

EL NÚCLEO CELULAR

Gonzalo Vásquez, Biol, MSc, Carlos Mario Muñetón, Biol, MSc,
Profesores Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina
Universidad de Antioquia.

Características generales de los componentes nucleares

El núcleo celular

El núcleo fue descrito por primer vez en 1700 por Leeuwenhoek, quien lo observó en eritrocitos de salmón. Posteriormente fue referenciado por Fontana 1781 y considerado por Brown 1833, en sus estudios de plantas fanerógamas, como un componente normal de las células.

En la mayoría de las células eucariotas hay un solo núcleo aunque en algunas células pueden haber dos: como ocurre en el hígado, la glándula suprarrenal (corteza y médula), el epitelio de vías urinarias y las células de Purkinje del corazón. También son células multinucleadas los osteoclastos, las fibras musculares esqueléticas, el sincitiotrofoblasto placentario y epitelios epidérmicos de algunos invertebrados.

En las células que normalmente se dividen, el tamaño del núcleo guarda relación con el citoplasma; con base en esto, se pueden comparar los tamaños nucleares en diferentes células de un mismo individuo: si al tamaño del núcleo de un hepatocito le damos el valor 1, los linfocitos tienen un núcleo de un tamaño de $\frac{1}{4}$, mientras que las espermátidas, los granos del cerebelo y las neuronas bipolares de la retina tienen un tamaño de un $\frac{1}{2}$.

La forma del núcleo no es estática sino cambiante. En general, la forma nuclear se adapta a la configuración de la célula; el núcleo es redondo en células embrionarias y cúbicas, elíptico en células cilíndricas, fusiforme en fibroblastos y músculo, aplanado en epitelios planos y endotelios; en las células de Sertoli del testículo de mamíferos es ramificado entre los leucocitos sanguíneos también varía (Figura 1): linfocitos es redondeado o ligeramente oval, en neutrófilos esta dividido entre dos y cinco lóbulos conectados por un filamento, en eosinófilos y basófilos es bilobulado y. Por lo general, el tamaño del núcleo en una célula humana esferoide alcanza un diámetro de $6\mu\text{m}$.

La posición del núcleo en la célula es generalmente central, pero puede variar debido a la polarización de la célula y la influencia de otros componentes. Así, en las células secretoras, el núcleo se localiza en la base, en el mús-



Figura 1. Forma y posición de diferentes tipos de núcleos. En esta figura se esquematizan los leucocitos con sus diversas formas de núcleos; éstas son las células nucleadas que se encuentran circulantes en el torrente circulatorio humano.

culo esquelético en posiciones laterales y en las células plasmáticas, en una posición excéntrica.

La importancia del núcleo se puede deducir de los siguientes 3 hechos fundamentales:

- Es indispensable para la vida de la célula. La supresión del núcleo causa la muerte celular.
- Rige la diferenciación celular. En experimentos de fusión celular donde los núcleos que se encuentran en diferentes fases del ciclo (G1, S, G2) es posible inducir la diferenciación celular a otra célula.
- Conserva la potencialidad en células diferenciadas. En el desarrollo embrionario, a partir de un primer núcleo (el cigoto) se forman todas las células del individuo, sin embargo las células somáticas que se forman, mantienen en su núcleo la información del individuo.

El **núcleo** es el centro de control de la célula eucariota y es metabólicamente activo durante el crecimiento o diferenciación celular, replicación del ADN y síntesis de RNA ribosomal (RNAr), RNA de transferencia (RNAt), y RNA mensajero (RNAm). Dentro del núcleo el RNAm está unido a proteínas específicas, formando partículas de ribonucleoproteínas. En la mayoría de las células, el RNAr es sintetizado en los nucléolos, un subcompartimiento del núcleo que no está unido a la membrana fosfolipídica. Algunas proteínas ribosomales están unidas a los RNAs ribosomales dentro del nucléolo.

Casi todo el ADN en las células eucariotas está confinado en el núcleo, el cual ocupa alrededor del 10% del volumen celular. En el núcleo que no está en división, los cromosomas están dispersos y no están lo suficientemente condensados como para ser observados al microscopio de luz. En el microscopio electrónico, las regiones no nucleolares del núcleo, denominadas nucleoplasma, pueden observarse como áreas coloreadas oscuras y claras. Las áreas oscuras, frecuentemente están unidas a la membrana nuclear y contienen ADN en forma de heterocromatina, lo cual se descifra más adelante. (Figura 2).

La envoltura nuclear

El núcleo está delimitado por una envoltura nuclear formada por dos membranas concéntricas de bicapa lipídica, las cuales están perforadas a intervalos por los poros nucleares, a través de estos se produce el transporte activo de determinadas moléculas entre el núcleo y el citoplasma.

La envoltura nuclear está conectada directamente con la membrana del retículo endoplasmático y se mantiene por

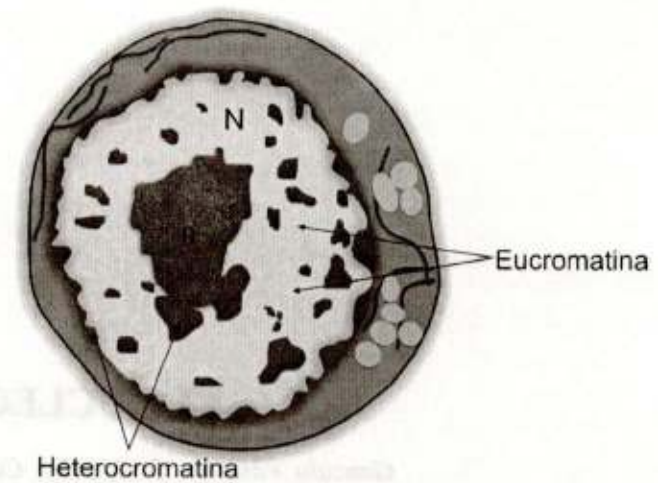


Figura 2. Esquema del núcleo de una célula eucariótica. En esta figura se presentan los componentes más importantes del núcleo celular. El nucléolo (n) es un subdominio del núcleo, el cual no se encuentra rodeado por una membrana. También se evidencian los dos tipos de cromatina que se encuentran en un núcleo en interfase: una altamente condensada conocida como heterocromatina y otra poco condensada que es la eucromatina.

dos redes de filamentos intermedios: una denominada *lámina nuclear*, formada por una fina lámina que recubre la membrana nuclear interna, mientras que la otra, organizada de forma menos regular, rodea la membrana nuclear externa, la cual puede tener ribosomas adheridos a ellas (Figura 3).

Nuécleo

El nucléolo es una estructura esférica, es la estructura más patente núcleo de una célula mitótica y está rodeada por nucleoplasma sin una membrana que lo delimite. El nucléolo contiene elevadas concentraciones de RNA y de proteínas (fosfoproteínas); como ya se mencionó, su función principal es la síntesis del RNA ribosómico y el ensamblaje de los ribosomas.

Cada nucléolo es producido por una región organizadora del nucléolo (NOR) u organizador nucleolar específico localizada en un sitio particular de un **cromosoma organizador del nucléolo** específico. Además, dicho organelo permanece adherido a la NOR. Un genoma puede incluir uno o más cromosomas organizadores del nucléolo y, por lo tanto puede haber uno o más nucléolos en el mismo núcleo. En muchos casos la NOR está localizada cerca del extremo de un cromosoma, una pequeña perilla o *satélite* del cromosoma se proyecta más allá de la NOR.

En el complemento cromosómico humano, los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22 son organizadores

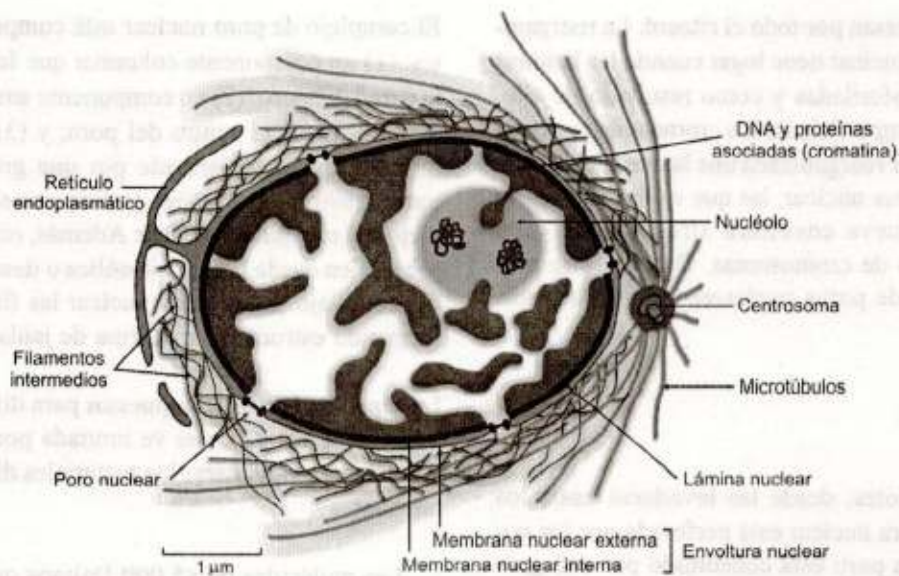


Figura 3. Esquema de la sección transversal de un núcleo. El núcleo se encuentra cubierto por una envoltura nuclear a su vez formada por una membrana externa y otra interna; esta estructura tiene como característica la presencia de poros nucleares que permiten una comunicación directa con el citosol. También se presentan otros componentes importantes de la estructura nuclear: cromatina, nucléolo, centrosoma y filamentos intermedios.

nucleolares y cada uno presenta un satélite en el extremo del brazo corto.

El nucléolo es una fábrica para la síntesis de los cuatro tipos de rRNA ribosomal, que expresados en unidades S, son: un RNA de 18 S, en la subunidad menor del ribosoma y tres de 28S, 5.8S y 5S en la subunidad mayor. Los RNAr sintetizados en el núcleo se transcriben a partir de la unidad de transcripción del RNAr precursor. Esta unidad, denominada antiguamente cistrón, corresponde a un gen de copias múltiples de la NOR. Un transcrito de 45S, se procesa en el nucléolo para su conversión en moléculas de RNA maduro de 18S, 28S y 5.8S. Estos RNAr se reúnen con el RNA de 5S producido en el nucleoplasma y con proteínas de la subunidad ribosómica importadas del citoplasma, para formar precursores de subunidades ribosómicas en el nucléolo. Las subunidades maduran en el límite nuclear o en el citoplasma inmediatamente adyacente una vez han sido transportados fuera del núcleo (Figura 4).

Lámina Nuclear

La **lámina nuclear** es una red de subunidades proteicas interconectadas denominadas **láminas nucleares**. Son un tipo especial de filamentos intermedios que polarizan formando una red bidimensional. La lámina nuclear da forma y estabilidad a la envoltura nuclear, a la cual se halla anclada por la unión de los poros nucleares y la membrana nuclear interna. También se cree que la cromatina interacciona directamente con la lámina nuclear, por lo

que la lámina proporciona una unión estructural entre el ADN y la envoltura nuclear.

La lámina nuclear comprende tres polipéptidos principales denominados: lámina A (72 kDa), lámina B (dos subtipos B₁ 65 kDa y B₂ 78 kDa) y lámina C (62 kDa). En la mitosis temprana, el factor promotor de mitosis (FPM) fosforila los residuos específicos de serina en las tres láminas nucleares, causando la despolimerización de los filamentos intermedios y la ruptura de la envoltura nuclear, formando vesículas de membrana, las cuales, junto con el conte-

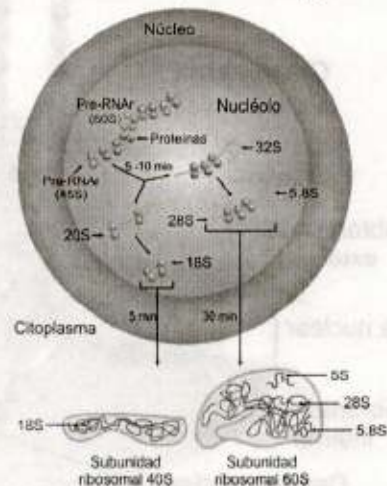


Figura 4. Procesamiento del pre-RNA. El nucléolo es una estructura esférica evidente en el núcleo de una célula mitótica cuya principal función es la síntesis del RNA ribosómico y el ensamblaje de los ribosomas. Esto hace que haya una alta tasa de transcripción y de procesamiento de las moléculas de RNA para dar origen a las moléculas maduras de RNA ribosomal que luego son exportadas al citoplasma.

nido nuclear se dispersan por todo el citosol. La reorganización de la lámina nuclear tiene lugar cuando las láminas nucleares son desfosforiladas y como resultado de ello, repolimerizan en la superficie de los cromosomas; entonces, la lámina nuclear reorganizada une las vesículas de la envoltura membranosa nuclear, las que se fusionan entre sí formando una nueva envoltura alrededor de cada cromosoma o grupo de cromosomas. Durante este proceso los complejos de poros nucleares también se reorganizan.

Poros Nucleares

Estructura

En todos los eucariotes, desde las levaduras hasta los humanos, la envoltura nuclear está perforada por los *poros nucleares*. Cada poro está constituido por una gran estructura discoidal conocida como el **complejo del poro nuclear**, que se ha estimado que tiene un peso molecular promedio de 125 millones de Daltons y se cree que está compuesto por más de 100 proteínas diferentes llamadas **nucleoporinas**.

Los poros son muy abundantes en las células embrionarias, en células inmaduras y, en general, en las células muy activas que necesitan un grado considerable de transferencia entre el núcleo y el citoplasma; se considera que, en promedio, la envoltura nuclear puede tener entre 3000-4000 poros nucleares.

El complejo de poro nuclear está compuesto de tres partes: (1) un componente columnar que forma el grueso de la pared del poro; (2) un componente anular, que extiende "radios" hacia el centro del poro; y (3) un componente luminal, que está formado por una gran glucoproteína transmembrana que se cree participa en el anclaje del complejo a la membrana nuclear. Además, existen fibrillas que sobresalen desde la cara citosólica o desde la cara nuclear del complejo. En la parte nuclear las fibrillas convergen formando estructuras en forma de jaula (Figura 5).

La capacidad de los compuestos para difundir libremente a través de los poros se ve limitada por su tamaño, y es conveniente considerar los materiales divididos según su tamaño:

- Las moléculas de <5.000 Daltons que se inyectan en el citoplasma aparecen en forma casi instantánea en el núcleo: podemos concluir que la envoltura nuclear es permeable a los iones, nucleótidos, y otras moléculas pequeñas.
- Las proteínas de 5-50 kDa difunden a una velocidad que está inversamente relacionada con su tamaño, presumiblemente determinada por contactos aleatorios con el poro durante el paso del mismo.
- Las proteínas de tamaño >50 kDa no entran en el núcleo por difusión pasiva; para su paso se necesita un mecanismo de transporte activo.

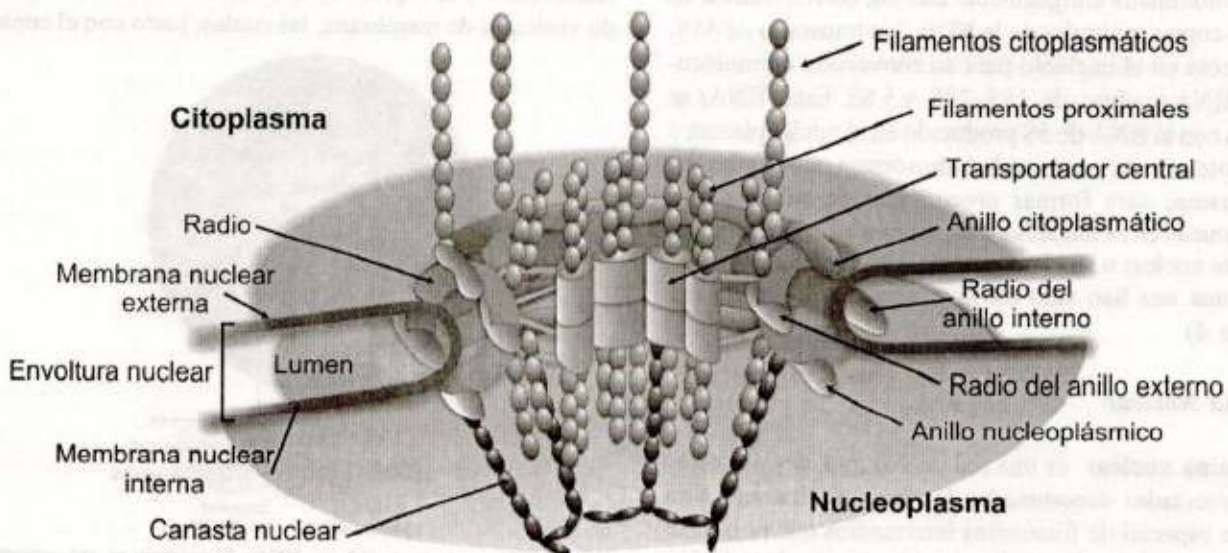


Figura 5. Complejo del poro nuclear. Esquema que representa un pequeño fragmento de la envoltura nuclear. En la sección transversal el complejo del poro nuclear aparece conformado principalmente por tres partes: un componente columnar que forma el grueso de la pared del poro, un componente anular y un componente luminal.

1.5 Transporte entre núcleo y citoplasma

Existen múltiples vías de transporte en cada dirección entre el núcleo y el citoplasma. Existen por lo menos dos clases de vías diferentes para la importación de proteínas y cada clase de RNA es exportado por un sistema diferente (Figura 6). Una *proteína transportadora* lleva el sustrato a través del poro. La proteína transportadora debe entonces retornar a través de la membrana para funcionar en otro ciclo. Cada proteína transportadora reconoce un tipo particular de secuencia en su sustrato, definiendo de ésta forma la especificidad del sistema. El motivo o dominio más frecuente responsable de la importación en el núcleo se llama **señal de localización nuclear (NLS)**. Su presencia en una proteína citosólica es necesaria y suficiente para favorecer su importación al núcleo.

La interacción inicial de una proteína nuclear con el complejo de poro nuclear requiere una proteína citosólica que se une a las señales de localización nuclear y colabora dirigiendo a la proteína nuclear hacia el complejo de poro, donde parece que se une a las fibrillas que se proyectan a partir del anillo del complejo; luego, la proteína nuclear se desplaza hacia el centro del complejo de poro, donde es transportada activamente a través de la envoltura nuclear mediante un proceso que requiere la hidrólisis de ATP.

También existen otras señales diferentes para el transporte de los diversos tipos de RNA y proteínas asociadas

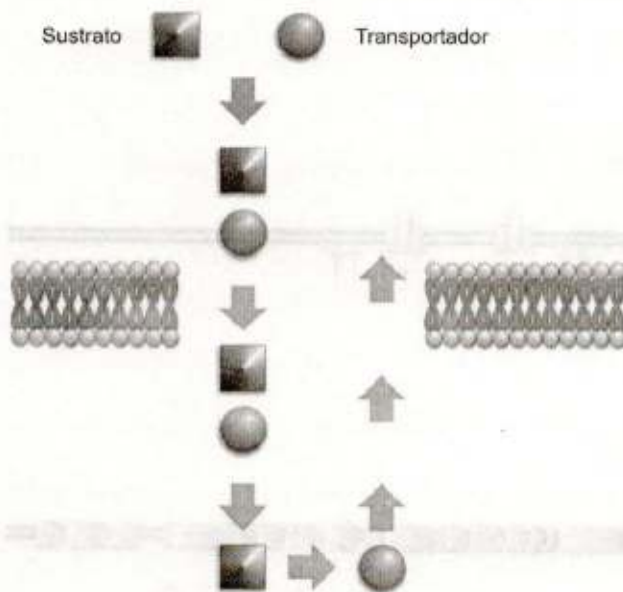


Figura 6. Vías para la importación de proteínas. Una proteína transportadora se encarga de llevar el sustrato a través del poro nuclear, luego de lo cual dicha proteína transportadora retorna a través de la envoltura nuclear para funcionar en otro ciclo. Las proteínas transportadoras reconocen un tipo particular de secuencia en su respectivo sustrato, lo cual permite definir la especificidad del sistema.

desde el núcleo al citoplasma. Para el transporte de los RNAm hacia el citoplasma se requiere de la señal *caperuza 5'*, por la que el RNAm permanece anclado en los lugares de maduración del RNAm. Cuando el RNAm ha completado la maduración se desprende y la señal (junto con el RNAm) queda en disposición de dirigirse al poro nuclear. Otros tipos de RNA (RNAr y RNAt), que carecen de caperuza, tienen otras señales; entre ellas se requiere que estén ensamblados a sus ribonucleoproteínas antes de abandonar el núcleo.

Estructura molecular del gen y cromosomas

La existencia de un organismo depende de la capacidad de las células para almacenar, reparar y transmitir la información genética necesaria para originarlo y mantenerlo.

La información hereditaria pasa de una célula a otra por medio de la división celular y de una generación de organismos a la siguiente mediante las células reproductivas. Estas instrucciones son almacenadas durante toda la vida de la célula en los *genes*, dicha información contiene tanto los elementos que determinan las características del individuo como las de la especie.

Definición molecular de gen

En términos moleculares, un gen normalmente es definido como la *secuencia completa de ácido nucleico que es necesaria para la síntesis de un producto génico funcional (polipéptido o RNA)*; además de las regiones codificadoras (exones), un gen incluye regiones de control y algunas veces intrones, regiones no codificantes. Durante el proceso de conversión de las moléculas de RNA (transcritas desde un gen y por ello denominadas transcritos primarios de RNA) a moléculas de RNAm, se eliminan las secuencias intrónicas: este proceso se denomina maduración de RNA (RNA "splicing" por corte y empalme).

La principal función del genoma es codificar moléculas de RNA. Regiones seleccionadas de las secuencias de nucleótidos de ADN son transcritas en forma de secuencias de RNA, el cual codifica una proteína (si es RNAm), o forma un RNA "estructural", como las moléculas de RNAt o de RNAr. Por tanto cada segmento de la hélice de ADN que produce una molécula de RNA funcional constituye un gen

Como se describió en el capítulo precedente, el secuenciamiento detallado y la identificación de exones

en el ADN cromosómico aportan evidencias directas de que los genomas de los eucariotas superiores contienen grandes cantidades de ADN no codificante. Por ejemplo, la proteína de la β -globulina es codificada solamente por 80 kb (Figura 7). La densidad de los genes varía ampliamente en diferentes regiones del ADN cromosómico humano: existen regiones ricas en genes tales como el grupo de la β -globulina y otras regiones que son pobres en genes. La mayoría de los exones humanos contienen 50-200 pares de bases. Los intrones humanos varían considerablemente en longitud, sin embargo, algunos son de unos 90 pares de bases, otros son mucho más largos alcanzando una longitud promedio de 3.3 kb entre los exones. Aproximadamente una tercera parte del ADN genómico se cree que transcribe un precursor de pre-RNA, pero el 95 por ciento de esas secuencias son intrones, los cuales son removidos por el corte y empalme del RNA.

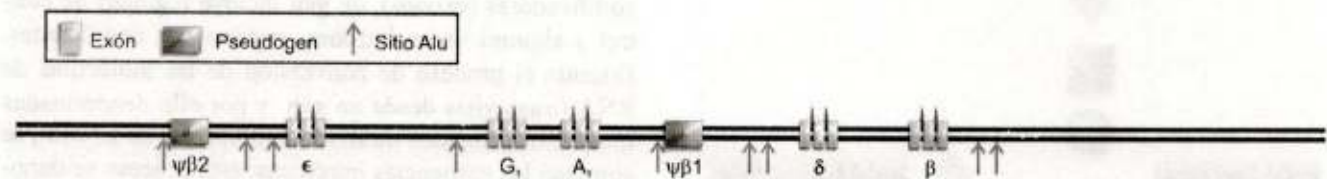
Además, cada gen contiene *secuencias reguladoras* que son responsables de asegurar que el gen se transcriba en el momento y en el tipo celular adecuado. Muchas secuencias reguladoras se encuentran localizadas por delante ("upstream", en dirección 5') del lugar donde se inicia la transcripción del RNA, pero también se puede localizar después ("downstream", en dirección 3') del lugar donde finaliza la transcripción del RNA, o incluso dentro de la secuencia de los intrones y exones (Figura 8).

Organización estructural de los cromosomas eucarióticos

Durante el proceso del ciclo celular el ADN presenta grandes cambios en su empaquetamiento. Cada célula humana contiene aproximadamente 2 metros de ADN confinados al núcleo, el cual solamente alcanza 6 μm de diámetro. Por otra parte, tomando el cromosoma 22 humano como ejemplo, sabemos con base en los resultados del proyecto genoma humano, que éste contiene aproximadamente 48 millones de pares nucleótidos y su ADN podría extenderse 1.5 cm. Cuando el cromosoma 22 se encuentra en metafase mitótica mide solamente 2 μm de longitud, alcanzando una relación de empaquetamiento cercana a 10.000. Este proceso es llevado a cabo por las proteínas que constantemente están enrollando y plegando el ADN en niveles cada vez mayores de organización.

Durante la interfase, cuando las células no están en división, el material genético existe como un complejo de nucleoproteínas llamado **cromatina** (del griego Chromos: color, por su afinidad a los colorantes) la cual está dispersa en el núcleo. Durante la mitosis se produce el enrollamiento y compactación de la cromatina y se hacen visibles los cromosomas metafásicos. (Figura 9).

A. Agrupamiento del gen de la β -Globina humana



B. *S. cerevisiae* (cromosoma III)

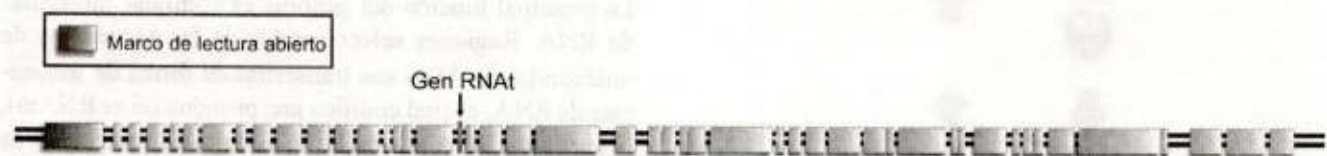


Figura 7. Comparación de una región del DNA genómico humano con parte del genoma del *Saccharomyces cerevisiae*. A. Acá se esquematiza un cluster génico de la β -globina en el cromosoma 11; las cajas pequeñas indican los exones de los genes relacionados a la β -globina, mientras los rectángulos grandes representan dos pseudogenes. B. En este esquema del cromosoma III de *S. cerevisiae* se representan los marcos de lectura abiertos y secuencias codificantes para esta parte del genoma de esta levadura. Obsérvese la gran proporción de regiones codificantes y no codificantes de entre ambos marcos de lectura.

A. Cromosoma 22 humano - 48×10^6 pares de nucleótidos de DNA

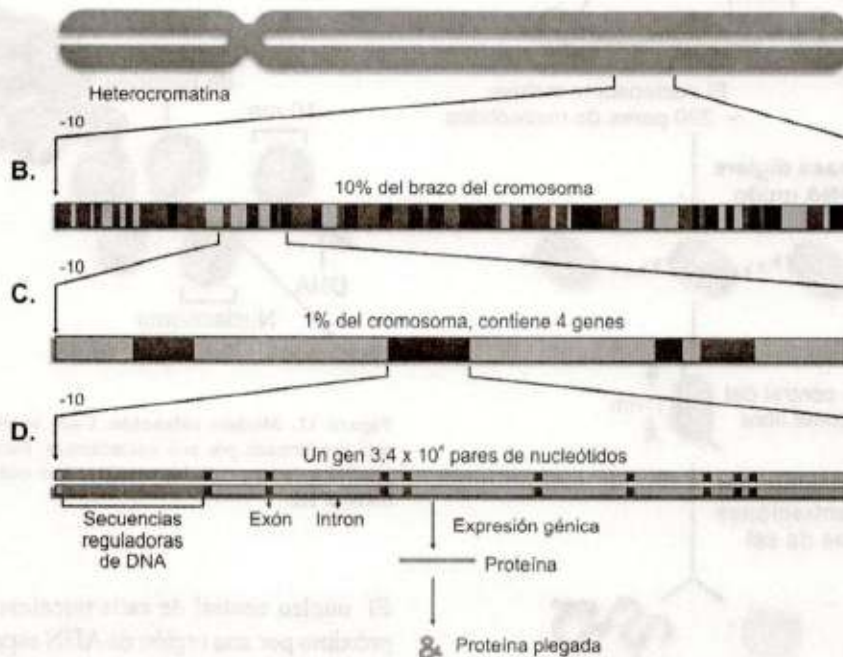


Figura 8. Organización de los genes de un cromosoma humano. A. Representación del cromosoma 22 humano en metafase. B. Ampliación diez veces de una región del brazo largo de este cromosoma. C. Región expandida de la anterior que muestra la longitud completa de al menos cuatro genes. D. Organización de un gen, en la que se muestran exones que codifican para una región de la proteína y las secuencias no codificantes entre los exones (intrones), los cuales se pierden durante la maduración del RNAm (splicing).

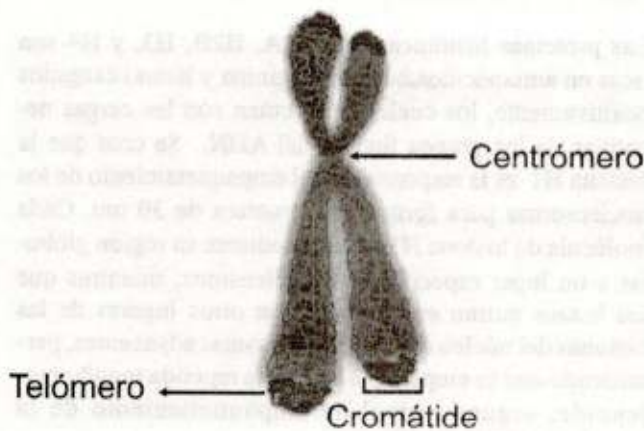


Figura 9. Apariencia típica de un cromosoma en metafase. Cada cromosoma en metafase está formado por dos cromátides unidos entre sí en el centrómero. En los extremos de las cromátides (telómeros) existe una organización particular de ADN conocido como ADN satélite.

Los nucleosomas son la unidad básica de la estructura del cromosoma eucariótico.

Cuando el ADN proveniente de núcleos eucarióticos es aislado en soluciones isotónicas, éste se encuentra asociado a una masa de proteínas igual a la de cromatina. Se ha encontrado que la estructura general de la cromatina

es similar en todas las células eucariotas, incluyendo hongos, plantas y animales.

Las proteínas que se unen al ADN para formar los cromosomas eucariotas son generalmente clasificadas en **histonas** y proteínas cromosómicas **no histonas**. El complejo de ambas proteínas con el ADN eucariótico constituye la cromatina. Las histonas son responsables de los distintos niveles de organización de los cromosomas. El primero es el **nucleosoma**, que fue descubierto en 1974, cuando el núcleo interfásico fue separado cuidadosamente y sus contenidos examinados al microscopio electrónico, lo cual permitió observar que la mayor parte de la cromatina estaba en forma de fibra de 30 nm de diámetro (Figura 10).

Cuando la cromatina se somete a tratamientos que deshacen el empaquetamiento de orden superior, ésta puede observarse bajo el microscopio electrónico como una "cadena de cuentas" o como un rosario (Figura 10 b). La cadena es ADN y cada cuenta es una partícula central del nucleosoma, conformado por ADN que se enrolla sobre el núcleo de proteínas formado por histonas. Las cuentas organizadas sobre la cadena, como se dijo representa el primer nivel de empaquetamiento del ADN cromosómico.

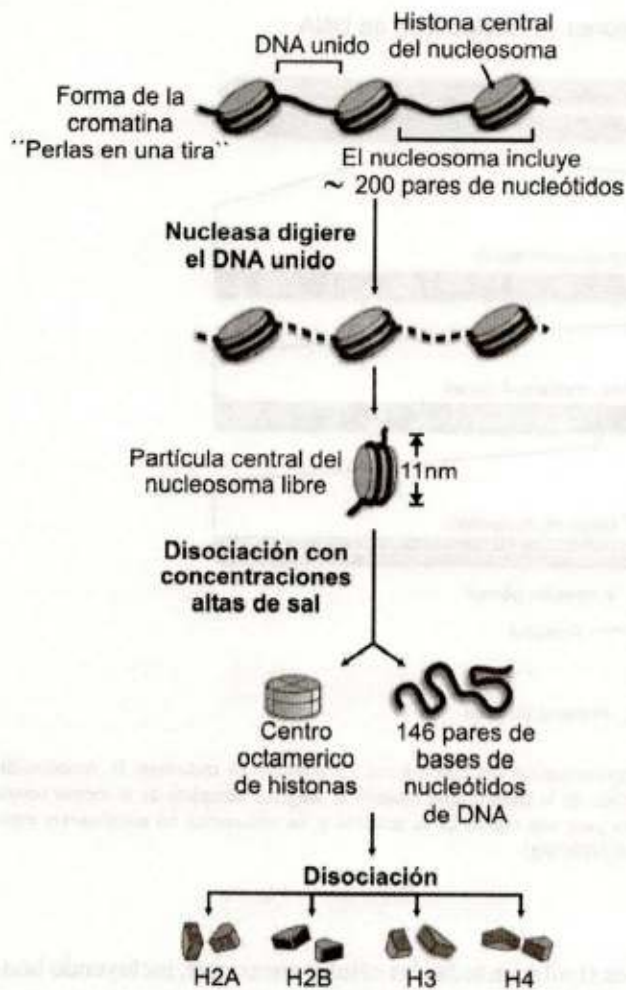


Figura 10. Organización estructural del nucleosoma. El nucleosoma está conformado por un núcleo de ocho moléculas de histonas. Tras el tratamiento con una nucleasa (enzima que corta el DNA en segmentos) el DNA "linker" es digerido. Sin embargo, el DNA que se encuentra empaquetado en el nucleosoma no puede ser digerido. Después de la disociación del nucleosoma en proteínas y DNA se puede calcular la longitud de DNA que se encontraba empaquetado.

La cadena larga de ADN puede romperse en cuentas de nucleosomas por digestión con enzimas endonucleasas que degradan el ADN (cortan el ADN entre los nucleosomas). Una digestión rápida con nucleasa obtenida de micrococcos, solo degrada el ADN existente entre los nucleosomas. El resto se encuentra protegido de la digestión y permanece como fragmentos de ADN de doble cadena de 146 pares de nucleótido de longitud, unidos a un complejo específico de ocho histonas nucleosómicas (el octámero de histonas). Cada partícula tiene una forma de disco con un diámetro aproximado de 11 nm y contiene dos copias de cada una de las cuatro histonas nucleosómicas: H2A, H2B, H3 y H4. Este **octámero de histonas** forma un núcleo proteico alrededor del cual la hélice de ADN de doble cadena da dos vueltas (Figura 11).

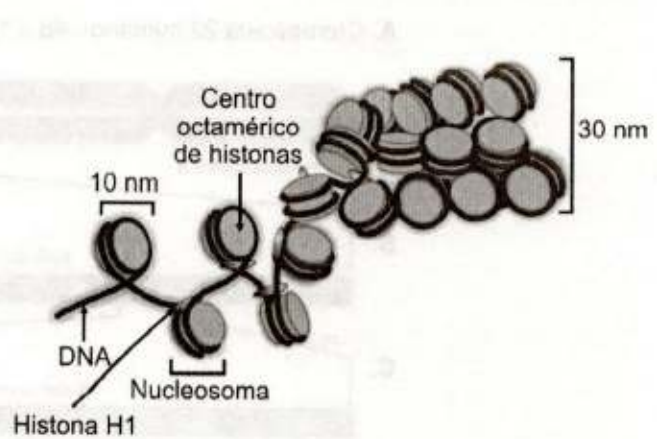


Figura 11. Modelo solenoide. Cada vuelta en el modelo solenoide está conformada por seis nucleosomas. Esta estructura es estabilizada gracias a la proteína histona H1; por cada nucleosoma se une una histona H1.

El núcleo central de cada nucleosoma está separado del próximo por una región de ADN espaciador de pocos pares de nucleótidos, 80 en promedio. Los nucleosomas se repiten a intervalos de aproximadamente 200 pares de nucleótidos. Así por ejemplo, una célula diploide humana con 6.4×10^9 pares de nucleótidos, puede contener 30 millones de nucleosomas.

Las proteínas histónicas H1, H2A, H2B, H3, y H4 son ricas en aminoácidos básicos (arginina y lisina) cargados positivamente, los cuales interactúan con las cargas negativas de los grupos fosfato del ADN. Se cree que la histona H1 es la responsable del empaquetamiento de los nucleosomas para formar la estructura de 30 nm. Cada molécula de histona H1 se une mediante su región globular a un lugar específico del nucleosoma, mientras que los brazos entran en contacto con otros lugares de las histonas del núcleo o de los nucleosomas adyacentes, permitiendo que se empaquete en forma repetida regular (solenoide, segundo nivel de empaquetamiento de la cromatina) (Figura 12).

Las proteínas no histónicas brindan andamio estructural para los largos bucles de cromatina.

Aunque las proteínas histónicas son las predominantes en los cromosomas, las proteínas no histónicas están presentes en la organización estructural de éste. Cuando se observa al microscopio electrónico un cromosoma metafásico se pueden evidenciar largos bucles de ADN unido a un andamio (scaffold) compuesto de proteínas no histónicas. El andamio tiene la forma del cromosoma metafásico y persiste aún cuando el ADN haya sido digerido por las nucleasas (Figura 13). El cromosoma

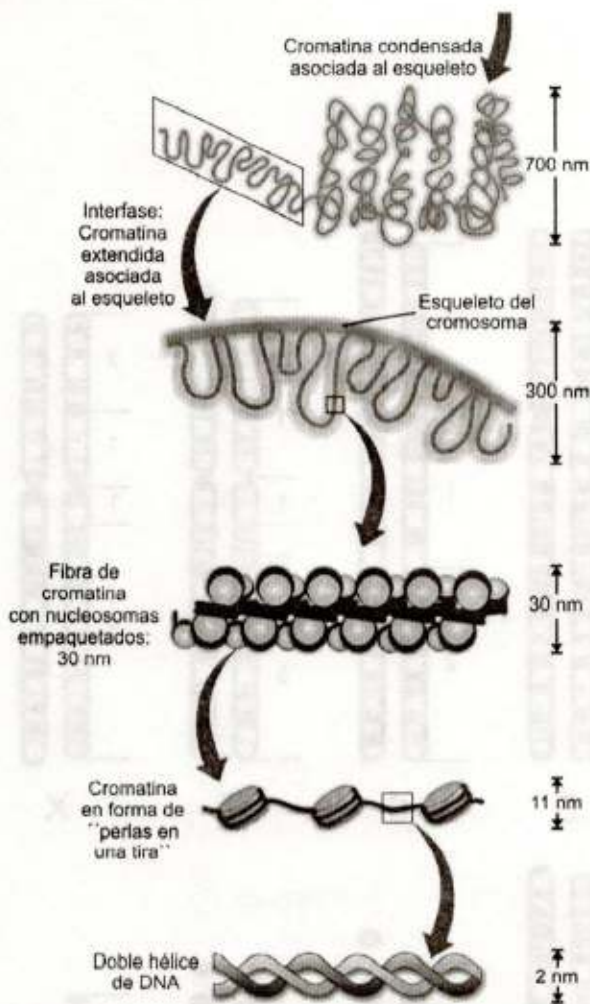


Figura 12. Empaquetamiento de la cromatina. Esta gráfica muestra algunos de los niveles de empaquetamiento de la cromatina. La eucromatina se compone por dos tipos de estructuras: las fibras de 30 nm y la organización extendida asociada al esqueleto. Por su parte la heterocromatina representa la forma más compacta de organización de la cromatina, la cual constituye aproximadamente el 10% del genoma en las células humanas.

metafásico corresponde al tercer nivel de empaquetamiento de la cromatina. En la figura se muestran los diferentes grados de empaquetamiento de la cromatina pasando desde la interfase hasta el cromosoma metafásico.

Eucromatina y heterocromatina.

Durante la mayor parte del ciclo celular de la célula eucariota, el material genético ocupa una área en la cual no se pueden distinguir los cromosomas individuales. La estructura de la cromatina de la interfase no cambia visiblemente entre las divisiones, aún durante el periodo de replicación no se produce una alteración evidente, cuando se dobla la cantidad de cromatina. La cromatina es

fibrilar, aunque la configuración global de la fibra en el espacio es difícil de discernir en detalle. La fibra en sí misma, no obstante, es idéntica a la de los cromosomas mitóticos. Durante la interfase, cuando las células no están en división, la cromatina está dispersa en todo el núcleo (Figura 2). Posteriormente, el empaquetamiento y la compactación de la cromatina durante la mitosis origina cromosomas visibles en la metafase (Figura 9).

En el núcleo interfásico se puede encontrar dos tipos de cromatina:

- La **eucromatina** corresponde a las regiones en donde la fibras de cromatina están menos condensadas; tiene un aspecto disperso y ocupa la mayor parte del nucleoplasma. Transcripcionalmente es activa, y representa aproximadamente el 10% de la cromatina nuclear.
- La **heterocromatina** corresponde a regiones altamente condensadas, la cual ha sido asociado a genes inactivos heterocromáticas que se agregan en un **chromocentro** densamente teñido (Figura 2). También se localiza en diferentes sitios a lo largo del cromosoma y se encuentra concentrada en regiones específicas, incluyendo los centrómeros y telómeros. Constituye el 90 % restante de la cromatina.
- La **heterocromatina constitutiva** contiene secuencias específicas que no tienen función codificadora. Esta incluye, de forma típica, el ADN satélite, y se encuentra, a menudo, en los centrómeros. El ADN satélite está constituido por secuencias de bases repetidas (14-500) una tras otra y se localiza en regiones específicas como el centrómero y telómero. Corresponde del 10 al 20% de la heterocromatina y se duplica en la fase S tardía del ciclo celular.
- La **heterocromatina facultativa** toma la forma de cromosomas enteros que son inactivos en una línea celular, aunque pueden expresarse en otras. Ejemplo, el cromosoma X en las hembras de los mamíferos. El cromosoma X inactivo es perpetuado en un estado heterocromático, mientras el cromosoma X activo es parte de la eucromatina. Una vez que el estado inactivo ha sido establecido es heredado en este estado por las células descendientes. En la mujer (cariotipo XX), esto ocurre alrededor del día 16 del desarrollo embrionario, parte del cromosoma X se condensa y permanece inactivo.

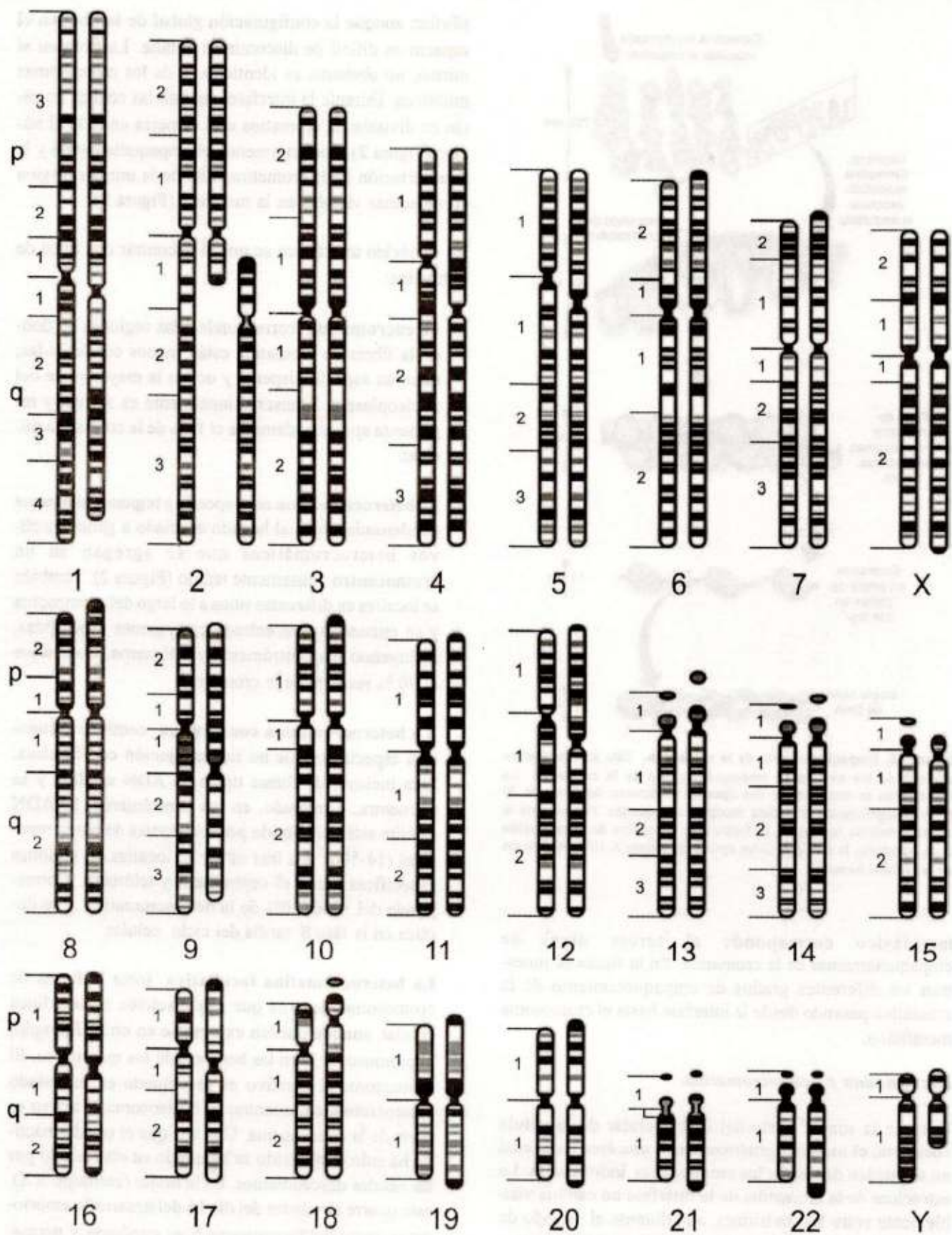


Figura 13. Cariotipo. Idiograma de las bandas G y R de los cromosomas humanos normales.

Morfología y elementos funcionales del cromosoma eucariótico

En la sección anterior, se examinó la organización estructural de los cromosomas. Las observaciones microscópicas iniciales sobre el número, tamaño de los cromosomas y los patrones de coloración permitieron descubrir muchas características generales importantes de la estructura de los cromosomas. Investigaciones posteriores, aportaron conocimientos sobre las regiones críticas de replicación en cromosomas específicos y su segregación en las células hijas durante la división celular.

Como se mencionó antes, en las células que no están en división los cromosomas individuales no son visibles aún con la ayuda de coloraciones específicas para ADN (Giemsa, Feulgen) o con microscopio electrónico. Los cromosomas eucariotas individuales se hacen visibles al microscopio de luz durante un corto periodo, en los procesos de división celular de mitosis y meiosis. Por tanto, casi todo el trabajo clásico en citogenética (estudios de la morfología del cromosoma) se ha realizado en cromosomas condensados en metafase, obtenidos a partir de células en división, mitosis en células somáticas o gametos en meiosis.

Es claro que la condensación de los cromosomas metafásicos resulta de varios niveles de plegamiento y enrollamiento de la fibra de cromatina de 30 nm. Puesto que el cromosoma metafásico se forma después de la replicación del ADN, cada uno de éstos consiste de dos cromatidos hermanas, las cuales están unidas al centrómero el cual contiene el cinetocoro. Este último es la porción del centrómero donde se conectan los

microtúbulos del huso mitótico (la figura 9 representa un cromosoma mitótico típico en estado de metafase).

El cariotipo está determinado por el número, tamaño y forma de los cromosomas metafásicos, lo cual es característico para cada especie. Por ejemplo, los ratones tienen 40 cromosomas, los bovinos 60, el perro 78, el chimpancé y el gorila 48 y los humanos 46 cromosomas.

Cuando se mira una célula en metafase mediante un microscopio, es imposible distinguir un cromosoma de otro, sin tinción previa. A finales de 1960 y comienzos de 1970, los genetistas desarrollaron procedimientos de coloración que generan patrones de bandas oscuras y claras en cada cromosoma. La digestión de los cromosomas mitóticos con la enzima proteolítica tripsina, seguida de una tinción con Giemsa, genera patrones de bandas conocidas como bandas G. Cada cromosoma humano absorbe el colorante de la misma forma. Sin embargo, el procedimiento de coloración origina patrones de bandas que son únicas para cada uno de los 23 pares de cromosomas. Una banda se define como la parte de un cromosoma, que se distingue claramente de su segmento adyacente por la aparición de bandas claras y oscuras con una o más técnicas de bandeado.

Cuando los cromosomas son teñidos con Giemsa, las bandas oscuras se encuentran donde las proteínas están altamente condensadas y las bandas claras están donde las proteínas son menos condensadas y los genes están más activos. En los cromosomas con bandeado G, las regiones oscuras se replican en la fase S tardía, debido a que la cromatina se encuentra en un estado de mayor condensación y generalmente corresponden a regiones de ADN ricas en Adenina-Timina (Figura 14).

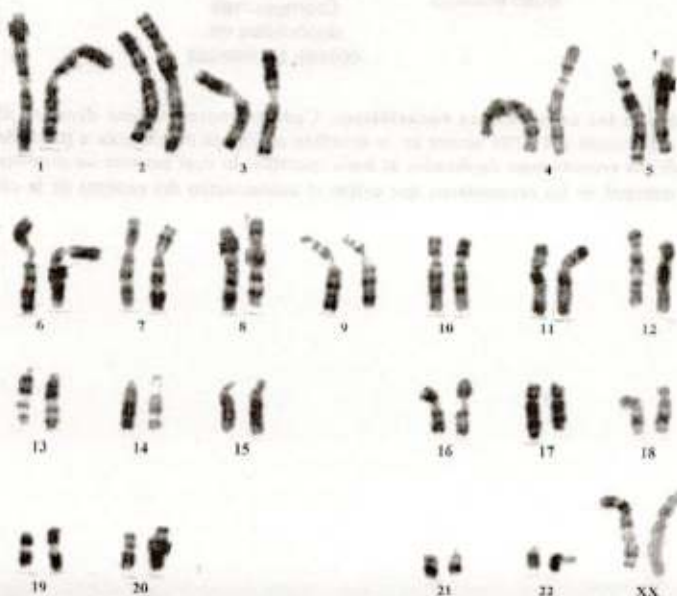


Figura 14. Cariotipo de bandas R. Fotografía tomada por: Gonzalo Vásquez Palacio. Biol. Msc Unidad de Genética Médica. Universidad de Antioquia.

Cada molécula que forma un cromosoma eucariota, está conformado por un centrómero, dos telómeros y varios orígenes de replicación.

Un cromosoma constituye y actúa como una unidad estructural. Para que un cromosoma pase a una célula hija, es necesario que se replique; luego, cada nueva copia se distribuirá y se segregará en cada célula hija. Para que el proceso anterior se lleve a cabo, es indispensables tres tipos de secuencias nucleotídicas especializadas (*telómero*, *origen de replicación* y *centrómero*). Cada secuencia una proteínas específicas que conducen la maquinaria para la replicación y segregación de los cromosomas (Figura 15).

El *origen de replicación* es el sitio donde se inicia la replicación de ADN. Los cromosomas eucarióticos con-

tienen múltiples sitios de replicación. Después de la replicación dos cromosomas hijos se mantienen unidos y prosiguen juntos en el ciclo celular. Los cromosomas duplicados se condensan y generan los cromosomas mitóticos. Por otro lado, los *centrómeros* permiten que una copia de cada cromosoma condensado y duplicado, se separe y migre a cada célula hija durante el proceso de división celular. Los *telómeros* por su parte, son las secuencias finales o extremos de cada cromosoma. Estos contienen secuencias repetidas de nucleótidos que cuales permiten que la parte final del cromosoma sea replicada correctamente. Además, los telómeros protegen de la degradación a las secuencias finales de los cromosomas.

Todos los aspectos relacionados con la replicación del ADN se discutirán en detalle en el capítulo siguiente.

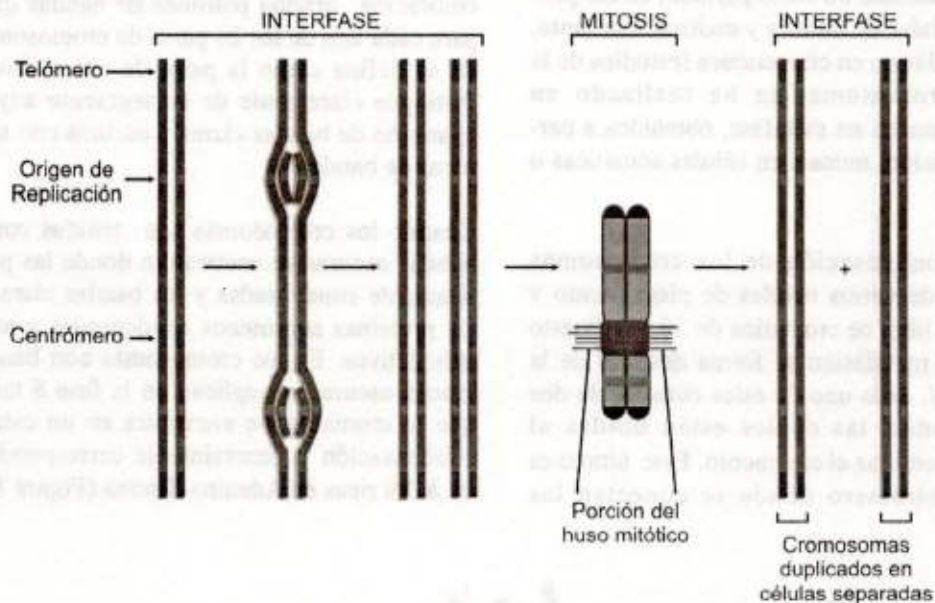


Figura 15. Secuencias necesarias para la síntesis y segregación de los cromosomas eucarióticos. Cada cromosoma tiene diversos sitios para de inicio de la replicación, un centrómero y dos telómeros. La replicación del ADN ocurre en la interfase en ambas direcciones a partir de los sitios de inicio. Durante la mitosis el centrómero permite la unión de los cromosomas duplicados al huso mitótico, lo cual permite su distribución a cada célula hija. Por su parte los telómeros forman una estructura terminal de los cromosomas que evitan el acortamiento del genoma de la célula.