proteínas del sistema de la coagulación sanguínea. Finalmente, cinco otros exones no son repetidos y se encuentran en el gen del precursor del factor de crecimiento epidérmico. El receptor LDL parece ser así una proteína formada por un mosaico de secuencias de aas comunes a otras proteínas. Otros ejemplos de maduraciones alternativas se muestran en la sección 8.5.2.

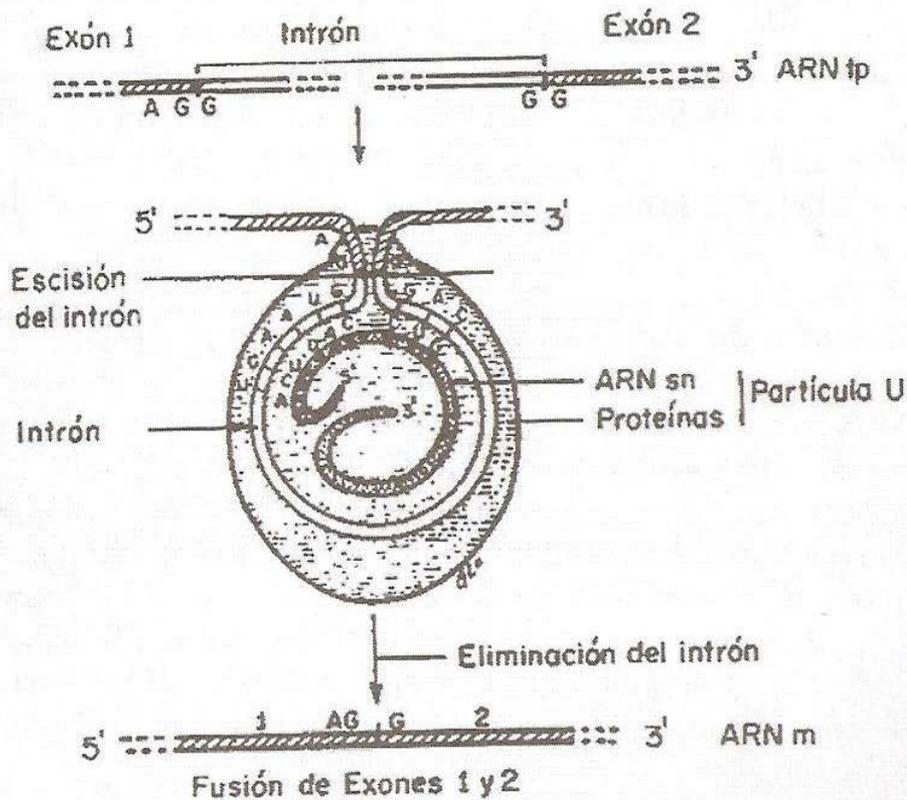


Figura 8.8. Modelo de eliminación de intrones.

La partícula U constituida por proteínas y un ARNsn reconoce los extremos del intrón por su ARNsn que acerca los extremos de los exones. El ARNsn elimina el intrón y fusiona los dos exones contiguos.

ARNtp: ARN transcrito primario; ARNsn: ARN *small nuclear*; ARNm: ARN mensajero.

Los genes que codifican a las histonas constituyen un ejemplo excepcional de genes: primero, porque se encuentran repetidos o amplificados aproximadamente cada uno un millón de veces; segundo, no tienen intrones; y tercero, no se le añade la secuencia poli A en sus ARNm. Recordemos que la transcripción de los genes de las histonas se realiza también por la ARNpoli II.

El axioma molecular de la biología donde la secuencia del ARNm sólo representa la codificación del ADN, y el dogma de la relación directa del ADN transcrito en ARNtp y su “remodelaje” para formar el ARNm, y la traducción del ARNm en proteína se creían inviolables. Pero se descubrió que existen casos donde la secuencia del ARNm es diferente de la información codificada por el ADN. En estos casos, ocurren modificaciones postranscripcionales del ARNm, denominada **edición del ARNm**. La edición del ARNm consiste en el reemplazo de algunas citidinas por uridinas y/o en la adición de una o varias uridinas a la cadena del ARNm. La edición del ARNm se encuentra en las mitocondrias y en los quinoplastos de los tripanosomátidos.

La edición del ARNm se ha encontrado sólo para dos genes nucleares de las células eucarióticas animales: 1. el de la apoproteína-B del intestino delgado en todos los mamíferos, y en la expresión del mismo gen en el hígado (Ver 4.1.4) de ratas, ratones, perros y caballos; y 2. el gen del receptor de la glutamina que funciona como un canal de Ca^{++} en el cerebro de ratas. Aún no se conocen los mecanismos del control de la edición del ARNm.

La edición del ARNm en núcleo se puede considerar como una **cuarta modificación** en el proceso de maduración de los ARNm.

8.3.3. Síntesis de otros ARN

La ARNpoli III sintetiza los ARN pequeños, pero el mecanismo de maduración de los ARNtp sintetizados por la ARNpoli III no se conocen aún. El gen ARNr 5S de la gran subunidad de los ribosomas y los genes de los 60 ARNt son los otros dos ejemplos de genes sintetizados por la ARNpoli III. La amplificación de estos dos genes, el de las histonas y el de los otros 3 ARNr son consideradas amplificaciones fisiológicas, para diferenciarlas de las amplificaciones del ADN que se encuentran generalmente en las células cancerosas. La transcripción de los 3 ARNr de los ribosomas por la ARNpoli I se realiza en el nucléolo.

8.4. NUCLÉOLO

El **nucléolo** es una masa circular como una esponja densa a los electrones que se localiza generalmente en el centro del núcleo celular. Su diámetro varía de 2 a 3 μm . Se presenta como una mezcla de gránulos y de material fibrilar dispuestos en una red irregular, delimitando islas más claras (Fig. 8.1 N). En general, existe un nucléolo por núcleo, pero las células que sintetizan muchas proteínas pueden presentar 2 a 4 nucléolos como ocurre en las neuronas o las células del epidídimo. El ADN que forma el nucléolo no contiene histonas, lo que podría explicar su aspecto más condensado. Al ME se demostró que el ADN nucléolar se localiza en las regiones fibrilares del nucléolo.

Las funciones del nucléolo son la síntesis de 3 de los 4 ARNr y el ensamblaje de las dos subunidades ribosomales. Entonces, el nucléolo está constituido principalmente por ribonucleoproteínas (subunidades ribosomales en diferentes estados de ensamblaje), ADN nucléolar y moléculas de ARNr en síntesis.

Los genes que codifican las proteínas, generalmente, se encuentran en un solo ejemplar dentro del genoma haploide. Esto es cierto para proteínas como la hemoglobina o la mioglobina, que se encuentran en muy altas concentraciones en células especializadas. La abundancia de estas proteínas se debe principalmente al hecho de que cada molécula de ARNm es traducida en un gran número por los ribosomas en el citoplasma. La producción de los ARNr, por el contrario, no puede aumentarse por este mecanismo, debido a que estos ARN constituyen el producto final de la transcripción.

El ADN nucléolar está compuesto por múltiples copias del mismo gen en tándem (amplificación en serie de un fragmento de ADN) para poder sintetizar las decenas de millones de ARNr que requiere una célula (Fig. 8.9 A). Las células humanas contienen alrededor de 200 copias de dicho gen por genoma haploide, distribuidos en 10 grupos que corresponden a los satélites de los 10 cromosomas acrocéntricos. El ADN que sale de un solo cromosoma forma grandes bucles en el nucléolo, denominado **organizador nucléolar**. Es decir que, 10 organizadores nucléolares conforman el ADN total del nucléolo humano. Es por esto que inmediatamente después de la mitosis, se observan 10 pequeñas masas densas que se fusionan rápidamente para formar el nucléolo. La repartición de los genes del ARNr varía en las diferentes especies, por ejemplo en el sapo *Xenopus leavis* existen 600 copias por genoma haploide, todas agrupadas en un solo cromosoma. Debido a su importancia biológica, los genes de los ARNr son altamente conservados durante la evolución, su organización en la hebra del ADN que conforma el gen es idéntica en todos los eucariotes.

El producto primario de la transcripción del ADN nucléolar realizado por la ARNpoli I es un ARNtp de 45S (pre ARNr) precursor de los 3 ARNr y tiene una longitud de 1.300 pb en promedio. Las diferentes copias del gen del ARN 45S están separadas por secuencias de ADN que no transcriben denominadas ADN espaciador. Debido al arreglo en tándem y a su rápida transcripción, estos genes son fácilmente distinguidos en ME como una hoja de helecho o pino de navidad (Fig. 8.9 A). Cientos de moléculas de ARN 45S son sintetizadas simultáneamente sobre cada gen, y cada molécula de ARN que está en transcripción es adherida al ADN por la ARNpoli I (Fig. 8.9 A). Cada ARN de 45S sufre la eliminación de secuencias no codificadoras, los intrones (Fig. 8.9 B números romanos), dando como resultado la formación de los 3 ARNr identificados por sus coeficientes de sedimentación expresados en unidades Svedberg o sea ARN 18S, ARN 5,8S y ARN 28S (Fig. 8.9 B números arábigos) que formarán parte de las sub-unidades ribosomales (Fig. 5.2).

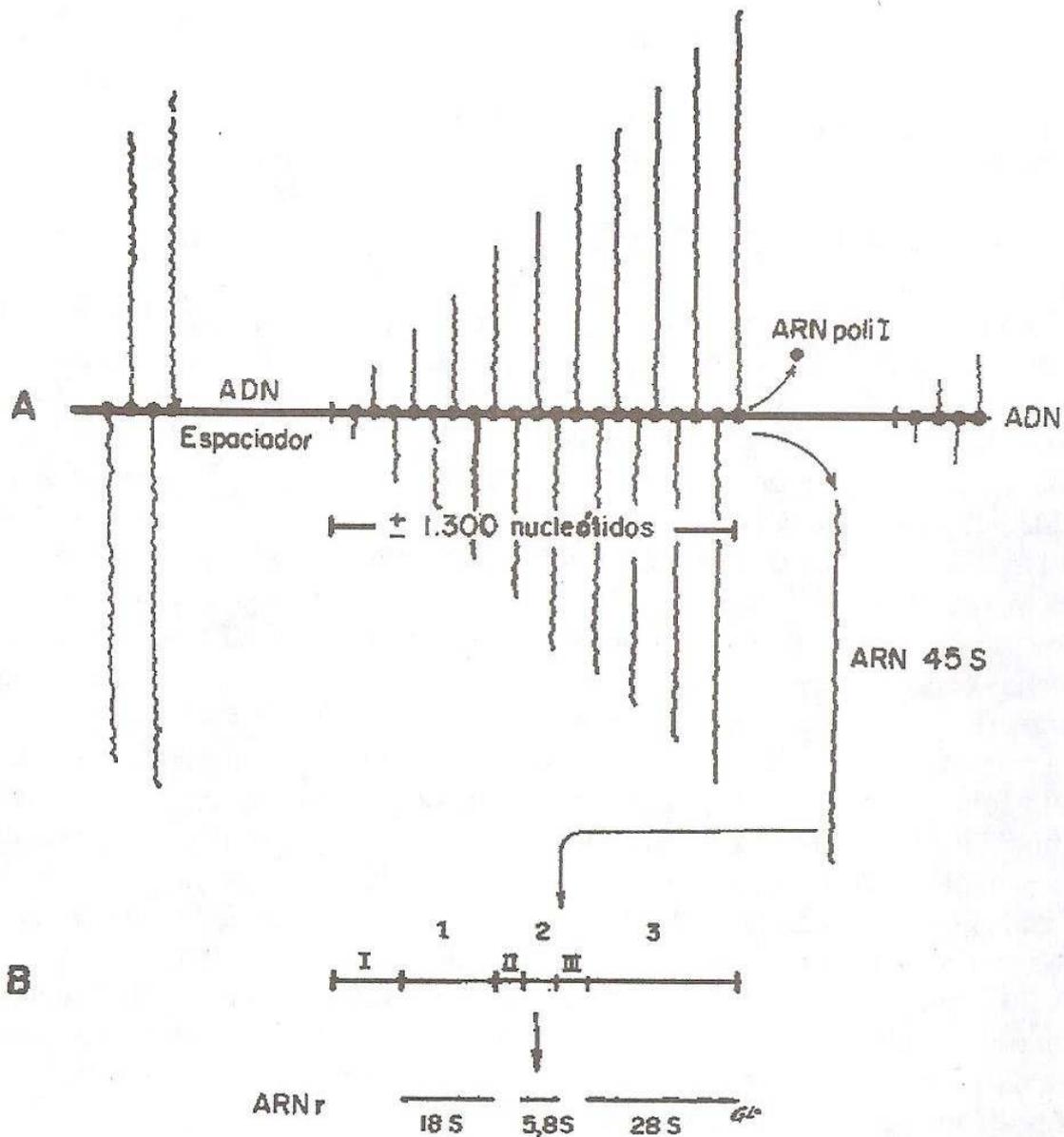


Figura 8.9. Transcripción y maduración de los ARN ribosomales.

A. El ADN del gen ARN 45S es transcrito simultáneamente por varias ARNpoli I.

B. Eliminación de los intrones y formación de los tres ARNr de 18S, 5,8S y 28S.

S: unidades Svedberg; ARNpoli I: enzima ARN polimerasa I; ARN 45S: ARN transcrito primario de 45S; Números Arábigos: exones del gen; Números Romanos: intrones del gen.

El ARN 45S (Fig. 8.10 A) se combina rápidamente con enzimas que eliminarán los intrones (Fig. 8.10 C) y con proteínas ribosomales (aproximadamente 85 proteínas) importadas del citosol al nucléolo (Fig. 8.10 B) para formar una gran ribonucleoproteína (Fig. 8.10 D). El ARNr 18S se libera primero y se une con proteínas formando la pequeña subunidad ribosomal que es exportada al citosol (Fig. 8.10 P). El ARNr 5S sintetizado fuera del nucléolo por la ARNpoli III se une a la ribonucleoproteína del nucléolo (Fig. 8.10 E). La eliminación de intrones

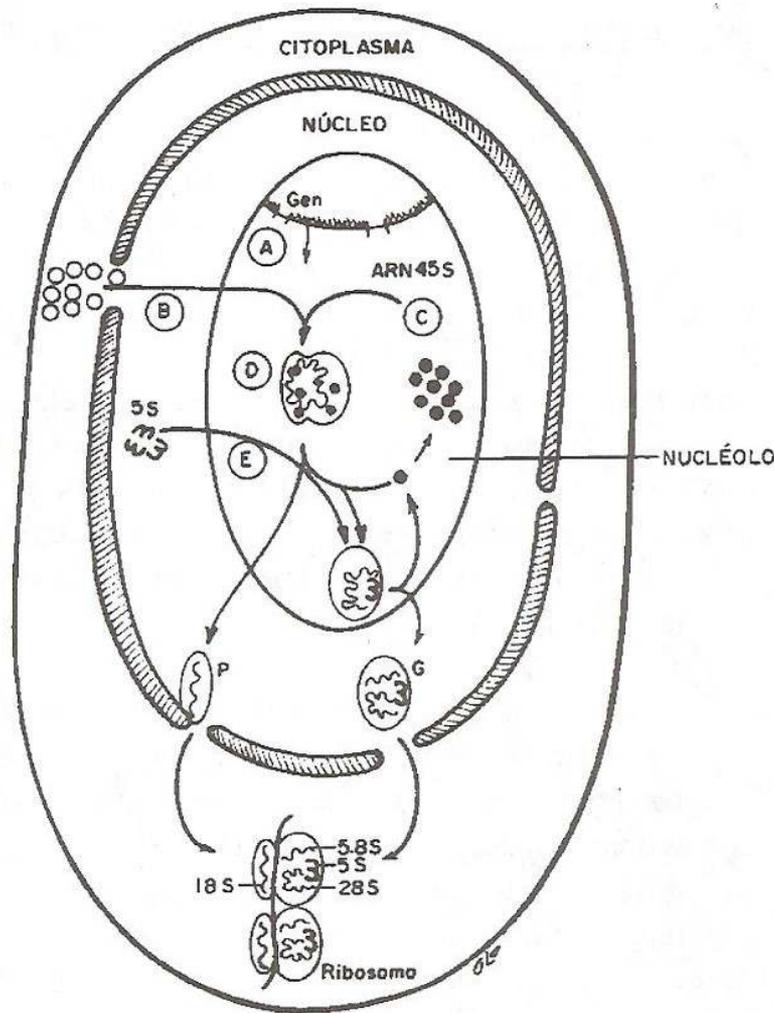


Figura 8.10. Esquema del ensamblaje de las subunidades ribosomales en el nucléolo.

El ARN 45S (A) se une con proteínas que vienen del citosol (B) y enzimas (C) formando una gran masa de ribonucleoproteína (D). La pequeña subunidad ribosomal (P) es formada por el ARNr 18S y proteínas, y es exportada al citosol. La gran subunidad (G) es formada por las proteínas, los ARNr 5,8S y 28S y el ARN 5S sintetizado en el núcleo (E), y exportada al citosol. En el citosol se forma el ribosoma (Modificado a partir de Alberts y col., 1994).

ARN 45S: ARN transcrito primario; 18S, 5S, 5,8S, y 28S: ARN ribosomales.

continúa y se forman los otros dos ARNr el 5,8S y el 28S que con las proteínas y el ARN 5S se ensamblan para formar la gran subunidad ribosomal que es exportada al citosol (Fig. 8.10 G). Las últimas etapas del ensamblaje de las subunidades ribosomales se producen durante la transferencia hacia el citosol, lo que evita la lectura de ARNm nuclear dentro del núcleo. Además, aproximadamente media hora después que son exportadas las pequeñas subunidades al citosol lo hacen las grandes subunidades. Así, se puede recordar de nuevo la principal función de la envoltura nuclear: separar en espacio y tiempo la transcripción de la traducción. La unión de los dos subunidades ribosomales se realiza únicamente en el citosol para iniciar la traducción de un ARNm citosólico.

8.5. CONTROL DE LA EXPRESIÓN DE GENES Y LA DIFERENCIACIÓN

Todas las células somáticas de un mismo organismo poseen una cantidad de ADN idéntica en sus núcleos, cualesquiera que sean sus especializaciones, es decir, que ellas contienen la totalidad de genes necesarios para el desarrollo del organismo entero, excepto los rearrreglos del genoma en los linfocitos implicados en la síntesis de anticuerpos. Esto quedó demostrado en la década de los setenta, cuando se realizó el traslado de un núcleo de una célula de intestino de rana adulta (enterocito) a un oocito de rana que le habían quitado su núcleo, este oocito se desarrolló como si fuera normalmente fecundado, originando una rana adulta normal. Las células somáticas de un organismo adulto poseen las mismas potencialidades. En el ser humano, el patrimonio genético es aproximadamente de 200.000 genes. La diferenciación de las células se debe a una expresión selectiva de genes, que varía en función de la especialización celular.

El control de la expresión génica comprende todos los procesos desde la activación de la transcripción de un gen hasta la ejecución de la función por la proteína ya madura codificada por el mismo gen. Tomando en cuenta la definición anterior de la expresión génica, sus controles pueden realizarse, al menos, durante 6 etapas diferentes: 1. control de la transcripción; 2. control de la maduración de los ARN; 3. control de la transferencia o exportación de los ARN del núcleo al citosol; 4. control de la traducción de los ARNm; 5. control de la degradación de los ARN; 6. control de la actividad y de la degradación de la proteína. Según el gen y la célula implicada, estos 6 niveles de control intervienen, pero todo indica que el más importante es el primero o sea la transcripción.

8.5.1. Mecanismos de control de la transcripción del ADN

Varios factores controlan la iniciación de la transcripción de los genes: 1. la estructura del ADN; 2. las histonas, y 3. las proteínas de regulación de la transcripción génica.

8.5.1.1. Estructura del ADN y de las histonas

La conformación del ADN y su organización con las histonas son factores que intervienen en la transcripción del ADN. Efectivamente, el ADN se encuentra en su forma más relajada o laxa (forma β) durante su transcripción, mientras que sus formas más condensadas (formas α y Z), generalmente, no están en transcripción. Hay que recordar que la transcripción se realiza sobre la cromatina de 10 a 11 nm de diámetro (Ver 8.2).

Hay dos enzimas que actúan sobre la fibra de ADN para disminuir la torsión o superenrollamiento de la fibra, de ahí su nombre de girasas I y II (topoisomerasa

en procariotes). La girasa I escinde a nivel de las uniones fosfodiéster de una de las dos hebras del ADN, gira con la hebra y vuelve a realizar esta unión. La girasa I interviene principalmente en la reparación y otros procesos locales del ADN, mientras que la girasa II actúa principalmente en la duplicación del ADN, se localiza en la fibra de ADN no duplicada o sea adelante del extremo de la horquilla de duplicación. La girasa II escinde al mismo tiempo dos uniones fosfodiéster paralelas en las dos hebras nucleotídicas del ADN, dándole un giro en sentido contrario a la torsión de la fibra del ADN, y por último vuelve a restablecer las dos uniones fosfodiéster. La doble hélice del ADN tiene que estar relajada para su duplicación y su transcripción. Las girasas intervienen para disminuir la condensación del ADN cuando se necesita. En general, las regiones hipometiladas o no metiladas del ADN son activas en la transcripción, y las hipermetiladas son inactivas. Aunque no se ha encontrado una relación directa de hipometilada y más relajada, si se sabe que la metilación favorece la condensación de la fibra y no permite su relajación, ni que las proteínas de regulación o las enzimas de la transcripción se acoplen o entren en contacto con la fibra del ADN. La levadura no tiene ADN metilado, pero regula la transcripción por otros mecanismos comunes para las células eucarióticas.

La condensación de uno de los dos cromosomas X (paterno o materno) en las hembras de los mamíferos se realiza por la metilación del ADN en este cromosoma después de unas semanas de la formación del cigoto. Esta condensación se hace al inicio al azar y se vuelve irreversible, es decir que se hereda durante las divisiones sucesivas de la misma célula. Por ejemplo, si en una célula el cromosoma X condensado es de origen paterno, las células hijas producto de la división de esta célula tendrán también el cromosoma paterno condensado. No se conoce el proceso de la desmetilación antes o durante la duplicación del ADN ni el mecanismo que determina su remetilación y no la metilación del otro cromosoma X.

Las ARNpolis actúan sobre las fibras de cromatina de 10 a 11 nm. Para que las enzimas puedan actuar tiene que incursionar sobre la fibra de ADN y desorganizar el nucleosoma. La participación de las histonas en los procesos de la transcripción fue ignorada por muchos años, creyendo que actuaban únicamente como una estructura estática en el empaquetamiento de la cromatina. Actualmente, se sabe que las histonas colaboran en el control de unión de las ARNpolis y de las proteínas del control de transcripción génica sobre la fibra de ADN.

Las observaciones en el ME muestran aparentemente que la organización de los nucleosomas se mantiene durante la transcripción del ADN, pero el núcleo de los nucleosomas se desorganiza y se reorganiza rápidamente. A medida que la ARNpoli transcribe la hebra de ADN en dirección 3' hacia 5', las histonas H2B se liberan del núcleo del nucleosoma e inmediatamente lo hacen las histonas H2A, quedando los dímeros de histonas H3-H4 muy cercanos (Fig. 8.11). Después que se hace la transcripción del ADN, el nucleosoma vuelve a reorganizarse rápidamente.

Los extremos amino terminales de las histonas en el octeto del nucleosoma se dirigen hacia el exterior del nucleosoma y pueden “cubrir” al ADN e interactuar con otras moléculas. Por ejemplo, los nucleosomas de genes activos se asocian selectivamente a dos tipos de proteínas no histónicas. La conformación exacta de los extremos amino terminales no se conoce, y no se puede generalizar para todos los nucleosomas la misma conformación, muchas moléculas de histonas H2A de la cromatina que se transcribe están ligadas de manera covalente a una ubiquitina. Cuando se construyen *in vitro* nucleosomas con histonas sin el extremo amino terminal con 160 pb de ADN, las ADNasas o nucleasas degradan muy fácilmente este ADN (Fig. 8.3 B), mientras que si se reconstruyen con histonas teniendo sus extremos amino terminales no se degrada el ADN tan fácilmente, al igual que los nucleosomas normales (Fig. 8.3 A). Las histonas, de una parte sirven de soporte en la formación de los nucleosomas, así intervienen en la primera condensación del ADN; de otra parte, intervienen en la protección del ADN contra las nucleasas e impiden la unión de proteínas reguladoras de la transcripción génica.

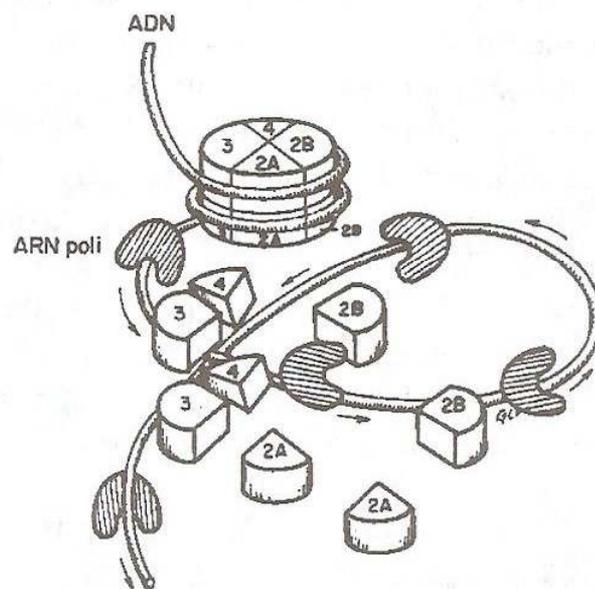


Figura 8.11. Modelo de la desorganización del nucleosoma durante la transcripción.

A medida que la ARN polimerasa transcribe se desorganiza el núcleo de histonas del nucleosoma. Después de la transcripción el núcleo de histonas se vuelve a organizar rápidamente con la fibra de ADN. ARNpoli: ARN polimerasa; Flechas: indican la dirección del desplazamiento de la ARNpoli sobre la fibra de ADN; 3: histona H3; 4: histona H4; 2A: histona H2A; 2B: histona H2B.

El nucleosoma es una estructura muy dinámica, se organiza y se desorganiza rápidamente dependiendo de las necesidades de la célula. Las histonas pueden ser acetiladas, metiladas o fosforiladas. Se sabe que algunas lisinas de las histonas son acetiladas para la relajación de la cromatina que aumenta en fase S durante la duplicación del ADN. En la cromatina condensada se encuentran algunas lisinas

de histonas metiladas, principalmente las de H3 y H4. En la fase G2 del ciclo celular (Ver 9.1) se realiza una metilación masiva de lisinas de las histonas que estabiliza más los cromosomas. La función exacta de la metilación de las histonas no se conoce aún, pero en las células que no se dividen la metilación de las histonas aumenta en la cromatina que no se transcribe formando nucleosomas más estables. Las serinas de las histonas son fosforiladas progresivamente durante el ciclo celular, y son necesarias para la condensación de la cromatina en cromosomas. Esta fosforilación debe disminuir después de la mitosis. Estas adiciones sobre las histonas son procesos reversibles y demuestran que las histonas de los nucleosomas no son solamente estructuras estáticas de empaquetamiento del ADN, sino que intervienen en las actividades de la cromatina.

Estas modificaciones de las histonas juegan un papel importante en la transcripción del ADN. El ADN tiene regiones de 6 a 8 pb de longitud que regulan la transcripción de un gen y se denominan regiones consenso, sobre las cuales se unen proteínas reguladoras de genes. Las H₄ acetiladas de secuencias consenso interactúan con otras proteínas para que se unan las proteínas reguladoras. La acetilación de los extremos amino terminales de las histonas H₂A y H₂B (en los aas 5 y 9; en los aas 5, 12, 15, y 20 respectivamente) desestabilizan el núcleo del nucleosoma, liberando la fibra del ADN que puede ser transcrita por la ARNpoli. Hay evidencias que indican que el octámero de histonas y en algunos casos la histona H1 intervienen en la activación y en la inactivación de los genes. Por ejemplo, el extremo carboxil terminal de la histona H1 interactúa con el extremo amino terminal de la H3 impidiendo la transcripción del ADN.

En muchas especies los nucleosomas tienen que desorganizarse para la transcripción del ADN, pero en *Drosophila melanogaster*, la transcripción por la ARNpoli III se realiza sin la desorganización de sus nucleosomas.

8.5.1.2. Proteínas de regulación de la transcripción génica

Existen proteínas, denominadas las proteínas de regulación de la transcripción, que inhiben (reprimen) o activan la transcripción de uno o varios genes. Esas proteínas se unen a secuencias específicas del ADN denominadas secuencias consenso. Este tipo de mecanismo se encuentra tanto en procariotes como en eucariotes.

En los procarióticos, el número de proteínas reguladoras es muy reducido, una proteína (factor s) puede inhibir o activar la transcripción. La secuencia consenso se descubrió primero en los procariotes y se la denominó **promotor**. Si el factor sigma se une a la secuencia promotora se promueve la transcripción. En esas células, se denomina **operón** el conjunto del promotor y la secuencia del ADN que transcribe (gen) para un ARNm controlada por este promotor. Este ARNm da origen generalmente a diferentes proteínas en las células procarióticas. Lo descrito anteriormente es válido únicamente para los genes que se expresan normal-

mente (constitutivamente), pero los genes que se expresan según la presencia de algunos metabolitos en el ambiente tienen un mecanismo de control diferente. En estos casos, los operones tienen dos secuencias consenso, o sea el promotor (Fig. 8.12 A SP) y una secuencia más denominada el regulador (Fig. 8.12 A SR). En las condiciones normales no se necesita la expresión de este tipo de genes, y la secuencia reguladora codifica una proteína represora que inhibe la transcripción de estos operones uniéndose sobre el promotor (Fig. 8.12 A R). El ejemplo más conocido es el operón *lac*, cuando la bacteria se encuentra en presencia sólo de lactosa y no glucosa, la proteína represora libera el sitio promotor inducido por la

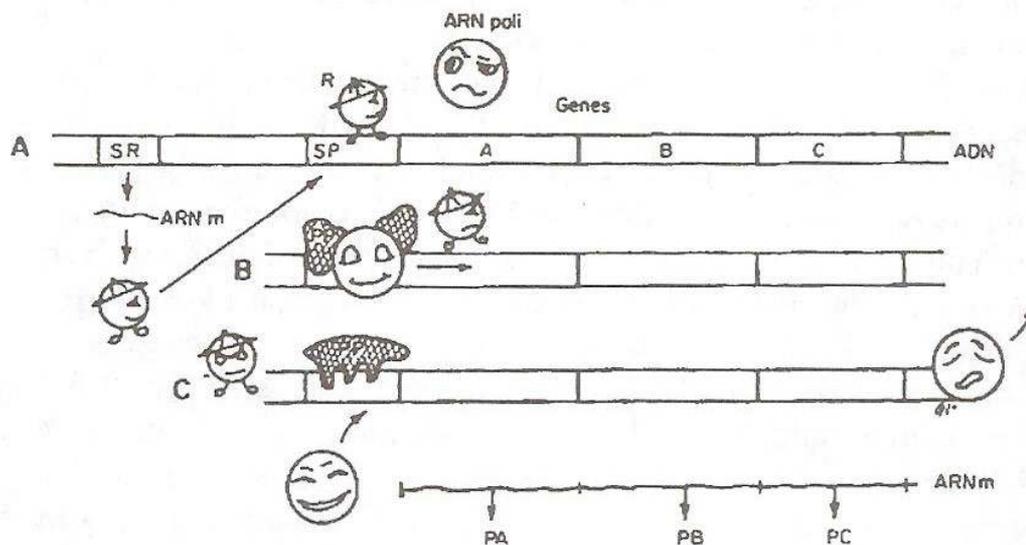


Figura 8.12. Esquema de la inhibición y la activación del operón *lac* de las células procarióticas.

A. El represor (R) codificado por la secuencia represora (SR), en condiciones normales o sea glucosa en el medio, inhibe la transcripción colocándose en el sitio promotor del operón.
 B. Cuando la bacteria está en presencia de lactosa sin glucosa, necesita la transcripción del operón *lac*, la proteína represora libera la secuencia promotora y se une la proteína promotora (PP) que permite a la ARNpoli iniciar la transcripción.
 C. La ARNpoli transcribe el ARNm que codifica para tres proteínas necesarias (PA, PB y PC) entre ellas a la β -galactosidasa para utilizar la lactosa. La transcripción continúa hasta que la célula no necesita más esas proteínas. La proteína represora vuelve a unirse a la secuencia promotora. SR: secuencia de ADN que codifica la proteína represora (R); SP: secuencia consenso promotora de la transcripción; ARNm: ARN mensajero; ARNpoli: ARN polimerasa; PP: proteína promotora de la transcripción; PA: proteína A; PB: proteína B; PC: proteína C.

lactosa permitiendo la unión de la proteína promotora al promotor (Fig. 8.12 B PP), lo que induce la transcripción del ARNm de este operón por la ARNpoli (Fig. 8.12 B). Este ARNm da origen a tres proteínas (Fig. 8.12 PA, PB y PC), entre ellas a la enzima β -galactosidasa que escinde la lactosa para formar galactosa y glucosa. La transcripción se continúa (Fig. 8.12 C) hasta que la bacteria no necesite más las proteínas sintetizadas o se cambie el medio de lactosa por glucosa, entonces, el represor vuelve a inhibir la transcripción (Fig. 8.12 A).

Tabla 8.2. Clasificación de las proteínas de unión al ADN.

El título de las familias y subfamilias corresponde al nombre químico que le han designado a cada familia por la región de la proteína que se une al ADN.

Proteínas reguladoras.	Funciones biológicas (Genes en los cuales actúan).
1. Proteínas con estructura hélice-vuelta-hélice.	
Represor de la lactosa	Metabolismo de azúcares en las bacterias.
CAP	β -Galactosidasa.
Represor del fago λ	Ciclo del bacteriófago λ . (λ -cl, λ -cro).
HNF3	Diferenciación del hígado. (Albúmina, TAT).
Histona H5	Estructura de la cromatina. (Todo el ADN).
<i>myb</i>	Control de la proliferación celular.
1.1. Homeodominios.	
Antenapedia, Paxo,	Desarrollo embrionario: insectos, vertebrados, plantas. Diferenciación de tejidos: hígado, riñón, hipófisis, linfocitos. Ferhormona, determinación del tipo sexual en la levadura. Múltiples funciones. (Inmunoglobulinas, histonas, virus del herpes).
Knotted I	
HNF1, Pit 1, Oct 2	
Mat- α 2	
Oct 1	
2. Dedos de zinc.	
TFIIA	Metabolismo en las células eucarióticas. (Genes de la ADN polimerasa III).
GATA 1	Diferenciación de los glóbulos rojos. (Globulinas).
Krüppel, Hunchback	Desarrollo embrionario insectos. (Numerosos otros genes reguladores).
Krox 20	Desarrollo del cerebro en los vertebrados.
Gal4	Metabolismo de galactosa en levaduras. (Galactosa-permeasa).
Hormonas esteroides	Mediación hormonal en los animales. (Múltiples genes).
HNF4	Diferenciación intestinal insectos y vertebrados. (TAT, HNF1).
3. Cierre o dedos de leucinas.	
C/EBP	Diferenciación del tejido hepático y adiposo. (Albúmina, TAT).
<i>jun, fos</i>	Control de la proliferación celular. (Múltiples genes).
GCN4	Metabolismo de los aminoácidos en la levadura. (Leu1, His4).
CREB, CREM	Mediación ínter e intracelulares. (TAT, receptor de células T).
4. Hélice-bucle-hélice.	
MyoD, miogenina	Diferenciación del músculo. (Actinas y miosinas).
<i>myc, mad, max</i>	Control de la proliferación y diferenciación celular.
Achaete-scute	Neurogénesis en la <i>Drosophila</i> .
5. Dominio HMG.	
HMG1	Estructura de la cromatina. (Todo el ADN).
UBF	Síntesis de proteínas. (Genes de los ARN ribosomales).
SRY, Ste 11	Determinación del tipo sexual: mamíferos y levadura.
LEF1	Diferenciación de los linfocitos. (Receptor de células T).
6. Otras estructuras de unión al ADN diferentes a los dedos.	
TPB ^o	Factor general de transcripción. (Todos los genes eucarióticos).
E2	Multiplicación del papiloma. (Oncogen viral E6 y E7).
Represor MetJ	Metabolismo de los aminoácidos en las bacterias.
p53	Antioncogén. (Ciclina quinasa dependiente WAF1/Cip1).

Estas últimas proteínas cubren al ADN, no tienen estructuras de dedos o de las salientes de cremallera.

^o *TATA-binding protein* o proteína de unión al promotor o caja TATA.

familias de proteínas que se unen al ADN, en función de la región específica de unión al ADN. En general, lo que caracteriza a las proteínas que se unen al ADN es la presencia de estructuras en forma de prolongaciones que salen de la proteína denominadas dedos que penetran entre los surcos del ADN e interactúan directamente con sus bases nitrogenadas.

Las primeras proteínas reguladoras de la transcripción en ser descritas fueron los factores de transcripción (TF) que permiten el inicio de la transcripción por la ARNpoli. La organización mejor conocida de los TF es la que se presenta en el promotor y el punto de iniciación de la transcripción por la ARNpoli II. Para las ARNpolis I y III se conocen la unión de algunos factores. Los mecanismos moleculares de las interacción de las proteínas de regulación con los TF son conocidos para la ARNpoli II y desconocidos para las ARNpolis I y III. Por ésto la descripción del control génico por las proteínas de regulación que se hace a continuación es para la ARNpoli II o sea la transcripción del ADN en ARNtp que da origen a un ARNm.

Los **factores de transcripción** de la ARNpoli II (TFII), denominados también **factores basales** permiten a la ARNpoli II localizar adecuadamente el punto de iniciación de la transcripción (pit) de un gen y la secuencia consenso promotora o caja TATA (Fig. 8.14 B), que se encuentra generalmente a 25 pb antes del pit de la transcripción. Un factor de transcripción puede estar constituido por varias proteínas o una sola. La primera proteína en unirse al ADN en la

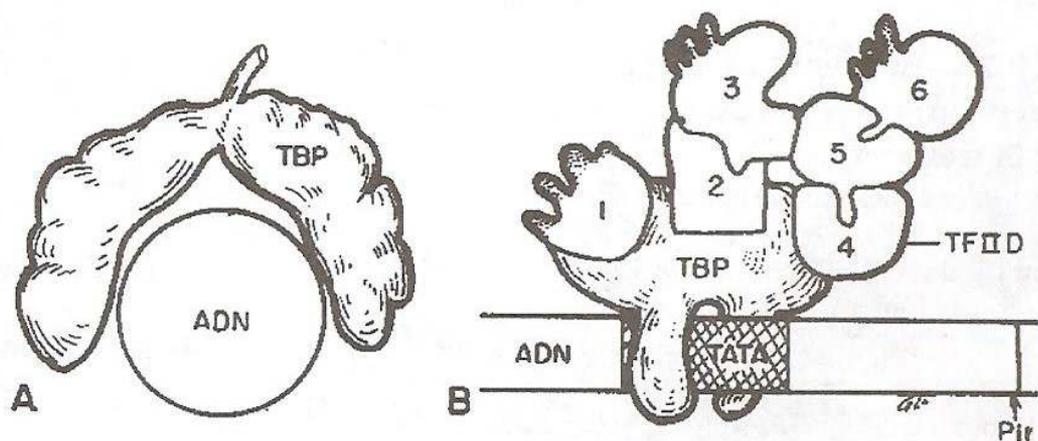


Figura 8.14. Ensamblaje del factor de transcripción D de la ARNpoli II (TFIID).

A. Vista transversal de la unión de la TBP (*TATA-binding protein*) a la secuencia del ADN promotor o caja TATA.

B. Ensamblaje de las TAFs (*multiple TBP-associated factors*, 1, 2, 3, 4, 5 y 6) para formar el factor de transcripción conocido como TFIID sobre el ADN. Las regiones esquematizadas como dedos de las TAFs 1, 3 y 6 son las que interactúan con otros factores de transcripción o coactivadores del gen. pit: punto de iniciación de la transcripción; TATA: caja TATA o secuencia promotora.

secuencia promotora o caja TATA es la proteína de unión al ADN o TBP (*TATA-binding protein*) (Fig. 8.14 A), ésto permite el ensamblaje del primer factor de transcripción o TFIID alrededor de la fibra de ADN (Fig. 8.14 B). Este ensamblaje se realiza gradualmente sobre la TBP, pueden intervenir 5 o 6 proteínas denominadas TAFs (*multiple TBP-associated factors*) que se organizan en un complejo asociado a la TBP y forman el TFIID. La TBP fue la primera proteína en ser descrita que sin estructura de dedos se une al ADN, lo hace cubriendo la secuencia promotora (Fig. 8.14 A).

El TFIID es el único componente de los factores de transcripción que se une al ADN por intermedio de la TBP. Sobre este primer factor se ensamblan otros factores de transcripción, los TFIIA, TFIIB, TFIIF, TFIIE y TFIIH (Fig. 8.15 A) u otros dependiendo del gen. Una vez organizados los TF sobre el promotor, la

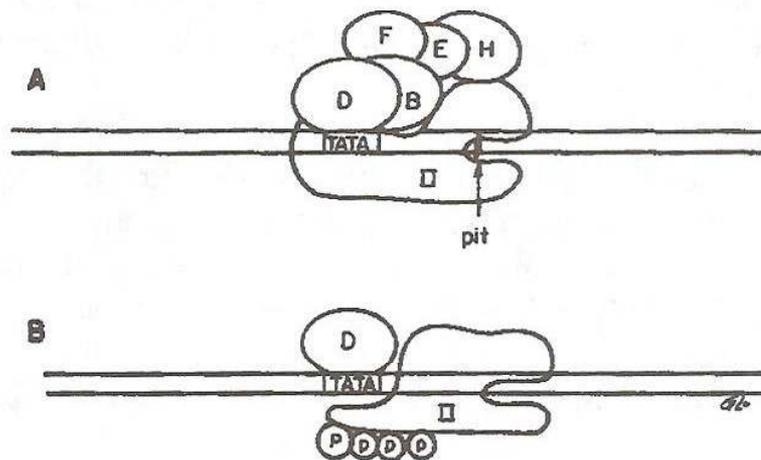


Figura 8.15. Esquema de organización de los factores de transcripción sobre el promotor para que la ARNpoli II se ubique adecuadamente para iniciar la transcripción.

Las letras designan el factor de transcripción correspondiente a la ARNpoli II (TFII), así la D es el TFIID, B el TFIIB, E el TFIIE, F el TFIIF y H el TFIIH.

A. Ensamblaje de los TFII sobre el TFIID, el TFIIH es el último en unirse y fosforila la ARNpoli II para que pueda iniciar la transcripción.

B. Liberación de los factores de transcripción excepto el TFIID, así la ARNpoli II fosforilada puede iniciar la transcripción.

TATA: promotor o caja TATA; II: ARN polimerasa II; pit: punto de iniciación de la transcripción.

ARNpoli II se coloca adecuadamente reconociendo el sitio promotor y el punto de iniciación de la transcripción. El último o sea el TFIIH fosforila la ARNpoli II para que pueda iniciar la transcripción (Fig. 8.15 B). Estos factores de transcripción o basales son esenciales para la iniciación de todos los genes que codifiquen para un ARNm. Pueden desorganizarse cuando la ARNpoli II se ha ubicado correctamente (Fig. 8.15 B) e inicie la transcripción, o pueden quedarse sobre la fibra de ADN para permitir la transcripción del gen por otras ARNpoli II.

En la tabla 8.3. se resumen los diferentes factores de transcripción descritos para la ARNpoli II y las propiedades que se conocen. Hay muchos otros factores de transcripción que controlan directamente la transcripción como el NFkB descrito en apoptosis (Ver 3.3.2.4); y los descritos en el ciclo celular, el Elk2, el E2F, y los FT *jun* y *fos* que cuando se unen forman el complejo *jun/fos* o proteína AP1 que es reguladora de genes (Ver 9.4.5).

Tabla 8.3. Características de los factores de transcripción de los genes que codifican los ARNm.

Las letras minúsculas en levadura, letras griegas en rata y letras mayúscula en el hombre designan a los diferentes factores de transcripción. Las diferentes cifras de la columna de kD indican el peso molecular.

Levadura		Rata		Hombre		
Factor	kD	Factor	kD	Factor	kD	
d (TBP)	27	t (factor TATA nativo)	ND	Complejo TFIID [BTF1]	250, 125, 95, 78, 50, 38 (TBP)	§
e	41	α	35	TFIIB [BTF3, CBI]	35	&
b	85,75,50	δ	94, 85, 68, 46, 43, 40, 38, 35	BTF2 [CBII]	90, 62, 43, 41, 35	*
				TFIIH	95, 33	
g°	105, 54, 30	βγ	67, 31	RAP 30/74, TFIIF, FC	74, 30	*
a°	66, 43	ε	58, 34	TFIIE [BTF2]	58, 34	*
				TFIIG	—	
				TFIIF	—	
TFIIA [£]	32, 13, 5			?	43	
[STF, AB]						

[] Este paréntesis contiene los nombres alternativos.

§ Interactúan con el promotor o caja TATA. Para la ARNpoli I se denomina complejo SL1.

& Interactúa con la ARNpoli II y el TFIIE

* Probablemente forman multicomponentes que interactúan con la ARNpoli II y el TFIIB.

El complejo TFIIE-TFIIF-RAP 30/74 puede asociarse con una ATPasa.

° No es claro como se relacionan con los factores de iniciación en los mamíferos.

£ Es indispensable para estabilizar la dTBP.

TFII: Factor de transcripción de la ADN polimerasa II; TBP: *TATA-binding protein*. (Sawadogo y Sentenac, 1990; Comai y col., 1992; Conaway y Conaway, 1993).

Las proteínas de regulación fuertemente **activadoras** (en el hombre, la primera proteína en ser identificada fue la Sp1) y las **represoras** o inhibidoras de la transcripción de genes se unen a las secuencias consenso intensificadoras e inhibidoras respectivamente y determinan la tasa de transcripción. Éstas moléculas pueden variar de un gen a otro. Pueden unirse directamente a los TFII para algunos genes, la Sp1 se une al TFIIE y activan la transcripción de otros genes por medio de otras proteínas de control denominadas **coactivadoras**, que interactúan con las proteínas de los factores de transcripción y al mismo tiempo con las proteínas de regulación (Fig. 8.16).

El ensamblaje de proteínas sobre la región promotora de un gen representado en la figura 8.16 permite muchas posibilidades de interacciones entre ellas, y entonces con pocas proteínas reguladoras se puede activar o inactivar muchos genes en la célula. También existen proteínas denominadas maestras (*masters*) reguladoras, puesto que ellas regulan varios genes al mismo tiempo, activando unos e inhibiendo otros, como es el caso durante la formación de la fibra del músculo estriado. Se sabe que una proteína maestra regula la diferenciación de los músculos estriados, esta proteína activa los genes de las proteínas características del músculo estriado como la actina, la miosina II, la tropomiosina, las troponinas, etc, que forman la fibra muscular y la fusión de los miocitos durante el desarrollo (Fig. 7.5 A).

En fibroblastos cultivados que se manipularon para que se exprese esta proteína maestra reguladora del músculo se inicia la síntesis de las proteínas que caracterizan al músculo estriado y se observa la organización actinmiosina similar a la de los músculos estriados. Los fibroblastos toman el aspecto de miocitos y terminan fusionándose.

Una sola proteína reguladora puede activar la transcripción de un gen. En las células que secretan la hormona somatostatina, el incremento del AMPc tiene como efecto activar la proteína quinasa A (PKA) que a su vez fosforila una proteína de regulación que activa la transcripción del gen de la somatostatina. La secuencia consenso reguladora de este gen se denomina *cyclic AMP response element* (CRE). La proteína reguladora que se une a la secuencia CRE del ADN se llama proteína de unión a la secuencia CRE (CREB) y la región que se une al ADN presenta dos dominios de dedos de zinc. La PKA fosforila una serina de la CREB que la activa, luego se une al ADN, lo que activa la transcripción del gen de la somatostatina por intermedio del TFIIB. La proteína CREB es inhibida por la protooncoproteína E1A. Otros genes son activados por el AMPc y la proteína CREB. Pero existen también tres proteínas CREMs con dos dominios de dedos de zinc antagonistas que inhiben la respuesta transcripcional inducida por el AMPc. En las células germinales del testículo, con el desarrollo hormonal, se activan los genes CREM que intervienen en la espermiogénesis.

Para la transcripción del ADN es necesario desestabilizar la interacción de la región amino terminal de la H1 con el ADN, o la interacción de la H3 con la H1 cuando existe (Fig. 8.17 A). Lo primero que ocurre es la unión del factor de transcripción sobre el ADN de unión entre dos nucleosomas que se encuentra en

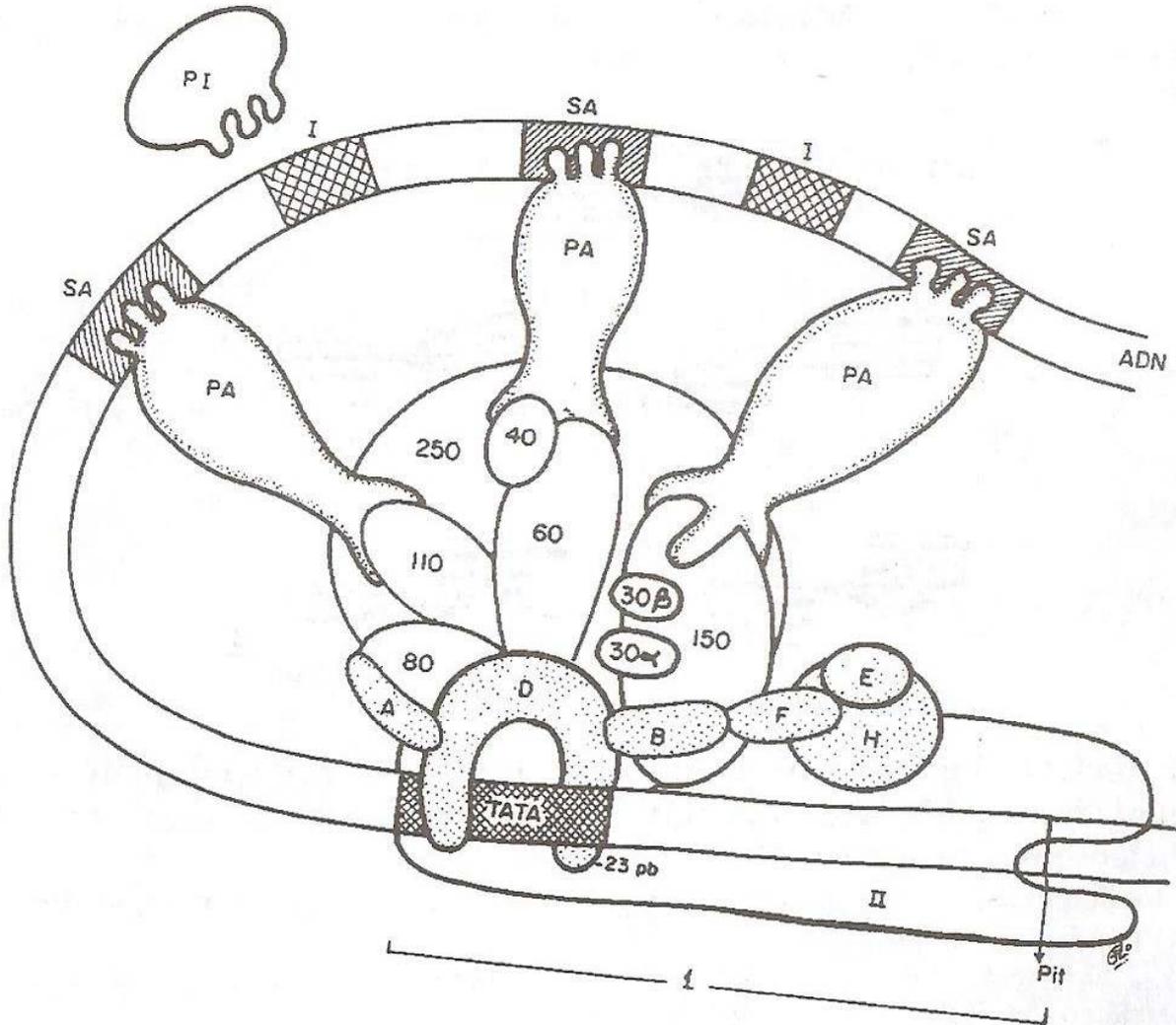


Figura 8.16. Esquema de los diferentes factores de transcripción en relación con las proteínas coactivadoras y las reguladoras de las secuencias intensificadoras.

Los factores de transcripción (A, B, D, E, F y H) son indispensables para la transcripción. Las proteínas de regulación fuertemente activadoras (PA) se unen a las secuencias intensificadoras (SA) y aumentan la tasa de transcripción. Para algunos genes las PA actúan por intermedio de proteínas coactivadores (números arábigos). El número 1 muestra la región reconocida por el ARNpoli II (II) que incluye la secuencia promotora y el punto de iniciación de la transcripción (pit). Estos mismos mecanismos pueden presentarse con las proteínas inhibidoras (PI) que se unen a las secuencias consenso inhibitoras (I) para inhibir la transcripción (Modificado a partir de Tjian, 1995).

TATA: secuencia promotora de la transcripción de los ARNm; -23 pb: el número de pares de bases que generalmente separa a la secuencia promotora del punto de inicio de la transcripción.

contacto con la H1, y luego la liberación de esta H1 del nucleosoma, presumiblemente por la interacción del factor con la región C-terminal de la H1 que desestabilizaría la interacción N-terminal de la H1 con el ADN o la H3 (Fig. 8.17 B.F y C.F). Así, se relaja la cadena de ADN (Fig. 8.17 D) y el nucleosoma se vuelve susceptible para su interacción con otros factores de transcripción o proteínas (Fig. 8.17 E.G). Además, el octeto del nucleosoma se desorganiza parcialmente facilitando la iniciación de la transcripción.

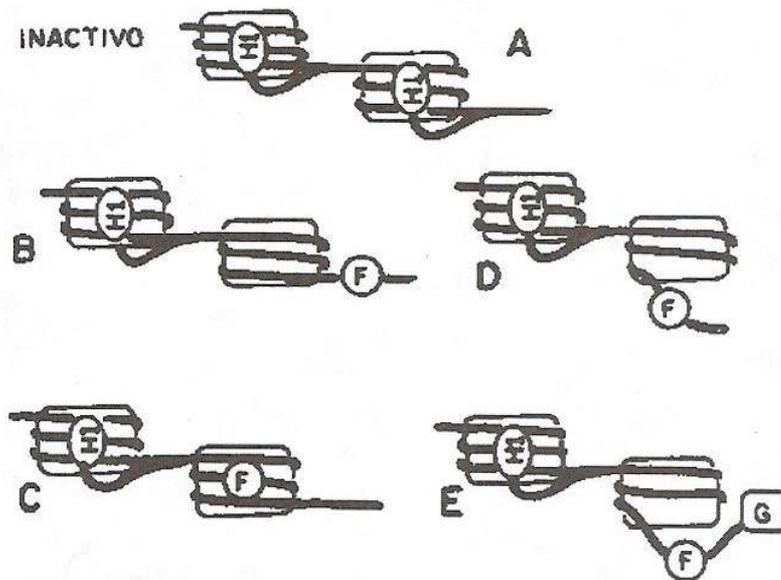


Figura 8.17. Posible mecanismos de interacción de las proteínas reguladoras en las regiones consenso del ADN para desorganizar los nucleosomas de la cromatina.

A. Las histonas H1 (H1) se encuentran en el exterior de los nucleosomas de la cromatina de 10 a 11 nm (Felsenfeld, 1992).

B y C. La histona H1 es liberada por la interacción del factor de transcripción (F) con el ADN de unión o con el ADN del nucleosoma.

D. El factor de transcripción se une al ADN y el nucleosoma se desorganiza.

E. Otros factores o proteínas (G) pueden unirse al ADN o al factor de transcripción.

Todo lo anterior permite que la secuencia consenso promotora de la transcripción y las secuencias consenso intensificadoras o activadoras queden libres de histonas, así, los diferentes factores de iniciación de la transcripción pueden interactuar para que se inicie la transcripción (Fig. 8.18). La

ARNpoli II es fosforilada por el factor de transcripción II H (Fig. 8.15 H) en cuatro sitios para que pueda iniciar la transcripción. Los factores de transcripción en general se liberan del sitio promotor una vez iniciada la transcripción.

Los genes de una misma familia pueden estar bajo el control de un juego de proteínas de regulación génica sobre una misma secuencia consenso de regula-

ción como ocurre con los genes de las diferentes globinas humanas. Durante los tres primeros meses de vida intrauterina se expresa principalmente la ϵ -globina, luego se expresan las γ^G -globina y la γ^A -globina hasta el nacimiento. En el momento del nacimiento decae abruptamente la expresión de las γ^G - y γ^A -globinas y se inicia la expresión de la β -globina que será la que sintetizará durante toda la vida extrauterina. Estos cuatro genes de las globinas y la δ -globina están bajo la

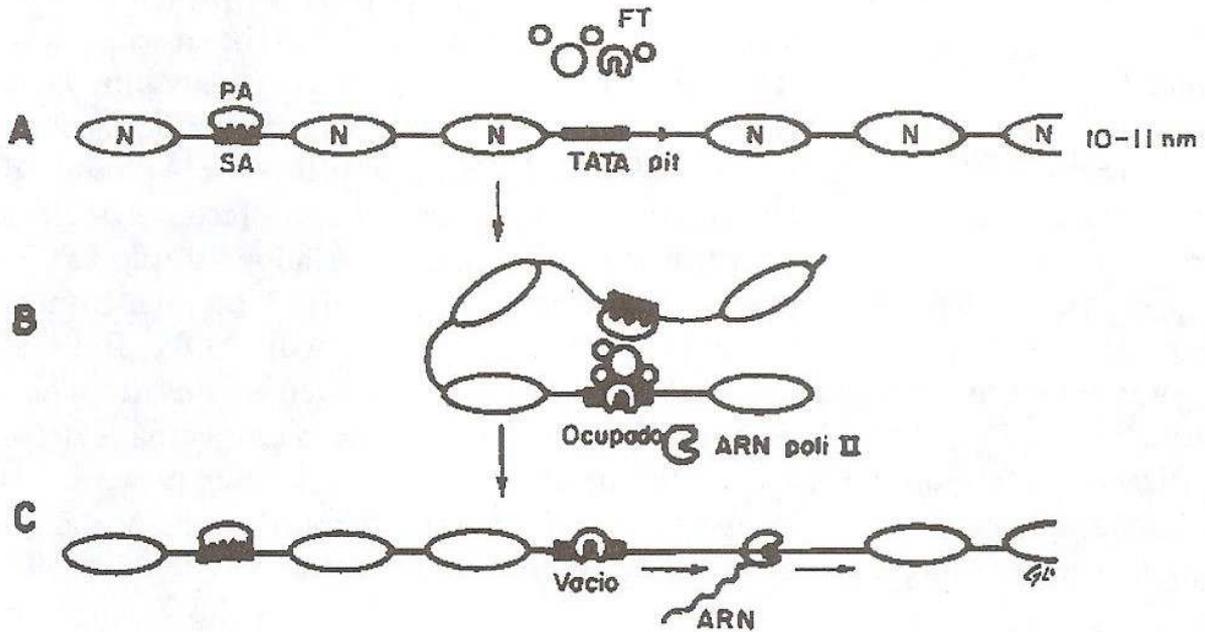


Figura 8.18. Esquema de iniciación de la transcripción mostrando la cromatina de 11 nm.

A. La proteína reguladora (PA) se une a la secuencia intensificadora (SA) y los factores de transcripción (FT) se organizan sobre el promotor (TATA).

B. Los factores de transcripción organizados sobre el promotor interactúan con la proteína reguladora de la secuencia intensificadora. La ARN polimerasa II puede unirse al ADN reconociendo el promotor y el punto de iniciación de la transcripción.

C. Al inicio de la transcripción se desorganiza el primer nucleosoma del ADN que está siendo transcrito, los factores de transcripción también se desorganizan.

N: nucleosoma; ARNpoli II: ARN polimerasa II; ARN: ARN transcrito primario (Modificado a partir de Felsenfeld, 1992).

misma secuencia de control del ADN, denominada *locus control regions* (LCR), porque se unen diferentes proteínas reguladoras para permitir la expresión de uno o de otro gen. Se han descrito siete proteínas de control génico que se une a este LCR y de acuerdo a la combinaciones de estas proteínas sobre la secuencia LCR del ADN determinan el tipo de globina que será transcrito y por ende traducido en proteína. No se conoce con exactitud cómo interactúan las proteínas, y tampoco cómo se relacionan con los factores de transcripción, se piensa que deben interactuar entre ellas de una forma similar a lo descrito en la figura 8.16, para

controlar el gen que se debe expresar. La forma de la cromatina participa también en este control. Se sabe que la cromatina condensada de un gen específico se descondensa para que pueda ser transcrito, por ejemplo, en las células hematopoyéticas, la cromatina del gen de la β -globina se descondensa en el momento del nacimiento.

En resumen, el control del inicio de la transcripción génica en las células eucarióticas implica dos etapas. Primero, un juego particular de proteínas de regulación que provocan un relajamiento de la estructura de la cromatina en la vecindad de los sitios específicos. Ésto implica mecanismos de reconocimiento de secuencias específicas del ADN. En una segunda etapa, los factores de transcripción permiten la interacción adecuada de la ARNpoli al promotor y al punto de iniciación de transcripción del gen que va a ser transcrito. Estos factores de transcripción a su vez están bajo el control de las proteínas coactivadoras y éstas a su vez bajo el control de proteínas reguladoras activadoras o inactivadoras que se unen a secuencias intensificadoras o inhibidoras de la transcripción del ADN. Todo este enjambre de proteínas activa o inhibe la transcripción de genes específicos en la cromatina de 10 a 11 nm de diámetro. Los nucleosomas de la cromatina se desorganizan en las regiones consenso y durante la transcripción. Existen proteínas, las maestras, que controlan un grupo de genes al mismo tiempo, también una sola proteína reguladora puede activar la transcripción de un gen.

8.5.2. Control de la expresión génica por la maduración diferencial del ARN transcrito primario

La maduración de un ARNtp puede dar origen a diferentes ARNm por ende a diferentes proteínas a partir de una misma secuencia de ADN. Este tipo de control en la maduración del ARNtp se hace por la escisión y fusión de intrones y exones diferentes, a este proceso se le denomina maduración alternativa del ARN o *alternative RNA splicing*. La proteína PKTsrc tiene niveles altos de expresión en algunos tipos celulares y su expresión presenta una maduración alternativa del ARN específico según el tipo celular donde se expresa. En las plaquetas, osteoclastos y neuronas se expresa 5 a 200 veces más que en otros tipos celulares. Generalmente el ARNtp presenta 12 exones y 11 intrones, pero en las neuronas se encuentran 13 exones y 12 intrones; el exón adicional codifica para un sitio extra de fosforilación, lo que le da a la molécula una actividad más específica de su función y mayor control en su activación.

En una misma célula puede variar la maduración alternativa del ARNtp. Los linfocitos B no estimulados sintetizan anticuerpos (o inmunoglobulinas, Ig) de membrana, los cuales presentan en el extremo carboxil terminal la señal de pare (*stop*) de transferencia peptídica (Fig. 5.10), mientras que los linfocitos B estimu-

lados secretan esas mismas inmunoglobulinas o anticuerpos. En los linfocitos B no estimulados, las inmunoglobulinas (Ig) de membrana que sintetizan son receptores de membrana. Estos anticuerpos pueden ser inmunoglobulinas M o D de superficie de la membrana (IgM o IgD), ambos codificados por el mismo gen, la diferencia estriba en la maduración alternativa del ARNtp (Fig. 8.19), la región del ARNm que codifica la secuencia de señal de pare funciona como un exón durante la maduración alternativa del ARNtp en el ARNm (Fig. 8.19 4 y 5). Para el ARNm de la IgM en el ARNtp se encuentran dos intrones en el extremo 3' (Fig. 8.19 I-IgM y II-IgM), mientras que para el ARNm de la IgD sólo se encuentra un intrón en la misma secuencia del ARNtp (Fig. 8.19 I-IgD).

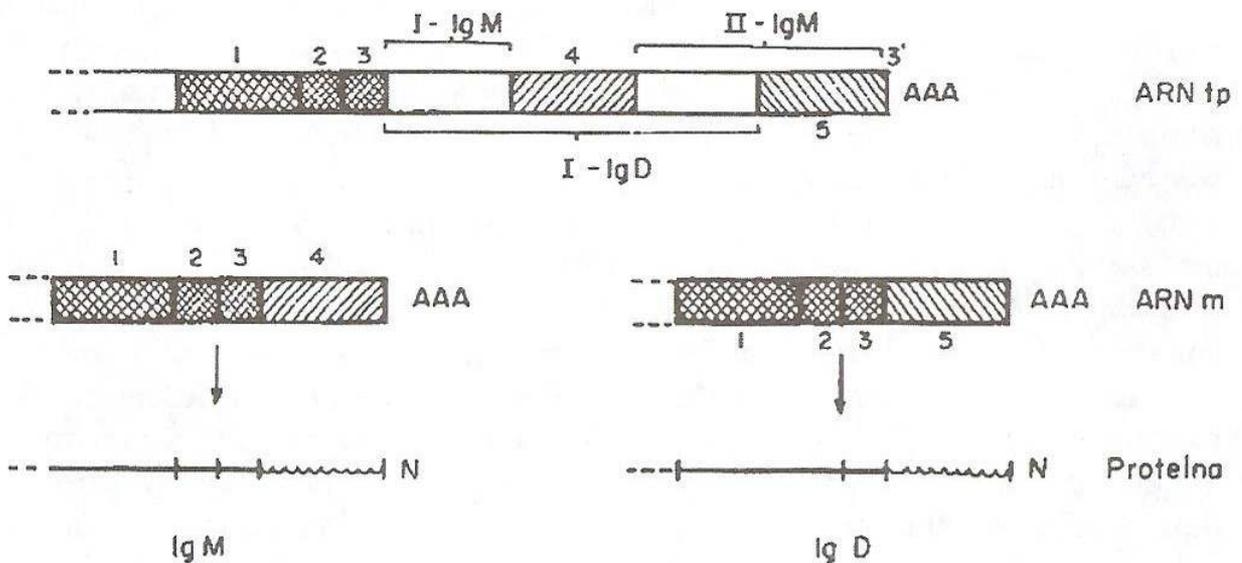


Figura 8.19. Esquema de la maduración alternativa del gen que codifica para las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas de membrana.

Solo se muestra el extremo 3' del ARNtp del gen que codifica la cadena pesada de las inmunoglobulinas. El ARNtp presenta los exones en números arábigos y los intrones en números romanos seguidos de la sigla de la inmunoglobulina correspondiente. Los exones 4 y 5 cada uno codifica para un péptido de señal de pare de transferencia para la IgM y la IgD respectivamente. El ARNm de la IgM se forma por la fusión de los exones 1, 2, 3 y 4 y la eliminación de los intrones I-IgM y II-IgM. Mientras que el ARNm de la IgD se forma por la fusión de los exones 1, 2, 3 y 5 y la eliminación del intrón I-IgD.

AAA: cola poliadenílica de los ARNm; ARNtp: ARN transcrito primario; ARNm: ARN mensajero; IgM: inmunoglobulina M de membrana linfocitos B; IgD: inmunoglobulina D de membrana de los linfocitos B; I-IgM y II-IgM: intrones de la IgM; I-IgD: intrón de la IgD.

En los linfocitos B estimulados, a partir del mismo ARNtp que viene de ser mencionado, se forman ARN mensajeros que codifican las inmunoglobulinas M y D (IgM o IgD) solubles y secretadas por los linfocitos B, o sea que la región del ARNtp que codifica para los aas de la señal de pare de transferencia son elimina-

dos como un intrón durante la maduración alternativa del ARN^{tp}, en el ejemplo de la figura 8.19 los exones 4 y 5 serían eliminados como intrones para formar el ARNm de las IgM y IgD solubles.

8.5.3. Efectos de las hormonas esteroides sobre la expresión génica

Una célula puede responder a los cambios del medio exterior también con cambios en la expresión de sus genes. Los efectos de las hormonas esteroides y tiroideas sobre la transcripción del ADN son los mejor conocidos (Fig. 3.15 R1; Ver 3.3.1). La acción primaria de estas hormonas sobre sus células diana es la estimulación de la síntesis de ARNm, y luego la síntesis de proteínas específicas. Las células diana contienen receptores intracelulares específicos para estas hormonas. El carácter hidrofóbico de los esteroides les permite atravesar la membrana plasmática por simple difusión, pero sólo en las células diana, la unión de la hormona a su receptor le impide salir de la célula, lo que no es el caso en las células que no tienen esos receptores. Los receptores son de naturaleza proteica y son ellos que aseguran la selectividad de la respuesta ante un tipo de hormona dada, ya que tienen dedos de zinc que les permite unirse al ADN (Fig. 3.3). Los genes activados son sin embargo diferentes según el tipo celular y la hormona.

Para las hormonas esteroides, se admite en general que el receptor libre se encuentra en el citosol, donde se forma el complejo entre la hormona y el receptor, excepto los receptores de estrógenos, pues se han encontrado receptores libres en el núcleo. La formación del complejo hormona-receptor induce un cambio de configuración del receptor, liberando la región de dedos de zinc que se unirá al ADN. Cuando la hormona esteroide entra en la célula diana se activan las proteínas de choque térmico 70 que facilitan el transporte de estos receptores con su hormona a través del citosol y su importación a través del complejo del poro nuclear. En el núcleo los sitios de unión al ADN del receptor le permite fijarse al ADN en las secuencias consenso. El promedio del número de receptores de las hormonas esteroides es 10.000 por célula diana.

En el hombre se conoce casos de seodhermafroditismo donde los caracteres sexuales secundarios no se desarrollan, y no se trata de una simple deficiencia de andrógenos (esos individuos no responden a la inyección de andrógenos), pero si a una ausencia de receptores intracelulares para los andrógenos en el seno de las células diana. De otra parte, el efecto de las hormonas esteroides sobre ciertas células tumorales parece ligado a la presencia de receptores intracelulares. Así, ciertos cánceres del seno se desarrollan bajo la influencia de estrógenos circulantes. En estos casos, la utilización de antihormonas (tamoxifen), o la extirpación del órgano que secreta los estrógenos (ovarios, suprarrenales) será favorable. Poner en evidencia los receptores para los estrógenos es utilizado en el diagnóstico y contribuye a la escogencia terapéutica.

Las hormonas tiroideas (T3 y T4) son igualmente hormonas que se unen a receptores intracelulares. Se han detectado receptores en el citosol, en el núcleo y en las mitocondrias. Su mecanismo de acción parece similar a las hormonas esteroideas. Estos receptores son proteínas que se unen al ADN. Tienen una afinidad 10 veces más para la T3 que para la T4. Varios ADNc (ADN complementario de un ARNm, sintetizado por la ingeniería genética) relacionados con los receptores de hormonas tiroideas fueron clonados. Esto indica que las células podrían expresar más de una proteína como receptor para las hormonas tiroideas. La vida media de estos receptores es de 4,5 horas, tiene un peso molecular de 5 kD y se encuentran 15.000 a 20.000 receptores por célula.

Las hormonas tiroideas tienen efectos importantes sobre el crecimiento, el desarrollo, y las funciones metabólicas de casi todos los tejidos y órganos del ser humano y otros organismos superiores. Aunque la T3 es secretada por la glándula tiroidea, una parte significativa se deriva de la conversión periférica de la T4 en T3 por las enzimas 5' -desiodinasas en varios tejidos. La T3 es casi 10 veces más activa que la T4. La T3 y la T4, unidas a sus receptores, ejercen sus efectos directamente activando o inhibiendo la transcripción de genes.

8.5.4. Control de la expresión génica asociada a la infección viral

En la infección viral, primero se introduce el genoma viral al citoplasma celular, y luego es importado al núcleo, donde va a inducir la formación de ARNm específicos y duplicarse. Se trata de un sabotaje por el virus de la maquinaria de síntesis de la célula y una toma de su control. Durante una primera fase, denominada precoz, los ARNm y las proteínas sintetizadas bajo el control del virus infectante corresponden esencialmente a las enzimas necesarias para la multiplicación del virus. Durante la fase tardía, que es la de la multiplicación activa, los ácidos nucleicos y las proteínas sintetizadas son los constituyentes de nuevas partículas virales. La síntesis de ácidos nucleicos virales se hace esencialmente en el núcleo, las de proteínas en el citoplasma, a nivel del RER y de los polirribosomas. La nucleocapside, es decir el ácido nucleico viral y las proteínas estrechamente ligadas a él, se ensambla en el núcleo, que puede mostrar la presencia de numerosas partículas virales en el ME. Las nucleocapsides emigran enseguida al citoplasma y, en el caso de virus con envoltura, esta última es abastecida por una porción modificada de la membrana plasmática de la célula huésped (Fig. 5.24).

En muchos casos de infección viral se produce interferones que disminuyen o bloquean la multiplicación viral en las células, es otro tipo de activación de genes por la presencia del virus. La secreción de interferones puede ser detectada en el organismo al cabo de pocas horas seguidas a la infección y precede entonces largamente a la aparición de anticuerpos circulantes. La defensa aportada por los interferones es desde luego probablemente la más eficaz al inicio de la infección,

cuando las partículas virales están todavía en bajas concentraciones en el organismo. Hay que anotar que los interferones, a parte de sus propiedades antivirales, inhiben la división celular y afectan ciertas células del sistema inmunitario.

8.6. TRANSFERENCIA DE GENES EN LAS CÉLULAS EUCARIÓTICAS

8.6.1. Modelos *in vitro*

Utilizando las técnicas de recombinación de genes (ADN recombinante), es posible inyectar genes en células pro y eucarióticas que permiten su expresión. Esta técnica se denomina **transfección**. Existen numerosos ejemplos de incorporación de genes humanos y de su expresión en bacterias como la insulina, el interferón o la hormona de crecimiento. De otra parte, la incorporación de fragmentos del genoma de eucariotes en bacteriófagos permite obtener la síntesis de esos genes por bacterias, en vista de su ulterior empleo. De este modo, las genotecas o bibliotecas de genes eucarióticos han podido ser constituidas. Existe también la posibilidad de realizar la transferencia de uno o de un pequeño número de genes "extranjeros" en una célula eucariótica, para obtener la expresión permanente del o de los genes extranjeros. La utilización de células eucarióticas en experiencias de recombinación de genes es más complejo y más difícil que aquella de bacterias. Ella solo permite, sin embargo, considerar la síntesis de proteínas eucarióticas que requieren modificaciones después de la síntesis de su cadena peptídica, por ejemplo en el complejo de Golgi. Actualmente, el dominio de las técnicas de transferencia de genes en las células eucarióticas permiten pensar en el tratamiento de anomalías genéticas por una terapia basada sobre el remplazo de genes defectuosos.

Existen actualmente dos métodos para la transferencia de un gen determinado en las células en cultivo. El primer método consiste en insertar el gen de interés dentro del ácido nucléico de un virus defectivo a ADN o a ARN e infectar entonces las células con el virus. Así, se ha podido realizar la expresión de genes (la síntesis de proteínas) deseadas en las células eucarióticas.

El segundo método, utilizado con más frecuencia, consiste en formar un coprecipitado de fosfato de calcio y del ADN. Cuando las células en cultivo son expuestas a tales coprecipitados, una pequeña proporción de células (aproximadamente uno por mil) incorporan un gen presente en el ADN y lo expresan. Para la mayoría de células, esta expresión será transitoria, pero un muy pequeño número (una por un millón o menos, proporcional a la población inicial) van a integrar el gen de manera permanente. Dado su débil rendimiento, se utiliza un medio de selección más refinado, por ejemplo, añadir un gen que permita la supervivencia de las células que solamente lo captan y lo expresen, dentro de un medio de cultivo que no permite la supervivencia de las otras células. De esta manera se pueden aislar las células donde la transferencia y expresión de los genes hayan sido efectiva.

Este método que utiliza el coprecipitado de ADN y de fosfato de calcio es puramente empírico. Se cree que el fosfato de calcio interviene protegiendo el ADN de la acción de nucleasas. El modo de la penetración del ADN en la célula es desconocido. Particularmente, se ignora cómo la molécula de ADN puede atravesar la membrana plasmática, la membrana de estructuras endocitarias o lisosomas, si estas últimas están implicadas.

8.6.2. Modelos *In vivo*

El primer oncogen que se determinó fue un gen que se encontró inicialmente en los retrovirus, específicamente el virus del sarcoma de Rous, y la proteína que codifica es la oncogénica viral *v-src*. A partir de este descubrimiento los retrovirus adquirieron una importancia muy grande en la biología del cáncer y de las células normales. Los retrovirus se caracterizan por tener su genoma bajo la forma de una hebra monocatenaria de ARN y cuando infectan al huésped, presentan una enzima muy particular que permite la transcripción inversa, es decir, a partir de una hebra de ARN forma una doble hebra de ADN, que la misma enzima incorpora dentro del ADN cromosómico de la célula huésped. Esta enzima tan especial se denomina una **transcriptasa inversa** o **retrotranscriptasa**, que se pensaba que sólo existía en los retrovirus, posteriormente se encontró que puede usar como molde el ARN o el ADN. En algunos retrovirus la inserción del ADN viral al ADN del huésped lo hace una integrasa, mientras que otros virus no necesitan la integrasa para su integración y son denominados **retrotransposones**, la integración del ADN viral al huésped la realiza la misma enzima transcriptasa inversa denominada **retrotransposasa**.

Las células eucarióticas normales pueden duplicar pequeños segmentos del ADN e insertarlo en otro sitio de la cromatina, a esos fragmentos de ADN por homología al ADN de los retrovirus se les denominan **elementos transposables** de ADN y a las enzimas que intervienen **transposasas**. Efectivamente, en los núcleos de las células eucarióticas se encontraron tres clases de enzimas eucarióticas similares a la transcriptasa inversa de los retrovirus o transposasas. La base de la clasificación de las transposasas es que tienen diferentes extremos de reconocimiento sobre el ADN que van a duplicar y traslocar a otro sitio del ADN. Cuando el segmento de ADN es duplicado, la enzima puede amplificar ese mismo gen en tándem o una sola copia del elemento transposable y luego lo insertan en otro sitio del ADN. Para algunos elementos transposables su inserción es realizada por la integrasa que corta el ADN donde las transposasas añadirán el elemento transposable y la misma integrasa fusiona el ADN de la cromatina con el ADN del elemento transposable. Como algunos elementos transposables de ADN son amplificados en tándem, ésto podría explicar parcialmente la existencia de una cantidad grande del ADN repetitivo (10% del ADN del genoma eucariótico es repetitivo) en las células eucarióticas. Cuando el elemento transposable no se amplifica

y se traslada de una región del ADN a otra del mismo cromosoma o de otro cromosoma puede dar origen a variaciones pequeñas en ciertos genes como el de las globinas descritas anteriormente.

Si se toman dos genes A y B cada uno con sus respectivos intrones y exones, codificarán para las proteínas A y B. Si el gen A presenta una secuencia que puede ser reconocida por una transposasa, formará un elemento transposable que podrá insertar en el gen B y así formar un nuevo gen muy similar al A y al B (Fig. 8.20). Es así que se piensa que se formaron los genes de las globinas descritos anteriormente, por combinación de estos elementos transposables en el curso de la evolución y que posteriormente estas mutaciones quedaron instaladas en el ADN, porque su presencia favorecieron a los organismos.

Se piensa que la transferencia de genes *in vivo*, de una especie a otra, fue realizada por los virus durante la evolución biológica (Ver 10.4.2). Actualmente, el mejor modelo experimental de transferencia de genes *in vivo* se realiza en animales convirtiéndolos en transgénicos (Ver 10.4.9 y Fig. 10.4).

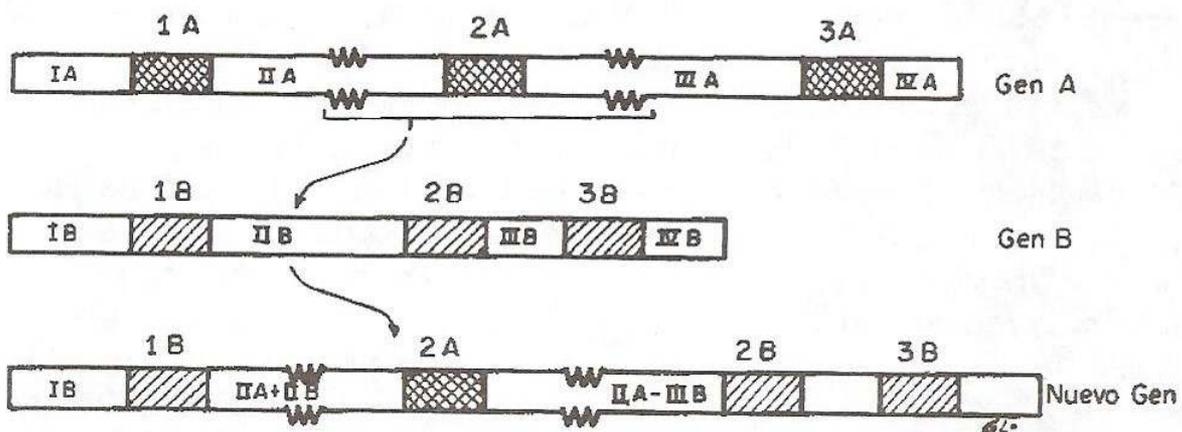


Figura 8.20. Duplicación y translocación de un elemento transposable.

Dentro de los intrones IIA y IIIA del gen A se encuentran las señales (líneas en zigzag) de un elemento transposable que una transposasa celular reconoce, duplica y lo inserta dentro del intrón IIB del gen B. Con la inserción del elemento transposable del gen A dentro del gen B se forma un nuevo gen "mezcla" de los genes A y B.

1A, 2A y 3A: exones del gen A; 1B, 2B y 3B: exones del gen B; IA, IIA, IIIA y IVA: intrones del gen A; IB, IIB, IIIB y IVB: intrones del gen B.

8.7. ORGANIZACIÓN Y EVOLUCIÓN DE LAS SECUENCIAS DEL ADN

8.7.1. Mantenimiento de los genes

Si la supervivencia de una especie, a largo plazo, puede ser favorecida por la existencia de mutaciones, modificaciones de la hebra del ADN, la supervivencia a

corto plazo exige la estabilidad del patrimonio genético dentro de límites estrechos. Ésto es cierto tanto para las células somáticas como para las células germinales. En efecto, mutaciones somáticas pueden, por ejemplo, generar un crecimiento incontrolado. Así, se admite que la mayoría de los cánceres derivan de una sola célula anormal; de otra parte, las sustancias cancerígenas, o sus productos de degradación, son mutagénicas. La tasa de mutaciones que afecta el genoma de células eucarióticas puede ser evaluada de manera objetiva comparando las secuencias de aas en el seno de una misma proteína en varias especies diferentes. Análisis de este tipo sugieren que una proteína media (± 400 aas) sufre una modificación aleatoria de un aminoácido cada 200.000 años.

La tasa de mutación es una característica importante, pues ella limita en práctica el número de proteínas esenciales que un organismo puede codificar de manera estable en sus células germinales. Basado en estimaciones de la tasa de mutación, este número límite ha sido evaluado en alrededor de 30.000 para las células de mamíferos. En otros términos, una tasa de mutación 10 veces más alta limitaría en los mamíferos alrededor de 3.000 proteínas esenciales. Por lo tanto, la tasa de mutación en las células es mucho más baja que lo que se podría esperar de simples efectos de la agitación sobre las cadenas del ADN: se ha evaluado, por ejemplo, que en cada célula humana, aproximadamente 5.000 bases púricas (adenina y guanina) son perdidas por día, simplemente por ruptura espontánea de su unión a la desoxiribosa (depurinación). En los hechos, sobre un período de un año, solo algunos cambios afectan el ADN de cada célula humana: esto se debe a la existencia de un sistema de reparación. Esto último se basa en la redundancia de la información traída por la estructura complementaria de cadenas oligonucleotídicas del ADN, y sobre la existencia de un juego de una cincuenta enzimas, llamadas enzimas de reparación del ADN. Este conjunto de enzimas incluyen nucleasas de reparación, que reparan las lesiones de depurinación mencionadas más arriba y permiten la escisión de regiones dañadas, en vista de la reconstrucción de una nueva cadena. También incluye igualmente glicosilasas del ADN, cada una reconoce un tipo de base modificado y cataliza su eliminación por hidrólisis. El número de enzimas implicadas en el fenómeno de reparación testifica la importancia de la inversión hecha por la célula para el mantenimiento del ADN.

8.7.2. ADN repetitivo

Una implicación importante de la limitación en el número de proteínas esenciales por la tasa de mutación es que aun que el genoma haploide de las células de los mamíferos (3×10^9 pares de bases nucleotídicas) podría codificar, alrededor de 3 millones de proteínas, requiriendo cada una 1.000 bases del código, el ADN no

controla sino un repertorio mucho más limitado aproximadamente de 30.000 proteínas. En otras palabras, solo 10% del genoma codifica así para las proteínas esenciales. La existencia de intrones, que no codifican para una secuencia de aas, no permite explicar a ella sola el exceso del ADN. De otra parte se ha constatado que el ADN de las células de los mamíferos incluyen secuencias repetidas, que son además susceptibles de tasas de mutaciones mucho más importantes que las que afectan las secuencias codificantes. Esas secuencias repetidas pueden formar hasta 30% de la masa del ADN en los mamíferos.

El 10% del ADN repetitivo corresponde a lo que se llama los ADN satélites, porque históricamente su composición particular en bases permitía separarlas de la masa del ADN. En los ADN satélites, el motivo repetido incluye habitualmente 170 a 250 nucleótidos, aunque secuencias solamente de algunos nucleótidos pueden igualmente encontrarse. Los ADN satélites no son transcritos en ARN; ellos pertenecen mayoritariamente a la heterocromatina asociada a los centrómeros y a las regiones teloméricas de los cromosomas. Sus secuencias se modifican rápidamente en el curso de la evolución.

El resto del ADN repetitivo de los eucariotes ($\pm 20\%$ del ADN total) incluye secuencias cortas, diseminadas en el conjunto del genoma, en lugar de repetirse en grupos como los ADN satélites. Estos ADN repetidos diseminados incluyen hasta varios cientos de miles de ejemplares, de una longitud media de 300 nucleótidos, y ellos pueden ser transcritos en ARN. Las secuencias del ADN repetido diseminado parecen más estables desde el punto de vista evolutivo que las de los ADN satélites. Varias funciones han sido sugeridas para las secuencias del ADN repetido diseminado. Ellas podrían representar puntos de origen de la duplicación, señales para la maduración de los ARN, o elementos de regulación de la transcripción, o elementos estructurales de los cromosomas.

Hay que anotar que los 3 genes amplificados fisiológicamente del genoma eucariótico (los ARNr, los ARNt y los genes de las histonas) representan un porcentaje muy pequeño ($< 1\%$) del ADN del genoma, o sea muy poco del ADN repetitivo.

Existen muchas enfermedades genéticas cuyos mecanismos moleculares son conocidos actualmente. Este tema muy amplio no se tratará en el contexto de este libro.

Aunque la duplicación del ADN se realice en un período específico de la interfase del núcleo, se la estudiará en el capítulo siguiente del ciclo celular.

8.8. BIBLIOGRAFÍA

- Bardwell, V.J., M. Wickens, S. Bienroth, W. Keller, B.S. Sproat & A.I. Lemond. *Site-directed ribose methylation identifies 2'-OH groups in polyadenylation substrates critical for AAUAAA recognition and Poly(A) addition*. Cell, 65: 125 - 133, 1991.
- Barr, M.L. & E.G. Bartan. *A morphological distinction between neurons of the male and female, and the behavior of the nuclear satellite during accelerated nucleoprotein synthesis*. Nature, 163: 676 - 677, 1949.
- Brent, G.A., D.D. Moore & P.R. Larsen. *Thyroid hormone regulation of gene expression*. Annu. Rev. Physiol., 53: 17 - 35, 1991.
- Comai, L., N. Tanese & R. Tjian. *The TATA binding protein and associated factors are integral components of the RNA polymerase I transcription factor, SL1*. Cell, 68: 965 - 976, 1992.
- Conaway, R.C. & J. Weliky Conaway. *General initiation factors for RNA polymerase II*. Annu. Rev. Biochem., 62: 161 - 190, 1993.
- Croston, E. & J.T. Kadonaga. *Role of chromatin structure in the regulation of transcription by RNA polymerase II*. Curr. Opin. Cell Biol., 5: 417 - 423, 1993.
- Davidson, N.O. & Shieness G.S. *Apolipoprotein B: mRNA editing, lipoprotein assembly, and presecretory degradation*. Annu. Rev. Nutr., 20: 169 - 193, 2000.
- Durrin, L.K., R.K. Mann, P. Kayne & M. Grunstein. *Yeast histone H4 N-terminal sequence is required for promoter activation in vivo*. Cell, 65: 1023 - 1031, 1991.
- Evans, R.M. & J. Newport. *Nucleus and gene expression*. Curr. Opin. Cell Biol., 5: 383 - 394, 1993.
- Felsenfeld, G. *Chromatin as an essential part of the transcriptional mechanism*. Nature, 355: 219 - 223, 1992.
- Foisner, R. & L. Gerace. *Integral membrane proteins of the nuclear envelope interact with lamins and chromosomes, and binding is modulated by mitotic phosphorylation*. Cell, 73: 1267 - 1279, 1993.
- Grunstein, M. *Histones as regulators of genes*. Sci. Ame., Octubre: 40-47, 1992.
- Han, M. & M. Grunstein. *Nucleosome loss activates yeast downstream promoter in vivo*. Cell, 55: 1137 - 1145, 1988.
- Hicks, G.R. & N.V. Raikhel. *Protein import into the nucleus: An integrated view*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 11: 155 - 188, 1995.
- Hinshaw, J.E., B.O. Carragher & R.A. Milligan. *Structure and design of the nuclear pore complex*. Cell, 116: 15 - 30, 1992.
- Holliday, R. *A different kind of inheritance*. Sci. Ame., 260 (6): 40-48, 1989.
- Horváth, A., E.A. Berry & D.A. Maslov. *Translation of the edited mRNA for cytochrome b in trypanosome mitochondria*. Science, 287: 1620 - 1639, 2000.
- Hurt, E & G. Schütz. *Nucleus and gene expression. Nuclear compartments and nuclear machines*. Curr. Opin. Cell Biol., 10: 301 - 303, 1998.
- Innerarity, T.L., J Borén, S. Yamanaka & S-O. Olofsson. *Biosynthesis of apoprotein B48-containing lipoproteins*. J. Biol. Chem., 274 (5): 2353 - 2356, 1996.

- Kornberg, R. & A. Klug. *The nucleosome*. Sci. Ame., 244 (2): 48-60, 1981.
- Maeder, D.L. & Bohm. *The C-domain in the H1 histone is structurally conserved*". Biochem. Biophys. Acta, 1076: 233-238, 1991.
- McGhee, J.D. & G. Felsenfeld *Nucleosome structure*. Ann. Rev. Biochem., 49: 1115 - 1156, 1980.
- Mitchell, P. & R. Tjian. *Transcriptional regulation in mammalian cells by sequences-specific ADN binding proteins*. Science, 242: 371 - 378, 1989.
- Nehrbass, U., M.P. Rout, S. Maguire, G. Blobel & R.W. Wozniak. *The yeast nucleoporin Nup188p interacts genetically and physically with the core structures of the nuclear pore complex*. J. Cell Biol., 133 (6): 1153 - 1162, 1996.
- Newmeyer, D.D. *The nuclear pore complex and nucleocytoplasmic transport*. Curr. Opin. Cell Biol., 5: 395 - 407, 1993.
- Panté, N. & U. Aebi. *The nuclear pore complex*. J. Cell Biol., 122 (5): 977 - 984, 1993.
- Philpott, A. & G.H. Leno. *Nucleoplasmin remodels sperm chromatin in Xenopus eggs extracts*. Cell, 69: 759 - 767, 1992.
- Ring, D. & R.D. Cole. *Close contacts between H1 histone molecules in nuclei*. J. Biol. Chem., 258: 15361 - 15364, 1983.
- Sassone-Corsi, P. *Transcription factors responsive to cAMP*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 11: 355 - 377, 1995.
- Sawadongo, M. & A. Sentenac. *RNA polymerase B (II) and general transcripcion factors*. Annu. Rev. Biochem., 59: 711 - 754, 1990.
- Shaw, P.J. & E.G. Jordan. *The nucleolus*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 11: 93 - 121, 1995.
- Spector, D.L. *Macromolecular domains within the cell nucleus*. Annu. Rev. Cell Biol., 9: 265 - 15, 1993.
- Thomas, Sh.M. & J.S. Brugge. *Cellular functions regulated by src family kinases*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 13: 513 - 609, 1997.
- Tjian, R. *Mecanismo molecular del control génico*. Inv. Cien., Abril: 20 - 27, 1995.
- Whitlock J.P.Jr. & A. Stein. *Folding of DNA by histones which lack their NH2-terminal regions*. J. Biol. Chem., 253: 3857 - 3861, 1978.
- Zabel, U., V. Doye, H. Tekotte, R. Wepf, P. Grandi & E.C. Hurt. *Nic96p is required for nuclear pore formation and functionally interacts with a novel nucleoporin, Nup188p*. J. Cell Biol., 133: 1131- 1152, 1996.