

Genética Molecular

Miguel Angel Ordorica Vargas & María de la Luz Velázquez Monroy

Introducción

Las funciones sustantivas de los ácidos nucleicos consisten en el almacenamiento, transmisión y expresión de la información genética, estos tres procesos se resumen en un principio que se conoce como el **Dogma Central de la Biología**, propuesto por Francis Crick en 1957. Este principio establece que en los seres vivos la información genética siempre fluye del DNA al RNA a las PROTEÍNAS. Este flujo de información, se puede dividir en tres pasos, primero la **Replicación** que consiste en la síntesis de DNA, copiando la información de si mismo, después la **Transcripción** que consiste en transferir la información del DNA sintetizando RNA, y por último la **Traducción** en la que la información del mRNA se usa para sintetizar proteínas. Posteriormente se añadió al esquema un cuarto proceso, la **Transcripción Inversa** o **Retrotranscripción**, en la cual la información genética, que se encuentra como RNA en los retrovirus, se utiliza para sintetizar DNA, antes de que pueda expresarse en las células infectadas.

Replicación

El primer paso del flujo de información genética, consiste en la síntesis de DNA copiando la información de DNA, este proceso lo llevan a cabo un conjunto de enzimas conocidas como **polimerasas de DNA (DNApol)**, dependientes de DNA. En procariotes existen tres variedades conocidas como DNApol I, II y III, en eucariotes se han descrito al menos cinco tipos, conocidos como DNApol A ó α , B ó β , C ó γ , D ó δ y E ó ϵ . Todas estas enzimas requieren un molde de DNA para copiar, desoxinucleótidos trifosfato de Timina, Adenina, Guanina y Citosina, y un oligonucleótido iniciador con un extremo 3' libre, ya que no pueden iniciar la síntesis. Todas las DNApol leen el DNA molde a partir del extremo 3' y avanzando hacia 5' (leen en dirección 3'→5') y sintetizan las nuevas cadenas uniendo al extremo 3'-OH libre del iniciador, el fosfato en 5' de un nuevo nucleótido mediante un enlace éster (sintetizan en dirección 5'→3').

La replicación se inicia con la separación de las dos hebras de DNA, mediada por la enzima **DNA helicasa**, que cataliza la reacción de desenrollamiento de las dos hebras de DNA consumiendo ATP. La tensión generada por el desenrollamiento de la doble hélice se elimina con la **DNA girasa**, una enzima del grupo de **topoisomerasas II**, que actúa, cortando un enlace éster de una cadena y volviendo a formarlo, después de que se liberó la tensión. Las dos hebras simples del DNA abierto, se mantienen separadas por acción de "proteínas estabilizadoras del DNA de cadena simple" (*single strand DNA binding proteins*, SSB).

A las cadenas simples de DNA se une la **RNA polimerasa iniciadora**, en procariotes y la DNApol A ó α , en eucariotes, que también es una RNApol. Ambas enzimas son capaces de iniciar la síntesis *de novo* de polinucleótidos. Estas enzimas copia la fibra sencilla de DNA, comenzando en el extremo 3' y sintetiza un pequeño fragmento de RNA llamado *primer*, *iniciador* o *cebador*, que crece en dirección 5' a 3'. En procariotes el RNA iniciador tiene entre 50 y 100 nucleótidos y en eucariotes alrededor de 10. Una vez sintetizado el RNA iniciador, entra en acción la polimerasa de DNA, en procariotes DNApol III y en eucariotes DNApol α podría iniciar la síntesis de un fragmento de 10 a 15 desoxinucleótidos y pasado este punto, su lugar lo ocupa la DNApol D ó δ , que se encarga de la mayor parte de la síntesis. En forma alterna, se ha propuesto que la DNApol γ sustituye a la DNApol α para sintetizar todo el DNA, después de que esta sintetizó el RNA inicia-

dor. Ambas enzimas copian el DNA molde en dirección 3' a 5' y unen al extremo 3'-OH libre de la cadena en crecimiento, el fosfato en 5' de un nuevo desoxinucleótido mediante un enlace éster. Para iniciar la síntesis, la DNAPol III de procariones requiere de una proteína llamada copolimera- sa III y ATP, pero una vez iniciada la síntesis se liberan ambas moléculas.

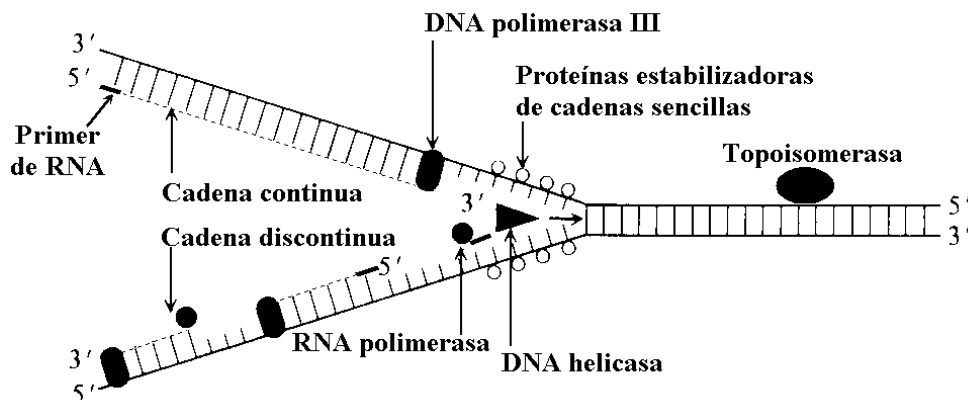


Figura 1. Esquema general del mecanismo de replicación del DNA

Las polimerasa activa está formada por un dímero, una de las enzimas producen una hebra conti- nua, sobre el molde de DNA con dirección 3' a 5', y la otra sintetiza la hebra en forma discontinua sobre el molde con dirección 5' a 3'; la hebra discontinua está formada por los llamados **framen- tos de Okazaky**, que son oligonucleótidos con RNA en el extremo 5' y DNA en el 3'. Los frag- mento de Okazaky en procariones tienen alrededor de 50 nucleótidos de RNA y de 400 a 2000 de DNA mientras que en eucariotes tiene 10 de RNA y de 100 a 150 de DNA.

Para eliminar el RNA de los fragmentos de Okazaky y completar la síntesis de la cadena de DNA se necesitan dos enzimas más, primero, la DNAPol I de procariones o la **DNAPol α** de eucariotes, actuando como exonucleasas, eliminan el RNA iniciador a partir del extremo 5', hidrolizando el enlace 3'-fosfato y liberando nucleósidos-5'- monofosfato para formar un oligonucleótido de DNA con fosfato en el exterme 5', después, a partir del extremo 3' libre más cercano, llenan el hueco en la cadena con desoxirribonucleótidos. Las polimeras- as de DNA solo forman enlaces al copiar el molde, por lo que no pueden formar el enlace entre el extremo 5' fosfato del oligonucleó- tido que ya estaba presente y el 3' que están sintetizando, para ello se necesita la enzima **DNA ligasa** que toma el AMP del NAD en proca- riones o del ATP en eucariotes, uniéndolo a un resto de Lisina y libe- rando un mononucleótido de nicotinamida en procariones y pirofosfato en eucariotes. Depués, la enzima transfiere el ATP al fosfato del extremo 5' del nick', para activarlo. Finalmente, la eliminación del Adenilato promueve la formación del enlace éster con el OH del ex- tremo 3' (Figura 2).

La acción continua de estas enzimas permite la síntesis de dos hélices de DNA idénticas a la original, cada una de ellas formada por una

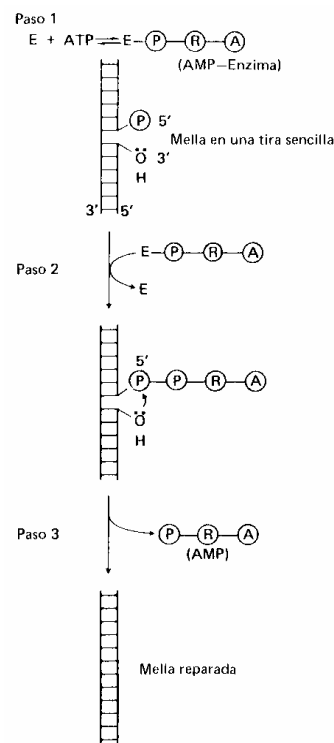


Figura 2. Mecanismo de acción de la DNA ligasa.

cadena del DNA original y otra recién sintetizada, por esta razón se dice que la replicación es “semiconservadora” o “semiconservativa”. Una vez terminada la doble hélice es necesario darle nuevamente su estructura terciaria mediante superenrollamiento, en procariotes existe otra enzima, la DNA girasa que se encarga del proceso utilizando ATP. En los eucariotes intervienen las histonas para formar los nucleosomas que son la base de la estructura de la cromatina y los cromosomas.

Una diferencia más en la replicación entre procariotes y eucariotes, es que los primeros generalmente presentan un sólo sitio de iniciación para la replicación de su cromosoma único, mientras que los eucariotes tienen varios en cada uno de los suyos.

Reparación del DNA

Los errores de apareamiento introducidos durante la replicación, provocados por mutaciones, o algún otro mecanismo, producen cambios en la forma tridimensional de la doble hélice del DNA. Estos cambios de forma son detectados por un complejo de proteínas que incluye una enzima llamada **Nickasa**, que rompe una de las cadenas de DNA, la cadena sin metilar, a cierta distancia del error. El corte de la cadena sirve para que una exonucleasa o la misma DNAPol I, hidrolice la cadena para después sintetizarla copiando la cadena complementaria. Al igual que en la replicación, las polimerasas de DNA no pueden unir los extremos de las cadenas, para ello se nuevamente se necesita la DNA ligasa.

En los procariotes se ha estudiado otro mecanismo de reparación de DNA conocido como **fotoreactivación**. Este proceso se ha descrito en relación con la formación de dímeros de Timina por acción de la luz ultravioleta. Cuando se forman estas estructuras, las bacterias son incapaces de replicarse porque no pueden separar las cadenas de su DNA, pero sí después de la formación de los dímeros se exponen a la luz, algunas de las bacterias recuperan la capacidad de reproducirse. La luz activa una enzima que reconoce la deformación producida por el dímero y rompe la unión entre las timinas, regenerando la cadena normal.

Replicación del DNA y Envejecimiento

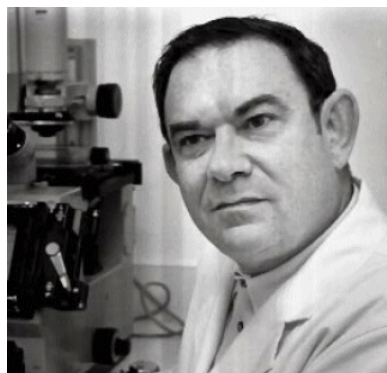


Figura 3. Leonard Hayflick

En 1961 Leonard Hayflick descubrió que las células humanas normales en cultivo, tiene capacidad de replicarse sólo un número limitado de veces y después entran en senescencia, dejan de dividirse, degeneran y mueren. También propuso y demostró la existencia de un mecanismo de registro del número de divisiones. Este fenómeno fue bautizado como el “*límite de Hayflick*” en 1974 por el premio Nobel australiano Macfarlane Burnett. En los años setenta, cuando se descubrieron los detalles de la replicación semidiscontinua del DNA, se hizo evidente que en los cromosomas lineales de los organismos superiores, la hebra discontinua del DNA no se puede replicar completa mediante el mecanismo de fragmentos de Okazaki, y por lo tanto en cada replicación se deberían perder nucleótidos de los Telómeros en los extremos 3’ de la hebra nueva, lo cual sugiere que dichos Telómeros podrían ser el mecanismo de registro propuesto por Hayflick. En 1986, Calvin Harley demostró que la longitud de los Telómeros de los cromosomas de células en cultivo, disminuye al aumentar el número de replications, apoyando la propuesta de que los telómeros constituyen la base molecular para el límite de Hayflick y reforzando la idea de que existe un mecanismo molecular que provoca el envejecimiento ce-

lular. Finalmente, en 1998 Woodring Wright demuestra que la expresión de Telomerasa transfectada a células maduras normales, les permite revasar el límite de Hayflick, demostrando que los Telómeros cromosomales son los elementos encargados de registrar el número de replicaciones.

En las célula madre y en las líneas de células germinales, el problema de envejecimiento por acortamiento de los Telómeros, se resuelve mediante la enzima **Telomerasa** que es una retrotranscriptasa que tiene unido un oligonucleótido de RNA, con secuencia complementaria a la de los telómeros, el cual usa como molde para alargar la cadena y evitar el acortamiento de los Telómeros.

Transcripción

La síntesis de RNA dependiente de DNA, la llevan a cabo las polimerasas de RNA (**RNApol**). En procariotes existe solo una mientras que en eucariotes hay 3, la primera o **RNApol 1**, se encuentra en el nucleolo y se encarga de sintetizar rRNA y el RNA *heterogéneo nuclear* (nhRNA). Las otras dos se encuentran en el nucleoplasma, la **RNApol 2**, que sintetiza principalmente el mRNA y la **RNApol 3**, para sintetizar tRNA y la fracción 5s de rRNA. Debido a que todos los RNA de las células son cadenas sencillas, mientras que el DNA tiene doble cadena, resulta claro que solo una de las dos cadenas del DNA se transcribe, a esta cadena se le conoce como **cadena molde** y a la otra como **cadena codificadora** o **codificante**.

En procariotes la **RNApol** requiere de un factor de iniciación, la proteína sigma (σ), que reconoce el sitio de iniciación de la transcripción y una vez iniciada esta, se separa. Las RNApol de eucariotes no tienen este requerimiento, el reconocimiento de las secuencias de iniciación lo efectúan varias proteínas, una para cada tipo de secuencia (TATA, GC, CAT, GAG, etc.) Todas las RNApol requieren ribonucleótidos trifosfato y una cadena doble de DNA; todas copian la cadena de DNA leyendo en dirección 3' a 5' y sintetizan el RNA en dirección 5' a 3'.

La transcripción termina cuando se llega a una secuencia de terminación. En procariotes estas secuencias son reconocidas por otra proteína, el factor rho (ρ), en eucariotes hay mecanismos diferentes para cada polimerasa, pero no requieren factores.

En las células eucarióticas la transcripción es controlada por un complejo de proteínas formado por cuatro clases de componentes.

1. Los *factores basales*. Proteínas esenciales para la transcripción pero que por si solas no pueden aumentar o disminuir la velocidad del proceso. Estos factores ayudan a la RNA polimerasa a encontrar las secuencias de inicio o “promotores” de los genes
2. *Activadores*. Moléculas reguladoras que aumentan la velocidad de la transcripción. Las proteínas activadoras se unen a las secuencias conocidas como **facilitadoras** (*enhancers*) que también ayuda a determinar cuales genes se van a expresar.
3. *Represores*. Proteínas reguladoras que disminuyen la velocidad de la transcripción o la detienen totalmente. Los represores se unen en forma selectiva a las secuencias **silenciadoras**, al hacerlo interfieren con el funcionamiento de los activadores.
4. *Coactivadores*. Moléculas “adaptadoras” que integran las señales de los activadores y quizá también las de los represores, y transmiten la resultante a los factores basales.

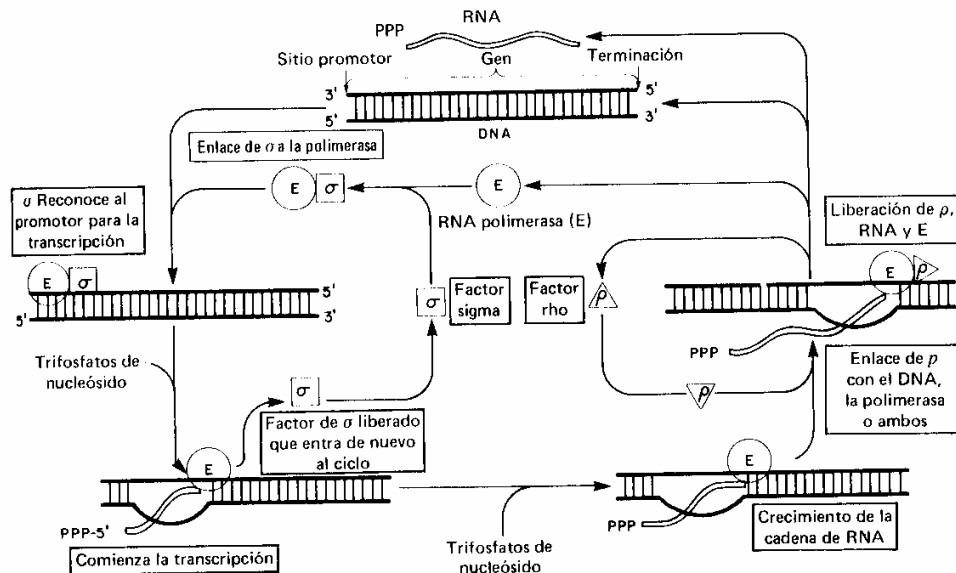


Figura 4. Transcripción en procariotes

Tanto las secuencias facilitadoras, como las silenciadoras pueden modificar la transcripción de genes que estén tanto hacia delante, en dirección 5' o hacia atrás, en dirección 3', respecto de su posición, su papel en la regulación de la transcripción es motivo de intensa investigación.

Los activadores y posiblemente los represores se comunican con los factores basales a través de los coactivadores, los cuales se asocian formando un complejo con la proteína de unión a la caja TATA, que es el primero de los coactivadores que se une al gene regulador en el sitio promotor.

Una vez terminada la síntesis, las cadenas de RNA pasan por un proceso de edición, para adquirir su forma activa. Los rRNA se cortan a sus tamaños correspondientes y se metilan algunas bases. En el proceso de recorte del rRNA se han descrito mecanismos de autohidrólisis, en los que las cadenas de RNA facilitan su propio rompimiento. Esta propiedad parece ser característica de algunas secuencias de nucleótidos. Los tRNA también son recortados al tamaño adecuado y sus bases modificadas en el núcleo, la terminación 3'-CCA, la añade una enzima en el citoplasma.

Los mRNA de eucariotes están formados por dos o más secuencias codificadoras, que se traducen a proteínas, llamadas **exones**, separadas por secuencias insertadas no codificadoras o **intrones**, que deben ser eliminados antes de que se sinteticen las proteínas; no existen intrones en el genoma de procariotes. El proceso de eliminación de intrones se llama **splicing**, que a veces se traduce al español como **edición del mRNA**. En él participa un complejo macromolecular que recibe el nombre de **splisosoma**, compuesto por cinco RNA nucleares pequeños (*snRNA*), denominados U1, U2, U4, U5 y U6, y varias decenas de proteínas.

Los intrones pueden tener cientos o miles de nucleótidos, pero todos contienen tres secuencias cortas, que son conservadas: el *extremo de escisión 5'* con guanósina, el *sitio de ramificación* con adenosina, y el *extremo de escisión 3'* con un dinucleótido de adenosina y guanósina.

La formación del splisosoma se inicia cuando U1 se une al extremo de escisión 5', después U2 se une al sitio de ramificación y U4 y U6 se unen entre si (Figura 5).

El primer paso del rompimiento consiste en el ataque del 2' -OH de la ribosa de adenosina del sitio de ramificación, al enlace fosfodiéster de la guanosina en el extremo de escisión 5' del intrón, liberando el extremo 3' del exón. La unidad U6 podría servir para confirmar la identidad del extremo a romper y U2 permite la aproximación del 2' -OH al extremo 5'.

En el segundo paso del rompimiento, el extremo 3' -OH libre del exón ataca el dinucleótido del extremo de escisión 3' del intrón y se une al exón 5', liberando el intrón. En este paso U5 reconoce el extremo 3' del intrón.

Ya que se eliminaron los intrones, los mRNA reciben en su extremo 3' el segmento de poliadenilato y el **Cap** de 7-metilguanosina trifosfato en el extremo 5'.

Traducción

La síntesis de proteínas o **Traducción**, es uno de los procesos más complejos que realizan las células, esta complejidad es necesaria para asegurar la lectura fiel de las secuencias de nucleótidos de los ácidos nucleicos a secuencias de aminoácidos en las proteínas. La traducción requiere de una conjunto de reglas que permita interpretar las secuencias de nucleótidos, y colocar los aminoácidos en el orden correcto. Al conjunto de estas reglas se le conoce como **Código Genético** (Tabla III).

Código Genético. El código genético tiene en su estructura una serie de características importantes:

- Triplettes.** La unidad de codificación es el "codon", formado por 3 nucleótidos consecutivos del mRNA, cada uno codifica para un aminoácido específico. Estos "tripletes" tienen un conjunto complementario, los "anticodones" en el tRNA.
- Continuidad.** Los codones del mRNA se encuentran uno después del otro, sin separación entre el nucleótido terminal de un codón y el inicial del siguiente.
- Sin traslapamiento.** Cada nucleótido forma parte de un solo codón, no hay traslapamiento entre el final de un codón y el inicio del siguiente.

Por otro lado, las propiedades funcionales más importantes del código genético son:

- Universal.** Todas las células interpretan el código de la misma manera, un mRNA codificará la misma proteína en cualquier célula. Los sistemas de síntesis de proteínas de mitocondrias y cloroplastos, interpretan el código en forma diferente dependiendo del tipo de célula del que

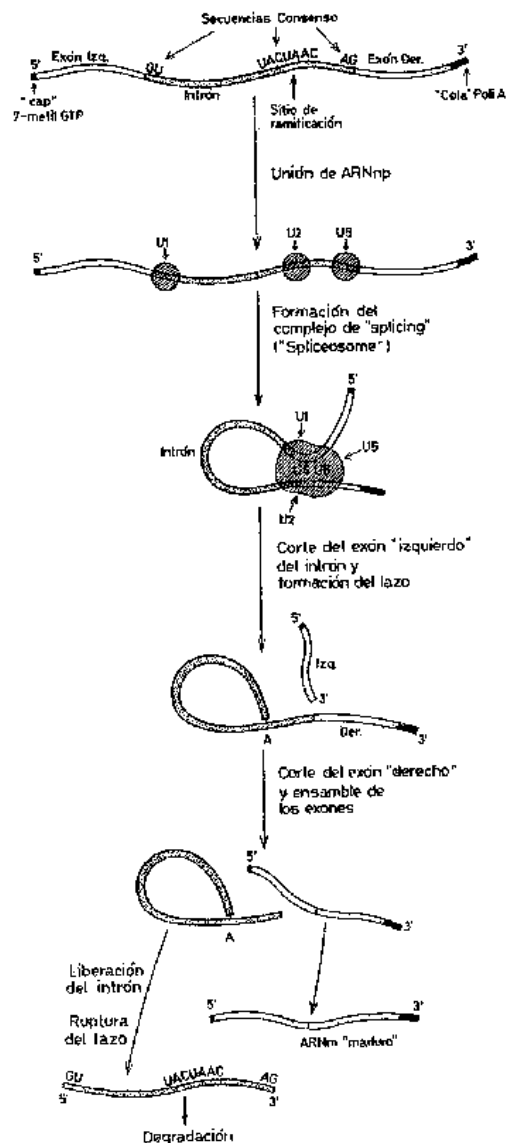


Figura 5. Mecanismo de Splicing

procede, en mitocondria CAU puede codificar para Thr en lugar de Leu, AUA para Met en lugar de Ile y UGA para Trp en lugar de ser Terminal.

- b. **Unívoco.** Cada codón codifica siempre el mismo aminoácido.
- c. **Degenerado.** Un aminoácido puede estar codificado por más de un codón, en realidad la mayoría de los aminoácidos, están codificados por dos codones pero hay algunos, como la leucina, que pueden tener hasta seis codones distintos, mientras que otros (triptofano y metionina), solo tienen uno.

Tabla III. Código Genético en el mRNA

Nucleótido del extremo 5'	Nucleótido intermedio				Nucleótido del extremo 3'
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Terminal	Terminal	A
	Leu	Ser	Terminal	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

El proceso de traducción se divide en cuatro etapas: activación de aminoácidos, iniciación, elongación o crecimiento de la cadena y terminación.

Activación de los aminoácidos. Consiste en la unión de un aminoácido a su tRNA correspondiente. La reacción es catalizada por un grupo de enzimas llamadas **aminoacil-tRNA sintetasas**, que son absolutamente específicas de sus substratos. Cada enzima reconoce un tRNA y un aminoácido específicos, y cataliza la unión del grupo α -carboxilo del aminoácido, al 3' -OH de la adenosina del tRNA, mediante un enlace éster, con la hidrólisis simultánea de una molécula de ATP hasta AMP. El reconocimiento del tRNA parece depender de una secuencia específica de bases que se encuentra en la zona de bisagra de las moléculas.

Las Aminoacil-tRNA sintetasas tienen tres sitios de reconocimiento, para el aminoácido, ATP y tRNA. En la primera etapa, se unen el aminoácido y el ATP, mediante un enlace anhidro mixto de alta energía entre el carboxilo α y el fosfato, formando Aminoacil-AMP y liberando pirofosfato. A continuación, se une el tRNA correspondiente y la enzima transfiere el aminoácido del AMP al OH 3' de tRNA formando el aminoacil-tRNA o aminoácido activo.

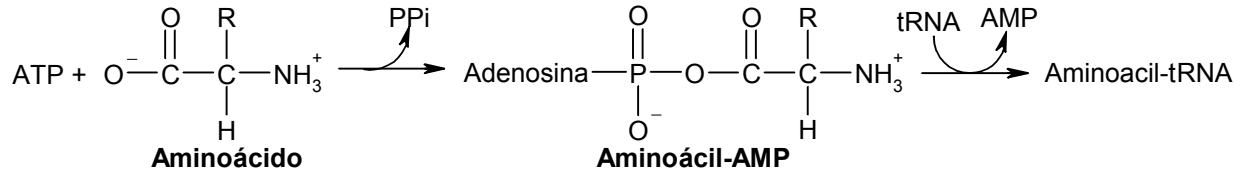


Figura 6. Activación de los aminoácidos.

Iniciación. En este proceso el ribosoma, el mRNA y el primer aminoácido activo forman un complejo, en el sitio de inicio de la síntesis, que está próximo al extremo 5' de mRNA, y corresponde al extremo amino terminal de los péptidos. En este paso participan tres proteínas conocidas como factores de iniciación (IF). Inicialmente, la subunidad menor del ribosoma se une al mRNA, con ayuda de IF3. Por otro lado, IF2, se une al metionil-tRNA que siempre es el primer aminoácido de las proteínas de eucariotes y formilmetionil-tRNA en los procariotes, y a una molécula de GTP. El factor IF2 es una proteína alostérica que aumenta su afinidad por Met-tRNA en presencia de GTP y la disminuye cuando hay GDP, también se puede inhibir su función por fosforilación de una de sus subunidades (IF2 α) y activarlo por desfosforilación, ambos procesos catalizados por enzimas específicas.

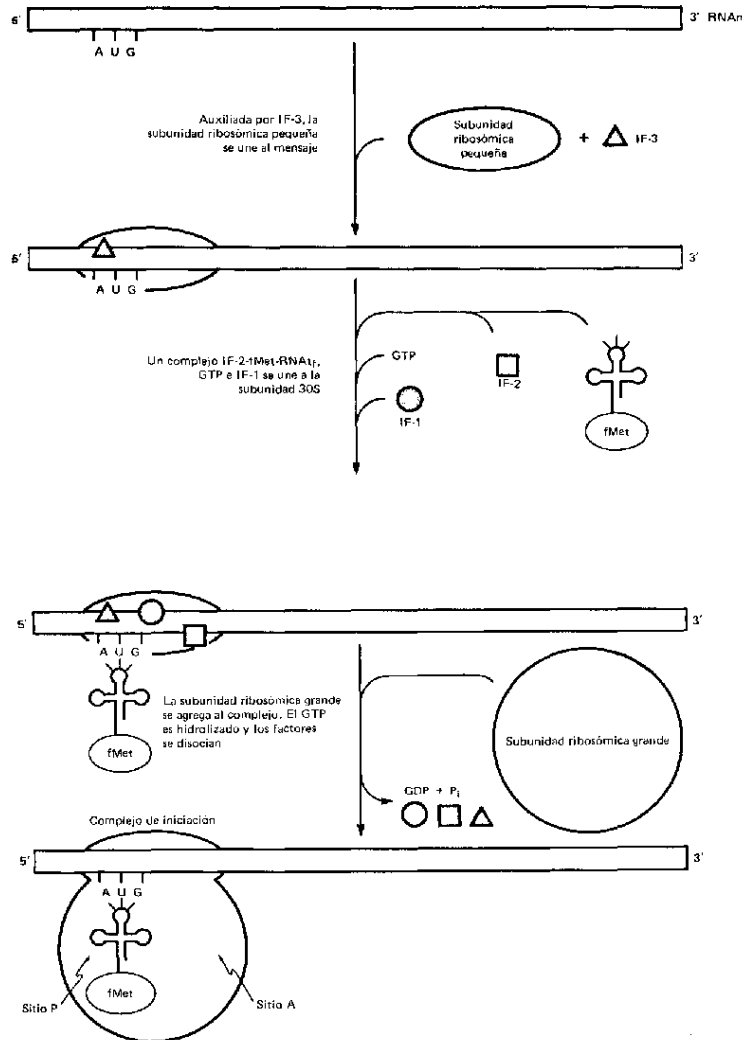


Figura 7. Iniciación de la síntesis de proteínas.

Los dos complejos hasta aquí formados se unen con la participación de IF1, y una vez unidos se asocian a la subunidad mayor del ribosoma, en el sitio del primer codón de la proteína a sintetizar. Este sitio de unión corresponde al sitio del péptido del ribosoma. En la última fase de la iniciación, después de que se forma el complejo del ribosoma, el mRNA y el aminoacil-tRNA, se liberan los tres factores de iniciación y se hidroliza el GTP unido a IF2.

El ribosoma unido al mRNA tiene dos sitios en los que puede unir tRNA, el **sitio del péptido o Sitio P**, hacia el extremo 5' del mRNA y el **sitio del aminoácido o Sitio A**, del lado 3' del mRNA.

Elongación. La cadena de aminoácidos crece en tres etapas consecutivas, que se repiten tantas veces como aminoácidos tenga la cadena. En dos de estas etapas participan factores de elongación (EF) de naturaleza proteica.

- Reconocimiento. Es la unión de un aminoácido activo al codón correspondiente del mRNA que se encuentra en el sitio del aminoácido del ribosoma. La entrada del aminoacil-tRNA depende de EF1 y de GTP los cuales ayudan a que se reconozca el aminoácido activo y una vez colocado, se liberan, hidrolisándose el GTP.

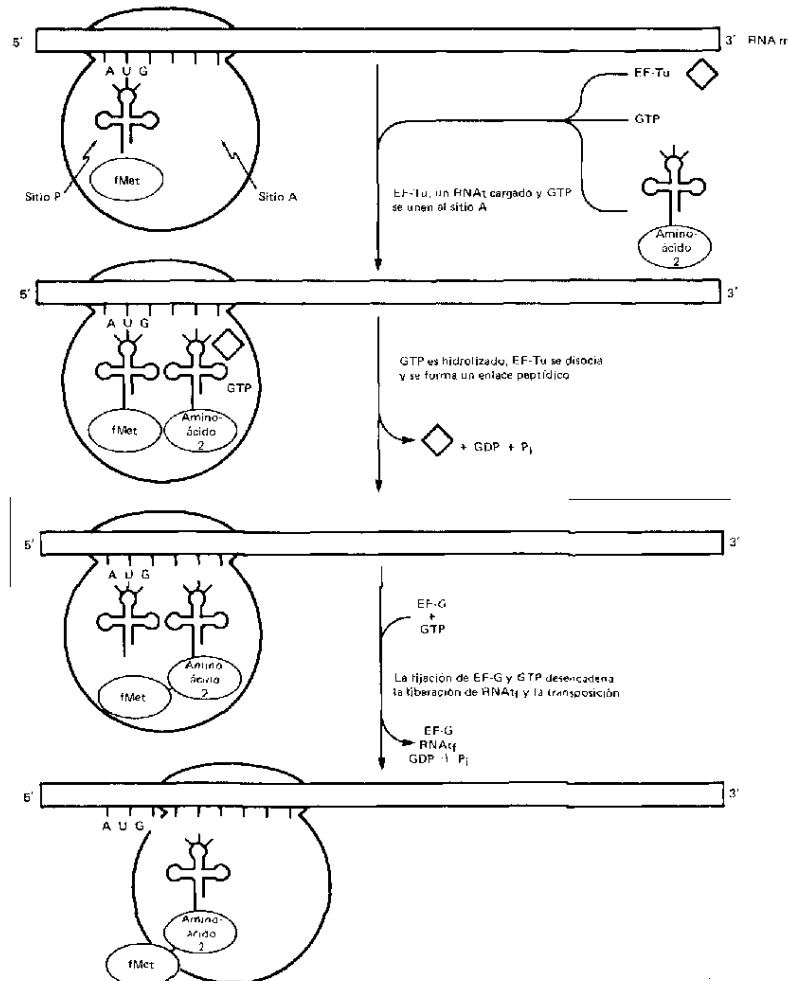


Figura 8. Elongación de la cadena de proteína.

- Formación del enlace peptídico. El aminoácido, o péptido, en el Sitio P, que corresponde al extremo amino terminal del péptido, se transfiere al grupo amino del aminoácido que acaba de entrar al Sitio A del ribosoma, por acción de la **peptidil transferasa, una ribozima** que forma parte de la subunidad mayor del ribosoma. Como resultado de la reacción en el sitio del péptido, queda un tRNA “vacio”, sin aminoácido, y en el sitio del aminoácido, queda el tRNA con un péptido unido.
- Translocación. Es el desplazamiento del ribosoma sobre el mRNA en dirección 3'. Para que se lleve a cabo se necesita la participación de un complejo formado por EF2 y GTP, que se une al ribosoma, y después del movimiento se libera, junto con el tRNA vacio del sitio del péptido, después que se ha hidrolizado el GTP. Al moverse el ribosoma, el peptidil-tRNA pasa del sitio del aminoácido al sitio del péptido, dejando libre el primero para la entrada del siguiente aminoácido.

Terminación. El ciclo de elongación se repite tantas veces como aminoácidos estén codificados en el mRNA, hasta llegar a un sitio de terminación. Estos sitios corresponden a los codones terminales (UAA, UAG, UGA), que son reconocidos por proteínas, los factores de terminación; cuando el ribosoma encuentra estos factores, libera el péptido formado, el complejo ribosoma-mRNA se disocia con ayuda del TF3 y GTP, y las subunidades quedan disponibles para un nuevo ciclo.

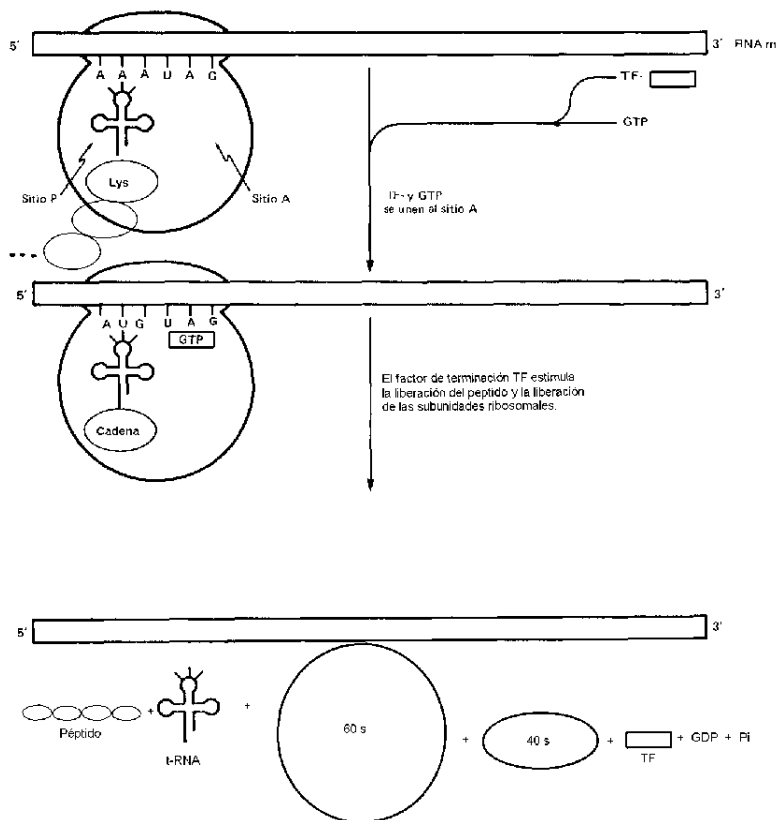


Figura 9. Terminación de la síntesis de proteínas.

Algunos antibióticos de importancia clínica actúan interfiriendo con la síntesis de proteínas: la **Eritromicina** inhibe la translocación; el **Cloranfenicol** evita la formación del enlace peptídico; la **Pu-**

romicina provocan la terminación prematura de la cadena; las **Tetraciclinas** evitan la unión del *aminoacil-tRNA* y la **Estreptomicina** causan un mal acoplamiento codó-anticodón.

Al termino de la síntesis, los péptidos producidos son sometidos a una serie de procesos conocidos como *modificaciones postraduccionales*, algunos de los más importantes son:

1. Eliminación de fragmentos de cadena. Este proceso normalmente lleva a la formación de un péptido activo y puede ser inmediato o no, dependiendo del péptido.
2. Formación de puentes disulfuro. La estructura terciaria y cuaternaria de muchas proteínas necesita la formación de puentes disulfuro, que en muchos casos depende de enzimas específicas.
3. Modificación de aminoácidos. Los aminoácidos no codificables se forman después de la síntesis de la proteína por acción de varias enzimas en diferentes compartimentos celulares.
4. Glicosilaciones. La adición de glúcidos sirve como marca de las proteínas, este proceso se lleva a cabo en gran medida en el Aparato de Golgi.
5. Adición de grupos prostéticos. Las proteínas complejas, adquieren su grupos no proteicos en esta etapa y casi siempre por acción enzimática.

Regulación de la Expresión Genética

El flujo de información genética en los seres vivos es vital y se debe controlar en forma estricta. Los principales mecanismos de control se dan a varios niveles.

El control de la Replicación depende del ciclo celular. En los Eucariotes, existe una proteína llamada Geminina cuyo metabolismo controla el ciclo celular; mientras la Geminina está presente, la célula no entra en la Fase S.

La regulación de la Transcripción, se efectúa mediante conjuntos de genes, que se denominan **operones**, que constituyen las **unidades reguladoras de la síntesis proteínas específicas**. Cada operón está formado por cuatro tipos de genes, un gene regulador (R), responsable de la síntesis de una proteína que directamente regula la síntesis del mRNA, un gen promotor (P), que es el sitio físico donde se une la polimerasa de RNA, un gene operador (O) al que se une la proteína producida por el gene regulador, y uno o más genes estructurales (X,Y,...) controlados por los anteriores. Los genes promotor, operador y estructurales se encuentran próximos en la cadena del DNA, pero el gene regulador puede encontrarse en cualquier parte del genoma. La secuencia de nucleótidos que codifica para una proteína también se conoce como “cistrón”. Los **operones de procarriotes** normalmente regulan la expresión de varios genes estructurales, se dice que son **policistrónicos**, mientras que en los **eucariotes**, cada **operón** regula un solo gene estructural, son **unicistrónicos**.

Existen dos modelos de funcionamiento del operón, uno de inducción y otro de represión. En el modelo de inducción, la proteína producida por el gene regulador es activa y se une al sitio operador evitando así la síntesis del mRNA. La proteína reguladora permanece unida al operador hasta que en el medio aumenta la concentración del inductor, que puede ser el substrato de la enzima correspondiente, o un metabolito relacionado con la función de la proteína regulada. El inductor tiene afinidad por la proteína reguladora y se une a ella, como resultado de esta unión se forma un complejo proteína-inductor, con poca afinidad por el sitio operador, por lo que no se une a él, permitiendo la expresión de la o las proteínas estructurales del operón. Este modelo de regulación

fue descrito por primera vez por Jacob y Monod para las enzimas del metabolismo de Lactosa de *Escherichia coli*.

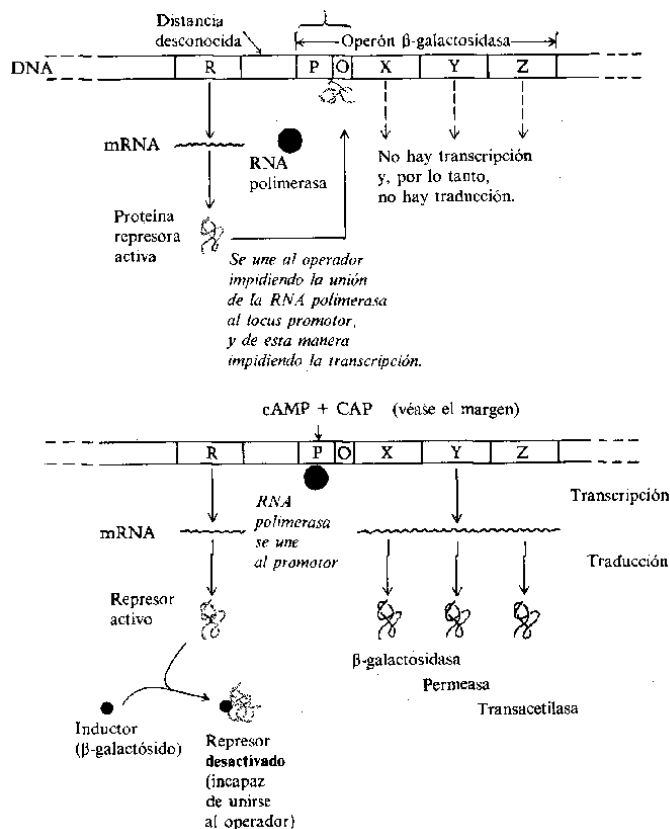


Figura 10. Modelo de inducción del operón.

En el modelo de represión, la proteína producida por el gene regulador, no es capaz de unirse al operador y por lo tanto las proteínas se expresan en forma constitutiva, hasta que se presenta el represor, esta sustancia normalmente es el producto final de la vía metabólica a que pertenece la proteína regulada. También puede tratarse de un intermediario metabólico importante, aunque no directamente relacionado con la vía específica. El represor se une a la proteína reguladora y el complejo resultante se une al operón impidiendo la síntesis del mRNA. Dentro de este tipo de operaciones se encuentra el que regula la síntesis de Histidina en levaduras.

En otro nivel de regulación, la vida media de los mRNA parece estar relacionada con el grado de modificación de las bases. La regulación de la vida media del mRNA es menos entendida pero es claro que mientras menor sea el tiempo de vida de un mRNA, menos proteínas podrán ser sintetizadas a partir de él, e incluso podría darse el caso de que el tiempo no fuera suficiente para sintetizar proteína alguna. En esta regulación podría estar involucrado el fragmento de poliadenilato en 3' del mRNA.

Finalmente, la Traducción se regula principalmente a nivel de la iniciación a través del factor IF2 α que se activa por GTP y poliaminas y se inhibe por fosforilación y GDP.

Interferencia con RNA (RNAi)

En **1990** un grupo de investigadores, liderados por *Rich Jorgenson*, descubrió que la introducción de genes exógenos en las plantas, análogos de genes endógenos de estas, podía provocar la inhibición de la expresión de ambos; este fenómeno se denominó **Silenciamiento Genético Post-Transcripcional**. Pocos años después se descubrió el mismo fenómeno en el gusano *C. elegans*, pero mediante la introducción de RNA de doble cadena.

En **1997** *Craig Mello* propuso un mecanismo para explicar este fenómeno, que es el aceptado hoy en día, según el cual el RNA exógeno o producido por la expresión del gen exógeno, es sustrato para una enzima Ribonucleasa de RNA de doble cadena, que requiere ATP, conocida como **Dicer**, que lo degrada a oligonucleótidos de alrededor de 20 nucleótidos de longitud, llamados RNA guía. Estos oligonucleótidos se unen al **Complejo de Silenciamiento Genético Inducido por RNA (RISC)**. RISC une moléculas específicas de RNA mensajero, seleccionadas mediante apareamiento de bases con el RNA guía, y las destruye, evitando así su expresión.

Inicialmente se propuso que la Interferencia con RNA era un fenómeno de defensa contra la invasión de RNA viral, pero resultados experimentales recientes sugieren que puede tratarse de un mecanismo general de regulación de la expresión genética tanto en el citoplasma como dentro del núcleo.