

## SECCIÓN V

# GENÉTICA MOLECULAR

### **Introducción a la sección**

**E**n esta sección se tratará el estudio de la genética molecular, lo que equivale a decir, que se estudiarán los fenómenos relacionados con la herencia de las características propias de los seres vivos, desde el punto de vista de los análisis de las estructuras, propiedades y funciones de las moléculas que en estos procesos intervienen.

Todas las macromoléculas que participan en estos procesos se caracterizan por presentar propiedades informativas, por lo que en el primer capítulo se discuten brevemente algunos aspectos fundamentales de la información molecular y de su transferencia, así como su momento de expresión durante el ciclo de vida de la célula. Toda la sección está prácticamente encaminada al estudio de las 3 grandes vertientes que tienen que ver con la información genética, o sea, su trasmisión, conservación y expresión.

La sección comienza con el breve análisis en el capítulo 24 del complejo proceso de la transferencia de información en los seres vivos, sus formas de expresión, así como los momentos del ciclo celular donde se hacen más evidentes estos mecanismos; en este mismo capítulo se hace un breve estudio del ciclo celular y su regulación.

El fenómeno de la trasmisión de la información genética se refiere al hecho comprobado de que los seres vivos pueden transmitir sus características a sus descendientes, haciendo que éstos sean esencialmente iguales a aquéllos, pero dentro de un amplio margen de variabilidad. El fundamento molecular de estos 2 aspectos se discute en el

capítulo 25, dedicado a la replicación del ADN que garantiza la estabilidad de la información que se trasmite, en tanto en el capítulo 31, dedicado a la recombinación genética y el 32 a las mutaciones, se analizan las diferentes fuentes de diversificación.

La conservación de la información genética implica varias facetas: en primer lugar la organización en cada organismo de las moléculas que la portan, que es contenido del capítulo 26 "Organización del Genoma Eucarionte"; en segundo lugar los mecanismos que mantienen y reparan las moléculas que han sufrido algún daño, esto se trata en el capítulo 33 "Conservación de la información genética".

Cada organismo, para ser cual es, debe expresar la información que contiene en su material genético; este aspecto es uno de los más complejos, pues esa información debe ser copiada primero en una molécula específica de ARNm, como se verá en el capítulo 27 "Transcripción del ADN", y después en la secuencia de aminoácidos de las proteínas como se estudia en el capítulo 30 "Traducción". Para ello es necesaria la existencia de una relación entre estos 2 tipos de moléculas y por eso se dedica el capítulo 28 al estudio del código genético, en tanto en el 29 se trata el estudio de los ribosomas, que son los organelos donde ocurre la síntesis de proteínas. Una eficiente expresión de la información genética requiere de mecanismos de control que serán estudiados en el capítulo 34 "Regulación de la Expresión Genética".

Para terminar la sección se ha considerado conveniente incluir en el Capítulo 35 "Tecnología del ADN Recombinante" algunas aplicaciones de los conocimientos de la genética molecular, sobre todo aquéllos relacionados con la práctica médica.

El campo de conocimientos de la genética molecular se ha desarrollado extraordinariamente en los últimos 30 años y en esta sección no se pretende hacer un análisis de todos los procesos relacionados con ella, ni siquiera hacer un estudio pormenorizado de los mecanismos que aquí se exponen. Ha sido necesario hacer una selección cuidadosa del contenido, teniendo en cuenta que este texto está dedicado principalmente a estudiantes de ciencias médicas, y de ahí la constante referencia a aquéllos aspectos que más o menos de forma directa pueden estar vinculados con esa esfera de conocimientos.

# 24

## CAPÍTULO

### Τύπος οργάνωσης de información

Una de las características más sobresalientes de los seres vivos es la de poseer, conservar y transmitir a sus descendientes un elevado grado de organización, que constituye a su vez un requisito indispensable para su funcionamiento. El tipo, el número y la composición de sus moléculas, la forma de disponerse en las células, sus interrelaciones mutuas, la especialización y diferenciación en la formación de órganos y sistemas, etcétera, están determinados desde el momento en que un ser comienza a existir. De la interrelación entre el organismo y el medio dependerá que esas características se manifiesten en toda su intensidad. En este capítulo se tratarán los aspectos más generales que están relacionados con la forma en que esa elevada organización se deriva de *propiedades específicas de moléculas concretas*.

### **Información molecular**

En los capítulos anteriores se ha hecho referencia a un término que tiene gran significado biológico, que en este momento es necesario profundizar para lograr una mejor comprensión del contenido de las páginas siguientes; ese término es el de *información molecular*.

La información molecular es el fenómeno por medio del cual las estructuras biológicas adquieren, mantienen y transmiten un elevado grado de organización, a pesar de la tendencia natural al desorden. Existen definiciones más o menos complejas del término, incluso hasta con formulaciones matemáticas, que a este nivel de interpretación no resulta necesario discutir.

En todos los casos el término está caracterizado por 2 rasgos básicos generales. Por una parte, su asociación con la disminución de la entropía, que caracteriza el funcionamiento general de los sistemas vivos y, por otra, su insoluble vinculación con lo variado, lo diverso y lo diferente.

Lo más característico en la composición química de los seres vivos es la existencia de las *macromoléculas*, a partir de las cuales se forman todas las estructuras celulares, cuyas funciones son en última instancia las resultantes de las propiedades, las funciones y las formas específicas de organizarse las macromoléculas que las constituyen. Es precisamente la organización estructural de esas macromoléculas la que condiciona la aparición de la información molecular.

## Formas de la información molecular

Es necesario precisar que al nivel molecular podemos distinguir 2 tipos principales de información: la información por secuencia o secuencial, y la información por conformación o conformacional.

La secuencial corresponde a macromoléculas donde se da en un todo armónico la unidad de lo monótono y lo diverso, pero donde lo diverso desempeña una función de codificación, la de constituir un conjunto de signos sucesivos con un ordenamiento lineal y con una significación precisa. Esta forma de organizarse la información es la más adecuada para su conservación porque puede existir en macromoléculas de elevada estabilidad, tanto química como metabólica, con lo cual puede mantenerse inalterable durante un tiempo prolongado. Del mismo modo esta forma es la más adecuada para su transmisión, ya que por mecanismos más o menos sencillos de codificación se puede reproducir esa información organizada de forma lineal como la sucesión de elementos diversos a lo largo del eje covalente de la macromolécula y distribuirla de manera equitativa en los organismos descendientes.

Pero este tipo de información, debido principalmente a estos factores, no es todo lo funcional que se requiere para dar cuenta de las múltiples y diversas actividades de un organismo, aunque se trate del más simple o el más complejo. Esto significa que no puede expresarse directamente mediante la realización de otras funciones específicas que no sean conservar y transmitir su contenido.

La información conformacional está contenida también en macromoléculas, donde existe la unidad de lo monótono y lo diverso, pero este último se distribuye en las 3 dimensiones del espacio, ocupando posiciones precisas que hacen posible la realización de funciones específicas, determinadas por esa disposición espacial.

Esta distribución permite, por un mecanismo de complementariedad espacial, el reconocimiento de moléculas específicas de igual o diferente naturaleza. Esta forma de organizarse la información presenta serias dificultades para su conservación, pues estas estructuras tridimensionales se mantienen generalmente por interacciones débiles y por ello no presentan gran estabilidad. Su utilidad en la transmisión es aún menor, pues se trataría de duplicar y después distribuir equitativamente todas y cada una de las moléculas con funciones específicas en las células, de manera que las células hijas contengan la misma información que aquella que le dio origen.

El fenómeno de la identificación o reconocimiento molecular es el nivel básico de manifestación de la información conformacional, pues mientras una molécula no posea la propiedad de reconocer o identificar a otra, no podrá la primera realizar ninguna acción específica sobre la segunda, o lo que es lo mismo no podrá realizar funciones definidas.

Para que este reconocimiento se produzca las moléculas deben tener determinadas características estructurales, debe existir un sitio ubicado en la superficie de la molécula, construido a expensas de la estructura tridimensional. Este sitio debe poseer una conformación complementaria a la sustancia que va a reconocer y presentar grupos químicos en posiciones precisas que permitan una interacción atractiva, generalmente no covalente, entre las 2 moléculas.

Una vez realizada la identificación se produce una reacción de inmovilización de la sustancia reconocida, formándose complejos que según el caso pueden tener diferentes destinos. La identificación puede ser seguida de acciones diferentes, según las propiedades de la macromolécula dada, unas veces ocurre la transformación de la sustancia reconocida, otras, suceden modificaciones de la actividad específica de alguno o todos los componentes del complejo, y en determinadas ocasiones se dan las 2 situaciones anteriores. En muchos casos el destino de este complejo y los mecanis-

mos por los cuales se realiza no han sido esclarecidos suficientemente, como sucede con el complejo antígeno-anticuerpo, como veremos en el capítulo 80. En resumen, los 4 estratos básicos de manifestación de la información conformacional serían:

1. Reconocimiento-inmovilización-transconformación-transformación.
2. Reconocimiento-inmovilización-transconformación-modulación.
3. Reconocimiento-inmovilización-transconformación-translocalización.
4. Reconocimiento-inmovilización-transconformación- ?

Nótese que en los 4 casos la identificación representa la primera etapa del proceso.

A diferencia de la información secuencial, la información conformacional presenta diferentes grados de actividad funcional. Para que un grupo de moléculas pueda realizar funciones diversas y específicas debe poseer información conformacional.

## Transferencia de información

En capítulos anteriores ha quedado demostrado que en las macromoléculas funcionales, la conformación depende de su estructura primaria, de su secuencia, por lo que en éstas se funden los 2 tipos de información: la secuencial y la conformacional. Puede decirse que en estas moléculas la información contenida en la secuencia es precisamente la de cómo construir la estructura tridimensional. En ellas se produce la transición de lo secuencial a lo conformacional.

Pero la información secuencial, como hemos visto, es la adecuada para la transmisión, por lo tanto, ésta debe provenir de otra molécula que sólo contenía este tipo de información y la de esta última, provino a su vez de otra macromolécula con información también de tipo secuencial.

En esto consiste una de las principales regularidades que se observa en los organismos vivos y que se refiere a la forma en que fluye la información en las células. No importa el número de etapas en que el proceso se desarrolle, ni los mecanismos moleculares implicados en cada una de ellas, ni las formas específicas en que lo realiza cada organismo particular: la información molecular se transmite siempre desde una molécula con información secuencial hacia otra molécula con información conformacional; esto es lo que hemos denominado principio de transferencia de información.

Esa transferencia de información se manifiesta en los organismos vivos mediante 3 mecanismos básicos. El primero -la conservación- tiende a mantener la información lo más invariable posible, utilizando estructuras de elevada estabilidad y procesos de rectificación y reparación. El segundo -la trasmisión- garantiza el paso de la información de un organismo a sus descendientes con el más elevado grado de fidelidad, de modo que todos los descendientes posean en esencia la misma información. El tercero -la expresión- consiste fundamentalmente en la dirección de la síntesis de moléculas, donde se produzca la transición hacia la información conformacional, y ésta se exprese en funciones específicas que permitan el mantenimiento, desarrollo y reproducción del organismo que la posee.

Estos 3 procesos se llevan a cabo en diferentes momentos de la vida celular, por lo cual a continuación se hará un estudio somero de las características de los principales estados o fases por los que atraviesa una célula durante su vida.

## Ciclo celular

Todas las células al pasar de una generación a la siguiente experimentan una secuencia periódica de eventos que recibe el nombre de ciclo celular.

En muchos microorganismos y en células cultivadas de organismos superiores, tie-

nen lugar, previo a cada división, la duplicación casi exacta del tamaño de la célula y del número de sus componentes moleculares. En muchos huevos fertilizados, por otra parte, no se produce incremento del tamaño y, aparte del ADN, sólo un número reducido de moléculas se duplican durante las primeras divisiones celulares, esto se conoce como clivaje. La mayoría de las células que forman parte de los animales y las plantas caen dentro de una categoría intermedia, en la que existe generalmente una duplicación del tamaño celular, pero sin una duplicación exacta de todas sus moléculas.

La síntesis de los componentes celulares a lo largo del ciclo puede realizarse de forma continua o discreta. En este último caso su período de síntesis puede ser largo o corto y pudiera ocurrir en cualquiera de las etapas del ciclo.

El período o etapa que presenta cambios fácilmente observables al microscopio es, sin lugar a dudas, la división celular, que ya fue estudiada en el capítulo 23. Como el mecanismo básico general de la división celular es la mitosis, este período se designa como M. En un principio el ciclo celular se describía como formado sólo por 2 etapas: la mitosis (M) y el resto denominado interfase por encontrarse entre la telofase (última fase de una mitosis) y la profase (primera fase de la siguiente).

Otro evento de singular significación dentro del ciclo celular es el proceso de duplicación de la información genética, o sea, la síntesis del ADN, éste se conoce como replicación o autoduplicación y es el que hace posible que durante la mitosis cada célula formada contenga la misma información genética, haciendo que ambas sean de la misma estirpe celular.

Para determinar si la síntesis del ADN se producía de forma continua o discreta se realizó un experimento sencillo, pero concluyente. Se cultivaron células en un medio adecuado hasta obtener una población celular grande. En un momento determinado se le añade al medio  $[^{14}\text{C}]$ -timidina, a los pocos momentos el cultivo se lava para eliminar el exceso de reactivo, las células se fijan y la preparación se recubre de una película fotográfica -procedimiento conocido como autorradiografía- y después de un tiempo prudencial se revela la película.

Este experimento se basa en una idea muy simple. Si la síntesis del ADN se produce de forma continua durante todo el ciclo celular todas las células incorporarán  $[^{14}\text{C}]$ -timidina, pero si se realiza de forma discreta, sólo incorporarán  $[^{14}\text{C}]$ -timidina las que en el momento de la exposición estén en el período de síntesis. Como puede apreciarse en la figura 24.1 los resultados fueron concluyentes: la síntesis del ADN se realiza de forma discreta en un momento determinado del ciclo.

Este proceso define otra de las etapas que, debido a estar caracterizada por la actividad de síntesis del ADN, se le ha denominado período o etapa S. Este proceso ocurre en un período que está separado de la división por 2 etapas conocidas como  $G_1$  (entre M y S) y  $G_2$  (entre S y M). La denominación de estos períodos proviene de la inicial de la palabra inglesa *gap* que significa brecha, hueco o hendidura.

Esta situación ha sido comprobada en múltiples organismos eucariotes, por lo que se considera que tiene carácter casi universal.

Para calcular la duración de las diferentes etapas del ciclo celular se procedió de la forma siguiente: mediante control visual se estableció que la fase M (mitosis) duraba aproximadamente 1 hora. El ciclo celular de M a M era de 26 horas. A un cultivo de células HeLa se añadió  $[^3\text{H}]$ -timidina durante un breve tiempo y se fueron obteniendo muestras del cultivo en intervalos regulares de tiempo, para analizar el número de células que aparecían marcadas durante el período de mitosis. Las primeras células mitóticas no estaban marcadas y lo mismo sucedía con las siguientes, hasta unas 6 ó 7 horas después de la exposición a la  $[^3\text{H}]$ -timidina; en ese momento el número de células marcadas crecía extraordinariamente. Era razonable pensar que estas primeras células marcadas eran las que estaban en la parte final del período S cuando se produjo la exposición; de esta manera pudo establecerse que la duración del período  $G_2$  era de 6 horas. El mismo razonamiento condujo a dilucidar la duración de las demás etapas del ciclo. Unas 17 horas después de la exposición, el número de células mitóticas marcadas descendía abruptamente, de ahí que la duración del período S se estableciera

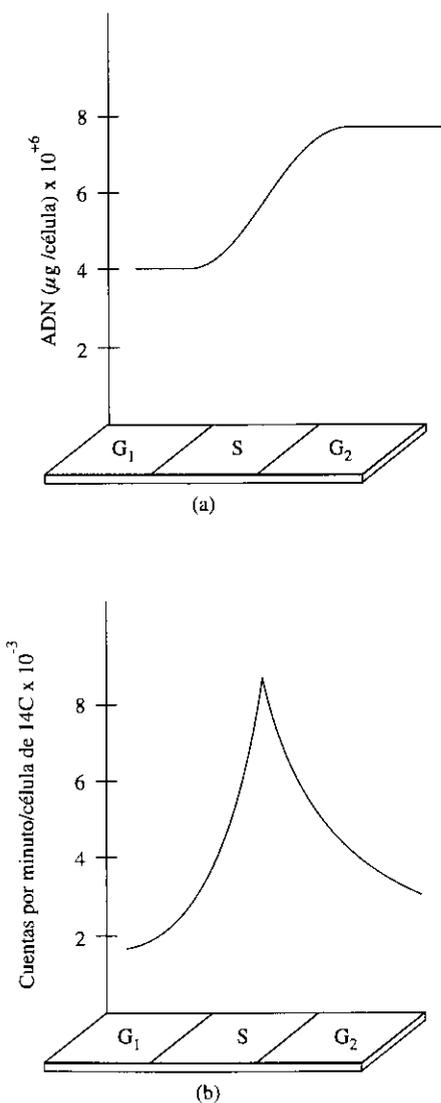


Fig. 24.1. Estudio de la replicación del ADN durante el ciclo celular. (a) El contenido celular de ADN aumenta de manera brusca en un momento determinado del ciclo celular y define el período S. (b) La incorporación de  $[^{14}\text{C}]$ -timidina durante el ciclo celular presenta un incremento que se corresponde con el período S y después descende. Ambas experiencias demuestran el carácter discreto de la síntesis del ADN.

en  $17 - (6+1) = 10$  horas, y el período  $G_1$  duraría  $26 - 17 = 9$  horas (Fig. 24.2).

En las células de los organismos adultos, la duración de los períodos M y S son prácticamente constantes, de ahí que las variaciones en la duración del ciclo dependen fundamentalmente de la duración de los períodos  $G_1$  y  $G_2$ , en especial del primero.

En organismos superiores es frecuente encontrar células especializadas que no se dividen o lo hacen raras veces. En estos casos, después de la división celular (M), la célula pasa a un estado metabólico particular que se diferencia esencialmente del período  $G_1$ . Hace algunos años para caracterizar este estado se introdujo el concepto de período  $G_0$ ; para que una célula en este estado pueda llegar a dividirse tiene que introducirse primero en el período  $G_1$ , en el cual se producen las condiciones necesarias para la replicación del ADN primero y la división celular después. En las células embrionarias de los primeros estados  $G_1$  y  $G_2$  casi no existen y aún se produce un acortamiento del período S, por un mecanismo que se estudiará en el capítulo próximo, haciendo que el ciclo celular ocurra a gran velocidad.

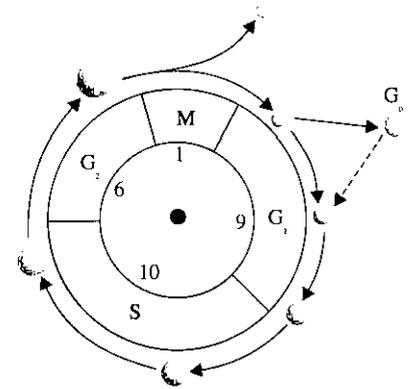


Fig. 24.2. Duración del ciclo celular en una célula animal típica. Los períodos de división celular (M) y de síntesis del ADN (S) están separados por 2 fases de duración variable  $G_1$  y  $G_2$ . El período  $G_0$  se utiliza para tipificar la situación de células que no se dividen o lo hacen raras veces, como las células especializadas de los organismos superiores. Aunque ubicados en igual posición en el esquema hay diferencias esenciales entre los períodos  $G_1$  y  $G_0$ . Los números dentro del círculo representan la duración en horas de cada uno de los períodos en una célula animal típica.

### Actividad biosintética durante el ciclo celular

Para el estudio de la síntesis de los diferentes componentes celulares y sus variaciones durante el ciclo es necesario contar con células de crecimiento sincronizado, que todas se encuentren en el mismo período del ciclo celular.

Todos los métodos descritos para la obtención de cultivos de células de crecimiento sincronizado pueden dividirse en 2 grupos: los de selección y los de inducción. Generalmente los de selección tienen un rendimiento mucho menor que los de inducción.

Los métodos de selección consisten en aprovechar alguna propiedad especial de las células en algunas de las etapas del ciclo y, haciendo uso de ella, separarlas del resto. Por ejemplo, las células en  $G_2$  son mucho más grandes que en  $G_1$  y por ello es posible separarlas por centrifugación en gradiente de densidad (Fig. 24.3).

Los métodos de inducción química tienen un uso más generalizado y dependen

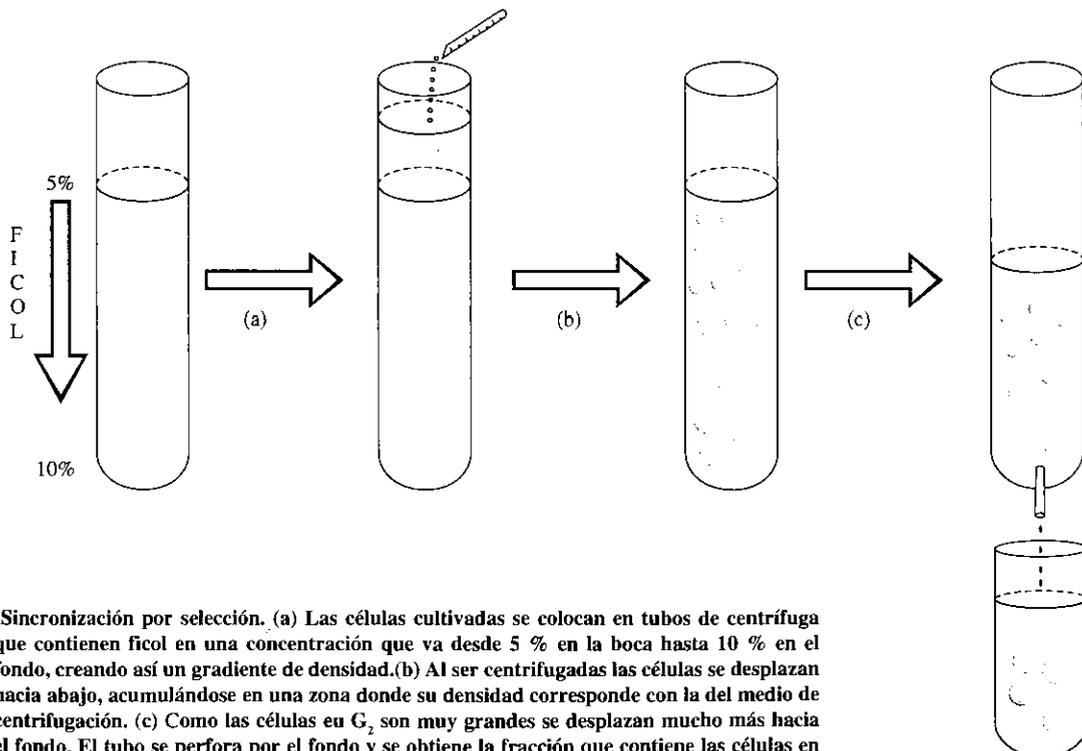


Fig. 24.3. Sincronización por selección. (a) Las células cultivadas se colocan en tubos de centrifuga que contienen ficol en una concentración que va desde 5 % en la boca hasta 10 % en el fondo, creando así un gradiente de densidad. (b) Al ser centrifugadas las células se desplazan hacia abajo, acumulándose en una zona donde su densidad corresponde con la del medio de centrifugación. (c) Como las células en  $G_2$  son muy grandes se desplazan mucho más hacia el fondo. El tubo se perfora por el fondo y se obtiene la fracción que contiene las células en período  $G_2$ , y se cultivan nuevamente.

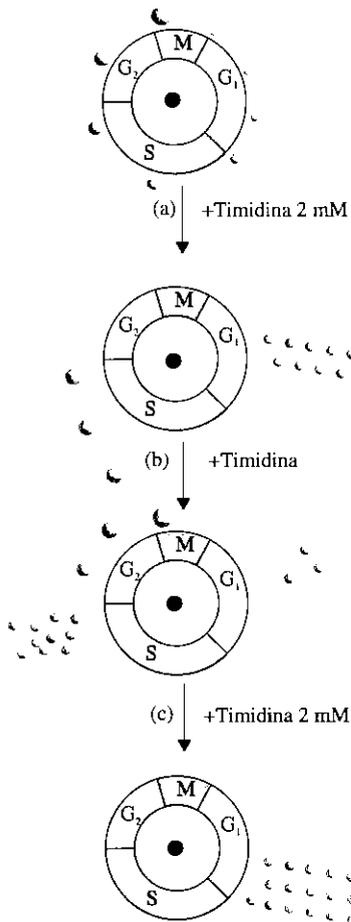


Fig. 24.4. Sincronización por inducción. Un cultivo de células se incorpora a un medio que contiene timidina suficiente para alcanzar una concentración final de 2 mM durante un tiempo igual a  $G_2 + M + G_1$  (A). Como la timidina en esa concentración inhibe la síntesis del ADN, las células van acumulándose al final de  $G_1$ . El inhibidor se retira (B) y después de algunos ciclos de división celular el procedimiento se repite (C), con lo cual se logra un rendimiento considerablemente mayor.

de la acción selectiva de un inhibidor. Inhibidores de la síntesis del ADN como la fluorodesoxiuridina, la hidroxiaurea o elevadas concentraciones de timidina (2 mM) bloquean el crecimiento celular en el período S, mientras que inhibidores de la mitosis como la colchicina, lo hacen en metafase. Después de retirar el inhibidor, las células acumuladas en la fase del ciclo anterior donde actuó el inhibidor empleado, continúan el ciclo sincronizadamente. Se puede aumentar el rendimiento si el procedimiento se repite más de una vez (Fig. 24.4).

Utilizando células de crecimiento sincronizado se han podido estudiar los procesos de síntesis de los principales componentes moleculares de las células.

Para determinar el momento del ciclo, cuando se produce la síntesis de un componente específico, pueden seguirse 2 procedimientos: medir durante todo el ciclo el contenido celular de ese componente, o medir la actividad biosintética por la incorporación de precursores marcados de forma radiactiva.

En contraste con la replicación, la síntesis de los ARN estudiada por la incorporación de  $[^3H]$ -uridina, parece ser continua durante todo el ciclo, con excepción de la mitosis, tanto en animales y plantas como en microorganismos.

La intensidad de este proceso, conocido también como transcripción, va aumentando en la medida que avanza el ciclo y comienza a disminuir en  $G_2$  para llegar prácticamente a cero durante la mitosis. Los estudios realizados indican que al menos en la mayoría de las células esta situación ocurre con los 3 tipos principales de ARN (mensajero, ribosomal y de transferencia) (Fig. 24.5).

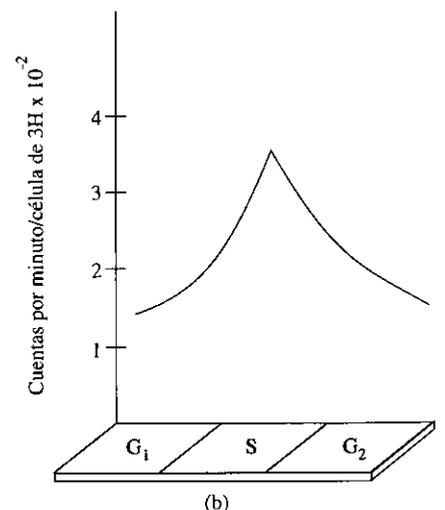
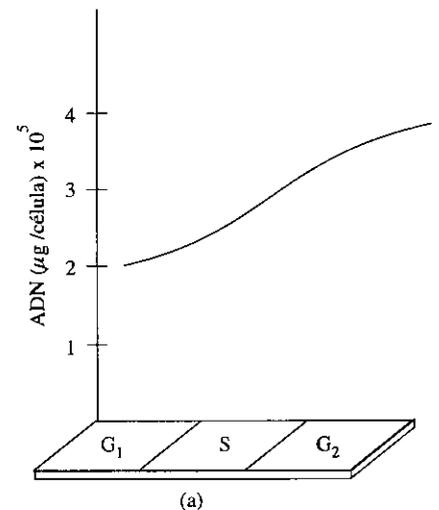


Fig. 24.5. Estudio de la transcripción durante el ciclo celular. (a) El contenido celular de ARN total aumenta de forma continua durante el ciclo celular y sólo comienza a disminuir al final del período  $G_2$ . (b) La incorporación de un precursor de los ARN como la  $[^3H]$ -uridina durante el ciclo celular, va incrementándose hasta la parte final del período  $G_2$ , donde desciende lentamente. Estos 2 experimentos evidencian que la síntesis de los ARN, la transcripción, se produce de manera ininterrumpida durante el ciclo de vida de la célula, con excepción de la mitosis.

Las proteínas en general tienen una síntesis continua a lo largo de todo el ciclo, con una marcada disminución durante la mitosis, como se evidencia por la incorporación de  $[^3\text{H}]$ -prolina. Esto concuerda con lo expresado para los ARN mensajeros, como se verá más adelante. No obstante, existen grupos de proteínas específicas cuya síntesis es discreta, esto es sólo en un período determinado del ciclo. Tal es el caso de las histonas cuya síntesis se limita al período S, simultáneo con la duplicación del ADN. El proceso de síntesis de proteínas recibe el nombre de traducción (Fig. 24.6).

El estudio de la síntesis de los lípidos de membrana se hace mucho más difícil por la heterogeneidad estructural de estos compuestos. Sin embargo, las experiencias midiendo la incorporación de  $[^3\text{H}]$ -colina o  $[^3\text{H}]$ -inositol permiten afirmar que estos componentes celulares también se sintetizan de forma continua durante el ciclo celular (Figura 24.7).

Estudios similares demuestran que también es continua la síntesis de polisacáridos complejos y otros componentes celulares.

Si se estudia la velocidad de síntesis de muchos de estos componentes y se calcula el incremento de concentración que debía producirse en un período determinado, y se compara con el incremento que realmente se ha producido, determinado de manera experimental, se comprueba que el incremento observado es siempre menor que el esperado.

Esto significa que los componentes celulares están sometidos a un recambio constante, o sea, que son degradados constantemente. Los incrementos de concentración que se producen son entonces la resultante de la intensidad con que transcurren los 2 procesos contrarios: la síntesis y la degradación. Estos resultados constituyen una evidencia más del principio del recambio continuo.

Los fenómenos de conservación, trasmisión y expresión de la información genética están ubicados de forma continua o discreta a lo largo del ciclo celular; su ubicación y los mecanismos moleculares de esos procesos, son los aspectos que serán abordados en los capítulos siguientes.

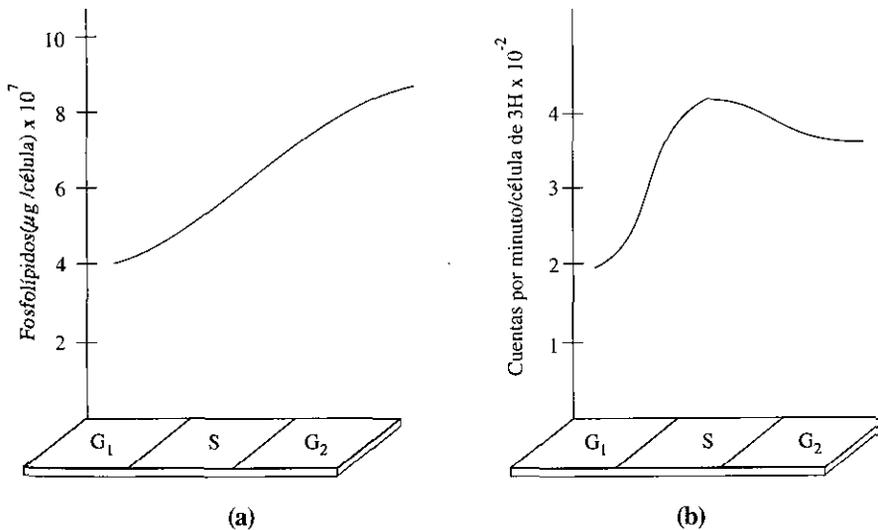


Fig. 24.7. Estudio de la síntesis de lípidos de membrana durante el ciclo celular. (a) La figura muestra que el contenido celular de fosfolípidos aumenta de forma continua durante el ciclo celular. (b) Resultado del estudio de incorporación de  $[^3\text{H}]$ -colina (precursor de la síntesis de fosfatidil-colina y esfingomielinas) muestra que ésta es continua durante el ciclo. Los 2 experimentos demuestran que al igual que otros componentes moleculares, la síntesis de los lípidos de las membranas es un proceso continuo.

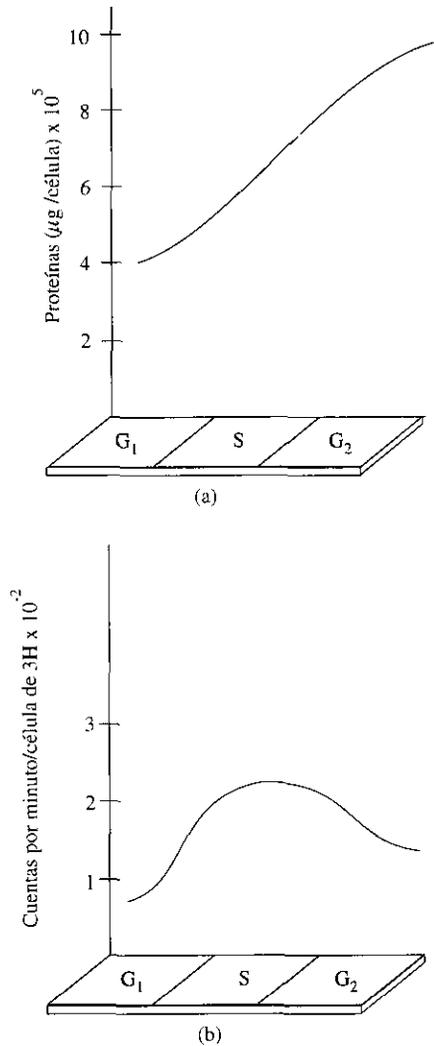


Fig. 24.6. Estudio de la traducción durante el ciclo celular. (a) El contenido total de proteínas celulares se incrementa de forma continua durante el ciclo celular. (b) La incorporación de aminoácidos a las proteínas, medida con  $[^3\text{H}]$ -prolina se produce con intensidad variable durante todo el ciclo. Los resultados de estos experimentos confirman que la síntesis de proteínas se produce de forma continua.

## Regulación del ciclo celular

Era de esperar que un proceso tan importante como el ciclo celular estuviera bajo un preciso sistema de regulación, pero hasta la segunda mitad de la década de los años 80 estos mecanismos eran casi desconocidos. Debido a los progresos alcanzados en el estudio de la transformación cancerosa se ha logrado comenzar a penetrar en las características moleculares de esos mecanismos. Quedan aspectos esenciales por resolver, pero existe en el momento actual una visión bastante aproximada de los mecanismos moleculares básicos que controlan el ciclo celular.

En este proceso existen mecanismos positivos que estimulan la proliferación celular, y los negativos, que la inhiben. En ambos casos, al menos en las células en cultivos y las de los individuos adultos, las señales estímulos que desencadenan las respuestas, provienen del exterior de la célula. El grupo mejor conocido de señales positivas está constituido por un grupo de polipéptidos conocidos como factores de crecimiento, los cuales son específicos para tipos particulares de células. Estos factores se unen con receptores específicos localizados en la superficie celular; a partir de esa unión se produce la activación de un grupo de proteínas quinasas, que en forma de cascada enzimática, van transfiriendo la información recibida del exterior hacia el núcleo celular, donde se activa la replicación del ADN primero y la división celular después.

Las señales negativas son menos conocidas, pero su existencia no se discute. Esta certeza nace de la observación de la inhibición del crecimiento por contacto, o sea, cuando se cultivan células éstas crecen y van cubriendo la superficie del soporte donde fueron sembradas, hasta que entran en contacto unas con otras, cuando el crecimiento se detiene.

Sin embargo, a pesar del gran número de señales ambientales que influyen sobre la progresión del ciclo celular, las moléculas participantes en la última etapa del proceso de regulación se reducen a unas pocas familias de proteínas, algunas de las cuales presentan actividad enzimática.

Los estudios más intensos se han realizado en levaduras, un eucarionte monocelular, en las cuales es mucho más fácil la obtención de mutantes que en células de organismos superiores. Los mutantes que exhiben alguna alteración del ciclo celular han sido denominados CDC (*cell division cycle*) y se han ido numerando de acuerdo con el orden de aparición. Se ha comprobado que cada uno de ellos presenta alteraciones en un gen único. Genes homólogos a los CDC de levaduras han sido identificados en otras especies, incluyendo al hombre, y casi siempre se refieren con la misma nomenclatura que los de levaduras.

Entre las familias proteínicas implicadas en este proceso se incluyen las siguientes: las ciclinas, las proteínas quinasas dependientes de ciclinas Cdk (*cyclin-dependent kinases*), los inhibidores de las Cdk (CDI), las fosfoproteínas fosfatasa y otras proteínas con diversas funciones, casi todas sustratos de las quinasas. A estos grupos deben agregarse todas las especies moleculares que intervienen en la replicación del ADN y que serán estudiadas en el capítulo siguiente.

Las ciclinas son un grupo de proteínas con relativo bajo peso molecular, que pueden ser consideradas como el componente principal de estos mecanismos reguladores. Su nombre deriva del hecho de que su concentración varía en forma cíclica durante el ciclo celular. En un momento determinado su síntesis es estimulada y su concentración aumenta de manera brusca en la célula, pero momentos después son degradadas a gran velocidad y su concentración intracelular disminuye. Por ejemplo, la ciclina B comienza a sintetizarse al final de la interfase y su concentración se incrementa notablemente, mientras el ciclo progresa hacia la mitosis, pero una vez alcanzada la metafase se degrada de forma que al final de la mitosis su concentración intracelular es casi cero. Las ciclinas funcionan como las subunidades reguladoras de las Cdk (Fig. 24.8).

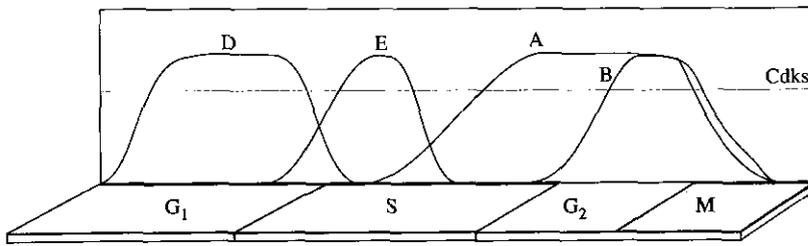


Fig. 24.8. Variación de la concentración de ciclinas durante el ciclo celular. Se muestra como la concentración de cada una de las principales ciclinas fluctúa durante el ciclo celular. En todos los casos la concentración aumenta rápidamente en un momento, debido al incremento de la síntesis. Se alcanza un nivel máximo cuya duración es diferente para cada una, y después se produce un rápido descenso debido a la degradación de estas proteínas. Sin embargo, la concentración de las quinasas dependientes de ciclinas (Cdk's) se mantiene invariable durante todo el ciclo. Como las quinasas son inactivas en ausencia de ciclinas en cada etapa del ciclo su especificidad será diferente en dependencia de la ciclina a la cual está unida.

Las proteínas quinasas dependientes de ciclinas (Cdk) son enzimas que transfieren un grupo fosfato del ATP hacia residuos de serina o treonina de proteínas sustratos. Las Cdk resultan a su vez reguladas por ciclos de fosforilación –desfosforilación. La enzima mejor estudiada es la Cdk2 que contiene 3 sitios de fosforilación: uno en la treonina 14 (T14), otro en la tirosina 15 (Y15) y el tercero en la treonina 161 (T161). La fosforilación de los 2 primeros sitios tiene un efecto inhibitorio, mientras que la del tercero es activante. Existen quinasas específicas para la fosforilación en T14 y Y15. La fosforilación en T161 se realiza por la quinasa activadora de la Cdk2 (CAK), cuya subunidad catalítica es la Cdk7 y la reguladora es la ciclina H. Si la Cdk2 está fosforilada, pero no está unida a ciclinas, puede ser desfosforilada por la fosfatasa asociada a las quinasas (KAP), pero en presencia de la ciclina esta desfosforilación no es posible (Fig. 24.9).

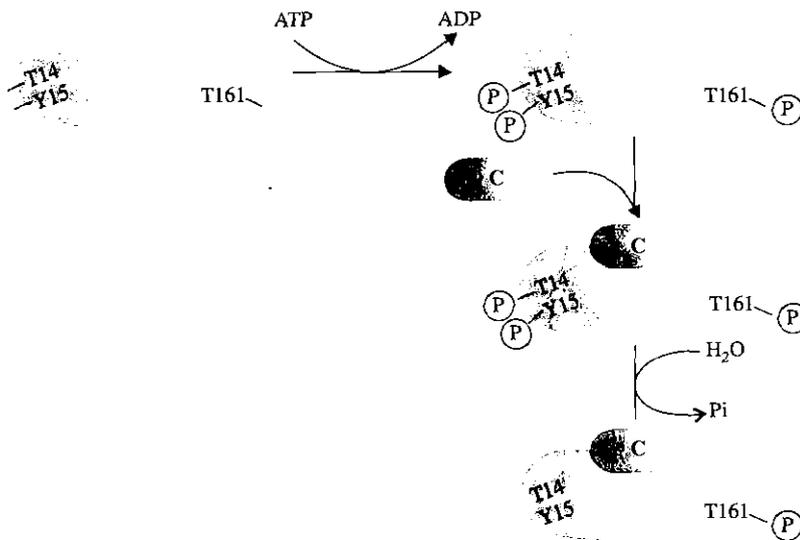


Fig. 24.9. Activación de las quinasas dependientes de ciclinas. La estructura de las Cdk's contienen 3 sitios de fosforilación y uno de unión a las ciclinas. En ausencia de las ciclinas y de la fosforilación son inactivas. La fosforilación de los 3 sitios las mantiene inactivas aun cuando estén unidas a las ciclinas. El estado totalmente activo se alcanza cuando la quinasa unida a la ciclina está fosforilada sólo en la treonina 161.

A diferencia de las ciclinas, las Cdk se sintetizan de forma constitutiva durante todo el ciclo celular, pero son inactivas a menos que estén unidas a un tipo particular de ciclinas y de ahí su nombre. Las ciclinas no poseen actividad catalítica, pero son las que determinan la especificidad de sustrato de las quinasas.

Entre las fosfoproteínas fosfatasas que participan en el ciclo la más conocida es la Cdc25, que cataliza la hidrólisis de los enlaces éster fosfóricos de la Cdk2 en T14 y Y15. Otras fosfatasas menos específicas también intervienen.

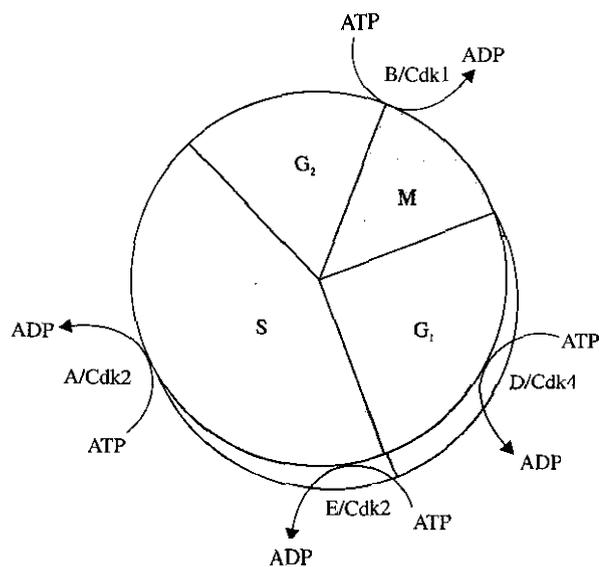
Los inhibidores de las quinasas dependientes de ciclina (CDI) son un grupo de proteínas cuyas masas moleculares están en el rango de 15 a 30 kD, y los hay con un elevado grado de especificidad y otros mucho menos específicos.

Una vez conocidos los componentes moleculares que intervienen en la regulación del ciclo, es conveniente dar al menos una idea de cómo transcurre el proceso, aunque es bueno recordar que todavía no se conocen todos sus aspectos.

Al comenzar la etapa  $G_1$  comienza a incrementarse la síntesis de la ciclina D, la cual al unirse a la Cdk4 dirige la actividad de esta enzima hacia ciertos sustratos específicos, cuya actividad promueve la progresión del ciclo por esta etapa. En la transición entre  $G_1$  y S, la ciclina D es degradada. Al final de  $G_1$  había comenzado la síntesis de la ciclina E que alcanza su concentración máxima precisamente al comienzo de S. El complejo E/Cdk2 fosforila proteínas relacionadas con el comienzo de la replicación del ADN. La progresión de la etapa S depende de la actividad del complejo A/Cdk2. La relación entre las concentraciones de las ciclinas E y A modula la actividad de la proteína E2F, que es un factor que activa la expresión de los genes relacionados con la fase S. Al inicio de esta fase, cuando predomina la ciclina E, el complejo E/Cdk2 activa a E2F, pero en la medida que la fase progresa la concentración de la ciclina E disminuye y aumenta la de la ciclina A, que al formar el complejo A/Cdk2 provoca la inhibición de E2F. En el tránsito de S a  $G_2$  comienza a incrementarse la concentración de la ciclina B. Los complejos formados por la Cdk1 con la ciclina B son conocidos como factor promotor de la mitosis (MPF).

Al llegar a la metafase el MPF estimula la degradación de las ciclinas con la cual se produce la inactivación del propio MPF, y se induce la anafase. Las ciclinas A son degradadas antes que las B. Esta inactivación del MPF y la degradación de las ciclinas son necesarias para la culminación de la mitosis (Fig. 24.10).

Fig. 24.10. Las ciclinas y la progresión del ciclo celular. Cada una de las fases del ciclo progresa debido a la existencia de un complejo específico ciclina/Cdk. En  $G_1$  el papel predominante lo tiene el complejo ciclina D/Cdk-4. En el resto de las fases la actividad de la Cdk-2 unida a diferentes ciclinas es la responsable de hacer progresar el ciclo hasta alcanzar la división celular.



Falta aún mucho por descubrir sobre las moléculas y mecanismos implicados en el control del ciclo celular, pero cada día el conocimiento científico refleja con mayor grado de aproximación la realidad de este proceso. Su conocimiento cabal no es sólo un problema interesante desde el punto de vista biológico, es también importante para la práctica médica cotidiana. Se ha demostrado que algunos de los componentes de este sistema están relacionados con la génesis del cáncer. De hecho fueron las investigaciones acerca de los mecanismos moleculares del cáncer las que dieron el impulso

necesario para la investigación en este campo. Es necesario tener presente que mientras mayor y más profundo sea el conocimiento sobre la génesis de esta enfermedad, mayores serán las posibilidades de encontrar un tratamiento eficiente para combatirla.

## Resumen

El elevado grado de organización que caracteriza a los seres vivos se mantiene gracias a la información molecular; ésta puede ser de tipo secuencial, adecuada para la conservación y la trasmisión, y de tipo conformacional, apropiada para la expresión. El principio de transferencia de información establece que la información molecular fluye desde la secuencial hacia la conformacional.

El ciclo celular comprende todas las transformaciones que las células experimentan durante su vida. En él se distinguen 4 etapas: la M o de división celular, la S o de síntesis del ADN, así como las etapas  $G_1$  y  $G_2$  que separan las 2 etapas anteriores. Los principales componentes macromoleculares de las células se sintetizan de forma discreta, como el ADN y las histonas; y de forma continua, como los ARNs, las proteínas y los lípidos componentes de las membranas. Para el estudio de estos aspectos se utilizan las técnicas de cultivos de células de crecimiento sincronizado y de captación de precursores radiactivos, entre otras.

Los mecanismos moleculares de regulación del ciclo celular no están totalmente conocidos. Se sabe que existen factores reguladores positivos y negativos, así como un grupo de familias proteínicas implicadas en el proceso. Las ciclinas actúan sobre las Cdk y determinan su especificidad de acción, con lo cual resultan fosforilados determinados sustratos en momentos claves del ciclo celular. Las fosfatasas y los inhibidores de las quinasas contribuyen a la modulación fina de estos mecanismos. El conocimiento del ciclo celular tiene importancia en la práctica médica por su vinculación con la génesis del cáncer.

## Ejercicios

1. ¿Qué relación existe entre la desaparición del nucléolo durante la profase y los datos conocidos sobre las características de la síntesis de ARN durante el ciclo celular?
2. Se dice que la existencia de las cromátides es la expresión citogenética de la duplicación del ADN ¿Por qué?
3. ¿Cuáles son las características estructurales que debe reunir una macromolécula para presentar información secuencial y cuáles para la conformacional?
4. Un cultivo de células no sincronizado se expone a  $^{14}\text{C}$ -inositol durante un breve período, después se lavan las células para eliminar el exceso, se someten las células a un proceso de autorradiografía y al revelar la placa se encuentran que todas las células incorporaron el  $^{14}\text{C}$ -inositol con igual intensidad ¿Cuáles serían las conclusiones del experimento? ¿Cuál de los componentes celulares se estaba estudiando?
5. ¿Si el experimento de la pregunta anterior se hubiera realizado con células de crecimiento sincronizado, sería igual la interpretación de los resultados?
6. Algunos autores sugieren que cuando se trata de células eucariontes, sería más correcto decir la duplicación de la cromatina que la duplicación del ADN ¿En qué se fundamenta esta afirmación?