



**Universidad del Sureste**

**Dr. José Miguel Culebro Ricaldi**

**Biología Molecular**

**ENSAYO**

**Hannia del Carmen Salazar Jimenez**

*la biología molecular nació y creció saludablemente procariótica, es decir, estudiando bacterias, en las dos últimas décadas ha sido posible sumergirse de lleno en el mundo*

molecular eucariótico, en particular de las células animales y entre ellas las humanas. Ya conocemos la secuencia completa del genoma de un animal, el gusano nematodo *Caenorhabditis elegans* y en pocos años conoceremos la secuencia completa del genoma humano. Todo el DNA de este último está formado por genes y secuencias intergénicas. Estas últimas representan la mayor parte del genoma, mientras que los genes son sólo un 10% del mismo. Se estima que el genoma humano tiene unos 80.000 genes. Los mismos codifican para distintos tipos de RNAs. Sólo los RNAs mensajeros (mRNAs) codifican a su vez para proteínas. Los RNAs ribosomales, de transferencia, nucleares pequeños, 7S y las ribozimas son productos de sus respectivos genes y, sin embargo, nunca son traducidos por los ribosomas a proteínas, sino que cumplen funciones específicas en la célula directamente como moléculas de RNA. Los genes no se encuentran yuxtapuestos a lo largo de los cromosomas, sino más bien esparcidos y separados a grandes distancias por secuencias de DNA intergénicas. No existen hitos químicos o físicos que marquen el comienzo o el final de un gen. Tanto las regiones intergénicas como los genes son químicamente lo mismo: DNA. La diferencia entre lo que es gen y lo que no es gen radica en la información genética, y ésta está determinada por la secuencia u ordenamiento de las bases en el DNA. Es decir, una dada secuencia indicará que, allí donde ella esté y no en otra parte, comienza un gen. Los genes que codifican para mRNAs y, por ende, para proteínas, son transcritos por una de las tres enzimas que fabrican RNA en la célula eucariota, la RNA polimerasa II. Cada uno de estos genes (Fig. 1) tiene regiones que estarán representadas en el mensajero maduro intercaladas por otras cuyas secuencias no estarán presentes en el mismo. Las primeras regiones se llaman exones, en tanto que las segundas son los intrones. La RNA polimerasa II fabrica un RNA precursor, llamado transcripto primario o pre-mRNA, que lleva información de exones e intrones. Dentro del núcleo y de manera simultánea y acoplada a la transcripción del gen, el pre-mRNA sufre tres modificaciones químicas fundamentales. En su extremo proximal sufre la adición de un nucleótido metilado llamado "cap". En el extremo opuesto una enzima lo cliva del resto del RNA transcripto y le agrega una serie de nucleótidos de adenina que formarán la cola de poli A. Un complejo de ribonucleoproteico

llamado "spliceosoma", ayudado por proteínas auxiliares específicas, cataliza la eliminación de los intrones y la unión de los exones entre sí, en el mismo orden correlativo en que se encontraban en el gen. Finalmente, el mRNA maduro, con "cap", sin intrones y con cola de poli-A abandona el núcleo y es traducido por los ribosomas que fabrican la cadena polipeptídica. Secuencias de bases específicas indican a la pol II dónde comenzar a transcribir, así como a las enzimas y factores proteicos encargados de la adición de "cap", del splicing y del clivaje y poliadenilación, en qué sitios del pre-mRNA realizar su trabajo. El conocimiento preciso del papel de estas señales secuenciales es importantísimo ya que mutaciones que afecten a las mismas pueden tener consecuencias negativas en la expresión del gen y ser causas de patologías. Como ejemplo, baste decir que cerca del 20% de las mutaciones que causan enfermedades hereditarias en el hombre son alteraciones de las secuencias que controlan el "splicing"

Uno de los problemas centrales de la biología es el de la diferenciación celular. Dado que todas las células de un organismo pluricelular tienen el mismo DNA, o sea, la misma información genética, ¿qué es lo que hace que un hígado sea hígado; un cerebro, cerebro o un riñón, riñón? Si bien este problema no ha sido resuelto completamente, se sabe que es consecuencia de la regulación de la expresión genética, campo en el que se han realizado avances importantísimos, particularmente en los últimos 20 años. No todas las secuencias de DNA contenidas dentro de un núcleo son informativas; y no todas aquellas que son informativas, los genes, se expresan (transcriben y traducen) al mismo tiempo y en el mismo lugar. En una célula de hígado, por ejemplo, sólo se expresa un subconjunto del conjunto de todos los genes. Dicho subconjunto es distinto de aquel que se expresa en una neurona. Ambos a su vez son distintos del subconjunto que se expresa en riñón. Por supuesto, habrá genes que pertenecen a los tres subconjuntos, como el de la actina, proteína citoplasmática presente en todas las células eucariotas. Pero también existen genes cuya expresión está restringida a un solo tejido, como por ejemplo el de la albúmina en hígado. Uno de los puntos claves de la regulación de la expresión de los genes es el control de la transcripción. Dicho control no sólo se ocupa de "encender" o "apagar" genes (efecto del todo o nada) sino también

de regular la velocidad de transcripción de los genes "encendidos". Cada gen se encuentra adosado a una región del DNA, llamada promotor, a la que se unen la enzima y otras proteínas encargadas de la transcripción. La región promotora viene precedida por una región regulatoria, donde se encuentran secuencias determinadas, llamadas "enhancers", a las cuales se une un tipo de proteínas denominadas factores de transcripción (Fig. 1). La interacción física entre cada enhancer y su factor de transcripción provoca cambios en la velocidad de transcripción, lo cual redundará en determinar la cantidad fabricada de RNA mensajero y de la proteína correspondiente. La naturaleza de las interacciones que se establecen entre DNA y proteínas son débiles, reversibles, pero altamente específicas. Esto quiere decir que el factor de transcripción se asocia a la secuencia de bases de su enhancer (no a otra) y, así como se asocia, también se disocia. Debilidad, reversibilidad y especificidad de unión son características primordiales de las interacciones entre moléculas para producir efectos biológicos. Una complicada red de interacciones entre macromoléculas, principalmente del tipo DNA-proteína y proteína-proteína, es la que enciende diferencialmente los genes en los distintos tipos celulares. Algunos factores de transcripción son el producto de genes "maestros" que controlan la expresión de un grupo de genes supeditados. Por ejemplo, el gen *myoD* codifica para el factor de transcripción *MyoD*, una proteína nuclear que es capaz de activar a un conjunto definido de genes que, al expresarse, hacen que una célula se diferencie a fibra muscular estriada. Otro gen, maestro, *pax6* o *eyeless* controla desarrollo de los ojos en los animales gracias a que codifica para un factor de transcripción que "despierta" a un conjunto definido de genes que al expresarse, desencadenan la diferenciación del ojo en el embrión. Pruebas del papel fundamental de los genes maestros provienen de experimentos en los cuales se los obliga a expresarse ectópicamente. Por ejemplo, si se obliga a expresar la proteína *MyoD* en una célula que normalmente no la expresa, dicha célula se diferencia a célula muscular estriada. Análogamente si se generan insectos transgénicos (ver más abajo) que expresen el producto del gen *eyeless* en tejidos del embrión distintos de la cabeza, los adultos desarrollan ojos ectópicos (en las alas, las patas o las antenas!). Pruebas adicionales son aportadas por

*experimentos que anulan la función del gen maestro. Si se generan ratones donde se ha anulado la expresión de la proteína MyoD por completo en todas las células del embrión, éste llega a término, pero muere al nacer mostrando un fenotipo marcado por la ausencia total de músculo estriado esquelético (cardíaco y liso se forman normalmente). La ausencia de diafragma y la consiguiente imposibilidad de respirar son la causa de la muerte perinatal.*