

Passarge



Genética

Texto y Atlas

2ª EDICIÓN, REVISADA
Y AMPLIADA

"Excelente... abarca con éxito los fundamentos de la genética y la organización genómica... fácil de leer y muy accesible... dirigido a alumnos pero también muy útil como libro de referencia para los médicos..."

Journal of Medical Genetics

GENÉTICA, *Texto y Atlas*, enseña las bases de la genética a partir de 194 láminas en color cuidadosamente diseñadas, cada una acompañada por un texto explicativo correspondiente en la página opuesta. Este abordaje visual único hace que esta materia compleja sea más comprensible tanto para los alumnos como para los profesionales.

Esta segunda edición ampliamente revisada y actualizada, ofrece:

- Una nueva sección sobre genómica que provee un panorama del proyecto del genoma humano y los aspectos claves de los genomas de diferentes organismos.

- Nuevas láminas en color sobre las bases moleculares de la genética, la regulación y la expresión de genes, la impronta genómica, las mutaciones, los genes que predisponen al cáncer, las enfermedades por canales iónicos, la evolución humana, y mucho más.

- Una guía breve para el diagnóstico genético, un glosario de términos, referencias bibliográficas y sitios de la red (*websites*) asociados.

Integrando aspectos moleculares y clínicos, cubre toda la genética al detalle y con un formato ameno para el lector y del tamaño de un bolsillo. Los estudiantes de medicina y los residentes, así como los médicos en actividad, los biólogos y otros profesionales de la salud, encontrarán en él una inestimable visión global de esta apasionante materia.

EDITORIAL MEDICA
panamericana

Passarge

Genética
Texto y Atlas

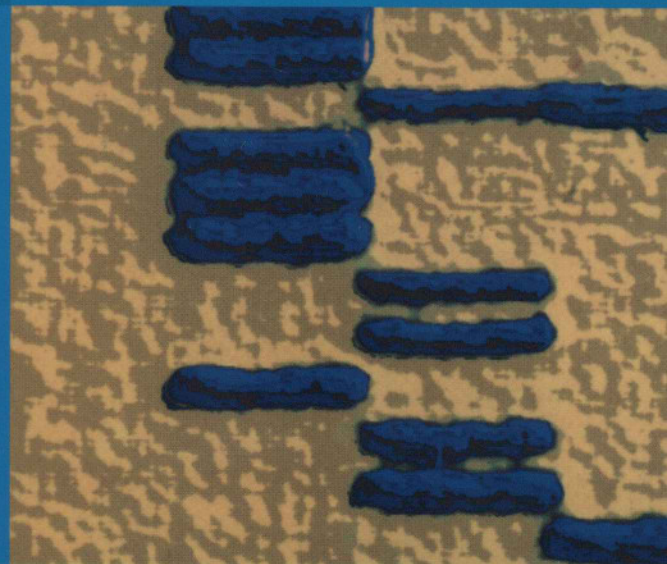
2ª EDICIÓN

Passarge

Genética

Texto y Atlas

2ª EDICIÓN, REVISADA Y AMPLIADA



EDITORIAL MEDICA
panamericana

Genética

Texto y Atlas

Eberhard Passarge, MD

Profesor de Genética Humana
Institute of Human Genetics
University of Essen
Essen, Alemania

2ª edición, revisada y ampliada

Con 194 láminas en color realizadas por Jürgen Wirth

EDITORIAL MEDICA
panamericana

BUENOS AIRES - BOGOTÁ - CARACAS - MADRID - MÉXICO - SÃO PAULO

Título del original en inglés

COLOR ATLAS OF GENETICS, 2nd ed., enl., and rev.

© 2002 Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Germany - New York, USA

© Libermed Verlag, S.A., Montevideo, Uruguay

Traducción de

EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA S.A.

efectuado por la doctora Viviana Bumaschny

La medicina es una ciencia en permanente cambio. A medida que las nuevas investigaciones y la experiencia clínica amplían nuestro conocimiento, se requieren modificaciones en las modalidades terapéuticas y en los tratamientos farmacológicos. Los autores de esta obra han verificado toda la información con fuentes confiables para asegurarse de que ésta sea completa y acorde con los estándares aceptados en el momento de la publicación. Sin embargo, en vista de la posibilidad de un error humano o de cambios en las ciencias médicas, ni los autores, ni la editorial o cualquier otra persona implicada en la preparación o la publicación de este trabajo, garantizan que la totalidad de la información aquí contenida sea exacta o completa y no se responsabilizan por errores u omisiones o por los resultados obtenidos del uso de esta información. Se aconseja a los lectores confirmarla con otras fuentes. Por ejemplo, y en particular, se recomienda a los lectores revisar el prospecto de cada fármaco que planean administrar para cerciorarse de que la información contenida en este libro sea correcta y que no se hayan producido cambios en las dosis sugeridas o en las contraindicaciones para su administración. Esta recomendación cobra especial importancia con relación a fármacos nuevos o de uso infrecuente.

EDITORIAL MÉDICA
panamericana

ESPAÑA
Madrid, España

MÉXICO
México D.F.

VENEZUELA
Municipio Libertador - Caracas Depto. Capital

ARGENTINA
Buenos Aires, Argentina
Argentina

COLOMBIA
Bogotá DC.

IMPRESO EN LA ARGENTINA

Passarge E.
Genética: texto y atlas. - 2ª ed. -
Buenos Aires: Médica Panamericana, 2004.
470 p. ; 19 x 13 cm

Traducción de: Viviana Bumaschny

I. Título - I. Genética

© 2004. EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA S.A.
Buenos Aires - Argentina

EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA S.A.
Madrid - España

Esta edición se terminó de imprimir
en el mes de enero de 2004
en los talleres de Compañía Gráfica Internacional S.A.
Buenos Aires, Argentina



Prefacio

El conocimiento sobre los genes (genética) y los genomas (genómica) de diferentes organismos continúa avanzando a un ritmo acelerado. Todas las manifestaciones de vida están determinadas por los genes y su interacción con el medio ambiente. Existe un componente genético que contribuye a causar casi toda enfermedad humana. Más de mil enfermedades son el resultado de alteraciones en un único gen conocido.

La genética clásica, desarrollada durante la primera mitad del siglo pasado, y la genética molecular, desarrollada durante la segunda mitad, se han unido en un esfuerzo científico fascinante. Esto ha proporcionado tanto un fundamento teórico y un amplio repertorio de métodos para explorar los mecanismos celulares, como la comprensión de los procesos normales y las enfermedades en el nivel molecular. Descifrar los genomas de muchos organismos diferentes, incluidas bacterias y plantas, mediante la determinación de la secuencia de los ladrillos individuales -las bases nucleotídicas del ácido desoxirribonucleico (DNA)- incrementará nuestro conocimiento de las funciones normales y anormales. El nuevo conocimiento promete conducir al diseño de compuestos farmacológicos que satisfagan a las necesidades individuales. Esto allanará el camino hacia formas nuevas de encarar la terapia y la prevención. Paralelamente, se adquiere una visión acerca de cómo es la relación evolutiva entre los organismos.

Los alumnos de biología y medicina encaran una gran tarea cuando pretenden adquirir un nuevo conocimiento e interpretarlo dentro de un marco conceptual. Existen muchos libros de texto disponibles (véase Bibliografía general, p. 421). Este Atlas Color se diferencia de los libros de texto comunes por usar un enfoque visual para desarrollar conceptos y hechos importantes en genética. Está basado en láminas en colores cuidadosamente diseñadas, cada una acompañada por un texto explicativo correspondiente en la página opuesta.

Fue Mercator, en 1594, el primero en usar el término "atlas" para una colección de mapas. Aunque los mapas de genes son muy importantes en genética, el término atlas en el contexto de este libro se refiere a las ilustraciones en general. Aquí ellas proveen las bases para una introducción, con el deseo de estimular el interés en un campo de estudio apasionante.

Esta segunda edición ha sido rigurosamente revisada, reescrita, actualizada y ampliada. Se ha agregado una nueva sección de genómica (Parte II). Veinte láminas nuevas tratan una variedad de tópicos, como las bases moleculares de la genética, regulación y expresión de genes, impronta genómica, mutaciones, cromosomas, genes que predisponen al cáncer, enfermedades de los canales iónicos, audición y sordera, una guía breve para el diagnóstico genético, evolución humana y muchas otras. La

Cronología de avances importantes en genética y las Definiciones de términos genéticos han sido actualizadas. Como en la primera edición, se incluye la bibliografía para una lectura más profunda. Allí y en la lista de bibliografía general el lector encontrará el acceso a información más detallada que la que se puede presentar en el limitado espacio disponible. También se incluyen sitios de la red informática (*Websites*) para mayor información.

Un libro de un único autor no puede proveer todos los detalles en los que se basa el conocimiento científico. Sin embargo, puede presentar una perspectiva individual apropiada a modo de introducción. Para tomar la difícil decisión de qué material incluir y cuál dejar afuera, me he apoyado en la experiencia de veinticinco años de enseñanza a estudiantes de medicina en los niveles

Agradecimientos

Para la actualización, revisión y reescritura de esta segunda edición, he recibido la invaluable ayuda de muchos colegas que con generosidad me proveyeron de información y consejos, material fotográfico y otras sugerencias útiles de sus áreas de trabajo: Hans Esche, Essen; Ulrich Langenbeck, Frankfurt; Clemens Müller-Reible, Würzburg; Maximilian Muenke, Bethesda, Maryland; Stefan

preclínico y clínico. He intentado poner énfasis en la intersección de los fundamentos teóricos y los aspectos médicos de la genética, desde un punto de vista amplio basado en la evolución de los organismos vivos.

Todas las láminas fueron producidas como gráficos de computadora por Jürgen Wirth, Profesor de Comunicación Visual en la Facultad de Diseño, Universidad de Ciencias Aplicadas, Darmstadt, quien las creó a partir de dibujos realizados a mano, bocetos, fotografías y fotocopias proporcionados por el autor. Estoy en deuda con él por su trabajo experto, su amable cooperación y su paciencia. Sin su colaboración este libro no hubiera sido posible.

E. Passarge

Mundlos, Berlín; Alfred Pühler, Bielefeld; Gudrun Rappold, Heidelberg; Helga Rehder, Marburg; Hans Hilger Ropers, Berlín; Gerd Scherer, Freiburg; Evelyn Schröck, Bethesda, Maryland; Eric Schulze-Bahr, Münster; Michael Speicher, Munich; Manfred Stuhmann Spangenberg, Hannover; Gerd Utermann, Inns-bruck; y Douglas C. Wallace y Marie Lott, Atlanta.

Además, los siguientes investigadores de nuestro Departamento de Genética Humana, Escuela de Medicina de la Universidad de Essen, realizaron útiles sugerencias: Beate Albrecht, Karin Buiting, Gabriele Gillessen-Kaesbach, Cornelia Hardt, Bernhard Horsthemke, Frank Kaiser, Dietmar Lohmann, Hermann-Josef Lüdecke, Eva-Christina Prott, Maren Runte, Frank Tschentscher, Dagmar Wiczorek y Michael Zeschnigk.

Acerca del autor

El autor es un médico científico, especialista en genética humana, de la Universidad de Essen, Facultad de Medicina, Alemania. Se graduó en 1960 en la Universidad de Freiburg con el título de médico. Recibió entrenamiento en diferentes campos de la medicina en Hamburgo, Alemania, y en Worcester, Massachusetts, Estados Unidos, entre 1961 y 1963. Durante la residencia en pediatría en el Centro Médico de Niños de la Universidad de Cincinnati, el autor trabajó en genética humana como discípulo de Josef Warkany (1963-1966), a lo que siguió una pasantía de investigación en genética humana en el Centro Médico de Cornell, en Nueva York, con James German (1966-1968). Luego estableció la citogenética y la genética clínica en el Departamento de Genética Humana, Universidad de Hamburgo

Agradezco a mi esposa, doctora Mary Fetter Passarge, por su cuidadosa lectura y sus útiles y valiosas sugerencias. Liselotte Freimann-Gansert y Astrid Maria Noll transcribieron las numerosas versiones de este texto. Estoy en deuda con el doctor Clifford Bergman, la señora Gabriele Kuhn, el señor Gert Krüger y sus compañeros de trabajo en la Editorial Médica Thieme, Stuttgart, por su excelente trabajo y su espíritu colaborador.

(1968-1976). En 1976 se convirtió en el presidente fundador del Departamento de Genética Humana, Universidad de Essen, de la cual se retiró en 2001. El autor tiene interés especial en la investigación de la genética y la delineación clínica de los trastornos hereditarios, incluidos estudios cromosómicos y moleculares documentados en más de doscientos artículos de investigación revisados por sus pares. Es Ex Presidente de la Sociedad Alemana de Genética Humana, secretario general de la Sociedad Europea de Genética Humana y miembro de varias sociedades científicas de Europa y los Estados Unidos. Es miembro del American College of Medical Genetics. La práctica de la genética médica y la enseñanza de la genética humana son áreas de particular interés del autor.

Índice resumido

Introducción	1	Sistema inmune	300
Cronología – Avances que contribuyeron al desarrollo de la genética	13	Origen de los tumores	316
Parte I. Fundamentos	19	Transporte de oxígeno y electrones	336
Bases moleculares de la genética	20	Los lisosomas y el receptor de LDL	352
Células procariontes y virus	84	Homeostasis	362
Células eucariontes	104	Mantenimiento de la forma celular y tisular	374
Genética mitocondrial	124	Determinación y diferenciación sexual de los mamíferos	386
Genética clásica	132	Patrón de herencia atípico	394
Cromosomas	170	Correlación cariotipo/fenotipo	400
Regulación y expresión de los genes	204	Guía rígida para el diagnóstico genético	406
Parte II. Genómica	233	Localización cromosómica de las enfermedades monogénicas	410
Parte III. Genética y medicina	263	Bibliografía general	421
Interacciones célula-célula	264	Glosario	423
Genes del desarrollo embrionario	290	Índice analítico	442

Índice

Introducción	1	Células procariontes y virus	84
Cronología	13	Células procariontes	
Avances que contribuyeron al desarrollo de la genética	13	Aislamiento de bacterias mutantes	84
Parte I. Fundamentos	19	Recombinación en bacterias	86
Bases moleculares de la genética	20	Bacteriófagos	88
La célula y sus componentes	20	Transferencia de DNA entre células	90
Algunos tipos de uniones químicas	22	Virus	
Hidratos de carbono	24	Ciclo de replicación de los virus	94
Lípidos (grasas)	26	Virus de RNA: genoma, replicación, traducción	96
Nucleótidos y ácidos nucleicos	28	Virus de DNA	98
Aminoácidos	30	Retrovirus	100
Proteínas	32	Integración y transcripción de los retrovirus	102
El DNA como transportador de la información genética	34	Células eucariontes	104
El DNA y sus componentes	36	Levaduras: células eucariontes con una fase diploide y otra haploide	104
La estructura del DNA	38	Determinación del tipo de apareamiento en levaduras y sistema de dos híbridos	106
Estructuras alternativas del DNA	40	Elementos funcionales en cromosomas de levaduras	108
Replicación del DNA	42	Cromosomas artificiales para el análisis de genomas complejos	110
Genes		Control del ciclo celular	112
El flujo de la información genética: transcripción y traducción	44	División celular: mitosis	114
Genes y mutaciones	46	División de la maduración (meiosis)	116
Código genético	48	Recombinación cruzada en la profase I	118
Estructura de los genes eucariontes	50	Formación de los gametos	120
DNA recombinante		Cultivo celular	122
Secuenciación del DNA	52	Genética mitocondrial	124
Secuenciación automatizada del DNA	54	Procesos de producción de energía controlados genéticamente en las mitocondrias	124
Clonado de DNA	56	El genoma en los cloroplastos y las mitocondrias	126
Clonado de cDNA	58	El genoma mitocondrial del hombre	128
Bibliotecas de DNA	60	Enfermedades mitocondriales	130
Análisis de restricción por Southern Blot	62	Genética clásica	132
Mapa de restricción	64	Los rasgos mendelianos	132
Amplificación de DNA por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	66	Distribución (segregación) de los rasgos mendelianos	134
Cambios en el DNA	68	Distribución independiente de dos rasgos diferentes	136
Mutaciones por diferentes modificaciones de bases	70	Fenotipo y genotipo	138
Polimorfismo del DNA	72		
Recombinación	74		
Transposición	76		
Expansión de repeticiones de trinucleótidos	78		
Reparación del DNA	80		
Xeroderma pigmentoso	82		

Segregación de genotipos parentales	140	Control de la expresión génica en bacterias por represión	210
Herencia monogénica	142	Control de la transcripción	212
Ligamiento y recombinación	144	Control de la transcripción en los eucariontes	214
Distancia genética entre dos loci génicos y frecuencia de recombinación	146	Regulación de la expresión génica en los eucariontes	216
Análisis de segregación con marcadores genéticos	148	Proteínas de unión al DNA	218
Análisis de ligamiento	150	Otros activadores de la transcripción	220
Diferencias cuantitativas en los rasgos genéticos	152	Inhibidores de la transcripción y de la traducción	222
Distribución normal y modelo del umbral poligénico	154	Metilación del DNA	224
Distribución de los genes en una población	156	Impronta genómica	226
Equilibrio de Hardy-Weinberg	158	Inactivación del cromosoma X	228
Consanguinidad y endocría	160	Inactivación génica dirigida en ratones transgénicos	230
Gemelos	162	Parte II. Genómica	233
Polimorfismo	164	Genómica, el estudio de la organización de los genomas	234
Polimorfismo bioquímico	166	La secuencia completa del genoma de <i>Escherichia coli</i>	236
Distribución geográfica de los genes	168	Genoma de un plásmido de un <i>Corynebacterium</i> multirresistente	238
Cromosomas	170	Mapas genómicos	240
Nucleosomas	170	Abordaje del análisis genómico	242
El DNA en los cromosomas	172	Organización de los genomas eucariontes	244
Cromosomas politénicos	174	Identificación génica	246
El DNA en los cromosomas lampbrush	176	El proyecto genoma humano	248
Correlación entre la estructura y la función en los cromosomas	178	Identificación de un segmento de DNA codificante	250
Estructura especial en los extremos de un cromosoma: el telómero	180	El genoma dinámico: elementos genéticos móviles	252
Cromosomas en metafase	180	Evolución de los genes y genomas	254
Cariotipo	184	Genómica comparada	256
Los patrones de bandas G y R de los cromosomas humanos en metafase	186	Evolución humana	258
Designación de las aberraciones cromosómicas	188	Análisis genómico por micromatrices de DNA	260
Preparación de cromosomas en metafase para análisis	190	Parte III. Genética y medicina	263
Hibridación in situ en la metafase y la interfase	192	Interacciones célula-célula	264
Identificación específica de cromosomas en metafase	194	Sistema de traducción de señales intracelulares	264
Aberraciones cromosómicas numéricas	196	Tipos de receptores de superficie celular	266
Traslocación	198	Receptores acoplados a proteínas G	268
Diferentes tipos de aberraciones estructurales de los cromosomas	200	Transmisores de señales transmembrana	270
Detección de aberraciones cromosómicas estructurales por métodos moleculares	202	Receptores de neurotransmisores	272
Regulación y expresión de los genes	204	Defectos genéticos en canales iónicos	274
El núcleo celular y el RNA ribosómico	204	Defectos de los canales del cloro: fibrosis quística	276
Transcripción	206	Rodopsina, un fotorreceptor	278
Control de la expresión génica en bacterias por inducción	208	Mutaciones en la rodopsina	280
		Visión de los colores	282

Audición y sordera	284	Análisis del DNA en los trastornos de la hemoglobina	348
Familia de genes de receptores de los odorantes	286	Enfermedades de los peroxisomas	350
Familia de genes de receptores del gusto en mamíferos	288	Los lisosomas y el receptor de LDL	352
Genes del desarrollo embrionario	290	Lisosomas y endocitosis	352
Mutantes del desarrollo en <i>Drosophila</i>	290	Enfermedades causadas por defectos en enzimas lisosómicas	354
Genes de caja homeótica <i>homeobox</i>	292	Enfermedades por almacenamiento de mucopolisacáridos	356
Genética en el embrión de un vertebrado traslúcido: el pez cebra	294	Hipercolesterolemia familiar	358
Programa de desarrollo de las células individuales en el nematodo <i>C. elegans</i>	296	Mutaciones en el Receptor de LDL	360
Genes del desarrollo en un embrión vegetal	298	Homeostasis	362
Sistema inmune	300	Insulina y diabetes mellitus	362
Componentes del sistema inmune	300	El inhibidor de proteasas aE ₁ -antitripsina	364
Las moléculas de inmunoglobulinas	302	Factor VIII de la coagulación sanguínea (hemofilia A)	366
Diversidad genética generada por recombinación somática	304	Factores de von Willebrand	368
Mecanismos de reordenamiento de los genes de las inmunoglobulinas	306	Genes del citocromo P450	370
Genes de la región del CMH	308	Farmacogenética	372
Receptores de células T	310	Mantenimiento de la forma celular y tisular	374
Evolución de la superfamilia de los genes de las inmunoglobulinas	312	Proteínas del citoesqueleto en los eritrocitos	374
Deficiencias inmunes hereditarias y adquiridas	314	Enfermedades musculares hereditarias	376
Origen de los tumores	316	Distrofia muscular de Duchenne	378
Influencia de los factores de crecimiento sobre la división celular	316	Moléculas de colágeno	380
Genes supresores de tumores	318	Osteogénesis imperfecta	382
Oncogenes celulares	320	Bases moleculares del desarrollo óseo	384
La proteína p53, un guardián del genoma	322	Determinación y diferenciación sexual de los mamíferos	386
Neurofibromatosis tipos 1 y 2	324	Determinación del sexo	386
Gen APC en la poliposis colónica familiar	326	Diferenciación sexual	388
Susceptibilidad genética al cáncer de mama	328	Trastornos del desarrollo sexual	390
Retinoblastoma	330	Hiperplasia suprarrenal congénita	392
Fusión de genes como causa de tumores: LMC	332	Patrón de herencia atípico	394
Síndromes de inestabilidad genómica	334	Número inestable de repeticiones de trinucleótidos	394
Transporte de oxígeno y electrones	336	Síndrome del X frágil	396
Hemoglobina	336	Enfermedades por improntas (imprinting)	398
Genes de la hemoglobina	338	Correlación cariotipo/fenotipo	400
Anemia de células falciformes	340	Trisomías autosómicas	400
Mutaciones en los genes de la globina	342	Otras alteraciones en el número de cromosomas	402
Las talasemias	344	Deleciones y duplicaciones	404
Persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (PHHF)	346	Guía rápida para el diagnóstico genético	406
		Principios	406

Detección de las mutaciones sin secuenciación 408

Localización cromosómica de las enfermedades monogénicas 410

Localización cromosómica de las enfermedades genéticas humanas 410

Bibliografía general 421

Glosario 423

Índice analítico 443

Genes del desarrollo embrionario

Genes de alta expresión en el desarrollo 425

Genética en el estudio de un vertebrado 425

Introducción al pez cebra 425

Programas de desarrollo de los vertebrados 425

Individuos en el desarrollo 425

Genes del desarrollo en un modelo vertebrado 425

Sistema inmune

Componentes del sistema inmune 430

Las moléculas de membrana 430

Diversidad genética generada por recombinación somática 430

Mecanismos de reconocimiento de los genes de las inmunoglobulinas 430

Genes de la región de la CDR 430

Regiones de la región T 430

Evolución de la superfamilia de los genes de las inmunoglobulinas 430

Defensas inmunes heredadas y adquiridas 430

AND de un gen en un locus 430

Origen de los tumores

Factores que influyen en el origen de los tumores 435

Influencia de los factores de crecimiento sobre la división celular 435

Genes supresores de tumores 435

Regiones celulares 435

La proteína p53 en el control del ciclo celular 435

Neoplasmas tipos I y 2

Gen AIC en la neoplasia colónica familiar 435

Responsabilidad genética al cáncer 435

El tumor 435

Neoplasmas tipos 1 y 2 435

Neoplasmas tipos 1 y 2 435

Neoplasmas tipos 1 y 2 435

Fusión de genes como causa de neoplasia 435

Neoplasmas tipos 1 y 2 435

Sistemas de detección de neoplasias 435

Transporte de oxígeno y electrones

Neoplasmas tipos 1 y 2 435

Genes de neoplasia 435

Análisis de los datos de los genes de neoplasia 435

Mutaciones en los genes de la globina 435

Mutaciones 435

Neoplasmas tipos 1 y 2 435

Neoplasmas tipos 1 y 2 435

Neoplasmas tipos 1 y 2 435

Introducción

Este libro es una obra de referencia que reúne información actualizada sobre los avances en el estudio de las enfermedades genéticas humanas. El contenido está organizado en capítulos que abarcan desde los principios básicos de la genética hasta temas más especializados como la localización cromosómica de genes, el desarrollo embrionario y el sistema inmune. El índice analítico proporciona una herramienta esencial para encontrar rápidamente el tema de interés del lector.

El libro está dividido en tres volúmenes, cada uno con su propio índice. Este índice general ofrece una visión completa de todo el contenido de la obra. Los capítulos están redactados por expertos en el campo, lo que garantiza la calidad y la actualidad de la información presentada.

Entre los temas tratados se encuentran:

- Detección de mutaciones sin necesidad de secuenciación.
- Localización cromosómica de enfermedades monogénicas y genéticas humanas.
- Bibliografía general y glosario.
- Genes del desarrollo embrionario y su papel en el desarrollo de vertebrados.
- El sistema inmune y los mecanismos de defensa del organismo.
- Origen de los tumores y factores que influyen en su desarrollo.
- Neoplasmas y el papel de genes como causa de cáncer.
- Transporte de oxígeno y electrones en el contexto de las enfermedades genéticas.

Este índice es una herramienta indispensable para investigadores, estudiantes y profesionales de la medicina y la biología que deseen profundizar en el estudio de las enfermedades genéticas.

Cada una de las alrededor de 10^{14} células de un ser humano adulto contiene en el núcleo el programa para su supervivencia. Este programa le permite a un individuo interactuar con el medio ambiente, no sólo a través de los sentidos como la visión, la audición, el gusto, la sensación de calor, de frío, de dolor y la capacidad de comunicarse, sino también le permite recordar e integrar esta información en un comportamiento cognitivo. Le permite la conversión del oxígeno atmosférico y de la comida ingerida en producción de energía, y regula la síntesis y el transporte de moléculas de importancia biológica. La respuesta inmune contra microorganismos invasores (p. ej., virus, bacterias y hongos) es parte del programa. La forma y motilidad de los huesos, músculos y piel no podrían mantenerse sin esta información. El destino de cada célula es determinado por el control de la división celular y la diferenciación en distintos tipos de células y tejidos, mediante interacciones célula-célula y traducción de señales intracelulares y extracelulares. Por último, funciones tan diferentes como la reproducción o la detoxificación y excreción de moléculas innecesarias, dependen de este programa al igual que muchas otras funciones de la vida.

Este programa celular está genéticamente determinado. Es transmitido desde una célula a sus dos células hijas en cada división celular, y de una generación a la siguiente a través de células especializadas, las células germinales (ovocitos y espermatozoides). La integridad del programa genético debe mantenerse sin alteraciones, aunque también debe ser adaptable a cambios de larga duración en el medio ambiente. Ésta es una tarea compleja. Por ello, no llama la atención que con frecuencia se produzcan errores en el mantenimiento y la propagación del programa genético de todos los seres vivos, a pesar de la existencia de complejos sistemas de reconocimiento y reparación de los daños.

Todos estos procesos biológicos son el resultado de reacciones bioquímicas llevadas a cabo por biomoléculas llamadas proteínas. Éstas están involucradas en la producción de casi todas las moléculas (incluidas otras proteínas) de las células vivas. Están formadas por docenas a centenares de aminoácidos conectados entre sí en forma lineal, lo que da lugar a un polipéptido; éste luego se pliega en una estructura tridimensional, habitualmente en combinación con otros polipéptidos. Sólo esta última conformación posee actividad biológica. La información genética es el programa detallado para sintetizar las proteínas que una célula específica genera. La mayoría de las células no producen todas las proteínas posibles sino una selección que caracteriza a cada tipo celular.

Cada uno de los 20 aminoácidos sintetizados por los organismos vivos es codificado por tres estructuras químicas, los nucleótidos, que son parte de una gran molécula, el DNA (ácido desoxirribonucleico). El DNA es una memoria de sólo lectura (*rom, read-only memory*) del sistema de información genético. Contrariamente a los sistemas binarios de cadenas de unos y ceros usados en computación ("bits", dígitos que se combinan de a ocho para formar los "bytes"), el código genético de los seres vivos usa un sistema cuaternario de cuatro nucleótidos con sus respectivos nombres químicos de iniciales A, C, G y T (véase Parte I, Fundamentos). En este código cuaternario los bytes (llamados "quytes" por The Economist in a Survey of a Human Genome, 1^o julio de 2000) son más cortos ya que están formados por tripletes de nucleótidos, cada uno llamado codón. Cada secuencia lineal de aminoácidos de una proteína está codificada por una secuencia de codones en el DNA (código genético). El código genético es universal y lo usan todas las células vivas, incluidas las plantas, y también los virus. Cada unidad de información genética se llama gen. La información genética es análoga a un texto formado por oraciones (los genes) y, de hecho, puede almacenarse en computadores.

Dependiendo de la complejidad de la organización de un organismo, el número de genes puede ser pequeño como en los virus y bacterias (10 genes en un bacteriófago pequeño o 4.289 genes en *Escherichia coli*), mediano (6.241 genes en las levaduras; 13.601 en *Drosophila*, 18.424 en un nematodo), o grande (alrededor de 40.000 en seres humanos y otros mamíferos). Las proteínas y sus genes correspondientes pueden agruparse en familias de moléculas con funciones relacionadas involucradas en una misma vía. Se estima que los genes humanos constituirían 1.000 familias diferentes. Cada familia de genes provendría evolutivamente de uno o algunos pocos genes ancestrales. El conjunto de todos los genes de un individuo se denomina genoma. Por analogía, el conjunto de todas las proteínas que se expresan en un organismo se llama proteoma. Los campos de estudio correspondientes se denominan genética y proteómica, respectivamente.

Los genes se localizan en los cromosomas. Éstos son cuerpos individuales apareados, constituidos por DNA y proteínas especiales que se encuentran en el núcleo celular. Un cromosoma de cada par homólogo es derivado de la madre y el otro del padre. El hombre tiene 23 pares. Mientras que el número y tamaño de los cromosomas en diferentes organismos varía, la cantidad total de DNA y el nú-

mero total de genes son los mismos para una clase particular de organismos. Los genes se ordenan en forma lineal a lo largo de cada cromosoma. Cada gen tiene una posición definida (locus génico) y una estructura y función individuales. Como regla, los genes de los organismos superiores están estructurados en secciones continuas de secuencias codificantes y no codificantes, denominadas exones (codificantes) e intrones (no codificantes), respectivamente. En los organismos multicelulares los genes varían respecto del tamaño total (desde unos pocos miles hasta más de un millón de pares de bases), el número y tamaño de los exones y las secuencias reguladoras de DNA que determinan su estado de actividad denominado "expresión" (la mayoría de los genes en las células diferenciadas y especializadas están "apagados" permanentemente). Es destacable que más del 90% del total de 3 mil millones (3×10^9) de pares de bases del DNA de los organismos superiores no lleva información codificante alguna (véase Parte II, Genómica).

El texto lineal de información contenido en las secuencias codificantes del DNA en un gen no se puede leer en forma directa. En realidad, primero toda su secuencia se transcribe en una molécula estructuralmente relacionada con una secuencia correspondiente de codones. Esta molécula se denomina RNA (ácido ribonucleico), porque contiene ribosa en lugar de la desoxirribosa del DNA. Luego los intrones (las partes no codificantes) son removidos de esta molécula, por enzimas especiales, y los exones (las partes codificantes), son empalmados juntos en el molde final, llamado RNA mensajero (mRNA). De esta molécula se lee la secuencia que codifica para los aminoácidos correspondientes (polipéptido) en la maquinaria celular (ribosomas), en un proceso llamado traducción.

Los genes con la misma función, una función similar o una relacionada en diferentes especies, de algún modo son los mismos genes, u otros similares o relacionados. Esto se expresa como el grado de similitud estructural o funcional. La causa de esto es la evolución. Todos los organismos vivos están relacionados entre sí porque sus genes están relacionados. En el mundo de los seres vivos han evolucionado funciones especializadas que han quedado codificadas por los genes correspondientes. Por ello, las estructuras de los genes necesarios para una función fundamental son preservadas en una amplia variedad de organismos, por ejemplo funciones en el control del ciclo celular o en el desarrollo embrionario y la diferenciación. Genes de este tipo son similares o idénticos incluso en organismos poco relacionados, como levaduras, insectos, gusanos, vertebrados,

mamíferos y hasta en plantas. Tales genes de importancia fundamental no toleran cambios (mutaciones) porque esto comprometería su función. En consecuencia, las mutaciones deletéreas no se acumulan en un número considerable. Los genes similares o idénticos, presentes en distintos organismos, se dice que se han conservado durante la evolución. Todos los organismos vivos han elaborado sistemas celulares que pueden reconocer y eliminar fallas en la integridad del DNA y de los genes (reparación del DNA). Hay mecanismos para sacrificar una célula mediante muerte celular programada (apoptosis) si el defecto no se puede reparar exitosamente.

Al contrario de las estructuras importantes, que se han conservado evolutivamente a través del tiempo, las secuencias de DNA no relevantes o de importancia individual directa limitada difieren aun entre individuos de la misma especie. Estas diferencias individuales (polimorfismo genético) constituyen la base genética para la originalidad de cada individuo. Por lo menos uno de cada 1.000 pares de bases de DNA humano difieren entre individuos (polimorfismo de un único nucleótido; *SNP, single nucleotide polymorphism* en inglés). Además, hay muchas otras formas de polimorfismo del DNA que reflejan un alto grado de diversidad genética individual.

Las diferencias genéticas individuales en la eficiencia de las vías metabólicas se cree que predisponen a enfermedades que son resultado de la interacción de varios genes, por lo general en combinación con influencias ambientales particulares. Ellas podrían incluso proteger a un individuo de una enfermedad a la cual otro individuo esté propenso. Tales diferencias genéticas individuales son el blanco de terapias individuales mediante sustancias farmacéuticas específicamente diseñadas que apuntan a una alta eficacia y un bajo riesgo de efectos adversos (farmacogenómica). El Proyecto genoma humano debiera contribuir en gran medida al desarrollo de un enfoque individual del diagnóstico y la terapéutica (medicina genética).

Las poblaciones humanas de diferente origen geográfico también se relacionan por la evolución (véase la sección de evolución humana en la Parte II). Por lo general se ha hecho referencia a ellas en forma errónea como "razas". La humanidad moderna se ha originado en África, hace unos 200.000 años, y desde allí migró a todas partes del mundo hace unos 100.000 años. Debido a la adaptación climática regional y otras condiciones, y favorecidos por el aislamiento geográfico, evolucionaron diferentes grupos étnicos. Ellos son reconocibles por rasgos literalmente superficiales, como el color de la piel,

ojos y cabello, que permiten ver el bajo grado de variación genética entre seres humanos de diferentes poblaciones. Desde el punto de vista genético, el *Homo sapiens* es en realidad una especie homogénea de origen reciente. Del total de las variaciones genéticas, alrededor del 85% se encuentra entre individuos que pertenecen a un grupo determinado y sólo el 15% entre diferentes grupos (poblaciones). Por el contrario, los chimpancés de un grupo del oeste de África son genéticamente más diferentes que cualquier otro grupo de seres humanos estudiado. Como resultado de la historia evolutiva, los seres humanos se han adaptado bien a vivir en forma pacífica en grupos relativamente pequeños, en un medio cultural y lingüístico similar. Lamentablemente, los seres humanos aún no se han adaptado a las condiciones globales. Tienen a reaccionar con hostilidad hacia grupos con diferentes medios culturales a pesar de que las diferencias genéticas son despreciables. La genética no provee ninguna base científica que favorezca las demandas de la discriminación, sino que aporta evidencia directa de la evolución de la vida en la Tierra. La genética es la ciencia que estudia la estructura y función de todos los genes en diferentes organismos (análisis de las variaciones biológicas). Nuevos métodos de investigación y observaciones, en especial durante los últimos 10 a 20 años, han contribuido a integrar este campo a la corriente principal de la biología y la medicina. Hoy en día desempeña un papel central y unificador comparable al de la patología celular al comienzo del último siglo. La genética es virtualmente relevante en todas las especialidades médicas. El conocimiento de los principios de la genética básica y su aplicación en el diagnóstico se están convirtiendo en una parte esencial de la educación médica actual.

GENÉTICA CLÁSICA ENTRE 1900 Y 1953

(véase la tabla cronológica en pág. 13)

En 1906 el biólogo inglés William Bateson (1861-1926) propuso el término *genética* para el nuevo campo de la biología dedicado a investigar las reglas gobernantes de la herencia y la variación. Bateson se refería a la herencia y la variación al comparar las similitudes y diferencias, respectivamente, de los organismos genealógicamente relacionados, dos aspectos del mismo fenómeno. Bateson reconoció con claridad el significado de las leyes de Mendel, las cuales habían sido redescubiertas en 1900 por Correns, Tschermak y DeVries. Las leyes de Mendel llevan este nombre por el monje agustino Gregor Johann Mendel (1822-1884), quien realizó cruces experimentales de guisantes en el jardín de su monasterio en Brünn (Brno, Repú-



Gregor Johann Mendel

blica Checa) hace más de un siglo. En 1866 Mendel escribió que la herencia está basada en factores individuales que son independientes entre sí (véanse Brink y Styles, 1965; Mayr, 1982). La transmisión de estos factores a la generación siguiente de plantas, por ejemplo, la distribución de diferentes rasgos dentro de una misma descendencia, tenía lugar en proporciones predecibles. Cada factor era responsable de un rasgo determinado. El término *gen* para tal factor heredable fue introducido en 1909 por el biólogo danés Wilhelm Johannsen (1857-1927).

A partir de 1902 la herencia mendeliana fue analizada en forma sistemática en animales, plantas y también en el hombre. Se reconoció que algunas enfermedades humanas tenían una causa genética. Una forma de braquidactilia (tipo A1, McKusick 112500) observada en una familia grande de Pennsylvania por W. C. Farabee (tesis de Doctorado, Universidad de Harvard, 1902), fue el primer rasgo humano transmitido por herencia autosómica dominante que se describió (Haws y McKusick, 1963).

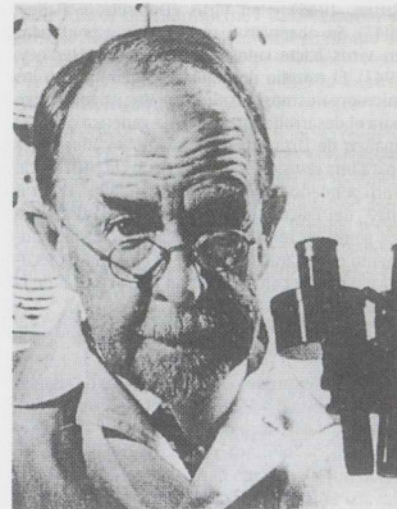
En 1909 Archibald Garrod (1857-1936), más tarde Profesor Regius de Medicina de la Universidad de Oxford, demostró que cuatro enfermedades metabólicas congénitas (albinismo, alcaptonuria, cistinuria y pentosuria) son transmitidas por herencia autosómica recesiva (Garrod, 1909). Garrod fue el primero en reconocer que entre individuos hay diferencias bioquímicas que no conducen a la enfer-

medad pero que poseen bases genéticas. Sin embargo, la relación entre la genética y los hallazgos bioquímicos revelados por estos conceptos era adelantado para su época: el significado del alcance lejano para la individualidad genética del hombre no fue reconocido (Bearn, 1993). En realidad, parte de los motivos fue que no estaba para nada clara la naturaleza de los genes y el modo de su funcionamiento. La genética de los primeros tiempos no se basaba en la química ni en la citología (Dunn, 1965; Sturtevant, 1965). Los cromosomas fueron observados en la mitosis (Flemming, 1879) y en la meiosis (Strasburger, 1888); el término cromosoma fue acuñado por Waldeyer en 1888, pero no se había considerado una relación funcional entre los genes y los cromosomas. Una excepción fue el trabajo precursor de Theodor Boveri (1862-1915) acerca de la individualidad genética de los cromosomas (en 1902). La genética se convirtió en un campo científico independiente en 1910, con el estudio de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) por Thomas H. Morgan, en la Universidad de Columbia en Nueva York. Los estudios genéticos sistemáticos subsiguientes en *Drosophila* a través de muchos años (Dunn, 1965; Sturtevant 1965; Whitehouse, 1973) mostraron que los genes están ordenados linealmente en los cromosomas. Esto condujo hacia la teoría cromosómica de la herencia (Morgan, 1915).

El matemático inglés Hardy y el físico alemán Weinberg reconocieron que la herencia mendeliana se aplica para ciertas regularidades en la estructura genética de las poblaciones (1908). Su trabajo contribuyó a la introducción exitosa de los conceptos genéticos en la reproducción de plantas y animales. Aunque la genética estuvo bien establecida como un campo biológico hacia el final de la tercera década del último siglo, lamentablemente faltaba el conocimiento de la naturaleza física y química de los genes. La estructura y la función continuaban sin conocerse.

En 1901 DeVries descubrió que los genes pueden cambiar y alterarse. Él introdujo el término *mutación*. En 1927 H. J. Muller determinó la tasa de mutación espontánea en *Drosophila* y demostró que las mutaciones pueden ser inducidas por rayos X. C. Auerbach y J. M. Robson (1941) y, en forma independiente, F. Oehlkers (1943) observaron que ciertas sustancias químicas también podían inducir mutaciones. Sin embargo, continuaba sin aclararse qué era realmente una mutación, dado que las bases físicas de la transferencia genética no se conocían.

La carencia completa de conocimiento de la estructura y función de los genes contribuyó a conceptos



Thomas H. Morgan

erróneos en las décadas de 1920 y 1930 acerca de la posibilidad de eliminar "genes malos" de poblaciones humanas (eugenesia). Sin embargo, la genética moderna ha mostrado que el enfoque eugénico de la enfermedad tampoco es eficaz para eliminar las afecciones genéticas humanas.

Entonces, el conocimiento genético incompleto fue aplicado a individuos humanos en un momento en el que no se sabía nada acerca de la estructura de los genes. Más aún, hasta 1949 no se obtuvieron hallazgos genéticos importantes a partir de los estudios en el hombre. En el presente se sostiene casi lo contrario.

En la actualidad es evidente que las enfermedades determinadas genéticamente por lo general no pueden erradicarse. Nadie es libre de una carga genética. Cada individuo posee alrededor de cinco o seis defectos genéticos severos que no son aparentes pero pueden aparecer en la descendencia.

Con la demostración, en el hongo *Neurospora*, de que un gen es responsable de la formación de una enzima ("un gen, una enzima", Beadle y Tatum, 1941), la cercana relación entre la genética y la bioquímica se volvió evidente, casi de acuerdo con el concepto de Garrod de los errores innatos del metabolismo. El estudio sistemático en microorganismos llevó a otros avances importantes en la década de 1940: se demostró la recombinación genética en bacterias (Lederberg y

Tatum, 1946) y en virus (Delbrück y Bailey, 1947). Se observaron mutaciones espontáneas en virus bacterianos, (bacteriófagos: Hershey, 1947). El estudio del fenómeno genético en los microorganismos resultó ser tan significativo para el desarrollo ulterior de la genética como el análisis de *Drosophila* había sido 35 años antes (para una revisión, véase Cairns y col., 1978). Un libro pequeño muy influyente, titulado "What is life?" del físico E. Schrödinger (1944) definió a los genes en términos moleculares. En ese momento el esclarecimiento de la biología molecular del gen se convirtió en un tema central de la genética.

GENÉTICA Y DNA

En 1944 se produjo un gran avance, cuando Avery, MacLeod y McCarty en el Instituto Rockefeller en Nueva York demostraron que una cadena larga de química relativamente simple de ácido nucleico (ácido desoxirribonucleico, DNA), llevaba la información genética en las bacterias (para una revisión histórica, véanse Dubos, 1976; McCarty, 1985). Muchos años antes, F. Griffith (en 1928) había observado que podían inducirse cambios (genéticos) permanentes en bacterias neumocócicas ("principio de transformación"). Avery y col., demostraron que el DNA era ese principio de transformación. En 1952, Hershey y



Oswald T. Avery

Chase probaron que la información genética sólo se transfiere mediante el DNA. Con esta información, la pregunta acerca de su estructura pasó a ser de capital importancia. Esto fue resuelto en forma más elegante por James D. Watson, un norteamericano de 24 años con una beca en Europa, y Francis H. Crick, un físico inglés de 36 años, en el Laboratorio de Cavendish de la University of Cambridge. Sus hallazgos aparecieron en un artículo de tres cuartos de página, el 25 de abril de 1953, en *Nature* (Watson y Crick, 1953). Es ese artículo famoso, Watson y Crick proponen que la estructura del DNA es una doble hélice. La doble hélice está formada por dos cadenas complementarias, de orientación opuesta, en las que alternan azúcares (desoxirribosas) y moléculas de monofosfato. Dentro de esta molécula helicoidal yacen bases nucleotídicas apareadas, cada par constituido por una purina y una pirimidina. La característica crucial es que los pares de bases yacen adentro de la molécula y no afuera. Esta visión surgió de la construcción de un modelo de DNA que tuvo en cuenta consideraciones estereoquímicas, y de resultados previos de estudios de difracción de rayos X realizados por M. Wilkins y R. Franklin. Pareciera ser que los autores reconocieron por completo el significado que tenía para la genética esta novedosa estructura, ya que en el cierre de su artículo declaran: "No se nos ha escapado que el apareamiento específico que hemos postulado sugiere de inmediato un mecanismo posible de copia del material genético". Los autores han dado cuenta de su descubrimiento en forma vívida, aunque diferente (Watson, 1968; Crick, 1988). La elucidación de la estructura del DNA, se considera como el comienzo de una nueva era para la biología molecular y la genética. La descripción del DNA como una estructura de hélice doble, conduce directamente a la comprensión de la posible estructura de la información genética. Cuando F. Sanger determinó la secuencia de aminoácidos de la insulina, en 1955, proveyó la primera prueba de la estructura primaria de una proteína. Esto sostuvo la idea de que la secuencia de aminoácidos de una proteína podría corresponderse con el carácter secuencial del DNA. Sin embargo, como el DNA está contenido en el núcleo y la síntesis de proteínas se lleva a cabo en el citoplasma, el DNA no podría actuar en forma directa. Surgió entonces que el DNA sería primero transcrito en una molécula mensajera químicamente similar (mensajero de ácido ribonucleico, mRNA) (Crick, Barnett, Brenner,

Watts-Tobin, 1961), con una secuencia de nucleótidos correspondiente, la cual sería transportada hacia el citoplasma. Una vez en el citoplasma, el mRNA sirve como molde para la formación de la secuencia de aminoácidos. El código genético para la síntesis de proteínas a partir del DNA y del RNA mensajero fue determinado en los años 1963-1966 (Nirenberg, Mathaei, Ochoa, Benzer, Khorana y otros). Relatos detallados de estos descubrimientos han sido presentados por Chargaff (1978), Judson (1996), Stent (1981), Watson y Tooze (1981), Crick (1988) y otros.

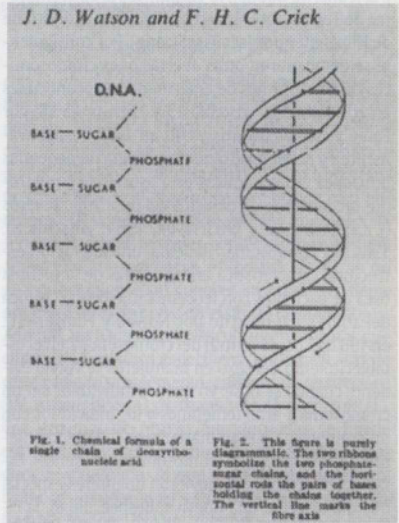
AVANCES METODOLÓGICOS IMPORTANTES EN EL DESARROLLO DE LA GENÉTICA DESPUÉS DE 1950

Desde el comienzo la genética ha sido un campo fuertemente influenciado por el desarrollo de nuevas técnicas experimentales. En las décadas de 1950 y 1960 se fundaron las bases de la genética bioquímica y la inmunogenética. Se aplicaron procedimientos relativamente simples pero confiables para separar complejos moleculares mediante distintas formas de electroforesis, métodos de síntesis de DNA in vitro (Kornberg, 1956) y otras técnicas, con el objetivo de responder preguntas del campo de la genética. El desarrollo de métodos de cultivo celular fue de particular importancia para el análisis genético de los seres humanos. Pontecorvo introdujo el análisis genético de células eucariontes cultivadas (genética de células somáticas) en 1958. El estudio de la genética de mamíferos, con creciente significado para el estudio de los genes humanos, fue facilitado por técnicas de fusión de células en cultivo (hibridación celular, T. Puck, G. Barski, B. Ephrussi, 1961) y el desarrollo de medios de cultivo de células que permiten seleccionar ciertas mutaciones en células cultivadas (medio HAT, J. Littlefield, 1964). El enfoque genético, que había sido tan exitoso en bacterias y virus, ahora podía aplicarse en organismos superiores, evitando entonces los obstáculos de un tiempo largo de generación y experimentos de cruzamiento. Un defecto metabólico del hombre (la galactosemia) fue demostrado por primera vez en 1961, en un cultivo de células humanas (Krooth). El número correcto de cromosomas del hombre fue determinado en 1956 (Tjio y Levan; Ford y Hamerton). Los cultivos de linfocitos se introdujeron para el análisis cromosómico (Hungerford y col., 1960). Se describió el patrón de replicación de los cromosomas humanos (J. German,

1962). Estos descubrimientos pavimentaron el camino de la expansión de un nuevo campo de la genética humana.

GENÉTICA HUMANA

El aspecto médico de la genética humana (genética médica) llamó la atención cuando se reconoció que la anemia de células falciformes era hereditaria (Neel, 1949), causada por una alteración definida de la hemoglobina normal (Pauling, Itano, Singer y Wells, 1949); también, cuando se demostró que un defecto enzimático (déficit de glucosa-



Estructura del DNA, 1953.



Watson (izquierda) y Crick (derecha) en 1953.

6-fosfatasa, demostrado en tejido hepático por Cori y Cori en 1952) era la causa de una enfermedad metabólica hereditaria en el hombre (enfermedad del almacenamiento de glucógeno tipo I, o enfermedad de von Gierke). La American Society of Human Genetics y la primera revista de genética humana (*American Journal of Human Genetics*) se establecieron en 1949. Además apareció el primer libro de texto de genética humana (Curt Stern, *Principles of Human Genetics*, 1949). En 1959 se descubrieron las aberraciones cromosómicas en algunas enfermedades humanas bien conocidas (trisomía 21 en el síndrome de Down, por J. Lejeune, M. Gautier, R. Turpin; 45,X0 en el síndrome de Turner por Ford y col.; 47,XXY en el síndrome de Klinefelter por Jacobs y Strong). Por consiguiente se demostraron otras aberraciones cromosómicas como causantes de enfermedades reconocibles en el hombre (la trisomía 13 y la trisomía 18, por Patau y col., y Edwards y col., en 1960, respectivamente), y se demostró que la pérdida de pequeñas porciones cromosómicas está asociada con patrones reconocibles de defectos del desarrollo severos (J. Lejeune y col., 1963; Wolf, 1964; Hirschhorn, 1964). El cromosoma Filadelfia, una alteración estructural característica en las células de la médula ósea de pacientes con leucemia mielógena crónica del adulto, fue descrito por Nowell y Hungerford, en 1962. El papel central del cromosoma Y en el establecimiento del sexo en mamíferos se volvió evidente cuando se observó que los individuos sin un cromosoma Y eran femeninos y los individuos con un cromosoma Y eran masculinos, independientemente del número de cromosomas X presentes. Estas observaciones promovieron un interés especial que dio origen a una nueva subespecialidad, la citogenética humana. Desde comienzos de la década de 1960, se obtuvieron conocimientos importantes acerca de la genética en general, casi siempre por primera vez, mediante estudios en el hombre. El análisis de enfermedades genéticamente determinadas en el hombre ha dado lugar a importantes visiones acerca del funcionamiento normal de los genes también en otros organismos. En el paciente se conoce más acerca de la genética en general del hombre que de otras especies. Han surgido numerosas subespecialidades de la genética humana, como la genética bioquímica, la inmunogenética, la genética de células somáticas, la citogenética, la genética clínica, la genética poblacional, la teratología, los estudios mutacionales y otros. El desarrollo de este campo ha sido bien resumido por Vogel y Motulsky (1997), y McKusick (1992).

GENÉTICA Y MEDICINA

Todos los procesos patológicos pueden visualizarse como resultado de la interacción de influencias ambientales y la composición genética propia del individuo afectado. Una enfermedad está determinada genéticamente si es causada exclusiva o mayormente por trastornos en el programa genético de las células y los tejidos. Se conocen más de 3.000 enfermedades genéticas del hombre que son causadas por una mutación en un solo locus génico (enfermedades monogénicas) y que siguen una forma de herencia mendeliana (McKusick, 1998). Ellas difieren entre sí tanto como la información genética en los genes involucrados y pueden manifestarse prácticamente en casi todos los grupos de edad y sistemas orgánicos. Una categoría importante de enfermedades es resultado de la predisposición genética interactuando con factores ambientales precipitantes (enfermedades multigénicas o multifactoriales). Esto incluye las enfermedades crónicas relativamente comunes (p. ej., hipertensión arterial, hiperlipidemia, diabetes mellitus, gota, trastornos psiquiátricos, ciertas malformaciones congénitas). Otras categorías de enfermedades genéticamente determinadas son los trastornos no hereditarios en células somáticas (distintas formas de cáncer) y aberraciones cromosómicas. Debido al surgimiento de nuevas mutaciones y al pequeño tamaño familiar en los países desarrollados, los trastornos genéticos habitualmente no afectan a más de un miembro de una familia. Alrededor del 90% se presentan como casos aislados dentro de una familia. Por ello no se puede reconocer su origen genético por acumulación de casos familiares y, en cambio, se los reconoce por sus signos clínicos. Esto podría ser dificultoso, en vista de la gran variedad de funciones diferentes de los genes en los tejidos normales y en las enfermedades. Debido a que los trastornos genéticos afectan todos los sistemas orgánicos y todos los grupos de edad, y con frecuencia no son reconocidos, su contribución como causa de las enfermedades humanas aparenta ser menor que lo que realmente es. Las enfermedades genéticamente determinadas no constituyen un grupo pequeño sino que conforman una proporción importante de las enfermedades. Más de un tercio de las admisiones pediátricas hospitalarias se deben a enfermedades o trastornos del desarrollo que, al menos en parte, son causados por factores genéticos (Weatherall, 1991). La frecuencia total estimada de las enfermedades genéticamente determinadas de diferentes categorías en la población en general es de alrededor de 3,5-5,0% (véase cuadro 1).

Cuadro 1. Frecuencia de presentación de enfermedades genéticas

Tipo de enfermedad genética	Frecuencia cada 1.000 individuos
1. Enfermedades monogénicas, total	4,5-15,0
Autosómica dominante	2-9,5
Autosómica recesiva	2-3,5
Ligada al cromosoma X	0,5-2
2. Aberraciones cromosómicas	5-7
3. Alteraciones multifactoriales *	70-90
4. Malformaciones congénitas	19-22
Total	aprox. 80-115

* Contribución de factores genéticos variables. (Datos basados en Weatherall, 1991.)

El gran número de enfermedades raras genéticamente determinadas y el solapamiento de trastornos con manifestaciones clínicas similares pero de diferente etiología (principio de heterogeneidad genética o etiológica) causa dificultades adicionales en el diagnóstico. Esto debe considerarse durante el diagnóstico para evitar conclusiones falsas acerca de un riesgo genético.

En 1966, Victor A. McKusick introdujo un catálogo de fenotipos humanos transmitidos de acuerdo con una herencia mendeliana (Catálogo de McKusick, actualmente en su 12ª edición; McKusick, 1998). Este catálogo y la Conferencia de Baltimore en 1968-1973 organizada por McKusick (Delineación clínica de los defectos congénitos) han contribuido en forma sustancial a la sistematización y desarrollo subsiguiente de la genética médica. La magnitud de la genética médica se ve reflejada en el inicio de algunas revistas científicas nuevas desde 1965 (*Clinical Genetics*, *Journal of Medical Genetics*, *Human Genetics*, *Annals de Génétique*, *American Journal of Medical Genetics*, *Cytogenetics and Cell Genetics*, *European Journal of Human Genetics*, *Prenatal Diagnosis*, *Clinical Dysmorphology* y otras).

En los últimos años, gracias a las técnicas moleculares, se ha logrado un progreso considerable, impensable antes, en el esclarecimiento de la etiología genética de las enfermedades humanas y, en consecuencia, se ha contribuido a la dilucidación de la estructura y función de los genes normales.

GENÉTICA MOLECULAR

El descubrimiento, en 1970 (en forma independiente por H. Temin y D. Baltimore), de la transcriptasa inversa, un complejo enzimático no habitual en los virus de RNA (retrovirus), rompió

con el dogma –válido hasta entonces– de que el flujo de la información genética iba sólo en una dirección: del DNA al RNA y de éste al producto génico (un péptido). La *existencia* de la transcriptasa inversa no sólo es un hallazgo biológico importante, sino también el *medio* que ésta brinda para obtener DNA complementario (cDNA) que posee la secuencia de las regiones codificantes de un gen activo. En consecuencia, es posible analizar un gen directamente sin conocer su producto, siempre que éste se exprese en el tejido examinado.

Además, en bacterias se descubrieron enzimas que clivan DNA en sitios específicos (endonucleasas de restricción o, simplemente, enzimas de restricción) (W. Arber, 1969; D. Nathans y H. O. Smith, 1971). Con enzimas de restricción adecuadas se puede cortar el DNA en fragmentos de un tamaño reproducible y definido, lo que permite reconocer con facilidad un área a ser estudiada. Se pueden unir fragmentos de DNA de diferente origen y luego analizar sus propiedades. Entre 1977 y 1985 se desarrollaron técnicas que permiten producir copias múltiples y secuenciar fragmentos de DNA (determinación de la secuencia de sus bases nucleotídicas). Estos métodos se conocen en conjunto como tecnología del DNA recombinante (véase Cronología al final de esta introducción).

En 1977 el análisis por recombinación del DNA condujo hacia un hallazgo completamente nuevo e inesperado acerca de la estructura de los genes en los organismos superiores y también en levaduras y en *Drosophila*: los genes no son segmentos continuos de DNA sino que normalmente son interrumpidos por segmentos no codificantes (véanse Watson y Tooze, 1981; Watson y col., 1992). El tamaño y la secuencia de los segmentos codificantes del DNA, los llamados exones (un término introducido por Gilbert en 1978) y los

segmentos no codificantes, los intrones, son específicos para cada gen individual (estructura exón/intrón de los genes eucarióticos).

Con el advenimiento del análisis genético molecular del DNA, muchos tipos diferentes de marcadores de DNA polimorfo, por ejemplo diferencias individuales hereditarias en la secuencia nucleotídica, se han ubicado en sitios específicos de los cromosomas (mapa físico). Como resultado de ello, la posición cromosómica de un gen de interés ahora puede determinarse (localizado en un mapa) mediante el análisis de la segregación del locus de una enfermedad en relación con los marcadores de DNA polimorfo (análisis de ligamiento). Una vez que la localización de un gen se conoce, este último puede aislarse y caracterizarse su estructura (clonación posicional, un término introducido por F. Collins). La ventaja de un análisis tan directo es que no se necesita saber nada acerca del gen de interés, más allá de su localización aproximada. No es necesario un conocimiento previo del producto génico.

Otro enfoque complementario es identificar un gen de posible relevancia funcional para un trastorno (un gen candidato), determinar su posición cromosómica y luego demostrar la presencia de mutaciones en ese gen en pacientes afectados por ese trastorno. La clonación posicional y la identificación de genes candidatos ha permitido identificar genes de varias enfermedades importantes, como la acondroplasia, algunas retinopatías degenerativas, la fibrosis quística, la corea de Huntington y otras enfermedades neurodegenerativas, la distrofia muscular de Duchenne y otras enfermedades musculares, enfermedades mesenquimáticas con defectos del colágeno (osteogénesis imperfecta), síndrome de Marfan (debido a un defecto en una proteína previamente desconocida, la fibrilina), defectos inmunitarios y numerosos tumores.

La gran homología entre genes que regulan el desarrollo embrionario en diferentes organismos y la estructura similar del genoma han contribuido a nivelar los límites en el análisis genético que existía anteriormente para diferentes organismos (p. ej., la genética de *Drosophila*, la genética de mamíferos, la genética de levaduras, la genética de bacterias, etc.). La genética se ha convertido en una disciplina amplia y unificadora en biología, medicina e investigación evolutiva.

EL GENOMA DINÁMICO

Entre 1950 y 1953 aparecieron notables trabajos titulados "The origin and behavior of mutable loci in maize", (*Proc Natl Acad Sci* 1950; 36: 344-355), *Chromosome organization and genic*

expression (*Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1952 16: 13-45), e *Introduction of instability at selected loci in maize*, (*Genetics* 1953, 38: 579-599). Aquí, la autora, Barbara McClintock del Laboratorio de Cold Spring Harbor, describió loci mutables en plantas de cereal indio (maíz) y su efecto en el fenotipo del cereal debido a un gen que no está localizado en el sitio de la mutación. Sorprendentemente este gen puede ejercer una especie de control remoto. Además, otros genes pueden cambiar su localización y causar mutaciones en sitios distantes.

En trabajos subsiguientes McClintock describió las propiedades especiales de este grupo de genes, a los cuales denominó elementos controladores de la genética (*Brookhaven Symp Biol.* 1955, 8: 58-74). Podían distinguirse diferentes elementos controladores de acuerdo con su efecto sobre otros genes y las mutaciones causadas. Sin embargo, su trabajo causó poco interés (para una revisión, véanse Fox Keller, 1983; Fedoroff y Botstein, 1992).

Treinta años después, en su conferencia del Premio Nobel de 1983 *The significance of responses of the genome to challenge*, *Science* 1984, 226: 792-801), las cosas cambiaron. Hoy en día sabemos que el genoma no es rígido ni estático. Por el contrario, es flexible y dinámico porque tiene partes que pueden moverse de una localización a otra (elementos genéticos móviles, su denominación habitual). La precisión de la información genética depende de su estabilidad, pero la estabilidad absoluta también implicaría persistencia estática. Esto iría en detrimento de nuevas formas de vida en respuesta a cambios ambientales. Entonces el genoma está sujeto a alteraciones, del mismo modo que la vida requiere un equilibrio entre lo viejo y lo nuevo.

EL PROYECTO GENOMA HUMANO

A raíz del surgimiento del Proyecto genoma humano (PGH) y programas relacionados en varios otros organismos, se ha introducido una nueva dimensión dentro de la investigación en biomedicina (véase Parte II, Genómica). El objetivo principal del PGH es determinar la secuencia entera de los tres mil millones de pares de bases nucleotídicas en el DNA del genoma humano y encontrar todos los genes dentro de él. Ésta es una tarea intimidante, comparable a descifrar individualmente cada letra de 1 mm de extensión a lo largo de 3000 km de longitud de la tira de un texto. Dado que más del 90% del DNA no forma parte de los genes, se están realizando otros enfoques que apuntan directamente a los genes que se expresan (activos). En junio de 2000 se anunció la ter-

minación de un borrador que cubre alrededor del 90% del genoma (*Nature* June 29, 2000, pp. 983-985; *Science* June 30, pp. 2304-2307). La secuencia completa de los cromosomas humanos 22 y 21 fue publicada al final de 1999 y principios de 2000, respectivamente. Concebido en 1986 y oficialmente iniciado en 1990, el PGH ha progresado a un paso acelerado. Se espera que sea completado en 2003, algunos años antes que el plan original (para una revisión véase Lander y Weinberg, 2000, y Parte II, Genómica).

ASPECTOS ÉTICOS Y SOCIALES

Desde sus comienzos, el Proyecto genoma humano destinó atención y recursos a problemas éticos, legales y sociales (el programa ELSI). Ésta es una parte importante del PGH, en vista del lejano alcance de las consecuencias del conocimiento actual y el esperado acerca de los genes humanos y el genoma. Aquí sólo cabe mencionar algunos pocos aspectos. Entre ellos se encuentran preguntas sobre la validez y la confidencialidad de los datos genéticos, cómo decidir acerca de la primera prueba genética antes que la primera manifestación clínica de la enfermedad (pruebas genéticas presintomáticas), o si probar la presencia o ausencia de una mutación causante de una enfermedad en un individuo antes que pueda esperarse cualquier signo de la enfermedad (prueba genética predictiva). ¿Cómo puede determinar uno si un individuo tiene realmente interés en realizarse una prueba genética? ¿Se beneficiará él o ella de la información? ¿Podría generar discriminación? ¿Cómo se definen las consecuencias? ¿Cómo se imparte el asesoramiento (genético) y cómo se obtiene el consentimiento informado? La utilización de células troncales (stem cells) embrionarias es otro aspecto que concierne al público. La consideración cuidadosa de los beneficios y riesgos en el dominio público ayudarán a alcanzar decisiones racionales y equilibradas.

EDUCACIÓN

A pesar de que los principios de la genética son realmente honestos, algunos se oponen a ella y muchos no la comprenden. Los científicos deberían aprovechar cualquier oportunidad para informar al público acerca de los objetivos de la genética y la genómica, y los principales métodos empleados. La genética debería estudiarse profundamente en los niveles de educación primaria y secundaria. También habría que resaltar la importancia de enseñar genética humana en las escuelas de medicina.

BIBLIOGRAFÍA INTRODUCTORIA SELECCIONADA

- Bearn, A.G.: Archibald Garrod and the Individuality of Man. Oxford University Press, Oxford, 1993
- Brink, R.A., Styles, E.D., eds.: Heritage from Mendel. University of Wisconsin Press, Madison, 1967.
- Cairns, J.: Matters of Life and Death. Perspectives on Public Health, Molecular Biology, Cancer, and the Prospects for the Human Race. Princeton Univ. Press, Princeton, 1997.
- Cairns, J., Stent, G.S., Watson, J.D., eds.: Spring and the Origins of Molecular Biology. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1978.
- Chargaff, E.: Heraclitean Fire: Sketches from a Life before Nature. Rockefeller University Press, New York, 1978.
- Clarke, A.J., ed.: The Genetic Testing of Children. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1998.
- Coen, E.: The Art of Genes: How Organisms Make Themselves. Oxford Univ. Press, Oxford, 1999.
- Crick, F.: What Mad Pursuit: A Personal View of Scientific Discovery, Basic Books, New York, 1988.
- Dawkins, R.: The Selfish Gene. 2nd ed., Oxford Univ. Press, Oxford, 1989.
- Dobzhansky, T.: Genetics of the Evolutionary Process. Columbia Univ. Press, New York, 1970.
- Dubos, R.J.: The Professor, the Institute, and DNA: O.T. Avery, his life and scientific achievements. Rockefeller Univ. Press, New York, 1976.
- Dunn, L.C.: A Short History of Genetics. McGraw-Hill, New York, 1965.
- Fedoroff, N., Botstein, D., eds.: The Dynamic Genome: Barbara McClintock's Ideas in the Century of Genetics. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1992.
- Fox Keller, E.A.: A Feeling for the Organism: the Life and Work of Barbara McClintock. W.H. Freeman, New York, 1983.
- Haws, D.V., McKusick, V.A.: Farabee's brachydactyly kindred revisited. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 113:20-30, 1963.
- Harper, P.S., Clarke, A.J.: Genetics, Society, and Clinical Practice. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1997.
- Holtzman, N.A., Watson, M.S., ed.: Promoting Safe and Effective Genetic Testing in the United States. Final Report of the Task Force on Genetic Testing. National Institute of Health, Bethesda, September 1997.
- Judson, H.F.: The Eighth Day of Creation. Makers of the Revolution in Biology. Expanded Edi-

- tion. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1996.
- Lander, E.S., Weinberg, R.A.: Genomics: Journey to the center of biology. Pathways of discovery. *Science* **287**: 1777-1782, 2000.
- Mayr, E.: The Growth of Biological Thought: Diversity, Evolution, and inheritance. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1982.
- McCarty, M.: The Transforming Principle, W.W. Norton, New York, 1985.
- McKusick, V.A.: Presidential Address. Eighth international Congress of Human Genetics: The last 35 years, the present and the future, *Am. J. Hum. Genet.* **50**:663-670, 1992.
- McKusick, V.A.: Mendelian Inheritance in Man: A Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. 12th ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1998.
- Online Version OMIM: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/>).
- Miller, O.J., Therman, E.: Human Chromosomes. 4th ed, Springer Verlag, New York, 2001.
- Neel, J.V.: Physician to the Gene Pool. Genetic Lessons and Other Stories. John Wiley & Sons, New York, 1994.
- Schmidtke, J.: Vererbung und Vererbtes - Ein humangenetischer Ratgeber, Rowohlt Taschenbuch Verlag, Reinbek bei Hamburg, 1997.
- Schrödinger, E.: What Is Life? The Physical Aspect of the Living Cell. Penguin Books, New York, 1944.

- Stebbins, G.L.: Darwin to DNA: Molecules to Humanity. W.H. Freeman, San Francisco, 1982.
- Stent, G.S., ed.: James D. Watson, The Double Helix: A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA. A New Critical Edition Including Text. Commentary. Reviews. Original Papers. Weidenfeld & Nicolson, London, 1981.
- Sturtevant, A.H.: A History of Genetics, Harper & Row, New York, 1965.
- Vogel, F., Motulsky, A.G.: Human Genetics: Problems and Approaches. 3rd ed. Springer Verlag, Heidelberg, 1997.
- Watson, J.D.: The Double Helix. A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA. Atheneum, New York-London, 1968.
- Watson, J.D.: A Passion for DNA. Genes, Genomes, and Society, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2000
- Watson J.D. and Crick F.H.C: A structure for deoxyribonucleic acid, *Nature* **171**:737, 1953.
- Watson, J.D., Tooze, J.: The DNA Story: A Documentary History of Gene Cloning, W.H. Freeman, San Francisco, 1981.
- Weatherall, D.J.: The New Genetics and Clinical Practice, 3rd ed. Oxford Univ, Press, Oxford, 1991.
- Whitehouse, H.L.K.: Towards the Understanding of the Mechanisms of Heredity. 3rd ed. Edward Arnold, London, 1973.

Cronología

Avances que contribuyeron al desarrollo de la genética

(Esta lista contiene acontecimientos seleccionados y no debe considerarse completa, en especial por los importantes descubrimientos de los últimos años.)

- 1839 Las células se reconocen como la base de los organismos vivos (*Schleiden, Schwann*)
- 1859 Conceptos de evolución (*Charles Darwin*)
- 1865 Leyes de herencia por "factores" distintivos que actúan en forma dominante o recesivamente (*Gregor Mendel*)
- 1869 "Nucleína", una molécula nueva, larga y ácida, que contiene fósforo (*F. Miescher*)
- 1879 Los cromosomas en la mitosis (*W. Flemming*)
- 1883 Aspectos cuantitativos de la herencia (*F. Galton*)
- 1889 Introducción del término "ácido nucleico" (*R. Altmann*)
- 1892 Introducción del término "virus" (*R. Ivanowski*)
- 1897 Descubrimiento de las enzimas (*E. Büchner*)
- 1900 Reconocimiento de los descubrimientos de Mendel (*H. de Vries, E. Tschermak, K. Correns*, en forma independiente) Sistema del grupo sanguíneo ABO (*Landsteiner*)
- 1902 Algunas enfermedades en el hombre que se heredan según las leyes de Mendel (*W. Bateson, A. Garrod*) Individualidad de los cromosomas (*T. Boveri*) Los cromosomas y los factores de Mendel están relacionados (*W. Sutton*) Cromosomas sexuales (*McClung*)
- 1906 Se propone el término "genética" (*W. Bateson*)
- 1908 Genética de poblaciones (*Hardy, Weinberg*)
- 1909 Fallas metabólicas innatas (*Garrod*) Se proponen los términos "gen", "genotipo", "fenotipo" (*W. Johannsen*) Formación del quiasma durante la meiosis (*Janssens*) Primera línea de ratones endocriada, DBA (*C. Little*)
- 1910 Comienzo de la genética de *Drosophila* (*T. H. Morgan*) Primera mutación en *Drosophila* (de ojos blancos)
- 1911 Virus de sarcoma (*Peyton Rous*)
- 1912 Recombinación cruzada (*crossing-over*) (*Morgan y Cattell*) Ligamiento genético (*Morgan y Lynch*) Primer mapa genético (*A. H. Sturtevant*)
- 1913 Primer cultivo celular (*A. Carrel*)
- 1914 No disyunción (*C. B. Bridges*)
- 1915 Genes localizados en los cromosomas (teoría cromosómica de la herencia) (*Morgan, Sturtevant, Muller, Bridges*)
- 1922 Fenotipos característicos de diferentes triomías en la planta *Datura stramonium* (*F. Blakeslee*)
- 1924 Genética de los grupos sanguíneos (*Bernstein*) Análisis estadístico de rasgos genéticos (*Fisher*)
- 1926 Las enzimas son proteínas (*J. Sumner*)
- 1927 Mutaciones inducidas por rayos X (*H. J. Muller*) Tendencia genética (*S. Wright*)
- 1928 Eucromatina/heterocromatina (*E. Heitz*) Transformación genética en neumococos (*F. Griffith*)
- 1933 Análisis de un pedigrí (*Haldane, Hogben, Fisher, Lenz, Bernstein*) Cromosomas politénicos (*Heitz y Bauer, Painter*)
- 1935 Primer mapa citogenético en *Drosophila* (*C. B. Bridges*)

- 1937 Locus génico H2 de ratón (*P. Gorer*)
- 1940 Polimorfismo (*E. B. Ford*)
Grupos sanguíneos rhesus (*Landsteiner y Wiener*)
- 1941 Evolución a través de duplicación génica (*E. B. Lewis*)
Control genético de las reacciones bioquímicas enzimáticas (*Beadle y Tatum*)
Mutaciones inducidas por gas mostaza (*Auerbach*)
- 1944 El DNA como materia básica de la información genética (*Avery, MacLeod, McCarty*)
"¿What is life? The Physical Aspect of the Living Cell" Un libro influyente (*E. Schrödinger*)
- 1946 Recombinación genética en bacterias (*Lederberg y Tatum*)
- 1947 Recombinación genética en virus (*Delbrück y Bailey, Hershey*)
- 1949 Anemia de células falciformes, una enfermedad molecular determinada genéticamente (*Neel, Pauling*)
Hemoglobinopatías prevalentes en áreas de paludismo (*J. B. S. Haldane*)
Cromatina X (*Barr y Bertram*)
- 1950 Una relación definida entre las cuatro bases nucleotídicas (*Chargaff*)
- 1951 Elementos genéticos móviles en el maíz indio (*Zea mays*) (*B. McClintock*)
- 1952 Los genes están constituidos por DNA (*Hershey y Chase*)
Los plásmidos (*Lederberg*)
Transducción por fagos (*Zinder y Lederberg*)
El primer defecto enzimático en el hombre (*Cori y Cori*)
El primer grupo de ligamiento en el hombre (*Mohr*)
La colchicina y el tratamiento hipotónico en el análisis cromosómico (*Hsu y Pomerat*)
Factores exógenos como causas de malformaciones congénitas (*J. Warkany*)
- 1953 Estructura del DNA (*Watson y Crick, Franklin, Wilkins*)
Herencia no mendeliana (*Ephrussi*)
Ciclo celular (*Howard y Pelc*)

Tratamiento dietético de la fenilcetonuria (*Bickel*)

- 1954 Reparación del DNA (*Muller*)
Leucocitos (*Davidson y Smith*)
Las células en el síndrome de Turner son negativas para cromatina X (*Polani*)
- 1955 Secuencia de aminoácidos de la insulina (*F. Sanger*)
Lisosomas (*C. de Duve*)
La mancha bucal (*Moore, Barr, Marberger*)
5-Bromouracilo, un análogo de la timidina, induce mutaciones en los fagos (*A. Pardee y R. Litman*)
- 1956 El hombre posee 46 cromosomas (*Tijo y Levan, Ford y Hamerton*)
Síntesis de DNA in vitro (*Kornberg*)
Heterogeneidad genética (*Harris, Fraser*)
- 1957 Secuencia de aminoácidos de la molécula de hemoglobina (*Ingram*)
El cistrón, la unidad no recombinante más pequeña de un gen (*Benzer*)
Complementación genética (*Fincham*)
La replicación del DNA es semiconservativa (*Meselson y Stahl, Taylor, Delbrück, Stent*)
Análisis genético de los efectos de la radiación en el hombre (*Neel y Schull*)
- 1958 Genética de células somáticas (*Pontecorvo*)
Ribosomas (*Roberts, Dintzis*)
Antígenos del HLA (*Dausset*)
Clonado de una célula única (*Sanford, Puck*)
Complejo sinaptonémico, el área de sinapsis en la meiosis (*Moses*)
- 1959 Se describen las primeras aberraciones cromosómicas en el hombre: la trisomía 21 (*Lejeune, Gautier, Turpin*), el síndrome de Turner: 45,XO (*Jacobs*), el síndrome de Klinefelter: 47,XXY (*Ford*)
Isoenzimas (*Vesell, Markert*)
Farmacogenética (*Motulsky, Vogel*)
- 1960 Cultivos de linfocitos estimulados con fitohemaglutinina (*Nowell, Moorhead, Hungerford*)
- 1961 El código genético se lee en tripletes (*Crick, Brenner, Barnett, Watts-Tobin*)
Se determina el código genético (*Nirenberg, Mathaei, Ochoa*)

- Inactivación del cromosoma X (*M. F. Lyon, confirmado por Beutler, Russell, Ohno*)
Regulación génica, concepto de operón (*Jacob y Monod*)
Galactosemia en cultivo celular (*Krooth*)
Hibridación celular (*Barski, Ephrussi*)
Embriopatía por talidomida (*Lenz, McBride*)
- 1962 Cromosoma Filadelfia (*Nowell y Hungerford*)
Xg, el primer grupo sanguíneo ligado al X (*Mann, Race, Sanger*)
Relevamiento para fenilcetonuria (*Guthrie, Bickel*)
Caracterización molecular de las inmunoglobulinas (*Edelman, Franklin*)
Identificación de cromosomas humanos individuales mediante autorradiografía con ³H (*German, Miller*)
Replicón (*Jacob y Brenner*)
Término "codón" para un triplete de bases (secuenciales) (*S. Brenner*)
- 1963 Enfermedades por almacenamiento lisosómico (*C. de Duve*)
Primer síndrome autosómico por delección (síndrome de cri - du - chat) (*J. Lejeune*)
- 1964 Reparación por escisión (*Setlow*)
Prueba de CML (*Bach y Hirschhorn, Bain y Lowenstein*)
Prueba de microinfotoxicidad (*Terasaki y McClelland*)
Medio de cultivo celular selectivo HAT (*Littlefield*)
Inestabilidad cromosómica espontánea (*German, Schroeder*)
Fusión celular con el virus Sendai (*Harris y Watkins*)
Cultivo celular de células de líquido amniótico (*H. P. Klinger*)
Enfermedades hereditarias estudiadas en cultivos celulares (*Danes, Bearn, Krooth, Mellman*)
Citogenética poblacional (*Court Brown*)
Aberraciones cromosómicas en fetos de abortos espontáneos (*Carr, Benirschke*)
- 1965 Vida de duración limitada para cultivos de fibroblastos (*Hayflick, Moorehead*)
- 1966 Catálogo de fenotipos mendelianos en el hombre (*McKusick*)
- 1968 HLA-D el sistema de histocompatibilidad más fuerte (*Ceppellini, Amos*)
DNA repetitivo (*Britten y Kohne*)
Bases bioquímicas de las sustancias del grupo sanguíneo ABO (*Watkins*)
Defecto de la reparación por escisión del DNA en el xeroderma pigmentoso (*Cleaver*)
Endonucleasas de restricción (*H. O. Smith, Linn y Arber, Meselson y Yuan*)
Primera asignación de un locus génico autosómico en el hombre (*Donahue, McKusick*)
Síntesis de un gen *in vitro* (*Khorana*)
- 1970 Transcriptasa inversa (*D. Baltimore, H. Temin*, en forma independiente)
Sintenia, un nuevo término para referirse a todos los loci génicos en un mismo cromosoma (*Renwick*)
Defectos enzimáticos en las enfermedades por almacenamiento lisosómico (*Neufeld, Dorfman*)
Individualización de cromosomas mediante la tinción de bandas específicas (*Zech, Casperson, Lubs, Drets y Shaw, Schnedl, Evans*)
Cromatina Y (*Pearson, Bobrow, Vosa*)
Trasplante de timo para las deficiencias inmunitarias (*van Bekkum*)
- 1971 Teoría de los dos eventos para el retinoblastoma (*A. G. Knudson*)
- 1972 Promedio alto de heterocigosis (*Harris y Hopkinson, Lewontin*)
Asociación de antígenos del HLA y enfermedades
- 1973 Alteraciones genéticas como etiología de defectos en los receptores, hiperlipidemia genética (*Brown, Goldstein, Motulsky*)
Demostración del intercambio entre cromátidas hermanas con BrdU (*S. A. Latt*)
Cromosoma Filadelfia como resultado de una translocación (*J. D. Rowley*)
- 1974 Estructura de la cromatina, nucleosoma (*Kornberg, Olins y Olins*)
Reconocimiento dual de un antígeno extraño y el antígeno HLA por los linfocitos T (*P. C. Doherty y R. M. Zinkernagel*)
Clonado de un segmento de DNA eucariota ubicado en una localización cromosómica específica (*D. S. Hogness*)

- 1975 Conferencia isolomar
Identificación de la primera secuencia señal de una proteína (*G. Blobel*)
Hibridación por Southern blot (*E. Southern*)
Anticuerpos monoclonales (*Köhler y Milstein*)
- 1976 Superposición de genes en el fago ϕ X174 (*Barell, Air, Hutchinson*)
Primer ratón transgénico (*R. Jaenisch*)
Loci para genes estructurales en cada cromosoma humano conocido (*Conferencia de Baltimore sobre realización de mapas genéticos*)
- 1977 Los genes contienen segmentos codificantes y no codificantes (genes "separados" o "split" genes, en inglés) (estructura de exones/intrones) (*R. J. Roberts, P. A. Sharp*, en forma independiente)
Primera molécula de DNA recombinante que contiene DNA de mamífero
Métodos para secuenciar DNA (*F. Sanger; Maxam y Gilbert*)
Análisis de nucleosomas por difracción de rayos X (*Finch et al.*)
- 1978 Estructura del gen de la β -globulina (*Leder, Weissmann, Tighman y otros*)
Mecanismos de transposición en bacterias
Producción de somatostatina con DNA recombinante
Introducción de la "caminata cromosómica" ("chromosome walking") para encontrar genes
- 1979 Primer diagnóstico genético usando tecnología de DNA (*Y. H. Kan*)
- 1980 Genes del desarrollo embrionario en *Drosophila* estudiados por relevamiento mutacional (*C. Nüsslein-Volhard y otros*)
Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLPs) (*D. Botstein, R. White, M. Skolnik, R. Davies*)
- 1981 Secuenciación de un genoma mitocondrial (*S. Anderson, S. G. Barrell, A. T. Bankier*)
- 1982 Genes supresores de tumores (*H. P. Klinger*)
Priones (partículas infecciosas proteínicas) propuestas como causa de algunas enfermedades crónicas progresivas del sistema nervioso central (kuru, scrapie, enfermedad de Creutzfeld-Jakob) (*S. B. Prusiner*)

- 1983 Oncogenes celulares (*H. E. Varmus y otros*)
Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) (*L. Montagnier, R. Gallo*)
- 1984 Localización del gen de la enfermedad de Huntington (*Gusella*)
Identificación del receptor de células T (*Tonegawa*)
Secuencias de DNA variable como "huellas digitales genéticas" (*A. Jeffreys*)
Helicobacter pylori (*B. Marshall*)
- 1985 Reacción en cadena de la polimerasa (*Mullis, Saiki*)
Caracterización del gen del factor VIII de la coagulación (*Gitschier*)
Secuenciación del virus del SIDA
Localización del gen de la fibrosis quística
Segmentos de DNA hipervariables
Impronta genómica en ratones (*B. Cattanach*)
- 1986 Primer clonado de genes humanos. Primera identificación de un gen humano basada en su localización cromosómica (clonado posicional) (*Royer-Pokora et al.*)
El RNA como una enzima catalítica (*T. Cech*)
- 1987 Estructura fina de una molécula de HLA (*Björkman, Strominger et al.*)
Clonado del gen de la distrofia muscular de Duchenne (*Kunkel*)
Ratón noqueado (*knockout*) (*M. Capecchi*)
Un mapa genético del genoma humano (*H. Donis-Keller et al.*)
DNA mitocondrial y evolución humana (*R. L. Cann, M. Stoneking, A. C. Wilson*)
- 1988 Comienzo del Proyecto Genoma Humano
Terapia génica exitosa in vitro
Estructura molecular de los telómeros en los extremos de los cromosomas (*E. Blackburn y otros*)
- 1989 Clonado de una región definida de un cromosoma humano obtenido por microdissección (*Lüdecke, Senger, Claussen, Horsthemke*)
- 1990 Evidencia de un gen defectuoso como causante de cáncer de mama hereditario (*Mary-Claire King*)

- 1991 Clonado del gen de la fibrosis quística y de la distrofia muscular de Duchenne
Familia multigénica de receptores de olores (*Buck y Axel*)
Secuencia completa de un cromosoma de levadura
Incremento del uso de los microsatélites como marcadores de polimorfismo del DNA
- 1992 Expansión por repeticiones de trinucleótidos como una nueva clase de mutaciones patogénicas en seres humanos
Alta densidad de marcadores en el DNA de los cromosomas humanos
Identificación del centro de inactivación del cromosoma X
Ratón noqueado para *p53* (*O. Smithies*)
- 1993 Clonado del gen de la enfermedad de Huntington
- 1994 Mapa físico del genoma humano en alta resolución
Mutaciones en los genes del factor de crecimiento fibroblástico como causa de la acondroplasia y otras enfermedades humanas
Identificación de genes involucrados en el cáncer de mama
- 1995 Gen maestro del ojo de vertebrados, *sey* (*small-eye*, ojo pequeño) (*W. J. Gehring*)
Bandas STS del mapa del genoma humano (*T. J. Hudson et al.*)
- 1996 Secuenciación del genoma de levaduras
Mapa genómico del ratón con más de 7.000 marcadores (*E. S. Lander*)
- 1997 Secuencia de *E. coli* (*F. R. Blattner et al.*), *Helicobacter pylori* (*J. F. Tomb*)
Un mamífero clonado mediante la transferencia del núcleo de una célula adulta dentro de un ovocito enucleado (*Wilmut*)
Célula troncal (*stem cell*) embrionaria
- 1998 Secuenciación del nematodo *C. elegans*
- 1999 Primera secuenciación de un cromosoma humano (22)
Estructura cristalográfica del ribosoma
- 2000 Secuenciación del genoma de *Drosophila*
Primera secuencia completa del genoma humano
Primera secuencia completa de un patógeno de plantas (*Xylella fastidiosa*)
Arabidopsis thaliana, el primer genoma de plantas secuenciado

(Para información más completa véanse referencias y <http://www.britannica.com> y marcar en el canal científico, Lander y Weinberg, 2000.)

Bases moleculares de la genética

La célula y sus componentes

Las células son las unidades estructurales organizadas más pequeñas con capacidad de mantener el tiempo (limitado) de vida de un individuo, mientras lleva a cabo una amplia variedad de funciones. Las células han evolucionado en la Tierra durante los pasados 3.500 millones de años, presumiblemente originadas a partir de agregados moleculares primitivos apropiados. Cada célula se origina a partir de otra célula viva, como lo postuló R. Virchow en 1855 ("omnis cellula e cellula"). El mundo de los seres vivos está constituido por dos tipos de células diferentes: *células procariontes*, las cuales llevan su información funcional en un genoma circular sin un núcleo, y *células eucariontes*, que contienen su genoma en cromosomas individuales en un núcleo y poseen una estructura interna bien organizada. Las células se comunican entre sí por medio de un amplio repertorio de señales moleculares. Se ha realizado un gran progreso desde 1839, cuando las células fueron reconocidas por primera vez como las "partículas elementales de los organismos" por M. Schleiden y T. Schwann. En el presente hemos llegado a comprender la mayoría de los procesos biológicos de las células en el nivel molecular.

A. Células eucariontes

Una célula eucarionte está constituida por un citoplasma y un núcleo, y está contenida por la membrana plasmática. El citoplasma contiene un sistema complejo de membranas internas que forman estructuras celulares (organelas). Las principales organelas son las mitocondrias (en las cuales tienen lugar reacciones químicas importantes para la obtención de energía), el retículo endoplasmático (constituido por una serie de membranas en las que se forman las glucoproteínas y los lípidos), el aparato de Golgi (para ciertas funciones de transporte) y los peroxisomas (para la formación o degradación de ciertas sustancias). Las células eucariontes contienen lisosomas, en los cuales se destruyen numerosas proteínas, ácidos nucleicos y lípidos. Los centriolos, partículas cilíndricas pequeñas formadas por microtúbulos, desempeñan un papel esencial en la división celular. Los ribosomas son los sitios de la síntesis proteica.

B. Núcleo celular

El núcleo celular eucarionte contiene la información genética. Está contenido por una membrana interna y otra externa, que contiene poros para el

transporte de sustancias entre el núcleo y el citoplasma. El núcleo contiene un nucleolo y una matriz fibrosa con diferentes complejos de DNA-proteína.

C. Membrana plasmática celular

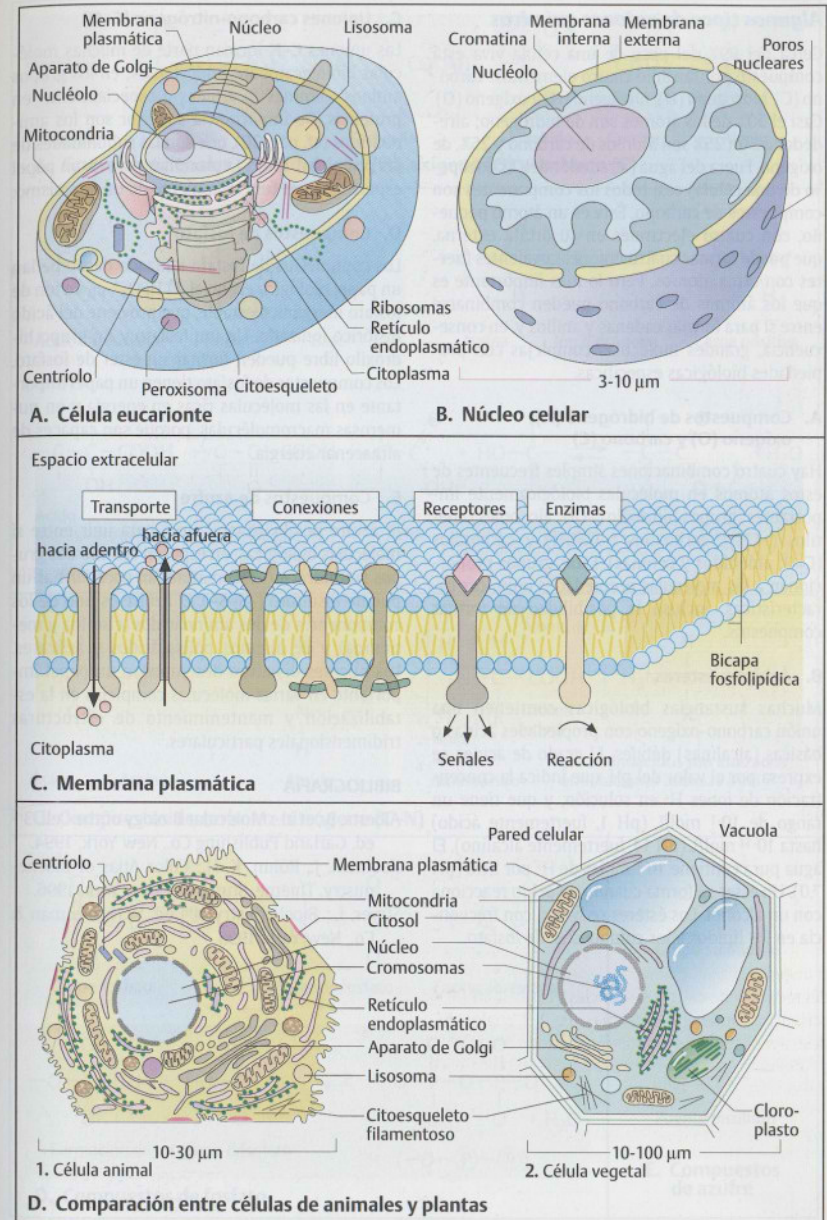
El medio ambiente de las células, ya sea sangre u otros líquidos del cuerpo, tiene el agua como constituyente básico y en los procesos químicos intracelulares participan a moléculas solubles en agua. Para mantener su integridad las células deben prevenir el flujo incontrolado de agua y otras moléculas hacia adentro o hacia afuera. Esto es llevado a cabo por una membrana resistente al agua, compuesta por moléculas bipartitas de ácidos grasos, la *membrana plasmática*. Esas moléculas son fosfolípidos organizados en una doble capa (bicapa) con un interior lipídico. La membrana plasmática contiene numerosas moléculas que atraviesan la bicapa lipídica una o varias veces para realizar funciones especiales. Pueden ser distinguidos *diferentes tipos de proteínas de membrana*: i) proteínas de transmembrana utilizadas como canales para el transporte de moléculas hacia adentro o afuera de la célula, ii) proteínas conectadas entre sí para proveer estabilidad, iii) moléculas receptoras involucradas en transducción de señales y iv) moléculas con función enzimática para catalizar reacciones químicas en respuesta a señales externas. (Figura vuelta a dibujar de Alberts y col., 1998.)

D. Comparación entre células animales y vegetales

Las células de animales y plantas tienen muchas características similares. Una diferencia fundamental es que las vegetales contienen cloroplastos, en los que se efectúa la fotosíntesis. Además estas células están rodeadas por una pared rígida de celulosa y otras moléculas poliméricas, y poseen vacuolas que contienen agua, iones, azúcar, compuestos con contenido de nitrógeno o productos de desecho. Las vacuolas son permeables al agua pero no a las otras sustancias presentes en ellas. (Figuras en A, B y D adaptadas de Duve, 1984.)

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B. et al.: Essential Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell. Garland publishing Co., New York, 1998.
 de Duve, C.: A Guided Tour of the Living Cell. Vol. I and II. Scientific American Books, Inc., New York, 1984.
 Lodish, H. et al.: Molecular Cell Biology (with an animated CD-ROM). 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 2000.



Algunos tipos de uniones químicas

Cerca del 99% del peso de una célula viva está compuesto por tan sólo cuatro elementos: carbono (C), hidrógeno (H), nitrógeno (N) y oxígeno (O). Casi el 50% de los átomos son de hidrógeno; alrededor de un 25% son átomos de carbono y 25%, de oxígeno. Fuera del agua (alrededor del 70% del peso de una célula) casi todos los componentes son compuestos de carbono. Éste es un átomo pequeño, con cuatro electrones en su órbita externa, que puede formar cuatro uniones covalentes fuertes con otros átomos. Pero lo más importante es que los átomos de carbono pueden combinarse entre sí para formar cadenas y anillos y, en consecuencia, grandes moléculas complejas con propiedades biológicas específicas.

A. Compuestos de hidrógeno (H), oxígeno (O) y carbono (C)

Hay cuatro combinaciones simples frecuentes de estos átomos en moléculas biológicamente importantes: grupos hidroxilo (-OH; alcoholes), metilos (-CH₃), carboxilos (-COOH) y carbonilos (C=O; aldehídos y cetonas). Estos grupos proporcionan a las moléculas propiedades químicas características, incluso la posibilidad de formar compuestos.

B. Ácidos y ésteres

Muchas sustancias biológicas contienen una unión carbono-oxígeno con propiedades ácidas o básicas (alcalinas) débiles. El grado de acidez se expresa por el valor del pH, que indica la concentración de iones H⁺ en solución, y que tiene un rango de 10⁻¹ mol/L (pH 1, fuertemente ácido) hasta 10⁻¹⁴ mol/L (pH 14, fuertemente alcalino). El agua pura contiene 10⁻⁷ moles de H⁺ por litro (pH 7,0). Un éster se forma cuando un ácido reacciona con un alcohol. Los ésteres se hallan con frecuencia en los lípidos y los compuestos de fosfato.

C. Uniones carbono-nitrógeno (C-N)

Las uniones C-N forman parte de muchas moléculas biológicamente importantes: en los grupos aminos -aminas y amidas-, especialmente en proteínas. De importancia superior son los aminoácidos (cf. pág. 30), que son las subunidades de las proteínas. Todas las proteínas poseen un papel específico en el funcionamiento de un organismo.

D. Compuestos de fosfato

Los compuestos de fosfato ionizado desempeñan un papel biológico esencial. El HPO₄²⁻ es un ion de fosfato inorgánico estable, que proviene del ácido fosfórico ionizado. Un ion fosfato y un grupo hidroxilo libre pueden formar un éster de fosfato. Los compuestos de fosfato tienen un papel importante en las moléculas ricas en energía y en numerosas macromoléculas, porque son capaces de almacenar energía.

E. Compuestos de azufre

El azufre por lo general sirve para unir entre sí moléculas biológicas, en especial cuando dos grupos sulfhidrilos (-SH) reaccionan para formar un puente disulfuro (-S-S-). El azufre es uno de los componentes de dos aminoácidos (cisteína y metionina) y de algunos polisacáridos y azúcares. Los puentes disulfuro desempeñan un papel importante en varias moléculas complejas en la estabilización y mantenimiento de estructuras tridimensionales particulares.

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., et al.: *Molecular Biology of the Cell*. 3rd ed. Garland Publishing Co., New York, 1994.
 Koolman, J., Röhm, K.-H.: *Color Atlas of Biochemistry*. Thieme, Stuttgart - New York, 1996.
 Stryer, L.: *Biochemistry*. 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 1995.

Hidroxilo	Metilo	Carboxilo	Aldehído	Cetona	Alcohol
A. Grupos funcionales con hidrógeno (H), oxígeno (O) y carbono (C)					
	Ácido carboxílico	Protón	Base		Amina Ion hidrógeno Carga positiva
	Ácido hidroxicarboxílico		Cetoácido		Ácido
	Alcohol		Éster		
B. Ácidos y ésteres					
	Ácido		Amina		Amida
	Ácido		Aminoácido		Los aminoácidos son ionizados en soluciones acuosas a pH 7
C. Compuestos de carbono-nitrógeno (C-N)					
	Grupo fosfato		Éster de fosfato		Forma abreviada
	Grupo sulfhidrilo		Puente disulfuro	E. Compuestos de azufre	
	Formación de un grupo difosfato				
D. Compuestos de fosfato					

Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono, en sus varias formas químicas y sus derivados, son un grupo de biomoléculas importante para la genética. Ellos proveen la estructura básica del DNA y el RNA. Su flexibilidad los hace especialmente adecuados para transferir la información genética de una célula a otra.

Junto con los ácidos nucleicos, los lípidos y las proteínas, los hidratos de carbono son una de las clases de biomoléculas más importantes. Sus funciones fundamentales se pueden clasificar en tres grupos: i) aporte y almacenamiento de energía, ii) formar parte del DNA y el RNA, las moléculas que contienen la información (véanse págs. 34 y 38) y iii) ayudar a formar las paredes celulares de las bacterias y plantas. Los hidratos de carbono a menudo están unidos a proteínas y lípidos.

Como polisacáridos, son elementos estructurales importantes de las paredes celulares de animales, bacterias y plantas. También forman estructuras de la superficie celular (receptores) utilizadas en la transmisión de señales de una célula a otra. Combinados con numerosas proteínas y lípidos, son componentes importantes de numerosas estructuras celulares. Por último, los hidratos de carbono participan en la transferencia y almacenamiento de energía en el metabolismo intermedio.

A. Monosacáridos

Los monosacáridos (azúcares simples) son aldehídos ($-C=O, -H$) o cetonas ($>C=O$) con dos o más grupos hidroxilo (fórmula general de la estructura $(CH_2O)_n$). Los grupos cetona o aldehído pueden reaccionar con uno de los grupos hidroxilo para formar un anillo. Ésta es la configuración habitual de los azúcares que tienen cinco o seis átomos de C (pentosas y exosas). Los átomos de C se numeran. Las formas D y L de los azúcares son imágenes especulares de isómeros de la misma molécula.

Las formas que se encuentran en la naturaleza son las D - (dextro). Éstas a su vez incluyen las formas α - y β - como estereoisómeros. En las formas cíclicas los átomos de C de los azúcares no están en un plano, sino que adoptan la forma tridimensional de una silla o un bote. La configuración de la β - D -glucopiranososa (glucosa) es la más favorecida energéticamente, ya que todas las posiciones axiales están ocupadas por átomos de H. La posición de los grupos $-OH$ puede diferir, de manera que se formen estereoisómeros como la manosa o la galactosa.

B. Disacáridos

Éstos son compuestos de dos monosacáridos. El grupo aldehído o cetona de uno puede unirse al

grupo hidroxilo α - o al β - del otro. La sacarosa y la lactosa son disacáridos que se encuentran a menudo.

C. Derivados de azúcares

Cuando ciertos grupos hidroxilo son reemplazados por otros grupos, se forman derivados de los azúcares. Éstos se producen en especial en los polisacáridos. En un gran grupo de síndromes genéticamente determinados, los disacáridos complejos no pueden degradarse debido a una reducción o ausencia total de función enzimática (mucopolisacaridosis, mucopolisidosis) (véase pág. 356).

D. Polisacáridos

Los azúcares de cadenas cortas (oligosacáridos) y largas, y los derivados de los azúcares (polisacáridos) forman elementos estructurales esenciales de la célula. Los oligosacáridos complejos con uniones a proteínas o lípidos son parte de las estructuras de la superficie celular, por ejemplo, los antígenos de los grupos sanguíneos.

Ejemplos de trastornos en el metabolismo de los hidratos de carbono

Diabetes mellitus: grupo heterogéneo de trastornos caracterizados por niveles elevados de glucosa en sangre, con aspectos clínicos y genéticos complejos (véase pág. 362).

Trastornos del metabolismo de la fructosa: se conocen tres trastornos hereditarios: fructosuria benigna, intolerancia hereditaria a la fructosa, con hipoglucemia y vómitos, y déficit hereditario de fructosa 1,6-difosfato, con hipoglucemia, apnea, acidosis láctica y con un resultado letal frecuente en niños recién nacidos.

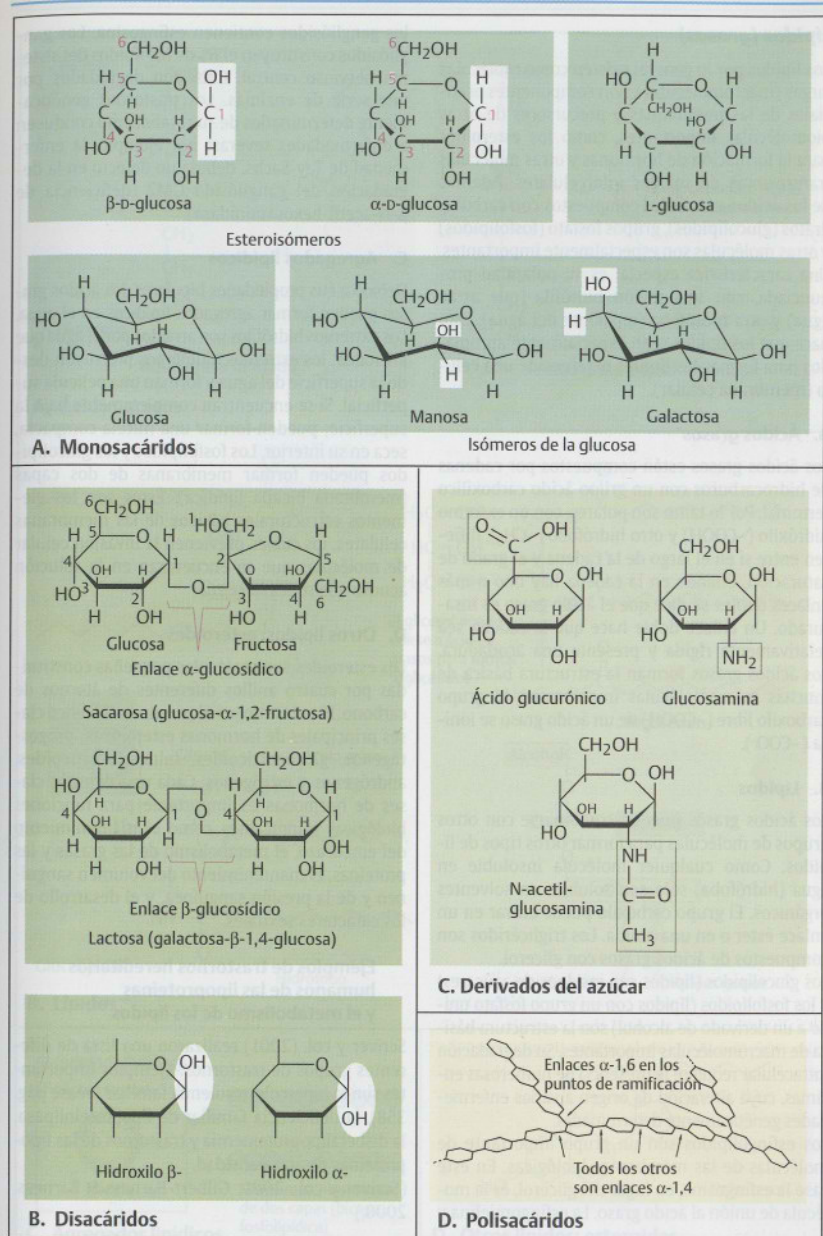
Enfermedades del almacenamiento del glucógeno: son un grupo de trastornos del metabolismo del glucógeno que difieren en los síntomas clínicos, así como en los genes y enzimas involucrados.

Metabolismo de la galactosa: tres trastornos hereditarios diferentes, con toxicidad aguda y efectos en el largo plazo.

BIBLIOGRAFÍA

Gilbert-Barnes, E., Barnes, L.: *Metabolic Diseases. Foundations of Clinical Management, Genetics and Pathology.* Eaton Publishing, Natick, MA 01760 USA, 2000.

Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., Valle, D., editors: *The Metabolic and Molecular Bases of Inheritance on Inherited Disease.* 8th ed., McGraw-Hill, New York, 2001.



Lípidos (grasas)

Los lípidos por lo general existen como moléculas largas (macromoléculas). Son componentes esenciales de las membranas y precursores de otras biomoléculas importantes, como los esteroides para la formación de hormonas y otras moléculas transmisoras de señales intercelulares. Además de los ácidos grasos, los compuestos con carbohidratos (glucolípidos), grupos fosfato (fosfolípidos) y otras moléculas son especialmente importantes. Una característica especial es su polaridad pronunciada, con una región hidrófila (que atrae agua) y otra hidrófoba (repelente del agua). Esto hace que los lípidos sean especialmente apropiados para formar los límites externos de una célula (membrana celular).

A. Ácidos grasos

Los ácidos grasos están compuestos por cadenas de hidrocarburos con un grupo ácido carboxílico terminal. Por lo tanto son polares, con un extremo hidróxilo (-COOH) y otro hidrófobo (-CH₃), difieren entre sí en el largo de la cadena y el grado de saturación. Cuando en la cadena hay uno o más enlaces dobles se dice que el ácido graso es insaturado. Un enlace doble hace que la cadena sea relativamente rígida y presente una acodadura. Los ácidos grasos forman la estructura básica de muchas macromoléculas importantes. El grupo carboxilo libre (-COOH) de un ácido graso se ioniza (-COO⁻).

B. Lípidos

Los ácidos grasos pueden combinarse con otros grupos de moléculas para formar otros tipos de lípidos. Como cualquier molécula insoluble en agua (hidrófoba) sólo son solubles en solventes orgánicos. El grupo carboxilo puede entrar en un enlace éster o en una amida. Los triglicéridos son compuestos de ácidos grasos con glicerol.

Los glucolípidos (lípidos con residuos de azúcares) y los fosfolípidos (lípidos con un grupo fosfato unido a un derivado de alcohol) son la estructura básica de macromoléculas importantes. Su degradación intracelular requiere la presencia de numerosas enzimas, cuya alteración da origen a varias enfermedades genéticamente determinadas.

Los esfingolípidos son un grupo importante de moléculas de las membranas biológicas. En este caso la esfingosina, en lugar del glicerol, es la molécula de unión al ácido graso. La esfingomielina y

los gangliósidos contienen esfingosina. Los gangliósidos constituyen el 6% de los lípidos del sistema nervioso central. Ellos son degradados por una serie de enzimas. Los trastornos genéticamente determinados de su catabolismo conducen a enfermedades severas; por ejemplo, la enfermedad de Tay-Sachs, debida a un defecto en la degradación del gangliósido GM2 (deficiencia de β-N-acetil-hexosaminidasa).

C. Agregados lipídicos

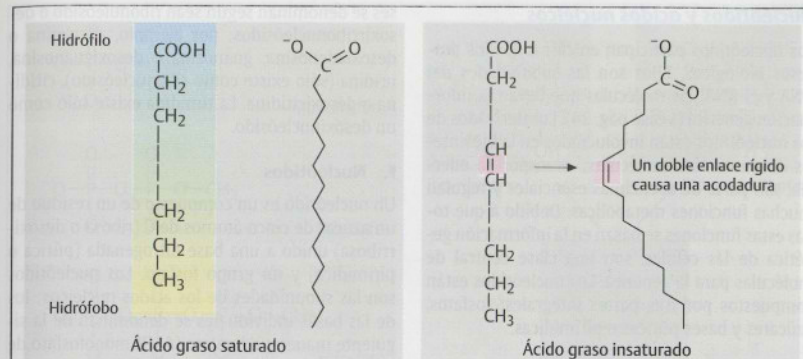
Debido a sus propiedades bipolares, los ácidos grasos pueden formar agregados lipídicos en el agua. Los extremos hidrófilos son atraídos por el agua que los rodea; los extremos hidrófobos protruyen desde la superficie del agua y forman una película superficial. Si se encuentran completamente bajo la superficie; pueden formar una micela compacta, seca en su interior. Los fosfolípidos y los glucolípidos pueden formar membranas de dos capas (membrana bicapa lipídica). Éstos son los elementos estructurales básicos de las membranas celulares, los cuales previenen la invasión celular de moléculas que se encuentran en la solución acuosa que rodea la célula.

D. Otros lípidos: esteroides

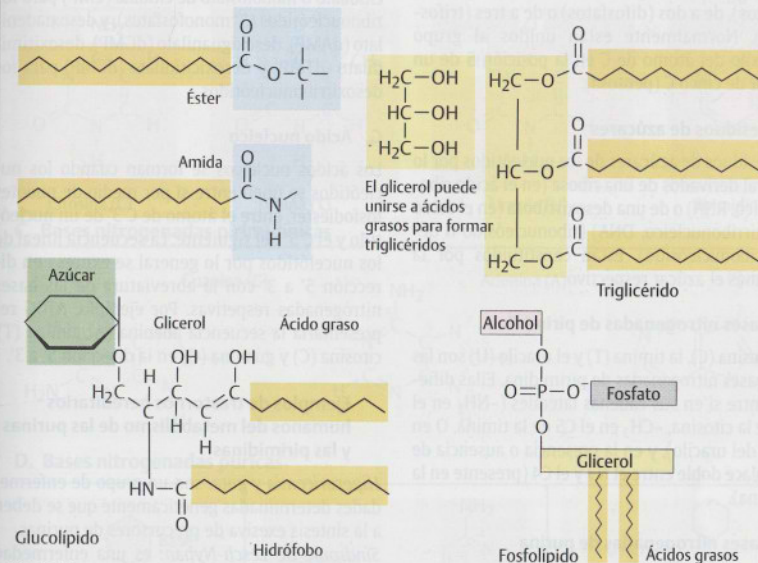
Los esteroides son moléculas pequeñas constituidas por cuatro anillos diferentes de átomos de carbono. El colesterol es el precursor de cinco clases principales de hormonas esteroideas: progestágenos, glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos y estrógenos. Cada una de estas clases de hormonas es importante para funciones biológicas importantes como el mantenimiento del embarazo, el metabolismo de las grasas y las proteínas, el mantenimiento del volumen sanguíneo y de la presión sanguínea, y el desarrollo de los caracteres sexuales.

Ejemplos de trastornos hereditarios humanos de las lipoproteínas y el metabolismo de los lípidos

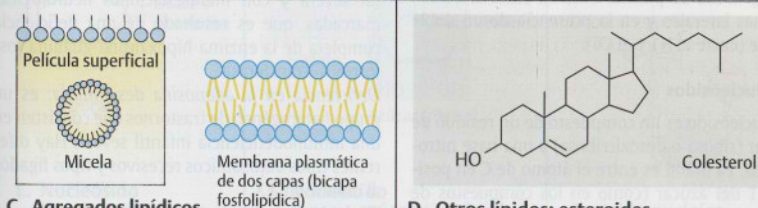
Scriver y col. (2001) realizaron una lista de diferentes grupos de trastornos. Ejemplos importantes son la hipercolesterolemia familiar (véase pág. 358), la deficiencia familiar de lipoproteína lipasa, la disbetalipoproteinemia y trastornos de las lipoproteínas de alta densidad. (Scriver y col., 2001; Gilbert-Barnes & Barnes, 2000.)



A. Ácidos grasos



B. Lípidos



C. Agregados lipídicos

D. Otros lípidos: esteroides

Nucléotidos y ácidos nucleicos

Los nucleótidos participan en casi todos los procesos biológicos. Ellos son las subunidades del DNA y el RNA, las moléculas que llevan la información genética (véase pág. 34). Los derivados de los nucleótidos están involucrados en la biosíntesis de numerosas moléculas; transportan energía, son parte de coenzimas esenciales y regulan muchas funciones metabólicas. Debido a que todas estas funciones se basan en la información genética de las células, son una clase central de moléculas para la genética. Los nucleótidos están compuestos por tres partes integrales: fosfatos, azúcares y bases púricas o pirimídicas.

A. Grupos fosfato

Los grupos fosfato pueden existir solos (monofosfatos), de a dos (difosfatos) o de a tres (trifosfatos). Normalmente están unidos al grupo hidroxilo del átomo de C en la posición 5 de un azúcar de cinco C (pentosa).

B. Residuos de azúcares

Los residuos de azúcares de los nucleótidos por lo general derivados de una ribosa (en el ácido ribonucleico, RNA) o de una desoxirribosa (en el ácido desoxirribonucleico, DNA) (ribonucleósido o desoxirribonucleósido). Están constituidos por la base más el azúcar respectivo.

C. Bases nitrogenadas de pirimidina

La citosina (C), la timina (T) y el uracilo (U) son las tres bases nitrogenadas de pirimidina. Ellas difieren entre sí en sus cadenas laterales ($-NH_2$ en el C4 de la citosina, $-CH_3$ en el C5 de la timina, O en el C4 del uracilo), y en la presencia o ausencia de un enlace doble entre el N3 y el C4 (presente en la citosina).

D. Bases nitrogenadas de purina

La adenina (A) y la guanina (G) son las dos bases nitrogenadas de purina. Difieren entre sí en sus cadenas laterales y en la presencia de un doble enlace (entre el N1 y el C6).

E. Nucleósidos

Un nucleósido es un compuesto de un residuo de azúcar (ribosa o desoxirribosa) y una base nitrogenada. La unión es entre el átomo de C en posición 1 del azúcar (como en los compuestos de azúcares) y un átomo de N de la base (enlace N-glucosídico). Los nucleósidos de las diferentes ba-

ses se denominan según sean ribonucleósido o desoxirribonucleósidos; por ejemplo, adenosina o desoxiadenosina, guanosina o desoxiguanosina, uridina (sólo existe como ribonucleósido), citidina o desoxicitidina. La timidina existe sólo como un desoxinucleósido.

F. Nucleótidos

Un nucleótido es un compuesto de un residuo de un azúcar de cinco átomos de C (ribosa o desoxirribosa) unido a una base nitrogenada (púrica o pirimídica) y un grupo fosfato. Los nucleótidos son las subunidades de los ácidos nucleicos; los de las bases individuales se denominan de la siguiente manera: adenilato (AMP, monofosfato de adenosina), guanilato o monofosfato de guanosina (GMP), uridilato o monofosfato de uridina (UMP) y citidilato o monofosfato de citidina (CMP) para los ribonucleótidos (5' monofosfatos), y desoxiadenilato (dAMP), desoxiguanilato (dGMP), desoxitimidilato (dTMP) y desoxicitidilato (dCMP) para los desoxirribonucleótidos.

G. Ácido nucleico

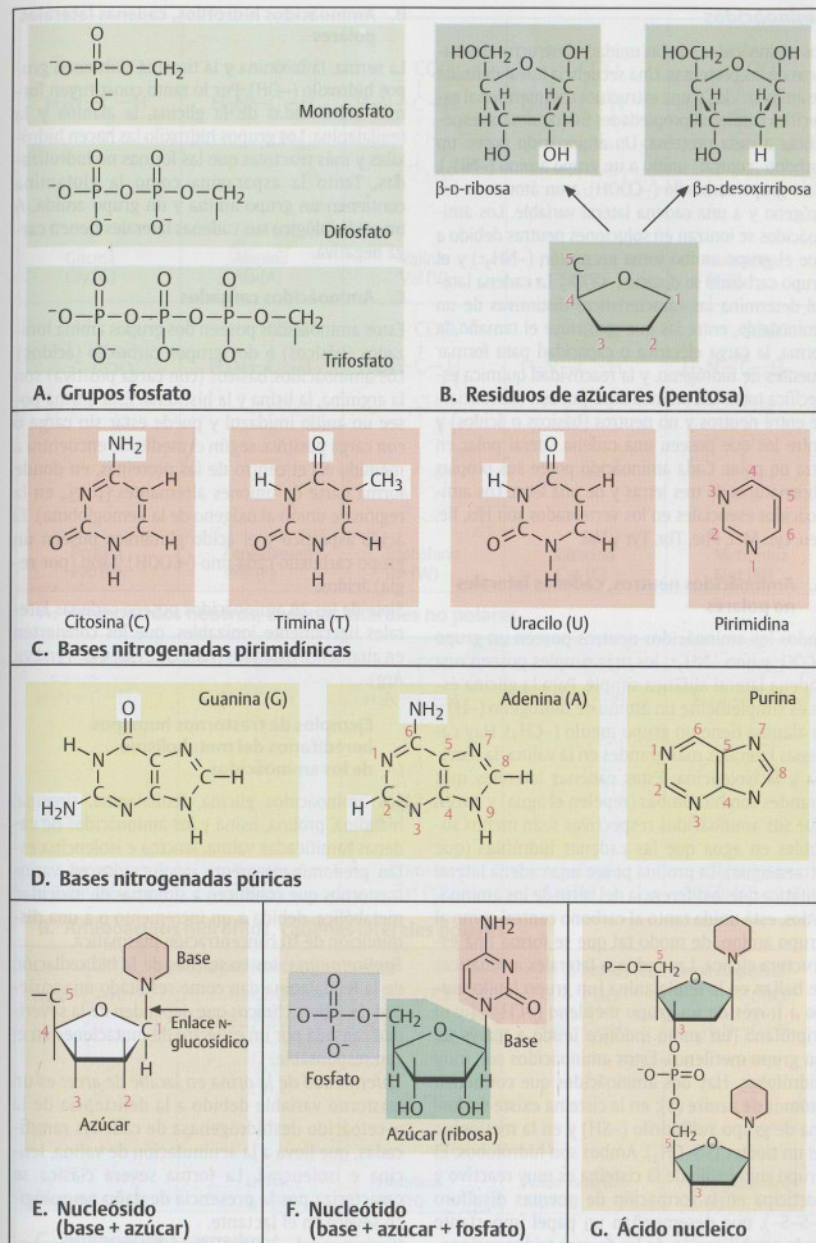
Los ácidos nucleicos se forman cuando los nucleótidos se unen entre sí por medio de puentes fosfodiéster, entre el átomo de C 3' de un nucleótido y el C 5' del siguiente. La secuencia lineal de los nucleótidos por lo general se expresa en dirección 5' a 3' con la abreviatura de las bases nitrogenadas respectivas. Por ejemplo, ATCG representaría la secuencia adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G) en la dirección 5' a 3'.

Ejemplos de trastornos hereditarios humanos del metabolismo de las purinas y las pirimidinas

Hiperuricemia y gota: son un grupo de enfermedades determinadas genéticamente que se deben a la síntesis excesiva de precursores de purinas.

Síndrome de Lesch-Nyhan: es una enfermedad infantil ligada al cromosoma X, variable, en general severa y con manifestaciones neurológicas marcadas, que es resultado de una deficiencia completa de la enzima hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa.

Deficiencia en la adenosina desaminasa: es un grupo heterogéneo de trastornos que consisten en una inmunodeficiencia infantil severa. Hay diferentes tipos autosómicos recesivos y tipos ligados al cromosoma X. (Scriver y col., 2001; Gilbert-Barnes & Barnes, 2000.)



Aminoácidos

Los aminoácidos son las unidades estructurales básicas de las proteínas. Una secuencia lineal definida de aminoácidos y una estructura tridimensional específica confieren propiedades fisicoquímicas específicas a cada proteína. Un aminoácido posee un carbono "central" unido a un grupo amino ($-\text{NH}_2$), a un grupo carboxilo ($-\text{COOH}$), a un átomo de hidrógeno y a una cadena lateral variable. Los aminoácidos se ionizan en soluciones neutras debido a que el grupo amino toma un protón ($-\text{NH}_3^+$) y el grupo carboxilo se disocia ($-\text{COO}^-$). La cadena lateral determina las características distintivas de un aminoácido, entre las que se incluye el tamaño, la forma, la carga eléctrica o capacidad para formar puentes de hidrógeno, y la reactividad química específica total. Los aminoácidos pueden diferenciarse entre neutros y no neutros (básicos o ácidos) y entre los que poseen una cadena lateral polar en otra no polar. Cada aminoácido posee sus propias abreviaturas de tres letras y de una letra. Los aminoácidos esenciales en los vertebrados son His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr, Tyr y Val.

A. Aminoácidos neutros, cadenas laterales no polares

Todos los aminoácidos neutros poseen un grupo $-\text{COO}^-$ y uno $-\text{NH}_3^+$; los más simples poseen una cadena lateral alifática simple. Para la glicina ésta es simplemente un átomo de hidrógeno ($-\text{H}$) y la alanina tiene un grupo metilo ($-\text{CH}_3$). Hay cadenas laterales más grandes en la valina, la leucina y la isoleucina. Estas cadenas laterales más grandes son hidrófobas (repelen el agua) y hacen que sus aminoácidos respectivos sean menos solubles en agua que las cadenas hidrófilas (que atraen agua). La prolina posee una cadena lateral alifática que, a diferencia del resto de los aminoácidos, está unida tanto al carbono central como al grupo amino, de modo tal que se forma una estructura cíclica. Las cadenas laterales aromáticas se hallan en la fenilalanina [un grupo fenilo unido a través de un grupo metileno ($-\text{CH}_2-$)] y el triptófano (un anillo indólico unido a través de un grupo metileno). Estos aminoácidos son muy hidrófobos. Hay dos aminoácidos que contienen átomos de azufre (S); en la cisteína existe en forma de grupo sulfhidrilo ($-\text{SH}$) y en la metionina es un tioéter ($-\text{S}-\text{CH}_3$). Ambos son hidrófobos. El grupo sulfhidrilo de la cisteína es muy reactivo y participa en la formación de puentes disulfuro ($-\text{S}-\text{S}-$), que desempeñan un papel importante en la estabilización de las formas tridimensionales de las proteínas.

B. Aminoácidos hidrófilos, cadenas laterales polares

La serina, la treonina y la tirosina contienen grupos hidroxilo ($-\text{OH}$). Por lo tanto constituyen formas hidrolizadas de la glicina, la alanina y la fenilalanina. Los grupos hidroxilo las hacen hidrófilas y más reactivas que las formas no hidrolizadas. Tanto la asparagina como la glutamina contienen un grupo amina y un grupo amida. A un pH fisiológico sus cadenas laterales tienen carga negativa.

C. Aminoácidos cargados

Estos aminoácidos poseen dos grupos amina ionizados (básicos) o dos grupos carboxilo (ácidos). Los aminoácidos básicos (con carga positiva) son la arginina, la lisina y la histidina. Esta última posee un anillo imidazol y puede estar sin carga o con carga positiva, según el medio. Se encuentra a menudo en el centro de las proteínas, en donde forma parte de uniones alternantes (p. ej., en la región de unión al oxígeno de la hemoglobina). El ácido aspártico y el ácido glutámico poseen un grupo carboxilo cada uno ($-\text{COOH}$) y son (por regla) ácidos.

Siete de los 20 aminoácidos poseen cadenas laterales ligeramente ionizables, que los convierten en altamente reactivos (Asn, Glu, His, Cys, Tyr, Lys, Arg).

Ejemplos de trastornos humanos hereditarios del metabolismo de los aminoácidos

Los aminoácidos glicina, fenilalanina, tirosina, histidina, prolina, lisina y los aminoácidos de cadenas ramificadas valina, leucina e isoleucina están predominantemente involucrados en varios trastornos que conducen a síntomas de toxicidad metabólica, debida a un incremento o a una disminución de su concentración plasmática.

Fenilcetonuria: los trastornos de la hidroxilación de la fenilalanina dan como resultado una variedad de signos clínicos que dependen de la severidad causada por un espectro de mutaciones en el gen responsable.

Enfermedad de la orina en jarabe de arce: es un trastorno variable debido a la deficiencia de la α -cetoácido deshidrogenasa de cadenas ramificadas, que lleva a la acumulación de valina, leucina e isoleucina. La forma severa clásica se caracteriza por la presencia de daño neurológico severo en el lactante.

(Scriver y col., 2001; Gilbert-Barnes & Barnes, 2000.)

$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_2 \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$
Glicina Gly (G)	Alanina Ala (A)	Valina Val (V)	Leucina Leu (L)	Isoleucina Ile (I)
$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH} \\ \\ \text{C}=\text{CH} \\ \quad \\ \text{NH} \quad \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH} \\ \\ \text{C}=\text{CH} \\ \quad \\ \text{NH} \quad \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{SH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Prolina Pro (P)	Fenilalanina Phe (F)	Triptófano Trp (W)	Cisteína Cys (C)	Metionina Met (M)
A. Aminoácidos neutros, cadenas laterales no polares				
$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array}$
Serina Ser (S)	Treonina Thr (T)	Tirosina Tyr (Y)	Asparagina Asn (N)	Glutamina Gln (Q)
B. Aminoácidos hidrófilos, cadenas laterales polares				
$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C}=\text{NH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array}$	1. Básicos (con carga positiva)		2. Ácidos (con carga negativa)	
Arginina Arg (R)	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_4\text{H}_3\text{N} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$
	Lisina Lys (K)	Histidina His (H)	Ácido aspártico Asp (D)	Ácido glutámico Glu (E)
C. Aminoácidos cargados				

Proteínas

Las proteínas prácticamente están involucradas en todos los procesos de los organismos vivos. Su importancia universal es evidente ya que, como enzimas, conducen las reacciones químicas de las células vivas. Sin catálisis enzimática las macromoléculas involucradas no reaccionarían en forma espontánea. Todas las enzimas son el producto de uno o más genes. Las proteínas también son útiles para transportar moléculas pequeñas, iones o metales. Las proteínas tienen funciones importantes en la división celular durante el crecimiento, y en la diferenciación celular y tisular. Controlan la coordinación de los movimientos mediante la regulación de las células musculares, así como la producción y transmisión de los impulsos dentro de las células nerviosas y entre ellas. También controlan la homeostasis sanguínea (coagulación sanguínea) y la defensa inmune, y llevan a cabo funciones mecánicas en la piel, el hueso, los vasos sanguíneos y en otras áreas.

A. Unión de los aminoácidos (enlaces peptídicos)

Las unidades básicas de las proteínas, los aminoácidos, pueden unirse entre sí muy fácilmente debido a su ionización dipolar (*zwitterion* o ion híbrido). El grupo carboxilo de un aminoácido se une al grupo amino del siguiente (un enlace peptídico, a veces referido como un enlace amídico). Cuando muchos aminoácidos se unen entre sí mediante enlaces peptídicos, forman una cadena polipeptídica. Cada cadena polipeptídica tiene una dirección definida, determinada por el grupo amino (-NH₂) en un extremo y el carboxilo (-COOH) en el otro. Por convención el grupo amino representa el comienzo y el carboxilo el final de la cadena polipeptídica.

B. Estructura primaria de una proteína

La determinación de la secuencia completa de aminoácidos de la insulina por Frederick Sanger, en 1955, fue un hito en la historia. Demostró por primera vez que una proteína, en términos genéticos un producto génico, tiene una secuencia de aminoácidos definida con precisión. La secuencia de aminoácidos da información importante acerca de la función y el origen evolutivo de una proteína. La estructura primaria de una proteína es su secuencia de aminoácidos en un plano unidimen-

sional. La insulina, como muchas otras proteínas, es sintetizada como molécula precursora: la preproinsulina y proinsulina. La preproinsulina consiste en 110 aminoácidos entre los que se incluyen 24 aminoácidos de una secuencia líder en el extremo amino terminal. La secuencia líder dirige la molécula al sitio celular correcto y luego es removida para dar lugar a la proinsulina. Ésta es convertida en insulina tras la remoción del péptido conector (péptido C) constituido por los aminoácidos 31-65. Los aminoácidos 1-30 forman la cadena B; los restantes aminoácidos (66-86) forman la cadena A. Las cadenas A y B están conectadas por dos puentes disulfuro, que unen las cisteínas de la posición 7 y posición 20 de la cadena A, a las de las posiciones 7 y 19, respectivamente, de la cadena B. La cadena A contiene un puente disulfuro entre las posiciones 6 y 11. Las posiciones de las cisteínas reflejan el ordenamiento espacial de los aminoácidos, denominada estructura secundaria.

C. Unidades estructurales secundarias, la α-hélice y la lámina β

Dos unidades básicas de las proteínas son la formación de la hélice α (α-hélice) y una lámina plana (lámina β). El panel C muestra un esquema de una unidad de una α-hélice entre dos láminas β, llamada unidad βαβ (figura del Stryer redibujada, 1995).

D. Estructura terciaria de la insulina

Todas las proteínas funcionales adoptan una estructura tridimensional bien definida. Esta estructura es determinada por la secuencia de aminoácidos y sus propiedades fisicoquímicas, según el ordenamiento espacial de residuos de aminoácidos que en la secuencia lineal están muy separados. La estructura cuaternaria es el plegamiento de la proteína, como resultado de un ordenamiento espacial tridimensional específico de las subunidades y de la naturaleza de sus contactos. La estructura cuaternaria correcta asegura un funcionamiento apropiado. (Figura de Koolman & Röhm, 1996.)

BIBLIOGRAFÍA

Koolman, J., Röhm, K.-H.: *Color Atlas of Biochemistry*. Thieme, Stuttgart - New York, 1996.
 Stryer, L.: *Biochemistry*, 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 1995.

A. Unión de los aminoácidos (enlace peptídico)

Aminoácido 1 + Aminoácido 2 → Forman un péptido (+ H₂O)

B. Estructura primaria de una proteína

NH₃⁺ — 1 — 24 — 25 — 110 — COO⁻
 Met Ala Phe Asn
 Secuencia líder Remoción de la secuencia líder

Preproinsulina

1 — 30 — 31 — 65 — 66 — 86
 Phe Leu Glu Arg Gly Asn

Proinsulina

Remoción del péptido conector

1 — 30 y 1 — 21
 Phe Leu Gly Asn

Insulina Cadena B Cadena A
 Cadenas unidas por puentes disulfuro

NH₃⁺ - GIVEQC CASVCSLYQLENYCN - COO⁻

NH₃⁺ - FVNQLCGSH LVEA IYLVCGE RGFYPTK - COO⁻

Secuencia de la insulina

C. Unidades estructurales secundarias, la α-hélice y la lámina β

Lámina β
 Lámina β
 α-hélice

D. Estructura terciaria de la insulina

Cadena A
 NH₃⁺
 NH₃⁺
 Péptido C
 Cadenas unidas por puentes disulfuro
 Cadenas A y B
 Cadenas unidas por puentes disulfuro
 Cadenas A y B
 Cadenas unidas por puentes disulfuro

El DNA como transportador de la información genética

Aunque el DNA fue descubierto en 1869 por Friedrich Miescher, como una sustancia nueva, ácida, con contenido de fósforo y formada por moléculas muy grandes, que él denominó "nucleína", su papel biológico no fue reconocido en esa época. En 1889 Richard Altmann introdujo el término "ácido nucleico". Hacia 1900 se conocieron las bases púricas y pirimídicas. Veinte años más tarde se distinguieron los dos hijos de los ácidos nucleicos, el RNA y el DNA. Una observación incidental pero precisa (1928) e investigaciones relevantes (1944) indicaron que el DNA podría ser el transportador de la información genética.

A. La observación de Griffith

En 1928 el microbiólogo Fred Griffith realizó una observación notable. Mientras investigaba varias cepas de *Pneumococcus* determinó que los ratones inyectados con la cepa S (suave o *smooth* en inglés) morían (1). Por otro lado, los animales inyectados con la cepa R (rugosa o *rough* en inglés) sobrevivían (2). Cuando él inactivaba por calor la cepa letal S, no había secuelas y el animal sobrevivía (3). Sorpresivamente, una mezcla de la cepa no letal R y la cepa S, inactivada por calor, tuvo un efecto letal como el de la cepa S (4). Además halló neumococos normales de la cepa S en la sangre de estos animales. Apparently, las células de la cepa R se habían convertido en células de la cepa S (transformadas). Por un tiempo este resultado sorprendente no pudo explicarse y fue tomado con escepticismo. No parecía ser relevante para la genética.

B. El principio de transformación es el DNA

Los hallazgos de Griffith forjaron las bases para las investigaciones de Avery, MacLeod y McCarty (1944). Avery y col., en el Instituto Rockefeller de Nueva York, dilucidaron la base química del principio de transformación. A partir de cultivos de la cepa S (1) produjeron un extracto de lisado de células (extracto libre de células) (2). Luego que sus proteínas, lípidos y polisacáridos fueron removidos por completo, el extracto aún retuvo su habilidad para transformar neumococos de la cepa R en neumococos de la cepa S (principio de transformación) (3).

En estudios sucesivos Avery y col., determinaron que este principio era atribuible al DNA solo. Entonces éste debería contener la información

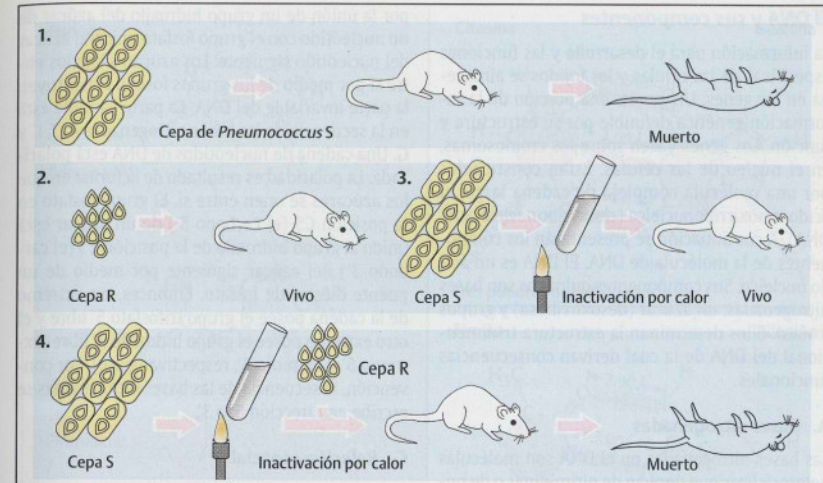
genética correspondiente. Esto explicaba las observaciones de Griffith. La inactivación por calor había dejado intacto el DNA de los cromosomas bacterianos. La sección del cromosoma con el gen responsable de la formación de la cápsula (gen S) podía ser liberado por las células S destruidas y, en cultivos sucesivos, serían captados por algunas células R. Luego que el gen S fuera incorporado en su DNA, la célula R se transformaría en una célula S (4). La página 90 muestra cómo la bacteria puede incorporar DNA extraño de manera que algunos de sus atributos genéticos sean alterados en correspondencia.

C. La información genética es transferida únicamente por el DNA

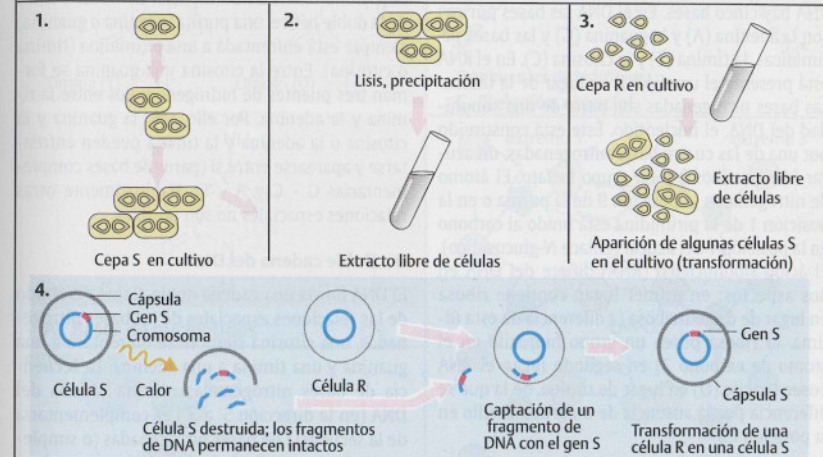
La evidencia final de que el DNA, y no otra molécula, transmite la información genética fue provista por Hershey y Chase en 1952. Ellos marcaron la proteína capsular de unos bacteriófagos (véase pág. 88) con azufre radiactivo (^{35}S) y el DNA con fósforo radiactivo (^{32}P). Cuando las bacterias fueron infectadas con el bacteriófago marcado, sólo el ^{32}P (DNA) entró en las células y no el ^{35}S (proteína capsular). La formación siguiente de partículas completas de fagos en la célula probó que el DNA era el transportador exclusivo de la información genética necesaria para formar nuevas partículas de fago, incluida su proteína capsular. Luego fue necesario aclarar la estructura y función del DNA. Los genes de todas las células y algunos virus están constituidos por DNA, una larga molécula filiforme y encadenada.

BIBLIOGRAFÍA

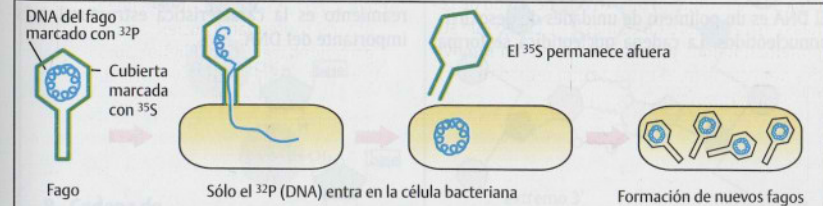
- Avery, O.T., MacLeod, C.M., McCarty, M.: Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. *J. Exp. Med.* 79:137-158, 1944.
- Griffith, F., The significance of pneumococcal types. *J. Hyg.* 27:113-159, 1928.
- Hershey, A.D., Chase, M.: Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.* 36:39-56, 1952.
- Judson, M.F.: *The Eighth Day of Creation. Makers of the Revolution in Biology.* Expanded Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1996.
- McCarty, M.: *The Transforming Principle. Discovering that Genes are made of DNA.* W.W. Norton & Co., New York-London, 1985.



A. La observación de Griffith



B. El principio de transformación es el DNA



C. La información genética es transferida únicamente por el DNA

La estructura del DNA

En 1953 James Watson y Francis Crick descubrieron que el DNA debería existir como una doble hélice. Esta estructura explica dos aspectos funcionales importantes: la replicación y la transcripción de la información genética. La dilatación de la estructura del DNA se considera el comienzo del desarrollo de la genética moderna. A partir de estos conocimientos la estructura y el funcionamiento génicos se pueden comprender en el nivel molecular.

A. El DNA como una doble hélice

La doble hélice es el rasgo estructural característico del DNA. Las dos cadenas de polinucleótidos están enrolladas, una alrededor de la otra, a lo largo de un eje común. Los pares de bases nitrogenadas (pb), ya sean A-T o G-C, se encuentran dentro de ella. El diámetro de la hélice es de 20 Å (2×10^{-7} mm). Las bases vecinas están separadas por 3,4 Å. La estructura helicoidal se repite de a intervalos de 34 Å o cada 10 pares de bases. Debido a la relación espacial fija de las bases nitrogenadas dentro de la doble hélice y enfrentadas entre sí, las dos cadenas de la doble hélice son exactamente complementarias. La forma ilustrada aquí es la tan nombrada forma B (DNA B). En ciertas condiciones el DNA también puede adoptar otras formas (DNA Z, DNA A, véase pág. 41).

B. Replicación

Debido a que las cadenas nucleotídicas enfrentadas entre sí por dentro de la doble hélice son estrictamente complementarias, cada una puede servir como un patrón (molde) para la formación (replicación) de una nueva cadena cuando la hélice se abre. La replicación del DNA es "semiconservativa", o sea que se formará una cadena complementaria nueva mientras que la otra se conservará.

C. Desnaturalización y renaturalización

Los puentes de hidrógeno (enlaces no covalentes) entre los pares de bases nitrogenadas son débiles. Sin embargo, el DNA es estable a las temperaturas fisiológicas debido a que es una molécula muy larga. Las dos cadenas complementarias se pueden separar (desnaturalización) por acción de reactivos relativamente suaves (p. ej., álcalis, formamida o urea) o por un calentamiento cuidadoso. Las moléculas de cadenas simples resultantes son relativamente estables. Cuando se las enfría, las cadenas simples complementarias pueden reunirse para formar moléculas de cade-

na doble (renaturalización). Las cadenas simples no complementarias no se unen. Éstas son las bases de un método importante para identificar ácidos nucleicos: con una cadena simple de un origen definido es posible determinar con qué otra cadena simple se unirá (hibridará). La hibridación de segmentos complementarios de DNA es un principio importante en el análisis de los genes.

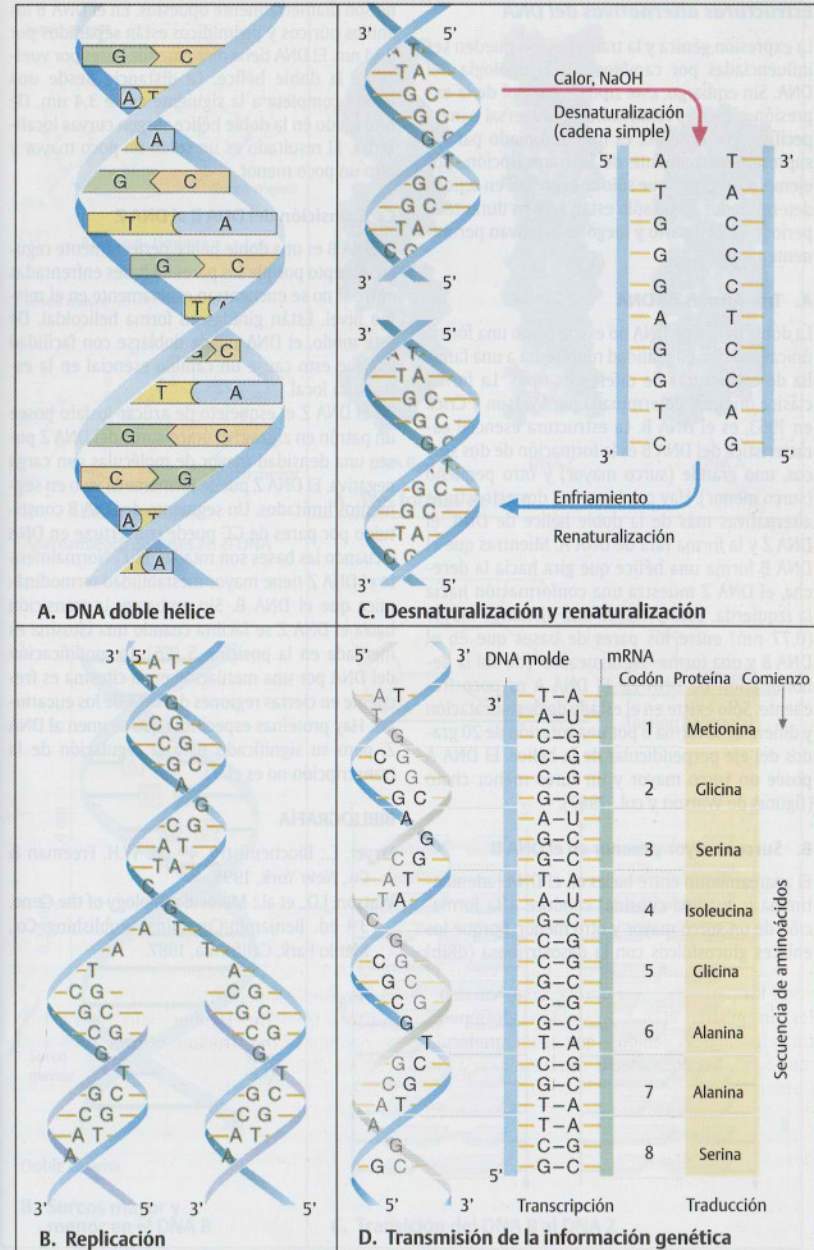
D. Transmisión de la información genética

La información genética se encuentra en la secuencia de los pares de bases nitrogenadas (A-T o G-C). Una secuencia de tres pares de bases representa una palabra codificadora (codón) para un aminoácido. Una secuencia de codones determina una secuencia correspondiente de aminoácidos. Éstos forman un polipéptido (producto génico). La secuencia de bases nitrogenadas primero es transferida (transcripción) desde una cadena de DNA hacia una molécula que transporta la información (mRNA, RNA mensajero). Luego la secuencia de las bases nitrogenadas del mRNA sirve como molde para una secuencia de aminoácidos que se corresponde con el orden de los codones (traducción).

Un gen puede definirse como una sección del DNA responsable de la formación de un polipéptido (un gen, un polipéptido). Uno o más polipéptidos forman una proteína. Por lo tanto, en la formación de una proteína pueden participar varios genes.

BIBLIOGRAFÍA

- Crick, F.: *What Mad Pursuit. A Personal View of Scientific Discovery*. Basic Books, Inc., New York, 1988.
- Judson, H.F.: *The Eighth Day Creation. Makers of Revolution in Biology*. Expanded Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1996.
- Stent, G.S., ed.: *The Double Helix*. Weidenfeld & Nicolson, London, 1981.
- Watson, J.D.: *The Double Helix. A Personal Account of the Structure of DNA*, Atheneum, New York, 1968.
- Watson, J.D.; Crick, F.H.C.: Molecular structure of nucleic acid. *Nature* **171**:737-738, 1953.
- Watson, J.D.; Crick, F.H.C.: Genetic implications of the structure of DNA. *Nature* **171**:964-967, 1953.
- Wilkins, M.F.H., Stokes, A.R., Wilson, H.R.: Molecular structure of DNA. *Nature* **171**:738-740, 1953



Estructuras alternativas del DNA

La expresión génica y la transcripción pueden ser influenciadas por cambios en la topología del DNA. Sin embargo, este tipo de control de la expresión génica es relativamente universal e inespecífico. Por lo tanto, es más apropiado para la supresión permanente de la transcripción, por ejemplo, en genes que sólo se expresan en tejidos determinados o que sólo están activos durante el período embrionario y luego se inactivan permanentemente.

A. Tres formas de DNA

La doble hélice de DNA no existe como una forma única sino que en realidad representa a una familia de estructuras de diferentes tipos. La forma clásica original, determinada por Watson y Crick en 1953, es el DNA B. La estructura esencial característica del DNA B es la formación de dos surcos, uno grande (surco mayor) y otro pequeño (surco menor). Hay por lo menos dos estructuras alternativas más de la doble hélice de DNA, el DNA Z y la forma rara de DNA A. Mientras que el DNA B forma una hélice que gira hacia la derecha, el DNA Z muestra una conformación hacia la izquierda. Esto produce una distancia mayor (0,77 nm) entre los pares de bases que en el DNA B y una forma "zigzagueante" (de ahí la denominación de DNA Z). El DNA A es poco frecuente. Sólo existe en el estado de deshidratación y difiere de la forma B por una rotación de 20 grados del eje perpendicular de la hélice. El DNA A posee un surco mayor y un surco menor chato (figuras de Watson y col., 1987).

B. Surcos mayor y menor en el DNA B

El apareamiento entre bases en el DNA (adenina-timina y guanina-citosina) conduce a la formación de un surco mayor y otro menor, porque los enlaces glucosídicos con la desoxirribosa (dRib)

no son diametralmente opuestos. En el DNA B los anillos púricos y pirimídicos están separados por 0,34 nm. El DNA tiene diez pares de bases por vuelta de la doble hélice. La distancia desde una vuelta completa a la siguiente es de 3,4 nm. De este modo en la doble hélice surgen curvas localizadas. El resultado es un surco un poco mayor y otro un poco menor.

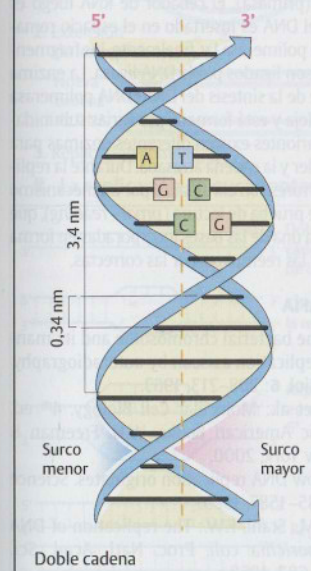
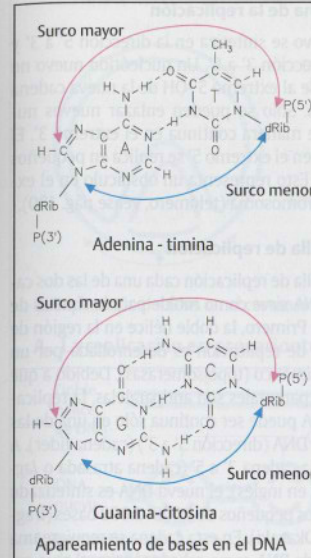
C. Transición del DNA B al DNA Z

El DNA B es una doble hélice perfectamente regular, excepto porque los pares de bases enfrentadas entre sí no se encuentran exactamente en el mismo nivel. Están giradas en forma helicoidal. De este modo, el DNA puede doblarse con facilidad sin que esto cause un cambio esencial en la estructura local.

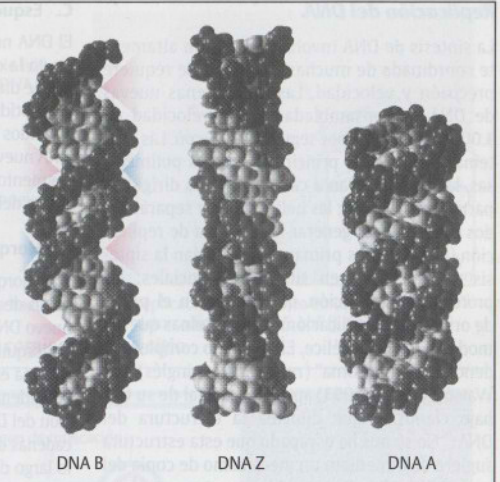
En el DNA Z el esqueleto de azúcar-fosfato posee un patrón en zigzag; el único surco del DNA Z posee una densidad mayor de moléculas con carga negativa. El DNA Z puede formarse in vivo en segmentos limitados. Un segmento de DNA B constituido por pares de GC puede convertirse en DNA Z cuando las bases son rotadas 180°. Normalmente el DNA Z tiene mayor inestabilidad termodinámica que el DNA B. Sin embargo, la transición hacia el DNA Z se facilita cuando una citosina es metilada en la posición 5 (C5). La modificación del DNA por una metilación en la citosina es frecuente en ciertas regiones del DNA de los eucariotas. Hay proteínas específicas que se unen al DNA Z, pero su significado para la regulación de la transcripción no es clara.

BIBLIOGRAFÍA

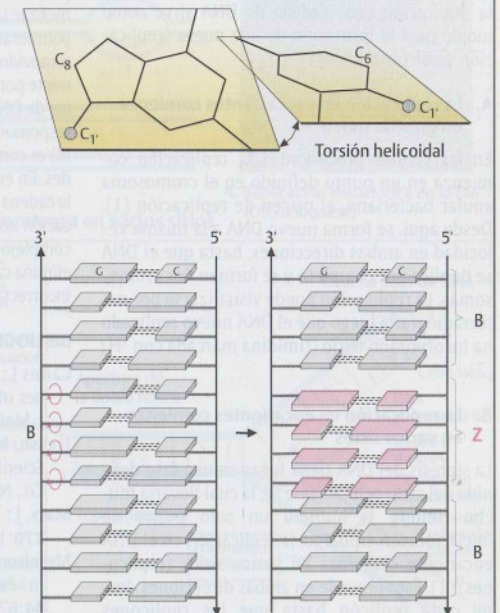
Stryer, L.: Biochemistry. 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 1995.
 Watson, J.D., et al.: Molecular Biology of the Gene. 3rd ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



B. Surcos mayor y menor en el DNA B



A. Tres formas de DNA



C. Transición del DNA B al DNA Z

Replicación del DNA

La síntesis de DNA involucra la acción altamente coordinada de muchas proteínas. Se requiere precisión y velocidad. Las dos cadenas nuevas de DNA son ensambladas a una velocidad de 1.000 nucleótidos por segundo en *E. coli*. Las proteínas enzimáticas principales son las polimerasas, las cuales llevan a cabo la síntesis dirigida a partir de un molde; las helicasas, que separan las dos cadenas para generar la horquilla de replicación (véase D); las primasas, que inician la síntesis de la cadena en sitios preferenciales; las proteínas de iniciación, que reconocen el punto de origen de la replicación, y las proteínas que remodelan la doble hélice. El complejo completo se denomina "replisoma" (*replisome*, en inglés). Watson y Crick (1953) apuntan, al final de su trabajo científico que dilucida la estructura del DNA: "No se nos ha escapado que esta estructura sugiere de inmediato un mecanismo de copia del material genético", un problema que en esa época aún no se había resuelto. La replicación del DNA aunque es bioquímicamente compleja, es simple desde el punto de vista genético. Durante la replicación cada cadena de DNA sirve como molde para la formación de una nueva (replicación semiconservadora).

A. La replicación en procariontes comienza en un sitio único

En las células procariontes la replicación comienza en un punto definido en el cromosoma anular bacteriano, el origen de replicación (1). Desde aquí, se forma nuevo DNA a la misma velocidad en ambas direcciones, hasta que el DNA se duplica por completo y se forman dos cromosomas. La replicación puede visualizarse por autorradiografía luego que el DNA nuevo replicado ha incorporado tritio (timidina marcada con ^3H) (2).

B. La replicación en eucariontes comienza en varios sitios

La síntesis del DNA tiene lugar en una fase definida del ciclo celular (fase S), la cual llevaría mucho tiempo si hubiera un solo punto de iniciación. Sin embargo, la replicación en el DNA eucarionte comienza en varios sitios (replisomas) (1). Ésta procede en ambas direcciones desde cada replicación hasta que los replisomas vecinos se fusionan (2) y todo el DNA está duplicado (3). La microfotografía electrónica (4) muestra replisomas en tres sitios.

C. Esquema de la replicación

El DNA nuevo se sintetiza en la dirección 5' a 3' y no en la dirección 3' a 5'. Un nucleótido nuevo no puede unirse al extremo 5'-OH de la nueva cadena nucleotídica. Sólo se pueden enlazar nuevos nucleótidos de manera continua en el extremo 3'. El DNA nuevo en el extremo 5' se replica en pequeños segmentos. Esto representa un obstáculo en el extremo del cromosoma (telómero, véase pág. 180).

D. Horquilla de replicación

En la horquilla de replicación cada una de las dos cadenas de DNA sirve como molde para la síntesis de nuevo DNA. Primero, la doble hélice en la región de la horquilla de replicación es desenrollada por un sistema enzimático (topoisomerasas). Debido a que las cadenas parentales son antiparalelas, la replicación del DNA puede ser continua sólo en una de las cadenas del DNA (dirección 5' a 3') (cadena líder). A lo largo de la cadena 3' a 5' (cadena atrasada o *lagging strand*, en inglés), el nuevo DNA es sintetizado en segmentos pequeños de 1.000–2.000 bases (fragmentos de Okazaki). En esta cadena se requiere una pieza corta de RNA como cebador (*primer*) para comenzar la replicación. Éste es formado por la RNA polimerasa (primasa). El cebador de RNA luego es removido; el DNA es insertado en el espacio remanente por la polimerasa I y, finalmente, los fragmentos de DNA son ligados por la DNA ligasa. La enzima responsable de la síntesis del DNA (DNA polimerasa III) es compleja y está formada por varias subunidades. En eucariontes existen diferentes enzimas para la cadena líder y la cadena atrasada. Durante la replicación los errores son eliminados por un mecanismo complejo de prueba de lectura (*proof-reading*), que elimina cada una de las bases incorporadas en forma incorrecta y las reemplaza por las correctas.

BIBLIOGRAFÍA

- Cairns J.: The bacterial chromosome and its manner of replication as seen by autoradiography. *J. Mol. Biol.* 6: 208–213, 1963.
- Lodish, H. et al.: *Molecular Cell Biology*. 4th ed. Scientific American Books, W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
- Marx, J.: How DNA replication originates. *Science* 270:1585–1587, 1995.
- Meselson, M., Stahl, F.W.: The replication of DNA in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 44:671–682, 1958.
- Watson, J.D., et al.: *Molecular Biology of the Gene*. 3rd ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.

1. Replicación del DNA en el cromosoma bacteriano

2. Replicación procarionte en una autorradiografía de *E. coli* (J. Cairns)

A. La replicación en procariontes comienza en un sitio

B. La replicación en eucariontes comienza en varios sitios

C. Esquema de la replicación

D. Horquilla de replicación

El flujo de la información genética: transcripción y traducción

La información contenida en la secuencia nucleotídica de un gen debe convertirse en una función biológica útil. Esto es llevado a cabo por las proteínas, ya sea en forma directa, involucrándose en una vía metabólica, o en forma indirecta, regulando la actividad de un gen. El flujo de la información genética es unidireccional y está constituido por dos pasos principales: *transcripción* y *traducción*. En primer lugar, la información de la secuencia codificante de un gen es transcrita a una molécula intermediaria de RNA, cuya secuencia es sintetizada en forma estrictamente complementaria a la de la cadena codificante del DNA (transcripción). Durante el segundo paso principal la secuencia de la información en la molécula de RNA mensajero (mRNA) es traducida a una secuencia de aminoácidos correspondiente (traducción). El largo y la secuencia de la cadena de aminoácidos especificada por un gen da como resultado un polipéptido con una función biológica (producto génico).

A. Transcripción

En primer lugar la secuencia de nucleótidos de una cadena de DNA es transcrita en una molécula complementaria de RNA (RNA mensajero, mRNA). La hélice de DNA es abierta por un juego complejo de proteínas. La cadena de DNA en dirección 3' a 5' (cadena codificante) sirve como molde para la transcripción del RNA, el cual se sintetiza en dirección 5' a 3'. Ésta es la denominada cadena de "RNA sentido" (*RNA sense strand*). El RNA transcrito en condiciones experimentales a partir de la cadena de DNA opuesta se denomina RNA antisentido (*antisense RNA*).

B. Traducción

Durante la traducción la secuencia de codones constituida por bases nitrogenadas en el mRNA se convierte en una secuencia correspondiente de aminoácidos. La traducción se lleva a cabo en un marco de lectura que es definido al comienzo de la traducción (codón de iniciación). Los aminoácidos son enlazados, en la secuencia determinada por las bases nitrogenadas del mRNA, mediante otra clase de RNA, de transferencia (tRNA). Cada aminoácido posee su propio tRNA, el cual posee una región complementaria a su codón del mRNA (anticodón). Los codones 1, 2, 3 y 4 del mRNA son traducidos al aminoácido metionina (Met), glicina

(Gly), serina (Ser) e isoleucina (Ile), etc. El codón 1 siempre es AUG (codón de iniciación).

C. Estadios de la traducción

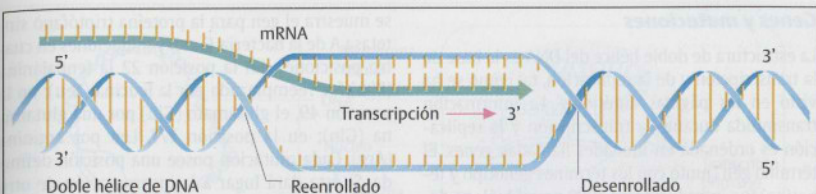
La traducción (síntesis proteica) en eucariontes se lleva a cabo fuera del núcleo celular, en los ribosomas presentes en el citoplasma. Los ribosomas están constituidos por subunidades de numerosas proteínas asociadas y moléculas de RNA (RNA ribosómico, rRNA; pág. 204). La traducción comienza con la iniciación (1): se forma un complejo de iniciación que comprende el mRNA, un ribosoma y un tRNA. Esto requiere un número de factores de iniciación (IF1, IF2, IF3, etc.). Luego continúa la elongación (2), con el acoplamiento de otro aminoácido determinado por el codón siguiente. Un ciclo de elongación de tres fases se desarrolla con el reconocimiento del codón, la unión del péptido al siguiente aminoácido residual y el traslado (translocación) del ribosoma tres nucleótidos más lejos en dirección 3' del mRNA. La traducción concluye con la terminación (3), cuando se alcanza uno de los tres codones de terminación (UAA, UGA o UAG). La cadena polipeptídica formada abandona el ribosoma, tras lo cual éste se disocia en sus subunidades. Los procesos bioquímicos de los estadios que se muestran aquí fueron ampliamente simplificados.

D. Estructura del RNA de transferencia (tRNA)

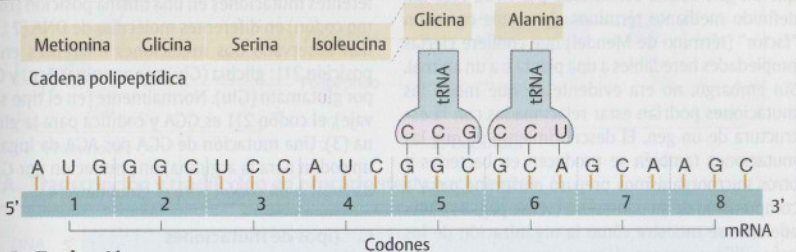
El RNA de transferencia posee una estructura característica, similar a un trébol, ilustrada aquí por el tRNA de fenilalanina de la levadura (1). Éste posee tres regiones de bucles (*loops*) de cadenas simples y cuatro regiones de "tallos" de cadenas dobles. La estructura tridimensional (2) es compleja, pero pueden diferenciarse varias áreas funcionales, como el sitio de reconocimiento (anticodón) para el codón del mRNA y el sitio de unión para el aminoácido respectivo (tallo aceptor) en el extremo 3' (extremo aceptor).

BIBLIOGRAFÍA

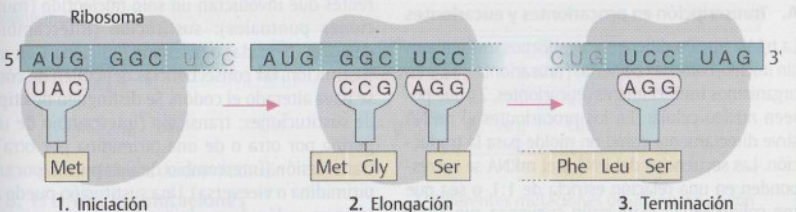
- Brenner, S., Jacob, F., Meselson, M.: An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature* **190**:576-581, 1961.
- Ibba, M., Söll, D.: Quality control mechanisms during translation. *Science* **286**:1893-1897, 1999.
- Watson, J.D., et al.: *Molecular Biology of the Gene*. 3rd ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



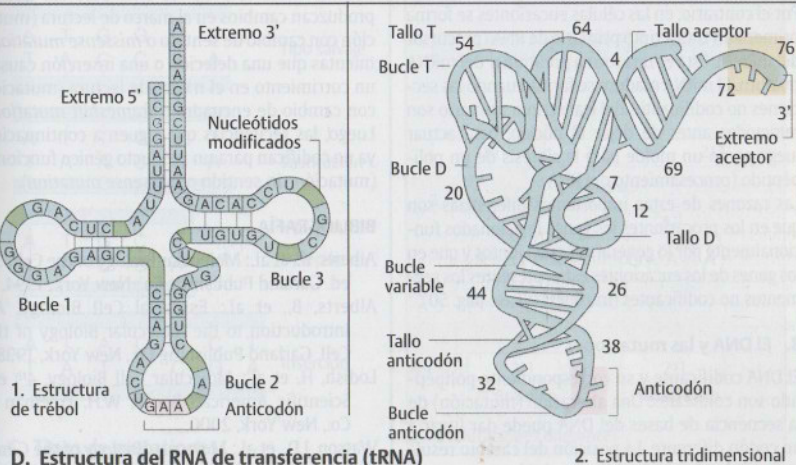
A. Transcripción



B. Traducción



C. Estadios de la traducción



D. Estructura del RNA de transferencia (tRNA)

2. Estructura tridimensional

Genes y mutaciones

La estructura de doble hélice del DNA es la base de la transcripción y de la replicación, tal como se ha visto en las páginas anteriores. La información transmitida durante la transcripción y la replicación es ordenada en unidades llamadas *genes*. El término gen (junto con los términos genotipo y fenotipo) fue introducido en 1909 por el biólogo danés Wilhelm Johannsen. Hasta que se descubrió que un gen estaba constituido por DNA, éste fue definido mediante términos abstractos como un "factor" (término de Mendel) que confiere ciertas propiedades heredables a una planta o a un animal. Sin embargo, no era evidente de qué modo las mutaciones podrían estar relacionadas con la estructura de un gen. El descubrimiento de que las mutaciones también se producen en bacterias y otros microorganismos preparó el camino para la comprensión de su naturaleza (véase pág. 84). Más adelante se muestra cómo la organización de los genes difiere en procariontes y eucariontes.

A. Transcripción en procariontes y eucariontes

La transcripción difiere en organismos unicelulares sin núcleo, como las bacterias (procariontes, 1), y en organismos multicelulares (eucariontes, 2), que poseen núcleo celular. En los procariontes el mRNA sirve directamente como un molde para la traducción. Las secuencias del DNA y el mRNA se corresponden en una relación estricta de 1:1, o sea que son colineales. La traducción comienza aun antes que la transcripción haya finalizado por completo. Por el contrario, en las células eucariontes se forma primero un transcrito primario de RNA (precursor del mRNA). Ésta es una forma preliminar del mRNA maduro. El mRNA maduro se forma cuando las secciones no codificantes del transcrito primario son removidas antes de dejar el núcleo, para actuar luego como un molde para la síntesis de un polipéptido (procesamiento del RNA).

Las razones de estas importantes diferencias son que en los procariontes los genes relacionados funcionalmente por lo general se sitúan juntos y que en los genes de los eucariontes están presentes los segmentos no codificantes (intrones) (véase pág. 50).

B. El DNA y las mutaciones

El DNA codificante y su correspondiente polipéptido son colineales. Una alteración (mutación) de la secuencia de bases del DNA puede dar lugar a un codón diferente. La posición del cambio resultante en la secuencia de aminoácidos corresponde a la posición de la mutación (1). En la figura B

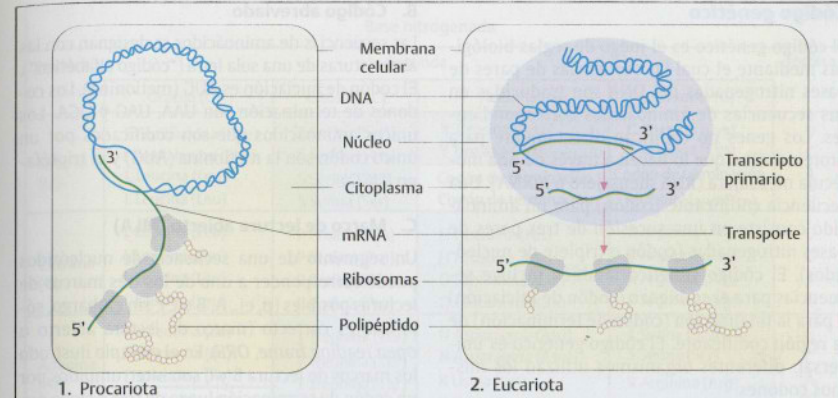
se muestra el gen para la proteína triptófano sintetasa A de la bacteria *E. coli* y mutaciones en cuatro posiciones. En la posición 22 la fenilalanina (Phe) fue reemplazada por la leucina (Leu); en la posición 49, el glutamato (Glu) por una glutamina (Gln); en la posición 177, Leu por arginina (Arg). Cada mutación posee una posición definida. Si ésta dará lugar a la incorporación de otro aminoácido, depende de cómo se ha alterado el codón correspondiente. Es posible que existan diferentes mutaciones en una misma posición (mismo codón) en diferentes moléculas de DNA (2). Se han observado dos mutaciones diferentes en la posición 211: glicina (Gly) por arginina (Arg) y Gly por glutamato (Glu). Normalmente (en el tipo salvaje), el codón 211 es GGA y codifica para la glicina (3). Una mutación de GGA por AGA da lugar a un codón para la arginina; una mutación por GAA da lugar a un codón para el glutamato (4).

C. Tipos de mutaciones

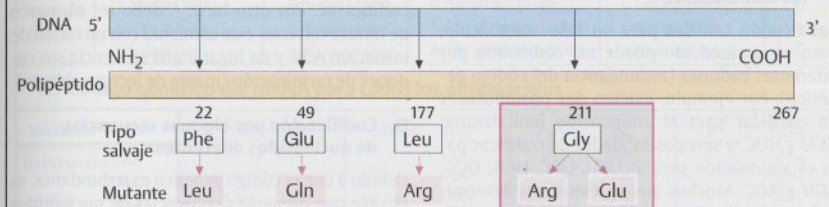
Básicamente hay tres tipos de mutaciones diferentes que involucran un solo nucleótido (mutaciones puntuales): sustitución (intercambio), deleción (pérdida) e inserción (adición). Con una sustitución, las consecuencias dependen de cómo se haya alterado el codón. Se distinguen dos tipos de sustituciones: transición (intercambio de una purina por otra o de una pirimidina por otra) y transversión (intercambio de una purina por una pirimidina o viceversa). Una sustitución puede alterar un codón de modo que se presente un aminoácido incorrecto en ese sitio pero sin que se produzcan cambios en el marco de lectura (mutación con cambio de sentido o *missense mutation*), mientras que una deleción o una inserción causan un corrimiento en el marco de lectura (mutación con cambio de encuadre o *frameshift mutation*). Luego, las secuencias que siguen a continuación ya no codifican para un producto génico funcional (mutación sin sentido o *nonsense mutation*).

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., et al.: *Molecular Biology of the Cell*. 3rd ed. Garland Publishing Co., New York, 1994.
 Alberts, B., et al.: *Essential Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing Co., New York, 1998.
 Lodish, H. et al.: *Molecular Cell Biology*. 4th ed. Scientific American Books, W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
 Watson, J.D., et al.: *Molecular Biology of the Gene*. 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.

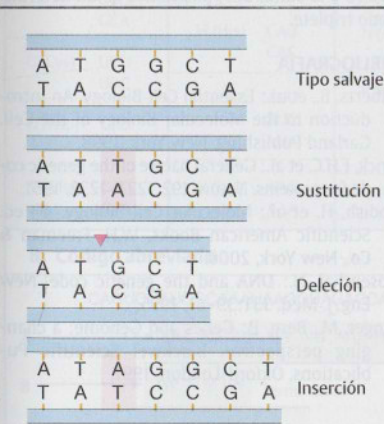


A. Transcripción y traducción en procariontes y eucariontes



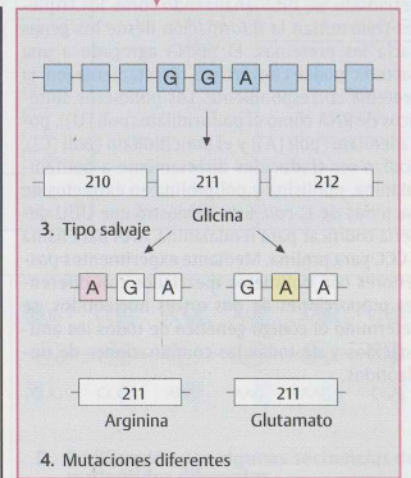
1. Posición definida de una mutación

B. El DNA y las mutaciones



C. Tipos de mutaciones

2. Diferentes mutaciones de un mismo codón



4. Mutaciones diferentes

Código genético

El código genético es el juego de reglas biológicas mediante el cual las secuencias de pares de bases nitrogenadas del DNA son traducidas en sus secuencias de aminoácidos correspondientes. Los genes no codifican directamente para proteínas sino que lo hacen a través de una molécula mensajera (RNA mensajero o mRNA). Una secuencia codificante (codón) para un aminoácido consiste en una sucesión de tres pares de bases nitrogenadas (codón o triplete de nucleótidos). El código genético también incluye secuencias para el comienzo (codón de iniciación) y para la finalización (codón de terminación) de la región codificante. El código genético es universal: diferentes organismos utilizan los mismos codones.

A. Código genético en el mRNA para todos los aminoácidos

Cada codón codifica para un solo aminoácido, pero un aminoácido puede ser codificado por diferentes codones (redundancia del código genético). Por ejemplo, existen dos posibilidades de codificar para el aminoácido fenilalanina: UUU y UUC, y seis posibilidades de codificar para el aminoácido serina: UCU, UCC, UCA, UCG, AGU y AGC. Muchos aminoácidos son determinados por más de un codón. La mayor variabilidad se encuentra en la tercera posición (en el extremo 3' del triplete). El código genético fue descifrado en 1966 analizando cómo los tripletes transmitían la información desde los genes hacia las proteínas. El mRNA agregado a una bacteria podía convertirse directamente en la proteína correspondiente. Los polímeros sintéticos de RNA como el poliuridilato (poli (U)), poliadenilato (poli (A)) y el policitidilato (poli (C)), podían ser traducidos directamente a polifenilalanina, polilisina y poliprolina en extractos de bacterias de *E. coli*. Esto demostró que UUU debería codificar para fenilalanina, AAA para lisina y CCC para prolina. Mediante experimentos posteriores con polímeros mezclados con diferentes proporciones de dos o tres nucleótidos, se determinó el código genético de todos los aminoácidos y de todas las combinaciones de nucleótidos.

B. Código abreviado

Las secuencias de aminoácidos se designan con las abreviaturas de una sola letra ("código alfabético"). El codón de iniciación es AUG (metionina). Los codones de terminación son UAA, UAG y UGA. Los únicos aminoácidos que son codificados por un único codón son la metionina (AUG) y el triptófano (UGG).

C. Marco de lectura abierto (MLA)

Un segmento de una secuencia de nucleótidos puede corresponder a uno de los tres marcos de lecturas posibles (p. ej., A, B o C); sin embargo, sólo uno es correcto (marco de lectura abierto u *open reading frame, ORF*). En el ejemplo ilustrado los marcos de lectura B y C son interrumpidos por un codón de terminación luego de tres o cinco nucleótidos, respectivamente. Por ello, no pueden servir como marcos de lectura para una secuencia codificante. Por otro lado, A debe ser el marco de lectura correcto: éste comienza con un codón de iniciación AUG y da lugar a una secuencia sin codones de terminación (marco de lectura abierto).

D. Codificación por algunas secuencias de nucleótidos diferentes

Debido a que el código genético es redundante, es posible que diferentes secuencias de nucleótidos codifiquen para la misma secuencia de aminoácidos. Sin embargo, las diferencias están limitadas a una (o a lo sumo dos) posiciones de un determinado triplete.

BIBLIOGRAFÍA

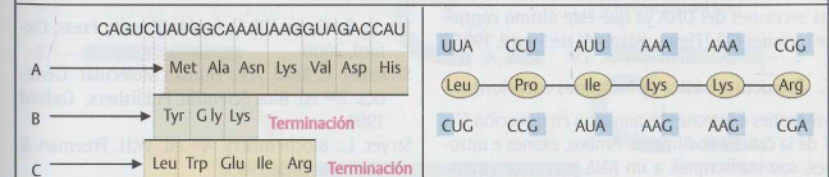
Alberts, B., et al.: *Essential Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell.* Garland Publishing, New York, 1998.
 Crick, F.H.C. et al.: General nature of the genetic code for proteins. *Nature* 192:1227-1232, 1961.
 Lodish, H. et al.: *Molecular Cell Biology.* 4th ed. Scientific American Books, W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
 Rosenthal, N.: DNA and the genetic code. *New Eng. J. Med.* 331:39-41, 1995.
 Singer, M., Berg, P.: *Genes and Genome: a changing perspective.* Blackwell Scientific Publications, Oxford-London, 1991.

Base nitrogenada					
Primera	Segunda				Tercera
	Uracilo (U)	Citosina (C)	Adenina (A)	Guanina (G)	
Uracilo (U)	F Fenilalanina (Phe)	S Serina (Ser)	Y Tirosina (Tyr)	C Cisteína (Cys)	U
	F Fenilalanina (Phe)	S Serina (Ser)	Y Tirosina (Tyr)	C Cisteína (Cys)	C
	L Leucina (Leu)	S Serina (Ser)	Codón de terminación	Codón de terminación	A
	L Leucina (Leu)	S Serina (Ser)	Codón de terminación	W Triptófano (Trp)	G
Citosina (C)	L Leucina (Leu)	P Prolina (Pro)	H Histidina (His)	R Arginina (Arg)	U
	L Leucina (Leu)	P Prolina (Pro)	H Histidina (His)	R Arginina (Arg)	C
	L Leucina (Leu)	P Prolina (Pro)	Q Glutamina (Gln)	R Arginina (Arg)	A
	L Leucina (Leu)	P Prolina (Pro)	Q Glutamina (Gln)	R Arginina (Arg)	G
Adenina (A)	I Isoleucina (Ile)	T Treonina (Thr)	N Asparagina (Asn)	S Serina (Ser)	U
	I Isoleucina (Ile)	T Treonina (Thr)	N Asparagina (Asn)	S Serina (Ser)	C
	I Isoleucina (Ile)	T Treonina (Thr)	K Lisina (Lys)	R Arginina (Arg)	A
	Iniciación (metionina)	T Treonina (Thr)	K Lisina (Lys)	R Arginina (Arg)	G
Guanina (G)	V Valina (Val)	A Alanina (Ala)	D Aspartato (Asp)	G Glicina (Gly)	U
	V Valina (Val)	A Alanina (Ala)	D Aspartato (Asp)	G Glicina (Gly)	C
	V Valina (Val)	A Alanina (Ala)	Ácido glutámico (Glu)	G Glicina (Gly)	A
	V Valina (Val)	A Alanina (Ala)	Ácido glutámico (Glu)	G Glicina (Gly)	G

A. Código genético del mRNA para todos los aminoácidos

Iniciación AUG	F (Phe) UUU	L (Leu) CUU	R (Arg) CGU	V GUU
Terminación UAA UAG UGA	UUC	A CUC	CGC	GUC
	G (Gly) GGU	CUG	CGG	GUG
	GGC	CUA	CAA	GUA
A (Ala) GCU GCC GCG GCA	GGG	UUG	AGG	W (Trp) UGG
	GGA	UUA	AGA	
	H (His) CAU	M (Met) AUG	S (Ser) UCU	
C (Cys) UGU UGC	CAC	N (Asn) AAU	UCC	UAC
	I (Ile) AUU	AAC	UCG	B (Asx) Asn or Asp
	AUC	P (Pro) CCU	UCA	
AUA	CCC	AGU		
D (Asp) GAU GAC	AUA	CCG	AGC	Z (Glx) Gln or Glu
	K (Lys) AAG	CCA	T (Thr) ACU	
	AAA	Q (Gln) CAG	ACC	
E (Glu) GAG GAA	AAA	CAA	ACG	ACA

B. Código abreviado



C. Marco de lectura abierto (MLA, ORF)

D. Codificación por algunas secuencias de nucleótidos diferentes

Estructura de los genes eucariontes

Los genes eucariontes están formados por segmentos de DNA codificantes y no codificantes, llamados exones e intrones respectivamente. En una primera mirada pareciera ser una carga innecesaria acarrear DNA carente de una función evidente dentro de un gen. Sin embargo, se ha reconocido que este hecho tendría grandes ventajas evolutivas. Cuando partes de diferentes genes son reordenadas en nuevos sitios cromosómicos durante la evolución, se pueden construir nuevos genes a partir de los fragmentos previamente existentes.

A. Exones e intrones

En 1977 se descubrió en forma inesperada que el DNA de un gen eucarionte es más largo que su correspondiente mRNA. El motivo es que ciertas secciones del transcripto primario del RNA son eliminadas antes de que se lleve a cabo la traducción. Las microfotografías electrónicas muestran que el DNA y su correspondiente transcripto (RNA) poseen longitudes diferentes (1). Cuando el mRNA y su DNA complementario de cadena simple son hibridados, este último forma bucles debido a que el mRNA se hibrida únicamente con ciertas secciones del DNA de cadena simple. En (2), se muestran siete bucles (A a G) y ocho regiones que hibridan (1 a 7 y la sección líder L). Del total de 7.700 pares de bases de DNA de este gen (3), sólo 1.825 hibridan con el mRNA. Un segmento que hibrida se denomina exón. Una sección de DNA que inicialmente se transcribe y que luego es eliminada del transcripto primario se llama intrón. El tamaño y ordenamiento de los exones e intrones son característicos de cada gen eucarionte (estructura exón/intrón). (Microfotografía electrónica de Watson y col., 1987.)

B. Secuencias de DNA intercaladas (intrones)

En los procariontes el DNA es colineal con el mRNA y no contiene intrones (1). En los eucariontes, el mRNA maduro sólo es complementario de ciertas secciones del DNA ya que este último contiene intrones (2). (Figura adaptada de Stryer, 1995.)

C. Estructura básica de los genes eucariontes

Los exones e intrones se numeran en dirección 5' a 3' de la cadena codificante. Ambos, exones e intrones, son transcriptos a un RNA precursor (transcripto primario). El primero y el último exón por lo general contienen secuencias que no son traducidas. Éstas son las denominadas regiones no tradu-

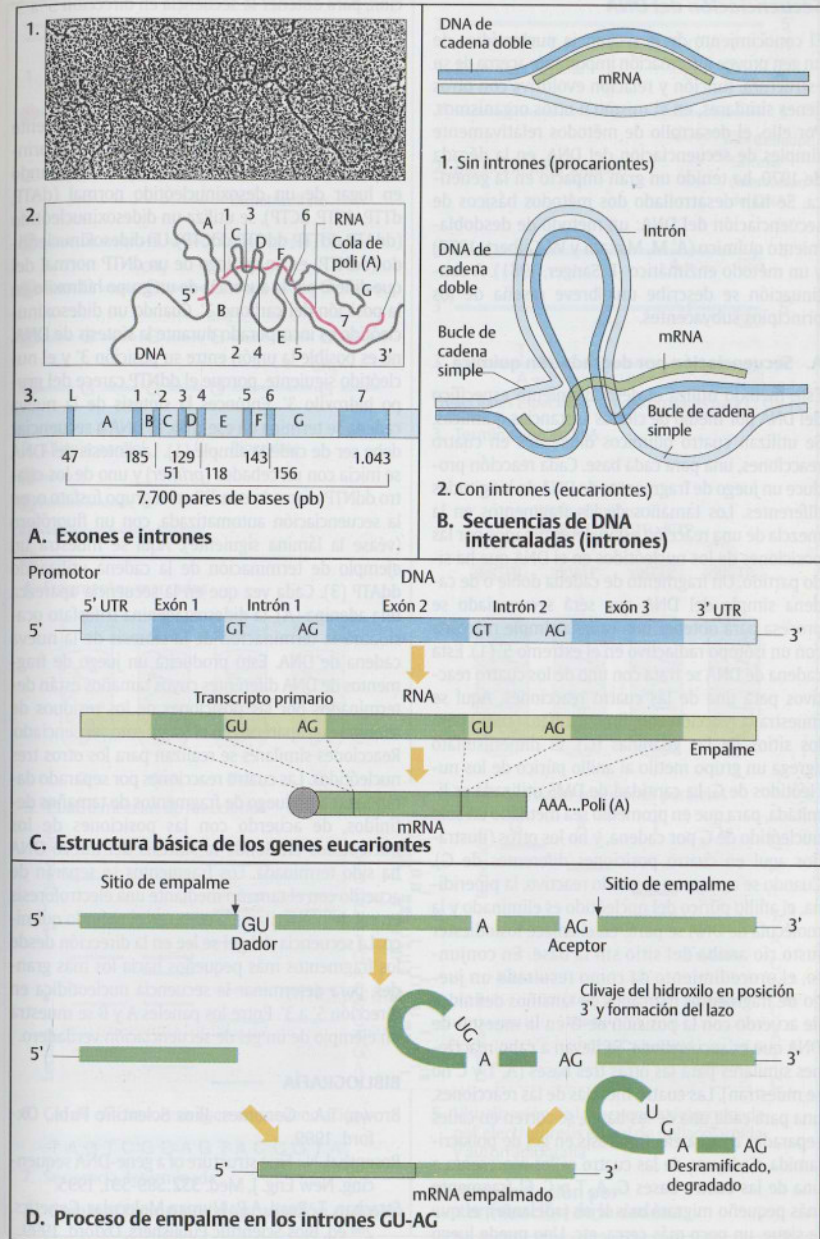
cidas 5' (5' UTR) del exón 1 y el 3' UTR en el extremo 3' del último exón. Los segmentos no codificantes (intrones) se eliminan del transcripto primario y los exones de cada lado son conectados en un proceso llamado empalme (*splicing*). El empalme debe ser muy preciso, para evitar un cambio indeseado del marco de lectura correcto. Los intrones casi siempre comienzan con los nucleótidos GT en la cadena 5' a 3' (GU en el RNA) y terminan con AG. Las secuencias del extremo 5' de un intrón que comienzan con GT se llaman sitios dadores de empalme, y las del extremo 3', que terminan con AG, sitios aceptores de empalme. El mRNA maduro es modificado en su extremo 5' por la adición de una estructura estabilizadora llamada "cap" y por el agregado de muchas adeninas en el extremo 3' (poliadenilación) (véanse págs. 214 y 215).

D. Proceso de empalme en los intrones GU-AG

El empalme del RNA es un proceso complejo mediado por una larga proteína que contiene RNA llamada "spliceosoma". Éste consiste en cinco tipos de moléculas de RNA nuclear pequeño (snRNA) y más de 50 proteínas (partículas de riboproteínas nucleares pequeñas). El mecanismo básico de empalme en forma esquemática involucra el clivaje autocatalítico en el extremo 5' del intrón, que da lugar a la formación de un lazo. Ésta es una estructura intermedia circular, formada por la conexión del extremo 5' (GU) a una base (A) dentro del intrón. Este sitio se llama punto de ramificación. En el paso siguiente, el clivaje en el extremo 3' libera el intrón en forma de lazo. Al mismo tiempo, el exón derecho se liga (empalma) al exón izquierdo. El lazo es desramificado para dar lugar a un intrón lineal, que es degradado con rapidez. El punto de ramificación identifica el extremo 3' para un clivaje preciso en el sitio aceptor del empalme. Éste se encuentra 18-40 nucleótidos aguas arriba (en dirección 5') del sitio 3' del empalme. (Figura adaptada de Strachan y Read, 1999.)

BIBLIOGRAFÍA

- Lewin, B.: Genes VII. Oxford University Press, Oxford, 2000.
 Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics, 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford 1999.
 Stryer, L.: Biochemistry, 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 1995.
 Watson, J.D., et al.: Molecular Biology of the Gene, 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



Secuenciación del DNA

El conocimiento de la secuencia nucleotídica de un gen provee información importante acerca de su estructura, función y relación evolutiva con otros genes similares, en el mismo u otros organismos. Por ello, el desarrollo de métodos relativamente simples de secuenciación del DNA, en la década de 1970, ha tenido un gran impacto en la genética. Se han desarrollado dos métodos básicos de secuenciación del DNA: un método de desdoblamiento químico (A. M. Maxam y W. Gilbert, 1977) y un método enzimático (F. Sanger, 1981). A continuación se describe una breve reseña de los principios subyacentes.

A. Secuenciación por degradación química

Este método utiliza el desdoblamiento específico del DNA por medio de ciertas sustancias químicas. Se utilizan cuatro químicos diferentes en cuatro reacciones, una para cada base. Cada reacción produce un juego de fragmentos de DNA de longitudes diferentes. Los tamaños de los fragmentos en la mezcla de una reacción están determinados por las posiciones de los nucleótidos en el DNA que ha sido partido. Un fragmento de cadena doble o de cadena simple del DNA que será secuenciado se procesa para obtener una cadena simple marcada con un isótopo radiactivo en el extremo 5' (1). Esta cadena de DNA se trata con uno de los cuatro reactivos para una de las cuatro reacciones. Aquí se muestra la reacción con dimetilsulfato (DMS) para los sitios de las guaninas (G). El dimetilsulfato agrega un grupo metilo al anillo púrico de los nucleótidos de G por cadena, y no los otros (ilustrados aquí en cuatro posiciones diferentes de G). Cuando se agrega un segundo reactivo, la piperidina, el anillo púrico del nucleótido es eliminado y la molécula de DNA se parte en el enlace fosfodiéster justo río arriba del sitio sin la base. En conjunto, el procedimiento da como resultado un juego de fragmentos marcados de tamaños definidos de acuerdo con la posición de G en la muestra de DNA que es secuenciada. Se llevan a cabo reacciones similares para las otras tres bases (A, T y C no se muestran). Las cuatro mezclas de las reacciones, una para cada una de las bases, se corren en calles separadas de una electroforesis en gel de poliacrilamida. Cada una de las cuatro calles representa a una de las cuatro bases G, A, T o C. El fragmento más pequeño migrará más lejos (adelante); el que le sigue, un poco más cerca, etc. Uno puede luego leer la secuencia en la dirección opuesta a la migra-

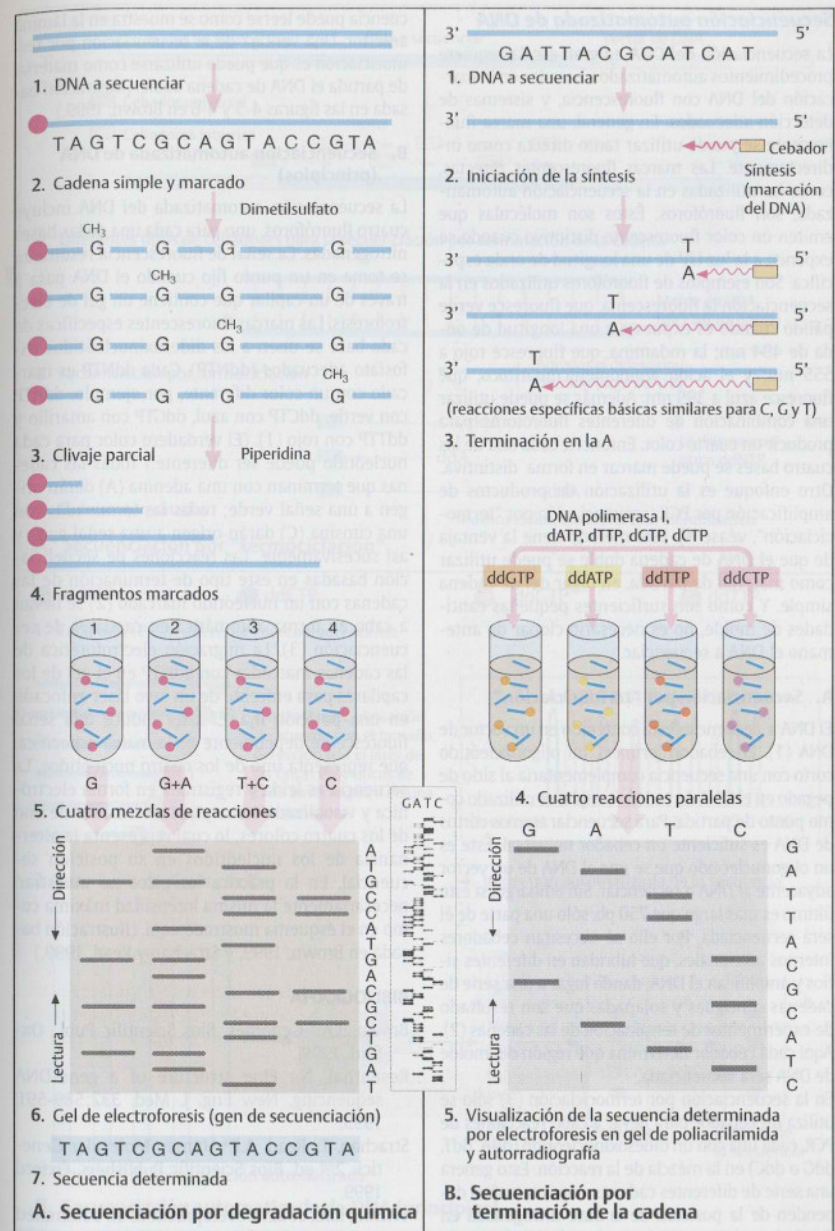
ción, para obtener la secuencia en dirección 5' a 3' (aquí TAGTCGCAGTACCGTA).

B. Secuenciación por terminación de la cadena

Este método, mucho más utilizado en el presente que el desdoblamiento químico, se basa en el principio de que la síntesis del DNA se termina cuando en lugar de un desoxinucleótido normal (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), se utiliza un didesoxinucleótido (ddATP, ddTTP, ddGTP, ddCTP). Un didesoxinucleótido (ddNTP) es un análogo de un dNTP normal del que difiere por la ausencia de un grupo hidroxilo en la posición del carbono 3'. Cuando un didesoxinucleótido es incorporado durante la síntesis de DNA, no es posible la unión entre su posición 3' y el nucleótido siguiente, porque el ddNTP carece del grupo hidroxilo 3'. Entonces la síntesis de la nueva cadena se termina en ese sitio. El DNA a secuenciar debe ser de cadena simple (1). La síntesis del DNA se inicia con un cebador (*primer*) y uno de los cuatro ddNTP marcado con ^{32}P en el grupo fosfato o, en la secuenciación automatizada, con un fluoróforo (véase la lámina siguiente). Aquí se muestra un ejemplo de terminación de la cadena utilizando ddATP (3). Cada vez que en la secuencia aparezca una adenina (A), la didesoxiadenina trifosfato ocasionará la terminación de la síntesis de la nueva cadena de DNA. Esto producirá un juego de fragmentos de DNA diferentes cuyos tamaños están determinados por las posiciones de los residuos de adenina que aparecen en el fragmento secuenciado. Reacciones similares se realizan para los otros tres nucleótidos. Las cuatro reacciones por separado darán lugar a un juego de fragmentos de tamaños definidos, de acuerdo con las posiciones de los nucleótidos en donde la síntesis del nuevo DNA ha sido terminada. Los fragmentos se separan de acuerdo con el tamaño mediante una electroforesis en gel de poliacrilamida como en el método químico. La secuencia del gel se lee en la dirección desde los fragmentos más pequeños hacia los más grandes, para determinar la secuencia nucleotídica en dirección 5' a 3'. Entre los paneles A y B se muestra un ejemplo de un gel de secuenciación verdadero.

BIBLIOGRAFÍA

- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
 Rosenthal, N.: Fine structure of a gene-DNA sequencing. *New Eng. J. Med.* 332:589-591, 1995.
 Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.



Secuenciación automatizada de DNA

La secuenciación del DNA en gran escala requiere procedimientos automatizados, basados en la marcación del DNA con fluorescencia, y sistemas de detección adecuados. En general, una marca fluorescente se puede utilizar tanto directa como indirectamente. Las marcas fluorescentes directas, como las utilizadas en la secuenciación automatizada, son fluoróforos. Éstos son moléculas que emiten un color fluorescente distintivo cuando se exponen a la luz UV de una longitud de onda específica. Son ejemplos de fluoróforos utilizados en la secuenciación la fluoresceína, que fluoresce verde pálido cuando es expuesta a una longitud de onda de 494 nm; la rodamina, que fluoresce rojo a 555 nm; y el ácido aminometilcumarínico, que fluoresce azul a 399 nm. Además se puede utilizar una combinación de diferentes fluoróforos para producir un cuarto color. Entonces, cada una de las cuatro bases se puede marcar en forma distintiva. Otro enfoque es la utilización de productos de amplificación por PCR (secuenciación por "termociclación", véase A). Este método tiene la ventaja de que el DNA de cadena doble se puede utilizar como material de partida, en lugar del de cadena simple. Y como son suficientes pequeñas cantidades de molde, no es necesario clonar de antemano el DNA a secuenciar.

A. Secuenciación por "termociclación"

El DNA a secuenciar está contenido en un vector de DNA (1). El cebador (*primer*), un oligonucleótido corto con una secuencia complementaria al sitio de pegado en el DNA de cadena simple, es utilizado como punto de partida. Para secuenciar tramos cortos de DNA es suficiente un cebador universal. Éste es un oligonucleótido que se une al DNA de un vector adyacente al DNA a secuenciar. Sin embargo, si este último es más largo que 750 pb, sólo una parte de él será secuenciada. Por ello se necesitan cebadores internos adicionales, que hibridan en diferentes sitios y amplifican el DNA, dando lugar a una serie de cadenas contiguas y solapadas que son resultado de experimentos de terminación de las cadenas (2). Aquí cada cebador determina qué región del molde de DNA será secuenciada. En la secuenciación por termociclación (3) sólo se utiliza un cebador para llevar a cabo reacciones de PCR, cada una con un didesoxinucleótido (ddA, ddT, ddG o ddC) en la mezcla de la reacción. Esto genera una serie de diferentes cadenas, cuyos tamaños dependen de la posición de la base nitrogenada en donde la cadena se está terminando (4). Luego de muchos ciclos y mediante una electroforesis, la se-

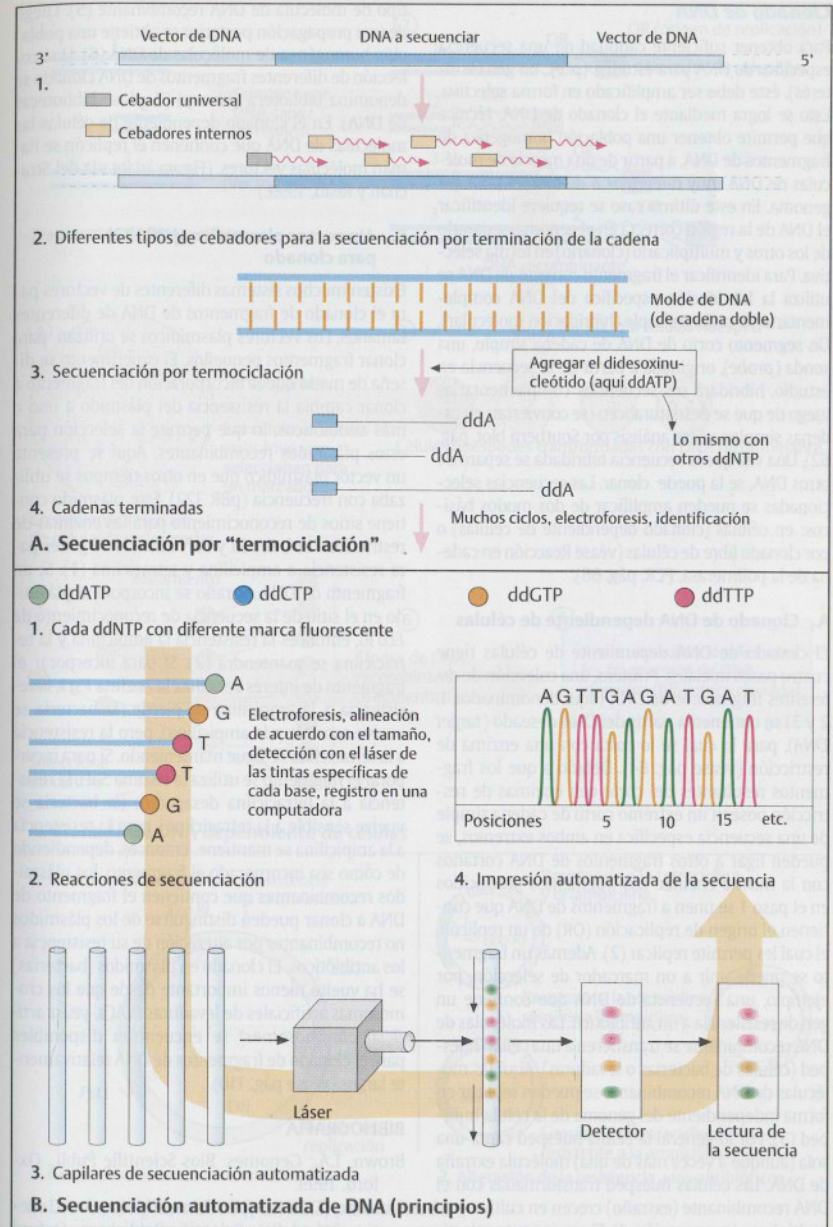
cuencia puede leerse como se muestra en la lámina anterior. Una ventaja de la secuenciación por termociclación es que puede utilizarse como material de partida el DNA de cadena doble. (Ilustración basada en las figuras 4-5 y 4-6 en Brown, 1999.)

B. Secuenciación automatizada de DNA (principios)

La secuenciación automatizada del DNA incluye cuatro fluoróforos, uno para cada una de las bases nitrogenadas. La señal de fluorescencia resultante se toma en un punto fijo cuando el DNA pasa a través de un capilar que contiene un gel de electroforesis. Las marcas fluorescentes específicas de cada base se unen a los didesoxinucleótidos trifosfato adecuados (ddNTP). Cada ddNTP es marcado con un color diferente, por ejemplo, ddATP con verde, ddCTP con azul, ddGTP con amarillo y ddTTP con rojo (1). (El verdadero color para cada nucleótido puede ser diferente.) Todas las cadenas que terminan con una adenina (A) darán origen a una señal verde; todas las terminadas con una citosina (C) darán origen a una señal azul, y así sucesivamente. Las reacciones de secuenciación basadas en este tipo de terminación de las cadenas con un nucleótido marcado (2) se llevan a cabo en forma automática en capilares de secuenciación (3). La migración electroforética de las cadenas marcadas con ddNTP en el gel de los capilares pasa enfrente de un rayo láser enfocado en una posición fija. El láser induce una señal fluorescente dependiente de la marca específica, que representa uno de los cuatro nucleótidos. La secuencia es leída y registrada en forma electrónica y visualizada como picos alternantes de uno de los cuatro colores, lo cual representa la alternancia de los nucleótidos en su posición secuencial. En la práctica los picos no muestran necesariamente la misma intensidad máxima como en el esquema mostrado aquí. (Ilustración basada en Brown, 1999, y Strachan y Read, 1999.)

BIBLIOGRAFÍA

Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
 Rosenthal, N.: Fine structure of a gene-DNA sequencing. New Eng. J. Med. 332:589-591, 1995.
 Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford 1999.
 Wilson, R.K., et al.: Development of an automated procedure for fluorescent DNA sequencing. Genomics 6:626-636, 1990.



Clonado de DNA

Para obtener suficiente cantidad de una secuencia específica de DNA para estudiar (p. ej., un gen de interés), éste debe ser amplificado en forma selectiva. Esto se logra mediante el clonado de DNA, técnica que permite obtener una población homogénea de fragmentos de DNA, a partir de una mezcla de moléculas de DNA muy diferentes o de todo el DNA del genoma. En este último caso se requiere identificar el DNA de la región correcta en el genoma, separarlo de los otros y multiplicarlo (clonarlo) en forma selectiva. Para identificar el fragmento correcto de DNA se utiliza la hibridación específica del DNA complementario de cadena simple (hibridación molecular). Un segmento corto de DNA de cadena simple, una sonda (*probe*), originada a partir de la secuencia en estudio, hibridará sus secuencias complementarias luego de que se desnaturalicen (se conviertan en cadenas simples, véase análisis por Southern blot, pág. 62). Una vez que la secuencia hibridada se separó de otros DNA, se la puede clonar. Las secuencias seleccionadas se pueden amplificar de dos modos básicos: en células (clonado dependiente de células) o por clonado libre de células (véase Reacción en cadena de la polimerasa, PCR, pág. 66).

A. Clonado de DNA dependiente de células

El clonado de DNA dependiente de células tiene cuatro pasos iniciales. Primero, una colección de diferentes fragmentos de DNA (aquí denominados 1, 2 y 3) se obtienen a partir del DNA deseado (*target DNA*), para lo cual se lo corta con una enzima de restricción (véase pág. 64). Debido a que los fragmentos resultantes del corte con enzimas de restricción poseen un extremo corto de cadena simple de una secuencia específica en ambos extremos, se pueden ligar a otros fragmentos de DNA cortados con la misma enzima. Los fragmentos producidos en el paso 1 se unen a fragmentos de DNA que contienen el origen de replicación (OR) de un replicón, el cual les permite replicar (2). Además un fragmento se puede unir a un marcador de selección, por ejemplo, una secuencia de DNA que contiene un gen de resistencia a un antibiótico. Las moléculas de DNA recombinante se transfieren a una célula huésped (células de bacterias o levaduras). Aquí las moléculas de DNA recombinante se pueden replicar en forma independiente del genoma de la célula huésped (3). Por lo general la célula huésped capta una sola (aunque a veces más de una) molécula extraña de DNA. Las células huésped transformadas con el DNA recombinante (extraño) crecen en cultivo y se multiplican (propagación, 4). El crecimiento selectivo de uno de los clones celulares permite aislar un

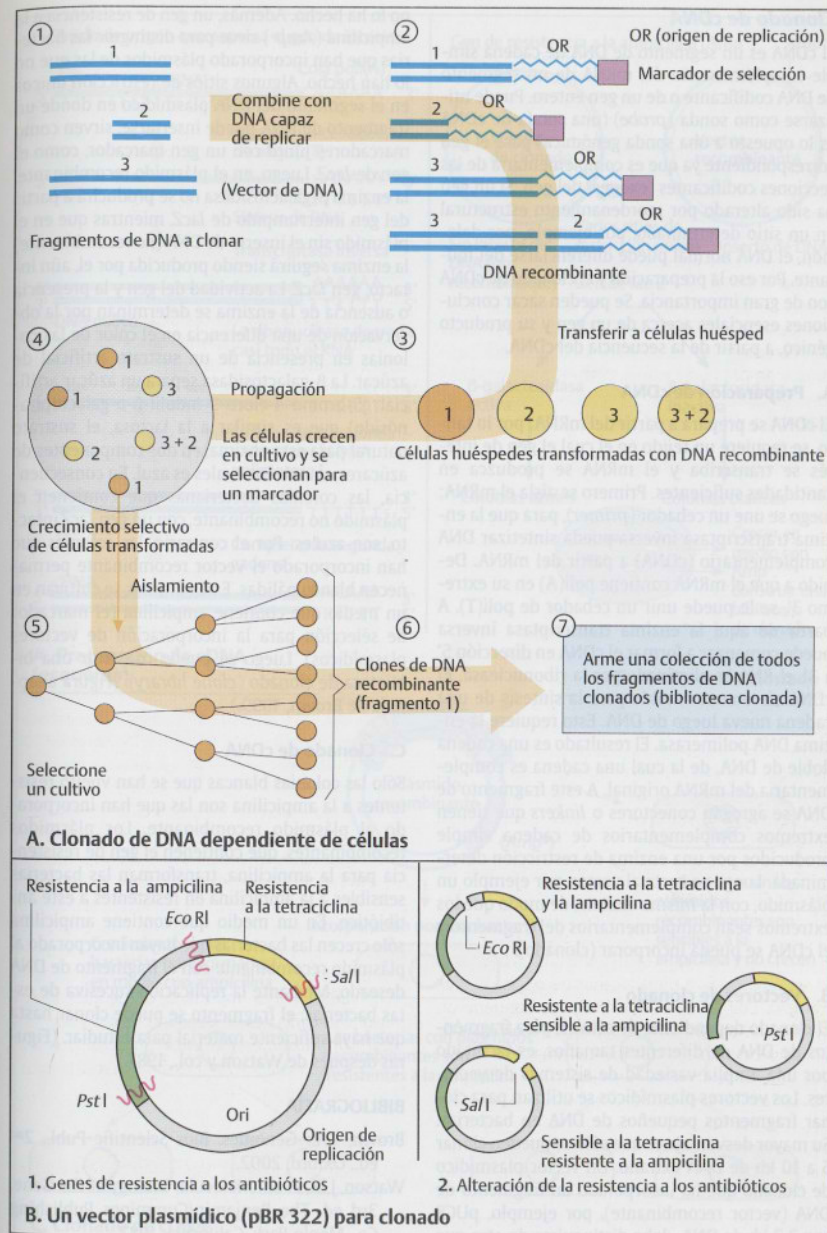
tipo de molécula de DNA recombinante (5). Luego de una propagación posterior se obtiene una población homogénea de moléculas de DNA (6). Una colección de diferentes fragmentos de DNA clonado se denomina biblioteca (*library*) (7, véase bibliotecas de DNA). En el clonado dependiente de células las moléculas de DNA que contienen el replicón se llaman moléculas vectores. (Figura adaptada del Strachan y Read, 1999.)

B. Un vector plasmídico (pBR322) para clonado

Existen muchos sistemas diferentes de vectores para el clonado de fragmentos de DNA de diferentes tamaños. Los vectores plasmídicos se utilizan para clonar fragmentos pequeños. El experimento se diseña de modo que la incorporación del fragmento a clonar cambia la resistencia del plásmido a uno o más antibióticos, lo que permite la selección para estos plásmidos recombinantes. Aquí se presenta un vector plasmídico que en otros tiempos se utilizaba con frecuencia (pBR 322). Este plásmido contiene sitios de reconocimiento para las enzimas de restricción *Pst* I, *Eco* RI y *Sal* I además de genes para resistencia a ampicilina y tetraciclina (1). Si un fragmento de DNA extraño se incorpora al plásmido en el sitio de la secuencia de reconocimiento de *Eco* RI, entonces la resistencia a la ampicilina y la tetraciclina se mantendrá (2). Si para incorporar el fragmento de interés se utiliza la enzima *Pst* I, la resistencia a la ampicilina se pierde (la bacteria se vuelve sensible a la ampicilina), pero la resistencia a la tetraciclina se sigue manteniendo. Si para incorporar el fragmento se utiliza la enzima *Sal* I, la resistencia a la tetraciclina desaparece (la bacteria se vuelve sensible a la tetraciclina), pero la resistencia a la ampicilina se mantiene. Entonces, dependiendo de cómo sea incorporado el fragmento, los plásmidos recombinantes que contienen el fragmento de DNA a clonar pueden distinguirse de los plásmidos no recombinantes por alteración de su resistencia a los antibióticos. El clonado en plásmidos (bacterias) se ha vuelto menos importante desde que los cromosomas artificiales de levaduras (YACs, *yeast artificial chromosomes*) se encuentran disponibles para el clonado de fragmentos de DNA relativamente largos (véase pág. 110).

BIBLIOGRAFÍA

- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
 Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics, 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford 1999.



Clonado de cDNA

El cDNA es un segmento de DNA de cadena simple complementario del mRNA de un segmento de DNA codificante o de un gen entero. Puede utilizarse como sonda (*probe*) (una sonda de cDNA es lo opuesto a una sonda genómica) para el gen correspondiente ya que es complementaria de las secciones codificantes (exones) del gen. Si un gen ha sido alterado por reordenamiento estructural en un sitio determinado, por ejemplo, por delección, el DNA normal puede diferenciarse del mutante. Por eso la preparación y el clonado de cDNA son de gran importancia. Se pueden sacar conclusiones esenciales acerca de un gen y su producto génico, a partir de la secuencia del cDNA.

A. Preparación de cDNA

El cDNA se prepara a partir del mRNA; por lo tanto, se requiere un tejido en el cual el gen de interés se transcriba y el mRNA se produzca en cantidades suficientes. Primero se aísla el mRNA; luego se une un cebador (*primer*), para que la enzima transcriptasa inversa pueda sintetizar DNA complementario (cDNA) a partir del mRNA. Debido a que el mRNA contiene poli(A) en su extremo 3', se le puede unir un cebador de poli(T). A partir de aquí la enzima transcriptasa inversa puede comenzar a formar el cDNA en dirección 5' a 3', el RNA es eliminado por la ribonucleasa. El cDNA sirve como molde para la síntesis de una cadena nueva luego de DNA. Esto requiere la enzima DNA polimerasa. El resultado es una cadena doble de DNA, de la cual una cadena es complementaria del mRNA original. A este fragmento de DNA se agregan conectores o *linkers* que tienen extremos complementarios de cadena simple producidos por una enzima de restricción determinada. Luego se corta al vector, por ejemplo un plásmido, con la misma enzima, de modo que los extremos sean complementarios del fragmento y el cDNA se pueda incorporar (clonado).

B. Vectores de clonado

El clonado dependiente de células, para fragmentos de DNA de diferentes tamaños, es facilitado por una amplia variedad de sistemas de vectores. Los vectores plasmídicos se utilizan para clonar fragmentos pequeños de DNA en bacterias. Su mayor desventaja es que sólo se pueden clonar 5 a 10 kb de DNA extraño. Un vector plasmídico de clonado que ha incorporado un fragmento de DNA (vector recombinante), por ejemplo, pUC8 con 2,7 kb de DNA, debe distinguirse de otro que

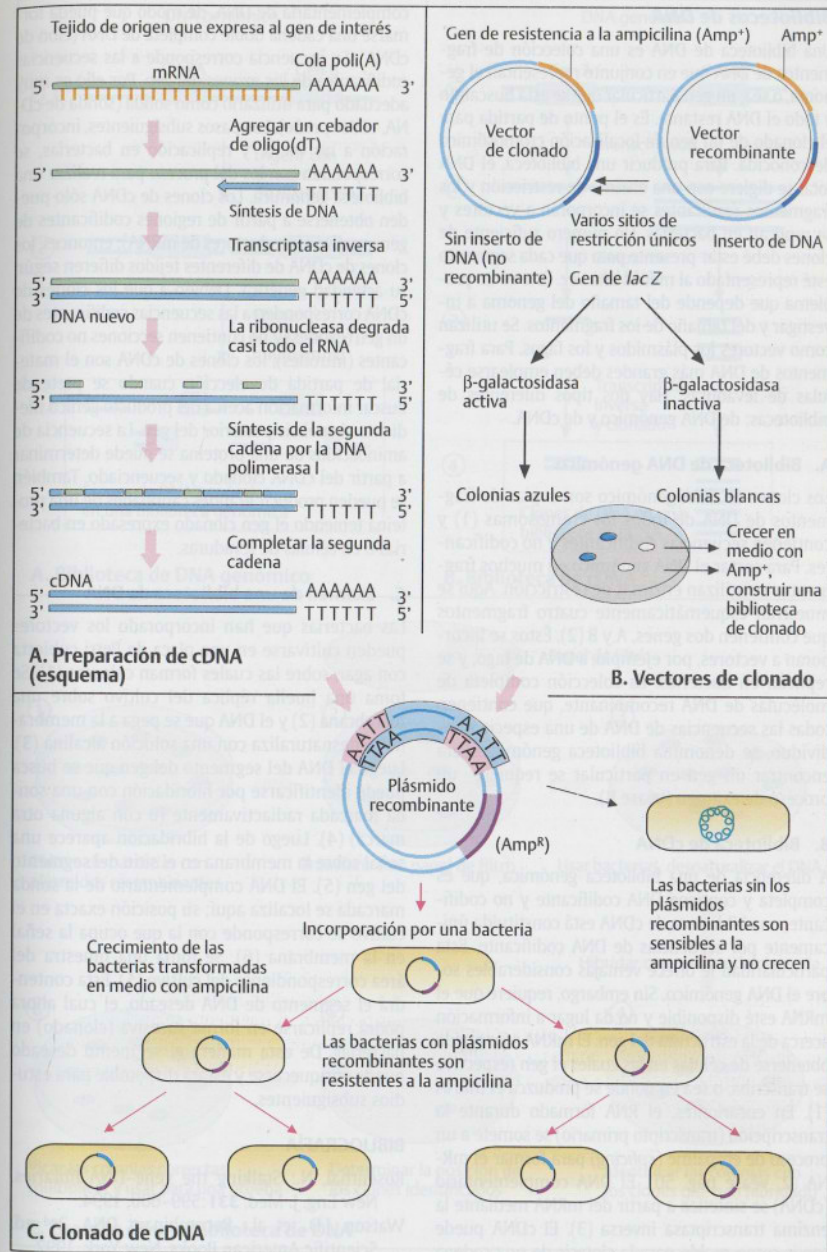
no lo ha hecho. Además, un gen de resistencia a la ampicilina (*Amp^r*) sirve para distinguir las bacterias que han incorporado plásmidos de las que no lo han hecho. Algunos sitios de restricción únicos en el segmento del DNA plasmídico en donde un fragmento de DNA puede insertarse, sirven como marcadores junto con un gen marcador, como el gen de *lacZ*. Luego, en el plásmido recombinante, la enzima β -galactosidasa no se producirá a partir del gen interrumpido de *lacZ*, mientras que en el plásmido sin el inserto de DNA (no recombinante) la enzima seguirá siendo producida por el, aún intacto, gen *lacZ*. La actividad del gen y la presencia o ausencia de la enzima se determinan por la observación de una diferencia en el color de las colonias en presencia de un sustrato artificial de azúcar. La β -galactosidasa separa un azúcar artificial (5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-galactopiranosido) que es similar a la lactosa, el sustrato natural para esta enzima, en dos componentes de azúcares, uno de los cuales es azul. En consecuencia, las colonias bacterianas que contienen el plásmido no recombinante, con un gen *lacZ* intacto, son azules. Por el contrario, las colonias que han incorporado el vector recombinante permanecen blanco pálidas. Estas últimas se cultivan en un medio que contiene ampicilina (el marcador de selección para la incorporación de vectores plasmídicos). Luego se puede construir una biblioteca de clonado (*clone library*). (Figura adaptada de Brown, 1999.)

C. Clonado de cDNA

Sólo las colonias blancas que se han vuelto resistentes a la ampicilina son las que han incorporado al plásmido recombinante. Los plásmidos recombinantes, que contienen el gen de resistencia para la ampicilina, transforman las bacterias sensibles a la ampicilina en resistentes a este antibiótico. En un medio que contiene ampicilina sólo crecen las bacterias que hayan incorporado al plásmido recombinante con el fragmento de DNA deseado. Mediante la replicación sucesiva de estas bacterias, el fragmento se puede clonar hasta que haya suficiente material para estudiar. (Figuras después de Watson y col., 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., 2nd ed., Oxford, 2002.
 Watson, J.D., et al.: Molecular Biology of the Gene. 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



Bibliotecas de DNA

Una biblioteca de DNA es una colección de fragmentos de DNA que en conjunto representan el genoma, o sea, un gen particular que se está buscando y todo el DNA restante. Es el punto de partida para el clonado de un gen de localización cromosómica desconocida. Para producir una biblioteca, el DNA total se digiere con una enzima de restricción y los fragmentos resultantes se incorporan a vectores y se replican en bacterias. Un número suficiente de clones debe estar presente para que cada segmento esté representado al menos una vez. Éste es un problema que depende del tamaño del genoma a investigar y del tamaño de los fragmentos. Se utilizan como vectores los plásmidos y los fagos. Para fragmentos de DNA más grandes deben emplearse células de levaduras. Hay dos tipos diferentes de bibliotecas: de DNA genómico y de cDNA.

A. Biblioteca de DNA genómico

Los clones de DNA genómico son copias de fragmentos de DNA de todos los cromosomas (1) y contienen secuencias codificantes y no codificantes. Para cortar el DNA genómico en muchos fragmentos se utilizan enzimas de restricción. Aquí se muestran esquemáticamente cuatro fragmentos que contienen dos genes, A y B (2). Éstos se incorporan a vectores, por ejemplo, a DNA de fago, y se replican en bacterias. La colección completa de moléculas de DNA recombinante, que contienen todas las secuencias de DNA de una especie o individuo, se denomina biblioteca genómica. Para encontrar un gen en particular se requiere un proceso de examen (véase B).

B. Biblioteca de cDNA

A diferencia de una biblioteca genómica, que es completa y contiene DNA codificante y no codificante, una biblioteca de cDNA está constituida únicamente por secuencias de DNA codificante. Esta particularidad le ofrece ventajas considerables sobre el DNA genómico. Sin embargo, requiere que el mRNA esté disponible y no da lugar a información acerca de la estructura del gen. El mRNA sólo puede obtenerse de células en las cuales el gen respectivo se transcriba, o sea en donde se produzca el mRNA (1). En eucariotes, el RNA formado durante la transcripción (transcripto primario) se somete a un proceso de empalme (*splicing*) para formar el mRNA (2, véase pág. 50). El DNA complementario (cDNA) se sintetiza a partir del mRNA mediante la enzima transcriptasa inversa (3). El cDNA puede servir como molde para la síntesis de una cadena

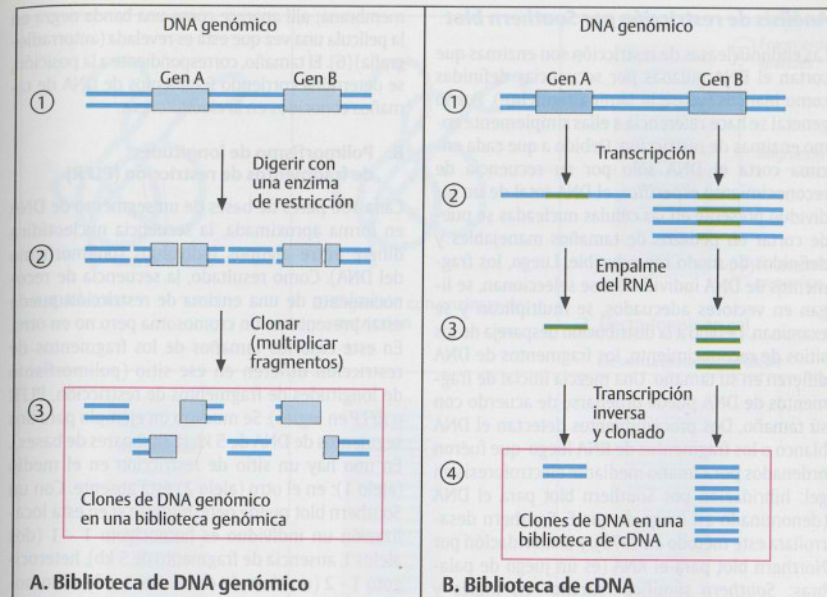
complementaria de DNA, de modo que pueda formarse una cadena doble completa de DNA (clon de cDNA). Su secuencia corresponde a las secuencias codificantes de los exones del gen. Por ello es muy adecuado para utilizarlo como sonda (sonda de cDNA, *cDNA probe*). Los pasos subsiguientes, incorporación a un vector y replicación en bacterias, se corresponden con los del proceso para realizar una biblioteca genómica. Los clones de cDNA sólo pueden obtenerse a partir de regiones codificantes de genes activos (productores de mRNA); entonces, los clones de cDNA de diferentes tejidos difieren según su actividad genética. Debido a que los clones de cDNA corresponden a las secuencias codificantes de un gen (exones) y no contienen secciones no codificantes (intrones), los clones de cDNA son el material de partida de elección cuando se pretende buscar información acerca del producto génico mediante el análisis posterior del gen. La secuencia de aminoácidos de una proteína se puede determinar a partir del cDNA clonado y secuenciado. También se pueden producir grandes cantidades de una proteína teniendo el gen clonado expresado en bacterias o en células de levaduras.

C. Examen de una biblioteca de DNA

Las bacterias que han incorporado los vectores pueden cultivarse en una placa de Petri cubierta con agar, sobre las cuales forman colonias (1). Se toma una huella réplica del cultivo sobre una membrana (2) y el DNA que se pega a la membrana se desnaturaliza con una solución alcalina (3). Luego el DNA del segmento del gen que se busca puede identificarse por hibridación con una sonda marcada radiactivamente (o con alguna otra marca) (4). Luego de la hibridación aparece una señal sobre la membrana en el sitio del segmento del gen (5). El DNA complementario de la sonda marcada se localiza aquí; su posición exacta en el cultivo se corresponde con la que ocupa la señal en la membrana (6). Se toma una muestra del área correspondiente del cultivo (5). Ésta contendrá el segmento de DNA deseado, el cual ahora podrá replicarse en forma sucesiva (clonado) en bacterias. De esta manera el segmento deseado puede enriquecerse y estará disponible para estudios subsiguientes.

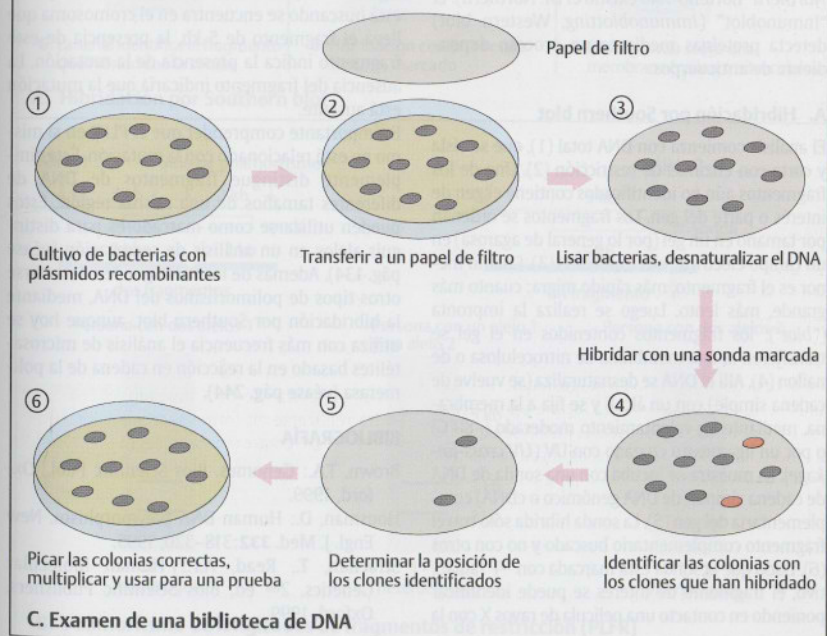
BIBLIOGRAFÍA

- Rosenthal, N.: *Stalking the gene—DNA libraries*. New Eng. J. Med. 331:599-600, 1994.
 Watson, J.D., et al.: *Recombinant DNA*. 2nd ed. Scientific American Books, New York, 1992.



A. Biblioteca de DNA genómico

B. Biblioteca de cDNA



C. Examen de una biblioteca de DNA

Análisis de restricción por Southern blot

Las endonucleasas de restricción son enzimas que cortan el DNA guiadas por secuencias definidas como blancos (véase la lámina siguiente). Por lo general se hace referencia a ellas simplemente como enzimas de restricción. Debido a que cada enzima corta el DNA sólo por su secuencia de reconocimiento específica, el DNA total de un individuo presente en las células nucleadas se puede cortar en pedazos de tamaños manejables y definidos de modo reproducible. Luego, los fragmentos de DNA individuales se seleccionan, se ligan en vectores adecuados, se multiplican y se examinan. Debido a la distribución despareja de los sitios de reconocimiento, los fragmentos de DNA difieren en su tamaño. Una mezcla inicial de fragmentos de DNA puede ordenarse de acuerdo con su tamaño. Dos procedimientos detectan el DNA blanco o los fragmentos de RNA luego que fueron ordenados por tamaño mediante electroforesis en gel: hibridación por Southern blot para el DNA (denominado así luego de que E. Southern desarrollara este método en 1975), y la hibridación por Northern blot para el RNA (es un juego de palabras: *Southern* significa "sureño" en inglés y *Northern* "norteño". No existió el Dr. Northern). El "Inmunoblot" (*Immunoblotting*, Western blot) detecta proteínas mediante un proceso dependiente de anticuerpos.

A. Hibridación por Southern blot

El análisis comienza con DNA total (1), que se aísla y corta con enzimas de restricción (2). Uno de los fragmentos aún no identificados contiene el gen de interés o parte del gen. Los fragmentos se ordenan por tamaño en un gel (por lo general de agarosa) en un campo eléctrico (electroforesis) (3). Cuanto menor es el fragmento, más rápido migra; cuanto más grande, más lento. Luego se realiza la impronta ("blot"): los fragmentos contenidos en el gel se transfieren a una membrana de nitrocelulosa o de nailon (4). Allí el DNA se desnaturaliza (se vuelve de cadena simple) con un álcali y se fija a la membrana, mediante un calentamiento moderado (-80°C) o por un ligamiento cruzado con UV (*UV cross-linkage*). La muestra se incuba con una sonda de DNA de cadena simple (de DNA genómico o cDNA) complementaria del gen (5). La sonda hibrida sólo con el fragmento complementario buscado y no con otros (6). Dado que la sonda está marcada con ^{32}P radiactivo, el fragmento de interés se puede identificar poniendo en contacto una película de rayos X con la

membrana; allí aparece como una banda negra en la película una vez que está es revelada (autorradiografía) (6). El tamaño, correspondiente a la posición, se determina corriendo fragmentos de DNA de tamaños conocidos en la electroforesis.

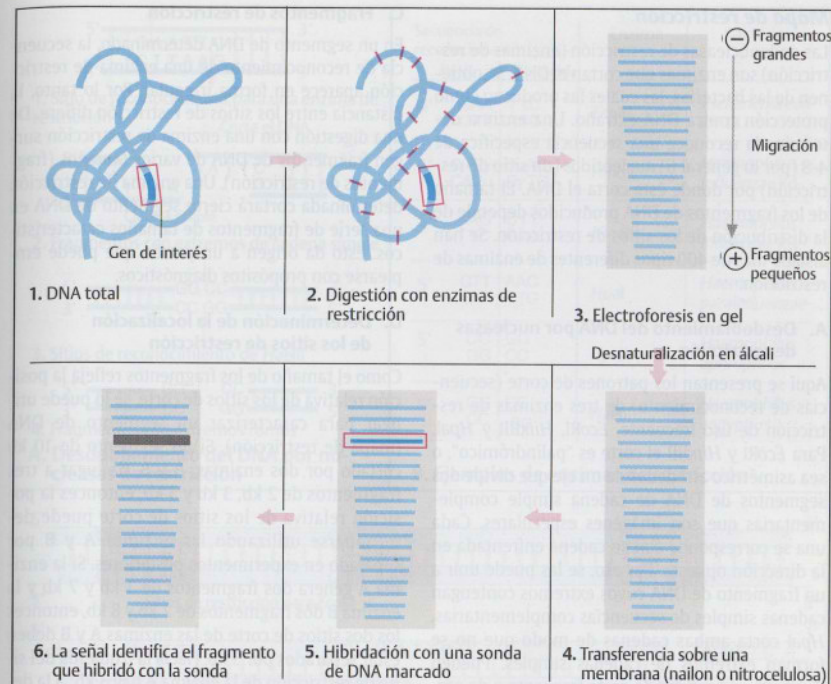
B. Polimorfismo de longitudes de fragmentos de restricción (PLFR)

Cada 100 pares de bases de un segmento de DNA en forma aproximada, la secuencia nucleotídica difiere entre algunos individuos (polimorfismo del DNA). Como resultado, la secuencia de reconocimiento de una enzima de restricción puede estar presente en un cromosoma pero no en otro. En este caso los tamaños de los fragmentos de restricción difieren en ese sitio (polimorfismo de longitudes de fragmentos de restricción, PLFR o *RFLP* en inglés). Se muestra un ejemplo para dos segmentos de DNA de 5 kb (5.000 pares de bases). En uno hay un sitio de restricción en el medio (alelo 1); en el otro (alelo 2) está ausente. Con un Southern blot puede determinarse si en esta localización un individuo es homocigoto 1 - 1 (dos alelos 1, ausencia de fragmento de 5 kb), heterocigoto 1 - 2 (un alelo de cada uno, 1 y 2), u homocigoto 2 - 2 (dos alelos 2). Si la mutación que se está buscando se encuentra en el cromosoma que lleva el fragmento de 5 kb, la presencia de este fragmento indica la presencia de la mutación. La ausencia del fragmento indicaría que la mutación está ausente.

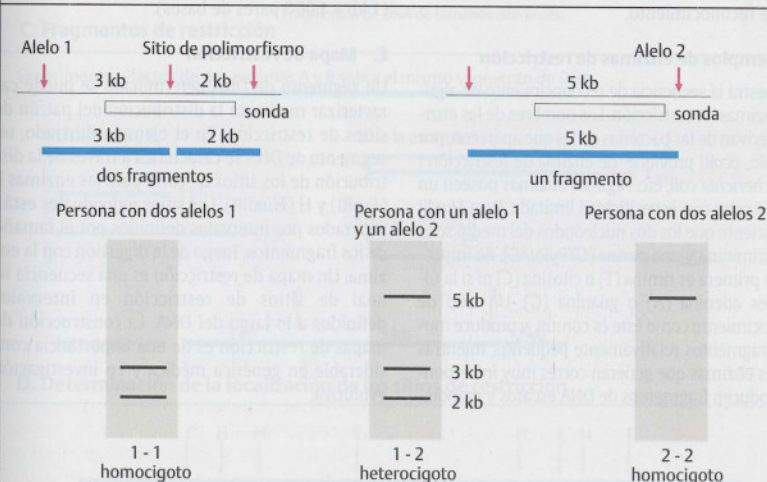
Es importante comprender que el PLFR en sí mismo no está relacionado con la mutación. Éste simplemente distingue fragmentos de DNA de diferentes tamaños de una misma región. Éstos pueden utilizarse como marcadores para distinguir alelos en un análisis de segregación (véase pág. 134). Además de los PLFR, pueden detectarse otros tipos de polimorfismos del DNA, mediante la hibridación por Southern blot, aunque hoy se utiliza con más frecuencia el análisis de microsatélites basado en la reacción en cadena de la polimerasa (véase pág. 244).

BIBLIOGRAFÍA

- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
 Housman, D.: Human DNA polymorphism. New Engl. J. Med. **332**:318-320, 1995.
 Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.



A. Hibridación por Southern blot



B. Polimorfismo de longitudes de fragmentos de restricción (PLFR)

Mapa de restricción

Las endonucleasas de restricción (enzimas de restricción) son enzimas que cortan el DNA. Se obtienen de las bacterias, las cuales las producen como protección contra DNA extraño. Una enzima determinada reconoce una secuencia específica de 4-8 (por lo general 6) nucleótidos (un sitio de restricción) por donde ésta corta el DNA. El tamaño de los fragmentos de DNA producidos depende de la distribución de los sitios de restricción. Se han aislado más de 400 tipos diferentes de enzimas de restricción.

A. Desdoblamiento del DNA por nucleasas de restricción

Aquí se presentan los patrones de corte (secuencias de reconocimiento) de tres enzimas de restricción de uso frecuente, *EcoRI*, *HindIII* y *HpaI*. Para *EcoRI* y *HindIII* el corte es "palindrómico", o sea asimétrico alrededor de un eje que divide dos segmentos de DNA de cadena simple complementarias que son imágenes especulares. Cada una se corresponde con su cadena enfrentada en la dirección opuesta. Por eso, se las puede unir a un fragmento de DNA cuyos extremos contengan cadenas simples de secuencias complementarias. *HpaI* corta ambas cadenas de modo que no se forman extremos de cadenas simples. Pueden distinguirse enzimas de corte frecuente o de corte raro según la frecuencia de aparición de sus sitios de reconocimiento.

B. Ejemplos de enzimas de restricción

Se muestra la secuencia de reconocimiento de algunas enzimas de restricción. Los nombres de las enzimas derivan de las bacterias en las que aparecen, por ejemplo, *EcoRI* proviene de enzima de restricción I de *Escherichia coli*, etc. Algunas enzimas poseen un sitio de corte con especificidad limitada. Para *HindIII* es suficiente que los dos nucleótidos del medio sean una pirimidina y una purina (GTPyPuAC), no importa si la primera es timina (T) o citosina (C) ni si la última es adenina (A) o guanina (G). Un sitio de reconocimiento como éste es común y produce muchos fragmentos relativamente pequeños, mientras que las enzimas que generan cortes muy infrecuentes producen fragmentos de DNA escasos y grandes.

C. Fragmentos de restricción

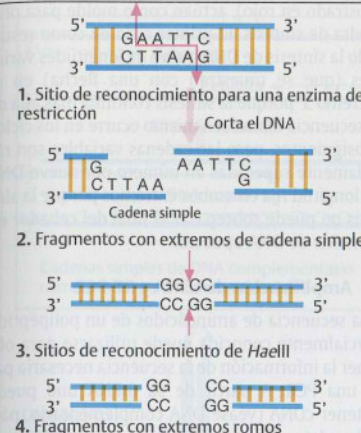
En un segmento de DNA determinado, la secuencia de reconocimiento de una enzima de restricción aparece en forma irregular. Por lo tanto, la distancia entre los sitios de restricción difiere. De una digestión con una enzima de restricción surgen fragmentos de DNA de varios tamaños (fragmentos de restricción). Una enzima de restricción determinada cortará cierto segmento de DNA en una serie de fragmentos de tamaños característicos. Esto da origen a un patrón que puede emplearse con propósitos diagnósticos.

D. Determinación de la localización de los sitios de restricción

Como el tamaño de los fragmentos refleja la posición relativa de los sitios de corte, se lo puede utilizar para caracterizar un segmento de DNA (mapa de restricción). Si un segmento de 10 kb cortado por dos enzimas, A y B, da lugar a tres fragmentos de 2 kb, 3 kb y 5 kb, entonces la posición relativa de los sitios de corte puede determinarse utilizando las enzimas A y B por separado en experimentos posteriores. Si la enzima A genera dos fragmentos de 3 kb y 7 kb y la enzima B dos fragmentos de 2 kb y 8 kb, entonces los dos sitios de corte de las enzimas A y B deben estar separados por 5 kb. Hacia la izquierda del sitio de restricción de la enzima A hay 3 kb; a la derecha del sitio de restricción de la enzima B, 2 kb (1 kb = 1.000 pares de bases).

E. Mapa de restricción

Un segmento de DNA determinado se puede caracterizar mediante la distribución del patrón de sitios de restricción. En el ejemplo ilustrado, un segmento de DNA se caracteriza a través de la distribución de los sitios de corte para las enzimas E (*EcoRI*) y H (*HindIII*). Los sitios individuales están separados por intervalos definidos por el tamaño de los fragmentos, luego de la digestión con la enzima. Un mapa de restricción es una secuencia lineal de sitios de restricción en intervalos definidos a lo largo del DNA. La construcción de mapas de restricción es de una importancia considerable en genética médica y en investigación evolutiva.



1. Sitio de reconocimiento para una enzima de restricción

Corta el DNA

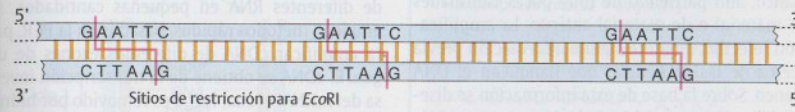
2. Fragmentos con extremos de cadena simple

3. Sitios de reconocimiento de *HaeIII*

4. Fragmentos con extremos romos

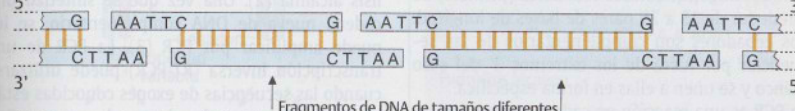
Secuencia de reconocimiento Corte	Ejes de simetría	Enzima	Bacteria
5' GAA CTT	TTC AAG	<i>EcoRI</i>	<i>Escherichia coli</i> KY 13
5' GTPy CAPu	PuAc PyTG	<i>HindIII</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> Rd
5' AAG TTC	CTT GAA	<i>HindIII</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> Rd
5' GTT CAA	AAC TTG	<i>HpaI</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>
5' CC GG	GG CC	<i>HpaII</i>	<i>Haemophilus aphrophilus</i>
5' GG CC	CC GG	<i>HaeIII</i>	<i>Haemophilus aegyptius</i>

A. Desdoblamiento del DNA por nucleasas de restricción



Sitios de restricción para *EcoRI*

B. Ejemplos de enzimas de restricción



Fragmentos de DNA de tamaños diferentes

C. Fragmentos de restricción

Experimento: efectos de dos enzimas A y B sobre el mismo segmento de DNA

Enzimas A y B

2 kb

3 kb

5 kb

Sólo la enzima A

3 kb

7 kb

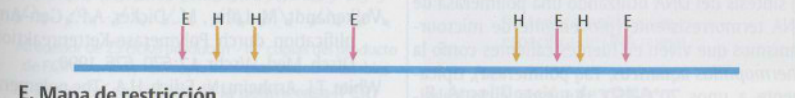
Sólo la enzima B

2 kb

8 kb

Interpretación: 3 kb (A), 5 kb (B), 2 kb (B)

D. Determinación de la localización de los sitios de restricción



E. Mapa de restricción

Amplificación de DNA por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La introducción de métodos sin la utilización de células para multiplicar fragmentos de DNA de origen definido (amplificación de DNA) en 1985, condujo a una nueva era en genética molecular (el principio de la PCR se encuentra en publicaciones anteriores). Esta tecnología fundamental se ha difundido drásticamente con el desarrollo de equipamiento automatizado utilizado en investigación básica y aplicada.

A. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR es un método que permite clonar fragmentos de DNA sin utilizar células, es rápido y sensible. Se han desarrollado reacciones estándares y una amplia variedad de métodos basados en la PCR para investigar polimorfismos y mutaciones. La PCR estándar es un procedimiento *in vitro* para amplificar secuencias definidas de DNA blanco, aun partiendo de muy pocas cantidades de material o de material antiguo. La amplificación selectiva requiere alguna información previa acerca de las secuencias que flanquean el DNA blanco. Sobre la base de esta información se diseñan dos oligonucleótidos cebadores (*primers*) de alrededor de 15 a 25 pares de bases de longitud. Los cebadores son complementarios de las secuencias por fuera de los extremos 3' del sitio blanco y se unen a ellas en forma específica.

La PCR es una reacción en cadena porque las cadenas de DNA nuevas sintetizadas actúan como molde para la posterior síntesis de DNA en los 25 a 35 ciclos subsiguientes. En teoría, cada ciclo dobla la cantidad de DNA amplificado. Al final, hay al menos 10^5 copias de la secuencia blanco específica. Ésta se puede visualizar como una banda distintiva de un tamaño específico luego de una electroforesis en gel. Cada ciclo, que involucra tres reacciones rigurosamente controladas en tiempo y temperatura en los termocicladores automáticos, lleva alrededor de 1-5 minutos. Los tres pasos en cada ciclo son 1) desnaturalización del DNA de cadena doble, a alrededor de 93° - 95° C para el DNA humano, 2) hibridación (*annealing*) del cebador a unos 50° C- 70° C, dependiendo de la temperatura de fusión esperada del dúplex de DNA y 3) síntesis del DNA utilizando una polimerasa de DNA termorresistente (proveniente de microorganismos que viven en fuentes calientes como la *Thermophilus aquaticus*, *Taq* polimerasa), típicamente a unos 70° C- 75° C. En cada ciclo subsiguiente el molde inicial (ilustrado en azul) y el DNA nuevo, sintetizado durante el ciclo anterior

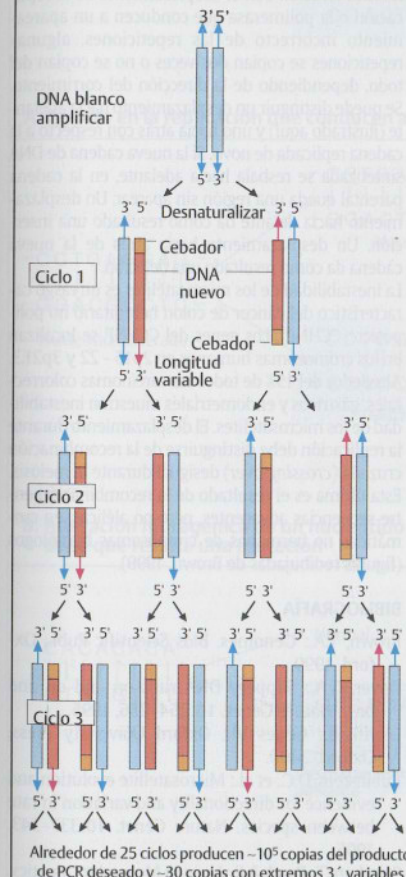
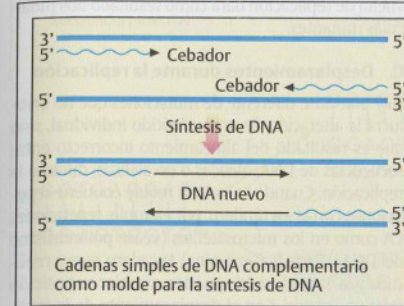
(ilustrado en rojo), actúan como molde para otra vuelta de síntesis. El primer ciclo da como resultado la síntesis de DNA nuevo de longitudes variables (que se muestran con una flecha) en el extremo 3' porque la síntesis continúa más allá de la secuencia blanco. Lo mismo ocurre en los ciclos subsiguientes, pero las cadenas variables son rápidamente superadas en número por nuevo DNA de longitud fija en ambos extremos porque la síntesis no puede sobrepasar el final del cebador en el molde de DNA opuesto.

B. Amplificación de cDNA y RT-PCR

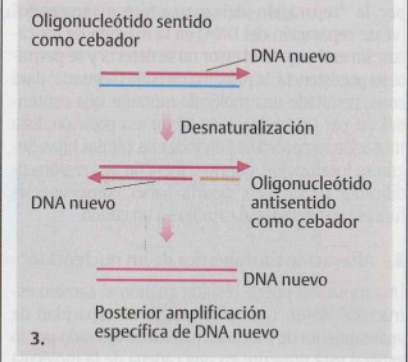
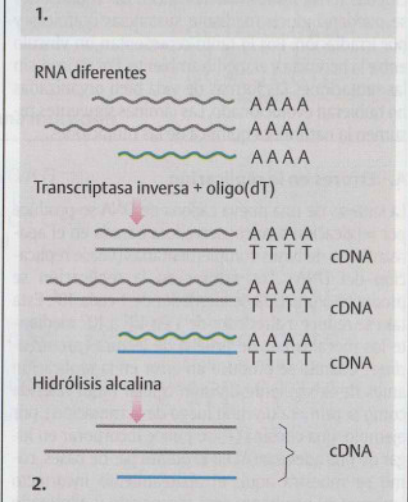
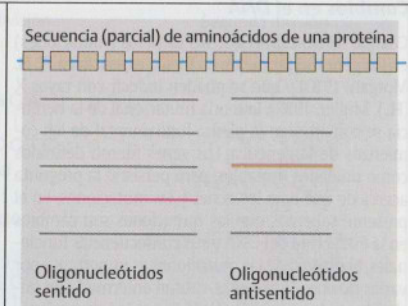
Una secuencia de aminoácidos de un polipéptido parcialmente conocida puede utilizarse para obtener la información de la secuencia necesaria para una PCR. A partir de su mRNA uno puede obtener cDNA (véase DNA complementario, pág. 58) y determinar la secuencia de la cadena de sentido y antisentido para preparar oligonucleótidos cebadores apropiados (1). Cuando se dispone de diferentes RNA en pequeñas cantidades, se emplean métodos rápidos, basados en la PCR, para amplificar cDNA de diferentes exones de un gen. El cDNA se obtiene de la transcripción inversa del mRNA, el cual luego es removido por hidrólisis alcalina (2). Una vez que se sintetizó una cadena nueva de DNA complementario, se les puede amplificar por PCR (3). La PCR de una transcripción inversa (RT-PCR) puede utilizarse cuando las secuencias de exones conocidas están ampliamente separadas dentro de un gen. Con una amplificación rápida de los extremos del cDNA (RACE-PCR, *rapid amplification of cDNA ends*), las secuencias de los extremos 5' y 3' pueden aislarse del cDNA.

BIBLIOGRAFÍA

- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
- Erich, H.A., Gelfand D., Sninsky, J.J.: Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science* 252:1643-1651, 1991.
- Erich, H.A., Arnheim, N.: Genetic analysis with the polymerase chain reaction. *Ann. Rev. genet.* 26: 479-506, 1992.
- Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.
- Volkenandt, M. Löhr, M., Dicker, A.P.: Gen-Amplification durch Polymerase-Kettenreaktion. *Dtsch. Med. Wschr.* 17:670-676, 1990.
- White, T.J., Arnheim, N., Erlich, H.A.: The polymerase chain reaction. *Trends Genet.* 5:185-189, 1989.



A. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)



B. Amplificación de cDNA

Cambios en el DNA

Cuando se descubrió que los cambios (mutaciones) en los genes se producen en forma espontánea (T. H. Morgan, 1910) y que se pueden inducir con rayos X (H. J. Muller, 1927), la teoría mutacional de la herencia se convirtió en la piedra fundamental de los comienzos de la genética. Los genes fueron definidos como unidades mutables, pero persistió la pregunta acerca de qué eran los genes y las mutaciones. En el presente sabemos que las mutaciones son cambios en la estructura del DNA y sus consecuencias funcionales. El estudio de las mutaciones es importante por varias razones. Entre ellas, causan enfermedades, incluidas todas las formas de cáncer. Las mutaciones se pueden inducir mediante sustancias químicas y por irradiación. Por lo tanto representan un vínculo entre la herencia y el medio ambiente. Por último, sin las mutaciones las formas de vida bien organizadas no hubieran evolucionado. Las láminas siguientes resumen la naturaleza química de las mutaciones.

A. Errores en la replicación

La síntesis de una nueva cadena de DNA se produce por replicación semiconservadora basada en el apareamiento de bases complementarias (véase replicación del DNA). Los errores en la replicación se producen a una tasa de alrededor de 1 cada 10^5 . Esta tasa se reduce a alrededor de 1 en 10^7 a 10^9 mediante los mecanismos de prueba de lectura (*proofreading*). Cuando se produce un error en la replicación antes de la siguiente división celular (aquí referida como la primera división luego de la mutación), por ejemplo, una citosina (C) se puede incorporar en lugar de una adenina (A) en el quinto par de bases, como se muestra aquí; el apareamiento incorrecto (*mismatch*) resultante será reconocido y eliminado por la "reparación del apareamiento incorrecto" (véase reparación del DNA) en la mayoría de los casos. Sin embargo, si el error no se detecta y se permite su persistencia, la próxima división (segunda) dará como resultado una molécula mutante, que contendrá un par CG en lugar de AT en esa posición. Esta mutación se perpetuará en todas las células hijas. Según su localización, dentro o fuera de una región codificante de un gen, podría haber consecuencias funcionales debidas al cambio en un codón.

B. Alteración mutagénica de un nucleótido

Una mutación puede resultar cuando el cambio estructural de un nucleótido afecta su capacidad de apareamiento de bases. El nucleótido alterado por lo general está presente en una cadena de la molécula parental. Si esto lleva a la incorporación de una base errónea, como C en lugar de T en el quinto par de bases, como se muestra aquí, la siguiente (segunda)

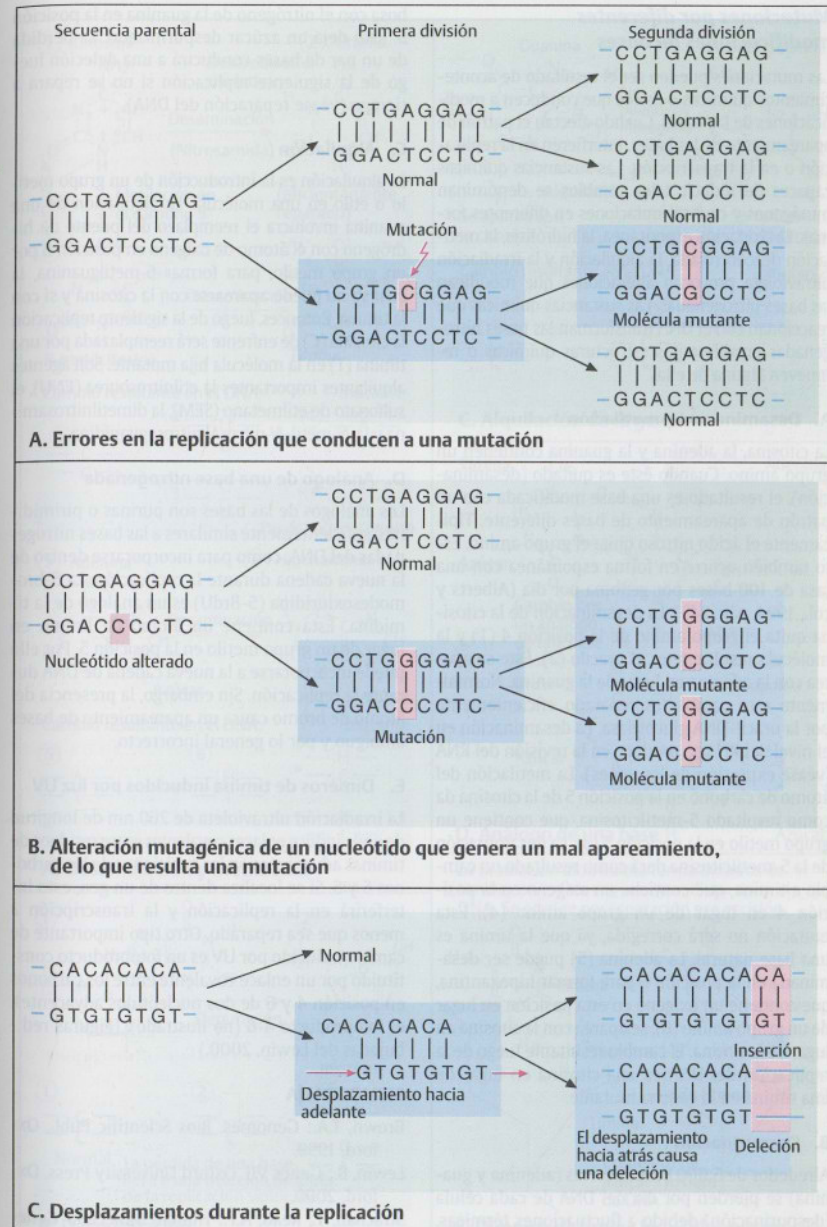
vuelta de replicación dará como resultado dos moléculas mutantes.

C. Desplazamientos durante la replicación

Hay una clase diferente de mutaciones que no involucra la alteración de un nucleótido individual, sino que es resultado del alineamiento incorrecto entre secuencias de DNA, alélicas o no alélicas, durante la replicación. Cuando la cadena molde contiene repeticiones cortas en tándem, por ejemplo, repeticiones CA como en los microsatélites (véase polimorfismo del DNA y Parte II, Genómica), la cadena nueva replicada y la cadena molde pueden cambiar su posición relativa entre sí. Con el desplazamiento de la replicación o la polimerasa que conducen a un apareamiento incorrecto de las repeticiones, algunas repeticiones se copian dos veces o no se copian del todo, dependiendo de la dirección del corrimiento. Se puede distinguir un desplazamiento hacia adelante (ilustrado aquí) y uno hacia atrás con respecto a la cadena replicada de novo. Si la nueva cadena de DNA sintetizada se resbala hacia adelante, en la cadena parental queda una región sin aparear. Un desplazamiento hacia adelante da como resultado una inserción. Un desplazamiento hacia atrás de la nueva cadena da como resultado una delección. La inestabilidad de los microsatélites es un rasgo característico del cáncer de colon hereditario no polipósico (CCHNP). Los genes del CCHNP se localizan en los cromosomas humanos en 2p15 - 22 y 3p21.3. Alrededor del 15% de todos los carcinomas colorrectales, gástricos y endometriales muestran inestabilidad de los microsatélites. El desplazamiento durante la replicación debe distinguirse de la recombinación cruzada (*crossing over*) desigual durante la meiosis. Esta última es el resultado de la recombinación entre secuencias adyacentes, pero no alélicas, en cromátidas no hermanas de cromosomas homólogos (figuras redibujadas de Brown, 1999).

BIBLIOGRAFÍA

- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
 Dover, G.A.: Slippery DNA runs on and on and on... Nature Genet. 10:254-256, 1995.
 Lewin, B.: Genes VII. Oxford University Press, Oxford, 2000.
 Rubinstein, D.C., et al.: Microsatellite evolution and evidence for directionality and variation in rate between species. Nature Genet. 10:337-343, 1995.
 Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford 1999
 Vogel, F., Rathenberg, R.: Spontaneous mutation in man. Adv. Hum. Genet. 5:223-318, 1975.



Mutaciones por diferentes modificaciones de bases

Las mutaciones pueden ser el resultado de acontecimientos químicos o físicos que conducen a modificaciones de las bases. Cuando afectan el patrón de apareamiento de las bases, interfieren en la replicación o en la transcripción. Las sustancias químicas capaces de inducir tales cambios se denominan mutágenos y causan mutaciones en diferentes formas. La oxidación espontánea, la hidrólisis, la metilación descontrolada, la alquilación y la irradiación ultravioleta provocan alteraciones que modifican las bases nitrogenadas. Las sustancias químicas que reaccionan con el DNA transforman las bases nitrogenadas en diferentes estructuras químicas o remueven alguna de ellas.

A. Desaminación y metilación

La citosina, la adenina y la guanina contienen un grupo amino. Cuando éste es quitado (desaminación), el resultado es una base modificada con un patrón de apareamiento de bases diferente. Típicamente el ácido nitroso quita el grupo amino. Esto también ocurre en forma espontánea con una tasa de 100 bases por genoma por día (Alberts y col., 1994, pág. 245). La desaminación de la citosina quita el grupo amino de la posición 4 (1) y la molécula resultante es el uracilo (2). Éste se aparea con la adenina en lugar de la guanina. Normalmente este cambio es reparado eficientemente por la uracil-DNA glucosilasa. La desaminación en el nivel del RNA se produce en la revisión del RNA (véase expresión de los genes). La metilación del átomo de carbono en la posición 5 de la citosina da como resultado 5-metilcitosina, que contiene un grupo metilo en la posición 5 (3). La desaminación de la 5-metilcitosina dará como resultado un cambio a timina, que contiene un oxígeno en la posición 4 en lugar de un grupo amino (4). Esta mutación no será corregida, ya que la timina es una base natural. La adenina (5) puede ser desaminada en la posición 6 para formar hipoxantina, que contiene un oxígeno en esta posición en lugar de un grupo amino (6), se aparea con la citosina en lugar de la timina. El cambio resultante luego de la replicación del DNA es una citosina en lugar de una timina en la cadena mutante.

B. Despurinación

Alrededor de 5.000 bases púricas (adenina y guanina) se pierden por día del DNA de cada célula (despurinación) debido a fluctuaciones térmicas. La despurinación del DNA involucra la ruptura hidrolítica del enlace *N*-glucosídico de la desoxirri-

bosa con el nitrógeno de la guanina en la posición 9. Esto deja un azúcar despurinado. La pérdida de un par de bases conducirá a una delección luego de la siguiente replicación si no se repara a tiempo (véase reparación del DNA).

C. Alquilación

La alquilación es la introducción de un grupo metilo o etilo en una molécula. La alquilación de una guanina involucra el reemplazo del puente de hidrógeno con el átomo de oxígeno en posición 6 por un grupo metilo, para formar 6-metilguanina, la cual ya no puede aparearse con la citosina y sí con la timina. Entonces, luego de la siguiente replicación la citosina (C) de enfrente será reemplazada por una timina (T) en la molécula hija mutante. Son agentes alquilantes importantes la etilnitrosourea (ENU), el sulfonato de etilmetano (SEM), la dimetilnitrosamina y la *N*-metil-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidina.

D. Análogo de una base nitrogenada

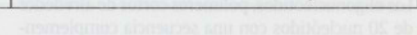
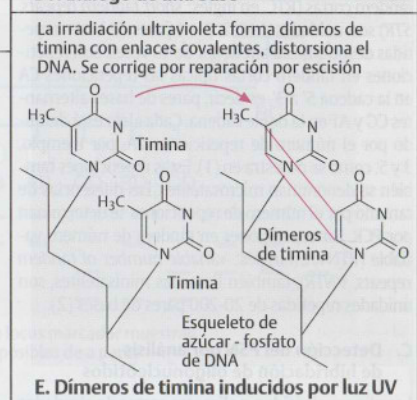
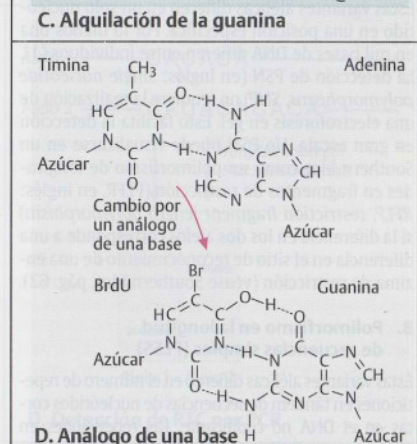
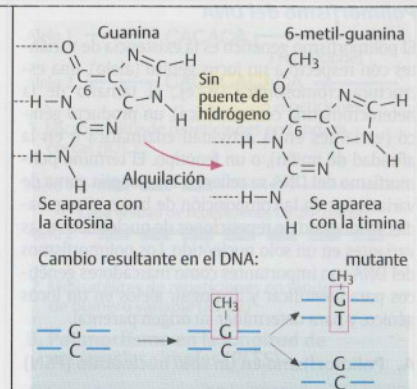
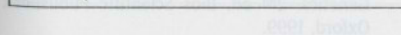
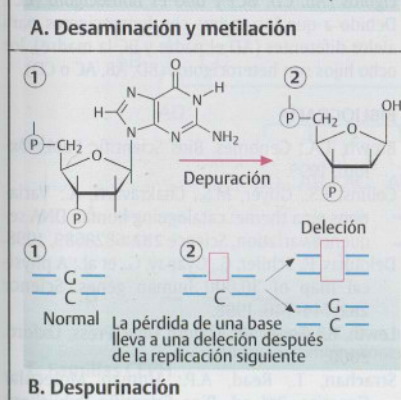
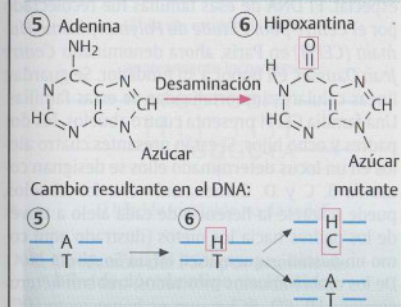
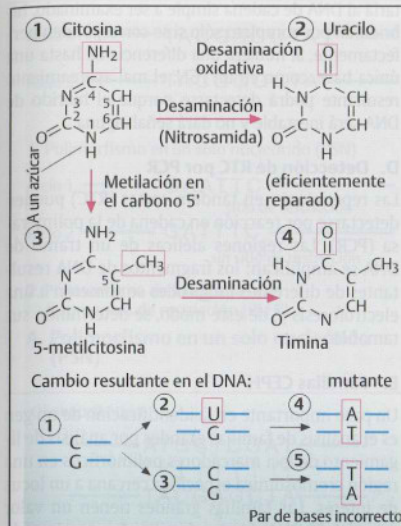
Los análogos de las bases son purinas o pirimidinas, suficientemente similares a las bases nitrogenadas del DNA, como para incorporarse dentro de la nueva cadena durante la replicación. La 5-bromodesoxiuridina (5-BrdU) es un análogo de la timidina. Ésta contiene un átomo de bromo en lugar de un grupo metilo en la posición 5. Por ello puede incorporarse a la nueva cadena de DNA durante la replicación. Sin embargo, la presencia del átomo de bromo causa un apareamiento de bases ambiguo y por lo general incorrecto.

E. Dímeros de timina inducidos por luz UV

La irradiación ultravioleta de 260 nm de longitud de onda induce enlaces covalentes entre residuos de timinas adyacentes en las posiciones de los carbonos 5 y 6. Si se localiza dentro de un gen, esto interferirá en la replicación y la transcripción a menos que sea reparado. Otro tipo importante de cambio inducido por UV es un fotoproducto constituido por un enlace covalente entre los carbonos en posición 4 y 6 de dos nucleótidos adyacentes, el fotoproducto 4-6 (no ilustrado). (Figuras reducidas del Lewin, 2000.)

BIBLIOGRAFÍA

- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
 Lewin, B.: Genes VII. Oxford University Press, Oxford, 2000.
 Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics, 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.



Polimorfismo del DNA

El polimorfismo genético es la existencia de variantes con respecto a un locus génico (alelo), una estructura cromosómica (p. ej., el tamaño de la heterocromatina centromérica), un producto génico (variantes en la actividad enzimática o en la afinidad de unión), o un fenotipo. El término polimorfismo del DNA se refiere a una amplia gama de variaciones en la composición de bases nitrogenadas, la longitud de repeticiones de nucleótidos o las variantes en un solo nucleótido. Los polimorfismos del DNA son importantes como marcadores genéticos para identificar y distinguir alelos en un locus génico, y para determinar su origen parental.

A. Polimorfismo en un solo nucleótido (PSN)

Estas variantes alélicas difieren en un solo nucleótido en una posición específica. Por lo menos una en mil bases de DNA difieren entre individuos (1). La detección de PSN (en inglés: *single nucleotide polymorphisms, SNP*) no requiere la realización de una electroforesis en gel. Esto facilita la detección en gran escala. Un PSN puede visualizarse en un Southern blot como un polimorfismo de longitudes en fragmentos de restricción (PLFR, en inglés: *RFLP, restriction fragment length polymorphism*) si la diferencia en los dos alelos corresponde a una diferencia en el sitio de reconocimiento de una enzima de restricción (véase Southern blot, pág. 62).

B. Polimorfismo en la longitud de secuencias simples (PLSS)

Estas variantes alélicas difieren en el número de repeticiones en tándem de secuencias de nucleótidos cortas en el DNA no codificante. Las repeticiones en tándem cortas (RTC, en inglés: *short tandem repeats, STR*) son unidades de 1, 2, 3 o 4 pares de bases repetidas desde 3 hasta alrededor de 10 veces. Son repeticiones en tándem cortas típicas las repeticiones CA en la cadena 5' a 3', es decir, pares de bases alternantes CG y AT en la doble cadena. Cada alelo está definido por el número de repeticiones CA, por ejemplo, 3 y 5, como se muestra en (1). Estas repeticiones también se denominan microsatélites. Las diferencias de tamaño por el número de repeticiones se determinan por PCR. Las repeticiones en tándem de número variable (RTNV, en inglés: *variable number of tandem repeats, VNTR*), también llamadas minisatélites, son unidades repetidas de 20-200 pares de bases (2).

C. Detección del PSN por análisis de hibridación de oligonucleótidos

Los oligonucleótidos, polímeros cortos de alrededor de 20 nucleótidos con una secuencia complemen-

taria al DNA de cadena simple a ser examinado, hibridarán por completo sólo si se corresponden perfectamente. Si hubiera una diferencia de hasta una única base, como en un PSN, el mal apareamiento resultante podrá detectarse porque el híbrido de DNA será inestable y no dará señal alguna.

D. Detección de RTC por PCR

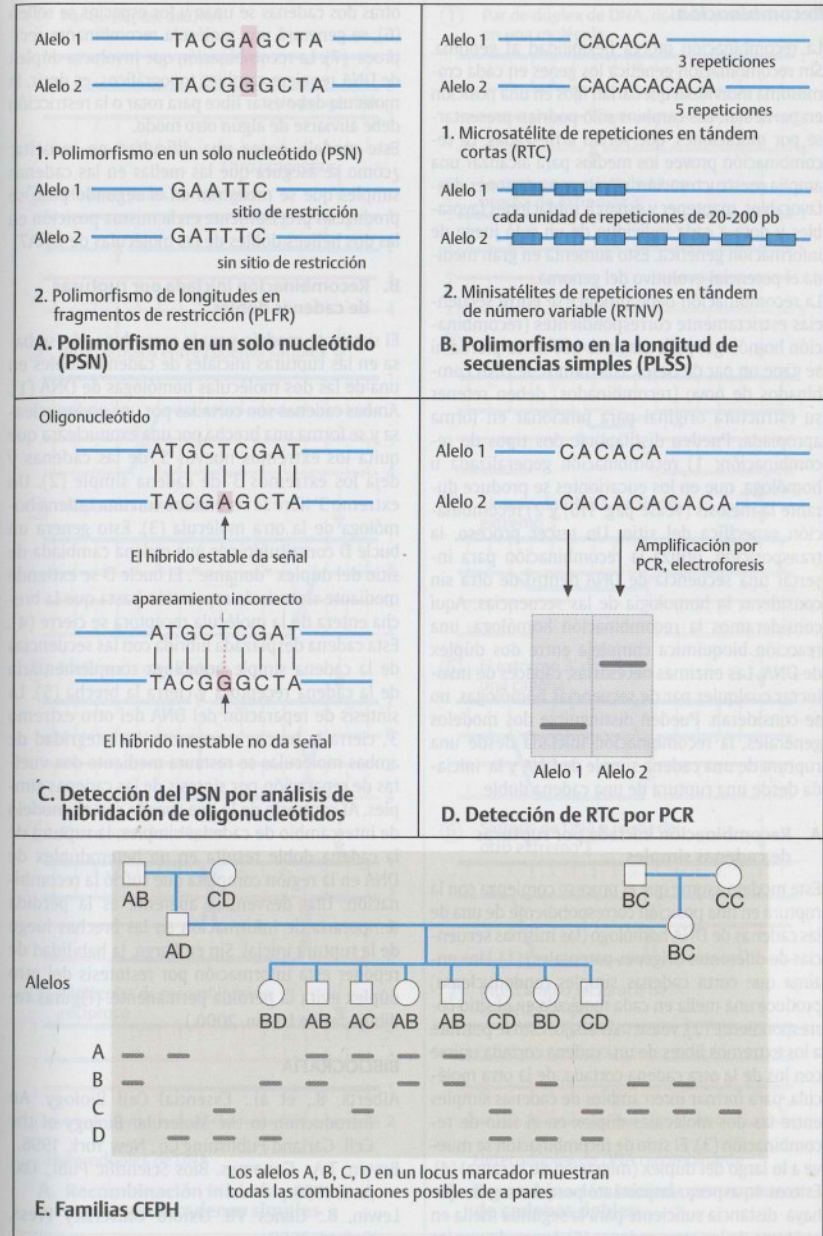
Las repeticiones en tándem cortas (RTC) pueden detectarse por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las regiones alélicas de un tramo de DNA se amplifican; los fragmentos de DNA resultantes de diferentes longitudes se someten a una electroforesis y, de este modo, se determinan sus tamaños.

E. Familias CEPH

Un paso importante en la identificación de un gen es el análisis de familias grandes por análisis de ligamiento de loci marcadores polimórficos en una región cromosómica específica cercana a un locus de interés. Las familias grandes tienen un valor especial. El DNA de esas familias fue recolectado por el *Centre pour l'Étude du Polymorphisme Humain (CEPH)* en París, ahora denominado *Centre Jean Dausset*, en honor a su fundador. Se guardan líneas celulares inmortalizadas de estas familias. Una familia CEPH presenta cuatro abuelos, los dos padres y ocho hijos. Si están presentes cuatro alelos en un locus determinado ellos se designan como A, B, C y D. Comenzando con los abuelos, puede trazarse la herencia de cada alelo a través de los padres hacia los nietos (ilustrado aquí como un patrón esquemático en un Southern blot). De los cuatro abuelos mostrados, tres son heterocigotos (AB, CD, BC) y uno es homocigoto (CC). Debido a que los padres son heterocigotos para alelos diferentes (AD el padre y BC la madre), los ocho hijos son heterocigotos (BD, AB, AC o CD).

BIBLIOGRAFÍA

- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
- Collins, F.S., Guyer, M.S., Chakravarti, A.: Variations on a theme: cataloguing human DNA sequence variation. *Science* 282:682-689, 1998.
- Deloukas, P., Schiller, G., Gyapay, G., et al.: A physical map of 30,000 human genes. *Science* 282:744-746, 1998.
- Lewin, B.: Genes VII. Oxford Univ. Press, Oxford, 2000.
- Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.



Recombinación

La recombinación otorga flexibilidad al genoma. Sin recombinación genética los genes en cada cromosoma individual quedarían fijos en una posición en particular. Los cambios sólo podrían presentarse por mutaciones, que serían arriesgadas. La recombinación provee los medios para alcanzar una amplia reestructuración, eliminar mutaciones desfavorables, mantener y esparcir mutaciones favorables y dota a cada individuo de un solo juego de información genética. Esto aumenta en gran medida el potencial evolutivo del genoma.

La recombinación debe producirse entre secuencias estrictamente correspondientes (recombinación homóloga) para asegurar que no se pierda ni se gane un par de bases. Los tramos de DNA combinados de novo (recombinados) deben retener su estructura original para funcionar en forma apropiada. Pueden distinguirse dos tipos de recombinación: 1) recombinación generalizada u homóloga, que en los eucariontes se produce durante la meiosis (véase pág. 116) y 2) recombinación específica del sitio. Un tercer proceso, la transposición, utiliza la recombinación para insertar una secuencia de DNA dentro de otra sin considerar la homología de las secuencias. Aquí consideramos la recombinación homóloga, una reacción bioquímica compleja entre dos dúplex de DNA. Las enzimas necesarias, capaces de involucrar cualquier par de secuencias homólogas, no se consideran. Pueden distinguirse dos modelos generales, la recombinación iniciada desde una ruptura de una cadena simple de DNA y la iniciada desde una ruptura de una cadena doble.

A. Recombinación iniciada por rupturas de cadenas simples

Este modelo asume que el proceso comienza con la ruptura en una posición correspondiente de una de las cadenas de DNA homólogo (las mismas secuencias de diferentes orígenes parentales) (1). Una enzima que corta cadenas simples (endonucleasa) produce una mella en cada molécula en el sitio correspondiente (2), véase más abajo. Esto le permite a los extremos libres de una cadena cortada unirse con los de la otra cadena cortada, de la otra molécula, para formar intercambios de cadenas simples entre las dos moléculas dúplex en el sitio de recombinación (3). El sitio de recombinación se mueve a lo largo del dúplex (migración de la rama) (4). Esto es un aspecto importante porque asegura que haya distancia suficiente para la segunda mella en cada una de las otras cadenas (5). Luego de que las

otras dos cadenas se unan y los espacios se sellen (6), se generará una molécula recombinante recíproca (7). La recombinación que involucra dúplex de DNA requiere cambios topográficos, es decir, la molécula debe estar libre para rotar o la restricción debe aliviarse de algún otro modo.

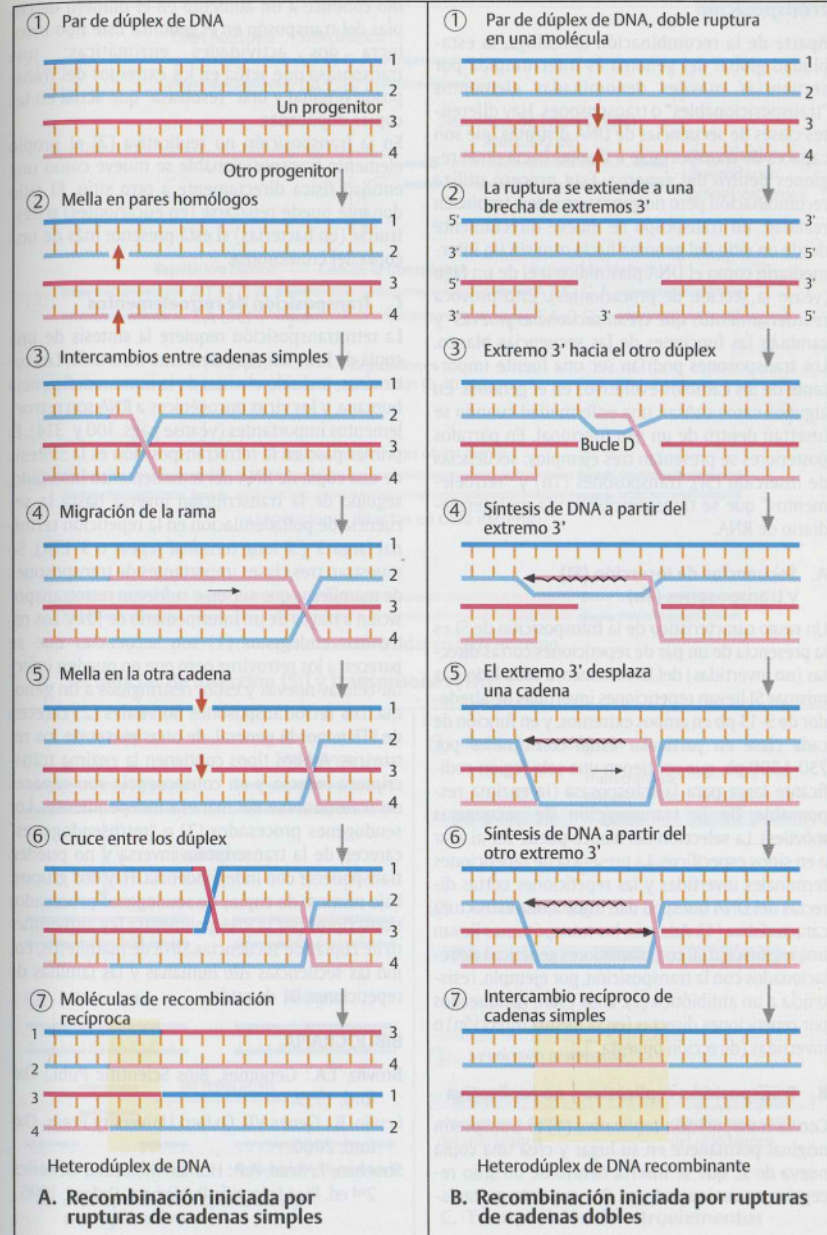
Este modelo posee una dificultad no resuelta: ¿cómo se asegura que las mellas en las cadenas simples que se muestran en el segundo paso se produzcan precisamente en la misma posición en las dos hélices dobles de las moléculas de DNA?

B. Recombinación iniciada por rupturas de cadenas dobles

El siguiente modelo para la recombinación se basa en las rupturas iniciales de cadenas dobles en una de las dos moléculas homólogas de DNA (1). Ambas cadenas son cortadas por una endonucleasa y se forma una brecha por una exonucleasa que quita los extremos nuevos 5' de las cadenas y deja los extremos 3' de cadena simple (2). Un extremo 3' libre se recombina con una cadena homóloga de la otra molécula (3). Esto genera un bucle D constituido por una cadena cambiada de sitio del dúplex "donante". El bucle D se extiende mediante síntesis de reparación hasta que la brecha entera de la molécula receptora se cierre (4). Esta cadena desplazada hibrida con las secuencias de la cadena simple homóloga complementaria de la cadena receptora y cierra la brecha (5). La síntesis de reparación del DNA del otro extremo 3', cierra la brecha remanente. La integridad de ambas moléculas se restaura mediante dos vueltas de reparación por síntesis de las cadenas simples. Al contrario de lo que sucede con el modelo de intercambio de cadenas simples, la ruptura de la cadena doble resulta en un heterodúplex de DNA en la región completa que sufrió la recombinación. Una desventaja aparente es la pérdida temporal de información en las brechas luego de la ruptura inicial. Sin embargo, la habilidad de reponer esta información por resíntesis del otro dúplex evita la pérdida permanente. (Figuras redibujadas de Lewin, 2000.)

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., et al.: *Essential Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell.* Garland Publishing Co., New York, 1998.
 Brown, T.A.: *Genomes.* Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
 Lewin, B.: *Genes VII.* Oxford University Press, Oxford, 2000.



Transposición

Aparte de la recombinación homóloga, la estabilidad global del genoma es interrumpida por secuencias móviles denominadas elementos "transponibles" o transposones. Hay diferentes clases de secuencias de DNA distintas que son capaces de transportarse a sí solas hacia otras regiones dentro del genoma. Este proceso utiliza recombinación pero no genera un intercambio. En realidad, un transposón se mueve directamente desde un sitio del genoma hacia otro sin un intermediario como el DNA plasmídico o el de un fago (véase la sección de procariontes). Esto provoca reordenamientos que crean secuencias nuevas y cambian las funciones de las secuencias blanco. Los transposones podrían ser una fuente importante de los cambios evolutivos en el genoma. En algunos casos causan una enfermedad cuando se insertan dentro de un gen funcional. En párrafos posteriores se presentan tres ejemplos: secuencias de inserción (SI), transposones (Tn) y "retroelementos" que se transponen vía un intermediario de RNA.

A. Secuencias de inserción (SI) y transposones (Tn)

Un rasgo característico de la transposición de SI es la presencia de un par de repeticiones cortas directas (no invertidas) del DNA blanco, a cada lado. Las mismas SI llevan repeticiones invertidas de alrededor de 9-13 pb en ambos extremos, y en función de cada clase en particular están constituidas por 750-1.500 pb, que contienen una sola región codificante larga para la transposasa (la enzima responsable de la transposición de secuencias móviles). La selección del blanco puede ser al azar o en sitios específicos. La presencia de repeticiones terminales invertidas y las repeticiones cortas directas del DNA huésped dan lugar a una estructura característica (1). Además, los transposomas llevan una región central con marcadores genéticos no relacionados con la transposición, por ejemplo, resistencia a un antibiótico (2). Ellos están flanqueados por repeticiones directas (en la misma dirección) o invertidas (dirección opuesta, 3).

B. Transposición replicativa y no replicativa

Con la transposición replicativa (1) el transposón original permanece en su lugar y crea una copia nueva de sí, que se inserta dentro de un sitio receptivo en cualquier lugar. Por eso, este mecanis-

mo conduce a un aumento en el número de copias del transposón en el genoma. Este tipo involucra dos actividades enzimáticas: una transposasa que actúa en los extremos del transposón original y una "resolvasa" que actúa en las copias duplicadas.

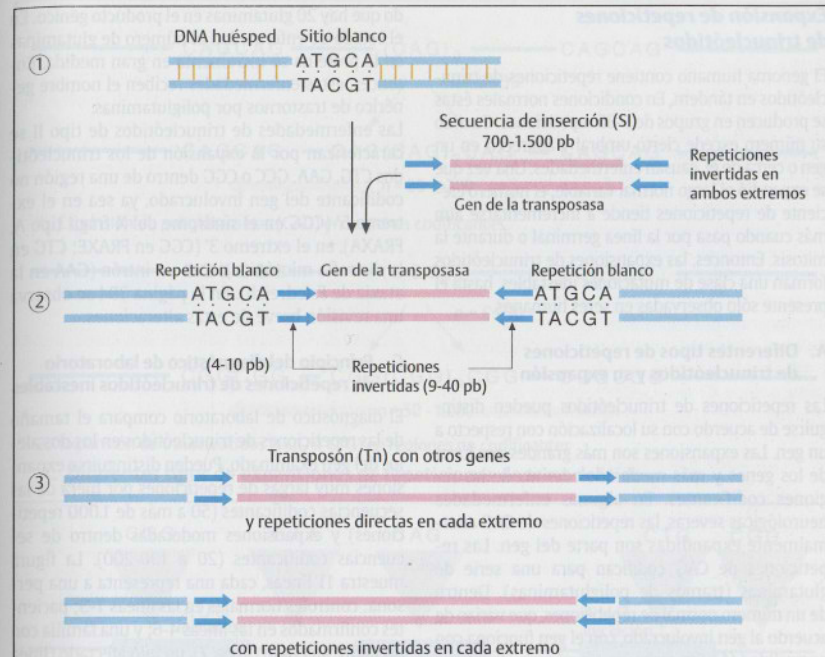
En la transposición no replicativa (2) el propio elemento transponible se mueve como una entidad física directamente a otro sitio. El sitio donante puede repararse (en eucariotes) o destruirse (en bacterias) si está presente más de una copia del cromosoma.

C. Transposición de retroelementos

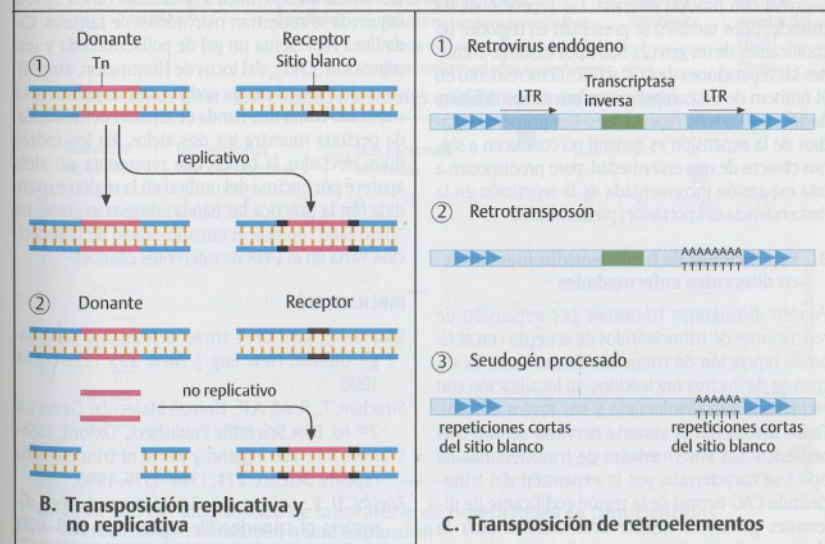
La retrotransposición requiere la síntesis de una copia de RNA del retroelemento insertado. Los retrovirus, incluido el virus de la inmunodeficiencia humana, y los virus oncogénicos a RNA son retroelementos importantes (véanse págs. 100 y 314). El primer paso en la retrotransposición es la síntesis de una copia de RNA del retroelemento insertado, seguido de la transcripción inversa hasta la secuencia de poliadenilación en la repetición terminal larga 3' (*3' long terminal repeat* o 3' LTR). Se muestran tres clases importantes de transposones de mamíferos que sufren o sufrieron retrotransposición a través de un intermediario de RNA. Los retrovirus endógenos (1) son secuencias que se parecen a los retrovirus pero que no pueden infectar células nuevas y están restringidos a un genoma. Los retrotransposones no virales (2) carecen de LTR y, por lo general, de otras partes de los retrovirus. Ambos tipos contienen la enzima transcriptasa inversa y en consecuencia son capaces de transponerse de manera independiente. Los pseudogenes procesados (3) o "retropseudogenes" carecen de la transcriptasa inversa y no pueden transponerse con independencia. Hay dos grupos: bajo número de copias de pseudogenes procesados transcritos por la RNA polimerasa II y alto número de copias de secuencias SINE de mamíferos, como las secuencias *Alu* humanas y las familias de repeticiones B1 de ratón.

BIBLIOGRAFÍA

- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
 Lewin, B.: Genes VII. Oxford University Press, Oxford, 2000.
 Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1996.



A. Secuencias de inserción (SI) y transposones (Tn)



Expansión de repeticiones de trinucleótidos

El genoma humano contiene repeticiones de trinucleótidos en tándem. En condiciones normales éstas se producen en grupos de 5-35 repeticiones. Cuando su número excede cierto umbral y aparecen en un gen o cerca de él, causan enfermedades. Una vez que se expandió el largo normal variable, el número creciente de repeticiones tiende a incrementarse aun más cuando pasa por la línea germinal o durante la mitosis. Entonces, las expansiones de trinucleótidos forman una clase de mutaciones inestables, hasta el presente sólo observadas en seres humanos.

A. Diferentes tipos de repeticiones de trinucleótidos y su expansión

Las repeticiones de trinucleótidos pueden distinguirse de acuerdo con su localización con respecto a un gen. Las expansiones son más grandes por fuera de los genes y más moderadas dentro de las regiones codificantes. En algunas enfermedades neurológicas severas, las repeticiones de CAG anormalmente expandidas son parte del gen. Las repeticiones de CAG codifican para una serie de glutaminas (tramos de poliglutaminas). Dentro de un número normal de repeticiones, que varían de acuerdo al gen involucrado, con el gen funciona con normalidad (1). Sin embargo, un número de repeticiones expandido conduce a un producto génico anormal con función alterada. Las repeticiones de trinucleótidos también se presentan en regiones no codificantes de un gen (2). Son tipos bastante comunes las repeticiones de CGG y GCC. El incremento en el número de estas repeticiones puede ser drástico, hasta 1.000 o más repeticiones. Los primeros estadios de la expansión se general no conducen a signos clínicos de una enfermedad, pero predisponen a una expansión incrementada de la repetición en la descendencia del portador (premutación).

B. Repeticiones de trinucleótidos inestables en diferentes enfermedades

Pueden distinguirse trastornos por expansión de repeticiones de trinucleótidos de acuerdo con el tipo de repetición de trinucleótidos, es decir, la secuencia de los tres nucleótidos, su localización con respecto al gen involucrado y sus rasgos clínicos. Todos involucran el sistema nervioso central o el periférico. Las enfermedades de trinucleótidos de tipo I se caracterizan por la expansión del trinucleótido CAG dentro de la región codificante de diferentes genes. El triplete CAG codifica para la glutamina. En condiciones normales en estos genes aparecen cerca de 20 repeticiones de CAG, de mo-

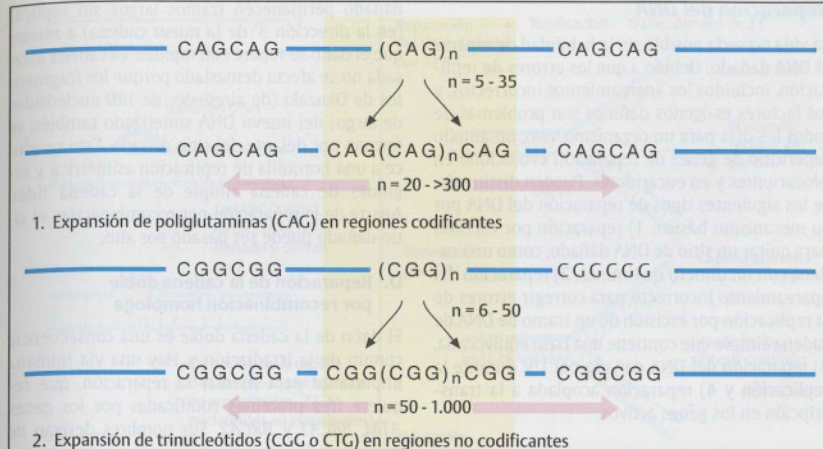
do que hay 20 glutaminas en el producto génico. En el estado de enfermedad el número de glutaminas en la proteína se incrementa en gran medida. Entonces, estas enfermedades reciben el nombre genérico de trastornos por poliglutaminas. Las enfermedades de trinucleótidos de tipo II se caracterizan por la expansión de los trinucleótidos CTG, GAA, GCC o CGG dentro de una región no codificante del gen involucrado, ya sea en el extremo 5' (CGG en el síndrome del X frágil tipo A, FRAXA), en el extremo 3' (CGG en FRAXE; CTG en la distrofia miotónica), o en un intrón (GAA en la ataxia de Friedreich). En la página 394 se observa una revisión breve de estas alteraciones.

C. Principio del diagnóstico de laboratorio de repeticiones de trinucleótidos inestables

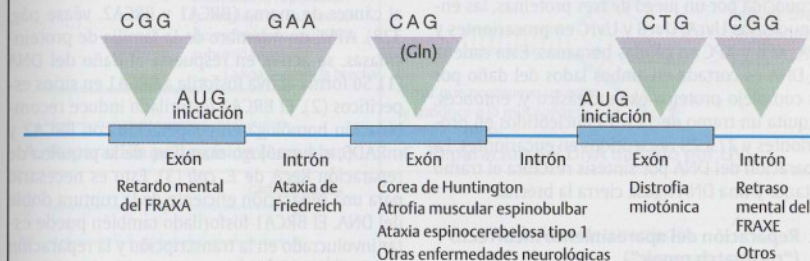
El diagnóstico de laboratorio compara el tamaño de las repeticiones de trinucleótidos en los dos alelos del gen examinado. Pueden distinguirse expansiones muy largas de repeticiones por fuera de las secuencias codificantes (50 a más de 1.000 repeticiones) y expansiones moderadas dentro de secuencias codificantes (20 a 100-200). La figura muestra 11 líneas, cada una representa a una persona: controles normales en las líneas 1-3; pacientes confirmados en las líneas 4-6; y una familia con un padre afectado (línea 7), un hijo afectado (línea 10), la madre no afectada (línea 11) y dos hijos no afectados: un hijo (línea 8) y una hija (línea 9). A la izquierda se muestran marcadores de tamaño. Cada línea representa un gel de poliacrilamida y una repetición (CAG)_n del locus de Huntington, amplificado por reacción en cadena de la polimerasa, mostrado como una banda de tamaño definido. Cada persona muestra los dos alelos. En los individuos afectados la banda que representa un alelo aparece por encima del umbral en la región expandida (en la práctica las bandas muestran como un "chorreado" porque el tamaño exacto de la repetición varía en el DNA de diferentes células).

BIBLIOGRAFÍA

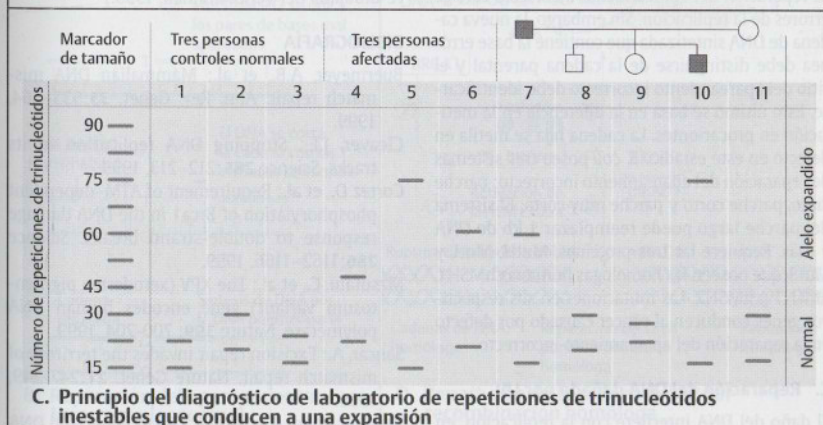
- Rosenberg, R.N.: DNA-triplet repeats and neurologic disease. *New Eng. J. Med.* **335**:1222-1224, 1996.
- Strachan, T., Read, A.P.: *Human Molecular Genetics*. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.
- Warren, S.T.: The expanding world of trinucleotide repeats. *Science* **271**:1374-1375, 1996.
- Zoghbi, H. Y.: Spinocerebellar ataxia and other disorders of trinucleotide repeats, pp. 913-920. In: *Principles of Molecular Medicine*, J.C. Jameson, ed. Humana Press, Totowa, NJ. 1998.



A. Diferentes tipos de expansiones de repeticiones de trinucleótidos



B. Repeticiones de trinucleótidos inestables en diferentes enfermedades



Reparación del DNA

La vida no sería posible sin la habilidad de reparar el DNA dañado. Debido a que los errores de replicación, incluidos los apareamientos incorrectos, y los factores exógenos dañinos son problemas de todos los días para un organismo vivo, un amplio repertorio de genes de reparación evolucionó en procariontes y en eucariontes. Pueden distinguirse los siguientes tipos de reparación del DNA por su mecanismo básico: 1) reparación por escisión para quitar un sitio de DNA dañado, como una cadena con un dímero de timinas, 2) reparación del apareamiento incorrecto para corregir errores de la replicación por escisión de un tramo de DNA de cadena simple que contiene una base equivocada, 3) reparación del DNA dañado por UV durante la replicación y 4) reparación acoplada a la transcripción en los genes activos.

A. Reparación por escisión

La cadena dañada de DNA es torcida y puede ser reconocida por un juego de tres proteínas, las endonucleasas UvrA, UvrB y UvrC en procariontes y XPA, XPB y XPC en células humanas. Esta cadena de DNA es cortada en ambos lados del daño por un complejo proteico exonucleásico y, entonces, se quita un tramo de 12 o 13 nucleótidos en procariontes y 27 a 29 nucleótidos en eucariontes. La reparación del DNA por síntesis restaura el tramo faltante y una DNA ligasa cierra la brecha.

B. Reparación del apareamiento incorrecto ("mismatch repair")

La reparación del apareamiento incorrecto corrige errores de la replicación. Sin embargo, la nueva cadena de DNA sintetizada que contiene la base errónea debe distinguirse de la cadena parental y el sitio del apareamiento incorrecto debe identificarse. Esto último se basa en la diferencia en la metilación en procariontes. La cadena hija se metila en defecto en este estadio. *E. coli* posee tres sistemas de reparación del apareamiento incorrecto: parche largo, parche corto y parche muy corto. El sistema del parche largo puede reemplazar 1 kb de DNA y más. Requiere las tres proteínas, MutH, MutL y MutS, que poseen las homólogas humanas hMSH1, hMLH1 y hMSH2. Las mutaciones en sus respectivos genes conducen al cáncer causado por defecto en la reparación del apareamiento incorrecto.

C. Reparación del DNA dañado por UV

El daño del DNA interfiere con la replicación, en especial en la cadena líder. Por delante del sitio

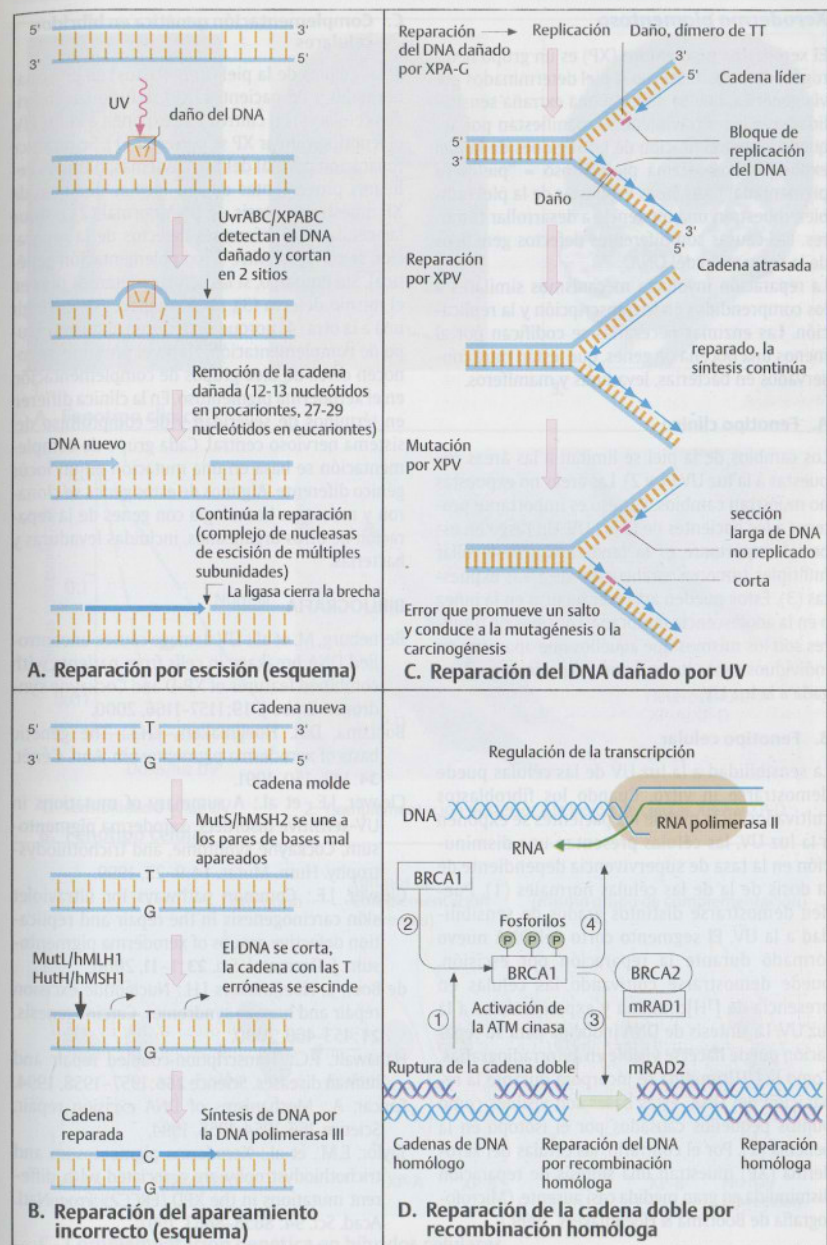
dañado permanecen tramos largos sin replicar (en la dirección 3' de la nueva cadena) a menos que el daño se repare con rapidez. La cadena atrasada no se afecta demasiado porque los fragmentos de Okazaki (de alrededor de 100 nucleótidos de largo) del nuevo DNA sintetizado también se forman por delante del sitio dañado. Esto conduce a una horquilla de replicación asimétrica y regiones de cadena simple de la cadena líder. Aparte de la reparación por recombinación, el sitio dañado puede ser pasado por alto.

D. Reparación de la cadena doble por recombinación homóloga

El daño de la cadena doble es una consecuencia común de la irradiación γ . Hay una vía humana importante para mediar la reparación, que requiere tres proteínas codificadas por los genes *ATM*, *BRCA1* y *BRCA2*. Sus nombres derivan de enfermedades importantes que son consecuencia de mutaciones en esos genes: ataxia telangiectasia (véase pág. 334) y predisposición hereditaria al cáncer de mama (*BRCA1* y *BRCA2*, véase pág. 328). *ATM*, un miembro de la familia de proteinasas, se activa en respuesta al daño del DNA (1). Su forma activa fosforila a *BRCA1* en sitios específicos (2). El *BRCA1* fosforilado induce recombinación homóloga en cooperación con *BRCA2* y *mRAD5*, el homólogo mamífero de la proteína de reparación *RecA* de *E. coli* (3). Esto es necesario para una reparación eficiente de la ruptura doble del DNA. El *BRCA1* fosforilado también puede estar involucrado en la transcripción y la reparación del DNA acoplada a la transcripción (4). (Figura re-dibujada del Ventikaraman, 1999.)

BIBLIOGRAFÍA

- Buermeier, A.B., et al.: Mammalian DNA mismatch repair. *Ann. Rev. Genet.* **33**:533-564, 1999.
- Cleaver, J.E.: Stopping DNA replication in its tracks. *Science* **285**:212-213, 1999.
- Cortez D., et al.: Requirement of ATM-dependent phosphorylation of Brca1 in the DNA damage response to double-strand breaks. *Science* **286**:1162-1166, 1999.
- Masutani, C., et al.: The XPV (xeroderma pigmentosum variant) gene encodes human DNA polymerase. *Nature* **399**: 700-704, 1999.
- Sancar, A.: Excision repair invades the territory of mismatch repair. *Nature Genet.* **21**:247-249, 1999.
- Ventikaraman, A.R.: Breast cancer genes and DNA repair. *Science* **286**:1100-1101, 1999.



Xeroderma pigmentoso

El xeroderma pigmentoso (XP) es un grupo heterogéneo de trastornos de la piel determinados por vía genética, que se deben a una extraña sensibilidad a la luz ultravioleta. Se manifiestan por sequedad y pigmentación de las regiones de la piel expuestas (xeroderma pigmentoso = "piel seca pigmentada"). Las áreas expuestas de la piel también muestran una tendencia a desarrollar tumores. Las causas son diferentes defectos genéticos de la reparación del DNA.

La reparación involucra mecanismos similares a los comprendidos en la transcripción y la replicación. Las enzimas necesarias se codifican por al menos una docena de genes, que están muy conservados en bacterias, levaduras y mamíferos.

A. Fenotipo clínico

Los cambios de la piel se limitan a las áreas expuestas a la luz UV (1 y 2). Las áreas no expuestas no muestran cambios. Por eso es importante proteger a los pacientes de la luz UV. Un rasgo en especial importante es la tendencia a desarrollar múltiples tumores cutáneos en las áreas expuestas (3). Éstos pueden aparecer incluso en la niñez o en la adolescencia temprana. Los tipos de tumores son los mismos que aquéllos que aparecen en individuos sanos luego de una exposición prolongada a la luz UV.

B. Fenotipo celular

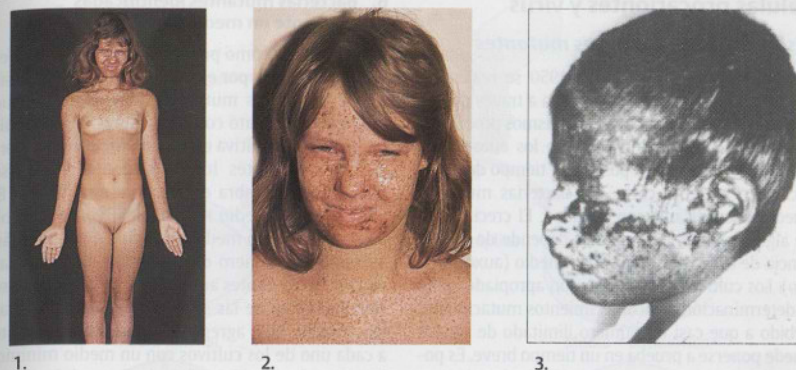
La sensibilidad a la luz UV de las células puede demostrarse in vitro. Cuando los fibroblastos cultivados de la piel de los pacientes se exponen a la luz UV, las células presentan una disminución en la tasa de supervivencia dependiente de la dosis de la de las células normales (1). Pueden demostrarse distintos grados de sensibilidad a la UV. El segmento corto del DNA nuevo formado durante la reparación por escisión, puede demostrarse cultivando las células en presencia de $[^3\text{H}]$ timidina y exponiéndolas a la luz UV. La síntesis de DNA inducida para su reparación puede hacerse visible en autorradiografías. Como la $[^3\text{H}]$ timidina se incorpora durante la reparación del DNA, estas bases son visibles como puntos pequeños causados por el isótopo en la película (2). Por el contrario, las células del xeroderma (XP) muestran una síntesis de reparación disminuida en gran medida casi ausente. (Microfotografía de Bootsma & Hoeijmakers, 1999.)

C. Complementación genética en híbridos celulares

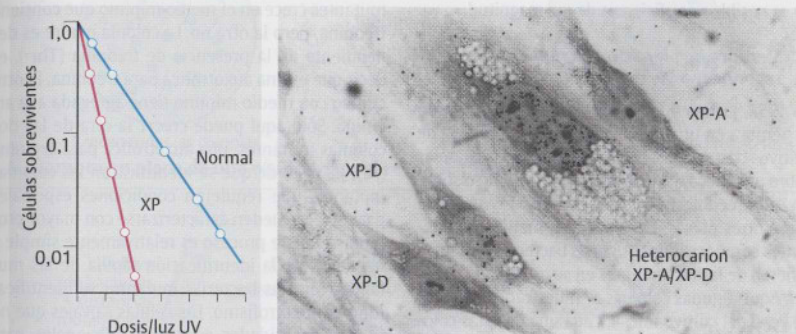
Si las células de la piel (fibroblastos) de personas normales y de pacientes (XP) se fusionan (híbridos celulares) en cultivo y se exponen a la luz UV, el fenotipo celular XP se corregirá (1). Se produce reparación normal del DNA. Además, híbridos celulares provenientes de dos formas distintas de XP muestran síntesis de DNA normal (2) porque las células con diferentes defectos de la reparación se corrigen entre sí (complementación genética). Sin embargo, si las células mutantes poseen el mismo defecto (3), no son capaces de corregir una a la otra (4) porque pertenecen al mismo grupo de complementación. Hasta el presente se conocen cerca de diez grupos de complementación en el xeroderma pigmentoso. En la clínica difieren en términos de severidad y de compromiso del sistema nervioso central. Cada grupo de complementación se basa en una mutación en un locus génico diferente. Algunos de estos genes se clonaron y muestran homología con genes de la reparación de otros organismos, incluidas levaduras y bacterias.

BIBLIOGRAFÍA

- Berneburg, M. et al.: UV damage causes uncontrolled DNA breakage in cells from patients with combined features of XP-D and Cockayne syndrome. *Embo J.* 19:1157-1166, 2000.
- Bootsma, D.A. Hoeijmakers, J.H.J.: The genetic basis of xeroderma pigmentosum. *Ann. Génét.* 34:143-150, 1991.
- Cleaver, J.E., et al.: A summary of mutations in UV-sensitive disorders: xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome, and trichothiodystrophy. *Hum. Mutat.* 14:9-22, 1999.
- Cleaver, J.E.: Common pathways for ultraviolet skin carcinogenesis in the repair and replication defective groups of xeroderma pigmentosum. *J. Dermatol. Sci.* 23:1-11, 2000.
- de Boer, J., Hoeijmakers J.H.: Nucleotide excision repair and human syndromes. *Carcinogenesis.* 21:453-460, 2000.
- Hanawalt, P.C.: Transcription-coupled repair and human diseases. *Science* 266:1957-1958, 1994.
- Sancar, A.: Mechanisms of DNA excision repair. *Science* 266:1954-1956, 1994.
- Taylor, E.M., et al.: Xeroderma pigmentosum and trichothiodystrophy are associated with different mutations in the XPD (ERCC2). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94: 8658-8663, 1997.



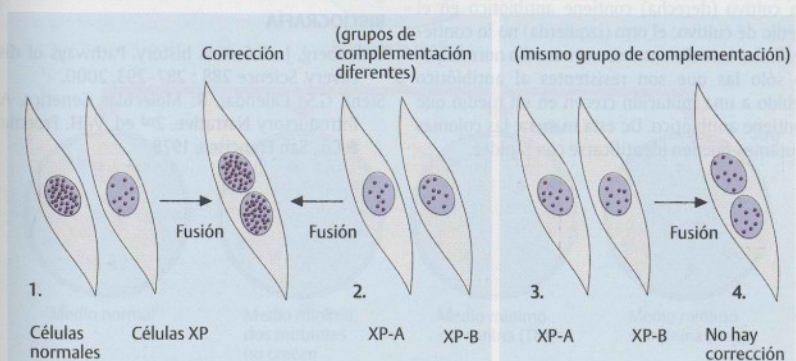
1. Fenotipo clínico



1. Sensibilidad a la luz UV

2. Complementación posterior a la fusión de células XP-A y XP-D

B. Fenotipo celular



C. Complementación genética en híbridos celulares

Células procariontes y virus

Aislamiento de bacterias mutantes

Al comienzo de la década de 1950 se realizaron avances importantes en la genética a través del estudio de las bacterias. Como organismos procariontes, poseen ciertas ventajas sobre los eucariontes porque son haploides y poseen un tiempo de generación en extremo corto. Las bacterias mutantes pueden identificarse con facilidad. El crecimiento de algunas bacterias mutantes depende de la presencia de cierta sustancia en el medio (auxotrofismo). Los cultivos de bacterias son apropiados para la determinación de acontecimientos mutacionales debido a que casi un número ilimitado de células puede ponerse a prueba en un tiempo breve. Es posible detectar una mutante en 10^7 colonias, sin gran dificultad. En el análisis de organismos eucariontes no es posible una eficiencia de esa magnitud.

A. Siembra en placa de una réplica para reconocer a las mutantes

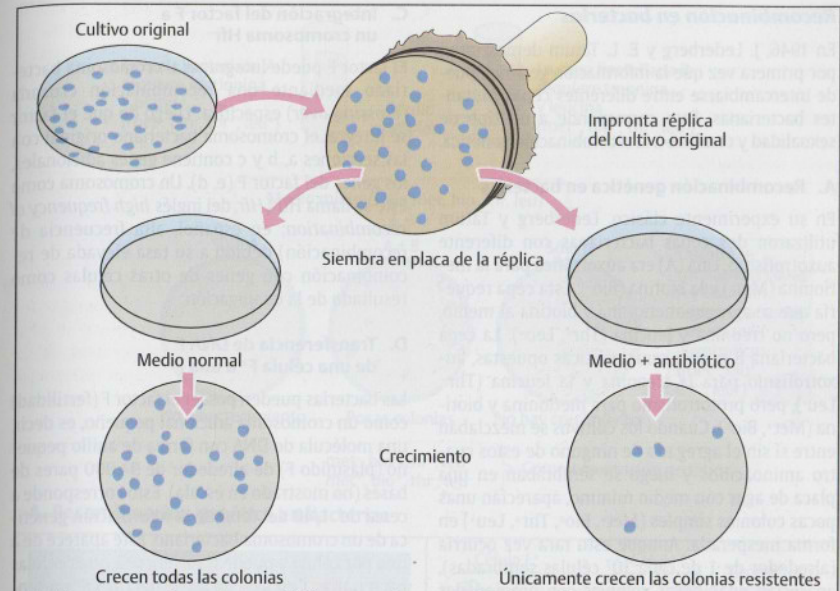
En 1952, Joshua y Esther Lederberg desarrollaron la siembra en una placa de agar de una réplica de cultivos bacterianos. Con este método, las colonias sobre una placa de agar pueden recuperarse sobre un sello recubierto con una tela suave y ubicarse sobre otras placas de cultivo con medios de diferentes composiciones. Algunas bacterias mutantes difieren de las no mutantes en su habilidad de crecer. Aquí, algunas colonias se muestran en la placa de Petri del cultivo inicial. Cada una de estas colonias se originó a partir de una sola célula. Por medio de la siembra en placa de agar de una réplica, las colonias se transfieren a dos cultivos nuevos. Un cultivo (derecha) contiene antibiótico en el medio de cultivo; el otro (izquierda) no lo contiene. Todas las colonias crecen en medio normal pero sólo las que son resistentes al antibiótico debido a una mutación crecen en un medio que contiene antibiótico. De esta manera, las colonias mutantes pueden identificarse con rapidez.

B. Bacterias mutantes identificadas mediante un medio auxotrófico

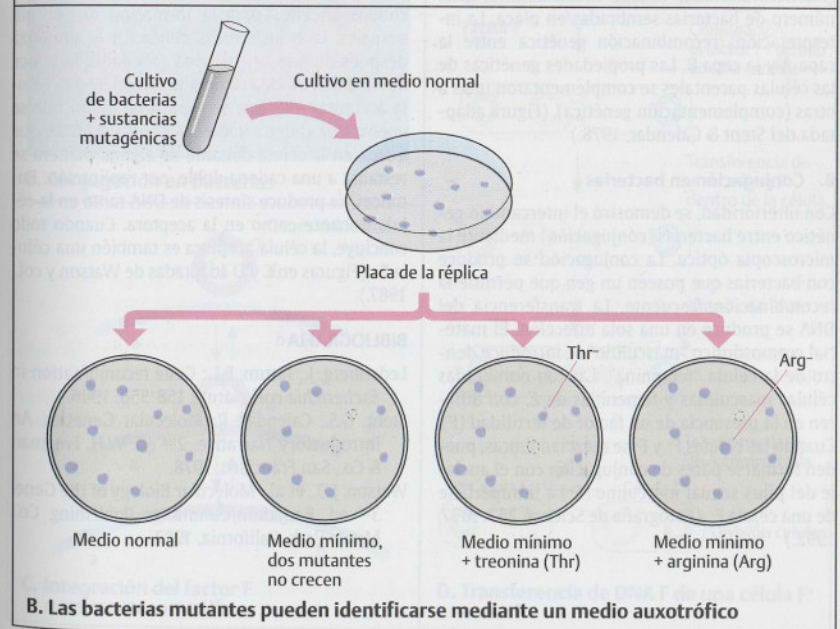
Aquí se ilustra cómo pueden distinguirse las diferentes mutantes, por ejemplo, luego de la exposición a sustancias mutagénicas. Después de que una colonia se trató con una sustancia mutagénica, primero se cultiva en un medio nutriente normal. Las mutantes luego pueden identificarse mediante la siembra en placa de una réplica. El cultivo con el medio normal sirve como control. En un cultivo con medio mínimo, en el que están ausentes un número de sustancias, dos colonias no crecen (mutantes auxotróficos). Al inicio, no se sabe para cuál de las sustancias son auxotróficas las colonias. Si se agrega un aminoácido diferente a cada uno de los cultivos con un medio mínimo, por ejemplo, treonina (Thr) a uno y arginina (Arg) al otro, puede observarse que una de las colonias mutantes crece en el medio mínimo que contiene treonina, pero la otra no. La colonia madre es dependiente de la presencia de treonina (Thr), es decir que es una auxotrófica para treonina. El otro cultivo con medio mínimo tiene agregada a la arginina. Sólo aquí puede crecer la otra de las dos colonias mutantes, una auxotrófica para arginina (Arg). Luego de que se identificaron las colonias mutantes que requieren condiciones especiales para crecer pueden caracterizarse con mayor profundidad. Este proceso es relativamente simple y hace posible la identificación rápida de las mutantes. Muchas bacterias mutantes se identificaron por auxotrofismo. Las células salvajes que no poseen necesidades especiales adicionales para crecer se denominan prototrofos (figuras adaptadas del Stent & Calendar, 1978).

BIBLIOGRAFÍA

- Lederberg, J.: Infectious history. Pathways of discovery. *Science* 288 : 287-293, 2000.
Stent, G.S., Calendar, R: Molecular Genetics. An Introductory Narrative. 2nd ed. W.H. Freeman & Co., San Francisco, 1978.



A. Siembra en placa de una réplica para el reconocimiento de las mutantes



B. Las bacterias mutantes pueden identificarse mediante un medio auxotrófico

Recombinación en bacterias

En 1946, J. Lederberg y E. L. Tatum demostraron por primera vez que la información genética puede intercambiarse entre diferentes cepas mutantes bacterianas. Esto corresponde a un tipo de sexualidad y conduce a la recombinación genética.

A. Recombinación genética en bacterias

En su experimento clásico, Lederberg y Tatum utilizaron dos cepas bacterianas con diferente auxotrofismo. Una (A) era auxotrófica para la metionina (Met⁻) y la biotina (Bio⁻). Esta cepa requería que se agregue metionina y biotina al medio, pero no treonina y leucina (Thr⁺, Leu⁺). La cepa bacteriana B poseía características opuestas, auxotrofismo para la treonina y la leucina (Thr⁻, Leu⁻), pero prototrofismo para metionina y biotina (Met⁺, Bio⁺). Cuando los cultivos se mezclaban entre sí sin el agregado de ninguno de estos cuatro aminoácidos y luego se sembraban en una placa de agar con medio mínimo, aparecían unas pocas colonias simples (Met⁺, Bio⁺, Thr⁺, Leu⁺) en forma inesperada. Aunque esto rara vez ocurría (alrededor de 1 de cada 10⁷ células sembradas), aparecían unas pocas colonias con propiedades genéticas alteradas debido usualmente al gran número de bacterias sembradas en placa. La interpretación: recombinación genética entre la cepa A y la cepa B. Las propiedades genéticas de las células parentales se complementaron unas a otras (complementación genética). (Figura adaptada del Stent & Calendar, 1978.)

B. Conjugación en bacterias

Con posterioridad, se demostró el intercambio genético entre bacterias (conjugación) mediante la microscopía óptica. La conjugación se produce con bacterias que poseen un gen que permite la recombinación frecuente. La transferencia del DNA se produce en una sola dirección. El material cromosómico "masculino" se introduce dentro de la célula "femenina". Las tan nombradas células masculinas y femeninas de *E. coli* difieren en la presencia de un factor de fertilidad (F). Cuando las células F⁺ y F⁻ se mezclan juntas, pueden formarse pares de conjugación con el anclaje del pilus sexual masculino (F⁺) a la superficie de una célula F⁻. (Fotografía de Science 257:1037, 1992.)

C. Integración del factor F a un cromosoma Hfr

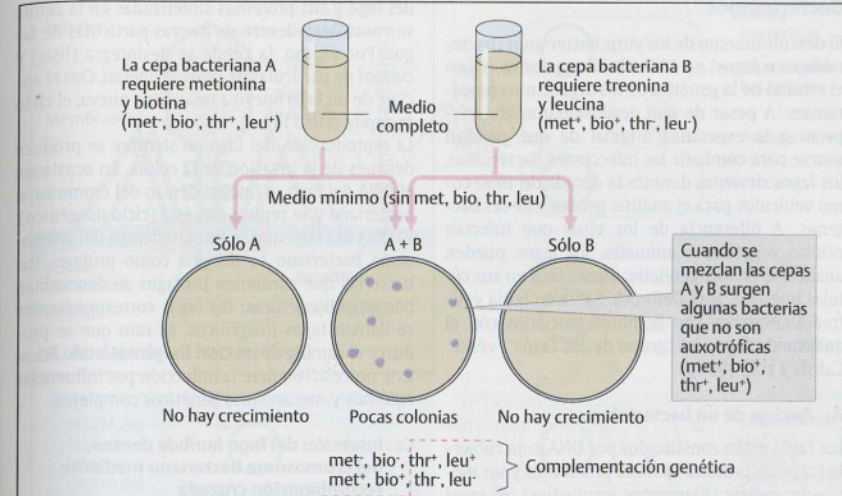
El factor F puede integrarse al cromosoma bacteriano mediante una recombinación cruzada (*crossing over*) específica. Luego de que el factor se integra, el cromosoma bacteriano original con las secciones a, b y c contiene genes adicionales, los genes del factor F (e, d). Un cromosoma como éste se llama Hfr (*Hfr*, del inglés *high frequency of recombination*; en español, alta frecuencia de recombinación) debido a su tasa elevada de recombinación con genes de otras células como resultado de la conjugación.

D. Transferencia de DNA F de una célula F⁺ a una F⁻

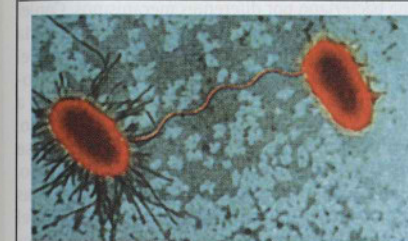
Las bacterias pueden poseer el factor F (fertilidad) como un cromosoma adicional pequeño, es decir, una molécula de DNA con forma de anillo pequeño (plásmido F) de alrededor de 94.000 pares de bases (no mostrado en escala). Esto corresponde a cerca de 1/40 del total de la información genética de un cromosoma bacteriano. Éste aparece de a uno por célula y puede transferirse a otras células bacterianas. Cerca de un tercio del DNA F⁺ presenta en genes relacionados con la transferencia, incluidos aquellos para la formación de los pili sexuales. La transferencia del factor F comienza después de que se abre una cadena de la hélice doble del DNA. Una cadena se transfiere a la célula aceptora. Allí, ésta se replica de modo que se vuelve una cadena doble. La cadena de DNA que queda en la célula donante de alguna manera se restaura a una cadena doble, por replicación. Entonces, se produce síntesis de DNA tanto en la célula donante como en la aceptora. Cuando todo concluye, la célula aceptora es también una célula F⁺. (Figuras en C y D adaptadas de Watson y col., 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

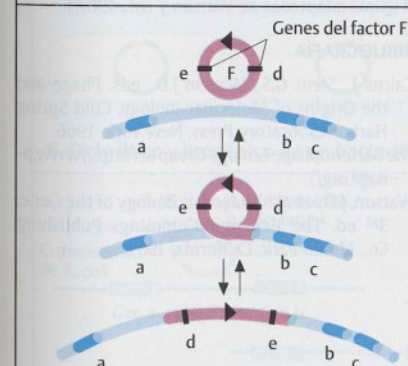
Lederberg, J., Tatum, E.L.: Gene recombination in *Escherichia coli*. Nature 158:558, 1946.
 Stent, G.S., Calendar, R: Molecular Genetics. An Introductory Narrative. 2nd ed. W.H. Freeman & Co., San Francisco, 1978.
 Watson, J.D., et al.: Molecular Biology of the Gene. 3rd ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



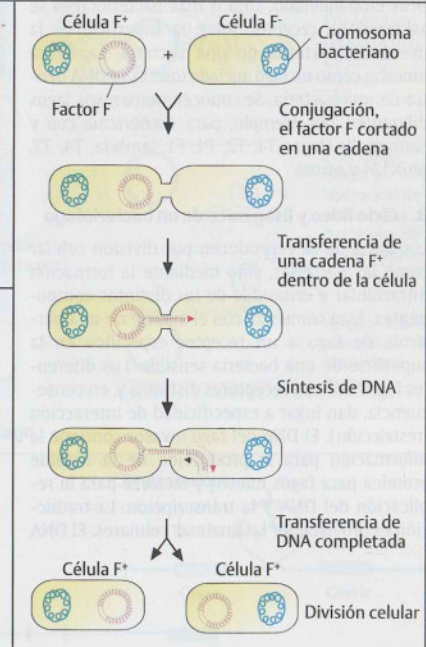
A. Recombinación genética en bacterias



B. Conjugación en bacterias



C. Integración del factor F a un cromosoma Hfr



D. Transferencia de DNA F de una célula F⁺ a una F⁻

Bacteriófagos

El descubrimiento de los virus bacterianos (bacteriófagos o fagos) en 1941 abrió una nueva era en el estudio de la genética de los organismos procariontes. A pesar de que desilusionaron con respecto a la esperanza original de que podrían usarse para combatir las infecciones bacterianas, los fagos sirvieron durante la década de 1950 como vehículos para el análisis genético de las bacterias. A diferencia de los virus que infectan células vegetales o animales, los fagos pueden analizarse en forma relativamente fácil en sus células huésped. Max Delbrück, Salvador Luria y Alfred D. Hershey son nombres asociados con el análisis de fagos (el "grupo de los fagos", véase: Cairns y col., 1966).

A. Anclaje de un bacteriófago

Los fagos están constituidos por DNA, una cubierta (cápside proteica) para la protección y un medio de anclaje (filamentos terminales). Al igual que otros virus, los fagos no son otra cosa más que DNA empaquetado. Uno o más bacteriófagos se anclan a un receptor sobre la superficie de la membrana externa de una bacteria. La figura muestra cómo un fago anclado inserta su DNA dentro de una bacteria. Se conocen numerosos fagos diferentes, por ejemplo, para *Escherichia coli* y *Salmonella* (fagos T1, T2, P1, F1, lambda, T4, T7, phiX174 y otros).

B. Ciclo lítico y lisogénico de un bacteriófago

Los fagos no se reproducen por división celular como las bacterias, sino mediante la formación intracelular y ensamble de los distintos componentes. Esto comienza con el anclaje de una partícula de fago a un receptor específico en la superficie de una bacteria sensible. Los diferentes fagos utilizan receptores distintos y, en consecuencia, dan lugar a especificidad de interacción (restricción). El DNA del fago invasor contiene la información para la producción de la cápside proteica para fagos nuevos y factores para la replicación del DNA y la transcripción. La traducción es provista por las enzimas celulares. El DNA

del fago y sus proteínas sintetizadas en la célula se ensamblan dentro de nuevas partículas de fagos. Por último, la célula se desintegra (lisis) y cientos de partículas de fagos se liberan. Con el anclaje de un fago nuevo a una célula nueva, el ciclo se repite (ciclo lítico).

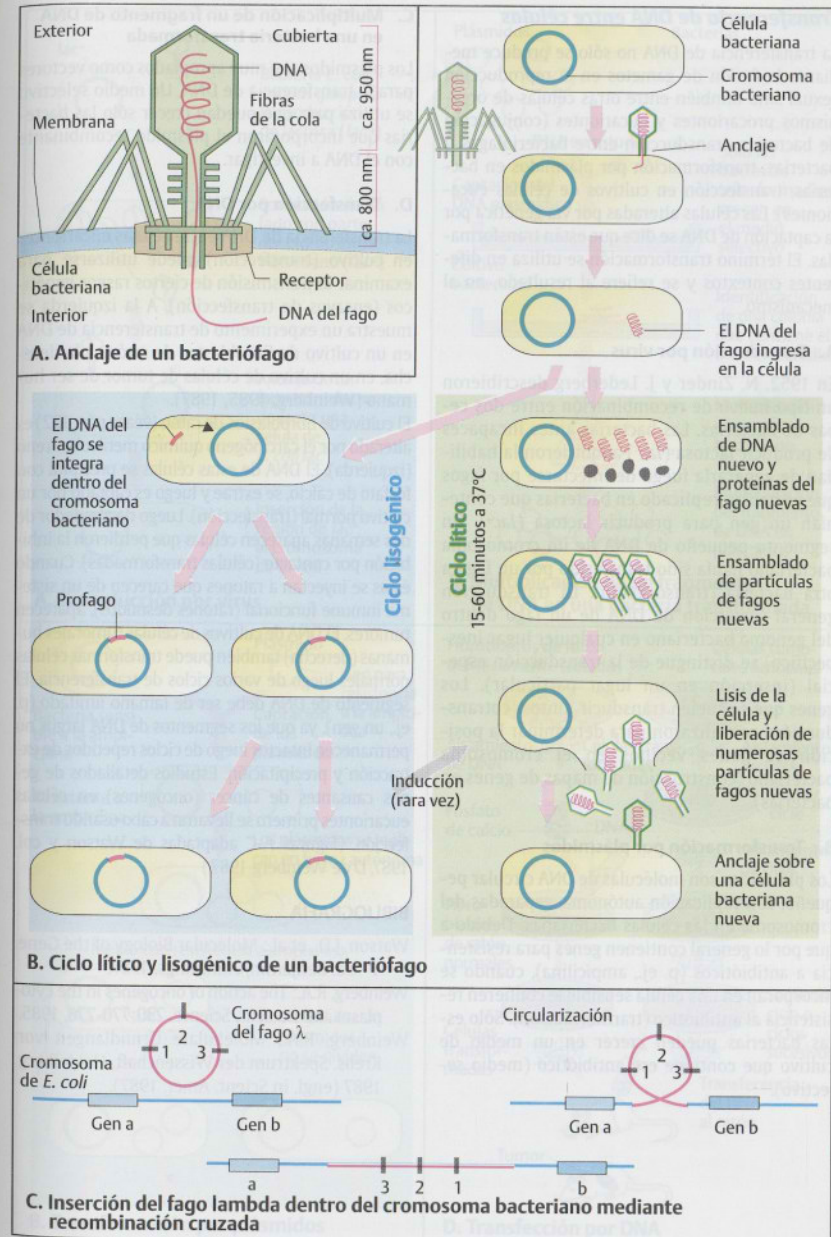
La reproducción del fago no siempre se produce después de la invasión de la célula. En ocasiones el DNA del fago se integra dentro del cromosoma bacteriano y se replica con éste (ciclo lisogénico). El DNA del fago que se integró dentro del cromosoma bacteriano se designa como profago. Las bacterias que contienen profagos se denominan bacterias lisogénicas; los fagos correspondientes se llaman fagos lisogénicos. Es raro que se produzca el cambio de un ciclo lisogénico a uno lítico. Este proceso requiere la inducción por influencias externas y mecanismos genéticos complejos.

C. Inserción del fago lambda dentro del cromosoma bacteriano mediante recombinación cruzada

Un fago puede insertarse dentro de un cromosoma bacteriano por diferentes mecanismos. Con el fago lambda (λ), la inserción es consecuencia de la recombinación cruzada (*crossing over*) entre el cromosoma de *E. coli* y el lambda. Primero, el cromosoma lambda forma un anillo. Luego se une a una sección homóloga del cromosoma bacteriano. Ambos cromosomas, el bacteriano y el lambda, se abren mediante una ruptura y se unen uno al otro. Como las homologías entre los dos cromosomas se limitan a regiones muy pequeñas, el DNA del fago rara vez se integra. El fago se libera (y se induce el ciclo lítico) mediante el proceso inverso. (Figuras adaptadas de Watson y col., 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

- Cairns J., Stent G.S., Watson J.D., eds. Phage and the Origins of Molecular Biology. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1966.
The Bacteriophage Ecology Group at (<http://www.phage.org/>).
Watson, J.D., et al.: Molecular Biology of the Gene. 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



Transferencia de DNA entre células

La transferencia de DNA no sólo se produce mediante la fusión de gametos en la reproducción sexual sino también entre otras células de organismos procariontes y eucariontes (conjugación de bacterias, transducción entre bacteriófagos y bacterias, transformación por plásmidos en bacterias, transfección en cultivos de células eucariontes). Las células alteradas por vía genética por la captación de DNA se dice que están transformadas. El término transformación se utiliza en diferentes contextos y se refiere al resultado, no al mecanismo.

A. Transducción por virus

En 1952, N. Zinder y J. Lederberg describieron un tipo nuevo de recombinación entre dos cepas de bacterias. Las bacterias antes incapaces de producir lactosa (*lac⁻*) adquirieron la habilidad de generarla luego de infectarse por fagos que se habían replicado en bacterias que contenían un gen para producir lactosa (*lac⁺*). Un segmento pequeño de DNA de un cromosoma bacteriano había sido transferido por un fago a otra bacteria (transducción). La transducción general (inserción de DNA de un fago dentro del genoma bacteriano en cualquier lugar inespecífico) se distingue de la transducción especial (inserción en un lugar particular). Los genes que se suelen transducir juntos (cotransducción) se utilizaron para determinar la posición de genes vecinos en el cromosoma bacteriano (construcción de mapas de genes en bacterias).

B. Transformación por plásmidos

Los plásmidos son moléculas de DNA circular pequeño, con replicación autónoma, separadas del cromosoma en las células bacterianas. Debido a que por lo general contienen genes para resistencia a antibióticos (p. ej., ampicilina), cuando se incorporan en una célula sensible le confieren resistencia al antibiótico (transformación). Sólo estas bacterias pueden crecer en un medio de cultivo que contiene ese antibiótico (medio selectivo).

C. Multiplicación de un fragmento de DNA en una bacteria transformada

Los plásmidos son muy apropiados como vectores para la transferencia de DNA. Un medio selectivo se utiliza para que puedan crecer sólo las bacterias que incorporaron el plásmido recombinante con el DNA a investigar.

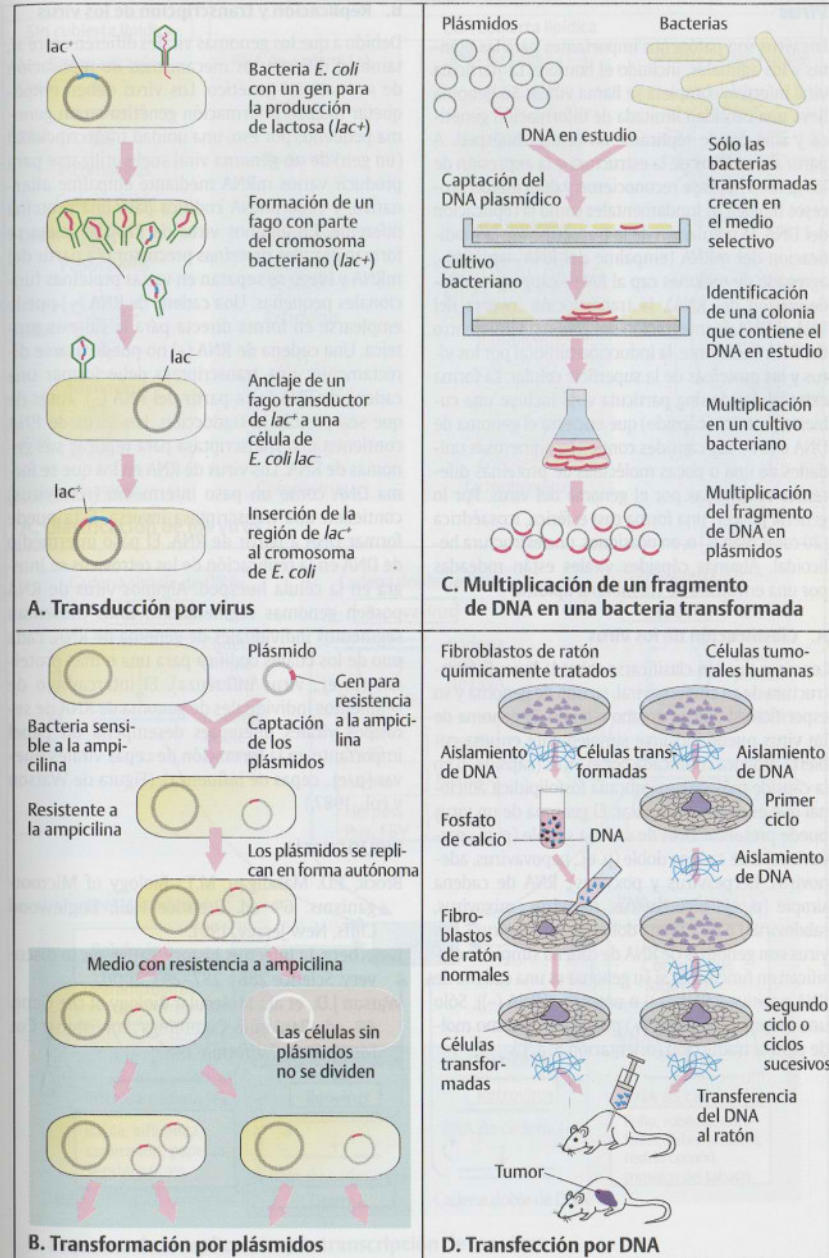
D. Transfección por DNA

La transferencia de DNA entre células eucariontes en cultivo (transfección) puede utilizarse para examinar la transmisión de ciertos rasgos genéticos (ensayos de transfección). A la izquierda se muestra un experimento de transferencia de DNA en un cultivo de fibroblastos de ratón; a la derecha, en un cultivo de células de tumor de ser humano (Weinberg, 1985, 1987).

El cultivo de fibroblastos de ratón (véase pág. 122) es alterado por el carcinógeno químico metilcolantreno (izquierda). El DNA de estas células se precipita con fosfato de calcio, se extrae y luego es captado por un cultivo normal (transfección). Luego de alrededor de dos semanas aparecen células que perdieron la inhibición por contacto (células transformadas). Cuando éstas se inyectan a ratones que carecen de un sistema inmune funcional (ratones desnudos), aparecen tumores. El DNA de cultivos de células tumorales humanas (derecha) también puede transformar células normales luego de varios ciclos de transferencia. El segmento de DNA debe ser de tamaño limitado (p. ej., un gen), ya que los segmentos de DNA largos no permanecen intactos luego de ciclos repetidos de extracción y precipitación. Estudios detallados de genes causantes de cáncer (oncogenes) en células eucariontes primero se llevaron a cabo usando transfección. (Figuras A-C adaptadas de Watson y col. 1987, D de Weinberg 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

Watson, J.D., et al.: Molecular Biology of the Gene. 4th ed. Benjamin/Cummings, 1987.
 Weinberg, R.A.: The action of oncogenes in the cytoplasm and nucleus. Science. 230:770-776, 1985.
 Weinberg, R.A.: Molekulare Grundlagen von Krebs. Spektrum der Wissenschaft, Heidelberg, 1987 (engl. in Scient. Amer. 1987).



Virus

Los virus son patógenos importantes para las plantas y los animales, incluido el hombre. La partícula viral infectiva completa se llama virión. Su genoma lleva una cantidad limitada de información genética y sólo puede replicarse en células huésped. A partir del análisis de la estructura y la expresión de los genes virales se reconocieron y dilucidaron procesos biológicos fundamentales como la replicación del DNA, la regulación de la transcripción, la modificación del mRNA (empalme del RNA *-splicing-*, agregado de regiones cap al RNA *-capping-*, poliadenilación del RNA), la transcripción inversa del RNA al DNA, la integración del genoma viral dentro del DNA eucarionte, la inducción tumoral por los virus y las proteínas de la superficie celular. La forma extracelular de una partícula viral incluye una cubierta proteica (cápside) que encierra el genoma de DNA o RNA. Las cápsides contienen numerosas unidades de una o pocas moléculas de proteínas diferentes codificadas por el genoma del virus. Por lo general poseen una forma casi esférica, icosaédrica (20 caras planas) o, en ocasiones, una estructura helicoidal. Algunas cápsides virales están rodeadas por una envoltura de membrana lipídica.

A. Clasificación de los virus

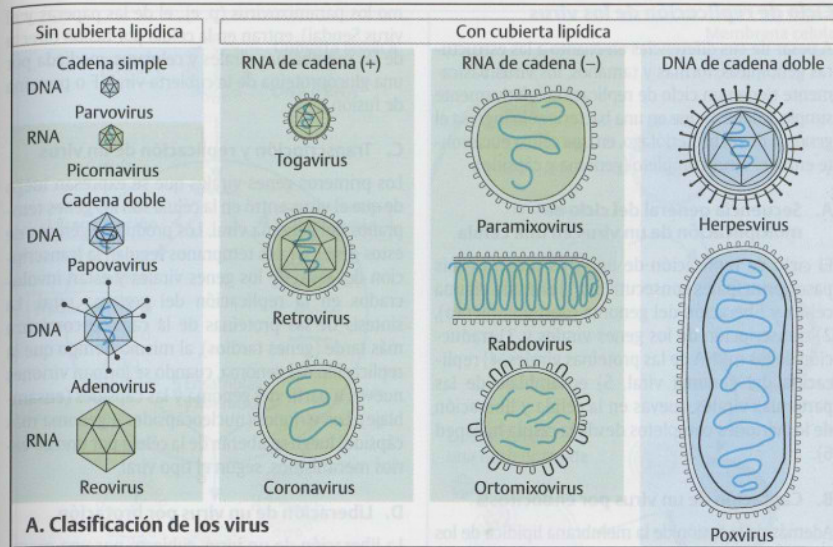
Los virus pueden clasificarse sobre la base de la estructura de su cubierta viral, su tipo de genoma y su especificidad por un órgano o tejido. El genoma de un virus puede incluirse simplemente en una cubierta proteica codificada por el virus (cápside) o en la cápside más una membrana fosfolipídica adicional que es de origen celular. El genoma de un virus puede presentar DNA de cadena simple (p. ej., parvovirus) o de cadena doble (p. ej., papovavirus, adenovirus, herpesvirus y poxvirus), RNA de cadena simple (p. ej., picornavirus, togavirus, mixovirus, rabdovirus) o de cadena doble (p. ej., reovirus). Los virus con genomas de RNA de cadena simple se clasifican en función de si su genoma es una cadena de RNA positiva [(RNA (+)) o negativa [(RNA (-))]. Sólo una cadena de un RNA (+) puede servir como molde para la traducción (orientación 5' a 3').

B. Replicación y transcripción de los virus

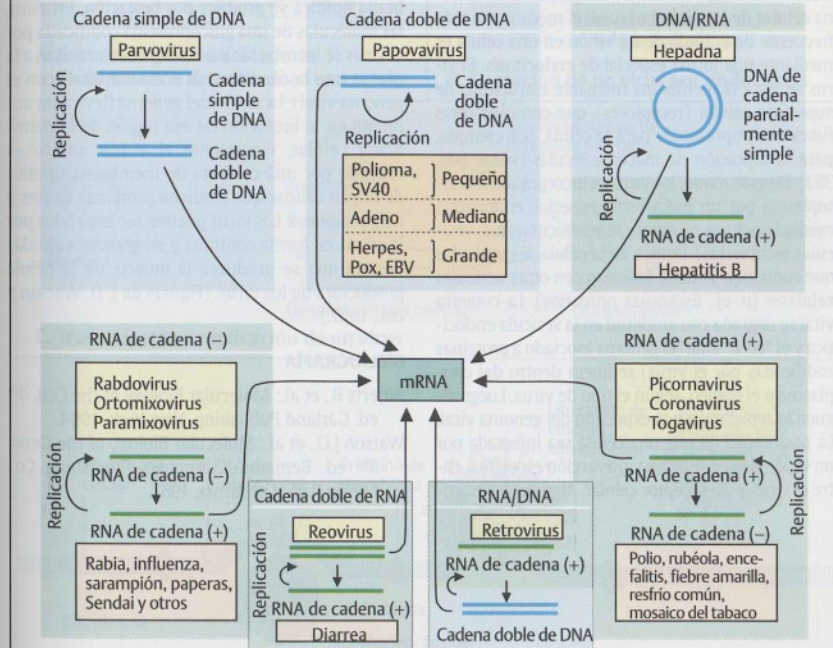
Debido a que los genomas virales difieren entre sí, también difieren los mecanismos de replicación de su material genético. Los virus deben empaquetar toda su información genética en un genoma pequeño; por eso, una unidad transcripcional (un gen) de un genoma viral suele utilizarse para producir varios mRNA mediante empalme alternativo, y cada mRNA codifica para una proteína diferente. En algunos virus de RNA, al inicio se forman grandes proteínas precursoras a partir del mRNA y luego se separan en varias proteínas funcionales pequeñas. Una cadena de RNA (+) puede emplearse en forma directa para la síntesis proteica. Una cadena de RNA (-) no puede usarse directamente; una transcriptasa debe formar una cadena de RNA (+) a partir del RNA (-), antes de que sea posible la traducción. Los virus de RNA contienen una transcriptasa para replicar sus genomas de RNA. Los virus de RNA en los que se forma DNA como un paso intermedio (retrovirus) contienen una transcriptasa inversa. Ésta puede formar DNA a partir de RNA. El paso intermedio de DNA en la replicación de los retrovirus se integra en la célula huésped. Algunos virus de RNA poseen genomas segmentados. Éstos presentan segmentos individuales de genoma de RNA, cada uno de los cuales codifica para una o más proteínas (p. ej., virus influenza). El intercambio de segmentos individuales de genoma de RNA de serotipos virales diferentes desempeña un papel importante en la formación de cepas virales nuevas (p. ej., cepas de influenza). (Figura de Watson y col., 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

Brock, T.D. Mandigan, M.T.: *Biology of Microorganisms*. 6th ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1991.
 Lederberg, J.: Infectious history. *Pathways to discovery*. Science 288 : 287-293, 2000.
 Watson J.D., et al.: *Molecular Biology of the Gene*. 4th ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park California, 1987.



A. Clasificación de los virus



B. Esquema de la replicación y la transcripción de los virus

Ciclo de replicación de los virus

A pesar de sus diferencias en cuanto a las estructuras genómicas, formas y tamaños, los virus básicamente tienen un ciclo de replicación relativamente simple. Mientras que en una bacteria sólo ingresa el genoma de un bacteriófago, en una célula eucarionte entra el virus completo (genoma y cápside).

A. Secuencia general del ciclo de multiplicación de un virus en una célula

El ciclo de replicación de un virus presenta seis pasos principales consecutivos: 1) entrada en una célula y liberación del genoma (desnudamiento), 2) transcripción de los genes virales y 3) traducción de los mRNA de las proteínas virales, 4) replicación del genoma viral, 5) ensamblaje de las partículas virales nuevas en la célula y liberación de los viriones completos desde la célula huésped (6).

B. Captación de un virus por endocitosis

Además de la fusión de la membrana lipídica de los virus contenidos en una membrana con la membrana celular de la célula huésped, el mecanismo más frecuente de entrada de un virión en una célula es mediante una forma especial de endocitosis. El virus se fija a la membrana mediante estructuras de superficie celular (receptores), que cumplen otras funciones importantes para la célula, por ejemplo, para la captación de macromoléculas (véase pág. 352). De este modo, los virus se incorporan en el citoplasma por un mecanismo especial, endocitosis mediada por un receptor (hoyos recubiertos, vesículas recubiertas). Dentro de la célula, las vesículas que contienen virus se fusionan con otras vesículas celulares (p. ej., lisosomas primarios). La cubierta viral se degrada con amplitud en la vesícula endocítica y el "core" viral (el genoma asociado a proteínas codificadas por el virus) se libera dentro del citoplasma o el núcleo, según el tipo de virus. Luego siguen la replicación y la expresión del genoma viral. La posibilidad de que una célula sea infectada por un virión depende de una interacción específica entre el virus y un receptor celular. Algunos virus, co-

mo los paramixovirus (p. ej., el de las paperas y el virus Sendai), entran en la célula por fusión directa de las membranas virales y celulares, mediada por una glucoproteína de la cubierta viral (F o proteína de fusión).

C. Transcripción y replicación de un virus

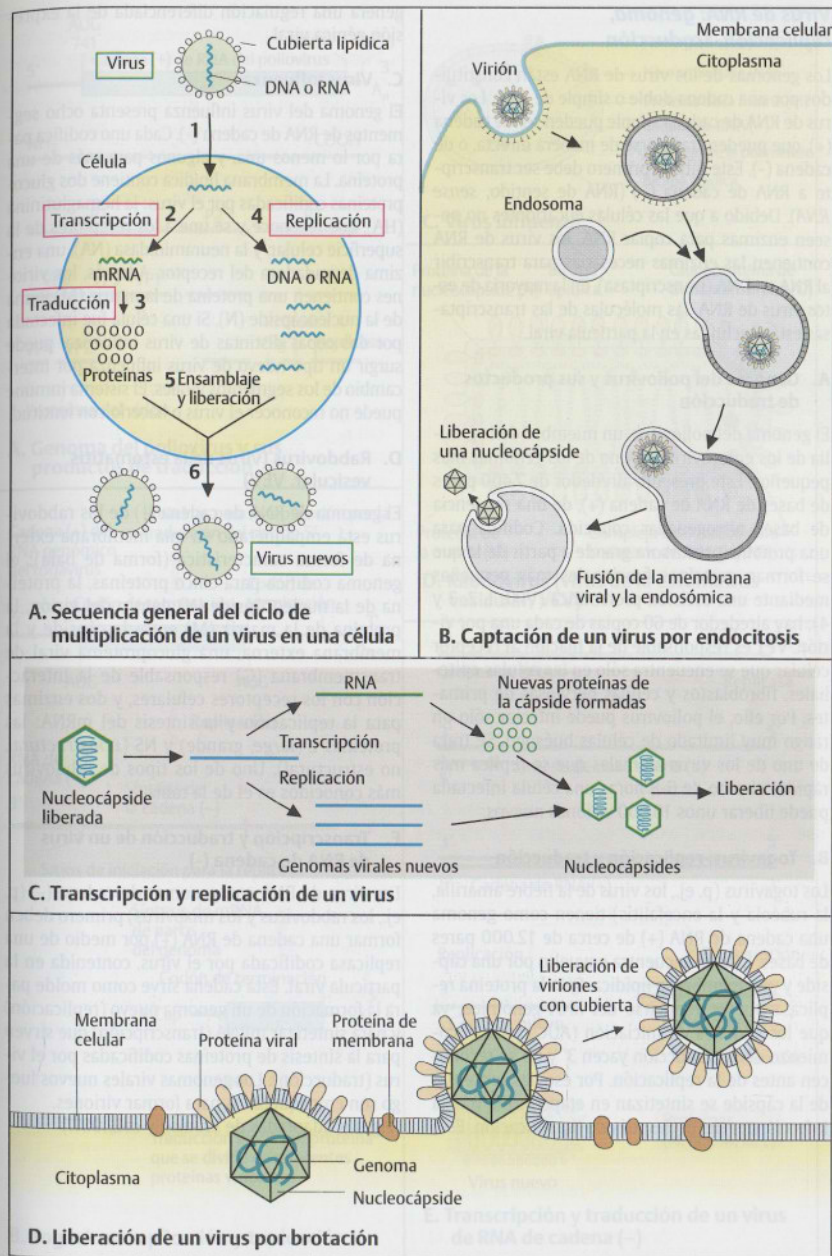
Los primeros genes virales que se expresan luego de que el virus entró en la célula son los genes tempranos del genoma viral. Los productos génicos de estos genes virales tempranos regulan la transcripción del resto de los genes virales y están involucrados en la replicación del genoma viral. La síntesis de las proteínas de la cápside comienza más tarde (genes tardíos), al mismo tiempo que la replicación del genoma, cuando se forman viriones nuevos a partir del genoma y las cápsides (ensamblaje). Los viriones (nucleocápsides = genoma más cápside) luego se liberan de la célula por uno de varios mecanismos, según el tipo viral.

D. Liberación de un virus por brotación

La liberación de un virus cubierto por una membrana lipídica se produce por brotación. Primero, las moléculas de una glucoproteína codificada por el virus se incorporan en la membrana celular, a la que se une la cápside viral o el core viral (con el genoma viral). La unión del genoma lleva a un aumento en la brotación de esa región de la membrana celular. Finalmente el virión entero es rodeado por una cubierta de membrana lipídica de origen celular que contiene proteínas virales y luego se libera. Los virus pueden ser expelidos por la célula en forma continua y en grandes cantidades sin que se produzca la muerte de la célula productora de los virus. (Figuras de J. D. Watson y col., 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts B., et al.: *Molecular Biology of the Cell*. 4th ed. Garland Publishing, New York, 1994.
 Watson J.D., et al.: *Molecular Biology of the Gene*. 3rd ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



Virus de RNA: genoma, replicación, traducción

Los genomas de los virus de RNA están constituidos por una cadena doble o simple de RNA. Los virus de RNA de cadena simple pueden ser de cadena (+), que pueden traducirse de manera directa, o de cadena (-). Este último primero debe ser transcrito a RNA de cadena (+) (RNA de sentido, *sense RNA*). Debido a que las células eucariontes no poseen enzimas para copiar RNA, los virus de RNA contienen las enzimas necesarias para transcribir al RNA en DNA (transcriptasa). En la mayoría de estos virus de RNA, las moléculas de las transcriptasas están incluidas en la partícula viral.

A. Genoma del poliovirus y sus productos de traducción

El genoma del poliovirus, un miembro de la familia de los enterovirus, es uno de los genomas más pequeños. Éste presenta alrededor de 7.400 pares de bases de RNA de cadena (+), de una secuencia de bases nitrogenadas conocida. Codifica para una proteína precursora grande a partir de la que se forman proteínas funcionales más pequeñas mediante una escisión proteolítica (VP0, 1, 2, 3 y 4); hay alrededor de 60 copias de cada una por virión. VP1 es responsable de la fijación al receptor celular que se encuentra sólo en las células epiteliales, fibroblastos y células nerviosas de primates. Por ello, el poliovirus puede infectar sólo un rango muy limitado de células huésped. Se trata de uno de los virus animales que se replica más rápido: al cabo de 6-8 horas una célula infectada puede liberar unos 10.000 viriones nuevos.

B. Togavirus: replicación y traducción

Los togavirus (p. ej., los virus de la fiebre amarilla, la rubéola y la encefalitis) tienen como genoma una cadena de RNA (+) de cerca de 12.000 pares de bases. Éste se encuentra envuelto por una cápside y una membrana lipídica. Sólo la proteína replicasa puede traducirse del RNA genómico, ya que los codones de iniciación (AUG) para el comienzo de la traducción yacen 3' y no se reconocen antes de la replicación. Por eso, las proteínas de la cápside se sintetizan en etapa tardía tras la infección, es decir, después de la replicación. Esto

genera una regulación diferenciada de la expresión génica viral.

C. Virus influenza

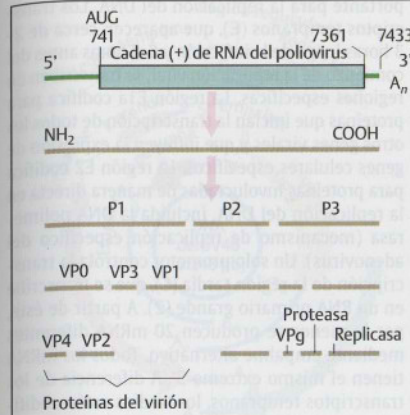
El genoma del virus influenza presenta ocho segmentos de RNA de cadena (-). Cada uno codifica para por lo menos una, y algunos para más de una proteína. La membrana lipídica contiene dos glucoproteínas codificadas por el virus: la hemaglutinina (HA), que reconoce y se une a los receptores de la superficie celular, y la neuraminidasa (NA), una enzima degradadora del receptor. Además, los viriones contienen una proteína de la matriz (M) y una de la nucleocápside (N). Si una célula fue infectada por dos cepas distintas de virus influenza, puede surgir un tipo nuevo de virus influenza por intercambio de los segmentos virales. El sistema inmune puede no reconocer el virus o hacerlo con lentitud.

D. Rhabdovirus (virus de la estomatitis vesicular, VEV)

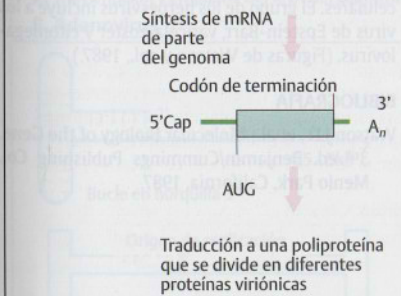
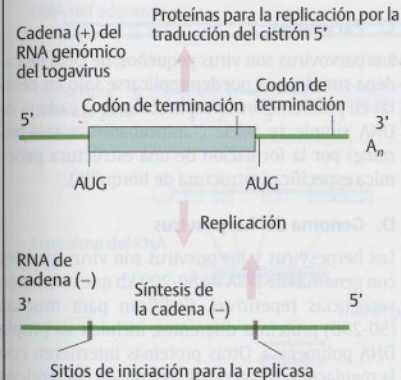
El genoma de RNA de cadena (-) de los rhabdovirus está empaquetado en una membrana externa de forma característica (forma de bala); el genoma codifica para cinco proteínas, la proteína de la nucleocápside (N) dentro del virión, la proteína de la matriz (M) entre la cápside y la membrana externa, una glucoproteína viral de transmembrana (G) responsable de la interacción con los receptores celulares, y dos enzimas para la replicación y la síntesis del mRNA: las proteínas L (*large*, grande) y NS (*nonstructural*, no estructural). Uno de los tipos de rhabdovirus más conocidos es el de la rabia.

E. Transcripción y traducción de un virus de RNA de cadena (-)

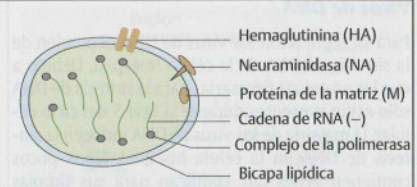
Los virus de RNA con genomas de cadena (-) (p. ej., los rhabdovirus y los mixovirus) primero deben formar una cadena de RNA (+) por medio de una replicasa codificada por el virus, contenida en la partícula viral. Esta cadena sirve como molde para la formación de un genoma nuevo (replicación) y para sintetizar mRNA (transcripción) que sirven para la síntesis de proteínas codificadas por el virus (traducción). Los genomas virales nuevos luego son empaquetados para formar viriones. (Figuras adaptadas de Watson y col.,1987.)



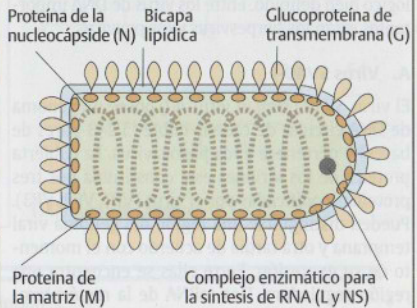
A. Genoma del poliovirus y sus productos de traducción



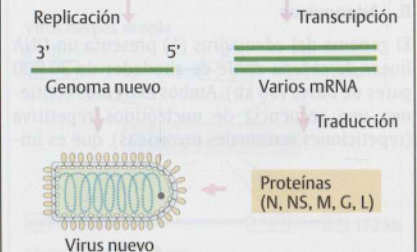
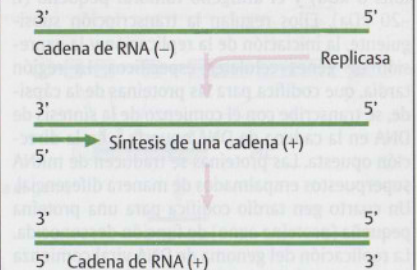
B. Togavirus: replicación y traducción



C. Virus influenza



D. Rhabdovirus (virus de la estomatitis vesicular, VEV)



E. Transcripción y traducción de un virus de RNA de cadena (-)

Virus de DNA

Para su replicación los virus de DNA dependen de la síntesis de DNA de la célula huésped. Debido a que las proteínas necesarias para la síntesis de DNA sólo están presentes durante la fase S del ciclo celular, la mayoría de los virus de DNA inducen la síntesis de DNA en la célula huésped. Unos pocos contienen genes que codifican para sus propias DNA polimerasas y otras proteínas para la síntesis de DNA. Sus genes se expresan en un patrón cronológico bien definido. Entre los virus de DNA importantes están los herpesvirus y los poxvirus.

A. Virus SV40

El virus SV40 (*simian virus 40*) posee un genoma de DNA circular de cadena doble (5.243 pares de bases) y pertenece a los papovavirus. La cubierta proteica de los viriones está constituida por tres proteínas codificadas por el virus (VP1, VP2, VP3). Pueden distinguirse una región del genoma viral temprana y otra tardía de acuerdo con el momento de su expresión. Entre ellas se encuentra una región reguladora. Dos mRNA de la región temprana empalmados alternativamente codifican para el antígeno tumoral grande (T, ~90 kilodaltons o kDa) y el antígeno tumoral pequeño (t, ~20 kDa). Ellos regulan la transcripción subsiguiente, la iniciación de la replicación y la expresión de genes celulares específicos. La región tardía, que codifica para las proteínas de la cápside, se transcribe con el comienzo de la síntesis de DNA en la cadena de DNA opuesta y en la dirección opuesta. Las proteínas se traducen de mRNA superpuestos empalmados de manera diferencial. Un cuarto gen tardío codifica para una proteína pequeña (proteína agno) de función desconocida. La replicación del genoma de DNA viral comienza en un punto definido (OR, origen de replicación).

B. Adenovirus

El genoma del adenovirus (1) presenta un DNA lineal de cadena doble de alrededor de 36.000 pares de bases (36 kb). Ambos extremos contienen una secuencia de nucleótidos repetitiva (repeticiones terminales invertidas), que es im-

portante para la replicación del DNA. Los transcritos tempranos (E), que aparecen cerca de 2-3 horas luego de la infección y 6-8 horas antes del comienzo de la replicación viral, se transcriben en regiones específicas. La región E1a codifica para proteínas que inician la transcripción de todos los otros genes virales y que influyen en la expresión de genes celulares específicos. La región E2 codifica para proteínas involucradas de manera directa en la replicación del DNA, incluida la DNA polimerasa (mecanismo de replicación específico del adenovirus). Un solo promotor controla la transcripción de la región tardía (L), que se transcribe en un RNA primario grande (2). A partir de éste, por lo menos se producen 20 mRNA diferentes mediante empalme alternativo. Todos los mRNA tienen el mismo extremo 5'. A diferencia de los transcritos tempranos, los tardíos están codificados por una sola cadena de DNA. Los genes tardíos codifican sobre todo para proteínas de la cubierta viral.

C. Parvovirus

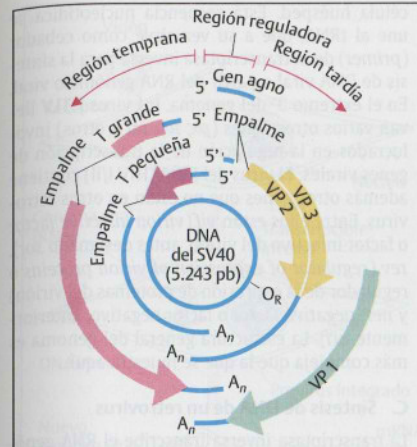
Los parvovirus son virus pequeños, de DNA de cadena simple, que pueden replicarse sólo en células en proliferación. La replicación de la cadena de DNA simple se inicia ("autocebado" o *self-priming*) por la formación de una estructura genómica específica (estructura de horquilla).

D. Genoma del herpesvirus

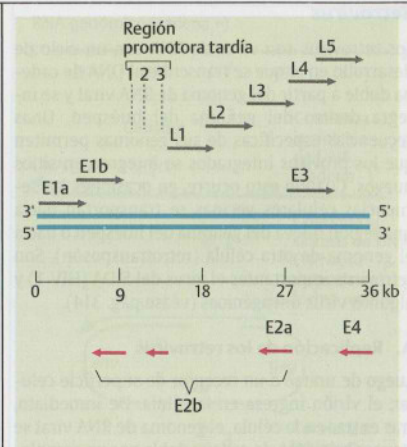
Los herpesvirus y los poxvirus son virus grandes con genomas de DNA de 80-200 kb que contienen secuencias repetitivas. Codifican para muchas (50-200) proteínas diferentes, incluida su propia DNA polimerasa. Otras proteínas interfieren con la regulación del metabolismo de los nucleótidos celulares. El grupo de los herpesvirus incluye a los virus de Epstein-Barr, varicela-zoster y citomegalovirus. (Figuras de Watson y col., 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

Watson J.D., et al.: *Molecular Biology of the Gene*. 3rd ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.

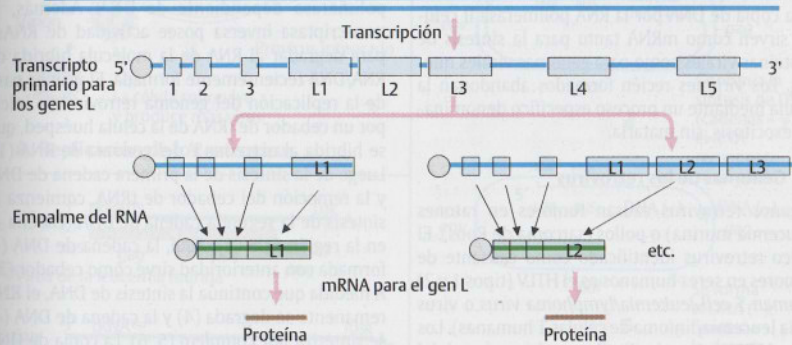


A. Genoma y transcripción del SV40



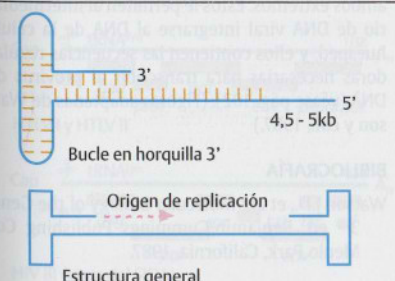
1. Genoma del adenovirus

DNA del adenovirus

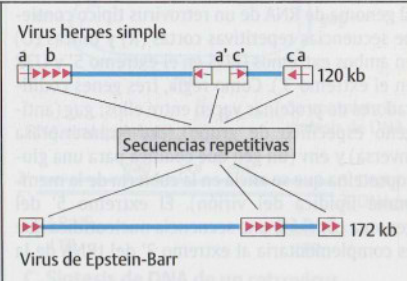


2. Transcripción y empalme del RNA del adenovirus

B. Adenovirus



C. Parvovirus



D. Genoma del herpesvirus

Retrovirus

Los retrovirus son virus de RNA con un ciclo de desarrollo en el que se transcribe el DNA de cadena doble a partir del genoma de RNA viral y se integra dentro del genoma del huésped. Unas secuencias específicas de sus genomas permiten que los provirus integrados se integren en sitios nuevos. Cuando esto ocurre, en ocasiones las secuencias celulares vecinas se translocan hacia una región nueva del genoma del huésped o hacia el genoma de otra célula (retrotransposón). Son retrovirus importantes el virus del SIDA (HIV 1) y algunos virus oncogénicos (véase pág. 314).

A. Replicación de los retrovirus

Luego de unirse a un receptor de superficie celular, el virión ingresa en la célula. De inmediato, tras entrar en la célula, el genoma de RNA viral se transcribe a DNA de cadena doble por un complejo enzimático llamado transcriptasa inversa, y el nuevo DNA se integra como provirus al DNA de la célula huésped. Los RNA transcritos a partir de esta copia de DNA por la RNA polimerasa II celular sirven como mRNA tanto para la síntesis de proteínas virales como para genomas virales nuevos. Los viriones recién formados abandonan la célula mediante un proceso específico denominado exocitosis, sin matarla.

B. Genomas de los retrovirus

Algunos retrovirus causan tumores en ratones (leucemia murina) o pollos (sarcoma de Rous). El único retrovirus identificado como causante de tumores en seres humanos es el HTLV (tipos 1 y 2) (*human T cell leukemia/lymphoma virus* o virus de la leucemia/linfoma de células T humanas). Los virus HTLV tienen similitudes genéticas con el del SIDA, causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (p. 314).

El genoma de RNA de un retrovirus típico contiene secuencias repetitivas cortas (R) y únicas (U) en ambos extremos (RU5 en el extremo 5' y U3R en el extremo 3'). Como regla, tres genes codificadores de proteínas yacen entre ellos: *gag* (antígeno específico de grupo), *pol* (transcriptasa inversa) y *env* (un gen que codifica para una glicoproteína que se ancla en la cubierta de la membrana lipídica del virión). El extremo 5' del genoma contiene una secuencia nucleotídica que es complementaria al extremo 3' del tRNA de la

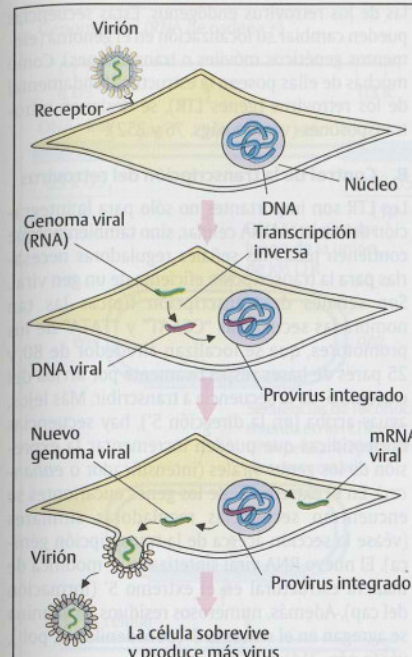
célula huésped. Esta secuencia nucleotídica se une al tRNA, que a su vez sirve como cebador (*primer*) de la transcriptasa inversa para la síntesis de DNA viral a partir del RNA genómico viral. En el extremo 3' del genoma, los virus HTLV llevan varios otros genes (*px*, *lor*, *tat* y otros) involucrados en la regulación de la transcripción de genes virales. El virus del SIDA (HIV I/II) contiene además otros genes que no están en otros retrovirus. Entre ellos están *vir* (*virion infective factor* o factor infectivo del virión, antes designado *sor*), *rev* (*regulator of expression of virion proteins* o regulador de la expresión de proteínas del virión) y *nef* (*negative factor* o factor negativo, anteriormente *orf*). La estructura general del genoma es más compleja que la que se muestra aquí.

C. Síntesis de DNA de un retrovirus

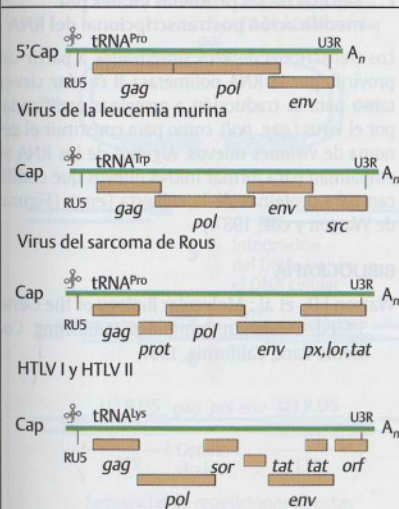
La transcriptasa inversa transcribe el RNA genómico a DNA mediante actividad de DNA de polimerasa dependiente de RNA y cataliza los pasos subsiguientes por medio de la actividad de DNA polimerasa dependiente de DNA. Además, la transcriptasa inversa posee actividad de RNasa para degradar al RNA de la molécula híbrida de RNA/DNA recientemente formada. El primer paso de la replicación del genoma retroviral se inicia por un cebador de tRNA de la célula huésped, que se hibrida al extremo 5' del genoma de RNA (1). Luego de la síntesis de la primera cadena de DNA y la remoción del cebador de tRNA, comienza la síntesis de la segunda cadena de DNA (cadena +) en la región RU5 (2). Aquí, la cadena de DNA (-) formada con anterioridad sirve como cebador (3). A medida que continúa la síntesis de DNA, el RNA remanente se degrada (4) y la cadena de DNA (+) se sintetiza por completo (5, 6). La copia de DNA de cadena doble del virus contiene repeticiones terminales largas (*long terminal repeats*, LTR) en ambos extremos. Éstos le permiten al intermediario de DNA viral integrarse al DNA de la célula huésped, y ellos contienen las secuencias reguladoras necesarias para transcribir al provirus de DNA (véase pág. 102). (Figuras adaptadas de Watson y col., 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

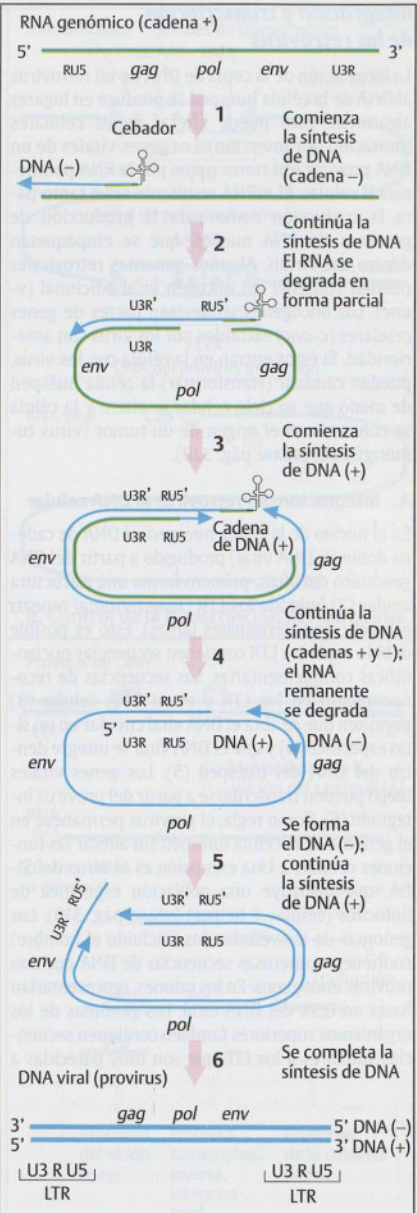
Watson J.D., et al.: *Molecular Biology of the Gene*. 3rd ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



A. Replicación de los retrovirus



B. Genomas de algunos retrovirus



C. Síntesis de DNA de un retrovirus por la transcriptasa inversa

Integración y transcripción de los retrovirus

La integración de la copia de DNA de un retrovirus al DNA de la célula huésped se produce en lugares aleatorios. Esto puede alterar genes celulares (mutación por inserción). Los genes virales de un DNA proviral son transcritos por la RNA polimerasa II celular. El mRNA resultante sirve tanto para la traducción como para la producción de genomas de RNA nuevos, que se empaquetan dentro del virión. Algunos genomas retrovirales pueden contener un oncogén viral adicional (*v-*onc**). Los oncogenes virales son partes de genes celulares (*c-*onc**) extraídos por los virus con anterioridad. Si éstos entran en la célula con los virus, pueden cambiar (transformar) la célula huésped de modo que su ciclo celular se altere y la célula se convierta en el origen de un tumor (virus tumorigénico) (véase pág. 320).

A. Integración del retrovirus al DNA celular

En el núcleo de la célula huésped, el DNA de cadena doble (1, DNA viral) producido a partir del RNA genómico del virus, primero forma una estructura anular (2) uniendo los LTR (*long terminal repeats* o repeticiones terminales largas). Esto es posible debido a que los LTR contienen secuencias nucleotídicas complementarias. Las secuencias de reconocimiento en los LTR y en el DNA celular (3) permiten que se abra el DNA viral circular en un sitio específico (4) y que el DNA viral se integre dentro del DNA del huésped (5). Los genes virales luego pueden transcribirse a partir del provirus integrado (6). Como regla, el provirus permanece en el genoma de la célula huésped sin alterar las funciones celulares. Una excepción es el virus del SIDA, que destruye una población específica de linfocitos (células T helper) (véase pág. 310). Los genomas de los vertebrados (incluido el hombre) contienen numerosas secuencias de DNA que son provirus endógenos. En los ratones, representarían hasta un 0,5% del DNA total. Los genomas de los organismos superiores también contienen secuencias similares a los LTR que son muy parecidas a

las de los retrovirus endógenos. Estas secuencias pueden cambiar su localización en el genoma (elementos genéticos móviles o transposones). Como muchas de ellas poseen la estructura fundamental de los retrovirus (genes LTR), se designan retrotransposones (véanse págs. 76 y 252).

B. Control de la transcripción del retrovirus

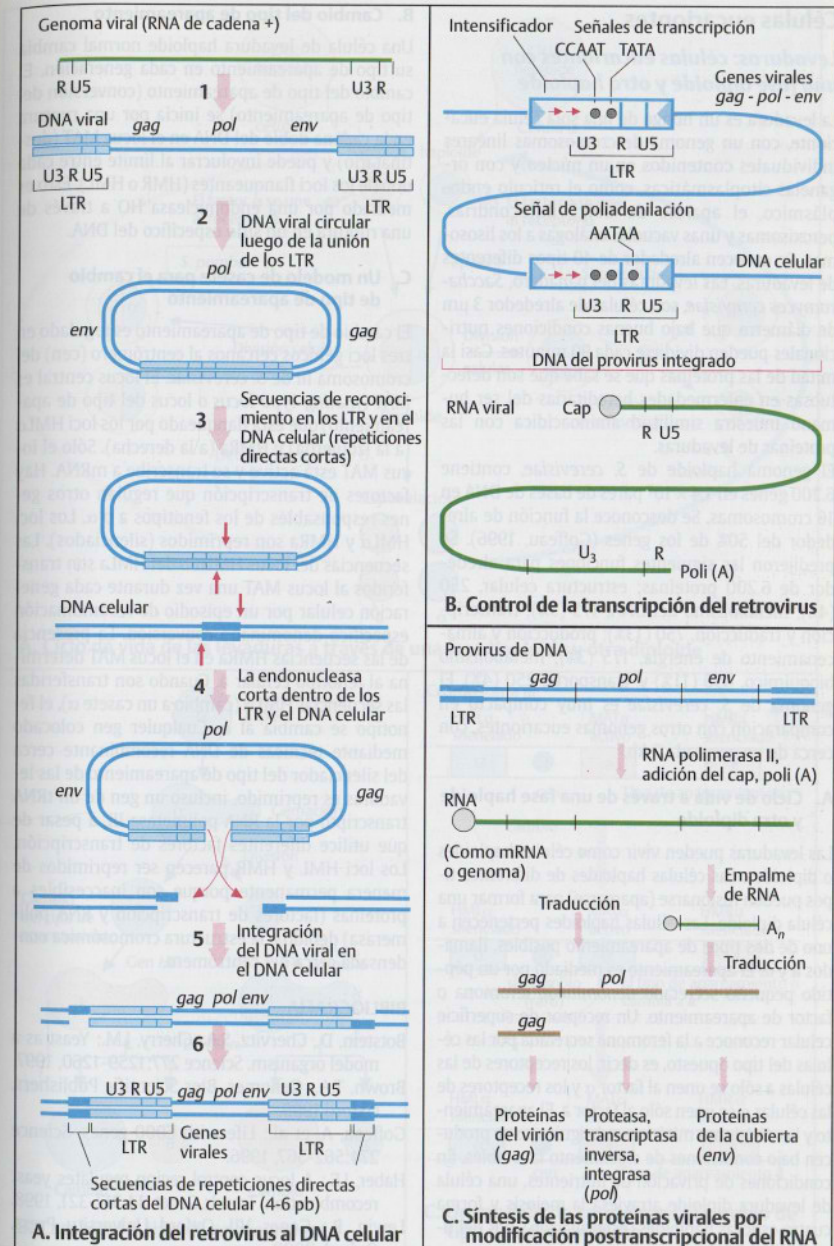
Los LTR son importantes no sólo para la integración del virus al DNA celular, sino también porque contienen todas las señales reguladoras necesarias para la transcripción eficiente de un gen viral. Son señales de transcripción típicas las tan nombradas secuencias "CCAAT" y "TATA" de los promotores, que se localizan alrededor de 80 y 25 pares de bases respectivamente por arriba del extremo 5' de la secuencia a transcribir. Más lejos, aguas arriba (en la dirección 5'), hay secuencias nucleotídicas que pueden incrementar la expresión de los genes virales (intensificador o *enhancer*). En el extremo 5' de los genes eucariontes se encuentran secuencias reguladoras similares (véase la sección acerca de la transcripción génica). El nuevo RNA viral sintetizado se modifica de manera estructural en el extremo 5' (formación del cap). Además, numerosos residuos de adenina se agregan en el extremo 3' (poliadenilados, poli), véase pág. 214).

C. Síntesis de las proteínas virales por modificación postranscripcional del RNA

Los transcritos de RNA sintetizados a partir del provirus por la RNA polimerasa II celular sirven tanto para la traducción a proteínas codificadas por el virus (*gag*, *pol*), como para constituir el genoma de viriones nuevos. Algunos de los RNA se empalman para formar mRNA nuevos que codifican para proteínas de la cubierta (*env*). (Figuras de Watson y col., 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

Watson J.D., et al.: *Molecular Biology of the Gene*. 3^{ra} ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



Células eucariontes

Levaduras: células eucariontes con una fase diploide y otra haploide

La levadura es un hongo de una sola célula eucarionte, con un genoma de cromosomas lineales individuales contenidos en un núcleo y con organelas citoplasmáticas, como el retículo endoplásmico, el aparato de Golgi, mitocondrias, peroxisomas y unas vacuolas análogas a los lisosomas. Se conocen alrededor de 40 tipos diferentes de levaduras. Las levaduras del panadero, *Saccharomyces cerevisiae*, son células de alrededor 3 µm de diámetro que bajo buenas condiciones nutricionales pueden dividirse cada 90 minutos. Casi la mitad de las proteínas que se sabe que son defectuosas en enfermedades hereditarias del ser humano muestra similitud aminoacídica con las proteínas de levaduras.

El genoma haploide de *S. cerevisiae*, contiene 6.200 genes en $1,4 \times 10^7$ pares de bases de DNA en 16 cromosomas. Se desconoce la función de alrededor del 50% de los genes (Goffeau, 1996). Se predijeron las siguientes funciones para alrededor de 6.200 proteínas: estructura celular, 250 (4%); metabolismo del DNA, 175 (3%); transcripción y traducción, 750 (13%); producción y almacenamiento de energía, 175 (3%); metabolismo bioquímico, 650 (11%) y, transporte, 250 (4%). El genoma de *S. cerevisiae* es muy compacto en comparación con otros genomas eucariontes, con cerca de un gen cada 2 kb.

A. Ciclo de vida a través de una fase haploide y otra diploide

Las levaduras pueden vivir como células haploides o diploides. Las células haploides de diferentes tipos pueden fusionarse (aparearse) para formar una célula diploide. Las células haploides pertenecen a uno de dos tipos de apareamiento posibles, llamados a y α. El apareamiento es mediado por un péptido pequeño secretado denominado feromona o factor de apareamiento. Un receptor de superficie celular reconoce a la feromona secretada por las células del tipo opuesto, es decir, los receptores de las células α se unen sólo al factor a. El apareamiento y las divisiones mitóticas subsiguientes se producen bajo condiciones de crecimiento favorables. En condiciones de privación de nutrientes, una célula de levadura diploide atraviesa la meiosis y forma cuatro esporas haploides (esporulación), dos del tipo a y dos del tipo α.

B. Cambio del tipo de apareamiento

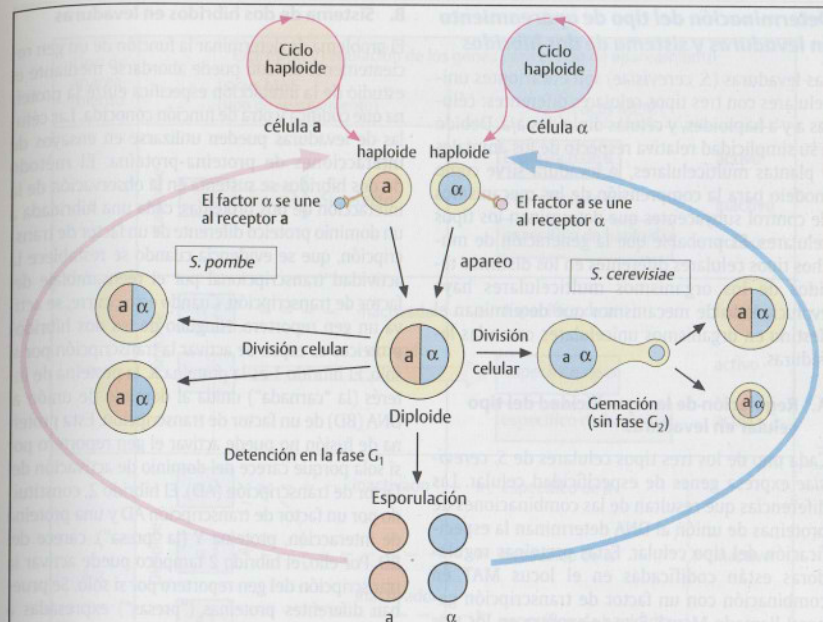
Una célula de levadura haploide normal cambia su tipo de apareamiento en cada generación. El cambio del tipo de apareamiento (conversión del tipo de apareamiento) se inicia por una ruptura en la cadena doble del DNA en el locus MAT (destinatario) y puede involucrar al límite entre cada uno de los loci flanqueantes (HMR o HML). Esto es mediado por una endonucleasa HO a través de una ruptura en un sitio específico del DNA.

C. Un modelo de casete para el cambio de tipo de apareamiento

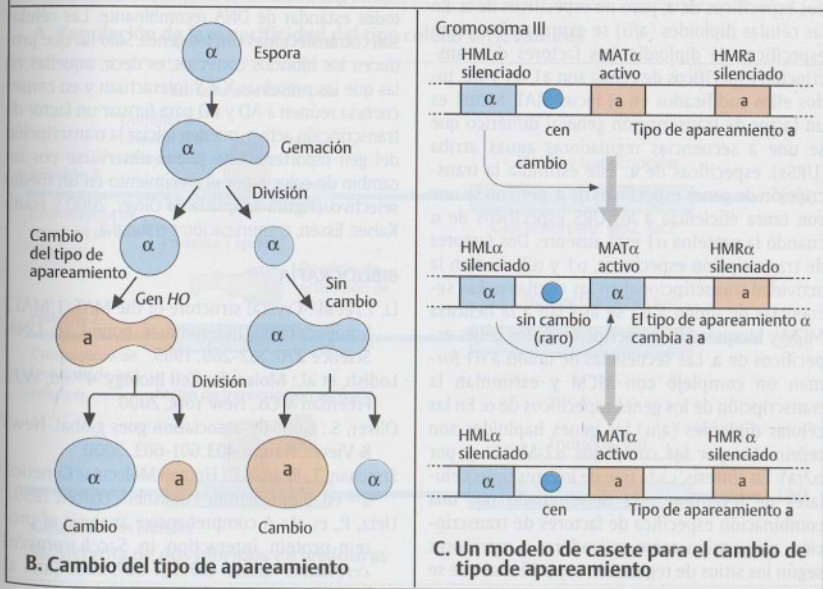
El cambio de tipo de apareamiento es regulado en tres loci génicos cercanos al centrómero (cen) del cromosoma III de *S. cerevisiae*. El locus central es MAT (mating-type locus o locus del tipo de apareamiento) que está flanqueado por los loci HMLα (a la izquierda) y HMRa (a la derecha). Sólo el locus MAT está activo y se transcribe a mRNA. Hay factores de transcripción que regulan otros genes responsables de los fenotipos a o α. Los loci HMLα y HMRa son reprimidos (silenciados). Las secuencias del locus HMLα o del HMLa son transferidos al locus MAT una vez durante cada generación celular por un episodio de recombinación específico denominado conversión. La presencia de las secuencias HMRA en el locus MAT determina al fenotipo celular a. Cuando son transferidas las secuencias HMLα (cambio a un casete α), el fenotipo se cambia al α. Cualquier gen colocado mediante técnicas de DNA recombinante cerca del silenciador del tipo de apareamiento de las levaduras es reprimido, incluso un gen de un tRNA transcrito por la RNA polimerasa III, a pesar de que utilice diferentes factores de transcripción. Los loci HML y HMR parecen ser reprimidos de manera permanente porque son inaccesibles a proteínas (factores de transcripción y RNA polimerasa) debido a la estructura cromosómica condensada cerca del centrómero.

BIBLIOGRAFÍA

Botstein, D., Chervitz, S.A., Cherry, J.M.: Yeast as a model organism. *Science* 277:1259-1260, 1997.
 Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.
 Goffeau, A. et al.: Life with 6000 genes. *Science* 274:562-567, 1996.
 Haber, J.E.: A locus control region regulates yeast recombination. *Trends Genet.* 14:317-321, 1998.
 Lewin, B.: Genes VII. Oxford University Press, Oxford, 2000.



A. Ciclo de vida de las levaduras a través de una fase haploide y otra diploide



Determinación del tipo de apareamiento en levaduras y sistema de dos híbridos

Las levaduras (*S. cerevisiae*) son eucariontes unicelulares con tres tipos celulares diferentes: células a y α haploides, y células diploides a/α . Debido a su simplicidad relativa respecto de los animales y plantas multicelulares, la levadura sirve como modelo para la comprensión de los mecanismos de control subyacentes que determinan los tipos celulares. Es probable que la generación de muchos tipos celulares diferentes en los distintos tejidos de los organismos multicelulares haya evolucionado de mecanismos que determinan el destino en organismos unicelulares como las levaduras.

A. Regulación de la especificidad del tipo celular en levaduras

Cada uno de los tres tipos celulares de *S. cerevisiae* expresa genes de especificidad celular. Las diferencias que resultan de las combinaciones de proteínas de unión al DNA determinan la especificación del tipo celular. Estas proteínas reguladoras están codificadas en el locus MAT en combinación con un factor de transcripción general llamado Mcm1. Éste se expresa en los tres tipos celulares. Las células de tipo a expresan genes específicos de a, pero no específicos de α . En las células diploides (a/α) se expresan los genes específicos de diploidía. Los factores de transcripción específicos de célula son $a1$, $\alpha1$ y $\alpha2$, todos ellos codificados en el locus MAT. Mcm1 es un factor de transcripción general dimérico que se une a secuencias reguladoras aguas arriba (URSs), específicas de a. Éste estimula la transcripción de genes específicos de a, pero no se une con tanta eficiencia a los URS específicos de α cuando la proteína $\alpha1$ está ausente. Dos factores de transcripción específicos, $\alpha1$ y $\alpha2$, median la actividad transcripcional en las células α . Las secuencias de unión a $\alpha2$ se asocian a la helicasa MCM y bloquean la transcripción de los genes específicos de a. Las secuencias de unión a $\alpha1$ forman un complejo con MCM y estimulan la transcripción de los genes específicos de α . En las células diploides (a/α) los genes haploides son reprimidos por los complejos $\alpha2$ -MCM1 y por $\alpha2/a1$. En síntesis, cada uno de los tres tipos celulares de levaduras está determinado por una combinación específica de factores de transcripción, que actúan como activadores o represores según los sitios de regulación específica al que se unen.

B. Sistema de dos híbridos en levaduras

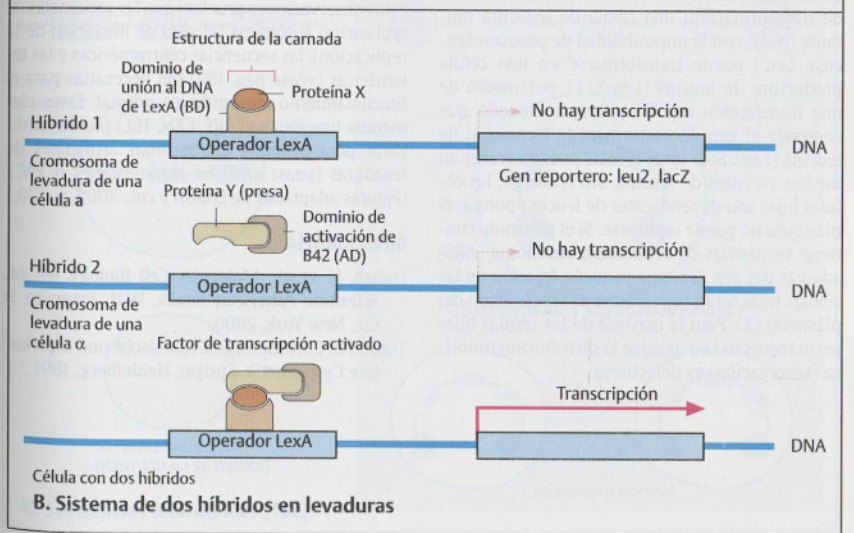
El problema de determinar la función de un gen recientemente aislado puede abordarse mediante el estudio de la interacción específica entre la proteína que codifica y otra de función conocida. Las células de levaduras pueden utilizarse en ensayos de interacciones de proteína-proteína. El método de dos híbridos se sustenta en la observación de la interacción de dos proteínas, cada una hibridada a un dominio proteico diferente de un factor de transcripción, que se evidencia cuando se restablece la actividad transcripcional por el reensamblaje del factor de transcripción. Cuando esto ocurre, se activa un gen reportero. Ninguno de los dos híbridos proteicos es capaz de activar la transcripción por sí solo. El híbrido 1 es la proteína X, la proteína de interés (la "carnada") unida al dominio de unión al DNA (BD) de un factor de transcripción. Esta proteína de fusión no puede activar el gen reportero por sí sola porque carece del dominio de activación del factor de transcripción (AD). El híbrido 2, constituido por un factor de transcripción AD y una proteína de interacción, proteína Y (la "presa"), carece del BD. Por ello, el híbrido 2 tampoco puede activar la transcripción del gen reportero por sí solo. Se prueban diferentes proteínas ("presas") expresadas a partir de cDNA en vectores. Se producen genes de fusión que codifican al híbrido 1 o al 2 usando métodos estándar de DNA recombinante. Las células son cotransfectadas con los genes. Sólo las que producen los híbridos correctos, es decir, aquellas en las que las proteínas X e Y interactúan y en consecuencia reúnen a AD y BD para formar un factor de transcripción activo, pueden iniciar la transcripción del gen reportero. Esto puede observarse por un cambio de color o por el crecimiento en un medio selectivo. (Figura adaptada de Oliver, 2000 y Frank Kaiser, Essen, comunicación personal.)

BIBLIOGRAFÍA

Li, T., et al.: Crystal structure of the MATa1/MAT2 homeodomain heterodimer bound to DNA. *Science* 270:262-269, 1995.
 Lodish, et al.: *Molecular Cell Biology*. 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
 Oliver, S.: Guilt-by-association goes global. *News & Views. Nature* 403:601-603, 2000.
 Strachan, T., Read, A.P.: *Human Molecular Genetics*. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford 1999.
 Uetz, P., et al.: A comprehensive analysis of protein-protein interaction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature* 403:623-627, 2000 (and at <http://www.curatools.curagen.com>).

Tipo de apareamiento	Expresión y regulación de los genes para el tipo de apareamiento	
	Locus MAT (tipo de apareamiento)	Locus MCM1
a	Haploide a1 → Sin efecto	Específico de a activo específico de α inactivo específico de haploidía activo
α	Haploide $\alpha2$ inactivado $\alpha3$ activado →	Específico de a inactivo específico de α activo específico de haploidía activo
a/α	Diploide $\alpha2$ inactivado $\alpha1$ inactivado a1 inactivado juntos inactivado	específico de a inactivo específico de α inactivo específico de haploidía inactivo

A. Regulación de la especificidad del tipo celular en levaduras



B. Sistema de dos híbridos en levaduras

Elementos funcionales en cromosomas de levaduras

El genoma haploide de *S. cerevisiae* está constituido por $1,4 \times 10^7$ pares de bases en 16 cromosomas. Algunas secuencias de DNA funcionales necesarias para la replicación y la distribución normal de los cromosomas durante la mitosis (segregación cromosómica) fueron aisladas y caracterizadas a partir de cromosomas de levaduras. Si están en el mismo cromosoma, se designan como elementos en *cis* (contrariamente a elementos en *trans*, en otro cromosoma). Esas secuencias son en términos genéticos estables y pueden unirse in vitro a DNA de cualquier origen para formar cromosomas artificiales estables en células de levaduras (véase pag. 104). Se conocen tres tipos de secuencias de DNA funcionales: secuencias de replicación autónoma (ARS), secuencias centroméricas (CEN) y secuencias teloméricas (TEL). Todos los cromosomas eucariontes contienen estos elementos funcionales, pero pueden demostrarse especialmente bien en cromosomas de células de levaduras.

A. Secuencias de replicación autónoma (ARS)

La replicación avanza en dos direcciones (bidireccional). Los ARS representan el sitio de comienzo de la replicación en los cromosomas. Su significado funcional puede reconocerse en experimentos de transformación: una célula de levadura mutante (p. ej., con la imposibilidad de producir leucina, *Leu*⁻) puede transformarse en una célula productora de leucina (*Leu*⁺) (1), por medio de una transfección con un plásmido clonado que contenga el gen necesario para la formación de leucina (*Leu*). Sólo estas células pueden crecer en medios carentes de leucina. Sin embargo, las células hijas son dependientes de leucina porque el plásmido no puede replicarse. Si el plásmido contiene secuencias de replicación autónoma (ARS) además del gen *Leu*, una pequeña fracción de las células hijas serán *Leu*⁺ gracias a la replicación del plásmido (2). Pero la mayoría de las células hijas permanecerán *Leu*⁻ porque la distribución mitótica (segregación) es defectuosa.

B. Secuencias centroméricas (CEN)

Si el DNA plasmídico (1) contiene secuencias del centrómero (CEN) del cromosoma de levaduras junto con el gen para la leucina (*Leu*) y las secuencias de replicación autónoma (ARS), entonces se producirá una segregación mitótica normal (2). Esto demuestra que las secuencias CEN son necesarias para una distribución normal de los cromosomas en la mitosis (véase pag. 114). Las secuencias centroméricas son similares pero no idénticas en diferentes cromosomas de levaduras. Contienen tres elementos de un total de 220 pares de bases (pb), que están en todos los cromosomas. El elemento I es una secuencia conservada de 8 pb; el elemento II es rico en AT y posee alrededor de 80 pb; el elemento III posee unos 25 pb. Este segmento está protegido de las nucleasas y es muy importante para la estabilidad mitótica.

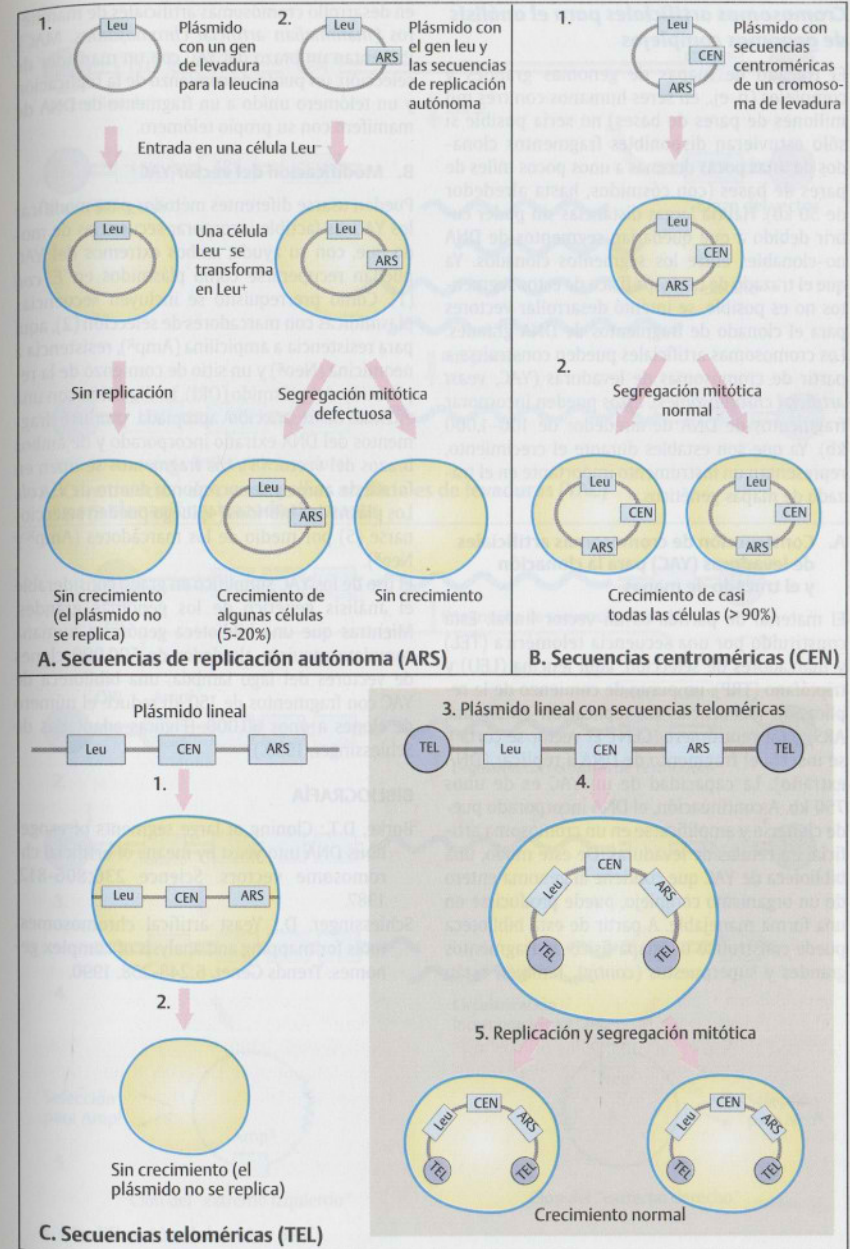
C. Secuencias teloméricas (TEL)

Si el plásmido es lineal en lugar de ser circular como en B, la transformación se producirá pero el plásmido no se replicará (2). Sin embargo, si se agregan secuencias teloméricas (TEL) a ambos extremos del plásmido (3) antes de que se incorpore (4), entonces a la transformación de la célula de levadura luego de que haya incorporado al plásmido le sigue una replicación y una mitosis normales (5).

Estas observaciones prueban que las secuencias de replicación autónoma (el sitio de iniciación de la replicación), las secuencias centroméricas y las teloméricas (véase pag. 180) son necesarias para el funcionamiento cromosómico normal. Estos elementos funcionales (ARS, CEN, TEL) pueden utilizarse para producir cromosomas artificiales de levaduras (*yeast artificial chromosomes* o YAC). (Figuras adaptadas de Lodish y col., 2000, p. 330.)

BIBLIOGRAFÍA

- Lodish, H. et al.: *Molecular Cell Biology*, 4th ed. Scientific American Books, W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
Traut, W.: *Chromosomen. Klassische und molekulare Cytogetenetik*. Springer, Heidelberg, 1991.



Cromosomas artificiales para el análisis de genomas complejos

El trazado de mapas de genomas grandes y complejos (p. ej., en seres humanos con tres mil millones de pares de bases) no sería posible si sólo estuvieran disponibles fragmentos clonados de unas pocas docenas a unos pocos miles de pares de bases (con cósmidos, hasta alrededor de 50 kb). Habría largas distancias sin poder cubrir debido a que quedarían segmentos de DNA no clonables entre los segmentos clonados. Ya que el trazado de un mapa físico de estos segmentos no es posible, se intentó desarrollar vectores para el clonado de fragmentos de DNA grandes. Los cromosomas artificiales pueden construirse a partir de cromosomas de levaduras (YAC, *yeast artificial chromosomes*). Éstos pueden incorporar fragmentos de DNA de alrededor de 100–1,000 kb). Ya que son estables durante el crecimiento, representan un instrumento importante en el trazado de mapas genéticos.

A. Construcción de cromosomas artificiales de levaduras (YAC) para la clonación y el trazado de mapas

El material de partida es un vector lineal. Está constituido por una secuencia telomérica (TEL) y marcadores de selección, aquí leucina (LEU) y triptófano (TRP), un punto de comienzo de la replicación (secuencias de replicación autónoma, ARS) y un centrómero (CEN). El vector se corta y se inserta el fragmento de DNA a replicar (DNA extraño). La capacidad de un YAC es de unos 750 kb. A continuación, el DNA incorporado puede clonarse y amplificarse en un cromosoma artificial en células de levaduras. De este modo, una biblioteca de YAC que contiene al genoma entero de un organismo complejo, puede producirse en una forma manejable. A partir de esta biblioteca puede construirse un mapa físico de fragmentos grandes y superpuestos (*contig*). También están

en desarrollo cromosomas artificiales de mamíferos (*mammalian artificial chromosomes*, MAC). Presentan un brazo del YAC con un marcador de selección, un punto de comienzo de la replicación y un telómero unido a un fragmento de DNA de mamífero con su propio telómero.

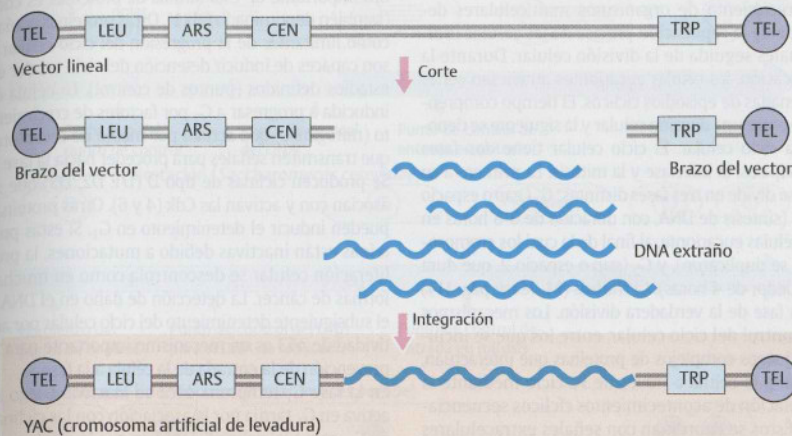
B. Modificación del vector YAC

Pueden usarse diferentes métodos para modificar los YAC. Es factible incorporar secuencias de modo que, con su ayuda, ambos extremos del YAC puedan recuperarse como plásmidos en *E. coli* (1). Como prerrequisito se incluyen secuencias plasmídicas con marcadores de selección (2), aquí para resistencia a ampicilina (Amp^R), resistencia a neomicina (Neo^R) y un sitio de comienzo de la replicación del plásmido (ORI). La digestión con una enzima de restricción apropiada produce fragmentos del DNA extraño incorporado y de ambos brazos del vector (3). Los fragmentos se unen en forma de anillo y se incorporan dentro de *E. coli*. Los plásmidos híbridos (4) luego pueden seleccionarse (5) por medio de los marcadores (Amp^R y Neo^R).

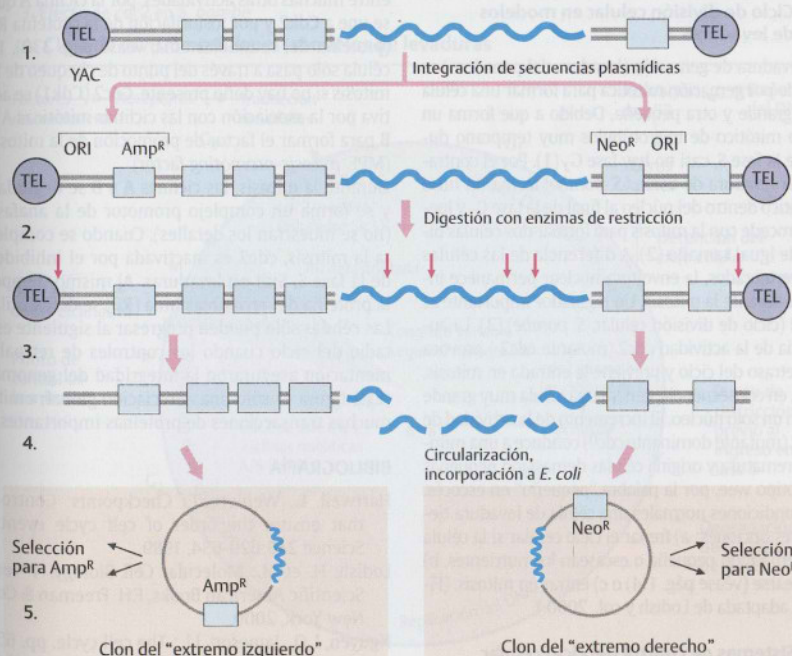
El uso de los YAC simplificó en grado considerable el análisis genético de los genomas grandes. Mientras que una biblioteca genómica humana completa requiere alrededor de 500.000 clones de vectores del fago lambda, una biblioteca de YAC con fragmentos de 150 kb reduce el número de clones a unos 60.000. (Figuras adaptadas de Schlessinger, 1990.)

BIBLIOGRAFÍA

- Burke, D.T.: Cloning of large segments of exogenous DNA into yeast by means of artificial chromosome vectors. *Science* 236:806–812, 1987.
- Schlessinger, D.: Yeast artificial chromosomes: tools for mapping and analysis of complex genomes. *Trends Genet.* 6:248–258, 1990.



A. Construcción de cromosomas artificiales de levaduras (YAC) para clonación y trazado de mapas



B. Modificación del vector YAC

Control del ciclo celular

El crecimiento de organismos multicelulares depende de la replicación precisa de las células individuales seguida de la división celular. Durante la replicación, las células eucariontes atraviesan series ordenadas de episodios cíclicos. El tiempo comprendido entre una división celular y la siguiente se denomina ciclo celular. El ciclo celular tiene dos fases principales, la interfase y la mitosis. La primera a su vez se divide en tres fases distintas: G_1 (*gap* o espacio 1), S (síntesis de DNA, con duración de 6-8 horas en las células eucarionte, al final de la cual los cromosomas se duplicaron), y G_2 (*gap* o espacio 2, que dura alrededor de 4 horas). La mitosis (M, véase pág. 114) es la fase de la verdadera división. Los mecanismos de control del ciclo celular, entre los que se incluyen juegos complejos de proteínas que interactúan, guían a la célula a través de su ciclo mediante la regulación de acontecimientos cíclicos secuenciales. Éstos se coordinan con señales extracelulares y conducen a la división celular en el momento correcto.

A. Ciclo de división celular en modelos de levaduras

La levadura de gemación (levadura del panadero) se divide por gemación mitótica para formar una célula hija grande y otra pequeña. Debido a que forma un huso mitótico de microtúbulos muy temprano durante la fase S, casi no hay fase G_2 (1). Por el contrario, la levadura de fisión (*S. pombe*) forma un huso mitótico dentro del núcleo al final de la fase G_2 y luego procede con la mitosis para formar dos células hijas de igual tamaño (2). A diferencia de las células de vertebrados, la envoltura nuclear permanece intacta durante la mitosis. Un regulador importante es *cdc2* (ciclo de división celular, *S. pombe*) (3). La ausencia de la actividad *cdc2* (mutante *cdc2⁻*) provoca un retraso del ciclo y previene la entrada en mitosis. Esto, en consecuencia, genera una célula muy grande y con un solo núcleo. El incremento de la actividad de *cdc2* (mutante dominante *cdc2^D*) conduce a una mitosis prematura y origina células demasiado pequeñas (fenotipo *wee*, por la palabra "pequeño" en escocés. En condiciones normales una célula de levadura tiene tres opciones: a) frenar el ciclo celular si la célula es demasiado pequeña o escasean los nutrientes, b) aparearse (véase pág. 114) o c) entrar en mitosis. (Figura adaptada de Lodish y col., 2000.)

B. Sistemas de control del ciclo celular

El ciclo celular de los eucariontes es conducido por las "maquinarias" del ciclo celular, un juego de proteínas que interactúan, las cinasas dependientes de

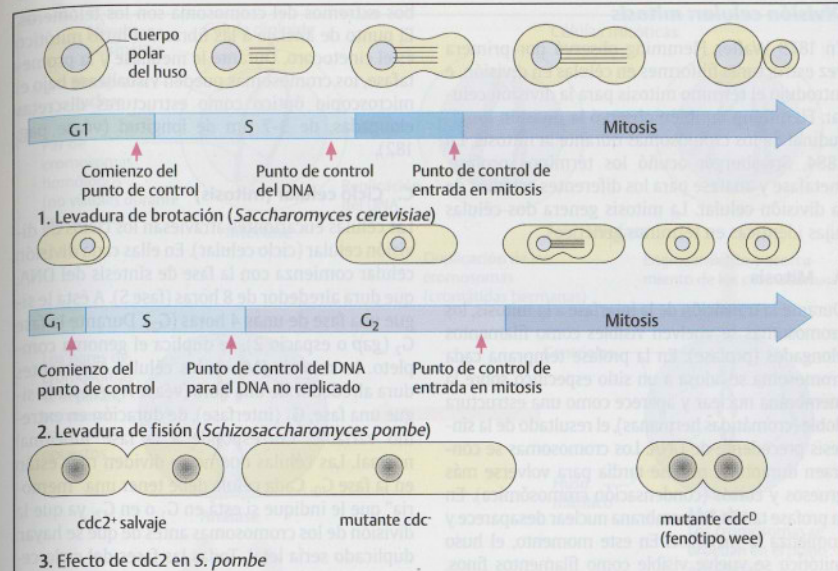
ciclinas (Cdk, *cyclin-dependent kinases*). Un miembro importante de esta familia de proteínas es *cdc2* (también denominado *Cdk1*). Otras proteínas actúan como limitantes de la progresión del ciclo celular y son capaces de inducir detención del ciclo celular en estadios definidos (puntos de control). La célula es inducida a progresar a G_1 por factores de crecimiento (mitógenos) que actúan por medio de receptores que transmiten señales para proceder hacia la fase S. Se producen ciclinas de tipo D (D1, D2, D3) que se asocian con y activan las Cdk (4 y 6). Otras proteínas pueden inducir el detenimiento en G_1 . Si estas proteínas están inactivas debido a mutaciones, la proliferación celular se descontrola como en muchas formas de cáncer. La detección de daño en el DNA y el subsiguiente detenimiento del ciclo celular por actividad de p53 es un mecanismo importante para la prevención de la entrada de la célula a la fase S.

En la fase G_1 temprana *cdc2* se inactiva. Luego se activa en G_1 tardía por la asociación con las ciclinas de G_1 , como la ciclina E. Una vez que la célula pasó el punto de restricción de la fase G_1 , la ciclina E se degrada y la célula entra en la fase S. Esto se inicia, entre muchas otras actividades, por la ciclina A que se une a Cdk2 y por fosforilación de la proteína RB (proteína del retinoblastoma, véase pág. 330). La célula sólo pasa a través del punto de chequeo de la mitosis si no hay daño presente. *Cdc2* (Cdk1) se activa por la asociación con las ciclinas mitóticas A y B para formar el factor de promoción de la mitosis (MPF, *mitosis-promoting factor*).

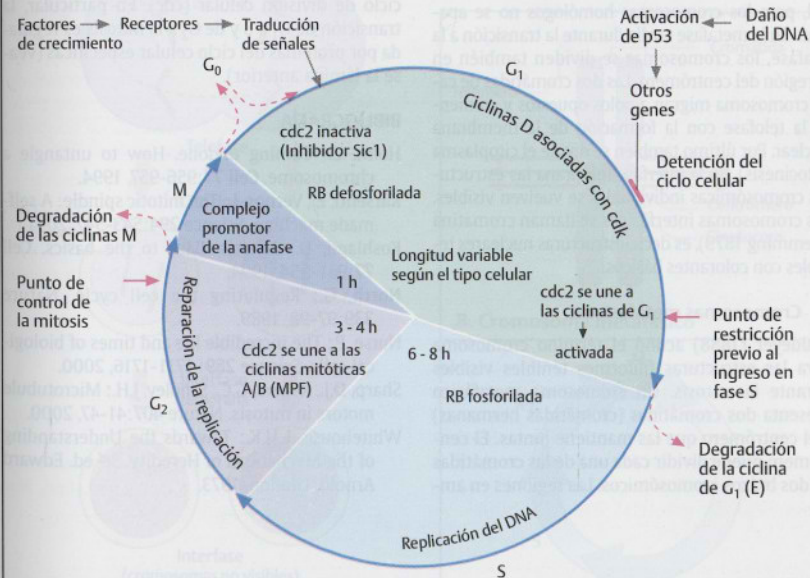
Durante la mitosis, las ciclinas A y B se degradan y se forma un complejo promotor de la anafase (no se muestran los detalles). Cuando se completa la mitosis, *cdc2* es inactivada por el inhibidor de la fase S, *Sic1* en levaduras. Al mismo tiempo, la proteína del retinoblastoma (RB) se defosforila. Las células sólo pueden progresar al siguiente estadio del ciclo cuando los controles de retroalimentación aseguraron la integridad del genoma. (Esta figura es sólo una apreciación global; omite muchas transacciones de proteínas importantes.)

BIBLIOGRAFÍA

- Hartwell, L., Weinert, T.: Checkpoints: Controls that ensure the order of cell cycle events. *Science* 246:629-634, 1989.
- Lodish, H. et al.: *Molecular Cell Biology*. 4th ed. Scientific American Books, F.H. Freeman & Co., New York, 2000.
- Nguyen, L.Q., Jameson, J.L.: The cell cycle. pp. 65-72. In: *Principles of Molecular Medicine*, J.C. Jameson, ed.: Humana Press, Totowa, NJ, 1998.
- Nurse, P.: A long twentieth century of the cell cycle and beyond. *Cell* 100:71-78, 2000.



A. Ciclo de división celular en modelos de levaduras



B. Sistemas de control del ciclo celular

División celular: mitosis

En 1879 Walter Flemming observó por primera vez estructuras filiformes en células en división, e introdujo el término mitosis para la división celular. Flemming también observó la división longitudinal de los cromosomas durante la mitosis. En 1884, Strasburger acuñó los términos profase, metafase y anafase para los diferentes estadios de la división celular. La mitosis genera dos células hijas idénticas en términos genéticos.

A. Mitosis

Durante la transición de la interfase a la mitosis, los cromosomas se vuelven visibles como filamentos elongados (profase). En la profase temprana cada cromosoma se adosa a un sitio específico sobre la membrana nuclear y aparece como una estructura doble (cromátidas hermanas), el resultado de la síntesis precedente de DNA. Los cromosomas se contraen durante la profase tardía para volverse más gruesos y cortos (condensación cromosómica). En la profase tardía, la membrana nuclear desaparece y comienza la metafase. En este momento, el huso mitótico se vuelve visible como filamentos finos. Éste parte de dos estructuras polares (centríolos). Los cromosomas se ordenan en la lámina ecuatorial, pero los cromosomas homólogos no se aparean. En la metafase tardía durante la transición a la anafase, los cromosomas se dividen también en la región del centrómero. Las dos cromátidas de cada cromosoma migran a polos opuestos y comienza la telofase con la formación de la membrana nuclear. Por último también se divide el citoplasma (citocinesis). En la interfase temprana las estructuras cromosómicas individuales se vuelven visibles. Los cromosomas interfásicos se llaman cromatina (Flemming 1879), es decir, estructuras nucleares teñibles con colorantes básicos.

B. Cromosomas metafásicos

Waldeyer (1888) acuñó el término cromosoma para las estructuras filiformes teñibles visibles durante la mitosis. Un cromosoma metafásico presenta dos cromátidas (cromátidas hermanas) y el centrómero que las mantiene juntas. El centrómero puede dividir cada una de las cromátidas en dos brazos cromosómicos. Las regiones en am-

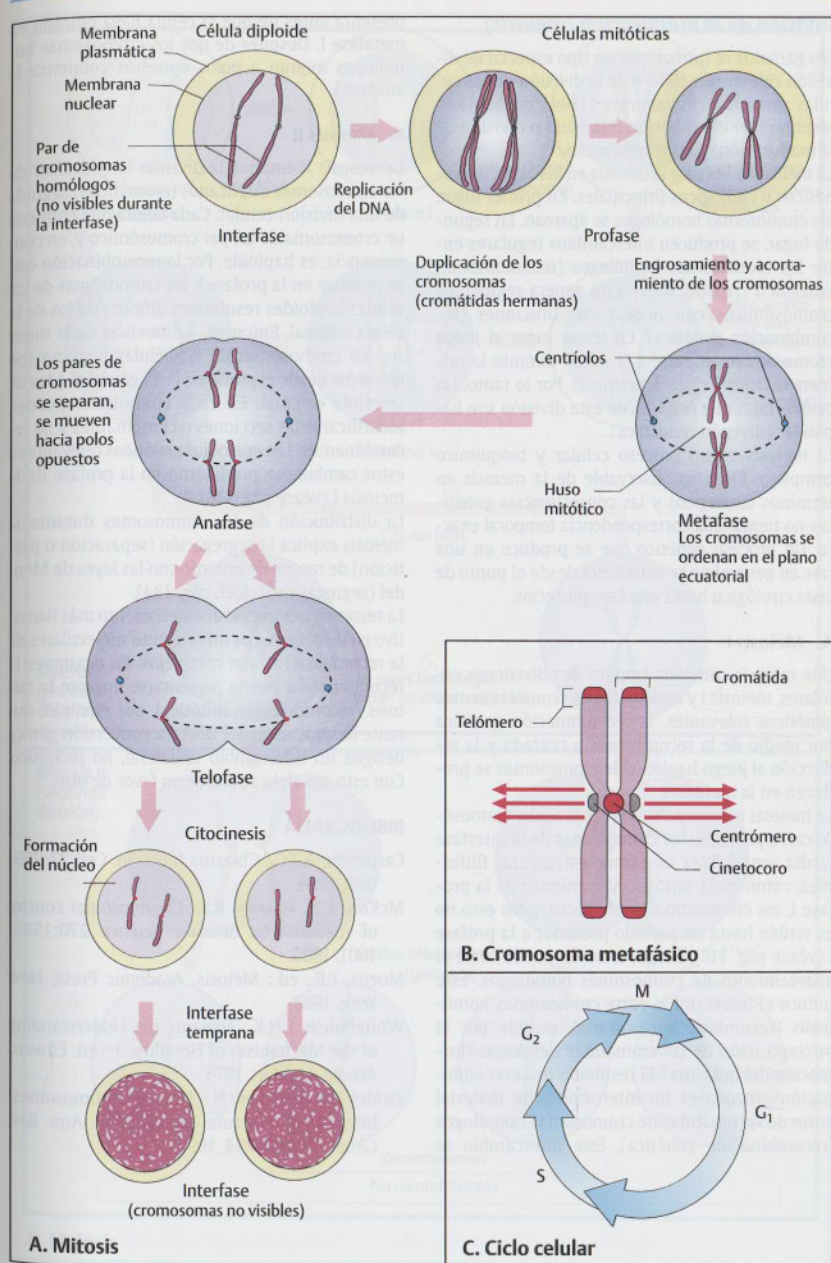
bos extremos del cromosoma son los telómeros. El punto de anclaje a las fibras del huso mitótico es el cinetocoro. Durante la metafase y la prometafase, los cromosomas pueden visualizarse bajo el microscopio óptico como estructuras discretas elongadas, de 3-7 μm de longitud (véase pag. 182).

C. Ciclo celular (mitosis)

Las células eucariotas atraviesan los ciclos de división celular (ciclo celular). En ellas cada división celular comienza con la fase de síntesis del DNA, que dura alrededor de 8 horas (fase S). A ésta le sigue una fase de unas 4 horas (G_2). Durante la fase G_2 (gap o espacio 2), se duplica el genoma completo. La mitosis (M) en las células eucariotas dura alrededor de una hora (véase A). A ésta le sigue una fase, G_1 (interfase), de duración en extremo variable. Corresponde a la fase funcional normal. Las células que no se dividen más están en la fase G_0 . Cada célula debe tener una "memoria" que le indique si está en G_1 o en G_2 , ya que la división de los cromosomas antes de que se hayan duplicado sería letal. Todas las fases del ciclo celular son reguladas por proteínas específicas codificadas por numerosos genes reguladores del ciclo de división celular (cdc). En particular, la transición de G_1 a S y de G_2 a la mitosis es regulada por proteínas del ciclo celular específicas (véase la lámina anterior).

BIBLIOGRAFÍA

- Holm, C.: Coming undone. How to untangle a chromosome. *Cell* 77:956-957, 1994.
 Karsenti, E., Vernos, I.: The mitotic spindle: A self-made machine. *Science* 294:543-547, 2001
 Koshland, D.: Mitosis. Back to the basics. *Cell* 77:951-954, 1994.
 North, G.: Regulating the cell cycle. *Nature* 339:97-98, 1989.
 Nurse, P.: The incredible life and times of biological cells. *Science* 289: 1711-1716, 2000.
 Sharp, D.J., Rogers, G.C., Scholey, J.H.: Microtubule motors in mitosis. *Nature* 407:41-47, 2000.
 Whitehouse, L.H.K.: Towards the Understanding of the Mechanism of Heredity. 3rd ed. Edward Arnold, London, 1973.



División de la maduración (meiosis)

Los gametos se forman por un tipo especial de división celular que difiere de la división de las células somáticas. Strasburger (1884) introdujo el término meiosis (división reductora o división de la maduración) para este proceso.

La meiosis difiere de la mitosis en los aspectos genéticos y citológicos principales. En primer lugar, los cromosomas homólogos se aparean. En segundo lugar, se producen intercambios regulares entre los cromosomas homólogos (recombinación cruzada o *crossing over*). Esto genera segmentos cromosómicos con nuevas constituciones (recombinación genética). En tercer lugar el juego cromosómico se parte a la mitad durante la primera división celular (meiosis I). Por lo tanto, las células hijas que resultan de esta división son haploides (división reductora).

La meiosis es un proceso celular y bioquímico complejo. El curso observable de la meiosis en términos citológicos y las consecuencias genéticas no tienen una correspondencia temporal exacta. Un proceso genético que se produce en una fase en general no se manifiesta desde el punto de vista citológico hasta una fase posterior.

A. Meiosis I

Una meiosis completa implica dos divisiones celulares, meiosis I y meiosis II. Los acontecimientos genéticos relevantes, la recombinación genética por medio de la recombinación cruzada y la reducción al juego haploide de cromosomas se producen en la meiosis I.

La meiosis comienza con la replicación cromosómica. Al principio los cromosomas de la interfase tardía son visibles sólo como estructuras filiformes, como en la mitosis. Al comienzo de la profase I, los cromosomas se duplican, pero esto no es visible hasta un período posterior a la profase I (véase pág. 118). Luego, también puede verse el apareamiento de cromosomas homólogos. Éste induce el intercambio entre cromosomas homólogos (recombinación cruzada), posible por la yuxtaposición de las cromátidas hermanas (formación del quiasma). El resultado de la recombinación cruzada es un intercambio de material entre dos cromátidas de cromosomas homólogos (recombinación genética). Este intercambio se

presenta antes de que la célula haya entrado en metafase I. Después de que los cromosomas homólogos migran a polos opuestos comienza la anafase I.

B. Meiosis II

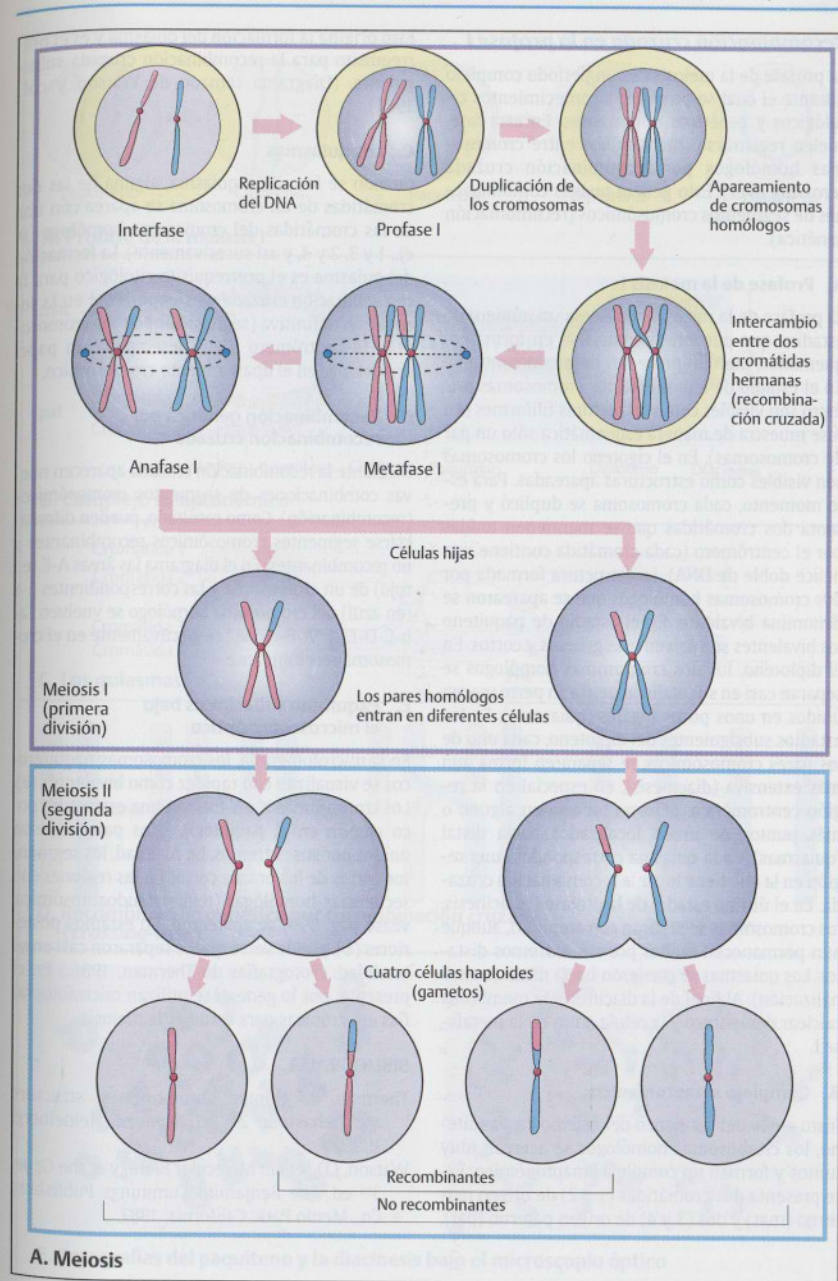
La meiosis II implica la división longitudinal de los cromosomas duplicados (cromátidas) seguida de una división celular. Cada célula hija contiene un cromosoma de un par cromosómico y, en consecuencia, es haploide. Por la recombinación que se produce en la profase I, los cromosomas de las células haploides resultantes difieren de los de la célula original. Entonces, a diferencia de la mitosis, los cromosomas de las células hijas no son idénticos desde el punto de vista genético a los de la célula original. En cada cromosoma pueden identificarse las secciones recombinantes y no recombinantes. Los episodios genéticos relevantes a estos cambios se produjeron en la profase de la meiosis I (véase pág. 118).

La distribución de los cromosomas durante la meiosis explica la segregación (separación o partición) de rasgos de acuerdo con las leyes de Mendel (segregación 1:1, cf. pág. 134).

La recombinación es el acontecimiento más llamativo en la meiosis. Los mecanismos moleculares de la recombinación son complejos. En ocasiones la recombinación puede presentarse durante la mitosis (recombinación mitótica), por ejemplo, durante la reparación del DNA. La conversión génica designa un intercambio unilateral, no recíproco. Con esto, un alelo se pierde en favor de otro.

BIBLIOGRAFÍA

- Carpenter, A.T.C.: Chiasma function. *Cell* 77:959-962, 1994.
- McKim, K.S., Hawley, R.S.: Chromosomal control of meiotic cell division. *Science* 270:1595-1601, 1995.
- Moens, P.B., ed.: *Meiosis*. Academic Press, New York, 1987.
- Whitehouse, L.H.K.: *Towards the Understanding of the Mechanism of Heredity*. 3rd ed. Edward Arnold, London, 1973.
- Zickler, D., Kleckner, N.: Meiotic chromosomes: Integrating structure and function. *Ann. Rev. Genet.* 33:603-754, 1999.



A. Meiosis

Recombinación cruzada en la profase I

La profase de la meiosis I es un período complejo durante el cual se producen acontecimientos citológicos y genéticos importantes. En esta fase, suelen registrarse intercambios entre cromosomas homólogos por recombinación cruzada (*crossing over*). Esto genera nuevas combinaciones de segmentos cromosómicos (recombinación genética).

A. Profase de la meiosis I

La profase de la meiosis I atraviesa un número de estadios que pueden diferenciarse en forma esquemática, aunque procedan de modo continuo. En el estadio de leptonema, los cromosomas primero son visibles como estructuras filiformes (en A se muestra de manera esquemática sólo un par de cromosomas). En el cigoteno los cromosomas son visibles como estructuras apareadas. Para este momento, cada cromosoma se duplicó y presenta dos cromátidas que se mantienen unidas por el centrómero (cada cromátida contiene una hélice doble de DNA). La estructura formada por dos cromosomas homólogos que se aparearon se denomina bivalente. En el estadio de paquiteno los bivalentes se vuelven más gruesos y cortos. En el diploteno, los dos cromosomas homólogos se separan casi en su totalidad pero aún permanecen unidos en unos pocos lugares (quiasmas). En los estadios subsiguientes del diploteno, cada uno de los pares cromosómicos se separa en forma aun más extensiva (diacinesis), en especial en la región centromérica, pero no todavía en alguno o más puntos de unión localizados hacia distal (quiasmas). Cada quiasma corresponde a una región en la que tiene lugar la recombinación cruzada. En el último estadio de la profase I, diacinesis, los cromosomas se separan con amplitud, aunque aún permanecen unidos por sus extremos distales. Los quiasmas se corrieron hacia distal (terminalización). Al final de la diacinesis, la membrana nuclear desaparece y la célula entra en la metafase I.

B. Complejo sinaptonémico

Justo antes del comienzo del estadio de paquiteno, los cromosomas homólogos se acercan muy juntos y forman un complejo sinaptonémico. Éste presenta dos cromátidas (1 y 2) de origen materno (mat) y dos (3 y 4) de origen paterno (pat).

Esto origina la formación del quiasma y es el prerequisite para la recombinación cruzada subsiguiente. (Diagrama tomado de Watson y col., 1987).

C. Los quiasmas

Cuando se forma un quiasma, alguna de las dos cromátidas de un cromosoma se aparea con una de las cromátidas del cromosoma homólogo (p. ej., 1 y 3, 2 y 4, y así sucesivamente). La formación del quiasma es el prerequisite citológico para la recombinación cruzada y es importante en la separación definitiva (segregación) de los cromosomas. El centrómero (Cen) desempeña un papel importante en el apareamiento cromosómico.

D. Recombinación genética por recombinación cruzada

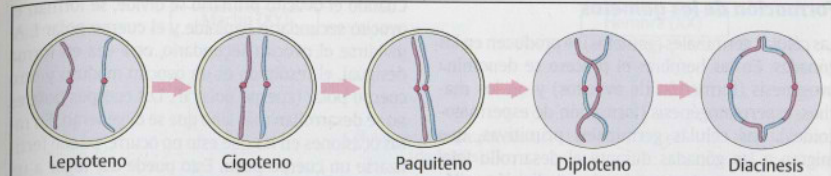
Mediante la recombinación cruzada aparecen nuevas combinaciones de segmentos cromosómicos (recombinación). Como resultado, pueden diferenciarse segmentos cromosómicos recombinantes y no recombinantes. En el diagrama las áreas A-E (en rojo) de un cromosoma y las correspondientes a-e (en azul) del cromosoma homólogo se vuelven "a-b-C-D-E" y "A-B-c-d-e," respectivamente en el cromosoma recombinante.

E. Paquiteno y diacinesis bajo el microscopio óptico

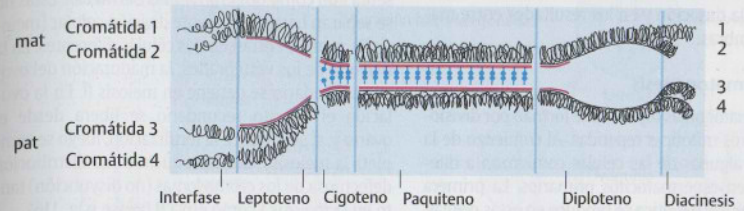
En la microfotografía, los cromosomas paquiténicos se visualizan con rapidez como bivalentes (a). Los cromosomas X e Y forman una estructura poco común en el paquiteno. Ellos parecen estar unidos por sus extremos. En realidad, los segmentos cortos de los brazos cortos en las regiones con secuencias homólogas (región pseudoautosómica, véase pág. 390) se aparearon. En estadios posteriores (b), puede verse que se separaron casi en su totalidad. (Fotografías de Therman, 1986.) En el presente, por lo general se utilizan microfotografías electrónicas para estudiar la meiosis.

BIBLIOGRAFÍA

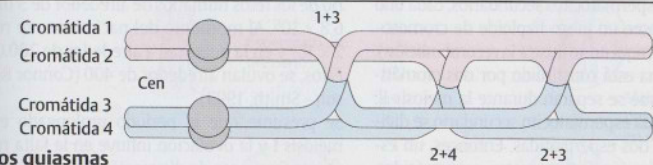
- Therman, E.: Human Chromosomes: structure and behaviour. 2nd ed. Springer, Heidelberg, 1986.
 Watson, J.D., et al.: Molecular Biology of the Gene. 3rd ed. The Benjamins/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



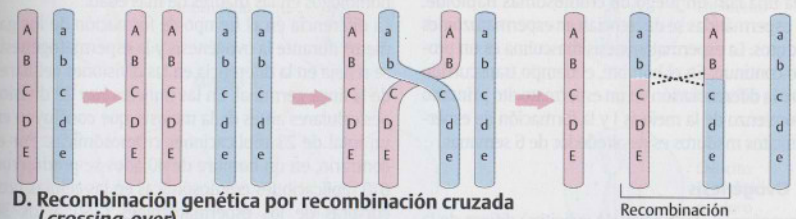
A. Profase de la meiosis I



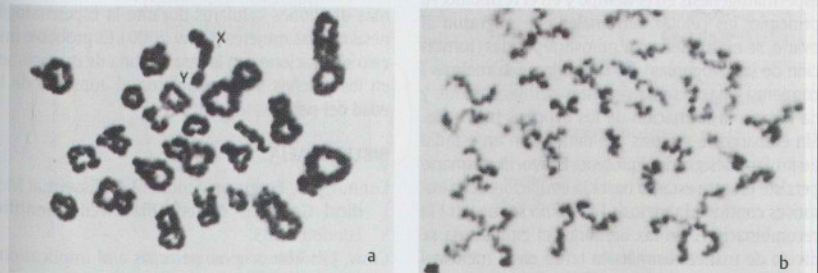
B. Complejo sinaptonémico



C. Los quiasmas



D. Recombinación genética por recombinación cruzada (*crossing-over*)



E. Fotografías del paquiteno y la diacinesis bajo el microscopio óptico

Formación de los gametos

Las células germinales (gametos) se producen en las gónadas. En las hembras el proceso se denomina ovogénesis (formación de ovocitos) y en los machos, espermatogénesis (formación de espermatozoides). Las células germinales primitivas, que migran a las gónadas durante el desarrollo fetal temprano, aumentan en número por división mitótica. La formación real de células germinales (gametogénesis) comienza con la meiosis. La meiosis difiere en la duración y en los resultados entre machos y hembras.

A. Espermatogénesis

Las espermatogonias diploides se forman por divisiones celulares mitóticas repetidas. Al comienzo de la pubertad, algunas de las células comienzan a diferenciarse en espermatozoides primarios. La primera división celular meiótica se produce en estas células. Al completarse la meiosis I, un espermatozocito primario generó dos espermatozocitos secundarios, cada uno de los cuales posee un juego haploide de cromosomas duplicados (aquí no se ilustra la recombinación). Cada cromosoma está constituido por dos cromátidas hermanas que se separan durante la meiosis II. En esta etapa cada espermatozocito secundario se divide para formar dos espermátidas. Entonces, un espermatozocito primario forma cuatro espermátidas, cada una con un juego de cromosomas haploide. Las espermátidas se diferencian en espermatozoides maduros. La espermatogénesis masculina es un proceso continuo. En el hombre, el tiempo transcurrido entre la diferenciación en un espermatozocito primario al comienzo de la meiosis I y la formación de espermatozoides maduros es de alrededor de 6 semanas.

B. Ovogénesis

La ovogénesis (formación de ovocitos) difiere de la espermatogénesis en el tiempo y en el resultado. Al principio, las células germinales que migraron al ovario, se multiplican por mitosis repetidas (formación de las ovogonias). En las mujeres, la meiosis I comienza unas 4 semanas antes del nacimiento, y da lugar a la formación de los ovocitos primarios. Sin embargo, la meiosis I se detiene en un estadio de profase designado diploteno. El ovocito primario persiste en este estadio hasta la ovulación. Sólo entonces continúa la meiosis I (aquí no se muestra la recombinación). En las hembras, el citoplasma se divide de manera asimétrica tanto en la meiosis I como en la meiosis II. El resultado en ambas ocasiones es la formación de dos células de diferente tamaño: una más grande que eventualmente formará al huevo y una pequeña, denominada cuerpo polar.

Cuando el ovocito primario se divide, se forman el ovocito secundario haploide y el cuerpo polar I. Al dividirse el ovocito secundario, otra vez en forma desigual, el resultado es un ovocito maduro y otro cuerpo polar (cuerpo polar II). Los cuerpos polares no se desarrollan más sino que se degeneran. En raras ocasiones en las que esto no ocurre, puede fertilizarse un cuerpo polar. Esto puede dar lugar a un gemelo desarrollado en forma incompleta.

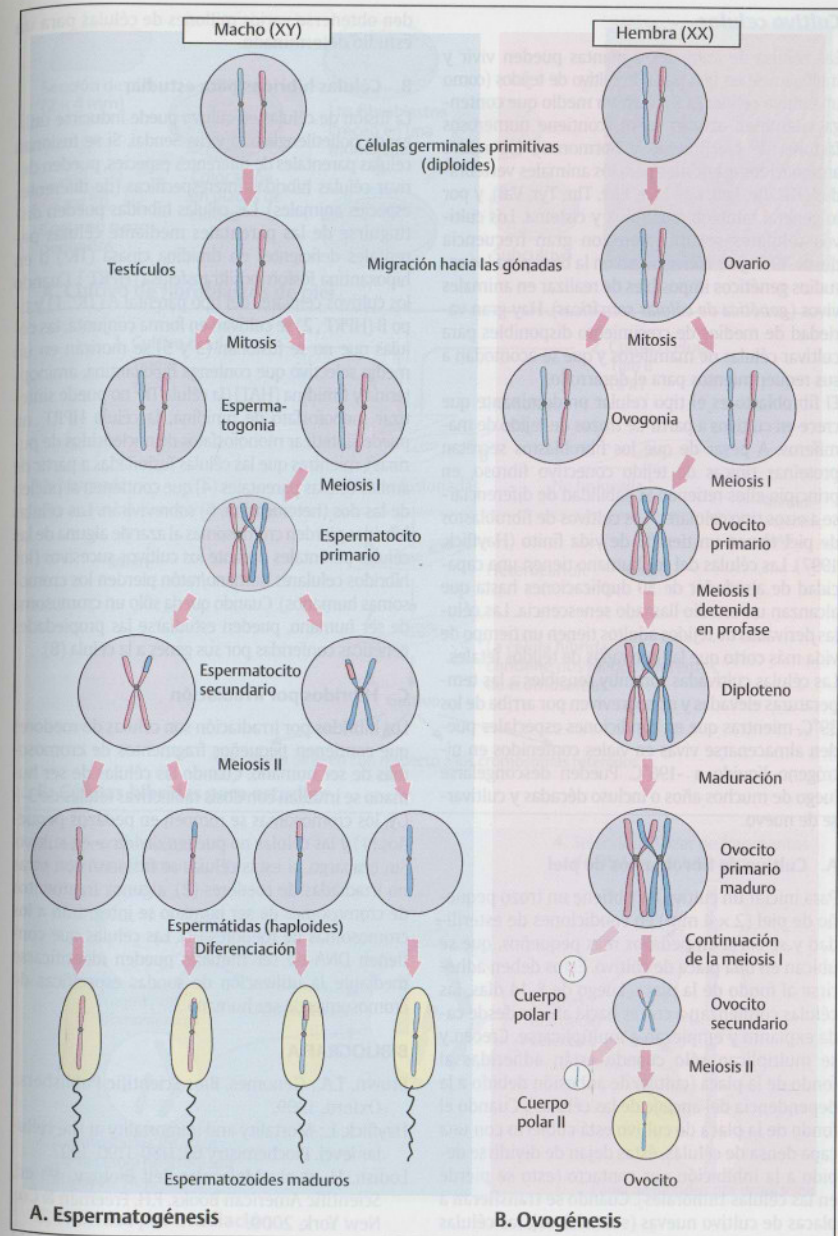
En el ovocito secundario cada cromosoma se presenta aún como dos cromátidas hermanas. Éstas no se separan hasta la siguiente división celular (meiosis II), cuando entran en dos células diferentes. En la mayoría de los vertebrados, la maduración del ovocito secundario se detiene en meiosis II. En la ovulación el ovocito secundario se libera desde el ovario y, si se produce la fertilización, luego se completa la meiosis. Puede producirse una distribución defectuosa de los cromosomas (no disyunción) tanto en la meiosis I como en la II (véase pág. 116). El número máximo de células germinales en el ovario de los fetos humanos de alrededor de 5 meses es $6,8 \times 10^6$. Al momento del nacimiento se redujo a 2×10^6 y en la pubertad a alrededor de 200.000. De éstos, se ovulan alrededor de 400 (Connor & Ferguson - Smith, 1993).

Se presume que el período prolongado entre la meiosis I y la ovulación influye en la falta relativamente frecuente de disyunción de los cromosomas homólogos en las madres de más edad.

La diferencia en el tiempo de formación de los gametos durante la ovogénesis y la espermatogénesis se refleja en la diferencia en las divisiones celulares de la línea germinal. En las mujeres hay 22 divisiones celulares antes de la meiosis, que concluyen en un total de 23 repeticiones cromosómicas. Por el contrario, en un hombre de 40 años se produjeron 610 repeticiones cromosómicas en las células precursoras de los espermatozoides (380 a los 30 años). Es decir que los hombres producen 25 veces más divisiones celulares durante la espermatogénesis que las mujeres (Crow, 2000). Es probable que esto se relacione con la tasa elevada de mutaciones en los machos, en especial con el aumento de la edad del padre.

BIBLIOGRAFÍA

- Connor, J.M., Ferguson-Smith, M.A.: *Essential Medical Genetics*, 4th ed., Blackwell Scientific, London, 1993.
- Crow, J.F.: The origins, patterns and implications of human spontaneous mutation. *Nature Reviews* 1:40-47, 2000.
- Hurst, L.D., Ellegren, H.: Sex biases in the mutation rate. *Trends Genet.* 14:446-452, 1998.



A. Espermatogénesis

B. Ovogénesis

Cultivo celular

Las células de animales y plantas pueden vivir y multiplicarse en una placa de cultivo de tejidos (como un cultivo celular) a 37°C en un medio que contenga vitaminas, azúcar, suero (contiene numerosos factores de crecimiento y hormonas), los nueve aminoácidos esenciales para los animales vertebrados (His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr, Tyr, Val), y por lo general también glutamina y cisteína. Los cultivos celulares se utilizaron con gran frecuencia desde 1965 y se convirtieron en la base para los estudios genéticos imposibles de realizar en animales vivos (*genética de células somáticas*). Hay gran variedad de medios de crecimiento disponibles para cultivar células de mamíferos y que se acomodan a sus requerimientos para el desarrollo.

El fibroblasto es el tipo celular predominante que crece en cultivos a partir de trozos de tejido de mamíferos. A pesar de que los fibroblastos secretan proteínas típicas de tejido conectivo fibroso, en principio ellos retienen la habilidad de diferenciarse a otros tipos celulares. Los cultivos de fibroblastos de piel tienen un tiempo de vida finito (Hayflick, 1997). Las células del ser humano tienen una capacidad de alrededor de 30 duplicaciones hasta que alcanzan un estadio llamado senescencia. Las células derivadas de tejidos adultos tienen un tiempo de vida más corto que las derivadas de tejidos fetales. Las células cultivadas son muy sensibles a las temperaturas elevadas y no sobreviven por arriba de los 39°C, mientras que en condiciones especiales pueden almacenarse vivas en viales contenidos en nitrógeno líquido a -196°C. Pueden descongelarse luego de muchos años o incluso décadas y cultivarse de nuevo.

A. Cultivo de fibroblastos de piel

Para iniciar un cultivo, se obtiene un trozo pequeño de piel (2 x 4 mm) en condiciones de esterilidad y se corta en pedazos más pequeños, que se ubican en una placa de cultivo. Éstos deben adherirse al fondo de la placa. Luego de 8-14 días, las células comienzan a crecer hacia afuera desde cada explanto y empiezan a multiplicarse. Crecen y se multiplican sólo cuando están adheridas al fondo de la placa (cultivo de adhesión debido a la dependencia del anclaje de las células). Cuando el fondo de la placa de cultivo está cubierto con una capa densa de células, éstas dejan de dividirse debido a la inhibición por contacto (esto se pierde en las células tumorales). Cuando se transfieren a placas de cultivo nuevas (subcultivos), las células volverán a crecer hasta que lleguen a confluencia de nuevo. Mediante una serie de subcultivos, pue-

den obtenerse varios millones de células para un estudio determinado.

B. Células híbridas para estudiar

La fusión de células en cultivo puede inducirse utilizando polietilenglicol o virus Sendai. Si se fusionan células parentales de diferentes especies, pueden derivar células híbridas interespecíficas (de diferentes especies animales). Las células híbridas pueden distinguirse de las parentales mediante células parentales deficientes en timidina cinasa (TK-) o en hipoxantina fosforribosiltransferasa (HPRT-). Cuando los cultivos celulares del tipo parental A (TK-, 1) y tipo B (HPRT-, 2) se cultivan en forma conjunta, las células que no se fusionan (3 y 5) se morirán en un medio selectivo que contenga hipoxantina, aminopterina y timidina (HAT) (la célula TK- no puede sintetizar monofosfato de timidina; la célula HPRT- no puede sintetizar monofosfatos de nucleósidos de purinas), mientras que las células fusionadas a partir de ambas células parentales (4) que contienen al núcleo de las dos (heterocarion, 6) sobrevivirán. Las células híbridas pierden cromosomas al azar de alguna de las células parentales durante los cultivos sucesivos (los híbridos celulares humano/ratón pierden los cromosomas humanos). Cuando queda sólo un cromosoma de ser humano, pueden estudiarse las propiedades genéticas conferidas por sus genes a la célula (8).

C. Híbridos por irradiación

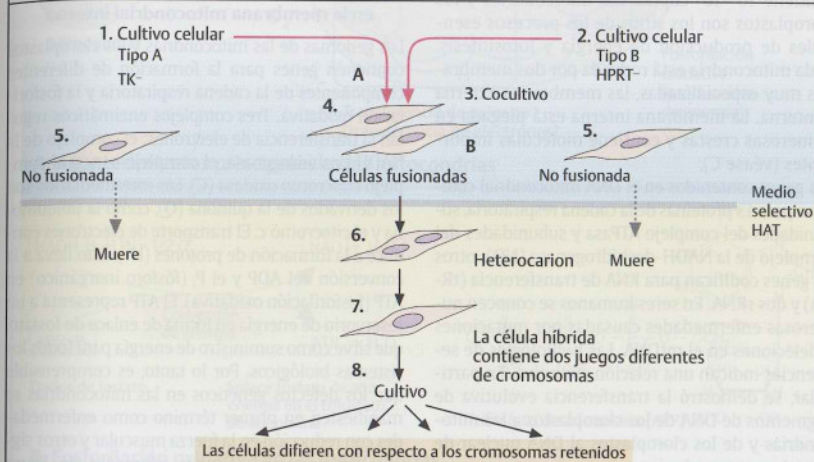
Los híbridos por irradiación son células de roedores que contienen pequeños fragmentos de cromosomas de ser humano. Cuando las células de ser humano se irradian con dosis radiactivas letales de 3-8 Gy, los cromosomas se rompen en pedazos pequeños (1) y las células no pueden dividirse en cultivo. Sin embargo, si estas células se fusionan con otras no irradiadas de roedores (2), algunos fragmentos de cromosomas de ser humano se integrarán a los cromosomas de roedores (3). Las células que contienen DNA de ser humano pueden identificarse mediante la utilización de sondas específicas de cromosomas de ser humano.

BIBLIOGRAFÍA

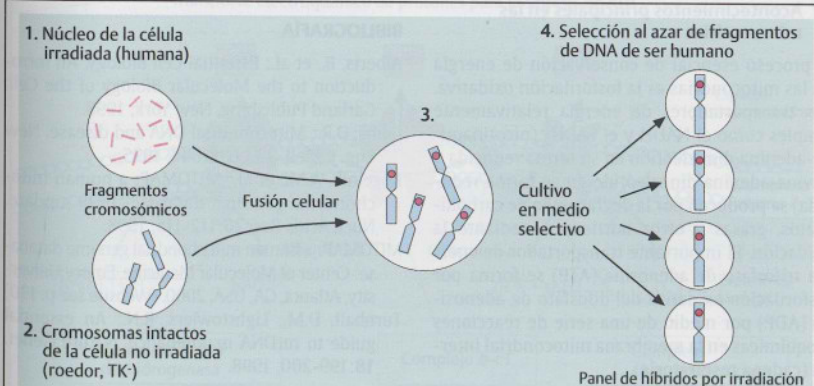
Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.
 Hayflick, L.: Mortality and immortality at the cellular level. *Biochemistry* 62:1180-1190, 1997.
 Lodish, H. et al.: Molecular Cell Biology. 4th ed. Scientific American Books, F.H. Freeman & Co., New York, 2000.
 McCarthy, L.: Whole genome radiation hybrid mapping. *Trends Genet.* 12:491-493, 1996.



A. Cultivo de fibroblastos de piel



B. Células híbridas para estudiar



C. Híbridos por irradiación

Genética mitocondrial

Procesos de producción de energía controlados genéticamente en las mitocondrias

Los organismos eucariontes contienen información genética esencial separada del DNA nuclear en genomas extracromosómicos llamados mitocondrias. Las mitocondrias de todos los eucariontes y los cloroplastos de las plantas verdes y algas contienen moléculas de DNA circular (DNA mitocondrial, mtDNA). Cada célula eucarionte contiene 10^3 - 10^4 copias. Las mitocondrias y los cloroplastos son los sitios de los procesos esenciales de producción de energía y fotosíntesis. Cada mitocondria está rodeada por dos membranas muy especializadas, las membranas externa e interna. La membrana interna está plegada en numerosas crestas y contiene moléculas importantes (véase C).

Los genes contenidos en el DNA mitocondrial codifican para 13 proteínas de la cadena respiratoria, subunidades del complejo ATPasa y subunidades del complejo de la NADH-deshidrogenasa (ND); otros 22 genes codifican para RNA de transferencia (tRNA) y dos rRNA. En seres humanos se conocen numerosas enfermedades causadas por mutaciones y deleciones en el mtDNA. Las homologías de secuencias indican una relación evolutiva. En particular, se demostró la transferencia evolutiva de segmentos de DNA de los cloroplastos a las mitocondrias y de los cloroplastos al DNA nuclear de organismos eucariontes.

A. Acontecimientos principales en las mitocondrias

El proceso esencial de conservación de energía en las mitocondrias es la fosforilación oxidativa. Los transportadores de energía relativamente simples como el NADH y el FADH₂ (nicotinamida-adenina dinucleótido en su forma reducida y flavina-adenina dinucleótido en su forma reducida) se producen por la degradación de carbohidratos, grasas y otros nutrientes mediante la oxidación. El importante transportador de energía trifosfato de adenosina (ATP) se forma por fosforilación oxidativa del difosfato de adenosina (ADP) por medio de una serie de reacciones bioquímicas en la membrana mitocondrial interna (cadena respiratoria).

B. Fosforilación oxidativa en las mitocondrias

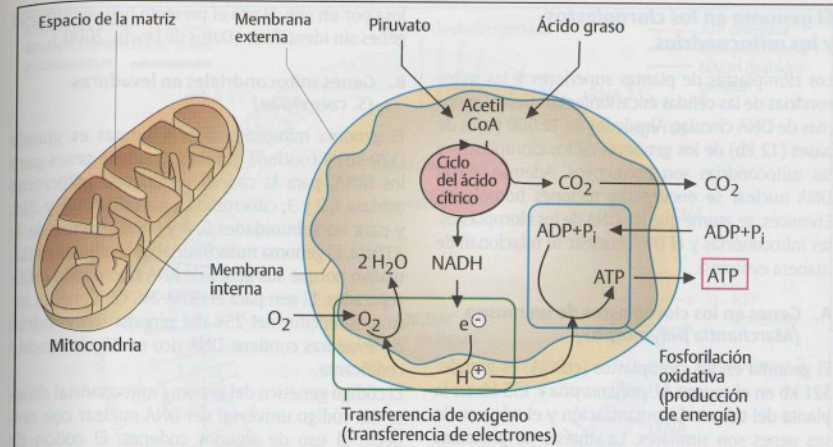
El trifosfato de adenosina (ATP) desempeña un papel central en el intercambio de energía en los procesos biológicos. El ATP es un nucleótido constituido por adenina, una ribosa y una unidad de trifosfato. Es rico en energía porque la subunidad de trifosfato contiene dos enlaces fosfo-anhídros. Cuando el ATP se hidroliza para formar ADP se libera energía (energía libre). La energía contenida en el ATP y unida al fosfato se libera, por ejemplo, durante la contracción muscular.

C. Transferencia de electrones en la membrana mitocondrial interna

Los genomas de las mitocondrias y los cloroplastos contienen genes para la formación de diferentes componentes de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa. Tres complejos enzimáticos regulan la transferencia de electrones: el complejo de la NADH deshidrogenasa, el complejo b-c₁ y el complejo citocromo oxidasa (C). Los intermediarios son los derivados de la quinona (Q), como la ubiquinona y el citocromo c. El transporte de electrones conduce a la formación de protones (H⁺). Esto lleva a la conversión del ADP y el P_i (fósforo inorgánico) en ATP (fosforilación oxidativa). El ATP representa a un reservorio de energía en forma de enlace de fosfato, que sirve como suministro de energía para todos los sistemas biológicos. Por lo tanto, es comprensible que los defectos genéticos en las mitocondrias se manifiesten en primer término como enfermedades con reducción en la fuerza muscular y otros signos degenerativos. (Figuras adaptadas de Bruce Alberts y col., 1998.)

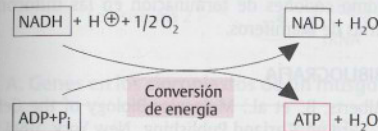
BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., et al.: *Essential Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing, New York, 1998.
- Johns, D.R.: *Mitochondrial DNA and disease*. *New Eng. J. Med.* 333:638-644, 1995.
- Kogelnik, A.M., et al.: *MITOMAP: a human mitochondrial genome database-1998 update*. *Nucl. Acids Res.* 26:112-115, 1998.
- MITOMAP: a human mitochondrial genome database; Center of Molecular Medicine, Emory University, Atlanta, GA, USA, 2000. (Website see p. 130)
- Turnball, D.M., Lightowlers, R.N.: *An essential guide to mtDNA maintenance*. *Nature Genet.* 18:199-200, 1998.



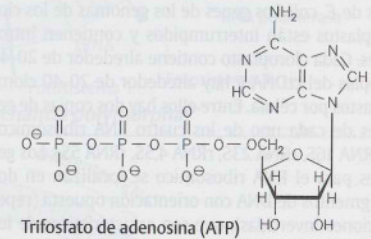
A. Acontecimientos principales en las mitocondrias

Energía inicial



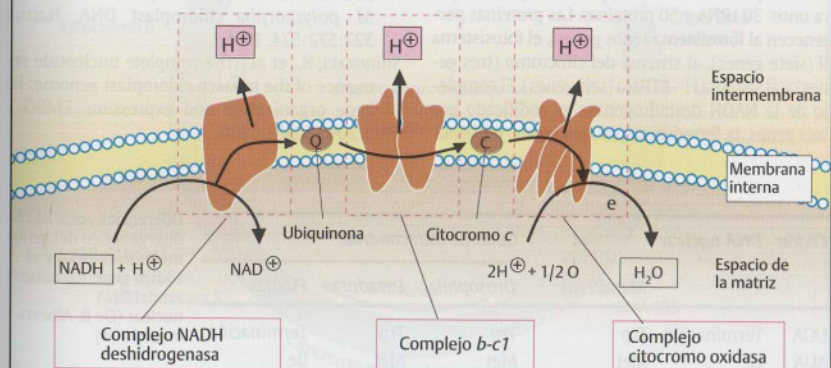
Dador de fosfato

Enlace fosfato de alta energía en el trifosfato de adenosina



B. Fosforilación oxidativa en las mitocondrias

Transporte electroquímico de protones para la síntesis de ATP



C. Transferencia de electrones en la membrana mitocondrial interna

El genoma en los cloroplastos y las mitocondrias

Los cloroplastos de plantas superiores y las mitocondrias de las células eucariontes contienen genomas de DNA circular. Alrededor de 12.000 pares de bases (12 kb) de los genomas de los cloroplastos y las mitocondrias son homólogos. Además, en el DNA nuclear se encuentran regiones homólogas. Entonces, se asume que los DNA de los cloroplastos, las mitocondrias y el DNA nuclear se relacionan de manera evolutiva.

A. Genes en los cloroplastos de un musgo (*Marchantia polymorpha*)

El genoma en los cloroplastos (ctDNA) es grande: 121 kb en el musgo *M. polymorpha* y 155 kb en la planta del tabaco. La organización y el número de sus genes son similares. La síntesis de proteínas muestra ciertas similitudes con las bacterias. Muchas de las proteínas ribosómicas son homólogas a las de *E. coli*. Los genes de los genomas de los cloroplastos están interrumpidos y contienen intrones. Cada cloroplasto contiene alrededor de 20-40 copias del ctDNA y hay alrededor de 20-40 cloroplastos por célula. Entre ellos hay dos copias de genes de cada uno de los cuatro RNA ribosómicos (rRNA 16S, rRNA 23S, rRNA 4,5S, rRNA 5S). Los genes para el RNA ribosómico se localizan en dos segmentos de DNA con orientación opuesta (repeticiones invertidas), que son características de los genomas de los cloroplastos. Entre las dos repeticiones invertidas yace un segmento de 18-19 kb con copias simples de genes cortos. El genoma de los cloroplastos contiene información genética para unos 30 tRNA y 50 proteínas. Las proteínas pertenecen al fotosistema I (dos genes), el fotosistema II (siete genes), al sistema del citocromo (tres genes) y al sistema H⁺-ATPasa (seis genes). El complejo de la NADH deshidrogenasa es codificado por seis genes, la ferredoxina por tres genes, y la ribu-

losa por un gen. Hasta el presente hay veintinueve genes sin identificar. (Datos de Lewin, 2000.)

B. Genes mitocondriales en levaduras (*S. cerevisiae*)

El genoma mitocondrial de levaduras es grande (120 kb) y contiene intrones. Contiene genes para los tRNA, para la cadena respiratoria (citocromo oxidasa 1, 2 y 3; citocromo b), para rRNA 15S y 21S, y para las subunidades 6, 8 y 9 del sistema de la ATPasa. El genoma mitocondrial de levaduras es llamativo porque sus genes de RNA ribosómico están separados. El gen para el rRNA 21S contiene un intrón. Alrededor del 25% del genoma mitocondrial de levaduras contiene DNA rico en AT sin función codificante.

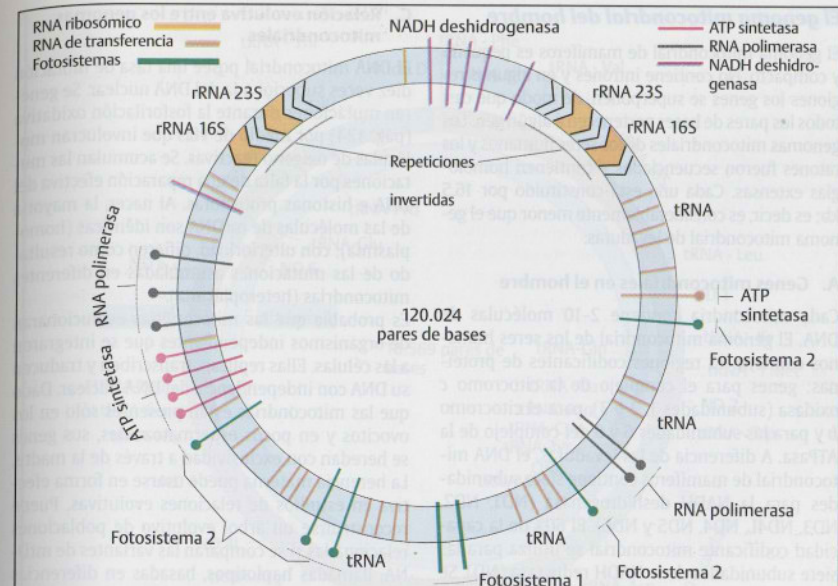
El código genético del genoma mitocondrial difiere del código universal del DNA nuclear con respecto al uso de algunos codones. El codón de terminación nuclear UGA en las mitocondrias codifica para el triptófano, mientras que los codones nucleares para la arginina (AGA y AGG) funcionan como codones de terminación en las mitocondrias de mamíferos.

BIBLIOGRAFÍA

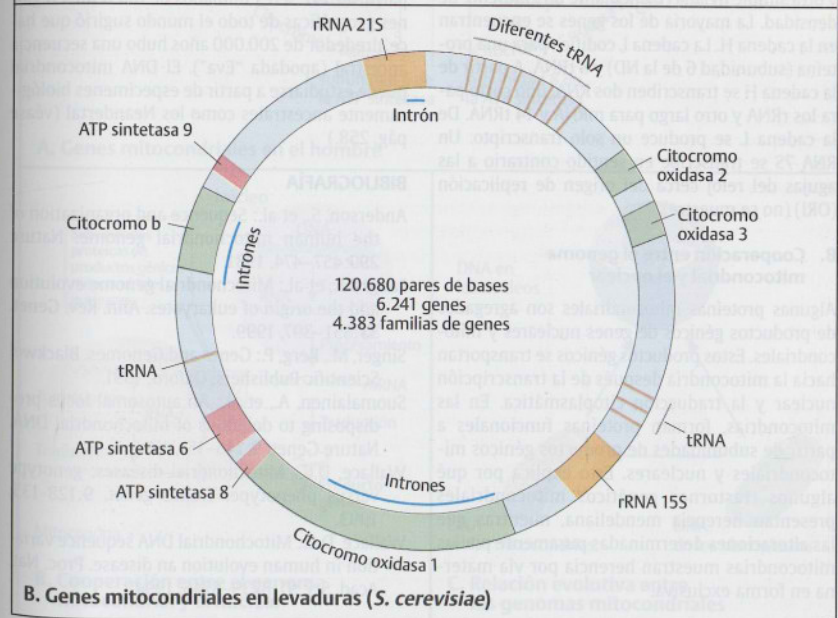
- Alberts, B., et al.: Molecular Biology of the Cell. 3rd ed. Garland Publishing., New York, 1994.
- Alberts, B., et al.: Essential Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing, New York, 1998.
- Lewin, B.: Genes VII. Oxford University Press, Oxford, 2000.
- Ohyama, K., et al.: Chloroplast gene organization deduced from complete sequence of liverwort *M. polymorpha* chloroplast DNA. Nature 322:572-574, 1986.
- Shinozaki, K., et al.: The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression. EMBO J. 5:2043-2049, 1986.

Codón	DNA nuclear	Genoma mitocondrial			
		Mamíferos	Drosophila	Levaduras	Plantas
UGA	Terminación	Trp	Trp	Trp	Terminación
AUA	Le	Met	Met	Met	Ile
CUA	Leu	Leu	Leu	Thr	Leu
AGA } AGG }	Arg	Terminación	Ser	Arg	Arg

Diferencias entre el código genético del genoma mitocondrial y el código genético universal del DNA nuclear (De B. Alberts et al., 1994).



A. Genes en los cloroplastos de un musgo (*Marchantia polymorpha*)



B. Genes mitocondriales en levaduras (*S. cerevisiae*)

El genoma mitocondrial del hombre

El genoma mitocondrial de mamíferos es pequeño y compacto. No contiene intrones y en algunas regiones los genes se superponen, de modo que casi todos los pares de bases pertenecen a algún gen. Los genomas mitocondriales de los seres humanos y los ratones fueron secuenciados y contienen homologías extensas. Cada uno está constituido por 16,5 kb; es decir, es considerablemente menor que el genoma mitocondrial de levaduras.

A. Genes mitocondriales en el hombre

Cada mitocondria contiene 2-10 moléculas de DNA. El genoma mitocondrial de los seres humanos contiene 13 regiones codificantes de proteínas: genes para el complejo de la citocromo *c* oxidasa (subunidades 1, 2 y 3), para el citocromo *b* y para las subunidades 6 y 8 del complejo de la ATPasa. A diferencia de las levaduras, el DNA mitocondrial de mamíferos contiene siete subunidades para la NADH deshidrogenasa (ND1, ND2, ND3, ND4L, ND4, ND5 y ND6). El 60% de la capacidad codificante mitocondrial se utiliza para las siete subunidades de la NADH reductasa (ND). Se pueden diferenciar una cadena simple pesada (H) y otra simple liviana (L) mediante un gradiente de densidad. La mayoría de los genes se encuentran en la cadena H. La cadena L codifica para una proteína (subunidad 6 de la ND) y 8 tRNA. A partir de la cadena H se transcriben dos RNA, uno corto para los rRNA y otro largo para mRNA y 14 tRNA. De la cadena L se produce un solo transcripto. Un RNA 7S se transcribe en sentido contrario a las agujas del reloj cerca del origen de replicación (ORI) (no se muestra).

B. Cooperación entre el genoma mitocondrial y el nuclear

Algunas proteínas mitocondriales son agregados de productos génicos de genes nucleares y mitocondriales. Estos productos génicos se transportan hacia la mitocondria después de la transcripción nuclear y la traducción citoplasmática. En las mitocondrias, forman proteínas funcionales a partir de subunidades de productos génicos mitocondriales y nucleares. Esto explica por qué algunos trastornos genéticos mitocondriales presentan herencia mendeliana, mientras que las alteraciones determinadas puramente por las mitocondrias muestran herencia por vía materna en forma exclusiva.

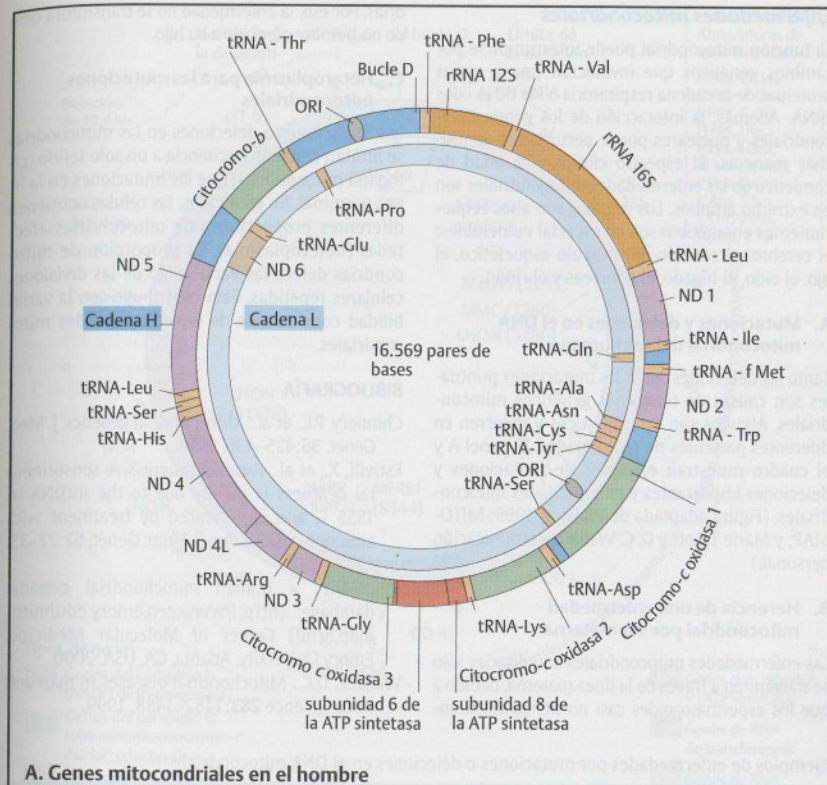
C. Relación evolutiva entre los genomas mitocondriales

El DNA mitocondrial posee una tasa de mutación diez veces superior a la del DNA nuclear. Se generan mutaciones durante la fosforilación oxidativa (pág. 124) por medio de vías que involucran moléculas de oxígeno reactivas. Se acumulan las mutaciones por la falta de una reparación efectiva del DNA e histonas protectoras. Al nacer, la mayoría de las moléculas de mtDNA son idénticas (homoplasmia); con ulterioridad, difieren como resultado de las mutaciones acumuladas en diferentes mitocondrias (heteroplasmia).

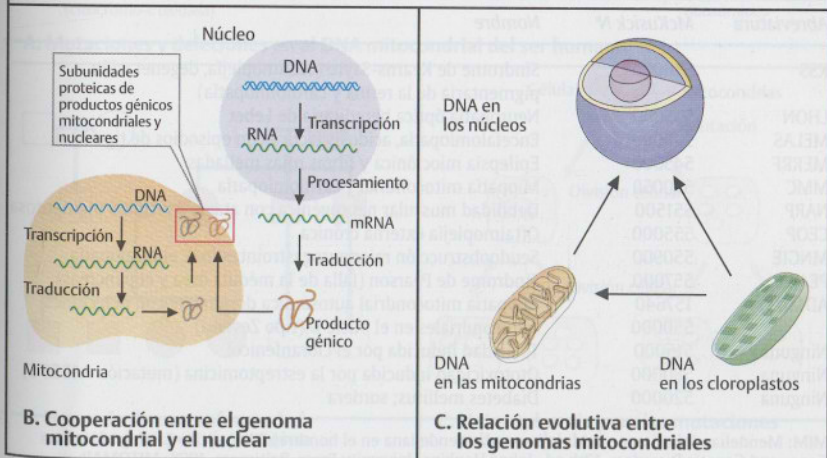
Es probable que las mitocondrias evolucionaran de organismos independientes que se integraron a las células. Ellas replican, transcriben y traducen su DNA con independencia del DNA nuclear. Dado que las mitocondrias están presentes sólo en los ovocitos y en pocos espermatozoides, sus genes se heredan con exclusividad a través de la madre. La herencia materna puede usarse en forma efectiva en estudios de relaciones evolutivas. Puede reconstruirse un árbol evolutivo de poblaciones relacionadas si se comparan las variantes de mtDNA, llamadas haplotipos, basadas en diferencias de secuencia. Un árbol filogenético reconstruido a partir de 147 seres humanos de diferentes regiones geográficas de todo el mundo sugirió que hace alrededor de 200.000 años hubo una secuencia ancestral (apodada "Eva"). El DNA mitocondrial puede estudiarse a partir de especímenes biológicamente ancestrales como los Neandertal (véase pág. 258.)

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, S., et al.: Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290:457-474, 1981.
- Lang, B.F., et al.: Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. *Ann. Rev. Genet.* 33:351-397, 1999.
- Singer, M., Berg, P.: *Genes and Genomes*. Blackwell Scientific Publishers, Oxford, 1991.
- Suomalainen, A., et al.: An autosomal locus predisposing to deletions of mitochondrial DNA. *Nature Genet.* 9:146-151, 1995.
- Wallace, D.C.: Mitochondrial diseases: genotype versus phenotype. *Trends genet.* 9:128-133, 1993.
- Wallace, D.C.: Mitochondrial DNA sequence variation in human evolution and disease. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 91:8739-8746, 1994.



A. Genes mitocondriales en el hombre



Enfermedades mitocondriales

La función mitocondrial puede interrumpirse por cambios genéticos que involucran una o varias proteínas de la cadena respiratoria o los tRNA o los rRNA. Además, la interacción de los genes mitocondriales y nucleares puede perturbarse de muchas maneras. El espectro clínico y la edad de comienzo de las enfermedades mitocondriales son en extremo amplios. Los órganos con altos requerimientos energéticos son en especial vulnerables: el cerebro, el corazón, el músculo esquelético, el ojo, el oído, el hígado, el páncreas y el riñón.

A. Mutaciones y deleciones en el DNA mitocondrial del ser humano

Tanto las deleciones como las mutaciones puntuales son causas de trastornos genéticos mitocondriales. Algunos son característicos y recurren en diferentes pacientes no relacionados. El panel A y el cuadro muestran ejemplos de mutaciones y deleciones importantes y enfermedades mitocondriales. (Figura adaptada de Wallace, 1999; MITOMAP; y Marie T. Lott y D. C. Wallace, comunicación personal.)

B. Herencia de una enfermedad mitocondrial por vía materna

Las enfermedades mitocondriales hereditarias sólo se transmiten a través de la línea materna, debido a que los espermatozoides casi no tienen mitocon-

drias. Por eso, la enfermedad no se transmitirá desde un hombre afectado a su hijo.

C. Heteroplasmia para las mutaciones mitocondriales

Las mutaciones o deleciones en las mitocondrias se limitan con más frecuencia a un solo tejido (ci-topatía mitocondrial) que las mutaciones en la línea germinal. En esos casos, las células contienen diferentes proporciones de mitocondrias afectadas (heteroplasmia). La proporción de mitocondrias defectivas varía luego de las divisiones celulares repetidas. Esto contribuye con la variabilidad considerable de las enfermedades mitocondriales.

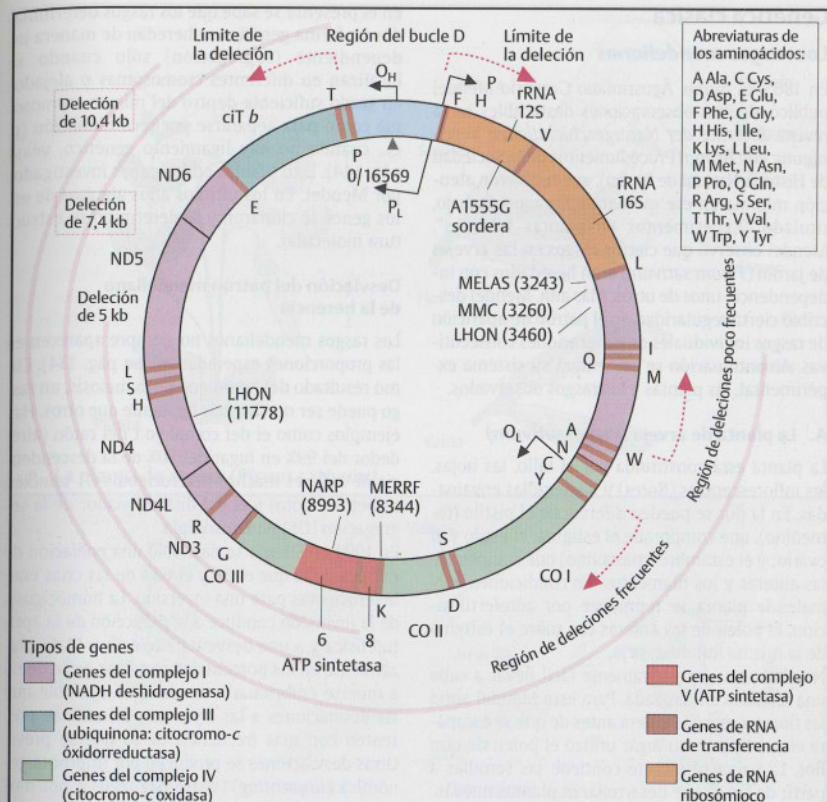
BIBLIOGRAFÍA

- Chinnery, P.E., et al.: Mitochondrial genetics. *J. Med. Genet.* 36:425-436, 1999.
- Estivill, X., et al.: Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA: A 1555 G and is enhanced by treatment with aminoglycosides. *Am. J. Hum. Genet.* 62:27-35, 1998.
- MITOMAP: a human mitochondrial genome database: (<http://www.gen.emory.edu/mitomap.html>) Center of Molecular Medicine, Emory University, Atlanta, GA, USA, 2000.
- Wallace, D.C.: Mitochondrial diseases in man and mice. *Science* 283:1482-1488, 1999.

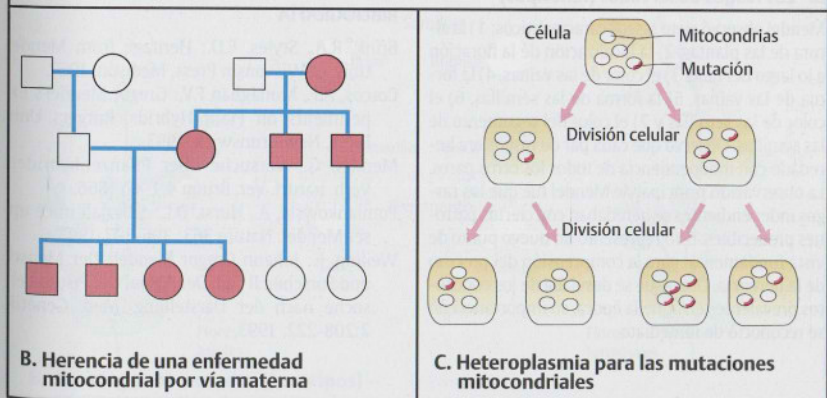
Ejemplos de enfermedades por mutaciones o deleciones en el DNA mitocondrial

Abreviatura	McKusick N°	Nombre
KSS	530000	Síndrome de Kearns-Sayre (oftalmoplejía, degeneración pigmentaria de la retina y cardiomiopatía)
LHON	535000	Neuropatía óptica hereditaria de Leber
MELAS	540000	Encefalomiopatía, acidosis láctica con episodios de tipo ictal
MERRF	545000	Epilepsia mioclónica y fibras rojas melladas
MMC	590050	Miopatía mitocondrial y cardiomiopatía
NARP	551500	Debilidad muscular neurogénica con ataxia y retinitis pigmentosa
CEOP	555000	Oftalmoplejía externa crónica
MNGIE	550900	Seudoobstrucción mioneurogastrointestinal, encefalopatía
PEAR	557000	Síndrome de Pearson (falla de la médula ósea y el páncreas)
ADMIMY	157640	Miopatía mitocondrial autosómica dominante con deleciones mitocondriales en el bucle D (tipo Zeviani)
Ninguna	550000	Toxicidad inducida por el cloranfenicol
Ninguna	515000	Ototoxicidad inducida por la estreptomycin (mutación A1555G)
Ninguna	580000	Diabetes mellitus; sordera

MIM: Mendelian Inheritance in Man (herencia mendeliana en el hombre), McKusick's Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. 12th ed., Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1998; MITOMAP; y <http://www.mips.biochem.mpg.de/proj/medgen/mitop/>.



A. Mutaciones y deleciones en el DNA mitocondrial del ser humano



Genética clásica

Los rasgos mendelianos

En 1865, el monje Agustiniiano Gregorio Mendel publicó algunas observaciones destacables en la revista *Breichte der Naturgeschichtlichen Vereinigung von Brünn* (Procedimientos de la Sociedad de Historia Natural de Brunn), que recibieron atención mínima en ese momento. En aquel trabajo, titulado "Experimentos en plantas híbridas", Mendel observó que ciertos rasgos en las arvejas de jardín (*Pisum sativum*) eran heredados con independencia unos de otros. Más aun, Mendel describió cierta regularidad en el patrón de aparición de rasgos individuales en generaciones consecutivas. A continuación se presentará su sistema experimental, las plantas y los rasgos observados.

A. La planta de arveja (*Pisum sativum*)

La planta está constituida por el tallo, las hojas, las inflorescencias (flores) y las semillas envainadas. En la flor se pueden diferenciar el pistilo (femenino), que comprende el estigma, el estilo y el ovario; y el estambre (masculino) que comprende las anteras y los filamentos. En condiciones normales la planta se reproduce por autofertilización. El polen de las anteras cae sobre el estigma de la misma inflorescencia.

No obstante, es relativamente fácil llevar a cabo una fertilización cruzada. Para esto Mendel abrió las flores y retiró la antera antes de que se escapara el polen, y en su lugar utilizó el polen de otra flor. La vaina resultante contiene las semillas a partir de las que se desarrollarán plantas nuevas.

B. Los rasgos observados (fenotipos)

Mendel observó siete rasgos característicos: 1) la altura de las plantas, 2) la localización de la floración a lo largo del tallo, 3) el color de las vainas, 4) la forma de las vainas, 5) la forma de las semillas, 6) el color de las semillas y 7) el color del tegumento de las semillas. Observó que cada par de rasgos era heredado con independencia de todos los otros pares. La observación principal de Mendel fue que los rasgos independientes se heredaban con ciertos patrones predecibles. Esto representó un nuevo punto de vista fundamental para la comprensión del proceso de la herencia. Dado que se desviaba de los conceptos prevalentes en aquella época, su importancia no se reconoció de inmediato.

En el presente se sabe que los rasgos determinados en forma genética se heredan de manera independiente (segregación) sólo cuando se localizan en diferentes cromosomas o alejados en grado suficiente dentro del mismo cromosoma como para separarse por recombinación (p. ej., cuando no hay ligamiento genético, véase pág. 144). Esto ocurría en los genes investigados por Mendel. En los últimos años algunos de estos genes se clonaron y se determinó su estructura molecular.

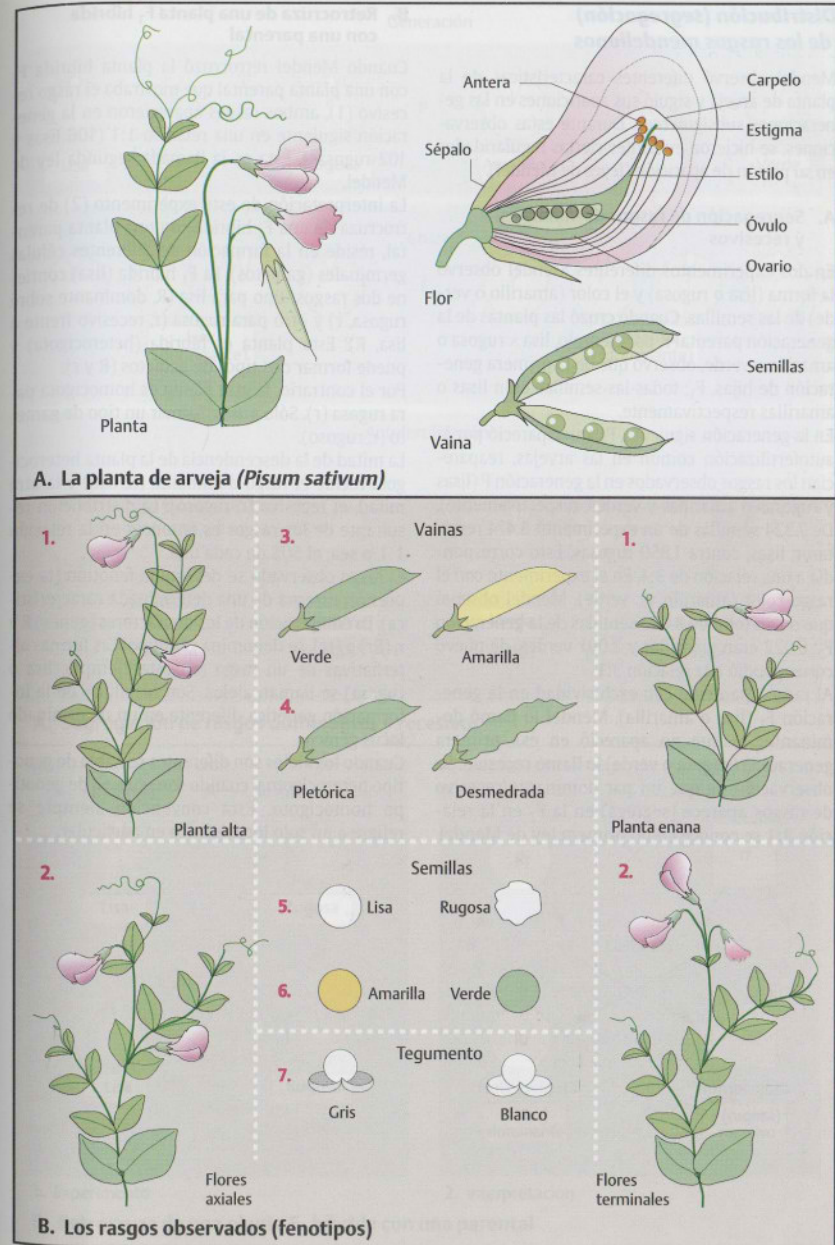
Desviación del patrón mendeliano de la herencia

Los rasgos mendelianos no siempre aparecen en las proporciones esperadas (véase pág. 134). Como resultado del fenómeno de la meiosis, un rasgo puede ser mucho más frecuente que otros. Hay ejemplos como el del complejo t del ratón (alrededor del 99% en lugar del 50% de la descendencia de ratones machos heterocigotos t/+ también es heterocigoto) y el del distorsionador de la segregación (DS) en *Drosophila*.

En 1993 en Siberia se describió una población de ratones de la que el 85 y el 65% de las crías eran heterocigotas para una inversión. La homocigosis de la inversión conduce a la reducción de la aptitud física y a una desventaja selectiva. El desplazamiento en los porcentajes previstos no se debió a muerte embrionaria temprana. Es posible que las desviaciones a las leyes mendelianas se presenten con más frecuencia de lo que se prevé. Otras desviaciones se producen por impronta genómica (*imprinting*) (véase pág. 226) o por mosaicismo en las líneas germinales.

BIBLIOGRAFÍA

- Brink, R.A., Styles, E.D.: *Heritage from Mendel*. Univ. of Wisconsin Press, Madison, 1967.
- Corcos, A.F., Monaghan F.V.: *Gregor Mendel's Experiments on Plant Hybrids*. Rutgers Univ. Press, New Brunswick, 1993.
- Mendel, G.: *Versuche über Pflanzenhybriden*. Verh. naturf. Ver. Brünn 4:1-47, 1866.
- Pomiankowski, A., Hurst, D.L.: *Siberian mice upset Mendel*. *Nature* 363: 396-397, 1993.
- Weiling, F.: *Johann Gregor Mendel: Der Mensch und Forscher. II Teil. Der Ablauf der Pisum Versuche nach der Darstellung*. *Med. Genetik*. 2:208-222, 1993.



Distribución (segregación) de los rasgos mendelianos

Mendel observó diferentes características de la planta de arveja y siguió sus apariciones en las generaciones subsiguientes. Durante estas observaciones, se hicieron evidentes ciertas regularidades en su patrón de aparición (leyes de Mendel).

A. Segregación de rasgos dominantes y recesivos

En dos experimentos diferentes Mendel observó la forma (lisa o rugosa) y el color (amarillo o verde) de las semillas. Cuando cruzó las plantas de la generación parental P, por ejemplo, lisa × rugosa o amarilla × verde, observó que de la primera generación de hijas, F₁, todas las semillas eran lisas o amarillas respectivamente.

En la generación siguiente, F₂, que apareció por la autofertilización común en las arvejas, reaparecían los rasgos observados en la generación P (lisas y rugosas o amarillas y verdes, respectivamente). De 7.324 semillas de un experimento 5.474 resultaron lisas, contra 1.850 rugosas. Esto correspondía a una relación de 3:1. En el experimento con el rasgo color (amarillo vs. verde), Mendel observó que de un total de 8.023 semillas de la generación F₂, 6.022 eran amarillas y 2.001 verdes, de nuevo correspondió a la relación 3:1.

Al rasgo aparecido con exclusividad en la generación F₁ (lisa o amarilla), Mendel lo llamó dominante; al que no apareció en esa primera generación (rugosa o verde) lo llamó recesivo. Su observación de que un par dominante/recesivo de rasgos aparece (segrega) en la F₂ en la relación 3:1 se conoce como primera ley de Mendel.

B. Retrocruza de una planta F₁ híbrida con una parental

Cuando Mendel retrocruzó la planta híbrida F₁ con una planta parental que mostraba el rasgo recesivo (1), ambos rasgos aparecieron en la generación siguiente en una relación 1:1 (106 lisas y 102 rugosas). Ésta es la llamada segunda ley de Mendel.

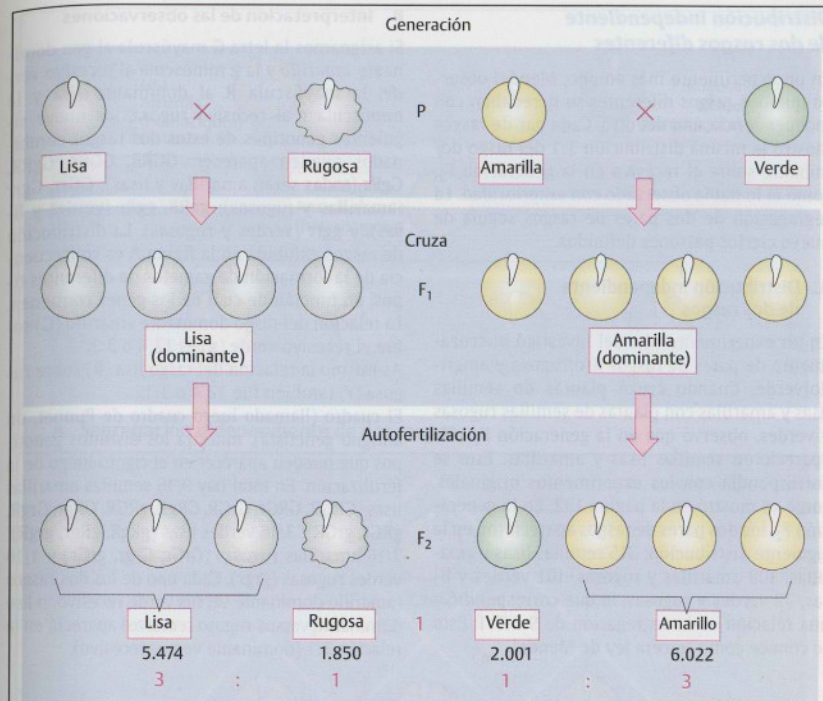
La interpretación de este experimento (2) de retrocruza de una F₁ híbrida con una planta parental, reside en la formación de diferentes células germinales (gametos). La F₁ híbrida (lisa) contiene dos rasgos: uno para lisa (R, dominante sobre rugosa, r) y otro para rugosa (r, recesivo frente a lisa, R). Esta planta es híbrida (heterocigota) y puede formar dos tipos de gametos (R y r).

Por el contrario, la otra planta es homocigota para rugosa (r). Sólo puede formar un tipo de gameto (r, rugoso).

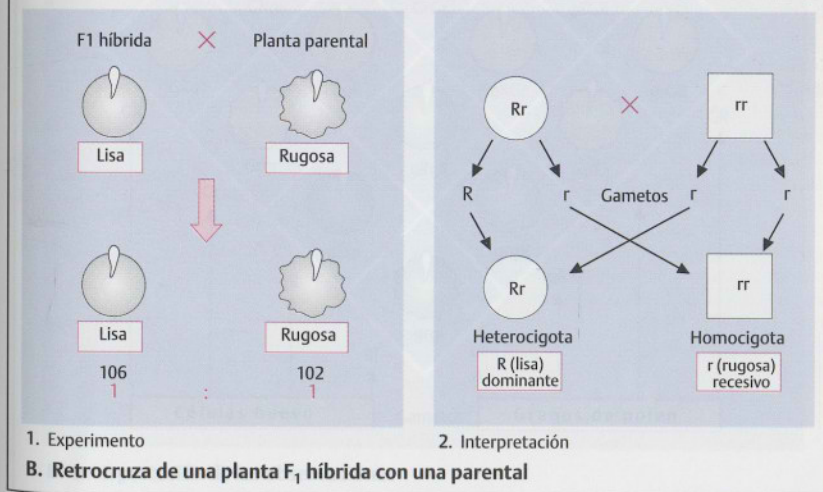
La mitad de la descendencia de la planta heterocigota recibe el rasgo dominante (R, lisa) y la otra mitad, el recesivo (r, rugoso). La distribución resultante de los rasgos es entonces en la relación 1:1, o sea, el 50% de cada una.

El rasgo observado se denomina fenotipo (la expresión externa de una determinada característica). La composición de los dos factores (genes) R y r, (Rr) o (rr), se denomina genotipo. Las formas alternativas de un rasgo (en este ejemplo, lisa o rugosa) se llaman alelos. Son resultado de la información genética diferente en un determinado locus génico.

Cuando los alelos son diferentes se habla de genotipo heterocigoto y cuando son iguales, de genotipo homocigoto. Esta convención siempre se refiere a un solo locus génico en particular.



A. Segregación de rasgos dominantes y recesivos



1. Experimento

2. Interpretación

B. Retrocruza de una planta F₁ híbrida con una parental

Distribución independiente de dos rasgos diferentes

En un experimento más amplio, Mendel observó que dos rasgos diferentes se heredaban con independencia uno del otro. Cada par de rasgos mostró la misma distribución 3:1 del rasgo dominante sobre el recesivo en la generación F₂, como él lo había observado con anterioridad. La segregación de dos pares de rasgos seguía de nuevo ciertos patrones definidos.

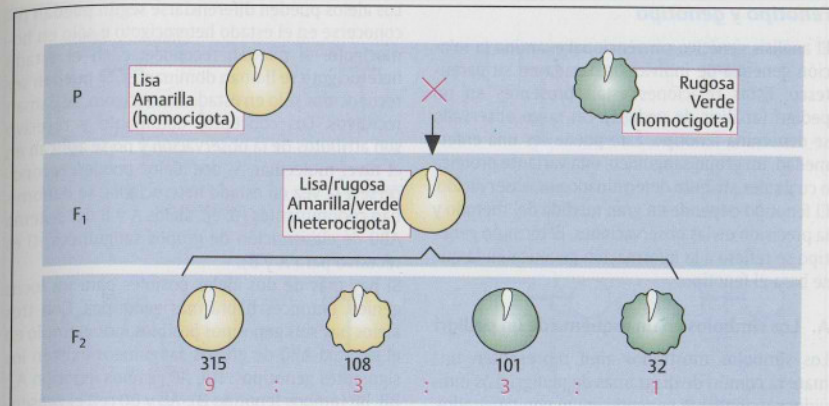
A. Distribución independiente de dos rasgos

En un experimento Mendel investigó el cruzamiento de pares de rasgos liso/rugoso y amarillo/verde. Cuando cruzó plantas de semillas lisas y amarillas con plantas de semillas rugosas y verdes, observó que en la generación F₁ sólo aparecieron semillas lisas y amarillas. Esto se correspondía con los experimentos originales, como se mostró en la página 132. En la generación F₂, los dos pares de rasgos aparecieron en la siguiente distribución: 315 semillas lisas y amarillas, 108 amarillas y rugosas, 101 verdes y lisas, 32 verdes y rugosas, lo que correspondió a una relación en la segregación de 9:3:3:1. Esto se conoce como tercera ley de Mendel.

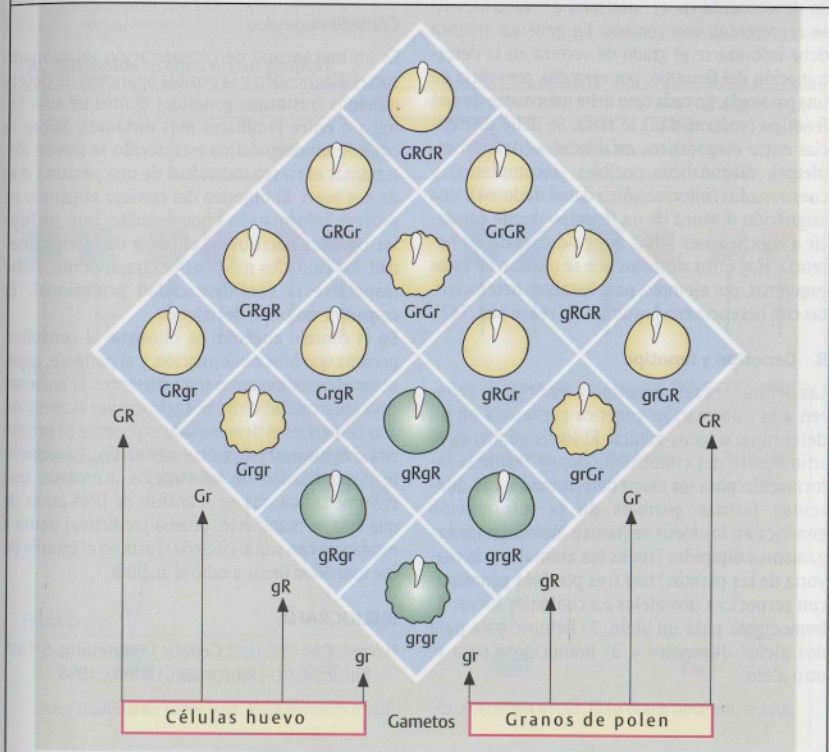
B. Interpretación de las observaciones

Si asignamos la letra G mayúscula al gen dominante *amarillo* y la g minúscula al recesivo *verde*, la mayúscula R al dominante *lisa* y la minúscula r al recesivo *rugoso*, los nueve siguientes genotipos de estos dos rasgos combinados pueden aparecer: **GRRR, GGRr, GgRR, GgRr** (todas serán amarillas y lisas); **GGrr, Ggrr** (amarillas y rugosas); **ggRR, ggRr** (verdes y lisas), y **ggrr** (verdes y rugosas). La distribución de rasgos exhibida en la figura A es consecuencia de la formación de gametos de diferentes tipos, en función de cuál de los genes contienen. La relación del rasgo dominante amarillo (G) sobre el recesivo verde (g) es 12:4 o 3:1.

Asimismo la relación del rasgo lisa (R) sobre rugosa (r) también fue 12:4 o 3:1. El cuadro (llamado luego cuadro de Punnet, un antiguo genetista), muestra los distintos genotipos que pueden aparecer en el cigoto luego de la fertilización. En total hay 9/16 semillas amarillas lisas (**GRGR, GRGr, GrGR, GRgR, gRGR, GRgr, GrgR, gRGr, grGR**); 3/16 verdes lisas (**gRgR, gRgr, grgR**); 3/16 amarillas rugosas (**GrGr, Grgr, grGr**) y 1/16 verdes rugosas (**grgr**). Cada uno de los dos rasgos (amarillo dominante versus verde recesivo, o liso dominante versus rugoso recesivo) apareció en la relación 3:1 (dominante versus recesivo).



A. Segregación independiente de dos rasgos



B. Interpretación de las observaciones

Fenotipo y genotipo

El análisis genético convencional examina la relación genética de individuos basada en su parentesco. Estas relaciones están presentes en un pedigrí (análisis de pedigrí). Un rasgo observado se denomina fenotipo. Éste puede ser una enfermedad, un grupo sanguíneo, una variante proteica o cualquier atributo determinado por observación. El fenotipo depende en gran medida del método y la precisión de las observaciones. El término genotipo se refiere a la información genética en la que se basa el fenotipo.

A. Los símbolos en un esquema de un pedigrí

Los símbolos mostrados aquí representan una manera común de diagramas de pedigrí. Los individuos masculinos se representan con cuadrados, los femeninos con círculos. Los individuos de sexo desconocido (p. ej., por falta de información) se representan con rombos. En genética médica debe informarse el grado de certeza en la determinación del fenotipo, por ejemplo, presencia de una patología. En cada caso debe informarse de qué fenotipo (enfermedad) se trata. Se debe diferenciar entre diagnósticos establecidos (datos completos), diagnósticos posibles (incompletos) y cuestionados (información o datos dudosos). Una asignación errónea de un fenotipo puede conducir a conclusiones falsas acerca del modo de herencia. Hay otros símbolos que se utilizan en estos esquemas, por ejemplo, para hembras heterocigotas con herencia cromosómica X (véase pág. 142).

B. Genotipo y fenotipo

Las definiciones de genotipo y fenotipo se refieren a la información genética contenida en un determinado locus génico. El locus génico es el sitio dentro del cromosoma donde reside la información para un rasgo determinado. Las diferentes formas posibles de la información genética en los locus se llaman alelos. En los organismos diploides (todos los animales y la mayoría de las plantas) hay tres posibles genotipos con respecto a dos alelos en cualquier locus: 1) homocigota para un alelo, 2) heterocigota para dos alelos diferentes y 3) homocigota para el otro alelo.

Los alelos pueden diferenciarse según puedan reconocerse en el estado heterocigoto o sólo en homocigoto. Si pueden reconocerse en el estado heterocigoto se llaman dominantes. Si pueden ser reconocidos sólo en estado homocigoto, se llaman recesivos. Los conceptos dominante y recesivo son atributos de la observación y no se aplican en el nivel molecular. Si dos alelos pueden reconocerse a la vez en estado heterocigoto, se denominan codominantes (p. ej., alelos A y B del sistema ABO de clasificación de grupos sanguíneos; O es recesivo para A y B).

Si hay más de dos alelos posibles para un locus génico, entonces habrá más genotipos. Con tres alelos hay seis genotipos posibles; por ejemplo en el sistema ABO de grupos sanguíneos existen los siguientes genotipos: AA, AO (ambos fenotipo A); BB, BO (ambos fenotipo B); AB y OO (en el presente hay más de tres alelos en el sistema ABO).

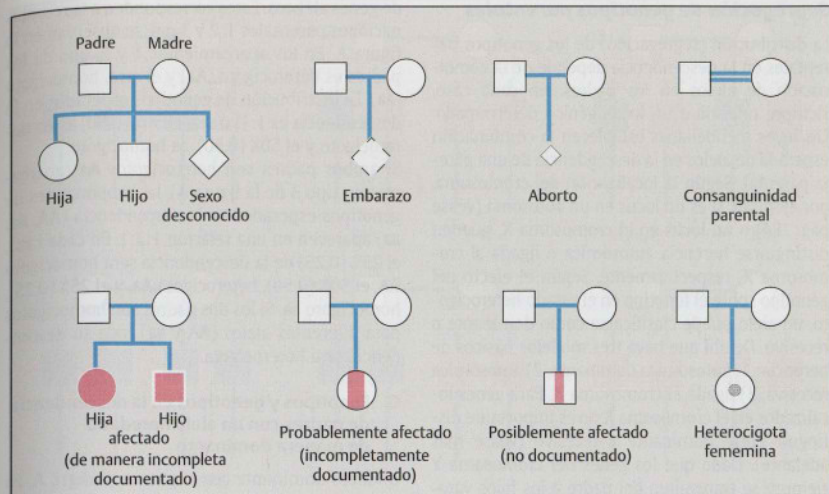
Consejo eugénico

Es un mecanismo de comunicación relacionado con el diagnóstico y la posible aparición de determinados trastornos genéticos dentro de una familia o entre familiares más distantes. Sobre la base de un diagnóstico establecido se puede determinar el riesgo individual de una persona o el de sus hijos. El objetivo del consejo eugénico es proveer información comprensible, que incluya las posibles decisiones, el curso de la enfermedad, los cuidados médicos y el tratamiento. Debe respetarse la confidencialidad profesional. El consultor no toma decisiones.

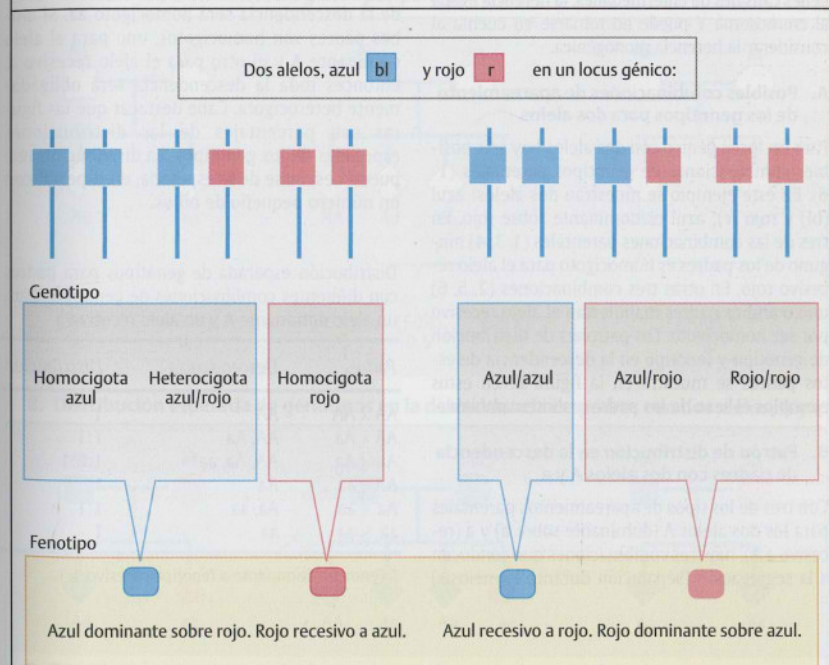
En el consejo eugénico se distingue al consultor, persona que busca información, y al paciente, quienes suelen ser personas muy diferentes. El paciente cuya enfermedad dirige por primera vez la atención a su pedigrí, es el denominado exponente (o *proposita* si es mujer y *propositus* si es varón). La creciente disponibilidad de información acerca de una enfermedad basada en el análisis de DNA antes de que ésta se manifieste (prueba predictiva) llama a establecer con sumo cuidado si está en el interés de ese individuo llevar a cabo el análisis.

BIBLIOGRAFÍA

Harper, P.S.: Practical Genetic Counselling. 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford, 1998.



A. Símbolos usados en un pedigrí



B. Genotipo y fenotipo

Segregación de genotipos parentales

La distribución (segregación) de los genotipos parentales en la descendencia depende de la combinación de alelos en los padres. En cada caso, siempre referido a un locus génico determinado. Las leyes mendelianas establecen la combinación esperada de alelos en la descendencia de una pareja parental. Según la localización del cromosoma, por ejemplo, si es un locus en un autosoma (véase pág. 184) o un locus en el cromosoma X, pueden distinguirse herencia autosómica o ligada al cromosoma X, respectivamente. Según el efecto del genotipo sobre el fenotipo en el estado heterocigoto, un alelo puede clasificarse como dominante o recesivo. De ahí que haya tres modelos básicos de herencia: 1) autosómica dominante, 2) autosómica recesiva, 3) ligada al cromosoma X. Para genes localizados en el cromosoma X no es importante distinguir entre dominante y recesivo (véase más adelante). Dado que los genes del cromosoma Y siempre se transmiten del padre a los hijos varones, y como el cromosoma Y carga sólo unos pocos genes causales de enfermedades, la herencia ligada al cromosoma Y puede no tomarse en cuenta al considerar la herencia monogénica.

A. Posibles combinaciones de apareamiento de los genotipos para dos alelos

Para un locus génico con dos alelos hay seis posibles combinaciones de genotipos parentales (1-6). En este ejemplo se muestran dos alelos: azul (bl) y rojo (r); azul es dominante sobre rojo. En tres de las combinaciones parentales (1, 3, 4) ninguno de los padres es homocigoto para el alelo recesivo rojo. En otras tres combinaciones (2, 5, 6) uno o ambos padres manifiestan el alelo recesivo por ser homocigoto. Los patrones de distribución de genotipo y fenotipo en la descendencia de estos padres se muestra en la figura B. En estos ejemplos el sexo de los padres es intercambiable.

B. Patrón de distribución en la descendencia de padres con dos alelos A y a

Con tres de los tipos de apareamientos parentales para los dos alelos A (dominante sobre a) y a (recesivo a A), hay tres combinaciones que conducen a la segregación (separación durante la meiosis)

de genes alélicos. Éstos corresponden a las combinaciones parentales 1, 2 y 3 que se observan en la figura A. En los apareamientos 1 y 2, uno de los padres es heterocigoto (Aa) y el otro, homocigoto (aa). La distribución de genotipos esperados en la descendencia es 1:1; o sea, el 50% (0,50) es Aa heterocigoto y el 50% (0,50), aa homocigoto. Si ambos padres son heterocigotos Aa (apareamiento tipo 3 de la figura A), las proporciones de genotipos esperados en la descendencia (AA, Aa, aa) aparecen en una relación 1:2:1. En cada caso, el 25% (0,25) de la descendencia será homocigoto AA, el 50% (0,50), heterocigoto Aa, y el 25% (0,25), homocigoto aa. Si los dos padres son homocigotos para diferentes alelos (AA y aa) toda su descendencia será heterocigota.

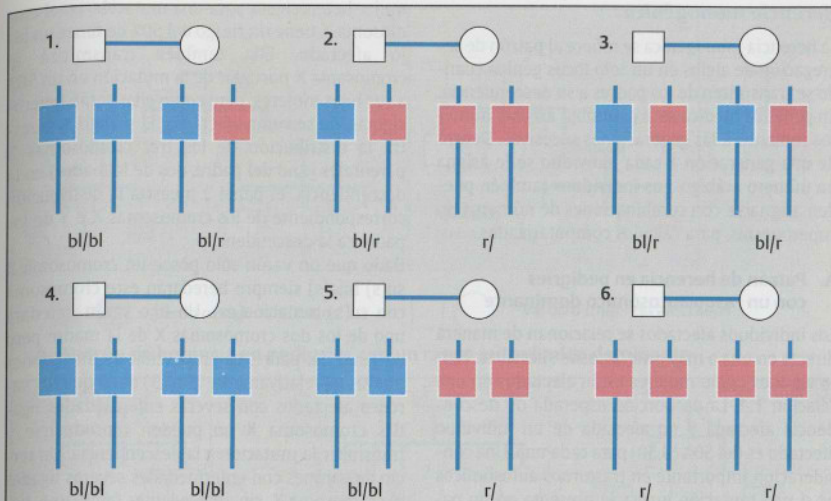
C. Fenotipos y genotipos en la descendencia de padres con un alelo heredado de manera dominante

Un alelo dominante (en el primer pedigrí, A, en el padre) se espera en un 50% de la descendencia. Si ambos padres son heterocigotos, el 25% de la descendencia será homocigoto aa. Si ambos padres son homocigotos, uno para el alelo dominante A y el otro para el alelo recesivo a, entonces toda la descendencia será obligadamente heterocigota. Cabe destacar que las figuras son porcentajes de las distribuciones esperadas de los genotipos. La distribución real puede desviarse de la esperada, en especial con un número pequeño de niños.

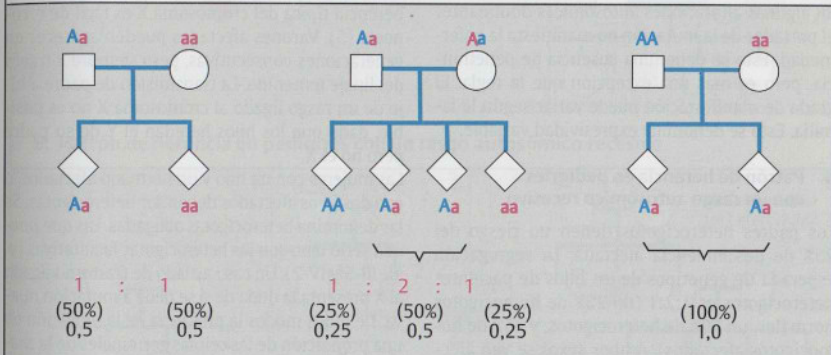
Distribución esperada de genotipos para padres con diferentes combinaciones de genotipos para un alelo dominante A y un alelo recesivo a

Padres	Descendencia	Distribución
AA × AA	AA	1
AA × Aa	AA, Aa	1:1
Aa × Aa	AA, Aa, aa*	1:2:1
AA × aa	Aa	1
Aa × aa	Aa, aa	1:1
aa × aa	aa	1

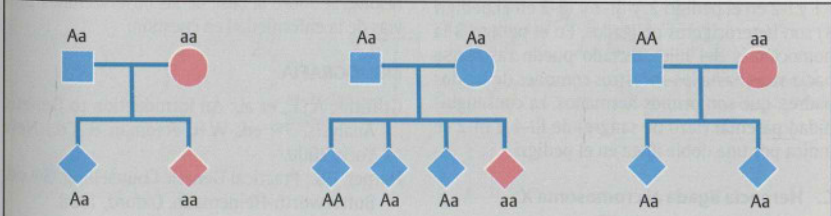
* Fenotipo dominante a fenotipo recesivo 3:1.



A. Posibles combinaciones de genotipos para dos alelos



B. Distribución esperada de genotipos en la descendencia de padres con dos alelos, A y a



C. Fenotipos y genotipos en la descendencia de padres con un alelo dominante A y uno recesivo a

Herencia monogénica

La herencia monogénica se refiere al patrón de segregación de alelos en un solo locus génico cuando se transmiten de los padres a su descendencia. En genética médica se acostumbra asignar números romanos a las generaciones sucesivas. Dentro de una generación a cada individuo se le asigna un número arábigo. Los individuos también pueden asignarse con combinaciones de números no superpuestas, para cálculos computarizados.

A. Patrón de herencia en pedigrís con un rasgo autosómico dominante

Los individuos afectados se relacionan de manera directa en una o más generaciones sucesivas. Tanto varones como mujeres están afectados en una relación 1:1. La proporción esperada de descendencia afectada y no afectada de un individuo afectado es del 50% (0,50) para cada una. Una consideración importante en trastornos autosómicos es si una mutación nueva se presenta en un paciente sin padres afectados. Los pedigrís 2 y 3 muestran una nueva mutación en la generación II. En algunas alteraciones autosómicas dominantes el portador de la mutación no manifiesta la enfermedad. Esto se denomina ausencia de penetrancia, pero es más una excepción que la regla. El grado de manifestación puede variar según la familia. Esto se denomina expresividad variable.

B. Patrón de herencia en pedigrís con un rasgo autosómico recesivo

Los padres heterocigotos tienen un riesgo del 25% de descendencia afectada. La segregación esperada de genotipos de los hijos de pacientes heterocigotos es 1:2:1 (un 25% de homocigotos normales, un 50% de heterocigotos, y 25% de homocigotos afectados). Ambos sexos se ven afectados con igual frecuencia.

Los padres no afectados (II-3 y II-4 en el pedigrí 1, I-1 y I-2 en el pedigrí 2, y III-1 y III-2 en el pedigrí 3) son heterocigotos obligados. En el pedigrí 3 la homocigosis del hijo afectado puede rastrearse hacia atrás hasta los ancestros comunes de los dos padres, que son primos hermanos. La consanguinidad parental (lazo de sangre) de III-1 y III-2 se indica por una doble línea en el pedigrí.

C. Herencia ligada al cromosoma X

Un rasgo ligado al cromosoma X suele aparecer sólo en varones porque son hemicigotos para todos los genes localizados en su cromosoma X. Una

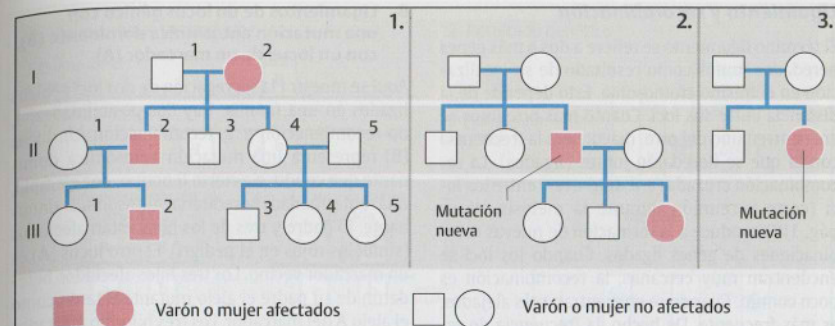
mujer heterocigota para una mutación en el cromosoma X tiene un riesgo del 50% de tener un hijo afectado. Ella también transmitirá el cromosoma X portador de la mutación en un 50% a sus hijas mujeres, pero como ellas serán heterocigotas, no se verán afectadas. El pedigrí 1 muestra la distribución de los tres cromosomas X parentales (uno del padre, dos de la madre) en la descendencia. El panel 2 muestra la distribución correspondiente de los cromosomas X e Y de los padres a la descendencia.

Dado que un varón sólo posee un cromosoma X su(s) hija(s) siempre heredarán este cromosoma con su(s) mutación(es). Un hijo varón heredará uno de los dos cromosomas X de la madre pero ninguno del padre. La proporción de mutaciones nuevas es relativamente alta (3) dado que los varones afectados con severas enfermedades ligadas al cromosoma X, sin antecedentes familiares, tienen una mutación nueva (Regla de Haldane), que también podría presentarse en una mujer (4). La herencia típica del cromosoma X es fácil de reconocer (5). Varones afectados pueden aparecer en generaciones consecutivas, pero siempre a través del linaje femenino. La transmisión de padre a hijo de un rasgo ligado al cromosoma X no es posible, dado que los hijos heredan el Y de su padre pero no el X.

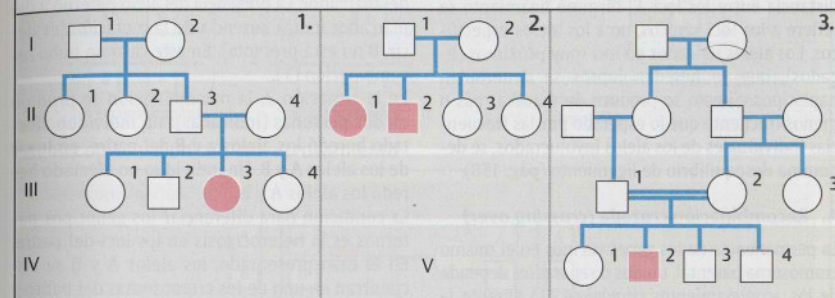
Las mujeres con un hijo y un hermano afectados, o con dos hijos afectados deben ser heterocigotas. Se las denomina heterocigotas obligadas. Las que pueden serlo o no son las heterocigotas facultativas (p. ej., III-5 y IV-2). Un caso aislado de trastorno ligado al X presenta la duda de si se debe a mutación nueva. De todos modos la presencia de la mutación en una proporción de las células germinales de la madre (mosaicismo de línea germinal) puede incrementar el riesgo aparente. La situación sólo puede resolverse sobre la base de las observaciones previas de la enfermedad en cuestión.

BIBLIOGRAFÍA

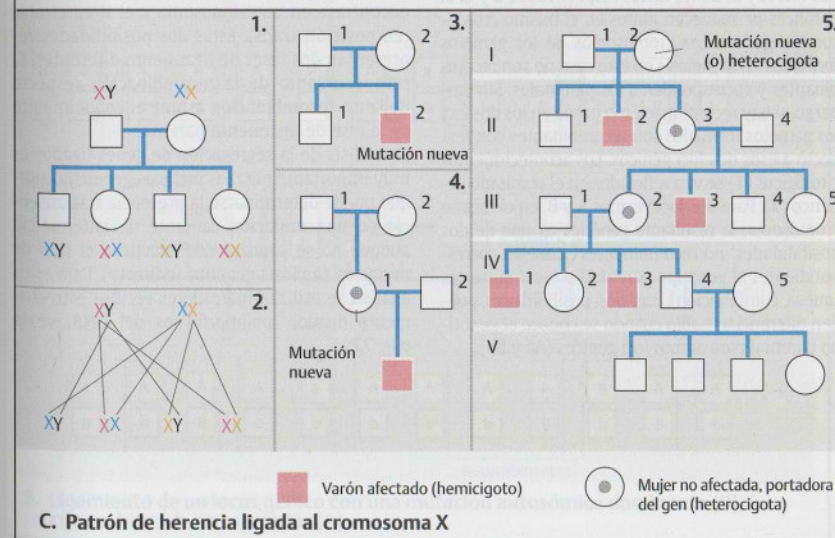
- Griffiths, A.J.F., et al.: An Introduction to Genetic Analysis. 7th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
- Harper, P.S.: Practical Genetic Counselling. 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford, 1998.
- Vogel, F., Motulsky, A.G.: Human Genetics. Problems and Approaches. 3rd ed. Springer Verlag, Heidelberg-New York, 1997.



A. Patrón de herencia en pedigrís con un rasgo autosómico dominante



B. Patrón de herencia en pedigrís con un rasgo autosómico recesivo



C. Patrón de herencia ligada al cromosoma X

Ligamiento y recombinación

El término ligamiento se refiere a dos o más genes heredados juntos como resultado de su localización en el mismo cromosoma. Esto depende de la distancia entre sus loci. Cuanto más próximos se encuentren uno del otro, mayor será la frecuencia con la que se heredarán juntos (ligados). La recombinación cruzada (*crossing-over*) entre los loci (corte y reunión durante la meiosis, véase pág. 116) conduce a la formación de nuevas combinaciones de genes ligados. Cuando los loci se encuentran muy cercanos, la recombinación es poco común. Cuando se encuentran más alejados, es más frecuente. De hecho, la frecuencia de recombinación puede usarse como medida de la distancia entre los loci. El término ligamiento se refiere a los loci génicos, no a los alelos específicos. Los alelos ubicados en loci muy próximos (ligados), que se heredan juntos se denominan haplotipos. Si esto se produce de manera más o menos frecuente que lo esperado por las frecuencias individuales de los alelos involucrados, se denomina desequilibrio de ligamiento (pág. 158).

A. Recombinación cruzada (*crossing over*)

La permanencia de los genes vecinos en el mismo cromosoma parental, unidos o separados, depende de los acontecimientos citológicos (1) durante la meiosis. Si no hay recombinación cruzada entre los dos loci A y B, de los alelos respectivos A, a y B, b, entonces permanecen juntos en el mismo cromosoma (ligados). Los cromosomas de los gametos formados en la meiosis en este caso no son recombinantes y corresponden a los parentales. Sin embargo, si hay recombinación cruzada en los dos loci los gametos formados son recombinantes con respecto a esos dos loci génicos. Los acontecimientos citológicos (1) se ven reflejados en el resultado genético (2). Para dos loci vecinos A y B en el mismo cromosoma, la resultante genética es una de dos posibilidades: no recombinantes (gametos correspondientes al genotipo parental) o recombinantes (nueva combinación). Las dos posibilidades pueden diferenciarse sólo cuando se conoce el genotipo parental para ambos loci génicos (Aa y Bb).

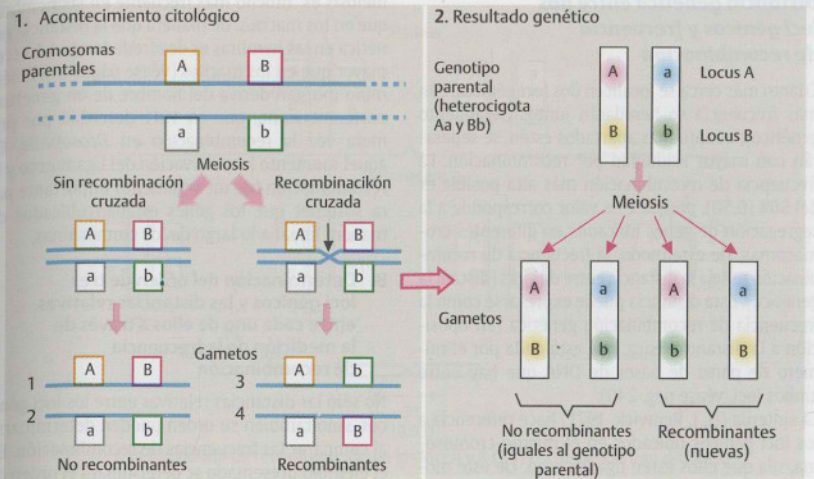
B. Ligamientos de un locus génico con una mutación autosómica dominante (B), con un locus de un marcador (A)

Aquí se muestra la segregación de dos loci génicos ligados en una familia. Hay dos posibilidades: 1, no-recombinación y 2, recombinación. Un locus (B) representa una mutación autosómica dominante que conduce a cierto fenotipo, por ejemplo, una enfermedad hereditaria autosómica dominante. El padre y tres de los hijos están afectados (símbolos rojos en el pedigrí). El otro locus (A) es un marcador vecino. Los tres hijos afectados heredaron de su padre el alelo mutante B tanto como el alelo A del marcador. Los tres hijos no afectados heredaron del padre el alelo normal b y el alelo a del marcador. La presencia del alelo paterno a del marcador indica ausencia de la mutación (es decir, B no está presente). En este caso no hubo recombinación (1).

En la situación 2, la recombinación se produjo en dos personas (indicadas): un individuo afectado heredó los alelos a y B del padre, en lugar de los alelos A y B. Un individuo no afectado heredó los alelos A y b.

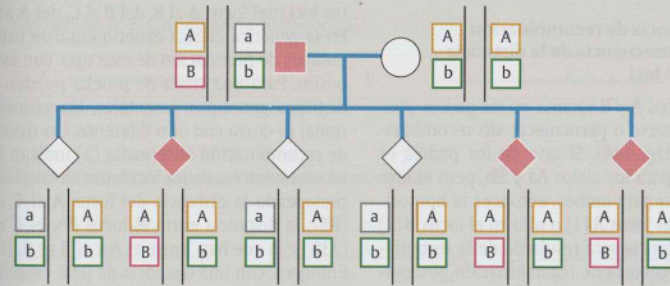
La condición para diferenciar los genotipos paternos es la heterocigosis en los loci del padre. En el caso presentado, los alelos A y B se encuentran en uno de los cromosomas del padre y los alelos a y b en el otro (en posición *cis*). También sería posible que el alelo A en el padre se encontrase en un cromosoma y el B en el otro (en posición *trans*). Estas dos posibilidades representan dos fases de ligamiento diferentes. El reconocimiento de la recombinación respecto de la no-recombinación asume el conocimiento de la fase de ligamiento parental.

El análisis de la segregación de genes ligados es muy importante para los médicos genetistas porque puede determinarse la presencia o la ausencia de una mutación causante de enfermedad aunque no se conozca con exactitud el tipo de mutación (análisis genético indirecto). Para estos análisis se utilizan marcadores vecinos estrechamente ligados (polimorfismos del DNA, véase pág. 72.)

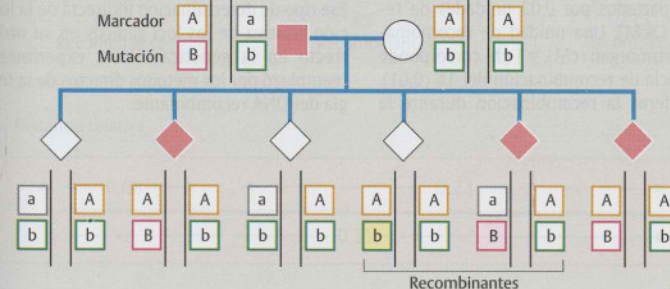


A. Recombinación con entrecruzamiento

1. Sin recombinación



2. Con recombinación



B. Ligamiento de un locus génico con una mutación autosómica dominante (B), con un locus de un marcador (A)

Distancia genética entre dos loci génicos y frecuencia de recombinación

Cuanto más cerca se localicen dos loci génicos, con más frecuencia se heredarán juntos (ligamiento genético); cuanto más apartados estén, se separarán con mayor asiduidad por recombinación. La frecuencia de recombinación más alta posible es del 50% (0,50), porque este valor corresponde a la segregación de genes ubicados en diferentes cromosomas. De este modo, la frecuencia de recombinación refleja la distancia entre dos loci (distancia genética). Esta distancia puede expresarse como la frecuencia de recombinación genética (en oposición a la distancia física, que está dada por el número de pares de bases de DNA que hay entre ambos loci, véase pág. 240).

La sintenia (H. J. Renwick, 1971) hace referencia a los loci génicos ubicados en el mismo cromosoma, sea que ellos estén ligados o no. De este modo, el término también incluye a los loci no ligados, ampliamente separados en el mismo cromosoma.

A. La frecuencia de recombinación como consecuencia de la distancia entre dos loci

Dos loci génicos A y B vecinos en los padres pueden recombinarse o permanecer sin recombinación (véase pág. 144). Si uno de los padres es heterocigoto para los alelos Aa y Bb, pero el otro es homocigoto para ambos, entonces la homocigosis sólo en el locus A (1) o sólo en el locus B (2) en la descendencia será resultado de la recombinación. La frecuencia de recombinación observada entre el locus A y el B (3%) resulta de la distancia entre ellos. Se dice que estos dos loci se encuentran apartados por 0,03 unidades de recombinación (3cM). Una unidad de recombinación es un centimorgan (cM), y 1 cM corresponde a una frecuencia de recombinación del 1% (0,01). En los mamíferos la recombinación durante la

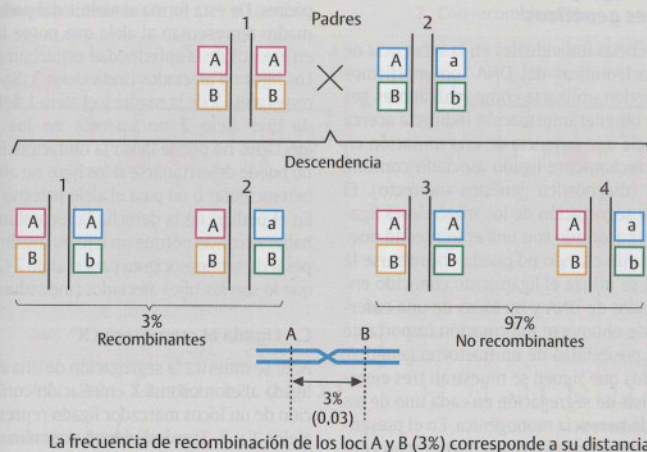
meiosis es mucho más frecuente en las hembras que en los machos, de manera que la distancia genética en las hembras es de alrededor de 1,5 veces mayor que en los machos (véase pág. 240). El término morgan deriva del nombre de un genetista norteamericano, que en 1911 describió por primera vez la recombinación en *Drosophila*. En aquel momento la observación del ligamiento y la recombinación fue un argumento importante para sostener que los genes estaban ubicados de manera lineal a lo largo de los cromosomas.

B. Determinación del orden de tres loci génicos y las distancias relativas entre cada uno de ellos a través de la medición de la frecuencia de recombinación

No sólo las distancias relativas entre los loci génicos, sino también su orden pueden determinarse al comparar las frecuencias de recombinación. En el ejemplo presentado se determinará el orden de tres loci génicos A, B y C de distancia desconocida uno del otro (1). En plantas y animales puede establecerse la distancia entre cualquier par de estos loci (del locus A al B, del B al C, del A al C).

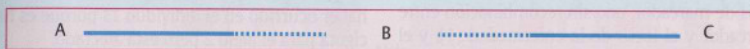
En la genética clásica experimental se utilizaron ensayos de hibridación de este tipo con este propósito. Para una cruce de prueba pueden usarse distintos genotipos parentales. Un genotipo parental se cruza con otro diferente. Las frecuencias de recombinación observadas (2) indican las distancias relativas de los loci entre sí. En el ejemplo presentado la distancia del locus A al C es 0,08 (8%); la distancia entre el locus B y el C es 0,23 (23%) y la que hay entre el A y el B es 0,31 (31%). Entonces, con una distancia de 0,08 entre A y C y de 0,23 entre C y B, se encuentran ubicados en el orden A-C-B (3).

Ese tipo de determinación indirecta de la localización relativa de los loci génicos en su orden correcto en la genética clásica experimental se reemplazó por los métodos directos de la tecnología del DNA recombinante.

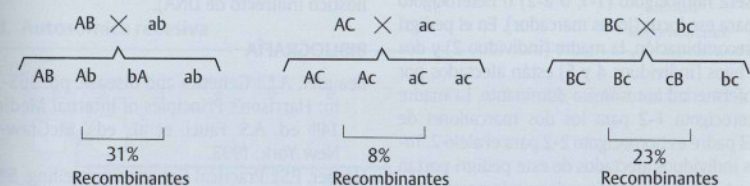


A. La frecuencia de recombinación como consecuencia de la distancia entre dos loci

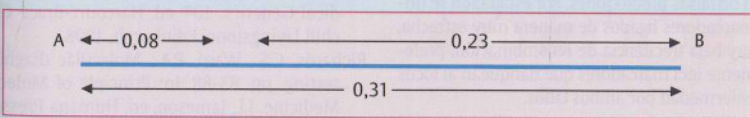
1. Loci génicos A, B, C de distancia desconocida



2. Cruza de prueba de genotipos parentales homocigotas



3. Distancia relativa



B. Determinación de la distancia relativa y la secuencia de tres loci génicos mediante la medición de la frecuencia de recombinación

Análisis de segregación con marcadores genéticos

Ciertas diferencias individuales en la secuencia de las bases nucleotídicas del DNA (polimorfismos del DNA) pueden utilizarse como marcadores genéticos para obtener información indirecta acerca de la presencia o la ausencia de una mutación en un locus estrechamente ligado asociado con una enfermedad (diagnóstico genético indirecto). El análisis de la segregación de los marcadores ligados a un locus asociado con una enfermedad puede aplicarse aun cuando no pueda encontrarse la mutación. Si se utiliza el ligamiento conocido entre un marcador de DNA y un locus de una enfermedad, puede obtenerse información importante acerca de la posibilidad de un trastorno genético. En los párrafos que siguen se muestran tres ejemplos de análisis de segregación en cada uno de los tres modos de herencia monogénica. En el presente se dispone de un amplio repertorio de marcadores genéticos con alto contenido de información (véase microsatélites y minisatélites, pág. 72).

A. Autosómica dominante

Se presentan dos pedigrís estudiados mediante el análisis de marcador, uno sin recombinación entre el marcador y el locus de la enfermedad (1), y el otro con recombinación (2). Arriba, se muestra el pedigrí; abajo un diagrama del análisis de *Southern blot* o algún otro sistema de marcación que distinga los dos alelos 1 y 2. Un individuo determinado será homocigoto (1-1, o 2-2) o heterocigoto (2-1) para ese locus (locus marcador). En el pedigrí 1, sin recombinación, la madre (individuo 2) y dos de los hijos (individuos 4 y 5) están afectados por una enfermedad autosómica dominante. La madre es heterocigota 1-2 para los dos marcadores de DNA. El padre es homocigoto 2-2 para el alelo 2. Todos los individuos afectados de este pedigrí portan el alelo 1, todos los no afectados no lo portan. Entonces, el alelo 1 debe poseer la mutación. En la familia 2, se produjo recombinación en el individuo 5. La frecuencia de recombinación determina la asiduidad de falsas predicciones. Por esta razón se utilizan marcadores ligados de manera muy estrecha, con muy baja frecuencia de recombinación, preferentemente loci marcadores que flanquean al locus de la enfermedad por ambos lados.

B. Autosómica recesiva

Los dos individuos afectados (individuos 4 y 7) en el pedigrí del lado izquierdo son homocigotos para

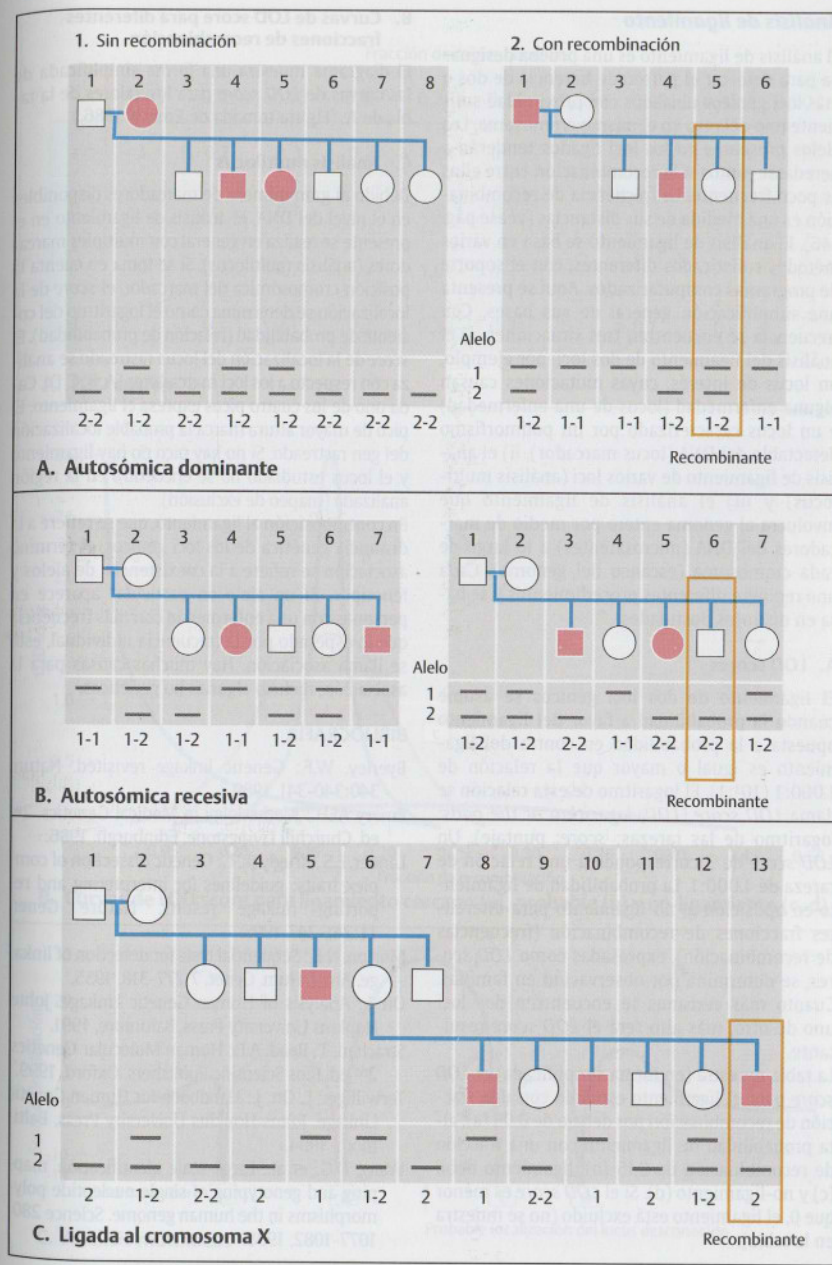
el alelo 1 (1-1), que fue heredado de cada uno de los padres. De esta forma el alelo 1 del padre y el de la madre representan al alelo que posee la mutación en el locus de la enfermedad estrechamente ligado. Los hijos no afectados (individuos 3, 5 y 6) recibieron el alelo 2 de la madre y el alelo 1 del padre. Dado que alelo 2 no aparece en los individuos afectados no puede llevar la mutación. En este caso no puede determinarse si los hijos no afectados son heterocigotas o no para el alelo paterno mutante. En el pedigrí de la derecha la recombinación debe haber ocurrido porque un hijo no resultó afectado a pesar de ser homocigoto para el alelo 2 (2-2) al igual que lo son los hijos afectados (individuos 3 y 5).

C. Ligada al cromosoma X

Aquí se muestra la segregación de una enfermedad ligada al cromosoma X en relación con la segregación de un locus marcador ligado representado por alelos 1 y 2. Tres individuos masculinos afectados (5, 8, 10) son hemocigotos para el alelo 1. Entonces, este alelo representa la mutación. Todos los individuos varones no afectados son hemocigotos para el alelo 2. Los individuos femeninos 2 y 6 son heterocigotos 1-2. Ellas deben considerarse heterocigotas obligadas para la mutación. La recombinación debe haber ocurrido en el individuo 13 porque es hemocigota para el alelo 2 pero está afectada. Estos ejemplos muestran cómo la información acerca de la presencia o la ausencia de una mutación puede derivar del análisis de la segregación de los marcadores estrechamente ligados (diagnóstico indirecto de DNA).

BIBLIOGRAFÍA

Beaudet, A.L.: Genetics and disease. pp. 365-394. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. 14th ed. A.S. Fauci, et al., eds. McGraw-Hill, New York, 1998.
 Harper, P.S.: Practical Genetic Counselling. 5th ed. Butterworth-Heinemann, London, 1998.
 Korf, B.: Molecular diagnosis. New Eng J. Med. 332:1218-1220 and 1499-1502, 1995.
 Muller, R.F., Young, I.D.: Emery's Elements of Medical Genetics. 10th ed. Harcourt-Brace Churchill Livingstone, Edinburgh, 1998.
 Richards, C.S., Ward, P.A.: Molecular diagnostic testing. pp. 83-88. In: Principle of Molecular Medicine. J.L. Jameson, ed. Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.
 Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.



Análisis de ligamiento

El análisis de ligamiento es una prueba designada para detectar el patrón de herencia de dos o más loci génicos ubicados con proximidad suficiente uno del otro en el mismo cromosoma. Los alelos presentes en los loci ligados tenderán a heredarse juntos si la recombinación entre ellos es poco frecuente. La frecuencia de recombinación es una medida de sus distancias (véase pág. 146). El análisis de ligamiento se basa en varios métodos sofisticados diferentes, con el soporte de programas computarizados. Aquí se presenta una simplificación general de sus bases. Con frecuencia se encuentran tres situaciones: i) el análisis del ligamiento de dos loci, por ejemplo, un locus de interés, cuyas mutaciones causan alguna enfermedad (locus de una enfermedad) y un locus caracterizado por un polimorfismo detectable del DNA (locus marcador), ii) el análisis de ligamiento de varios loci (análisis multilocus) y iii) el análisis de ligamiento que involucra al genoma entero por medio de marcadores del DNA (microsatélites) a lo largo de cada cromosoma (escaneo del genoma). Cada uno requiere diferentes procedimientos y se basa en distintos postulados.

A. LOD scores

El ligamiento de dos loci génicos se asume cuando la probabilidad a favor del ligamiento opuesta a la probabilidad en contra del ligamiento es igual o mayor que la relación de 1.000:1 ($10^3:1$). El logaritmo de esta relación se llama *LOD score* (*LOD*, *logarithm of the odds*: logaritmo de las rarezas; *score*: puntaje). Un *LOD score* de 3 corresponde a una relación de rareza de 1.000:1. La probabilidad de ligamiento en oposición al no-ligamiento para diferentes fracciones de recombinación (frecuencias de recombinación), expresadas como *LOD scores*, se determina por observación en familias. Cuanto más cercanos se encuentren dos loci uno de otro, más alto será el *LOD score* resultante.

La tabla muestra (en forma simplificada) el *LOD score* para el ligamiento estrecho con una fracción de recombinación por debajo de 0,05 (a), alta probabilidad de ligamiento con una fracción de recombinación de 0,15 (b), ligamiento débil (c) y no-ligamiento (d). Si el *LOD score* es menor que 0, el ligamiento está excluido (no se muestra en la tabla).

B. Curvas de LOD score para diferentes fracciones de recombinación

El diagrama muestra una forma simplificada de las curvas de *LOD score* para los valores de la tabla de A. (Figura tomada de Emery, 1986.)

C. Análisis multilocus

Debido al gran número de marcadores disponibles en el nivel del DNA, el análisis de ligamiento en el presente se realiza en general con múltiples marcadores (análisis multilocus). Si se toma en cuenta la posición cromosómica del marcador, el *score* de la localización se determina como el logaritmo del cociente de probabilidad (relación de probabilidad). El *score* de la localización del locus rastreado se analiza con respecto a los loci marcadores (A, B, C, D). Cada uno de los cuatro picos expresa el ligamiento. El pico de mayor altura marca la probable localización del gen rastreado. Si no hay pico no hay ligamiento y el locus estudiado no se encuentra en la región analizada (mapeo de exclusión).

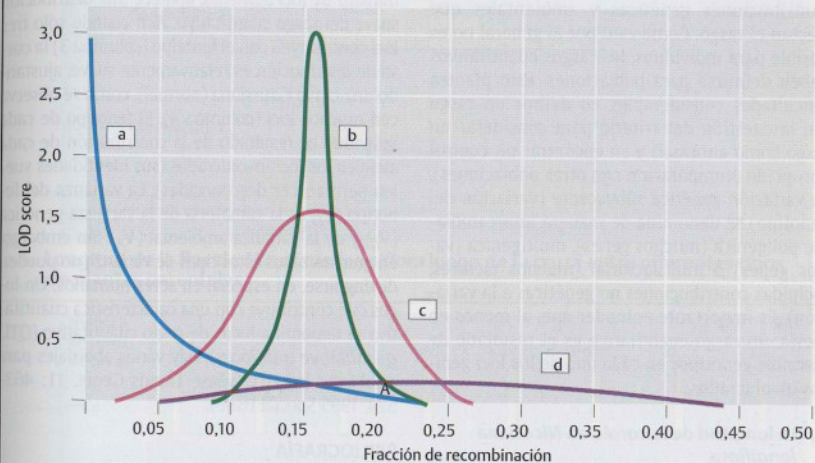
En contraposición al ligamiento, que se refiere a la distancia genética de los loci génicos, el término asociación se refiere a la coexistencia de alelos y fenotipos. Si un alelo en particular aparece en personas con una enfermedad con más frecuencia que lo esperado por la frecuencia individual, esto se llama asociación. Hay muchas causas para la asociación, incluso algunas no genéticas.

BIBLIOGRAFÍA

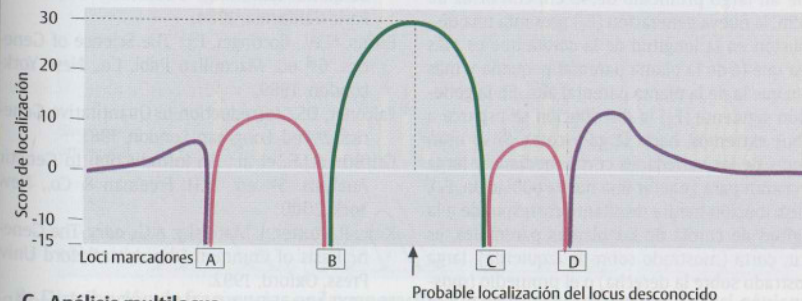
- Byerley, W.F.: Genetic linkage revisited. *Nature* 340:340-341, 1989.
- Emery AEH.: *Methodology in Medical Genetics*. 2nd ed, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1986.
- Lander, E.S., Kruglyak, L.: Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nature Genet.* 11:241-247, 1995.
- Morton, N.E.: Sequential tests for detection of linkage. *Am. J. Hum. Genet.* 7:277-318, 1955.
- Ott J.: *Analysis of Human Genetic Linkage*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1991.
- Strachan, T., Read, A.P.: *Human Molecular Genetics*. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.
- Terwilliger, J., Ott, J.: *Handbook for Human Genetic Linkage*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1994.
- Wang, D.G., et al.: Large-scale identification, mapping and genotyping of single nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science* 280: 1077-1082, 1998.

	Fracción de recombinación									
	<0,05	0,05	0,10	0,15	0,20	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50
a	3	0,7	0,3	0,2	0,01	0				
b		0	0,1	3	0,2	0				
c	0	0,2	0,7	1,6	1,0	0				
d		0	0,1	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0	

A. LOD scores



B. Curvas de LOD score para ligamiento cercano (a), probable (b) y no-ligamiento (c, d)



C. Análisis multilocus

Diferencias cuantitativas en los rasgos genéticos

La mayoría de las variaciones entre los organismos no son cualitativas sino cuantitativas. La altura, el peso, el sombreado en el color de las flores o de la piel, los patrones conductales, la capacidad cognitiva, la tasa metabólica y la presión sanguínea son algunos ejemplos. Estas variaciones no pueden agruparse en categorías separadas, distinguibles con facilidad, como en el caso de los rasgos monogénicos que muestran el modo de herencia mendeliana. El término genética cuantitativa fue introducido en 1883 por Francis Galton para referirse a la variación de los rasgos complejos. En 1918, R.A. Fisher y luego otros investigadores, sentaron las bases para determinar la genética de esos rasgos. El objetivo primario es distinguir las contribuciones genéticas y ambientales que afectan el rasgo. Como esto por lo general no es posible para individuos, los rasgos cuantitativos deben definirse para poblaciones. Esto plantea dificultades considerables en definir un rasgo (en la cuestión del criterio para considerar un rasgo como anormal) y en encontrar un control apropiado (comparación con otras poblaciones). La variación genética subyacente (variación del genotipo) se denomina de manera intercambiable poligénica (muchos genes), multigénica (varios genes) o multifactorial (muchos factores, incluidas contribuciones no genéticas a la variación). Es importante entender que, al menos en teoría, un rasgo cuantitativo es el resultado de distintos genotipos en cada uno de los loci genéticos involucrados.

A. La longitud de la corola en *Nicotiana longiflora*

Cuando se cruzan plantas parentales con la corola de un largo promedio de 40 cm con otras de 90 cm, la nueva generación (F_1) presenta una distribución en la longitud de la corola que es más larga que la de la planta parental pequeña y más corta que la de la planta parental alta. En la generación siguiente (F_2) la distribución se esparce a ambos extremos, hacia larga y corta. Si se usan plantas de las variedades corta, mediana y larga (se cruzan para generar una nueva población, F_3), la distribución media resultante corresponde a la longitud de corola de las plantas parentales, es decir, corta (mostrado sobre la izquierda), larga (mostrado sobre la derecha) o el promedio (mostrado en el centro). Esto puede explicarse por una diferencia en la distribución de los genes que contribuyen con la variación del rasgo, en este ejem-

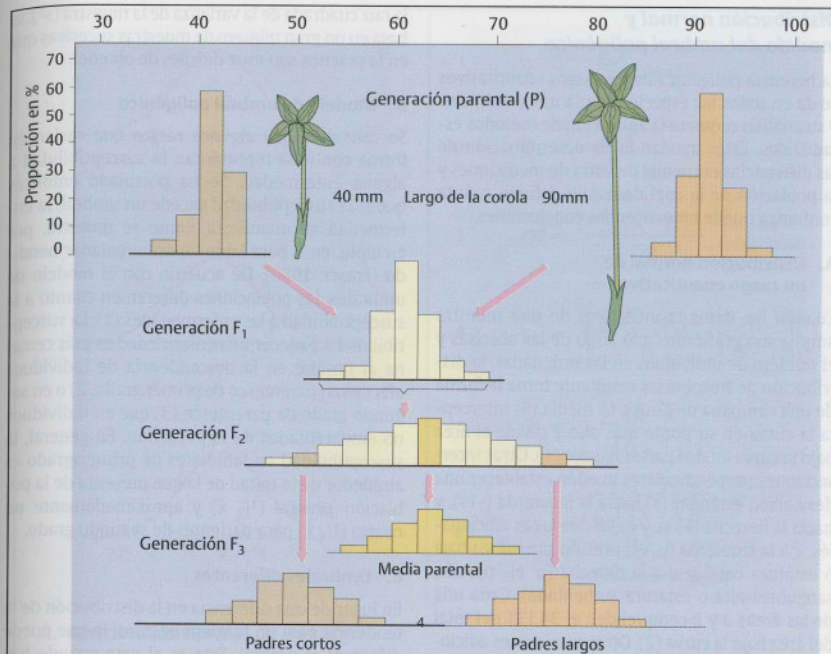
plo la longitud de la corola (figura adaptada de Ayala y Kiger, 1984).

B. Distribución de frecuencias en la generación F_2 con diferentes números de loci genéticos involucrados

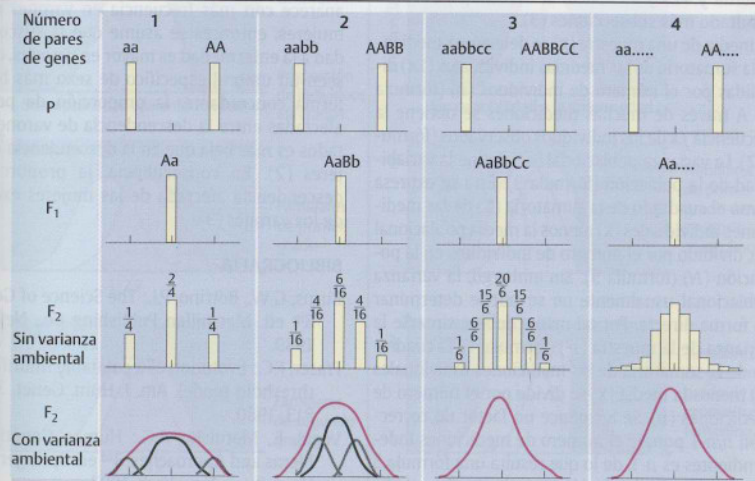
Una característica variable debido a la diferencia de alelos en un único locus genético puede definirse por las diferencias observables en los dos tipos homocigotas *aa* y *AA* (columna 1 en la figura). A medida que el número de loci contribuyentes al fenotipo se incrementa de 2 (columna 2) a 3 (columna 3) o a muchos loci (columna 4), la generación F_1 tiende a desviarse hacia una media. En la generación siguiente (F_2) la distribución de la frecuencia de aparición del rasgo se esparce. Ya no es posible utilizar el fenotipo para inferir el genotipo. A medida que el número de loci aumenta, aparece una distribución suave del rasgo cuantitativo. Aun cuando sólo tres loci contribuyen con el fenotipo (columna 3) la curva de distribución es relativamente suave, ajustando una curva Gaussiana (normal), como se observa con muchos loci (columna 4). El fenotipo de cada individuo es resultado de la contribución de cada alelo en los loci involucrados (sus identidades suelen permanecer desconocidas). La varianza del fenotipo (V_F) es la sumatoria de la varianza genética (V_G) y de la varianza ambiental (V_A). Sin embargo, en muchos casos estos tipos de varianza no pueden distinguirse, en especial en seres humanos. Un locus que contribuye con una característica cuantitativa se denomina locus de rasgo cuantitativo (QTL, *quantitative trait locus*). Hay varios abordajes para establecer los QTL (véase Trends Genet. 11: 463-524, 1995 Special Issue).

BIBLIOGRAFÍA

- Ayala, F.J., Kiger, J.A.: Modern Genetics. 2nd ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1984.
- Burns, G.W., Bottinger, P.J.: The Science of Genetics. 6th ed. Macmillan Publ. Co., New York-London, 1989.
- Falconer, D.S.: Introduction to Quantitative Genetics. 2nd ed. Longman, London, 1981.
- Griffith, A.J.F., et al.: An Introduction to Genetic Analysis. 5th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
- King, R., Rotter, J. Matulsky, A.G., eds.: The Genetic Basis of Common Disorders. Oxford Univ. Press, Oxford, 1992.
- Vogel, F., Matulsky, A.G.: Human Genetics and Approaches. 3rd ed. Springer Verlag, Heidelberg-New York, 1997.



A. Longitud de la flor de *Nicotiana longiflora* luego de la cruce entre diferentes tipos de plantas parentales



B. Distribución de frecuencias en la generación F_2 con diferente número de loci genéticos

Distribución normal y modelo del umbral poligénico

La herencia poligénica de los rasgos cuantitativos se da en todas las especies de plantas y animales y su análisis requiere la aplicación de métodos estadísticos. Éstos ayudan en la determinación de las diferencias entre una muestra de mediciones y la población de la cual derivan y definen cuánta confianza puede tenerse en las conclusiones.

A. Distribución normal de un rasgo cuantitativo

Cuando los datos cuantitativos de una muestra amplia son graficados a lo largo de las abscisas y el número de individuos en las ordenadas, la distribución de frecuencias resultante toma la forma de una campana de Gauss. La media (\bar{x}) intercepta la curva en su punto más alto y divide el área bajo la curva en dos partes iguales (1). Otras intersecciones perpendiculares pueden establecer una desviación estándar (s) hacia la izquierda ($-1s$), y hacia la derecha ($+1s$), y dejar dos áreas adicionales, c a la izquierda (p. ej., presión sanguínea baja o estatura baja) y d a la derecha (p. ej., presión sanguínea alta o estatura aumentada). Cada una de las áreas a y b comprenden el 34,13% del total del área bajo la curva (2). Otras particiones adicionales con perpendiculares a la abscisa en dos y tres desviaciones estándar ($-2s$ y $-3s$ hacia la izquierda y $+2s$ y $+3s$ hacia la derecha) dan como resultado más subsecciones (3).

La media de una muestra (\bar{x}) se determina mediante la sumatoria de las medidas individuales ($\sum x$) divididas por el número de individuos (n) (fórmula 1). A través de muchas mediciones se obtiene la frecuencia f_x de los individuos observados (fórmula 2). La varianza poblacional (σ^2) define la variabilidad de la población (fórmula 3). Ésta se expresa como el cuadrado de la sumatoria (Σ) de las mediciones individuales (\bar{x}) menos la media poblacional (μ), dividido por el número de individuos en la población (N) (fórmula 3). Sin embargo, la varianza poblacional usualmente no se puede determinar en forma directa. Por tal razón, debe estimarse la varianza de la muestra (s^2) (fórmula 4). El cuadrado de la sumatoria de las mediciones individuales (\bar{x}) menos la media (\bar{x}) se divide por el número de mediciones (n). Se introduce un factor de corrección $n/n-1$ porque el número de mediciones independientes es $n-1$, de lo que resulta una fórmula 5 simplificada. La desviación estándar (s , fórmula 6),

la raíz cuadrada de la varianza de la muestra (s^2), se basa en un gran número de muestras sucesivas que en la práctica son muy difíciles de obtener.

B. Modelo de umbral poligénico

Se considera que algunos rasgos que varían en forma continua representan la susceptibilidad a alguna enfermedad. Se ha postulado entonces que si la susceptibilidad excede un umbral, la enfermedad se manifiesta, como se muestra, por ejemplo, en B para labio leporino/paladar hendido (Fraser, 1980). De acuerdo con el modelo de umbrales, las poblaciones difieren en cuanto a la susceptibilidad a las enfermedades (1). La susceptibilidad a padecer una enfermedad es más cercana al umbral en la descendencia de individuos afectados (parentesco de primer grado, 2) o en segundo grado de parentesco (3) que en individuos no emparentados de la población. En general, la susceptibilidad en familiares de primer grado es alrededor de la mitad de la que presenta de la población general ($1/2 \bar{x}$) y aproximadamente un cuarto ($1/4 \bar{x}$) para parientes de segundo grado.

C. Umbrales diferentes

En lugar de una diferencia en la distribución de la tendencia para un rasgo poligénico, lo que puede diferir es el umbral. Éste es el caso cuando hay una diferencia en la frecuencia de una enfermedad según el sexo (1). Por ejemplo, si la enfermedad aparece con más frecuencia en varones que en mujeres, entonces se asume que la susceptibilidad a la enfermedad es mayor en varones, que poseen un umbral específico de sexo más bajo. En forma concordante, la proporción de personas afectadas entre la descendencia de varones afectados es más baja que en la descendencia de mujeres (2). En consecuencia, la proporción de descendencia afectada de las mujeres excede la de los varones (3).

BIBLIOGRAFÍA

Burns, G.W., Bottino, P.I.: *The Science of Genetics*. 6th ed. Macmillan Publishing Co., New York, 1989.
 Fraser, F.C.: Evolution of a palatable multifactorial threshold model. *Am. J. Hum. Genet.* 32:796-813, 1980.
 Vogel, F., Motulsky, A.G.: *Human Genetics Problems and Approaches*. 3rd ed. Springer Verlag, Heidelberg-New York, 1997.

- 1 $\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$ Media
- 2 $\bar{x} = \frac{\sum fx}{n}$
- 3 $\sigma^2 = \frac{\sum (x - \mu)^2}{N}$ Varianza poblacional
- 4 $s^2 = \left(\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n} \right) \left(\frac{n}{n-1} \right)$
- 5 $s^2 = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{(n-1)}$
- 6 $s = \sqrt{\frac{\sum f(x - \bar{x})^2}{n-1}}$ (desviación estándar)

A. Distribución normal de un rasgo

B. Modelo de umbral poligénico

C. Umbrales diferentes

Distribución de los genes en una población

Una población puede caracterizarse por la distribución de sus genes, o sea por la frecuencia de los alelos en los diferentes loci génicos. El campo de la genética poblacional estudia los patrones de distribución de los alelos y los factores que alteran o mantienen sus frecuencias. Un alelo perjudicial que causa una enfermedad en un individuo debería esperarse que tarde o temprano desaparezca de una población. Por lo general éste no es el caso, por las razones que se explican más adelante. La frecuencia de un alelo en una población se relaciona con la distribución de genotipos entre la descendencia de diferentes genotipos parentales.

A. Frecuencia de genotipos esperada en los hijos de padres con varios genotipos

Como se muestra en la pág. 140, un locus génico con dos alelos (uno heredado en forma dominante A y uno heredado en forma recesiva a) puede presentarse en seis combinaciones posibles (1-6). Cada una tiene una distribución de genotipo esperada en la descendencia de acuerdo con las leyes mendelianas. Si uno de los padres es homocigoto y el otro es heterocigoto, como en las combinaciones 2 y 4, en la descendencia resultará una distribución de genotipos 1:1 (0,5 AA y 0,5 Aa). Si ambos padres son heterocigotos (combinación 3), entre los hijos aparecerán tres genotipos en una relación 1:2:1 (0,25 AA, 0,5 Aa y 0,25 aa). Con las combinaciones 1, 5 y 6 las descendencias respectivas serán de un solo genotipo.

B. Frecuencia alélica

La genética poblacional estudia las frecuencias de diferentes genotipos en una población. Se deno-

mina frecuencia alélica (o también frecuencia génica) a la frecuencia con la cual aparece un alelo en un determinado locus génico en una población dada. El concepto de frecuencia alélica se refiere con exclusividad a la frecuencia del alelo en una población y no directamente a la frecuencia de genotipos individuales.

Para un locus génico con dos posibles alelos A y a, los únicos genotipos posibles son AA o Aa o aa. La frecuencia de los dos alelos juntos (p la frecuencia de A y q la frecuencia de a) debe ser del 100% (1,0). Si dos alelos A y a tienen la misma frecuencia (0,5 cada uno), entonces p = 0,5 para el alelo A y q = 0,5 para el alelo a (1); por lo tanto, p + q = 1. La distribución de frecuencias de los dos alelos en una población sigue una relación binomial simple (p + q)² = 1. En concordancia, la distribución de genotipos en la población corresponde a p² + 2pq + q² = 1,0. La expresión p² corresponde a la frecuencia del genotipo AA; la expresión 2pq corresponde a la frecuencia de los heterocigotos Aa; y la expresión q² corresponde a la frecuencia de los homocigotos aa.

Cuando se conoce la frecuencia de un alelo, puede determinarse la frecuencia del genotipo en la población. Por ejemplo, si la frecuencia p del alelo A es de 0,6 (60%), entonces la frecuencia q del alelo a es de 0,4 (40%). Así, la frecuencia del genotipo AA es de 0,36; la de Aa es de 2 × 0,24 = 0,48; y la de aa es de 0,16 (2). A la inversa, si se ha observado la frecuencia del genotipo, puede determinarse la del alelo. Si solamente se conocen los homocigotos aa (p. ej., pueden identificarse porque poseen una enfermedad autosómica recesiva hereditaria) entonces q² corresponde a la frecuencia de la enfermedad. Dado que p = 1 - q, también pueden determinarse las frecuencias de heterocigotos (2pq) y de homocigotos normales (p²).

	Genotipo de los padres	Genotipo de la descendencia
1	AA (padre) × AA (madre)	1,0 AA
2	AA (padre) × Aa (madre)	0,50 AA 0,50 Aa
3	Aa (padre) × Aa (madre)	0,25 AA 0,50 Aa 0,25 aa
4	Aa (padre) × aa (madre)	0,50 Aa 0,50 aa
5	AA (padre) × aa (madre)	1,0 Aa
6	aa (padre) × aa (madre)	1,0 aa

A. Frecuencia de genotipos esperada en los hijos de padres con diferentes genotipos

Padres	0,5 A	0,5 a
0,5 A	AA 0,25	Aa 0,25
0,5 a	Aa 0,25	aa 0,25
1	Descendencia	

p = 0,50 (frecuencia de A)
q = 0,50 (frecuencia de a)

	A = 0,60	a = 0,40	
A 0,6	0,36 AA	0,24 Aa	p
a 0,4	0,24 Aa	0,16 aa	
2	p		q

p² + 2pq + q² = 1
0,36 + 0,48 + 0,16 = 1,0
(AA) (Aa) (aa)

B. Frecuencia alélica

Equilibrio de Hardy-Weinberg

Cuando un alelo en el estado homocigoto o en el heterocigoto conduce a una enfermedad que, debido a su severidad y por el momento de aparición, impide que el individuo afectado se reproduzca, este alelo representa una desventaja selectiva para ese individuo. Aunque podría asumirse que tal alelo mutante podría eventualmente desaparecer de la población, no es eso lo que ocurre. Más bien se desarrolla un equilibrio de la frecuencia, acorde a los principios y condiciones formulados en 1908 por el matemático inglés G. F. Hardy y el médico alemán W. Weinberg (principio de equilibrio de Hardy-Weinberg).

A. Frecuencia alélica constante (equilibrio Hardy-Weinberg)

Un alelo (aquí designado como el alelo *a*) que conduce a un trastorno severo en el estado homocigoto está presente en una población principalmente en el estado heterocigoto indetectable. Solamente los homocigotos (*aa*) atraen la atención debido a que padecen la enfermedad. Los heterocigotos (*Aa*) pasan desapercibidos y no pueden distinguirse de los homocigotos *AA* por su fenotipo. La frecuencia de individuos afectados (homocigotos *aa*) se determina por la frecuencia del alelo *a* (correspondiente a *q*). La frecuencia de los tres genotipos se determina por la relación binomial $(p + q)^2 = 1$ donde *p* representa la frecuencia del alelo *A* y *q* la frecuencia del alelo *a*. Los alelos homocigotos (*aa*) eliminados en una generación debido a la enfermedad son reemplazados por nuevas mutaciones. Se alcanza un equilibrio entre la eliminación de la enfermedad y la frecuencia de la mutación.

B. Algunos factores que influyen en la frecuencia alélica

El principio de equilibrio Hardy-Weinberg sólo es válido en ciertas condiciones: ante todo, sólo se aplica cuando la población es suficientemente grande y el apareamiento es aleatorio (panmixia). La selección de un alelo en particular podría conducir a un aumento de la correspondiente frecuencia alélica.

Un cambio en la frecuencia de la mutación puede cambiar la de un alelo. Sin embargo, después de una única alteración en la frecuencia de la mutación, al cabo de una generación aparecerá un nuevo nivel de equilibrio.

En una población pequeña la proporción de genotipos puede desplazarse debido a fluctuaciones ca-

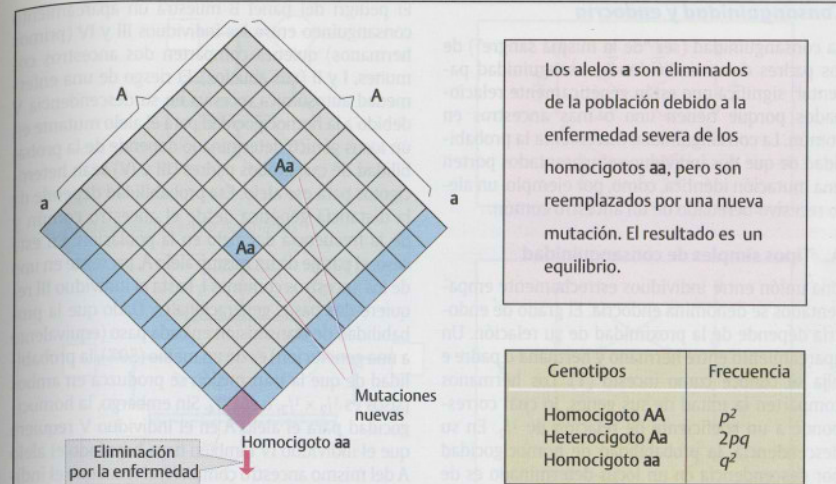
suales (corriente genética). Un alelo muy raro o ausente en una población puede ser introducido por una migración y esparcirse en tanto la población crece (efecto fundador).

Por último, una población puede experimentar una reducción drástica en su tamaño, seguida luego de un aumento en el número de individuos. Un alelo que con anterioridad era raro en esa población, después puede, por azar, hacerse relativamente común en tanto la población vuelve a expandirse.

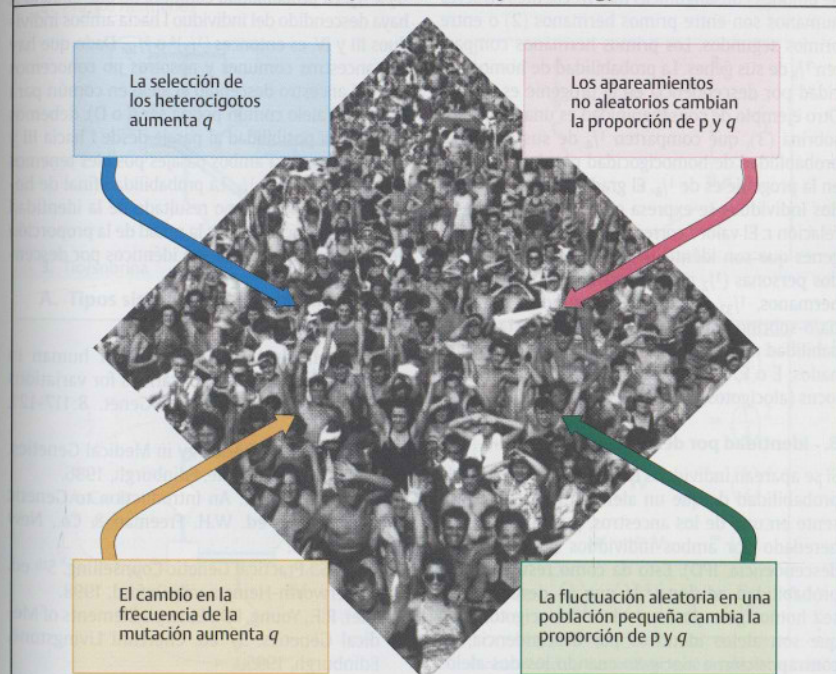
El desequilibrio de ligamiento es una desviación de la frecuencia de presentación de ciertos alelos en dos o más loci vecinos ligados, en comparación con la esperada por sus frecuencias individuales en la población. El desequilibrio de ligamiento puede resultar de la ventaja selectiva de un alelo o provenir de una diferencia geográfica al momento de la aparición de la mutación en una población comparada con otra. En este caso uno encuentra la mutación causante de la enfermedad con preferencia en un haplotipo de loci marcador estrechamente ligado pero rara vez o nunca en otro (véase como ejemplo las anomalías de la hemoglobina). (Detalle fotográfico de "Coney Island, 1938, fotografía de Weege" hilma hilcox, Fotofolio.)

BIBLIOGRAFÍA

- Cavalli-Sforza, LL., Bodmer, W.F.: *The Genetics of Human Populations*, W.H. Freeman & Co., San Francisco, 1971.
- Cavalli-Sforza, LL, Menozzi, P., Piazza, A.: *The History and Geography of Human Genes*. Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey, 1994.
- Eriksson, A.W., et al., eds.: *Population Structure and Genetic Disorders*. Academic Press, London, 1980.
- Jorde, L: *Linkage disequilibrium and the search for complex diseases*. *Genome Res.* 10:1435-1444, 2000.
- Kimura, M., Ohta, T.: *Theoretical Aspects of Population Genetics*. Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey, 1971.
- Kruglyak, L: *Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes*. *Nature Genet.* 22:139-144, 1999.
- Terwilliger, J., Ott, J.: *Handbook for Human Genetic Linkage*. Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, 1994.
- Vogel, F., Motulsky, A.G.: *Human Genetics. Problems and Approaches*. 3rd ed. Springer Verlag, Heidelberg-New York, 1997.



A. Frecuencia alélica constante (equilibrio de Hardy-Weinberg)



B. Algunos factores que influyen en la frecuencia alélica

Consanguinidad y endocria

La consanguinidad (ser "de la misma sangre") de los padres de un individuo (consanguinidad parental) significa que están genéticamente relacionados porque tienen uno o más ancestros en común. La consanguinidad incrementa la probabilidad de que dos individuos emparentados porten una mutación idéntica, como, por ejemplo, un alelo recesivo heredado de un ancestro común.

A. Tipos simples de consanguinidad

Una unión entre individuos estrechamente emparentados se denomina endocria. El grado de endocria depende de la proximidad de su relación. Un apareamiento entre hermano y hermana o padre e hija se conoce como incesto (1). Los hermanos comparten la mitad de sus genes, lo cual corresponde a un coeficiente de relación de $1/2$. En su descendencia, la probabilidad de homocigocidad por descendencia en un locus determinado es de $1/4$ ($1/2$ de cada uno, C y D, hacia E). Dos de los tipos de uniones consanguíneas más frecuentes en seres humanos son entre primos hermanos (2) o entre primos segundos. Los primos hermanos comparten $1/8$ de sus genes. La probabilidad de homocigocidad por descendencia en la prole es de $1/16$. Otro ejemplo de consanguinidad es una unión tío-sobrina (3), que comparten $1/4$ de sus genes. La probabilidad de homocigocidad por descendencia en la prole es de $1/8$. El grado de relación entre dos individuos se expresa como el coeficiente de relación r . El valor r corresponde a la proporción de genes que son idénticos por descendencia en las dos personas ($1/2$ para hermanos, $1/8$ para primos hermanos, $1/32$ para primos segundos, $1/4$ para tía/o-sobrino/a). Por lo general se descarta la probabilidad remota de que los individuos no relacionados, E o F, transmitan un alelo mutante en ese locus (alocigotos, véase más adelante).

B. Identidad por descendencia (IPD)

Si se aparean individuos relacionados, aumenta la probabilidad de que un alelo en particular, presente en uno de los ancestros, pueda haber sido heredado por ambos individuos (identidad por descendencia, IPD). Esto da como resultado una probabilidad adicional de que su descendencia sea homocigoto para ese alelo (autocigoto, dado que son alelos idénticos por descendencia, en contraposición a alocigoto cuando los dos alelos no son idénticos por descendencia). La probabilidad de homocigocidad resultante en un locus determinado es el coeficiente de endocria, F .

El pedigrí del panel B muestra un apareamiento consanguíneo entre los individuos III y IV (primos hermanos) quienes comparten dos ancestros comunes, I y II (sus abuelos). El riesgo de una enfermedad autosómica recesiva en su descendencia V debido a la homocigocidad para el alelo mutante en un locus génico determinado depende de la probabilidad de que ambos padres (III y IV) sean heterocigotos para ese alelo. Esa probabilidad depende de la distancia genética desde el ancestro común y de la frecuencia del alelo en la población. En este caso, el pasaje de un mismo alelo **A**, presente en uno de los ancestros comunes I, hasta el individuo III requiere dos pasos generacionales. Dado que la probabilidad de transmisión en cada paso (equivalente a una generación) es de un medio (50%), la probabilidad de que la transmisión se produzca en ambos pasos es $1/2 \times 1/2$, o sea $1/4$. Sin embargo, la homocigocidad para el alelo **A** en el individuo V requiere que el individuo IV también haya heredado el alelo **A** del mismo ancestro común (I) al igual que el individuo III. El número de pasos requeridos también es $1/2 \times 1/2$. La probabilidad conjunta de que el alelo **A** haya descendido del individuo I hacia ambos individuos III y IV, es entonces $(1/2)^4$ o $1/16$. Dado que hay dos ancestros comunes y nosotros no conocemos de cuál ancestro descendió el alelo en común para III y IV (el alelo común podría ser C o D), debemos añadir esta posibilidad al pasaje desde I hacia III y IV. Entonces, para ambos pasajes posibles tenemos $(1/2)^4 + (1/2)^4$, o sea $1/8$. La probabilidad final de homocigocidad de V como resultado de la identidad por descendencia (IPD) es la mitad de la proporción de genes parentales que son idénticos por descendencia ($1/16$).

BIBLIOGRAFÍA

Bittles, A.H., Neel, J.V.: The costs of human in breeding and their implications for variations at the DNA level. *Nature Genet.* 8:117-121, 1994.
 Emery, A.E.H.: *Methodology in Medical Genetics*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1986.
 Griffith, A.J.F., et al.: *An Introduction to Genetic Analysis*. 7th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
 Harper, P.S.: *Practical Genetic Counselling*. 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford, 1998.
 Mueller, R.F., Young, I.D.: *Emery's Elements of Medical Genetics*. 9th ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1995.
 Vogel, F., Motulsky, A.G.: *Human Genetics. Problems and Approaches*. 3rd ed. Springer Verlag, Heidelberg-New York, 1997.

1. Apareamiento entre hermanos

2. Primos hermanos

3. Tío/sobrina

A. Tipos simples de consanguinidad

B. Identidad por descendencia (IPD)

$I \rightarrow III = \left(\frac{1}{2}\right)^2$
 $I \rightarrow IV = \left(\frac{1}{2}\right)^2$
 $I \rightarrow III \text{ y } IV = \left(\frac{1}{2}\right)^4$
 $III \text{ y } IV \rightarrow V = \left(\frac{1}{2}\right)^2$
 $IPD: \left[\left(\frac{1}{2}\right) + \left(\frac{1}{2}\right)^4\right] \times \frac{1}{4} = \frac{1}{16}$

Probabilidad de descendencia de un ancestro común

Gemelos

En muchas especies de animales se producen con regularidad gestaciones dobles, triples o cuádruples. En seres humanos, alrededor de una cada 80 gestaciones son de gemelos. Éstos pueden surgir de un solo huevo fertilizado (gemelos monocigóticos, MZ) o de dos huevos diferentes (gemelos dicigóticos, DZ o mellizos). Los gemelos monocigóticos son genéticamente idénticos.

El estudio de las diferencias genéticas entre gemelos monocigóticos (idénticos) y dicigóticos (no idénticos) intenta determinar la importancia relativa de los factores genéticos y ambientales. Aunque la investigación de los gemelos posee un valor limitado en la búsqueda de genes individuales, puede arrojar luz sobre el posible origen genético de ciertos rasgos complejos, como las enfermedades multifactoriales (véase pág. 154) y el comportamiento humano.

Las comparaciones entre los gemelos monocigóticos que han crecido juntos y los que lo han hecho separados son especialmente informativas, ya que permiten visualizar el papel de los factores genéticos diferenciándolos de las influencias ambientales. En un amplio estudio, el Estudio de los Gemelos de Minnesota (Bouchard, 1990), se compararon gemelos monocigóticos y dicigóticos que habían sido separados desde la infancia. Una serie de análisis complejos demostraron que los gemelos monocigóticos que habían crecido separados eran muy similares a los que lo habían hecho juntos, a pesar de las diferentes influencias ambientales. Alrededor del 70% de la varianza en la capacidad mental estaba asociada con variaciones genéticas.

A. Tipos de gemelos

Los gemelos monocigóticos emergen por separación en un período muy temprano del desarrollo. Siempre tienen la placenta en común (monoplacentarios) y pueden residir en dos cavidades amnióticas (diamnióticos) o en una común (monoamnióticos). Los gemelos dicigóticos siempre son diamnióticos. Cada uno puede tener su placenta (diploplacentarios) o compartir una.

B. Patologías en gemelos

La separación incompleta (conocida como gemelos siameses) o las conexiones de las circulaciones sanguíneas conducen a trastornos patológicos en los gemelos. La unión relativamente más frecuente es la toracodelfos (1), en la cual los gemelos están unidos por varias porciones de la región torácica. La circulación sanguínea puede estar conectada a través de la placenta común (mediante la formación de una

unión placentaria) (2). Esto puede llevar a que uno de los gemelos reciba menos sangre o incluso a que se desangre hasta morir. La formación incompleta de órganos puede dar como resultado malformaciones especialmente severas; por ejemplo, la ausencia de corazón en uno de ellos (acardia) (3). Si uno de los gemelos muere muy temprano durante la gestación, puede llegar a desaparecer en el tiempo en que tarda el otro en nacer (gemelo desaparecido).

C. Concordancia o discordancia

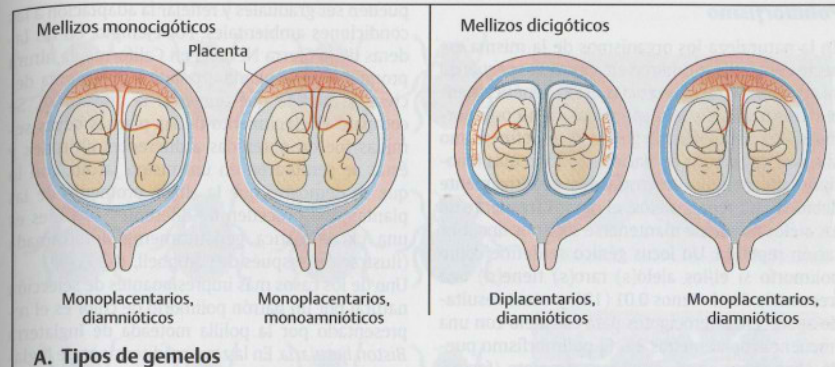
Cuando los gemelos muestran un mismo rasgo, se dice que son concordantes; cuando difieren, son discordantes. Las comparaciones de la tasa de concordancia permiten sacar conclusiones acerca del papel relativo de los factores genéticos en la etiología de los rasgos complejos, como ciertas malformaciones, predisposición a enfermedades, altura, presión sanguínea, etc. Sin embargo, las conclusiones definitivas acerca de las causas genéticas raramente pueden alcanzarse sólo por la tasa de concordancia. (De Connor y Ferguson-Smith, 1991).

D. Diferencias bioquímicas

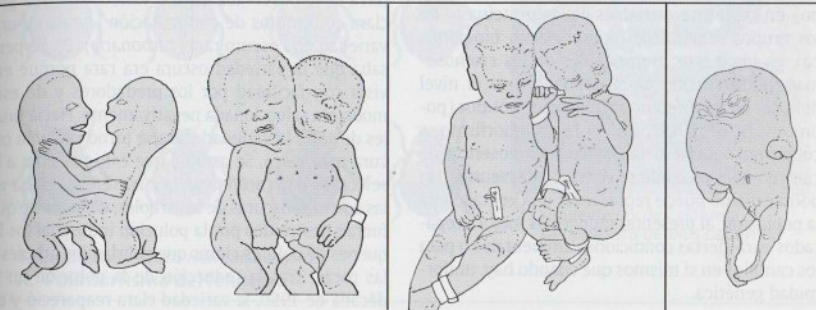
Los gemelos dicigóticos y monocigóticos también tienen diferencias bioquímicas. Debido a ciertas diferencias genéticas muchas sustancias químicas utilizadas como terapia son metabolizadas o excretadas a diferentes velocidades por causa de la actividad diferente de las enzimas correspondientes (véanse págs. 166 y 372). Un ejemplo es la tasa de excreción de la fenilbutazona, estudiada por E. S. Vesell. Esta sustancia es excretada a la misma velocidad en gemelos idénticos, pero difiere entre gemelos dicigóticos o fraternos.

BIBLIOGRAFÍA

- Bouchard, T.J. et al.: Sources of human psychological differences: The Minnesota study of twins reared apart. *Science* 250:223-228, 1990.
- Connor, J.M., Ferguson-Smith, M.A.: *Essential Medical Genetics*, 3rd ed. Blackwell Scientific Publishers, Oxford, 1991.
- McGregor A.J., et al.: Twins. Nove! uses to study complex traits and genetic diseases. *Trends Genet.* 16:131-134, 2000.
- Phelan, M.C.: Twins. pp. 1047-1079. In: *Human Malformations and Related Anomalies*. Vol. II. Stevenson, R.E., Hall, J.G., Goodman, R.M., eds. Oxford Monographs on Medical Genetics 37:1047-1079, Oxford Univ. Press, Oxford, 1993.
- Segal, N.: *Entwined Lives: Twins and what they tell us about human behavior*. Dutton Books, New York, 1999.



A. Tipos de gemelos

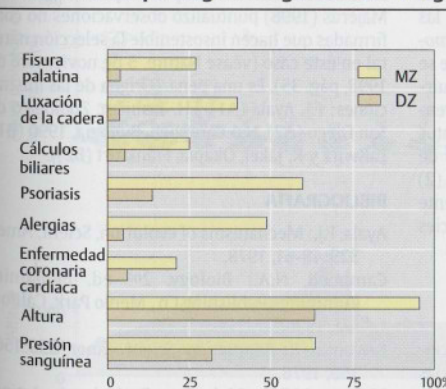


1. Toracodelfos

2. Mellizos dicigóticos conectados por una intercomunicación

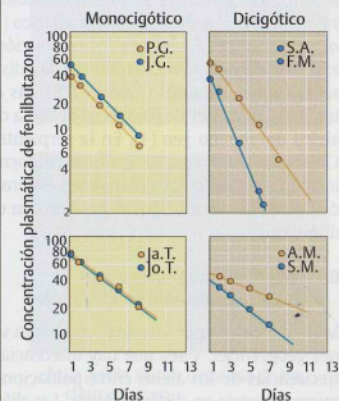
3. Acardia

B. Trastornos patológicos en gemelos monocigóticos



(De Connor y Ferguson-Smith, 1991)

C. Concordancia de ciertos rasgos en gemelos monocigóticos (MZ) y dicigóticos (DZ)



D. Tasa de excreción de un fármaco (datos de E. S. Vesell)

Polimorfismo

En la naturaleza los organismos de la misma especie usualmente difieren en algunos aspectos de su apariencia. Las diferencias están genéticamente determinadas y son conocidas como polimorfismos. El polimorfismo genético se define como la aparición, en una población, de dos o más fenotipos alternativos determinados genéticamente debido a diferentes alelos; el menos frecuente de los alelos no puede mantenerse sólo por una mutación repetida. Un locus génico se define como polimorfo si el/los alelo(s) raro(s) tiene(n) una frecuencia de al menos 0.01 (1%), y como resultado aparecen heterocigotos para ese alelo con una frecuencia de al menos 2%. El polimorfismo puede observarse en el individuo completo (fenotipo), en las formas variables de las proteínas y de los grupos sanguíneos (polimorfismo bioquímico), en los rasgos morfológicos de los cromosomas (polimorfismo cromosómico) o en el nivel del DNA en las diferencias de los nucleótidos (polimorfismo del DNA, pág. 72). Un polimorfismo se considera neutral si la presencia o ausencia de ciertos alelos no confiere ventaja o desventaja. Un polimorfismo puede representar una ventaja para la población, al presentar individuos mejor preparados para ciertas condiciones ambientales o para los cambios en sí mismos que cuando hay uniformidad genética.

A. Polimorfismo del fenotipo

Un ejemplo representativo de polimorfismo del fenotipo lo constituye el patrón del color de las vainas de las alas del escarabajo asiático (*Harmonia axyridis*) (1). En el área de distribución que se extiende desde Siberia a Japón pueden distinguirse múltiples variantes (Ayala, 1978). Las diferentes combinaciones de colores se deben a distintos alelos del mismo gen (1). En la serpiente rey de California (*Lampropeltis getulus californiae*) (2) los patrones de color difieren tan extensamente dentro de la misma especie que parecen especies diferentes.

B. Polimorfismo relacionado con las condiciones ambientales

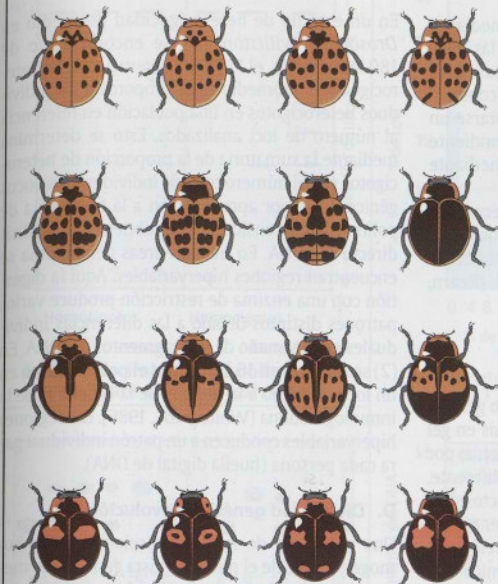
Muchos organismos vivientes muestran variaciones geográficas; y sea que hay diferencias en las frecuencias de los alelos entre poblaciones de la misma especie en distintas áreas. Las diferencias

pueden ser graduales y reflejar la adaptación a las condiciones ambientales. Por ejemplo, en las laderas de la Sierra Nevada, en California, la altura promedio de la planta aromática milenrama decrece a medida que aumenta la altitud (1). Se comparó el crecimiento de las plantas cuyas semillas fueron obtenidas a diferentes altitudes y éstas se sembraron en un mismo jardín, con lo que se demostró que la altura promedio de las plantas que proceden de diferentes altitudes es una característica genéticamente determinada (ilustración después de Campbell, 1990).

Uno de los casos más impresionantes de selección natural por un patrón polimorfo de color es el representado por la polilla moteada de Inglaterra *Biston betularia*. En la zona mediterránea de Inglaterra se la observaba en dos variedades, una gris clara con puntos de pigmentación (*typica*) y una variedad gris oscura rara (*carbonaria*) (2). Se pensaba que la variedad oscura era rara porque era vista con facilidad por los predadores y de este modo era seleccionada negativamente. Hacia finales de 1880 la variedad clara se tornó rara y la oscura prevaleció. Se asumió que esto se debía a la selección por *carbonaria*, la cual se camuflaba en las cortezas oscuras de los árboles, después de que fueran destruidos por la polución industrial los líquenes de colores claros que cubrían los árboles y las rocas. Tras la reducción de la polución en la década de 1950, la variedad clara reapareció y de nuevo se tornó común. Lamentablemente, serias dudas han sido postuladas sobre esta hermosa historia de selección natural por adaptación genética. Majerus (1998) puntualizó observaciones no confirmadas que hacen insostenible la selección natural en este caso (véase Nature, 5 de noviembre de 1998, pág. 35). Es una pena. (Origen de las ilustraciones: F.J. Ayala (A1), J.H. Tashjian, Zoológico de San Diego (A2), N.A. Campbell, Biología, 1990 (B1), LaSwitz y K. Jäkel, Okapia, Frankfurt (B2)).

BIBLIOGRAFÍA

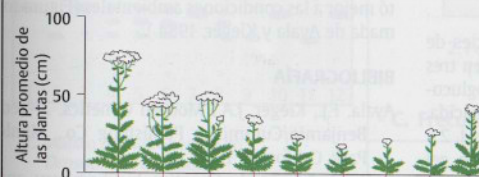
- Ayala, F.J.: Mechanisms of evolution, Scient, Amer, 329:48-61, 1978.
 Campbell, N.A.: Biology. 2nd ed, Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1990.
 Lewontin, R: Adaptation. Scient. Amer, 239:156-169, 1978.
 Majerus, M.E.N.: Melanism: Evolution in Action. Oxford Univ. Press, Oxford, 1998.



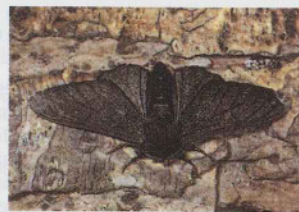
1. Escarabajo asiático *Harmonia axyridis*
 A. Polimorfismo del fenotipo



2. Serpiente rey de California
Lampropeltis getulus californiae



1. Plantas de milenrama en las montañas de Sierra Nevada



2. La polilla *Biston betularia* de tipo claro y oscuro

B. Polimorfismo relacionado con las condiciones ambientales

Polimorfismo bioquímico

El polimorfismo bioquímico se detecta mediante métodos de laboratorio. Es resultado de las diferencias individuales en las secuencias de las bases nitrogenadas del DNA. Si una diferencia conduce a un cambio en un codón, puede incorporarse un aminoácido diferente en el sitio correspondiente de la proteína. Esto puede demostrarse mediante el análisis del producto génico.

En el último siglo Archibald Garrod reconoció temprano ciertas diferencias sutiles en muchas de las reacciones bioquímicas entre individuos como las bases de la individualidad genética (Bearn, 1993).

A. Reconocimiento del polimorfismo mediante electroforesis en gel

El polimorfismo de una proteína (producto génico) puede demostrarse mediante electroforesis en gel cuando una forma variante difiere de las otras por la presencia de un aminoácido de carga diferente. En este caso las formas alélicas del producto génico pueden distinguirse debido a sus diferentes velocidades de migración en un campo eléctrico (electroforesis). Cuando un producto génico dos subunidades (proteína dimérica) los individuos heterocigotos exhibirán tres bandas. Un polimorfismo que no conduce a un cambio en la carga eléctrica no puede identificarse de esta forma.

B. Demostración del polimorfismo en los productos génicos

Aquí se muestra que en diferentes especies de *Drosophila*, el polimorfismo es frecuente en tres productos génicos típicos, las enzimas fosfoglucomutasa, malato deshidrogenasa y fosfatasa ácida. Cada uno de los diagramas de las secciones 1, 2 y 3 muestra una plancha de electroforesis en gel para 12 moscas de la fruta, donde cada gel se tiñó en forma específica para la proteína respectiva. Para la fosfoglucomutasa (1) se observan diferentes velocidades de migración entre los individuos homocigotos respecto de los heterocigotos (2, 4, 10). La malato deshidrogenasa es una proteína dimérica, de manera que los individuos heterocigotos (4, 5, 6, 8) muestran tres bandas. La fosfatasa ácida (3) muestra un patrón complejo porque hay cuatro alelos involucrados. (Figura de Ayala y Kieger, 1984.)

C. Frecuencia del polimorfismo

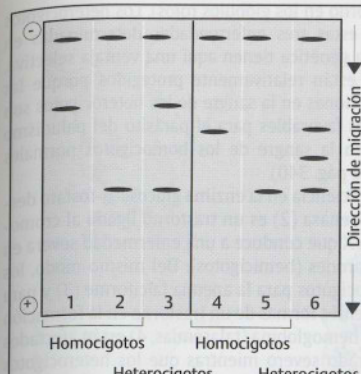
En un estudio de heterocigocidad promedio en *Drosophila willistoni* (1), se encontró que de 180 loci génicos, el 17,7% era heterocigoto. La heterocigocidad promedio es la proporción de individuos heterocigotos en una población en referencia al número de loci analizados. Esto se determina mediante la sumatoria de la proporción de heterocigotos por el número total de individuos por locus génico. La mejor aproximación a la frecuencia de polimorfismo considerable se obtiene del análisis directo del DNA. En muchas áreas del genoma se encuentran regiones hipervariables. Aquí la digestión con una enzima de restricción produce varios patrones distintos debido a las diferencias individuales en el tamaño de los fragmentos del DNA. En (2) se muestra en 16 individuos el polimorfismo en un locus cercano a la región J de la cadena H de la inmunoglobulina (White y col., 1986). Las regiones hipervariables conducen a un patrón individual para cada persona (huella digital de DNA).

D. Diversidad genética y evolución

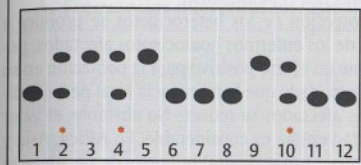
Una población de individuos relativamente homogéneos desde el punto de vista genético es menos capaz de adaptarse a los cambios ambientales que otra de especies genéticamente diversas. Se compararon dos poblaciones de *Drosophila serrata* conservadas en botellas separadas, por 25 generaciones, con espacio y nutrientes limitados. La población con mayor diversidad genética se ajustó mejor a las condiciones ambientales (Figura tomada de Ayala y Kieger, 1984.)

BIBLIOGRAFÍA

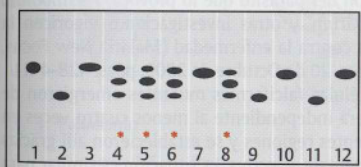
- Ayala, F.J., Kieger, J.A.: Modern Genetics. 2nd ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1984.
- Beaudet, A.L., et al.: Genetics, biochemistry, and molecular basis of variant human phenotypes. pp. 53-118 In: CR. Scriver, et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed. McGraw-Hill. New York. 1995.
- Bearn, A.: Archibald Garrod and the Individuality of Man. Clarendon Press, Oxford. 1993.
- White, R., et al.: Construction of human genetic linkage images. I. Progress and perspectives. Cold Spring Harbor Symp. Quant Bio. 51:29, 1986.



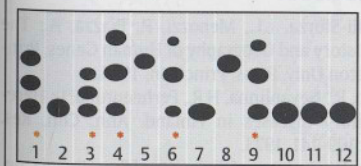
A. Reconocimiento del polimorfismo mediante electroforesis en gel



1. Fosfoglucomutasa en *Drosophila pseudoobscura*

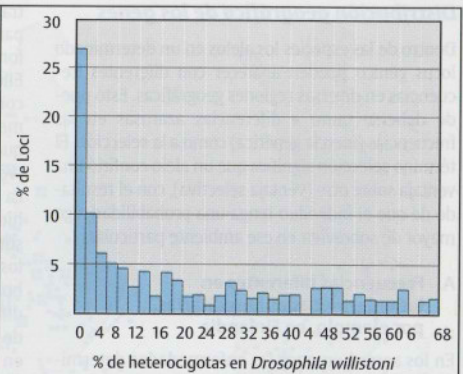


2. Malato deshidrogenasa en *Drosophila equinoxialis*

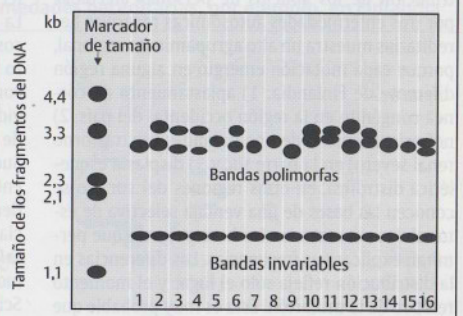


3. Fosfatasa ácida en *Drosophila equinoxialis*
(• = moscas de la fruta heterocigotas)

B. Demostración del polimorfismo en los productos génicos

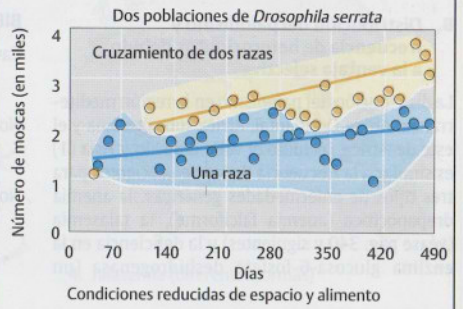


1. Heterocigocidad promedio alta (17,7% de 180 loci)



2. Polimorfismos del DNA en el hombre (16 individuos)

C. Frecuencia del polimorfismo



D. Diversidad genética y evolución

Distribución geográfica de los genes

Dentro de las especies los alelos en un determinado locus génico pueden aparecer con diferentes frecuencias en diversas regiones geográficas. Esto puede deberse tanto a diferencias azarosas en las frecuencias (inercia genética) como a la selección. El término selección significa que un alelo confirió una ventaja sobre otro (ventaja selectiva), con el resultado de que el individuo tenga una probabilidad algo mayor de sobrevivir en ese ambiente particular.

A. Frecuencias diferentes en las enfermedades hereditarias, por ejemplo, en Finlandia

En los seres humanos las enfermedades determinadas en forma genética (hereditarias) aparecen con diferentes frecuencias en las distintas regiones del mundo. Por ejemplo, en Finlandia la distribución de los abuelos de personas afectadas por tres enfermedades autosómicas recesivas hereditarias muestra un alto agrupamiento regional, porque cada mutación emergió en alguna región diferente de Finlandia: 1) aplastamiento de córnea congénito en la región occidental del país, 2) nefrosis congénita de tipo finlandés (un trastorno renal severo) en la parte sur y 3) displasia esquelética distrófica, en otras regiones del sur. No se conocen las bases de una ventaja selectiva de estos alelos mutantes en los heterocigotos que permitan explicar sus frecuencias. Las diferencias en la distribución refleja sólo el lugar y el momento relativo de la mutación. Ésta es muy probable que apareciera después del establecimiento de Finlandia, dado que es extraordinariamente frecuente allí y rara en cualquier otro lugar.

Hay ejemplos similares en muchas otras regiones y poblaciones del mundo.

B. Distribución del paludismo y frecuencia de heterocigotos debido a la ventaja selectiva

La distribución del paludismo en la región mediterránea, África Occidental, África subsahariana y el este de África, incluido el valle del Nilo y Asia (1) es similar a la frecuencia de los heterocigotos para tres tipos de enfermedades genéticas: la anemia drepanocítica (anemia falciforme), la talasemia (véase pág. 340 y siguientes) y la deficiencia en la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (un

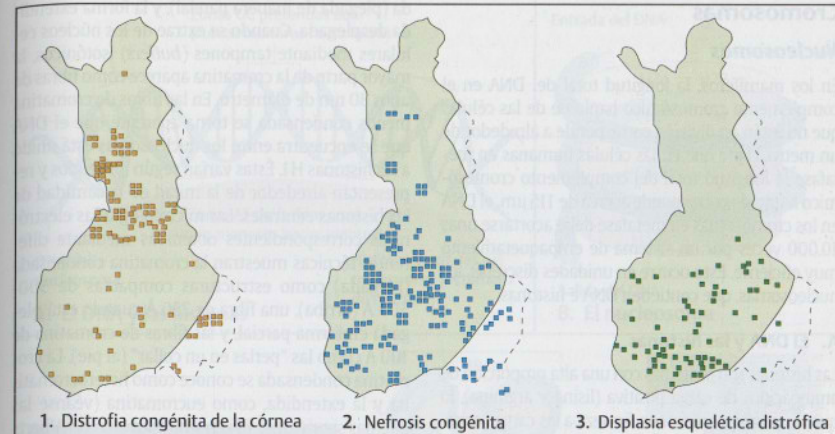
trastorno en los glóbulos rojos). Los heterocigotos para estas tres enfermedades determinadas en forma genética tienen aquí una ventaja selectiva. Ellos están relativamente protegidos porque las condiciones en la sangre de los heterocigotos son menos favorables para el parásito del paludismo que en la sangre de los homocigotos normales (véase pág. 340).

La deficiencia en la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (2) es un trastorno ligado al cromosoma X que conduce a una enfermedad severa en los varones (hemocigotos). Del mismo modo, los homocigotos para la anemia falciforme (3) y para diferentes formas de un trastorno en la formación de la hemoglobina (talasemias, 4) están afectados en grado severo mientras que los heterocigotos no se ven afectados, o sólo lo están en forma moderada. Esto llevó a un aumento asombroso de los heterocigotos para el alelo mutante en áreas infectadas por el paludismo.

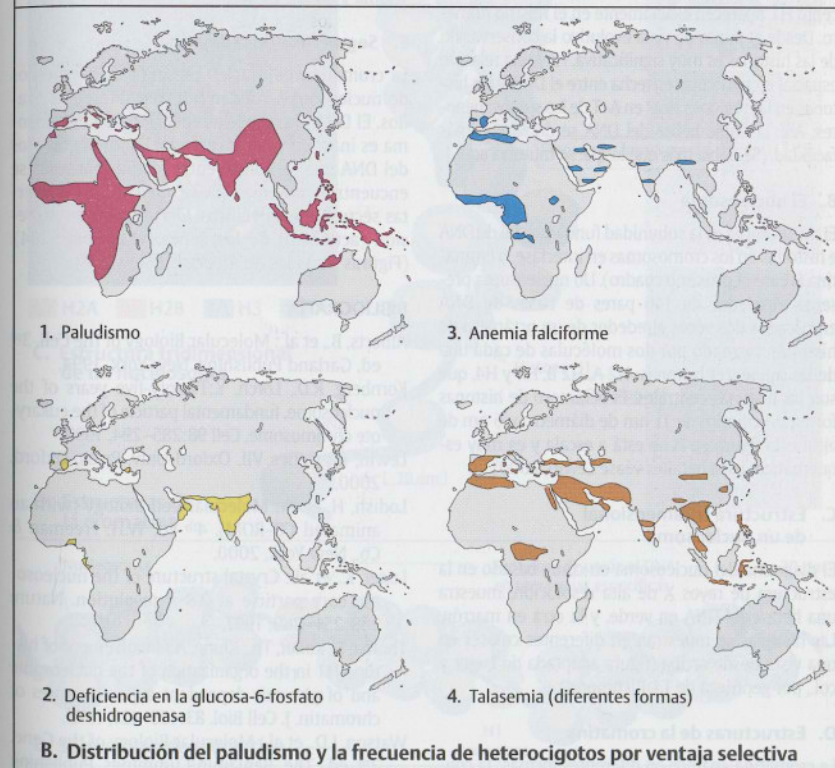
La protección de los heterocigotos se produce a costa de los enfermos homocigotos afectados, pero tiene un efecto positivo para la población en su conjunto, dado que la frecuencia total de los individuos afectados se reduce. No obstante, el valor de esta ventaja es considerable. En África, Asia y Sudamérica más de 400 millones de personas se enferman por paludismo cada año. Mueren alrededor de 1 a 3 millones. Se espera que la secuenciación del parásito que lo provoca, *Plasmodium falciparum*, y otras investigaciones vigoricen la lucha contra la enfermedad (Malaria New Focus, Science, 20 de Octubre de 2000, págs. 428-441). Las células falciformes mutantes emergieron de manera independiente al menos cuatro veces en diferentes regiones y se establecieron allí gracias a su ventaja selectiva. La situación es similar para las talasemias (véase pág. 344).

BIBLIOGRAFÍA

- Cavalli-Sforza, L.L., Menozzi, P., Piazza, A.: The History and Geography of Human Genes. Princeton Univ. Press, Princeton, 1994.
- Norio, R., Nevanlinna, H.R., Perheentupa, J.: Hereditary diseases in Finland. *Ann. Clin. Res.* 5:109-141, 1973.
- Norio, R.: Diseases of Finland and Scandinavia. pp. 359-415. In: Rothschild, H.R., ed. *Biocultural Aspects of Disease*. Academic Press, New York, 1981.



A. Frecuencias diferentes en las enfermedades hereditarias, por ejemplo, en Finlandia



Cromosomas

Nucleosomas

En los mamíferos, la longitud total del DNA en el complemento cromosómico haploide de las células que no están en división corresponde a alrededor de un metro. Dado que en las células humanas en metafase la longitud total del complemento cromosómico haploide corresponde a cerca de 115 μm , el DNA en los cromosomas en metafase debe acortarse unas 10.000 veces por un sistema de empaquetamiento muy eficiente. Esto ocurre en unidades discretas, los nucleosomas, que contienen DNA e histonas.

A. El DNA y las histonas

Las histonas son proteínas con una alta proporción de aminoácidos de carga positiva (lisina y arginina), lo que les permite unirse con firmeza a las cargas negativas de la doble cadena del DNA. Hay cinco tipos de moléculas de histonas: H1, H2 A, H2 B; H3 y H4. Excepto H1, aparecen exactamente en el mismo número. Desde el punto de vista evolutivo la conservación de las histonas es muy significativa. Hay una relación espacial en particular estrecha entre el DNA y las histonas en las regiones ricas en A+T de los surcos menores. Allí, la doble hélice del DNA se dobla con más facilidad. (Se dobla más que lo que se muestra aquí.)

B. El nucleosoma

El nucleosoma es la subunidad fundamental de DNA e histonas en los cromosomas en interfase, o cromatina (véase el próximo cuadro). Un nucleosoma presenta alrededor de 146 pares de bases de DNA enrollados dos veces alrededor de un octámero de histonas, formado por dos moléculas de cada una de las siguientes histonas: H2 A, H2 B, H3 y H4, que son las histonas centrales. El octámero de histonas forma un cilindro de 11 nm de diámetro y 6 nm de altura (la figura en B no está a escala y es muy esquemática; para detalles véase Lewin, 2000).

C. Estructura tridimensional de un nucleosoma

El diagrama del nucleosoma en cinta, basado en la estructura de rayos X de alta resolución, muestra una hebra del DNA en verde, y la otra en marrón. Las histonas se muestran en diferentes colores en una vista desde arriba (figura adaptada de Luger et al., por gentileza de T.J. Richmond).

D. Estructuras de la cromatina

La cromatina aparece en diferentes formas: la condensada (plegada con firmeza), la menos condensa-

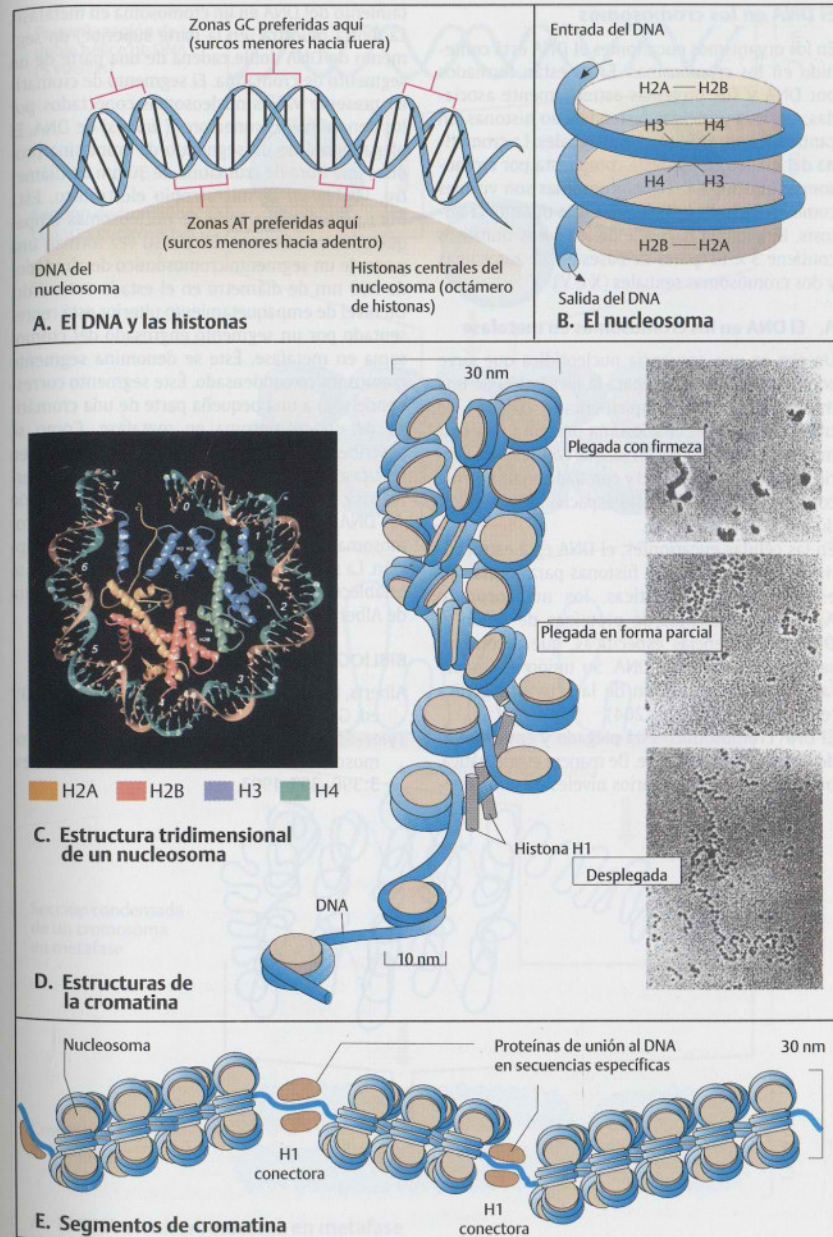
da (plegada de manera parcial), y la forma extendida desplegada. Cuando se extrae de los núcleos celulares mediante tampones (*buffers*) isotónicos, la mayor parte de la cromatina aparece como fibras de unos 30 nm de diámetro. En las fibras de cromatina menos condensada se torna aparente que el DNA que se encuentra entre los nucleosomas está unido a las histonas H1. Éstas varían según los tejidos y representan alrededor de la mitad de la cantidad de las histonas centrales. Las microfotografías electrónicas correspondientes obtenidas mediante diferentes técnicas muestran la cromatina condensada (plegada) como estructuras compactas de 300-500 Å (arriba), una fibra de 250 Å cuando está plegada en forma parcial, y las fibras de cromatina de 100 Å como las "perlas en un collar" (al pie). La cromatina condensada se conoce como heterocromatina y la extendida, como eucromatina (véanse las páginas siguientes). (Diagrama adaptado de Alberts et al., 1994; las microfotografías electrónicas son de Thoma y Koller, 1979.)

E. Segmentos de cromatina

La cromatina del núcleo presenta en segmentos de nucleosomas condensados en diferentes grados. El DNA enrollado alrededor de un nucleosoma es inactivo y no es reactivo. En los segmentos del DNA que se ubican entre los nucleosomas se encuentran proteínas que se unen al DNA en ciertas secuencias específicas. Ellas regulan la expresión (actividad) de los genes (véase pág. 204). (Figuras tomadas de Alberts et al., 1994.)

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., et al.: *Molecular Biology of the Cell*. 3rd ed. Garland Publishing, New York, 1994.
- Kornberg, R.D., Lorch, Y.: Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. *Cell* 98:285-294, 1999.
- Lewin, B.: *Genes VII*. Oxford Univ. Press, Oxford, 2000.
- Lodish, H. et al.: *Molecular Cell Biology (with an animated CD-ROM)*. 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
- Luger, K., et al.: Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389:251-260, 1997.
- Thoma, F., Koller, Th., Klung, A.: Involvement of histone H1 in the organization of the nucleosome and of the salt dependent superstructures of chromatin. *J. Cell Biol.* 83:403-427, 1979.
- Watson, J.D., et al.: *Molecular Biology of the Gene*. 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



El DNA en los cromosomas

En los organismos eucariontes el DNA está contenido en los cromosomas. Éstos están formados por DNA y sus proteínas estrechamente asociadas, que son proteínas histonas y no histonas, en cantidades aproximadamente iguales. La cromatina del núcleo celular está compuesta por cromosomas en interfase. Los cromosomas son visibles como estructuras individuales sólo durante la mitosis. El genoma haploide de los seres humanos contiene 3×10^9 pares de bases en 22 autosomas y dos cromosomas sexuales (X e Y).

A. El DNA en los cromosomas en metafase

Un gen es una secuencia nucleotídica que sirve como unidad funcional para la formación de una molécula de RNA complementario (unidad de transcripción). Un cromosoma presenta una sola molécula de DNA muy larga, que contiene una serie de genes. Está plegado y enrollado en una forma compleja. El ordenamiento espacial está asegurado por los nucleosomas.

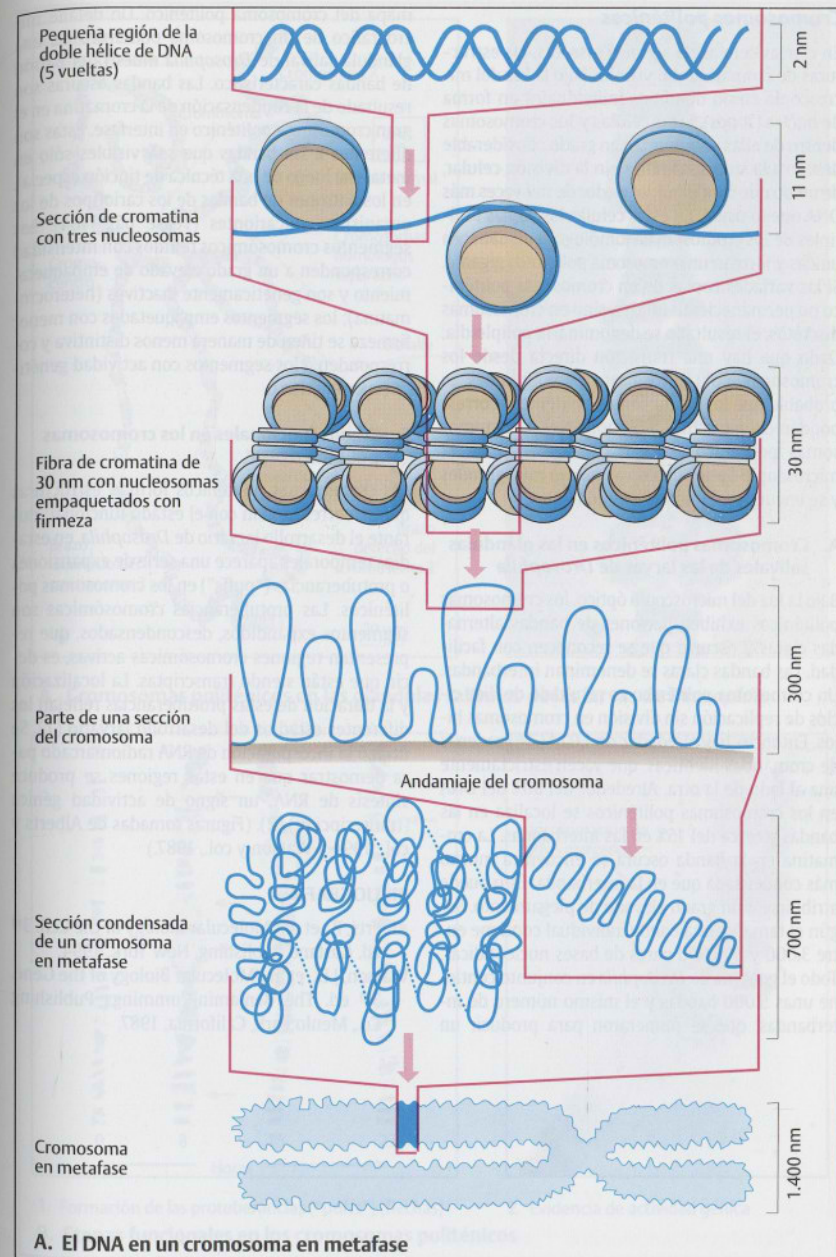
En las células eucariontes, el DNA está estrechamente asociado con las histonas para formar las estructuras características, los nucleosomas. Además, hay cientos de proteínas de unión al DNA en secuencias específicas, que reconocen segmentos cortos del DNA. Su unión es importante para la regulación de la actividad génica (expresión génica, pág. 204).

El DNA cromosómico está plegado y empaquetado en una forma eficiente. De manera esquemática, pueden diferenciarse varios niveles de empaque-

tamiento del DNA en un cromosoma en metafase. La figura muestra (en la parte superior) un segmento de DNA doble cadena de una parte de un segmento de cromatina. El segmento de cromatina presenta varios nucleosomas conectados por los denominados conectores (*linkers*) de DNA. El plegamiento de un segmento de cromatina produce una fibra de cromatina de 30 nm de diámetro, visible en el microscopio electrónico. Esta fibra presenta una serie de nucleosomas empaquetados con firmeza. Ellos a su vez forman una parte de un segmento cromosómico de alrededor de 300 nm de diámetro en el estado extendido. Un nivel de empaquetamiento ulterior está representado por un segmento engrosado del cromosoma en metafase. Éste se denomina segmento cromosómico condensado. Éste segmento corresponde sólo a una pequeña parte de una cromátida de un cromosoma en metafase. Como se describe en la página 182, cada cromosoma en metafase presenta dos cromátidas (cromátidas hermanas); una de ellas es resultado de la replicación del DNA en la fase S. En la cromatina de los cromosomas en mitosis no se produce la transcripción. La síntesis del RNA se interrumpe cuando se establece la condensación del cromosoma (figura de Alberts y col., 1989).

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., et al.: *Molecular Biology of the Cell*. 3rd ed. Garland Publishing, New York, 1994.
 Tyler-Smith, C., Willard, H.F.: *Mammalian chromosome structure*. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 3:390-397, 1993.



A. El DNA en un cromosoma en metafase

Cromosomas politénicos

En ciertas células de algunos insectos, las estructuras de cromatina son visibles bajo la luz del microscopio como dominios individuales en forma de bucles (*loops*). Estas células y los cromosomas dentro de ellas se agrandan en grado considerable debido a la síntesis de DNA sin la división celular, de modo que contienen alrededor de mil veces más DNA que lo usual. En estas células las copias múltiples de los cromosomas homólogos permanecen unidas y forman un cromosoma politénico gigante. Si las variadas copias de un cromosoma politénico no permanecieran unidas, sino en cromosomas discretos, el resultado se denominaría poliploidía. Dado que hay una transición directa desde los cromosomas politénicos hasta los poliploides, es probable que los cromosomas politénicos correspondan en estructura a los normales. Los cromosomas politénicos se ven con facilidad en el microscopio óptico debido a que son muy grandes y se encuentran uno muy junto a otro.

A. Cromosomas politénicos en las glándulas salivales de las larvas de *Drosophila*

Bajo la luz del microscopio óptico, los cromosomas politénicos exhiben patrones de bandas alternadas claras y oscuras que se reconocen con facilidad. Las bandas claras se denominan interbandas. Un cromosoma politénico es resultado de diez ciclos de replicación sin división en cromosomas hijos. Entonces hay alrededor de $1.024 (2^{10})$ cadenas de cromátidas idénticas, que yacen estrictamente una al lado de la otra. Alrededor del 80% del DNA en los cromosomas politénicos se localiza en las bandas y cerca del 15% en las interbandas. La cromatina en la banda oscura se encuentra mucho más condensada que en la interbanda. Esto puede atribuirse a un grado elevado de plegamiento. Según el tamaño, una banda individual contiene entre 3.000 y 300.000 pares de bases nucleotídicas. Todo el genoma de *Drosophila* en conjunto contiene unas 5.000 bandas y el mismo número de interbandas, que se numeraron para producir un

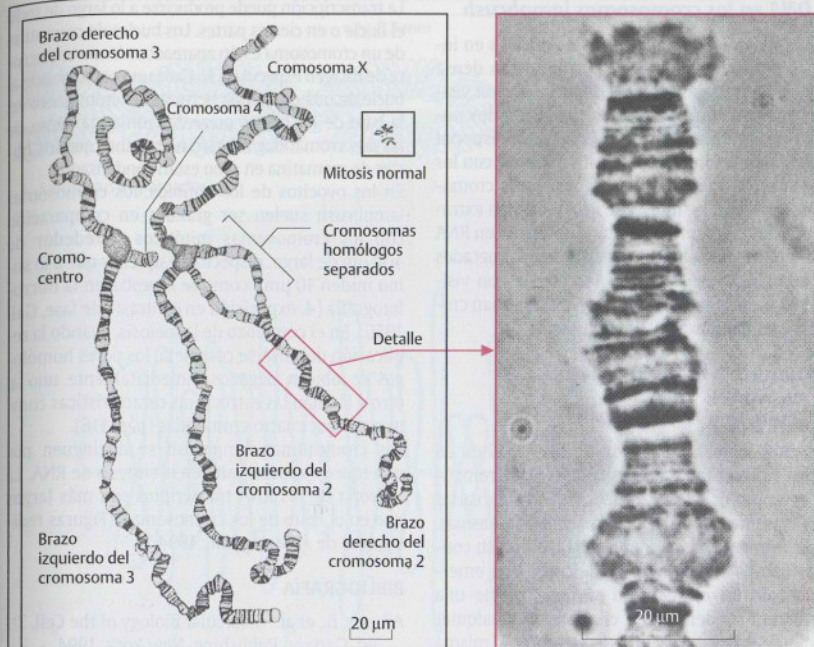
mapa del cromosoma politénico. Un detalle micrográfico de un cromosoma politénico de una glándula salival de *Drosophila* muestra el patrón de bandas característico. Las bandas oscuras son resultado de la condensación de la cromatina en el gran cromosoma politénico en interfase. Éstas son diferentes a las bandas que son visibles sólo en metafase, luego de una técnica de tinción especial, en los patrones de bandas de los cariotipos de los organismos eucariontes (véase pág. 184). Los segmentos cromosómicos teñidos con intensidad corresponden a un grado elevado de empaquetamiento y son genéticamente inactivos (heterocromatina); los segmentos empaquetados con menor firmeza se tiñen de manera menos distintiva y corresponden a los segmentos con actividad genética (eucromatina).

B. Etapas funcionales en los cromosomas politénicos

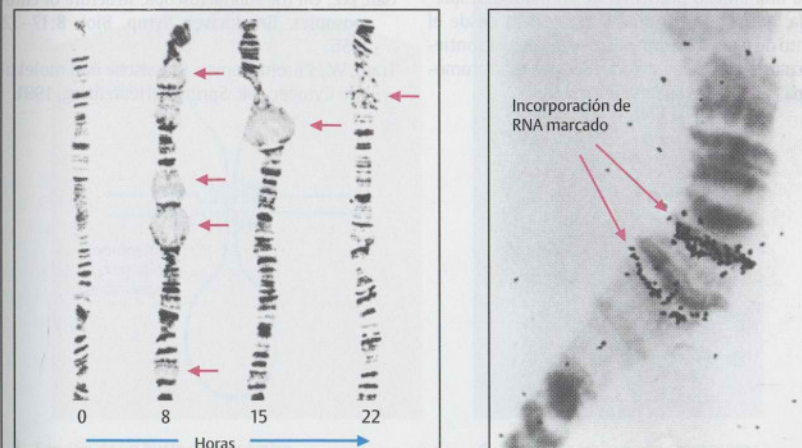
Los cromosomas politénicos forman estructuras que se correlacionan con el estado funcional: durante el desarrollo larvario de *Drosophila*, en estadios temporales aparece una serie de expansiones o protuberancias ("puffs") en los cromosomas politénicos. Las protuberancias cromosómicas son segmentos expandidos, descondensados, que representan regiones cromosómicas activas, es decir, que están siendo transcritas. La localización y la duración de estas protuberancias reflejan los diferentes estadios del desarrollo larvario (1). Se utilizó la incorporación de RNA radiomarcado para demostrar que en estas regiones se produce síntesis de RNA, un signo de actividad génica (transcripción) (2). (Figuras tomadas de Alberts y col., 1994 y Watson y col., 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., et al.: *Molecular Biology of the Cell*. 3rd ed. Garland Publishing, New York, 1994.
 Watson, J.D., et al.: *Molecular Biology of the Gene*. 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



A. Cromosomas politénicos en las glándulas salivales de las larvas de *Drosophila*



1. Formación de las protuberancias ("puffs") (flechas)
2. Evidencia de actividad génica

B. Etapas funcionales en los cromosomas politénicos

El DNA en los cromosomas lampbrush

Por lo general, la cromatina de los núcleos en interfase está empaquetada de manera tan densa que las hebras simples de cromatina no son visibles en forma directa. Una excepción son los núcleos en interfase de ciertas células, en especial en los ovocitos inmaduros de los anfibios, con los cromosomas meióticos apareados. Estos cromosomas exhiben la síntesis de RNA y forman extraños bucles de cromatina. Están cubiertos con RNA recientemente transcrito y están empaquetados en complejos densos de RNA-proteína. Son visibles bajo microscopio óptico y se denominan cromosomas lampbrush ("limpiatubos").

A. Estructura de los cromosomas en ovocitos de anfibios (cromosomas lampbrush)

Los cromosomas apareados de los ovocitos en meiosis presentan numerosos bucles de cromatina organizados a lo largo de un eje (1). En varias localizaciones es visible la formación de quiasmas. Cada segmento de un cromosoma lampbrush consiste de una serie de bucles de cromatina emergentes de un eje (2). Allí se hace visible una estructura condensada, el cromómero. Cualquier bucle de cromatina contiene siempre la misma secuencia de DNA y se forma de la misma manera a medida que el ovocito crece. Cada uno corresponde a una unidad particular de cromatina desplegada, que se desentramó y está activa desde el punto de vista transcripcional. Cada célula contiene cuatro copias de un bucle, dos por cada cromosoma (estructura cuatricatenaria).

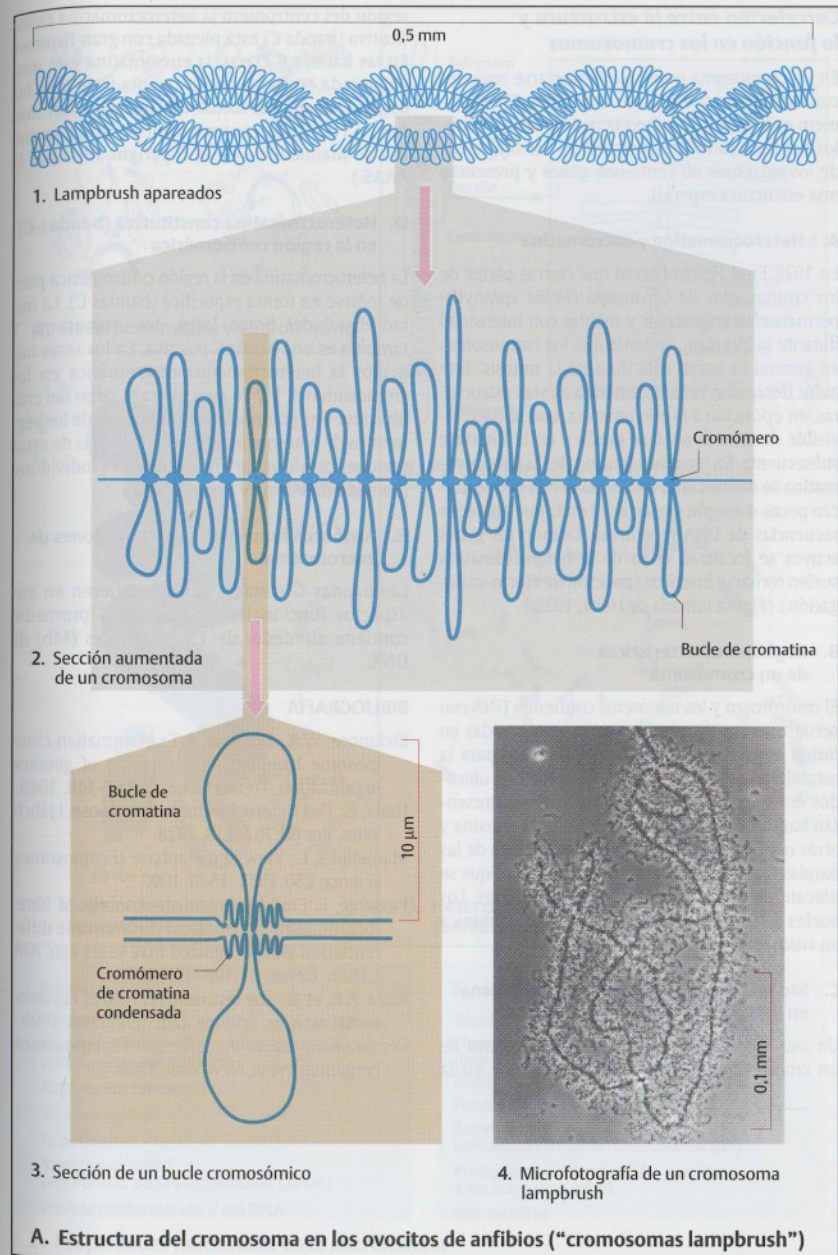
La transcripción puede producirse a lo largo de todo el bucle o en ciertas partes. Los bucles de cromatina de un cromosoma están apareados en una estructura de imagen especular (3). Cada uno corresponde al bucle de una cromátida hermana. El cromómero en la base de los bucles presenta cromatina densa de las dos cromátidas hermanas, en tanto que los bucles de cromatina en sí no están condensados.

En los ovocitos de los anfibios, los cromosomas lampbrush suelen ser grandes en comparación con los cromosomas mitóticos (alrededor de 400 μm de largo, respecto de aquéllos que a lo sumo miden 10 μm), como se muestra en la microfotografía (4, exposición en contraste de fase, Gall 1956). En el comienzo de la meiosis, cuando la replicación del DNA se completa, los pares homólogos se ubican pegados inmediatamente uno al otro y forman las estructuras características compuestas por cuatro cromátidas (pág. 116).

Los cromosomas lampbrush se distinguen por una tasa en especial alta en la síntesis de RNA. La mayoría de los RNA transcritos son más largos que en el resto de los cromosomas. (Figuras reducidas de Alberts y col., 1994.)

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., et al.: *Molecular Biology of the Cell*. 3rd ed. Garland Publishing, New York, 1994.
 Callan, H.G.: Lampbrush chromosomes. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 214:417-448, 1982.
 Gall, J.G.: On the submicroscopic structure of chromosomes. *Brookhaven Symp. Biol.* 8:17-32, 1956.
 Traut, W.: *Chromosomen, Klassische und molekulare Cytogenetik*. Springer, Heidelberg, 1991.



Correlación entre la estructura y la función en los cromosomas

En un cromosoma pueden diferenciarse regiones con estructuras y funciones especiales. El centrómero es el punto de adherencia de los microtúbulos del huso mitótico (cinetocoro). Los telómeros de los extremos no contienen genes y presentan una estructura especial.

A. Heterocromatina y eucromatina

En 1928 Emil Heitz observó que ciertas partes de los cromosomas de un musgo (*Pellia epiphylla*) permanecían engrosadas y teñidas con intensidad durante la interfase, en tanto que los cromosomas en general lo hacen sólo durante la mitosis. Este autor denominó heterocromatina a estas estructuras, en oposición a la eucromatina, que se hace invisible durante la telofase tardía y en la interfase subsecuente. En términos funcionales la heterocromatina se define como una región en la que se ubican pocos o ningún gen activo y en la que aparecen secuencias de DNA repetitivas. Cuando los genes activos se localizan cerca de la heterocromatina suelen tornarse inactivos (posición de efecto-variegación). (Figura tomada de Heitz, 1928.)

B. Regiones características de un cromosoma

El centrómero y los telómeros contienen DNA con secuencias repetitivas, que están conservadas en forma evolutiva porque son importantes para la estabilidad del cromosoma. Los segmentos ubicados entre los telómeros y el centrómero presentan bandas G, unas claras sensibles a la tripsina y otras oscuras resistentes a ella. En las áreas de las bandas G claras el DNA forma bucles en los que se ubican los genes codificadores de proteínas. Los bucles de DNA están unidos a una matriz proteica en sitios especiales de adherencia.

C. Modelo de un segmento de cromosoma en interfase

Un modelo tridimensional de un segmento de un cromosoma en interfase muestra que en la

región del centrómero la heterocromatina constitutiva (banda C) está plegada con gran firmeza. En las bandas G claras, la eucromatina está empaquetada en forma relativamente laxa, y en las oscuras, de alguna forma está plegada con más fuerza. (Con gentil autorización del autor, tomadas de Manuelidis, 1990, copyright 1990 por la AAAS.)

D. Heterocromatina constitutiva (bandas-C) en la región centromérica

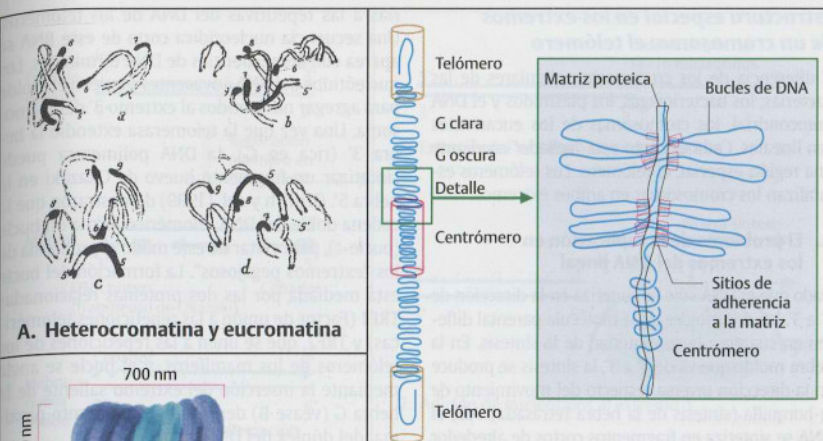
La heterocromatina en la región centromérica puede teñirse en forma específica (bandas C). La mitad distal del brazo largo del cromosoma Y también es una banda C positiva. En los seres humanos la heterocromatina centromérica en los cromosomas 1, 9 y 16 y en el brazo largo del cromosoma Y es polimorfa. Las longitudes de los segmentos de heterocromatina en una o más de estas regiones puede variar entre diferentes individuos. (Tomado de Verma y Babu, 1989.)

E. Atributos funcionales de las regiones de eucromatina

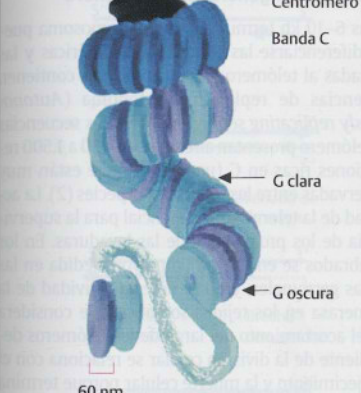
Las bandas G claras y oscuras difieren en sus aspectos funcionales. Una banda G promedio contiene alrededor de 1,5 megabases (Mb) de DNA.

BIBLIOGRAFÍA

Bickmore, W.A., Summer, A.T.: Mammalian chromosome banding: an expression of genome organization, *Trends Genet.* 5:144-148, 1989.
 Heitz, E.: Das Heterochromatin der Moose. *J. Jahrb. Wiss. Bot.* 69:762-818, 1928.
 Manuelidis, L.: View of metaphase chromosomes. *Science* 250:1533-1540, 1990.
 Passarge, E.: Emil Heitz and the concept of heterochromatin: Longitudinal chromosome differentiation was recognized fifty years ago. *Am. J. Hum. Genet.* 31:106-155, 1979.
 Pluta, A.F., et al: The centromere: Hub of chromosomal activities. *Science* 270:1591-1594, 1995.
 Verma, A.S., Babu, A.: *Human Chromosomes*. Pergamon Press, New York, 1989.

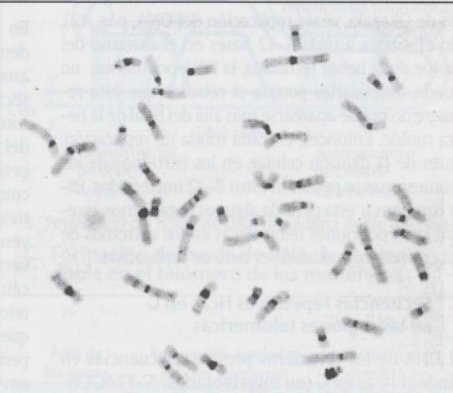


A. Heterocromatina y eucromatina



C. Modelo de un segmento cromosómico en interfase

B. Partes especiales de un cromosoma



D. Heterocromatina constitutiva (bandas C) en los centrómeros

Bandas G claras	Bandas G oscuras
Ricas en GC	Ricas en AT
Fluorescentes con fluorocromos específicos para G, p. ej., olivomicina	Fluorescentes con fluorocromos específicos para AT, p. ej., quinacrina
Replicación temprana	Replicación tardía
Ricas en genes	Pobres en genes
Repeticiones Alu	Repeticiones LINE (secuencias de DNA repetitivas largas)
Repeticiones SINE (secuencias de DNA repetitivas cortas)	Proteínas no histonas HMG-1 unidas a las áreas ricas en AT
Posible conformación Z del DNA	Minisatélites

E. Propiedades funcionales en la eucromatina

Estructura especial en los extremos de un cromosoma: el telómero

A diferencia de los cromosomas circulares de las bacterias, los bacteriófagos, los plásmidos y el DNA mitocondrial, los cromosomas de los eucariontes son lineales. Cada extremo está "sellado" mediante una región especial, el telómero. Los telómeros estabilizan los cromosomas en ambos extremos.

A. El problema de la replicación en los extremos del DNA lineal

Dado que el DNA sólo se sintetiza en la dirección de 5' a 3', los dos moldes de la molécula parental difieren en cuanto a la continuidad de la síntesis. En la hebra molde que va de 5' a 3', la síntesis se produce en la dirección inversa respecto del movimiento de la horquilla (síntesis de la hebra retrasada). Allí, el DNA se sintetiza en fragmentos cortos de alrededor de 1.000-2.000 nucleótidos de largo en las bacterias, y unos 200 nucleótidos en los eucariontes (fragmentos de Okazaki, véase replicación del DNA, pág. 42). Sin embargo, a unas 8-12 bases en el extremo del molde de la hebra retrasada, la DNA polimerasa no puede sintetizarla porque el cebador que ésta requiere no puede aparearse más allá del final de la hebra molde. Entonces, en cada ronda de replicación, antes de la división celular, en los extremos de los cromosomas se perderán estos 8-12 nucleótidos. Para compensar esta pérdida algunos organismos agregan las repeticiones teloméricas en los extremos de los cromosomas durante el ciclo de replicación.

B. Secuencias repetitivas ricas en G en las regiones teloméricas

El DNA de los telómeros presenta secuencias en tándem ricas en G (en invertibrados: 5'-TTAGGG-3'; en levaduras: 5'-TGTGGG-3'; en protozoos: 5'TTGGGG-3'). Los extremos salientes de las hebras G son importantes para la protección de los telómeros mediante la formación de un bucle de DNA de cadena doble (dúplex) (véase C).

C. Actividad de la telomerasa y estabilización mediante un bucle

El telómero posee dos características: la actividad de la telomerasa para compensar la pérdida de nucleótidos en los extremos del cromosoma durante la replicación, y la formación de un bucle de DNA telomérico para estabilizar los extremos del cromosoma. La telomerasa es una transcriptasa inversa modificada, compuesta por una proteína y alrededor de 450 nucleótidos de RNA. Cerca del extremo 5' del RNA hay secuencias complementa-

rias a las repetitivas del DNA de los telómeros. Una secuencia nucleotídica corta de este RNA se aparea con las secuencias de DNA terminales. Los nucleótidos del RNA adyacentes proveen el molde para agregar nucleótidos al extremo 3' del cromosoma. Una vez que la telomerasa extendió la hebra 3' (rica en G), la DNA polimerasa puede sintetizar un fragmento nuevo de Okazaki en la hebra 5'. Griffith y col. (1999) demostraron que la cadena doble del DNA telomérico forma un bucle (bucle-t), para evitar de este modo el problema de los "extremos pegajosos". La formación del bucle está mediada por las dos proteínas relacionadas TRF1 (Factor de unión a las repeticiones teloméricas) y TRF2, que se unen a las repeticiones de los telómeros de los mamíferos, y el bucle se ancla mediante la inserción del extremo saliente de la hebra G (véase B) dentro de un segmento proximal del dúplex del DNA telomérico.

D. Estructura general de un telómero

En las 6-10 kb terminales de un cromosoma pueden diferenciarse las secuencias teloméricas y las asociadas al telómero (1). Estas últimas contienen secuencias de replicación autónoma (*Autonomously replicating sequences, ARS*). Las secuencias del telómero presentan alrededor de 250 a 1.500 repeticiones ricas en G (unos 9 kb), que están muy conservadas entre las diferentes especies (2). La actividad de la telomerasa es esencial para la supervivencia de los protozoos y de las levaduras. En los vertebrados se encuentra en mayor medida en las células germinales, y no se detecta actividad de la telomerasa en los tejidos somáticos. Se considera que el acortamiento del largo de los telómeros depende de la división celular se relaciona con el envejecimiento y la muerte celular porque termina por conducir a la pérdida del DNA funcional. A diferencia de las células normales, muchos tumores presentan actividad de la telomerasa.

BIBLIOGRAFÍA

Blackburn, E.H.: Telomere states and cell fate. *Nature* 408:53-56, 2000.
 Buys, C.H.C.M.: Telomeres, telomerase, and cancer. *New Eng. J. Med.* 342:1282-1283, 2000.
 Griffith, J.D., et al.: Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell* 97:503-514, 1999.
 Hodes, R.J.: Telomere length, aging, and somatic cell turnover. *J. Exp. Med.* 190:153-156, 1999.
 Lewin, B.: *Genes VII*. Oxford Univ. Press, Oxford, 2000.
 Shay, J.W.: At the end of the millenium, a view of the end. *Nature Genet.* 23:382-383, 1999.

1. Extremo del telómero de cadena simple

2. Adición de nucleótidos al extremo 3'

3. Formación del bucle de DNA de cadena doble (bucle-t)

C. Formación del bucle de DNA de cadena doble en el telómero de los mamíferos

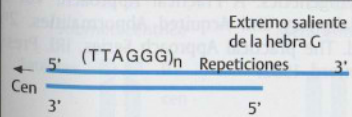
Área de los genes	Secuencias asociadas con los telómeros	Secuencias teloméricas (TTAGGG) _n
Cen	ARS ARS	n=250-1500

2. Ejemplos de repeticiones teloméricas

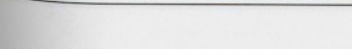
Protozoos	5'- TTGGGG - 3' p. ej., los microcromosomas de <i>Tetrahymena</i>
Levaduras	5'- TGTGGGG - 3' p. ej. <i>Saccharomyces</i>
Vertebrados	5'- TTAGGG - 3'
General	5'-(T/A) ₁₋₄ (G) ₁₋₈ -3' (el telómero a la derecha)

D. Estructura general de un telómero

A. El problema de la replicación en los extremos del DNA lineal



B. El DNA telomérico posee secuencias repetitivas ricas en G en el extremo 3'



Cromosomas en metafase

Los cromosomas se ven como estructuras separadas sólo durante la mitosis. En la interfase no pueden diferenciarse dentro de la cromatina. En los cromosomas en metafase, el empaquetamiento del DNA es alrededor de 10.000 veces más denso que en la interfase. Los estudios de los cromosomas en metafase realizados mediante microscopio electrónico permitieron cierta introspección dentro de la estructura cromosómica.

A. Un cromosoma libre de histonas bajo el microscopio electrónico

Cuando ciertas proteínas, en especial las histonas, se retiran de los cromosomas, el esqueleto cromosómico se torna visible bajo el microscopio electrónico (1). Esa estructura está rodeada por numerosas hebras teñidas de oscuro. Un mayor aumento (2) muestra que ésta es una sola hebra continua. Esto corresponde a la doble hélice del DNA. (Fotografías de Paulson y Laemmli, 1977.)

B. La apariencia microscópica de los cromosomas en metafase en el hombre

La observación con un microscopio óptico de alrededor de mil aumentos permite reconocer con facilidad otros cromosomas humanos y de otros vertebrados como estructuras individuales en forma de bastones. Aquí se muestran cromosomas en metafase con de alrededor de 2.800 aumentos. Los cromosomas difieren unos de otros en la longitud, el tamaño y el ordenamiento de sus bandas transversales oscuras y claras (patrón de bandas), así como en el punto de fijación del huso (centrómero), que se reconoce como una constricción. En la prometafase los cromosomas son más largos que en la metafase y muestran más bandas. Es por eso que para ciertos propósitos los cromosomas también se estudian en prometafase.

C. Tipos de cromosomas en metafase

Según la ubicación de su centrómero (punto de fijación del huso durante la mitosis), un cromosoma puede distinguirse como submetacéntrico, metacéntrico, acrocéntrico o telocéntrico. El centrómero divide a un cromosoma submetacéntrico en un brazo corto (brazo p) y un brazo largo (q).

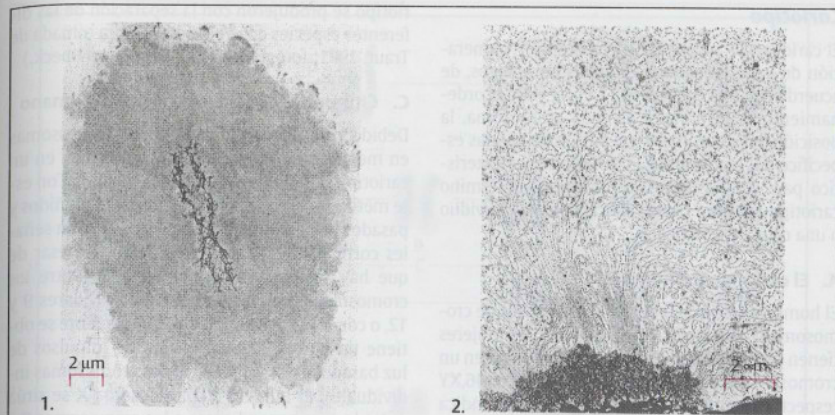
En los cromosomas metacéntricos, el brazo corto y el largo tienen casi la misma longitud. Al final del brazo corto los cromosomas acrocéntricos muestran un apéndice denso llamado satélite (que no debe confundirse con el DNA satélite). El tamaño del satélite difiere para cada cromosoma acrocéntrico en un individuo (polimorfismo cromosómico). Los cromosomas telocéntricos no tienen el brazo corto ni el satélite. Ninguno de los cromosomas del ser humano es telocéntrico, en tanto que en el ratón doméstico, *Mus musculus*, todos los cromosomas son telocéntricos. De todas formas es debatible si los cromosomas telocéntricos en realidad existen como son definidos.

D. Aberraciones estructurales simples

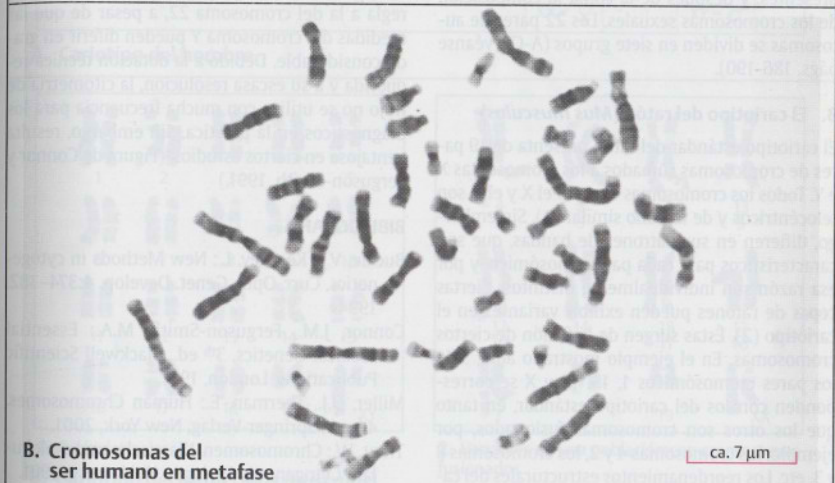
Una desviación estructural relevante desde el punto de vista funcional se denomina aberración estructural. Esto debe diferenciarse del polimorfismo cromosómico. Pueden aparecer pérdidas (delecciones) o repeticiones (duplicaciones) de un segmento en particular. Una delección puede presentarse al final de un cromosoma (delección terminal) o dentro de un segmento de él (delección intersticial). El requisito previo para una delección terminal es un corte; y para una intersticial son dos cortes. Un segmento que está repetido se denomina duplicación. En los cromosomas en metafase una aberración se observa en ambas cromátidas porque como regla general ésta se presenta antes de la fase S. Las duplicaciones y las delecciones representan aberraciones opuestas, y en algunos aspectos complementarias, de la estructura cromosómica (pág. 404).

BIBLIOGRAFÍA

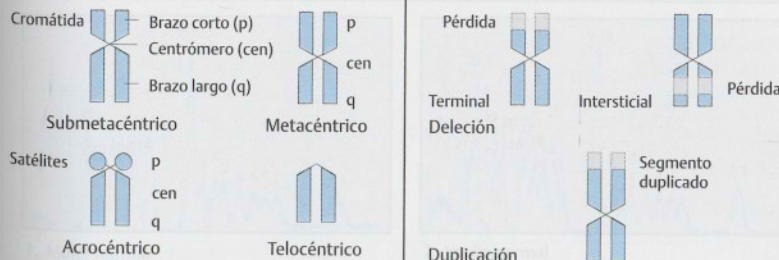
- Paulson, J.R., Laemmli, U.K.: The structure of histone-depleted metaphase chromosomes. *Cell* 12:817-828, 1977.
- Rooney, D.E., Czepulkowski, B.H., eds.: *Human Cytogenetics. A Practical Approach. Vol I. Constitutional Analysis.* 2nd ed. The practical Approach Series. IRL Press, Oxford, 1992.
- Rooney, D.E., Czepulkowski, B.H., eds.: *Human Cytogenetics. A Practical Approach. Vol II. Malignancy and Acquired Abnormalities.* 2nd ed. The practical Approach Series. IRL Press, Oxford, 1992.



A. Cromosoma libre de histonas en el microscopio electrónico



B. Cromosomas del ser humano en metafase



C. Tipos de cromosomas en metafase

D. Tipos simples de aberraciones estructurales

Cariotipo

El cariotipo se refiere al ordenamiento y numeración de los cromosomas en pares homólogos, de acuerdo con una convención. La base para el ordenamiento es el tamaño de cada cromosoma, la posición del centrómero y el patrón de bandas específico del cromosoma. El cariotipo es característico para cada especie. Sin embargo, el término cariotipo también puede aplicarse a un individuo o una célula en particular.

A. El cariotipo del hombre

El hombre (*Homo sapiens*) posee 22 pares de cromosomas (autosomas), y en adición, las mujeres tienen dos cromosomas X y los varones poseen un cromosoma X y otro Y (cariotipo 46,XX o 46,XY respectivamente). La fórmula del cariotipo indica antes de la coma el número total de cromosomas presentes, y después de la coma la composición de los cromosomas sexuales. Los 22 pares de autosomas se dividen en siete grupos (A-G) (véanse págs. 186-190).

B. El cariotipo del ratón (*Mus musculus*)

El cariotipo estándar del ratón presenta de 19 pares de cromosomas sumados a los cromosomas X e Y. Todos los cromosomas excepto el X y el Y, son telocéntricos y de tamaño similar (1). Sin embargo, difieren en sus patrones de bandas, que son característicos para cada par cromosómico, y por esa razón son individualmente distintos. Ciertas cepas de ratones pueden exhibir variantes en el cariotipo (2). Éstas surgen de la fusión de ciertos cromosomas. En el ejemplo mostrado aquí, sólo los pares cromosómicos 1, 15, 19 y X se corresponden con los del cariotipo estándar, en tanto que los otros son cromosomas fusionados, por ejemplo, los cromosomas 4 y 2, los cromosomas 8 y 7, etc. Los reordenamientos estructurales del ca-

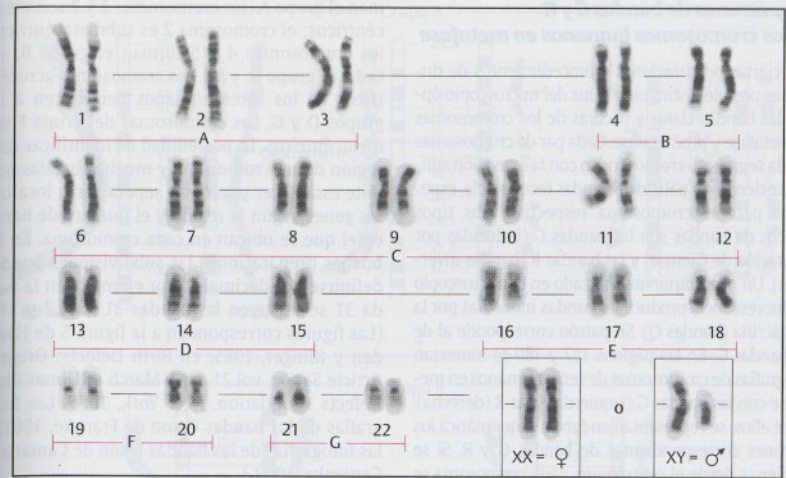
riotipo se produjeron con la separación de las diferentes especies en evolución. (Figura tomada de Traut, 1991; fotografías de H. Winking, Lübeck.)

C. Citometría de flujo del cariotipo humano

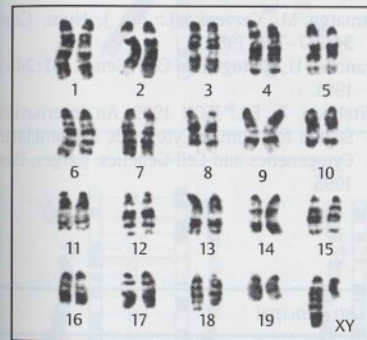
Debido a sus diferentes tamaños, los cromosomas en metafase también pueden presentarse en un cariotipo basado en la citometría de flujo. Con este método los cromosomas individuales, teñidos y pasados por una fuente de luz láser, emiten señales correspondientes a sus tamaños. A pesar de que hay solapamientos, por ejemplo, entre los cromosomas humanos de tamaños similares 9 y 12, o con los cromosomas 1 y 2, igualmente se obtiene un patrón de distribución de impulsos de luz basado en los tamaños de los cromosomas individuales. El tamaño del cromosoma X se sitúa entre los correspondientes a los cromosomas 8 y 7; la medida del cromosoma Y corresponde como regla a la del cromosoma 22, a pesar de que las medidas del cromosoma Y pueden diferir en grado considerable. Debido a la dotación técnica requerida y a su escasa resolución, la citometría de flujo no se utiliza con mucha frecuencia para los diagnósticos en la práctica. Sin embargo, resulta ventajosa en ciertos estudios. (Figura de Connor y Ferguson-Smith, 1991.)

BIBLIOGRAFÍA

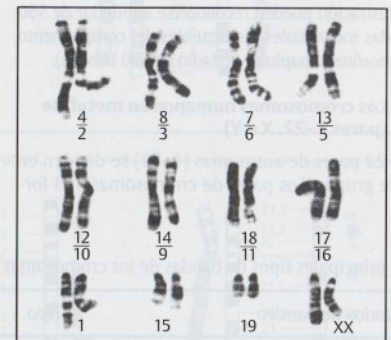
- Buckle, V.J., Kearney, L.: New Methods in cytogenetics. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 4:374-382, 1994.
- Connor, J.M., Ferguson-Smith, M.A.: *Essential Medical Genetics*, 3th ed., Blackwell Scientific Publications, London, 1991.
- Miller, O.J., Therman, E.: *Human Chromosomes*, 4th ed., Springer-Verlag, New York, 2001.
- Traut, W.: *Chromosomen. Klassische und molekulare Cytogenetik*. Springer, Heidelberg, 1991.



A. Cariotipo del hombre

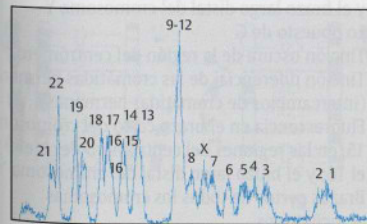


1. Estándar

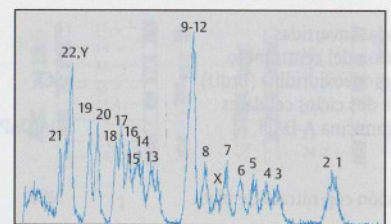


2. Variantes en una población con cromosomas fusionados

B. Cariotipo del ratón (*Mus musculus*)



1. Mujer normal



2. Varón normal

C. Cariotipo por citometría de flujo

Los patrones de bandas G y R de los cromosomas humanos en metafase

Con ciertas preparaciones y procedimientos de tinción es posible distinguir a la luz del microscopio óptico las bandas claras y oscuras de los cromosomas en metafase y prometáfase. Cada par de cromosomas y cada segmento cromosómico con la extensión suficiente tienen un patrón de bandas reconocible, específico para el cromosoma respectivo. Los tipos básicos de bandas son las bandas G (inducidas por coloración de Giemsa) y las bandas R (bandas invertidas). Un procedimiento utilizado en el microscopio de fluorescencia produce las bandas inducidas por la quinacrina (bandas Q). Su patrón corresponde al de las bandas G. En las páginas 187 y 189 se muestran fotografías de cromosomas de seres humanos en metafase con las bandas G (izquierda) y las R (derecha). Entre ellos, se representan en forma esquemática los patrones correspondientes de bandas G y R. Si se comienza desde el centrómero, cada cromosoma se divide en regiones y bandas definidas. Sólo se muestra el sistema de numeración de las bandas G. En esta ilustración pueden reconocerse alrededor de 550 bandas individuales distinguibles del complemento cromosómico haploide (estadio de 550 bandas).

A. Los cromosomas humanos en metafase (pares 1–22, X e Y)

Los 22 pares de autosomas (1–22) se dividen en siete grupos. Los pares de cromosomas 1–3 for-

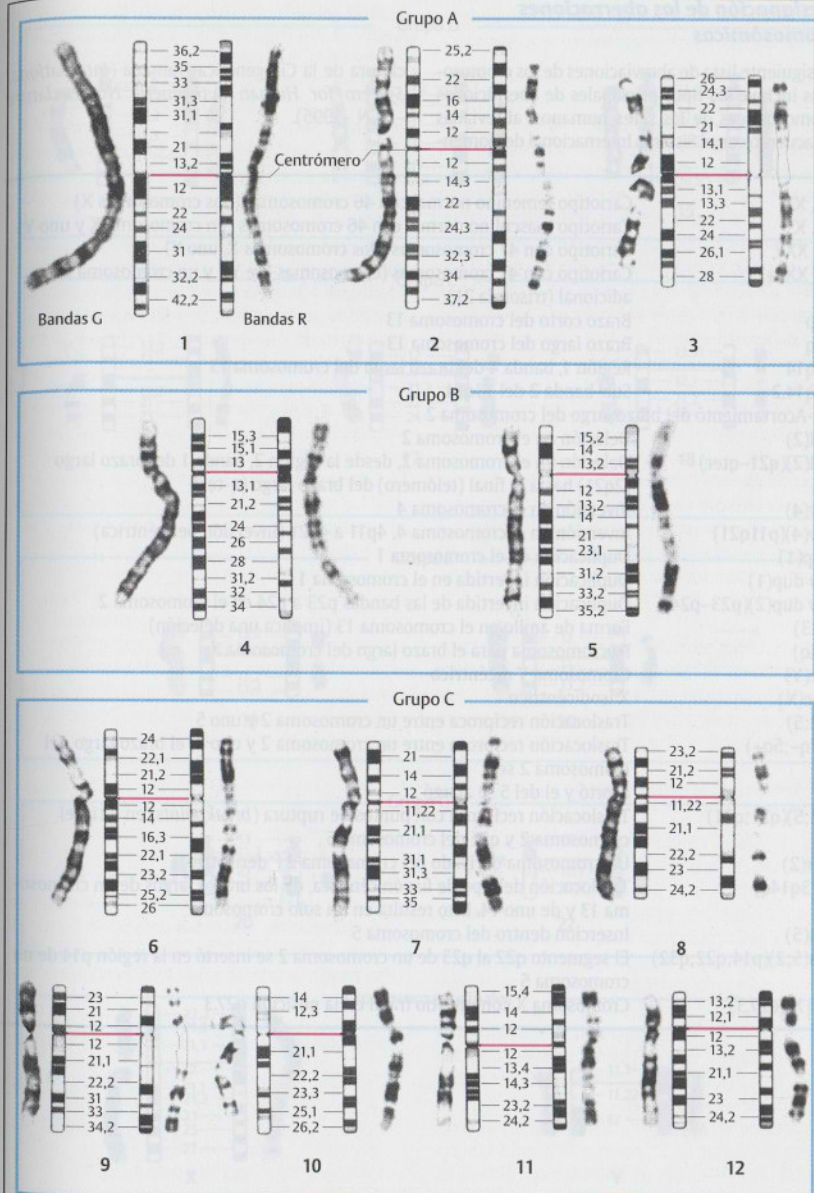
man el grupo A (los cromosomas 1 y 3 son metacéntricos; el cromosoma 2 es submetacéntrico); los cromosomas 4 y 5 forman el grupo B; los 6–12, el grupo C; y así. Los cromosomas acrocéntricos en los seres humanos pertenecen a los grupos D y G. Los cromosomas del grupo F son metacéntricos. La posibilidad de identificar cada región de un cromosoma y muchas bandas permite establecer puntos de separación y localizar los genes según la región y el número de banda en el que se ubican en cada cromosoma. En las buenas preparaciones las subdivisiones pueden definirse por decimales. Por ejemplo, en la banda 31 se incluyen las bandas 31,1; 31,2 y 31,3. (Las figuras corresponden a la figura 5 de Harnaden y Klingler, 1985, en Birth Defects: Original Article Series, vol.21, no.1, March of Dimes Birth Defects Foundation, New York, 1985. Las fotografías de las bandas G son de Francke, 1981; y las fotografías de las bandas R son de Camargo y Cervenka, 1982.)

BIBLIOGRAFÍA

- Camargo M., Cervenka J.: *Am J. Hum. Genet.* 34:757–780, 1982.
 Francke, U., *Cytogenet. Cell Genet.* 31:24–32, 1981.
 Mitelman, F., Ed.: *ISCN 1995, An International System for Human Cytogenetic Nomenclature.* Cytogenetics and Cell Genetics, Karger, Basel, 1995.

Los principales tipos de bandas de los cromosomas

Métodos de bandeado	Tipo	Uso principal
Tinción de Giemsa inducida por tripsina	6	Diferencia las bandas claras y oscuras
Fluorocromo específico de AT (quinacrina, Hoescht 3325B)	Q	Fluorescencia en la región de las bandas G oscuras, en algunas regiones del centrómero, y el brazo largo distal del cromosoma Y
Bandas invertidas	R	Lo opuesto de G
Tinción del centrómero	C	Tinción oscura de la región del centrómero
Bromodeoxiuridina (BrdU)	SCE	Tinción diferencial de las cromátidas hermanas (intercambios de cromátidas hermanas)
Distamicina A-DAPI	DA/DAPI	Fluorescencia en el brazo corto del cromosoma 15, en las regiones del centrómero del 1, el 9 y el 16; y el brazo largo distal del cromosoma Y
Tinción con nitrato de plata	NOR	Brazos cortos de todos los cromosomas acrocéntricos
Giemesa 11	G11	Centrómero del cromosoma 11



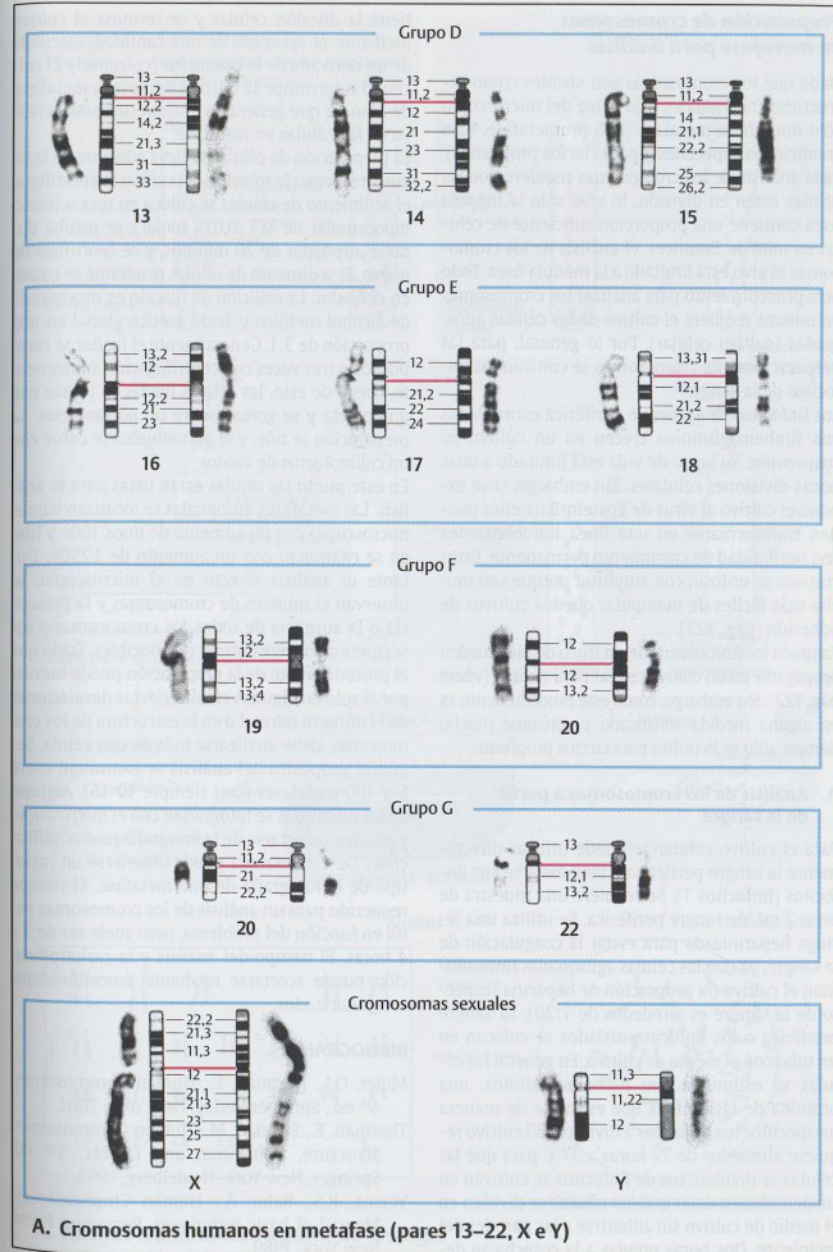
A. Cromosomas humanos en metafase (pares 1–12)

Designación de las aberraciones cromosómicas

La siguiente lista de abreviaciones de los cromosomas incluye los tipos principales de aberraciones cromosómicas de los seres humanos, abreviadas de acuerdo con el Sistema Internacional de Nomen-

clatura de la Citogenética Humana (*International System for Human Cytogenetic Nomenclature* -ISCN -1995).

46, XX	Cariotipo femenino normal con 46 cromosomas (dos cromosomas X)
46, XY	Cariotipo masculino normal con 46 cromosomas (un cromosoma X y uno Y)
47, XXY	Cariotipo con 47 cromosomas (dos cromosomas X, uno Y)
47, XX, +21	Cariotipo con 47 cromosomas (cromosomas X e Y); y un cromosoma 21 adicional (trisomía 21).
13p	Brazo corto del cromosoma 13
13q	Brazo largo del cromosoma 13
13q14	Región 1, banda 4 del brazo largo del cromosoma 13
13q14.2	Sub-banda 2 del 13q14
2q-Acortamiento del brazo largo del cromosoma 2	
del(2)	Deleción en el cromosoma 2
del(2)(q21-qter)	Deleción en el cromosoma 2, desde la región 2, banda 1 del brazo largo (2q21) hasta el final (telómero) del brazo largo (q-ter)
inv(4)	Inversión en el cromosoma 4
inv(4)(p11q21)	Inversión en el cromosoma 4, 4p11 a 4q21 (inversión pericéntrica)
dup(1)	Duplicación en el cromosoma 1
inv dup(1)	Duplicación invertida en el cromosoma 1
inv dup(2)(p23-p24)	Duplicación invertida de las bandas p23 a p24 en el cromosoma 2
r(13)	Forma de anillo en el cromosoma 13 (implica una deleción)
i(Xq)	Isocromosoma para el brazo largo del cromosoma X
dic(Y)	Cromosoma Y dicéntrico
idic(X)	X isodicéntrico
t(2;5)	Traslocación recíproca entre un cromosoma 2 y uno 5
t(2q-;5q+)	Traslocación recíproca entre un cromosoma 2 y uno 5; el brazo largo del cromosoma 2 se acortó y el del 5 se alargó
t(2;5)(q21;q31)	Traslocación recíproca con puntos de ruptura (<i>breakpoints</i>) en q21 del cromosoma 2 y q31 del cromosoma 5
der(2)	Un cromosoma derivado del cromosoma 2 ("derivativo")
t(13q14q)	Traslocación del tipo de fusión céntrica, de los brazos largos de un cromosoma 13 y de uno 14. Esto resulta en un solo cromosoma
ins(5)	Inserción dentro del cromosoma 5
ins(5;2)(p14;q22;q32)	El segmento q22 al q23 de un cromosoma 2 se insertó en la región p14 de un cromosoma 5
fra(X)(q27.3)	Cromosoma X con un sitio frágil en la posición q27.3



A. Cromosomas humanos en metafase (pares 13-22, X e Y)

Preparación de cromosomas en metafase para análisis

Dado que los cromosomas son visibles como estructuras individuales bajo la luz del microscopio sólo durante la metafase (o la prometáfase, bajo condiciones especiales y para ciertos propósitos), cada análisis de los cromosomas requiere que las células estén en división. In vivo sólo la médula ósea contiene una proporción suficiente de células en mitosis. Entonces, el análisis de los cromosomas in vivo está limitado a la médula ósea. Todo otro procedimiento para analizar los cromosomas en mitosis requiere el cultivo de las células apropiadas (cultivo celular). Por lo general, para las preparaciones de cromosomas se cultivan los linfocitos de la sangre.

Los linfocitos de la sangre periférica estimulados con fitohemaglutinina crecen en un cultivo en suspensión. Su lapso de vida está limitado a unas pocas divisiones celulares. Sin embargo, si se expone el cultivo al virus de Epstein-Barr ellos pueden transformarse en una línea linfoblastoide con posibilidad de crecimiento permanente. Estos cultivos se utilizan con amplitud porque son mucho más fáciles de manipular que los cultivos de adhesión (pág. 122).

También los fibroblastos de un trozo de piel pueden propagarse en un cultivo celular para análisis (véase pág. 122). Sin embargo, como este procedimiento es en alguna medida sofisticado y consume mucho tiempo, sólo se lo utiliza para ciertos propósitos.

A. Análisis de los cromosomas a partir de la sangre

Para el cultivo celular se puede utilizar directamente la sangre periférica o bien aislarse sus linfocitos (linfocitos T). Se requiere una muestra de unos 2 mL de sangre periférica. Se utiliza una jeringa heparinizada para evitar la coagulación de la sangre, ya que las células aglutinadas imposibilitan el cultivo (la proporción de heparina respecto de la sangre es alrededor de 1:20). La sangre periférica o los linfocitos aislados se colocan en un tubo con el medio de cultivo. En general las células se estimulan con fitohemaglutinina, una proteína de las plantas que estimula de manera inespecífica los linfocitos a dividirse. El cultivo requiere alrededor de 72 horas a 37°C para que las células se dividan. Los de linfocitos se cultivan en suspensión; es decir que las células se dividen en el medio de cultivo sin adherirse a las paredes del recipiente. Dos horas previas a la cosecha se de-

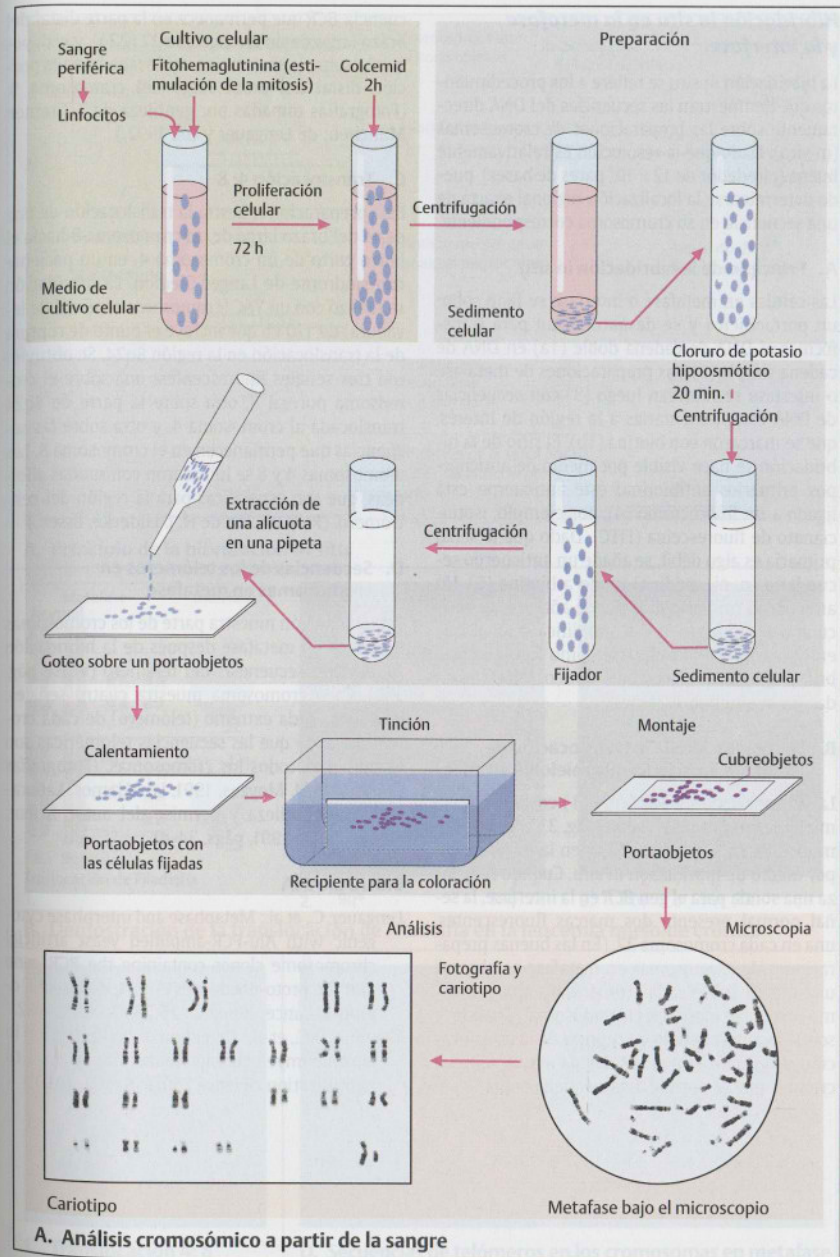
tiene la división celular y se termina el cultivo mediante el agregado de una cantidad adecuada de un derivado de la colchicina (colcemid). El colcemid interrumpe la mitosis durante la metafase, de manera que genera un enriquecimiento relativo de las células en metafase.

La preparación de células se lleva adelante de la siguiente forma: la solución del cultivo se centrifuga; el sedimento de células se coloca en una solución hiposmolar de KCl (0,075 molar), se incuba durante alrededor de 20 minutos, y se centrifuga de nuevo. El sedimento de células resultante se coloca en el fijador. La solución de fijación es una mezcla de alcohol metílico y ácido acético glacial en una proporción de 3:1. Generalmente el fijador se cambia dos o tres veces con centrifugación subsecuente. Luego de esto, las células fijadas se toman con una pipeta y se gotean sobre un portaobjetos. La preparación se tiñe, y el portaobjetos se cubre con un cubreobjetos de vidrio.

En este punto las células están listas para el análisis. Las metafases apropiadas se localizan bajo el microscopio con un aumento de unos 100× y luego se examinan con un aumento de 1.250×. Durante el análisis directo en el microscopio, se observan el número de cromosomas y la presencia o la ausencia de todos los cromosomas y los segmentos cromosómicos reconocibles. Dado que el procedimiento de la preparación puede inducir por sí solo en algunas células ciertas desviaciones en el número normal o en la estructura de los cromosomas, debe analizarse más de una célula. Según el propósito del análisis se examinan entre 5 y 100 metafases (casi siempre 10-15). Algunas de las metafases se fotografían con el microscopio y pueden recortarse de la fotografía (cariotipificación). De esta manera puede obtenerse un cariotipo de la fotografía de una metafase. El tiempo requerido para un análisis de los cromosomas varía en función del problema, pero suele ser de 3 a 4 horas. El tiempo del análisis y la cariotipificación puede acortarse mediante procedimientos computarizados.

BIBLIOGRAFÍA

- Miller, O.J., Therman, E.: *Human Chromosomes*. 4th ed., Springer-Verlag, New York, 2001.
 Therman, E., Susman, M.: *Human Chromosomes. Structure, Behaviour, and Effects*. 3rd ed. Springer, New York-Heidelberg, 1993.
 Verma, R.S., Babu, A.: *Human Chromosomes. Manual of basic techniques*. Pergamon Press, New York, 1989.



A. Análisis cromosómico a partir de la sangre

Hibridación in situ en la metafase y la interfase

La hibridación in situ se refiere a los procedimientos que demuestran las secuencias del DNA directamente sobre las preparaciones de cromosomas (in situ). Dado que la resolución es relativamente buena (alrededor de 12×10^7 pares de bases), puede determinarse la localización regional exacta de una secuencia en su cromosoma correspondiente.

A. Principio de la hibridación in situ

Las células en metafase o interfase se fijan sobre un portaobjetos y se desnaturalizan para transformar el DNA de cadena doble (1a) en DNA de cadena simple (2). Las preparaciones de metafase o interfase se hibridan luego (3) con secuencias de DNA complementarias a la región de interés, que se marcaron con biotina (1b). El sitio de la hibridación se hace visible por medio de anticuerpos primarios antibiotina; este anticuerpo está ligado a un fluorocromo (4), por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína (FITC). Dado que la señal primaria es algo débil, se añade un anticuerpo secundario (p. ej., avidina) unido a biotina (5). Un anticuerpo primario más puede añadirse al anticuerpo secundario (6). Esto amplifica la señal, que entonces puede visualizarse como fluorescencia brillante bajo el microscopio óptico. (FISH, hibridación in situ fluorescente.)

B. Demostración de la translocación de Filadelfia en la leucemia mieloide crónica

La translocación de Filadelfia (1) en la leucemia mieloide crónica (LMC, véase pág. 332) puede demostrarse en la metafase (2) y en la interfase (3) por medio de hibridación in situ. Cuando se utiliza una sonda para el gen *BCR* en la interfase, la señal normal presenta dos marcas fluorescentes, una en cada cromosoma 22. (En las buenas preparaciones de cromosomas en metafase se observa una marca sobre cada cromátida y aparece como una doble marca en el cromosoma.) Cuando la sonda incluye al punto de ruptura de la translocación, se visualizan tres señales: la mayor sobre el cromosoma 22 normal, una pequeña sobre la se-

cuencia *BCR* que permanece en la parte distal del brazo largo de un cromosoma 22 (22q), y otra pequeña sobre la secuencia translocada hacia la porción distal del brazo largo del cromosoma 9. (Fotografías tomadas por gentileza de T. Cremer, München; de Lengauer y col. 1992.)

C. Translocación 4; 8

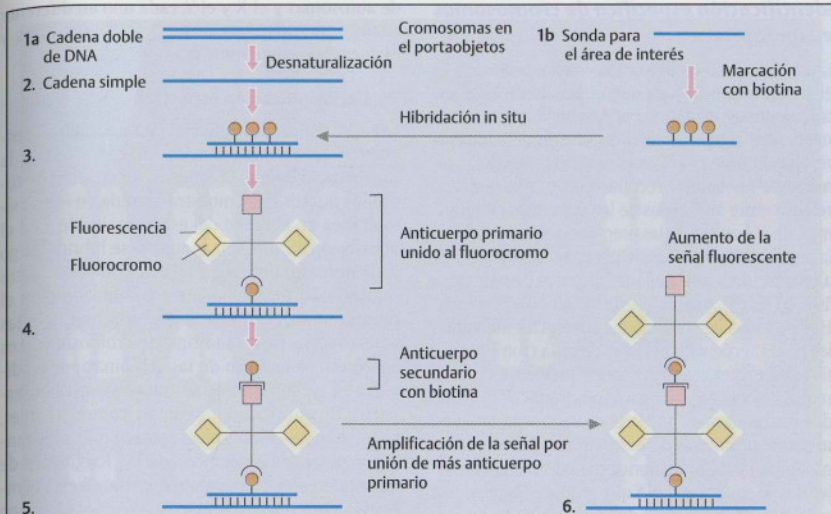
Esta preparación muestra la translocación de una parte del brazo largo de un cromosoma 8 hacia el brazo corto de un cromosoma 4, en un paciente con síndrome de Langer-Giedion. La hibridación se realizó con un YAC (cromosoma artificial de levadura) de 170 kb que incluye el punto de ruptura de la translocación en la región 8q24. Se obtuvieron tres señales fluorescentes: una sobre el cromosoma normal 8, otra sobre la parte de 8q24 translocada al cromosoma 4, y otra sobre las secuencias que permanecen en el cromosoma 8. Los cromosomas 4 y 8 se hibridaron con sondas alfoideas, que son específicas para la región del centrómero. (Preparación de H. J. Lüdecke, Essen.)

D. Secuencias de los telómeros en cromosomas en metafase

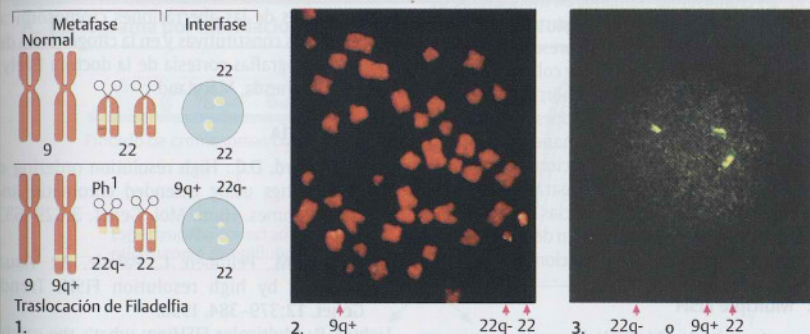
Esta ilustración muestra parte de los cromosomas humanos en metafase después de la hibridación *in situ* con secuencias del telómero (véase pág. 180). Cada cromosoma muestra cuatro señales, una sobre cada extremo (telómero) de cada cromátida, dado que las secuencias teloméricas son iguales para todos los cromosomas. (Fotografías por Robert M. Moyzes, 1991, Los Alamos, Laboratory, por gentileza y permiso del autor, Scient. Amer. Agosto 1991, págs. 34-41.)

BIBLIOGRAFÍA

- Lengauer, C., et al.: Metaphase and interphase cytogenetic with Alu-PCR-amplified yeast artificial chromosome clones containing the *BCR* gene and the proto-oncogenes *c-raf-1*, *c-fms*, and *c-erbB-2*. *Cancer Research* 25:2590-2596, 1992.
- Tkachuk, D.C., et al.: Detection of *bcr-abl* fusion in chronic myelogenous leukemia by in situ hybridization. *Science* 250:559-562, 1990.



A. Principio de la hibridación in situ



B. Demostración de la translocación de Filadelfia en la leucemia mieloide crónica



C. Translocación 4; 8

D. Secuencias de telómeros en los cromosomas en metafase

Identificación específica de cromosomas en metafase

La identificación inequívoca de cada cromosoma es el requisito previo para definir las alteraciones estructurales asociadas con el desequilibrio cromosómico. Mediante el análisis del patrón de bandas la resolución cromosómica es limitada, debido al tamaño de las bandas reconocibles y a la similitud relativa entre las bandas de los diferentes cromosomas. En el bandeado de las preparaciones en metafase la región más pequeña que puede reconocerse es de alrededor de 5 a 10 millones de pares de bases (5 a 10 Mb). Este segmento puede incluir 10 a 50 genes. Hay métodos que utilizan las diferencias individuales en las secuencias del DNA de cada cromosoma y técnicas especiales para inducir imágenes de diferentes colores en cada par cromosómico ("pintado de los cromosomas"). El DNA de los cromosomas en metafase primero se desnaturaliza (se hace de cadena simple) y luego se hibrida in situ, en un portaobjetos, con sondas de DNA que producen una amplia colección de fragmentos de DNA a partir de un solo cromosoma en particular. Se hibrida con sondas para los 24 cromosomas humanos en metafase. Se demostró que hay dos métodos en particular útiles: la múltiple hibridación in situ fluorescente (M-FISH, de sus siglas en inglés; Speicher y col., 1996) y la cariotipificación espectral (SKY, Schörck y col., 1996). Hay otros métodos y modificaciones; por ejemplo, el uso de DNA extendido de manera artificial o fibras de cromatina. En hibridaciones comparativas del genoma (HCG) se comparan las diferencias cuantitativas en las secuencias alélicas de los cromosomas homólogos, con el fin de detectar deleciones, duplicaciones o amplificaciones.

A. Múltiple FISH

Con este método (M-FISH) los cromosomas en metafase se hibridan con grupos de sondas de DNA específicas para cada cromosoma, cada una de las cuales se marca con una combinación propia de colorantes fluorescentes de unión al DNA. Para cada tipo de cromosoma se construye un código de barras multicolor específico, con diferentes clones de YAC (cromosomas artificiales de levaduras) que contienen las sondas de DNA que se aplicarán. Sólo se necesitan cinco fluoróforos para el análisis de las imágenes por microscopía de epifluorescencia, mediante una cámara asociada a un dispositivo de carga (CCD, charge-coupled device) para generar una imagen compuesta de cada cromosoma en unseudocolor visualizado con el software apropiado. El cariotipo generado de esta manera está compuesto por los 22 pares

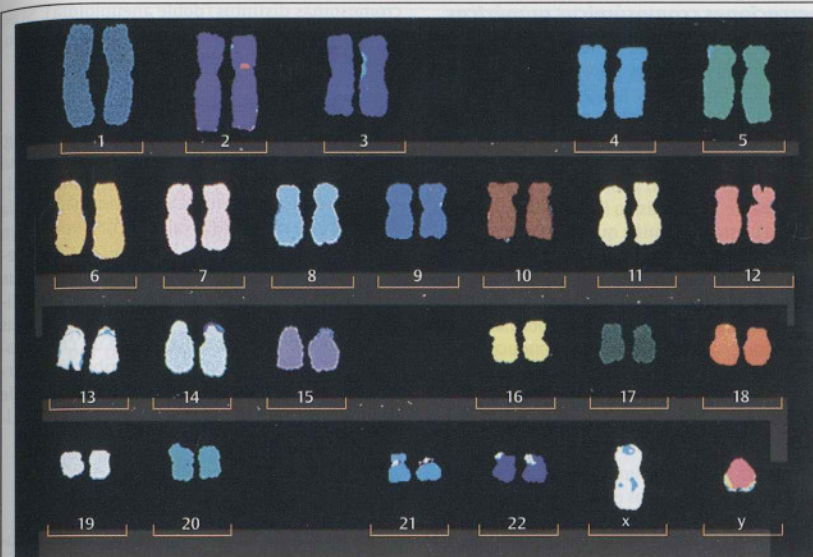
de autosomas y el X y el Y, cada uno en diferente color. (Fotografía cortesía de Dres. Sabine Uhrig y Michael Speicher, München.)

B. Cariotipificación espectral

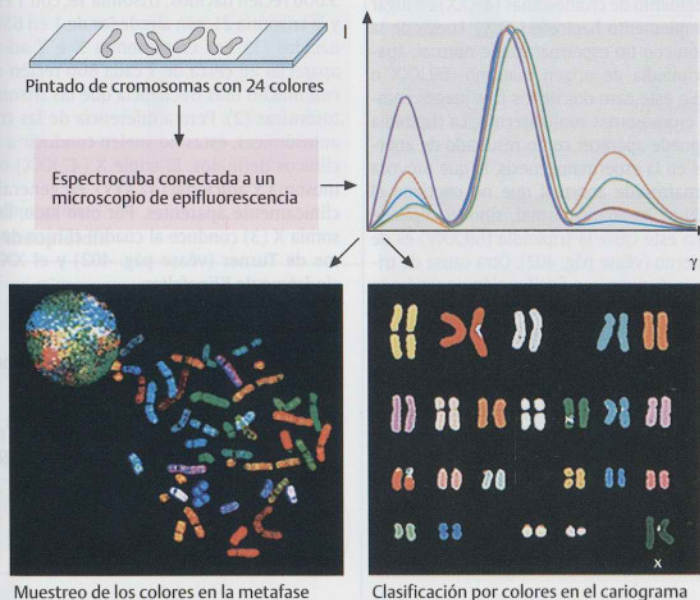
La cariotipificación espectral (SKY) combina la espectroscopía de Fourier, las imágenes CCD y la microscopía óptica. El espectro de emisión de todos los puntos en la muestra se mide en forma simultánea en el rango del espectro visible y en el infrarrojo cercano. Una metafase se hibrida luego de la desnaturalización del DNA, con veinticuatro sondas marcadas de manera combinada para el pintado de los cromosomas; cada una de ellas es específica para cada tipo de cromosoma. Los espectros de emisión de las combinaciones individuales de fluoróforos se transforman a un espectro de emisión de diferentes colores visibles, se asignan los colores azul, verde, y rojo a los rangos espectrales específicos de las longitudes de onda fluorescente. El cariotipo espectral está compuesto por un falso color específico por cada tipo de cromosoma. La cariotipificación espectral tiene un amplio rango de aplicaciones diagnósticas en el análisis de las aberraciones cromosómicas estructurales constitutivas y en la citogenética del cáncer. (Fotografías cortesía de la doctora Evelyn Schröck, Bethesda, Maryland.)

BIBLIOGRAFÍA

- Haaf, T., Ward, D.C.: High resolution ordering of YAC contigs using extended chromatin and chromosomes. *Hum. Mol. Genet.* 3:629-633, 1994.
- Heiskanen, M., Peltonen, L., Palotie, A.: Visual mapping by high resolution FISH. *Trends Genet.* 12:379-384, 1996.
- Lichter, P.: Multicolor FISHing: what's the catch? *Trends Genet.* 13:475-479, 1997.
- Ried, T., et al.: Chromosome painting: a useful art. *Hum. Mol. Genet.* 7:1619-1626, 1998.
- Schröck, E., et al.: Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science* 273:494-497, 1996.
- Speicher, M.R., Ballard, S.G., Ward, D.C.: Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nature Genet.* 12:368-375, 1996.
- Strachan, T., Read, A.P.: *Human molecular Genetics*. 2nd ed. Bios Scientific. Publishers, Oxford, 1999.
- Urig, S., et al.: Multiplex-FISH for pre- and postnatal diagnostic application. *Am. J. Hum. Genet.* 65:448-462, 1999.



A. Cariograma por hibridación in situ fluorescente multicolor



B. Cariotipificación espectral

Aberraciones cromosómicas numéricas

La desviación en el número normal de cromosomas en un solo par de cromosomas se define como aneuploidía. En los seres humanos, las aberraciones cromosómicas numéricas aparecen en alrededor de 1 de cada 400 recién nacidos. Una alteración en el número de cromosomas es resultado de su distribución anormal (falta de disyunción) durante la meiosis I o II (falta de disyunción meiótica). Esto determina que la aberración aparezca en todas las células del organismo resultante. La falta de disyunción en meiosis I puede diferenciarse de la que se produce en meiosis II (véase pág. 116). La distribución anormal de los cromosomas durante la mitosis conduce a una aberración sólo en una proporción de las células (mosaicismo cromosómico).

A. Triploidia

La triploidia se refiere a una desviación del número normal de cromosomas en la que cada cromosoma está presente por triplicado en lugar de duplicado. En la tetraploidia se presentan cuatro copias de cada cromosoma. La triploidia se presenta cuando se forma un ovocito anormal, con un doble complemento de cromosomas (46,XX) en lugar de un complemento haploide (23,X). Luego de la fertilización con un espermatozoide normal, aparece la triploidia de origen materno (69,XXX o 69,XXY). En este caso dos de los tres juegos completos de cromosomas son maternos. La triploidia también puede aparecer como resultado de anomalías en la espermatogénesis, lo que provoca un espermatozoide anormal que no contiene el complemento haploide normal, sino el diploide (46,XY). En este caso, la triploidia (69,XXY) es de origen paterno (véase pág. 402). Otra causa de triploidia es la dispermia, o fertilización de un óvulo normal por dos espermatozoides normales.

B. Aneuploidia

En una trisomía (1) sólo uno de los cromosomas está presente por triplicado; todos los demás pares cromosómicos son normales. Rara vez se presentan dos trisomías diferentes, para dos

cromosomas distintos (doble aneuploidía). Si se pierde un cromosoma de un par cromosómico, esto se define como monosomía (2).

C. Origen de la trisomía y la monosomía

El resultado de la meiosis normal (véase pág. 116), que presenta dos divisiones celulares (aquí no se muestra), es un complemento cromosómico haploide con una distribución normal. Con la distribución anormal (la falta de disyunción en la meiosis I o en la meiosis II), se forma un gameto con un cromosoma adicional, entretanto que el otro pierde un cromosoma. Luego de la fertilización, el cigoto respectivo contendrá tres copias de un cromosoma (trisomía) o sólo un cromosoma de un par (monosomía). La distribución anormal se produce durante la ovogénesis (falta de disyunción materna) o la espermatogénesis (falta de disyunción paterna).

D. Anormalidades en el número de cromosomas en seres humanos

En los seres humanos las siguientes trisomías autosómicas pueden aparecer en los niños nacidos vivos: trisomía 13 con una frecuencia de 1 en 5.000 recién nacidos; trisomía 18, con 1 en 3.000, y la trisomía 21, con alrededor de 1 en 650 recién nacidos (1). Los cromosomas X e Y adicionales aparecen en cerca de 1 cada 800 recién nacidos, con mucho más frecuencia que las trisomías autosómicas (2). Pero a diferencia de las trisomías autosómicas, éstas no suelen conducir a cuadros clínicos definidos. El triple X (47,XXX) o el cromosoma Y adicional (47,XYY) en general no son clínicamente aparentes. Por otro lado, la monosomía X (3) conduce al cuadro clínico de síndrome de Turner (véase pág. 402) y el XXY causa síndrome de Klinefelter.

BIBLIOGRAFÍA

Therman, E., Susman, M.: Human Chromosomes. Structure, Behaviour, and Effects. 3rd ed. Springer, Heidelberg, 1993.
 Traut, W.: Chromosomen. Klassische und molekulare Genetik. Springer, Heidelberg, 1991.

A. Triploidia (todos los cromosomas por triplicado)

Origen de la triploidia

Ovocito anormal 46,XX	+ Espermatozoide normal 23,X o 23,Y	Ovocito normal 23,X	+ Espermatozoide anormal 46,XY
↓		↓	
69,XXX o 69,XXY		69,XXY	
Origen materno		Origen paterno	

B. Aneuploidia

1. Trisomías autosómicas

	Trisomía 13 1:5.000
	Trisomía 18 1:3.000
	Trisomía 21 1:650

2. Cromosomas X o Y adicionales

XXX	1:800
XXY	1:800
XYY	1:800

3. Monosomía X 1:3.000

C. Origen de la trisomía y la monosomía

D. Aberraciones numéricas aparecidas en niños nacidos vivos

Translocación

La translocación se refiere a un intercambio de segmentos de los cromosomas. Puede aparecer por la fusión céntrica de dos cromosomas acrocéntricos (translocación robertsoniana) o por el intercambio entre dos cromosomas (translocación recíproca). Mediante la fusión céntrica se involucran dos cromosomas completos; con translocación recíproca sólo se intercambia una parte de cada uno de los cromosomas. En una translocación es importante determinar los puntos de quiebre en cada cromosoma involucrado.

A. Fusión céntrica de cromosomas acrocéntricos

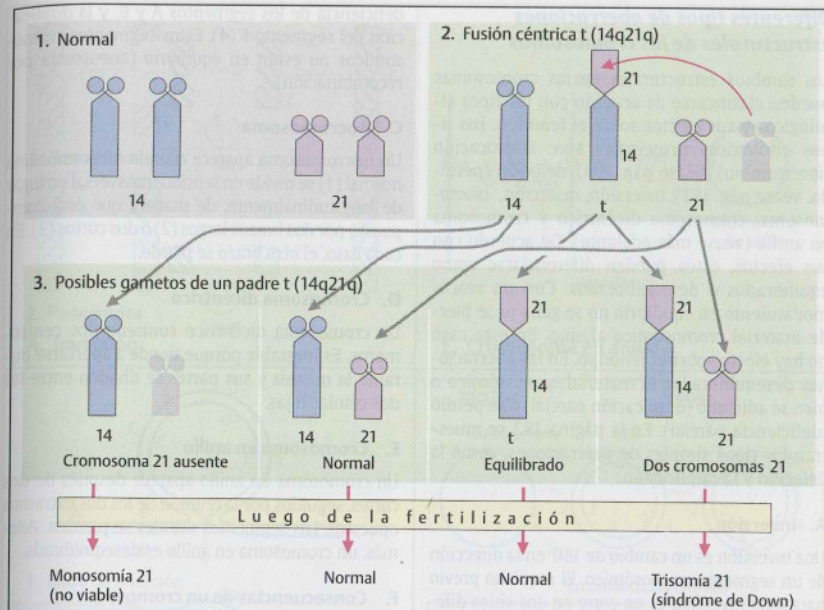
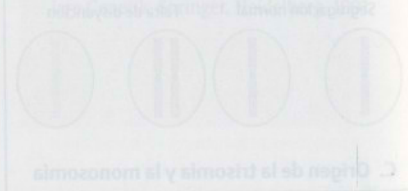
Los cromosomas 14 y 21 (1) son los que se involucran con mayor frecuencia en fusiones (en alrededor de 1 de cada 1.000 de los recién nacidos). Por la fusión del brazo largo del cromosoma 21 (21q) y el brazo largo del cromosoma 14 (14q) se forma un cromosoma t (14q21q) (2). Se pierden los brazos cortos portadores de satélites de ambos cromosomas, pero esto resulta insignificante. Cuando se forman las células germinales (gametos) pueden provocar la desviación del número normal de cromosomas (3). Dado que los cromosomas 14 y 21 se aparean durante la meiosis, pueden presentarse los siguientes gametos: sólo el cromosoma 14 (sin el cromosoma 21), un cromosoma 14 y un cromosoma 21 (normal), el cromosoma 14 fusionado al cromosoma 21 (equilibrado), o el cromosoma fusionado más un cromosoma 21 (lo cual, en conjunto, genera dos cromosomas 21).

Después de la fertilización, los cigotos correspondientes contienen: sólo un cromosoma 21 (monosomía 21, inviable), un complemento cromosómico normal, un complemento cromosómico equilibrado con el cromosoma fusionado, o tres cromosomas 21 (trisomía 21). En este último caso se produce el trastorno clínico del síndrome de Down (antes denominado mongolismo) (véase pág. 400).

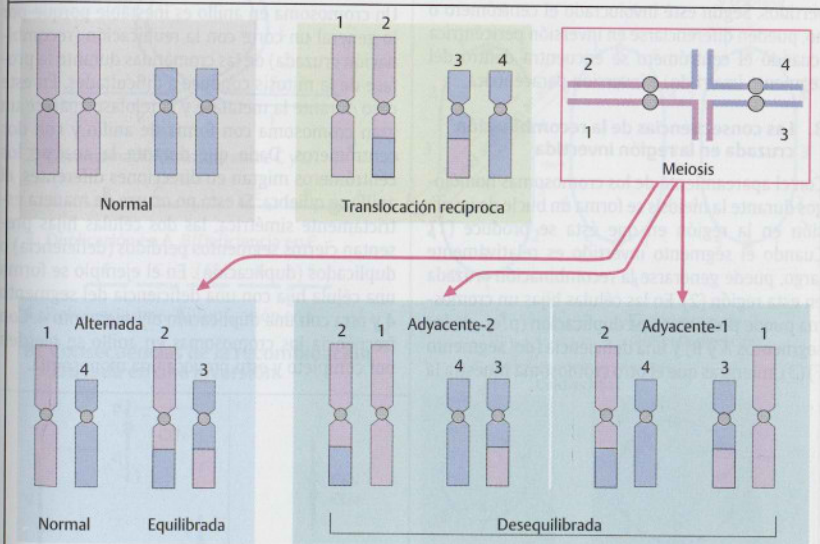
B. Translocación recíproca

Una translocación recíproca es un intercambio de material cromosómico entre dos cromosomas. Dado que por lo general con la translocación recíproca no se pierde ni se agrega material cromosómico, ésta no causa signos clínicos (es decir que está en equilibrio).

De todos modos los portadores de translocaciones recíprocas pueden formar gametos con complementos cromosómicos desequilibrados. Durante la meiosis los cromosomas involucrados en la translocación recíproca toman parte, como siempre, en el apareamiento de los homólogos de la meiosis I. Cada uno de los cromosomas no involucrados en la translocación se aparea con su homólogo que sí lo está. Esto conduce a la formación de una configuración cuadrirradial característica con los cromosomas involucrados. Cuando estos cuatro cromosomas se separan (segregación) durante la anafase de la meiosis (véase pág. 116), puede producirse una de tres posibilidades: Con la segregación alternada, un gameto recibe los dos cromosomas normales y la otra los cromosomas involucrados en la translocación, es decir que está en equilibrio. Con la segregación no alternada (cromosomas vecinos o adyacentes), los dos cromosomas de la izquierda van hacia un gameto y los dos cromosomas de la derecha van hacia el otro (adyacente-2). Con la otra posibilidad, los cromosomas de la parte superior van hacia un gameto, y los de la parte inferior hacia el otro (adyacente-1). En cada uno de estos dos últimos casos se produce una distribución desequilibrada de los segmentos de los cromosomas involucrados. Por ejemplo, después de una segregación de tipo adyacente-2, los gametos reciben una duplicación parcial del segmento cromosómico marcado con rojo y una deficiencia parcial del segmento cromosómico marcado con azul (par de cromosomas de la izquierda) o una duplicación parcial del segmento azul y una deficiencia parcial del segmento rojo (duplicación/deficiencia). Los diferentes tipos de trastornos resultantes dependen de los segmentos cromosómicos involucrados.



A. Fusión céntrica de los cromosomas acrocéntricos



B. Translocación recíproca

D. Cromosoma dicéntrico E. Consecuencias del cromosoma en aneuploidía

Diferentes tipos de aberraciones estructurales de los cromosomas

Los cambios estructurales en los cromosomas pueden clasificarse de acuerdo con los tipos citológicos y sus efectos sobre el fenotipo. Los tipos citológicos principales son: traslocación (intercambio) (véase pág. 198), deleción (pérdida, véase pág. 182), inversión, inserción, isocromosoma, cromosoma dicéntrico y cromosoma en anillo (véase más adelante). De acuerdo con sus efectos, éstos pueden diferenciarse como equilibrados o desequilibrados. Con un recomodamiento en equilibrio no se gana ni se pierde material cromosómico alguno. En este caso no hay efecto sobre el fenotipo. En las aberraciones desequilibradas el material cromosómico o bien se adicionó (duplicación parcial) o se perdió (deficiencia parcial). En la página 182 se muestran los tipos simples de aberraciones, como la deleción y la duplicación.

A. Inversión

Una inversión es un cambio de 180° en la dirección de un segmento cromosómico. El requisito previo para toda inversión es un corte en dos sitios diferentes, seguido de la reunión de los segmentos invertidos. Según esté involucrado el centrómero o no, pueden diferenciarse en inversión pericéntrica (cuando el centrómero se encuentra dentro del segmento invertido) e inversión paracéntrica.

B. Las consecuencias de la recombinación cruzada en la región invertida

Con el apareamiento de los cromosomas homólogos durante la meiosis se forma un bucle de inversión en la región en que ésta se produce (1). Cuando el segmento invertido es relativamente largo, puede generarse la recombinación cruzada en esta región (2). En las células hijas un cromosoma puede presentar una duplicación (p. ej., de los segmentos A y B) y una deficiencia (del segmento F) (3), mientras que el otro cromosoma muestra la

deficiencia de los segmentos A y B, y la duplicación del segmento F (4). Estos segmentos cromosómicos no están en equilibrio (aneusomía por recombinación).

C. Isocromosoma

Un isocromosoma aparece cuando un cromosoma normal (1) se divide en sentido transversal en lugar de longitudinalmente, de manera que está compuesto por dos brazos largos (2) o dos cortos (3). En cada caso, el otro brazo se pierde.

D. Cromosoma dicéntrico

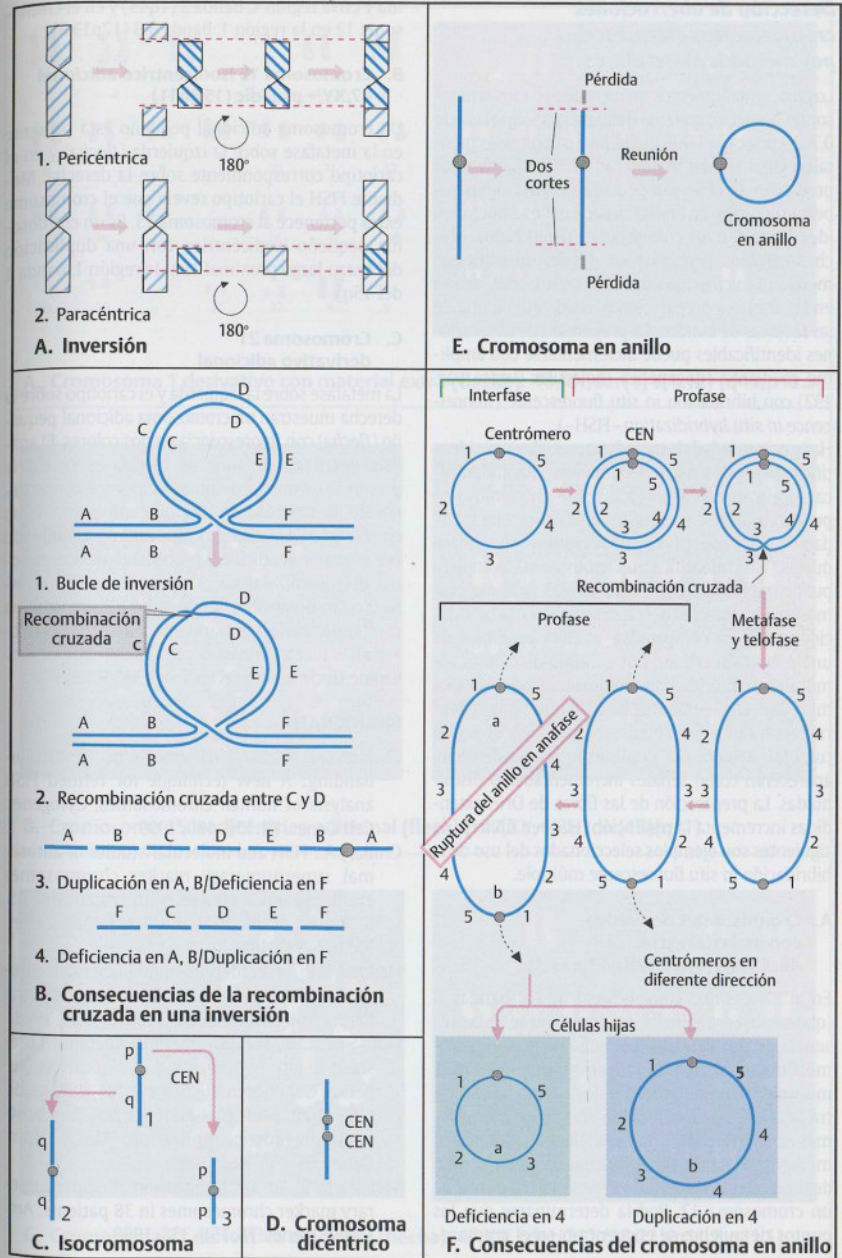
Un cromosoma dicéntrico contiene dos centrómeros. Es inestable porque tiende a apartarse durante la mitosis y sus partes se dividen entre las dos células hijas.

E. Cromosoma en anillo

Un cromosoma en anillo aparece después de dos cortes, seguidos por la reunión de los dos extremos opuestos. Los segmentos distales se pierden. Además, un cromosoma en anillo es desequilibrado.

F. Consecuencias de un cromosoma en anillo

Un cromosoma en anillo es inestable porque por lo general un corte con la reubicación (recombinación cruzada) de las cromátidas durante la profase de la mitosis conduce a dificultades. En este caso durante la metafase y la telofase aparece un gran cromosoma con forma de anillo y con dos centrómeros. Dado que durante la anafase los centrómeros migran en direcciones diferentes, el anillo se quiebra. Si esto no ocurre de manera estrictamente simétrica, las dos células hijas presentan ciertos segmentos perdidos (deficiencia) o duplicados (duplicación). En el ejemplo se forma una célula hija con una deficiencia del segmento 4 y otra con una duplicación del segmento 4. Con frecuencia los cromosomas en anillo se pierden por completo y esto provoca una monosomía.



1. Pericéntrica

2. Paracéntrica

A. Inversión

1. Bucle de inversión

2. Recombinación cruzada entre C y D

3. Duplicación en A, B/Deficiencia en F

4. Deficiencia en A, B/Duplicación en F

B. Consecuencias de la recombinación cruzada en una inversión

C. Isocromosoma

D. Cromosoma dicéntrico

E. Cromosoma en anillo

F. Consecuencias del cromosoma en anillo

Deficiencia en 4

Duplicación en 4

Detección de aberraciones cromosómicas estructurales por métodos moleculares

Los reacomodamientos estructurales de los cromosomas aparecen con una frecuencia aproximada de 0,7-2,4 por cada 1.000 individuos con retrasos mentales. En alrededor de uno cada 2.500 diagnósticos prenatales se observan pequeños cromosomas supernumerarios. En ambas situaciones es imperativo identificar el o los cromosomas involucrados. Muchos cambios pequeños no pueden identificarse mediante microscopio óptico convencional, ni aun en las mejores preparaciones, mediante alguna de las técnicas de bandeado. La proporción de aberraciones identificables puede incrementarse con amplitud mediante citogenética molecular (véase pág. 192) con hibridación in situ fluorescente (*fluorescence in situ hybridization* -FISH-).

Hay gran variedad de métodos accesibles para identificar pequeños reacomodamientos. Para identificar localizaciones específicas sobre un cromosoma pueden utilizarse sondas de copia única, que hibridan en sitios específicos en los cromosomas individuales. Para identificar un cromosoma completo pueden aplicarse numerosas sondas para ese cromosoma (coloración del cromosoma). En la hibridación genómica comparativa, el DNA genómico de una población celular, por ejemplo de células tumorales, se hibrida con cromosomas normales en metafase. Los segmentos de DNA que están sobre-representados o subrepresentados en el tejido tumoral, debido a la duplicación o a la delección, aparecerán como señales incrementadas o disminuidas. La preparación de las fibras de DNA extendidas incrementa la resolución (FISH en fibras). Los siguientes son ejemplos seleccionados del uso de la hibridación in situ fluorescente múltiple.

A. Cromosoma 1 derivativo con material extra 46,XX,der(1)t(1:12)(q43;p13.3)

En el cariograma convencional de las bandas G (que se observa sobre la izquierda) no se ve la presencia de una cantidad pequeña de material cromosómico adicional. El cariograma por FISH múltiple sobre la derecha muestra una banda extra pequeña hacia el final de uno de los cromosomas (1), indicado con una flecha. El análisis mediante FISH revela que la banda extra al final del brazo largo de un cromosoma 1 (1q) deriva de un cromosoma 12. Podría determinarse que los puntos de quiebre se encuentran en el cromoso-

ma 1 en la región 4, banda 3 (1q43) y en el cromosoma 12 en la región 1, banda 3.3 (12p13.3).

B. Cromosoma 15 isodiccéntrico adicional 47,XY,+psu idic(15)(q11)

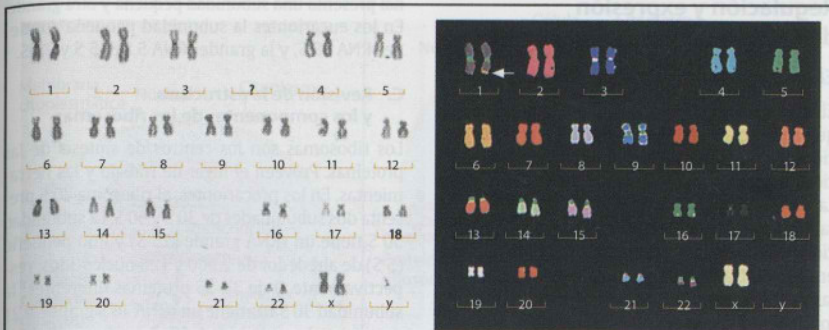
Un cromosoma adicional pequeño está presente en la metafase sobre la izquierda (*flecha*) y en el cariotipo correspondiente sobre la derecha. Mediante FISH el cariotipo revela que el cromosoma extra pertenece al cromosoma 15. Es un cromosoma pequeño isodiccéntrico con una duplicación del brazo largo proximal 15q11 (región 1, banda 1 del 15q).

C. Cromosoma 21 derivativo adicional

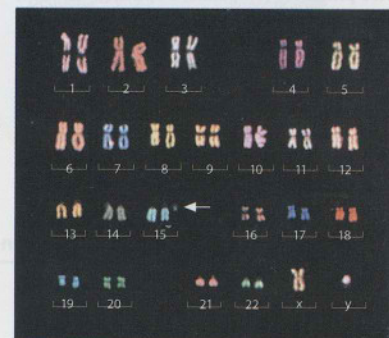
La metafase sobre la izquierda y el cariotipo sobre la derecha muestran un cromosoma adicional pequeño (*flecha*) con fluorescencia en dos colores. El análisis detallado de muchas metafases reveló la presencia de un cromosoma compuesto, con material de un cromosoma 18 y un centrómero de un cromosoma 21. Así, el cariotipo está desequilibrado por el material adicional procedente del cromosoma 18 (trisomía parcial 18), que es causante de retraso en el desarrollo. El origen de ese cromosoma compuesto suele permanecer oculto. (Todas las fotografías fueron provistas gentilmente por los Drs. Sabine Uhrig y Michael Speicher, München.)

BIBLIOGRAFÍA

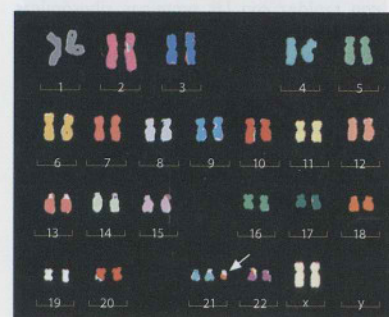
- Chudoba, I., et al.: High resolution multicolor-banding: A new technique for refined FISH analysis of human chromosomes. *Cytogenet. Cell Genet.* 84:156-160, 1999.
- Crolla, J.A.: FISH and molecular studies of autosomal supernumerary marker chromosomes excluding those derived from chromosome 15. II. Review of the literature. *Am. J. Med. Genet.* 75:367-381, 1998.
- Haddad, R.R., et al: Identification of de novo chromosomal markers and derivatives by spectral karyotyping. *Hum. Genet.* 103:619-625, 1998.
- Jalal, S.M., Law, M.E.: Utility of multicolor fluorescent in situ hybridization in clinical cytogenetics. *Genetics in Medicine* 1:181-186, 1999.
- Urig, S., et al.: Multiplex-FISH for pre- and post-natal diagnostic application. *Am. J. Hum. Genet.* 65:448-462, 1999.
- Viersbach, R., et al.: Delineation of supernumerary marker chromosomes in 38 patients. *Am. J. Med. Genet.* 76:351-358, 1998.



A. Cromosoma 1 derivativo con material extra (*flecha*): 46,XX,der(1)t(1:12)(q43;p13.3)



B. Cromosoma 15 isodiccéntrico adicional (*flecha*): 47,XY,+psu idic(15)(q11)



C. Cromosoma 21 derivativo adicional (*flecha*): 47,XX,+der(21)t(18;21)(p11.2;q11.1)

Regulación y expresión de los genes

El núcleo celular y el RNA ribosómico

El núcleo celular es el centro principal desde el que se regulan las funciones celulares. Una función muy importante de las células es la producción endógena de proteínas (síntesis proteica). Las proteínas a su vez, se requerirán para innumerales procesos vitales, como la catálisis de reacciones bioquímicas complejas, la producción de energía, el transporte de moléculas, etc. Las células de diferentes tejidos difieren con respecto a los genes expresados.

A. Núcleo celular y síntesis proteica

La transcripción y el procesamiento de los transcritos primarios (empalme, o *splicing*, del RNA) se producen en el núcleo de la célula. El RNA en el núcleo se estabiliza mediante la unión a las proteínas nucleares de unión al RNA. El RNA maduro entonces se libera del núcleo hacia el citoplasma. Para la traducción, el RNA mensajero (mRNA) debe estar unido a los ribosomas. Los ribosomas son estructuras proteicas complejas formadas por numerosas subunidades, que a su vez son los productos de genes individuales (genes ribosómicos).

B. Nucléolos y la síntesis de los ribosomas

El nucléolo es una región funcional y morfológicamente específica en el núcleo celular, en la que se sintetizan los ribosomas. En el hombre los genes del rRNA (200 copias por genoma haploide) son transcritos por la RNA polimerasa I para formar las moléculas de rRNA 45 S. Luego de que se formaron, los rRNA 45 S precursores se empaquetan con rapidez con las proteínas ribosómicas (procedentes del citoplasma). Antes de transferirse desde el núcleo al citoplasma, éstos se clivan para formar tres de las cuatro subunidades del rRNA. Por último se liberan hacia el citoplasma junto a la subunidad 5 S que se sintetiza por separado. Allí forman los ribosomas funcionales. Los tamaños de los ribosomas, sus subunidades y los diferentes tipos de RNA ribosómicos (rRNA) se expresan en unidades Svedberg (S). Ésta es la tasa a la que una molécula sedimenta en un solvente. Los valores S no son aditivos. Un ribosoma funcio-

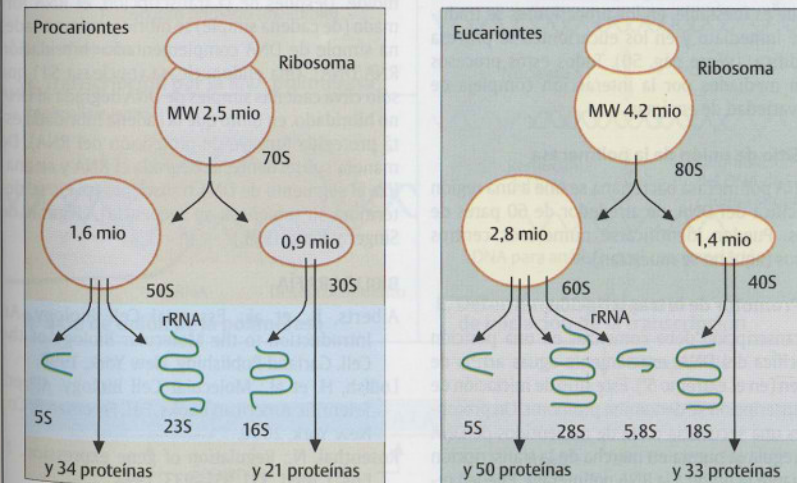
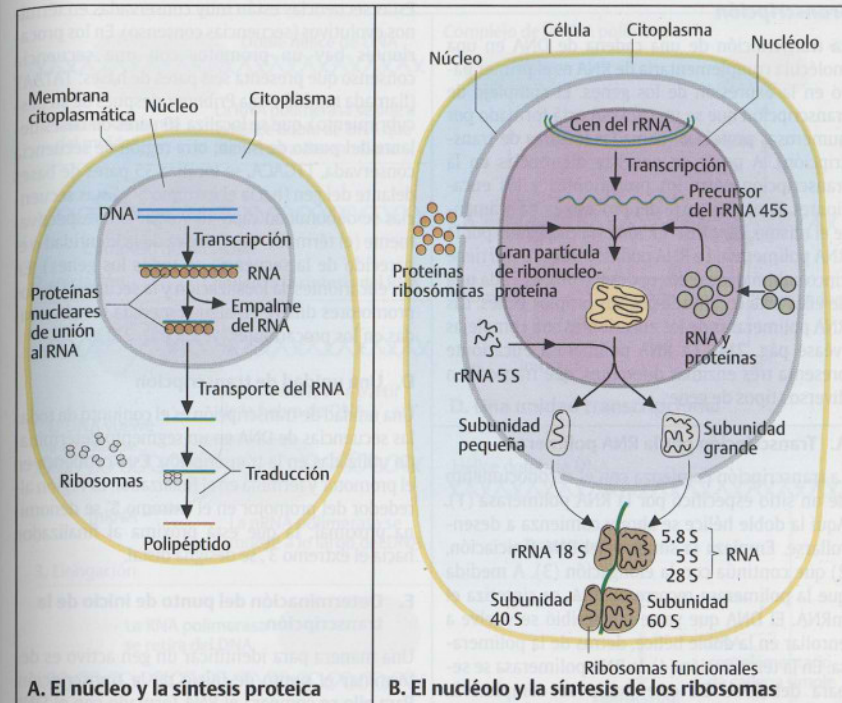
nal presenta una subunidad pequeña y otra grande. En los eucariontes la subunidad pequeña contiene rRNA 18 S, y la grande rRNA 5.8 S, 5 S y 28 S.

C. Revisión de la estructura y los componentes de los ribosomas

Los ribosomas son los centros de síntesis de las proteínas. Proveen el lugar de trabajo y las herramientas. En los procariontes, el ribosoma 70 S presenta dos subunidades de 30 S y 50 S. La subunidad 50 S tiene un rRNA grande (23 S) y uno pequeño (5 S) de alrededor de 2.900 y 120 nucleótidos, respectivamente, y de 33-35 proteínas diferentes; la subunidad 30 S contiene un rRNA 16 S grande y 21 proteínas. La subunidad 50 S provee actividad peptidiltransferasa, en tanto que la 30 S es el sitio en el que se decodifica la información genética. Además, esta última subunidad posee un mecanismo de corrección (*proofreading*) para minimizar los errores en la traducción. El ribosoma completo tiene un peso molecular de 2,5 millones de daltons (MDa) y un coeficiente de sedimentación de 70 S. El ribosoma eucarionte es mucho más grande (4,2 MDa y 80 S), con subunidades de 60 S y 40 S, que contienen una combinación de rRNA y proteínas como se muestra en la figura. Observaciones recientes de la estructura de las subunidades ribosómicas bacterianas 30 S y 50 S, con una resolución de 5 Å, contribuyeron para elucidar los detalles de la estructura y la función ribosómicas. (Figuras adaptadas de Alberts y col., 1998).

BIBLIOGRAFÍA

- Agalarov, S.C., et al.: Structure of the S15, S6, S18-rRNA complex: assembly of the 30S ribosome central domain. *Science* **288**:107-112, 2000.
- Alberts, B., et al.: *Molecular Biology of the Cell*. 3rd ed. Garland Publishing Co., New York, 1994.
- Alberts, B., et al.: *Essential Cell Biology*. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing Co., New York, 1998.
- Ban, N.; et al.: Placement of protein and RNA structures into a 5 Å-resolution map of the 50 S ribosomal subunit. *Nature* **400**:841-847, 1999.
- Garrett, R.: Mechanics of the ribosome. *Nature* **400**:811-812, 1999.
- Wimberly, B.T., et al.: Structure of the 30S ribosomal subunit. *Nature* **407**:327-339, 2000.



C. Revisión de la estructura y los componentes de los ribosomas

Transcripción

La transcripción de una cadena de DNA en una molécula complementaria de RNA es el primer paso en la expresión de los genes. El complejo de transcripción que se une al DNA está formado por numerosas proteínas (llamadas factores de transcripción). A pesar de que hay diferencias en la transcripción entre los procariontes y los eucariontes, la mayor parte del proceso es básicamente el mismo. La transcripción está catalizada por la RNA polimerasa. La RNA polimerasa en *E. coli* tiene cinco subunidades (dos α , dos β y una σ), cada una de ellas está codificada por sus propios genes. Las RNA polimerasas de los eucariontes son complejas (véase pág. 214). La RNA polimerasa eucarionte presenta tres enzimas diferentes, que transcriben diversos tipos de genes.

A. Transcripción por la RNA polimerasa

La transcripción comienza con el reconocimiento de un sitio específico por la RNA polimerasa (1). Aquí la doble hélice se abre y comienza a desenrollarse. Empieza la síntesis del RNA (iniciación, 2) que continúa con la elongación (3). A medida que la polimerasa recorre el DNA, se sintetiza el mRNA. El DNA que ya se transcribió se vuelve a enrollar en la doble hélice, detrás de la polimerasa. En la terminación (4), la RNA polimerasa se separa del DNA. En este punto se completa la formación del transcripto primario inestable. Dado que es inestable, en los procariontes se traduce de inmediato y en los eucariontes se procesa (modifica) (véase pág. 50). Todos estos procesos están mediados por la interacción compleja de una variedad de enzimas.

B. Sitio de unión de la polimerasa

La RNA polimerasa bacteriana se une a una región específica del DNA, de alrededor de 60 pares de bases. Pueden identificarse numerosos centros activos (aquí no se muestran).

C. Promotor de la transcripción

La transcripción debe comenzar en una posición específica del DNA, exactamente aguas arriba de un gen (en el extremo 5'). Este sitio de iniciación de la transcripción se denomina promotor. Un promotor es una secuencia corta de nucleótidos de DNA que regula la puesta en marcha de la transcripción mediante la unión a la RNA polimerasa. Pueden reconocerse dos regiones promotoras distintas delante del punto de iniciación de transcripción.

Estas secuencias están muy conservadas en términos evolutivos (secuencias consenso). En los procariontes hay un promotor con una secuencia consenso que presenta seis pares de bases: TATAAT (llamada también caja Pribnow, después de su descubrimiento), que se localiza 10 pares de bases delante del punto de inicio; otra región de secuencia conservada, TTGACA, se localiza 35 pares de bases delante del gen (hacia el extremo 5'). Estas secuencias se denominan caja -10 y caja -35, respectivamente (el término "caja" deriva de la identidad o el parecido de la secuencia en todos los genes). En los eucariontes, la localización y la secuencia de los promotores difiere en alguna medida las observadas en los procariontes (véase pág. 212).

D. Una unidad de transcripción

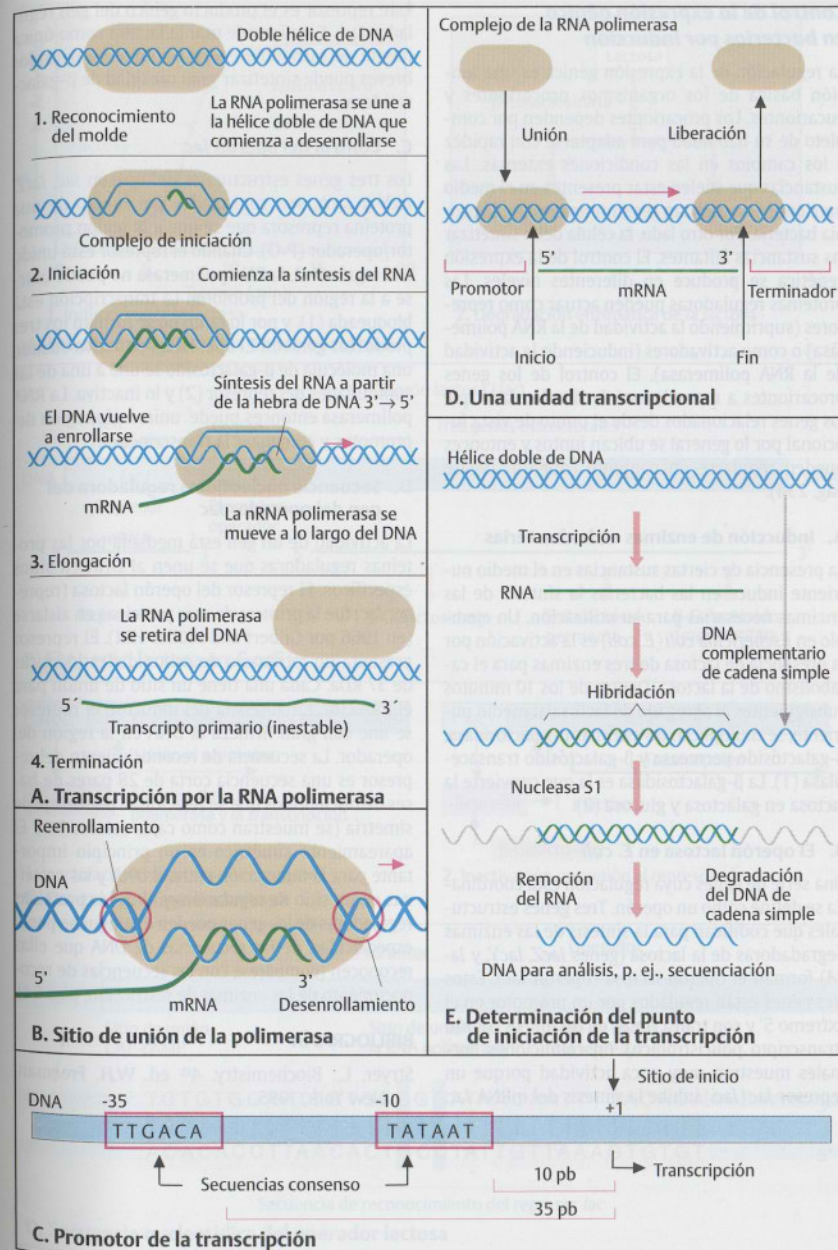
Una unidad de transcripción es el conjunto de todas las secuencias de DNA en un segmento determinado utilizadas en la transcripción. Ésta comienza en el promotor y termina en el finalizador. La región alrededor del promotor en el extremo 5' se denomina proximal; la que está próxima al finalizador, hacia el extremo 3', se designa distal.

E. Determinación del punto de inicio de la transcripción

Una manera para identificar un gen activo es determinar el punto de inicio de la transcripción. Para ello se compara el RNA formado con el DNA molde. Después de la transcripción, el RNA formado (de cadena simple) se hibrida con una cadena simple de DNA complementario (hibridación RNA/DNA). Una endonucleasa (nucleasa S1) que sólo cliva cadenas simples de DNA degrada al DNA no hibridado, en tanto que la cadena hibridada está protegida (ensayo de protección del RNA). De manera subsiguiente, se degrada el RNA y se analiza el segmento de DNA transcripto (p. ej., se determina su tamaño o su secuencia). (Figuras de Singer y Berg, 1991.)

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., et al.: *Essential Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell.* Garland Publishing, New York, 1998.
- Lodish, H. et al.: *Molecular Cell Biology.* 4th ed. Scientific American Books, F.H. Freeman & Co., New York, 2000.
- Rosenthal, N.: Regulation of gene expression. *N Eng. J. Med.* 331:931-933, 1994.
- Singer, M., Berg, P.: *Genes & Genomes.* Blackwell Scientific, Oxford, 1991.



Control de la expresión génica en bacterias por inducción

La regulación de la expresión génica es una función básica de los organismos procariontes y eucariontes. Los procariontes dependen por completo de su habilidad para adaptarse con rapidez a los cambios en las condiciones externas. Las sustancias que suelen estar presentes en el medio nutriente no necesitan ser sintetizadas por la propia bacteria. Por otro lado, la célula debe sintetizar las sustancias faltantes. El control de la expresión génica se produce en diferentes niveles. Las proteínas reguladoras pueden actuar como represores (suprimiendo la actividad de la RNA polimerasa) o como activadores (induciendo la actividad de la RNA polimerasa). El control de los genes procariontes a menudo está facilitado, dado que los genes relacionados desde el punto de vista funcional por lo general se ubican juntos y entonces pueden regularse en conjunto (operón) (véase pág. 234).

A. Inducción de enzimas en las bacterias

La presencia de ciertas sustancias en el medio nutriente induce en las bacterias la síntesis de las enzimas necesarias para su utilización. Un ejemplo en *Escherichia coli* (*E. coli*) es la activación por la presencia de lactosa de tres enzimas para el catabolismo de la lactosa. Dentro de los 10 minutos subsiguientes al agregado de lactosa al medio nutriente, se multiplican las enzimas β-galactosidasa, β-galactósido permeasa y β-galactósido transacetilasa (1). La β-galactosidasa es la que convierte la lactosa en galactosa y glucosa (2).

B. El operón lactosa en *E. coli*

Una serie de genes cuya regulación está coordinada se define como un operón. Tres genes estructurales que codifican para la síntesis de las enzimas degradadoras de la lactosa (genes *lacZ*, *lacY*, y *lacA*) forman el operón lactosa (operón *lac*). Estos tres genes están regulados por un promotor en el extremo 5' y son transcritos en un mRNA común (transcripto policistrónico). En condiciones normales muestran muy poca actividad porque un represor *lac* (*lacI*) inhibe la síntesis del mRNA *lac*.

Este represor es el producto génico del gen regulador *lacI*. *E. coli* puede usar la lactosa como única fuente de carbono y energía porque en períodos breves puede sintetizar gran cantidad de β-galactosidasa.

C. Control del operón *lac*

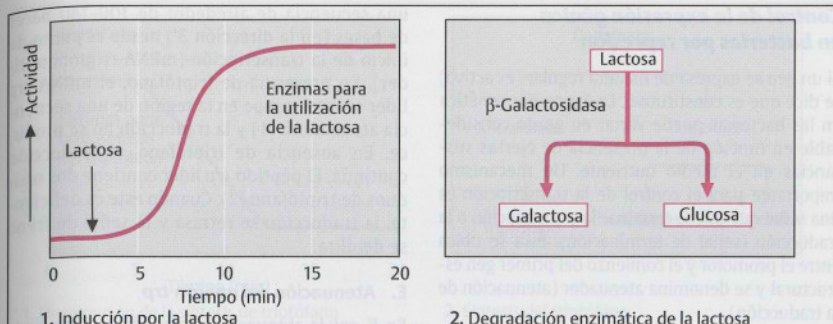
Los tres genes estructurales del operón *lac*, *lacZ*, *lacY* y *lacA*, son controlados por medio de una proteína represora que se une a la región promotor/operador (P-O). Cuando el represor está unido a la región P-O, la RNA polimerasa no puede unirse a la región del promotor. La transcripción está bloqueada (1), y por lo tanto no se forman los tres productos génicos. El operón *lac* se activa cuando una molécula de β-galactósido se une a una de las subunidades del represor (2) y lo inactiva. La RNA polimerasa entonces puede unirse a la región del promotor y comenzar la transcripción.

D. Secuencia nucleotídica reguladora del gen del operador *lac*

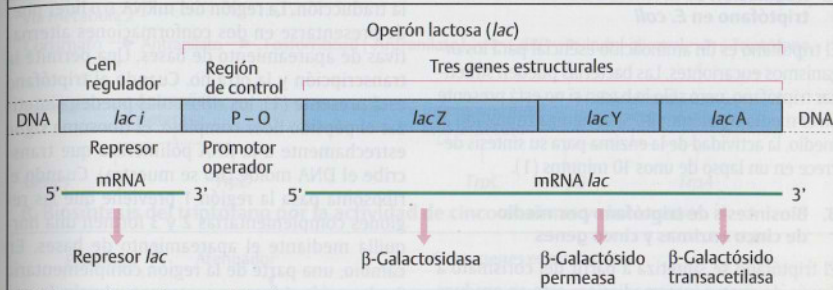
La actividad de un gen está mediada por las proteínas reguladoras que se unen al DNA en sitios específicos. El represor del operón lactosa (represor *lac*) fue la primera de esas proteínas en aislarse (en 1966 por Gilbert and Müller-Hill). El represor presenta un tetrámero de subunidades idénticas de 37 kDa. Cada una tiene un sitio de unión para el inductor. En ausencia del inductor, el represor se une con gran firmeza al DNA en la región del operador. La secuencia de reconocimiento del represor es una secuencia corta de 28 pares de bases de nucleótidos que se relacionan por un eje de simetría (se muestran como cajas coloreadas). El apareamiento simétrico es un principio importante para la interacción entre el DNA y las proteínas en un sitio de regulación génica. Las proteínas reguladoras de los genes pueden distinguirse por la especificidad de las secuencias de DNA que ellas reconocen (compárese con las secuencias de reconocimiento de las enzimas de restricción, pág. 64).

BIBLIOGRAFÍA

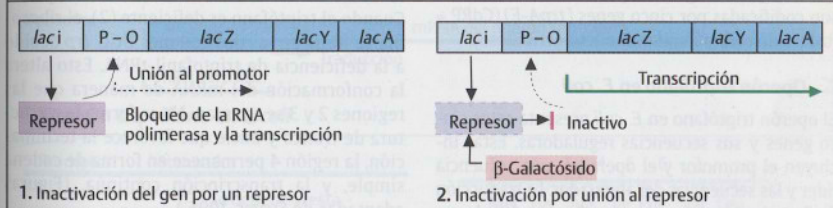
Stryer, L.: Biochemistry. 4th ed. W.H. Freeman, New York, 1995.



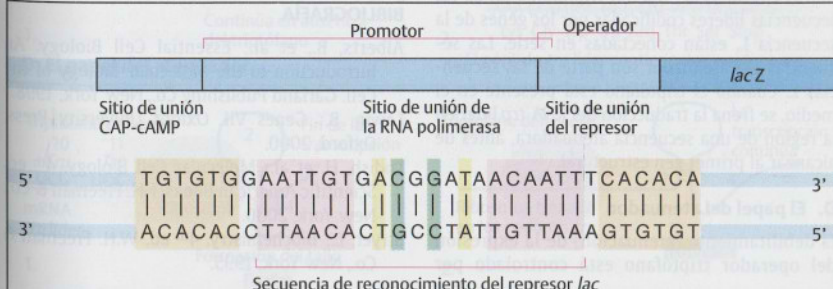
A. Inducción de enzimas en las bacterias



B. El operón lactosa en *E. coli*



C. Control del operón lactosa



D. Secuencia nucleotídica del operador lactosa

Control de la expresión génica en bacterias por represión

Si un gen se expresa de manera regular (es activo) se dice que es constitutivo. La expresión genética en las bacterias puede variar en grado considerable en función de la presencia de ciertas sustancias en el medio nutriente. Un mecanismo importante para el control de la transcripción es una señal que puede terminar la transcripción o la traducción (señal de terminación). Ésta se ubica entre el promotor y el comienzo del primer gen estructural y se denomina atenuador (atenuación de la traducción).

A. Regulación de la síntesis del aminoácido triptófano en *E. coli*

El triptófano es un aminoácido esencial para los organismos eucariontes. Las bacterias pueden sintetizar triptófano, pero sólo lo hacen si no está presente en el medio nutriente (2). Si se agrega triptófano al medio, la actividad de la enzima para su síntesis decrece en un lapso de unos 10 minutos (1).

B. Biosíntesis de triptófano por medio de cinco enzimas y cinco genes

El triptófano se sintetiza a partir del corismato a través de cuatro intermediarios; esto se produce en cinco pasos regulados por cinco enzimas, que son codificadas por cinco genes (*trpA-E*) (Cdrp = fosfato de carboxifenilaminodesoxirribulosa).

C. Operón triptófano en *E. coli*

El operón triptófano en *E. coli* presenta estos cinco genes y sus secuencias reguladoras. Éstas incluyen el promotor y el operador, una secuencia líder y las secuencias del atenuador. La traducción de los cinco genes estructurales resulta de un mRNA continuo del operón triptófano. En él, las secuencias líderes codificadas por los genes de la secuencia L, están conectadas en serie. Las secuencias del atenuador son parte de las secuencias L. Cuando el triptófano está presente en el medio, se frena la traducción del RNA *trp* líder en la región de una secuencia atenuadora, antes de alcanzar al primer gen estructural.

D. El papel del atenuador

El debilitamiento (atenuación) de la expresión del operador triptófano está controlado por

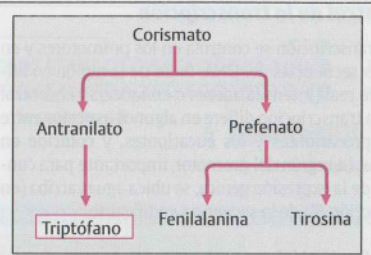
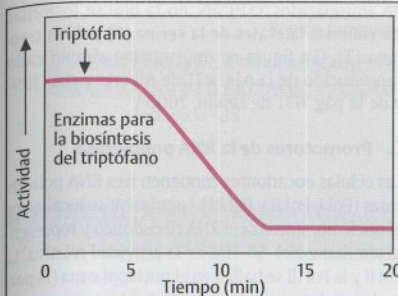
una secuencia de alrededor de 100-140 pares de bases (en la dirección 3') desde el punto de inicio de la transcripción (mRNA triptófano líder). En presencia de triptófano, el mRNA *trp* líder se interrumpe en la región de una secuencia atenuadora (1) y la traducción no se produce. En ausencia de triptófano, la traducción continúa. El péptido *trp* líder contiene dos residuos de triptófano (2). Cuando éste es deficiente, la traducción se retrasa y la señal de freno se debilita.

E. Atenuación del operón *trp*

En *E. coli* la atenuación a menudo está mediada por una relación íntima entre la transcripción y la traducción. La región del mRNA *trp* líder puede presentarse en dos conformaciones alternativas de apareamiento de bases. Una permite la transcripción y la otra no. Cuando el triptófano está presente (1), los ribosomas pueden sintetizar el péptido líder completo. El ribosoma sigue estrechamente a la RNA polimerasa que transcribe el DNA molde (no se muestra). Cuando el ribosoma pasa la región 1 previene que las regiones complementarias 2 y 3 formen una horquilla mediante el apareamiento de bases. En cambio, una parte de la región complementaria 3 y la región 4 forman un tronco y bucle, lo que favorece la terminación de la transcripción. Cuando el triptófano es deficiente (2), el ribosoma se frena en los dos codones UGG *trp* debido a la deficiencia de triptofanil-tRNA. Esto altera la conformación del mRNA de manera que las regiones 2 y 3 se aparean. No se forma la estructura de tronco y bucle que favorece la terminación, la región 4 permanece en forma de cadena simple, y la transcripción continúa. (Figuras adaptadas de Stryer, 1995.)

BIBLIOGRAFÍA

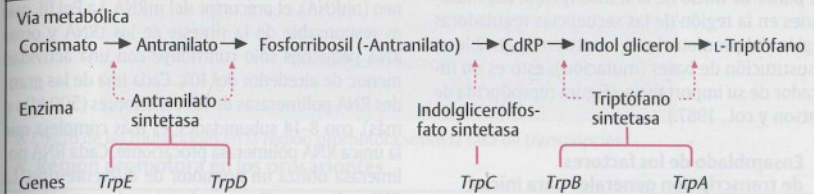
Alberts, B., et al.: Essential Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing Co., New York, 1998.
 Lewin, B.: Genes VII. Oxford University Press, Oxford, 2000.
 Lodish, H. et al.: Molecular Cell Biology. 4th ed. Scientific American Books, F.H. Freeman & Co., New York, 2000.
 Stryer, L.: Biochemistry. 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 1995.



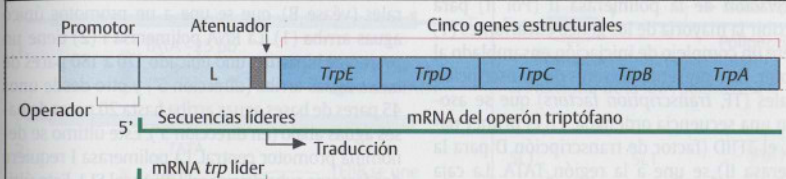
1. Disminución de la síntesis de triptófano

2. Síntesis del triptófano

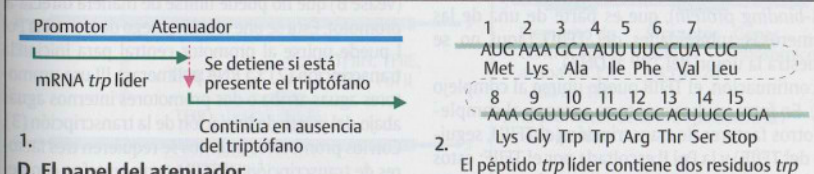
A. Influencia en la síntesis del aminoácido triptófano en *E. coli*



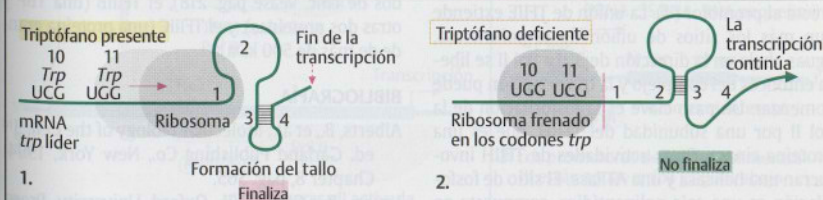
B. Biosíntesis del triptófano por la actividad de cinco enzimas y cinco genes



C. Operón triptófano en *E. coli*



D. El papel del atenuador



E. Atenuación del operón *trp* de *E. coli*

Control de la transcripción en los eucariontes

La transcripción en los eucariontes difiere de la de los procariontes en dos aspectos principales. En los eucariontes un gen sólo codifica para un único polipéptido (unidad de transcripción monocistónica) y el transcripto inicial se procesa para dar lugar al mensajero maduro, el mRNA. Esto involucra el empalme de los exones (véase pág. 50) y la modificación sustancial de los extremos del transcripto primario.

A. Prototipo de un gen estructural eucarionte

Un gen estructural es un gen que codifica para un producto génico polipeptídico. En éste pueden diferenciarse las secciones involucradas en la transcripción (unidades de transcripción) y las secuencias reguladoras. Estas últimas se localizan hacia ambas direcciones del gen, aguas arriba (en la dirección 5') y aguas abajo (en la dirección 3'). Además, en los intrones puede haber otras secuencias reguladoras se localizan lejos del gen. Junto con el promotor (véase pág. 206), se las requiere para regular la transcripción.

B. Prototipo del mRNA eucarionte maduro

El mRNA eucarionte maduro se produce a partir de su precursor, el RNA, por medio de la eliminación de los intrones, la adición de un casquete (*cap*) en el extremo 5' y la adición de numerosos nucleótidos de adenina en el extremo 3' (poliadenilación). Frente al punto de señal de inicio de la traducción (AUG) se localiza una secuencia no codificante (5' líder), y en el extremo 3', detrás de la señal de finalización (UAA), hay otra secuencia no codificante (*trailer*). Ambas adiciones, el casquete 5' y la poliadenilación, involucran reacciones enzimáticas.

C. Casquete de 7-metil-guanosina

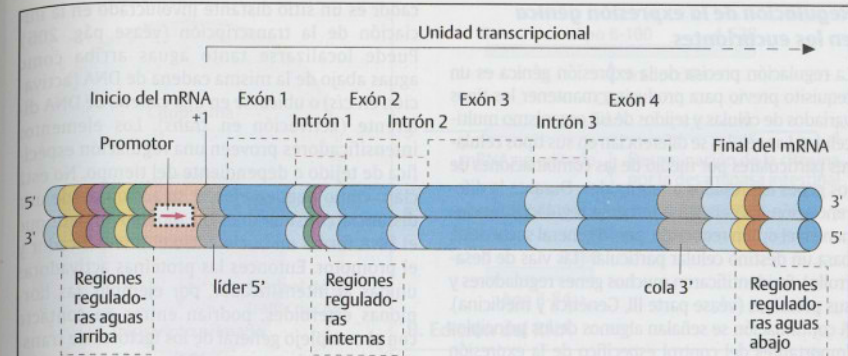
La traducción del mRNA eucarionte es similar a la del mRNA procarionte, pero con dos diferencias distintivas: 1) en la célula eucarionte la transcripción y la traducción se producen en diferentes ubicaciones: la transcripción se presenta en el núcleo celular y la traducción en el citoplasma; 2) los extremos 3' y 5' del mRNA eucarionte tienen una estructura especial. La estructura en el extremo 5' se denomina casquete (*cap*). Mediante la acción de la guanosina-7-metiltransferasa, la guanosina se une por un puente trifosfato al primer y el segundo grupos ribosa de la cadena del mRNA precursor. La guanosina está metilada en posición 7, así como los dos residuos de ribosa iniciales, en el comienzo de la cadena de RNA. Excepto por los mRNA transcriptos a partir del DNA de virus, los mRNA eucariontes suelen contener una secuencia codificante para una única proteína (mensajero monocistónico).

D. Poliadenilación en el extremo 3'

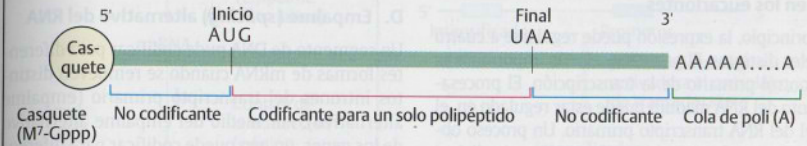
Las señales de terminación eucariontes se caracterizan en menor medida que los reguladores de la actividad génica en el extremo 5'. Los transcriptos primarios eucariontes se cortan inmediatamente después de la secuencia AAUA, mediante endonucleasas específicas. En forma subsecuente, una poli(A)-polimerasa agrega alrededor de 100-250 nucleótidos de adenina al extremo 3' del transcripto (poliadenilación). El extremo poli(A) se une a una proteína. Todos los mRNA, excepto los que codifican para las proteínas histonas, poseen un extremo terminal poli(A). (Figuras tomadas de Singer y Berg, 1991.)

BIBLIOGRAFÍA

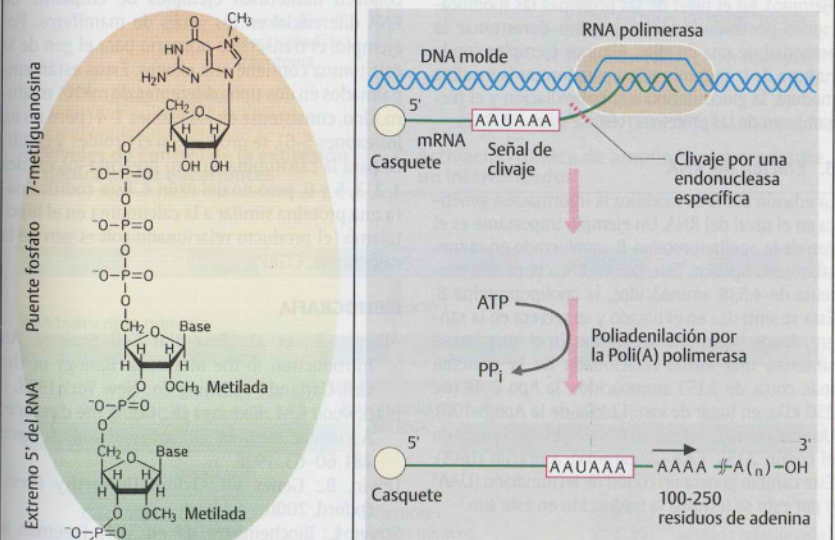
Singer, M., Berg, P.: Genes & Genomes. Blackwell Scientific, Oxford, 1991.



A. Prototipo de un gen estructural eucariótico



B. Prototipo del mRNA eucariótico maduro



C. Casquete de 7-metil-guanosina

D. Poliadenilación en el extremo 3'

Regulación de la expresión génica en los eucariontes

La regulación precisa de la expresión génica es un requisito previo para producir y mantener los tipos variados de células y tejidos de un organismo multicelular. Las células se diferencian en sus tipos celulares particulares por medio de las combinaciones de los genes expresados o reprimidos. Durante la diferenciación los genes fuertemente regulados funcionan en el orden requerido, por lo general secuencial, para un destino celular particular (las vías de desarrollo). Se identificaron muchos genes reguladores y sus proteínas (véase parte III, Genética y medicina). A continuación se señalan algunos de los principios importantes del control específico de la expresión génica en las células eucariontes.

A. Niveles de control de la expresión génica en los eucariontes

En principio, la expresión puede regularse a cuatro niveles distintos. El primero y el más importante es el control primario de la transcripción. El procesamiento del RNA maduro puede estar regulado en el nivel del RNA transcrito primario. Un proceso observado con frecuencia es el empalme (*splicing*) alternativo (véase D). La traducción puede modificarse mediante la edición del RNA (véase B para un ejemplo). En el nivel de las proteínas las modificaciones postraduccionales pueden determinar la actividad de una de ellas. Algunos ejemplos son la ruptura de la preproinsulina para formar la insulina madura, la glucosilación o la hidroxilación y el plegamiento de las proteínas (véanse págs. 32, 362).

B. Edición del RNA

La edición del RNA modifica la información genética en el nivel del RNA. Un ejemplo importante es el gen de la apolipoproteína-B, involucrado en el metabolismo lipídico. Este gen codifica para una proteína de 4.538 aminoácidos, la apolipoproteína B. Ésta se sintetiza en el hígado y se secreta en la sangre, donde transporta los lípidos. En el intestino se sintetiza una forma relacionada de la proteína más corta, de 2.153 aminoácidos, la Apo B-48 (de 250 kDa, en lugar de los 512 kDa de la Apo B-100). Una desaminasa intestinal convierte una citosina en el codón 2.158, CAA (glutamina), a uracilo (UAA). Este cambio genera un codón de terminación (UAA) y por esto se termina la traducción en este sitio.

C. Activación génica de amplio rango mediante un intensificador

Los intensificadores (*enhancers*) controlan la actividad de los genes a distancia. Un intensifi-

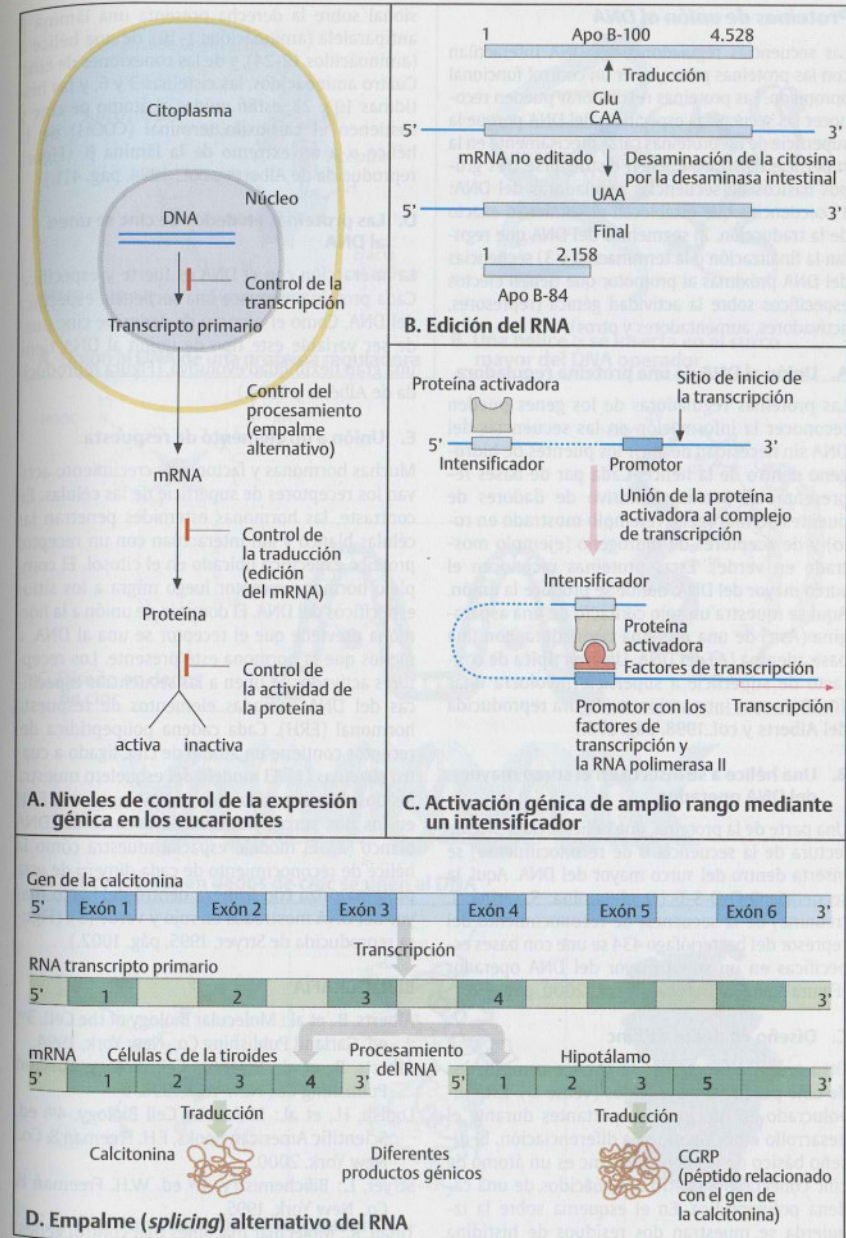
cador es un sitio distante involucrado en la iniciación de la transcripción (véase pág. 206). Puede localizarse tanto aguas arriba como aguas abajo de la misma cadena de DNA (activación *in cis*) o ubicarse en una cadena de DNA diferente (activación *in trans*). Los elementos intensificadores proveen una regulación específica de tejido o dependiente del tiempo. No está claro cómo pueden ejercer su acción desde una distancia considerable. Un modelo sugiere que el DNA forma un bucle entre el intensificador y el promotor. Entonces las proteínas activadoras unidas al intensificador, por ejemplo, las hormonas esteroides, podrían entrar en contacto con el complejo general de los factores de transcripción en el promotor. Otros podrían funcionar como represores (véase control de la transcripción en los procariontes, pág. 210).

D. Empalme (*splicing*) alternativo del RNA

Un segmento de DNA puede codificar para diferentes formas de mRNA cuando se remueven distintos intrones del transcrito primario (empalme alternativo). Por medio del empalme alternativo de los genes, un gen puede codificar para diferentes, aunque similares, productos génicos. Esto permite un alto grado de flexibilidad funcional. Se conocen numerosos ejemplos de empalme de RNA diferencial en los genes de mamíferos. Por ejemplo, el transcrito primario para el gen de la calcitonina contiene seis exones. Éstos están empalmados en dos tipos diferentes de mRNA maduro. Uno, consistente en los exones 1-4 (pero no en los exones 5-6), se produce en el tiroides y codifica para la calcitonina. El otro presenta los exones 1, 2, 3, 5 y 6, pero no del exón 4. Éste codifica para una proteína similar a la calcitonina en el hipotálamo (el producto relacionado con el gen de la calcitonina, CGRP).

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., et al.: *Essential Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell.* Garland Publishing Co., New York, 1998.
- Blackwood E.M., Kadonga J.F.: *Going the distance: A current view of enhancer action.* *Science* 281:60-63, 1998.
- Lewin, B.: *Genes VII.* Oxford University Press, Oxford, 2000.
- Stryer, L.: *Biochemistry.* 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 1995.
- Watson, J.D., et al.: *Molecular Biology of the Gene.* 4th ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



Proteínas de unión al DNA

Las secuencias reguladoras del DNA interactúan con las proteínas para ejercer un control funcional apropiado. Las proteínas reguladoras pueden reconocer las secuencias específicas del DNA porque la superficie de las proteínas calza precisamente en la superficie del DNA. Pueden distinguirse tres grupos básicos de secuencias reguladoras del DNA: 1) secuencias que establecen el comienzo exacto de la traducción, 2) segmentos del DNA que regulan la finalización o la terminación y 3) secuencias del DNA próximas al promotor que tienen efectos específicos sobre la actividad génica (represores, activadores, aumentadores y otros).

A. Unión al DNA de una proteína reguladora

Las proteínas reguladoras de los genes pueden reconocer la información en las secuencias del DNA sin necesidad de abrir los puentes de hidrógeno dentro de la hélice. Cada par de bases representa un patrón distintivo de dadores de puentes de hidrógeno (ejemplo mostrado en rojo) y de aceptores de hidrógeno (ejemplo mostrado en verde). Estas proteínas reconocen el surco mayor del DNA, donde se produce la unión. Aquí se muestra un solo contacto de una asparagina (Asn) de una proteína reguladora, con una base adenina (A) del DNA. Un área típica de contacto de superficie involucra unas 10-20 de esas interacciones. (Figura reproducida del Alberts y col., 1998, pág. 276.)

B. Una hélice α se inserta en el surco mayor del DNA operador

Una parte de la proteína, una hélice α (la hélice de lectura de la secuencia o de reconocimiento) se inserta dentro del surco mayor del DNA. Aquí, la secuencia Q-Q-Q-S-T- (Q, glutamina; S, serina; T, treonina) de la secuencia de reconocimiento del represor del bacteriófago 434 se une con bases específicas en un surco mayor del DNA operador (Figura tomada de Lodish y col., 2000, pág. 351.)

C. Diseño en dedos de cinc

Otro grupo de proteínas se conoce como dedos de cinc porque semeja dedos (véase D). Está involucrado en funciones importantes durante el desarrollo embrionario y la diferenciación. El diseño básico de los dedos de cinc es un átomo de cinc conectado a cuatro aminoácidos de una cadena polipeptídica. En el esquema sobre la izquierda se muestran dos residuos de histidina (H) y dos de cisteína (C). La estructura tridimen-

sional sobre la derecha presenta una lámina β antiparalela (aminoácidos 1-10), de una hélice α (aminoácidos 12-24), y de las conexiones de cinc. Cuatro aminoácidos, las cisteínas 3 y 6, y las histidinas 19 y 23, están unidas al átomo de cinc y sostienen el carboxilo terminal (COOH) de la hélice α a un extremo y de la lámina β . (Figura reproducida de Alberts y col., 1994, pág. 411.)

D. Las proteínas en dedos de cinc se unen al DNA

La interacción con el DNA es fuerte y específica. Cada proteína reconoce una secuencia específica del DNA. Como el número de dedos de cinc puede ser variable este tipo de unión al DNA tiene una gran flexibilidad evolutiva. (Figura reproducida de Alberts y 1994.)

E. Unión a un elemento de respuesta

Muchas hormonas y factores de crecimiento activan los receptores de superficie de las células. En contraste, las hormonas esteroides penetran las células blanco y allí interactúan con un receptor proteico específico ubicado en el citosol. El complejo hormona-receptor luego migra a los sitios específicos del DNA. El dominio de unión a la hormona previene que el receptor se una al DNA, a menos que la hormona esté presente. Los receptores activados se unen a las secuencias específicas del DNA llamadas elementos de respuesta hormonal (ERH). Cada cadena polipeptídica del receptor contiene un átomo de cinc ligado a cuatro cisteínas (1). El modelo del esqueleto muestra los dos dominios de unión al DNA unidos al ERH en los dos surcos mayores adyacentes del DNA blanco (2). El modelo espacial muestra cómo la hélice de reconocimiento de cada dímero de esta proteína calza con firmeza dentro del surco mayor del DNA mostrados en rojo y verde (3). (Figura reproducida de Stryer, 1995, pág. 1002.)

BIBLIOGRAFÍA

Alberts, B., et al.: *Molecular Biology of the Cell*. 3rd ed. Garland Publishing Co., New York, 1994.
 Alberts, B., et al.: *Essential Cell Biology*. Garland Publishing Co., New York, 1998.
 Lodish, H., et al.: *Molecular Cell Biology*. 4th ed. Scientific American Books, F.H. Freeman & Co., New York, 2000.
 Stryer, L.: *Biochemistry*. 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 1995.
 Tijian, R.: *Molecular machines that control genes*. *Sci. Am.* 272:38-45, 1995.

A. Unión al DNA de una proteína reguladora

B. Una hélice α se inserta en el surco mayor del DNA operador

C. Diseño en dedos de cinc

D. Las proteínas en dedos de cinc se unen al DNA

E. Unión a un elemento de respuesta

Otros activadores de la transcripción

Los activadores de la transcripción son proteínas dimericas con distintos dominios funcionales; un dominio de unión al DNA y uno de activación. El primero interactúa con las secuencias reguladoras específicas del DNA. El dominio de activación interactúa con otras proteínas que estimulan la transcripción. Los activadores de la transcripción participan en el ensamblado del complejo de iniciación, por ejemplo, al estimular la unión al promotor del factor de transcripción IID (TFIID, véase pág. 212). Otros activadores pueden interactuar con los factores generales de transcripción, de este modo proveen un segundo nivel de control transcripcional.

A. Dímero de cierre de leucinas

La mayoría de las proteínas reguladoras de unión al DNA reconocen los sitios específicos como dímeros. Una parte de la molécula sirve como molécula de reconocimiento, y la otra estabiliza la estructura. Un ejemplo en particular asombroso está dado por las proteínas con un diseño de cierre de leucinas. El nombre deriva de su estructura básica. Dos hélices están unidas a manera de un cierre cremallera, mediante residuos de leucina repetidos en forma periódica que se localizan en la interfase de las dos hélices. Las dos hélices al separarse forman una estructura con figura de Y, que se extiende dentro del surco mayor del DNA (1). Las proteínas con cierre de leucinas pueden ser homodímeros de subunidades idénticas (2, 3) o heterodímeros de subunidades diferentes, aunque similares (4). La habilidad para formar dímeros diferentes (heterodimerización) expande con amplitud el espectro de especificidades. El uso de las combinaciones de diferentes proteínas para el control de las funciones celulares se denomina control combinatorial. (Figura tomada del Alberts y col., 1994.)

Un diseño de unión al DNA relacionado con el cierre de leucinas es el de la hélice bucle hélice (HLH) (no se muestra). El diseño HLH presenta un α -hélice corta y otra α -hélice más larga, conectadas por un bucle flexible de proteínas.

B. Activación por unión de una hormona esteroide

Los intensificadores de la transcripción son regiones reguladoras del DNA que incrementan la tasa de transcripción. Su espaciamiento y orientación varían en relación con el punto de inicio de la transcripción. Un intensificador se activa por la unión a un complejo de hormona-receptor. Esto activa el promotor, y comienza la transcripción (gen activo). Numerosos genes importantes para el desarrollo de los mamíferos

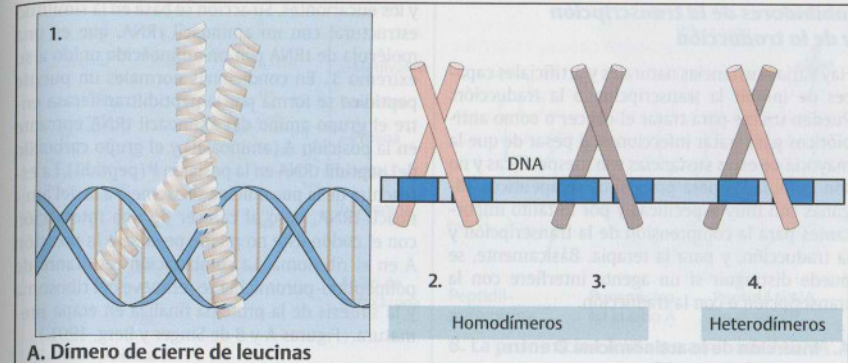
están regulados por los esteroides (transcripción en respuesta a esteroides). Estos últimos incluyen los glucocorticoides y los mineralocorticoides, los esteroides del metabolismo del glucógeno y de los minerales; a las hormonas sexuales, que participan en la diferenciación sexual embrionaria y en el control de la reproducción; y otras. El desarrollo normal de los huesos y su función están bajo el control de la vitamina D, similar a los esteroides. Otra hormona de tipo esteroide es el ácido retinoico, un regulador importante de la diferenciación durante la embriogénesis (morfogénico). Estas hormonas inician sus efectos fisiológicos mediante la asociación con sus correspondientes receptores celulares específicos de esteroides (complejo hormona-receptor).

C. Evidencia de una región de unión a proteínas en el DNA

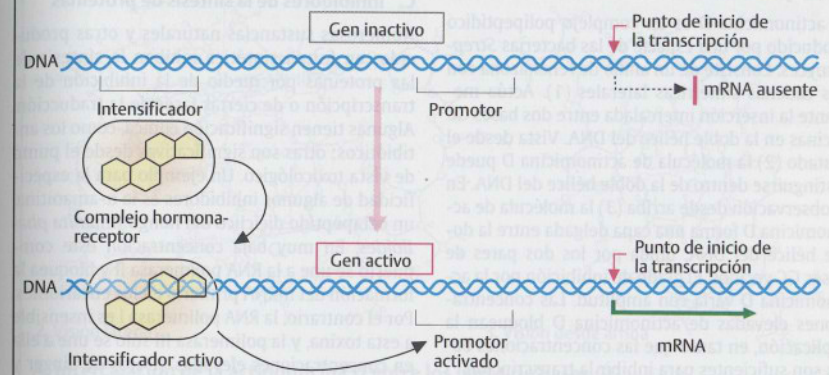
Las regiones de unión a proteínas en el DNA representan áreas reguladoras; de modo que su análisis, puede arrojar alguna introspección acerca de la regulación génica. Las regiones del DNA de unión a proteínas pueden demostrarse de varias maneras. Con el análisis de retraso de las bandas (1) pueden diferenciarse los fragmentos de DNA unidos a proteínas de los no unidos, utilizando la electroforesis en gel en la dirección de los fragmentos pequeños; un fragmento de DNA que es parte de un complejo de DNA-proteína migra con más lentitud que un fragmento libre de DNA del mismo tamaño. El complejo DNA-proteína se ubica en una posición diferente ("banda retrasada"). Otro procedimiento para identificar sitios de unión de proteínas sobre el DNA es el patrón de huellas del DNA (*DNA footprinting*) (2). El principio del *footprinting* del DNA se basa en que una región del DNA donde se unen proteínas, por ejemplo el complejo polimerasa-promotor, está protegido de los efectos de una enzima que cliva el DNA (DNasa I). El DNA aislado con anterioridad se corta en diferentes fragmentos mediante la DNasa I, y los fragmentos se separan de acuerdo con su tamaño por electroforesis en gel. Dado que la región del DNA de unión a la proteína está protegida del clivaje por la DNasa I (experimento de protección a la DNasa I), se pierden las bandas del DNA de esa región de unión (huellas).

BIBLIOGRAFÍA

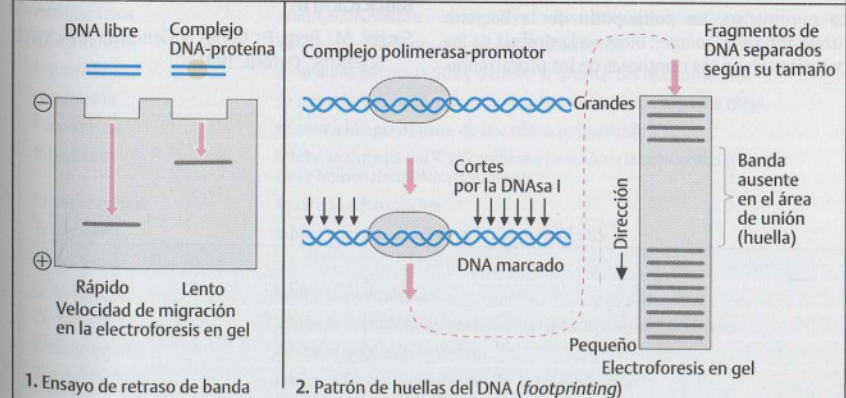
- Alberts, B., et al.: *Molecular Biology of the Cell*. 3rd ed. Garland Publishing Co., New York, 1994.
 Alberts, B., et al.: *Essential Cell Biology*. Garland Publishing Co., New York, 1998.
 Lodish, H., et al.: *Molecular Cell Biology*. 4th ed. Scientific American Books, F.H. Freeman & Co., New York, 1999.



A. Dímero de cierre de leucinas



B. Activación por unión de una hormona esteroide



1. Ensayo de retraso de banda

2. Patrón de huellas del DNA (*footprinting*)

C. Demostración de un sitio de unión a proteínas en el DNA

Inhibidores de la transcripción y de la traducción

Hay varias sustancias naturales y artificiales capaces de inhibir la transcripción o la traducción. Pueden usarse para tratar el cáncer o como antibióticos para tratar infecciones. A pesar de que la mayoría de estas sustancias son inespecíficas y no son apropiadas para propósitos terapéuticos, algunas son muy específicas y por lo tanto importantes para la comprensión de la transcripción y la traducción, y para la terapia. Básicamente, se puede distinguir si un agente interfiere con la transcripción o con la traducción.

A. Inserción de la actinomicina D entre un par de bases GC

La actinomicina D es un complejo polipeptídico producido por una especie de las bacterias *Streptomyces*. Consiste de un anillo de fenoxazona con dos cadenas simétricas laterales (1). Actúa mediante la inserción intercalada entre dos bases GC vecinas en la doble hélice del DNA. Vista desde el costado (2) la molécula de actinomicina D puede distinguirse dentro de la doble hélice del DNA. En la observación desde arriba (3) la molécula de actinomicina D forma una capa delgada entre la doble hélice del DNA, unida por los dos pares de bases GC vecinos. El grado de inhibición por la actinomicina D varía con amplitud. Las concentraciones elevadas de actinomicina D bloquean la replicación, en tanto que las concentraciones bajas son suficientes para inhibir la transcripción.

B. La puromicina imita a un aminoacil tRNA

La puromicina, un polipéptido de la bacteria *Streptomyces alboniger*, bloquea la síntesis de los polipéptidos en los ribosomas de los procariontes

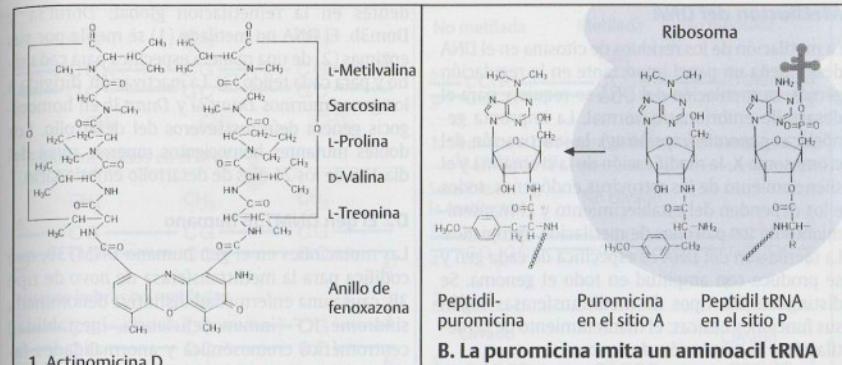
y los eucariontes. Su acción se basa en la similitud estructural con un aminoacil tRNA, que es una molécula de tRNA con un aminoácido unido a su extremo 3'. En condiciones normales un puente peptídico se forma por la peptidiltransferasa entre el grupo amino del aminoacil tRNA entrante en la posición A (aminoacil) y el grupo carboxilo del peptidil tRNA en la posición P (peptidil). La estructura de la puromicina se asemeja a la del aminoacil tRNA, pero al carecer de una interacción con el codón éste no puede pegarse a la posición A en el ribosoma. La combinación resultante de polipéptido-puromicina se remueve del ribosoma y la síntesis de la proteína finaliza en etapa prematura. (Figuras A y B de Singer y Berg, 1991.)

C. Inhibidores de la síntesis de proteínas

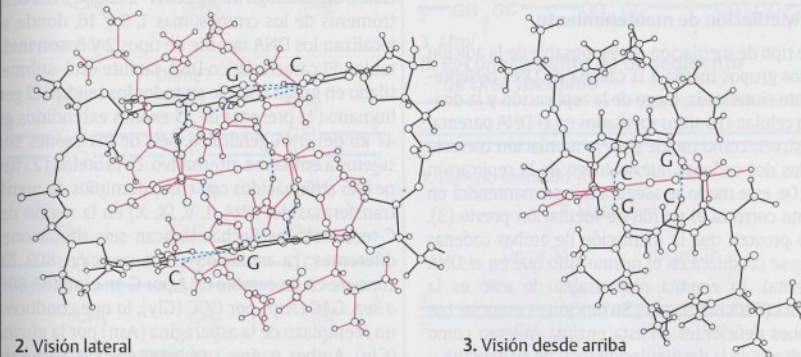
Numerosas sustancias naturales y otras producidas en forma sintética inhiben la síntesis de las proteínas por medio de la inhibición de la transcripción o de ciertas fases de la traducción. Algunas tienen significación clínica, como los antibióticos; otras son significativas desde el punto de vista toxicológico. Un ejemplo para la especificidad de algunos inhibidores es el α -amanitina, un octapéptido dicitólico del hongo *Amanita phalloides*. En muy baja concentración este compuesto se une a la RNA polimerasa II y bloquea la formación del mRNA primario en los eucariontes. Por el contrario, la RNA polimerasa I es insensible a esta toxina, y la polimerasa III sólo se une a ella en concentraciones elevadas. (Datos de Singer y Berg, 1991.)

BIBLIOGRAFÍA

Singer, M., Berg, P.: Genes & Genomes. Blackwell Scientific, Oxford, 1991.



1. Actinomicina D



2. Visión lateral

3. Visión desde arriba

A. Intercalación de la actinomicina D entre los pares de bases GC

En los procariontes (ejemplos):

Actinomicina	unión al DNA entre las bases G y C adyacentes (intercalación)
Cloranfenicol	inhibe la peptidiltransferasa del ribosoma 70S
Eritromicina	se une a la partícula 50S y detiene la síntesis del ribosoma 70S
Neomicina	se une a la subunidad ribosómica 30S e inhibe la unión del tRNA
Puromicina	terminación prematura de la cadena polipeptídica
Rifamicina	inhibe la síntesis del RNA mediante la unión a la subunidad β de la holoenzima RNA polimerasa
Estreptomycin	Igual a la eritromicina
Tetraciclina	inhibe la unión del rRNA a la subunidad 30S

En eucarionte (ejemplos):

α -Amanitina	inhibe la polimerasa II
Cloranfenicol	inhibe la peptidiltransferasa de los ribosomas mitocondriales
Cicloheximida	inhibe la peptidiltransferasa
Toxina diftérica	inhibe el factor de iniciación 2 y la translocación

C. Inhibidores de la síntesis de proteínas

Metilación del DNA

La metilación de los residuos de citosina en el DNA desempeña un papel importante en la regulación génica. La metilación del DNA se requiere para el desarrollo embrionario normal. La impronta genómica (*genomic imprinting*), la inactivación del cromosoma X, la modificación de la cromatina y el silenciamiento de los retrovirus endógenos, todos ellos dependen del establecimiento y el mantenimiento de los patrones de metilación apropiados. La metilación del DNA es específica de cada gen y se produce con amplitud en todo el genoma. Se distinguen dos tipos de metiltransferasas según sus funciones básicas: el mantenimiento de la metilación y la metilación *de novo*.

A. Metilación de mantenimiento

Este tipo de metilación es responsable de la adición de los grupos metilo a la cadena de DNA recientemente sintetizada, luego de la replicación y la división celular. Los sitios metilados en el DNA parental (1) sirven como molde para la metilación correcta de las dos cadenas nuevas luego de la replicación (2). De este modo se asegura que se mantendrá en forma correcta el patrón de metilación previo (3). Esto provoca que la metilación de ambas cadenas hijas se produzca en el mismo sitio que en el DNA parental. La enzima responsable de esto es la Dnmt1 (DNA metilasa 1). Su función es esencial. Los ratones deficientes en esta enzima mueren como resultado de la desmetilación total de su genoma.

B. Reconocimiento de un segmento de DNA metilado

Ciertas enzimas de restricción no cortan el DNA cuando sus secuencias de reconocimiento están metiladas (1). La enzima HpaII corta el DNA sólo cuando su secuencia de reconocimiento 5'-CCGG-3' no está metilada (2). La MspI reconoce la misma secuencia 5'CCGG-3' con independencia de la metilación y siempre cliva el DNA en ese sitio. Esta diferencia en el patrón de clivaje genera fragmentos de DNA de diferentes tamaños, que sirven para distinguir el patrón de metilación del DNA.

C. Metilación *de novo* del DNA

Éste es el segundo tipo de metilación del DNA. Aquí los grupos metilo se adicionan en posiciones nuevas en ambas cadenas del DNA, no sólo en la cadena hemimetilada como en el caso del mantenimiento de la metilación, mostrada en A. En época reciente descubrieron dos genes para dos metiltransferasas distintas, con funciones coinci-

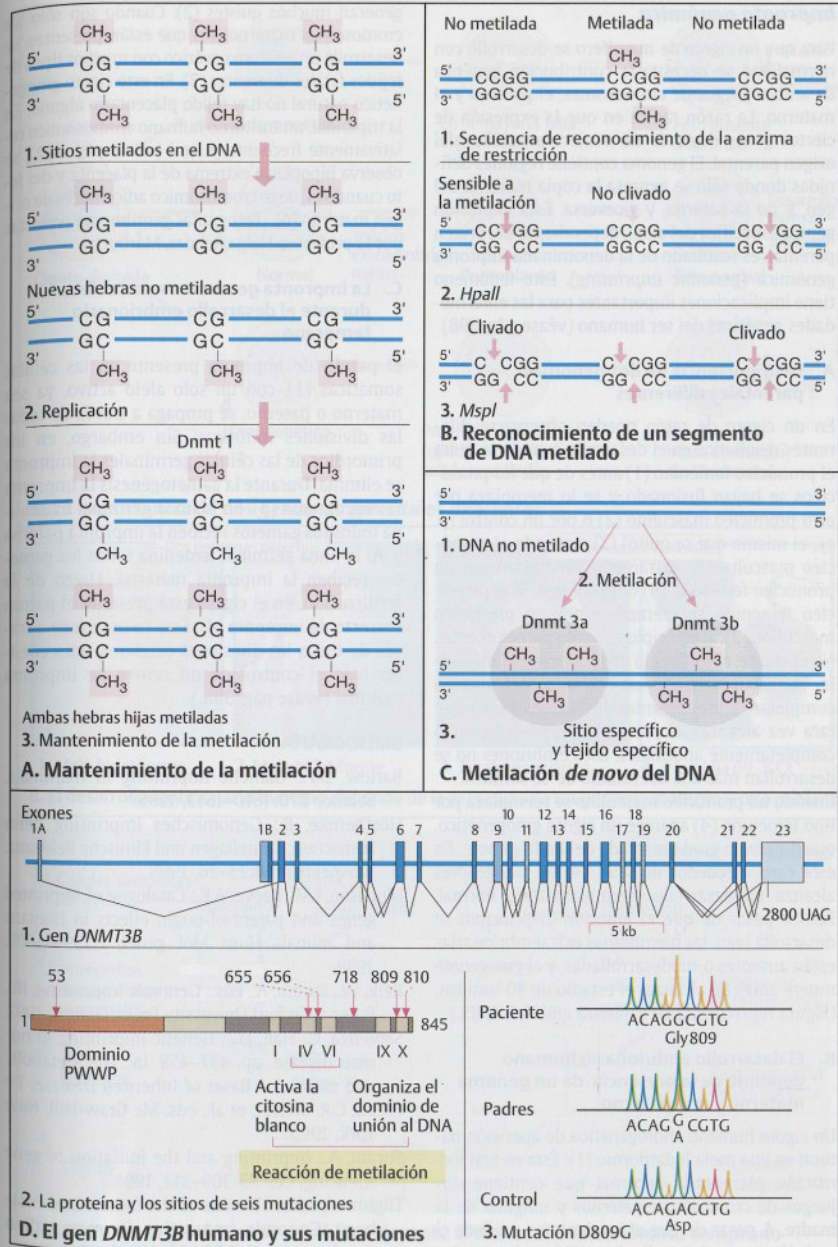
dentos en la remetilación global: Dnmt3a y Dnm3b. El DNA no metilado (1) se metila por sus enzimas (2) de una manera específica para cada sitio y para cada tejido (3). La inactivación dirigida a los genes murinos *Dnmt3a* y *Dnmt3b* en homocigosis genera defectos severos del desarrollo. Los dobles mutantes homocigotos mueren antes del día 11,5 de los 21 días de desarrollo embrionario.

D. El gen DNMT3B humano

Las mutaciones en el gen humano DNMT3B, que codifica para la metiltransferasa *de novo* de tipo 3B, causa una enfermedad distintiva denominada síndrome ICF (inmunodeficiencia, inestabilidad centromérica cromosómica y anomalidades faciales, del catálogo McKusick N° 242.860). Los centrómeros de los cromosomas 1, 9 y 16, donde se localizan los DNA satélite de tipos 2 y 3, son inestables. El característico DNA satélite está submetilado en grado notable en todos los tejidos. El gen humano (1) presenta de 23 exones extendidos en 47 kb del DNA genómico. Seis de los exones son sujetos a empalme alternativo. La proteína (2) tiene 845 aminoácidos con cinco dominios de metiltransferasas del DNA (I, V, IX, X) en la región del C-terminal. Las flechas indican seis mutaciones diferentes. La mutación en la posición 809 (3) consiste en un cambio de A por G en el codón 809, o sea, GAC (Asp) por GGC (Gly), lo que conduce a un reemplazo de la asparagina (Asn) por la glicina (Gly). Ambos padres son heterocigotos para esta mutación. (Figura adaptada de Xu y col., 1999.)

BIBLIOGRAFÍA

Bird, A.: DNA methylation de novo. *Science* 286:2287-2288, 1999.
 Hansen, R.S., et al.: *DNMT3B* DNA methyltransferase gene is mutated in the ICF immunodeficiency syndrome. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 96:14412-14417, 1999.
 Okano, M., et al.: DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for *de novo* methylation and mammalian development. *Cell* 99:247-257, 1999.
 Reik, W., Kelsey, G., Walter, J.: Dissecting *de novo* methylation. *Nature Genet.* 23:380-382, 1999.
 Robertson, K.D., Wolffe, A.P.: DNA methylation in health and disease. *Nature Reviews* 1:11-19, 2000.
 Xu, G., Bestor, T., et al.: Chromosome instability and immunodeficiency syndrome caused by mutations in DNA methyltransferase gene. *Nature* 402:187-191, 1999.



Impronta genómica

Para que un cigoto de mamífero se desarrolle con normalidad se necesita la contribución genética de ambos juegos de cromosomas, el paterno y el materno. La razón radica en que la expresión de ciertos genes depende de manera específica del origen parental. El genoma contiene regiones definidas donde sólo se expresa la copia materna del gen, y no la paterna, y viceversa. Esta expresión génica específica del alelo, dependiente del origen parental, es resultado de la denominada *impronta genómica (genomic imprinting)*. Este fenómeno tiene implicaciones importantes para las enfermedades genéticas del ser humano (véase pág. 398).

A. La importancia de dos genomas parentales diferentes

En un cigoto de ratón pueden observarse diferentes resultados en el desarrollo cuando se quita el pronúcleo femenino (1) antes de que los pronúcleos se hayan fusionado y se lo reemplaza por otro pronúcleo masculino (2) o por un control (p. ej., el mismo que se quitó) (3) o cuando el pronúcleo masculino se extrae y se reemplaza por un pronúcleo femenino (4) o un control. Si el pronúcleo femenino se reemplaza por un pronúcleo masculino (2), al principio el cigoto parece normal. No obstante, al momento de producirse el implante, la mayor parte de los androgenotes falla en completar la preimplantación (2). Los pocos que rara vez alcanzan el posimplante, se desarrollan completamente anormales. Esos embriones no se desarrollan más allá del estadio de 12 somitos. Cuando un pronúcleo masculino se reemplaza por uno femenino (4) aparece un cigoto ginogenético, que difiere en grado marcado del androgenote. En este caso, alrededor del 85% de los ginogenotes alcanza un desarrollo preimplantatorio normal. Pero a pesar de que el embrión al principio se desarrolla bien, las membranas extraembrionarias están ausentes o subdesarrolladas, y el ginogenote muere antes de alcanzar el estadio de 40 somitos. (Figura reproducida de Sapienza and Hal, 1995.)

B. El desarrollo embrionario humano depende de la presencia de un genoma materno y uno paterno

Un cigoto humano androgenético de aparición natural es una mola hidatiforme (1). Ésta es una formación placentaria anormal que contiene dos juegos de cromosomas paternos y ninguno de la madre. A pesar de que el implante se produce el embrión no se desarrolla. Los tejidos placentarios

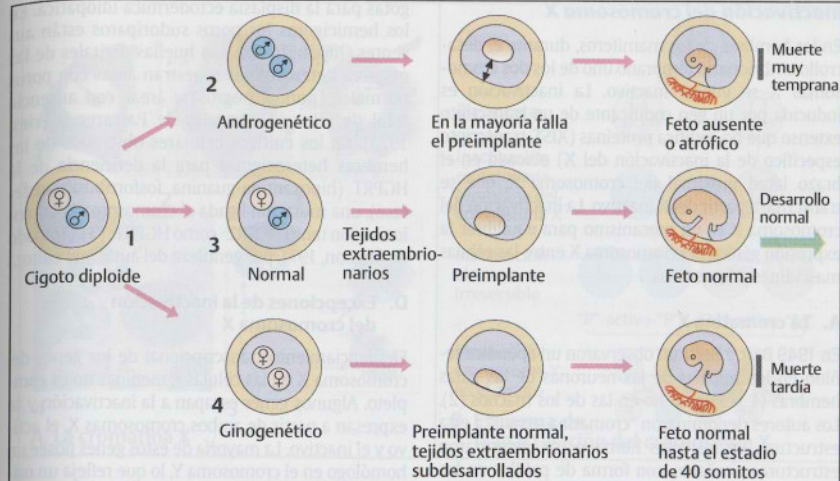
generan muchos quistes (2). Cuando son sólo los cromosomas maternos los que están presentes, se desarrolla un teratoma ovárico con muchos tipos de tejidos fetales diferentes (3). En este cigoto ginogenético natural no hay tejido placentario alguno. En la triploidía, un trastorno humano cromosómico relativamente frecuente y letal (véase pág. 402), se observa hipoplasia extrema de la placenta y del feto cuando el juego cromosómico adicional es de origen materno (4). (Fotografías gentilmente provistas por la profesora Helga Rehder, Marburg.)

C. La impronta genómica se establece durante el desarrollo embrionario temprano

El patrón de impronta presente en las células somáticas (1), con un solo alelo activo, ya sea materno o paterno, se propaga a través de todas las divisiones mitóticas. Sin embargo, en los primordios de las células germinales la impronta se elimina. Durante la gametogénesis la impronta se reprograma (3). En la línea germinal masculina todos los gametos reciben la impronta paterna y en la línea germinal femenina todos los gametos reciben la impronta materna. Luego de la fertilización, en el cigoto está presente el patrón correcto de impronta (4). Éste se mantiene a través de todas las divisiones celulares subsecuentes bajo el control de un centro de impronta regional (véase pág. 398.)

BIBLIOGRAFÍA

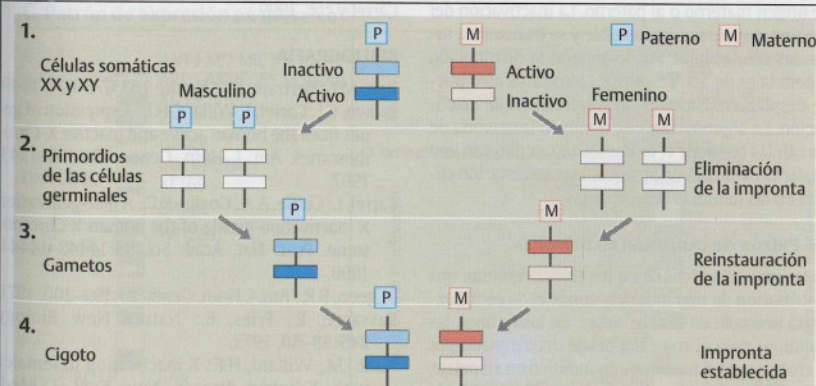
Barlow, D.P.: Gametic imprinting in mammals, *Science* 270:1610-1613, 1995.
 Hosthemke, B.: Genomisches Imprinting beim Menschen: Grundlagen und klinische Relevanz. *Biospektrum* 4:23-26, 1995.
 Morrison, I.M., Reeve, A.E.: Catalogue of imprinted genes and parent-of-origin effects in humans and animals. *Hum. Mol. genet.* 7:1599-1609, 1998.
 Reik, W., Surani, A., eds.: *Genomic Imprinting*. IRL Press at Oxford University Press, Oxford, 1997.
 Sapienza, C., Hall, J.G.: Genetic Imprinting in human disease. pp. 437-458. In: *The Metabolic and molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. C.R. Scriver, et al., eds. Mc Graw-Hill, New York, 1995.
 Surani, A.: Imprinting and the initiation of gene silencing. *Cell* 93:309-312, 1998.
 Tilghman, S.M.; The sins of the fathers and mothers: Genomic imprinting in mammalian development. *Cell* 96:185-193, 1999.



A. La importancia de dos genomas parentales diferentes



B. El desarrollo embrionario humano depende de la presencia de un genoma materno y uno paterno



C. La impronta genómica se establece durante el desarrollo embrionario temprano

Inactivación del cromosoma X

En las hembras de los mamíferos, durante el desarrollo embrionario temprano uno de los dos cromosomas X se vuelve inactivo. La inactivación es inducida por un gen codificante de un transcrito extenso que no codifica proteínas (XIST, transcrito específico de la inactivación del X ubicado en el brazo largo proximal del cromosoma X, que se transcribe a partir del X inactivo. La inactivación del cromosoma X es un mecanismo para equilibrar la expresión génica del cromosoma X entre las células masculinas y femeninas.

A. La cromatina X

En 1949 Barr y Bertram observaron un apéndice teñido en los núcleos de las neuronas de las gatas hembras (1 y 3) pero no en las de los machos (2). Los autores denominaron "cromatina sexual" a esta estructura. En los seres humanos se encontraron estructuras similares, con forma de palillos en los leucocitos de la sangre periférica (4) y como pequeños cuerpos periféricos en los núcleos de los fibroblastos y de las células de la mucosa oral (5). Cada una de estas estructuras representa uno de los cromosomas X y se conoce como cromatina X. (Figuras 1-3 tomadas de Barr y Bertram, 1949.)

B. Esquema de la inactivación del cromosoma X

Durante la embriogénesis temprana, alrededor del día 21 en los seres humanos, en las células femeninas se produce la inactivación al azar de la mayoría de los genes de uno de los cromosomas X. En una célula determinada, esto involucra al cromosoma X de origen materno o al paterno. La inactivación del X paterno suele ser irreversible y se transmite a todas las células hijas. Por lo general la distribución esperada es de 1:1. En ciertos casos raros esto puede desplazarse hacia un tipo preferencial de inactivación. En algunos casos extremos, si la mayoría de las células contiene el cromosoma X activo con una mutación, esto puede provocar la manifestación clínica en las hembras heterocigotas.

C. Patrón de expresión en mosaico

Los tejidos somáticos de las hembras presentan una distribución de tipo mosaico, donde cada célula expresa uno solo de los dos alelos. En los ratones, las mutantes para el color del pelaje determinado por el cromosoma X muestran un mosaico en su pelaje, con parches de color claro y oscuro (1, tomado de Thompson, 1965). En los seres humanos se observa una distribución similar de los poros sudoríparos normales y los ausentes, en las mujeres heteroci-

gotas para la displasia ectodérmica idiopática. En los hemocigotos los poros sudoríparos están ausentes (hipohidrosis). Las huellas digitales de las mujeres heterocigotas muestran áreas con poros normales (puntos negros) y áreas con ausencia total de ellos (2, tomadas de Passarge y Fries, 1973). En los cultivos celulares obtenidos de las hembras heterocigotas para la deficiencia de la HGPRT (hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa), una mutación ligada al cromosoma X, las colonias son tanto HPGRT⁻ como HGPRT⁺ (3). (Tomado de Migeon, 1971, por gentileza del autor y el editor.)

D. Excepciones de la inactivación del cromosoma X

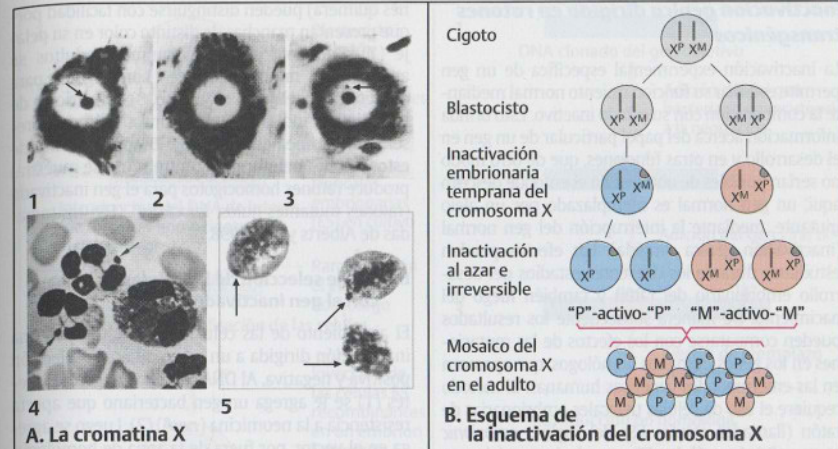
El silenciamiento transcripcional de los genes del cromosoma X en las células femeninas no es completo. Algunos genes escapan a la inactivación y se expresan a partir de ambos cromosomas X, el activo y el inactivo. La mayoría de estos genes posee un homólogo en el cromosoma Y, lo que refleja un origen evolutivo común. El panel D muestra los genes que se expresan en el cromosoma X inactivo humano. La mayoría se localiza en los extremos del cromosoma X. (Figura adaptada de Brown y col., 1997.)

E. Perfil de inactivación del cromosoma X

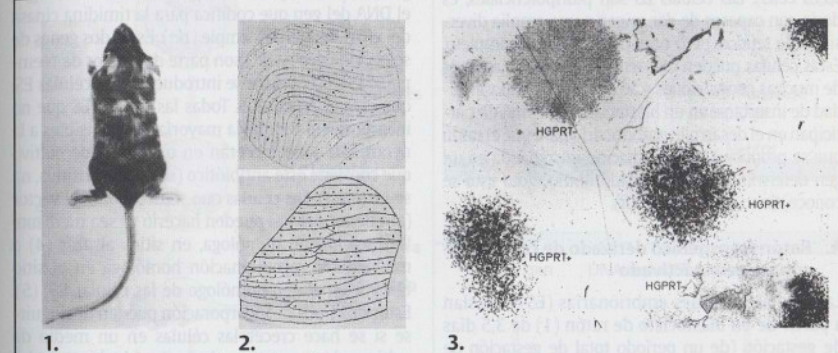
Un análisis de 224 transcritos ligados al cromosoma X mostró que 34 de ellos escapan a la inactivación (Carrel y col., 1999). Treinta y uno de éstos mapean en el brazo corto del cromosoma X. Los genes que se expresan se muestran como círculos vacíos, y los inactivados se ven como círculos llenos. Algunos genes de la región pseudoautosómica del Xp se muestran como diamantes. (Figura adaptada de Carrel y col., 1999.)

BIBLIOGRAFÍA

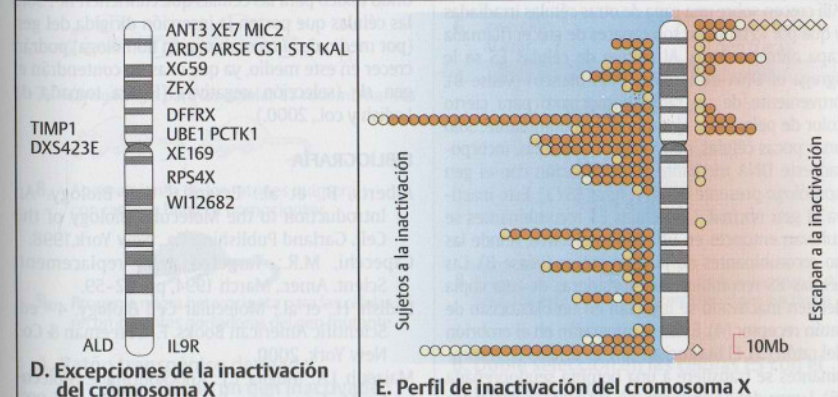
- Barr, M.L., Bertram, L.F.: Nature 163:676-677, 1949.
 Brown, C.J., Carrel, L, Willard, H.F.: Expression of genes from the human active and inactive X-Chromosomes. Am. J. Hum. Genet. 60:1333-1343, 1997.
 Carrel, L., Cottle, A.A., Goglin, K.C.: A first-generation X inactivation profile of the human X Chromosome. Proc. Nat. Acad. Sci. 96:14440-14444, 1999.
 Migeon, B.R.: Am. J. Hum. Genet. 23:199-200, 1971.
 Passarge, E., Fries, E.: Nature New Biology 245:58-59, 1973.
 Puck J.M., Willard, H.F.: X inactivation in females with X-linked disease. New Engl. J. Med. 338:325-327, 1998.
 Thompson, M.W.: Canad. J. Genet. Cytol. 7:202-213, 1965.



A. La cromatina X



C. Patrón de expresión en mosaico



D. Excepciones de la inactivación del cromosoma X

E. Perfil de inactivación del cromosoma X

Inactivación génica dirigida en ratones transgénicos

La inactivación experimental específica de un gen permite estudiar su funcionamiento normal mediante la comparación con su estado inactivo. Esto brinda información acerca del papel particular de un gen en el desarrollo y en otras funciones, que de otro modo no serían posibles de obtener. En el enfoque descrito aquí, un gen normal es reemplazado por un alelo mutante, mediante la interrupción del gen normal (inactivación génica dirigida). Los efectos pueden estudiarse durante los diferentes estadios del desarrollo embrionario del ratón y también luego del nacimiento. De manera subsiguiente los resultados pueden compararse con los efectos de las mutaciones en los genes humanos homólogos, que aparecen en las enfermedades genéticas humanas. El método requiere el uso de células troncales embrionarias de ratón (llamadas células ES; del inglés: *embryonic stem cells*). Las células ES son pluripotenciales, es decir, son capaces de dar origen a una amplia diversidad de tejidos, pero no a un organismo completo. Estas células pueden mantenerse en cultivo a través de muchas generaciones y aún mantienen su capacidad de insertarse en un blastocisto de ratón. Allí participan en el desarrollo embrionario para que el ratón que se produce lleve la mutación introducida en un gen determinado (en el estado homocigoto esto se conoce como ratón *knockout*).

A. Ratón transgénico derivado de células ES con un gen inactivado

Las células troncales embrionarias (ES) se aíslan a partir de un blastocisto de ratón (1) de 3,5 días de gestación (de un período total de gestación de 19,5 días) y se transfieren a una placa de cultivo (2). Allí crecen sobre una capa de otras células irradiadas y que por lo tanto no son capaces de crecer (llamada capa alimentadora). Al cultivo de células ES se le agrega el DNA de interés (DNA blanco) (véase B), proveniente de un ratón homocigoto para cierto color de pelaje, por ejemplo, negro dominante. Sólo unas pocas células, quizá sólo una de ellas, incorporan este DNA mediante recombinación con el gen homólogo presente en las células ES (3). Esto inactiva al gen normal. Las células ES recombinantes se cultivan entonces en un medio selectivo, donde las no recombinantes no pueden crecer (véase B). Las células ES recombinantes portadoras de una copia del gen inactivado se inyectan en un blastocisto de ratón receptor (4). Éstas se integrarán en el embrión del ratón (5). El blastocisto con las células ES recombinantes se transfiere a una hembra pseudopreñada (6). Luego del nacimiento (6), los ratones derivados de las células normales y de las recombinantes (rato-

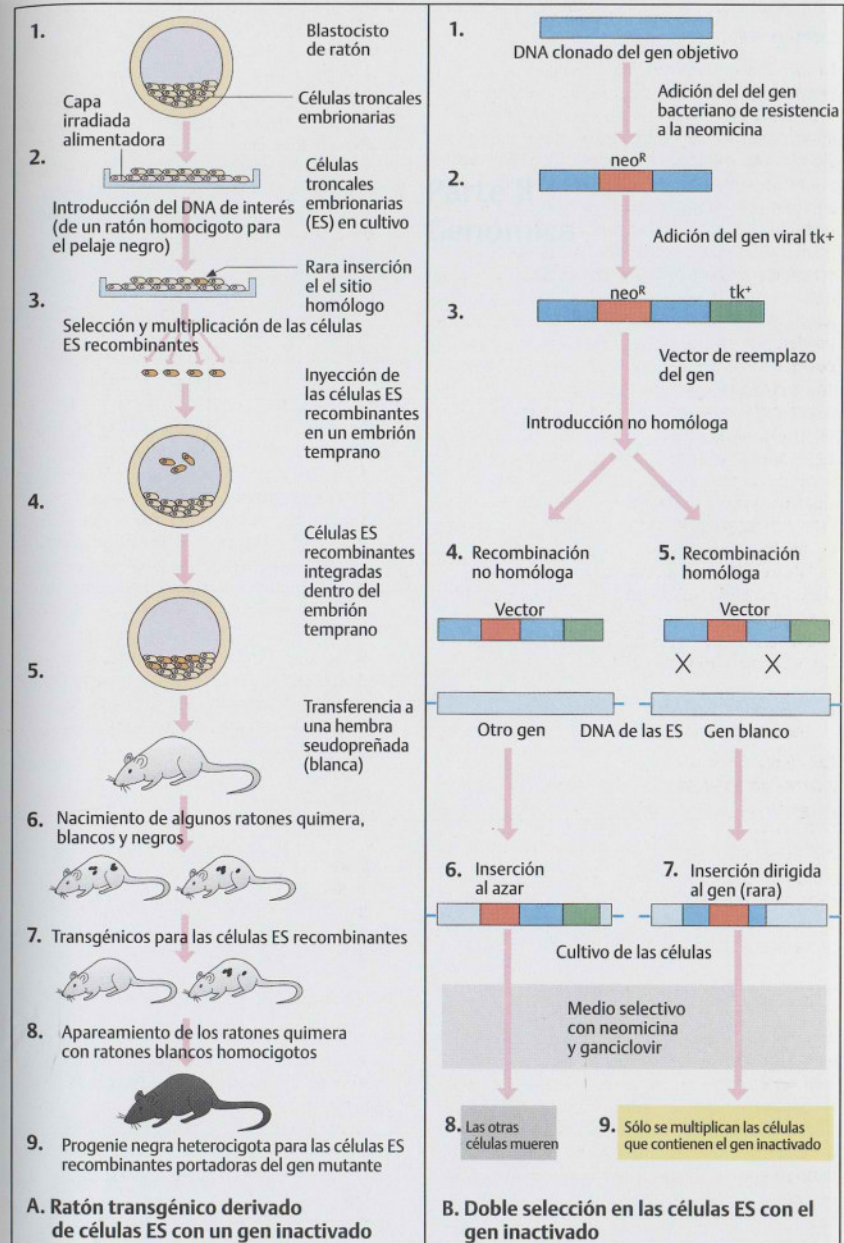
nes quimera) pueden distinguirse con facilidad porque presentan manchas de distinto color en su pelaje (7). Cuando los ratones quimera adultos se aparean con ratones normales homocigotos para otro color de pelaje (p. ej., blanco, 8), la aparición de hijos negros indica que el gen inactivado está presente en la línea germinal (9). El apareamiento de estos ratones heterocigotos entre sí (no se muestra) produce ratones homocigotos para el gen inactivado (ratones mutantes nulos, *knockout*). (Figuras tomadas de Alberts y col., 1998.)

B. Doble selección de las células ES con el gen inactivado

El aislamiento de las células ES de ratón con una inactivación dirigida a un gen requiere la selección positiva y negativa. Al DNA clonado del gen de interés (1) se le agrega un gen bacteriano que aporta resistencia a la neomicina (*neo^R*) (2). Luego se agrega el vector, por fuera de la zona de homología, el DNA del gen que codifica para la timidina cinasa del virus del herpes simple (*tk⁺*). Estos dos genes de selección (*neo^R* y *tk⁺*) son parte del vector de reemplazo (3). Este vector se introduce en las células ES, que crecen en cultivo. Todas las células ES que no incorporan el vector (la mayoría) son sensibles a la neomicina y no crecerán en un medio de cultivo que contiene este antibiótico (selección positiva, no se muestra). Las células que sí incorporan el vector (alrededor del 1%) pueden hacerlo ya sea mediante la inserción no homóloga, en sitios al azar (4) o mediante la recombinación homóloga en el sitio blanco (en el gen homólogo de las células ES) (5). Estos dos tipos de incorporación pueden distinguirse si se hace crecer las células en un medio de cultivo selectivo que contiene ganciclovir, un nucleótido tóxico para las células que contienen *tk⁺*. Sólo las células que porten la inserción dirigida del gen (por medio de la recombinación homóloga) podrán crecer en este medio, ya que ellas no contendrán el gen *tk⁺* (selección negativa). (Figura tomada de Lodish y col., 2000.)

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., et al.: *Essential Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell.* Garland Publishing Co., New York, 1998.
 Capecchi, M.R.: Targeted gene replacement. *Scient. Amer.*, March 1994, pp. 52-59.
 Lodish, H., et al.: *Molecular Cell Biology.* 4th ed. Scientific American Books, F.H. Freeman & Co., New York, 2000.
 Majzoub, J.A., Muglia, L.J.: Knockout mice. *Molecular Medicine.* *New Eng. J. Med.* 334:904-907, 1996.



La transacción genética de un gen... El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos...

El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos...

El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos...

El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos...

El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos...

El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos...

El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos...

BIBLIOGRAFÍA

Alberici, G. (1998) Introducción al cultivo de células. Garland Publishing, New York, 1998.
Esperchi, M.R. (1998) Scient. Amer. (1998) 279: 100-105.
Zhang, H. (1998) New York: Wiley.

Parte II Genómica

El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos... El desarrollo en otros tejidos...

Genómica, el estudio de la organización de los genomas

Un genoma contiene toda la información biológica necesaria para la vida y la reproducción.

El término genómica para el estudio de los genomas fue introducido en 1987 por V. A. McKusick y F. H. Ruddle por sugerencia de T. H. Roderick del Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine, Estados Unidos. El término *genómica* se extiende más allá de la *genética*. Mientras este último trata en primer término con la herencia y sus mecanismos y consecuencias, el término *genómica* comprende muchos aspectos relacionados con la biología molecular y celular: los diferentes tipos de mapas genómicos; secuenciación de ácidos nucleicos; recopilación, almacenamiento y manejo de los datos; identificación génica; análisis funcional (genómica funcional), evolución de los genomas; y otras áreas interdisciplinarias relacionadas con la amplia variedad de los genomas en los diferentes organismos. Un genoma eucarionte, contenido en los cromosomas, es muchas veces más grande que el genoma procarionte. Un genoma procarionte está constituido por un cromosoma circular con genes ordenados de manera compacta.

A partir de la secuenciación del genoma de los microorganismos se obtienen visiones importantes acerca de las funciones, la relación evolutiva, la resistencia a antibióticos y otros aspectos metabólicos necesarios para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas (revisado por Fraser et al., 2000.)

A. El genoma de un bacteriófago pequeño

El genoma de un bacteriófago suele estar constituido por DNA de cadena doble, aunque los genomas de algunos fagos están constituidos por DNA de cadena simple o por RNA. El tamaño de los genomas de los fagos está en el rango de 1.6 kb a más de 150 kb, que representan desde unos pocos a más de 200 genes. Uno de los fagos más pequeños es Φ X174. F. Sanger y col., secuenciaron su genoma por completo y encontraron que algunos de los diez genes de Φ X174 están superpuestos. (Figura adaptada de Watson y col., 1987, y Sanger y col., 1977.)

B. Genes superpuestos en Φ X174

Los genes A y B, B y C, y D y E se superponen parcialmente. En estas regiones superpuestas del genoma, se utiliza de manera diferencial un marco de lectura distinto por diferentes genes. El gen E

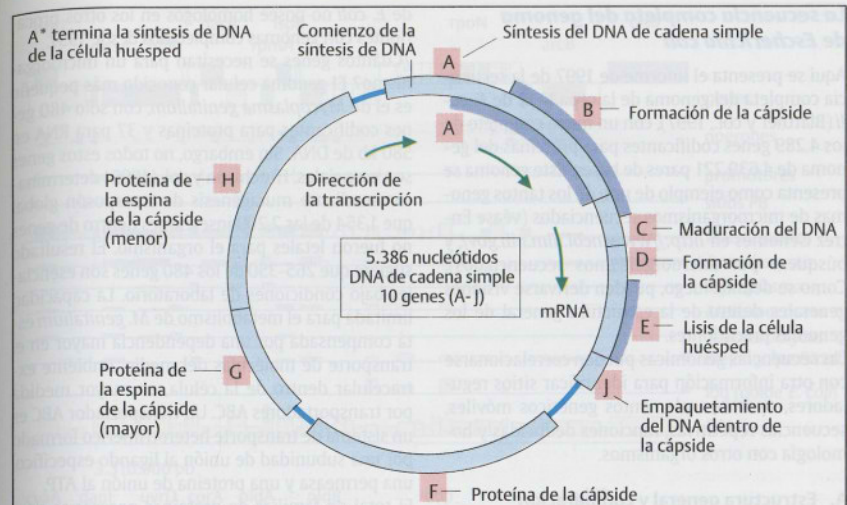
comienza con el codón de iniciación ATG, del que los dos primeros nucleótidos (AT) corresponden a los dos últimos nucleótidos del gen D. De modo similar, el codón de terminación TGA del gen E es parte de los codones GTG (valina) y ATG (metionina) del gen D.

C. El genoma de *Escherichia coli*

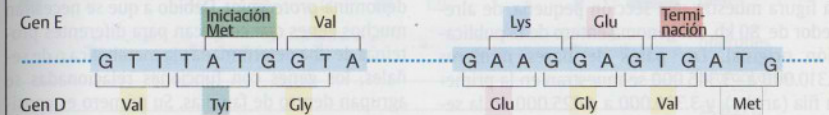
E. coli es un microorganismo importante. Coloniza el intestino grueso de los mamíferos, incluido el hombre en una relación simbiótica. Las cepas patógenas de *E. coli* causan infecciones gastrointestinales, urinarias, pulmonares y del sistema nervioso en los seres humanos. El genoma de *E. coli* posee 4.639.221 pb. Se identificó un total de 2.657 genes que codifican para proteínas con función conocida (62% de todos los genes) y 1.632 genes (38%) sin función conocida. La figura simplificada muestra ocho genes (A-H), el origen de replicación (ORI) y los genes para la DNA polimerasa y la metionina. Se muestran cuatro operones: el operón para la lactosa que está constituido por tres genes, para la galactosa con cuatro genes, para el triptófano con cinco genes y para la histidina con nueve genes. Alrededor de un cuarto de todos los genes de *E. coli* se organizan en 75 operones diferentes. La mayoría de los genes del genoma de *E. coli* están presentes como una copia única; sólo los genes para el RNA ribosómico (rRNA) están presentes en copias múltiples. Como resultado, las bacterias pueden duplicar su contenido proteico cada 20 minutos durante la división celular. (Figura adaptada de Watson y col., 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

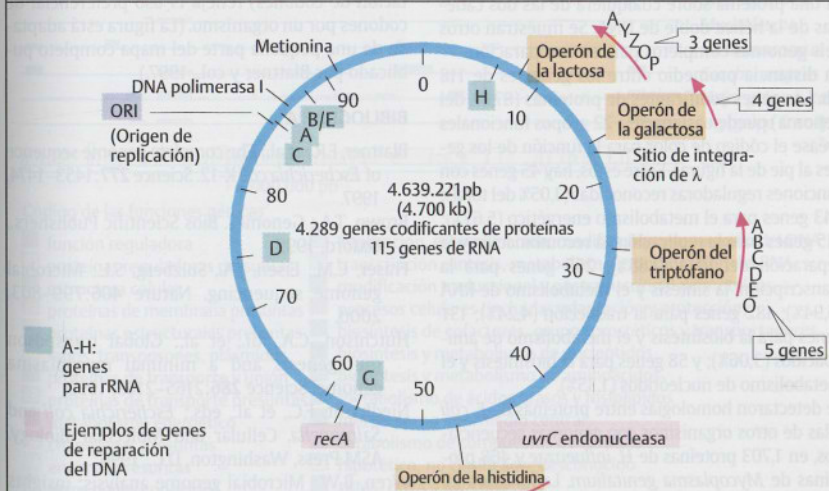
- Adams, M.D., et al.: The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science* **287**:285-2195, 2000.
- Brent, R.: Genomic biology. *Cell* **100**:169-183, 2000.
- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
- Fraser, C.M., Eisen, J.A., Sulzberg, S.L.: Microbial genome sequencing. *Nature* **406**:799-803, 2000.
- Lander, E.S., Weinber, R.A.: Genomics: Journey to the center of biology. *Science* **287**:1777-1782, 2000.
- Sanger, F., et al.: Complete sequence of the bacteriophage Φ 174. *Nature* **265**:687-695, 1977.
- Watson, J.D., et al.: Molecular Biology of the Gene. Vol I. 4th ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.



A. El genoma del bacteriófago Φ X174



B. Genes superpuestos en Φ X174



C. El genoma de *Escherichia coli*

La secuencia completa del genoma de *Escherichia coli*

Aquí se presenta el informe de 1997 de la secuencia completa del genoma de la cepa K-12 de *E. coli* (Blattner y col., 1997), con un mapa completo de los 4.289 genes codificantes para proteínas del genoma de 4.639.221 pares de bases. Este genoma se presenta como ejemplo de uno de los tantos genomas de microorganismos secuenciados (véase Entrez Genomes en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, y búscuese por microorganismos secuenciados). Como se define luego, pueden derivarse visiones generales dentro de la estructura general de los genomas procariontes.

Las secuencias genómicas pueden correlacionarse con otra información para identificar sitios reguladores, operones, elementos genéticos móviles, secuencias repetitivas, funciones deducidas y homología con otros organismos.

A. Estructura general y comparación con otras secuencias genómicas

La figura muestra una sección pequeña, de alrededor de 80 kb, del genoma entero de la publicación original. Los pares de bases números 3.310.000 a ~3.345.000 se muestran en la primera fila (arriba), y 3.339.000 a 4.025.000 en la segunda fila. La línea doble de arriba muestra genes de *E. coli* con un código de color que codifican para una proteína sobre cualquiera de las dos cadenas de la hélice doble de DNA. Se muestran otros seis genomas completos para su comparación.

La distancia promedio entre los genes es de 118 pb. Los genes codificantes de proteínas (87,8% del genoma) pueden asignarse a 22 grupos funcionales (véase el código de color para la función de los genes al pie de la figura). Entre éstos, hay 45 genes con funciones reguladoras reconocidas (1,05% del total); 243 genes para el metabolismo energético (5,67%); 115 genes para la replicación, la recombinación y la reparación del DNA (2,68%); 255 genes para la transcripción, la síntesis y el metabolismo de RNA (5,94%); 182 genes para la traducción (4,24%); 131 genes para la biosíntesis y el metabolismo de aminoácidos (3,06%); y 58 genes para la biosíntesis y el metabolismo de nucleótidos (1,35%).

Se detectaron homologías entre proteínas de *E. coli* y las de otros organismos con genomas secuenciados, en 1.703 proteínas de *H. influenzae* y 468 proteínas de *Mycoplasma genitalium*. La levadura (*S. cerevisiae*) tiene 5.885 proteínas que se corresponden con proteínas de *E. coli*. El 60% de las proteínas

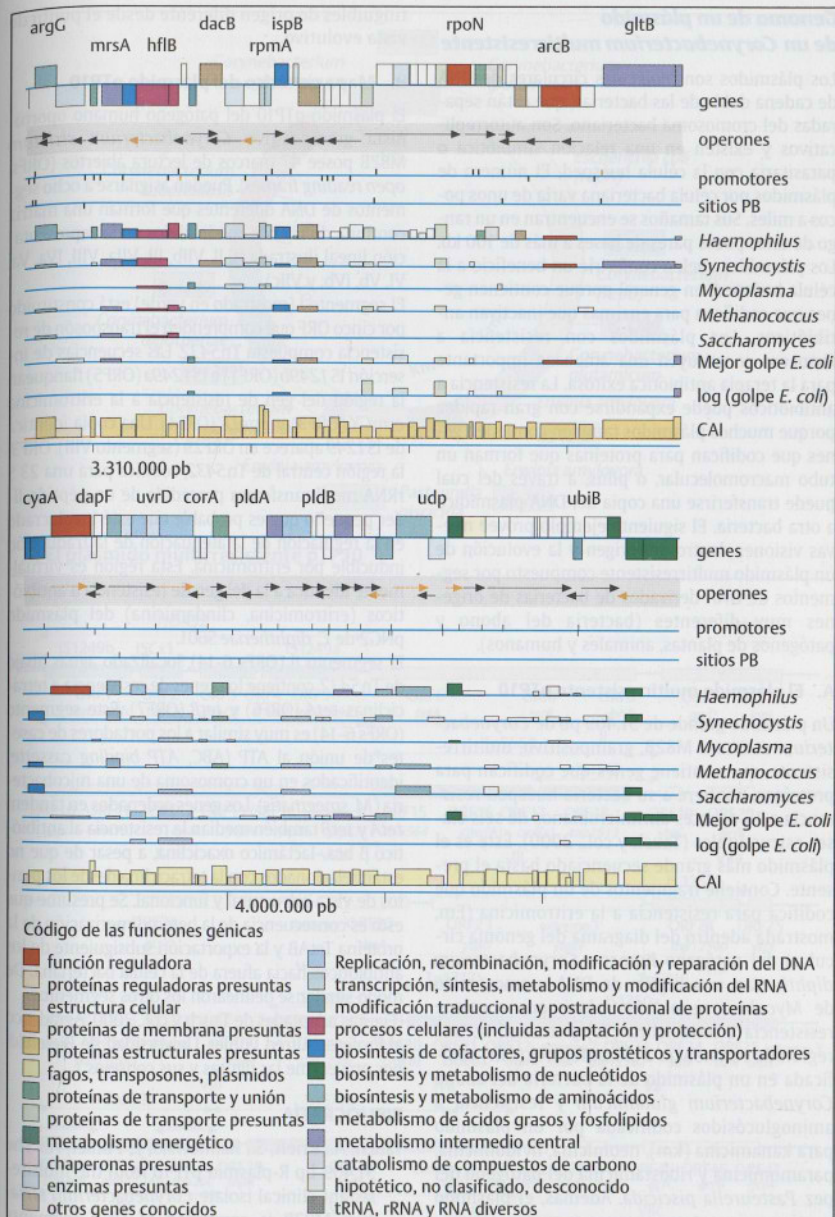
de *E. coli* no posee homólogos en los otros procariontes con genomas completados desde 1997.

¿Cuántos genes se necesitan para un microorganismo? El genoma celular conocido más pequeño es el de *Mycoplasma genitalium*, con sólo 480 genes codificantes para proteínas y 37 para RNA en 580 kb de DNA. Sin embargo, no todos estos genes son esenciales. Hutchison y col. (1999) determinaron mediante mutagénesis de transposón global que 1.354 de las 2.209 inserciones dentro de genes no fueron letales para el organismo. El resultado sugiere que 265-350 de los 480 genes son esenciales bajo condiciones de laboratorio. La capacidad limitada para el metabolismo de *M. genitalium* está compensada por una dependencia mayor en el transporte de moléculas del medio ambiente extracelular dentro de la célula, en mayor medida por transportadores ABC. Un transportador ABC es un sistema de transporte heterotrimérico formado por una subunidad de unión al ligando específico, una permeasa y una proteína de unión al ATP.

El total de familias de proteínas necesarias para un organismo se llama *proteoma*. Su estudio se denomina *proteómica*. Debido a que se necesitan muchos genes que codifican para diferentes proteínas de una determinada vía metabólica o de señales, los genes con funciones relacionadas se agrupan dentro de familias. Su número es considerablemente menor que el total de genes. El CAI (del inglés *codon adaption index*, índice de adaptación de codones) refleja el uso preferencial de codones por un organismo. (La figura está adaptada de una pequeña parte del mapa completo publicado por Blattner y col., 1997.)

BIBLIOGRAFÍA

- Blattner, F.R., et al.: The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science* 277:1453-1474, 1997.
- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publishers., Oxford, 1999.
- Fraser, C.M., Eisen, J.A., Sulzberg, S.L.: Microbial genome sequencing. *Nature* 406:799-803, 2000.
- Hutchison, C.A., III., et al.: Global transposon mutagenesis and a minimal mycoplasma genome. *Science* 286:2165-2169, 1999.
- Niedhardt, F.C., et al., eds.: *Escherichia coli* and *Salmonella*. Cellular and Molecular Biology. ASM Press, Washington, D.C., 1996.
- Wren, B.W.: Microbial genome analysis: insights into virulence, host adaptation and evolution. *Nature Reviews* 1:30-39, 2000.



A. La secuencia completa del genoma de *Escherichia coli* (región seleccionada de aprox. 80 kb)

Genoma de un plásmido de un *Corynebacterium* multirresistente

Los plásmidos son moléculas circulares de DNA de cadena doble de las bacterias, que están separadas del cromosoma bacteriano. Son autorreplicativos y existen en una relación simbiótica o parasitaria con la célula huésped. El número de plásmidos por célula bacteriana varía de unos pocos a miles. Sus tamaños se encuentran en un rango de unos pocos pares de bases a más de 100 kb. Los plásmidos suelen conferirle un beneficio a la célula huésped, en general porque contienen genes que codifican para enzimas que inactivan antibióticos. Los plásmidos con resistencia a fármacos constituyen una amenaza importante para la terapia antibiótica exitosa. La resistencia a antibióticos puede expandirse con gran rapidez porque muchos plásmidos también contienen genes que codifican para proteínas que forman un tubo macromolecular, o pilus, a través del cual puede transferirse una copia del DNA plasmídico a otra bacteria. El siguiente ejemplo provee nuevas visiones dentro del origen y la evolución de un plásmido multirresistente compuesto por segmentos de DNA derivados de bacterias de orígenes muy diferentes (bacteria del abono y patógenos de plantas, animales y humanos).

A. El plásmido multirresistente pTP10

Un plásmido grande de 51.409 pb de *Corynebacterium striatum* M82B, grampositivo, multirresistente, que contiene genes que codifican para proteínas, confiere a su bacteria huésped resistencia a 16 agentes antimicrobianos de seis clases estructurales (Tauch y col., 2000). Éste es el plásmido más grande secuenciado hasta el presente. Contiene fragmentos de un plásmido que codifica para resistencia a la eritromicina (Em, mostrada adentro del diagrama del genoma circular) del patógeno humano *Corynebacterium diphtheriae*, una región de DNA cromosómico de *Mycobacterium tuberculosis* que contiene resistencia a tetraciclina (Tc) y oxaciclina, una región de resistencia a cloranfenicol (Cm) codificada en un plásmido de la bacteria del abono *Corynebacterium glutamicum* y resistencia a aminoglicósidos codificada por un plásmido para kanamicina (km), neomicina, lividomicina, paramomicina y ribostamicina del patógeno del pez *Pasteurella piscicida*. Además, el plásmido contiene cinco transposones y cuatro secuencias de inserción (IS1249, IS1513, IS1250 e IS26) en ocho sitios diferentes. En total se identificaron ocho segmentos de DNA genéticamente dis-

tinguibles de origen diferente desde el punto de vista evolutivo.

B. Mapa genético del plásmido pTP10

El plásmido pTP10 del patógeno humano oportunista grampositivo *Corynebacterium striatum* M82B posee 47 marcos de lectura abiertos (ORFs, *open reading frames*). Pueden asignarse a ocho segmentos de DNA diferentes que forman una matriz continua de tramos subdivididos en la representación lineal ilustrada (I, II, VIIb, III, VIIa, VIII, IVa, Va, VI, Vb, IVb, y VIIc).

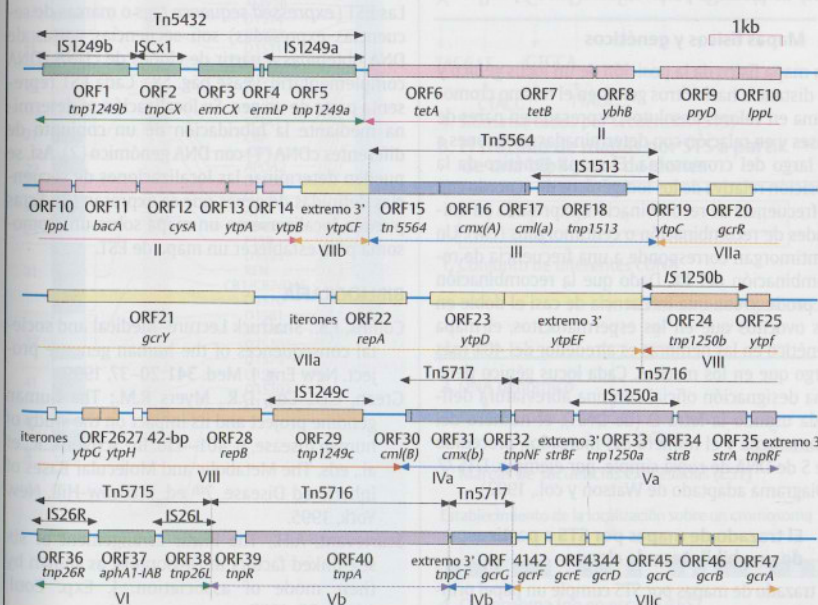
El segmento I (mostrado en verde) está constituido por cinco ORF que comprenden el transposón de resistencia compuesta Tn5432. Las secuencias de inserción IS1249b (ORF1) e IS1249a (ORF5) flanquean la región del gen de resistencia a la eritromicina *ermCX* (ORF3) y *ermLP* (ORF4). Una copia idéntica de IS1249 aparece en ORF29 (segmento VIII). ORF3, la región central de Tn5432, codifica para una 23 S rRNA metiltransferasa precedida de un péptido líder pequeño que es probable que esté involucrado en la regulación de la atenuación de la traducción inducible por eritromicina. Esta región es virtualmente idéntica a la del gen de resistencia a antibióticos (eritromicina, clindamicina) del plásmido pNG2 de *C. diphtheriae* S601.

El segmento II (ORFs 6-14), localizado aguas abajo de Tn5432, contiene los genes de resistencia a tetraciclinas *tetA* (ORF6) y *tetB* (ORF7). Este segmento (ORFs 6-14) es muy similar a los portadores de casetes de unión al ATP (ABC, *ATP binding cassette*) identificados en un cromosoma de una micobacteria (*M. smegmatis*). Los genes ordenados en tándem *tetA* y *tetB* también median la resistencia al antibiótico β bca.-lactámico oxaciclina, a pesar de que no están relacionados con la tetraciclina desde los puntos de vista estructural y funcional. Se presume que esto es consecuencia de la heterodimerización de la proteína TetAB y la exportación subsiguiente de los antibióticos hacia afuera de la célula bacteriana. De modo similar se delinearon los otros segmentos. (Figuras adaptadas de Tauch y col., 2000. Agradezco al Profesor Alfred Pühler, Universidad de Bielefeld, por proveerme las figuras y sus consejos.)

BIBLIOGRAFÍA

Tauch, A., Krief, S., Kalinowski, J., Pühler, A.: The 51,409-bp R-plasmid pTP10 from the multiresistant clinical isolate *Corynebacterium striatum* M82B is composed of DNA segments initially identified in soil bacteria and in plant, animal, and human pathogens. *Mol. Gen. Genet.*, 263:1-11, 2000.

A. El plásmido multirresistente pTP10



B. Mapa genético del plásmido pTP10

Este diagrama muestra el mapa genético del plásmido pTP10, detallando la posición de los genes y los elementos de inserción en los segmentos I a VIII. Los genes están representados por rectángulos de colores que coinciden con el mapa circular superior. Los elementos de inserción (IS) están indicados por líneas con flechas que muestran su orientación y posición dentro de los segmentos.

Mapas genómicos

Un mapa genómico es una representación lineal de los sitios genómicos importantes (genes y marcadores). Se refiere tanto a un cromosoma (mapa citogenético) como a un tramo de DNA. Un mapa provee información acerca de la posición de un marcador genómico en particular y su relación con los otros. Descifrar el genoma humano, en algunos aspectos, recuerda el trazado de mapas de nuevos continentes hace quinientos años.

Un *mapa genético* expresa las posiciones relativas de los genes entre sí sin un anclaje físico al cromosoma. Éste es el tipo de mapa utilizado por primera vez por A. H. Sturtevant en 1913 cuando trabajaba con T. M. Morgan (quien comenzó estudiando *Drosophila* en 1910). Aquí, la distancia entre los marcadores se determina por la frecuencia de recombinación durante la meiosis, que a su vez está determinada por la distancia relativa entre los loci (véase pág. 116). Un *mapa físico* provee información de la posición exacta de un gen o marcador. Su distancia a otro locus en el mismo cromosoma se expresa por el número de pares de bases (pb), un equivalente físico. Se emplea una serie de métodos para concretar un mapa físico.

A. Mapas físicos y genéticos

Un mapa físico da la posición de un locus génico y su distancia hacia otros genes en el mismo cromosoma en valores absolutos, expresada en pares de bases y en relación con determinadas posiciones a lo largo del cromosoma. El mapa genético da la posición relativa de los loci génicos de acuerdo con la frecuencia de recombinación, expresada en unidades de recombinación o centimorgans (cM). Un centimorgan corresponde a una frecuencia de recombinación del 1%. Dado que la recombinación se produce con una frecuencia de casi el doble en los ovocitos que en los espermatozoides, el mapa genético en las hembras es alrededor del 40% más largo que en los machos. Cada locus génico tiene una designación oficial con una abreviatura definida usando la letra D (de DNA), el número del cromosoma y el número del marcador, precedido de S de DNA de copia simple, por ejemplo, D1S77. (Diagrama adaptado de Watson y col., 1992).

B. El trazado de mapas por STS a partir de una biblioteca de clones

El trazado de mapas por STS cumple un papel principal en el mapeo genómico. Un STS (*sequence-tagged site* o sitio marcado por una secuencia) es un tramo corto (60-1.000 pb) de una secuencia nucleotídica de DNA única. Un STS posee un localiza-

ción específica y puede analizarse por PCR (véase pág. 66). La información relevante, es decir la secuencia de los oligonucleótidos de los cebadores (*primers*) utilizados para la reacción de PCR y otros datos, puede almacenarse por medios electrónicos y no depende de los especímenes biológicos.

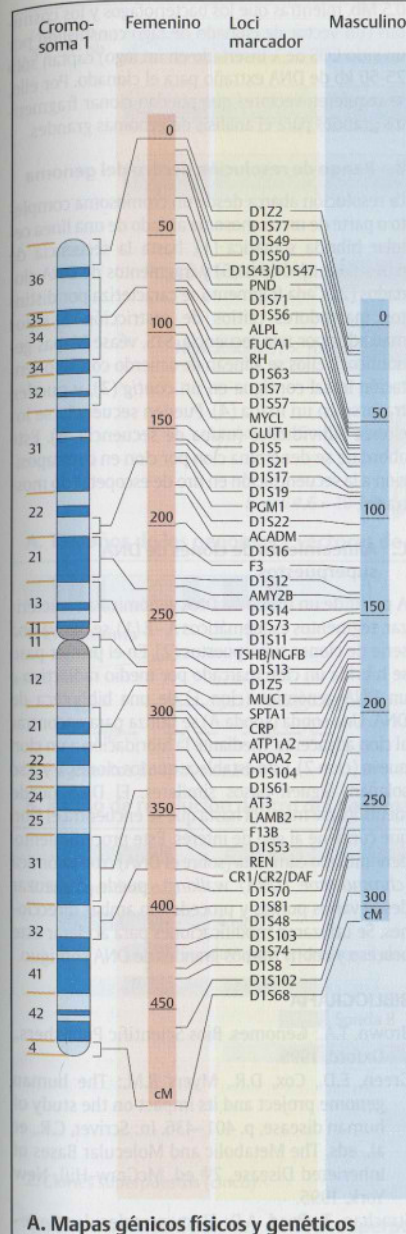
Uno puede empezar con una biblioteca de clones que contiene fragmentos de DNA en orden desconocido (1). Cada extremo del fragmento cromosómico se caracteriza por un patrón de sitios de restricción (véase pág. 64). Los fragmentos de DNA se ordenan determinando qué extremos se superponen, luego se ensamblan como una serie continua de fragmentos superpuestos en un "contig" clonado (2). Éstos se ordenan en forma lineal. Esto establece un mapa que muestra la localización y la distancia física de los marcadores, aquí A, B, C, etc. (3). Los sitios marcados por secuencias (STSs) se generan a partir de los dos extremos de los clones superpuestos. Esto involucra la secuenciación de 100-300 pb de DNA (4). En el genoma humano se caracterizaron más de 40.000 STSs en 1999 (véase GenBank en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

C. Mapeo por EST

Las EST (*expressed sequence tags* o marcas de secuencias expresadas) son secuencias cortas de DNA obtenidas a partir de clones de cDNA (DNA complementario, véase pág. 58). Cada EST representa parte de un gen. Su localización se determina mediante la hibridación de un conjunto de diferentes cDNA (1) con DNA genómico (2). Así, se pueden determinar las localizaciones de secuencias definidas de genes que se expresan (3). Éstos pueden localizarse en un mapa sobre un cromosoma para establecer un mapa de EST.

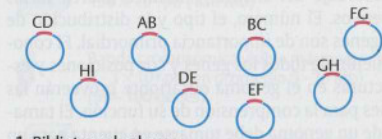
BIBLIOGRAFÍA

- Collins, F.S.: Shattuck Lecture—Medical and societal consequences of the human genome project. *New Eng. J. Med.* 341:20-37, 1999.
- Green, E.D., Cox, D.R., Myers R.M.: The human genome project and its impact on the study of human disease, p. 401-436. In: Scriver, C.R., et al., eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
- Sturtevant, A.H.: The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *J. Exp. Zool.* 14:43-59, 1992.
- Watson, J.D., et al.: *Recombinant DNA*. 2nd ed. Scientific American Books, W.H. Freeman & Co., New York, 1992.



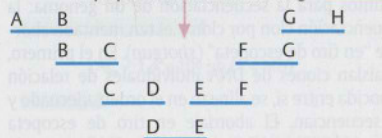
A. Mapas genéticos físicos y genéticos

Biblioteca de clones que contiene fragmentos de DNA con diferentes sitios de restricción A - I



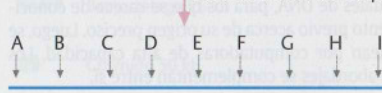
1. Biblioteca de clones

Ensamblado de fragmentos superpuestos dentro de un contig H I



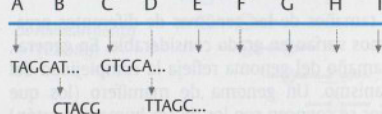
2. Contig de clones

Establecimiento de un mapa



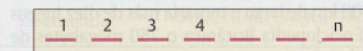
3. Mapa

Parte de la secuencia de los clones superpuestos



4. Sitios marcados por secuencias (STS)

B. El trazado de mapas por STS a partir de una biblioteca de clones

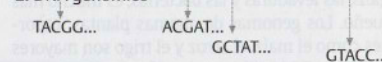


1. Conjunto de diferentes cDNA

Hibridación a DNA genómico



2. DNA genómico



3. Marcas de secuencias expresadas (EST)

Establecimiento de la localización sobre un cromosoma



4. Cromosoma (no en escala) y EST

C. Mapeo por EST

Abordaje del análisis genómico

El abordaje del análisis genómico abarca varios objetivos. El número, el tipo y la distribución de los genes son de importancia primordial. El conocimiento de todos los genes y sus posiciones y estructuras en el genoma eucariote proveerán las bases para la comprensión de su función. El tamaño de un genoma debe tomarse en cuenta para un estudio sistemático.

Pueden distinguirse dos tipos de abordajes básicos distintos para la secuenciación de un genoma: la secuenciación clon por clon y el tan mentado abordaje "en tiro de escopeta" (*shotgun*). En el primero, se aíslan clones de DNA individuales de relación conocida entre sí, se alinean en el orden adecuado y se secuencian. El abordaje en tiro de escopeta rompe el genoma en millones de fragmentos de relación desconocida. Se secuencian los clones individuales de DNA, para los que se carece de conocimiento previo acerca de su origen preciso. Luego, se alinean por computadoras de alta capacidad. Los dos abordajes se complementan entre sí.

A. Tamaños de los genomas y vectores de clonado

Los tamaños de los genomas de diferentes organismos varían en grado considerable. En general, el tamaño del genoma refleja la complejidad del organismo. Un genoma de mamífero (los que mejor se conocen son los de ser humano y ratón) contiene 3×10^9 pares de bases (pb) o 3.000 Mb. Si cada par nucleotídico estuviera representado por una letra de 1 mm de ancho, el texto tendría más de 3.000 km de largo o tomaría más de diez juegos de la Enciclopedia Británica o 750 megabytes de capacidad de una computadora. Entonces, encontrar todos los genes, trazar todas sus posiciones y determinar su estructura y función es una tarea inmensa (véase Proyecto Genoma Humano).

En comparación, el genoma de organismos modelo importantes como el de *Drosophila*, el nematodo *C. elegans*, las levaduras y las bacterias, es mucho más pequeño. Los genomas de algunas plantas importantes como el maíz, el arroz y el trigo son mayores aún (5.000-17.000 Mb) que los de mamíferos.

Dado que el tamaño de los fragmentos de DNA que pueden aislarse y multiplicarse en vectores de clonado para el análisis es relativamente pequeño, se necesita una alta capacidad de clonado para el análisis de un genoma grande. Los cromosomas artificiales de levaduras (YAC del inglés *yeast artificial chromosomes*) pueden llevar alrededor de 1,4 Mb, los cromosomas artificiales de bacterias (BAC del inglés *bacterial artificial chromosomes*), unos

0,5 Mb, mientras que los bacteriófagos y los cósmidos (un vector de clonado de fago constituido por un sitio COS de λ insertado en un fago) captan sólo 25-50 kb de DNA extraño para el clonado. Por ello, se requieren vectores que puedan clonar fragmentos grandes para el análisis de genomas grandes.

B. Rango de resolución dentro del genoma

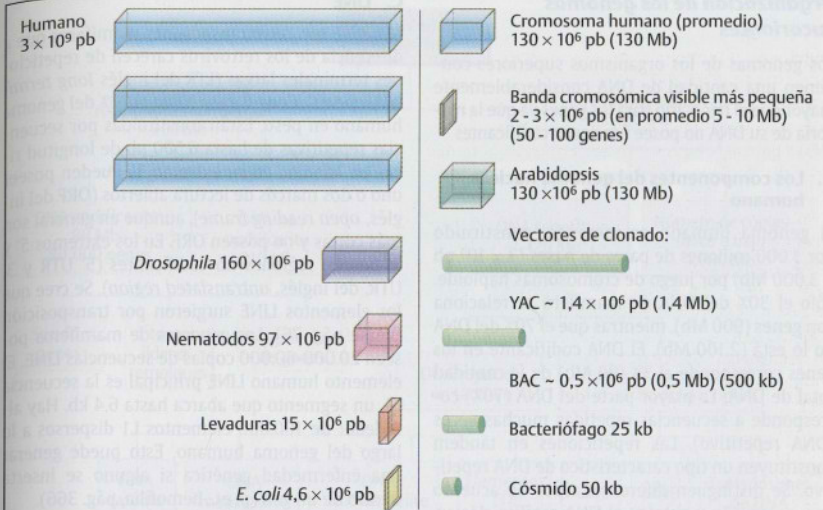
La resolución abarca desde un cromosoma completo o parte de un cromosoma aislado de una línea celular híbrida somática (1), hasta la secuencia de pares de nucleótidos (5) y fragmentos de DNA clonados (2). Cada fragmento se caracteriza por distintos marcadores (sitios de restricción o sitios marcados por una secuencia, STS, véase Mapas genómicos). Ellos se alinean de acuerdo con su orientación lineal contigua en un *contig* (3), y pueden trazarse en un mapa (4). Pueden secuenciarse los clones individuales (mapa de secuencia, 5). Este abordaje se denomina clon por clon en contraposición a la secuenciación en tiro de escopeta (no mostrado).

C. Alineamiento de clones de DNA superpuestos

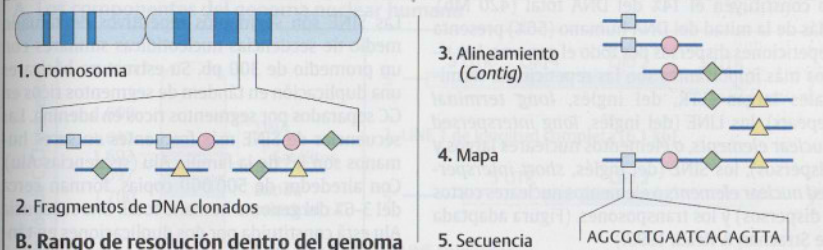
A partir de un tramo de DNA genómico a caracterizar, segmentos esquemáticos A - E (1), se deriva una serie de clones superpuestos (2). En el primer paso se hibrida un clon marcado por medio radiactivo a un DNA genómico (clon 1) de una biblioteca de DNA. Una sonda (sonda A) se utiliza para encontrar al clon adyacente mediante la hibridación a un clon nuevo (clon 2). Esto establece que los clones 1 y 2 se solapan. Siguen pasos similares. El DNA puede identificarse más allá hasta que se encuentra el clon que contiene al gen de interés. Este procedimiento, denominado caminata (sobre el DNA) cromosómica [*chromosome (DNA) walking*], puede comenzar desde varios puntos y proceder en ambas direcciones. Se utilizaron modificaciones para acelerar este proceso y cubrir tramos grandes de DNA contiguo.

BIBLIOGRAFÍA

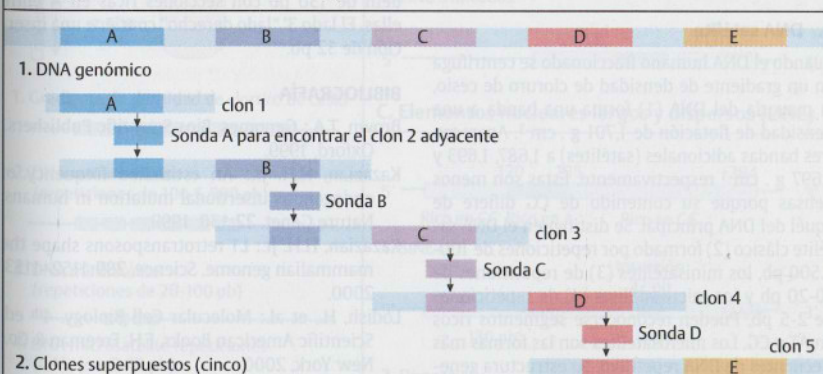
- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.
- Green, E.D., Cox, D.R., Myers R.M.: The human genome project and its impact on the study of human disease, p. 401-436. In: Scriver, C.R., et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
- Strachan, T., Read, A.P.: Human molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.



A. Tamaños de los genomas y vectores de clonado



B. Rango de resolución dentro del genoma



C. Alineamiento de clones de DNA superpuestos

Organización de los genomas eucariontes

Los genomas de los organismos superiores contienen una cantidad de DNA considerablemente mayor que el necesario para los genes ya que la mayoría de su DNA no posee funciones codificantes

A. Los componentes del genoma nuclear humano

El genoma humano es inmenso, constituido por 3.000 millones de pares de bases (3×10^9 pb o 3.000 Mb) por juego de cromosomas haploide. Sólo el 30% del DNA de mamífero se relaciona con genes (900 Mb), mientras que el 70% del DNA no lo está (2.100 Mb). El DNA codificante en los genes corresponde al 3% (90 Mb) de la cantidad total de DNA. La mayor parte del DNA (70%) corresponde a secuencias repetidas muchas veces (DNA repetitivo). Las repeticiones en tándem constituyen un tipo característico de DNA repetitivo. Se distinguen diferentes tipos de acuerdo con su tamaño y patrón: el DNA satélite clásico, los minisatélites y los microsatélites. En conjunto constituyen el 14% del DNA total (420 Mb). Más de la mitad del DNA humano (56%) presenta repeticiones dispersas por todo el genoma. Los tipos más importantes son las repeticiones terminales largas (LTR, del inglés, *long terminal repeats*), los LINE (del inglés, *long interspersed nuclear elements*, o elementos nucleares largos y dispersos), los SINE (del inglés, *short interspersed nuclear elements* o elementos nucleares cortos y dispersos) y los transposones. (Figura adaptada de Strachan & Read, 1999.)

B. DNA satélite

Cuando el DNA humano fraccionado se centrifuga en un gradiente de densidad de cloruro de cesio, la mayoría del DNA (1) forma una banda a una densidad de flotación de $1,701 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$. Aparecen tres bandas adicionales (satélites) a $1,687$, $1,693$ y $1,697 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ respectivamente. Éstas son menos densas porque su contenido de CG difiere de aquél del DNA principal. Se distinguen el DNA satélite clásico (2) formado por repeticiones de 100-6.500 pb, los minisatélites (3) de repeticiones de 10-20 pb y los microsatélites (4) de repeticiones de 2-5 pb. Pueden reconocerse segmentos ricos en AT y CG. Los microsatélites son las formas más frecuentes de DNA repetitivo. Su estructura general es $(CA)_n$ donde n es igual a 2-10. El genoma humano contiene 50.000-100.000 bloques $(CA)_n$ polimorfos.

C. LINE

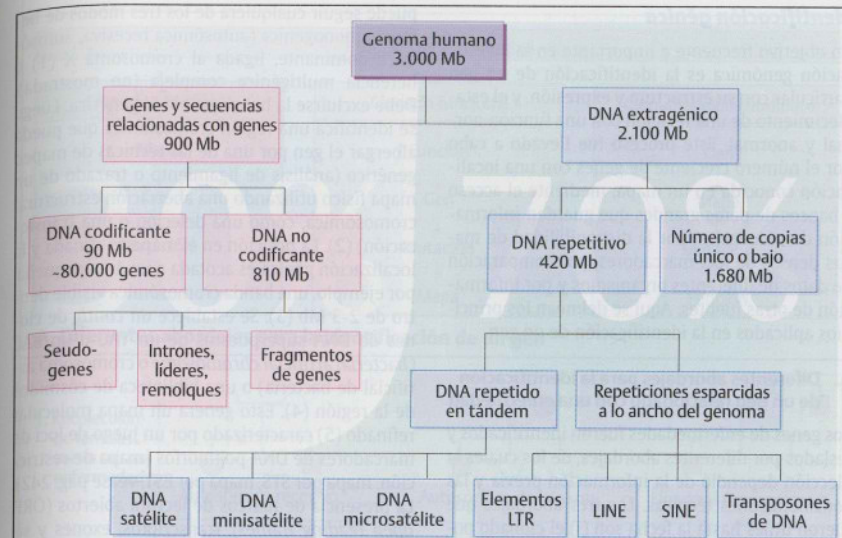
Las LINE son retrotransposones mamíferos que a diferencia de los retrovirus carecen de repeticiones terminales largas (LTR del inglés *long terminal repeats*). Constituyen hasta el 70% del genoma humano en peso. Están constituidas por secuencias repetitivas de hasta 6.500 pb de longitud ricas en adenina en su extremo 3'. Pueden poseer uno o dos marcos de lectura abiertos (ORF del inglés, *open reading frame*), aunque en general son más cortas y no poseen ORF. En los extremos 5' y 3' poseen regiones no codificantes (5' UTR y 3' UTR, del inglés, *untranslated region*). Se cree que los elementos LINE surgieron por transposición (véase pág. 76). Los genomas de mamíferos poseen 20.000-60.000 copias de secuencias LINE. El elemento humano LINE principal es la secuencia L1, un segmento que abarca hasta 6,4 kb. Hay alrededor de 100.000 elementos L1 dispersos a lo largo del genoma humano. Esto puede generar una enfermedad genética si alguno se inserta dentro de un gen (p. ej., hemofilia, pág. 366).

D. SINE

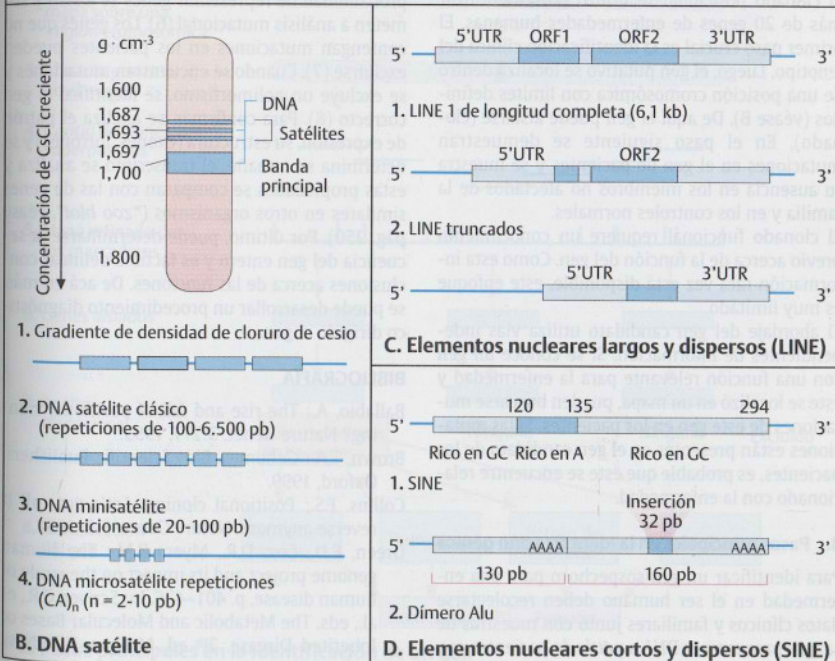
Las SINE son segmentos repetitivos de tamaño medio de secuencias nucleotídicas similares con un promedio de 300 pb. Su estructura básica es una duplicación en tándem de segmentos ricos en GC separados por segmentos ricos en adenina. Las secuencias de SINE más frecuentes en seres humanos son las de la familia Alu (secuencias Alu). Con alrededor de 500.000 copias, forman cerca del 3-6% del genoma humano total. Una secuencia Alu está constituida por dos duplicaciones en tándem de 130 pb con secciones ricas en A entre ellas. El lado 3' "lado derecho" contiene una inserción de 32 pb.

BIBLIOGRAFÍA

- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.
- Kazanian, H.H. Jr.: An estimated frequency of endogenous insertional mutation in humans. *Nature Genet.* 22:130, 1999.
- Kazanian, H.H. Jr.: L1 retrotransposons shape the mammalian genome. *Science.* 289:1152-1153, 2000.
- Lodish, H., et al.: *Molecular Cell Biology.* 4th ed, Scientific American Books, F.H. Freeman & Co., New York, 2000.
- Strachan, T., Read, A.P.: *Human molecular Genetics.* 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.



A. Los componentes del genoma nuclear humano



B. DNA satélite

D. Elementos nucleares cortos y dispersos (SINE)

Identificación génica

Un objetivo frecuente e importante en la investigación genómica es la identificación de un gen particular con su estructura y expresión, y el establecimiento de una relación con una función normal y anormal. Este proceso fue llevado a cabo por el número creciente de genes con una localización conocida en un mapa, mediante el acceso a bancos de datos grandes que guardan información de secuencias, por la disponibilidad de mapas densos de loci marcadores, por comparación de datos de diferentes organismos y por información de otras fuentes. Aquí se delimitan los principios aplicados en la identificación de un gen.

A. Diferentes abordajes para la identificación de un gen relacionado con una enfermedad

Los genes de enfermedades fueron identificados y aislados por diferentes abordajes, de los cuales la elección dependió de la información previa y las consideraciones técnicas. Los tres abordajes que fueron útiles hasta la fecha son (i) el clonado posicional, (ii) el clonado funcional y (iii) el clonado de un gen candidato.

El clonado posicional se utilizó para identificar más de 20 genes de enfermedades humanas. El primer paso crucial es la identificación clínica del fenotipo. Luego, el gen putativo se localiza dentro de una posición cromosómica con límites definidos (véase B). De aquí el gen puede aislarse (clonado). En el paso siguiente se demuestran mutaciones en el gen de pacientes y se muestra su ausencia en los miembros no afectados de la familia y en los controles normales.

El clonado funcional requiere un conocimiento previo acerca de la función del gen. Como esta información rara vez está disponible, este enfoque es muy limitado.

El abordaje del gen candidato utiliza vías independientes de información. Si se conoce un gen con una función relevante para la enfermedad y éste se localizó en un mapa, pueden buscarse mutaciones de este gen en los pacientes. Si las mutaciones están presentes en el gen candidato de los pacientes, es probable que éste se encuentre relacionado con la enfermedad.

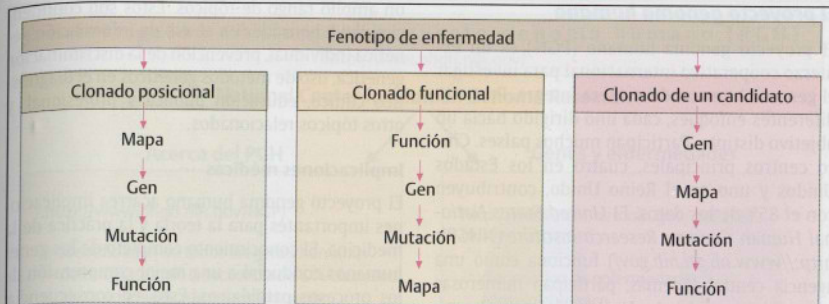
B. Pasos principales en la identificación génica

Para identificar un gen sospechoso para una enfermedad en el ser humano deben recolectarse datos clínicos y familiares junto con muestras de sangre para extraer DNA a partir de pacientes con la misma enfermedad en particular. El trastorno

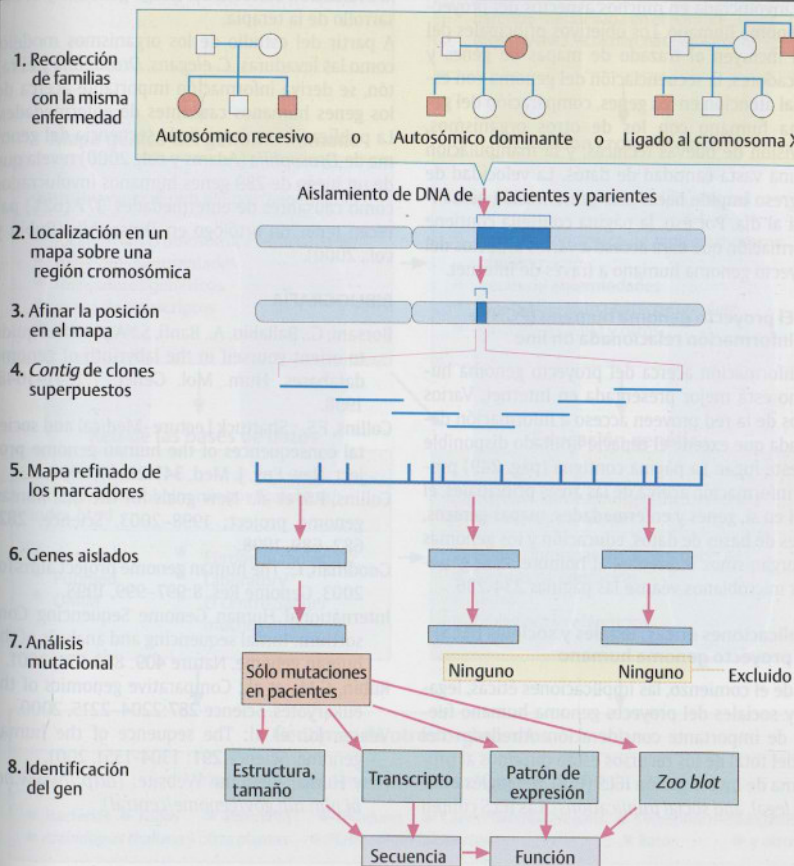
puede seguir cualquiera de los tres modos de herencia monogénica (autosómica recesiva, autosómica dominante, ligada al cromosoma X (1) o herencia multigénica compleja (no mostrada)). Debe excluirse la heterogeneidad genética. Luego se identifica una región cromosómica que pueda albergar el gen por una de las técnicas de mapeo genético (análisis de ligamiento o trazado de un mapa físico utilizando una aberración estructural cromosómica, como una deleción o una translocación) (2). La posición en el mapa es afinada y la localización génica es acotada a un área pequeña, por ejemplo, una banda cromosómica visible dentro de 2-3 Mb (3). Se establece un *contig* de clones de DNA superpuestos de un YAC o un BAC (*bacterial artificial chromosome* o cromosoma artificial de bacteria) o una biblioteca de cósmidos de la región (4). Esto genera un mapa molecular refinado (5) caracterizado por un juego de loci de marcadores de DNA polimorfos (mapa de restricción, mapa por STS, mapa por EST, véase pág. 242). La presencia de marcos de lectura abiertos (ORF, *open reading frames*), transcritos, exones y sitios de poliadenilación en esta región indica que se trata de un gen. Los tramos de DNA con mayor probabilidad de representar genes se aíslan y someten a análisis mutacional (6). Los genes que no contengan mutaciones en los pacientes pueden excluirse (7). Cuando se encuentran mutaciones y se excluye un polimorfismo, se identificó el gen correcto (8). Para confirmar, se analiza el patrón de expresión, su estructura (exones, intrones) y se determina su tamaño, el transcrito se analiza y estas propiedades se comparan con las de genes similares en otros organismos ("*zoo blot*", véase pág. 250). Por último, puede determinarse la secuencia del gen entero y es factible delinear conclusiones acerca de las funciones. De acá en más, se puede desarrollar un procedimiento diagnóstico dirigido al gen.

BIBLIOGRAFÍA

- Ballabio, A.: The rise and fall of positional cloning? *Nature Genet.* 3:277, 1993.
 Brown, T.A.: *Genomes*. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.
 Collins, F.S.: Positional cloning: Let's not call it reverse anymore. *Nature Genet.* 1:3, 1992.
 Green, E.D., Cox, D.R., Myers R.M.: The human genome project and its impact on the study of human disease, p. 401-436. In: Scriver, C.R., et al., eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.



A. Diferentes abordajes para la identificación de un gen



B. Pasos principales en la identificación de un gen

El proyecto genoma humano

El proyecto genoma humano (PGH) es un esfuerzo cooperativo internacional para investigar el genoma humano de manera íntegra. Presenta diferentes enfoques, cada uno dirigido hacia un objetivo distinto. Participan muchos países. Cinco centros principales, cuatro en los Estados Unidos y uno en el Reino Unido, contribuyen con el 85% de los datos. El *United States National Human Genome Research Institute* (NHGRI: <http://www.nh.gri.nih.gov/>) funciona como una agencia central. Además, participan numerosas compañías privadas. La *Human Genome Organization* (HUGO), una organización internacional, está involucrada en muchos aspectos del proyecto genoma humano. Los objetivos principales del PGH incluyen el trazado de mapas de genes y marcadores, la secuenciación del genoma con especial atención en los genes, comparación del genoma humano con los de otros organismos, provisión de nuevas técnicas, y la manipulación de una vasta cantidad de datos. La velocidad de progreso impide hacer una presentación actualizada al día. Por eso, la página contigua contiene información que dará acceso a varios aspectos del proyecto genoma humano a través de Internet.

A. El proyecto genoma humano (PGH) e información relacionada on line

La información acerca del proyecto genoma humano está mejor presentada en Internet. Varios sitios de la red proveen acceso a información detallada que excede el espacio limitado disponible en este lugar. La página contigua (pág. 249) provee información acerca de las áreas principales, el PGH en sí, genes y enfermedades, mapas genéticos, redes de bases de datos, educación y los genomas de organismos diferentes al hombre. Para genomas microbianos véanse las páginas 234-236.

Implicaciones éticas, legales y sociales (IELS) del proyecto genoma humano

Desde el comienzo, las implicaciones éticas, legales y sociales del proyecto genoma humano fueron de importante consideración. Alrededor del 3% del total de los recursos están dirigidos al programa de Investigación IELS (ELSI, del inglés *ethical, legal, and social implications*). Las IELS cubren

un amplio rango de tópicos. Éstos son confidencialidad y honradez en el uso de información genética individual, prevención de la discriminación genética, uso de métodos genéticos en el diagnóstico clínico, educación pública y profesional, y otros tópicos relacionados.

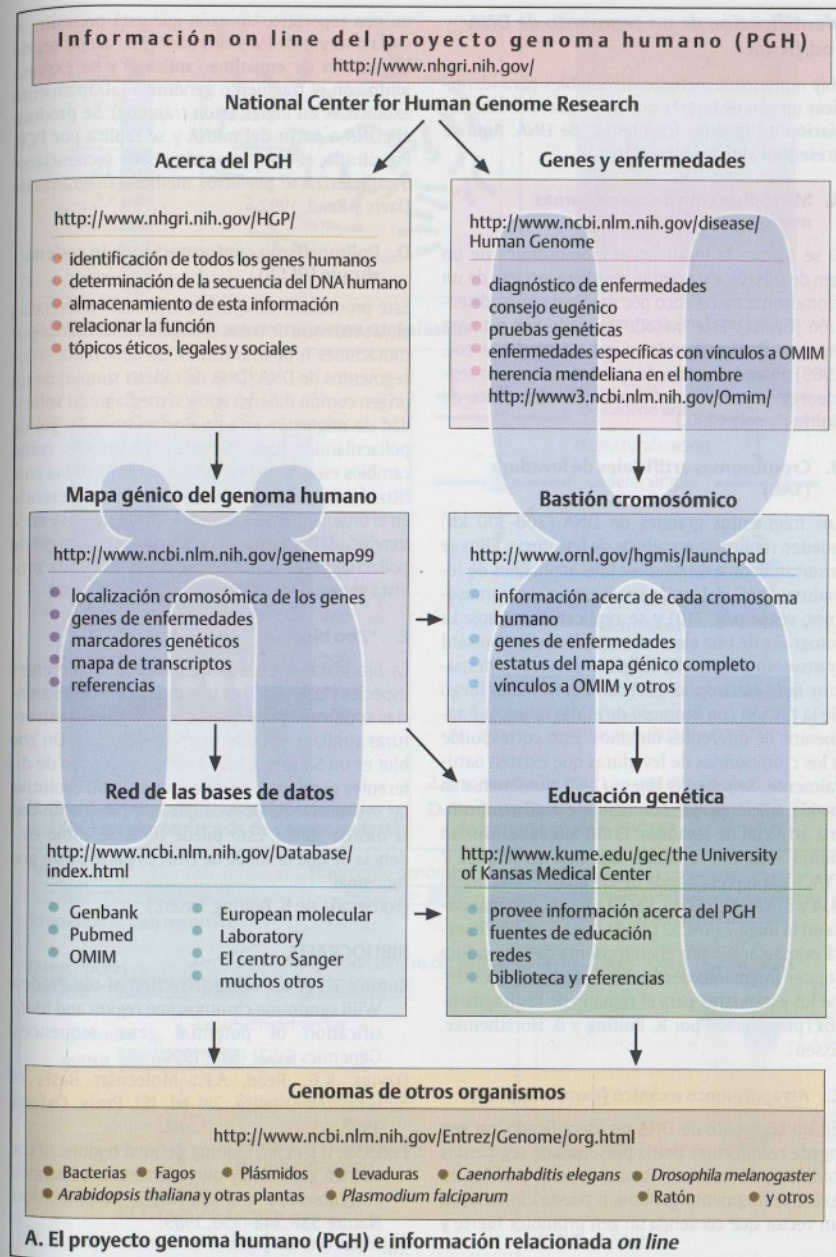
Implicaciones médicas

El proyecto genoma humano acarrea implicaciones importantes para la teoría y la práctica de la medicina. El conocimiento completo de los genes humanos conducirá a una mejor comprensión de los procesos patológicos. Esto, en consecuencia, llevará a una precisión mejorada del diagnóstico, la evaluación correcta del riesgo genético y el desarrollo de la terapia.

A partir del estudio de los organismos modelo, como las levaduras, *C. elegans*, *Drosophila* y el ratón, se deriva información importante acerca de los genes humanos causantes de enfermedades. La publicación reciente de la secuencia del genoma de *Drosophila* (Adams y col., 2000) revela que de un juego de 289 genes humanos involucrados como causantes de enfermedades, 177 (62%) parecen tener un ortólogo en *Drosophila* (Rubin y col., 2000).

BIBLIOGRAFÍA

- Borsani, G., Ballabio, A., Banfi, S.: A practical guide to orient yourself in the labyrinth of genome databases. *Hum. Mol. Genet.* 7:1641-1648, 1998.
- Collins, F.S.: Shattuck Lecture—Medical and societal consequences of the human genome project. *New Eng. J. Med.* 341:28-37, 1999.
- Collins, F.S. et al.: New goals for the U.S. human genome project: 1998-2003. *Science.* 282: 682-689, 1998.
- Goodman, L.: The human genome project aims for 2003. *Genome Res.* 8:997-999, 1998.
- International Human Genome Sequencing Consortium: Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921, 2001.
- Rubin, G.M., et al.: Comparative genomics of the eukaryotes. *Science* 287:2204-2215, 2000.
- Venter, J.C. et al: The sequence of the human genome. *Science* 291: 1304-1351, 2001.
- New Human Genome Website: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/central>).



A. El proyecto genoma humano (PGH) e información relacionada on line

Identificación de un segmento de DNA codificante

Hay numerosos métodos disponibles para identificar un gen de interés que no requiere la secuenciación de grandes fragmentos de DNA. Aquí se presentan algunos ejemplos.

A. Microdissección de cromosomas metafásicos

Si se conoce la localización cromosómica de un gen de interés, esta región puede recortarse de un cromosoma metafásico por medio de microdissección (flecha). Este método aplicado por primera vez por B. Horsthemke y col., (Lüdecke y col., 1989) posee la ventaja de que todos los otros segmentos cromosómicos son eliminados. (Foto de Buiting y col., 1990.)

B. Cromosomas artificiales de levadura (YAC)

Los fragmentos grandes de DNA (200-300 kb) pueden replicarse en células de levaduras. Ellos se insertan dentro de cromosomas artificiales de levaduras (YAC, del inglés *yeast artificial chromosomes*, véase pág. 110) y se replican con éstos. La fotografía de una electroforesis de campo pulsátil transverso (TAFE, del inglés *transverse alternating field electrophoresis*) con nueve líneas luego de la tinción con bromuro de etidio muestra fragmentos de diferentes tamaños. Esto corresponde a los cromosomas de levaduras que existen naturalmente. Seis de las líneas (2-7) contienen una banda adicional que corresponde a un cromosoma artificial de levadura. Están marcadas con un punto amarillo: la banda más baja en la línea 2 (YAC9), la tercera banda desde abajo en las líneas 3, 4 y 6 (YAC41, YAC45, YAC51), y la banda más baja en la línea 7 (YAC52). En la línea 5, el YAC50 está enmascarado por el cromosoma de la levadura (tercer fragmento desde abajo). La línea 1 contiene los estándares para el tamaño de los fragmentos (preparación por K. Buiting y B. Horsthemke, Essen).

C. Atrapamiento exónico (exon trapping)

En un segmento de DNA no identificado, un gen puede reconocerse por la presencia de segmentos codificantes (exones). Para encontrar y aislar un exón, el fragmento genómico puede clonarse en un vector que contenga un gen promotor fuerte y

un gen reportero. Un exón que está presente se corta a través de los sitios dadores y aceptores de las señales de empalme (*splicing*) y se expresa junto con el fragmento genómico (atrapamiento exónico, o, en inglés, *exon trapping*). Se produce el cDNA a partir del mRNA y se replica por PCR. Por último, el exón atrapado puede secuenciarse o caracterizarse por otros medios. (Diagrama de Davis y Read, 1992.)

D. Polimorfismo conformacional de cadena simple (PCCS)

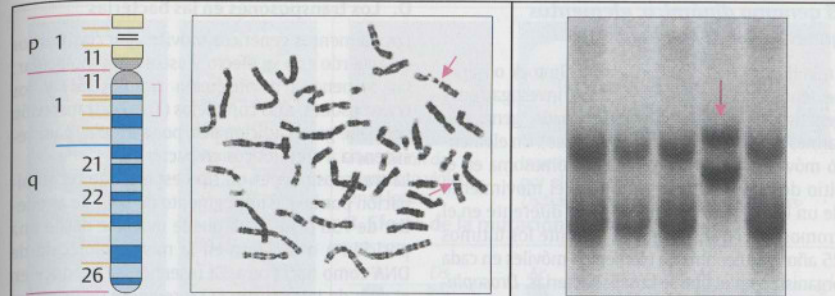
Este procedimiento ayuda a establecer diferencias en la secuencia de bases nitrogenadas causadas por mutaciones o polimorfismos. Se determina si los segmentos de DNA (DNA de cadena simple) de un origen común difieren entre sí mediante su velocidad de migración en una electroforesis en gel de poliacrilamida bajo diferentes condiciones, como cambios en la temperatura, en el pH, etc. Una sustitución de una base puede llevar a una diferencia en el ordenamiento espacial (conformación) y en la movilidad (línea 4, flecha). (Electroforesis en gel de poliacrilamida y tinción con plata, fotografía provista generosamente por D. Lohmann, Essen.)

E. "Zoo blot"

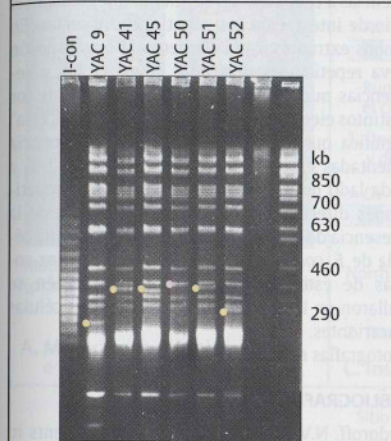
La hibridación cruzada de DNA entre diferentes especies ("zoo blot") es una indicación de secuencias codificantes, ya que los genes poseen estructuras similares en diferentes organismos. Un zoo blot es un Southern blot de DNA genómico de diferentes especies. Debido a una relación evolutiva las secuencias de DNA codificante hibridarán con la misma sonda. Esto puede tomarse como evidencia de que la sonda de DNA es parte de un gen funcional. (Fotografía de K. Buiting, Essen.)

BIBLIOGRAFÍA

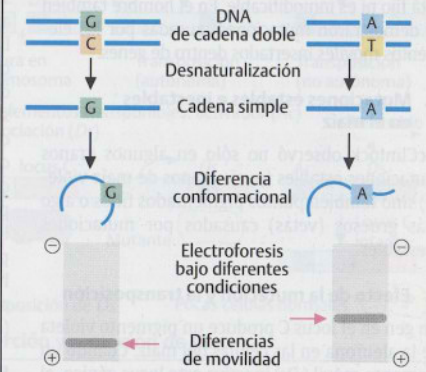
- Buiting, K., et al.: Microdissection of the Prader-Willi syndrome chromosome region and identification of potential gene sequences. *Genomics* 6:521-527, 1990.
- Davies, K.E., Read, A.P.: *Molecular Basis of Inherited Disease*. 2nd ed. IRL Press, Oxford, 1992.
- Lüdecke, H.J. et al.: Cloning defined regions of the human genome by microdissection of banded chromosomes and enzymatic amplification. *Nature* 338:348-350, 1989.



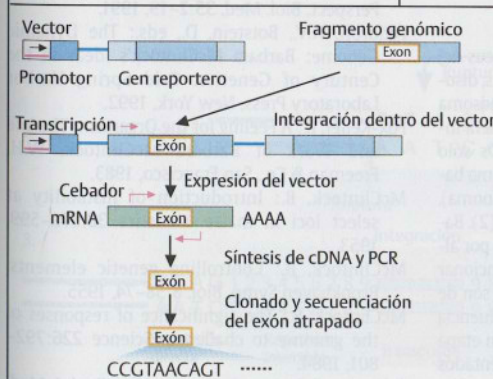
A. Microdissección de un cromosoma metafásico



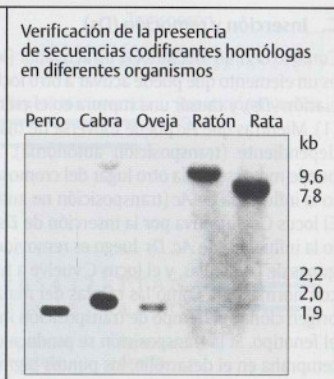
B. Cromosomas artificiales de levadura (YAC) en electroforesis de campo pulsátil



D. Polimorfismo conformacional de cadena simple (PCCS)



C. Atrapamiento exónico (exon trapping)



E. "Zoo blot"

El genoma dinámico: elementos genéticos móviles

En la década de 1950 Bárbara McClintock observó un fenómeno inusual durante sus investigaciones genéticas del maíz (*Zea mays*), llamado "genes saltarines" (elementos genéticos móviles). Un elemento móvil genera un corte en un cromosoma en el sitio de una inserción y produce el movimiento de un locus génico hacia un lugar diferente en el cromosoma (transposición). Durante los últimos 25 años se encontraron elementos móviles en cada organismo en el que se buscó: bacterias, *Drosophila*, el nematodo *C. elegans* y los mamíferos, incluido el hombre. Estas observaciones generaron el concepto de un genoma dinámico que de ningún modo está fijo ni es inmodificable. En el hombre también se demostraron mutaciones causadas por los elementos móviles insertados dentro de genes.

A. Mutaciones estables e inestables en el maíz

McClintock observó no sólo en algunos granos mutaciones estables (p. ej., granos de maíz violeta) sino también puntos pigmentados finos o algo más gruesos (vetas) causados por mutaciones inestables.

B. Efecto de la mutación y la transposición

Un gen en el locus C produce un pigmento violeta de la aleurona en las células del maíz. Cuando un elemento móvil (*Ds*) inactiva este locus génico, el maíz no tiene color. Si el *Ds* se remueve por la transposición, la función del locus C se restaura y aparecen pequeños puntos pigmentados.

C. Inserción y remoción (*Ds*)

Como lo definió McClintock, un activador (locus *Ac*) es un elemento que puede activar a otro locus, disociación (*Ds*), y causar una ruptura en el cromosoma (1). Mientras que *Ac* puede moverse de manera independiente (transposición autónoma), *Ds* sólo puede moverse hacia otro lugar del cromosoma bajo la influencia de *Ac* (transposición no autónoma). El locus C se inactiva por la inserción de *Ds* (2). Bajo la influencia de *Ac*, *Ds* luego es removido por algunas de las células, y el locus C vuelve a funcionar con normalidad. Como las células del maíz son de origen clonal, el tiempo de transposición influencia el fenotipo. Si la transposición se produce en etapa temprana en el desarrollo, los puntos pigmentados son relativamente grandes; si se presenta tardíamente, los puntos son pequeños.

D. Los transposones en las bacterias

Los elementos genéticos móviles son clasificados de acuerdo con su efecto y estructura molecular; las secuencias de inserción simples (*SI*) y los transposones, más complejos (*Tn*). Un transposón contiene genes adicionales, por ejemplo, para resistencia a antibióticos en bacterias. La transposición es un tipo especial de recombinación por la que un segmento de DNA de alrededor de 750 pb a 10 kb puede moverse desde una posición a otra, tanto en la misma molécula de DNA como hacia otra. La inserción se produce en el sitio de integración (1) y requiere una ruptura (2) con la integración subsiguiente (3). Las secuencias a cada lado del segmento integrado en el sitio de integración son repeticiones directas. En ambos extremos, cada elemento *SI* o transposón lleva repeticiones invertidas cuyos largos y secuencias nucleotídicas son características de los distintos elementos *SI* y *Tn*. La expresión "directa" significa que hay dos copias de una secuencia orientadas en la misma dirección (p. ej., TTAG a cada lado del transposón integrado). Las repeticiones directas e invertidas son evidencia de la presencia de un elemento genético móvil. Una célula de *E. coli* contiene un promedio de diez copias de este tipo de secuencias. También se hallaron en levaduras, *Drosophila* y otras células eucariontes.

(Fotografías de N. V. Fedoroff, 1984.)

BIBLIOGRAFÍA

- Fedoroff, N.V.: Transposable genetic elements in maize. *Sci. Am* 250:65-74, 1984.
- Fedoroff, N.V.: Maize transposable elements. *Perspect. Biol. Med.* 35:2-19, 1991.
- Fedoroff, N.V., Botstein, D., eds.: *The Dynamic Genome: Barbara McClintock's Ideas in the Century of Genetics*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1992.
- Fox-Keller, E.: *A Feeling for the Organism: The Life and Work of Barbara McClintock*. W.H. Freeman & Co., San Francisco, 1983.
- McClintock, B.: Introduction of instability at select loci in maize. *Genetics* 38:579-599, 1953
- McClintock, B.: Controlling genetic elements. *Brookhaven Symp. Biol.* 8:58-74, 1955.
- McClintock, B.: The significance of responses of the genome to challenge. *Science* 226:792-801, 1984.
- Schwartz, R.S.: Jumping genes. *New Engl. J. Med.* 332:941-944, 1995.

B. Efecto de la mutación y la transposición

1. Dos elementos transponibles: activador (*Ac*) y disociación (*Ds*)

2. Transposición de *Ds*

3. Inserción y remoción de *Ds*

A. Mutaciones estables e inestables en el maíz

Mutación estable (pigmento violeta) Vetas por una mutación inestable (puntos finos)

D. Los transposones en las bacterias

Sitio de integración

1. Ruptura

2. Repetición invertida (9 pb)

3. Integración

Repetición directa Repetición invertida Transposón Repetición invertida Repetición directa

Evolución de los genes y los genomas

Los genes y genomas del presente son resultado acumulativo de acontecimientos que tuvieron lugar en el pasado. La teoría clásica de la evolución formulada por Charles Darwin en 1859 establece que: i) todos los organismos vivos del presente descendieron de organismos que vivieron en el pasado, ii) los organismos que vivieron en tiempos más tempranos difieren de los que lo hacen en la actualidad, iii) los cambios fueron más o menos graduales, con sólo pequeños cambios a la vez, iv) los cambios en general llevaron a organismos divergentes; el número de tipos de organismos ancestrales es mucho menor que el de tipos actuales y v) todos los cambios se producen por causas que continúan en la actualidad y por lo tanto pueden estudiarse.

A. Evolución de un gen por duplicación

Las observaciones de diferentes genomas indican que deben de haberse producido diferentes tipos de duplicaciones: de genes individuales, de partes de genes (exones), duplicaciones subgenómicas, y extrañas duplicaciones de todo el genoma. La duplicación de un gen alivia la presión selectiva sobre ese gen. Luego de un episodio de duplicación, el gen puede acumular mutaciones sin comprometer la función original, siempre que el gen duplicado logre un control regulador separado. (Figura adaptada de Strachan y Read, 1999.)

B. Evolución de un gen por la mezcla de exones

La estructura exón/intrón de los genes eucariontes presta gran versatilidad evolutiva. Pueden crearse genes nuevos si se ubican partes de genes existentes dentro de un nuevo contexto, utilizando propiedades funcionales en una combinación nueva. (Figura adaptada de Strachan y Read, 1999.)

C. Evolución de los cromosomas

La evolución también se produce por reordenamientos estructurales del genoma en el nivel cromosómico. Las especies relacionadas, por ejemplo, los mamíferos, difieren por el número de sus cromosomas y la morfología cromosómica, pero no por el número de genes, que en general están conservados en un grado notable. Se muestran los cromosomas humanos 2 y 5 en comparación con los correspondientes en tres primates relacionados en forma cercana, el chimpancé, el gorila y el orangután. El cromosoma humano 2 parece haber evolucionado de la fusión de dos

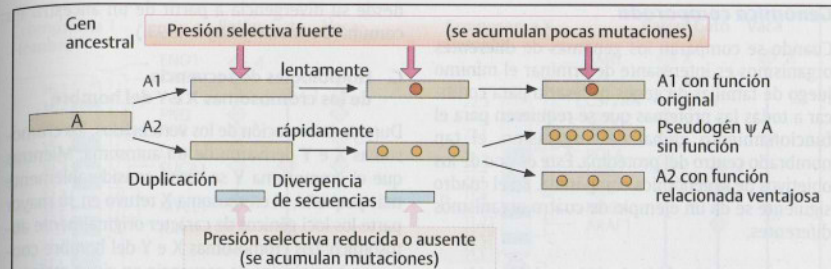
cromosomas de primates. Las diferencias en el cromosoma 5 son mucho más sutiles. El cromosoma 5 del orangután difiere de aquél del humano y otros primates por una inversión pericéntrica. El patrón de bandas de todos los cromosomas de primates es muy similar. Esto refleja su relación evolutiva cercana. (Figura adaptada de Yunis y Prakash, 1982.)

D. Filogenética molecular y reconstrucción del árbol evolutivo

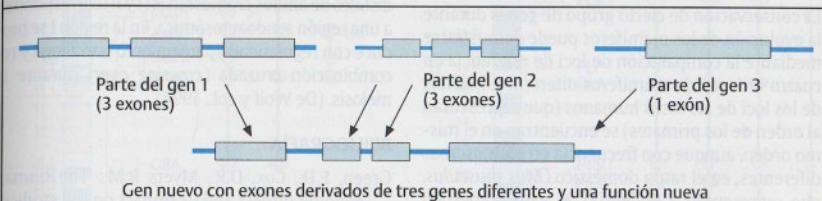
Puede establecerse una relación evolutiva convincente mediante la reconstrucción de acontecimientos pasados. Un árbol filogenético puede basarse en diferentes tipos de evidencia: fósiles, proteínas, datos inmunológicos, hibridación DNA-DNA y similitud de secuencias de DNA. Se determina el número de acontecimientos que deben haber tenido lugar para explicar la diversidad observada en el presente. En el camino desde un gen ancestral (1), pueden distinguirse diferentes episodios de divergencia (aquí se muestran esquemas de dos eventos). Sin embargo, los árboles no siempre son tan simples como se muestran aquí. Dado que el término homología no distingue si el origen evolutivo es común es dentro o entre especies, se utilizan los términos *paralogía* y *ortología* (2). Los genes o los segmentos cromosómicos no alélicos o las secuencias de DNA se denominan *parálogos* si evolucionaron *dentro* de una especie (p. ej., los dos loci de la α -globina en los seres humanos). Si evolucionaron *entre* especies antes de la divergencia, se llaman *ortólogos* (p. ej., los genes de la α -globina y de la β -globina).

BIBLIOGRAFÍA

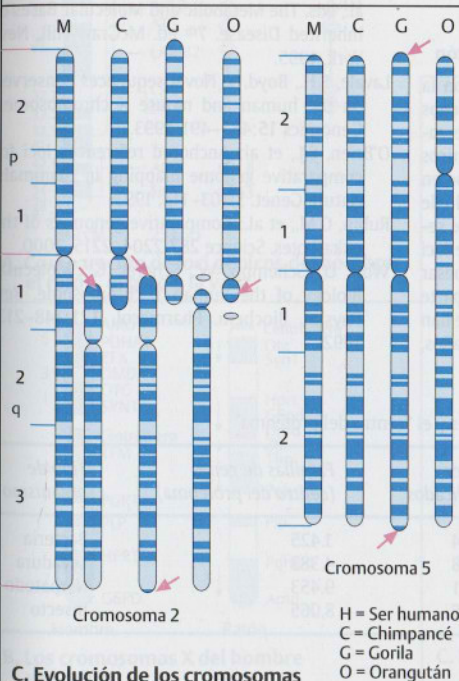
- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
- Cavalli-Sforza, L.L., Menozzi, P., Piazza, A.: The History and Geography of Human Genes. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 1994.
- Moran, J.V., De Berardinis, J., Kazazian, H.H.: Exon shuffling by L1 retrotransposition. *Science* 283:1530-1534, 1999.
- Ohno, S.: Evolution by Gene Duplication. Springer Verlag, Heidelberg, 1970.
- Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford 1999.
- Yunis, J.J., Prakash, O.: The origin of man: A chromosomal pictorial legacy. *Science* 215: 1525-1530, 1982.



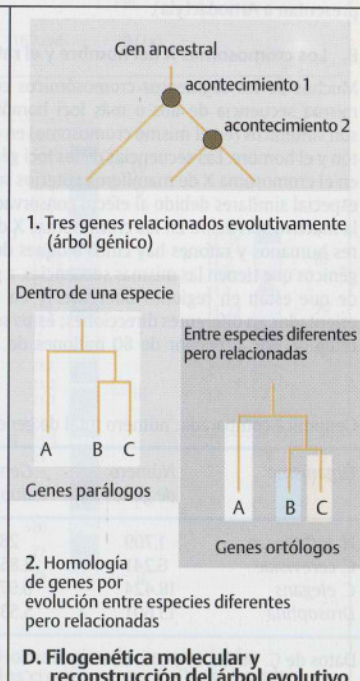
A. Evolución de un gen por duplicación



B. Evolución de un gen por la mezcla de exones



C. Evolución de los cromosomas



D. Filogenética molecular y reconstrucción del árbol evolutivo

Genómica comparada

Cuando se comparan los genomas de diferentes organismos es interesante determinar el mínimo juego de familias de genes necesario para codificar a todas las proteínas que se requieren para el funcionamiento global del organismo, el tan nombrado centro del proteoma. Éste es uno de los objetivos de la genómica comparada. En el cuadro siguiente se da un ejemplo de cuatro organismos diferentes.

A. Comparación de loci génicos del hombre, el ratón, el gato y la vaca

La conservación de cierto grupo de genes durante la evolución de los mamíferos puede demostrarse mediante la comparación de loci de referencia en cuatro órdenes de mamíferos diferentes. Muchos de los loci de los seres humanos (que representan al orden de los primates) se encuentran en el mismo orden, aunque con frecuencia en cromosomas diferentes, en el ratón doméstico (*Mus musculus*, que representan a Rodentia), el gato doméstico (que representan a Carnívora) y la vaca (que representan a Artiodactyla).

B. Los cromosomas X del hombre y el ratón

Muchos de los segmentos cromosómicos con la misma secuencia de dos o más loci homólogos son sinténicos (en el mismo cromosoma) en el ratón y el hombre. Las secuencias de los loci génicos en el cromosoma X de mamíferos euterios son en especial similares debido al efecto conservado de la inactivación del X. En los cromosomas X de seres humanos y ratones hay cinco bloques de loci génicos que tienen las mismas secuencias, a pesar de que están en regiones diferentes y en parte orientados en diferentes direcciones; éstos se han retenido por alrededor de 80 millones de años,

desde su divergencia a partir de un ancestro en común. (De Lavale y Boyd, 1993.)

C. Homologías de secuencia de los cromosomas X e Y del hombre

Durante la evolución de los vertebrados, los cromosomas X e Y derivaron de un autosoma. Mientras que el cromosoma Y se tornó considerablemente más pequeño, el cromosoma X retuvo en su mayor parte los loci génicos de carácter originalmente autosómico. Los cromosomas X e Y del hombre contienen homologías de secuencia en cinco regiones (I-V). Las secuencias homólogas en los extremos distales de ambos cromosomas (I y II) corresponden a una región pseudoautosómica. En la región I se produce con regularidad apareamiento homólogo y recombinación cruzada (*crossing over*) durante la meiosis. (De Wolf y col., 1992).

BIBLIOGRAFÍA

Green, E.D., Cox, D.R., Myers R.M.: The human genome project and its impact on the study of human disease, p. 401-436. In: Scriver, C.R., et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.

Lavale, S.H., Boyd, Y. Novel sequences conserved on the human and mouse X chromosomes. *Genomics* 15:483-491, 1993.

O'Brien, S.J., et al: Anchored references loci for comparative genome mapping in mammals. *Nature Genet.* 3:103-112, 1993.

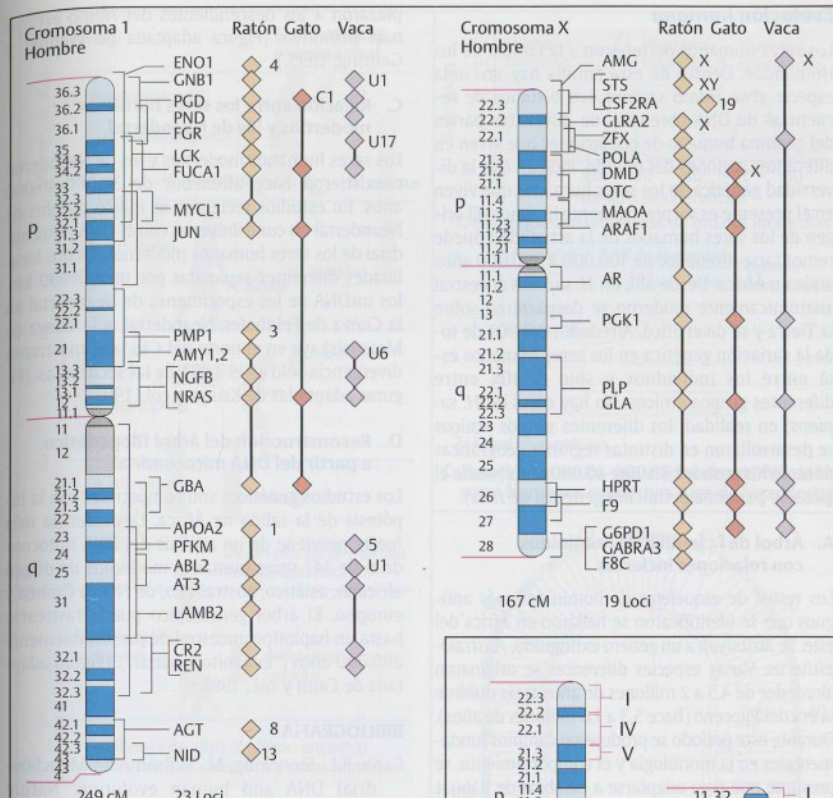
Rubin, G.M., et al.: Comparative genomics of the eukaryotes. *Science* 287:2204-2215, 2000.

Wolf, U., Schempp, W., Scherer, G.: Molecular Biology of the human Y chromosome. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 121:148-213, 1992.

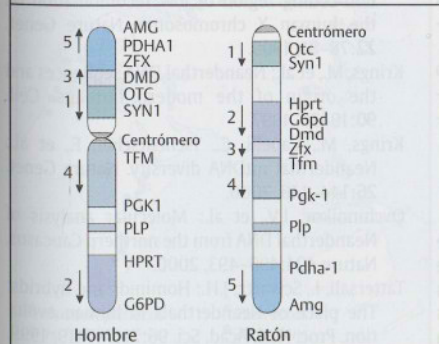
Genómica comparada: número total de genes y el "centro del proteoma"

Organismo	Número de genes	Genes duplicados	Familias de genes (centro del proteoma)	Tipo de organismo
<i>H. influenzae</i>	1.709	284	1.425	Bacteria
<i>C. cerevisiae</i>	6.241	1.858	4.383	Levadura
<i>C. elegans</i>	18.424	8.971	9.453	Nematodo
<i>Drosophila</i>	13.601	5.536	8.065	Insecto

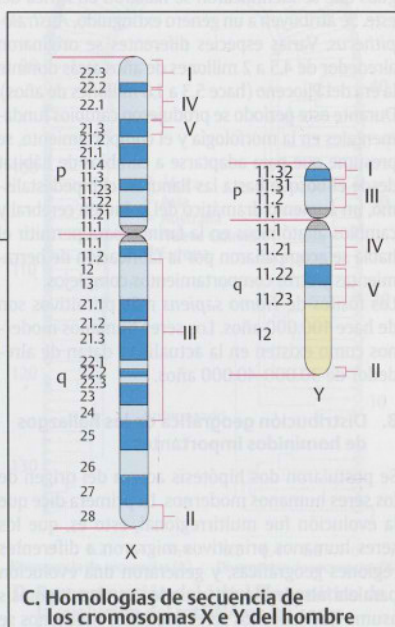
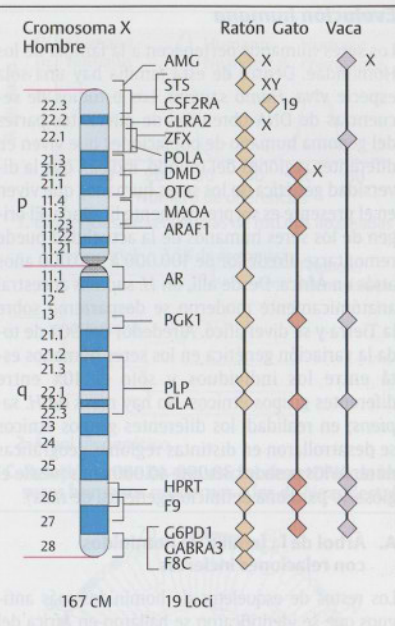
Datos de G. M. Rubin y col., 2000.



A. Comparación de loci génicos del hombre, el ratón, el gato y la vaca



B. Los cromosomas X del hombre y el ratón



C. Homologías de secuencia de los cromosomas X e Y del hombre

Evolución humana

Los seres humanos pertenecen a la familia de los Hominidae. Dentro de esta familia hay una sola especie viva, *Homo sapiens*. Los estudios de secuencias de DNA obtenidas de diferentes partes del genoma humano de poblaciones que viven en diferentes regiones del mundo, indican que la diversidad genética de los seres humanos que viven en el presente es sorprendentemente limitada. El origen de los seres humanos de la actualidad puede remontarse alrededor de 100.000 a 300.000 años atrás en África. Desde allí, un *H. sapiens* ancestral anatómicamente moderno se desparramó sobre la Tierra y se diversificó. Alrededor del 90% de toda la variación genética en los seres humanos está entre los individuos y sólo el 10% entre diferentes grupos étnicos. No hay razas de *H. sapiens*; en realidad, los diferentes grupos étnicos se desarrollaron en distintas regiones geográficas durante los pasados 30.000-40.000 años (véase el glosario para una definición genética de raza).

A. Árbol de la familia de homínidos con relaciones inciertas

Los restos de esqueletos de homínidos más antiguos que se identificaron se hallaron en África del este. Se atribuyen a un género extinguido, *Australopithecus*. Varias especies diferentes se originaron alrededor de 4,5 a 2 millones de años atrás durante la era del Plioceno (hace 5,3 a 1,6 millones de años). Durante este período se produjeron cambios fundamentales en la morfología y el comportamiento, se presume que para adaptarse a cambios de hábitat desde el bosque hasta las llanuras: el bipedestatismo, un aumento dramático del volumen cerebral y cambios anatómicos en la faringe para permitir el habla se acompañaron por la fabricación de herramientas y otros comportamientos complejos. Los fósiles de *Homo sapiens* más primitivos son de hace 100.000 años. Los seres humanos modernos como existen en la actualidad datan de alrededor de 30.000-40.000 años.

B. Distribución geográfica de los hallazgos de homínidos importantes

Se postularon dos hipótesis acerca del origen de los seres humanos modernos. La primera dice que la evolución fue multirregional, esto es, que los seres humanos primitivos migraron a diferentes regiones geográficas, y generaron una evolución paralela alrededor del mundo. La otra hipótesis asume que todos los seres humanos modernos se mudaron a través de medio oriente hacia Europa y Asia entre 50.000 y 100.000 años atrás y reem-

plazaron a los descendientes del *Homo erectus* más primitivo. (Figura adaptada de Wehner y Gehring, 1995.)

C. Relación entre los seres humanos modernos y los de Neandertal

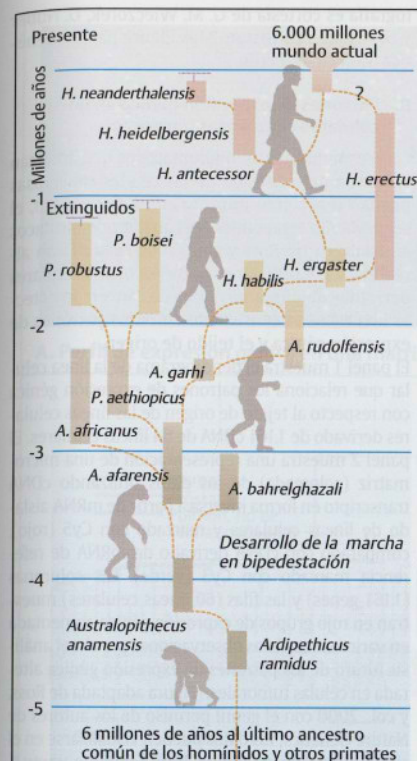
Los seres humanos modernos y los de Neandertal coexistieron hace alrededor de 30.000-40.000 años. En estudios recientes se indicó que los de Neandertal no contribuyeron con el DNA mitocondrial de los seres humanos modernos. En dos localidades diferentes separadas por unos 2.000 km, los mtDNA de los especímenes de Neandertal en la Cueva de Feldhofer, Neandertal, y la Cueva de Mezmaiskaya en el norte del Cáucaso, mostraron divergencia sólo en el 3,48% de las secuencias. (Figuras adaptadas de Krings y col., 1997.)

D. Reconstrucción del árbol filogenético a partir del DNA mitocondrial

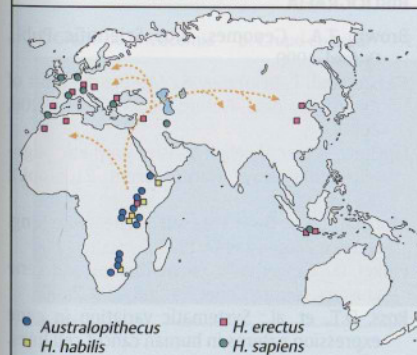
Los estudios genéticos son compatibles con la hipótesis de la salida de África. La evidencia más fuerte proviene de un análisis del DNA mitocondrial de 147 seres humanos modernos de origen africano, asiático, australiano, de Nueva Guinea y europeo. El árbol genealógico puede rastrear hasta un haplotipo ancestral de presumiblemente 200.000 años ("Eva mitocondrial"). (Figura adaptada de Cann y col., 1987.)

BIBLIOGRAFÍA

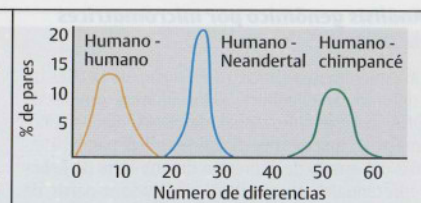
- Cann, R.L., Stoneking, M., Wilson A.C.: Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature* 325:31-36, 1987.
- Kaessmann, H., et al.: DNA sequence variation in a non-coding region of low recombination on the human X chromosome. *Nature Genet.* 22:78-81, 1999.
- Krings, M., et al.: Neanderthal DNA sequences and the origin of the modern humans. *Cell.* 90:19-30, 1997.
- Krings, M., Capelli, C., Tschentscher, F., et al.: Neanderthal mtDNA diversity. *Nature Genet.* 26:144-146, 2000.
- Ovchinnikov, I.V., et al.: Molecular analysis of Neanderthal DNA from the northern Caucasus. *Nature* 404:490-493, 2000.
- Tattersall, I., Schwartz, J.H.: Hominids and hybrids: The place of Neanderthals in human evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96:7117-7119, 1999.
- Tattersall, I., Matthenes, J.H.: Once we were not alone. *Sci. Am.* 282:38-44, 2000.
- Wehner, R., Gehring, W.: *Zoologie*. 23rd ed. Thieme Verlag, Stuttgart, 1995.



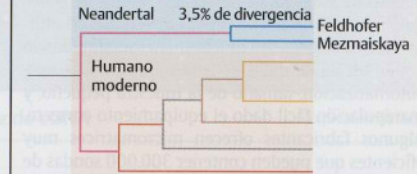
A. Árbol de la familia de homínidos con relaciones inciertas



B. Distribución geográfica de los hallazgos de homínidos importantes

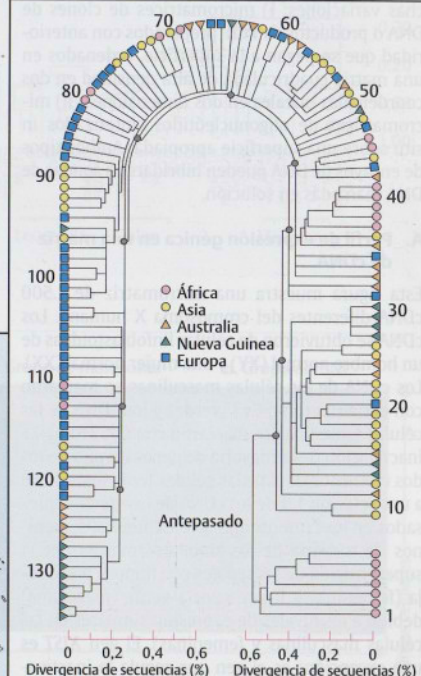


1. Diferencias de secuencias de mtDNA apareadas



2. Árbol filogenético

C. Relación entre las secuencias de mtDNA de los seres humanos modernos y los de Neandertal



D. Reconstrucción del árbol filogenético de la evolución del mtDNA en los seres humanos modernos

Análisis genómico por micromatrices de DNA

Una micromatriz (*microarray*) o *chip* de DNA es un conjunto de oligonucleótidos u otras sondas de DNA, por ejemplo, clones de cDNA, fijados sobre una grilla fina de superficies. Se utiliza para el análisis del estado de expresión de una serie de genes representados en el cDNA preparado a partir de mRNA (análisis de expresión) o para el reconocimiento de variaciones de secuencias en los genes (análisis de variación de DNA). Las ventajas de utilizar micromatrices son muchas: análisis simultáneo a gran escala de miles de genes al mismo tiempo, automatización, tamaño de la muestra pequeño, y manipulación fácil dado el equipamiento correcto. Algunos fabricantes ofrecen micromatrices muy eficientes que pueden contener 300.000 sondas de DNA en un portaobjetos de vidrio de alta densidad de tamaño pequeño (p. ej., 1,28 cm × 1,28 cm). Pueden distinguirse dos tipos básicos de micromatrices de DNA, aunque están en desarrollo muchas variaciones: i) micromatrices de clones de DNA o productos de PCR preparados con anterioridad que se pegan a la superficie, ordenados en una matriz cuadrículada de alta densidad en dos coordenadas lineales en dos dimensiones; ii) micromatrices de oligonucleótidos sintetizados in situ sobre una superficie apropiada. Ambos tipos de ensayos de DNA pueden hibridarse a sondas de DNA marcadas en solución.

A. Perfil de expresión génica en una matriz de cDNA

Esta figura muestra una micromatriz de 1.500 cDNA diferentes del cromosoma X humano. Los cDNA se obtuvieron de células linfoblastoideas de un hombre normal (XY) y una mujer normal (XX). Los cDNA de las células masculinas se marcaron con el fluorocromo Cy3 (verde) y los cDNA de las células femeninas se marcaron con Cy5 (rojo). La inactivación de la mayoría de genes en uno de los dos cromosomas X de las células femeninas, llevó a una relación 1:1 de los cDNA de los genes expresados en los cromosomas X masculinos y femeninos (la mayoría de los sitios es amarilla por la superposición de las señales con fluorescencia roja (femenina) y fluorescencia verde (masculina) debido a los niveles de expresión similares en las células masculinas y femeninas). El gen *XIST* es una excepción; es el gen que regula la inactivación del X (véase pág. 228). Se expresa sólo en el cromosoma X inactivo. Da una luz roja brillante porque no se expresa en el cromosoma X masculino y no se superpone con la señal verde. (La fo-

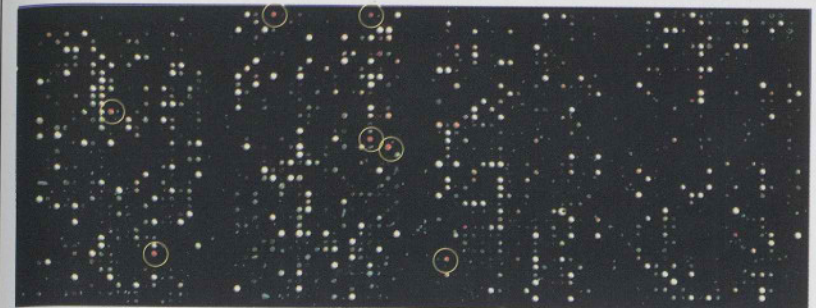
tografía es cortesía de G. M. Wieczorek, U. Nuber y H. H. Ropers, Instituto Max Planck para la Genética Molecular, Berlín.)

B. Patrones de expresión génica en líneas celulares cancerosas humanas

Cabe esperar que las micromatrices que analizan el patrón de expresión de las células cancerosas puedan tener gran impacto en el diagnóstico, el seguimiento terapéutico y el análisis de fármacos anticancerosos. Ross y col., (2000) estudiaron alrededor de 8.000 genes entre 60 líneas celulares derivadas de diferentes tipos de cáncer. Se detectó una relación consistente entre los patrones de expresión génica y el tejido de origen. El panel 1 muestra el dendrograma de la línea celular que relaciona los patrones de expresión génica con respecto al tejido de origen de las líneas celulares derivado de 1.161 cDNA de líneas celulares. El panel 2 muestra una representación de una micromatriz (coloreada) de los datos utilizando cDNA transcrito en forma inversa a partir de mRNA aislado de líneas celulares y marcado con Cy5 (rojo), comparado con cDNA derivado de mRNA de referencia marcado con Cy3 (verde). Las columnas (1.161 genes) y las filas (60 líneas celulares) muestran en rojo grupos de expresión génica aumentada en varios sitios. Estas observaciones prevén el análisis futuro de los patrones de expresión génica alterada en células tumorales. (Figura adaptada de Ross, y col., 2000 con el gentil permiso de los autores de Nature Genetics; los datos pueden visualizarse en el sitio de la red de los autores <http://genome-www.stanford.edu/nci60> y <http://discover.nci.nih.gov>).

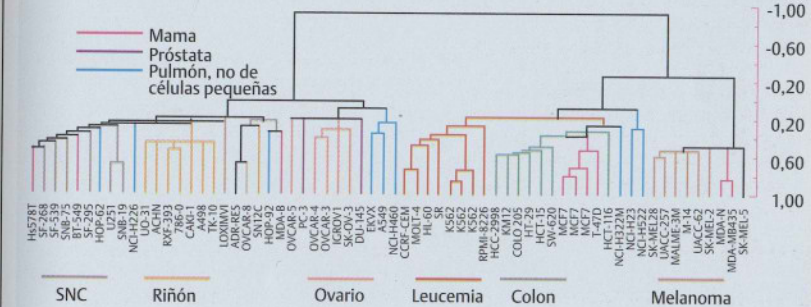
BIBLIOGRAFÍA

- Brown, T.A.: Genomes. Bios Scientific Publ., Oxford, 1999.
- Gaasterland, T., Bekiranov, S.: Making the most of microarray data. *Nature Genet.* 24:204–206, 2000.
- Lipshutz, R.J., et al.: High density synthetic oligonucleotide arrays. *Nature Genet.* 21(suppl.): 20–24, 1999.
- Marshall, E.: Do-it-yourself gene watching. *Science* 286:444–447, 1999.
- Pinkel, D.: Cancer cells, chemotherapy and gene clusters. *Nature Genet.* 24:208–209, 2000.
- Ross, D.T., et al.: Systematic variation in gene expression patterns in human cancer cell lines. *Nature Genet* 24:227–235, 2000.
- Strachan, T., Read, A.P.: Human molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific. Publishers, Oxford, 1999.



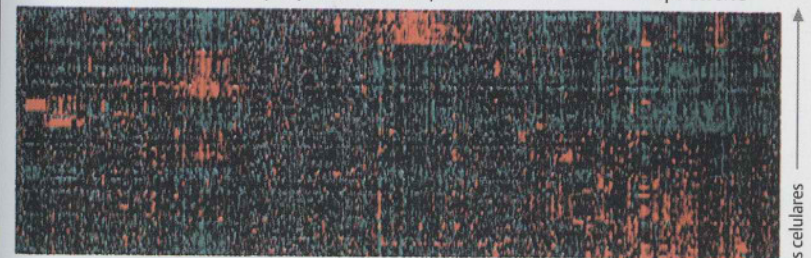
A. Perfil de expresión génica en una matriz de cDNA

Expresión de *XIST*



1. Dendrograma de líneas celulares

a. Grupo de la leucemia b. Grupo epitelial c. Grupo de melanoma d. Grupo del SNC



1.161 genes

Líneas celulares

2. Datos de la micromatriz

B. Patrones de expresión génica en líneas celulares cancerosas humanas



A. Perfil de expresión génica en una matriz de cDNA

Algunos microarreglos de cDNA pueden tener 30000 sondas de DNA en un portador de vidrio de alta calidad de tamaño pequeño (p.ej. 128 cm x 128 cm). Por lo tanto, el número de sondas de DNA que pueden estar en una sola matriz es muy grande. Los microarreglos de cDNA se preparan con antenas de oligonucleótidos que se fijan a una matriz sólida. El número de sondas de DNA que se fijan a una matriz depende del tamaño de la sonda y del tipo de matriz. Los microarreglos de cDNA se preparan con antenas de oligonucleótidos que se fijan a una matriz sólida. El número de sondas de DNA que se fijan a una matriz depende del tamaño de la sonda y del tipo de matriz.

A. Perfil de expresión génica en una matriz de cDNA

Esta figura muestra una micromatriz de 1500 cDNA diferentes del cromosoma X humano de células de carcinoma de células renales. Cada punto representa un híbrido de cDNA.



Este tipo de microarreglos se utilizan para estudiar la expresión de genes en diferentes tipos de células y en diferentes condiciones. Los microarreglos de cDNA se preparan con antenas de oligonucleótidos que se fijan a una matriz sólida. El número de sondas de DNA que se fijan a una matriz depende del tamaño de la sonda y del tipo de matriz.

Reiss, D.T., et al.: Systematic variation in expression patterns in human cancer cells. *Nature Genet.* 24:774 (2000).
 Strachan, T., Read, A.P.: *Human Molecular Genetics*. Garland Science, Oxford, 1999.

**Parte III
Genética y medicina**

[The text in this section is extremely faint and illegible due to the quality of the scan. It appears to be the main body of the article, likely containing a list of references or detailed text.]

Interacciones célula-célula

Sistemas de traducción de señales intracelulares

Los organismos multicelulares dependen de la comunicación entre las células para asegurar el crecimiento, la diferenciación, las funciones específicas en los diferentes tipos de células y la respuesta apropiada a los estímulos externos. Las interacciones célula-célula específicas entre los distintos tipos celulares evolucionó. Un leitmotif común es la unión específica de una molécula de señalización extracelular (ligando) a un receptor específico de la célula blanco para disparar una respuesta funcional específica. La vasta variedad de moléculas involucradas en los tantos tipos de células pueden clasificarse en familias de estructura y función relacionadas (véase Lodish y col., 2000; Alberts y col., 1994). Aquí se seleccionan dos áreas: las funciones intracelulares principales que controlan el crecimiento y los receptores de tirosina cinasas.

A. Principales funciones intracelulares que controlan el crecimiento

Los factores de crecimiento son un grupo grande de moléculas extracelulares diferentes que se unen con gran especificidad a receptores de superficie celular (1). Su unión al receptor (2) activa proteínas traductororas de señales intracelulares (3). Esto inicia una cascada que produce la activación de otras proteínas (en general por fosforilación), que actúan como segundos mensajeros (4). Las hormonas de diferentes tipos son una clase heterogénea de moléculas señalizadoras (5). Ellas entran en la célula ya sea por difusión a través de la membrana plasmática o por unión a un receptor de superficie celular (6). Algunas hormonas requieren un receptor intranuclear (7). Eventualmente la cascada de señales produce activación o inactivación de factores de transcripción (8). Antes de que se produzcan la transcripción y la traducción, un sistema de elaboración del reconocimiento del daño del DNA y sistemas de reparación (9) certifica que la proliferación celular sea segura (control del ciclo celular, 10). En caso de que una falla en la estructura del DNA no se hubiera reparado con anterioridad a la replicación, una vía importante sacrifica la célula por apoptosis (muerte celular, 11). (Figura adaptada de Lodish y col., 2000.)

B. Familia de receptores tirosina cinasas

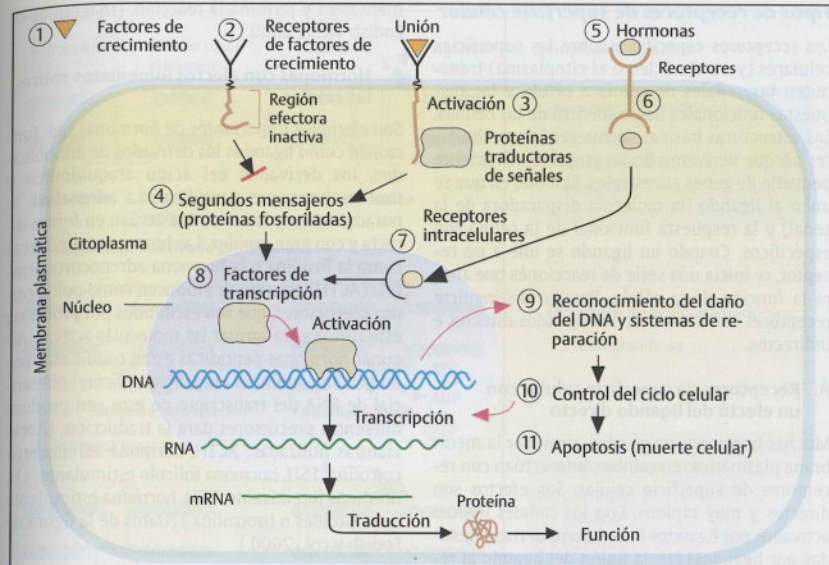
Al igual que los receptores acoplados a las proteínas G (RAPGs, véase pág. 268) y sus efectores, los receptores tirosina cinasas (RTC) son una clase importante de receptores de superficie celular. Sus ligandos

son proteínas de factores de crecimiento solubles o unidos a membranas. La vía de señales de los RTC involucra una amplia variedad de funciones. Las mutaciones en los RTC pueden mandar una señal proliferativa aun en ausencia de un factor de crecimiento, y provocar errores en el desarrollo embriológico y la diferenciación (malformaciones congénitas) o cáncer. De las más de veinte familias diferentes de RTC, aquí se seleccionaron cinco: el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR o *epidermal growth factor receptor*); el receptor de insulina (RI); los receptores de los factores de crecimiento fibroblástico (FGFR o *fibroblast growth factor receptor*) tipos 1, 2 y 3; el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR o *platelet-derived growth factor*); y RET (*rearranged during transformation*) o reordenamiento durante la transformación.)

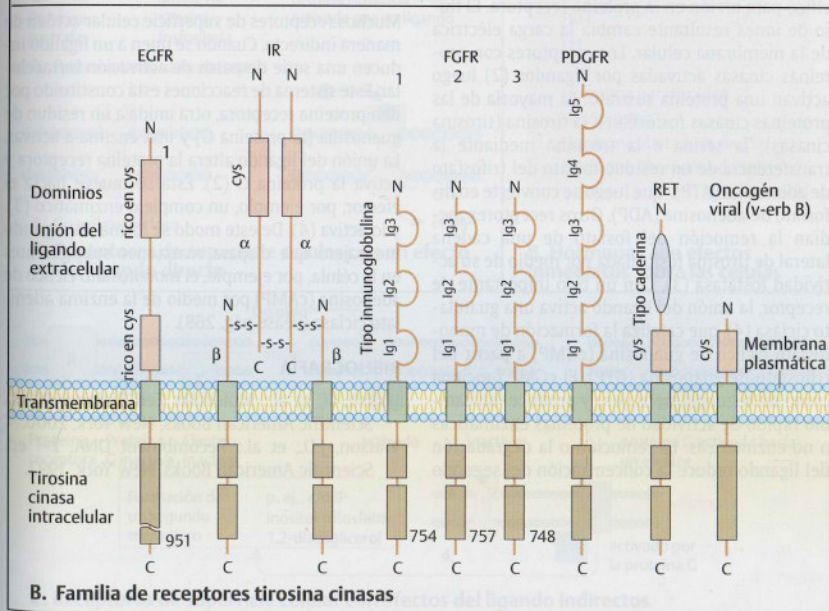
Estos receptores comparten características estructurales, a pesar de que difieren en las funciones. Todos poseen un dominio de transmembrana único y un dominio intracelular de tirosina cinasa de tamaño algo variado. Los dominios extracelulares presentan motivos conservados en términos evolutivos: regiones ricas en cisteína, dominios parecidos a las inmunoglobulinas (Ig), repeticiones de fibronectina en la tirosina cinasa con Ig y el EGF. En el ser humano las mutaciones en los RTC causan un grupo de enfermedades importantes y síndromes con malformaciones. Los fenotipos de las mutaciones difieren de acuerdo con el tipo particular de RTC involucrado y el tipo de mutación.

BIBLIOGRAFÍA

Alberts, B., et al.: *Molecular Biology of the Cell*. 3rd ed. Garland Publishing Co., New York, 1994.
 Cohen, M.M.: Fibroblast growth factor receptor mutations. pp. 77-94. In: M.M. Cohen Jr., R.E. MacLean, eds., *Craniosynostosis. Diagnosis, Evaluation, and Management*, 2nd ed. Oxford University Press, Oxford, 2000.
 Lodish, H., et al.: *Molecular Cell Biology (with an animated CD-ROM)*. 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 2000
 Muenke, M., et al.: Fibroblast growth factor receptor-related skeletal disorders: craniosynostosis and dwarfism syndromes. pp. 1029-1038. In: J.L. Jameson, ed., *Principles of Molecular Medicine*. Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.
 Münke, M., Schell, U.: Fibroblast-growth-factor receptor mutations in human skeletal disorders, *Trends Genet.* 11: 308-313, 1995.
 Robertson, S.C., Tynan, J.A., Donoghue, D.J.: RTK mutations and human syndromes: when good receptors turn bad. *Trends Genet.* 16: 265-271, 2000.



A. Principales funciones intracelulares controladoras del crecimiento



B. Familia de receptores tirosina cinasas

Tipos de receptores de superficie celular

Los receptores específicos sobre las superficies celulares (y en el núcleo o el citoplasma) transmiten las señales de célula a célula y las respuestas funcionales hacia adentro de las células. Las estructuras básicas de sus genes son similares porque derivaron de un grupo relativamente pequeño de genes ancestrales. El modo en que se unen al ligando (la molécula disparadora de la señal) y la respuesta funcional de la célula son específicos. Cuando un ligando se une a un receptor, se inicia una serie de reacciones que altera la función de la célula. Pueden distinguirse receptores con efectos de los ligandos directos e indirectos.

A. Receptores de superficie celular con un efecto del ligando directo

Muchas hormonas no pueden atravesar la membrana plasmática; en cambio, interactúan con receptores de superficie celular. Sus efectos son directos y muy rápidos. Con los canales iónicos activados por ligandos (o con compuertas reguladas por ligandos) (1), la unión del ligando al receptor cambia la conformación de la proteína receptora. Esto causa la apertura del canal específico para un ion en la proteína receptora. El flujo de iones resultante cambia la carga eléctrica de la membrana celular. Los receptores con proteínas cinasas activadas por ligandos (2) luego activan una proteína sustrato. La mayoría de las proteínas cinasas fosforilan a la tirosina (tirosina cinasas), la serina o la treonina mediante la transferencia de un residuo fosfato del trifosfato de adenosina (ATP), que luego se convierte en difosfato de adenosina (ADP). Otros receptores median la remoción del fosfato de una cadena lateral de tirosina fosforilada por medio de su actividad fosfatasa (3). Con un tipo importante de receptor, la unión del ligando activa una guanilato ciclasa (4), que cataliza la formación de monofosfato cíclico de guanosina (cGMP) a partir del trifosfato de guanosina (GTP). El cGMP funciona como un segundo mensajero y produce un cambio rápido de actividad de proteínas enzimáticas o no enzimáticas. La remoción o la degradación del ligando reduce la concentración del segundo

mensajero y termina la reacción. (Diagramas de Lodish y col., 2000.)

B. Hormonas con efectos inmediatos sobre las células

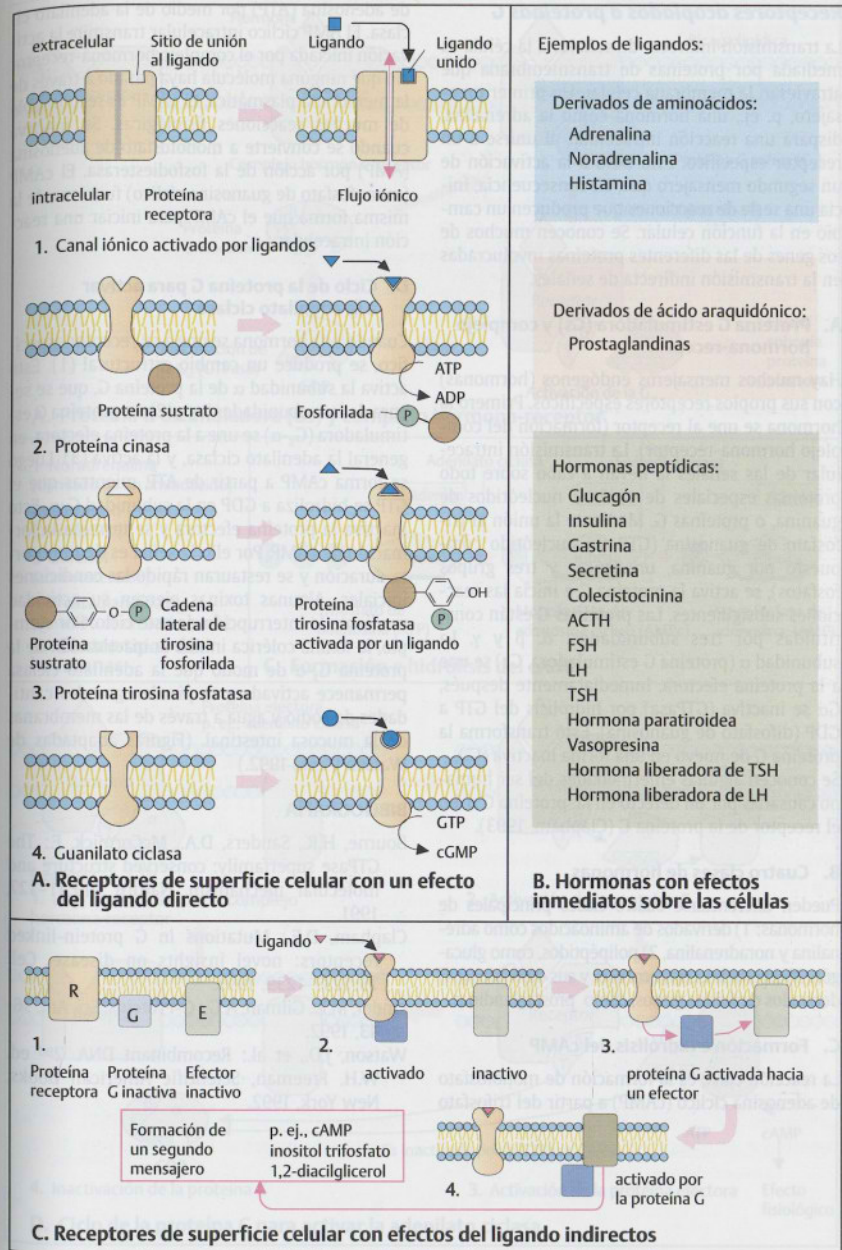
Son ejemplos importantes de hormonas que funcionan como ligandos los derivados de aminoácidos, los derivados del ácido araquidónico y muchas hormonas peptídicas. La adrenalina, la noradrenalina y la histamina actúan en forma directa y con gran rapidez. Las hormonas peptídicas como la insulina o la hormona adrenocorticotrofina (ACTH) primero se producen como polipéptidos precursores, que son escindidos por proteasas específicas para formar las moléculas activas. Algunas hormonas peptídicas están codificadas por un gen en común; el empalme (*splicing*) diferencial de RNA del transcripto de este gen produce diferentes precursores para la traducción. (Abreviaturas utilizadas: ACTH, hormona adrenocorticotrofina; FSH, hormona foliculo estimulante; LH, hormona luteinizante; TSH, hormona estimulante de la tiroides o tirotrófina.) (Datos de la figura de Lodish y col., 2000.)

C. Receptores de superficie celular con efectos del ligando indirectos

Muchos receptores de superficie celular actúan de manera indirecta. Cuando se unen a un ligando inducen una serie de pasos de activación intracelular. Este sistema de reacciones está constituido por una proteína receptora, otra unida a un residuo de guanosina (la proteína G) y una enzima a activar. La unión del ligando altera la proteína receptora y activa la proteína G (2). Ésta se mueve hacia el efector, por ejemplo, un complejo enzimático (3), y lo activa (4). De este modo se forma un segundo mensajero que dispara reacciones subsiguientes en la célula, por ejemplo, el monofosfato cíclico de adenosina (cAMP) por medio de la enzima adenilato ciclasa (véase pág. 268).

BIBLIOGRAFÍA

Lodish, H. et al.: *Molecular Cell Biology*. 4th ed. Scientific American Books, New York, 2000.
 Watson, J.D., et al.: *Recombinant DNA*. 2nd ed. Scientific American Books, New York, 1992.



Receptores acoplados a proteínas G

La transmisión indirecta de señales a la célula es mediada por proteínas de membrana que atraviesan la membrana celular. Un primer mensajero, p. ej., una hormona como la adrenalina, dispara una reacción intracelular al unirse a un receptor específico. Esto lleva a la activación de un segundo mensajero que, en consecuencia, inicia una serie de reacciones que producen un cambio en la función celular. Se conocen muchos de los genes de las diferentes proteínas involucradas en la transmisión indirecta de señales.

A. Proteína G estimuladora (Gs) y complejo hormona-receptor

Hay muchos mensajeros endógenos (hormonas) con sus propios receptores específicos. Primero la hormona se une al receptor (formación del complejo hormona-receptor). La transmisión intracelular de las señales la llevan a cabo sobre todo proteínas especiales de unión a nucleótidos de guanina, o proteínas G. Mediante la unión al trifosfato de guanosina (GTP, un nucleótido compuesto por guanina, un azúcar y tres grupos fosfatos), se activa la proteína G e inicia las reacciones subsiguientes. Las proteínas G están constituidas por tres subunidades: α , β y γ . La subunidad α (proteína G estimuladora, Gs) se une a la proteína efectora. Inmediatamente después, G α se inactiva (GTPasa) por hidrólisis del GTP a GDP (difosfato de guanosina). Esto transforma la proteína G de nuevo en una forma inactiva (G_i). Se conocen algunas enfermedades del ser humano causadas por un defecto en la proteína G o en el receptor de la proteína G (Clapham, 1993).

B. Cuatro clases de hormonas

Pueden diferenciarse cuatro clases principales de hormonas: 1) derivados de aminoácidos como adrenalina y noradrenalina, 2) polipéptidos, como glucagón, 3) esteroides, como cortisol y sus derivados y 4) derivados de ácidos grasos, como prostaglandinas.

C. Formación e hidrólisis del cAMP

La reacción clave es la formación de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) a partir del trifosfato

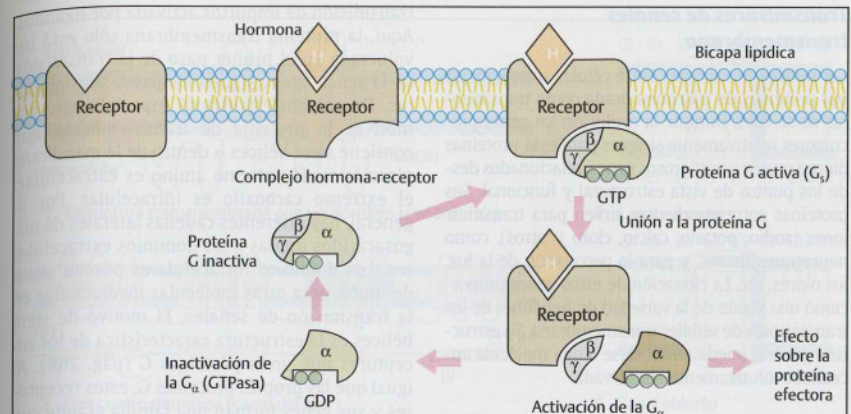
de adenosina (ATP) por medio de la adenilato ciclasa. El AMP cíclico intracelular transmite la activación iniciada por el complejo hormona-receptor sin que ninguna molécula haya pasado a través de la membrana plasmática. El cAMP es responsable de muchas reacciones fisiológicas. Se inactiva cuando se convierte a monofosfato de adenosina (AMP) por acción de la fosfodiesterasa. El cAMP (monofosfato de guanosina cíclico) funciona de la misma forma que el cAMP para iniciar una reacción intracelular.

D. Ciclo de la proteína G para activar a la adenilato ciclasa

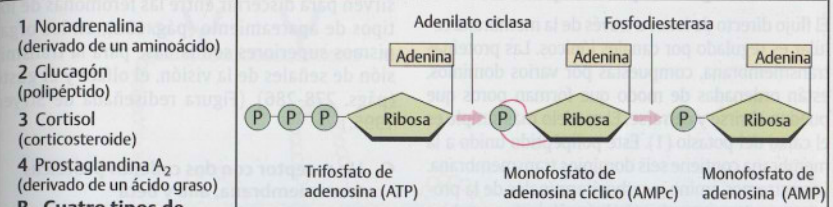
Cuando una hormona se une a su receptor específico, se produce un cambio estructural (1). Esto activa la subunidad α de la proteína G, que se separa de las subunidades β y γ (2). La proteína G estimuladora (G_s- α) se une a la proteína efectora, en general la adenilato ciclasa, y la activa (3). Luego se forma cAMP a partir de ATP, mientras que el GTP se hidroliza a GDP en la subunidad G- α . Esto inactiva la proteína efectora y se termina la formación de cAMP. Por ello la señal es de muy corta duración y se restauran rápido las condiciones iniciales. Algunas toxinas ejercen su actividad mediante la interrupción de este ciclo. Por ejemplo, la toxina colérica inhibe la inactivación de la proteína G_s- α de modo que la adenilato ciclasa permanece activada y se pierden grandes cantidades de sodio y agua a través de las membranas de la mucosa intestinal. (Figuras adaptadas de Watson y col., 1992.)

BIBLIOGRAFÍA

Bourne, H.R., Sanders, D.A., McCormick, F.: The GTPase superfamily: conserved structure and molecular mechanism. *Nature* 349:11-127, 1991.
 Clapham, D.E.: Mutations in G protein-linked receptors: novel insights on disease. *Cell* 75:1237-1239, 1993.
 Linder, M.E., Gilman, A.G.: G-Proteins, *Sci. Am.* 36-43, 1992.
 Watson, J.D., et al.: Recombinant DNA. 2nd ed. W.H. Freeman, Scientific American Books, New York, 1992.

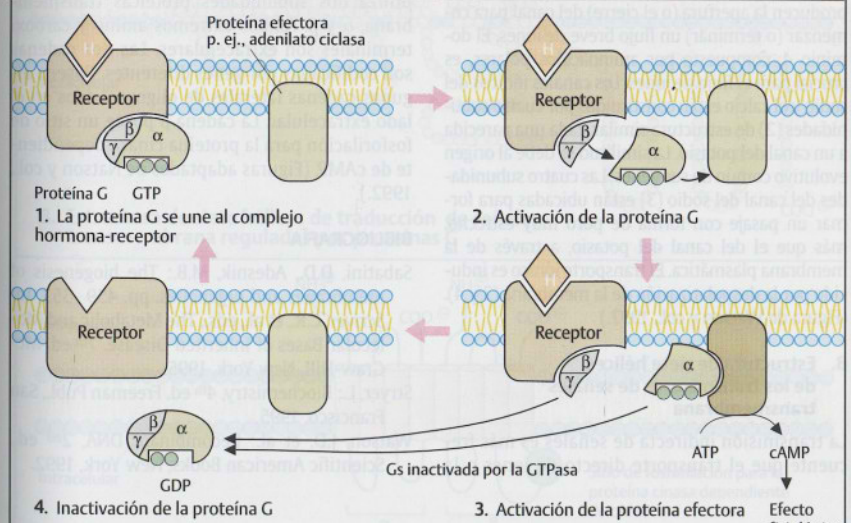


A. Proteína G estimuladora (Gs) y complejo hormona-receptor



B. Cuatro tipos de hormonas

C. Formación e hidrólisis del cAMP



D. Ciclo de la proteína G para activar la adenilato ciclasa

Transmisores de señales transmembrana

Las señales funcionales entre células son recibidas por proteínas de transmembrana como transmisores de señales. Durante la evolución los genes precursores relativamente simples para esas proteínas dieron origen a numerosos genes relacionados desde los puntos de vista estructural y funcional. Sus proteínas correspondientes sirven para transmitir iones (sodio, potasio, calcio, cloro y otros), como neurotransmisores, y para la percepción de la luz, los olores, etc. La clonación de estos genes proporcionó una visión de la variedad de funciones de los transmisores de señales transmembrana. Su estructura general puede remontarse a una molécula ancestral evolutivamente conservada.

A. Estructura transmembrana de los canales iónicos regulados por voltaje

El flujo directo de iones a través de la membrana celular es regulado por canales iónicos. Las proteínas transmembrana, compuestas por varios dominios, están ordenadas de modo que forman poros que pueden abrirse y cerrarse. El modelo más simple es el canal del potasio (1). Este polipéptido unido a la membrana contiene seis dominios transmembrana. Los extremos amino y carboxiterminales de la proteína se encuentran dentro de la célula. Los cambios en el potencial o el voltaje de la membrana celular producen la apertura (o el cierre) del canal para comenzar (o terminar) un flujo breve de iones. El dominio 4, compuesto por aminoácidos polares, es crucial para el flujo de iones. Los canales iónicos del sodio y el calcio están constituidos por cuatro subunidades (2) de estructura similar, cada una parecida a un canal del potasio. La similitud se debe al origen evolutivo común de sus genes. Las cuatro subunidades del canal del sodio (3) están ubicadas para formar un pasaje con forma de poro muy estrecho, más que el del canal del potasio, a través de la membrana plasmática. El transporte iónico es inducido por la despolarización de la membrana (3 y 4). (Figura de Watson y col., 1992.)

B. Estructura de siete hélices de los transmisores de señales transmembrana

La transmisión indirecta de señales es más frecuente que el transporte directo de iones o la

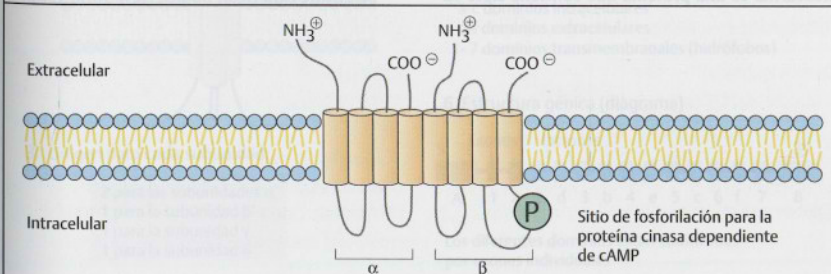
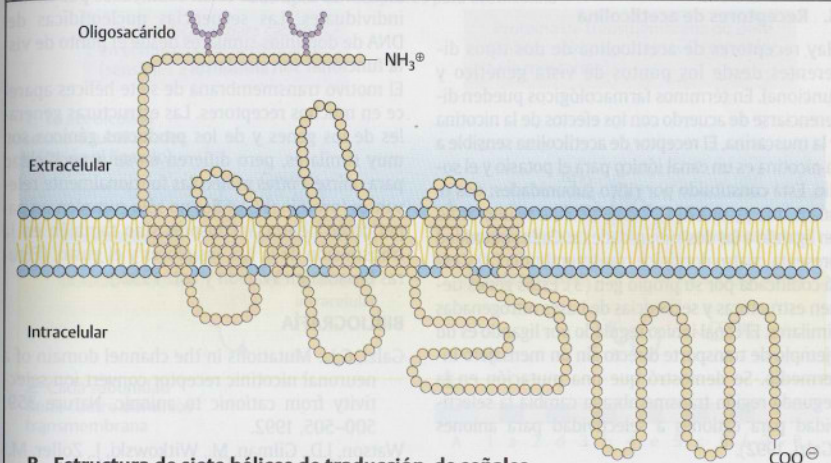
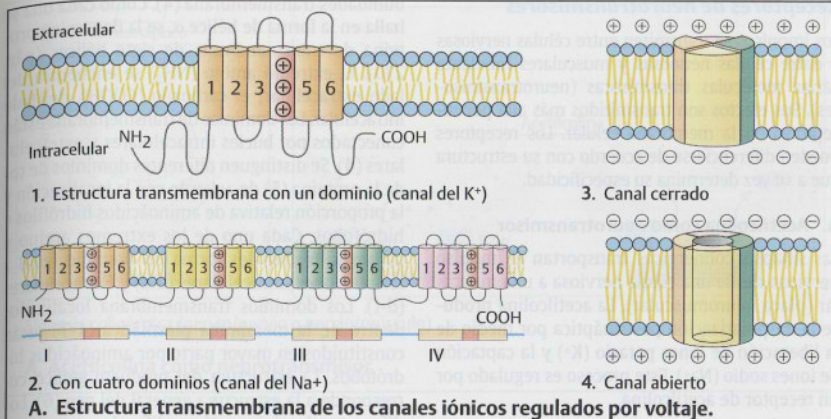
transmisión de impulsos activada por ligandos. Aquí, la proteína transmembrana sólo está involucrada en el primer paso de la transmisión de la señal. Luego siguen los pasos subsiguientes. Un motivo estructural especialmente común es la proteína de transmembrana que contiene siete hélices α dentro de la membrana plasmática. El extremo amino es extracelular; el extremo carboxilo es intracelular. Por lo general, hay diferentes cadenas laterales de oligosacáridos unidas a los dominios extracelulares. Los dominios intracelulares poseen sitios de unión para otras moléculas involucradas en la transmisión de señales. El motivo de siete hélices es la estructura característica de los receptores que unen proteínas G (pág. 268). Al igual que las propias proteínas G, estos receptores y sus genes forman una familia grande con una larga historia evolutiva. En las levaduras sirven para discernir entre las feromonas de los tipos de apareamiento (pág. 104); en los organismos superiores son la base para la transmisión de señales de la visión, el olfato y el gusto (págs. 278-286). (Figura rediseñada de Stryer, 1995.)

C. Un receptor con dos cadenas proteicas transmembrana, alfa y beta

El receptor del ácido γ -aminobutírico (GABA) utiliza dos subunidades proteicas transmembrana, α y β . Ambos extremos amino y carboxi terminales son extracelulares. Las dos cadenas son codificadas por genes diferentes. Poseen algunas cadenas laterales de oligosacáridos en el lado extracelular. La cadena β posee un sitio de fosforilación para la proteína cinasa dependiente de cAMP. (Figuras adaptadas de Natson y col., 1992.)

BIBLIOGRAFÍA

- Sabatini, D.D., Adesnik, M.B.: The biogenesis of membranes and organelles. pp. 459-553. In: Scriver, C.R., et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
- Stryer, L.: *Biochemistry*, 4th ed. Freeman Publ., San Francisco, 1995.
- Watson, J.D. et al.: *Recombinant DNA*, 2nd ed., Scientific American Books, New York, 1992.



Receptores de neurotransmisores

Los impulsos se transmiten entre células nerviosas o entre células nerviosas y musculares mediante varias moléculas transmisoras (neurotransmisores). Sus efectos son transmitidos más allá por receptores en la membrana celular. Los receptores pueden diferenciarse de acuerdo con su estructura que a su vez determina su especificidad.

A. Acetilcolina como neurotransmisor

Las sinapsis colinérgicas transportan el impulso nervioso desde una célula nerviosa a una muscular (placa neuromuscular). La acetilcolina produce la despolarización postsináptica por medio de la liberación de iones potasio (K⁺) y la captación de iones sodio (Na⁺). Este proceso es regulado por un receptor de acetilcolina.

B. Receptores de acetilcolina

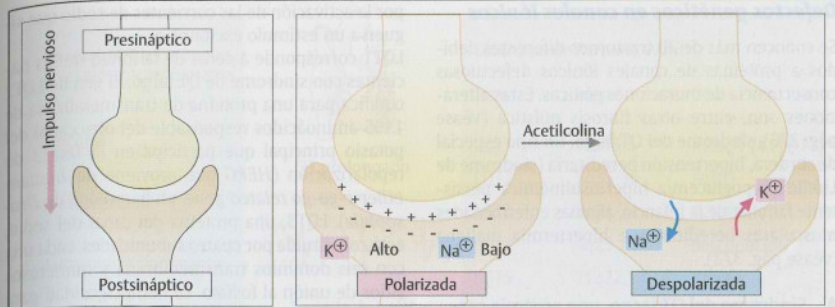
Hay receptores de acetilcolina de dos tipos diferentes desde los puntos de vista genético y funcional. En términos farmacológicos pueden diferenciarse de acuerdo con los efectos de la nicotina y la muscarina. El receptor de acetilcolina sensible a la nicotina es un canal iónico para el potasio y el sodio. Está constituido por cinco subunidades: dos α , una β , una γ y una δ (1). La acetilcolina se une como un ligando a las dos subunidades α . Cada subunidad presenta cuatro dominios transmembrana (2) y está codificada por su propio gen (3). Estos genes tienen estructuras y secuencias de bases nitrogenadas similares. El canal iónico regulado por ligando es un ejemplo de transporte directo sin un mensajero intermedio. Se demostró que una mutación en la segunda región transmembrana cambia la selectividad para cationes a selectividad para aniones (Galzi, 1992). El tipo de receptor de acetilcolina sensible a la muscarina es una proteína que contiene siete su-

bunidades transmembrana (4). Como cada una se halla en la forma de hélice α , se la denomina proteína de transmembrana de siete hélices (pág. 270). El extremo amino (NH₂) se encuentra del lado extracelular; el carboxilo (COOH), del lado intracelular. Los dominios de transmembrana están conectados por bucles intracelulares y extracelulares (4). Se distinguen diferentes dominios de toda la proteína (5) de acuerdo con la localización y la proporción relativa de aminoácidos hidrófilos e hidrófobos. Cada uno de los extremos amino y carboxilo terminales forma un dominio igual a las porciones intracelulares (a-c) y extracelulares (d-f). Los dominios transmembrana localizados dentro de la membrana plasmática (1-7) están constituidos en mayor parte por aminoácidos hidrófobos. La estructura del producto génico corresponde a la estructura general del gen (6). Los diferentes dominios están codificados por exones individuales. Las secuencias nucleotídicas del DNA de dominios similares desde el punto de vista funcional son similares.

El motivo transmembrana de siete hélices aparece en muchos receptores. Las estructuras generales de los genes y de los productos génicos son muy similares, pero difieren en su especificidad para unirse a otras moléculas funcionalmente relevantes (proteínas G). Ellos no sólo cumplen un papel como neurotransmisores sino también en la transmisión de la luz, los olores y el gusto. (Figuras basadas en Watson y col., 1992.)

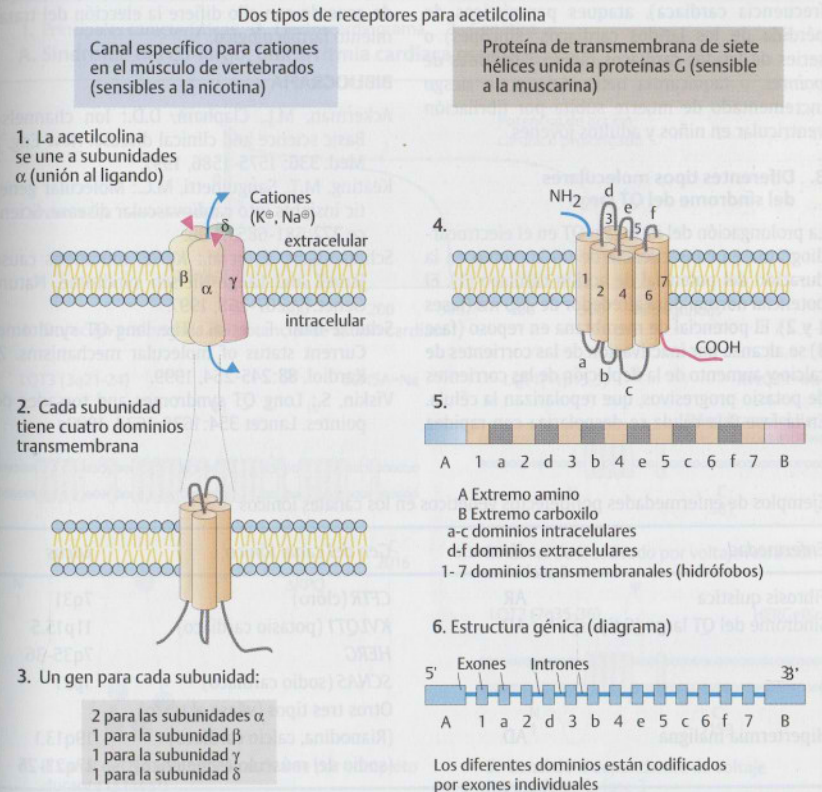
BIBLIOGRAFÍA

Galzi, G.L.: Mutations in the channel domain of a neuronal nicotinic receptor convert ion selectivity from cationic to anionic. *Nature* 359: 500-505, 1992.
 Watson, J.D., Gilman, M., Witkowski, J., Zoller, M.: *Recombinant DNA*. 2nd ed. W.H. Freeman, Scientific American Books, New York, 1992.



Sinapsis colinérgica (nervio/nervio o nervio/músculo)

A. Acetilcolina como neurotransmisor



B. Receptores de acetilcolina

Defectos genéticos en canales iónicos

Se conocen más de 20 trastornos diferentes debidos a proteínas de canales iónicos defectuosas consecuencia de mutaciones génicas. Estas alteraciones son, entre otras fibrosis quística (véase pág. 276), síndrome del QT largo, un tipo especial de sordera, hipertensión hereditaria (síndrome de Liddle), hipoglucemia hiperinsulinémica persistente familiar de la infancia, algunas enfermedades musculares hereditarias e hipertermia maligna (véase pág. 372).

A. Síndrome del QT largo, una arritmia cardíaca genética

El síndrome del QT largo congénito se caracteriza por prolongación del intervalo QT en el electrocardiograma (más de 460 ms, corregido por la frecuencia cardíaca), ataques paroxísticos de pérdida de los latidos cardíacos (síncope) o series de latidos cardíacos rápidos (*torsades de pointes*, o taquicardia helicoidal), y un riesgo incrementado de muerte súbita por fibrilación ventricular en niños y adultos jóvenes.

B. Diferentes tipos moleculares del síndrome del QT largo

La prolongación del intervalo QT en el electrocardiograma en consecuencia de un aumento en la duración del potencial de acción cardíaco (1). El potencial normal dura alrededor de 300 ms (fases 1 y 2). El potencial de membrana en reposo (fase 3) se alcanza por inactivación de las corrientes de calcio y aumento de la depolarización de las corrientes de potasio progresivos, que repolarizan la célula. En la fase 0 la célula se despolariza con rapidez

por la activación de las corrientes de sodio que siguen a un estímulo excitatorio.

LQT1 corresponde a cerca de la mitad de los pacientes con síndrome de QT largo. El gen de LQT2 codifica para una proteína de membrana de 1.195 aminoácidos responsable del otro canal del potasio principal que participa en la fase 3 de repolarización (*HERG* que proviene de *human-ether-r-go-go related gene*, un homólogo de *Drosophila*). LQT3, una proteína del canal del sodio, está constituida por cuatro subunidades, cada una con seis dominios transmembrana y numerosos sitios de unión al fosfato. La homocigosidad para LQT1 (gen *KVLQT1*) o LQT5 (gen *KCNE1*) causa una forma de síndrome del QT largo asociada a sordera, síndrome de Jervell y de Lange-Nielsen. (Figura adaptada de Ackerman y Clapham, 1997.) Es importante distinguir los diferentes tipos porque de acuerdo con ello difiere la elección del tratamiento farmacológico.

BIBLIOGRAFÍA

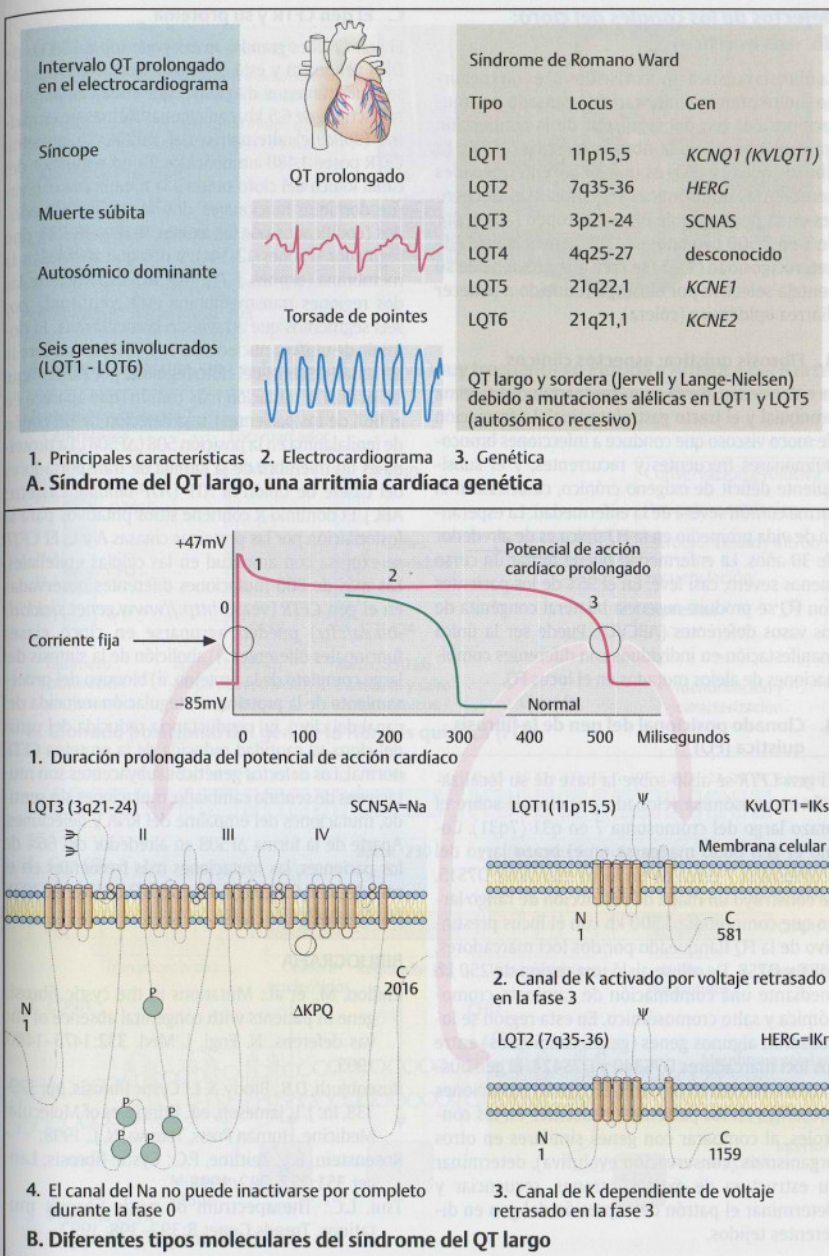
- Ackerman, M.J., Clapham, D.D.: Ion channels—Basic science and clinical disease. *New Eng. J. Med.* 336: 1575-1586, 1997.
- Keating, M.T., Sanguinetti, M.C.: Molecular genetic insights into cardiovascular disease. *Science* 272:681-685, 1996.
- Schulze-Bahr, E., et al.: *KCNE1* mutations cause Jervell and Lange-Nielsen syndrome. *Nature Genet.* 17:267-268, 1997.
- Schulze-Bahr, E., et al.: The long-QT syndrome. Current status of molecular mechanisms. *Z. Kardiol.* 88:245-254, 1999.
- Viskin, S.: Long QT syndromes and torsades de pointes. *Lancet* 354:1625-1633, 1999.

Ejemplos de enfermedades por defectos genéticos en los canales iónicos

Enfermedad	Herencia	Gen del canal iónico	Locus
Fibrosis quística	AR	<i>CFTR</i> (cloro)	7q31
Síndrome del QT largo (6 tipos)	AD	<i>KVLQT1</i> (potasio cardíaco)	11p15.5
		<i>HERG</i>	7q35-36
		<i>SCNA5</i> (sodio cardíaco)	3p21
		Otros tres tipos (véase el texto)	
Hipertermia maligna	AD	(Rianodina, calcio cardíaco)	19q13.1
		(sodio del músculo esquelético)	17q23-25

AD, autosómica dominante; AR, autosómica recesiva

(Alrededor de otros 18 no listados, adaptado de Ackerman y Clapham, 1997.)



Defectos de los canales del cloro: fibrosis quística

La fibrosis quística (mucoviscidosis) es un trastorno multisistémico muy variable causado por mutaciones del gen del regulador de la conducción transmembrana de la fibrosis quística (CFTR). La fibrosis quística (FQ) es una de las enfermedades hereditarias autosómicas recesivas más frecuentes en la población de origen europeo (alrededor de 1 en 2.500 neonatos). La frecuencia elevada de heterocigosidad (1:25) se cree que proviene de su ventaja selectiva por el riesgo reducido a padecer diarrea epidémica (cólera).

A. Fibrosis quística: aspectos clínicos

La enfermedad afecta en primer término el sistema bronquial y el tracto gastrointestinal. La formación de moco viscoso que conduce a infecciones broncopulmonares frecuentes y recurrentes, y el subsiguiente déficit de oxígeno crónico, caracterizan la forma común severa de la enfermedad. La esperanza de vida promedio en la FQ típica es de alrededor de 30 años. La enfermedad puede tomar un curso menos severo, casi leve. En el 95% de los pacientes con FQ se produce ausencia bilateral congénita de los vasos deferentes (ABCDV). Puede ser la única manifestación en individuos con diferentes combinaciones de alelos mutados en el locus FQ.

B. Clonado posicional del gen de la fibrosis quística (FQ)

El gen CFTR se aisló sobre la base de su localización cromosómica (clonado posicional) sobre el brazo largo del cromosoma 7 en q31 (7q31). Como el gen pudo mapearse en el brazo largo del cromosoma 7 cerca de un locus marcador D7S15, se construyó un mapa de restricción de rango largo que comprendía 1.500 kb con el locus presuntivo de la FQ flanqueado por dos loci marcadores, MET y D7S8. De allí se aisló una región de 250 kb mediante una combinación de caminata cromosómica y salto cromosómico. En esta región se localizaron algunos genes (genes candidatos) entre los loci marcadores D7S340 y D7S424. El gen buscado se identificó por el hallazgo de mutaciones presentes en los pacientes y ausentes en los controles, al comparar con genes similares en otros organismos (conservación evolutiva), determinar su estructura de exones/intrones, secuenciar y determinar el patrón de expresión del gen en diferentes tejidos.

C. El gen CFTR y su proteína

El gen CFTR es grande; se extiende sobre 250 kb de DNA genómico y está organizado en 27 exones (24 se muestran en el diagrama) que codifican para un transcrito de 6,5 kb, con algunas formas de empalme (*splicing*) alternativo del mRNA. La proteína CFTR posee 1.480 aminoácidos. Es un regulador del canal iónico del cloro unido a la membrana con varios dominios funcionales: dos de unión a nucleótidos (codificados por los exones 9-12 y 19-23), uno regulador (exones 12-14a), y dos que atraviesan la membrana (exones 3-7 y 14b-18). Cada una de las dos regiones transmembrana está constituida por seis segmentos que atraviesan la membrana. El dominio de unión a nucleótidos 1 (DUN1) le confiere la actividad de canal del cloro regulado por AMPc. Aquí se localiza la mutación más común (que aparece en el 66% de los pacientes), una delección de un codón de fenilalanina en la posición 508 ($\Delta F508$). La proteína es un miembro de la familia de transportadores del casete de unión al ATP (*ATP-binding cassette*, ABC). El dominio R contiene sitios putativos para la fosforilación por las proteínas cinasas A y C. El CFTR se expresa con amplitud en las células epiteliales. Las más de 800 mutaciones diferentes observadas en el gen CFTR (véase <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr>) pueden agruparse en cinco clases funcionales diferentes: i) abolición de la síntesis del largo completo de la proteína, ii) bloqueo del procesamiento de la proteína, iii) regulación reducida del canal del cloro, iv) conductancia reducida del canal del cloro, v) cantidad reducida de la proteína CFTR normal. Los defectos genéticos subyacentes son mutaciones de sentido cambiado, mutaciones sin sentido, mutaciones del empalme del RNA y delecciones. Aparte de la forma $\Delta F508$ en alrededor del 66% de los pacientes, las mutaciones más frecuentes en el mundo son G542X (2,4%), G551D (1,6%), N1303K (1,3%) y W1282X (1,2%).

BIBLIOGRAFÍA

- Chillon, M., et al.: Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N. Engl. J. Med.* 332:1475-1480, 1995.
- Rosenbluth, D.B., Brody, S.L.: Cystic fibrosis, pp. 329-338. In: J.L. Jameson, ed., *Principles of Molecular Medicine*. Human Press, Totowa, N. J., 1998.
- Rosenstein, B.J., Zeitline, P.C.: Cystic fibrosis. *Lancet* 351:277-282, 1998.
- Tsui, L.C.: The spectrum of cystic fibrosis mutations. *Trends Genet* 8:392-398, 1992.

Fibrosis quística (mucoviscidosis)

Enfermedad severa progresiva del sistema bronquial y del tracto gastrointestinal

Función perturbada del canal iónico de cloro por mutaciones en el gen CFTR

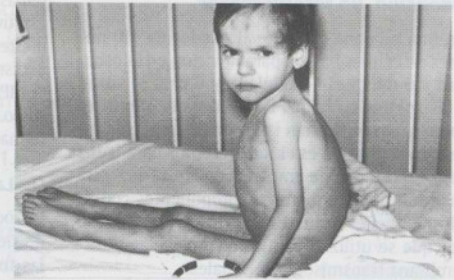
Autosómica recesiva

Locus génico 7q31.3

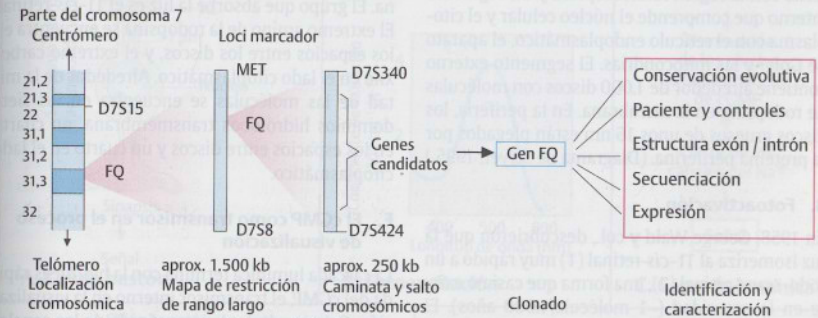
Incidencia de la enfermedad aprox. 1:2.500

Frecuencia heterocigótica aprox. 1:25

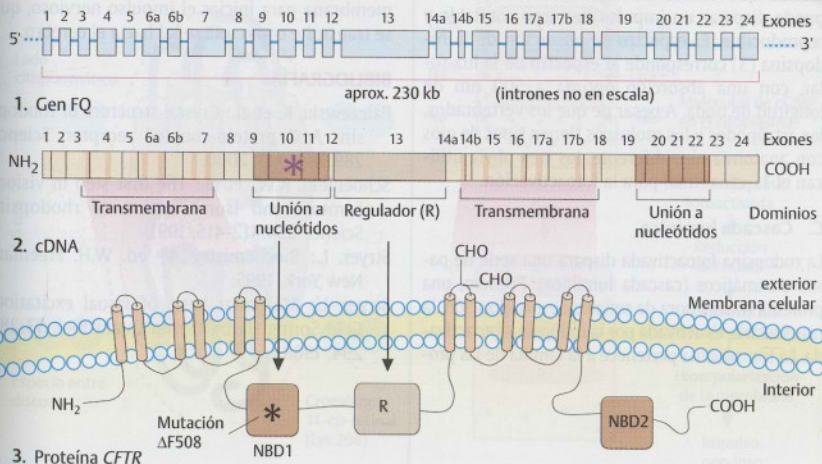
Mutación $\Delta F508$ en aprox. 70%



A. Fibrosis quística, una enfermedad recesiva muy frecuente en Europa y América del Norte



B. Clonado posicional del gen de la fibrosis quística (FQ)



C. El gen CFTR y la proteína CFTR

Rodopsina, un fotorreceptor

La retina humana contiene alrededor de 110 millones de células bastón para la visión en la oscuridad y 6 millones de células cono para la visión de los colores en la luz. Estas contienen fotorreceptores que convierten la luz en un impulso nervioso. La rodopsina es el fotorreceptor para la luz débil. El sistema de transmisión de la luz está constituido por numerosos componentes codificados por genes similares en estructura y función a los que se utilizan para otras moléculas transmembrana transmisoras de señales.

A. Bastones

Un bastón está constituido por un segmento externo con la región fotorreceptora y un segmento interno que comprende el núcleo celular y el citoplasma con el retículo endoplasmático, el aparato de Golgi y las mitocondrias. El segmento externo contiene alrededor de 1.000 discos con moléculas de rodopsina en la membrana. En la periferia, los discos gruesos de unos 16 nm están plegados por la proteína periferina. (Diagrama de Stryer, 1995.)

B. Fotoactivación

En 1958, George Wald y col., descubrieron que la luz isomeriza al 11-*cis*-retinal (1) muy rápido a un *todo-trans*-retinal (2), una forma que casi no existe en la oscuridad (~1 molécula/1.000 años). El cambio estructural inducido por la luz es tan grande que el movimiento atómico resultante puede disparar un impulso nervioso confiable y reproducible. El espectro de absorción de la rodopsina (3) corresponde al espectro de la luz solar, con una absorción óptima a 500 nm de longitud de onda. A pesar de que los vertebrados, los artrópodos y los moluscos tienen tipos de ojos con anatomía algo diferente, los tres phyla utilizan el 11-*cis*-retinal para la fotoactivación.

C. Cascada lumínica

La rodopsina fotoactivada dispara una serie de pasos enzimáticos (cascada lumínica). Primero, una proteína transmissora de señales de visualización, la transducina, es activada por la rodopsina fotoactivada. La transducina pertenece a la familia de las pro-

teínas G, es decir, puede asumir una forma de GDP inactiva y otra de GTP activa. El GTP activa a la fosfodiesterasa. Ésta hidroliza el cGMP con gran rapidez y disminuye la concentración citoplasmática del cGMP, lo que lleva al cierre de los canales iónicos del sodio. Inmediatamente después, la fosfodiesterasa se inactiva por medio del ciclo de una proteína G.

D. La rodopsina

La rodopsina es una proteína de transmembrana de siete hélices con sitios de unión para moléculas funcionalmente importantes, como la transducina, la rodopsina cinasa y la arrestina, del lado citoplasmático. El sitio de unión para la molécula sensible a la luz (cromóforo) es una lisina en la posición 296 del séptimo dominio transmembrana. El grupo que absorbe la luz es el 11-*cis*-retinal. El extremo amino de la rodopsina se encuentra en los espacios entre los discos, y el extremo carboxilo en el lado citoplasmático. Alrededor de la mitad de las moléculas se encuentran en los siete dominios hidrófobos transmembrana, un cuarto en los espacios entre discos y un cuarto en el lado citoplasmático.

E. El cGMP como transmisor en el proceso de visualización

La cascada lumínica termina con la hidrólisis rápida del cGMP, el transmisor interno en la visualización. Esto conduce al cierre rápido de los canales iónicos del sodio y la hiperpolarización de la membrana para iniciar el impulso nervioso, que se transmite como una señal hacia el cerebro.

BIBLIOGRAFÍA

Palczewski, K. et al.: Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor, *Science* 289:739-745, 2000.
 Schoenlein, R.W., et al.: The first step in vision: Femtosecond isomerization of rhodopsin. *Science* 254:412-415, 1991.
 Stryer, L.: *Biochemistry*. 4th ed. W.H. Freeman, New York, 1995.
 Stryer, L.: Molecular basis of visual excitation. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol.* 53:28-294, 1988.

A. Célula bastón

Segmento externo (fotorreceptor) 40 µm

Segmento interno (transmisor de señales) 1 µm

Membrana plasmática

Citoplasma

Discos que contienen rodopsina

Periferina

Espacio entre discos

Mitocondrias

Aparato de Golgi

RE

Núcleo

Sinapsis

Señal

B. Fotoexcitación

11-*cis*-retinal

1. Luz

Todo-*trans*-retinal

Isomerización del 11-*cis*-retinal a la forma *todo-trans*-retinal por un fotón

Coefficiente de extinción (10⁴ cm² M⁻¹)

Longitud de onda (nm)

C. Cascada lumínica

Luz

Rodopsina fotoactivada

Transducina activada

Fosfodiesterasa activada

Hidrólisis del cGMP

Disminución de los niveles citoplasmáticos de cGMP

Cierre de los canales del Na⁺

Señal

D. La rodopsina

Sitios de unión para la transducina, la rodopsina cinasa y la arrestina

Lado citoplasmático

4,5 nm

Espacio entre discos

Cromóforo 11-*cis*-retinal (Lys 296)

E. El cGMP como transmisor en la visión

Na⁺

Na⁺

Na⁺

Moléculas de cGMP en el citoplasma

Luz

R* = Rodopsina fotoactivada

Reducción del cGMP

Cierre de los canales del Na⁺

Hiperpolarización de la membrana

Impulso nervioso

Mutaciones en la rodopsina

La retinitis pigmentosa (RP) es un grupo genéticamente heterogéneo de enfermedades que conducen a la degeneración pigmentaria de la retina y la ceguera progresiva. Se demostraron numerosas mutaciones en el gen de la rodopsina como causantes de las diferentes formas de RP. Las mutaciones en otros genes que codifican para proteínas de la cascada lumínica también podrían causar retinitis pigmentosa.

A. Retinitis pigmentosa

El fondo de ojo muestra un cambio marcado de la pigmentación, con hiperpigmentación irregular y despigmentación. La papila (disco óptico) muestra una decoloración cerosa amarillenta. La pérdida de la visión, en especial en la luz oscura (ceguera nocturna), progresa desde la periferia hasta el centro en diferentes magnitudes según la forma de la enfermedad, hasta que sólo queda un campo visual central estrecho. (Fotografía de E. Zrenner, Tübingen.)

B. Mutación puntual en el codón 23

La primera mutación puntual demostrada en el gen de la rodopsina (Dryja y col., 1990) fue una transversión de la cisteína a la adenina en el codón 23. Esto cambia el codón CCC para la prolina (Pro) a CAC para la histidina (His). Debido a que la prolina en la posición 23 aparece en más de diez receptores de proteínas G, debe ser muy importante para el funcionamiento normal.

C. Mutaciones en la rodopsina

El locus génico para la rodopsina (RHO) en el hombre se encuentra en el brazo largo del cromosoma 3 en la región 2, banda 1.4 (3q21.4). En los seres humanos se demostraron mutaciones con herencia autosómica dominante y recesiva. La mayoría conduce al cambio de un aminoácido, aunque también pueden producirse deleciones. De los 348 aminoácidos de la rodopsina, 38 son invariables en varias posiciones en los vertebrados. Se conocen más de 100 mutaciones diferentes para la herencia autosómica dominante de la RP. Se reconoce un número creciente de mutaciones que causan RP au-

tosómica recesiva. Además, se han detectaron mutaciones en otros varios loci génicos que conducen a retinitis pigmentosa, por ejemplo, mutaciones en el gen para la periferina en el brazo corto del cromosoma 6 en seres humanos (6p) y un locus en la región centromérica del cromosoma 8. Otros loci génicos de enfermedades de los fotorreceptores son las subunidades α y β de la fosfodiesterasa (PDE).

D. Demostración de una mutación en el codón 23 con oligonucleótidos, después de una PCR

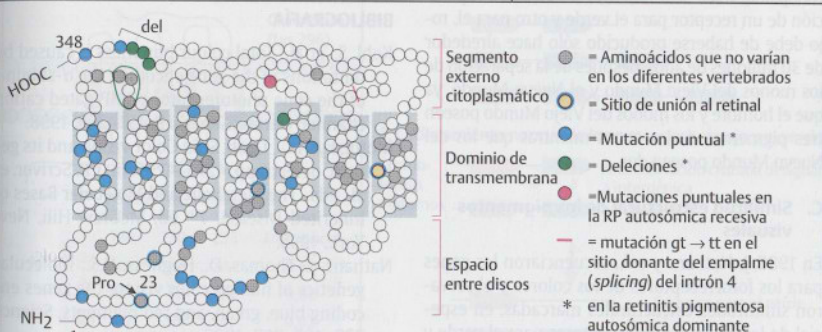
Este pedigrí (1) con retinitis pigmentosa heredada en forma autosómica dominante causada por una mutación en el codón 23, incluye a 13 individuos afectados en tres generaciones (mujeres afectadas, círculos negros; hombres afectados, cuadrados negros). Utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*) (véase pág. 66), Dryja y col., (1990) demostraron la mutación en fragmentos amplificados del exón 1 (2). El oligonucleótido normal corresponde a la secuencia normal entre los codones 26 y 20. La secuencia mutante del oligómero RP contiene la secuencia mutante CAC. Todos los individuos afectados dieron una señal de hibridación con el oligómero RP (2) (II-2, II-12 y III-4 no se examinaron), mientras que los individuos no afectados no dieron señal (véase pág. 408 para la demostración de una mutación puntual con oligonucleótidos).

BIBLIOGRAFÍA

Barkur, S. S.: Retinitis pigmentosa and related disorders. *Am J Med Genet.* 52:467-474, 1994.
 Dryja, T.P.: Retinitis pigmentosa. pp. 4297-4309. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill. New York, 1995.
 Dryja, T.P., et al.: A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 343:364-366, 1990.
 McInnes, R.R., Bascom, R.A.: Retinal genetics: a nullifying effect for rhodopsin. *Nature Genetics* 1:155-157, 1992.
 Wright, A.F.: New insights into genetic eye disease. *Trends Genet.* 8:85-91, 1992.

Un grupo de enfermedades hereditarias con degeneración pigmentaria de la retina	Frecuencia de las diferentes formas genéticas	normal C T A G	mutante C T A G
	25% autosómica dominante	- - - C	- - - C
Ceguera nocturna	20% autosómica recesiva	- - A	- - -
	8% ligada al cromosoma X	- - T	- - -
Pérdida progresiva de la visión	47% Modo de herencia incierta en un paciente aislado	- - G	- - -
		- - A	- - -
Frecuencia aproximada de 1:3.500	Signos diagnósticos importantes	- - G	- - -
		- - C	- - -
Fondo de ojo típico con cambios pigmentarios, vasos estrechos y nervio óptico pálido y ceroso	Fondo de ojo: vasos estrechos nervio óptico pálido cambios maculares reflejo lumínico amplio cambios del epitelio pigmentario electrorretinograma silencioso	- - T	- - -
		- - T	- - -
Cambios secundarios en la cámara anterior: cambios en el cuerpo vítreo	Catarata Miopía	- - C	- - -
		- - C	- - -
		- - C	- - -
		- - T	- - -
		- - C	- - -
		- - C	- - -
		- - G	- - -
		- - A	- - -
		- - G	- - -
		- - C	- - -
		- - A	- - -

A. Retinitis pigmentosa



C. Mutaciones en la rodopsina

1. Pedigrí con retinitis pigmentosa autosómica dominante por una mutación en el codón 23 (P23H)
 2. Autorradiografía de una hibridación de fragmentos de DNA amplificados en el codón 23, con un oligómero 3'-CATGAGCTTCACCGACGCA-5' para la secuencia mutante

D. Demostración de la mutación P23H en el codón 23 con oligonucleótido, después de una PCR

Visión de los colores

Como sugirió Thomas Young en 1802, la visión de los colores en los seres humanos está mediada por tres tipos de receptores en los conos de la retina, uno para el azul, otro para el verde y otro para el rojo.

A. Genes para las proteínas fotorreceptoras en los conos

El gen para el receptor del azul es autosómico; los genes para los receptores del rojo y el verde están en el cromosoma X. El espectro de absorción de los tres receptores muestra un máximo de 426 nm para el azul, alrededor de 530 para el verde y unos 550 para el rojo. Se descubrió que el receptor para el rojo es polimorfo, con dos máximos de absorción diferentes a 552 y 557 nm.

B. Evolución de los genes para los pigmentos fotorreceptores visuales

Los genes de los fotorreceptores surgieron a partir de un solo gen ancestral (protogén). El par rodopsina-transducina se encuentra en invertebrados y tiene por lo menos 700 millones de años. El receptor para el azul tiene casi la misma antigüedad que la rodopsina, unos 500 millones de años. La separación de un receptor para el verde y otro para el rojo debe de haberse producido sólo hace alrededor de 30 millones de años, después de la separación de los monos del Viejo Mundo y el Nuevo Mundo, ya que el hombre y los monos del Viejo Mundo poseen tres pigmentos de los conos mientras que los del Nuevo Mundo poseen dos.

C. Similitud estructural de los pigmentos visuales

En 1986, J. Nathans y col., secuenciaron los genes para los fotorreceptores de los colores y observaron similitudes estructurales marcadas, en especial de los genes de los receptores para el verde y el rojo. Aquí se muestran los productos génicos (los fotorreceptores) y se comparan sus similitudes. Los puntos oscuros señalan aminoácidos variables; los claros son aminoácidos idénticos; se dan los porcentajes.

D. Polimorfismo en el fotorreceptor para el rojo

Motulsky y col., (Winderickx y col., 1992) demostraron codones variables en tres regiones del gen del receptor para el rojo (1). La serina se encontró en la posición 180 en el 60% de los machos investigados; la alanina en el 40%. La posición 230 mostró

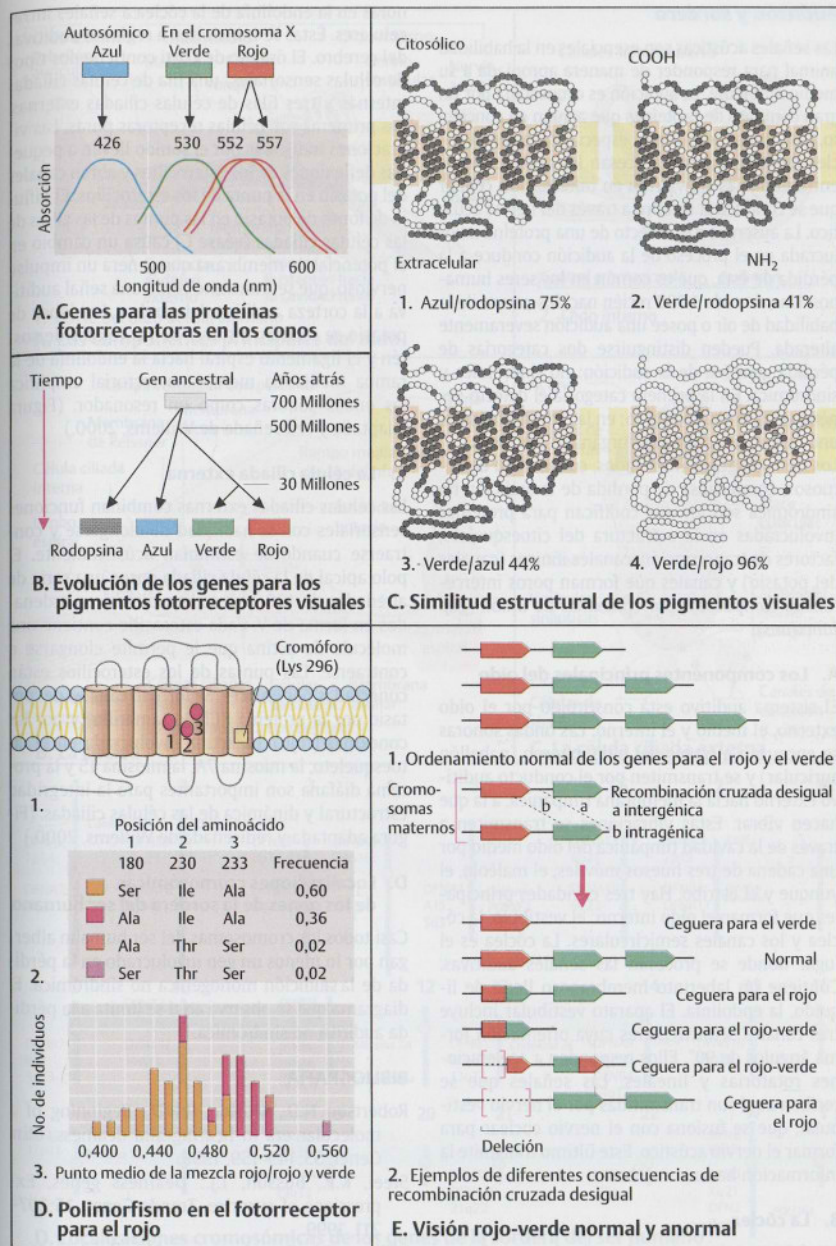
polimorfismo en la isoleucina (Ile) y la treonina (Thr); la posición 233 en la alanina (Ala) y la serina (Ser) (2). Las diferencias en la percepción del color rojo podrían demostrarse por el procedimiento de Raleigh de la prueba de mezcla de colores (3).

E. Visión rojo-verde normal y defectuosa

En el brazo largo del cromosoma X en seres humanos se encuentran juntos un gen para el rojo y uno a tres genes para el verde (1). Dado que las secuencias para estos genes son muy similares, no es frecuente la recombinación cruzada (*crossing over*) desigual (2). La recombinación cruzada intergénica lleva a la pérdida (ceguera para el verde) o la duplicación; la recombinación cruzada intragénica conduce a un gen híbrido (ceguera para el rojo). La ceguera para el verde se produce por la pérdida de un gen para el receptor del verde; la ceguera para el rojo, por la ausencia o un receptor defectuoso para el rojo. En la ceguera para rojo-verde, no están presentes ni el receptor normal para el rojo ni el receptor normal para el verde. Alrededor del 1% de todos los hombres es ciego para el rojo-verde y cerca del 2% es ciego para el verde. Alrededor del 8% muestra debilidad para diferenciar el rojo del verde.

BIBLIOGRAFÍA

- Kohl, S., et al.: Total colour blindness is caused by mutations in the gene encoding the α -subunit of the cone photoreceptor cGMP-gated cation channel. *Nature Genet.* 19:257-259, 1998.
- Motulsky, A.G., Deeb, S. S.: Color vision and its genetic defects. pp. 4275-4295. In: CR. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed, McGraw-Hill, New York, 1995.
- Nathans, J., Thomas, D., Hogness, D.S.: Molecular genetics of human color vision: the genes encoding blue, green, and red pigments, *Science* 232: 193-202, 1986.
- Neitz, M., Neitz, J.: Numbers and ratios of visual pigment genes for normal red-green color vision, *Science* 267:1013-1016, 1995.
- Winderickx, J., et al.: Polymorphism in red photopigment underlies variation in colour matching. *Nature* 356:431-433, 1992.
- Wissinger, B., Sharpe, L.T.: New aspects of an old theme: The genetic basis of human color vision. *Am. J. Hum. Genet.* 63: 1257-1262, 1998.
- Wissinger, B., et al.: Human rod monochromacy: linkage analysis and mapping of a cone photoreceptor expressed candidate gene on chromosome 2q11. *Genomics* 51:325-331, 1998.



Audición y sordera

Las señales acústicas son esenciales en la habilidad animal para responder de manera apropiada a su medio ambiente. La audición es orquestada por un gran conjunto de proteínas que actúan en concierto. Las células sensoriales especializadas en la cóclea del oído interno procesan las ondas sonoras entrantes y las convierten en información celular que se conduce al cerebro a través del nervio acústico. La ausencia o el defecto de una proteína involucrada en el proceso de la audición conduce a la pérdida de ésta, que es común en los seres humanos. Uno de cada 1.000 recién nacidos carece de la habilidad de oír o posee una audición severamente alterada. Pueden distinguirse dos categorías de pérdida genética de la audición: no sindrómica y sindrómica. En la primera categoría el defecto genético está limitado al oído; en la última, el oído es uno de los varios sistemas orgánicos afectados. Los tipos de genes implicados, cuando son defectuosos, como causa de pérdida de la audición no sindrómica son los que codifican para proteínas involucradas en la estructura del citoesqueleto, factores de transcripción, canales iónicos (canales del potasio) y canales que forman poros intercelulares compuestos por conexinas de unión (*gap junctions*).

A. Los componentes principales del oído

El sistema auditivo está constituido por el oído externo, el medio y el interno. Las ondas sonoras se encauzan a través del oído externo (pabellón auricular) y se transmiten por el conducto auditivo externo hacia la membrana timpánica, a la que hacen vibrar. Estas vibraciones se transmiten a través de la cavidad timpánica del oído medio por una cadena de tres huesos móviles, el maléolo, el yunque y el estribo. Hay tres cavidades principales que forman el oído interno: el vestíbulo, la cóclea y los canales semicirculares. La cóclea es el lugar donde se procesan las señales auditivas. Contiene un laberinto membranoso lleno de líquido, la endolinfa. El aparato vestibular incluye tres canales semicirculares cuya orientación forma ángulos de 90°. Ellos responden a aceleraciones rotatorias y lineales. Las señales que se reciben aquí son transmitidas por el nervio vestibular, que se fusiona con el nervio coclear para formar el nervio acústico. Este último transmite la información hacia el cerebro.

B. La cóclea

La cóclea contiene el conducto coclear que forma el órgano de Corti. Éste convierte a las ondas so-

noras en la endolinfa de la cóclea a señales intracelulares. Éstas se transmiten a regiones auditivas del cerebro. El órgano de Corti contiene dos tipos de células sensoriales: una fila de células ciliadas internas y tres filas de células ciliadas externas. Las primeras son células receptoras puras. Las vibraciones inducidas por el sonido llevan a pequeñas deflexiones de los esterocilios y abren canales del potasio en la punta de los esterocilios. El influjo de iones de potasio en las puntas de las ciliadas de las células ciliadas (véase C) causa un cambio en el potencial de membrana que genera un impulso nervioso, que se transmite como una señal auditiva a la corteza auditiva del cerebro. Los iones de potasio se reciclan a través de las células de sostén y el ligamento espiral hacia la endolinfa de la rampa media. La membrana tectorial amplifica las ondas sonoras como un resonador. (Figura adaptada y rediseñada de Willems, 2000.)

C. La célula ciliada externa

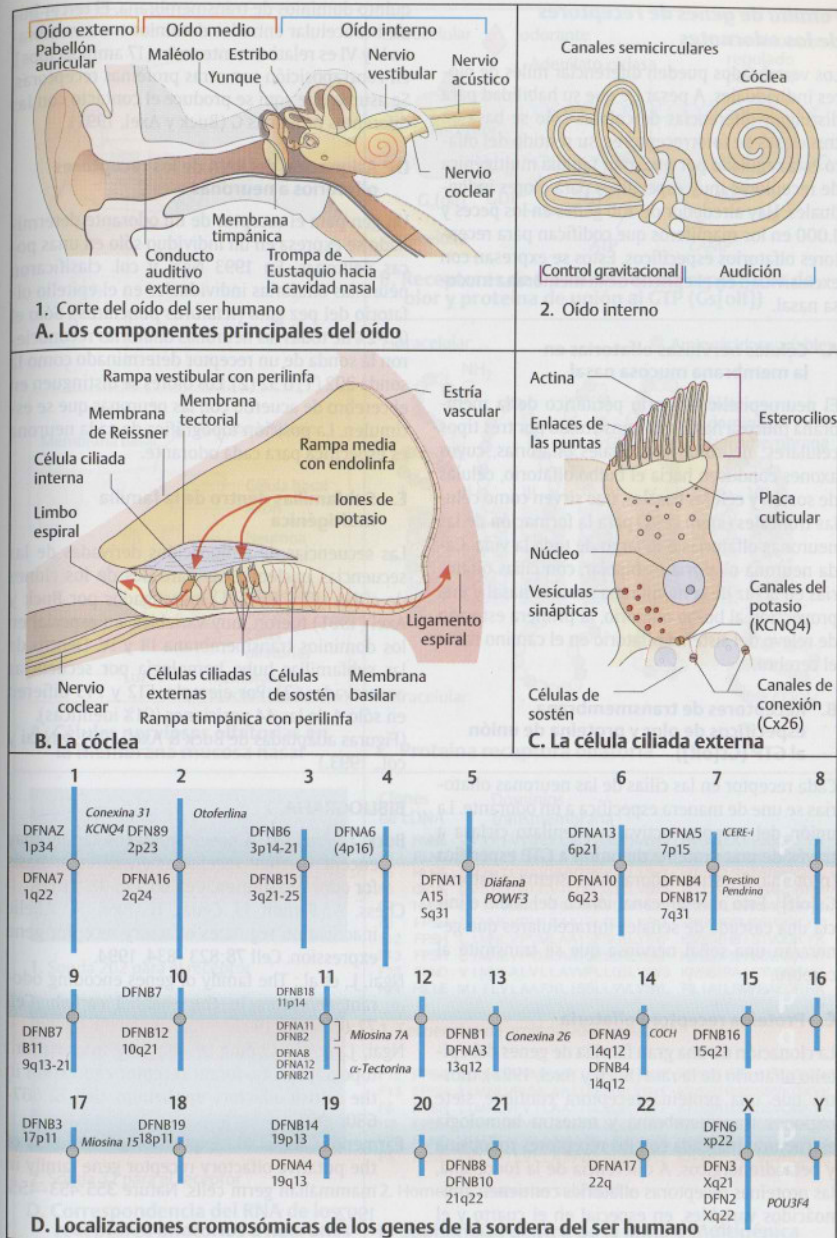
Las células ciliadas externas combinan funciones sensoriales con la habilidad de elongarse y contraerse cuando se estimulan acústicamente. El polo apical de la célula ciliada posee una serie de alrededor de 100 esterocilios cilíndricos ordenados en forma de V. Cada esterocilio contiene una molécula de actina que le permite elongarse o contraerse. Las puntas de los esterocilios están conectadas por enlaces. Se forman canales del potasio por la proteína KCNQ4 (amarillo) y por las conexinas (rojo). La actina involucrada en el citoesqueleto, la miosina 7A, la miosina 15 y la proteína diáfana son importantes para la integridad estructural y dinámica de las células ciliadas. (Figura adaptada y rediseñada de Willems, 2000.)

D. Localizaciones cromosómicas de los genes de la sordera del ser humano

Casi todos los cromosomas del ser humano albergan por lo menos un gen involucrado en la pérdida de la audición monogénica no sindrómica. El diagrama que se observa aquí se limita a la pérdida auditiva no sindrómica.

BIBLIOGRAFÍA

Robertson N.D., Morton, R.N.D.: Beginning of a molecular era in hearing and deafness. *Clin. Genet.* 55:149-159, 1999.
 Steel, K.P., Bussoli, T.J.: Deafness genes. Expressions of surprise. *Trends Genet.* 15:207-211, 1999.
 Willems, P.J.: Genetic causes of hearing loss. *New Engl. J. Med.* 342:1101-1109, 2000.



Familia de genes de receptores de los odorantes

Los vertebrados pueden diferenciar miles de olores individuales. A pesar de que su habilidad para distinguir diferencias de colores sólo se basa en tres clases de fotorreceptores, su sentido del olfato está regulado por una gran familia multigénica de receptores muy específicos para olores individuales. Hay alrededor de 100 genes en los peces y 1.000 en los mamíferos que codifican para receptores olfatorios específicos. Éstos se expresan con exclusividad en el epitelio de la membrana mucosa nasal.

A. Células nerviosas olfatorias en la membrana mucosa nasal

El neuroepitelio olfatorio periférico de la membrana mucosa nasal está constituido por tres tipos celulares: neuronas sensoriales olfatorias, cuyos axones conducen hacia el bulbo olfatorio, células de sostén y células basales, que sirven como células troncales (*stem cells*) para la formación de las neuronas olfatorias a lo largo de toda la vida. Cada neurona olfatoria es bipolar, con cilias olfatorias en la luz de la membrana mucosa nasal y una proyección al bulbo olfatorio, la primera estación de relevo del sistema olfatorio en el camino hacia el cerebro.

B. Receptores de transmembrana específicos de olor y proteína de unión al GTP (*Gs[olf]*)

Cada receptor en las cilias de las neuronas olfatorias se une de manera específica a un odorante. La unión del receptor activa la adenilato ciclasa a través de una proteína de unión a GTP específica (proteína G estimuladora del sistema olfatorio, *Gs[olf]*). Esto abre un canal iónico del sodio e inicia una cascada de señales intracelulares que generaran una señal nerviosa que se transmite al cerebro.

C. Proteína receptora olfatoria

La clonación de una gran familia de genes del epitelio olfatorio de la rata (Buck y Axel, 1991), mostró que una proteína receptora contiene siete regiones transmembrana y muestra homología estructural marcada con los receptores rodopsina y betaadrenérgicos. A diferencia de la rodopsina, las proteínas receptoras olfatorias contienen aminoácidos variables, en especial en el cuarto y el

quinto dominios de transmembrana. El tercer bucle intracelular entre los dominios transmembrana V y VI es relativamente corto (17 aminoácidos), en contraposición con otras proteínas receptoras. Se asume que aquí se produce el contacto con las diferentes proteínas G (Buck y Axel, 1991).

D. Asignación del RNA de los receptores olfatorios a neuronas

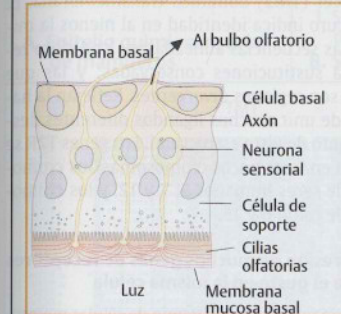
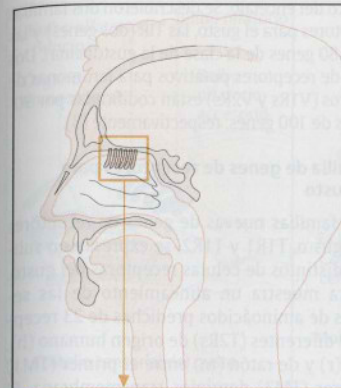
Un gen para el receptor de un odorante determinado se expresa en un individuo sólo en unas pocas neuronas. En 1993 Ngai y col. clasificaron neuronas olfatorias individuales en el epitelio olfatorio del pez gato (*Ictalurus punctatus*). Sólo el 0,5-2% de todas las neuronas olfatorias reconocieron la sonda de un receptor determinado como la sonda 202 (1) o 32 (2). Los olores se distinguen en el cerebro de acuerdo con las neuronas que se estimulen. La posición topográfica de cada neurona es específica para cada odorante.

E. Subfamilias dentro de la familia multigénica

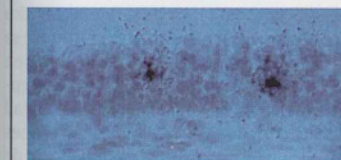
Las secuencias de aminoácidos derivadas de las secuencias nucleotídicas parciales de los clones de cDNA (F2 - F24) (1) investigados por Buck y Axel (1991) fueron muy variables, en especial en los dominios transmembrana III y IV. Dentro de las subfamilias hubo homología por secuencias conservadas (2). Por ejemplo, F12 y F13 difieren en sólo 4 de las 44 posiciones (91% idénticas). (Figuras adaptadas de Buck & Axel, 1991, y Ngai y col., 1993.)

BIBLIOGRAFÍA

- Buck, L., Axel, R.: A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 65:175-187, 1991.
- Chess, A., Femon, I.I., Cedar, H., Axel, R.: Allelic inactivation regulates olfactory receptor gene expression. *Cell* 78:823-834, 1994.
- Ngai, J., et al.: The family of genes encoding odorant receptors in the channel catfish. *Cell* 72:657-666, 1993.
- Ngai, J., et al.: Coding of olfactory information: topography of odorant receptor expression in the catfish olfactory epithelium. *Cell* 72:667-680, 1993.
- Parmentier, M., et al.: Expression of members of the putative olfactory receptor gene family in mammalian germ cells. *Nature* 355:453-455, 1992.



A. Células nerviosas olfatorias en la membrana mucosa nasal

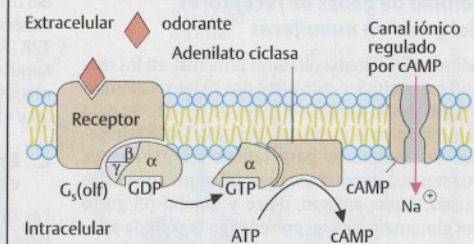


1. Sonda 202 para el receptor

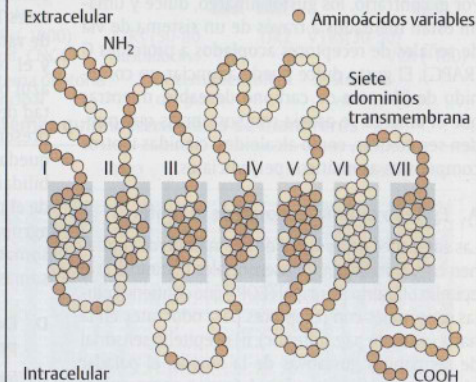


2. Sonda 32 para el receptor

D. Correspondencia del RNA de los receptores olfatorios a neuronas



B. Receptores de transmembrana específicos de olor y proteína de unión al GTP (*Gs[olf]*)



C. Proteína receptora olfatoria

Clones de cDNA	Dominios transmembrana	Secuencias de aminoácidos variables
F2 RVNE	VVIFIVVSLFLVLPFALIMSV	RMSSI LKVPSSQGI YK
F3 FLND	LVIFYTLVLLATVPLAGIFYSYF	KWSSICA I SSVHGKYK
F5 HLNE	LMILTEGAVVMVTPFVCILISYI	HITCAVLRVSSPRGWMK
F6 QVVE	LVSFGIAFCVILGSGCITLVSVA	YITTIK I PSARGRHR
F7 HMNE	LVIFVMGGI I LVIPFVLIIVSVY	RMSSI LKVPARG I RK
F8 FFSH	LTMHLVPV I LAASLGGILYSYF	KIVSSI RSMSSVQGYK
F12 FFSH	LIMNLPVMLAAI ISFGILYSYF	KIVSSI HS I STVQGYK
F13 FFSH	LIMNLPVMLAAI ISFGILYSYF	KIVSSI RSVSSVQGYK
F23 FLND	VIMYFALVLLAVVPLLGILYSYS	KIVSSI RA I STVQGYK
F24 HEIE	MILVLLAAFNLI ISLLVLSYSL	FILIAI LRMSAEGRRK

1. Secuencias de aminoácidos variables

F12 FFSH	LIMNLPVMLAAI ISFGILYSYF	KIVSSI HS I STVQGYK
F13 FFSH	LIMNLPVMLAAI ISFGILYSYF	KIVSSI RSVSSVQGYK
F8 FFSH	LTMHLVPV I LAASLGGILYSYF	KIVSSI RSMSSVQGYK
H12 FFSH	LIMNLPVMLGAI ISLGGILYSYF	KIVSSVRS I SSVQGHK
F23 FLND	VIMYFALVLLAVVPLLGILYSYS	KIVSSI RA I STVQGYK
F3 FLND	LVIFYTLVLLATVPLAGIFYSYF	KIVSSI CA I SSVHGKYK

2. Homología entre las subfamilias

E. Subfamilias dentro de la familia multigénica

Genes del desarrollo embrionario

Mutantes del desarrollo en *Drosophila*

El desarrollo embrionario de un organismo está determinado por genes que pueden estar activos sólo durante fases específicas. El análisis de mutantes del desarrollo de embriones de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* proveyó una visión dentro de la regulación genética del proceso de desarrollo. Las fases del desarrollo temprano en embriones de organismos muy diferentes están reguladas por genes similares.

A. La organización segmentaria de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*)

El desarrollo de la mosca de la fruta a partir de una célula huevo fertilizada hacia el cuerpo segmentado de un organismo adulto, lleva nueve días. Las larvas se desarrollan luego de un día y pasan a través de estadios definidos del desarrollo embrionario. El embrión forma una pupa en cinco días y, luego de la metamorfosis, emerge como una mosca adulta de 2 mm de longitud. La cabeza del adulto tiene tres segmentos (C1-3), el tórax tres (T1-3) y el abdomen ocho segmentos (A1-18). Una mosca de la fruta tiene en conjunto 14 parasegmentos (P1-4), cada uno correspondiente a la última mitad de un segmento y la primera mitad del siguiente. La organización segmentaria es visible en la larva.

B. Mutaciones embrionarias letales

Las mutaciones embrionarias letales pueden identificarse por cruzamientos apropiados. Un cuarto de la progenie de las moscas heterocigotas (A/a) para un gen embrionario mutante (a) es homocigoto (aa) para el alelo mutante (1). Si una mutación sólo involucra genes maternos (efecto materno), la progenie de los homocigotos femeninos (bb) se ve afectada de manera letal (2). Los genes del efecto materno codifican para productos genéticos tempranos que determinan la polaridad del embrión; véase más adelante (C).

C. Ejemplos de mutantes del desarrollo

Se conocen muchas mutaciones del desarrollo en *Drosophila melanogaster*. Pueden clasificarse en diferentes clases génicas jerárquicas. La letra normal (salvaje) está constituida por tres segmentos cefálicos, tres torácicos, bicoide, conduce al desarrollo de una larva sin cabeza o tórax (2). Una mutación en un gen llamado nanos afecta al extremo posterior de la larva temprana. Los genes *brecha* conducen a la omisión (*gaps* o espacios) en la construcción segmentaria de la larva. En la mutante *Krüppel* (3) faltan todos los segmentos torácicos y abdominales 1-5; en el mutante *Knirps* (4), están ausentes los segmentos abdominales 1-6. Los genes de la *regla del par* (*par rule*) determinan la orientación y el destino del desarrollo de los 14 parasegmentos. Algunas mutaciones afectan a cada segmento segundo. Con *even-skipped* (5), faltan todos los parasegmentos pares. Las mutaciones en el gen *fushi tarazu* lleva a la formación de menos segmentos que lo normal (*fushi tarazu* quiere decir muy pocos segmentos en japonés). Los genes de la *polaridad segmentaria* determinan la polaridad de cada segmento (7). Hay más de diez genes de *polaridad segmentaria*. Los genes *selectores homeóticos* (8) determinan el destino final de cada segmento. En la mutante *antennapedia* (*Ant*), la antena que suele estar unida inmediatamente bajo el ojo es reemplazada por una pata (pata homeótica).

(Figuras adaptadas de Watson y col., 1992.)

BIBLIOGRAFÍA

- Gehring, W.J., et al.: Homeodomain-DNA recognition, *Cell* 78:211-223, 1994.
- Kenyon, C.: If birds can fly, why can't we? Homeotic genes and evolution. *Cell* 78:175-180, 1994.
- Lawrence, P.A.: The Making of a Fly. The Genetics of Animal Design, Blackwell Scientific, Oxford, 1992.
- Ntisslein-Volhard, C., Frohnhöfer, H.G., Lehmann, R.: Determination of anterior-posterior polarity in *Drosophila*, *Science* 238:1675-1681, 1987.
- Watson, J.D., et al.: Recombinant DNA. 2nd ed. W.H. Freeman, Scientific American Books, 1992.

A. Organización segmentaria de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*)

Clase de gen	Descripción
Salvaje	Larva normal
Efecto materno anterior	bicoide (bed): sin cabeza ni tórax
Brecha (<i>gap</i>)	3. <i>Krüppel</i> (kr): ausencia de todos los segmentos torácicos y abdominales 1-5 4. <i>Knirps</i> (kni): ausencia de segmentos abdominales 1-6
Regla del par (<i>pair rule</i>)	5. <i>Even-skipped</i> (eve): ausencia de todos los parasegmentos pares 6. <i>Fushi tarazu</i> (ftz): muy pocos segmentos; influido por otros genes
Polaridad segmentaria	7. <i>Grosella silvestre</i> (gooseberry, gb): ausencia de la mitad de todos los otros segmentos, reemplazados por sus imágenes especulares
Genes homeóticos	8. <i>Antennapedia</i> (Ant): partes de la boca reemplazadas por patas homeóticas

B. Mutantes letales para el embrión

1. Mutantes letales para el embrión: Heterocigota Aa x Heterocigota Aa → AA, Aa, Aa, aa Letal

2. Mutantes letales a través del efecto materno: Heterocigota Bb x Heterocigota Bb → BB, Bb, Bb, bb (Descendencia normal vs Descendencia letal para el embrión)

C. Ejemplos de mutantes

Genes de caja homeótica (*homeobox*)

Los genes relacionados con el desarrollo embrionario en *Drosophila* están organizados en una jerarquía funcional. Hay genes similares (o incluso idénticos en algunas regiones) en los ratones y en los seres humanos.

A. Jerarquía de genes del desarrollo

Cuatro sistemas independientes controlan el desarrollo embrionario en *Drosophila melanogaster*. Un gradiente de proteínas derivadas de la madre codificadas por el gen *bicoide* (*bcd*) determina el desarrollo en la región anterior (cabeza); de modo similar ocurre con *nanos* en la región posterior. Ellos activan a los genes *brecha* (*gap*). Los tres genes *brecha* más importantes, *Hunchback*, *Knirps* y *Krüppel*, codifican para factores de transcripción de tipo dedos de cinc (pág. 218). *Hunchback* se expresa desde la parte anterior hasta alrededor de la mitad del embrión; *Krüppel* en la región de los segmentos torácicos 4-16 y los primeros seis segmentos abdominales; *Knirps*, más hacia posterior (parasegmentos 10-14). Los genes *brecha* inducen a los genes de la regla del par (*pair rule*). Los genes de la polaridad segmentaria determinan la orientación correcta de los segmentos individuales. Después de que la segmentación se completó, los genes *selectores* determinan el desarrollo posterior y el destino final de los segmentos. Ellos están constituidos por tres complejos génicos grandes, el *antennapedia* (*ANT-C*), el *bithorax* (*BX-C*) y el *ultrabithorax* (*UBX*). Las mutaciones de estos complejos génicos conducen a estructuras extrañas.

B. Mutación bithorax

Un mutante para el complejo *bithorax* (*BX-C*) produce el desarrollo de un segmento torácico adicional con alas desarrolladas por completo. (Fotografía de Lawrence, 1992, por E. B. Lewis.)

C. Estructura del gen antennapedia con caja homeótica

Antennapedia es un gen del complejo *antennapedia* (*ANT-C*) que se expresa en los parasegmentos 5 y 6. Contiene un segmento de secuencias de DNA muy conservadas en el exón 8, la caja homeótica (*homeobox*). Su secuencia es idéntica en una amplia variedad de organismos, desde *Dro-*

sophila hasta los mamíferos. Codifica para alrededor de 60 aminoácidos (dominio homeótico, en inglés *homeodomain*). El dominio homeótico contiene cuatro dominios de una proteína helicoidal con propiedades de unión al DNA y funciona como un factor de transcripción (Gehring y col., 1990).

D. Genes homeóticos en *Drosophila* y genes *Hox* en el ratón

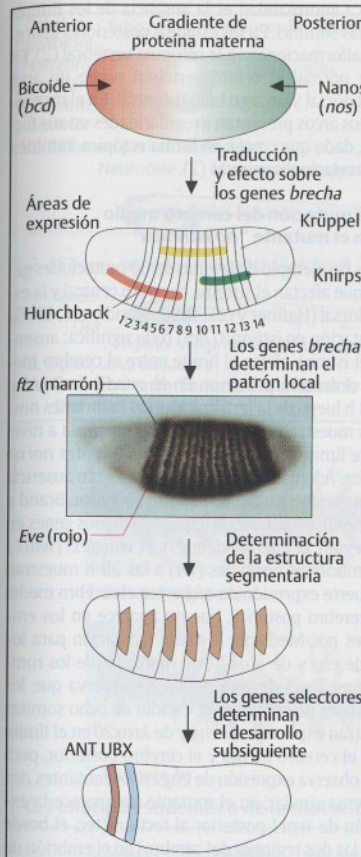
Los genes homeóticos también existen en los vertebrados. En el cerebro embrionario del ratón (y del hombre) se encuentra una serie de genes con la misma orientación anteroposterior, y que se corresponde con los complejos ANT y BX (*ANT-C* y *BX-C*). La expresión temporal se corresponde con su orientación.

E. Genes de caja homeótica (genes *HOX*)

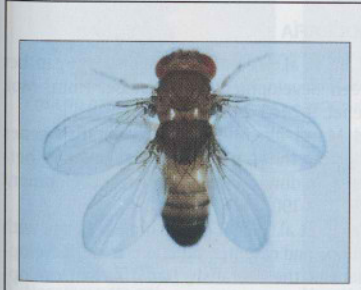
En los seres humanos y en los ratones hay cuatro grupos (conjuntos) de genes que se corresponden con los genes homeóticos de *Drosophila* (*HOX* 1-14 en los seres humanos, *Hox* 1-4 en el ratón). Como las mutaciones de estos genes en los ratones conducen a trastornos característicos, se asume que también tienen un significado clínico en los seres humanos. El extremo posterior corresponde al extremo 5' del DNA codificante y el extremo anterior al extremo 3'.

BIBLIOGRAFÍA

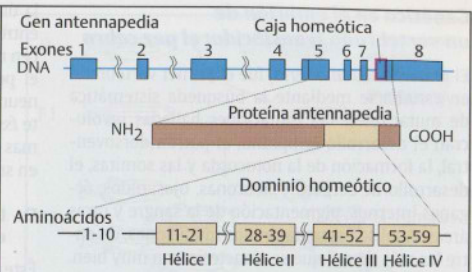
Amores, A., et al.: Zebrafish *hox* clusters and vertebrate genome evolution. *Science* 282:1711-1714, 1998.
 Gehring, W.J. et al.: The structure of the homeodomain and its functional implications. *Trends Genet.* 6:323-329, 1990.
 Krumlauf, R.: *Hox* genes in vertebrate development. *Cell* 78:191-201, 1994.
 Lawrence, P.A.: *The Making of a Fly. The Genetics of Animal Design.* Blackwell Scientific, Oxford, 1992.
 Marx, J.: Homeobox genes go evolutionary. *Science* 255:399-401, 1992.
 Reddihough, G.: Homing in on the homeobox. *Nature* 357:643-644, 1992.
 Scott, M.P.: A rational nomenclature for vertebrate homeobox (*HOX*) genes. *Nucleic Acids Res.* 21:1687-1688, 1993.



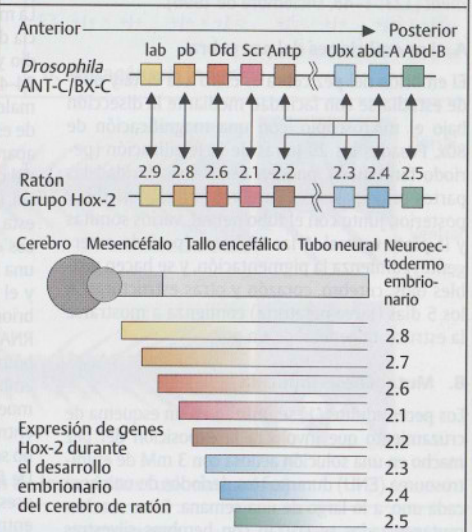
A. Jerarquía de genes del desarrollo



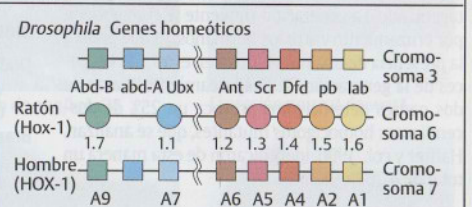
B. Mutación bithorax



C. Estructura del gen antennapedia y la caja homeótica



D. Genes homeóticos en *Drosophila* y genes *Hox* en el ratón



Otros grupos de genes en el hombre:
 HOX-2 en el cromosoma 17q21-22 (cromosoma 11 de ratón)
 HOX-3 en el cromosoma 12q11-21 (cromosoma 15 de ratón)
 HOX-4 en el cromosoma 2q31-37 (cromosoma 4 de ratón)

E. Genes de caja homeótica (*HOX*)

Genética en el embrión de un vertebrado translúcido: el pez cebra

El pez cebra (*Danio rerio*) fue el primer vertebrado en estudiarse mediante la búsqueda sistemática de mutaciones. Las mutaciones halladas involucran el desarrollo temprano, el patrón dorsoventral, la formación de la notocorda y las somitas, el desarrollo de cerebro y neuronas, ojos, oídos, órganos internos, pigmentación de la sangre y otras áreas. Aquí se presentarán dos mutaciones, de entre las más de mil que se caracterizaron muy bien. La información se encuentra disponible en el número dedicado al pez cebra en la revista *Development* (123: 1-48, Diciembre de 1996).

A. Los embriones del pez cebra

El embrión del pez cebra es claro a la vista y puede estudiarse con facilidad mediante la disección bajo el microscopio, con una magnificación de 80x. Pasadas las 29 horas de la fertilización (período faringular), pueden verse con claridad las partes principales del cerebro: anterior, medio y posterior, junto con el tubo neural, varios somitas y la placa ventral. A las 48 horas (período emergente) comienza la pigmentación, y se hacen visibles ojos, corazón y otras estructuras. A los 5 días (larva natatoria) comienza a mostrarse la estructura general de un pez.

B. Mutagénesis inducida

Los peces adultos (1) se utilizan en un esquema de cruzamiento que involucra la exposición del pez macho en una solución acuosa con 3 mM de etilnitrosourea (ENU) durante tres períodos de una hora cada uno, a lo largo de una semana. Estos machos mutagenizados se cruzan con hembras silvestres (*wild type*) (2). La primera generación de este cruzamiento (F1) es heterocigota para un genoma mutagenizado. La generación siguiente (F2) se obtiene por cruzamiento entre los hermanos, lo que genera la presencia de una mutación *m* en el 50% de los peces de la generación F2. El apareamiento al azar de los dos padres heterocigotos provoca un 25% de descendientes homocigotos mutantes, que se analizan. Haffter y col., 1996, identificaron de esta manera un total de 4.264 mutantes.

C. Fenotipo esquelético de la mutación de las somitas fusionadas (*fss*)

De los 1.163 mutantes caracterizados por sus efectos fenotípicos se darán dos ejemplos, uno aquí y el otro en D. Los mutantes *fss* muestran irregularidades en la división de las somitas a las 72 horas luego de la fertilización. En el estadio de siete somitas

la única anomalía es la ausencia de los límites entre las somitas. En los estadios posteriores aparecen malformaciones en la columna vertebral (2). En el pez normal el centro vertebral posee un arco neural dorsal y un arco hemal ventral. En el mutante *fss* los arcos presentan irregularidades en sus formas y, dado que crecen en forma ectópica, también en sus relaciones mutuas (2).

D. La mutación del cerebro medio en el mutante "no isthmus"

Éste es un ejemplo de las más de 60 mutaciones genéticas que afectan al sistema nervioso central y la espina dorsal (Haffter y col., 1996; Brand y col., 1996). La mutación *no isthmus* (*noi*), (que significa: ausencia del istmo), afecta al límite entre el cerebro medio y el cerebro posterior. En el estadio faringular, 24-48 h luego de la fertilización, los embriones normales muestran una constricción conspicua a nivel de este límite, mientras que en los mutantes *noi* no aparece. Además, éstos últimos presentan ausencia del cerebelo derivado de la parte posterior. Brand y col. (1996), estudiaron la expresión de dos genes en esta región, el *engrailed* (*eng*) y el *wingless* (*wnt1*). Los embriones normales (*wt*) a las 28 h muestran una fuerte expresión de *eng* entre el cerebro medio y el cerebro posterior, que no aparece en los embriones *noi*. Mediante la doble marcación para los RNA de *eng* y de *krox20*, un marcador de los rombómeros 3 y 5 de esta región, se observa que los embriones normales en el estadio de ocho somitas muestran expresión de *eng* y de *krox20* en el límite entre el cerebro medio y el cerebro posterior, pero no se observa expresión de *eng* en los mutantes *noi*. De forma similar, en el mutante no aparece la expresión de *wnt1* posterior al tectum (*tec*, el borde entre las dos regiones del cerebro) en el embrión de 20 somitas. (Figuras adaptadas de Haffter y col., van Eeden y col., y Brand y col., 1996.)

BIBLIOGRAFÍA

- Dodd, A. et al.: Zebrafish: bridging the gap between development and disease. *Hum. Mol. Genet.* 9:2443-2449, 2000.
- Brand M., et al.: Mutations in zebrafish genes affecting the formation of the boundary between midbrain and hindbrain. *Development* 123:179-190, 1996.
- Haffter P., et al.: The identification of genes with unique and essential functions in the development of the zebrafish, *Danio rerio*. *Development* 123:1-36, 1996.
- van Eeden, F.J.M., et al.: Mutations affecting somite formation and patterning in the zebrafish, *Danio rerio*. *Development* 123: 153-164, 1996.

A. Estadios embrionarios analizados por mutaciones

- 29 horas, período faringular
- 48 horas, período emergente (*hatching*)
- 5 días, larva nadadora

B. Mutagénesis inducida

P Tratamiento de ENU en la espermatogonia

F1 $+/+$ × $+/m$

F2 $+/+$ × $+/m$

F3 $+/+$ × $+/+$ $+/+$ × $+/m$ $+/m$ × $+/+$ $+/m$ × $+/m$

25% de descendencia mutante

C. Fenotipo esquelético de la mutación de las somitas fusionadas (*fss*)

1. Salvaje (*wild type*)

2. Mutante *fss*

Dorsal

Ventral

Salvaje

Positivo para *engrailed*

Mutante

Negativo para *noi*

Salvaje

Expresión de *eng/krox20*

Mutante

Negativo para *eng*

Salvaje

Expresión normal de *wnt1*

Mutante

Expresión de *wnt1* inhibida en el límite del cerebro medio-posterior

D. La mutación del cerebro medio "no isthmus" (*noi*)

Programa de desarrollo de las células individuales en el nematodo *C. elegans*

El desarrollo desde un cigoto hasta un organismo adulto requiere que las divisiones celulares se organicen en el tiempo y en el espacio. En tanto que en los organismos complejos no puede determinarse el origen de las células, es posible analizar el origen de cada célula individual en el nematodo *Caenorhabditis elegans*. En 1965 Sydney Brenner introdujo el análisis genético de *C. elegans* como un modelo para investigar la interacción de los rasgos genéticos, anatómicos y fisiológicos en el desarrollo de un sistema nervioso relativamente simple.

A. *Caenorhabditis elegans*

Caenorhabditis elegans es un gusano transparente y pequeño (de alrededor de 1 mm de largo), con un ciclo de vida de unos 3 días. La estructura básica implica un cuerpo alargado, con simetría bilateral, que presenta nervios, músculos, piel e intestino. Hay dos sexos posibles: el hermafrodita o el masculino. Los hermafroditas producen huevos y esperma, y pueden reproducirse por autofertilización. El gusano hermafrodita adulto posee 959 núcleos de células somáticas; el gusano adulto masculino posee 1.031. Además hay de 1.000 a 2.000 células germinales.

La secuencia nucleotídica completa del genoma de *C. elegans* se informó en 1998. El DNA de 97 Mb contiene 19.099 genes predichos, de los cuales 12.000 son de función desconocida. Las secuencias codificantes incluyen el 27% del DNA, y los intrones, el 26%. Cerca de 32% de las secuencias codificantes son similares a las del ser humano y alrededor del 70% de las proteínas humanas conocidas tiene homología en *C. elegans*. El grupo más amplio de genes son los receptores de transmembrana (790), en particular los quimiorreceptores; los factores de transcripción en dedos de cinc (480); y las proteínas con dominios de proteínas cinasas. (Diagrama de Wood, 1988, después de Sulston y Horvitz, 1977.)

B. Origen embrionario de las células individuales

Es posible trazar el camino del desarrollo de cada célula individual. Los diferentes tipos de tejidos surgen a partir de seis células fundadoras. De las 959 células adultas, 302 son nerviosas. A excepción del intestino y de las células germinales, los tejidos diferenciados surgen de distintas células fundadoras. Las células con funciones similares

no siempre se relacionan, mientras que células con funciones diferentes pueden tener el mismo origen. Ciertas reglas establecidas por vía genética determinan el destino de cada una de las dos células hijas luego de cada división celular.

C. Mutaciones en los genes de control del desarrollo

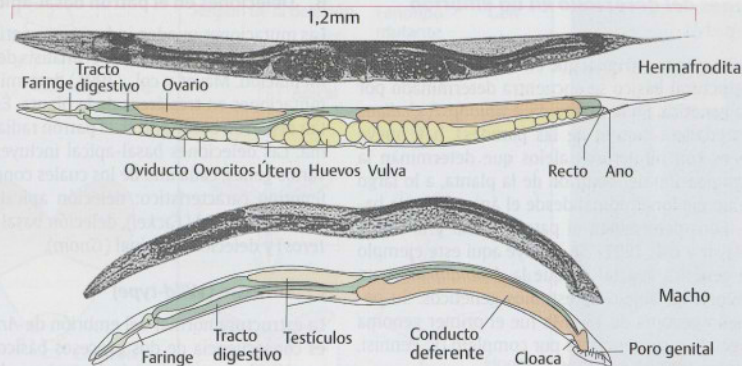
Se identificaron varios genes controladores del desarrollo a partir del análisis de las mutaciones puntuales inducidas por el etil-metano-sulfonato. Algunos mutantes determinan un tipo celular incorrecto (p. ej., Z en lugar de B). Otros se dividen demasiado temprano o demasiado tarde (mutantes de la división), lo que provoca, por ejemplo, doble C en lugar de B y C.

D. Muerte celular programada

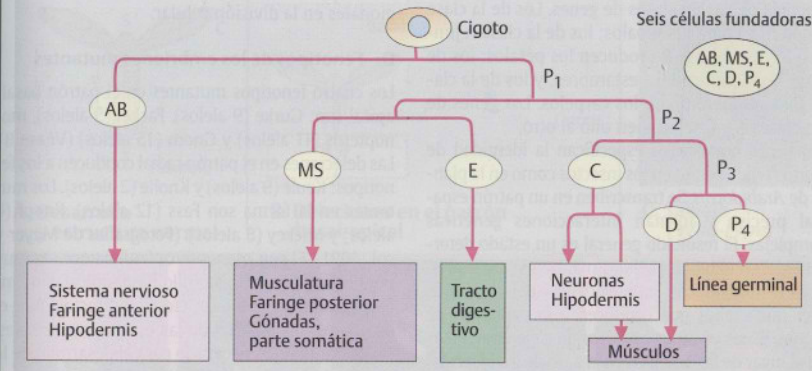
La muerte celular programada (apoptosis) es un mecanismo normal del desarrollo de los vertebrados e invertebrados. Durante el desarrollo embrionario de *C. elegans*, una de cada ocho células somáticas muere con regularidad en un momento definido y en cierto punto de ramificación (1). Las fotografías (2) muestran la muerte de una célula (la célula p11.aap) en un período de unos 40 minutos (de Wood, 1998, tomada de Sulston y Horvitz, 1977). Las mutaciones que interfieren con la muerte celular programada pueden conducir a trastornos severos. El gen humano *BCL-2* corresponde al gen *ced-9* de *C. elegans*, un gen que previene la apoptosis. El gen humano *BCL-2* codifica para una proteína de la membrana interna mitocondrial que inhibe la pérdida celular por apoptosis en los prolinfocitos B. La interrupción de este gen en el cromosoma 18 del ser humano causa el linfoma folicular, un tumor de las células B.

BIBLIOGRAFÍA

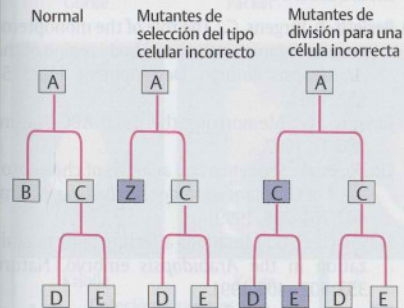
- Culetto, E., Sattelle, D.B.: A role for *Caenorhabditis elegans* in understanding the function and interactions of human disease genes. *Hum. Mol. Genet.* 9: 869-878, 2000.
- The *C. elegans* Sequencing Consortium: Genome sequence for the nematode *C. elegans*: A platform for investigating biology. *Science* 282:2012-2018, 1998.
- W.B. Wood and the Community of *C. elegans* Researchers: The Nematode *Caenorhabditis elegans*. Monograph 17, Cold Spring Harbor, New York, 1998.



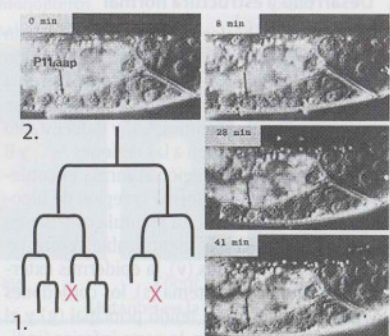
A. *Caenorhabditis elegans*



B. Origen embrionario de las células individuales



C. Mutaciones en los genes de control del desarrollo



D. Muerte celular programada (X)

Genes del desarrollo en un embrión vegetal

En las plantas, al igual que en los animales, el plan estructural básico se encuentra determinado por vía genética. En la planta de *Arabidopsis thaliana* (enredadera común de las paredes), hay nueve genes con numerosos alelos que determinan la organización del embrión de la planta, a lo largo de un eje longitudinal desde el ápice hasta la base. Ellos determinan el patrón radial y la forma (Mayer y col., 1991). Se incluye aquí este ejemplo de genética vegetal porque la *Arabidopsis* es un importante objeto de estudios genéticos. Su pequeño genoma de 130 Mb fue el primer genoma vegetal en secuenciarse por completo (E. Pennisi, Science 290:32-34, 2000).

Los cuatro órganos de la flor –sépalos, pétalos, estambres y carpelos– se desarrollan bajo la influencia de cuatro clases de genes. Los de la clase A codifican para los sépalos; los de la clase A junto a los de la clase B producen los pétalos; los de la clase B y C inducen los estambres; y los de la clase C se requieren para los carpelos. Los genes de las clases A y C se inhiben uno al otro.

Los genes homeóticos especifican la identidad de ciertos tejidos tanto en los insectos como en la planta de *Arabidopsis*. Se transcriben en un patrón espacial preciso y forman interacciones genéticas complejas. El resultado general es un estado determinado, en el que las células mantienen características distintivas con independencia del ambiente. Hay mutaciones que conducen a la expresión de ciertos genes en sitios erróneos, por ejemplo, patas en el lugar de las antenas (en el caso de los insectos) o pétalos en el lugar de los estambres (en las plantas).

A. Desarrollo y estructura normal

El plan estructural básico puede entenderse como un patrón axial y otro radial, superpuestos uno con otro. Antes de la formación de la plántula pueden diferenciarse un estadio globular y uno llamado corazón. Las regiones A, C y B del estadio de octámero corresponden a las regiones A, C y B del estadio corazón. La región A forma el cotiledón y el meristema; la C forma la región de hipocótilo; y la B forma la raíz. La plántula consiste en un grupo de estructuras identificables entre las que se incluyen los vasos (v), la epidermis externa (e), el pequeño meristema (s), los cotiledones (c) y el hipocótilo (h), el tejido principal (g) y el primordio de la raíz (r) en la parte inferior (indicado como v en lugar de r). La organización esencial de la planta ya se encuentra predeterminada en el estadio de corazón.

B. Delecciones en el patrón basal-apical

Las mutaciones pueden inducirse con etilmetanosulfonato al 0,3%. Al utilizar el análisis de complementación, Mayer y col., (1991) determinaron las mutaciones en tres áreas de la planta. Éstas afectan el patrón basal-apical, el patrón radial y la forma. Las delecciones basal-apical incluyen uno de varios genes, cada uno de los cuales conduce a un fenotipo característico: delección apical (*Gurke*), delección central (*Fackel*), delección basal (*monópteros*) y delección terminal (*Gnom*).

C. Silvestre (*Wild-type*)

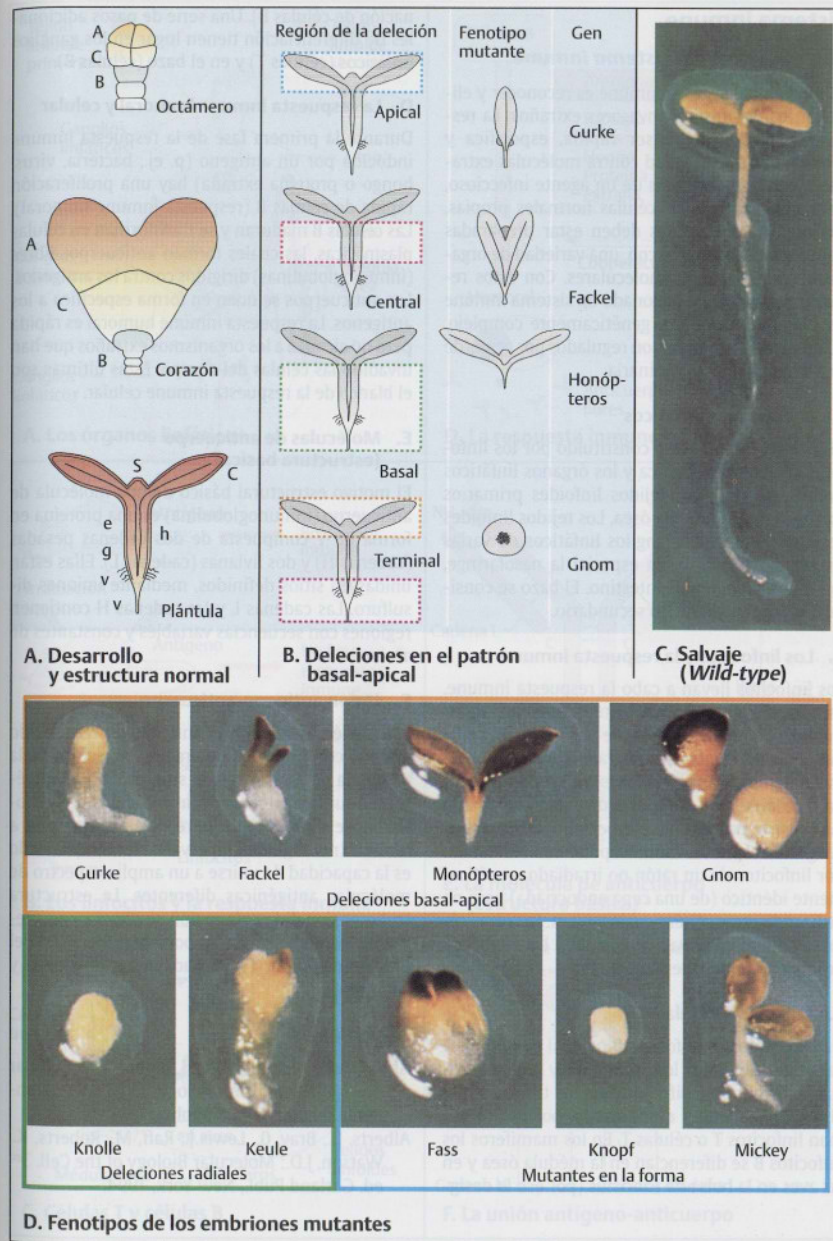
La estructura normal del embrión de *Arabidopsis* es consecuencia de dos procesos básicos: la formación de los patrones (orientaciones basal-apical y radial) y la morfogénesis, por medio de las diferentes formas celulares y las diferencias regionales en la división celular.

D. Fenotipos de los embriones mutantes

Los cuatro fenotipos mutantes en el patrón basal-apical son: *Gurke* (9 alelos), *Fackel* (5 alelos), *monópteros* (11 alelos) y *Gnom* (15 alelos) (Véase B). Las delecciones en el patrón radial conducen a los fenotipos: *Keule* (9 alelos) y *Knolle* (2 alelos). Los mutantes en la forma son *Fass* (12 alelos), *Knopf* (6 alelos) y *Mickey* (8 alelos). (Fotografías de Mayer y col., 1991). El gen *monópteros* (*ml*) parece ser muy importante para el desarrollo basal-apical. Sin embargo, también posee un efecto indirecto sobre el ordenamiento espacial de las estructuras apicales. No obstante no es necesario para el desarrollo de la raíz (Berleth y Jürgens, 1993).

BIBLIOGRAFÍA

- Berleth, T., Jürgens, G.: The role of the *monópteros* gene in organising the basal body region of the *Arabidopsis* embryo. *Development* 118:575-587, 1993.
- Jürgens, G.: Memorizing the floral ABC. *Nature* 386:17, 1997.
- Lin, X., et al.: Sequence and analysis of chromosome 2 of the plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 402:761-768, 1999.
- Mayer, U., et al.: Mutations affecting body organization in the *Arabidopsis* embryo. *Nature* 353:402-407, 1991.
- Pelaz, S., et al.: B and C floral organ identity functions require *SEPALLATA* MADS-box genes. *Nature* 405:200-203, 2000.
- Sommerville, C., Somerville, S.: Plant functional genomics. *Science* 285:380-383, 1999.



Sistema inmune

Componentes del sistema inmune

La función del sistema inmune es reconocer y eliminar los organismos invasores extraños. La respuesta inmune debe ser rápida, específica y dirigida con exclusividad contra moléculas extrañas o células portadoras de un agente infeccioso, pero nunca contra las células normales propias. Las moléculas efectoras deben estar preparadas para entrar en contacto con una variedad de organismos y estructuras moleculares. Con estos requerimientos ha evolucionado un sistema inmune en extremo eficiente y genéticamente complejo. Su desarrollo y función son regulados por genes de una diversidad extraordinaria.

A. Los órganos linfáticos

El sistema inmune está constituido por los linfocitos de sangre periférica y los órganos linfáticos (tejido linfoide). Los tejidos linfoides primarios son el timo y la médula ósea. Los tejidos linfoides secundarios son los ganglios linfáticos de varias regiones del cuerpo, en especial la nasofaringe, las axilas, la ingle y el intestino. El bazo se considera un órgano linfático secundario.

B. Los linfocitos y la respuesta inmune

Los linfocitos llevan a cabo la respuesta inmune. Esto fue demostrado mediante el siguiente experimento. La respuesta inmune normal de un ratón hacia un antígeno administrado (organismo extraño, estructura molecular extraña) fue destruida mediante una dosis alta de radiación X, a la cual el sistema inmune es especialmente sensible. Luego la respuesta inmune pudo ser restaurada por linfocitos de un ratón no irradiado, genéticamente idéntico (de una cepa endocrizada) pero no utilizando otras células cualesquiera. Las otras células no son efectivas ya que sólo los linfocitos producen una respuesta inmune.

C. Células T y células B

Hay dos tipos de linfocitos funcional y morfológicamente diferentes: los linfocitos T y los linfocitos B. Los primeros se diferencian en el timo durante el desarrollo fetal y embrionario, por eso se llaman linfocitos T o células T. En los mamíferos los linfocitos B se diferencian en la médula ósea y en las aves en la bolsa de Fabrisius (por eso la designación de células B).

Una serie de pasos adicionales de diferenciación tienen lugar en los ganglios linfáticos (células T) y en el bazo (células B).

D. La respuesta inmune humoral y celular

Durante la primera fase de la respuesta inmune inducida por un antígeno (p. ej., bacteria, virus, hongo o proteína extraña) hay una proliferación rápida de células B (respuesta inmune humoral). Las células B maduran y se transforman en células plasmáticas, las cuales forman anticuerpos libres (inmunoglobulinas) dirigidos contra los antígenos. Los anticuerpos se unen en forma específica a los antígenos. La respuesta inmune humoral es rápida pero no alcanza a los organismos extraños que han invadido las células del cuerpo. Estas últimas son el blanco de la respuesta inmune celular.

E. Moléculas de anticuerpo (estructura básica)

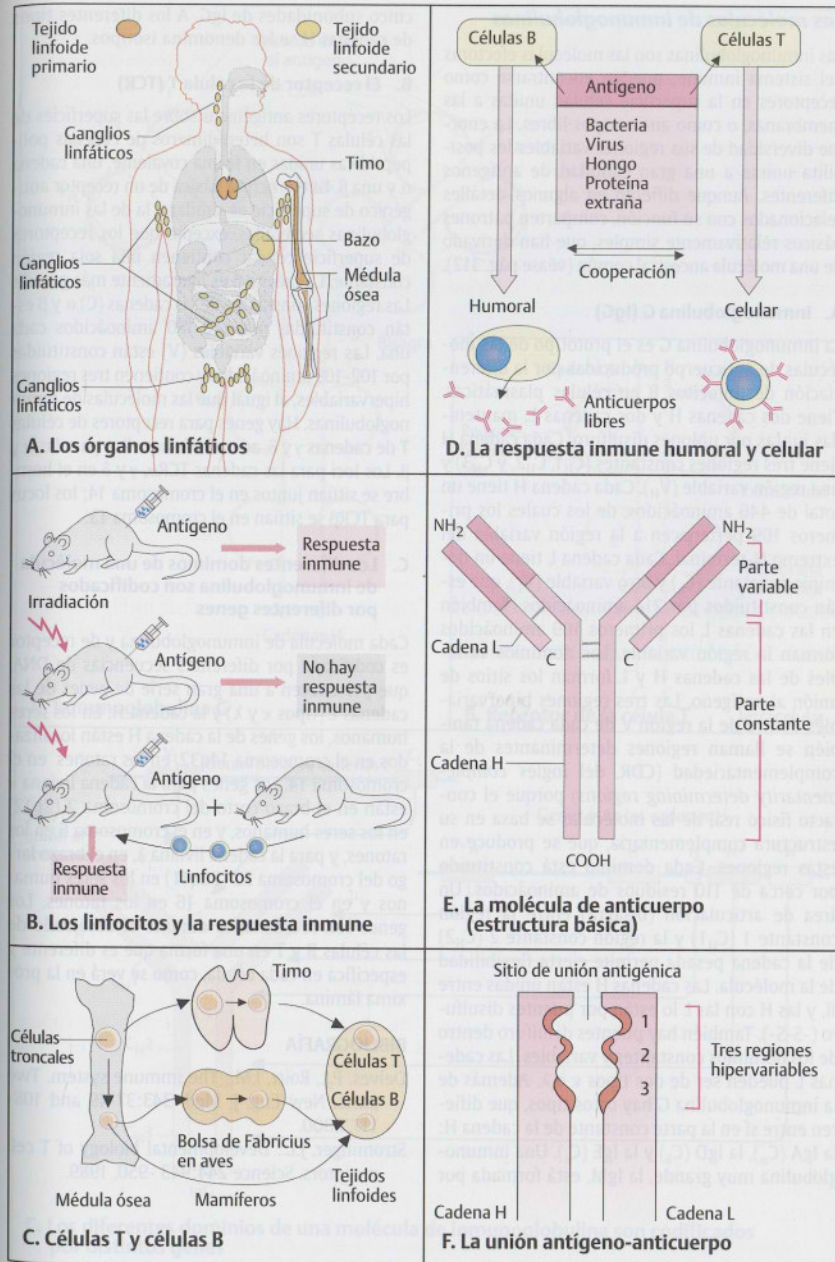
El motivo estructural básico de una molécula de anticuerpo (inmunoglobulina) es una proteína en forma de Y compuesta de dos cadenas pesadas (cadenas H) y dos livianas (cadenas L). Ellas están unidas en sitios definidos, mediante uniones disulfuro. Las cadenas L y las cadenas H contienen regiones con secuencias variables y constantes de aminoácidos.

F. Unión antígeno-anticuerpo

Una molécula extraña, el antígeno, es reconocido y unido con firmeza a una región específica de la molécula de anticuerpo, el sitio de unión antígeno. Aquí la secuencia de aminoácidos de la molécula de anticuerpo difiere de una molécula a otra en tres regiones hipervariables. El resultado es la capacidad de unirse a un amplio espectro de moléculas antigénicas diferentes. La estructura tridimensional de esta región se conoce con precisión, como también importantes detalles del proceso de unión. (Figuras adaptadas de Alberts y col., 1994.)

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, A.K., Lichtman, A. H., Pober, J.S.: Cellular and Molecular Immunology, 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1997.
 Alberts, B., Bray, O., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D.: Molecular Biology of the Cell. 3rd ed. Garland Publ., New York, 1994.



Las moléculas de inmunoglobulinas

Las inmunoglobulinas son las moléculas efectoras del sistema inmune; pueden encontrarse como receptores en la superficie celular, unidas a las membranas, o como anticuerpos libres. La enorme diversidad de sus regiones variables les permite unirse a una gran cantidad de antígenos diferentes. Aunque difieren en algunos detalles relacionados con su función, comparten patrones básicos relativamente simples, que han derivado de una molécula ancestral común (véase pág. 312).

A. Inmunoglobulina G (IgG)

La inmunoglobulina G es el prototipo de las moléculas de anticuerpo producidas por la diferenciación de linfocitos B en células plasmáticas. Tiene dos cadenas H y dos cadenas L, mantenidas juntas por uniones disulfuro. Cada cadena H tiene tres regiones constantes (C_{H1} , C_{H2} , y C_{H3}) y una región variable (V_H). Cada cadena H tiene un total de 446 aminoácidos, de los cuales los primeros 109 pertenecen a la región variable del extremo N-terminal. Cada cadena L tiene un dominio constante (C_L) y otro variable (V_L), que están constituidos por 214 aminoácidos. También en las cadenas L los primeros 109 aminoácidos forman la región variable. Los dominios variables de las cadenas H y L forman los sitios de unión al antígeno. Las tres regiones hipervariables dentro de la región V de cada cadena también se llaman regiones determinantes de la complementariedad (CDR, del inglés *complementarity determining regions*) porque el contacto físico real de las moléculas se basa en su estructura complementaria, que se produce en estas regiones. Cada dominio está constituido por cerca de 110 residuos de aminoácidos. Un área de articulación (bisagra) entre la región constante 1 (C_{H1}) y la región constante 2 (C_{H2}) de la cadena pesada permite cierta flexibilidad de la molécula. Las cadenas H están unidas entre sí, y las H con las L lo están por puentes disulfuro (-S-S-). También hay puentes disulfuro dentro de los dominios constantes y variables. Las cadenas L pueden ser de dos tipos κ o λ . Además de la inmunoglobulina G hay otros tipos, que difieren entre sí en la parte constante de la cadena H: la IgA (C_{H1}), la IgD (C_{H1}) y la IgE (C_{H1}). Una inmunoglobulina muy grande, la IgM, está formada por

cinco subunidades de IgG. A los diferentes tipos de cadenas H se los denomina isotipos.

B. El receptor de la célula T (TCR)

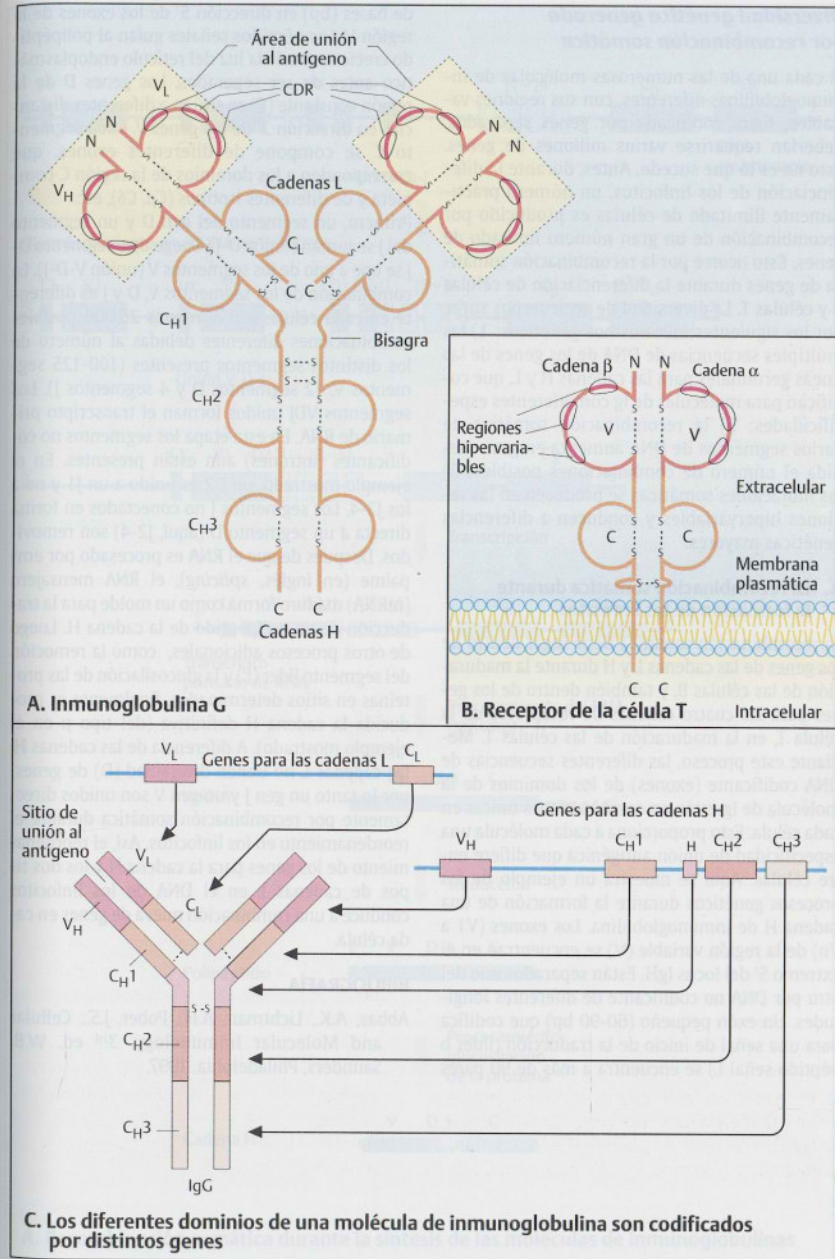
Los receptores antigénicos sobre las superficies de las células T son heterodímeros de cadenas polipeptídicas unidas en forma covalente, una cadena α y una β . La estructura básica de un receptor antigénico de superficie es similar a la de las inmunoglobulinas secretadas, excepto que los receptores de superficie celular contienen una sola región constante. La cadena β es ligeramente más grande. Las regiones constantes de las cadenas (C) α y β están constituidas por 140-180 aminoácidos cada una. Las regiones variables (V) están constituidas por 102-109 aminoácidos y contienen tres regiones hipervariables, al igual que las moléculas de inmunoglobulinas. Hay genes para receptores de células T de cadenas γ y δ , además de aquellos para las α y β . Los loci para las cadenas TCR α , γ y δ en el hombre se sitúan juntos en el cromosoma 14; los loci para TCR β se sitúan en el cromosoma 13.

C. Los diferentes dominios de una molécula de inmunoglobulina son codificados por diferentes genes

Cada molécula de inmunoglobulina y de receptor es codificada por diferentes secuencias de DNA, que pertenecen a una gran serie de genes de las cadenas L (tipos κ y λ) y la cadena H. En los seres humanos, los genes de la cadena H están localizados en el cromosoma 14q32, en los ratones en el cromosoma 14. Los genes para la cadena liviana κ están en el brazo corto del cromosoma 2 (2p12) en los seres humanos, y en el cromosoma 6 en los ratones, y para la cadena liviana λ , en el brazo largo del cromosoma 22 (22q11) en los seres humanos y en el cromosoma 16 en los ratones. Los genes son reordenados durante el desarrollo de las células B y T en una forma que es diferente y específica en cada célula, como se verá en la próxima lámina.

BIBLIOGRAFÍA

- Delves, P.J., Roitt, I.M.: The immune system. Two parts. *New Eng. J. Med.* 343:37-49 and 108-117, 2000.
 Strominger, J.L.: Developmental biology of T cell receptors. *Science* 244:943-950, 1989.



Diversidad genética generada por recombinación somática

Si cada una de las numerosas moléculas de inmunoglobulinas diferentes, con sus regiones variables, fuera codificada por genes separados, deberían requerirse varios millones de genes. Esto no es lo que sucede. Antes, durante la diferenciación de los linfocitos, un número prácticamente ilimitado de células es producido por recombinación de un gran número limitado de genes. Esto ocurre por la recombinación somática de genes durante la diferenciación de células B y células T. La diversidad de anticuerpos surge por los siguientes mecanismos genéticos: 1) las múltiples secuencias de DNA de los genes de las líneas germinales para las cadenas H y L, que codifican para moléculas de Ig con diferentes especificidades; 2) la recombinación somática de varios segmentos de DNA aumenta en gran medida el número de combinaciones posibles; 3) las mutaciones somáticas se producen en las regiones hipervariables y conducen a diferencias genéticas mayores.

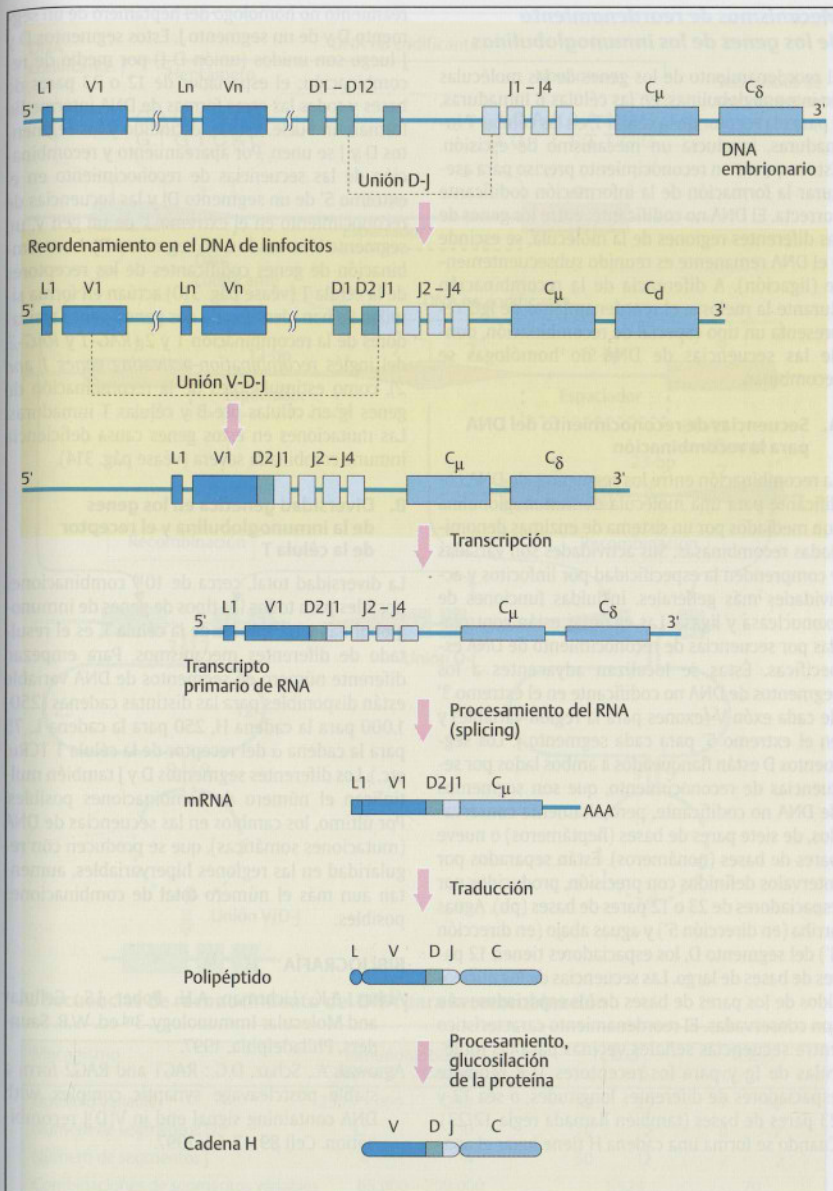
A. La recombinación somática durante la formación de los linfocitos

La recombinación somática tiene lugar dentro de los genes de las cadenas L y H durante la maduración de las células B, y también dentro de los genes para las cuatro cadenas de receptores de la célula T, en la maduración de las células T. Mediante este proceso, las diferentes secuencias de DNA codificante (exones) de los dominios de la molécula de Ig están en combinaciones únicas en cada célula. Esto proporciona a cada molécula una especificidad de unión antigénica que difiere entre células. Aquí se muestra un ejemplo de los procesos genéticos durante la formación de una cadena H de inmunoglobulina. Los exones (V1 a Vn) de la región variable (V) se encuentran en el extremo 5' del locus IgH. Están separados uno del otro por DNA no codificante de diferentes longitudes. Un exón pequeño (60-90 bp) que codifica para una señal de inicio de la traducción (líder o péptido señal L) se encuentra a más de 90 pares

de bases (bp) en dirección 5' de los exones de la región V. Los péptidos señales guían al polipéptido creciente hacia la luz del retículo endoplasmático antes de ser separados. Los genes D de la región constante (C) se sitúan a diferentes distancias en dirección 3' de los genes V. Cada segmento C se compone de diferentes exones, que corresponden a los dominios de la región C completa y de diferentes isotipos (C μ , C δ), etc. Primero, un segmento del gen D y un segmento del J se juntan (unión D-J). Luego este segmento D-J se une a uno de los segmentos V (unión V-D-J). La combinación de los segmentos V, D y J es diferente en cada célula, con al menos 25.000 posibles combinaciones diferentes debidas al número de los distintos segmentos presentes (100-125 segmentos V, 12 segmentos D y 4 segmentos J). Los segmentos VDJ unidos forman el transcrito primario de RNA. En esta etapa los segmentos no codificantes (intrones) aún están presentes. En el ejemplo mostrado, un D2 es unido a un J1 y no a los J2-4. Los segmentos J no conectados en forma directa a un segmento D (aquí, J2-4) son removidos. Después de que el RNA es procesado por empalme (en inglés, *splicing*), el RNA mensajero (mRNA) maduro forma como un molde para la traducción de un polipéptido de la cadena H. Luego de otros procesos adicionales, como la remoción del segmento líder (L) y la glucosilación de las proteínas en sitios determinados, finalmente es producida la cadena H definitiva (del tipo μ en el ejemplo mostrado). A diferencia de las cadenas H, las cadenas L no tienen diversidad (D) de genes; por lo tanto un gen J y un gen V son unidos directamente por recombinación somática durante el reordenamiento en los linfocitos. Así, el reordenamiento de los genes para la cadena H y los dos tipos de cadenas L en el DNA de los linfocitos conduce a una combinación nueva de genes en cada célula.

BIBLIOGRAFÍA

Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S.: Cellular and Molecular Immunology. 3^{ra} ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1997.



A. Recombinación somática durante la síntesis de las moléculas de inmunoglobulinas

Mecanismos de reordenamiento de los genes de las inmunoglobulinas

El reordenamiento de los genes de las moléculas de inmunoglobulinas, en las células B inmaduras, y para el receptor de la célula T, en las células T inmaduras, involucra un mecanismo de escisión. Éste requiere un reconocimiento preciso para asegurar la formación de la información codificante correcta. El DNA no codificante, entre los genes de las diferentes regiones de la molécula, se escinde y el DNA remanente es reunido subsecuentemente (ligación). A diferencia de la recombinación durante la meiosis, el reordenamiento de IgG representa un tipo especial de recombinación, donde las secuencias de DNA no homólogas se recombinan.

A. Secuencias de reconocimiento del DNA para la recombinación

La recombinación entre los segmentos de DNA codificante para una molécula de inmunoglobulina son mediados por un sistema de enzimas denominadas recombinasas. Sus actividades son variadas y comprenden la especificidad por linfocitos y actividades más generales, incluidas funciones de exonucleasa y ligasa. Las enzimas están controladas por secuencias de reconocimiento de DNA específicas. Éstas se localizan adyacentes a los segmentos de DNA no codificante en el extremo 3' de cada exón V (exones para la región variable) y en el extremo 5' para cada segmento J. Los segmentos D están flanqueados a ambos lados por secuencias de reconocimiento, que son segmentos de DNA no codificante, pero altamente conservados, de siete pares de bases (heptámeros) o nueve pares de bases (nonámeros). Están separados por intervalos definidos con precisión, producidos por espaciadores de 23 o 12 pares de bases (pb). Aguas arriba (en dirección 5') y aguas abajo (en dirección 3') del segmento D, los espaciadores tienen 12 pares de bases de largo. Las secuencias de los nucleótidos de los pares de bases de los espaciadores no son conservadas. El reordenamiento característico entre secuencias señales vecinas para las moléculas de Ig y para los receptores TCR requiere espaciadores de diferentes longitudes, o sea 12 y 23 pares de bases (también llamada regla 12/23). Cuando se forma una cadena H tiene lugar el apa-

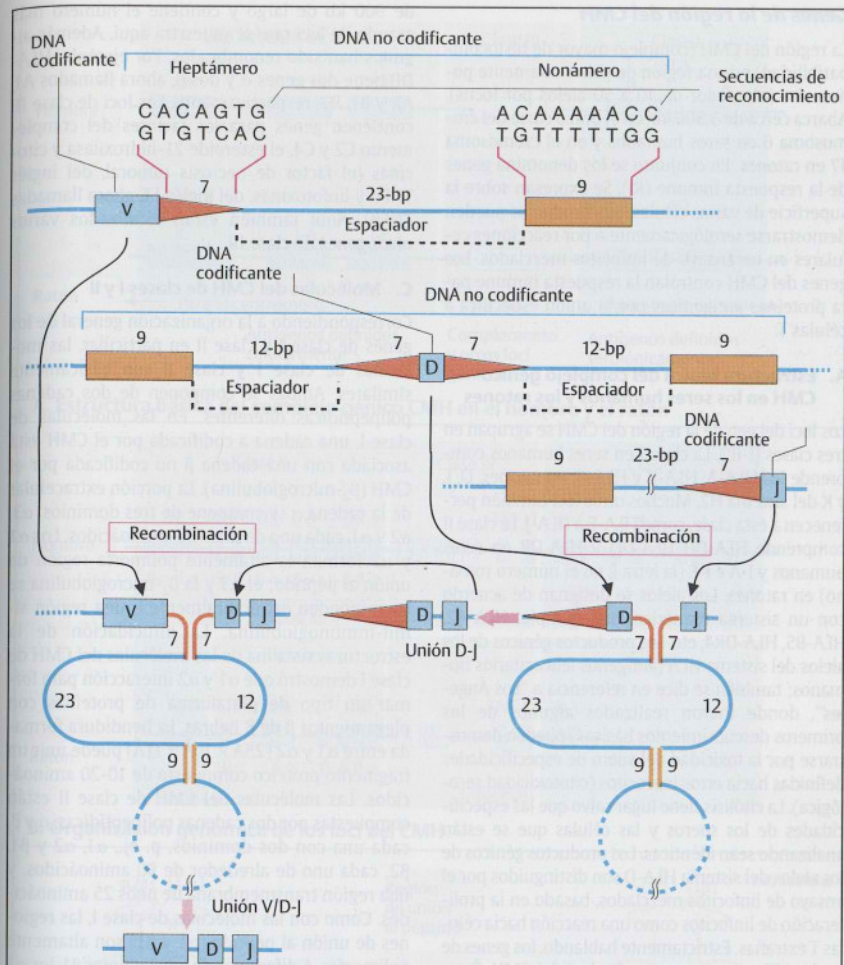
reamiento no homólogo del heptámero de un segmento D y de un segmento J. Estos segmentos D y J luego son unidos (unión D-J) por medio de recombinación: el espaciador de 12 o 23 pares de bases y todas las otras formas de DNA intermedio forman un bucle. Éste es escindido y los segmentos D y J se unen. Por apareamiento y recombinación de las secuencias de reconocimiento en el extremo 5' de un segmento DJ y las secuencias de reconocimiento en el extremo 3' de un gen V, un segmento V es unido a un segmento DJ. La recombinación de genes codificantes de los receptores de la célula T (véase pág. 310) actúan en forma similar. Se han identificado dos genes, genes activadores de la recombinación 1 y 2 (*RAG-1* y *RAG-2*, del inglés *recombination-activating genes 1 and 2*), como estimuladores de la recombinación de genes Ig en células pre-B y células T inmaduras. Las mutaciones en estos genes causa deficiencia inmune combinada severa (véase pág. 314).

B. Diversidad genética en los genes de la inmunoglobulina y el receptor de la célula T

La diversidad total, cerca de 10^{18} combinaciones posibles para todos los tipos de genes de inmunoglobulinas y receptores de la célula T, es el resultado de diferentes mecanismos. Para empezar, diferente número de segmentos de DNA variable están disponibles para las distintas cadenas (250-1.000 para la cadena H, 250 para la cadena L, 75 para la cadena α del receptor de la célula T $TCR\alpha$, etc.). Los diferentes segmentos D y J también multiplican el número de combinaciones posibles. Por último, los cambios en las secuencias de DNA (mutaciones somáticas), que se producen con regularidad en las regiones hipervariables, aumentan aun más el número total de combinaciones posibles.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S.: *Cellular and Molecular Immunology*. 3rd ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1997.
- Agrawal, A., Schaz, D.G.: RAG1 and RAG2 form a stable postcleavage synaptic complex with DNA containing signal end in V(D)J recombination. *Cell* 89:43-53, 1997.



A. Secuencias de reconocimiento del DNA para la recombinación

Mecanismo	Inmunoglobulina		TCR $\alpha\beta$		TCR $\gamma\delta$	
	Cadena H	Cadenas L	α	β	γ	δ
Dominio variable	250 - 1.000	250	75	25	7	10
Número de segmentos D	12	0	0	2	0	2
Número de segmentos J	4	4	50	12	2	2
Combinaciones de segmentos variables	65.000 - 250.000		1.825		70	
Diversidad total	10^{11}		10^{16}		10^{18}	

B. Diversidad genética en los genes de la inmunoglobulina y del receptor de la célula T

Genes de la región del CMH

La región del CMH (complejo mayor de histocompatibilidad) es una región de genes altamente polimorfos (alrededor de 10 a 50 alelos por locus). Abarca cerca de 3.500 kb, en el brazo corto del cromosoma 6 en seres humanos y en el cromosoma 17 en ratones. En conjunto se los denomina genes de la respuesta inmune (Ri). Se expresan sobre la superficie de varias células. Sus productos pueden demostrarse serológicamente o por reacciones celulares en un ensayo de linfocitos mezclados. Los genes del CMH controlan la respuesta inmune para proteínas antigénicas por la unión específica a células T.

A. Estructura básica del complejo génico CMH en los seres humanos y los ratones

Los loci del gen de la región del CMH se agrupan en tres clases (I-III). La clase I en seres humanos comprende los HLA-A, HLA-B y HLA-C; en ratones, D, L y K del sistema H2. Muchos otros loci también pertenecen a esta clase, como HLA-E a HLA-J. La clase II comprende HLA-DP, HLA-DQ y HLA-DR en seres humanos y I-A e I-E (la letra I, no el número romano) en ratones. Los alelos se designan de acuerdo con un sistema numérico, por ejemplo, HLA-A2, HLA-B5, HLA-DR4, etc. Los productos génicos de los alelos del sistema HLA (antígenos leucocitarios humanos; también se dice en referencia a "Los Ángeles", donde fueron realizados algunos de los primeros descubrimientos básicos) pueden demostrarse por la toxicidad del suero de especificidades definidas hacia otros leucocitos (citotoxicidad serológica). La citólisis tiene lugar salvo que las especificidades de los sueros y las células que se están analizando sean idénticas. Los productos génicos de los alelos del sistema HLA-D son distinguidos por el ensayo de linfocitos mezclados, basado en la proliferación de linfocitos como una reacción hacia células T extrañas. Estrictamente hablando, los genes de la clase III no pertenecen a los loci del CMH. Éstos contienen genes para diferentes proteínas del complemento y otros pocos genes.

B. Organización genómica de los loci del CMH

Los loci de clase II se localizan más cerca del centrómero. Cada uno consiste en una serie de subunidades genómicas. La región HLA-D es de cerca

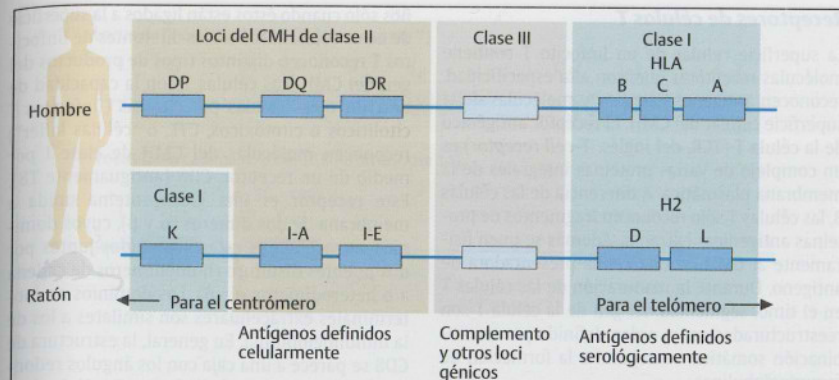
de 900 kb de largo y contiene el número más grande de loci que se muestra aquí. Además algunos han sido renombrados. Por ejemplo, HLA-DP tiene dos genes α y dos β , ahora llamados A1, A2 y B1, B2, respectivamente. Los loci de clase III contienen genes para los factores del complemento C2 y C4, el esteroide 21-hidroxilasa y citocinas (el factor de necrosis tumoral, del inglés TNF α y linfotoxinas, del inglés LT, ahora llamadas TNF β). Aquí también están localizados varios otros genes de clase III.

C. Moléculas del CMH de clases I y II

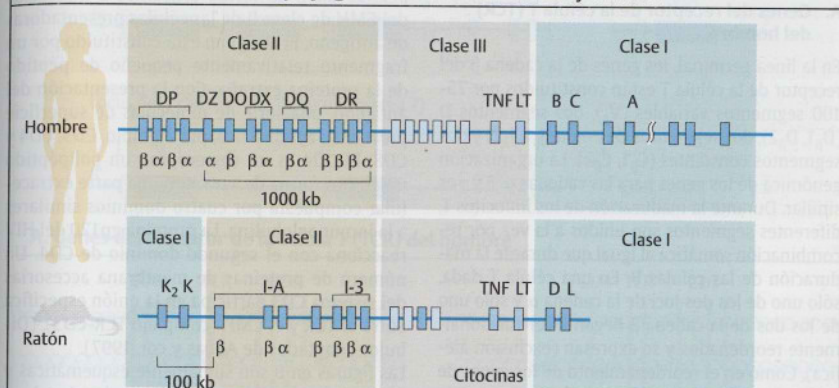
Correspondiendo a la organización general de los genes de clase I y clase II en particular, las moléculas de clase I y clase II son básicamente similares. Ambas se componen de dos cadenas polipeptídicas diferentes. En las moléculas de clase I, una cadena α codificada por el CMH está asociada con una cadena β no codificada por el CMH (β_2 -microglobulina). La porción extracelular de la cadena α se compone de tres dominios, $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$, cada uno de unos 90 aminoácidos. Los $\alpha 1$ y $\alpha 2$ forman la altamente polimorfa región de unión al péptido; el $\alpha 3$ y la β_2 -microglobulina se corresponden estructuralmente a una región similar-inmunoglobulina. La dilucidación de la estructura cristalina de las moléculas del CMH de clase I demostró que $\alpha 1$ y $\alpha 2$ interacción para formar un tipo de plataforma de proteínas con plegamientos β de 8 hebras. La hendidura formada entre $\alpha 1$ y $\alpha 2$ ($25\text{Å} \times 11\text{Å}$) puede unir un fragmento proteico compuesto de 10-20 aminoácidos. Las moléculas del CMH de clase II están compuestas por dos cadenas polipeptídicas, α y β , cada una con dos dominios, p. ej., $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\beta 1$, $\beta 2$, cada uno de alrededor de 90 aminoácidos, y una región transmembrana de unos 25 aminoácidos. Como con las moléculas de clase I, las regiones de unión al péptido ($\alpha 1$ y $\beta 1$) son altamente polimorfas. A diferencia de los dominios $\beta 1$, los $\alpha 1$ no contienen puentes disulfuro.

BIBLIOGRAFÍA

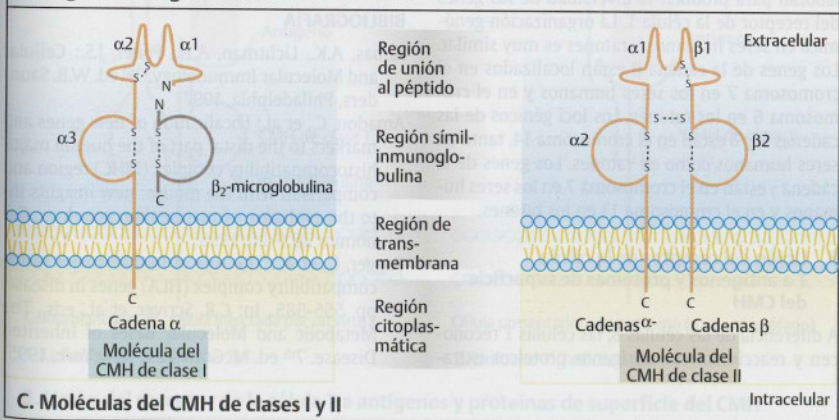
Klein, J. & Sato, A.: Advances in immunology. The HLA system. New. Engl. J. Med. 343:702-709 (part I) and 782-786, 2000.
Trowsdale, J.: Genomic structure and function in the MHC. Trend Genet. 9:117-122, 1993.



A. Estructura básica del complejo génico CMH en el hombre y el ratón



B. Organización genómica de los loci del CMH



C. Moléculas del CMH de clases I y II

Receptores de células T

La superficie celular de un linfocito T contiene moléculas receptoras que, con alta especificidad, reconocen antígenos extraños y moléculas de la superficie celular del CMH. El receptor antigénico de la célula T (TCR, del inglés, *T-cell receptor*) es un complejo de varias proteínas integrales de la membrana plasmática. A diferencia de las células B, las células T sólo reconocen fragmentos de proteínas antigénicas extrañas. Además se unen físicamente al CMH de una célula presentadora de antígeno. Durante la maduración de las células T en el timo, segmentos del gen de la célula T son reestructurados en un orden definido por recombinación somática, semejante a la formación de inmunoglobulinas.

A. Genes del receptor de la célula T (TCR) del hombre

En la línea germinal, los genes de la cadena β del receptor de la célula T están constituidos por 75-100 segmentos variables (V_{β}), dos segmentos D ($D_{\beta 1}$, $D_{\beta 2}$), dos segmentos de unión ($J_{\beta 1}$, $J_{\beta 2}$) y dos segmentos constantes ($C_{\beta 1}$, $C_{\beta 2}$). La organización genómica de los genes para las cadenas α , δ y γ es similar. Durante la maduración de los linfocitos T, diferentes segmentos son unidos a la vez por recombinación somática al igual que durante la maduración de las células B. En una célula T dada, sólo uno de los dos loci de la cadena α y sólo uno de los dos de la cadena β llegan a ser funcionalmente reordenados y se expresan (exclusión alélica). Como en el reordenamiento de los genes de las inmunoglobulinas, diferentes mecanismos colaboran para producir la diversidad de los genes del receptor de la célula T. La organización genómica en seres humanos y ratones es muy similar. Los genes de la cadena β están localizados en el cromosoma 7 en los seres humanos y en el cromosoma 6 en los ratones. Los loci génicos de las cadenas α y δ están en el cromosoma 14, tanto en seres humanos como en ratones. Los genes de la cadena γ están en el cromosoma 7 en los seres humanos y en el cromosoma 13 en los ratones.

B. Unión del receptor de la célula T a antígenos y proteínas de superficie del CMH

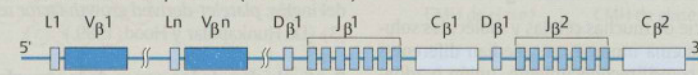
A diferencia de las células B, las células T reconocen y reaccionan con antígenos proteicos extra-

ños sólo cuando éstos están ligados a la superficie de otras células. Dos clases diferentes de linfocitos T reconocen distintos tipos de productos del gen del CMH. Las células T con la capacidad de destruir otras células por citólisis (linfocitos T citolíticos o citotóxicos, CTL, o "células killer") reconocen moléculas del CMH de clase I por medio de un receptor, CD8 (antiguamente T8). Este receptor es una glucoproteína unida a membrana de dos dímeros (α y β), cuyos dominios extracelulares están sostenidos juntos por dos puentes disulfuro (homodímeros de cadena α o heterodímeros α - β). Los dominios aminoterminales extracelulares son similares a los de la inmunoglobulina. En general, la estructura de CD8 se parece a una caja con los ángulos redondeados. La otra clase de linfocitos T (células helper) se unen en forma específica a moléculas del CMH de clase II de las células presentadoras de antígeno. El antígeno está constituido por un fragmento relativamente pequeño de péptido de la proteína extraña. Con la presentación del antígeno, una serie de moléculas de superficie prestan su ayuda física, por ejemplo, CD3, CD4 y CD8. El CD4 es un correceptor, un polipéptido único con forma de vara, con una parte extracelular compuesta por cuatro dominios similares a la inmunoglobulina. La proteína gp120 del HIV reacciona con el segundo dominio de CD4. Un número de proteínas de membrana accesorias del sistema CD3 participa en la unión específica entre el TCR y el CMH (complejo TCR-CD3). (Dibujos adaptados de Abbas y col, 1997). Las figuras en B son sumamente esquemáticas y no muestran la estructura tridimensional real.

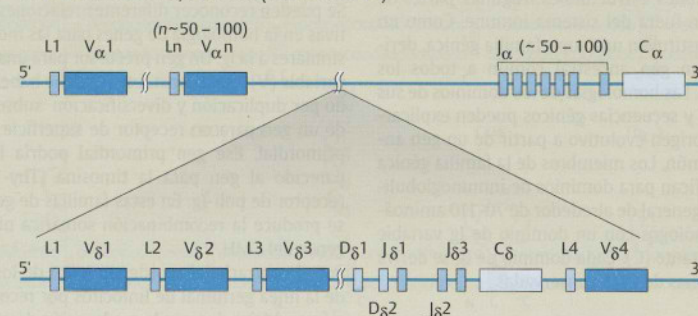
BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S.: Cellular and Molecular Immunology. 3rd ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1997
- Amadou, C., et al.: Localization of new genes and markers to the distal part of the human major histocompatibility complex (MHC) region and comparison with the mouse: new insights into the evolution of mammalian genomes. *Genomics* 26:9-20, 1995.
- Fugger, L., et al.: The role of human major histocompatibility complex (HLA) genes in disease. pp. 555-585. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.

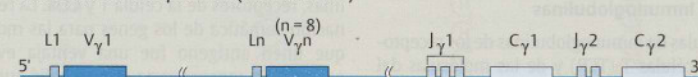
Locus de la cadena β del TCR (cromosoma 7)



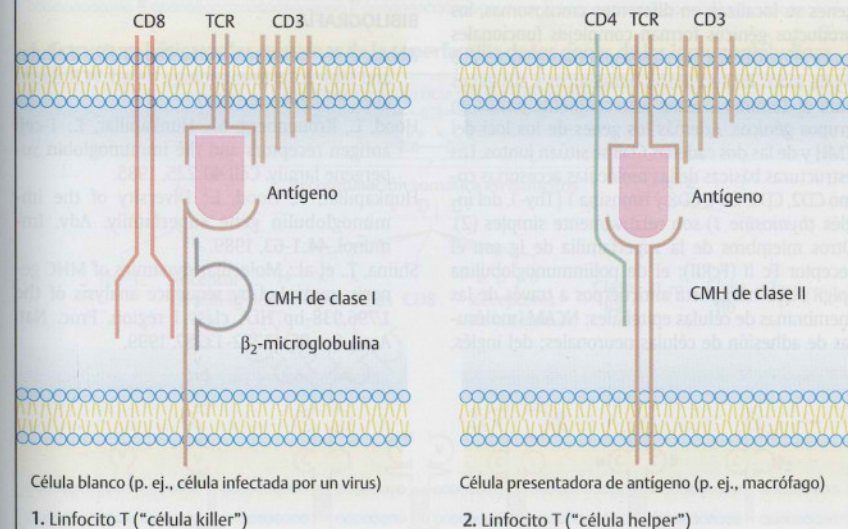
Locus de la cadena α , δ del TCR (cromosoma 14)



Locus de la cadena γ del TCR (cromosoma 7)



A. Genes del receptor de la célula T (TCR) del hombre



B. Unión del receptor de la célula T a antígenos y proteínas de superficie del CMH

Evolución de la superfamilia de los genes de las inmunoglobulinas

La superficie de muchas células y moléculas solubles del sistema inmune que median diferentes funciones como reconocimiento, unión o adhesión de moléculas específicas, muestra numerosas similitudes estructurales. Algunas partes se encuentran fuera del sistema inmune. Como un grupo, constituyen una superfamilia génica, derivada de un gen ancestral común a todos los miembros. Las homologías de los dominios de sus productos y secuencias génicas pueden explicarse por el origen evolutivo a partir de un gen ancestral común. Los miembros de la familia génica de Ig codifican para dominios de inmunoglobulina, por lo general de alrededor de 70-110 aminoácidos homólogos con un dominio de Ig variable (V) o constante (C). Cada dominio de Ig se deriva de secuencias de DNA conservadas.

A. Estructura básica de las proteínas de la superfamilia de los genes de las inmunoglobulinas

Las moléculas de inmunoglobulinas de los receptores de las células T (TCR) y de las moléculas del CMH de clase I y clase II (1) son básicamente similares. Presentan dominios variables (V), constantes (C) o primordiales (H) parecidos a la Ig. Aunque sus genes se localizan en diferentes cromosomas, los productos génicos forman complejos funcionales entre ellos. Otros, como los segmentos génicos V, D y J de todos los receptores antigénicos y sus genes para el dominio C están estrechamente juntos en grupos génicos. Además los genes de los loci del CMH y de las dos cadenas CD8 se sitúan juntos. Las estructuras básicas de las moléculas accesorias como CD2, CD3, CD4, CD8 y timosina 1 (Thy-1, del inglés *thymosine 1*) son relativamente simples (2). Otros miembros de la superfamilia de Ig son el receptor Fc II (FcRII); el de polinmunoglobulina (pIgR), que transporta anticuerpos a través de las membranas de células epiteliales; NCAM (moléculas de adhesión de células neuronales; del inglés,

neural cell adhesion molecules) y PDGFR (receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas; del inglés, *platelet-derived growth factor receptor*) (3). (De Hunkapillar y Hood, 1989.)

B. Evolución de los genes de la superfamilia de las inmunoglobulinas

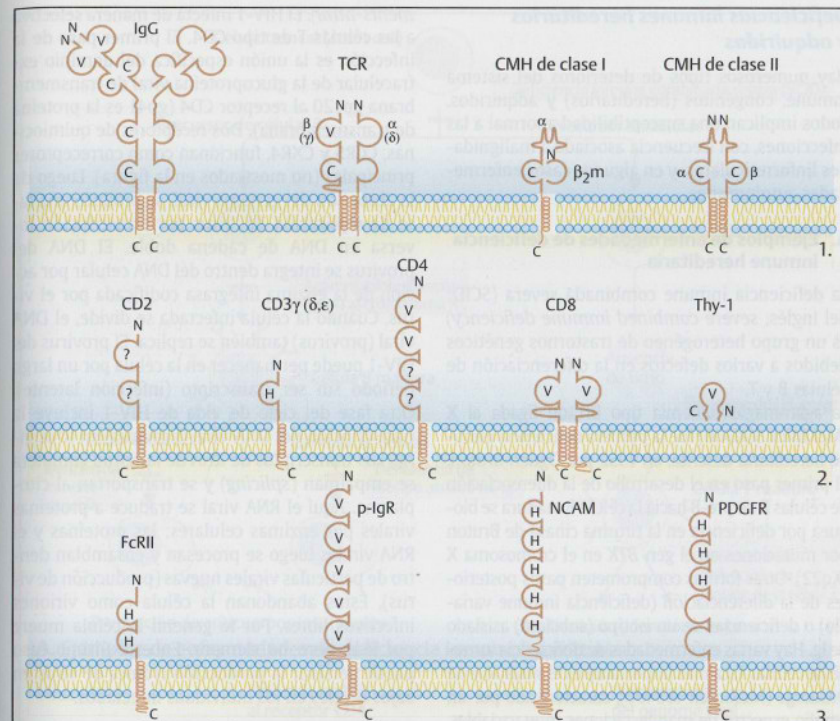
Se pueden reconocer diferentes relaciones evolutivas en la homología de genes para las moléculas similares a la Ig. Un gen precursor para una región variable (V) y una constante (C) debe haber surgido por duplicación y diversificación subsecuente de un gen para un receptor de superficie celular primordial. Ese gen primordial podría haberse parecido al gen para la timosina (Thy-1) o al receptor de poli-Ig. En estas familias de genes no se produce la recombinación somática ni en los genes del CMH.

Por el contrario, el reordenamiento de los genes de la línea germinal de linfocitos por recombinación somática durante la maduración de células B y T es la base para la formación de inmunoglobulinas, receptores de la célula T y CD8. La recombinación somática de los genes para las moléculas que unen antígeno fue una ventaja evolutiva enorme. En consecuencia esto se halló aun en los vertebrados primitivos.

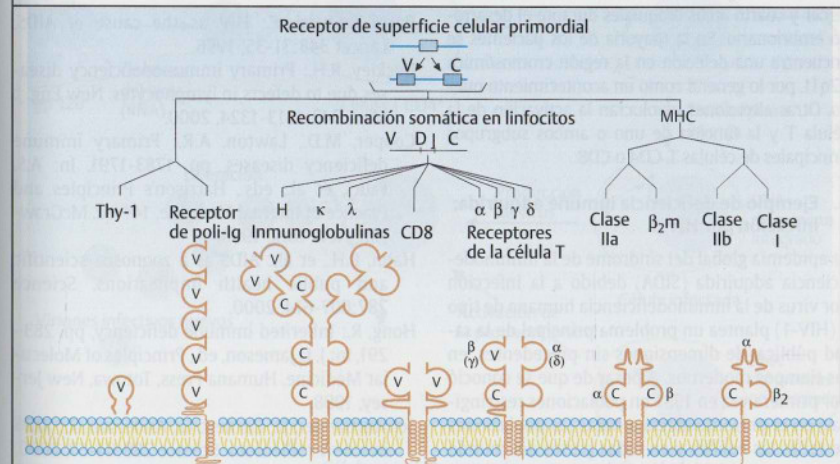
(Figura adaptada de Hood et al., 1985.)

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S.: Cellular and Molecular Immunology. 3rd ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1997.
- Hood, L., Kronenberg, M., Hunkapillar, T.: T-cell antigen receptors and the immunoglobulin supergene family. *Cell* 40:225, 1985.
- Hunkapillar, T., Hood, L.: Diversity of the immunoglobulin gene superfamily. *Adv. Immunol.* 44:1-63, 1989.
- Shiina, T., et al.: Molecular dynamics of MHC genesis unraveled by sequence analysis of the 1,796,938-bp HLA class I region. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 96:13282-13287, 1999.



A. Estructura básica de las proteínas de la superfamilia de los genes de las inmunoglobulinas



B. Evolución de los genes de la superfamilia de las inmunoglobulinas

Deficiencias inmunes hereditarias y adquiridas

Hay numerosos tipos de deterioros del sistema inmune, congénitos (hereditarios) y adquiridos. Todos implican una susceptibilidad anormal a las infecciones, con frecuencia asociada a malignidades linforeticulares, y en algunos casos enfermedades autoinmunes.

A. Ejemplos de enfermedades de deficiencia inmune hereditaria

La deficiencia inmune combinada severa (SCID; del inglés, *severe combined immune deficiency*) es un grupo heterogéneo de trastornos genéticos debidos a varios defectos en la diferenciación de células B y T.

La agammaglobulinemia tipo Bruton ligada al X (McKusick 300300) fue la primera deficiencia inmune hereditaria descrita, en 1952 por Ogden Bruton. El primer paso en el desarrollo de la diferenciación de células B de pre-B hacia la célula B madura se bloquea por deficiencia en la tirosina cinasa de Bruton por mutaciones en el gen *BTK* en el cromosoma X (Xq22). Otras formas comprometen pasos posteriores de la diferenciación (deficiencia inmune variable) o deficiencias de un isotipo (subclase) aislado de Ig. Hay varias enfermedades de deficiencia inmune de células T. La más importante es el síndrome de DiGeorge (McKusick 188400), caracterizado por un amplio espectro de manifestaciones muy variables. El defecto subyacente involucra los derivados del tercer y cuarto arcos braquiales durante el desarrollo embrionario. En la mayoría de los pacientes se encuentra una delección en la región cromosómica 22q11, por lo general como un acontecimiento nuevo. Otras alteraciones involucran la activación de la célula T y la función de uno o ambos subgrupos principales de células T, CD4 o CD8.

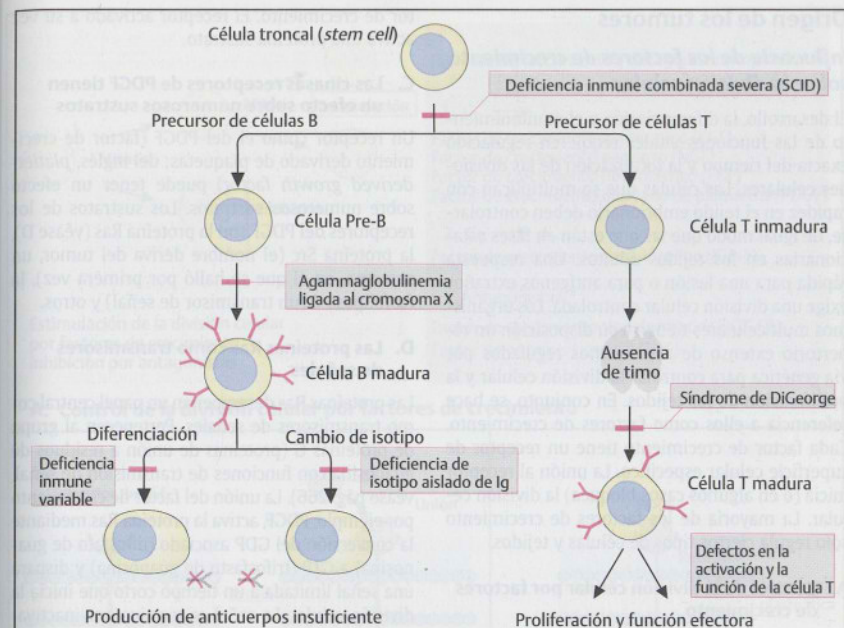
B. Ejemplo de deficiencia inmune adquirida: infección por HIV-1

La epidemia global del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA) debido a la infección por virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (HIV-1) plantea un problema principal de la salud pública, de dimensiones sin precedentes, en los tiempos modernos. A pesar de que se conoció por primera vez en 1981 en poblaciones restringidas, en el presente afecta a todas las poblaciones de todas las edades y en todas partes del mundo (Programa de las Naciones Unidas sobre HIV/SIDA en <http://www.UN-AIDS.org/hivaidinfo/docu->

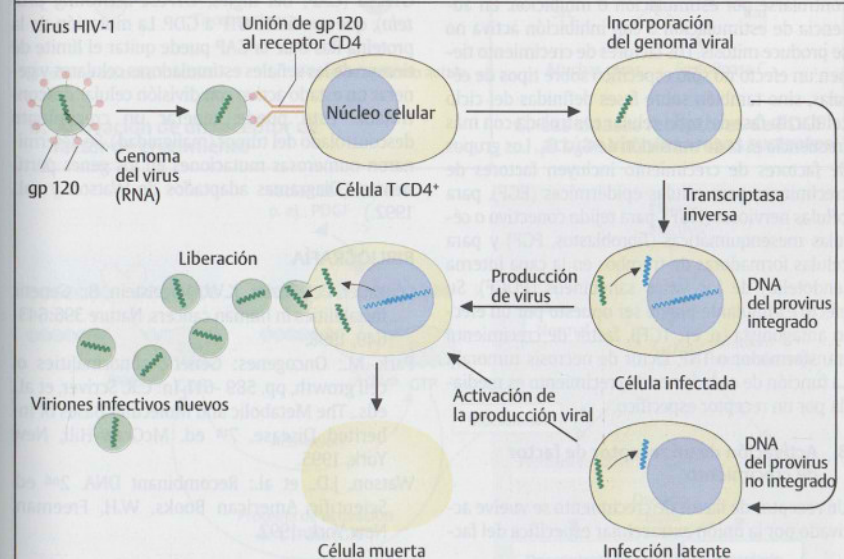
ments-htm). El HIV-1 infecta de manera selectiva a las células T de tipo CD4. El primer paso de la infección es la unión específica del dominio extracelular de la glucoproteína viral de transmembrana gp120 al receptor CD4 (gp41 es la proteína de transmembrana). Dos receptores de quimiocinas, CCR5 y CXR4, funcionan como correceptores principales (no mostrados en la figura). Luego de la absorción del genoma viral, se produce una fase de replicación del virus por transcripción inversa en DNA de cadena doble. El DNA del provirus se integra dentro del DNA celular por acción de la enzima integrasa codificada por el virus. Cuando la célula infectada se divide, el DNA viral (provirus) también se replica. El provirus del HIV-1 puede permanecer en la célula por un largo período sin ser transcrito (infección latente). Otra fase del ciclo de vida de HIV-1 incluye la transcripción del DNA viral (provirus) en RNA viral. Los transcritos de RNA de longitud completa se empalman (*splicing*) y se transportan al citoplasma. Aquí el RNA viral se traduce a proteínas virales por enzimas celulares; las proteínas y el RNA virales luego se procesan y ensamblan dentro de partículas virales nuevas (producción de virus). Éstos abandonan la célula como viriones infectivos libres. Por lo general la célula muere por lisis, pero no siempre. En este último caso puede persistir la producción crónica de virus en bajos niveles en los individuos infectados.

BIBLIOGRAFÍA

- Barré-Sinoussi, F.: HIV as the cause of AIDS. *Lancet* 348:31-35, 1996.
- Buckley, R.H.: Primary immunodeficiency diseases due to defects in lymphocytes. *New Eng. J. Med.* 343:1313-1324, 2000.
- Cooper, M.D., Lawton, A.R.: Primary immune deficiency diseases, pp. 1783-1791. In: A.S. Fauci, et al., eds., *Harrison's Principles and Practice of Internal Medicine*. 14th ed. McGraw-Hill, New York, 1998.
- Hahn, B.H., et al.: AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. *Science* 287:607-614, 2000.
- Hong, R.: Inherited immune deficiency, pp. 283-291, In: J. L. Jameson, ed., *Principles of Molecular Medicine*. Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.
- Schwartzländer, B., Garnett, G., Anderson, R.: AIDS in a new millenium. *Science* 289:64-67, 2000.
- Schwartz, K., et al.: RAG mutations in human B cell-negative SCID. *Science* 274:97-99, 1996.



A. Ejemplos de enfermedades de deficiencia inmune hereditaria



B. Ejemplo de deficiencia inmune adquirida: infección por HIV-1

Origen de los tumores

Influencia de los factores de crecimiento sobre la división celular

El desarrollo, la diferenciación y el mantenimiento de las funciones vitales requieren regulación exacta del tiempo y la localización de las divisiones celulares. Las células que se multiplican con rapidez en el tejido embrionario deben controlarse, de igual modo que las que están en fases estacionarias en los tejidos adultos. Una respuesta rápida para una lesión o para antígenos extraños exige una división celular controlada. Los organismos multicelulares tienen a su disposición un repertorio extenso de mecanismos regulados por vía genética para controlar la división celular y la proliferación de los tejidos. En conjunto, se hace referencia a ellos como factores de crecimiento. Cada factor de crecimiento tiene un receptor de superficie celular específico. La unión al receptor inicia (o en algunos casos bloquea) la división celular. La mayoría de los factores de crecimiento sólo regula ciertos tipos de células y tejidos.

A. Control de la división celular por factores de crecimiento

Básicamente, la división celular (mitosis) puede controlarse por estimulación o inhibición. En ausencia de estimulación o con inhibición activa no se produce mitosis. Los factores de crecimiento tienen un efecto no sólo específico sobre tipos de células, sino también sobre fases definidas del ciclo celular. La fase del ciclo celular controlada con más frecuencia es la de transición de G_0 a G_1 . Los grupos de factores de crecimiento incluyen factores de crecimiento para células epidérmicas (EGF), para células nerviosas (NGF), para tejido conectivo o células mesenquimáticas (fibroblastos, FGF) y para células formadoras de trombos en la capa interna (endotelio) de los vasos sanguíneos (PDGF). Su efecto estimulante puede ser opuesto por un efecto antagonista (p. ej., TGF β , factor de crecimiento transformador o TNF, factor de necrosis tumoral). La función de cada factor de crecimiento es mediada por un receptor específico.

B. Activación de un receptor de factor de crecimiento

Un receptor de factor de crecimiento se vuelve activado por la unión extracelular específica del fac-

tor de crecimiento. El receptor activado a su vez activa una proteína sustrato.

C. Las cinasas receptores de PDGF tienen un efecto sobre numerosos sustratos

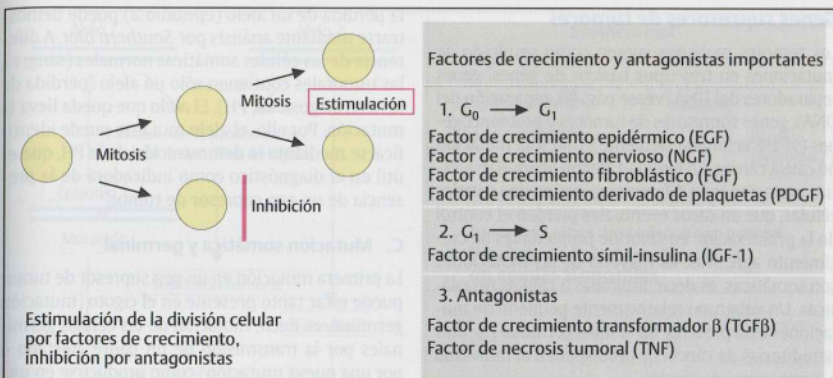
Un receptor como el del PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas; del inglés, *platelet-derived growth factor*) puede tener un efecto sobre numerosos sustratos. Los sustratos de los receptores del PDGF son la proteína Ras (véase D), la proteína Src (el nombre deriva del tumor, un sarcoma, en el que se halló por primera vez), la fosfolipasa C (un transmisor de señal) y otros.

D. Las proteínas Ras como transmisores de señales

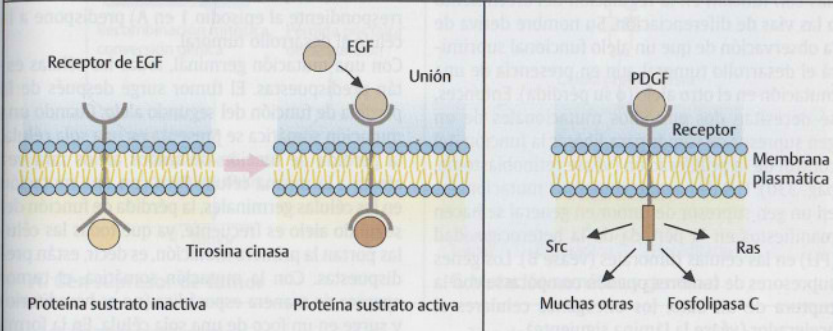
Las proteínas Ras desempeñan un papel central como transmisores de señales. Pertenecen al grupo de proteínas G (proteínas de unión a residuos de guanosina con funciones de transmisión de señal, véase pág. 266). La unión del factor de crecimiento por ejemplo, PDGF, activa la proteína Ras mediante la conversión del GDP asociado (difosfato de guanosina) a GTP (trifosfato de guanosina) y dispara una señal limitada a un tiempo corto que inicia la división celular. La señal se termina por inactivación de Ras a través de una proteína activadora de GTPasa (GAP; del inglés, *GTPase-activating protein*), que convierte GTP a GDP. La mutación de la proteína Ras o de la GAP puede quitar el límite de tiempo de las señales estimuladoras celulares y generar un estado activo con división celular descontrolada. Esto puede generar un crecimiento descontrolado del tumor (malignidad). Se determinaron numerosas mutaciones en los genes pertinentes. (Diagramas adaptados de Watson y col., 1992.)

BIBLIOGRAFÍA

- Lengauer, C., Kinzler, K.W., Vogelstein, B.: Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 396:643-649, 1998.
- Park, M.: Oncogenes: Genetic abnormalities of cell growth, pp. 589-611. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
- Watson, J.D., et al.: *Recombinant DNA*. 2nd ed. Scientific American Books, W.H. Freeman, New York, 1992.

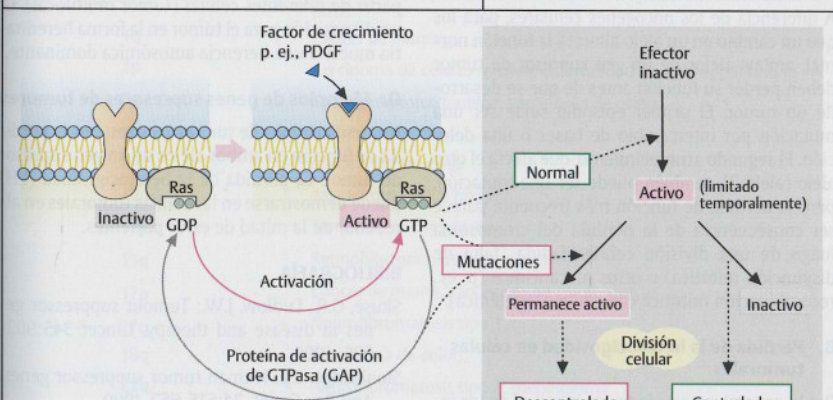


A. Control de la división celular por factores de crecimiento



B. Activación de un receptor de factor de crecimiento

C. Las cinasas receptores de PDGF actúan vía numerosos sustratos



D. Las proteínas Ras como transmisores de señales

Genes supresores de tumores

Los tumores malignos surgen como resultado de mutaciones en tres tipos básicos de genes, genes reparadores del DNA (véase pág. 80, reparación del DNA), genes supresores de tumores y protooncogenes (véase la lámina siguiente). Una sola mutación no causa cáncer. En realidad, deben acumularse varias mutaciones en diferentes genes en una o varias células, que en casos eventuales pierden el control de la proliferación en favor de propiedades de crecimiento agresivas. La mayoría de las mutaciones son somáticas, es decir, limitadas a células neoplásicas. Un subgrupo relativamente pequeño de mutaciones está presente en la línea germinal (formas hereditarias de cáncer) y predisponen al individuo a ciertos tipos de cáncer.

Los genes supresores de tumores codifican proteínas con función en la regulación del crecimiento o las vías de diferenciación. Su nombre deriva de la observación de que un alelo funcional suprimirá el desarrollo tumoral aun en presencia de una mutación en el otro alelo (o su pérdida). Entonces, se necesitan dos episodios mutacionales de un gen supresor de tumor para liberar la función del control de la proliferación (véase retinoblastoma, pág. 330). Los dos acontecimientos mutacionales en un gen supresor de tumor en general se hacen manifiestos en la pérdida de la heterocigosidad (PH) en las células tumorales (véase B). Los genes supresores de tumores pueden compararse con la ruptura de un auto, los oncogenes celulares al acelerador (véase la lámina siguiente).

A. Gen supresor de tumor

A diferencia de los oncogenes celulares, para los que un cambio en un alelo alterará la función normal, ambos alelos de un gen supresor de tumor deben perder su función antes de que se desarrolle un tumor. El primer episodio suele ser una mutación por intercambio de bases o una deleción. El segundo acontecimiento, que afecta el otro alelo (alelo 2), también puede ser una mutación, pero la pérdida de función más frecuente parece ser consecuencia de la pérdida del cromosoma luego de una división celular fallida (falta de disyunción mitótica) u otros mecanismos (p. ej., recombinación mitótica con conversión génica).

B. Pérdida de la heterocigosidad en células tumorales

Por lo general, en alrededor de la mitad de los individuos heterocigotos para marcadores de DNA en el locus del gen supresor de tumor de interés,

la pérdida de un alelo (episodio 2) puede demostrarse mediante análisis por *Southern blot*. A diferencia de las células somáticas normales (sangre), las tumorales contienen sólo un alelo (pérdida de la heterocigosidad, PH). El alelo que queda lleva la mutación. Por ello, el alelo mutante puede identificarse mediante la demostración de la PH, que es útil en el diagnóstico como indicadora de la presencia de un gen supresor de tumor.

C. Mutación somática y germinal

La primera mutación en un gen supresor de tumor puede estar tanto presente en el cigoto (mutación germinal, es decir, mutación de las células germinales por la transmisión de un padre afectado o por una nueva mutación) como producirse en una sola célula del tejido correspondiente (mutación somática). La pérdida de función de un alelo (correspondiente al episodio 1 en A) predispone a la célula al desarrollo tumoral.

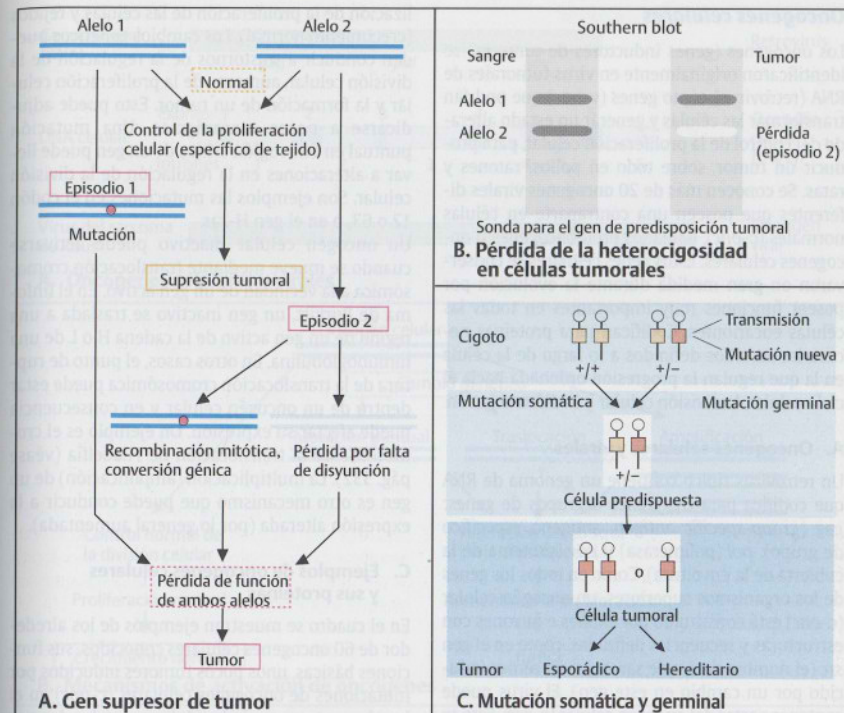
Con una mutación germinal, todas las células están predispuestas. El tumor surge después de la pérdida de función del segundo alelo. Cuando una mutación somática se presenta en una sola célula, la pérdida de función de ambos alelos rara vez afecta a la misma célula. Pero con una mutación en las células germinales, la pérdida de función del segundo alelo es frecuente, ya que todas las células portan la primera mutación, es decir, están predispuestas. Con la mutación somática, el tumor aparece de manera esporádica (no es hereditario) y surge en un foco de una sola célula. En la forma hereditaria producida por una mutación en las células germinales, pueden surgir varios tumores a partir de diferentes células (tumor multifocal). La predisposición para el tumor en la forma hereditaria muestra una herencia autosómica dominante.

D. Ejemplos de genes supresores de tumores

Numerosos tipos de tumores surgen por la pérdida de función en ambos alelos de un gen supresor de tumor. La pérdida de la heterocigosidad (PH) puede demostrarse en las células tumorales en alrededor de la mitad de estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- Skuse, G.R., Ludlow, J.W.: Tumour suppressor genes in disease and therapy. *Lancet* 345:902-906, 1995.
 Stanbridge, E.J.: Human tumor suppressor genes. *Ann Rev Genet.* 24:615-657, 1990.
 Weinberg, R.A.: Tumor suppressor genes. *Science* 254:1138-1146, 1991.



A. Gen supresor de tumor

Localización cromosómica	Tipo de tumor
1p	Melanoma; neoplasia endocrina múltiple tipo 2; neuroblastoma; otros
1q	Cáncer de mama
3p	Carcinoma de células renales; enfermedad de von Hippel Lindau
5q	Colon polipósico familiar, carcinoma de colon
9p	Melanoma familiar
9q	Carcinoma de vejiga
10q	Astrocitoma, MEN tipo 2
11p	Tumor de Wilms y otros
13q	Retinoblastoma; osteosarcoma
17p	Cáncer de mama, carcinoma de colon, y otros
17q	Neurofibromatosis tipo 1
18q	Carcinoma de colon
22q	Neurofibromatosis tipo 2; meningioma

D. Ejemplos de genes supresores de tumores (pérdida de la heterocigosidad en células tumorales)

Oncogenes celulares

Los oncogenes (genes inductores de tumores) se identificaron originalmente en virus tumorales de RNA (retrovirus) como genes (*v-onc*) que podrían transformar las células y generar un estado alterado del control de la proliferación celular, para producir un tumor, sobre todo en pollos, ratones y ratas. Se conocen más de 20 oncogenes virales diferentes que poseen una contraparte en células normales (*c-onc*), llamados protooncogenes u oncogenes celulares. Estos genes celulares se conservaron en gran medida durante la evolución por poseer funciones muy importantes en todas las células eucariontes. Codifican para proteínas necesarias en sitios definidos a lo largo de la célula en la que regulan la progresión ordenada hacia el ciclo celular, la división celular y la diferenciación.

A. Oncogenes celulares y virales

Un retrovirus típico contiene un genoma de RNA que codifica para tres genes o grupos de genes: *gag* (*group-specific antigen*, antígeno específico de grupo), *pol* (polimerasa) y *env* (proteína de la cubierta de la envoltura). Como en todos los genes de los organismos superiores, un oncogén celular (*c-onc*) está constituido por exones e intrones con estructuras y secuencias definidas, como en el gen *src* (el nombre deriva de sarcoma, un tumor inducido por un cambio en este gen). El virus puede contener partes del oncogén celular (*c-scr*). Éste se designa como un oncogén viral (*v-scr*) (virus del sarcoma de Rous). En el pollo, induce un tumor maligno (un sarcoma), observado por primera vez por Peyton Rous en 1911. Debido a que se conocen muchos oncogenes celulares también en su forma alterada viral, se asume que los virus integraron partes de los respectivos oncogenes celulares a sus propios genomas.

Los tumores inducidos por virus se conocen en especial en pollos, roedores y gatos. En el hombre no cumplen un papel muy importante en la inducción de tumores. Son excepciones importantes el carcinoma cervical inducido por el virus papiloma y el hepatocarcinoma secundario a la infección por el virus de la hepatitis.

B. Mecanismos de activación de oncogenes

Un oncogén celular controla la división celular. Controla de manera ordenada el tiempo y la loca-

lización de la proliferación de las células y tejidos (crecimiento normal). Los cambios genéticos pueden conducir a trastornos de la regulación de la división celular, aumento de la proliferación celular y la formación de un tumor. Esto puede adjudicarse a pocos mecanismos. Una mutación puntual en una región crítica de un gen puede llevar a alteraciones en la regulación de la división celular. Son ejemplos las mutaciones en el codón 12 o 63, o en el gen *H-ras*.

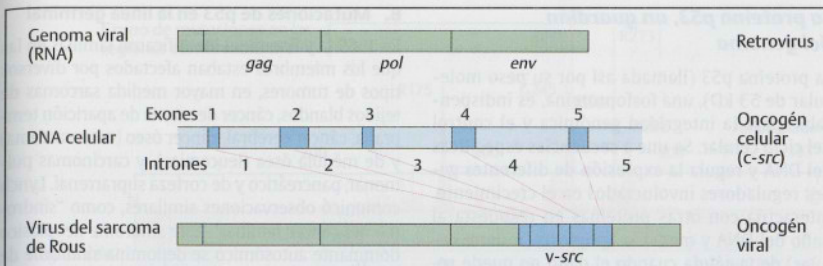
Un oncogén celular inactivo puede activarse cuando se mueve mediante translocación cromosómica a la vecindad de un gen activo. En el linfoma de Burkitt, un gen inactivo se traslada a una región de un gen activo de la cadena H o L de una inmunoglobulina. En otros casos, el punto de ruptura de la translocación cromosómica puede estar dentro de un oncogén celular y en consecuencia puede afectar su expresión. Un ejemplo es el cromosoma de la translocación de Filadelfia (véase pág. 332). La multiplicación (amplificación) de un gen es otro mecanismo que puede conducir a la expresión alterada (por lo general aumentada).

C. Ejemplos de oncogenes celulares y sus proteínas

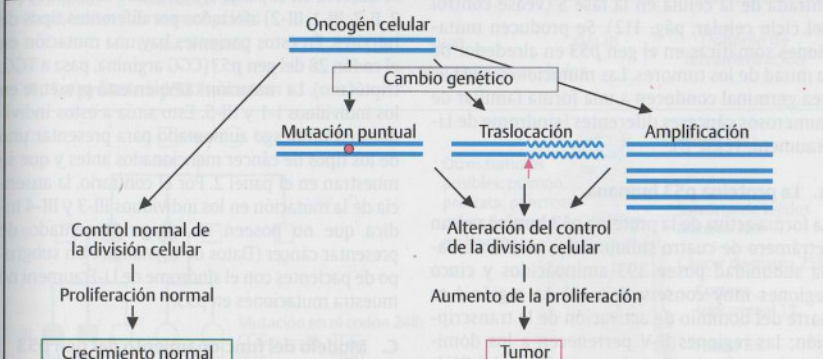
En el cuadro se muestran ejemplos de los alrededor de 60 oncogenes celulares conocidos, sus funciones básicas, unos pocos tumores inducidos por mutaciones de oncogenes celulares (*c-onc*) en el hombre, y tumores inducidos en vertebrados por el oncogén viral homólogo (*v-onc*). (Datos de Lodisch y col., 2000; Cannon-Albright y col., 1992.)

BIBLIOGRAFÍA

Cannon-Albright, L.A., et al.: Assignment of a locus for familial melanoma, MLM, to chromosome 9p13-p22. *Science* 258:1148,1992.
 Levine, A.J., Broach, J.R., eds.: Oncogenes and cell proliferation. *Current Opin Genet and Development* 5:1-150, 1995.
 Lodish, H., et al.: *Molecular Cell Biology*, 4th ed. 2000.
 Park, M.: Oncogenes, p. 205-228, In: Vogelstein, B., Kinzler, K.W., eds., *The Genetic Basis of Human Cancer*. McGraw-Hill, New York, 1998.
 Park, M.: Oncogenes, p. 589-611. In: Scriver, C.R. et al., eds.: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed, McGraw-Hill, New York, 1995.



A. Oncogenes celulares y virales



B. Mecanismos de activación de oncogenes

Oncogén	Función	Origen del tumor por	
		<i>c-onc</i>	<i>v-onc</i>
<i>sis</i>	Una forma de PDGF		Sarcoma de simio
<i>abl</i>	Tirosina proteína - cinasa	Leucemia mielogénica crónica	Leucemia murina de Abelson
<i>fes</i>	Tirosina proteína - cinasa		Sarcoma de gato
<i>erbB</i>	Factor de crecimiento epidérmico	Carcinoma mamario Carcinoma de ovario	Eritroblastosis del pollo
<i>src</i>	Cinasa de proteínas de unión a membrana		Sarcoma de pollo de Rous
<i>Ha-ras</i> <i>Ki-ras</i> <i>N-ras</i>	Proteínas G de unión a membrana con actividad GTPasa	Diferentes carcinomas, neuroblastoma	Sarcoma murino de Harvey Sarcoma murino de Kirsten
<i>fos</i>	Factor de transcripción AP1		Osteosarcoma en el pollo
<i>myb</i>	Proteína nuclear	Leucemias	Mieloblastosis en el pollo
<i>myc</i>	Proteína nuclear	Leucemias	Mielocitosis en el pollo
<i>N-myc</i>	Proteína nuclear	Neuroblastoma	

C. Ejemplos de oncogenes celulares y sus proteínas

La proteína p53, un guardián del genoma

La proteína p53 (llamada así por su peso molecular de 53 kD), una fosfoproteína, es indispensable para la integridad genómica y el control del ciclo celular. Se une a secuencias específicas del DNA y regula la expresión de diferentes genes reguladores involucrados en el crecimiento. Interactúa con otras proteínas en respuesta al daño del DNA y media la apoptosis (muerte celular) de la célula cuando el daño no puede repararse. Su función básica es controlar la entrada de la célula en la fase S (véase control del ciclo celular, pág. 112). Se producen mutaciones somáticas en el gen *p53* en alrededor de la mitad de los tumores. Las mutaciones en la línea germinal conducen a una forma familiar de numerosos cánceres diferentes (síndrome de Li-Fraumeni, véase B).

A. La proteína p53 humana

La forma activa de la proteína p53 humana es un tetramero de cuatro subunidades idénticas. Cada subunidad posee 393 aminoácidos y cinco regiones muy conservadas, I-V. La región I es parte del dominio de activación de la transcripción; las regiones II-V pertenecen a los dominios de unión a secuencias específicas del DNA. El extremo carboxilo más allá de los 300 aminoácidos presenta un dominio de interacción inespecífica con el DNA y el dominio de tetramerización. Las proteínas codificadas por los virus tumorales de DNA se unen a p53 e inhiben su actividad. Las mutaciones en el gen *p53* en el cromosoma 17 p13 (que abarca 20 kb de DNA y da lugar a 2,8 kb de un transcrito de mRNA de 11 exones) tienen el mayor efecto cuando se producen en las regiones conservadas II-V en los codones 129-146 (exón 4), 171-179 (exón 5), 234-260 (exón 7) y 270-287 (exón 8). Los aminoácidos de arginina (R) conservados en las posiciones 175, 248, 249, 273 y 282 y la glicina (G) en la posición 245 son en particular vulnerables. Las mutaciones se producen en mayor medida como sin sentido, como resultado de las sustituciones de pares de bases, pero algunas son inserciones y deleciones, y ejercen un efecto dominante negativo. Los ratones noqueados para el gen *p53* (*knockout*) se desarrollan con normalidad, pero generan tumores con alta frecuencia. El benzopireno activado induce mutaciones en los codones 175, 248 y 275 en cultivos de las células epiteliales bronquiales.

B. Mutaciones de p53 en la línea germinal

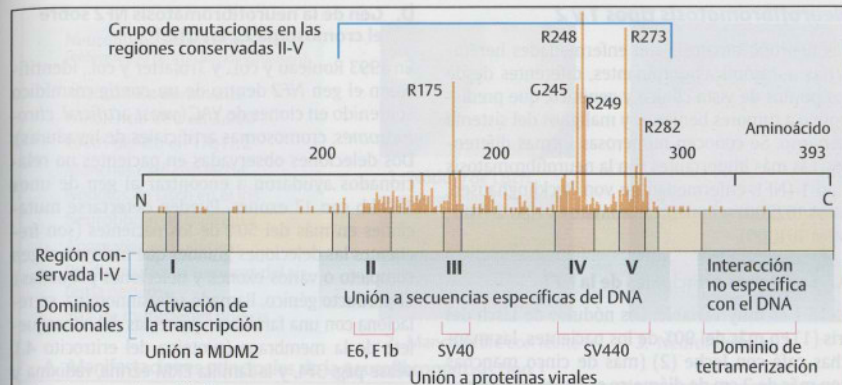
En 1969 Li y Fraumeni identificaron familias en las que los miembros estaban afectados por diversos tipos de tumores, en mayor medida sarcomas de tejidos blandos, cáncer de mama de aparición temprana, cáncer cerebral, cáncer óseo (osteosarcoma) y de médula ósea (leucemias), y carcinomas pulmonar, pancreático y de corteza suprarrenal. Lynch comunicó observaciones similares, como "síndrome del cáncer familiar". Este síndrome neoplásico dominante autosómico se denomina síndrome de Li-Fraumeni (McKusick 114480). En el pedigrí que se observa en el panel 1, hay cuatro individuos (II-2, II-3, III-1, III-2) afectados por diferentes tipos de tumores. En estos pacientes hay una mutación en el codón 28 del gen *p53* (CGG arginina, pasa a TGG, triptófano). La mutación también está presente en los individuos I-1 y III-5. Esto sitúa a estos individuos en un riesgo aumentado para presentar uno de los tipos de cáncer mencionados antes y que se muestran en el panel 2. Por el contrario, la ausencia de la mutación en los individuos III-3 y III-4 indica que no poseen un riesgo aumentado de presentar cáncer (Datos de D. Malkin). Un subgrupo de pacientes con el síndrome de Li-Fraumeni no muestra mutaciones en *p53*.

C. Modelo del funcionamiento del gen p53

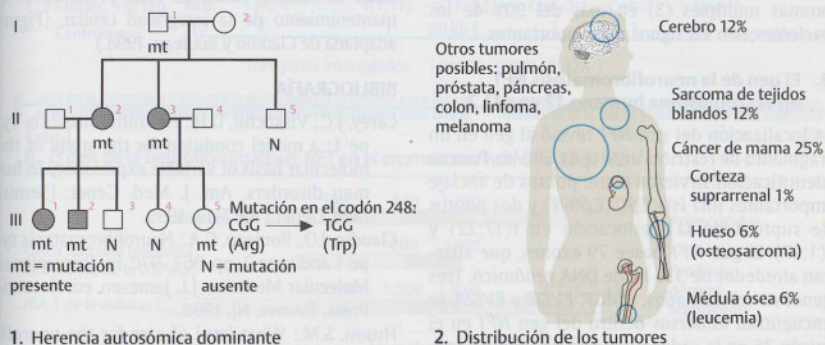
En condiciones normales el gen *p53* está inactivo (1). Desempeña un papel importante en la regulación del crecimiento en las células dañadas (2). El daño del DNA en células conduce a la expresión aumentada de *p53* y la interrupción del ciclo celular en G_1 . Si la reparación del DNA es exitosa, la célula puede continuar su ciclo. Si no lo es la célula muere (muerte celular, apoptosis). Las células dañadas con la proteína p53 mutante no se detienen en G_1 . (Por Lane, D.P. Nature 358:15-15, 1992.)

BIBLIOGRAFÍA

- Bell, D.W., et al.: Heterozygous germline *hCHK2* mutations in Li-Fraumeni syndrome. Science 286:2828-2831, 1999.
- Hanahan, D., Weinberg, R.A.: The hallmarks of cancer. Cell 100:57-70, 2000.
- Lodish, H., et al.: Molecular Cell Biology (with an animated CD-ROM). 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
- Malkin, D.: The Li-Fraumeni syndrome, pp. 353-407. In: Vogelstein, B., Kinzler, K.W., eds., The Genetic Basis of Human Cancer. McGraw-Hill, New York, 1998.



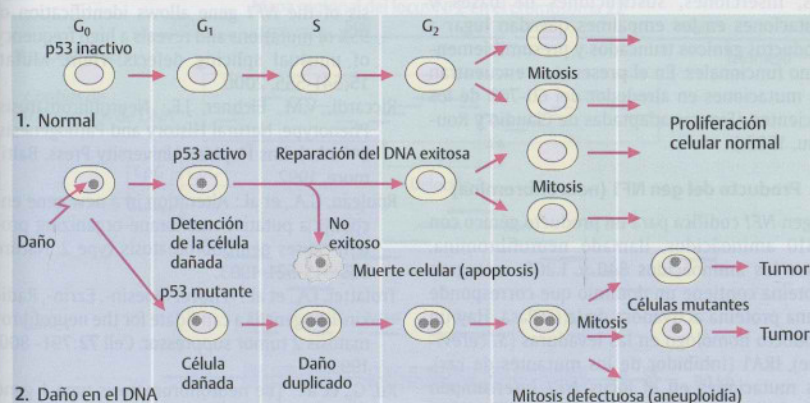
A. La proteína p53 humana



1. Herencia autosómica dominante

2. Distribución de los tumores

B. Mutaciones del gen p53 en los tumores múltiples familiares (síndrome de Li Fraumeni)



C. Modelo del funcionamiento del gen p53

Neurofibromatosis tipos 1 y 2

Las neurofibromatosis son enfermedades hereditarias autosómicas dominantes, diferentes desde los puntos de vista clínico y genético, que predisponen a tumores benignos y malignos del sistema nervioso. Se conocen numerosas formas diferentes. Las más importantes son la neurofibromatosis tipo 1 (NF1, enfermedad de von Recklinghausen, MIM 162200) y la neurofibromatosis tipo 2 (NF2, MIM 101000).

A. Los signos principales de la NF1

La NF1 es muy variable. Los nódulos de Lisch del iris (1) en más del 90% de los pacientes, las manchas café con leche (2) (más de cinco manchas con más de 2 cm de diámetro se considera un criterio diagnóstico) en más del 95%, y los neurofibromas múltiples (3) en más del 90% de los pacientes, son los signos más importantes.

B. El gen de la neurofibromatosis NF1 en el cromosoma humano 17 en q11.2

La localización del gen *NF1* reveló al gen en un fragmento de restricción *Nrul* de 600 kb. Para su identificación sirvieron como puntos de anclaje importantes una isla CpG (CpG-1) y dos puntos de ruptura de la traslocación en t(17;22) y t(1;17). El gen *NF1* posee 79 exones, que abarcan alrededor de 335 kb de DNA genómico. Tres genes no relacionados, *OMGP*, *EVI2B* y *EVI2A*, se encuentran inmersos dentro del gen *NF1* en el intrón 35 en la cadena opuesta de DNA. El análisis mutacional del gen *NF1* muestra delecciones, inserciones, sustituciones de bases y mutaciones en los empalmes que dan lugar a productos génicos truncados y presumiblemente no funcionales. En el presente se encuentran las mutaciones en alrededor del 60-70% de los pacientes. (Figuras adaptadas de Claudio y Rouleau, 1998.)

C. Producto del gen NF1 (neurofibromina)

El gen *NF1* codifica para un producto génico con 2.810 aminoácidos, llamado neurofibromina. Entre los aminoácidos 840 y 1.200, esta gran proteína contiene un dominio que corresponde a una proteína activadora de la GTPasa. Hay un producto homólogo en las levaduras (*S. cerevisiae*), IRA1 (inhibidor de los mutantes de *ras*). Las mutaciones en el locus *NF1* interrumpen una vía de señales hacia los genes *ras*. (Por Xu y col., 1990.)

D. Gen de la neurofibromatosis NF2 sobre el cromosoma 22 en q12.1

En 1993 Rouleau y col., y Trofatter y col., identificaron el gen *NF2* dentro de una *contig* cosmídico contenido en clones de YAC (*yeast artificial chromosomes*, cromosomas artificiales de levaduras). Dos delecciones observadas en pacientes no relacionados ayudaron a encontrar al gen de unos 100 kb con 17 exones. Pueden detectarse mutaciones en más del 50% de los pacientes (son frecuentes las delecciones grandes que incluyen al gen completo o varios exones y delecciones pequeñas). El producto génico, llamado schwannomina, se relaciona con una familia de proteínas del citoesqueleto de la membrana (proteína del eritrocito 4.1, véase pág. 374, y la familia ERM ezrina, radixin y moesina) y una familia de proteínas tirosina fosfatasas. La función básica de estas proteínas es el mantenimiento de la integridad celular. (Figura adaptada de Claudio y Rouleau, 1998.)

BIBLIOGRAFÍA

- Carey, J.C., Viskochil, D.H.: Neurofibromatosis Type 1: a model condition for the study of the molecular basis of variable expressivity in human disorders. *Am. J. Med. Genet. (Semin. Med. Genet.)* 89:7-13, 1999.
- Claudio, J.O., Rouleau, G.A.: Neurofibromatosis type 1 and type 2, pp. 963-970. In: *Principles of Molecular Medicine*. J.L. Jameson, ed. Humana Press, Totowa, NJ, 1998.
- Huson, S.M.: What level of care for the neurofibromatoses? *Lancet* 353:1114-1116, 1999.
- Messiaen, L.M., et al.: Exhaustive mutation analysis of the *NF1* gene allows identification of 95% of mutations and reveals a high frequency of unusual splicing defects. *Hum. Mutat.* 15:541-555, 2000.
- Riccardi, V.M., Eichner, J.E.: Neurofibromatosis. Phenotype, Natural History and Pathogenesis. 2nd ed., Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1992.
- Rouleau, G.A., et al.: Alteration in a new gene encoding a putative membrane-organizing protein causes neurofibromatosis type 2. *Nature* 363:515-521, 1993.
- Trofatter, J.A., et al.: A novel Moesin-, Ezrin-, Radixin-like gene is a candidate for the neurofibromatosis 2 tumor suppressor. *Cell* 72:791-800, 1993.
- Xu, G., et al.: The neurofibromatosis type 1 gene encodes a protein related to GAP. *Cell* 62:599-608, 1990.

Neurofibromatosis tipo 1 (NF1) (enfermedad de Von Recklinghausen)

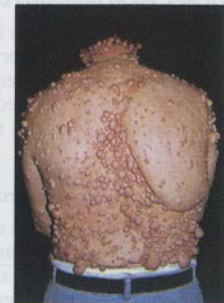
Autosómica dominante
Frecuencia de 1 en 3.000
Locus génico en 17q11.2
Manchas café con leche
Nódulos de Lisch en el iris
Neurofibromas múltiples
Anomalías esqueléticas
Predisposición a tumores del sistema nervioso
50% de mutaciones nuevas



1. Nódulo de Lisch

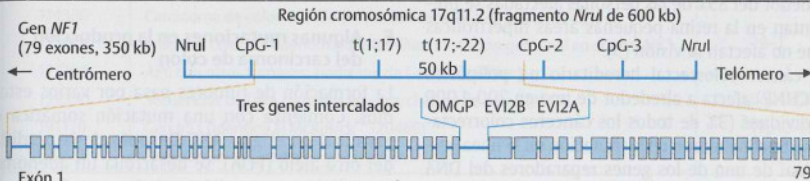


2. Mancha café con leche

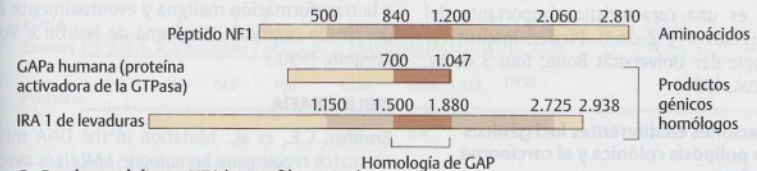


3. Neurofibromas

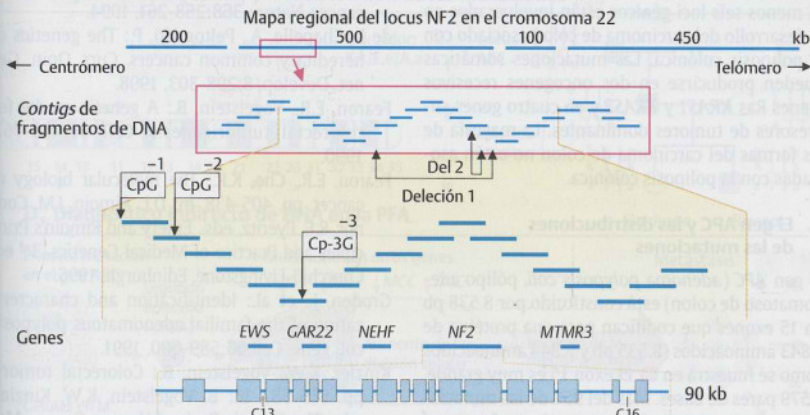
A. Manifestaciones principales de la neurofibromatosis tipo 1



B. El gen de la neurofibromatosis NF1 en el cromosoma humano 17q11.2



C. Producto del gen NF1 (neurofibromina)



D. Gen de la neurofibromatosis NF2 en el cromosoma 22q12.1

Gen APC en la poliposis colónica familiar

El cáncer de colon y recto es la segunda causa de muerte por cáncer. Alrededor del 5% de la población puede desarrollar cáncer colorrectal. La mayoría de los tumores colorrectales surge a partir de una serie de mutaciones somáticas en varios genes.

A. Poliposis colónica y carcinoma de colon

La poliposis familiar (PFA) es una enfermedad hereditaria autosómica dominante. En la niñez tardía y la adultez temprana, se desarrollan hasta 1.000 y más pólipos en la membrana de la mucosa del intestino grueso (colon) (1). Cada pólipo puede transformarse en un carcinoma (2). En alrededor del 85% de las personas afectadas se presentan en la retina pequeñas áreas hipertróficas que no afectan la visión (3).

El cáncer colorrectal hereditario no polipósico (CCHNP) afecta a alrededor de uno en 200-1.000 individuos (3% de todos los cánceres colorrectales). Es el resultado de la mutación en la línea germinal de uno de los genes reparadores del DNA mal apareado *hMSH1*, *hMLH2*, *hPMS1* y *hPMS2* o genes relacionados. La inestabilidad de los microsatélites es una característica importante del CCHNP. (Fotos 1 y 2 de U. Pfeifer, Institut für Pathhologie der Universität Bonn; foto 3 de W. Friedl y col., 1991.)

B. Mutaciones en diferentes loci génicos en la poliposis colónica y el carcinoma de colon

Al menos seis loci génicos están involucrados en el desarrollo del carcinoma de colon asociado con la poliposis colónica. Las mutaciones somáticas pueden producirse en dos oncogenes recesivos (genes Ras *KRAS1* y *KRAS2* y en cuatro genes supresores de tumores dominantes. La mayoría de las formas del carcinoma de colon no están asociadas con la poliposis colónica.

C. El gen APC y las distribuciones de las mutaciones

El gen *APC* (*adenoma polyposis coli*, pólipo adenomatoso de colon) está constituido por 8.538 pb en 15 exones que codifican para una proteína de 2.843 aminoácidos (8.535 pb y 2.844 aminoácidos como se muestra en C). El exón 15 es muy grande, 6.579 pares de bases. Más del 95% de las mutaciones generan una proteína truncada no funcional debido a mutaciones sin sentido (40%), deleciones

(41%), inserciones (12%) y mutaciones en sitios de empalme (*splicing*) (7%). El gen *APC* también está involucrado en el cáncer colorrectal esporádico.

D. Diagnóstico indirecto de DNA en la PFA

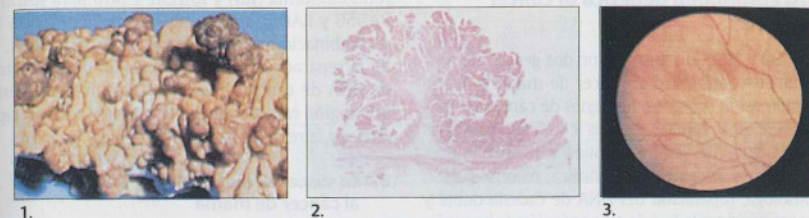
Pueden utilizarse marcadores de ligamento de DNA (RFLPs) cerca del locus *APC* (1) para el diagnóstico indirecto del DNA. Los alelos de tres pares de marcadores flaqueantes (K,k y E,e en el lado del centrómero y A,a en el lado distal) forman los haplotipos, por ejemplo, e-K-a y E-k-a en el individuo I-1 en el pedigrí (2). El haplotipo que lleva la mutación debe de ser e-K-a. Ya que el individuo III-2 heredó este haplotipo, está en riesgo de presentar la enfermedad, mientras que el individuo III-1 no lo está.

E. Algunas mutaciones en la producción del carcinoma de colon

La formación de tumores pasa por varios estadios. Comienza con una mutación somática o germinal en el gen *APC*. Después de la pérdida del otro alelo (POA), se desarrolla un adenoma con células menos diferenciadas y se forma un pólipo. Las mutaciones en otros genes conducen a la transformación maligna y eventualmente al desarrollo tumoral. (Diagrama de Fearon y Vogelstein, 1990.)

BIBLIOGRAFÍA

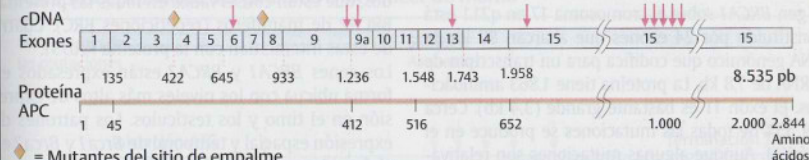
Bronner, C.E., et al.: Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue *hMLH1* is associated with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* 368:258-261, 1994.
 de la Chapelle, A., Peltomäki, P.: The genetics of hereditary common cancers. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 8:298-303, 1998.
 Fearon, E.R., Vogelstein, B.: A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61:759-767, 1990.
 Fearon, E.R., Cho, K.R.: The molecular biology of cancer, pp. 405-438. In: D.L. Rimoim, J.M. Connor, R.E. Pyeritz, eds., *Emery and Rimoim's Principles and Practice of Medical Genetics*. 3rd ed. Churchill-Livingstone, Edinburgh, 1996.
 Groden, J., et al.: Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell* 66:589-600, 1991.
 Kinzler, K.W., Vogelstein, B.: Colorectal tumors, pp. 565-587. In: B. Vogelstein, K.W. Kinzler, eds., *The Genetic Basis of Human Cancer*. McGraw-Hill, New York, 1998.



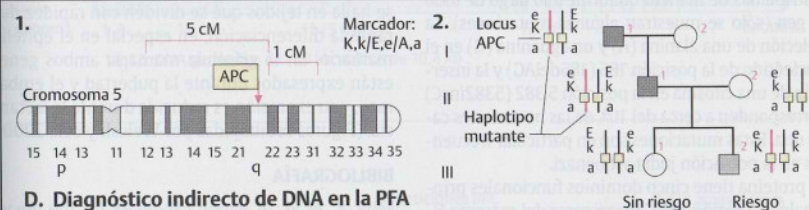
A. Poliposis colónica y carcinoma de colon

Nº McKusick	Enfermedad/gen involucrado	Locus génico
190110	Adenoma colorrectal/carcinoma (<i>KRAS1</i>)	6p12-11
190070	Adenoma colorrectal/carcinoma (<i>KRAS2</i>)	12p12
114500	Carcinoma de colon aislado (mutación somática en el gen <i>APC</i>)	5q21
175100	Poliposis colónica adenomatosa familiar (mutación germinal en el gen <i>APC</i>)	
175100	<i>APC</i> con otros tumores: síndrome de Gardner (alélico)	5q21-22
159350	Secuencias de DNA mutadas en el carcinoma de colon (<i>MCC</i>)	17p12-13
191170	Gen p53 (idéntico al McKusick *120460)	18q21.3
120470	Deleción en el carcinoma colorrectal (<i>DCC</i>)	

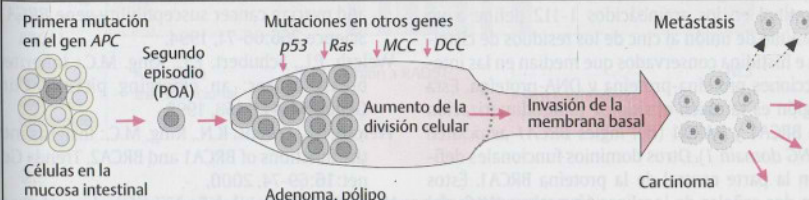
B. Mutaciones en diferentes loci génicos en la poliposis colónica y el carcinoma de colon



C. El gen APC (esquema) y la distribución de las mutaciones (↓)



D. Diagnóstico indirecto de DNA en la PFA



E. Algunas mutaciones en la producción del carcinoma de colon

Susceptibilidad genética al cáncer de mama de mama

En 1994 y 1995 se identificaron dos genes que confieren susceptibilidad al cáncer de mama y ovario cuando están mutados, los genes de cáncer de mama *BRCA1* y *BRCA2*. Ambos codifican proteínas multifuncionales con funciones celulares importantes en la estabilidad genómica, recombinación homóloga, reparación del DNA de cadena doble y reparación acoplada a la transcripción (véase pág. 80). Las proteínas *BRCA1* y *BRCA2* interactúan y cumplen un papel en el control del ciclo celular (véase pág. 112) y en el desarrollo. Se considera que la causa principal del cáncer en alrededor del 5-10% de los pacientes corresponde a un alelo mutante de uno de estos genes que confiere susceptibilidad autosómica dominante. En algunos casos están involucradas mutaciones de otros genes. Es difícil de evaluar el papel causante directo de las mutaciones *BRCA1* y *BRCA2* en pacientes individuales. Se producen tanto diferentes mutaciones como variantes polimórfas en todos los genes.

A. La susceptibilidad del gen *BRCA1* al cáncer de mama

El gen *BRCA1* sobre el cromosoma 17 en q21.1 está constituido por 24 exones que abarcan 80 kb de DNA genómico que codifica para un transcrito de mRNA de 7,8 kb. La proteína tiene 1.863 aminoácidos. El exón 11 es bastante grande (3,4 kb). Cerca del 55% de todas las mutaciones se produce en el exón 11. Aunque algunas mutaciones son relativamente frecuentes en otros exones, tienden a estar distribuidas de manera uniforme a lo largo de todo el gen (sólo se muestran algunas mutaciones). La delección de una alanina (A) y una guanina (G) en el nucleótido de la posición 185 (185delAG) y la inserción de una citosina en la posición 5.382 (5382insC) corresponden a cerca del 10% de las mutaciones cada una. Estas mutaciones son en particular frecuentes en la población judía asquenazi.

La proteína tiene cinco dominios funcionales principales. La región *RING finger* cerca del extremo N-terminal en los aminoácidos 1-112 define a un dominio de unión al cinc de los residuos de cisteína e histidina conservados que median en las interacciones proteína-proteína y DNA-proteína. Esta región es también el sitio de heterodimerización de *BRCA1* y *BARD1* (del inglés *BRCA1-associated RING domain 1*). Otros dominios funcionales definen la parte central de la proteína *BRCA1*. Éstos son dos señales de localización nuclear (NLS; del inglés *nuclear localization signals*) y dos dominios de unión a proteínas, uno para las proteínas p53,

retinoblastoma (RB) y *RAD50*, y otro para *RAD51*. *RAD50* y *RAD51* son proteínas involucradas en la recombinación durante la mitosis y la meiosis, y en la reparación por recombinación de los cortes de DNA de cadena doble. El C-terminal contiene una región involucrada en la activación transcripcional y la reparación del DNA.

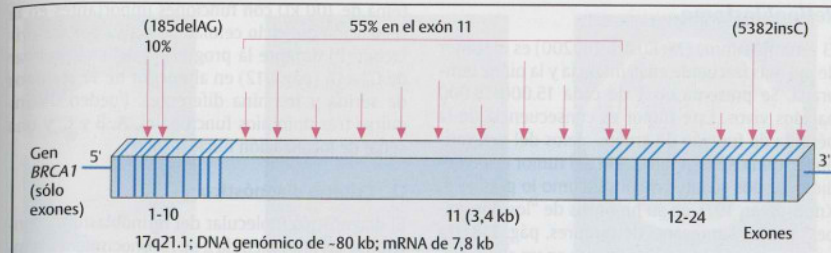
B. La susceptibilidad del gen *BRCA2* al cáncer de mama

El gen *BRCA2* en 13q12 incluye 27 exones que abarcan 80 kb de DNA genómico que codifica a un transcrito de mRNA de 10,4 kb. Su proteína tiene 3.418 aminoácidos. El exón 11 es grande (11,5 kb), como en *BRCA1*. Las mutaciones se producen a lo largo de todo el gen (solamente se muestran algunas mutaciones). La delección de timina en el nucleótido de la posición 6.174 (6174delT) es relativamente frecuente (1%) en la población judía asquenazi.

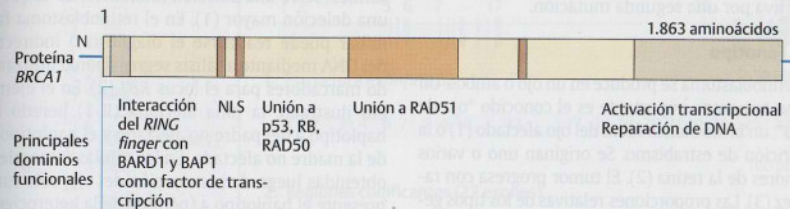
La proteína *BRCA2* tiene un dominio de activación transcripcional próximo al N-terminal y una señal de localización nuclear (NLS) próxima al C-terminal. Un gran dominio central está constituido por ocho copias de una repetición de 30-80 aminoácidos, que están conservados en todas las proteínas *BRCA2* de mamíferos (repeticiones BRC). Cuatro de éstas interactúan con la proteína *RAD51*. Los genes *BRCA1* y *BRCA2* están expresados en forma ubicua con los niveles más altos de expresión en el timo y los testículos. Los patrones de expresión espacial y temporal de *Brca1* y *Brca2* en el feto de ratón y en los tejidos adultos son en esencia idénticos; la mayor expresión de ambos se halla en tejidos que se dividen con rapidez durante la diferenciación, en especial en el epitelio mamario. En la glándula mamaria ambos genes están expresados durante la pubertad y el embarazo, y su expresión es reducida durante la lactancia. (Figuras redibujadas por Welch y col., 2000.)

BIBLIOGRAFÍA

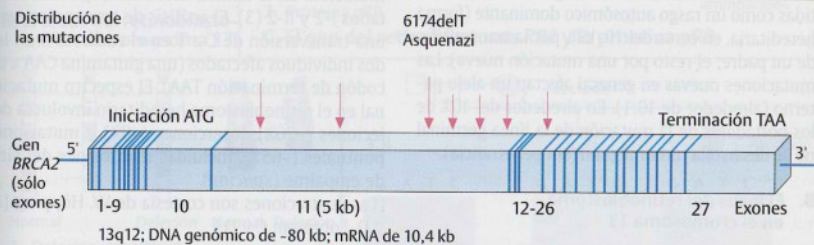
- Miki, Y., et al.: A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science* 266:66-71, 1994.
- Welch, P.L., Schubert, E.L., King, M.C.: Inherited breast cancer: an emerging picture. *Clin. Genet.* 54:447-458, 1998.
- Welch, P.L., Owens, K.N., King, M.C.: Insights into the functions of *BRCA1* and *BRCA2*. *Trends Genet.* 16:69-74, 2000.
- Wooster, R., et al.: Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*. *Nature* 378:789-792, 1995.



1. Distribución y frecuencia relativa de mutaciones



A. La susceptibilidad del gen *BRCA1* al cáncer de mama



1.



2.

B. La susceptibilidad del gen *BRCA2* al cáncer de mama y ovario

Retinoblastoma

El retinoblastoma (McKusick 180200) es el tumor de ojo más frecuente en la infancia y la niñez temprana. Se presenta en 1 de cada 15.000-18.000 nacidos vivos. Este tumor es consecuencia de la pérdida de función de ambos alelos del gen retinoblastoma *RB1*. La iniciación del tumor es precedida por dos acontecimientos, como lo predijo A. Knudson en 1971 en su hipótesis de "los dos golpes" (genes supresores de tumores, pág. 318). La primera mutación predisponente en un alelo puede producirse tanto en el retinoblasto, una célula de la retina indiferenciada del embrión en desarrollo, como en la línea germinal. El otro alelo se inactiva por una segunda mutación.

A. Fenotipo

El retinoblastoma se produce en un ojo o ambos. Un signo temprano importante es el conocido "ojo de gato", un brillo blanco fuera del ojo afectado (1) o la aparición de estrabismo. Se originan uno o varios tumores de la retina (2). El tumor progresa con rapidez (3). Las proporciones relativas de los tipos genéticos del retinoblastoma son alrededor del 60% de mutaciones somáticas (forma no hereditaria) y el 40% de mutaciones en la línea germinal, transmitidas como un rasgo autosómico dominante (forma hereditaria, en cerca del 10-15%, por la transmisión de un padre; el resto por una mutación nueva). Las mutaciones nuevas en general afectan un alelo paterno (alrededor de 10:1). En alrededor del 10% de los portadores de la mutación de la línea germinal no se desarrolla tumor alguno (sin penetrancia).

B. El locus del retinoblastoma en el cromosoma 13

El locus *RB1* en 13q14.2 fue definido en primer término con deleciones intersticiales visibles en forma citogenética.

C. El gen del retinoblastoma *RB-1* y la proteína pRB

El gen *RB1* está organizado en 27 exones que abarcan 183 kb de DNA genómico (1). El gen *RB1* se expresa de manera ubicua y se transcribe en 4,7 kb de mRNA (2). El producto génico (proteína pRB) tiene 928 aminoácidos (3). Es una fosfoproteína

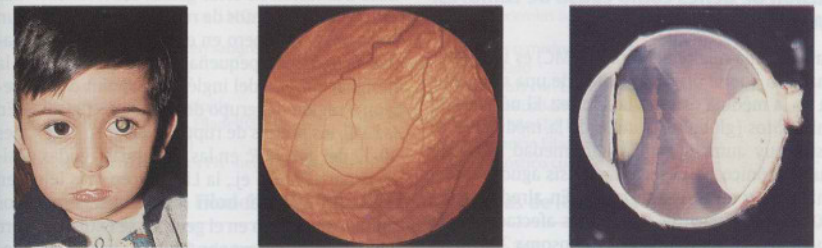
de 100 kD con funciones importantes en la regulación del ciclo celular. Se activa por fosforilación (P) durante la progresión del ciclo celular de G₀ a G₁ (pág. 112) en alrededor de 12 residuos de serina y treonina diferentes. Pueden distinguirse tres dominios funcionales, A, B y C, y una señal de localización nuclear (SLN).

D. Criterio diagnóstico

El diagnóstico molecular del retinoblastoma contribuye en gran medida a su reconocimiento temprano y a la evaluación correcta de los riesgos de los individuos dentro de una familia. En cerca del 3-5% de los pacientes mediante el análisis cromosómico, se ve una deleción intersticial de 13q14 o una deleción mayor (1). En el retinoblastoma familiar puede realizarse el diagnóstico indirecto del DNA mediante análisis segregacional utilizando marcadores para el locus *RB1* (2). En el ejemplo ilustrado, la niña afectada (II-1) heredó el haplotipo a del padre no afectado y el haplotipo c de la madre no afectada. En las células tumorales, obtenidas luego de la remoción del ojo, sólo está presente el haplotipo a (pérdida de la heterocigosidad [PH], véase pág. 318). Esto revela que el haplotipo a representa al alelo *RB1* que porta la mutación. En la familia mostrada (3), están afectados I-2 y II-2 (3). El análisis de secuencia revela una transversión de C a T en el codón 575 en los dos individuos afectados (una glutamina CAA a un codón de terminación TAA). El espectro mutacional en el retinoblastoma hereditario involucra deleciones (~26%), inserciones (~9%) y mutaciones puntuales (~65%), incluidas mutaciones del sitio de empalme (*splicing*). (Las ilustraciones son cortesía de W. Höpping [A] y D. Lohmann C y D.)

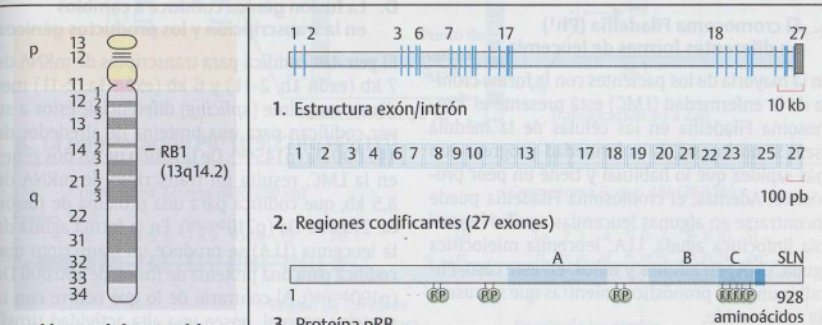
BIBLIOGRAFÍA

- Lohmann, D.R.: *RB1* gene mutations in retinoblastoma. Hum. Mutat. 14:283-288, 1999.
- Lohmann, D.R., et al.: Spectrum of *RB1* germline mutations in hereditary retinoblastoma. Am. J. Hum. Genet. 58:940-949, 1996.
- Newsham, I.F., Hadjistilianou, T., Cavenee, W.K.: Retinoblastoma. pp. 363-392. In: B. Vogelstein, K.W. Kinzler, eds. The Genetic Basis of Human Cancer. McGraw-Hill, New York, 1998.

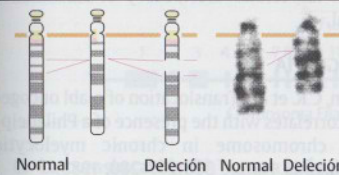


1. El tan mentado ojo de gato 2. Tumor en la retina 3. Gran tumor en el ojo

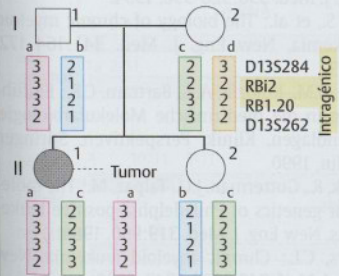
A. Fenotipo



B. El locus del retinoblastoma en el cromosoma 13



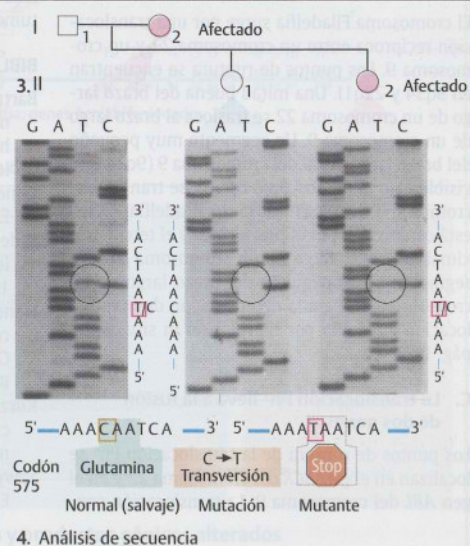
1. Deleción intersticial



2. Análisis del haplotipo

D. Criterio diagnóstico

C. El gen del retinoblastoma *RB1* y la proteína pRB



4. Análisis de secuencia

Fusión de genes como causa de tumores: LMC

La leucemia mieloide crónica (LMC) es un tumor maligno que se origina a partir de una sola célula de la médula ósea en la adultez. El número de mielocitos (glóbulos blancos de la médula ósea) está muy aumentado. La enfermedad sigue un curso crónico. Se desarrollan crisis agudas intermitentes y en forma terminal. Al alrededor del 90% de los pacientes, las células afectadas de la médula ósea contienen un cromosoma 22 con un brazo largo acortado (22q-, cromosoma Filadelfia).

A. El cromosoma Filadelfia (Ph¹) en diferentes formas de leucemia

En la mayoría de los pacientes con la forma crónica de la enfermedad (LMC) está presente el cromosoma Filadelfia en las células de la médula ósea. Si no lo está, la enfermedad progresa con más rapidez que lo habitual y tiene un peor pronóstico. Además, el cromosoma Filadelfia puede encontrarse en algunas leucemias agudas (leucemia linfocítica aguda, LLA; leucemia mielocítica aguda, LMA) en adultos y niños. En este caso, Ph¹ indica un peor pronóstico, mientras que su ausencia es favorable.

B. La translocación Ph¹ [t(9;22)(q34;q11)]

El cromosoma Filadelfia surge por una translocación recíproca entre un cromosoma 22 y un cromosoma 9. Los puntos de ruptura se encuentran en 9q34 y 22q11. Una mitad buena del brazo largo de un cromosoma 22 se trasloca al brazo largo de un cromosoma 9. Un segmento muy pequeño del brazo largo distal del cromosoma 9 (9q34), no visible bajo el microscopio óptico, se trasloca al cromosoma 22. El cromosoma Filadelfia (22q-) está constituido por el brazo corto y el tercio proximal del brazo largo de un cromosoma 22 y el segmento distal pequeño del brazo largo de un cromosoma 9. (Para la demostración de la translocación Filadelfia por hibridación in situ, véase pág. 192).

C. La translocación Ph¹ lleva a la fusión de dos genes

Los puntos de ruptura de la translocación Ph¹ se localizan en el gen *BCR* del cromosoma 22 y en el gen *ABL* del cromosoma 9. La translocación con-

duce a la fusión de estos genes. Las localizaciones exactas de los puntos de ruptura difieren entre un paciente y otro, pero en el gen *BCR* están limitados a una región pequeña de sólo 6 kb (por eso la designación *BCR* del inglés *breakpoint cluster region* o región del grupo de puntos de ruptura). En la LMC, los puntos de ruptura yacen en los exones 10-12 del gen *BCR*; en las leucemias agudas positivas para Ph¹ (p. ej., la LLA) yacen más lejos, en dirección 5', en el exón 1 o 2. La región de los puntos de ruptura en el gen *ABL* se extiende sobre 180 kb entre los exones 1a y 1b, que se encuentran separados por un intrón.

D. La fusión génica conduce a cambios en la transcripción y los productos génicos

El gen *ABL* codifica para transcritos de mRNA de 7 kb (exón 1b, 2-11) y 6 kb (exón 1a, 2-11) mediante empalme (*splicing*) diferencial; éstos a su vez codifican para una proteína de alrededor de 145.000 Da (p145^{abl}). De la fusión de los dos genes en la LMC, resulta un transcripto de mRNA de 8,5 kb, que codifica para una proteína de fusión de 210.000 Da (p210^{bcr/abl}). En la forma aguda de la leucemia (LLA) se produce un transcripto que codifica para una proteína de fusión de 190.000 Da (p190^{bcr/abl}). Al contrario de lo que ocurre con la proteína normal, posee una alta actividad tirosinasa. Esto genera en la división celular descontrolada en las células afectadas y el crecimiento tumoral.

BIBLIOGRAFÍA

- Bartram, C.R. et al.: Translocation of c-abl oncogene correlates with the presence of a Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukaemia. *Nature* 306:277-280, 1983.
- Cline, M.J.: The molecular basis of leukemia. *New Eng. J. Med.* 330:328-336, 1994.
- Faderl, S., et al.: The biology of chronic myeloid leukemia. *New Eng. J. Med.* 341:164-172, 1999.
- Hentze, B.M., Kulozik, A.E., Bartram, C.R.: Einführung in die medizinische Molekularbiologie. Grundlagen, Klinik, Perspektiven. Springer, Berlin, 1990.
- Kurzrok, R., Gutterman, J.U., Talpaz, M.: The molecular genetics of Philadelphia-positive leukemias. *New Eng. J. Med.* 319:990, 1988.
- Sawyers, C.L.: Chronic myeloid leukemia. *New Eng. J. Med.* 340:1330-1340, 1999.

Leucemia mieloide crónica (LMC)

Mielocitos aumentados en sangre periférica
Curso crónico temprano
Adultos afectados
Origen en una célula mieloide
en ~90% un cromosoma Filadelfia (Ph¹)
(Translocación 22q a 9q)
Mal pronóstico cuando es Ph¹-negativo

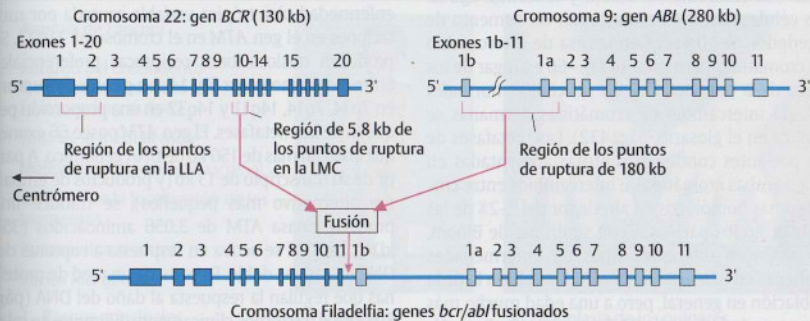
Otras leucemias agudas Ph¹-positivas

Linfocitos o mielocitos aumentados
Curso agudo
20% adultos con LLA Ph¹-positiva
2% adultos con LMA Ph¹-positiva
5% niños con LLA Ph¹-positiva
Translocación Filadelfia como en la LMC
Mal pronóstico cuando es Ph¹-positiva

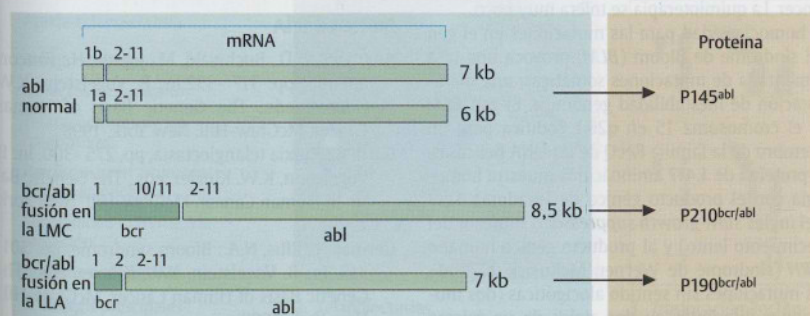
A. La translocación Filadelfia (Ph¹) en diferentes formas de leucemia



B. La translocación Ph¹ [t(9;22)(q34;q11)]



C. La translocación Ph¹ causa la fusión de dos genes



D. La fusión génica causa transcritos y productos génicos alterados

Síndromes de inestabilidad genómica

La inestabilidad genómica, visible al microscopio óptico como rupturas y reordenamientos en diferentes cromosomas en una proporción variable de células en metafase, es un sello de un grupo de enfermedades hereditarias características. El defecto genético subyacente predispone a los pacientes a diferentes tipos de cáncer. Aquí se presentan tres ejemplos importantes.

A. Síndrome de Bloom (SB)

En el síndrome de Bloom (McKusick 210900) (1) hay un déficit pronunciado del crecimiento prenatal y posnatal (peso al nacer de 2.000 g, longitud al nacer de ~40 cm, altura del adulto alrededor de 150 cm). El fenotipo (2) incluye a una cara angosta. En general, pero no siempre, en las mejillas, párpados, boca, orejas y el dorso de las manos se desarrolla un eritema inducido por la luz del sol (a y b). La fotografía de la derecha (c) muestra a un niño con síndrome de Bloom y leucemia aguda. Las células metafásicas muestran un aumento de alrededor de 10 veces en la tasa de intercambio de cromátidas hermanas (ICH), ~60 en lugar de los cerca de 6 por metafase en las células normales (3). (El intercambio de cromátidas hermanas se explica en el glosario, pág. 432). Las metafases de los pacientes contienen rupturas aumentadas en una o ambas cromátidas e intercambios entre cromosomas homólogos en alrededor del 1-2% de las células. En los pacientes con síndrome de Bloom, se producen diferentes tipos de enfermedades malignas en una distribución comparable a la de la población en general, pero a una edad mucho más temprana (edad media 24,7, rango 2-48 años). Algunos pacientes multiplicaron los tumores primarios, lo que subraya la susceptibilidad llamativa al cáncer. La quimioterapia se tolera muy poco.

La homocigosidad para las mutaciones en el gen del síndrome de Bloom (*BLM*) provoca una tasa aumentada de mutaciones somáticas, una manifestación de inestabilidad genómica. El gen *BLM* en el cromosoma 15 en q26.1 codifica para un miembro de la familia RecQ de las DNA helicasas. La proteína de 1.417 aminoácidos muestra homología con el producto génico de levaduras *Sgs1* (del inglés *slow growth suppressor* o supresor del crecimiento lento) y al producto génico humano *WRN* (síndrome de Werner, McKusick 277700). Las mutaciones sin sentido aloicóticas (dos mutaciones diferentes en dos alelos de un mismo gen) son frecuentes en el gen *BLM*. En los individuos judíos asquenazis se produce una delección de 6 pb/inserción de 7 pb homocigótica caracte-

rística en el nucleótido 2.281 como resultado de un efecto fundador.

B. Anemia de Fanconi (AF)

La anemia de Fanconi (pancitopenia hereditaria) (McKusick 227650) es un síndrome de malformaciones (1) con una expresión clínica variable. Son signos físicos característicos el déficit de crecimiento (2), los pulgares hipoplásicos o ausentes (3) y los radios cortos o ausentes.

Las células de la AF son hipersensibles a agentes que ligan al DNA en forma cruzada (*DNA-cross-linking*), como el diepoxibutano (DEB). Pueden distinguirse algunos grupos de complementación. Se identificaron tres genes de la AF, en el cromosoma 16q24.3 (FAA), 9q22.3 (FAC) y 3p22-26 (FAD). El FAA es el grupo más prevalente en el 60-65% de los pacientes.

C. Ataxia-telangiectasia

La ataxia-telangiectasia (McKusick 208900) es una enfermedad pleiotrópica variable causada por mutaciones en el gen *ATM* en el cromosoma 11q23. Se producen traslocaciones recíprocas preferenciales entre los cromosomas 7 y 14 con puntos de ruptura en 7p14, 7q14, 14q11 y 14q32 en una proporción pequeña de las metafases. El gen *ATM* posee 66 exones que abarcan más de 150 kb de DNA genómico. A partir de su transcrito de 13 kb (y productos de empalme alternativo más pequeños), se traduce una proteína cinasa ATM de 3.056 aminoácidos (350 kDa). La ATM se activa en respuesta a rupturas del DNA de cadena doble. Es parte de una red de proteínas que regulan la respuesta al daño del DNA (pág. 80). Otros trastornos clínicamente diferentes se relacionan en el nivel celular (síndrome de la ruptura de Nijmegen, McKusick 251260 y otros).

BIBLIOGRAFÍA

- Auerbach, A.D., Buchwald, M., Joenje, H.: Fanconi anemia, pp. 317-332. In: B. Vogelstein, K.W. Kinzler, eds., *The Genetic Basis of Human Cancer*. McGraw-Hill, New York, 1998.
- Gatti, R.: Ataxia telangiectasia, pp. 275-300. In: B. Vogelstein, K.W. Kinzler, eds., *The Genetic Basis of Human Cancer*. McGraw-Hill, New York, 1998.
- German, J., Ellis, N.A.: Bloom syndrome, pp. 301-315. In: B. Vogelstein, K.W. Kinzler, eds., *The Genetic Basis of Human Cancer*. McGraw-Hill, New York, 1998.
- Zhao, S., et al.: Functional link between ataxia-telangiectasia and Nijmegen breakage syndrome gene products. *Nature* 405:473-477, 2000.

Síndrome de Bloom

Retardo extremo del crecimiento intrauterino y posnatal

Inestabilidad cromosómica

Predisposición a leucemias, linfomas y otros tumores

Defectos inmunitarios

Eritema facial inducido por el sol

Áreas de la piel hipopigmentadas e hiperpigmentadas

Autosómico recesivo

Locus génico en el cromosoma 15q26.1

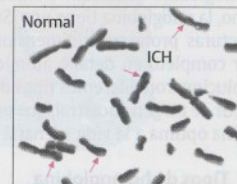
1. Rasgos principales



2. Fenotipo



Síndrome de Bloom



Control normal

3. Aumento de la tasa de intercambio de cromátidas hermanas (ICH)

A. Síndrome de Bloom (SB)

Anemia de Fanconi

Retardo del crecimiento

Defectos esqueléticos

(p. ej., radio y pulgar)

Falla de la médula ósea

Malformación esquelética y renal

Cambios en la localización de los pigmentos

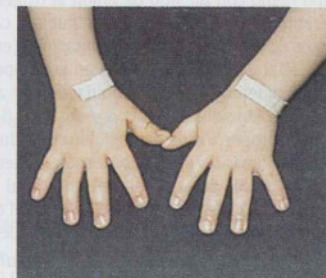
Autosómica recesiva

Varios loci génicos

1. Rasgos principales



2. Fenotipo



3. Hipoplasia de los pulgares

B. Anemia de Fanconi (AF)

Ataxia-telangiectasia

Ataxia cerebelosa

Defectos inmunitarios

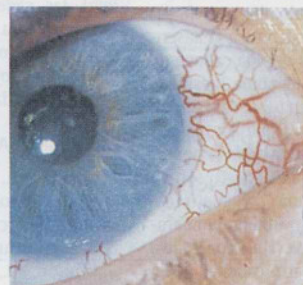
Telangiectasias de las conjuntivas

Predisposición a tumores (linfoma, leucemia)

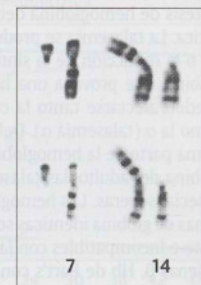
Sensibilidad extrema a la radiación

Autosómica recesiva

1. Rasgos principales



2. Telangiectasias



3. Traslocación 7q:14p

C. Ataxia-telangiectasia (AT)

Transporte de oxígeno y electrones

Hemoglobina

La hemoglobina (Hb) y la mioglobina son las proteínas transportadoras de oxígeno de los vertebrados. La hemoglobina se encuentra en los glóbulos rojos de la sangre y la mioglobina en el músculo. La hemoglobina surgió a partir de la mioglobina durante el curso de la evolución. La hemoglobina tiene cuatro sitios de unión al oxígeno, la mioglobina tiene uno. Sus genes y sus estructuras proteicas tridimensionales se conocen por completo en detalle atómico. En mamíferos evolucionaron diferentes tipos de hemoglobinas a partir de un gen ancestral, que están adaptadas en forma óptima a la vida prenatal y posnatal.

A. Tipos de hemoglobina

La hemoglobina está constituida por cuatro subunidades (cadenas de globina), dos pares de polipéptidos idénticos. Cada polipéptido está unido a un grupo hemo con un sitio de unión al oxígeno. Los diferentes tipos de hemoglobinas, que son característicos de diversos estadios del desarrollo (embrionario, fetal y posnatal), difieren en la composición de sus cadenas: la hemoglobina de los adultos (HbA) contiene dos cadenas α y dos β ($\alpha_2\beta_2$). Una pequeña proporción de hemoglobina del adulto posee dos cadenas α y dos δ (HbA₂: $\alpha_2\delta_2$). La hemoglobina formada durante el período fetal (HbF) contiene dos cadenas α y dos γ ($\alpha_2\gamma_2$). En el estadio embrionario, las cadenas ξ se unen a las cadenas ϵ o γ (Hb de Gower 1: $\xi_2\epsilon_2$ y Hb de Portland: $\xi_2\gamma_2$); dos cadenas α y dos ϵ forman la Hb de Gower 2 ($\alpha_2\epsilon_2$).

B. Las hemoglobinas en la talasemia

Las talasemias son un grupo de trastornos de la síntesis de hemoglobina determinados por vía genética. La talasemia se produce debido a la ausencia o la reducción de la síntesis de una cadena de globina, que provoca una hemoglobina inestable. Pueden afectarse tanto la cadena β (talasemia β) como la α (talasemia α). Debido a que la cadena α forma parte de la hemoglobina fetal y de la hemoglobina del adulto, las talasemias α (tal- α) son en especial severas. Las hemoglobinas con cuatro cadenas de globina idénticas son inestables por completo e incompatibles con la vida (HbH con cuatro cadenas β , Hb de Bart's con cuatro cadenas γ). En teoría, podría formarse un homotetrámero de cuatro cadenas δ pero como normalmente la tasa de síntesis de las cadenas δ es baja, éste es clínicamen-

te insignificante. Las talasemias α se presentan con grados de severidad muy diferentes porque hay dos genes vecinos que codifican para la cadena α (véase genes de hemoglobina, pág. 338).

C. Evolución de la hemoglobina

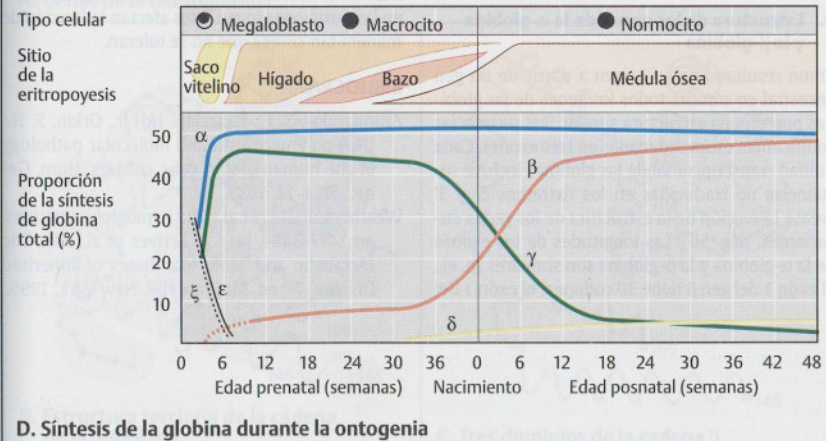
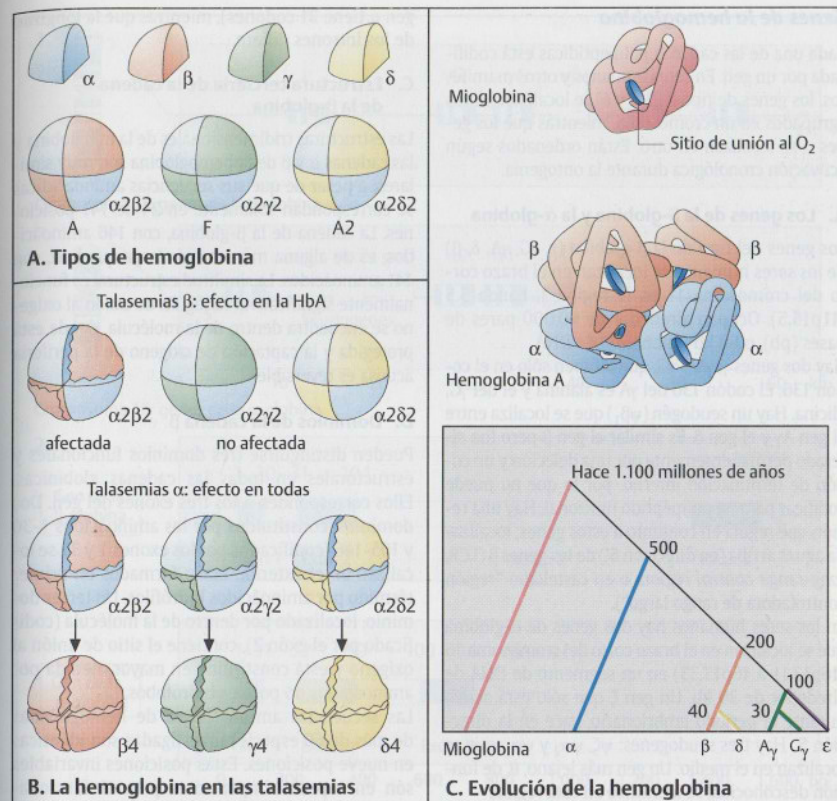
Debido a que la hemoglobina posee cuatro cadenas polipeptídicas, es un transportador de oxígeno mucho más eficiente que la molécula de mioglobina de cadena simple. Además, la presencia de diferentes cadenas de globina le confiere una ventaja selectiva en la evolución porque sus pequeñas diferencias funcionales generan una adaptación óptima a las diferentes concentraciones de oxígeno antes y después del nacimiento. Los genes para las cadenas de hemoglobina individuales surgieron de la mioglobina mediante una serie de duplicaciones génicas durante la evolución. La edad evolutiva de las cadenas de Hb individuales puede estimarse a partir de sus diferencias en relación con la tasa de mutación. Cuando los mamíferos comenzaron a evolucionar hace alrededor de 100 millones de años, los genes para las cadenas α y β estaban presentes, mientras que las cadenas de tipo- β (ϵ , γ , δ) evolucionaron después.

D. Formación de la globina en la ontogenia

En los diferentes estadios del desarrollo se forman diversos tipos de cadenas de globina: hemoglobina embrionaria durante el período embrionario temprano (hasta la 12 semana), hemoglobina fetal desde alrededor de la semana 12 hasta el nacimiento, y de ahí en más la hemoglobina del adulto. Ellas difieren en la afinidad de unión al oxígeno. Por ello, la entrega de oxígeno está optimizada en las diferentes fases del desarrollo. También difiere el sitio de síntesis. Durante la fase fetal, las cadenas de globina se sintetizan en mayor medida en el hígado, mientras que después del nacimiento se sintetizan en los precursores de los glóbulos rojos en la médula ósea. (Figuras basadas en Lehmann & Huntsman, 1974.)

BIBLIOGRAFÍA

- Lehmann, H., Huntsman, R.G.: Man's Hemoglobins, North-Holland, Amsterdam, 1974.
 Thein S.L., Rochette, J.: Disorders of hemoglobin structure and synthesis, pp. 179-190. In: J.L. Jameson, ed., Principles of Molecular Medicine. Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.
 Weatherhall, D.J., Clegg, J.B.: Genetic disorders of hemoglobin. Semin, Hematol. 36:2-37, 1999.



Genes de la hemoglobina

Cada una de las cadenas polipeptídicas está codificada por un gen. En seres humanos y otros mamíferos, los genes de tipo β (β , γ y δ) se localizan juntos agrupados en un cromosoma, mientras que los genes α se localizan en otro. Están ordenados según activación cronológica durante la ontogenia.

A. Los genes de la β -globina y la α -globina

Los genes del tipo de la β -globina (ϵ , γ G, γ A, δ , β) de los seres humanos se localizan en el brazo corto del cromosoma 11 en la región 1, banda 5.5 (11p15.5). Ocupan alrededor de 60.000 pares de bases (pb), o 60 kb (kilobases) de DNA.

Hay dos genes γ , γ A y γ G, que difieren sólo en el codón 136. El codón 136 del γ A es alanina y el del γ G, glicina. Hay un pseudogén ($\psi\beta$) que se localiza entre el gen $A\gamma$ y el gen δ . Es similar al gen β pero fue alterado permanentemente por una delección y un codón de terminación interno, por lo que no puede codificar para un polipéptido funcional. Hay una región que regula en conjunto a estos genes, localizada aguas arriba (en dirección 5') de los genes β (LCR, *long-range control region*, o en castellano "región controladora de rango largo").

En los seres humanos hay dos genes de α -globina que se localizan en el brazo corto del cromosoma 16 (16p13.11 a 16p13.33) en un segmento de DNA de alrededor de 30 kb. Un gen ζ que sólo está activo durante el período embrionario, yace en la dirección 5'. Hay tres pseudogenes: $\psi\zeta$, $\psi\alpha_2$ y $\psi\alpha_1$, que se localizan en el medio. Un gen más lejano, θ , de función desconocida, se identificó en esta región.

B. Estructura de los genes de la α -globina y la β -globina

Como resultado de su origen a partir de un gen ancestral en común, todos los genes de las globinas poseen una estructura similar. Sus secuencias codificantes están ordenadas en tres exones. Cada unidad transcripcional de las globinas incluye secuencias no traducidas en los extremos 5' y 3' (véase la sección de la estructura de los genes eucariontes, pág. 50). Las longitudes de los exones de la α -globina y la β -globina son similares (p. ej., el exón 1 del gen β tiene 30 codones; el exón 1 del

gen α tiene 31 codones), mientras que la longitud de los intrones difiere.

C. Estructura terciaria de la cadena de la β -globina

Las estructuras tridimensionales de la mioglobina y las cadenas α y β de la hemoglobina son muy similares, a pesar de que sus secuencias aminoácidas se correspondan solamente en 24 de 141 posiciones. La cadena de la β -globina, con 146 aminoácidos, es de alguna manera más larga que la α , con 141 aminoácidos. La similitud estructural es funcionalmente significativa: la región de unión al oxígeno se encuentra dentro de la molécula, donde está protegida y la captación de oxígeno de la periferia acuosa es reversible.

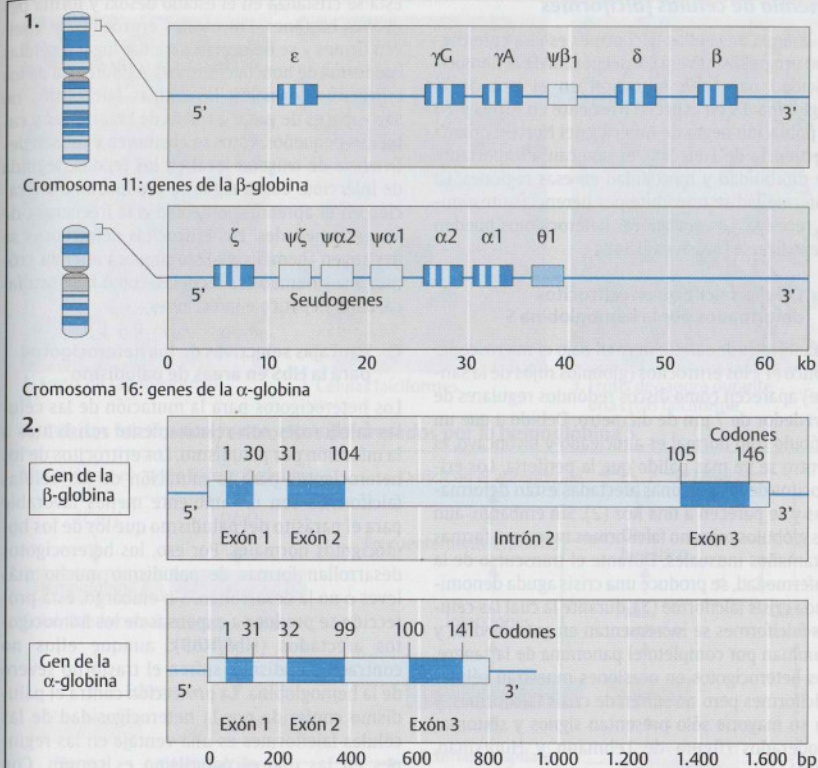
D. Dominios de la cadena β

Pueden distinguirse tres dominios funcionales y estructurales en todas las cadenas globínicas. Ellos corresponden a los tres exones del gen. Dos dominios, constituidos por los aminoácidos 1-30 y 105-146 (codificados por los exones 1 y 3), se localizan en el exterior. Están formados en primer término por aminoácidos hidrófilos. Un tercer dominio, localizado por dentro de la molécula (codificado por el exón 2), contiene el sitio de unión al oxígeno y está constituido en mayor medida por aminoácidos no polares hidrófobos.

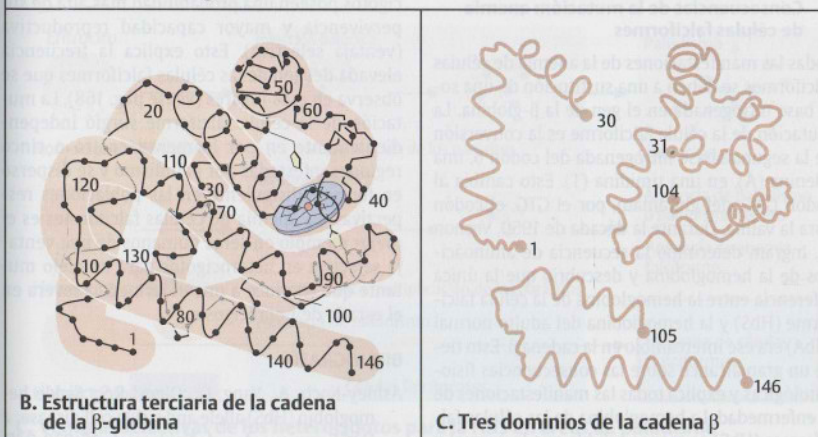
Las secuencias aminoácidas de hemoglobinas de más de 60 especies investigadas son idénticas en nueve posiciones. Estas posiciones invariables son en especial importantes para el funcionamiento de la molécula. Los cambios (mutaciones) en las posiciones invariables afectan la función de manera tan severa que no se toleran.

BIBLIOGRAFÍA

- Antonarakis, S. E., Kazazian, H.H.Jr., Orkin, S. H.: DNA polymorphism and molecular pathology of the human globin gene clusters, *Hum. Genet*, 69:1-14, 1985.
- Weatherhall, D.J., et al.: The hemoglobinopathies. pp:3417-3484, In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed, McGraw Hill. New York, 1995.



A. Genes de la hemoglobina



Anemia de células falciformes

La anemia de células falciformes es una enfermedad progresiva severa consecuencia de la homocigocidad para una mutación en el gen de la β-globina. Es en especial frecuente en África y en la población negra de América del Norte. Con una frecuencia de 1 en 500, es una causa importante de morbilidad y mortalidad en esas regiones. La enfermedad se transmite por herencia autosómica recesiva. Los portadores heterocigotos pueden identificarse (véase pág. 348).

A. Células falciformes: eritrocitos deformados por la hemoglobina S

En un frotis de sangre normal bajo el microscopio óptico (1), los eritrocitos (glóbulos rojos de la sangre) aparecen como discos redondos regulares de alrededor de 7 μm de diámetro. Debido a que un glóbulo rojo normal es anucleado y bicóncavo, el centro se ve más pálido que la periferia. Los eritrocitos de las personas afectadas están deformados y se parecen a una hoz (2). Sin embargo, aun los glóbulos rojos no falciformes muestran formas y tamaños inusuales. Durante el transcurso de la enfermedad, se produce una crisis aguda denominada crisis falciforme (3), durante la cual las células falciformes se incrementan en gran medida y dominan por completo el panorama de la sangre. Los heterocigotos en ocasiones muestran células falciformes pero no sufren de crisis falciformes, y en su mayoría sólo presentan signos y síntomas moderados (figura de Lehmann y Huntsman, 1974).

B. Consecuencias de la mutación: anemia de células falciformes

Todas las manifestaciones de la anemia de células falciformes se deben a una sustitución de una sola base nitrogenada en el gen de la β-globina. La mutación de la célula falciforme es la conversión de la segunda base nitrogenada del codón 6, una adenina (A), en una timidina (T). Esto cambia al codón GAG, del glutamato, por el GTG, el codón para la valina. Durante la década de 1950, Vernon M. Ingram determinó la secuencia de aminoácidos de la hemoglobina y descubrió que la única diferencia entre la hemoglobina de la célula falciforme (HbS) y la hemoglobina del adulto normal (HbA) era ese intercambio en la cadena β. Esto tiene un gran alcance sobre las consecuencias fisiopatológicas y explica todas las manifestaciones de la enfermedad. La hemoglobina de las células falciformes (HbS) es menos soluble que la normal y no permite la distorsión correcta del eritrocito.

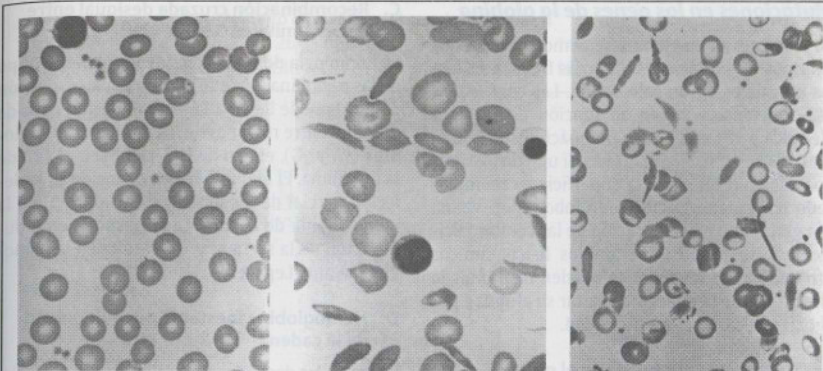
Esta se cristaliza en el estado desoxi y forma pequeños bastones. Por eso los eritrocitos se vuelven firmes y se deforman para dar lugar a células con forma de hoz (falciformes). A diferencia de los eritrocitos normales, las células falciformes no son capaces de pasar a través de las arterias y capilares pequeños. Éstos se obstruyen y causan deficiencia de oxígeno local en los tejidos, seguida de infección. Como regla, se produce una alteración en el aprendizaje debido a la frecuencia de las enfermedades. Los eritrocitos defectuosos se destruyen (hemólisis). Esto provoca anemia crónica y sus numerosas secuelas, como falla cardíaca, daño hepático e infecciones.

C. Ventajas selectivas de los heterocigotos para la HbS en áreas de paludismo

Los heterocigotos para la mutación de las células falciformes son relativamente resistentes a la infección por paludismo. Los eritrocitos de los heterocigotos para la mutación de las células falciformes son un ambiente menos favorable para el parásito del paludismo que los de los homocigotos normales. Por eso, los heterocigotos desarrollan formas de paludismo mucho más leves o no la desarrollan. Sin embargo, esta protección se produce a expensas de los homocigotos afectados (HbS/HbS): aunque ellos no contraen paludismo, sufren el trastorno severo de la hemoglobina. La protección contra el paludismo conferida por la heterocigosidad de las células falciformes es una ventaja en las regiones en las que el paludismo es común. Con morbilidad y mortalidad reducidas, los heterocigotos poseen una probabilidad más alta de supervivencia y mayor capacidad reproductiva (ventaja selectiva). Esto explica la frecuencia elevada del gen de las células falciformes que se observa en esos lugares (véase pág. 168). La mutación de la célula falciforme surgió independientemente en por lo menos cuatro o cinco regiones infestadas por paludismo y se dispersó en forma subsiguiente en las poblaciones respectivas. La anemia de células falciformes es el mejor ejemplo en seres humanos de una ventaja selectiva en heterocigotos para un alelo mutante que conduce a una enfermedad severa en el estado de homocigosis.

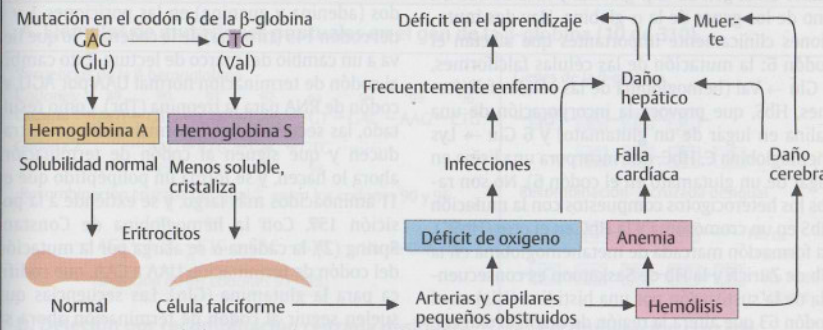
BIBLIOGRAFÍA

Ashley-Koch, A., Yang, Q., Olney, R.S.: Sickle hemoglobin (HbS) allele and sickle cell disease: a HuGE review. *Am. J. Epidemiol.* 15:839-845, 2000.

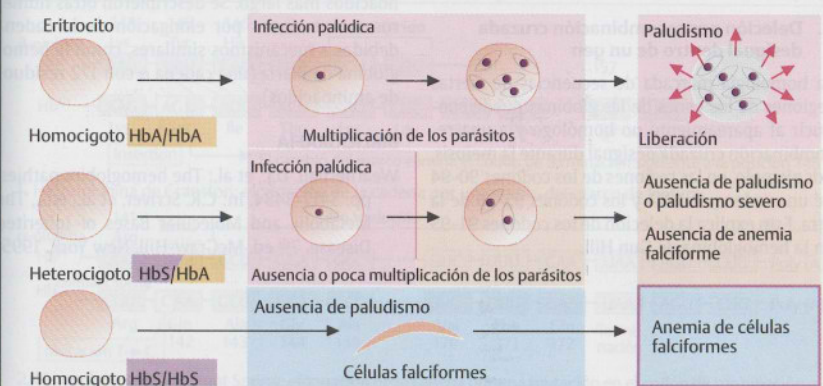


1. Frotis de sangre normal 2. Células falciformes 3. Frotis de sangre durante una crisis falciforme

A. Células falciformes: eritrocitos deformados por la hemoglobina S



B. Consecuencias de la mutación: anemia de células falciformes



C. Ventajas selectivas de los heterocigotos para la HbS en áreas de paludismo

Mutaciones en los genes de la globina

En los genes de la globina se demostraron todos los tipos de mutaciones. Las más frecuentes son las puntuales en un solo codón. Las consecuencias funcionales varían en función de la carga eléctrica y el tamaño del aminoácido sustituido, y su posición en el polipéptido. Si uno de los aminoácidos hidrófilos en la superficie es reemplazado por un aminoácido hidrófobo (p. ej., valina por glutamato en la mutación de las células falciformes), se producirán cambios fisicoquímicos profundos. Las mutaciones pueden disminuir la elasticidad de la molécula, alterar su afinidad por el oxígeno o causar inestabilidad.

A. Mutaciones puntuales en el gen de la β-globina

Se documentaron más de 300 mutaciones puntuales en el gen de la β-globina y más de 100 en uno de los genes de la α-globina. Hay dos mutaciones clínicamente importantes que afectan el codón 6: la mutación de las células falciformes, 6 Glu → Val (hemoglobina de las células falciformes, HbS, que provoca la incorporación de una valina en lugar de un glutamato) y 6 Glu → Lys (hemoglobina C, HbC, que incorpora una lisina en lugar de un glutamato en el codón 6). No son raros los heterocigotos compuestos con la mutación HbS en un cromosoma y la HbC en el otro (HbSC). La formación marcada de metahemoglobina en la Hb de Zürich y la Hb de Saskatoon es consecuencia de la sustitución por una histidina (His) en el codón 63 que altera la región de unión al oxígeno de la molécula de hemoglobina.

B. Delección por recombinación cruzada desigual dentro de un gen

La homología marcada de secuencias de ciertas regiones de los genes de las globinas puede conducir al apareamiento no homólogo y a una recombinación cruzada desigual durante la meiosis, por ejemplo, en las regiones de los codones 90-94 de una cadena de DNA y los codones 95-98 de la otra. Esto explica la delección de los codones 91-95 en la hemoglobina de Gun Hill.

C. Recombinación cruzada desigual entre genes similares

La homología de secuencias de los genes del tipo de las β-globinas (que se explica por su evolución común) puede llevar a la recombinación cruzada desigual entre regiones de los dos genes de γ-globina (γA y γG), el gen de la δ-globina o el gen de la β-globina. El ejemplo mejor conocido es la delección parcial de los loci δ y β (fusión δ-β) en la hemoglobina de Lepore. La correspondiente duplicación de la secuencia δβ resulta en la hemoglobina anti-Lepore.

D. Hemoglobina inestable por elongación de la cadena

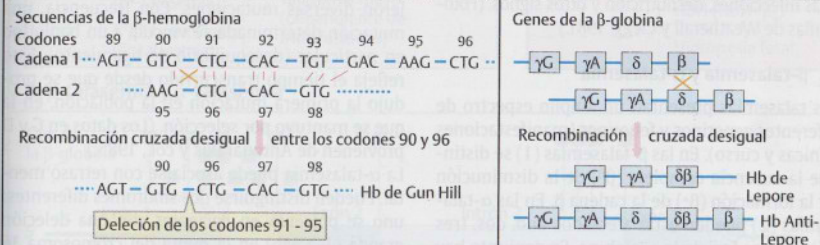
Si una de las dos cadenas de la hemoglobina es demasiado larga, desestabilizará la molécula de hemoglobina tetramérica. La hemoglobina de Cranston (Hb^{Cr}) (1) surge de la inserción de dos nucleótidos (adenina y guanina) en las posiciones 1 y 2 del codón 145 (tirosina) de la cadena β, lo que lleva a un cambio del marco de lectura. Esto cambia al codón de terminación normal UAA por AGU, el codón de RNA para la treonina (Thr). Como resultado, las secuencias que normalmente no se traducen y que siguen al codón de terminación, ahora lo hacen, y se forma un polipéptido que es 11 aminoácidos más largo, y se extiende a la posición 157. En la hemoglobina de Constant Spring (2), la cadena α se alarga por la mutación del codón de terminación UAA a CAA, que codifica para la glutamina (Gln). Las secuencias que suelen seguir al codón de terminación ahora se traducen y se forma un péptido que es 31 aminoácidos más largo. Se describieron otras numerosas mutaciones por elongación de la cadena debidas a mecanismos similares, como la hemoglobina de Ikaria (una cadena α con 172 residuos de aminoácidos).

BIBLIOGRAFÍA

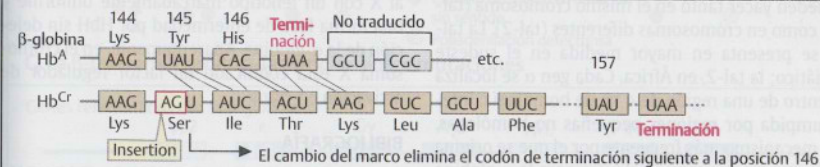
Weatherhall, D.J., et al.: The hemoglobinopathies, pp. 3417-3484, In: C.R. Scriver, et al., eds., The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.

Hemoglobina mutante	Número de codón en el gen de la β-globina								Efectos importantes en los homocigotos	
	6	23	26	63	97	98	121	145		146
HbS	Val									Anemia de células falciformes
HbC	Lys									Anemia hemolítica con fenómenos falciformes Hemoglobina inestable
Hb de Freiburg		Delección								
HbE			Lys							
Hb de Zürich				Arg						Formación de metahemoglobina
Hb de Saskatoon				Tyr						
Hb de Malmö					His					Policitemia
Hb de Köln						Met				Formación de metahemoglobina
HbO (Arabia)							Lys			
Hb de Osler								Asp		

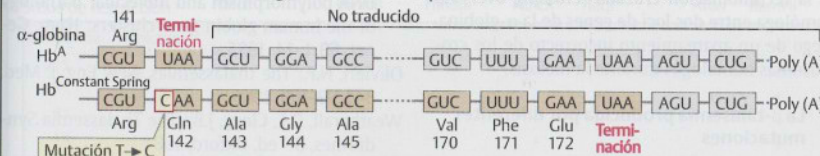
A. Ejemplos de mutaciones puntuales en el gen de la β-globina (10 de 310)



B. Delección por recombinación cruzada desigual dentro de un gen



1. Hemoglobina de Cranston: elongación de la cadena por un cambio del marco de lectura



2. Hemoglobina de Constant Spring: elongación de la cadena por una mutación en el codón de terminación
D. Hemoglobina inestable por elongación de la cadena

Las talasemias

Las talasemias son un grupo heterogéneo de enfermedades causadas por la disminución o la ausencia de formación de una cadena globínica. Las talasemias se producen en mayor medida en la región mediterránea, partes de África y el sudeste asiático (la palabra talasemia deriva del griego *thalassa*, "mar"). En esta región, son una causa significativa de morbilidad y mortalidad, pero son frecuentes porque los heterocigotos están protegidos de la infección severa por paludismo (véase pág. 340).

A. Talasemia, una anemia crónica

Según cuál sea la cadena de globina que no se forma en cantidades adecuadas, se desarrolla α -talasemia, β -talasemia o $\delta\beta$ -talasemia. Esto conduce a anemia crónica que causa las diferentes manifestaciones de la talasemia. El déficit de oxígeno en los tejidos periféricos conduce a un incremento en la formación de sangre extramedular (por fuera de la médula ósea). El cuadro clínico severo se caracteriza por tendencia a las infecciones, desnutrición y otros signos. (Fotografías de Weatherall y Clegg, 1981.)

B. β -talasemia y α -talasemia

Las talasemias presentan un amplio espectro de diferentes genotipos y fenotipos (manifestaciones clínicas y curso). En las β -talasemias (1) se distingue la ausencia completa (β^0) de la disminución de la formación (β^+) de la cadena β . En las α -talasemias (2) pueden estar afectados uno, dos, tres o los cuatro loci de la α -globina. En conjunto hay 12 genotipos principales. En los individuos con dos mutaciones en los loci α (α -talasemia), ambas pueden yacer tanto en el mismo cromosoma (tal-1) como en cromosomas diferentes (tal-2). La tal-1 se presenta en mayor medida en el sudeste asiático; la tal-2, en África. Cada gen α se localiza dentro de una región de 4 kb de homología, interrumpida por regiones pequeñas no homólogas. El mecanismo más frecuente por el que se origina un cromosoma con un solo gen para la α -globina es la recombinación cruzada (*crossing over*) no homóloga entre dos loci de genes de la α -globina, luego de un apareamiento incorrecto de los cromosomas homólogos durante la meiosis.

C. La β -talasemia producida por diferentes mutaciones

Hay muchas mutaciones en la región del gen de la β -globina que pueden llevar a la β -talasemia.

Las mutaciones también pueden presentarse en las secuencias no codificantes (5' con respecto al exón 1 y dentro de los intrones).

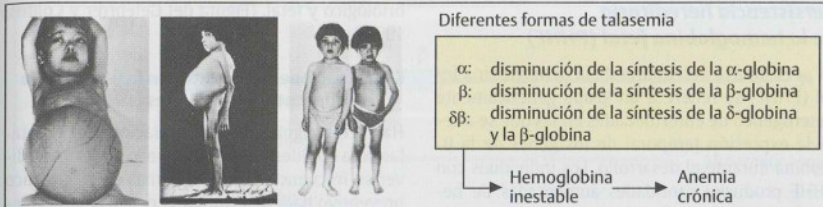
D. Haplotipos consecuencia del polimorfismo de los sitios de restricción en el grupo de genes de la β -globina

Pueden distinguirse diferentes haplotipos en la región de los genes relacionados con la β -globina (grupo de los genes de la β -globina), a partir de la presencia o no de reconocimiento de sitios de un número de enzimas de restricción (PLFR, polimorfismo de longitudes de los fragmentos de restricción o en inglés, *RFLP, restriction fragment length polymorphism*). Cada haplotipo se caracteriza por la presencia o la ausencia de varios sitios de restricción polimorfos. Mediante el establecimiento de los haplotipos de los individuos afectados y no afectados dentro de una familia puede identificarse el haplotipo que transporta la mutación (análisis genotípico indirecto). Durante el desarrollo de diferentes haplotipos se produjeron diversas mutaciones. Con frecuencia, una mutación determinada se vincula a un haplotipo en particular (desequilibrio de ligamiento). Esto refleja el tiempo transcurrido desde que se produjo la primera mutación en la población, en la que se mantuvo por selección. (Los datos en C y D provienen de Antonarakis y col., 1985.)

La α -talasemia puede asociarse con retraso mental. Pueden distinguirse dos síndromes diferentes: uno se presenta en pacientes con una delección grande (1-2 Mb) en la punta del cromosoma 16 que incluye al grupo de los genes de las α -globinas (síndrome ATR-16). El otro es un trastorno ligado al X con un fenotipo marcadamente uniforme y una forma leve de enfermedad por HbH sin delección de la α -globina. Aparentemente, en el cromosoma X está codificado un factor regulador de activación en *trans*.

BIBLIOGRAFÍA

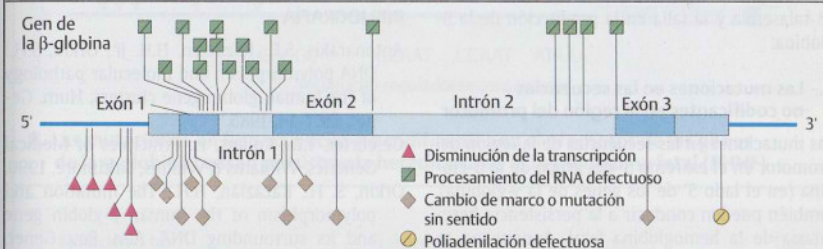
Antonarakis, S. E., Kazazian, H.H. Jr., Orkin, S.H.: DNA polymorphism and molecular pathology of the human globin gene clusters: Hum. Genet, 69:11-14, 1985.
 Olivieri, N.F.: The thalassemsias. New Eng. J. Med. 341:99-109, 1999.
 Weatherall, D.J., Clegg, J.B.: The Thalassemia Syndromes, 3rd ed. Oxford, 1981.
 Weatherall, D.J., Provan, A.B.: Red cells I: inherited anaemias. Lancet 355:1169-1175, 2000.



A. Talasemia, una anemia crónica

1. β -talasemias		2. α -talasemias	
Genotipo	Fenotipo	Genotipo	Fenotipo
β^0 heterocigota	Talasemia menor (asintomática)	$\alpha\alpha$	Normal
β^+ heterocigota		$\alpha-$	"Portador sano" (normal)
β^+ homocigota	Talasemia intermedia (no dependiente de transfusiones)	$\alpha\alpha$	Talasemia
β^0 heterocigota		Tal-1	
β^0 homocigota (β^0 -talasemia)	Talasemia mayor (dependiente de transfusiones)	Tal-2	Enfermedad por HbH (HbH= β_4)
β^+/β^0 homocigota (β^+ -talasemia)		$\alpha-$	
		$\alpha-$	Hidropesía fetal

B. β -talasemia y α -talasemia



C. La β -talasemia producida por diferentes mutaciones

Genes relacionados con la β -globina: $\psi\beta 2$, ϵ , γ , δ , β

Sitios de restricción: HincII, HindIII, HincI, TaqI, AvasI, BamHI

Frecuencia	Haplotipo	HincII	HindIII	HincI	TaqI	AvasI	BamHI
47%	A	+	-	-	-	+	+
17%	B	-	+	+	-	+	+
8%	C	-	+	-	+	+	-
1%	D	-	+	+	+	-	+
12%	E	+	-	-	-	+	-

D. Haplotipos consecuencia del polimorfismo de los sitios de restricción en el grupo de genes de la β -globina

Persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (PHHF)

La persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (PHHF) se refiere a un grupo genéticamente heterogéneo de enfermedades en las que se alteró la expresión temporal de los genes de la β -globina durante el desarrollo. Los individuos con PHHF producen cantidades aumentadas de hemoglobina fetal (HbF). Bajo ciertas condiciones, la HbF puede ser el único producto formado de tipo de la β -globina. Desde el punto de vista clínico, la PHHF es relativamente benigna, aunque la HbF no esté adaptada en forma óptima a las condiciones posnatales. El análisis de la PHHF dio lugar al estudio del control de la transcripción del gen de la globina y los efectos de las mutaciones en secuencias no codificantes.

A. Deleciones grandes en el grupo de la β -globina

Se conoce un número de deleciones muy grandes en la región del grupo de genes de la β -globina, en especial en la dirección 3'. Las deleciones muestran diferentes distribuciones en diversas poblaciones étnicas, lo que refleja el origen en distintos momentos. En algunos casos, el resultado fue la $\delta\beta$ -talasemia y la falla en la producción de la β -globina.

B. Las mutaciones en las secuencias no codificantes en la región del promotor

Las mutaciones en las secuencias de la región del promotor en el extremo 5' del grupo de la β -globina (en el lado 5' de los genes de la γ -globina), también pueden conducir a la persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal. Aunque no se vean afectadas las secuencias altamente conservadas CACCC, CCAAT o ATAAA, el número de las mutaciones observadas sustenta la importancia del resto de las secuencias no codificantes (control de la transcripción de rango largo). Es probable que ellas sean necesarias para los cambios en el control de la transcripción de diferentes loci génicos que se presentan durante el desarrollo em-

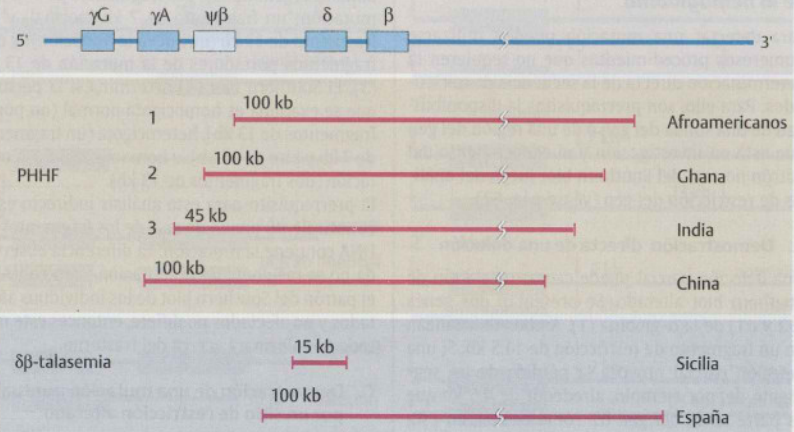
briológico y fetal. (Figura del Gelehrter y Collins, 1990.)

C. Mutaciones frecuentes en la β -talasemia de diferentes poblaciones

Hay heterocigotos para las mutaciones de la β -talasemia en diferentes poblaciones étnicas con diversas frecuencias. Los programas de diagnóstico preventivo para determinar el riesgo de enfermedad son posibles gracias a que son pocas las mutaciones medianamente frecuentes en ciertas poblaciones. (Datos de Antonarakis y col., 1985.) De acuerdo con las estimaciones de la WHO (*Bull World Health Org.*, 1983), alrededor de 275 millones de personas de todo el mundo son heterocigotos para las enfermedades de la hemoglobina. Los números más destacados se deben a la β -talasemia en Asia (por arriba de los 60 millones), la α^0 -talasemia en Asia (30 millones), la HbE/ β -talasemia en Asia (84 millones), y la heterocigosidad para las células falciformes en África (50 millones), India, el Caribe y los Estados Unidos (alrededor de 50 millones). Por año nacen al menos 200.000 homocigotos con afección severa; alrededor de un 50% padece anemia de células falciformes y un 50%, talasemia (Weatherall, 1991).

BIBLIOGRAFÍA

- Antonarakis, S.E., Kazazian, H.H. Jr., Orkin, S.H.: DNA polymorphism and molecular pathology of the human globin gene clusters. *Hum. Genet.* 69:1-14, 1985.
- Gelehrter, T.D., Collins, F.: Principles of Medical Genetics. Williams & Wilkins, Baltimore, 1990.
- Orkin, S. H., Kazazian, H.H.: The mutation and polymorphism of the human β -globin gene and its surrounding DNA. *Ann. Rev. Genet.* 8:131-171, 1984.
- Stamatoyannopoulos, G., et al., eds.: The Molecular Basis of Blood Diseases. W.B. Saunders, Philadelphia, 1987.
- Weatherall, D.J., et al.: The hemoglobinopathies, pp. 3417-3484. In: C.R. Scriver, et al., eds., The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.



A. Deleciones grandes en el grupo de la β -globina



B. Las mutaciones en las secuencias no codificantes en el promotor de los genes de la β -globina causan persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (PHHF)

Mutación β -tal	Frecuencia	Grupo étnico	Tipo
Intrón 1 (110 G \rightarrow A)	35%	Mediterráneo	β^+
Codón 39 (C \rightarrow T)	27%	Mediterráneo	β^+
Caja - TATA (-29 A \rightarrow G)	39%	Afroamericanos	β^+
Polí A (T \rightarrow C)	26%	Afroamericanos	β^+
Intrón 1 (5 G \rightarrow C)	36%	Indio	β^+
Deleción parcial (619 nt)	36%	Indio	β^0
Corrimiento de los codones 71-72	49%	Chino	β^0
Intrón 2 (654 C \rightarrow T)	38%	Chino	β^0

C. Mutaciones frecuentes en la β -talasemia de diferentes poblaciones

Análisis del DNA en los trastornos de la hemoglobina

Para detectar una mutación pueden utilizarse numerosos procedimientos que no requieren la determinación directa de la secuencia de nucleótidos. Para ello, son prerequisites la disponibilidad de una sonda del gen o de una región del gen que está en investigación y el conocimiento del patrón normal del Southern blot luego del análisis de restricción del gen (véase pág. 62).

A. Demostración directa de una delección

Una delección parcial puede causar un patrón de Southern blot alterado. Se presentan dos genes ($\alpha 2$ y $\alpha 1$) de la α -globina (1). Ambos se localizan en un fragmento de restricción de 14,5 kb. Si una delección parcial provoca la pérdida de un segmento de, por ejemplo, alrededor de 4,5 kb que es parte tanto del gen $\alpha 2$ como del $\alpha 1$, en esta área aparecerá un fragmento de 10 kb en lugar de 14,5 kb (2). Hay tres genotipos posibles (3): dos genes normales, $\alpha 2$ y $\alpha 1$, representados por un fragmento de 14,5 kb; un segmento de DNA normal (14,5 kb) y uno con la delección (10 kb); o una delección en ambos segmentos génicos (sólo uno de 10 kb). Esto puede demostrarse directamente en un patrón de Southern blot con una sonda para el gen $\alpha 1$ (4).

B. Evidencia indirecta de una mutación mediante análisis por PLFR

Una mutación puede detectarse de manera indirecta si hay una diferencia individual (polimorfismo) en las secuencias nucleotídicas de los segmentos del gen mutante y el normal (polimorfismo de longitudes de fragmentos de restricción, PLFR, o en inglés, *RFLP*, *restriction fragment length polymorphism*, véase pág. 64). Por ejemplo, si dos de los mismos segmentos de DNA difieren en un polimorfismo para la secuencia de reconocimiento de una enzima de restricción, entonces aparecen fragmentos de DNA de diversos tamaños luego del corte con esa enzima (aquí, tanto 7 kb y 6 kb, como 13 kb) (1). Si la mutación se produjo dentro del fragmento de 13 kb, entonces este fragmento indica presencia de la mutación. En el

segmento de DNA que se presenta, hay tres posibilidades (genotipos): dos fragmentos de 7 kb sin mutación; un fragmento de 7 kb (normal) y un fragmento de 13 kb (que lleva la mutación); y dos fragmentos portadores de la mutación de 13 kb (3). El Southern blot (4) determina si la persona que se examina es homocigota normal (no posee fragmentos de 13 kb), heterocigota (un fragmento de 7 kb y otro de 13 kb), u homocigota para la mutación (dos fragmentos de 13 kb).

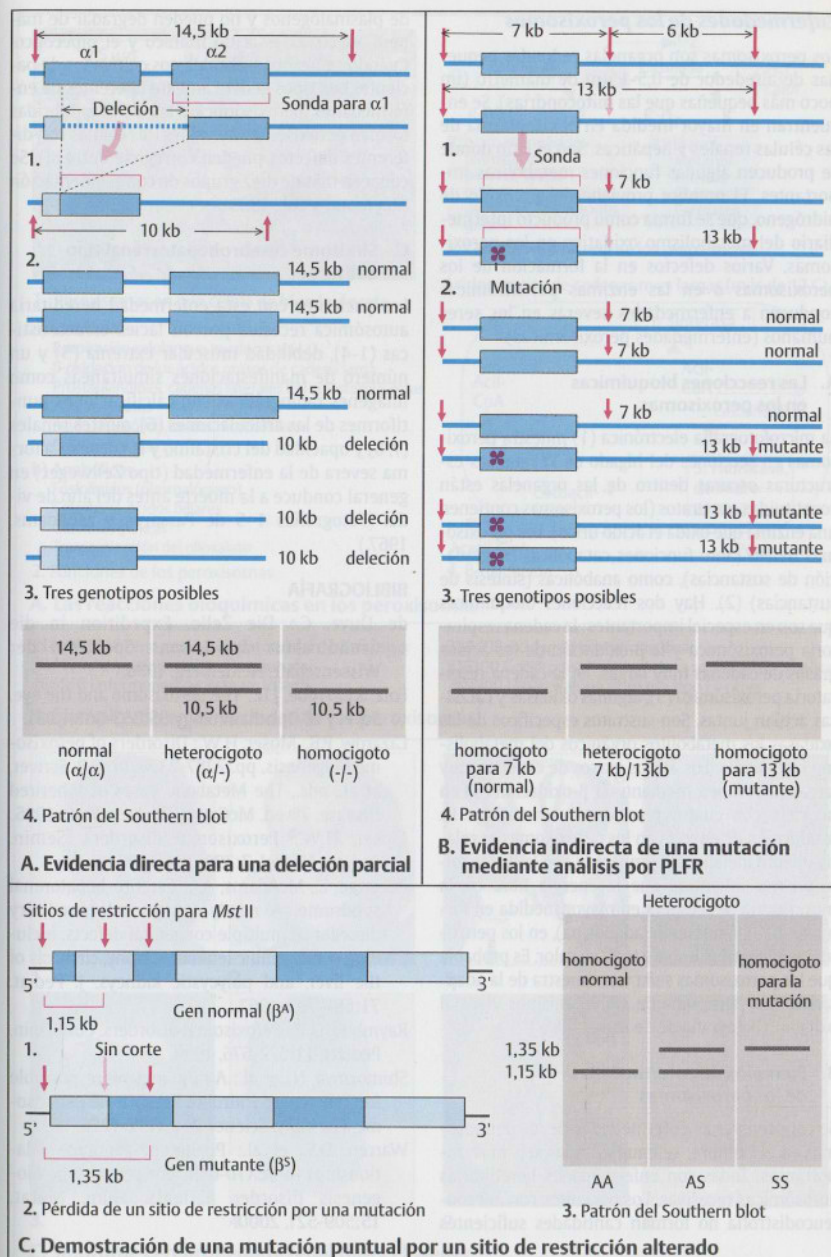
El prerequisite para este análisis indirecto es el conocimiento previo de cuál de los fragmentos de DNA contiene la mutación. La diferencia observada no es resultado de la mutación, como en A. Si el patrón del Southern blot de los individuos afectados y no afectados no difiere, entonces este método no informará acerca del trastorno.

C. Demostración de una mutación puntual por un sitio de restricción alterado

Un sitio de restricción puede alterarse por una mutación. Por ejemplo, una mutación de las células falciformes en el codón 6 del gen β de la globina (véase pág. 340) (1) causa la pérdida del sitio de restricción para la enzima *MstII* (CCTNAGG en lugar de CCTN TGG), porque la A (adenina) fue reemplazada por una T (timina) (2). El alelo normal (β^A) en esta área produce un fragmento de 1,15 kb luego de la digestión con *MstII*, mientras que la mutación elimina el sitio de restricción en el medio, de modo que aparece un fragmento de 1,35 kb. El fragmento de 1,35 kb en el Southern blot indica (3) la presencia de la mutación de las células falciformes (β^S). Entonces, los individuos homocigotos normales (AA), heterocigotos normales (AS) y homocigotos para la mutación de las células falciformes (SS) pueden distinguirse con claridad; cada uno de los tres genotipos puede diagnosticarse en forma precisa. Cada vez más, el análisis por PLFR está siendo reemplazado por el análisis de repeticiones de DNA polimorfos pequeños (microsatélites, véase pág. 72).

BIBLIOGRAFÍA

Housman, D.: Human DNA polymorphism. *N. Eng. J. Med.* 332:318-320, 1995.



Enfermedades de los peroxisomas

Los peroxisomas son organelas redondas pequeñas de alrededor de 0,5-1 µm de diámetro (un poco más pequeñas que las mitocondrias). Se encuentran en mayor medida en el citoplasma de las células renales y hepáticas. Son el sitio donde se producen algunas funciones metabólicas importantes. El nombre proviene del peróxido de hidrógeno, que se forma como producto intermedio del metabolismo oxidativo en los peroxisomas. Varios defectos en la formación de los peroxisomas o en las enzimas peroxisómicas conducen a enfermedades severas en los seres humanos (enfermedades peroxisómicas).

A. Las reacciones bioquímicas en los peroxisomas

La microfotografía electrónica (1) muestra peroxisomas en secciones del hígado de la rata. Las estructuras oscuras dentro de las organelas están constituidas por uratos (los peroxisomas contienen una enzima que oxida el ácido úrico). Los peroxisomas tienen tanto funciones catabólicas (degradación de sustancias), como anabólicas (síntesis de sustancias) (2). Hay dos reacciones bioquímicas que son en especial importantes: la cadena respiratoria peroxisómica y la β-oxidación de los ácidos grasos de cadenas muy largas. En la cadena respiratoria peroxisómica (3), algunas oxidasas y catalasas actúan juntas. Son sustratos específicos de las oxidasas los metabolitos orgánicos del metabolismo intermedio. Los ácidos grasos de cadenas muy largas se rompen mediante la β-oxidación (4) en un ciclo con cuatro reacciones enzimáticas. La producción de energía en los peroxisomas es relativamente ineficiente comparada con la de las mitocondrias. Mientras que la energía libre en la mitocondria se preserva en mayor medida en forma de ATP (trifosfato de adenosina), en los peroxisomas se convierte sobre todo en calor. Es probable que los peroxisomas sean una muestra de la adaptación muy temprana de los organismos vivos al oxígeno. (Fotografía de de Duve, 1986.)

B. Ejemplos de enfermedades de los peroxisomas

Se conocen varias enfermedades de los peroxisomas en el hombre; se enumeran las seis más importantes. Todas son enfermedades hereditarias autosómicas recesivas. Los pacientes con adrenoleucodistrofia no forman cantidades suficientes

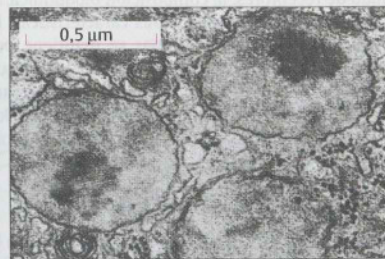
de plasmalógenos y no pueden degradar de manera adecuada el ácido fitánico y el piceólico. Cuando se fusionan fibroblastos cultivados de pacientes con tipos genéticamente diferentes de enfermedades peroxisómicas, las células híbridas forman peroxisomas normales (las células con diferentes defectos pueden corregirse entre sí). Se conocen más de diez grupos de complementación (Raymond y col., 1999).

C. Síndrome cerebrohepatorrenal tipo Zellweger

Los pacientes con esta enfermedad hereditaria autosómica recesiva poseen facies características (1-4), debilidad muscular extrema (5) y un número de manifestaciones simultáneas como imágenes radiográficas con calcificaciones puntiformes de las articulaciones (6), quistes renales (7, 8) y opacidad del cristalino y la córnea. La forma severa de la enfermedad (tipo Zellweger) en general conduce a la muerte antes del año de vida. (Fotografías 1-5 de Passarge y McAdams, 1967.)

BIBLIOGRAFÍA

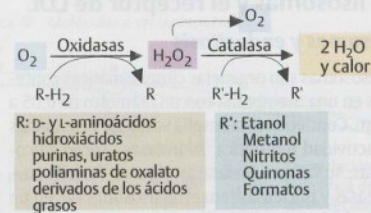
de Duve, C.: Die Zelle. Expedition in die Grundstruktur des Lebens. Spektrum der Wissenschaft. Heidelberg, 1986.
 Folz, S.J., Trobe, J.D.: The peroxisome and the eye. Survey of Ophthalmology 35:353-368, 1991.
 Lazarow, P.B., Moser, H.W.: Disorders of peroxisome biogenesis, pp. 2287-2324, In: C.R. Scriver, et al., eds., The Metabolic Bases of Inherited Disease. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
 Moser, H.W.: Peroxisomal disorders. Semin. Pediatr. Neurol. 3:298-304, 1996.
 Passarge, E., McAdams, A.J.: Cerebro-hepatorrenal syndrome. A newly recognized hereditary disorder of multiple congenital defects, including sudanophilic leukodystrophy, cirrhosis of the liver, and polycystic kidneys. J. Pediatr. 71:691-702, 1967.
 Raymond, G.V.: Peroxisomal disorders. Curr. Opin. Pediatr. 11:572-576, 1999.
 Shimozawa, N., et al.: A human gene responsible for Zellweger syndrome that affects peroxisome assembly. Science 255:1132-1255, 1992.
 Warren, D.S., et al.: Phenotype-genotype relationships in PEX10-deficient peroxisome biogenesis disorder patients. Hum. Mutat. 15:509-521, 2000.



1. Peroxisomas en una célula de hígado de rata

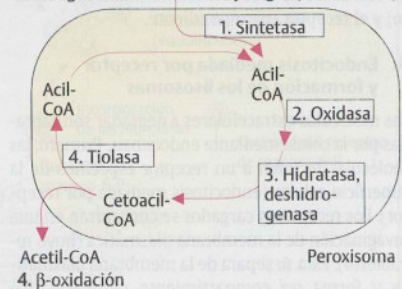
- a) Catabólicas
 - Respiración celular que involucra al H₂O₂
 - β-oxidación de los ácidos grasos de cadena larga
 - Prostaglandinas, cadenas laterales del colesterol y otras
 - Purinas, uratos
 - Ácido piceólico, ácidos dicarboxílicos
 - Etanol, metanol
- b) Anabólicas
 - Fosfolípidos (plasmalógeno)
 - Colesterol, ácidos biliares
 - Gluconeogénesis
 - Transaminación del glioxalato

2. Funciones de los peroxisomas



3. Cadena respiratoria de los peroxisomas

Ácidos grasos de cadenas muy largas (más de 12 C)



A. Las reacciones bioquímicas en los peroxisomas

- 214100 Síndrome cerebrohepatorrenal de Zellweger
- 202370 Adrenoleucodistrofia neonatal
- 266510 Enfermedad de Refsum infantil
- 239400 Acidemia hiperpiceólica
- 215100 Condrosplasia punctata variedad rizomélica
- 259900 Hiperoxaluria primaria tipo I y otras

B. Ejemplos de enfermedades de los peroxisomas



C. Síndrome cerebrohepatorrenal tipo Zellweger

Los lisosomas y el receptor de LDL

Lisosomas y endocitosis

Los lisosomas son organelas citoplasmáticas contenidas en una membrana con un diámetro de 0,05 a 0,5 µm. Contienen una amplia variedad de enzimas con actividad hidrolítica (hidrolasas), como glucosidasas, sulfatasas, fosfatasa, lipasas, fosfolipasas, proteasas y nucleasas (enzimas lisosómicas), en un medio ácido (un pH de alrededor de 5). Las enzimas lisosómicas entran en el lisosoma por medio de una señal de reconocimiento (manosa-6-fosfato) y el receptor correspondiente.

A. Endocitosis mediada por receptor y formación de los lisosomas

Las moléculas extracelulares a degradar son captadas por la célula mediante endocitosis. Primero, las moléculas se unen a un receptor específico de la superficie celular (endocitosis mediada por receptor). Los receptores cargados se concentran en una invaginación de la membrana plasmática (hoyo recubierto). Ésta se separa de la membrana plasmática y forma un compartimiento citoplasmático incluido en una membrana (vesícula recubierta). Las hormonas, los factores de crecimiento, las proteínas dadoras de energía y numerosos virus y toxinas también entran en las células por endocitosis mediada por receptor (véase pág. 360). El contorno citoplasmático de la vesícula está constituido por una red de una proteína trimérica, la clatrina. La cubierta de clatrina se pierde rápidamente dentro de la célula y se forma un endosoma, que se fusiona con las vesículas del aparato de Golgi para formar compartimientos endosómicos más grandes. Aquí los receptores son separados de los ligandos y devueltos a la superficie de las membranas vesiculares (reciclaje de los receptores). Algunas partes de las membranas también se reutilizan. Ahora los ligandos se encuentran dentro de un cuerpo multivesicular (endolisosomas). Las hidrolasas (enzimas lisosómicas) son transportadas desde el aparato de Golgi a un endolisosoma en vesículas envueltas por clatrina después de ser equipadas con una señal de reconocimiento (el receptor de manosa-6-fosfato), necesaria para la entrada en el endolisosoma y para el funcionamiento normal del lisosoma. Existen diferentes clases de endolisosomas, definidos de acuerdo con su acidez relativa, el conte-

nido de receptores, la composición bioquímica, la apariencia morfológica y otras características. El medio ácido en los lisosomas se mantiene por una bomba de hidrógeno en la membrana, la que hidroliza ATP y utiliza la energía producida para mover iones H⁺ hacia el lisosoma. Algunos de los receptores de la manosa-6-fosfato son transportados de vuelta hacia el aparato de Golgi.

B. Receptores de manosa-6-fosfato

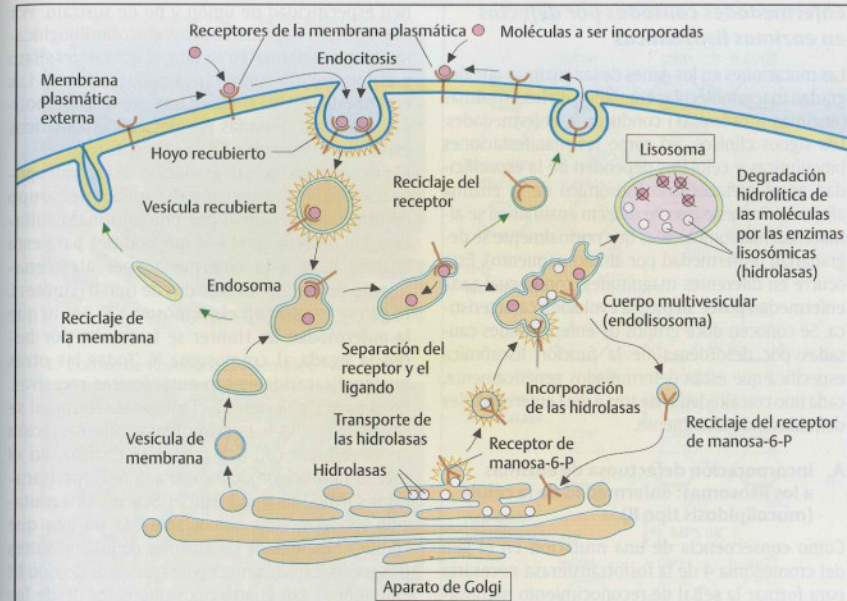
Existen dos tipos de moléculas receptoras para la manosa-6-fosfato, que difieren en sus propiedades de unión y su dependencia de cationes. Ellas están constituidas por 2 o 16 dominios extracelulares con diferentes números de aminoácidos. El cDNA del RMF-iC (receptor de la manosa-6-fosfato independiente de cationes) es idéntico al factor de crecimiento insulinosimil (en inglés, *insulinlike growth factor II* o IGF-2). Por eso, el RMF-iC es una proteína de unión multifuncional.

C. Biosíntesis de la señal de reconocimiento

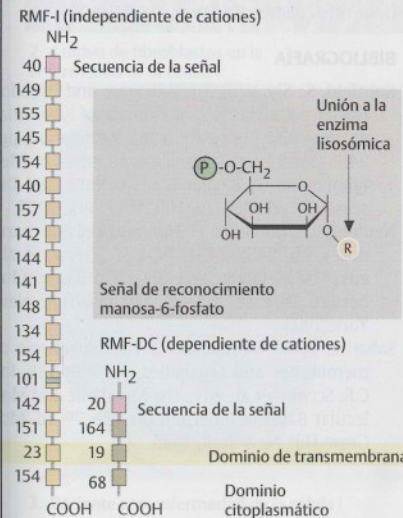
Hay dos enzimas esenciales para la formación de las señales de reconocimiento manosa-6-fosfato: una transferasa de fosfatos y una fosfoglicosidasa. El fosfato es aportado por la uridina-difosfato-N-acetilglucosamina (UDP-GlcNac) (uridina-5'-difosfato-N-acetilglucosamina-glucoproteína-N-acetilglucosaminil-fosfotransferasa). Una segunda enzima (N-acetilglucosamina 1 fosfodiestérase/N-acetilglucosaminidasa) escinde la N-acetilglucosamina, lo que libera el residuo de fosfato en la posición 6 de la manosa. (Figuras de Sabatini y Adesnik, 1995, y C. de Duve, 1986; los tamaños relativos de las estructuras individuales no están en escala.)

BIBLIOGRAFÍA

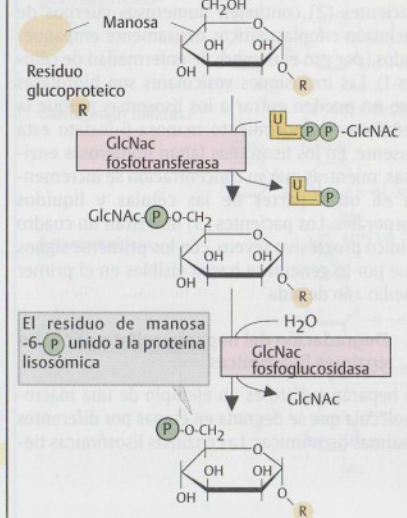
- de Duve, C.: A Guided Tour of the Living Cell, Vol. I and II. Scientific American Books, Inc., New York, 1984.
- Gilbert-Barnes, E., Barness, L.: Metabolic Diseases. Foundations of Clinical Management. Genetics and Pathology. Vol. 1 + II. Eaton Publishing, Natick, MA, 2000.
- Sabatini, D.D., Adesnik, M.B.: The biogenesis of membranes and organelles. pp. 459-553. In: C.R. Scriver, et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed, McGraw-Hill, New York, 1995.



A. Endocitosis mediada por receptor y formación de los lisosomas



B. Receptores de manosa-6-fosfato (RMF)



C. Biosíntesis de la señal de reconocimiento, manosa-6-fosfato

Enfermedades causadas por defectos en enzimas lisosómicas

Las mutaciones en los genes de las enzimas que degradan macromoléculas complejas en los lisosomas (enzimas lisosómicas) conducen a enfermedades. Los signos clínicos, así como las manifestaciones bioquímicas y celulares dependen de la especificidad en el metabolismo lisosómico de la enzima afectada. Con este tipo de defecto enzimático se almacenan macromoléculas que normalmente se degradarían (enfermedad por almacenamiento). Esto ocurre en diferentes magnitudes, con lo cual cada enfermedad posee su propia evolución característica. Se conocen doce grupos de enfermedades causadas por desórdenes de la función lisosómica específica que están determinados genéticamente, cada uno con alrededor de tres a diez enfermedades definidas individualmente.

A. Incorporación defectuosa de enzimas a los lisosomas: enfermedad de la célula (mucopolidosis tipo II)

Como consecuencia de una mutación en el gen del cromosoma 4 de la fosfotransferasa necesaria para formar la señal de reconocimiento manosa-6-fosfato (véase pág. 352), las hidrolasas no pueden incorporarse al lisosoma. A diferencia de los cultivos de fibroblastos normales (1), los de los pacientes (2) contienen numerosos cuerpos de inclusión citoplasmáticos densamente empaquetados (por eso el nombre de enfermedad de células I). Las inclusiones vesiculares son hidrolasas que no pueden entrar a los lisosomas porque la señal de reconocimiento manosa-6-fosfato está ausente. En los lisosomas faltan numerosas enzimas, mientras que su concentración se incrementa en otras partes de las células y líquidos corporales. Los pacientes (3) muestran un cuadro clínico progresivo severo, con los primeros signos que por lo general se hacen visibles en el primer medio año de vida.

B. Degradación del heparán sulfato por ocho enzimas lisosómicas

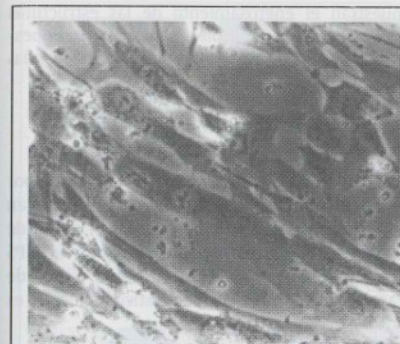
El heparán sulfato es un ejemplo de una macromolécula que se degrada en etapas por diferentes enzimas lisosómicas. Las enzimas lisosómicas tie-

nen especificidad de unión y no de sustrato. Por eso, también degradan a otros glucosaminoglucanos como el dermatán sulfato, el queratán sulfato y el condroitín sulfato (mucopolisacáridos). Las enfermedades por almacenamiento de mucopolisacáridos son causadas por defectos enzimáticos específicos (véase la página siguiente).

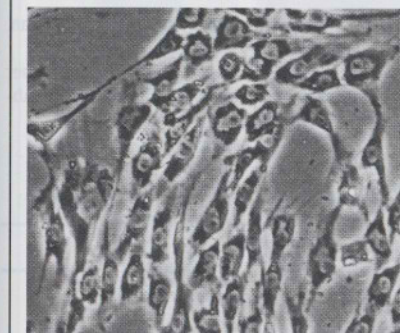
El primer paso en la degradación de los mucopolisacáridos es la remoción del sulfato del grupo de iduronato terminal por una iduronato sulfatasa. Un defecto en el gen que codifica para esta enzima lleva a la enfermedad por almacenamiento de mucopolisacáridos de tipo II (Hunter). El gen se localiza en el cromosoma X, por lo que la enfermedad de Hunter se transmite por herencia ligada al cromosoma X. Todas las otras mucopolisacaridosis son autosómicas recesivas. En el paso siguiente (2), el iduronato terminal se separa por una α -L-iduronidasa. Una mutación en el gen que codifica para esta enzima, en el estado homocigoto, conduce a la mucopolisacaridosis (MPS) de tipo I (Hurler/Scheie). Una mutación (en el estado homocigoto) de un gen que codifica para una de las enzimas de los siguientes tres pasos, causa la mucopolisacaridosis de tipo III (Sanfilippo). Los cuatro tipos diferentes desde los puntos de vista genético y enzimático (III-A a III-D) no pueden distinguirse en la clínica. La MPS tipo VII (Sly), debida al defecto de la β -glucuronidasa, tiene otro cuadro clínico característico.

BIBLIOGRAFÍA

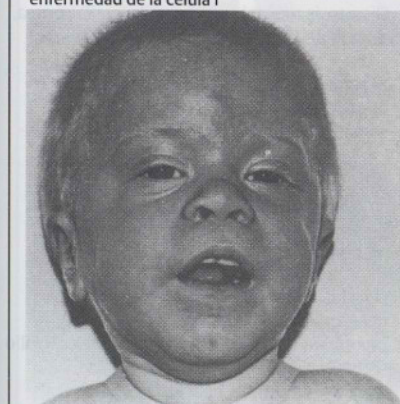
- Kornfeld, S., Sly, W.S.: I-cell disease and Pseudo-Hurler polydystrophy: Disorders of lysosomal enzyme phosphorylation and localization, pp. 2495-2508. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
- Neufeld, E.F., Muenzer, J.: The mucopolysaccharidoses, pp. 2465-2494. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
- Sabatini, D.D., Adesnik, M.B.: The biogenesis of membranes and organelles, pp. 459-553. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.



1. Cultivo de fibroblastos normales

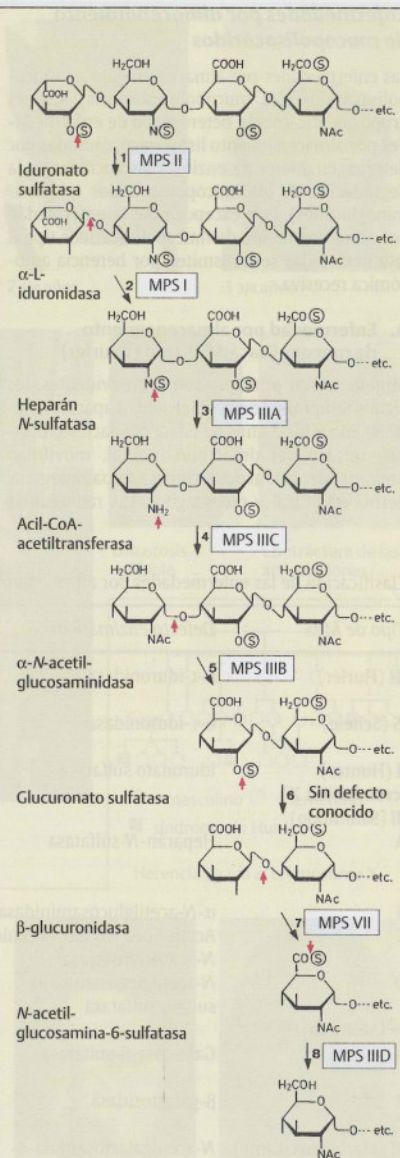


2. Cultivo de fibroblastos en la enfermedad de la célula I



3. Paciente con enfermedad de la célula I

A. Incorporación defectuosa de enzimas a los lisosomas: enfermedad de la célula I



B. Degradación del heparán sulfato por ocho enzimas lisosómicas

Enfermedades por almacenamiento de mucopolisacáridos

Las enfermedades por almacenamiento de mucopolisacáridos (las mucopolisacaridosis) son un grupo genéticamente heterogéneo de enfermedades por almacenamiento lisosómico, causadas por defectos en diferentes enzimas involucradas en la degradación de los mucopolisacáridos (glucosaminoglucanos). Con excepción de la enfermedad por almacenamiento de mucopolisacáridos tipo II (Hunter), todas se transmiten por herencia autosómica recesiva.

A. Enfermedad por almacenamiento de mucopolisacáridos tipo I (Hurler)

Aunque en un principio son poco evidentes, los signos tempranos de la enfermedad aparecen entre el año y los 2 años de edad, con facies grotescas, retraso del desarrollo mental, movilidad limitada de las articulaciones, hepatomegalia, hernia umbilical y otros signos. Las radiografías

muestran el engrosamiento de las estructuras óseas (disostosis múltiple). Las fotografías muestran al mismo paciente en diferentes edades (datos propios).

B. Enfermedad por almacenamiento de mucopolisacáridos tipo II (Hunter)

Este tipo de mucopolisacaridosis se transmite por herencia ligada al cromosoma X. Se muestran cuatro primos de un pedigrí. Desde el punto de vista clínico la enfermedad es similar a la MPS tipo I pero con progresión más lenta. (Fotos de Passarge y col., 1974.) El diagnóstico molecular es posible en la mayoría de los casos.

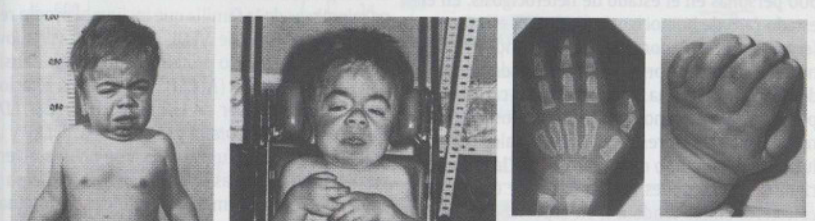
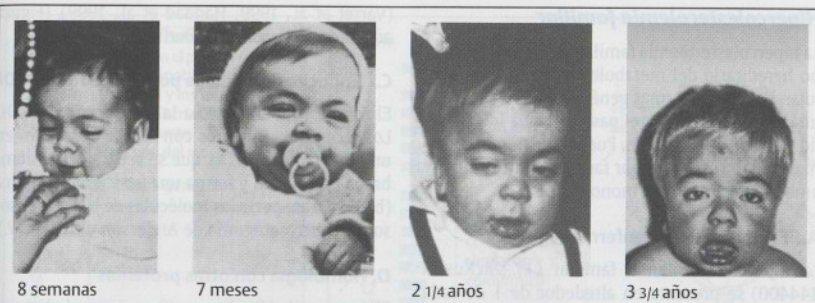
BIBLIOGRAFÍA

McKusick, V.A. Mendelian Inheritance in Man. 12th ed. 1998.
 Passarge, E., et al.: Krankheiten infolge genetischer Defekte im lysosomalen Mucopolysaccharid-Abbau. Dtsch Med Wschr. 99:144-158, 1974.

Clasificación de las enfermedades por almacenamiento de mucopolisacáridos (MPS)

Tipo de MPS	Defecto enzimático	Manifestaciones importantes
IH (Hurler)	α -L-iduronidasa	Disostosis múltiple, trastorno severo del desarrollo, opacidad de la córnea
IS (Scheie)	α -L-iduronidasa	Rigidez de las articulaciones, opacidad de la córnea, desarrollo mental normal
II (Hunter) (cromosoma X)	Iduronato sulfatasa	Disostosis múltiple, sin opacidad de la córnea, retraso del desarrollo
III (Sanfilippo)	Heparán-N-sulfatasa	El retraso psicomotriz severo comienza aproximadamente a los 6-8 años, signos somáticos relativamente leves
A	α -N-acetilglucosaminidasa	
B	Acetil-CoA: α -glucosaminido N-acetiltransferasa	
C	N-acetilglucosamina-6-sulfato sulfatasa	
IV (Morquio)	Galactosa-6-sulfatasa	Opacidad de la córnea, cambios severos del esqueleto, estatura baja, hipoplasia de la apófisis odontoidea, desarrollo mental normal
A	β -galactosidasa	
B		
VI (Maroteaux-Lamy)	N-acetilgalactosamina-4-sulfatasa (aril-sulfatasa B)	Disostosis múltiple, opacidad de la córnea, desarrollo mental normal
VII (Sly)	β -glucuronidasa	Disostosis múltiple, opacidad de la córnea

(De McKusick, 1998).

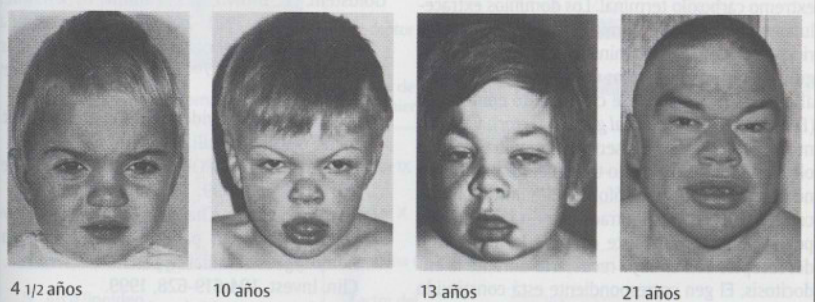


5 años 8 años

A. Enfermedad por almacenamiento de mucopolisacáridos tipo I (Hurler)

□ = masculino ○ = femenino
 ■ = síndrome de Hunter

Herencia ligada al cromosoma X



B. Enfermedad por almacenamiento de mucopolisacáridos tipo II (Hunter)

Hipercolesterolemia familiar

La hipercolesterolemia familiar (HF) es un trastorno hereditario del metabolismo lipídico intracelular. Hay varias formas genéticas diferentes, cada una se caracteriza por el paso de la vía involucrada y el tipo de mutación. Pueden distinguirse formas mixtas, causadas por factores multigénicos y ambientales, y formas monogénicas.

A. El fenotipo de la enfermedad

La hipercolesterolemia familiar (1) (McKusick 144400) se presenta en alrededor de 1 de cada 500 personas en el estado de heterocigosis. En el estado raro de homocigosis (1 en 10⁶) es una enfermedad devastadora que suele conducir a la muerte durante la primera o la segunda décadas de la vida. La forma heterocigota se caracteriza por signos tempranos de aterosclerosis (2). El número de receptores de LDL funcionales por célula está disminuido en un 50% (3). En los heterocigotos, son comunes los depósitos de ésteres de colesterol en los tendones, en especial en el tendón de Aquiles, y la piel (xantomas) (4). Un signo característico es el depósito de lípidos en el ojo sobre el iris (arcos seniles, 5).

B. Receptor de LDL

El receptor de LDL es el receptor de superficie celular para la lipoproteína de baja densidad (LDL, del inglés *low-density lipoprotein*), que contiene apoB-100, la proteína que transporta la mayoría de los ésteres de colesterol en el plasma del ser humano. Este receptor media la endocitosis del ligando extracelular. El receptor de LDL es una proteína anclada a la membrana de 839 aminoácidos con cinco dominios: tres dominios extracelulares, un dominio transmembrana y uno intracelular con el extremo carboxilo terminal. Los dominios extracelulares presentan un dominio con siete unidades ricas en cisteína de 40 aminoácidos cada una, la región de unión al ligando; un dominio homólogo al precursor del factor de crecimiento epidérmico (EGF, del inglés *epidermal growth factor*); y un dominio pequeño rico en serina y treonina unido a oligosacáridos. El dominio transmembrana contiene 22 aminoácidos hidrófobos. El quinto dominio con el COOH terminal intracelular está constituido por 50 aminoácidos. Éste controla la interacción del receptor con el hoyo recubierto durante la endocitosis. El gen correspondiente está constituido por 18 exones que abarcan 45 kb del DNA genómico en el cromosoma humano 19p13.1-13.3. Además del locus principal en 19p, hay dos loci adicionales para la hipercolesterolemia autosómica dominante

(Varret et al., 1999; Haddad et al., 1999). (Figura adaptada de H. Schuster, Berlín).

C. Endocitosis mediada por el receptor de LDL

El receptor de LDL media la endocitosis del LDL. Los receptores cargados con LDL se acumulan en un hoyo recubierto (a), que se separa de la membrana plasmática y forma una vesícula endocítica (b). Ésta transporta las moléculas de LDL a un lisosoma. (Microfotografía de Anderson y col., 1977.)

D. Homología con otras proteínas

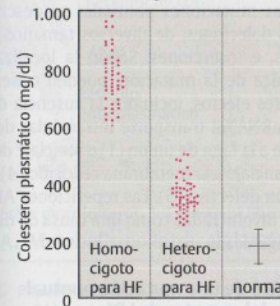
El receptor de LDL de mamífero es uno de los cinco miembros de la familia que incluye al propio receptor de LDL, al de VLDL (del inglés *very low density lipoprotein*, o proteína de muy baja densidad), al de la ApoE 2 (ApoE2), la proteína relacionada con el receptor de LDL (LRP, del inglés *LDL receptor-related protein*) y la megalina. El LRP y la megalina son multifuncionales y se unen a diversos ligandos como las lipoproteínas, la proteasa y sus inhibidores, hormonas peptídicas y proteínas transportadoras de vitaminas (Krieger y Herz, 1994). Las mitades proximales de los dominios extracelulares de la familia del receptor de LDL se relacionan en cuanto a su estructura con la familia del factor de crecimiento epidérmico (EGF). Se relacionan con la proteasa del sistema de coagulación sanguíneo, los factores IX y X, la proteína C y el factor del complemento C9.

BIBLIOGRAFÍA

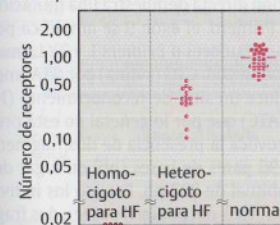
- Anderson, R.G.W., Brown, M.S., Goldstein, J.L.: *Cell*. 10:351, 1977.
- Brown, M.S., Goldstein, J.L.: A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 232:34-47, 1986.
- Goldstein, J.L., Brown, M.S.: *Familial hypercholesterolemia*. pp. 1981-2030. In: CR. Scriver et al. eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
- Haddad, L., et al.: Evidence for a third genetic locus causing familial hypercholesterolemia. A non-LDLR, non-APOB kindred. *J. Lipid. Res.* 40:1113-1122, 1999.
- Norman, D., et al.: Characterization of a novel cellular defect in patients with phenotypic homozygous familial hypercholesterolemia. *J. Clin. Invest.* 104:619-628, 1999.
- Varret, M., et al.: A third major locus for autosomal dominant hypercholesterolemia maps to 1p34.1-p32. *Am. J. Hum. Genet.* 64:1378-1387, 1999.

- Lipoproteína de baja densidad (LDL) y elevación del colesterol en el plasma sanguíneo
- Aterosclerosis prematura
- Xantomas en la piel y los tendones
- Esperanza de vida disminuida
- Autosómico dominante
- Mutación en el gen del receptor de LDL

1. Características generales



2. Hipercolesterolemia



3. Disminución de los receptores de LDL

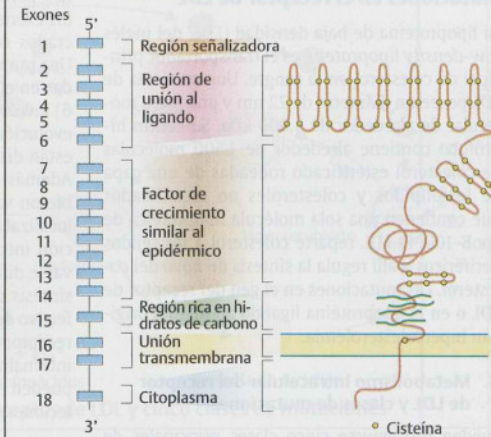


4. Formación de xantomas

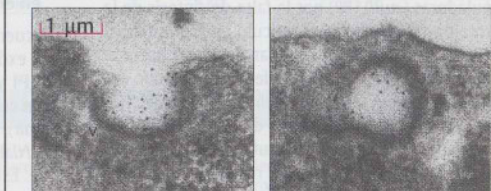


5. Arco lipóideo

A. Hipercolesterolemia familiar



B. Receptor de LDL

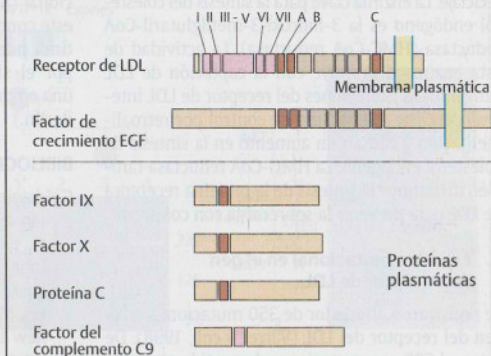


a. Hoyo recubierto

b. Vesícula endocítica

Microfotografías electrónicas de fibroblastos en cultivo que incorporaron moléculas de LDL (puntos negros, que se hacen visibles por unión a ferritina).

C. Endocitosis de LDL mediada por receptor



D. Homología con otras proteínas

Mutaciones en el receptor de LDL

La lipoproteína de baja densidad (LDL, del inglés *low-density lipoprotein*) es el transportador principal de colesterol en la sangre. Una partícula de LDL posee un diámetro de 22 nm y una masa molecular de alrededor de 3.000 kDa. Su centro hidrófobo contiene alrededor de 1.500 moléculas de colesterol esterificado rodeadas de una capa de fosfolípidos y colesteroles no esterificados que contienen una sola molécula lipoproteica de apoB-100. El LDL reparte colesterol a los tejidos periféricos y allí regula la síntesis de *ново* del colesterol. Las mutaciones en el gen del receptor de LDL o en la lipoproteína ligando apoB-100, originan hipercolesterolemia.

A. Metabolismo intracelular del receptor de LDL y clases de mutaciones

Pueden distinguirse cinco clases principales de mutaciones en el receptor de LDL: 1) mutaciones anuladoras (*null*) (R^0) por la falta de síntesis de la proteína receptora en el retículo endoplasmático (RE), 2) transporte intracelular defectivo hacia el aparato de Golgi, 3) unión defectiva al ligando extracelular, 4) endocitosis defectiva (mutaciones R^-) y 5) falla en la liberación de las moléculas de LDL dentro del endosoma (mutaciones de reciclaje defectivo). El complejo del receptor de LDL entra en la célula por endocitosis. En el endosoma el LDL incluida la apoB-100 se separa del receptor. En el lisosoma el LDL se destruye para dar aminoácidos y colesterol. El colesterol libre activa a la enzima acetil-CoA colesterol transferasa (ACAT), que cataliza la esterificación. El receptor de LDL se recicla hacia la superficie celular en una vesícula de reciclaje. La enzima clave para la síntesis del colesterol endógeno es la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa). La actividad de esta enzima disminuye con la captación de LDL exógeno. Las mutaciones del receptor de LDL interrumpen este mecanismo de control por retroalimentación y causan un aumento en la síntesis de colesterol endógeno. La HMG-CoA reductasa también disminuye la síntesis de la proteína receptora de LDL para prevenir la sobrecarga con colesterol.

B. Espectro mutacional en el gen del receptor de LDL

Se registraron alrededor de 350 mutaciones en el gen del receptor del LDL (Varret y col., 1998). De éstas, el 63% son mutaciones de sentido alterado. En todas las partes del gen se producen mutacio-

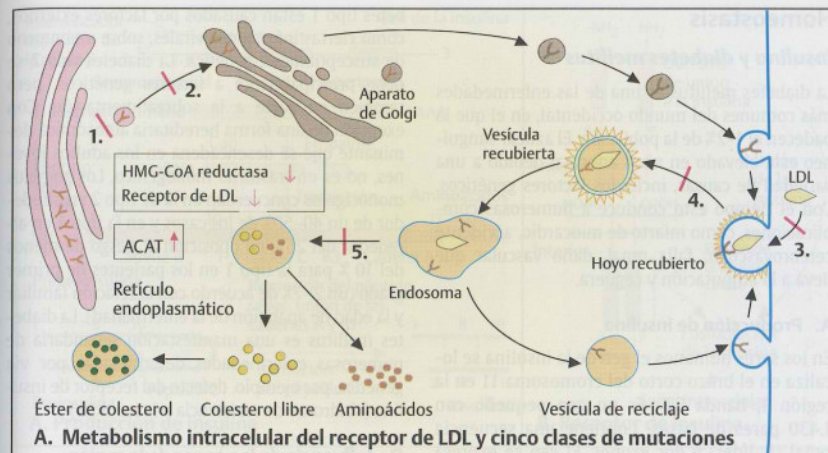
nes, pero hay un exceso relativo de mutaciones en los exones 4 y 9. Los exones 13 y 15 están involucrados con menos frecuencia que lo esperado. Una proporción alta de mutaciones (74%) localizadas en el dominio de unión al ligando (exones 2-6) involucra aminoácidos conservados durante la evolución. (Varret y col., 1998; los datos también están disponibles en <http://www.umd.necker.fr>). Además de las mutaciones puntuales se describieron varias deleciones, de diversos tamaños y localizaciones, e inserciones. Según la localización intragénica de la mutación, pueden observarse diferentes efectos, incluidos la ausencia de síntesis del mRNA, el transporte intracelular defectivo debido a la falta de unión (1) o reciclaje del receptor (2), anclaje a la membrana reducido (4) e internalización defectiva (5). Las repeticiones Alu pueden estar involucradas como una causa de deleciones intragénicas.

C. Diagnóstico de una mutación puntual en el gen del receptor de LDL

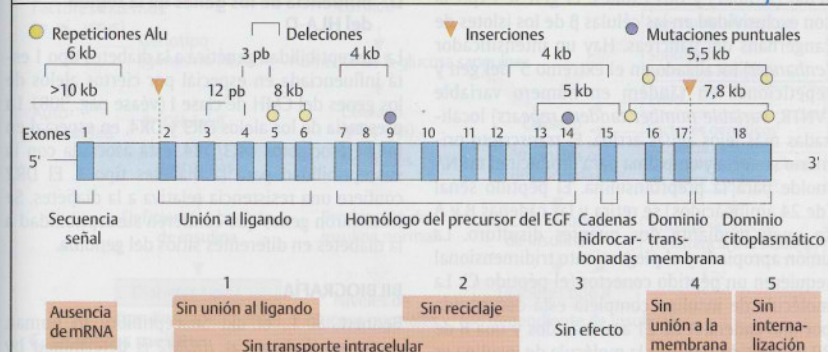
La secuenciación directa demuestra una mutación en el exón 9. Primero, el exón 9 se amplifica por PCR (P1 y P2 = cebadores o *primers* 1 y 2). La mutación en el codón 408, GTG (valina) por GTA (metionina), produce un sitio de reconocimiento (N) para *NlaIII* (GATC) que por lo general no está presente. Esto provoca la presencia de dos fragmentos de 126 y 96 pares de bases (pb) en lugar del fragmento habitual de 222 pb. Por eso los individuos afectados (1 y 3 del pedigrí) poseen dos fragmentos pequeños de 126 y 96 pb (2) además del fragmento de 222 pb. El análisis de secuencia del paciente (individuo 1 del pedigrí) demuestra la mutación por la presencia de una adenina adicional (A) al lado de la guanina normal (3). Con este conocimiento acerca de la mutación, esta última puede demostrarse dentro de una familia por el sitio de reconocimiento adicional para una enzima de restricción. (Datos de H. Schuster, Berlín.)

BIBLIOGRAFÍA

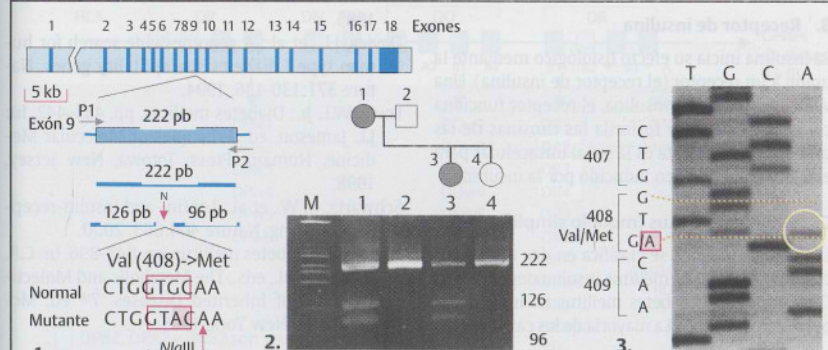
- Goldstein, J.L., Brown, M.S.: Familial hypercholesterolemia, pp. 1981-2030. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
- Varret, M., et al.: LDLR database (second edition): new additions to the database and the software, and results of the first molecular analysis. *Nucleic Acids Res.* 26:248-252, 1998.



A. Metabolismo intracelular del receptor de LDL y cinco clases de mutaciones



B. Espectro mutacional en el gen del receptor de LDL y su efecto sobre función



C. Mutaciones puntuales en el gen del receptor de LDL

Homeostasis

Insulina y diabetes mellitus

La diabetes mellitus es una de las enfermedades más comunes del mundo occidental, en el que la padecen el 1-2% de la población. El azúcar sanguíneo está elevado en nivel anormal debido a una variedad de causas, incluidos factores genéticos. Con el tiempo esto conduce a numerosas complicaciones, como infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, falla renal, daño vascular que lleva a la amputación y ceguera.

A. Producción de insulina

En los seres humanos el gen de la insulina se localiza en el brazo corto del cromosoma 11 en la región 1, banda 5.5. Es un gen pequeño con 1.430 pares de bases. Contiene una secuencia señal (L, líder) y dos exones. El gen se expresa con exclusividad en las células β de los islotes de Langerhans del páncreas. Hay un intensificador (*enhancer*) localizado en el extremo 5' del gen y repeticiones en tándem en número variable (VNTR, *variable number tandem repeats*) localizadas más lejos aguas arriba. El transcripto primario se corta y empalma para producir el mRNA molde para la preproinsulina. El péptido señal (de 24 aminoácidos) se retira y las cadenas B y A se unen mediante dos puentes disulfuro. La unión apropiada y el plegamiento tridimensional requieren un péptido conector (el péptido C). La molécula de insulina completa está constituida por una cadena A de 21 aminoácidos y una B de 30. El péptido señal de la molécula de insulina es necesario para la secreción.

B. Receptor de insulina

La insulina inicia su efecto fisiológico mediante la unión a un receptor (el receptor de insulina). Una vez que se unió a la insulina, el receptor funciona como una enzima y fosforila las tirosinas de las proteínas blanco. Ésta es la señal intracelular para el proceso metabólico inducido por la insulina.

C. Diabetes mellitus (modelo simplificado)

La diabetes mellitus se clasifica en dos tipos básicos: tipo 1 (diabetes mellitus insulino dependiente, DMID) y tipo 2 (diabetes mellitus no insulino dependiente, DMNID). La mayoría de los casos de dia-

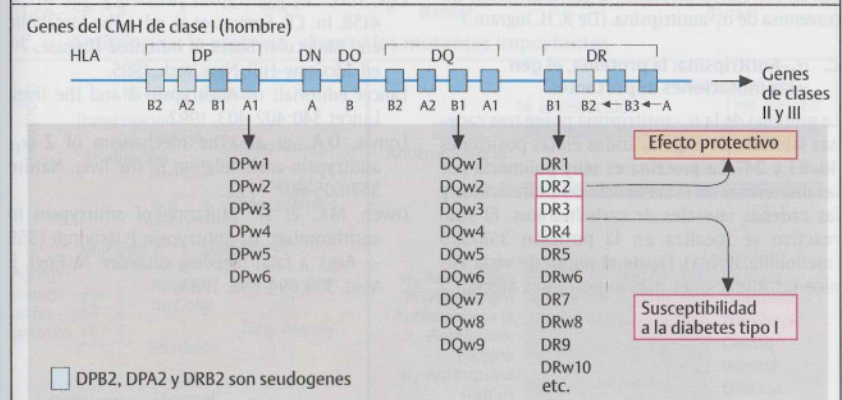
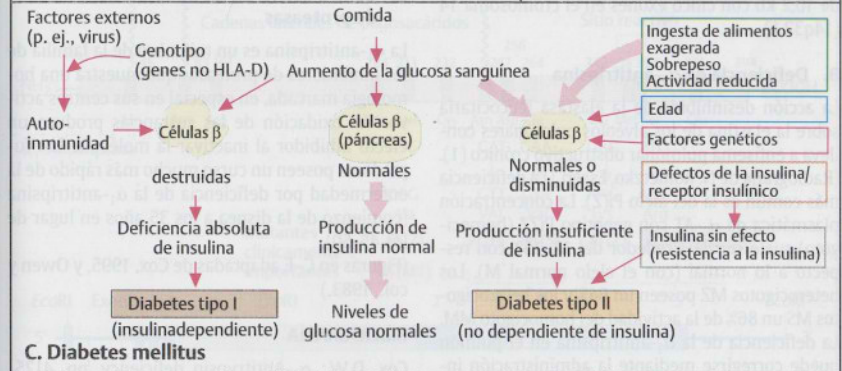
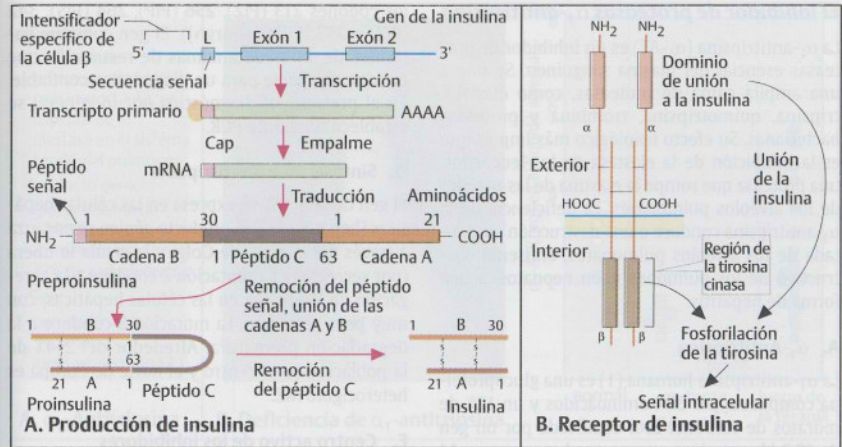
betes tipo 1 están causados por factores externos, como ciertas infecciones virales, sobre un entorno de susceptibilidad genética. La diabetes tipo 2 se debe principalmente a factores genéticos, pero también en parte a la sobrealimentación. Con excepción de una forma hereditaria autosómica dominante que se desencadena en los adultos jóvenes, no es un trastorno monogénico. Los gemelos monocigotos concuerdan en la de tipo 2 en alrededor de un 40-50% de los casos y en la tipo 1 en alrededor del 25%, en oposición al riesgo de menos del 10% para la tipo 1 en los parientes de primer grado (un 2-7% de acuerdo con la relación familiar y la edad de aparición de la enfermedad). La diabetes mellitus es una manifestación secundaria de numerosas enfermedades determinadas por vía genética, por ejemplo, defecto del receptor de insulina (síndrome de resistencia a la insulina).

D. Influencia de los genes de la región del HLA-D

La susceptibilidad genética a la diabetes tipo 1 está influenciada en especial por ciertos alelos de los genes del CMH de clase I (véase pág. 308). La presencia de los alelos DR3 y DR4, en especial en los heterocigotos DR3/DR4, está asociada con la susceptibilidad para la diabetes tipo 1. El DR2 confiere una resistencia relativa a la diabetes. Se localizaron genes que confieren susceptibilidad a la diabetes en diferentes sitios del genoma.

BIBLIOGRAFÍA

Bennett, S. T., et al.: Susceptibility to human type I diabetes at *IDDM2* is determined by tandem repeat variation at the insulin gene minisatellite locus. *Nature Genet.* 9:284-292, 1995.
 Davies, J.L., et al.: A genome-wide search for human type I diabetes susceptibility genes. *Nature* 371:130-136, 1994.
 Lowe, W.L. Jr.: Diabetes mellitus, pp. 433-442, In: J.L. Jameson, ed., *Principles of Molecular Medicine*. Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.
 Schwartz, M.W., et al.: Leptin- and insulin-receptor signalling. *Nature* 404:663, 2000.
 Taylor, S.I.: Diabetes mellitus, pp. 843-896, In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.



D. Influencia de los genes de la región del HLA-D

... de los inhibidores de proteasas

El inhibidor de proteasas α_1 -antitripsina

La α_1 -antitripsina (α_1 -AT) es un inhibidor de proteasas esencial del plasma sanguíneo. Se une a una amplia gama de proteasas, como elastasa, tripsina, quimotripsina, trombina y proteasas bacterianas. Su efecto fisiológico más importante es la inhibición de la elastasa de los leucocitos, una proteasa que rompe la elastina de las paredes de los alvéolos pulmonares. La deficiencia de la α_1 -antitripsina conduce a una destrucción aumentada de los alvéolos pulmonares, enfisema obstructivo de los pulmones y, en neonatos, a una forma de hepatitis.

A. α_1 -Antitripsina

La α_1 -antitripsina humana (1) es una glucoproteína compuesta por 394 aminoácidos y un 12% de hidratos de carbono. Está codificada por un gen de 10,2 kb con cinco exones en el cromosoma 14 (14q32.1).

B. Deficiencia de α_1 -antitripsina

La acción desinhibida de la elastasa leucocitaria sobre la elastina de los alvéolos pulmonares conlleva a enfisema pulmonar obstructivo crónico (1). (Radiografía de N. Konietzko, Essen.) La deficiencia más común es la del alelo Pi(Z). La concentración plasmática de α_1 -AT con genotipo PiZZ (homocigoto) suele ser de alrededor del 12-15% con respecto a lo normal (con el alelo normal M). Los heterocigotos MZ poseen un 64% y los heterocigotos MS un 86% de la actividad del homocigoto MM. La deficiencia de la α_1 -antitripsina en el pulmón puede corregirse mediante la administración intravenosa de α_1 -antitripsina. (De R. H. Ingram.)

C. α_1 -Antitripsina: la proteína, el gen y las mutaciones importantes

La proteína de la α_1 -antitripsina posee tres cadenas laterales de oligosacáridos en las posiciones 46, 83 y 247. La proteína es muy polimórfica por las diferencias en la secuencia de aminoácidos y las cadenas laterales de carbohidratos. El sitio reactivo se localiza en la posición 358/359 (metionina/serina). Desde el punto de vista clínico las mutaciones más importantes afectan a

los codones 213 (PiZ), 256 (PiP), 264 (PiS), 342 (PiZ) y 357 (Pi[Pittsburgh]). El gen contiene variantes de sitios de enzimas de restricción que pueden utilizarse para un diagnóstico confiable. En el presente el diagnóstico por lo general se establece mediante PCR.

D. Síntesis de α_1 -antitripsina

El gen de la α_1 -AT se expresa en las células hepáticas (hepatocitos). El producto génico se encauza a través del aparato de Golgi y la célula lo libera (por secreción). La mutación Z conduce a la agregación de la enzima en las células hepáticas, con muy poca secreción. La mutación S conduce a la degradación prematura. Alrededor del 2-4% de la población en el centro y el norte de Europa es heterocigoto MZ.

E. Centro activo de los inhibidores de proteasas

La α_1 -antitripsina es un miembro de la familia de los inhibidores de proteasas que muestra una homología marcada, en especial en sus centros activos. La oxidación de las sustancias produce un efecto inhibitorio al inactivar la molécula. Los fumadores poseen un curso mucho más rápido de la enfermedad por deficiencia de la α_1 -antitripsina (comienzo de la disnea a los 35 años en lugar de los 45-50). (Figuras en C-E adaptadas de Cox, 1995, y Owen y col., 1983.)

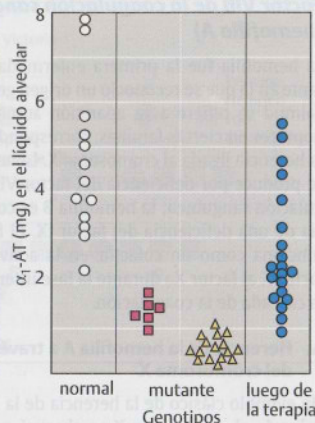
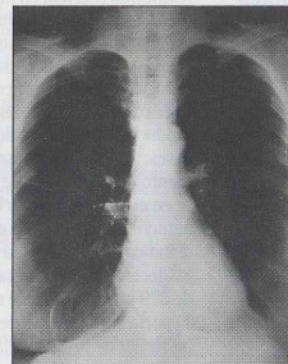
BIBLIOGRAFÍA

- Cox, D.W.: α_1 -Antitrypsin deficiency. pp. 4125-4158. In: CR. Scriver, et al. eds., The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
- Lancet editorial: α_1 -Antitrypsin Z and the liver. Lancet 340:402-403, 1992.
- Lomas, D.A., et al.: The mechanism of Z α_1 -antitrypsin accumulation in the liver. Nature 357:605-607, 1992.
- Owen, M.C. et al.: Mutation of antitrypsin to antithrombin: α_1 -antitrypsin Pittsburgh (358 -> Arg), a fatal bleeding disorder. N. Engl. J. Med. 309:694-698, 1983.

Función:
inhibidor de proteasas plasmático más importante, en especial de la elastasa en el sistema bronquial pulmonar

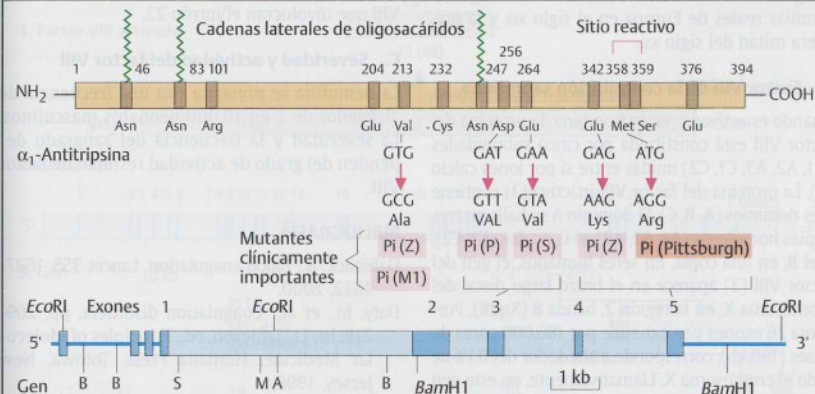
Producto génico:
glucoproteína de 52 kDa con contenido del 12% de carbohidratos

Gen:
gen de 10,2 kb, 5 exones, locus génico 14q32.1

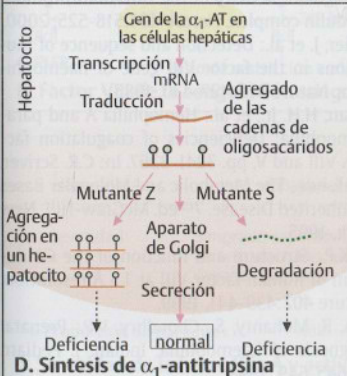


A. α_1 -Antitripsina

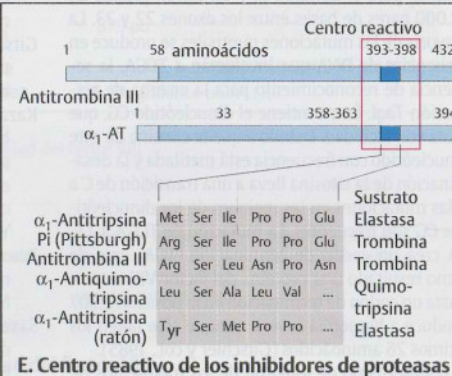
B. Deficiencia de α_1 -antitripsina



C. α_1 -Antitripsina: la proteína, el gen y los mutantes importantes



D. Síntesis de α_1 -antitripsina



E. Centro reactivo de los inhibidores de proteasas

Factor VIII de la coagulación sanguínea (hemofilia A)

La hemofilia fue la primera enfermedad importante en la que se reconoció un origen genético. El Talmud se refiere a su aparición aumentada en hombres en ciertas familias, correspondiente con la herencia ligada al cromosoma X. La hemofilia A se produce por deficiencia del factor VIII de coagulación sanguínea; la hemofilia B es consecuencia de una deficiencia del factor IX. El factor VIII funciona como un cofactor en la activación del factor X al factor Xa durante la fase intermedia de la cascada de la coagulación.

A. Herencia de la hemofilia A a través del cromosoma X

Un ejemplo clásico de la herencia de la hemofilia A ligada al cromosoma X se observó en algunas familias reales de Europa en el siglo XIX y la primera mitad del siglo XX.

B. Factor VIII de la coagulación sanguínea

Cuando es activada por la trombina, la proteína del factor VIII está constituida por cinco subunidades (A1, A2, A3, C1, C2) unidas entre sí por iones calcio (1). La proteína del factor VIII inactiva (2) contiene tres dominios (A, B, C). El dominio A se halla en tres copias homólogas (A1, A2, A3), el C, en dos (C1, C2), y el B, en una copia. En seres humanos, el gen del factor VIII (3) aparece en el brazo largo distal del cromosoma X, en la región 2, banda 8 (Xq28). Presenta 26 exones y se extiende por 186.000 pares de bases (186 kb), corresponde a alrededor del 0,1% de todo el cromosoma X. Llamativamente, en este gen están el exón grande 14 (3.106 pares de bases), que codifica para el dominio B, y un intrón grande de 32.000 pares de bases entre los exones 22 y 23. La mayoría de las mutaciones puntuales se produce en secuencias de DNA que involucran a TCGA, la secuencia de reconocimiento para la enzima de restricción *TaqI*. Ésta contiene el dinucleótido CG, que muta con facilidad. Debido a que la citosina de este dinucleótido con frecuencia está metilada y la desaminación de la citosina lleva a una transición de C a T, las mutaciones en las regiones de los dinucleótidos CG son frecuentes. La mutación de TCGA a TTGA crea un codón de terminación (TGA), que da como resultado una proteína del factor VIII trunca. Hasta un codón de terminación en la posición 2.307 conduce a hemofilia severa, aunque sólo falten los últimos 26 aminoácidos (Gitschier y col., 1985). El polimorfismo de longitud de los fragmentos de

restricción (PLFR o, en inglés, *RFLP*, *restriction fragment length polymorphisms*) puede utilizarse para el diagnóstico genético molecular de la hemofilia A (4). Cuando está presente, una variante de la secuencia de reconocimiento (B*) para la enzima de restricción *BclI* en la región del exón 17 y del 18, produce un fragmento de 879 y uno de 286 pares de bases; cuando está ausente aparece un solo fragmento de 1.165 pares de bases. Esto puede utilizarse en el diagnóstico por PLFR (5): el paciente con la hemofilia A (II-1) porta el fragmento de 879 pb. Éste indica la mutación. Su hermana (II-2) tiene un hijo afectado (III-2) que también porta el fragmento de 879 pb, heredado de su madre. Un hermano (III-1) porta el fragmento de 1.165 pb y por ello no tiene riesgo de presentar la enfermedad, porque éste no se encuentra ligado a la mutación.

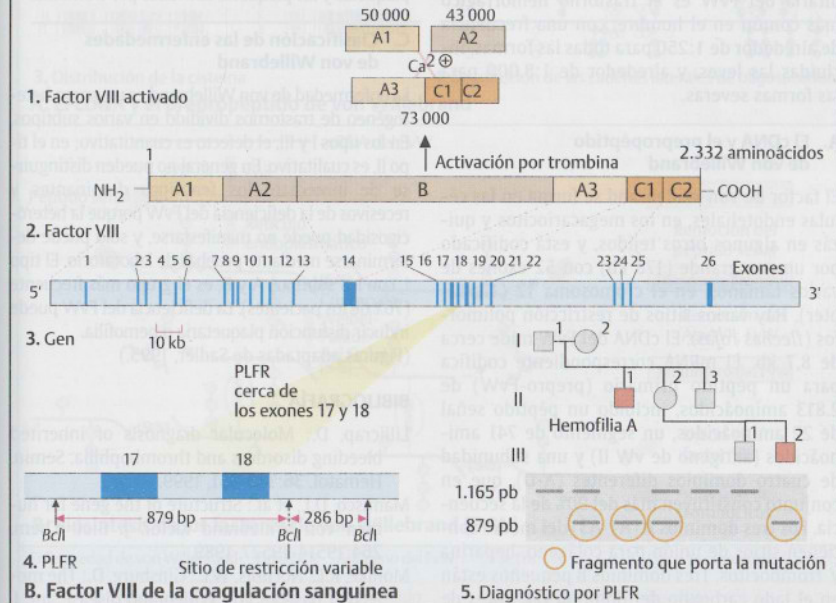
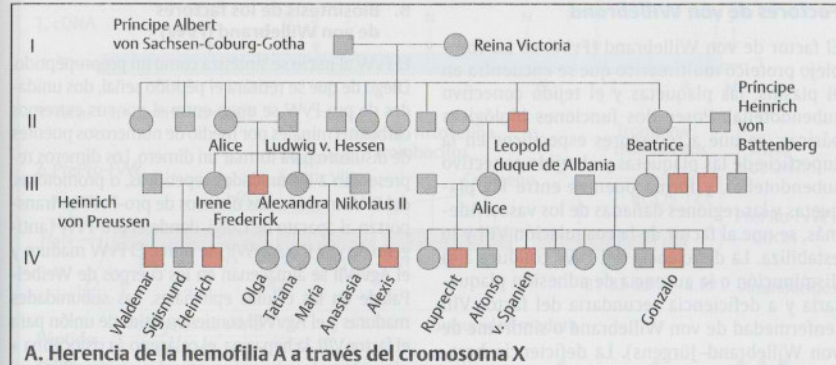
Además de las mutaciones puntuales, son frecuentes los reordenamientos del gen del factor VIII que involucran el intrón 22.

C. Severidad y actividad del factor VIII

La hemofilia se presenta con una frecuencia de alrededor de 1 en 10.000 neonatos masculinos. La severidad y la frecuencia del sangrado dependen del grado de actividad residual de factor VIII.

BIBLIOGRAFÍA

- Dahlbäck, B.: Blood coagulation. *Lancet* 355:1627-1632, 2000.
- Daly, M., et al.: Coagulation disorders, pp. 209-218, In: J.L. Jameson, ed., *Principles of Molecular Medicine*, Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.
- Fuentes-Prior, P., et al.: Structural basis for the anticoagulant activity of the thrombin-thrombomodulin complex. *Nature* 404:518-525, 2000.
- Gitschier, J., et al.: Detection and sequence of mutations in the factor VIII gene of haemophiliacs. *Nature* 315:427-430, 1985.
- Kazanian, H.H. Jr., et al.: Hemophilia A and parahemophilia: Deficiencies of coagulation factors VIII and V, pp. 3241-3267. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
- Pratt, K.P.: Structure and function of the C2 domain of human factor VIII at 1.5 Å resolution. *Nature* 402:439-441, 1999.
- Saxena, R., Mohanty, S., Choudhry, V.P.: Prenatal diagnosis of haemophilia. *Indian J. Pediatr.* 65:645-649, 1998.



B. Factor VIII de la coagulación sanguínea

Severidad	Actividad del factor VIII		
	debajo del 2%	2-10%	10-30%
	Sangrado espontáneo en articulaciones, músculo, órganos internos	Sangrado luego de un traumatismo menor, a veces de manera espontánea	Sangrado después de un traumatismo
Proporción de pacientes	48%	31%	21%

C. Severidad de la hemofilia A y actividad del factor VIII

Factores de von Willebrand

El factor de von Willebrand (FvW) es un complejo proteico multimérico que se encuentra en el plasma, las plaquetas y el tejido conectivo subendotelial. Posee dos funciones biológicas básicas: se une a receptores específicos en la superficie de las plaquetas y al tejido conectivo subendotelial, y forma puentes entre las plaquetas y las regiones dañadas de los vasos. Además, se une al factor de la coagulación VIII y lo estabiliza. La deficiencia del FvW conduce a la disminución o la ausencia de adhesión plaquetaria y a deficiencia secundaria del factor VIII (enfermedad de von Willebrand o síndrome de von Willebrand-Jürgens). La deficiencia hereditaria del FvW es el trastorno hemorrágico más común en el hombre, con una frecuencia de alrededor de 1:250 para todas las formas, incluidas las leves, y alrededor de 1:8.000 para las formas severas.

A. El cDNA y el prepro péptido de von Willebrand

El factor de von Willebrand se forma en las células endoteliales, en los megacariocitos y quizás en algunos otros tejidos, y está codificado por un gen grande (178 kb) con 52 exones de varios tamaños, en el cromosoma 12 (12p12-pter). Hay varios sitios de restricción polimorfos (flechas rojas). El cDNA del FvW mide cerca de 8,7 kb. El mRNA correspondiente codifica para un péptido primario (prepro-FvW) de 2.813 aminoácidos, incluido un péptido señal de 22 aminoácidos, un segmento de 741 aminoácidos (antígeno de vW II) y una subunidad de cuatro dominios diferentes (A-D), que en conjunto constituyen más del 90% de la secuencia. Los tres dominios A (A1-A3) del medio contienen sitios de unión para colágeno, heparina y trombocitos. Tres dominios B pequeños están en el lado carboxilo del dominio D4, antes de los dos dominios C. El FvW contiene un 8,3% de cisteína (234 de 2.813 aminoácidos), concentrada en el carboxi terminal, mientras que en los tres dominios A la cisteína es escasa. Después de una modificación postraduccional, el FvW plasmático maduro contiene 12 cadenas de oligosacáridos (el 19% del peso total corresponde a carbohidratos).

B. Biosíntesis de los factores de von Willebrand (FvW)

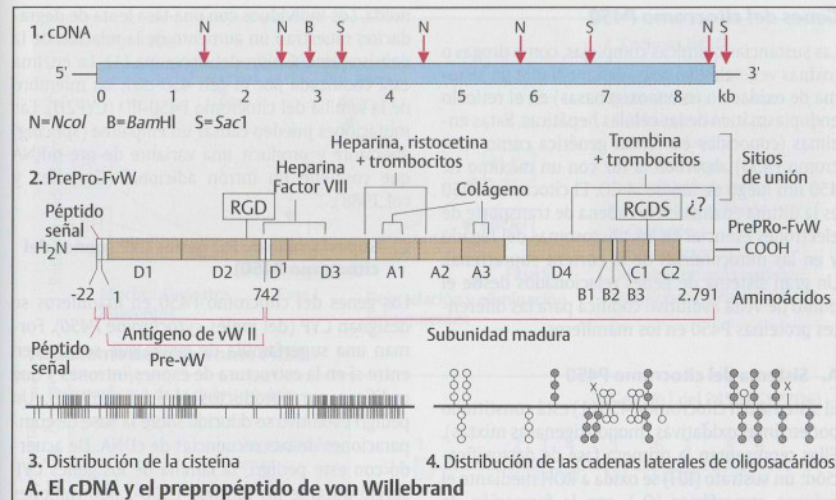
El FvW al inicio se sintetiza como un prepro péptido. Luego de que se retirara el péptido señal, dos unidades de pro-FvW se unen entre sí por sus extremos carboxiterminales por medio de numerosos puentes de disulfuro para formar un dímero. Los dímeros representan a las unidades repetitivas, o promotoras, del FvW maduro. Los dímeros de pro-FvW se transportan al aparato de Golgi, donde el pro-FvW (antígeno de vW II o AgvWII) se retira. El FvW maduro y el AgvWII se almacenan en los cuerpos de Weibel-Palade en las células epiteliales. Las subunidades maduras y el AgvWII contienen sitios de unión para el factor VIII, la heparina, el colágeno, la ristocetina y las plaquetas activadas por trombina.

C. Clasificación de las enfermedades de von Willebrand

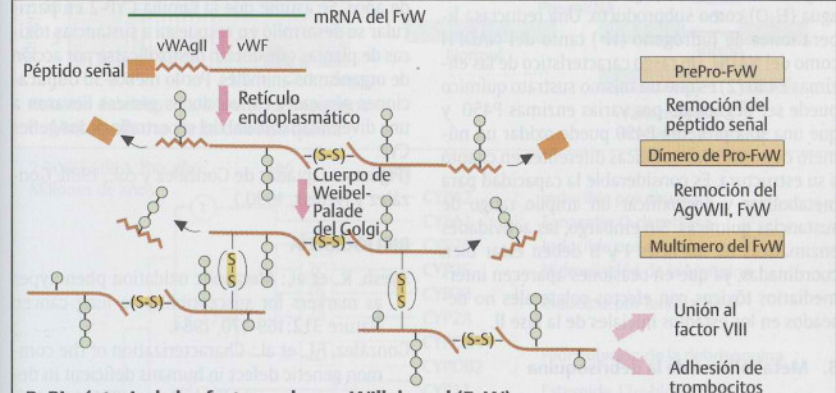
La enfermedad de von Willebrand es un grupo heterogéneo de trastornos dividido en varios subtipos. En los tipos I y III, el defecto es cuantitativo; en el tipo II, es cualitativo. En general no pueden distinguirse de inmediato los fenotipos dominantes y recesivos de la deficiencia del FvW porque la heterocigosidad puede no manifestarse, y sólo puede determinarse mediante pruebas de laboratorio. El tipo I, con los subtipos A y B, es el grupo más frecuente (70% de los pacientes). La deficiencia del FvW puede inducir disfunción plaquetaria o hemofilia. (Figuras adaptadas de Sadler, 1995.)

BIBLIOGRAFÍA

Lillicrap, D.: Molecular diagnosis of inherited bleeding disorders and thrombophilia. *Semin. Hematol.* 36:340-351, 1999.
 Manusco, D.J., et al.: Structure of the gene for human von Willebrand factor. *J. Biol. Chem.* 264:19514-19527, 1989.
 Mohlke, K.L., Nachols, W.C., Ginsburg, D.: The molecular basis of von Willebrand disease. *Int. J. Clin. Lab. Res.* 29:1-7, 1999.
 Sadler, J.E.: Von Willebrand disease, pp. 3269-3287, In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
 Wise, R.J., et al.: Autosomal recessive transmission of hemophilia A due to a von Willebrand factor mutation. *Hum. Genet.* 91:367-372, 1993.



A. El cDNA y el prepro péptido de von Willebrand



B. Biosíntesis de los factores de von Willebrand (FvW)

Enfermedad de von Willebrand	Genética	Antígeno del FvW	Factor VIII	Estructura multimérica
Tipo I	AD	disminuido	disminuido	normal
IIA	AD	disminuido o normal	disminuido o normal	ausencia grande e intermedia
IIB	AD	disminuido o normal	disminuido o normal	gran ausencia en el plasma, trombocitos normales
IIC	AR	disminuido o normal	disminuido o normal	gran ausencia en el plasma y en los trombocitos
IID	AD	normal	normal	gran ausencia
IIE	AD	disminuido	normal	gran ausencia
III	AR	ausente	muy disminuido	ausente

C. Clasificación de las enfermedades de von Willebrand

Genes del citocromo P450

Las sustancias químicas complejas, como drogas o toxinas vegetales, se degradan mediante un sistema de oxidación (monooxigenasas) en el retículo endoplasmático de las células hepáticas. Estas enzimas (conocidas en forma genérica como citocromo P450) absorben la luz con un máximo de 450 nm luego de unirse al CO. El citocromo P450 es la última enzima en la cadena de transporte de electrones esencial en los microsomas del hígado y en las mitocondrias de la corteza suprarrenal. Un gran sistema de genes relacionados desde el punto de vista evolutivo codifica para las diferentes proteínas P450 en los mamíferos.

A. Sistema del citocromo P450

El sistema del citocromo P450 (1) está constituido por enzimas oxidativas (monooxigenasas mixtas). Ellas representan la primera fase de detoxificación: un sustrato (RH) se oxida a ROH mediante el oxígeno atmosférico (O₂), con la formación de agua (H₂O) como subproducto. Una reductasa libera iones de hidrógeno (H⁺) tanto del NADPH como del NADH. Un rasgo característico de las enzimas P450 (2) es que un mismo sustrato químico puede ser degradado por varias enzimas P450 y que una sola proteína P450 puede oxidar un número de sustancias químicas diferentes en cuanto a su estructura. Es considerable la capacidad para metabolizar y detoxificar un amplio rango de sustancias químicas. Sin embargo, las actividades enzimáticas de las fases I y II deben estar bien coordinadas, ya que en ocasiones aparecen intermediarios tóxicos con efectos colaterales no deseados en los estadios iniciales de la fase II.

B. Metabolismo de la debrisoquina

La debrisoquina es una isoquinolina-carboxamida. Se utilizó para tratar la hipertensión arterial hasta que se encontró que ocasionaba efectos colaterales severos en el 5-10% de la población. Estas personas poseen actividad reducida de una enzima degradativa, la debrisoquina-4-hidroxilasa. Otros fármacos, incluidos bloqueantes β-adrenérgicos, antiarrítmicos y antidepresivos, también son degradados por esta enzima y pueden causar reacciones adversas en personas con actividad dismi-

nuida. Los individuos con una tasa lenta de degradación muestran un aumento de la relación de la debrisoquina/4-hidrodebrisoquina (1). La enzima está codificada por el gen *450-db1*, un miembro de la familia del citocromo P450-II (CYP2D). Las mutaciones pueden causar un empalme (*splicing*) aberrante y producir una variante de pre-mRNA que contiene un intrón adicional (González y col.,1988).

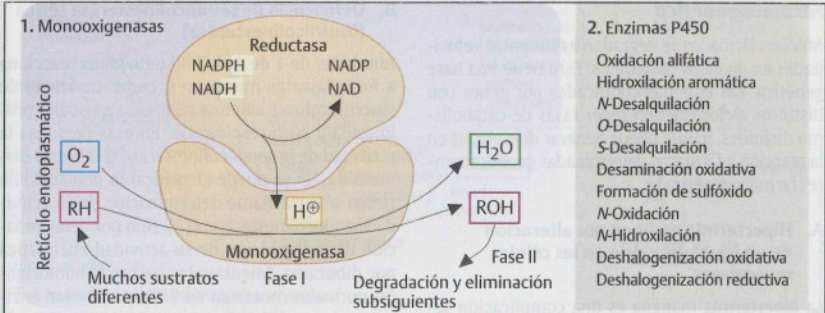
C. Superfamilia de los genes CYP (genes del citocromo P450)

Los genes del citocromo P450 en mamíferos se designan CYP (del inglés *cytochrome P450*). Forman una superfamilia de genes que se parecen entre sí en la estructura de exones/intrones y que codifican para productos génicos similares. Un pedigrí evolutivo se dilucidó sobre la base de comparaciones de sus secuencias de cDNA. De acuerdo con este pedigrí, la familia de los genes CYP surgió durante los últimos 1.500-2.000 millones de años. Se asume que la familia CYP-2 en particular se desarrolló en respuesta a sustancias tóxicas de plantas que debían detoxificarse por acción de organismos animales. Por lo menos 30 duplicaciones génicas y conversiones génicas llevaron a una diversidad inusual del repertorio de los genes CYP.

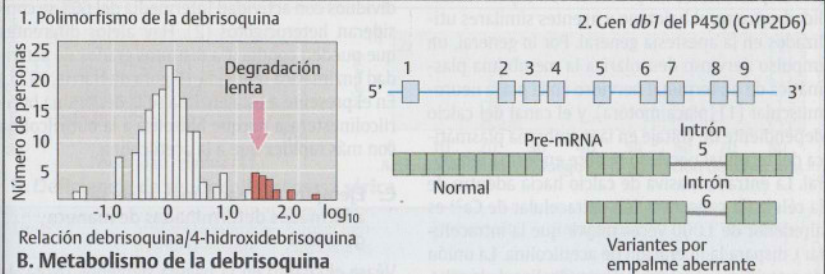
(Figuras adaptadas de González y col., 1988, González y Nebert, 1990.)

BIBLIOGRAFÍA

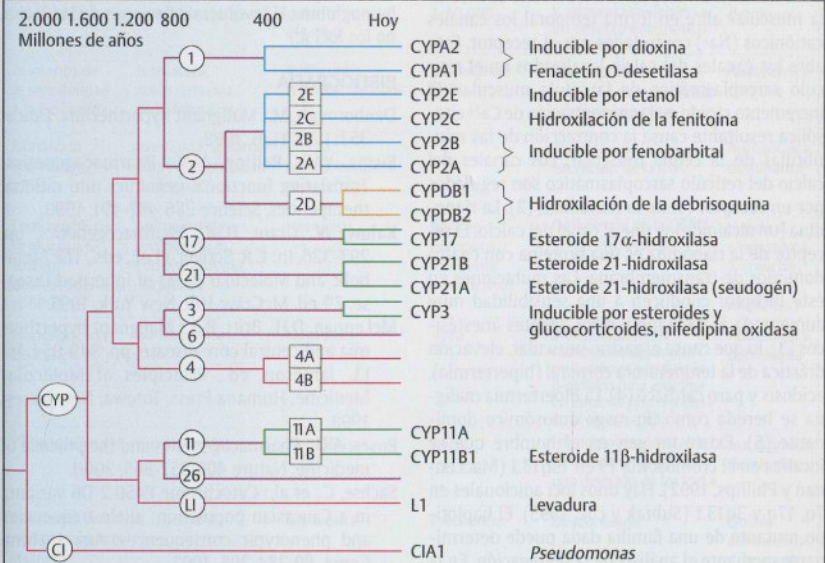
- Ayesh, R., et al.: Metabolic oxidation phenotypes as markers for susceptibility to lung cancer. *Nature* 312:169-170, 1984.
- González, F.J., et al.: Characterization of the common genetic defect in humans deficient in debrisoquine metabolism. *Nature* 331:442-446, 1988.
- González, F.J., Nebert D.W.: Evolution of the P450 gene superfamily: animal-plant "warfare", molecular drive, and human genetic differences in drug oxidation. *Trends Genet.* 6:182-186, 1990.
- Nebert, D.W., González, F.J.: P450 genes. Structure, evolution, and regulation. *Ann. Rev. Biochem.* 56:955-994, 1987.



A. Sistema del citocromo P450



B. Metabolismo de la debrisoquina



C. Superfamilia de los genes CYP (genes del citocromo P450)

Farmacogenética

Muchos fármacos se degradan a diferentes velocidades en diversos individuos. Esto tiene una base genética. Las enzimas codificadas por genes con distintos alelos pueden tener tasas de catabolismo disímiles, lo que puede generar diferencias en la reacción a fármacos determinadas genéticamente (farmacogenética).

A. Hipertermia maligna por alteración de un canal del calcio en las células musculares

La hipertermia maligna es una complicación severa de la anestesia, con peligro de muerte, que puede presentarse en personas con hipersensibilidad extrema al halotano y agentes similares utilizados en la anestesia general. Por lo general, un impulso nervioso despolariza la membrana plasmática de un terminal nervioso en la placa neuromuscular (1) (placa motora), y el canal del calcio dependiente de voltaje en la membrana plasmática del terminal nervioso se abre en forma temporal. La entrada masiva de calcio hacia adentro de la célula (la concentración extracelular de Ca^{2+} es alrededor de 1.000 veces mayor que la intracelular), dispara la liberación de acetilcolina. La unión de esta última al receptor de acetilcolina de la célula muscular abre en forma temporal los canales catiónicos (Na^+) controlados por el receptor. Esto abre los canales del calcio localizados en el retículo sarcoplasmático de la célula muscular. El incremento rápido en la concentración de Ca^{2+} citosólica resultante causa la contracción de las miofibrillas de la célula muscular. Los canales del calcio del retículo sarcoplasmático son regulados por un receptor (el de la rianodina) (2). La rianodina (un alcaloide) se une al canal del calcio. El receptor de la rianodina es una proteína con cuatro dominios de transmembrana. Las mutaciones en este receptor conducen a una sensibilidad muy aumentada al halotano y otros agentes anestésicos (3), lo que causa espasmo muscular, elevación drástica de la temperatura corporal (hipertermia), acidosis y paro cardíaco (4). La hipertermia maligna se hereda como un rasgo autosómico dominante (5). Existe un gen en el hombre que se localiza en el cromosoma 19 en 19q13.1 (MacLennan y Phillips, 1992). Hay unos loci adicionales en 7q, 17q y 3q13.1 (Subrak y col., 1995). El haplotipo mutante de una familia dada puede determinarse mediante el análisis de la segregación. En la hipertermia maligna porcina se demostró una mutación en el receptor de la rianodina.

B. Deficiencia de seudocolinesterasa sérica (butirilcolinesterasa)

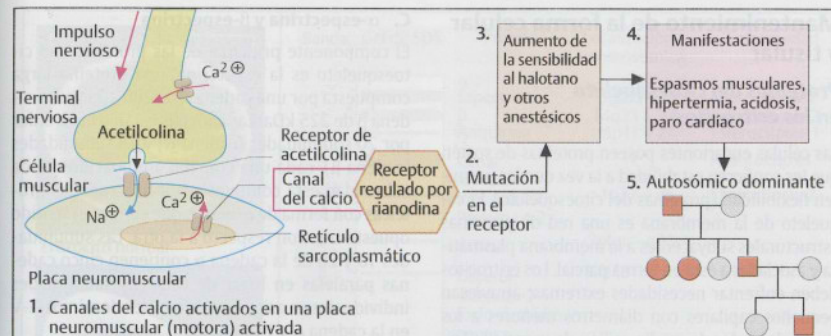
Alrededor de 1 de cada 200 individuos reacciona a los relajantes musculares, como suxametonio (succinilcolina), con una relajación muscular prolongada y paro respiratorio. En esas personas la actividad de la seudocolinesterasa sérica está disminuida. No se puede identificar la población de riesgo sólo mediante determinación de su actividad seudocolinesterásica (1), sino por determinación de la inhibición de su actividad enzimática por dibucaína. Mientras las personas homocigotas normales muestran un 80% de actividad enzimática luego de la administración de dibucaína, la población de riesgo muestra sólo un 20%. Los individuos con actividad intermedia del 60% se consideran heterocigotos (2). Hay alelos diferentes que pueden conducir a distintos grados de actividad enzimática reducida. (Figura de Harris, 1975.) En el presente a esta enzima se la denomina butirilcolinesterasa porque hidrolisa a la butirilcolina con más rapidez que a la acetilcolina.

C. Ejemplos de reacciones adversas a fármacos determinadas de manera genética

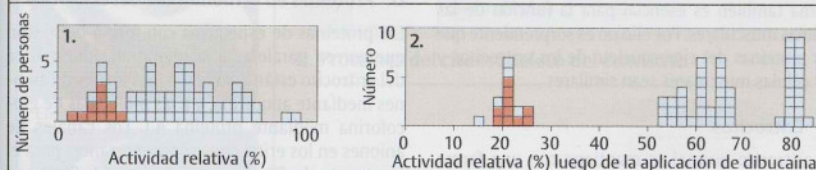
Véase el cuadro en la página siguiente. (Nota: la hemoglobina H involucra deleciones de los loci α , no los loci α .)

BIBLIOGRAFÍA

- Denborough, M.: Malignant hyperthermia. *Lancet* 352:1131-1136, 1998.
- Evans, W.E., Relling, M.V.: Pharmacogenetics: Translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 286:487-491, 1999.
- Kalow, W., Grant, D.M.: Pharmacogenetics, pp. 293-326. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
- McLennan, D.H., Britt, B.A.: Malignant hyperthermia and central core disease, pp. 949-954. In: J.L. Jameson, ed., *Principles of Molecular Medicine*, Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.
- Roses, A.D.: Pharmacogenetics and the practice of medicine. *Nature* 405:857-865, 2000.
- Sachse, C., et al.: Cytochrome P450 2 D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am. J. Hum. Genet.* 60:284-295, 1997.
- Subrak, R., et al.: *Am J Hum Genet.* 56:684-691, 1995.



A. Hipertermia maligna por alteración de los canales del calcio en las células musculares



B. Deficiencia de seudocolinesterasa sérica

Defecto	Sustancia químicamente relevante	Consecuencias clínicas	Frecuencia	Patogénesis	Genética
Resistencia a la cumarina	Cumarina (warfarina)	Terapia anticoagulante no efectiva	Más rara que 1:80.000	Afinidad de la vitamina K aumentada debido a un defecto enzimático o del receptor	Autosómica dominante
Aumento de la sensibilidad a la isoniazida	Isoniazida, sulfametazina, hidralazina, etc.	Polineuritis, reacción tipo lúpica	En cerca del 50%	Disminución de la actividad de la isoniazida acetilasa hepática	Autosómica recesiva
Isoniazida inefectiva	Isoniazida, sulfametazina, fenzelina, hidralazina	Efecto antituberculoso reducido		Aumento de la excreción de la INH	Autosómica dominante
Deficiencia de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)	Sulfonamidas, antipalúdicos, nitrofurantoina, <i>Vicia faba</i>	Hemólisis	Rara en europeos, frecuente en africanos	Deficiencia de la G6PD en los eritrocitos	Ligada al cromosoma X (muchas formas mutantes)
Hemoglobina de Zürich	Sulfonamidas	Hemólisis	Rara	Inestabilidad de la hemoglobina por una mutación puntual en la β -globina (una arginina en lugar de una histidina en la posición 63)	Autosómica dominante
Hemoglobina H	Sulfonamidas	Hemólisis	Rara	Hemoglobina inestable de 4 cadenas β debido a una deleción en los loci α	Autosómica dominante
Glaucoma en adultos (algunas formas)	Corticoides	Glaucoma	Frecuente	Desconocida	Quizás autosómica dominante

C. Ejemplos de reacciones a fármacos determinadas de manera genética

Mantenimiento de la forma celular y tisular

Proteínas del citoesqueleto en los eritrocitos

Las células eucariontes poseen proteínas de sostén que les confieren estabilidad a la vez que les permiten flexibilidad (proteínas del citoesqueleto). El esqueleto de la membrana es una red de proteínas estructurales subyacentes a la membrana plasmática y asociadas a ésta en forma parcial. Los eritrocitos deben enfrentar necesidades extremas: atraviesan pequeños capilares con diámetros menores a los suyos alrededor de medio millón de veces a lo largo de su vida de 4 meses. La flexibilidad de la membrana también es esencial para la función de las células musculares. Por ello no es sorprendente que las proteínas del citoesqueleto de los eritrocitos y las células musculares sean similares.

A. Eritrocitos

El eritrocito normal se mantiene con una forma característica de disco bicóncavo por las proteínas del citoesqueleto. Los defectos genéticos en diferentes proteínas del citoesqueleto conducen a deformaciones características de los eritrocitos: como elipses (eliptocitos), esferas (esferocitos) o células con una zona con forma de boca (estomatocitos) o proyecciones espinosas (acantocitos). Las diferentes formas son resultado de defectos en distintas proteínas. (Microfotografía electrónica de barrido de Davis y Lux, 1989.)

B. Proteínas del citoesqueleto de los eritrocitos

Mediante la electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS se pueden diferenciar numerosas proteínas asociadas con la membrana de los eritrocitos. Se numera cada banda del gel y se le asigna las proteínas individuales. Las proteínas principales son α -espectrina y β -espectrina, anquirina, una proteína de un canal aniónico (proteína de la banda 3), las proteínas 4.1 y 4.2, actina y otras. Se conocen la localización cromosómica de sus genes y las enfermedades asociadas causadas por mutaciones para el hombre y el ratón.

C. α -espectrina y β -espectrina

El componente principal de las proteínas del citoesqueleto es la espectrina, una proteína larga compuesta por una cadena α de 260 kDa y una cadena β de 225 kDa. Las cadenas están constituidas por 20 subunidades (cadena α) y 18 subunidades (cadena β), cada una con 106 aminoácidos. Cada subunidad está compuesta por tres cadenas proteicas con forma de α -hélice, que corren en sentido opuesto una con respecto a la otra. Las subunidades 10 y 20 de la cadena α contienen cinco cadenas paralelas en lugar de tres. Las subunidades individuales se asignan a diferentes dominios (I-V en la cadena α y I-IV en la β).

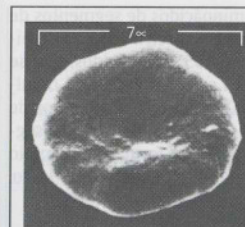
D. Proteínas en la membrana del eritrocito

Las proteínas de espectrina con forma de bastón que corren paralelas a la membrana plasmática del eritrocito están ancladas a los canales de aniones mediante anquirina, y a las moléculas de glucoforina mediante proteína 4.1. Los canales de aniones en los eritrocitos son importantes para el transporte de CO_2 . Las glucoforinas (A, B, C) son proteínas de transmembrana con varias unidades de carbohidratos. La actina es la proteína principal para la contracción muscular y la flexibilidad celular.

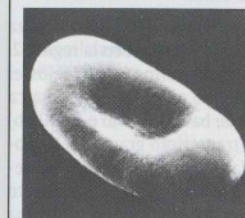
(Figuras de Luna y Hitt, 1992.)

BIBLIOGRAFÍA

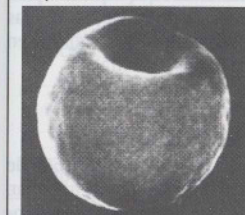
- Becker. P.S., Lux. S. E.: Hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis. pp. 3513-3560. In: C.R. Scriver. et al., eds., The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed. McGraw-Hill. New York, 1995.
- Davies. K.A., Lux. S. E.: Hereditary disorders of the red cell membrane skeleton. Trends Genet. 5:222-227, 1989.
- Delaunay. J.: Disorders of the red cell membrane. pp.191-196. In: J.L. Jameson. ed., Principles of Molecular Medicine. Humana Press. Totowa. New Jersey, 1998.
- Luna, E.J., Hit, A.L.: Cytoskeleton plasma membrane interactions. Science 258:955-964, 1992.
- Tse. W.T., Lux. S.E.: Red blood cell membrane disorders. Br. J. Haematol. 104:2-13, 1999.



Eritrocito normal



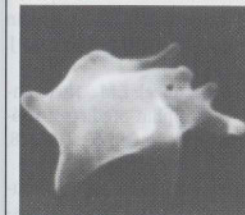
Eliptocito



Esferocito



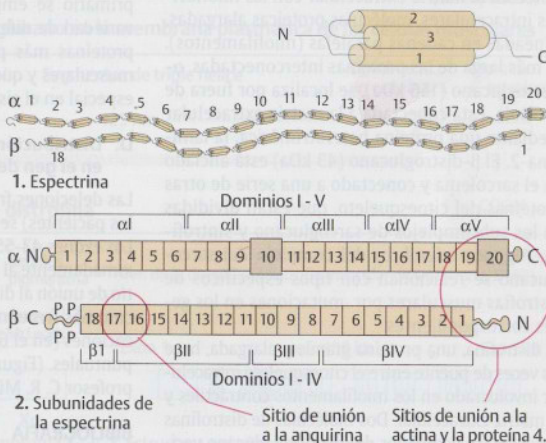
Estomatocito



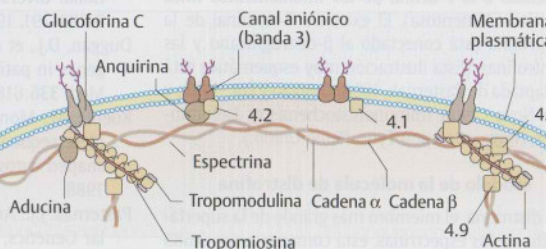
Acantocito
A. Eritrocitos

Banda	Gel de SDS	Proteína	Localización cromosómica	Enfermedad
1	—	α Espectrina	1q22 – 25	Eliptocitosis-1
2	—	β Espectrina	14q23 – 24	Esferocitosis-2
	—	Anquirina	8p11 – 21	Esferocitosis-1
3	—	Canal aniónico	17	Acantocitosis
4.1	—	Proteína 4.1	1q22 – 25	Eliptocitosis-2
4.2	—	Proteína 4.2		
5	—	Actina	7pter – q22	
6	—	Glicerol-aldehído-3-fosfo-deshidrogenasa	12p13	
7	—	Tropomiosina (no muscular)	1q31 – 41	Estomatocitosis

B. Proteínas del citoesqueleto del eritrocito



C. α -Espectrina y β -espectrina



D. Proteínas en la membrana del eritrocito

Enfermedades musculares hereditarias

La degeneración espontánea de las fibras musculares y la muerte de las células musculares (distrofia muscular) es una causa común de enfermedad muscular en lactantes, niños y adultos. Las distrofias musculares son heterogéneas en términos genéticos y clínicamente variables. En el catálogo de McKusick en la red (OMIM, *Mendelian Inheritance of Man Online*, en <http://www3.ncbi.nih.gov/Omim/>), se enumeran alrededor de 50 formas diferentes de estas patologías.

A. El complejo distrofina-glucano

Un sistema complejo de proteínas interconectadas unidas de manera no covalente en el sarcolema (membrana plasmática) de las células musculares presta la estabilidad celular durante el ejercicio extremo de contracción y relajación. Ellas conectan la matriz extracelular con las miofibrillas intracelulares, moléculas proteicas alargadas, alineadas en cadenas paralelas (miofilamentos). La más larga de las proteínas interconectadas, α -distroglicano (156 kDa), se localiza por fuera de la célula. Está conectada a la matriz extracelular mediante una proteína heterotrimérica, la laminina-2. El β -distroglicano (43 kDa) está anclado en el sarcolema y conectado a una serie de otras proteínas del citoesqueleto, que están divididas en los subcomplejos de sarcoglicano y sintrofina. Algunos miembros del complejo del sarcoglicano se relacionan con tipos específicos de distrofias musculares por mutaciones en los genes correspondientes.

La distrofina, una proteína grande y alargada, hace las veces de puente entre el citoesqueleto intracelular involucrado en los miofilamentos contráctiles y la matriz extracelular. Dos moléculas de distofinas conectan los complejos de distrofina-glucano vecinos. El extremo N-terminal de la distrofina está conectado a la F-actina de los miofilamentos finos (actina filamentosa). El extremo C-terminal de la distrofina está conectado al β -distroglicano y las sintofinas. (Esta ilustración muy esquemática está adaptada de Pasternak, 1998; Duggan y col., 1997; y de Nova-Castra *Immunohistochemistry Laboratories*, Newcastle upon Tyne, Reino Unido.)

B. Modelo de la molécula de distrofina

La distrofina, el miembro más grande de la superfamilia de las espectrinas, está compuesta por 3.685 aminoácidos (masa molecular de 427 kDa) que forman cuatro dominios funcionales: 1) El dominio de unión a la actina N-terminal de 336 aminoácidos; 2) 24 unidades largas repetitivas, cada una consti-

tuida por 88 a 126 aminoácidos de segmentos de triple hélice como en la espectrina; 3) un dominio rico en cisteína de 135 aminoácidos, que se une a las proteínas del sarcolema; y (4) el dominio C-terminal de 320 aminoácidos con sitios de unión a la sintrofina y la distrobrevina. Los segmentos de las triples hélices forman el dominio del eje central que mide 100-125 nm de largo. (Diagrama adaptado de Koenig y col., 1988.)

C. El gen de la distrofina

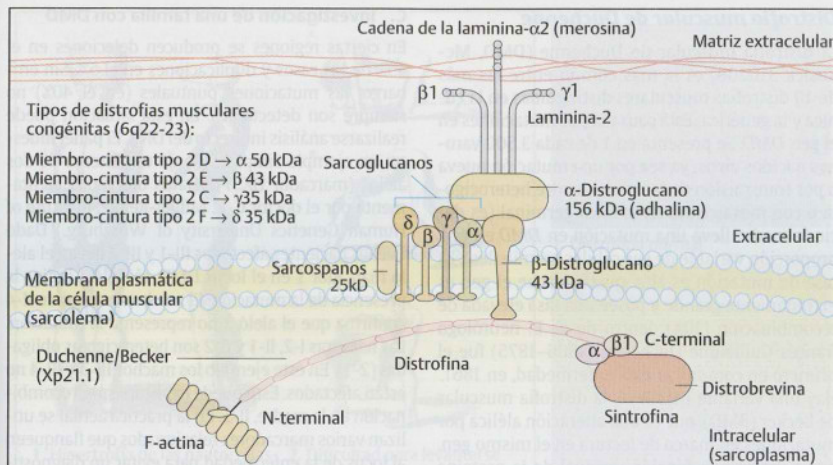
El gen de la *distrofina* humana (*DMD*) se localiza en el brazo corto del cromosoma X en la región 2, banda 1.1 (Xp21.1). La *distrofina* es por lejos el gen más grande conocido en el hombre; abarca 2,4 millones de pares de bases (2,4 Mb o 2.400 kb) en 79 exones (2). El transcripto grande *DMD* posee 14 kb. El gen de la distrofina posee por lo menos siete promotores intragénicos. El transcripto primario se empalma alternativamente en una variedad de diferentes mRNA que codifican para proteínas más pequeñas que las de las células musculares y que se expresan en otros tejidos, en especial en el sistema nervioso central.

D. Distribución de las deleciones en el gen de la distrofina

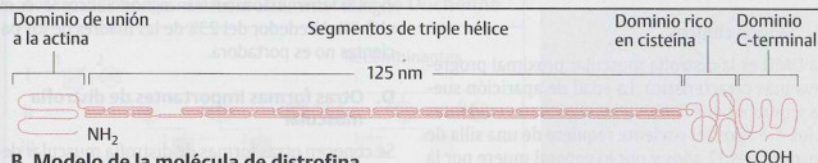
Las deleciones frecuentes en el gen *DMD* (60% de los pacientes) se distribuyen de manera irregular. Los exones 43-55 y 1-15, que corresponden aproximadamente al sitio de unión a la F-actina y al sitio de unión al distroglicano, son los involucrados con más frecuencia. También se producen duplicaciones (en el 6% de los pacientes) y mutaciones puntuales. (Figura provista generosamente por el profesor C. R. Müller-Reible, Würzburg.)

BIBLIOGRAFÍA

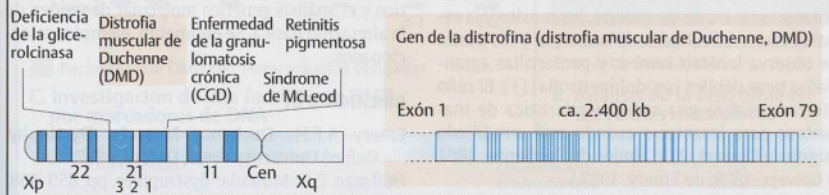
- Ahu. A.W., Kunkel. L.M.: The structural and functional diversity of dystrophin. *Nature Genet.* 3:283-291, 1993.
- Duggan, D.J., et al.: Mutations in the sarcoglycan genes in patients with myopathy. *New Eng. J. Med.* 336:618-624, 1997.
- Koenig, M., Monaco. A.P., Kunkel. L.M.: The complete sequence of dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein. *Cell* 53:219-228, 1988.
- Pasternak. J.J.: *An Introduction to Human Molecular Genetics*. Fitzgerald Science Press, Bethesda. Maryland. 1998.
- Worton, R.: *Muscular dystrophies: diseases of the dystrophin-glycoprotein complex*. *Science* 270:755-756, 1995.



A. El complejo de distrofina-glucano en la membrana plasmática de las células musculares

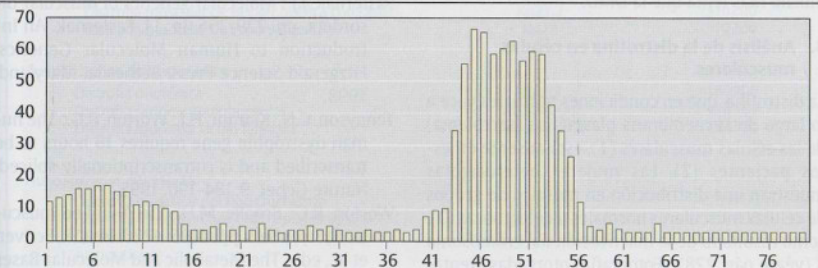


B. Modelo de la molécula de distrofina



1. Localización cromosómica, cromosoma X

C. El gen de la distrofina



D. Distribución de las deleciones en el gen de la distrofina

Distrofia muscular de Duchenne

La distrofia muscular de Duchenne (DMD, McKusick 310200) es la más común entre las más de 10 distrofias musculares distinguidas en la clínica y la genética. Está causada por mutaciones en el gen *DMD*. Se presenta en 1 de cada 3.500 varones nacidos vivos, ya sea por una mutación nueva o por transmisión de la de una madre heterocigota o con mosaicismo en la línea germinal (es decir, la madre lleva una mutación en *DMD* en una proporción variable de sus células germinales). La tasa de mutación es alta, quizá porque el gen es extrañamente grande y posee una tasa elevada de recombinación (10%) dentro de él. El neurólogo francés Guillaume Duchenne (1806-1875) fue el primero en comunicar esta enfermedad, en 1861. Hay una variante más leve, la distrofia muscular de Becker (BMD), que es una alteración alélica por mutaciones en marco de lectura en el mismo gen, que permite una función residual de la proteína distrofina.

A. Signos clínicos

La DMD es la distrofia muscular proximal progresiva más característica. La edad de aparición suele ser menor que 3 años y los signos son evidentes a los 4-5 años; el paciente requiere de una silla de ruedas a los 12 años y por lo general muere por la enfermedad hacia los 20 años. La debilidad muscular progresiva de las caderas, los muslos y la espalda causa dificultades en la marcha y los pasos. Se observa lordosis lumbar y pantorrillas agrandadas pero débiles (seudohipertrofia) (1). El niño afectado realiza una serie característica de maniobras para levantarse cuando está arrodillado (signo de Gowers, 2). (Dibujos de Duchenne, 1861 y Gowers, 1879, de Emery, 1987.)

En la distrofia tipo Becker, la edad de comienzo es más tardía y la enfermedad progresa en forma mucho más lenta que la DMD.

B. Análisis de la distrofina en células musculares

La distrofina, que en condiciones normales yace a lo largo de la membrana plasmática (sarcolema) de las células musculares (1), está ausente en estos pacientes (2). Las mujeres heterocigotas muestran una distribución en mosaico de grupos de células musculares normales y defectuosas (3), como resultado de la inactivación del cromosoma X (véase pág. 228). (Fotografías otorgadas atentamente por el doctor R. Gold, Departamento de Neurología, University of Würzburg.)

C. Investigación de una familia con DMD

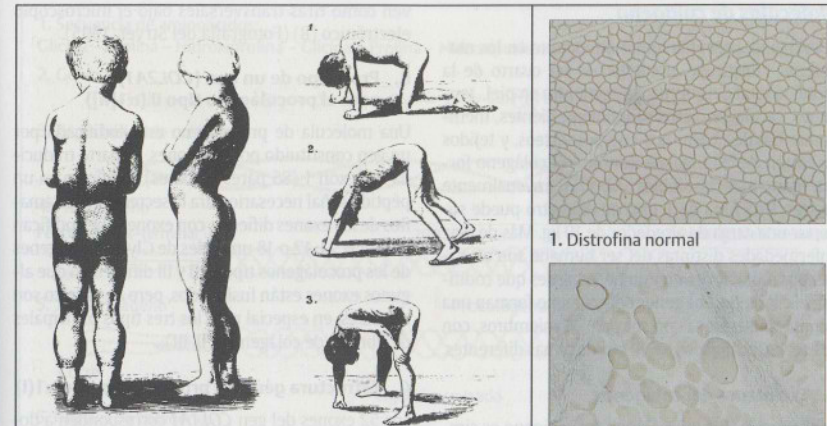
En ciertas regiones se producen deleciones en el 55% de los casos y duplicaciones en el 5%. Sin embargo, las mutaciones puntuales (en el 40%) no siempre son detectables. En esta situación puede realizarse análisis indirecto del DNA. El panel muestra un ejemplo simplificado de un sistema de dos alelos (marcador DXS7). (Datos otorgados atentamente por el doctor C. R. Müller-Reible, Institute of Human Genetics University of Würzburg.) Dado que los pacientes afectados III-1 y III-2 llevan el alelo marcador 1 en el locus DMD, el alelo 1 indica la presencia de la mutación. El macho no afectado II-4 confirma que el alelo 2 no representa la mutación. Las hembras I-2, II-1 y II-2 son heterocigotas obligadas (2-1). En este ejemplo los machos III-3 y III-4 no están afectados. Esto puede explicarse por recombinación en la madre, II-5. En la práctica actual se utilizan varios marcadores relacionados que flanquean al locus de la enfermedad para evitar un diagnóstico erróneo debido a una recombinación. Las heterocigotas femeninas muestran signos clínicos leves en el 2-3%. Alrededor del 23% de las madres de los pacientes no es portadora.

D. Otras formas importantes de distrofia muscular

Se conocen otras formas de distrofia muscular determinadas por vía genética. El curso, el diagnóstico y el análisis genético molecular dependen de la alteración básica. Se enumeran ejemplos seleccionados.

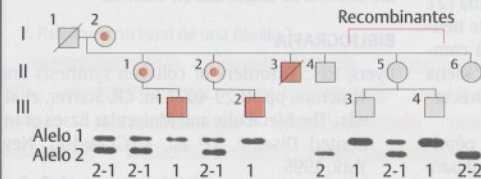
BIBLIOGRAFÍA

- Emery, A.E.H.: Duchenne Muscular Dystrophy. Oxford University Press, Oxford, 1987.
- Hoffman, E.P.: Muscular dystrophies. pp. 859-868. In: J.G. Jameson, ed., Principles of Molecular Medicine. Humana Press, Totowa, N.J., 1998.
- Pasternak, J.J.: Molecular genetics of muscular disorders. pp. 229-256. In: J.J. Pasternak, An Introduction to Human Molecular Genetics. Fitzgerald Science Press, Bethesda, Maryland, 1998.
- Tennyson, C.N., Klamut, H.J., Worton, R.G.: The human dystrophin gene requires 16 hours to be transcribed and is cotranscriptionally spliced. Nature Genet. 9:184-190, 1995.
- Worton, R.G., Brooke, M.H.: The X-linked muscular dystrophies. pp. 4195-4226. In: C.R. Scriver, et al., eds., The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed., McGraw-Hill, New York, 1995.



1. Hipertrofia de las pantorrillas y lordosis 2. Dificultad para levantarse (signo de Gower)

A. Signos clínicos de distrofia muscular de Duchenne



■ Pacientes con DMD ● Heterocigotas obligadas

C. Investigación de una familia con DMD por marcadores de DNA

Enfermedad	Localización cromosómica	N° McKusick
Del cromosoma X:		
Distrofia muscular de Duchenne	Xp21.2	310200
Distrofia muscular de Becker (alélica con DMD)	Xp21.2	310200
Distrofia muscular de Emery-Dreifuss	Xq28	310300
Autosómicas dominantes:		
Distrofia miotónica	19q13	160900
Distrofia facioescapulohumeral	4q35-qter	158900
Distrofia muscular oculo faríngea	Desconocida	164300
Autosómicas recesivas:		
Distrofia muscular del tipo Duchenne	13q12-13	253700
Distrofia muscular congénita tipo Fukuyama	9q31-33	253800
Distrofia muscular de los miembros y la cintura (varios tipos)	15q15-q22, otros loci	253600

D. Formas importantes de distrofia muscular hereditaria en el hombre

Moléculas de colágeno

El colágeno, la proteína más abundante en los mamíferos, constituye alrededor de un cuarto de la proteína total del cuerpo. Se encuentra en piel, tendones, cartílagos, vasos sanguíneos, dientes, membranas basales, córneas y cuerpos vítreos, y tejidos de sostén de los órganos internos. El colágeno forma filamentos insolubles (fibrillas) inusualmente fuertes. Una fibra de 1 mm de diámetro puede soportar una carga de alrededor de 10 kg. Más de diez enfermedades distintas del ser humano son causadas por mutaciones en uno de los genes que codifican el colágeno. Los genes del colágeno forman una familia multigénica con más de 28 miembros, con sus genes localizados en 12 cromosomas diferentes.

A. Estructura del colágeno

La secuencia de aminoácidos del colágeno es simple y periódica (1). Cada tres aminoácidos hay una glicina (Gly). Los otros aminoácidos se alternan con las glicinas. El motivo estructural general es (Gly-X-Y)_n. La X es una prolina o una hidroxiprolina; la Y es una lisina o una hidroxilisina (2). Tres cadenas de colágeno forman una triple hélice (3). En el colágeno tipo I, la hélice está compuesta por dos cadenas idénticas α1 y una cadena α2. Se forma primero como una molécula precursora, el procolágeno (4). Las procolágeno peptidasas remueven los péptidos en los extremos N-terminal y C-terminal para formar el tropocolágeno (5). Las moléculas de tropocolágeno están conectadas por numerosas prolinas hidroxiladas y residuos de lisinas para formar las fibrillas de colágeno (6). Cada fibrilla presenta filas paralelas escalonadas de moléculas de tropocolágeno unidas por los extremos y separadas por espacios (7). Las fibrillas de colágeno se

ven como tiras transversales bajo el microscopio electrónico (8) (Fotografía del Stryer, 1995).

B. Prototipo de un gen (COL2A1) para el procolágeno tipo II (α1[II])

Una molécula de procolágeno está codificada por un gen constituido por 52 exones. La parte traducida del exón 1 (85 pares de bases) codifica para un péptido señal necesario para la secreción. Los tamaños de los exones difieren, con exones que codifican para 5, 6, 11, 12 o 18 unidades de Gly-X-Y. Los genes de los procolágenos tipos I, II y III difieren en que algunos exones están fusionados, pero en el resto son similares, en especial para los tres tipos principales de fibrillas de colágeno (I, II, III).

C. Estructura génica y procolágeno tipo α1(I)

Los 52 exones del gen COL1A1 corresponden a dominios diferentes (A a G) de procolágeno α1(I). El gen COL1A2 para el procolágeno α2(I) es alrededor del doble de grande (~40 kb) que el gen COL1A1, porque los intrones entre los exones son en promedio el doble de largos que en COL1A1.

BIBLIOGRAFÍA

- Byers, P.H.: Disorders of collagen synthesis and structure, pp. 4029-4077. In: CR, Scriver, et al., eds., The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th ed, McGraw-Hill, New York, 1995.
- De Paepe, A.: Heritable collagen disorders: from phenotype to genotype. Verh. K. Acad. Geneesk. Belg. 65:463-482, 1998.
- Chu, M.-L., Prockop, D.J.: Collagen gene structure, pp. 149-165. In: P.M. Broyce, B. Steinmann, eds., Connective Tissue and Its Heritable Disorders. Wiley-Liss, New York, 1993.

Ejemplos de diferentes tipos de colágeno (cuatro de treinta y tres)

Tipo de colágeno	Gen	Localización	Cadena	Molécula	Distribución tisular
I	COL1A1	17q21-22	α1(I)	[α1(I)] ₂ α2(I)	Piel, tendones, hueso, arterias
	COL1A2	7q21-22			
II	COL2A1	12q13-14	α1(II)	[α1(II)] ₃	Cartílago, cuerpo vítreo
III	COL3A1	2q31-32	α1(III)	[α1(III)] ₃	Piel, arterias, útero
	COL3A2				
IV	COL4A1	13q33-34	α1(IV)	[α1(IV)] ₂ α2(IV)	Membranas basales
	COL4A2				
			(6 cadenas α)	[α2(IV)] ₃	

1. Secuencia de aminoácidos:

Glicina - Prolina - Hidroxiprolina - Glicina - Prolina - Hidroxiprolina - Glicina - Prolina - Hidroxiprolina -

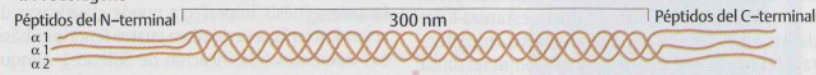
2. General:



3. Triple hélice de colágeno:



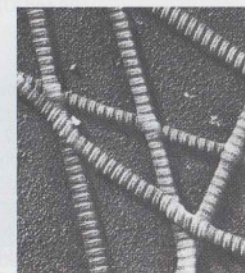
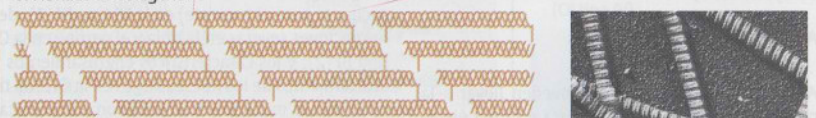
4. Procolágeno



5. Tropocolágeno



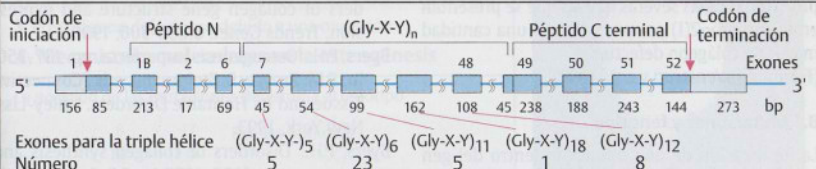
6. Fibrillas de colágeno:



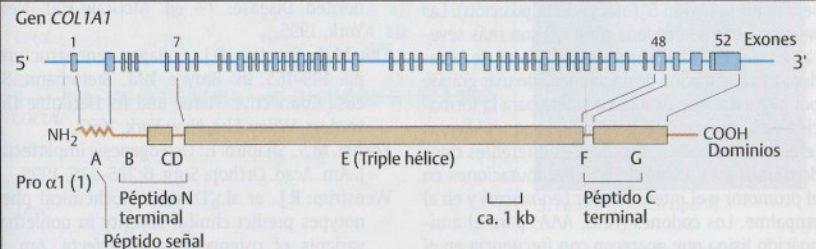
7. Patrón estructural de una fibrilla



A. Estructura del colágeno



B. Prototipo de un gen (COL2A1) para el procolágeno tipo II (α1[II])



C. Estructura génica y procolágeno tipo α1(I)

Osteogénesis imperfecta

La osteogénesis imperfecta (OI) ("enfermedad del hueso quebradizo") es un grupo heterogéneo de tipos de enfermedades diferentes en términos clínicos y genéticos, con una frecuencia total de al menos 1 cada 10.000 individuos. En las distintas formas se producen los siguientes signos con diferentes alcances y diversos grados de severidad, según el tipo de mutación: fracturas óseas espontáneas, deformaciones óseas, estatura baja, dentición defectuosa (dentinogénesis imperfecta), deterioro auditivo por formación defectuosa de los huesecillos del oído medio y esclerótica azul (la conjuntiva del ojo desarrollada por completo es más fina que lo normal, de modo que la luz refractada se torna azul). La presencia de OI se halló en una momia egipcia del siglo VII (cita de Byers, 1993).

A. Mecanismos moleculares en la osteogénesis

Algunos tipos de mutaciones pueden llevar a la producción reducida de pro α 1(I) (1 y 2), por ejemplo, la delección del alelo *COL1A1*, un defecto de la transcripción o del empalme (*splicing*), o la formación defectuosa de las fibrillas de colágeno. El exceso relativo de las moléculas de pro α 2(I) se degrada. Por ello se forma menos procolágeno que lo normal, pero no es defectuoso. Otros numerosos tipos de mutaciones pueden conducir a procolágeno defectuoso (3). Las mutaciones en el gen pro α 1(I) son más severas que las que se presentan en el gen pro α 2(I) porque se forma una cantidad mayor de colágeno defectuoso.

B. Mutaciones y fenotipo

La localización de una mutación dentro del gen influye en el fenotipo. En general las mutaciones en la región 3' son más serias que las que se presentan en la región 5' (efecto de la posición). Las mutaciones en la cadena pro α 1(I) son más severas que las de la cadena pro α 2(I) (efecto de la cadena). La sustitución de un aminoácido más grande por la glicina, que es indispensable para la formación de la triple hélice, lleva a alteraciones severas (efecto del tamaño). Se producen diferentes tipos de mutaciones, como delecciones, mutaciones en el promotor o el intensificador (*enhancer*) y en el empalme. Los codones (AAG, AAA) para el aminoácido lisina que aparecen con frecuencia en el colágeno, se transforman con rapidez en un co-

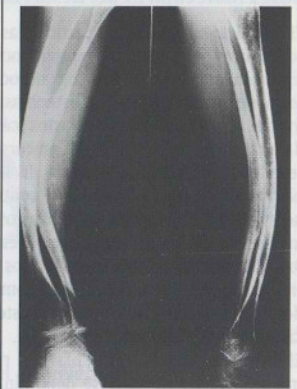
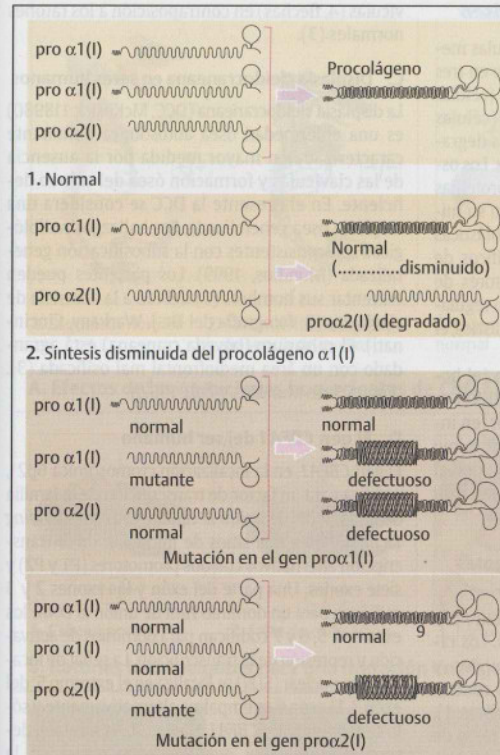
dón de terminación mediante la sustitución de la primera adenina por una timina (TAG o TAA), de modo que se forma un procolágeno corto e inestable. Las mutaciones del empalme pueden llevar a la pérdida de exones (salteado de un exón). (Figuras de Byers, 1990).

C. Diferentes formas de osteogénesis imperfecta

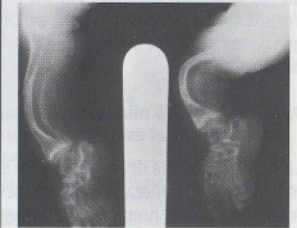
La osteogénesis imperfecta puede clasificarse de acuerdo con la severidad en cuatro fenotipos básicos diferentes (clasificación de Silience). Aunque la clasificación no se corresponda con los tipos de mutaciones, en general se probó que es útil para la clínica. Las OI tipo I y IV son menos severas que la de tipo II (mortal en la infancia) y la de tipo III. Tres radiografías muestran una deformación de la tibia y el peroné relativamente leve (aunque muy discapacitante para el paciente) en la OI tipo IV (1); deformaciones severas en la tibia y el peroné en la OI tipo III (2); y los característicos engrosamientos y acortamientos de los huesos largos en la OI letal tipo II (3). Las mutaciones en la OI son autosómicas dominantes; las formas severas son consecuencia de mutaciones *de novo*. Se mostró que el mosaïcismo de la línea germinal es considerable para los casos raros de los hermanos afectados que nacieron de padres no afectados.

BIBLIOGRAFÍA

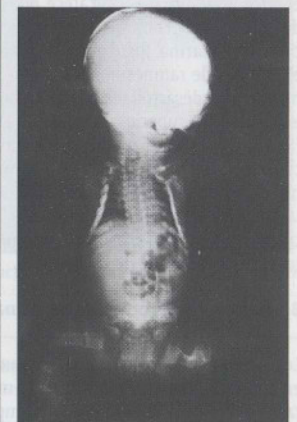
Byers, P.H.: Brittle bones-fragile molecules: disorders of collagen gene structure and expression. *Trends Genet.* 6:293-300, 1990.
 Byers, P.H.: Osteogenesis imperfecta, pp. 137-350. In: P.M. Broyce. B. Steinmann, eds., *Connective Tissue and Its Heritable Disorders*. Wiley-Liss, New York, 1993.
 Byers, P.H.: Disorders of collagen synthesis and structure, pp. 4029-4077. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.
 Chu, M.-L., Prockop, D.J.: Collagen gene structure, pp. 149-165. In: Broyce, P.M., Steinmann, B., eds., *Connective Tissue and Its Heritable Disorders*, Wiley-Liss, New York, 1993.
 Kocher, M.S., Shapiro, F.: Osteogenesis imperfecta. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* 6:225-236, 1998.
 Wenstrup, R.J., et al.: Distinct biochemical phenotypes predict clinical severity in nonlethal variants of osteogenesis imperfecta. *Am. J. Hum. Genet.* 46:975-982, 1990.



1. Deformación de los huesos (OI tipo IV)



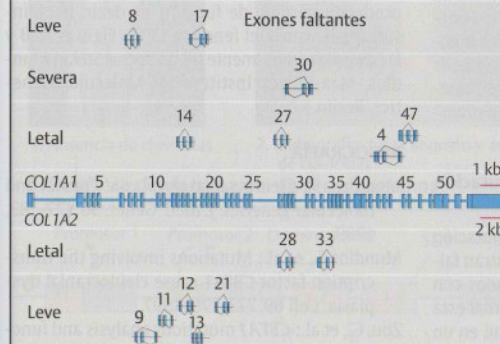
2. Deformación severa (OI tipo III)



3. Forma letal (OI tipo II)

A. Mecanismos moleculares en la osteogénesis

La posición de las mutaciones determina el fenotipo



B. Mutaciones y fenotipo

C. Diferentes formas de osteogénesis imperfecta

Bases moleculares del desarrollo óseo

El esqueleto se desarrolla a partir de las células mesodérmicas programadas para diferenciarse en tres tipos celulares especializados: condrocitos (células formadoras de cartilago), osteoblastos (células formadoras de hueso) osteoclastos (células degradadoras de hueso) y sus células precursoras. Los osteoblastos producen la mayoría de las proteínas para la matriz ósea extracelular y controlan su mineralización. El linaje de las células osteoblásticas involucra factores de transcripción específicos de los osteoblastos (FEOs). Uno de esos factores de transcripción se identificó en 1997 como un regulador importante de la diferenciación osteoblástica, el factor de unión al centro (*core*) *Cbfa1*.

El factor de transcripción *Cbfa1* del ratón (el homólogo del ser humano se denomina *CBFA1*) es un miembro de la familia del dominio *runt* (en inglés, o *enano* en español). El *runt* es un dominio de unión al DNA homólogo al producido por el gen de regla del par (en inglés *pair rule gene*) *runt* de *Drosophila*.

A. Efectos de las mutaciones homocigotas de *Cbfa1* en el esqueleto de ratón

La ruptura dirigida del gen *Cbfa1* en el estado homocigoto ($-/-$) genera un fenotipo severo. Los ratones mutantes homocigotos son pequeños y mueren al nacer por paro respiratorio. Al contrario de lo que sucede con ratones normales ($+/+$, 1), el ratón mutante ($-/-$, 2) carece por completo de desarrollo óseo, como se muestra por falta de tinción con alizarina. Justo antes del nacimiento, los embriones de ratones normales $+/+$ (3) muestran huesos bien desarrollados (teñidos de rojo) en las extremidades superiores, incluidas las clavículas (flechas) y las tuberosidades de los húmeros (círculo). El ratón heterocigoto ($+/-$, 4) muestra hipoplasia severa y osificación reducida de los huesos largos. El ratón mutante homocigoto ($-/-$, 5) carece por completo de formación ósea, como se muestra mediante la falta de tinción roja.

B. Ratones heterocigotos para una mutación en el gen *Cbfa1*

Los ratones heterocigotos ($+/-$) para una mutación en el gen *Cbfa1* en el cromosoma 17 muestran falta de osificación del cráneo (2) comparados con los normales (1). El hueso calcificado normal está teñido de rojo por el rojo de alizarina, aquí en un embrión del día 17,5, tres días y medio antes de nacer. El cartilago está teñido de azul por el azul alciano. Los ratones heterocigotos carecen de cla-

vículas (4, flechas) en contraposición a los ratones normales (3).

C. Displasia cleidocraneana en seres humanos

La displasia cleidocraneana (DCC, McKusick 118980) es una enfermedad ósea autosómica dominante caracterizada en mayor medida por la ausencia de las clavículas y formación ósea del cráneo deficiente. En el presente la DCC se considera una displasia ósea generalizada. Los hallazgos radiológicos son consistentes con la subosificación generalizada (Mundlos, 1999). Los pacientes pueden enfrentar sus hombros (1) debido a la ausencia de clavículas (2; fotografía del Dr. J. Warkany, Cincinnati). El calvarium (bóveda craneana) está agrandado con un área mediofrontal mal osificada (3). (Figura 3 de Mundlos y col., 1997.)

D. El gen *CBFA1* del ser humano

El gen *CBFA1*, en la localización cromosómica 6p21, codifica para un factor de transcripción de la familia de los factores de unión al centro (CBF, *core binding factors*). Posee dos sitios de iniciación de la transcripción alternativos con dos promotores (P1 y P2) y siete exones. Una parte del exón y los exones 2 y 3 codifican para un dominio *runt* de unión al DNA; los exones 4, 5, 6 y 7 codifican para dominios de activación y represión de la transcripción. La señal de localización nuclear (SLN) se localiza en el extremo 5' del exón 3. El exón 6 se empalma alternativamente y sólo se encuentra en *CBFA1*. El gen *CBFA1* también desempeña un papel regulador importante en la diferenciación condrocítica durante la formación ósea endocondrial (Mundlos, 1999). Como tal, funciona como un "gen maestro" en el desarrollo óseo. Se halló una amplia gama de mutaciones; todas producen pérdida de función, es decir, haploinsuficiencia causa el fenotipo CCD. (Figuras A, B y D otorgadas atentamente por el doctor Stefan Mundlos, Max-Planck Institute for Molecular Genetics, Berlín.)

BIBLIOGRAFÍA

- Mundlos, S.: Cleidocranial dysplasia: clinical and molecular genetics. *J. med. Genet.* 36:177-182, 1999.
- Mundlos S., et al.: Mutations involving the transcription factor *CBFA1* cause cleidocranial dysplasia. *Cell* 89:773-779, 1997.
- Zou, G., et al.: *CBFA1* mutations analysis and functional correlation with phenotypic variability in cleidocranial dysplasia. *Hum. Mol. Genet.* 8:2311-2316, 1999.



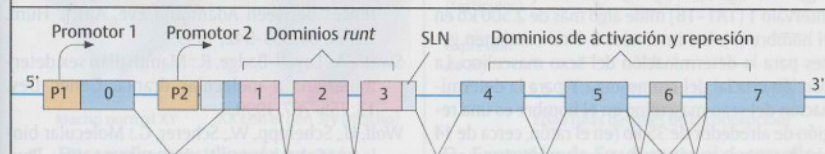
A. Efectos de las mutaciones homocigotas de *Cbfa1* en el esqueleto de ratón



B. Ratones heterocigotos para una mutación en el gen *Cbfa1*



C. Displasia cleidocraneana en seres humanos



D. El gen *CBFA1* humano

Determinación y diferenciación sexual de los mamíferos

Determinación del sexo

En la década de 1940 el embriólogo francés Alfred Jost observó que cuando se le extirpaban las gónadas indiferenciadas al feto de un conejo macho antes de que hubiera comenzado el desarrollo masculino, éste se desarrollaba como una hembra. En 1959 el análisis cromosómico de dos alteraciones en el hombre, los síndromes de Turner y de Klinefelter, dieron lugar a la primera evidencia de que existían factores genéticos del cromosoma Y de los mamíferos importantes para la determinación del sexo masculino. Hay un gen específico en el cromosoma Y de los mamíferos (*SRY*, *sex related Y* o *Y* relacionado al sexo) que induce el desarrollo sexual masculino durante la embriogénesis (determinación del sexo).

A. Determinación del fenotipo masculino por el cromosoma Y

Los individuos con síndrome de Turner sólo poseen un cromosoma X (sin cromosoma Y) y un fenotipo femenino, aunque desarrollado de manera incompleta y por lo general acompañado por malformaciones. Los individuos con el síndrome de Klinefelter poseen dos cromosoma X, un cromosoma Y y un fenotipo masculino, aunque también desarrollado en forma incompleta (pág. 402).

B. Región determinante del sexo (SRY) en el cromosoma Y

La región relevante en el hombre yace en el brazo corto distal del cromosoma Y en Yp11.32. El brazo corto y la mitad proximal del brazo largo del cromosoma Y se dividieron en siete intervalos (2). La región más distal del brazo corto es la pseudoautosómica 1 (PAR 1, *pseudoautosomal region 1*). Ésta es homóloga al segmento distal del brazo corto del cromosoma X. Aquí se produce el apareamiento homólogo durante la meiosis con la recombinación cruzada (*crossing over*). El mapa físico de la región pseudoautosómica y la mitad proximal del intervalo 1 (1A1-1B) mide algo más de 2.500 kb en el hombre (3). Los intervalos 2-7 no contienen genes para la determinación del sexo masculino. La porción crucial del cromosoma Y para la determinación del sexo masculino en el hombre es una región de alrededor de 35 kb (en el ratón, cerca de 14 kb) designada como *Sry* (*sex related Y chromosomal region*, región cromosómica de Y relacionada

con el sexo) en el intervalo 1A1 proximal a la región pseudoautosómica (1). (De U. Wolf y col., 1992.)

C. Desarrollo masculino de un ratón XX transgénico para el gen *Sry*

Las observaciones clínicas y la evidencia experimental indican que la presencia de *SRY* induce el desarrollo masculino, con independencia de la presencia del resto del cromosoma Y. Un ratón transgénico cromosómicamente femenino (XX) muestra desarrollo masculino normal luego del implante de un fragmento de DNA de 14 kb que porta la región *Sry* de un cromosoma Y de ratón, dentro de su blastocisto. (Figura de Koopman y col., 1991.)

D. Expresión de *Sry* durante el desarrollo embrionario de las gónadas

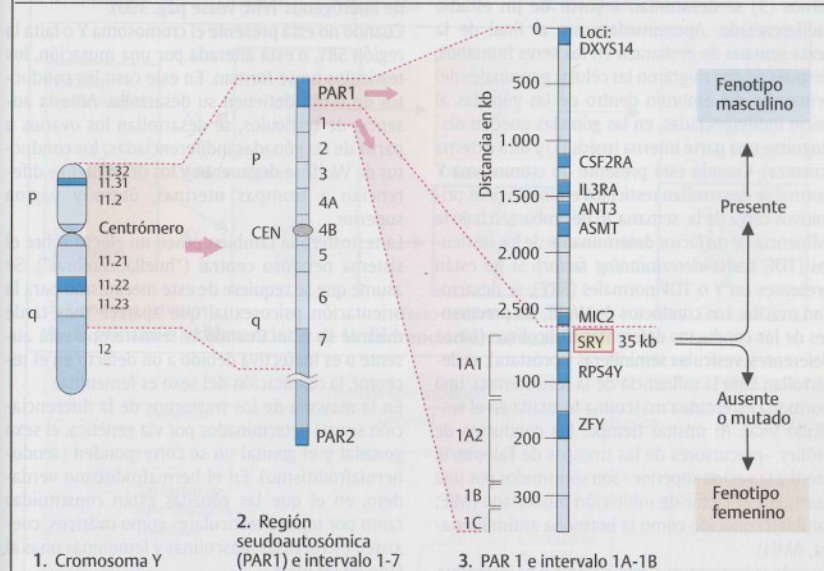
Durante el desarrollo embrológico de un ratón XY, *Sry* sólo se expresa entre los días 10,5 y 12,5. Los acontecimientos subsiguientes que conducen al desarrollo masculino se inician durante este tiempo de expresión breve. (Figura de Koopman y Gubbay, 1991.)

BIBLIOGRAFÍA

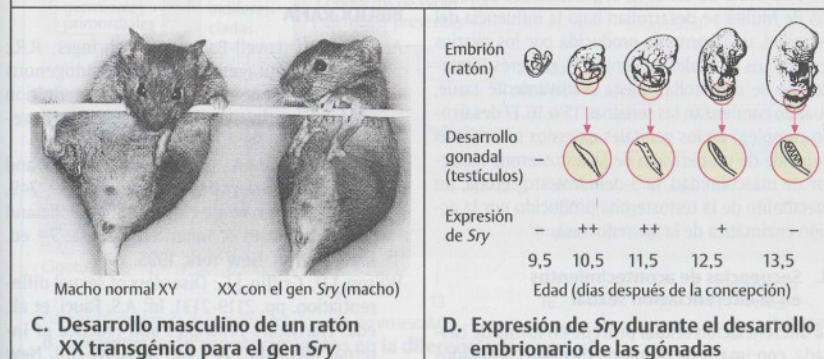
- Cameron, F., Sinclair A.H.: Mutations in *SRY* and *SOX9*: testis-determining genes. *Hum. Mutat.* 9:388-395, 1997.
- Goodfellow, P.N., Camerino, G.: *DAX-1*, an "anti-testis" gene. *Cell Mol. Life Sci.* 55:857-863, 1999.
- Hargraev, T.B.: Understanding the Y chromosome. *Lancet* 354:1746-1747, 1999.
- Koopman, P., Gubbay J.: The biology of *Sry*. *Seminars Develop. Biol.* 2:259-264, 1991.
- Koopman, P., et al.: Male development of chromosomally female mice transgenic for *Sry*. *Nature* 351:117-121, 1991.
- McElreavey, K., Fellous, M.: Sex determination and the Y chromosome. *Am. J. Med. Genet.* (Semin. Med. Genet.) 89:176-185, 1999.
- Roberts, L.M., Shen, J., Ingraham, H.A.: New solutions to an ancient riddle: Defining the differences between Adam and Eve. *Am. J. Hum. Genet.* 65:933-942, 1999.
- Swain, A., Lovell-Badge, R.: Mammalian sex determination: a molecular drama. *Genes Dev.* 13:755-767, 1999.
- Wolf, U., Schempp, W., Scherer, G.: Molecular biology of the human Y chromosome. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 121:148-213, 1992.

Sin presencia del cromosoma Y		Cromosoma Y presente	
45, XO	46, XX	46, XY	47, XXY
Sólo un cromosoma X			Cromosoma X adicional
Síndrome de Turner hembra	Normal hembra	Normal macho	Síndrome de Klinefelter macho

A. Determinación del fenotipo masculino por el cromosoma Y



B. Región determinante del sexo (SRY) en el cromosoma Y



C. Desarrollo masculino de un ratón XX transgénico para el gen *Sry*

D. Expresión de *Sry* durante el desarrollo embrionario de las gónadas

Diferenciación sexual

La diferenciación sexual (desarrollo de un sexo determinado) implica muchos pasos jerárquicos del desarrollo regulados por vía genética. En los mamíferos, el desarrollo de las estructuras masculinas requiere la inducción de los genes apropiados.

A. El principio indiferenciado de la diferenciación sexual

Las gónadas (1), los conductos deferentes (mesonéfricos y paramesonéfricos) (2) y los genitales externos (3) se desarrollan a partir de un estadio indiferenciado. Aproximadamente al final de la sexta semana de embarazo en los seres humanos, después de que migraron las células germinales del primordio del embrión dentro de las gónadas al inicio indiferenciadas, en las gónadas pueden distinguirse una parte interna (médula) y otra externa (corteza). Cuando está presente un cromosoma Y normal se desarrollan testículos embriológicos primitivos cerca de la semana 10 de embarazo bajo la influencia de un factor determinante de los testículos (TDF, *testis-determining factor*). Si no están presentes un Y o TDF normales (SRY), se desarrollan ovarios. Los conductos de Wolff, los precursores de los conductos deferentes masculinos (vasos deferentes, vesículas seminales y próstata), se desarrollan bajo la influencia de la testosterona, una hormona esteroidea masculina formada en el testículo fetal. Al mismo tiempo, los conductos de Müller—precursores de las trompas de Falopio, el útero y la vagina superior—son suprimidos por una hormona, el factor de inhibición mülleriano (MIF; también conocido como la hormona antimülleriana, AMH).

Cuando la testosterona está ausente o es inefectiva, los conductos de Wolff se degeneran. Los conductos de Müller se desarrollan bajo la influencia del estradiol, una hormona producida por los ovarios fetales. Los genitales externos (3) en seres humanos no se desarrollan hasta relativamente tarde, cuando comienzan las semanas 15 o 16. El desarrollo completo de los genitales externos masculinos depende de un derivado de la testosterona inductor de masculinidad, la 5-dehidrotestosterona, un metabolito de la testosterona producido por la acción enzimática de la 5 α -reductasa.

B. Secuencias de acontecimientos en la diferenciación sexual

La diferenciación sexual procede en forma de cascada, con una serie de pasos sucesivos regulados en el tiempo en distintos niveles de diferencia-

ción. Después de que las células germinales del primordio migren hacia las gónadas indiferenciadas, se desarrollan los testículos embriológicos primitivos bajo la influencia del factor determinante del testículo (TDF) si hay un cromosoma Y. El TDF es idéntico a las secuencias específicas Y de la región SRY (véase pág. 386). Durante la diferenciación masculina normal, el desarrollo ulterior de los conductos de Müller está suprimido por el factor de inhibición mülleriano. La testosterona sólo puede ejercer su efecto ante la presencia de un receptor intracelular apropiado (el receptor de andrógenos TFM, véase pág. 390).

Cuando no está presente el cromosoma Y o falta la región SRY, o está alterada por una mutación, los testículos no se forman. En este caso los conductos de Wolff detienen su desarrollo. Ante la ausencia de testículos, se desarrollan los ovarios a partir de las gónadas indiferenciadas; los conductos de Wolff se degeneran y los de Müller se diferencian a trompas uterinas, útero y vagina superior.

La testosterona también posee un efecto sobre el sistema nervioso central (“huella cerebral”). Se asume que se requiere de este mecanismo para la orientación psicosexual que aparece más tarde durante la vida. Cuando la testosterona está ausente o es inefectiva debido a un defecto en el receptor, la orientación del sexo es femenina.

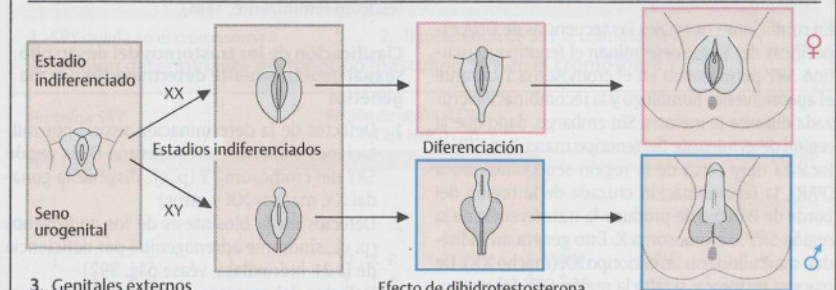
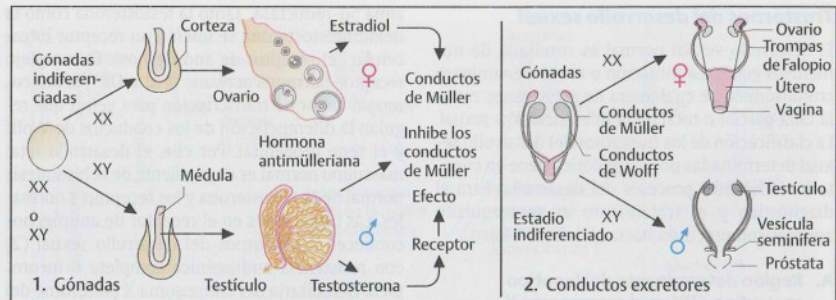
En la mayoría de los trastornos de la diferenciación sexual determinados por vía genética, el sexo gonadal y el genital no se corresponden (seudohermafroditismo). En el hermafroditismo verdadero, en el que las gónadas están constituidas tanto por tejidos testiculares como ováricos, coexisten estructuras masculinas y femeninas unas al lado de las otras.

BIBLIOGRAFÍA

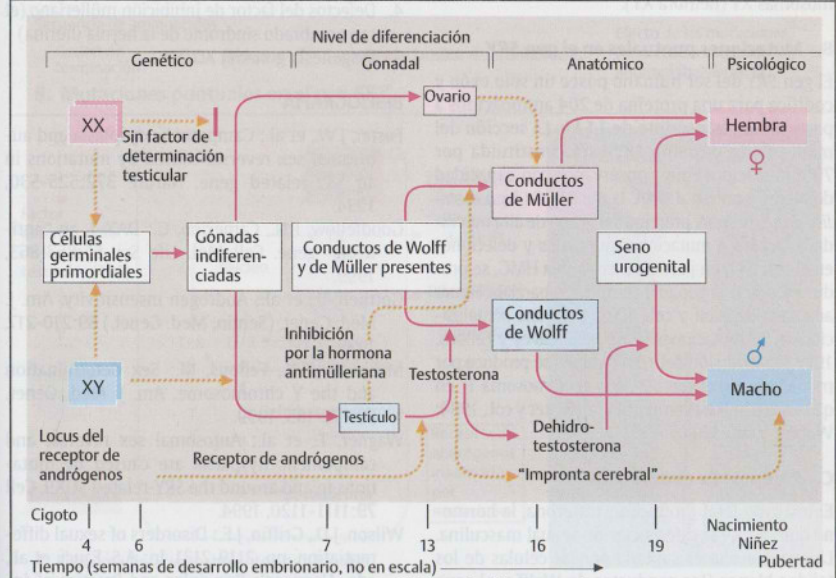
Arango, N.A., Lovell-Badge, R., Behringer, R.R.: Targeted mutagenesis of the endogenous mouse *Mis* gene promoter: in vivo definition of genetic pathways of vertebrate sexual development. *Cell* 99:409-419, 1999.

Ferguson-Smith, M.A., Goodfellow, P.N.: SRY and primary sex-reversal syndromes, pp. 739-749. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.

Wilson, J.D., Griffin, J.E.: Disorders of sexual differentiation, pp. 2119-2131. In: A.S. Fauci, et al., eds., *Harrison's Principles and Practice of Internal Medicine*. 14th ed., McGraw-Hill, New York, 1998.



A. El principio indiferenciado de la diferenciación sexual



B. Secuencias de acontecimientos en la diferenciación sexual

Genético | Gonadal | Anatómico | Psicológico

Cigoto | 4 | 6 | 7 | 13 | 16 | 19 | Nacimiento | Pubertad

Tiempo (semanas de desarrollo embrionario, no en escala)

Trastornos del desarrollo sexual

El desarrollo sexual normal es resultado de numerosos genes. La mutación o el reordenamiento cromosómico de cualquiera de estos genes causa la falla parcial o total de la diferenciación sexual. La clasificación de los trastornos del desarrollo sexual determinadas por vía genética tiene en cuenta los diferentes procesos del desarrollo. Para el diagnóstico y el tratamiento es prerequisite apuntar con precisión hacia el defecto básico.

A. Región determinante del fenotipo masculino SRY en el cromosoma Y

En condiciones normales las secuencias de DNA específicas del Y que determinan el fenotipo masculino SRY permanecen en el cromosoma Y durante el apareamiento homólogo y la recombinación cruzada durante la meiosis. Sin embargo, dado que la región determinante del fenotipo masculino SRY se localiza muy cerca de la región pseudoautosómica (PAR), la recombinación cruzada de la región del borde de PAR puede producir la transferencia de la región SRY al cromosoma X. Esto genera un individuo masculino con un cariotipo XX (macho XX). De manera recíproca, si falta la región SRY del cromosoma Y se genera un fenotipo femenino con cromosomas XY (hembra XY).

B. Mutaciones puntuales en el gen SRY

El gen SRY del ser humano posee un solo exón y codifica para una proteína de 204 aminoácidos a partir de un transcrito de 1,1 kb. La sección del medio de la proteína SRY está constituida por 79 aminoácidos muy conservados con capacidad de plegar y unirse al DNA, la caja HMG (*high mobility group protein*, proteína del grupo de alta movilidad). Debido a mutaciones puntuales y deleciones en el gen SRY, en particular en la caja HMG, se produce disgenesia gonadal completa o parcial. (Figura adaptada de Wolf y col., 1992; para una actualización de las mutaciones véase McElreavey y Fellous, 1999.) La inversión del sexo también se produce por mutaciones en el gen SOX9 en el cromosoma 17 en q24 en la displasia campomélica. (Foster y col., 1994; Wagner y col., 1994.)

C. Receptor de andrógenos

El testículo fetal produce testosterona, la hormona que induce la diferenciación sexual masculina. La testosterona es captada por las células de los tejidos blanco (los conductos de Wolff y el seno urogenital) (1). En el seno urogenital, se convierte en dehidrotestosterona (DHT) por acción de la en-

zima 5 α -reductasa. Tanto la testosterona como la dehidrotestosterona se unen a un receptor intracelular (el receptor de andrógenos). El complejo receptor-hormona activado (TR* o DR*) actúa como un factor de transcripción para genes que regulan la diferenciación de los conductos de Wolff y el seno urogenital. Por ello, el desarrollo fetal masculino normal es dependiente de la biosíntesis normal de la testosterona y los receptores normales. Las mutaciones en el receptor de andrógenos conducen a trastornos del desarrollo sexual (2) con resistencia androgénica completa o incompleta hereditaria del cromosoma X (síndrome del testículo feminizante, TFM).

Clasificación de los trastornos del desarrollo sexual genéticamente determinados por vía genética

1. Defectos de la determinación sexual por mutaciones o aberración estructural de la región SRY del cromosoma Y (p. ej., disgenesia gonadal XY, machos XX y otros)
2. Defectos en la biosíntesis de los andrógenos (p. ej., síndrome adrenogenital por deficiencia de la 21-hidroxilasa, véase pág. 392)
3. Defectos del receptor de andrógenos (síndrome del testículo feminizante)
4. Defectos del factor de inhibición mülleriano (el tan nombrado síndrome de la hernia uterina)
5. Disgenesia gonadal XO/XY.

BIBLIOGRAFÍA

Foster, J.W., et al.: Campomelic dysplasia and autosomal sex reversal caused by mutations in an SRY-related gene. *Nature* 372:525-530, 1994.

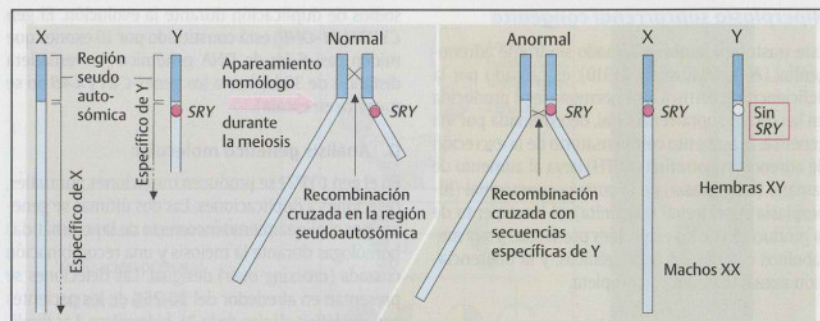
Goodfellow, P.N., Camerino, G.: DAX-1, an "anti-testis" gene. *Cell Mol. Life Sci.* 55:857-863, 1999.

Gottlieb, B., et al.: Androgen insensitivity. *Am. J. Med. Genet. (Semin. Med. Genet.)* 89:210-217, 1999.

McElreavey, K., Fellous, M.: Sex determination and the Y chromosome. *Am. J. Med. Genet.* 89:176-185, 1999.

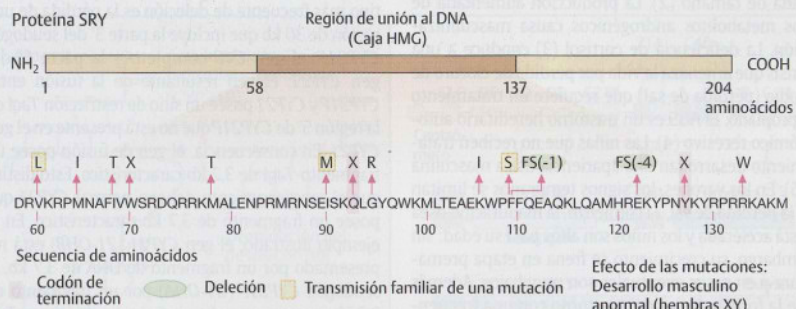
Wagner, T., et al.: Autosomal sex reversal and campomelic dysplasia are caused by mutations in and around the SRY-related SOX9. *Cell* 79:1111-1120, 1994.

Wilson, J.D., Griffin, J.E.: Disorders of sexual differentiation, pp. 2119-2131. In: A.S. Fauci, et al., eds., *Harrison's Principles and Practice of Internal Medicine*. 14th ed., McGraw-Hill, New York, 1998.

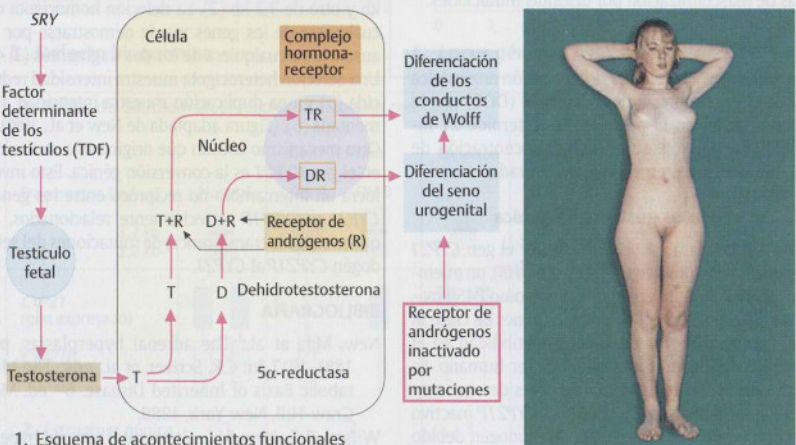


1. SRY queda en el cromosoma Y 2. Transferencia de SRY al cromosoma X

A. Región determinante del fenotipo masculino SRY en el cromosoma Y

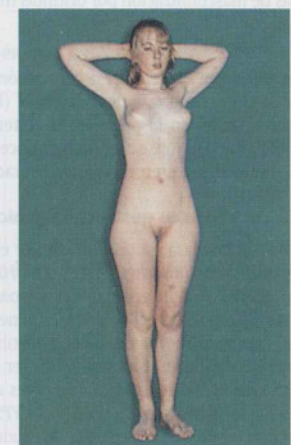


B. Mutaciones puntuales en el gen SRY



1. Esquema de acontecimientos funcionales

C. Receptor de andrógenos y TFM



2. Fenotipo

Hiperplasia suprarrenal congénita

Este trastorno, también llamado síndrome adrenogenital (AGS, McKusick 201910), es causado por la deficiencia de cortisol, una hormona fetal producida en la corteza suprarrenal fetal, determinada por vía genética. El aumento compensatorio de la excreción de adrenocorticotrofina (ACTH) lleva al aumento de tamaño (hiperplasia) de la corteza suprarrenal (hiperplasia suprarrenal congénita), el incremento de la producción de los esteroides prenatales y sus metabolitos con efectos androgénicos, y la diferenciación sexual femenina incompleta.

A. Fenotipo clínico y genética

Las niñas nacen con genitales ambiguos o virilizados (1). La corteza suprarrenal se encuentra aumentada de tamaño (2). La producción aumentada de los metabolitos androgénicos causa masculinización. La deficiencia de cortisol (3) conduce a una crisis que amenaza la vida por pérdida de cloruro de sodio (pérdida de sal) que requiere un tratamiento apropiado. El AGS es un trastorno hereditario autosómico recesivo (4). Las niñas que no reciben tratamiento desarrollan una apariencia física masculina (5). En los varones, los signos tempranos se limitan a la pérdida de sal. Al comienzo, la maduración ósea está acelerada y los niños son altos para su edad; sin embargo, su crecimiento se frena en etapa prematura y en casos eventuales son muy bajos. Además de la forma clásica del trastorno con una frecuencia de 1:5.000, hay otras formas menos pronunciadas de masculinización por distintas mutaciones.

B. Defecto bioquímico

Se encuentra aumentada la conversión enzimática de la progesterona a desoxicortisol (DOC) por la hidroxilación en la posición 21 (esteroide 21-hidroxilasa). En consecuencia, la concentración de 17-hidroxiprogesterona está aumentada.

C. Locus génico y estructura génica

La 21-hidroxilasa está codificada por el gen *CYP21* (formalmente llamado *CYP21B* y *21-OHB*), un miembro de la familia de genes de la citocromo P450 oxidasa. Este gen se localiza entre los genes de clase III del complejo mayor de histocompatibilidad en el brazo corto del cromosoma 6 del ser humano. Es parte del orden en tándem de a pares de otros tres genes: los activos *C4A* y *C4B* y el *CYP21P* inactivo con un 96-98% de homología, un pseudogén debido a deleciones intragénicas que provocan codones de terminación (formalmente denominado *CYP21A* o *21-OHA*). Estos genes se originaron a partir de epi-

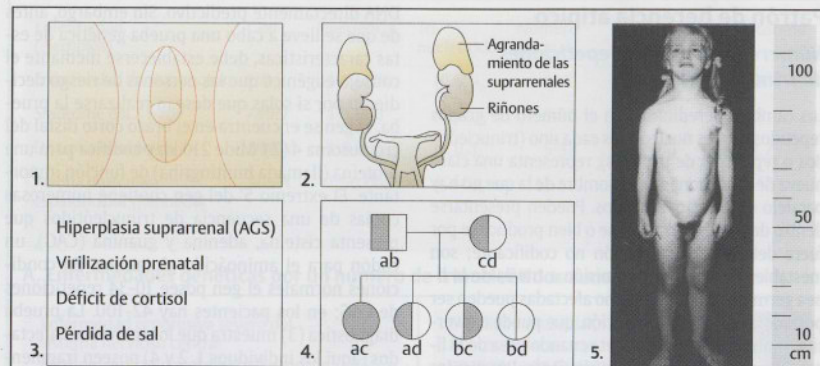
sodios de duplicación durante la evolución. El gen *CYP21* (*21-OHB*) está constituido por 10 exones que miden casi 6 kb de DNA genómico (la verdadera distancia de 30 kb hasta los genes *C4A* y *C4B* no se muestra en escala).

D. Análisis genético molecular

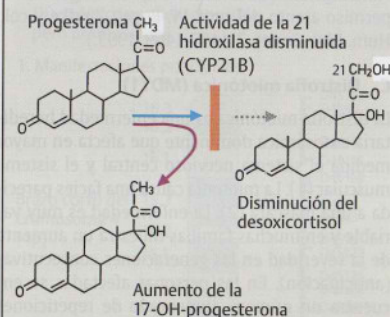
En el gen *CYP21* se producen mutaciones puntuales, deleciones y duplicaciones. Las dos últimas se generan por el alineamiento incorrecto de las cromátidas homólogas durante la meiosis y una recombinación cruzada (*crossing over*) desigual. Las deleciones se presentan en alrededor del 20-25% de los pacientes con un déficit clásico de la 21-hidroxilasa. Las duplicaciones no poseen consecuencias clínicas. Las deleciones y las duplicaciones pueden detectarse con facilidad mediante el análisis por Southern blot. El tipo más frecuente de deleción es la pérdida de una región de 30 kb que incluye la parte 3' del pseudogén *CYP21P*, el gen *C4B* completo y la parte 5' del gen *CYP21*. El gen resultante de la fusión entre *CYP21P* y *CYP21* posee un sitio de restricción *TaqI* en la región 5' de *CYP21P* que no está presente en el gen *CYP21*. En consecuencia, el gen de fusión posee un fragmento *TaqI* de 3,2 kb característico. Esto distingue el reordenamiento del gen normal *CYP21* que posee un fragmento de 3,7 kb característico. En el ejemplo ilustrado, el gen *CYP21* (*21-OHB*) está representado por un fragmento de DNA de 3,7 kb, el pseudogén *CYP21P* (*21-OHA*) por un fragmento de 3,2 kb, que aparecen luego de la digestión con *TaqI* (1). Por eso, el patrón normal es un fragmento de 3,7 kb y otro de 3,2 kb (2). La deleción homocigota de cualquiera de los genes puede demostrarse por la ausencia de cualquiera de los dos fragmentos (3, 4). Una deleción heterocigota muestra intensidad reducida (5) y una duplicación muestra intensidad aumentada (6). (Figura adaptada de New et al., 1989.) Otro mecanismo común que origina una mutación en el gen *CYP21* es la conversión génica. Esto involucra un intercambio no recíproco entre los genes *CYP21* y *CYP21P* estrechamente relacionados, lo que provoca la transferencia de mutaciones del pseudogén *CYP21P* al *CYP21*.

BIBLIOGRAFÍA

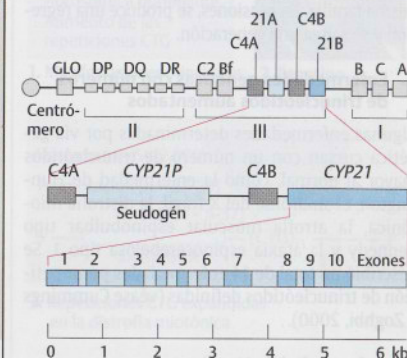
- New, M.I., et al.: The adrenal hyperplasias, pp. 1881-1917. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. 6th ed. McGraw-Hill, New York, 1989.
- Wilson, R.C., New, M.I.: Congenital adrenal hyperplasia, pp. 481-493. In: J.L. Jameson, ed., *Principles of Molecular Medicine*. Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.



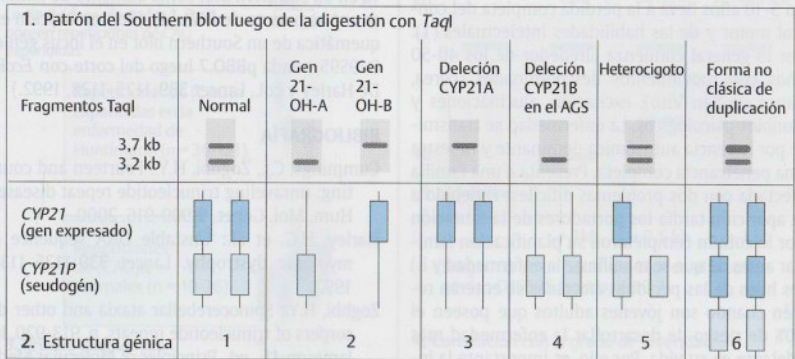
A. Fenotipo clínico y genética formal



B. Defecto bioquímico



C. Locus génico y estructura génica



D. Análisis genético molecular

Patrón de herencia atípico

Número inestable de repeticiones de trinucleótidos

Los cambios hereditarios en el número de grupos repetidos de tres nucleótidos cada uno (trinucleótidos o repetición de tripletes), representa una clase nueva de mutaciones en el hombre de la que no hay paralelo en otros organismos. Pueden presentarse dentro de un gen y traducirse o bien producirse por fuera del gen en una región no codificante; son inestables durante la transmisión a través de la línea germinal. Las personas no afectadas pueden ser portadoras de una premutación, que puede convertirse a una mutación completa cuando pasa de la línea germinal a la generación siguiente. Por eso, los efectos de la mutación difieren en cuanto a la severidad en los miembros afectados dentro de una misma familia. En ocasiones, se produce una regresión y se saltea una generación.

A. Enfermedades genéticas con números de trinucleótidos aumentados

Algunas enfermedades determinadas por vía genética cursan con un número de trinucleótidos mayor al normal, como la enfermedad de Huntington, el síndrome del X frágil, la distrofia miotónica, la atrofia muscular espinobulbar tipo Kennedy y la ataxia espinocerebelosa tipo 1. Se describió un total de 14 enfermedades por repetición de trinucleótidos definidas (véase Cummings y Zoghbi, 2000).

B. Enfermedad de Huntington

Se trata de una enfermedad cerebral progresiva. En 5-10 años lleva a la pérdida completa del control motor y de las habilidades intelectuales (1). Por lo general comienza alrededor de los 40-50 años con movimientos descoordinados (corea, danza de San Vito), excitación, alucinaciones y cambios psicológicos. La enfermedad se transmite por herencia autosómica dominante y muestra una penetrancia completa. Presenta a una familia afectada con dos problemas difíciles: i) debido a la aparición tardía los portadores de la mutación por lo común completaron su planificación familiar antes de que se manifieste la enfermedad y ii) los hijos de las personas afectadas se enteran recién cuando son jóvenes adultos que poseen el 50% de riesgo de desarrollar la enfermedad más adelante en su vida. Por ello, es importante la introducción de un procedimiento diagnóstico del

DNA directamente predictivo. Sin embargo, antes de que se lleve a cabo una prueba genética de estas características, debe establecerse mediante el consejo eugénico que las personas de riesgo decidieron por sí solas que desean realizarse la prueba. El gen se encuentra en el brazo corto distal del cromosoma 4 (2). Mide 210 kb y codifica para una proteína (llamada huntingtina) de función importante. El extremo 5' del gen contiene numerosas copias de una secuencia de trinucleótidos que presenta cisteína, adenina y guanina (CAG), un codón para el aminoácido glutamina. En condiciones normales el gen posee 10-34 repeticiones de CAG; en los pacientes hay 42-100. La prueba diagnóstica (3) muestra que los individuos afectados (aquí los individuos 1, 2 y 4) poseen fragmentos de DNA agrandados debido a la expansión de las repeticiones de CAG. (Hallazgos del Institut für Humangenetik de la Universität Göttingen con el permiso atento del prof. W. Engel; Zühlke y col., Hum. Mol. Genet. 2:1467-1469, 1993.)

C. Distrofia miotónica (MDY1)

La distrofia miotónica es una enfermedad hereditaria autosómica dominante que afecta en mayor medida el sistema nervioso central y el sistema muscular (1). La miotonía causa una facies parecida a una máscara (2). La enfermedad es muy variable y en muchas familias muestra un aumento de la severidad en las generaciones consecutivas (anticipación). En las personas afectadas se encuentra un número aumentado de repeticiones de CTG, más de 50 copias comparado con 5-35 copias en los individuos normales (3), inmediatamente antes del extremo 3' del gen. Esto se observa en un Southern blot como aumento de tamaño de un fragmento de DNA (4). (Representación esquemática de un Southern blot en el locus génico D19S95, sonda pBB0.7 luego del corte con *EcoRI*. De Harley y col., Lancet 339:1125-1128, 1992.)

BIBLIOGRAFÍA

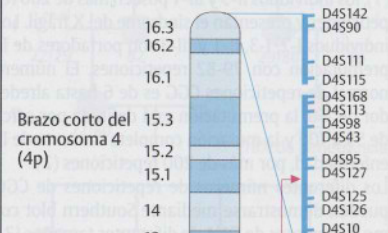
- Cummings, C.J., Zoghbi, H.Y.: Fourteen and counting: unraveling trinucleotide repeat diseases. Hum. Mol. Genet. 9:909-916, 2000.
- Harley, H.G. et al.: Unstable DNA sequence in myotonic dystrophy. Lancet 339:1125-1130, 1992.
- Zoghbi, H.Y.: Spinocerebellar ataxia and other disorders of trinucleotide repeats, p. 913-920. In: Jameson, J.L., ed., Principles of Molecular Medicine. Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.

Enfermedad (ejemplos)	Gen	Frecuencia	Tri-nucleótido	Número normal	Alelo mutante	Cromosoma
Enfermedad de Huntington	<i>HD</i>	1:10.000	(CAG) _n	0-26	36-121	4p16.3
Síndrome del X frágil	<i>FMR1</i>	1:5.000	(CGG) _n	6-50	52-500	Xq27.3
Distrofia miotónica	<i>DMPK</i>	1:8.000	(CTG) _n	5-37	50-500	19q13.2
Atrofia muscular espinobulbar (Kennedy)	<i>SBMA</i>	<1:50.000	(CAG) _n	11-31	36-65	Xq11-12

A. Enfermedades genéticas por un número de trinucleótidos aumentado

Enfermedad progresiva severa del sistema nervioso central
Pérdida del control intelectual y motor
Aparece a los 25-60 años de edad
Autosómica dominante
Aumento del tamaño de las repeticiones CAG
Diagnóstico predictivo posible, pero problemático

1. Manifestaciones principales



2. Localización del gen

Gen de Huntington
Los individuos afectados 1, 2 y 4 poseen repeticiones de CAG expandidas

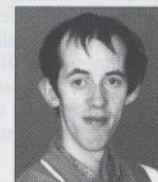
Repeticiones de (CAG)_n expandidas en la enfermedad de Huntington (n = 36-121)

Repeticiones de (CAG)_n normales (n = 10-26)

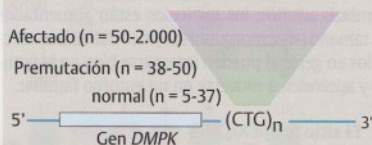
3. Prueba diagnóstica

B. Enfermedad de Huntington

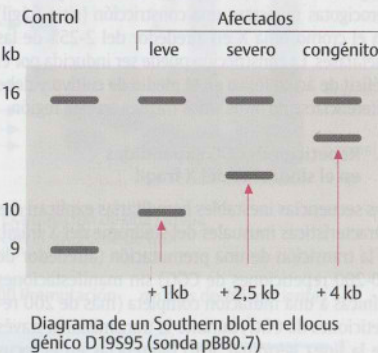
Debilidad muscular, Miotonía, facies con apariencia de máscara
Cataratas, alopecia, Expresión variable, Autosómica dominante, Aumento de las repeticiones CTG



1. Manifestaciones principales 2. Fenotipo



3. Repeticiones CTG expandidas en la distrofia miotónica



4. Correlación con el grado de severidad

C. Distrofia miotónica

Síndrome del X frágil

El síndrome del X frágil (McKusick 309550; otras designaciones: síndrome fraX, retraso mental cromosómico X con un sitio frágil en el cromosoma X, síndrome de Martin-Bell) es la forma más frecuente de retraso mental hereditario en los hombres, con una frecuencia de 1:2.000-4.000 individuos. La mutación responsable por lo general implica un número aumentado de repeticiones de trinucleótidos inestable. A diferencia de la herencia clásica del cromosoma X, hay hombres sin manifestaciones y una gran proporción de mujeres portadoras muestra manifestaciones parciales.

La expansión inestable de la repetición de un trinucleótido (CGG) se localiza en la región no codificante 5' del gen *FMR1*. Hallazgos recientes indicaron que un aumento por arriba de las 200 repeticiones impide la migración de la subunidad ribosómica 40S. Esto produce la supresión de la traducción.

A. Fenotipo

El fenotipo es muy variable. El retraso mental varía; no hay disfunción neurológica característica. En los hombres adultos, los testículos están aumentados de tamaño (macroorquidismo). Los individuos afectados en general pueden integrarse bien en la familia y aprenden a moverse en un entorno familiar.

B. El sitio frágil Xq27.3

El locus génico (FRAXA) para el gen (*FMR1*) se localiza en el brazo largo distal del cromosoma X en la región 2, banda 7.3 (Xq27.3). En esta región la gran mayoría de los pacientes y algunas de las mujeres heterocigotas muestran una constricción (sitio frágil) en el cromosoma X en alrededor del 2-25% de las metafases. La constricción puede ser inducida por el déficit de ácido fólico en el medio de cultivo y debe diferenciarse de otros sitios frágiles en esta región.

C. Repeticiones CGG expandidas en el síndrome del X frágil

Las secuencias inestables hereditarias explican dos características inusuales del síndrome del X frágil: i) la transición de una premutación (alrededor de 60-200 repeticiones de CGG) sin manifestaciones clínicas a una mutación completa (más de 200 repeticiones de CGG) durante la transmisión a través de la línea germinal, y ii) diferencias en el locus FRAXA dentro de una familia determinada.

El síndrome del X frágil se hereda como un rasgo dominante ligado al X. El riesgo de transmisión y las

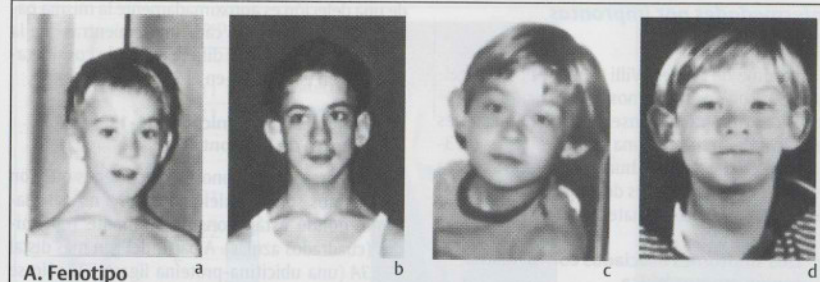
manifestaciones clínicas varían de acuerdo con el tipo de mutación (premutación o mutación completa), el sexo del paciente y del padre que porta la repetición de trinucleótidos expandida, y la relación entre la familia. Los hombres con la mutación completa presentan retraso mental y no se reproducen. Las mujeres heterocigotas para la mutación completa poseen un riesgo de retraso mental variable del 50%. Transmiten la mutación completa al 50% de la descendencia. Una premutación presente en un hombre ("hombre transmisor normal") se transmite a todas sus hijas pero a ninguno de sus hijos varones. Las mujeres portadoras de la premutación o la mutación completa poseen un 50% de probabilidades de transmitir el alelo mutado. El riesgo verdadero de la manifestación del síndrome del X frágil depende del número de repeticiones de CGG y varía entre un 10% (60-69 repeticiones) y un 50% (más de 100 repeticiones) para los hijos varones (Genes and Clinics en <http://www.geneclinics.org>).

El número de repeticiones CGG es variable dentro de una familia. En los pedigrís que se muestran (1), los individuos II-3 y III-1 poseen más de 200 repeticiones y presentan el síndrome del X frágil. Los individuos I-2, I-3, II-1 y III-3 son portadores de la premutación con 79-82 repeticiones. El número normal de repeticiones CGG es de 6 hasta alrededor de 50, la premutación está definida por cerca de 55 a 100 y la mutación completa causante de la enfermedad, por más de 200 repeticiones (2).

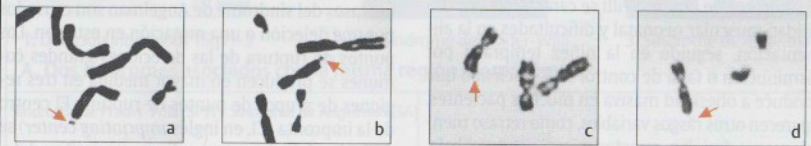
Los diferentes números de repeticiones de CGG pueden demostrarse mediante Southern blot como fragmentos de DNA de diferentes tamaños (3). El gen normal está representado por un fragmento de DNA pequeño (S). Una premutación conduce a fragmentos algo agrandados. La mutación completa se caracteriza por fragmentos grandes (L). Con este procedimiento es posible un diagnóstico confiable de los genotipos. (Fotografías de un Southern blot: digestión con *HindIII* e hibridación con sonda Ox1.1; P. Steinbach, Ulm.)

BIBLIOGRAFÍA

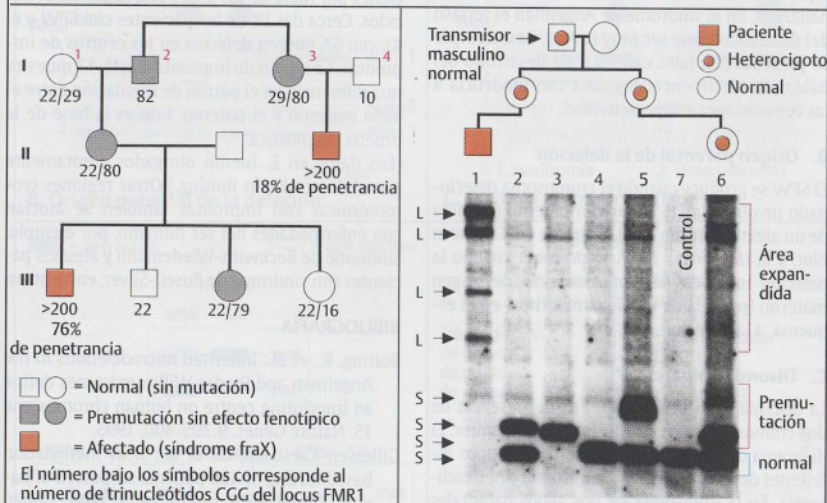
- Eichler, E.E., et al.: Length of uninterrupted CGG repeats determines instability in the *FMR1* gene. *Nature Genet.* 8:88-94, 1994.
- Jin, P., Warren, S.T.: Understanding the molecular basis of fragile X syndrome. *Hum. Mol. Genet.* 9:901-908, 2000.
- Nelson, D.L.: Fragile X syndrome, pp. 1063-1067. In: J.L. Jameson, ed., *Principles of Molecular Medicine*. Humana Press, Totowa, NJ, 1998.



A. Fenotipo

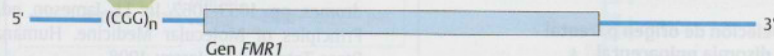


B. El sitio frágil Xq27.3



1. Número variable de repeticiones CGG

$n = 10-50$ normal $n = 50-100$ Premutación $n = \text{más de } 200$ pacientes



2. Número de repeticiones de CGG en la mutación y la premutación

C. Repeticiones CGG expandidas en el síndrome del X frágil

Enfermedades por improntas (*Imprinting*)

El síndrome de Prader-Willi (SPW) y el de Angelman (SA) son dos trastornos del desarrollo neurogenéticos distintos consecuencia de lesiones genéticas diferentes en una región contigua de 3-4 Mb del cromosoma 15 humano (15q11-13). Esta región lleva una huella, es decir que sólo se expresan los genes del alelo materno o el paterno.

A. Dos síndromes asociados con la misma región cromosómica

El síndrome de Prader-Willi se caracteriza por debilidad muscular neonatal y dificultades en la alimentación, seguido en la niñez temprana por disminución o falta de control de la saciedad que conduce a obesidad masiva en muchos pacientes. Aparecen otros rasgos variables, como retraso mental, rasgos faciales característicos, estatura baja, hipopigmentación, problemas de conducta y otros hallazgos. En el síndrome de Angelman el retraso del desarrollo suele ser muy severo. Casi siempre se presenta con falta casi total de desarrollo del habla, un electroencefalograma con tendencia a las convulsiones e hiperactividad.

B. Origen parental de la delección

El SPW se produce cuando el cromosoma deleciónado involucra al 15 de origen paterno (pérdida de un alelo 2 paterno en el diagrama del Southern blot, a la izquierda). El SA se presenta cuando la delección involucra al cromosoma 15 de origen materno (pérdida de un alelo materno 1 en el esquema, a la derecha).

C. Disomía uniparental

La disomía uniparental (DUP) es la presencia de dos cromosomas o genes del mismo progenitor. El diagrama del Southern blot muestra dos tipos diferentes de DUP en el SPW: isodisomía y heterodisomía. En la isodisomía los dos alelos parentales son idénticos (dos alelos maternos 1 mostrados en el diagrama). En la heterodisomía los dos alelos son del mismo origen parental, pero difieren (se muestra un alelo 1 y un alelo 2, ambos de origen materno).

D. Delección de origen parental y disomía uniparental

La delección y la disomía uniparentales poseen el mismo resultado funcional, es decir, pérdida de actividad genética de un alelo parental. La frecuencia

de una delección es aproximadamente la misma para el SPW y el SA (70% cada uno), mientras que la frecuencia de una DUP difiere en grado considerable: 29% en el SPW, 1% en el SA.

E. Región cromosómica 15q11-13 y centro de improntas

Hasta el presente se conocen cinco genes que son transcritos sólo del alelo paterno, y no del materno, donde están constitutivamente reprimidos (cuadrados azules). A partir del gen más distal *UBE3A* (una ubiquitina-proteína ligasa E3) sólo se transcribe el alelo materno. Alrededor del 25% de los casos del síndrome de Angelman son causados por una delección o una mutación en este gen. Los puntos de ruptura de las deleciones grandes comunes se producen en mayor medida en tres regiones de grupos de puntos de ruptura. El centro de la impronta (CI, en inglés *imprinting center*) se definió originalmente mediante pequeñas deleciones por fuera de los genes con impronta conocidos. Cerca del 1% de los pacientes con SPW y el 4% con SA poseen defectos en los centros de improntas. La región de impronta 15q11-13 muestra una diferencia en el patrón de metilación entre el alelo materno y el paterno. Esto es la base de la prueba diagnóstica.

(Los datos en E. fueron otorgados atentamente por el doctor Karin Buiting.) Otras regiones cromosómicas con improntas también se asocian con enfermedades del ser humano, por ejemplo, síndrome de Beckwith-Wiedemann y algunos pacientes con síndrome de Rusell-Silver, entre otros.

BIBLIOGRAFÍA

- Buiting, K., et al.: Inherited microdeletions in the Angelman and Prader-Willi syndromes define an imprinting centre on human chromosome 15. *Nature Genet.* 9:395-400, 1995.
- Gillissen-Kaesbach, G., et al.: DNA methylation based testing of 450 patients suspected of having Prader-Willi syndrome. *J. Med. Genet.* 32:88-92, 1995.
- Horsthemke, B., Dittrich, B., Buiting, K.: Imprinting mutations on human chromosome 15. *Human Mutat.* 10:329-337, 1997.
- Nicholls, R.D.: Prader-Willi and Angelman Syndromes, pp. 1053-1062. In: J.L. Jameson, ed., *Principles of Molecular Medicine*. Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.
- Nicholls, R.D., Saitoh, S., Horsthemke, B.: Imprinting in Prader-Willi and Angelman syndromes. *Trends Genet.* 14:194-200, 1998.

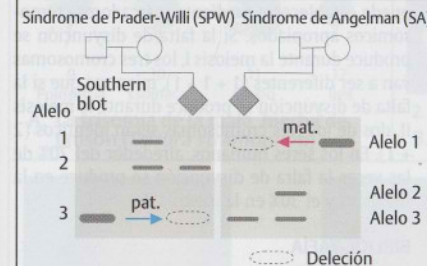


1. Delección intersticial 15q11-3

2. Síndrome de Prader-Willi

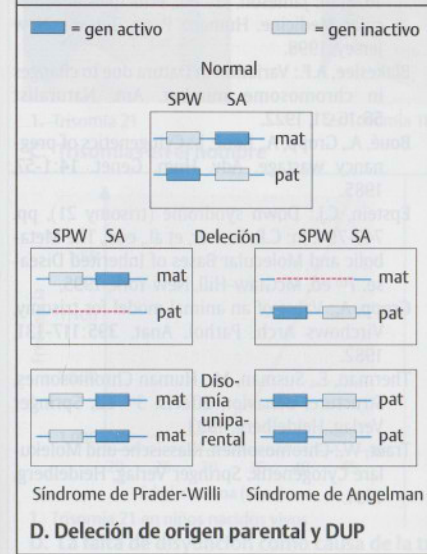
3. Síndrome de Angelman

A. Dos síndromes asociados con la misma región cromosómica



B. Origen parental de la delección

C. Disomía uniparental (DUP)



D. Delección de origen parental y DUP

E. Región cromosómica 15q11-13 con impronta

Correlación Cariotipo-Fenotipo

Trisomías autosómicas

Una trisomía (la presencia de tres cromosomas homólogos en lugar de los habituales dos) surge antes del cigoto durante la meiosis debido a la distribución defectuosa (falta de disyunción) de un par cromosómico. También puede surgir después de la fertilización (luego del cigoto) durante la división celular somática (mitosis); en este caso, se presenta la trisomía en una proporción determinada de células (mosaicismo cromosómico). La trisomía conduce a un fenotipo característico de cada cromosoma en particular, aunque en los seres humanos la mayoría de las trisomías es letal en el desarrollo embriológico temprano.

A. La trisomía en la mala hierba de Jimson (*Datura stramonium*)

En 1922, Blakeslee observó que las plantas de estramonio triploides y tetraploides en la mala hierba de Jimson (*Datura stramonium*) diferían poco en el fenotipo. Sin embargo, cuando contenían tres copias de sólo uno de los 12 cromosomas (trisomía), y dos de cada uno de los otros, se producía una apariencia característica para cada una de las trisomías (de Blakeslee, 1922).

B. Trisomías en el ratón

Durante la década de 1970 A. Gropp y col. investigaron el efecto de las trisomías en el desarrollo de los ratones. Los ratones trisómicos, producto de la segregación de las traslocaciones, poseían un perfil de desarrollo y ciertos cambios morfológicos característicos de cada trisomía (1). Los embriones con un cromosoma faltante (monosomías) morían muy temprano en la gestación. (Figura de A. Gropp, 1982.) Un embrión de ratón con trisomía 12 muestra una calota craneana abierta y otras malformaciones en el día 14 del desarrollo (2), a diferencia de otros embriones de la misma edad (H. Winking, Lübeck, 1991; Boué y col., 1985). Sólo la trisomía 19 es compatible con la supervivencia hasta el nacimiento (día 21), pero el cerebro es demasiado pequeño (3). Estos animales mueren poco después de nacer.

C. Trisomías autosómicas en el hombre

De los 22 autosomas en el hombre, sólo tres aparecen en forma regular como trisomías en neonatos nacidos vivos: la trisomía 21, la 18 y la 13. Ellas

difieren en el fenotipo y el curso de la enfermedad. No se observan otras trisomías en los recién nacidos vivos porque son letales en la vida embrionaria temprana y no son compatibles con la vida después del nacimiento (véase pág. 402). La trisomía 21 causa el cuadro clínico característico del síndrome de Down (antes llamado mогоlismo).

D. La falta de disyunción como causa de trisomía

En especial en la trisomía 21, la frecuencia de la falta de disyunción depende de la edad de la madre en el momento de la concepción (1). La edad del padre tiene poca o ninguna influencia. La falta de disyunción puede producirse durante la primera o la segunda división de la maduración (meiosis I o meiosis II, pág. 116) (2). La diferencia puede establecerse mediante marcadores cromosómicos apropiados. Si la falta de disyunción se produce durante la meiosis I, los tres cromosomas van a ser diferentes (1 + 1 + 1), mientras que si la falta de disyunción se produce durante la meiosis II, dos de los tres cromosomas serán idénticos (2 + 1). En los seres humanos, alrededor del 70% de las veces la falta de disyunción se produce en la meiosis I y el 30% en la meiosis II.

BIBLIOGRAFÍA

Antonarakis, S.E.: Down syndrome, pp. 1069-1078. In: Jameson, J.L., ed., Principles of Molecular Medicine. Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.

Blakeslee, A.F.: Variation in *Datura* due to changes in chromosome number. *Am. Naturalist* 56:16-31, 1922.

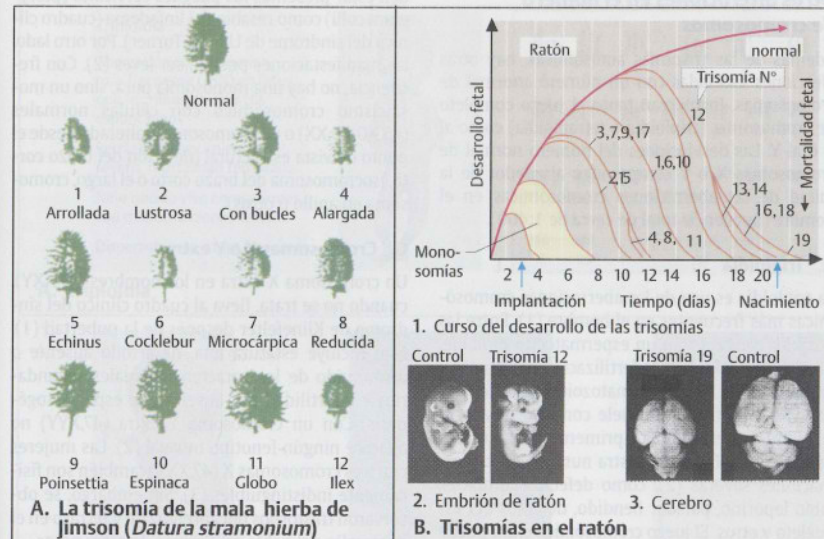
Boué, A., Gropp, A., Boué, J.: Cytogenetics of pregnancy wastage. *Adv. Hum. Genet.* 14:1-57, 1985.

Epstein, C.J.: Down syndrome (trisomy 21), pp. 749-794. In: C.R. Scriver, et al., eds., *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, New York, 1995.

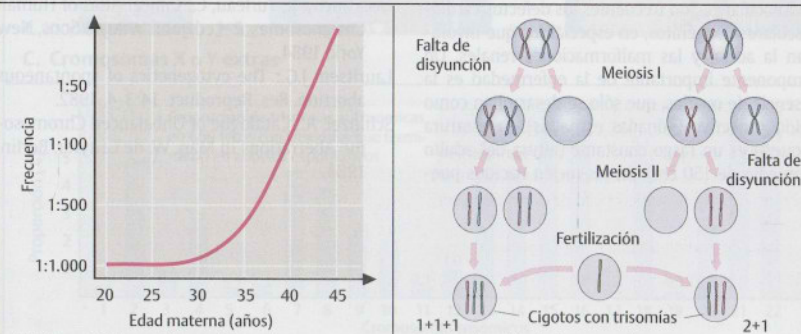
Gropp, A.: Value of an animal model for trisomy. *Virchows Arch. Pathol. Anat.* 395:117-131, 1982.

Therman, E., Susman, M.: *Human Chromosomes, Structure, Behavior, Effects*. 3rd ed, Springer Verlag, Heidelberg, 1993.

Traut, W.: *Chromosomen. Klassische und Molekulare Cytogenetik*. Springer Verlag, Heidelberg, 1991.



C. Trisomías en el hombre



Otras alteraciones en el número de cromosomas

Además de las trisomías autosómicas, hay otras afecciones asociadas con un número anormal de cromosomas. Involucran tanto al juego completo de cromosomas (triploidía o tetraploidía) como al X o al Y. Las desviaciones del número normal de cromosomas X o Y comprenden alrededor de la mitad de las aberraciones cromosómicas en el hombre (frecuencia total de cerca de 1:400).

A. Triploidía

La triploidía es una de las aberraciones cromosómicas más frecuentes en el hombre (1). Entre las posibles causas están un espermatozoido diploide, un ovocito diploide, o la fertilización de una célula huevo por dos espermatozoides (dispermia, pág. 196). La triploidía suele conducir al aborto espontáneo dentro de los primeros cuatro meses de embarazo. El feto muestra numerosas malformaciones severas (2), como defectos cardíacos, labio leporino, paladar hendido, defectos del esqueleto y otros. El juego cromosómico extra puede ser de origen materno o paterno, con diferentes consecuencias clínicas.

B. Monosomía X (síndrome de Turner)

La monosomía X (cariotipo 45,X0) es una aberración cromosómica frecuente, que representa alrededor del 5% de las generadas en los seres humanos durante la concepción. Sin embargo, de 40 cigotos con monosomía X, sólo uno va a desarrollarse hasta el nacimiento. El espectro fenotípico es muy amplio. Durante el estadio fetal (1) el linfedema de cabeza y cuello produce un hígoma quístico, grandes quistes linfáticos de paredes finas multiloculares. Son frecuentes los defectos cardiovasculares congénitos, en especial los que involucran la aorta, y las malformaciones renales. Un componente importante de la enfermedad es la ausencia de ovarios, que sólo se desarrollan como tejido conectivo (gónadas estriadas). La estatura pequeña es un rasgo constante (altura del adulto promedio de 150 cm). En los recién nacidos pue-

den estar presentes los pliegues cervicales (pterygium colli) como resabio del linfedema (cuadro clínico del síndrome de Ullrich-Turner). Por otro lado, las manifestaciones pueden ser leves (2). Con frecuencia, no hay una monosomía pura, sino un mosaicismo cromosómico con células normales (45,X0/46,XX) o un cromosoma X alterado desde el punto de vista estructural (deleción del brazo corto, isocromosoma del brazo corto o el largo, cromosoma en anillo u otros).

C. Cromosomas X o Y extras

Un cromosoma X extra en los hombres (47,XXY), cuando no se trata, lleva al cuadro clínico del síndrome de Klinefelter después de la pubertad (1). Esto incluye estatura alta, desarrollo ausente o disminuido de los caracteres sexuales secundarios e infertilidad por ausencia de espermatogénesis. Con un cromosoma Y extra (47,XYY) no aparece ningún fenotipo inusual (2). Las mujeres con tres cromosomas X (47,XXX) también son físicamente indistinguibles (3). Sin embargo, se observaron trastornos del aprendizaje y retraso en el desarrollo del habla en algunos de estos niños.

D. Espectro amplio de aberraciones cromosómicas en los fetos humanos

Las proporciones relativas de las varias trisomías observadas en los fetos luego de abortos espontáneos, difieren. La más frecuente es la trisomía 16, que representa al 5% de todas las autosómicas. Las monosomías autosómicas conducen a la muerte del embrión dentro de los primeros días o semanas. (Datos de Lauritsen, 1982).

BIBLIOGRAFÍA

- DeGrouchy, J., Turleau, C.: *Cinical Atlas of Human Chromosomes*, 2nd ed. John Wiley & Sons, New York, 1984.
- Lauritsen, J.G.: The cytogenetics of spontaneous abortion. *Res. Reprod.* 14:3-4, 1982.
- Schinzel, A.: *Catalogue of Unbalanced Chromosome Aberrations in Man*. W. de Gruyter, Berlin, 1984.

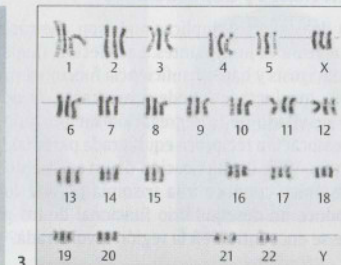
Triploidía

Aberración cromosómica más frecuente (15%) que terminan en abortos espontáneos

Retraso del crecimiento severo, mortalidad temprana

Niño nacido vivo en ocasiones con malformaciones severas

Dispermia, una causa frecuente



1.

2.

3.

A. Triploidía



1.



2.



3.

B. Monosomía X (síndrome de Turner; 45,X0)



1. XXY

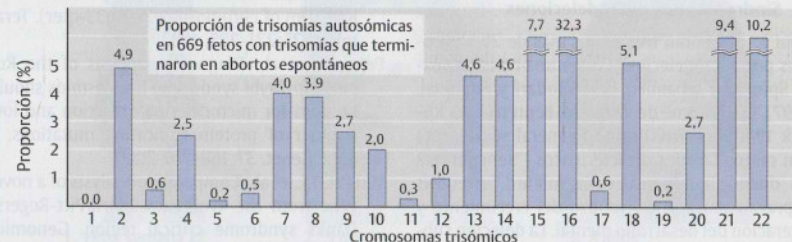


2. XYY



3. XXX

C. Cromosomas X o Y extras



D. Espectro amplio de aberraciones cromosómicas en los fetos humanos

Deleciones y duplicaciones

Las deleciones y duplicaciones son aberraciones estructurales importantes. La deleción, que causa hemigiosis y haploinsuficiencia funcional para el locus involucrado, puede presentarse *de novo* o ser resultado de la segregación meiótica de una translocación recíproca equilibrada parental (véase pág. 198). La duplicación de un segmento cromosómico conduce a la trisomía parcial, lo que produce un desequilibrio funcional de los genes que se encuentran en la región involucrada.

A. Deleción del 5p-: síndrome de Cri-du-chat

En 1963 en París Lejeune y col., describieron niños con una deleción parcial en el brazo corto del cromosoma 5 (5p-) y retraso del desarrollo mental y físico. Alrededor del 15% de los padres presentaba una traslocación en el cromosoma 5. En estos casos la recurrencia del trastorno está aumentada. Los niños afectados poseen un llanto prolongado, de tono alto que recuerda al de un gato (cri-du-chat, llanto de gato).

B. Deleción 4p-: síndrome de Wolf-Hirschhorn

Éste es un fenotipo característico resultado de una deleción parcial de material cromosómico del brazo corto del cromosoma 4, descrito en 1964 independientemente por U. Wolf en Freiburg y K. Hirschhorn en Nueva York. El retraso mental y estamotor variable pero considerable se asocia con rasgos faciales característicos (1, 2) y con defectos de la línea media (paladar hendido, hipospadias), coloboma del iris, defectos cardíacos congénitos y otras malformaciones. En algunos pacientes la deleción sólo puede detectarse por FISH. El mapa simplificado de 4p16 (3) muestra la región cromosómica crítica (WHSCR, *Wolf-Hirschhorn critical region* o región crítica de Wolf-Hirschhorn). (Figura adaptada de Wright y col., 1999.)

C. Síndromes por microdeleciones

Aquí se presentan tres de los más de 20 síndromes por microdeleciones (para una revisión véase Spinner y Emanuel, 1996; Budarf y Emanuel, 1997). El síndrome de Williams-Beuren (1, McKusick 194050, 130160) por lo general se presenta con rasgos faciales característicos ("semejante a un duende"), hipercalcemia infantil, estenosis supralvalvular aórtica, retraso del crecimiento y alteración del desarrollo mental. La deleción subyacente involucra el brazo largo del cromosoma 7

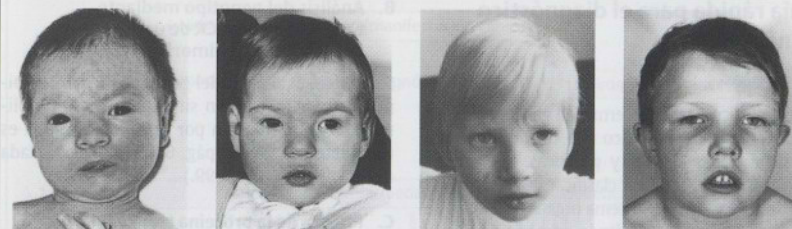
en q11.23. El gen de la elastina (*ELN*) es el que se pierde con más frecuencia. La deleción de 22q11 conduce a un grupo de trastornos clínicamente diferentes pero superpuestos (el síndrome de Di-George, McKusick 188400), caracterizados por ausencia o hipoplasia del timo y las glándulas paratiroides, y malformaciones del arco aórtico; síndrome velocardiofacial, McKusick 192430; defectos cardíacos cardiotorácicos, McKusick 217095, y otros (2). El síndrome de Rubinstein-Taybi (McKusick 180849) se caracteriza por rasgos faciales típicos (3) pulgares y dedos de los pies anchos y sus cambios radiológicos asociados, retraso mental y otros rasgos. Se detecta una deleción de 16p13.3 en alrededor del 12% de los pacientes. Las mutaciones puntuales en el gen de unión a CREB (gen *CBP*) causan este trastorno.

D. Fenotipo de la duplicación de 5q en diferentes edades

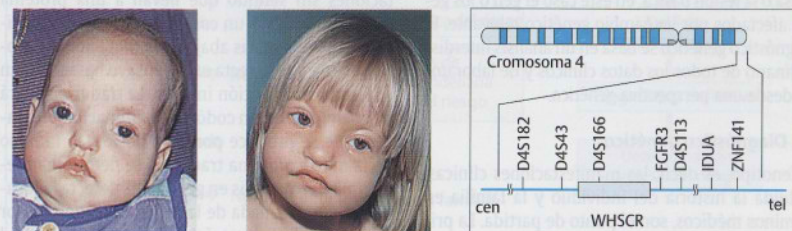
Una duplicación única ilustra los fenotipos faciales similares a diferentes edades: en el feto a las 22 semanas de gestación (1), en uno de 5 meses de edad (2) y en uno de 8 años. Los individuos afectados son hermanos de una familia. La duplicación parcial 5q33-qter fue producida por una traslocación recíproca paterna (Passarge y col., 1982). Hay otras duplicaciones asociadas con fenotipos característicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Budarf, M.L., Emanuel, B.S.: Progress in the autosomal segmental aneusomy syndromes (SASs): single or multi-locus disorders? *Hum. Mol. Genet.* 6:1657-1665, 1997.
- Meng, X., et al.: Complete physical map of the common deletion region in Williams syndrome and identification and characterization of three novel genes. *Hum. Genet.* 103:590-599, 1998.
- Passarge, E., et al.: Fetal manifestation of a chromosomal disorder: partial duplication of the long arm of chromosome 5 (5q33-qter). *Tera-tology* 25:221-225, 1982.
- Petrij, F., et al.: Diagnostic analysis of the Rubinstein-Taybi syndrome: five cosmids should be used for microdeletion detection and low number of protein truncating mutations. *J. Med. Genet.* 37:168-176, 2000.
- Wright, T.J., et al.: Comparative analysis of a novel gene from the Wolf-Hirschhorn/Pitt-Rogers-Danks syndrome critical region. *Genomics* 59:203-212, 1999.



7 días 9 meses 3 años 6 años
A. Deleción del 5p-: síndrome de cri-du-chat



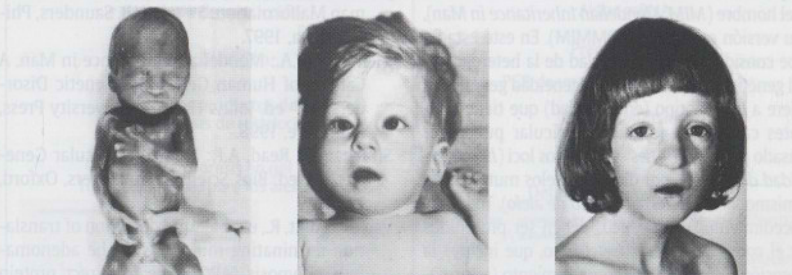
1. Edad: 1 año y 3 meses 2. Edad: 4 años 3. Esquema del mapa físico de 4p16

B. Deleción 4p-: síndrome de Wolf-Hirschhorn



1. Williams-Beuren 2. Del22q11 3. Síndrome de Rubinstein-Taybi

C. Otros síndromes por microdeleciones (ejemplos)



1. Feto: semana 22 2. 5 meses 3. 8 años
D. Fenotipo de la duplicación de 5q en diferentes edades

Guía rápida para el diagnóstico genético

Principios

El diagnóstico de una enfermedad genética requiere un enfoque sistemático que tenga en cuenta consideraciones clínicas y genéticas. Mientras la medicina clínica tiende a clasificar las enfermedades de acuerdo con el sistema orgánico, la edad de aparición, el sexo o el método primario de detección (radiología, técnicas de imagen), la medicina genética, al igual que la patología, se orienta hacia la causa o la lesión básica, en este caso el gen o los genes afectados por un cambio genético relevante. El diagnóstico genético se basa en un análisis interdisciplinario de todos los datos clínicos y de laboratorio desde una perspectiva genética.

A. Diagnóstico genético

El fenotipo, es decir, las manifestaciones clínicas, incluida la historia del individuo y la familia en términos médicos, son el punto de partida. La primera decisión que el médico genetista debe tomar es si puede reconocerse el patrón de manifestaciones. Las herramientas que pueden ayudar en esta decisión son el entrenamiento y la experiencia personal; libros de texto apropiados y otro tipo de literatura, y sistemas de búsqueda en Internet, como OMIM, MEDLINE, PubMed, POSSUM, London Dysmorphology Data Base for congenital malformations y bases de citogenética.

Si puede reconocerse el patrón de una enfermedad, la decisión siguiente comprende a la categoría de la afección. Aunque en la práctica es difícil de establecer, la categoría de la enfermedad es importante para tomar los pasos siguientes. Para este propósito, son indispensables el catálogo de McKusick para genes y enfermedades humanas, herencia mendeliana en el hombre (*MIM, Mendelian Inheritance in Man*), y su versión en Internet (OMIM). En este estadio debe considerarse la posibilidad de la heterogeneidad genética. El término heterogeneidad genética se refiere a un fenotipo (enfermedad) que tiene diferentes causas. Un fenotipo particular puede ser causado por mutaciones en distintos loci (*heterogeneidad de locus*) o por distintos alelos mutantes en el mismo locus (*heterogeneidad de alelo*). Todos los procedimientos diagnósticos deben ser precedidos por el consejo eugénico o genético, que incluye la obtención apropiada del consentimiento (informado) de las personas involucradas.

B. Análisis del genotipo mediante tipificación por PCR de un sitio de restricción polimorfo

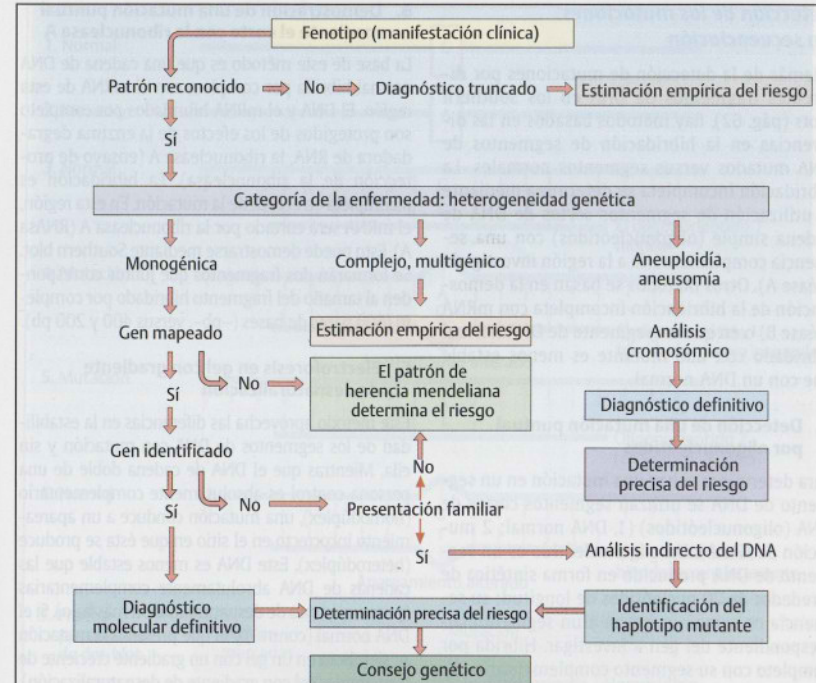
Se prefiere el análisis del genotipo mediante tipificación por PCR de un sitio de restricción polimorfo a la hibridación por Southern blot que es más laboriosa (véase pág. 62). (Figura adaptada de Strachan y Read, 1999.)

C. Prueba de la proteína trunca (PPT)

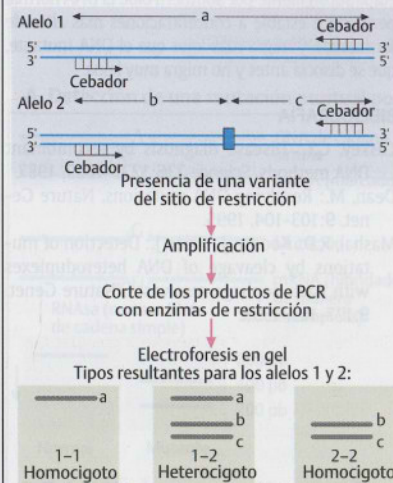
Ésta es una prueba para mutaciones del cambio de cuadro de lectura, el empalme (*splicing*) o mutaciones sin sentido que llevan a una proteína truncada debido a un codón de terminación anticipado creado aguas abajo de la mutación. La proteína trunca se detecta en un ensayo basado en un sistema de traducción in vitro. La traducción será interrumpida en un codón de terminación prematuro que se produce por la mutación. El tamaño de la nueva proteína traducida se determina mediante electroforesis en gel. La PPT detecta la localización aproximada de la mutación reflejada por el tamaño de la proteína mutante. Es útil en el estudio de genes con mutaciones sin sentido frecuentes, como los *APC*, *BRCA1* y *BRCA2*. Sin embargo, no puede aplicarse para genes con mutaciones de sentido cambiado. La figura que se muestra aquí es muy esquemática. (Adaptada de Strachman y Read, 1999; y Beaudet, 1998.)

BIBLIOGRAFÍA

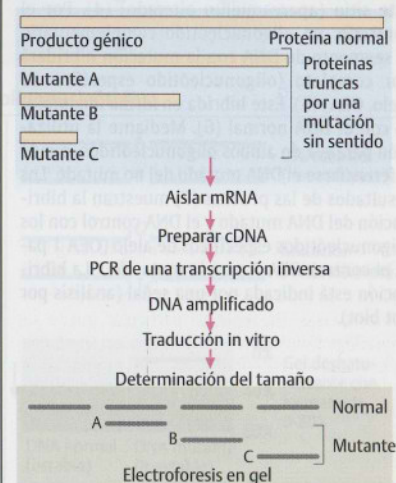
- Aase, J.M.: *Diagnostic Dysmorphology*. Plenum Medical Book Company, New York, 1990.
- Beaudet, A.L.: *Genetics and disease*, pp. 365-395. In: Fauci, A.S., et al., eds., *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th ed. McGraw-Hill, New York, 1998.
- Jones, K.L.: *Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation*. 5th ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1997.
- McKusick, V.A.: *Mendelian Inheritance in Man. A Catalog of Human Genes and Genetic Disorders*. 12th ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1998.
- Strachan, T., Read, A.P.: *Human Molecular Genetics*. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.
- van der Lijjt, R., et al.: Rapid detection of translation terminating mutations at the adenomatous polyposis (*APC*) gene by direct protein truncation test. *Genomics* 20:1-4, 1994.



A. Diagnóstico genético, un proceso de varios pasos



B. Análisis del genotipo mediante tipificación por PCR



C. Prueba de la proteína trunca (esquema)

Detección de las mutaciones sin secuenciación

Además de la detección de mutaciones por diferentes fragmentos de DNA en los Southern blots (pág. 62), hay métodos basados en las diferencias en la hibridación de segmentos de DNA mutados versus segmentos normales. La hibridación incompleta se determina mediante la utilización de segmentos cortos de DNA de cadena simple (oligonucleótidos) con una secuencia complementaria a la región investigada (véase A). Otros métodos se basan en la demostración de la hibridación incompleta con mRNA (véase B) o en que un segmento de DNA normal hibridado con uno mutante es menos estable que con un DNA normal.

A. Detección de una mutación puntual por oligonucleótidos

Para determinar si hay una mutación en un segmento de DNA se utilizan segmentos cortos de DNA (oligonucleótidos) (1, DNA normal; 2 mutación de G a A). Un oligonucleótido es un segmento de DNA producido en forma sintética de alrededor de 20 nucleótidos de longitud; su secuencia es complementaria a un segmento correspondiente del gen a investigar. Hibrida por completo con su segmento complementario (3). Si una mutación, aquí de G a A (1), se localiza en esta región, la hibridación no será perfecta en este sitio (apareamiento alterado) (4). Por el contrario, un oligonucleótido complementario al segmento de DNA con la mutación hibridará por completo (oligonucleótido específico de alelo, OEA) (5). Éste hibrida en forma incompleta con el DNA normal (6). Mediante la utilización paralela de ambos oligonucleótidos, puede diferenciarse el DNA mutado del no mutado. Los resultados de las pruebas (7) muestran la hibridación del DNA mutado y el DNA control con los oligonucleótidos específicos de alelo (OEA 1 para el control, OEA 2 para la mutación). La hibridación está indicada por una señal (análisis por dot blot).

B. Demostración de una mutación puntual mediante el corte con la ribonucleasa A

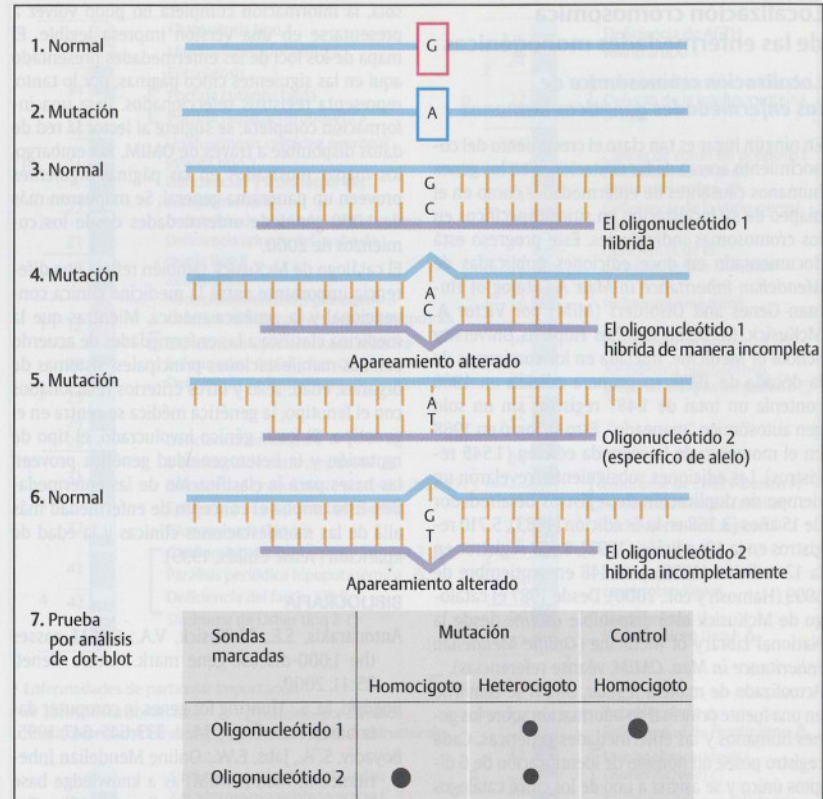
La base de este método es que una cadena de DNA normal hibrida por completo con el mRNA de esta región. El DNA y el mRNA hibridados por completo son protegidos de los efectos de la enzima degradadora de RNA, la ribonucleasa A (ensayo de protección de la ribonucleasa). La hibridación es incompleta en el área de la mutación. En esta región, el mRNA será cortado por la ribonucleasa A (RNAsa A). Esto puede demostrarse mediante Southern blot. Se formarán dos fragmentos que juntos corresponden al tamaño del fragmento hibridado por completo (600 pares de bases (-pb-, versus 400 y 200 pb).

C. Electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización

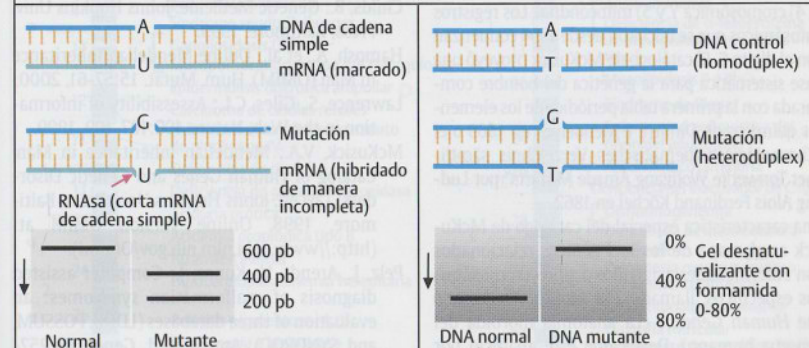
Este método aprovecha las diferencias en la estabilidad de los segmentos de DNA con mutación y sin ella. Mientras que el DNA de cadena doble de una persona control es absolutamente complementario (homodúplex), una mutación conduce a un apareamiento incorrecto en el sitio en que ésta se produce (heterodúplex). Este DNA es menos estable que las cadenas de DNA absolutamente complementarias (posee un punto de desnaturalización más bajo). Si el DNA normal (control) y el que presenta la mutación se siembran en un gel con un gradiente creciente de formamida (gel con gradiente de desnaturalización), el DNA mutante y el normal pueden diferenciarse en etapa subsiguiente por Southern blot. El DNA normal permanece estable a concentraciones más altas de formamida y migra más lejos que el DNA mutante, que se disocia antes y no migra muy lejos.

BIBLIOGRAFÍA

- Caskey, C.T.: Disease diagnosis by recombinant DNA methods. *Science* 236:1223-1229, 1987.
 Dean, M.: Resolving DNA mutations. *Nature Genet.* 9:103-104, 1995.
 Mashal, R.D., Koontz, J., Sklar, J.: Detection of mutations by cleavage of DNA heteroduplexes with bacteriophage resolvases. *Nature Genet.* 9:177-183, 1995.



A. Detección de una mutación puntual por oligonucleótidos



B. Detección de una mutación puntual mediante el corte con la ribonucleasa A

C. Electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (EGG)

Localización cromosómica de las enfermedades monogénicas

Localización cromosómica de las enfermedades genéticas humanas

En ningún lugar es tan claro el crecimiento del conocimiento acerca de las mutaciones en los genes humanos causantes de enfermedades como en el mapeo de su localización en sitios específicos en los cromosomas individuales. Este progreso está documentado en doce ediciones publicadas de *Mendelian Inheritance in Man*. A Catalog of Human Genes and Disorders (MIM) por Victor A. McKusick, M. D., en la Johns Hopkins University School of Medicine. Iniciada en los comienzos de la década de 1960, su primera edición en 1966 contenía un total de 1.487 registros sin un solo gen autosómico "mapeado". Esto se logró en 1968 en el momento de la segunda edición (1.545 registros). Las ediciones subsiguientes revelaron un tiempo de duplicación de registros de alrededor de 15 años (3.368 en la 6ª edición (1983), 5.710 registros en la 10ª edición (1992), 8.587 registros en la 12ª edición (1998) y 10.848 en septiembre de 1999 (Hamosh y col., 2000). Desde 1987 el catálogo de McKusick está disponible *on line* desde la National Library of Medicine (*Online Mendelian Inheritance in Man*, OMIM, véanse referencias).

Actualizado de manera regular, OMIM se convirtió en una fuente principal de información sobre los genes humanos y las enfermedades genéticas. Cada registro posee un número de identificación de 6 dígitos único y se asigna a uno de los cinco catálogos de acuerdo con la categoría genética: 1) autosómica dominante, 2) autosómica recesiva, 3) cromosómica X, 4) cromosómica Y y 5) mitocondrial. Los registros autosómicos que se iniciaron desde 1994 comienzan con el dígito 6. El catálogo de McKusick proveyó una base sistemática para la genética del hombre comparada con la primera tabla periódica de los elementos químicos de Dimitrij I. Mendeliev en 1869 o el "Chronologisch-thematisches Verzeichnis sämtlicher Tonwerke Wolfgang Amade Mozarts" por Ludwig Alois Ferdinand Köchel en 1862.

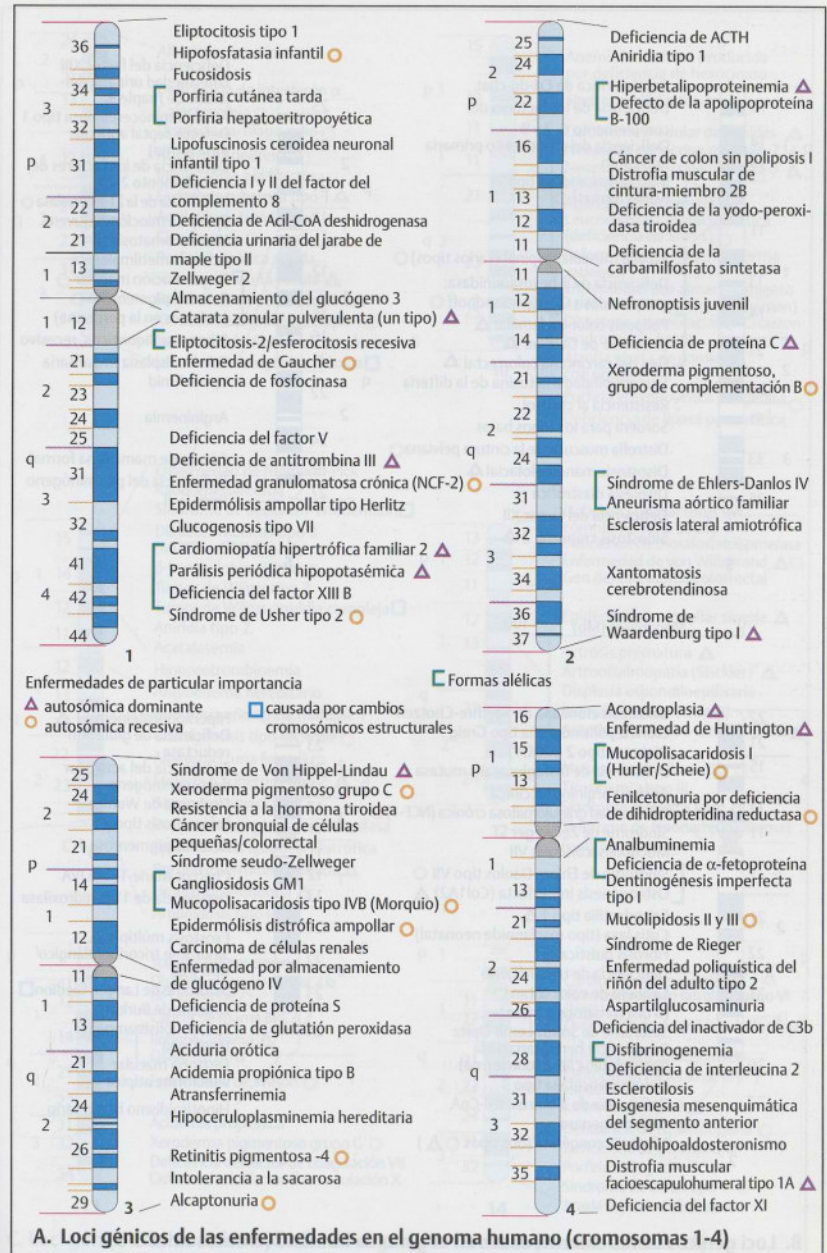
Una característica especial del catálogo de McKusick es el mapa de los loci génicos relacionados con enfermedades asignados a sitios cromosómicos específicos, llamado *The Morbid Anatomy of the Human Genome* (La anatomía mórbida del genoma humano). Desde que éste apareció por primera vez en 1971 (3ª edición) en una página

sola, la información completa no pudo volver a presentarse en una versión impresa legible. El mapa de los loci de las enfermedades presentado aquí en las siguientes cinco páginas, por lo tanto, representa registros seleccionados. Para una información completa, se sugiere al lector la red de datos disponible a través de OMIM. Sin embargo, los mapas mostrados en las páginas siguientes proveen un panorama general. Se mapearon más de 1.000 genes de enfermedades desde los comienzos de 2000.

El catálogo de McKusick también refleja una diferencia importante entre la medicina clínica convencional y la genética médica. Mientras que la medicina clasifica a las enfermedades de acuerdo con sus manifestaciones principales, sistemas de órganos, edad, sexo y otros criterios relacionados con el fenotipo, la genética médica se centra en el genotipo. El locus génico involucrado, el tipo de mutación y la heterogeneidad genética proveen las bases para la clasificación de las enfermedades. Esto amplía el concepto de enfermedad más allá de las manifestaciones clínicas y la edad de aparición (véase Childs, 1999).

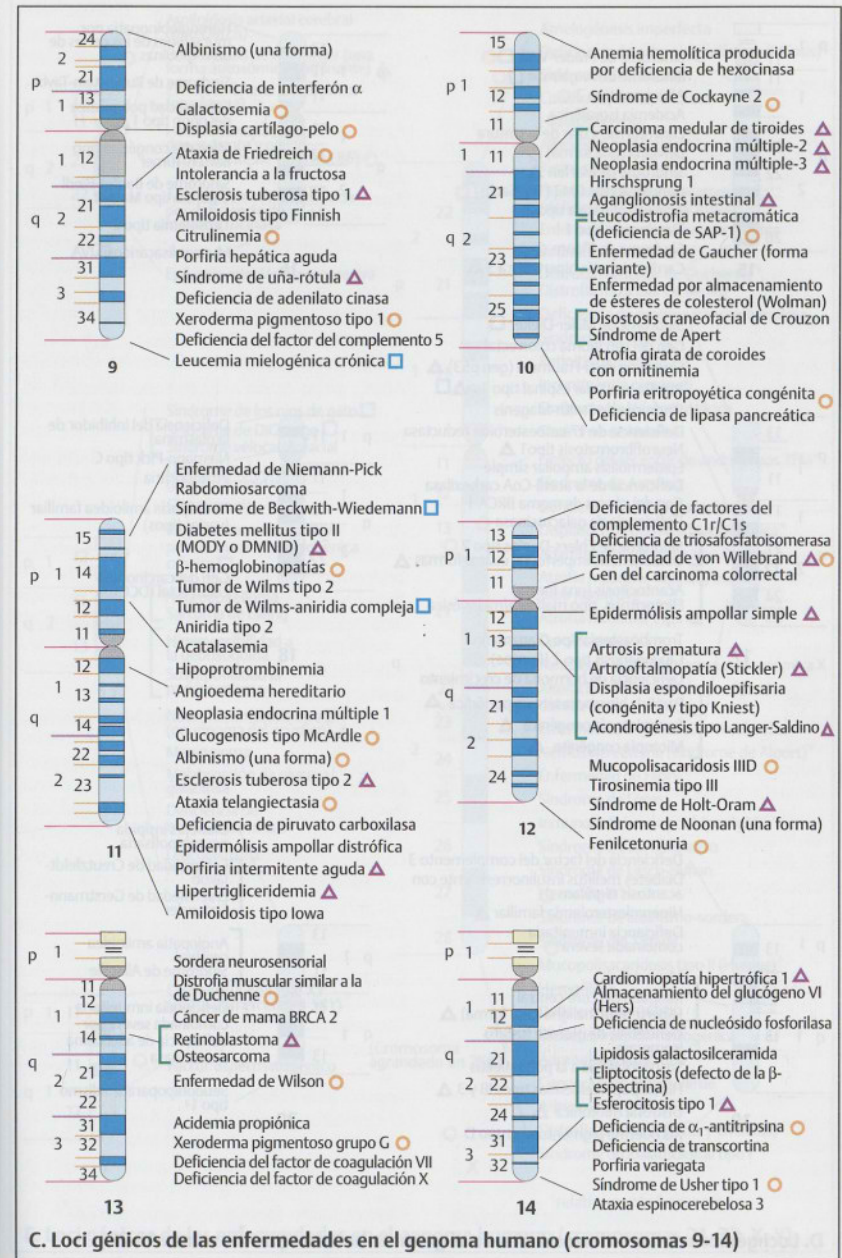
BIBLIOGRAFÍA

- Antonarakis, S.E., McKusick, V.A.: OMIM passes the 1,000-disease-gene mark. *Nature Genet.* 25:11, 2000.
- Boguski, M. S.: Hunting for genes in computer data bases. *New Eng. J. Med.* 333:645-647, 1995.
- Boyadiv, S. A., Jabs, E.W.: *Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) as a knowledge base for human developmental disorders.* *Clin. Genet.* 7:253-266, 2000.
- Childs, B.: *Genetic Medicine.* Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, 1999.
- Hamosh, A., et al.: *Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM).* *Hum. Mutat.* 15:57-61, 2000.
- Lawrence, S., Giles, C.L.: *Assessibility of information in the Web.* *Nature* 400:107-109, 1999.
- McKusick, V.A.: *Mendelian Inheritance in Man.* Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. 12th ed. Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, 1998. Online Version OMIM at: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>).
- Pelz, J., Arendt, V., Kunze, J.: *Computer assisted diagnosis of malformation syndromes: an evaluation of three databases (LDDB, POSSUM, and SYNDROC).* *Am. J. Med. Genet.* 63:257-267, 1996.

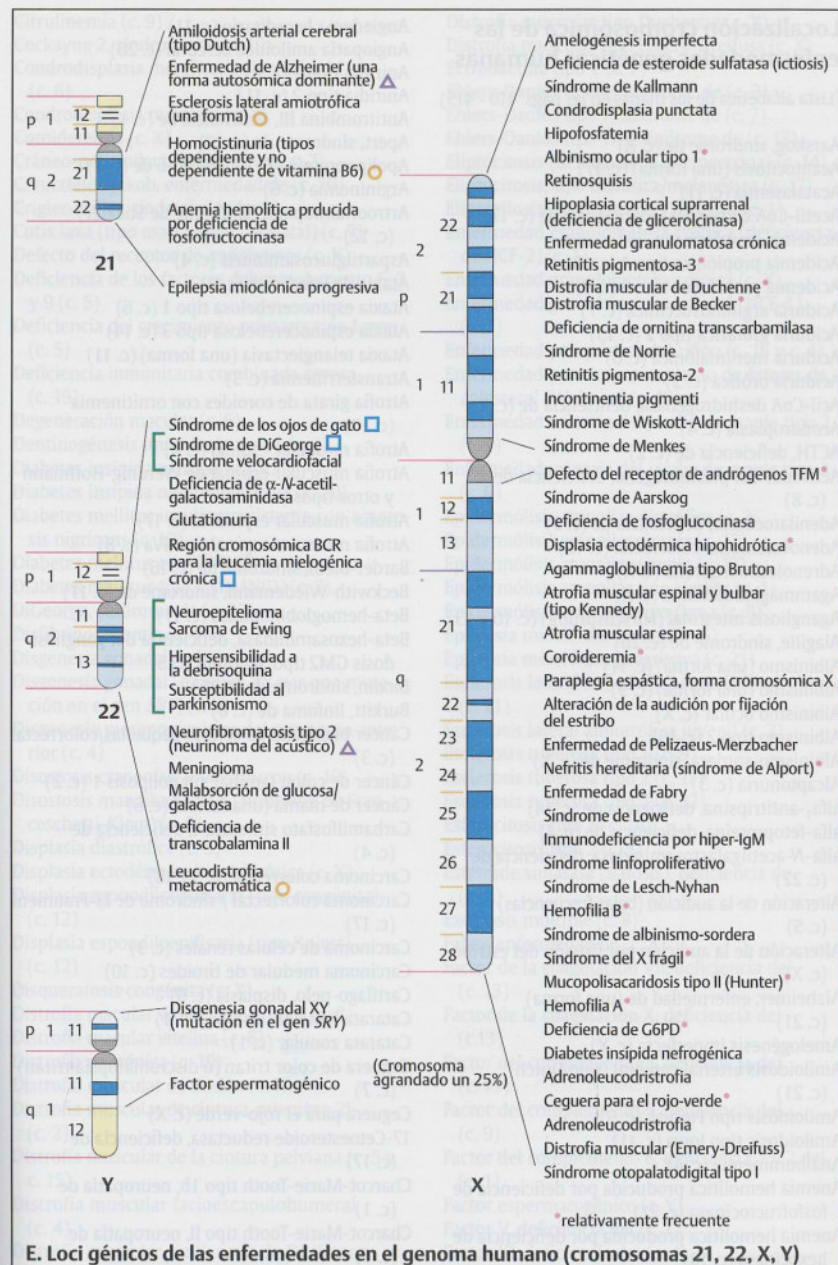
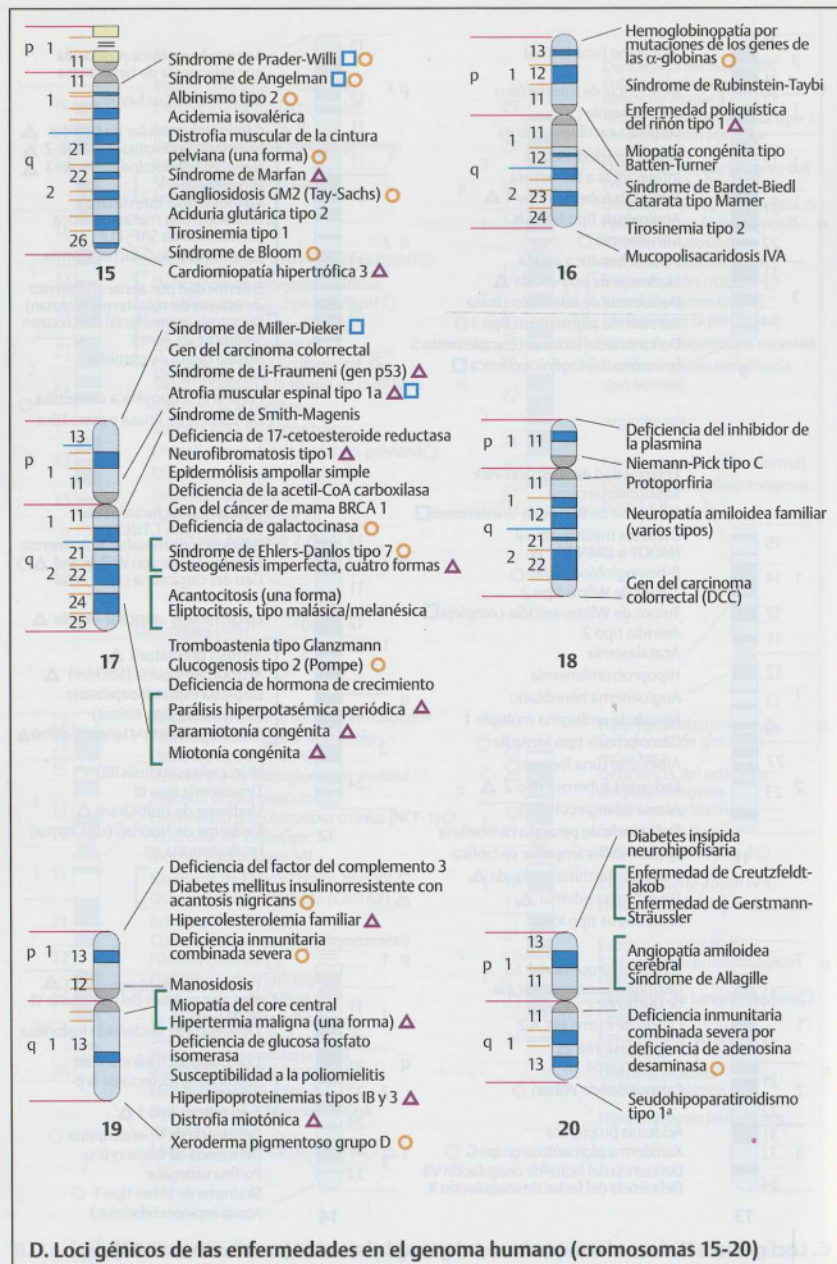




B. Loci génicos de las enfermedades en el genoma humano (cromosomas 5-8)



C. Loci génicos de las enfermedades en el genoma humano (cromosomas 9-14)



Localización cromosómica de las enfermedades genéticas humanas

(Lista alfabética de los mapas en las págs. 410 - 415)

Aarskog, síndrome de (c. X)
 Acantocitosis (una forma) (c. 17)
 Acatalasemia (c. 11)
 Acetil-CoA carboxilasa, deficiencia de (c. 17)
 Acidemia isovalérica (c. 15)
 Acidemia propiónica tipo A (c. 13)
 Acidemia propiónica tipo B (c. 3)
 Aciduria argininosuccínica (c. 7)
 Aciduria glutárica tipo 2 (c. 15)
 Aciduria metilmalónica (c. 6)
 Aciduria orótica (c. 3)
 Acil-CoA deshidrogenasa, deficiencia de (c. 1)
 Acondroplasia (c. 4)
 ACTH, deficiencia de (c. 2)
 Activador del plasminógeno, deficiencia del (c. 8)
 Adenilatocinasa, deficiencia de (c. 9)
 Adenocarcinoma colorrectal (c. 12)
 Adrenoleucodistrofia (c. X)
 Agammaglobulinemia (c. X)
 Agangliosis intestinal (Hirschsprung) (c. 10 y 13)
 Alagille, síndrome de (c. 20)
 Albinismo (una forma) (c. 11)
 Albinismo (una forma) (c. 9)
 Albinismo ocular (c. X)
 Albinismo tipo 2 (c. 15)
 Albinismo-sordera, síndrome de (c. X)
 Alcaptonuria (c. 3)
 alfa₁-antitripsina, deficiencia de (c. 14)
 alfa-fetoproteína, deficiencia de (c. 4)
 alfa-N-acetilgalactosaminidasa, deficiencia de (c. 22)
 Alteración de la audición (bajas frecuencias) (c. 5)
 Alteración de la audición por fijación del estribo (c. X)
 Alzheimer, enfermedad de (una forma) (c. 21)
 Amelogénesis imperfecta (c. X)
 Amiloidosis arterial cerebral (tipo Dutch) (c. 21)
 Amiloidosis tipo Finnish (c. 9)
 Amiloidosis tipo Iowa (c. 11)
 Analbuminemia (c. 4)
 Anemia hemolítica producida por deficiencia de fosfofructocinasa (c. 21)
 Anemia hemolítica producida por deficiencia de hexocinasa (c. 10)
 Aneurisma aórtico familiar (c. 2)
 Angelman, síndrome de (c. 15)
 Angiedema hereditario (c. 11)
 Angiopatia amiloidea cerebral (c. 20)
 Aniridia tipo 1 (c. 2)
 Aniridia tipo 2 (c. 11)
 Antitrombina III, deficiencia de (c. 1)
 Apert, síndrome de (c. 10)
 Apolipoproteína B-100, defecto de (c. 2)
 Argininemia (c. 6)
 Artroftalmopatía (síndrome de Stickler) (c. 12)
 Aspartilglucosaminuria (c. 4)
 Ataxia de Friedreich (c. 9)
 Ataxia espinocerebelosa tipo 1 (c. 6)
 Ataxia espinocerebelosa tipo 3 (c. 14)
 Ataxia telangiectasia (una forma) (c. 11)
 Atransferrinemia (c. 3)
 Atrofia girata de coroides con ornitinemias (c. 10)
 Atrofia muscular espinal (c. X)
 Atrofia muscular espinal de Werdnig-Hoffmann y otros tipos (c. 5)
 Atrofia muscular espinal Ia (c. 17)
 Atrofia muscular espinal tipo IVa (c. 8)
 Bardet-Biedl, síndrome de (c. 16)
 Beckwith-Wiedemann, síndrome de (c. 11)
 Beta-hemoglobinopatías (c. 11)
 Beta-hexosaminidasa, deficiencia de; gangliosidosis GM2 tipo Sandhoff (c. 5)
 Bloom, síndrome de (c. 15)
 Burkitt, linfoma de (c. 8)
 Cáncer bronquial de células pequeñas/colorrectal (c. 3)
 Cáncer de colon familiar sin poliposis 1 (c. 2)
 Cáncer de mama (una forma) (c. 6)
 Carbamilfosfato sintetasa-I, deficiencia de (c. 4)
 Carcinoma colorrectal (c. 5 y 18)
 Carcinoma colorrectal / síndrome de Li-Fraumeni (c. 17)
 Carcinoma de células renales (c. 3)
 Carcinoma medular de tiroides (c. 10)
 Cartilago-pelo, displasia (c. 9)
 Catarata lamelar (un tipo) (c. 1)
 Catarata zonular (c. 1)
 Ceguera de color tritan (o discromatopsia tritan) (c. 7)
 Ceguera para el rojo-verde (c. X)
 17-Cetoesteroide reductasa, deficiencia de (c. 17)
 Charcot-Marie-Tooth tipo 1b, neuropatía de (c. 1)
 Charcot-Marie-Tooth tipo II, neuropatía de (c. 1)
 Charcot-Marie-Tooth tipo IVa, neuropatía de (c. 8)

Citrulinemia (c. 9)
 Cockayne 2, síndrome de (c. 10)
 Condrodisplasia metafisaria tipo Schmid (c. 6)
 Condrodisplasia punctata (c. X)
 Coroideremia (c. X)
 Cráneo-polisindactilia tipo Greig (c. 7)
 Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de (c. 20)
 Crigler-Najjar, síndrome de (c. 1)
 Cutis laxa (tipo marfanoide neonatal) (c. 7)
 Defecto del receptor de andrógenos (c. X)
 Deficiencia de los factores del complemento 6, 7 y 9 (c. 5)
 Deficiencia del crecimiento primaria tipo Laron (c. 5)
 Deficiencia inmunitaria combinada severa (c. 19)
 Degeneración macular (c. 6)
 Dentinogénesis imperfecta tipo 1 (c. 4)
 Diabetes insípida nefrogénica (c. X)
 Diabetes insípida neurohipofisaria (c. 20)
 Diabetes mellitus insulinoresistente con acantosis nigricans (c. 19)
 Diabetes mellitus tipo DMNID (c. 11)
 Diabetes mellitus tipo II (DMNID) (c. 7)
 DiGeorge, síndrome de (c. 22)
 Disfibrinogenemia (c. 4)
 Disgenesia gonadal (c. Y)
 Disgenesia gonadal (mujeres XY por una mutación en el gen SRY) (c. Y)
 Disgenesia mesenquimática del segmento anterior (c. 4)
 Disostosis craneofacial de Crouzon (c. 10)
 Disostosis mandibulofacial (síndrome de Franceschetti-Klein) (c. 5)
 Displasia diastrófica (c. 5)
 Displasia ectodérmica hipohidrótica (c. X)
 Displasia espondiloepifisaria (tipo congénita) (c. 12)
 Displasia espondiloepifisaria (tipo Kniest) (c. 12)
 Disqueratosis congénita (c. X)
 Distrofia macular viteliforme atípica (c. 8)
 Distrofia macular vitelina (c. 6)
 Distrofia miotónica (c. 19)
 Distrofia muscular de Becker (c. X)
 Distrofia muscular de cintura-miembro 2b (c. 2)
 Distrofia muscular de la cintura pelviana (c. 5 y c. 15)
 Distrofia muscular facioescapulohumeral (c. 4)
 Distrofia muscular similar a la de Duchenne (c. 13)
 Distrofia muscular tipo Becker (c. X)
 Distrofia muscular tipo Duchenne (c. X)
 Distrofia muscular tipo Emery-Dreifuss (c. X)
 Electrodistrofia tipo 1 (c. 7)
 Ehlers-Danlos tipo 4, síndrome de (c. 2)
 Ehlers-Danlos tipo 7, síndrome de (c. 7)
 Ehlers-Danlos tipo 7A1, síndrome de (c. 17)
 Eliptocitosis (defecto de la β-espectrina) (c. 14)
 Eliptocitosis, tipo malásica/melanésica (c. 17)
 Eliptocitosis-2/esferocitosis recesiva (c. 1)
 Enfermedad granulomatosa crónica (deficiencia de NCF-2) (c. 1)
 Enfermedad granulomatosa crónica (c. X)
 Enfermedad granulomatosa crónica (NCF-1) (c. 7)
 Enfermedad poliústica del riñón (c. 16 y c. 4)
 Enfermedad por almacenamiento de ésteres de colesterol (Wolman) (c. 10)
 Enfermedad urinaria del jarabe de maple tipo 2 (c. 1)
 Enfermedad urinaria del jarabe de maple tipo 3 (c. 6)
 Epidermolísis ampollar distrófica (c. 3)
 Epidermolísis ampollar simple (c. 12)
 Epidermolísis ampollar simple (c. 17)
 Epidermolísis ampollar tipo Herlitz (c. 1)
 Epidermolísis ampollar tipo Ogna (c. 8)
 Epilepsia mioclónica juvenil (c. 6)
 Epilepsia mioclónica progresiva (c. 21)
 Esclerosis lateral amiotrófica (una forma) (c. 21)
 Esclerosis lateral amiotrófica juvenil (c. 2)
 Esclerosis tuberosa tipo 1 (c. 9)
 Esclerosis tuberosa tipo 2 (c. 11)
 Esclerosis tuberosa tipo 3 (c. 12)
 Esferocitosis tipo 1 (c. 14)
 Esferocitosis tipo 2 (c. 8)
 Esteroides sulfatasa (ictiosis), deficiencia de (c. X)
 Exostosis múltiple (c. 8)
 Fabry, enfermedad de (c. X)
 Factor de la coagulación VII, deficiencia del (c. 13)
 Factor de la coagulación X, deficiencia del (c. 13)
 Factor del complemento 3, deficiencia del (c. 19)
 Factor del complemento 5, deficiencia del (c. 9)
 Factor del complemento 8, deficiencia 1 y 2 del (c. 1)
 Factor espermatogénico (c. Y)
 Factor V, deficiencia del (c. 1)
 Factor XI, deficiencia del (c. 4)
 Factor XII, deficiencia del (c. 5)
 Factor XIII B, deficiencia del (c. 1)

Factor XIIIa, deficiencia del (c. 6)
 Factores del complemento 2 y 4, deficiencia de los (c. 6)
 Factores del complemento C1r/C1s, deficiencia de los (c. 12)
 Fenilcetonuria (PKU) (c. 12)
 Fenilcetonuria por deficiencia de dihidropteridina reductasa (c. 4)
 Fibrosis quística (c. 7)
 Fosfocinasa, deficiencia de (c. 1)
 Fosfogluarato mutasa, deficiencia de (c. 7)
 Fosfoglucoquinasa, deficiencia de (c. X)
 Fucosidosis (c. 1)
 G6PD, deficiencia de (c. X)
 Galactocinasa, deficiencia de (c. 17)
 Galactosa epimerasa, deficiencia de (c. 1)
 Galactosemia (c. 9)
 Gangliosidosis GM1 (c. 3)
 Gangliosidosis GM2 (Tay-Sachs) (c. 15)
 Gangliosidosis GM2 tipo Sandhoff (c. 5)
 Gardner, síndrome de (c. 5)
 Gaucher (forma variante), enfermedad de (c. 10)
 Gaucher, enfermedad de (c. 1)
 Gen del cáncer de mama BRCA 1 (c. 17)
 Gen del cáncer de mama BRCA 2 (c. 13)
 Gerstmann-Sträussler, enfermedad de (c. 20)
 Glucógeno 4, almacenamiento del (c. 3)
 Glucógeno tipo 3, almacenamiento del (c. 1)
 Glucógeno VI (Hers), almacenamiento del (c. 14)
 Glucogenosis tipo 2 (Pompe) (c. 17)
 Glucogenosis tipo McArdle (c. 11)
 Glucogenosis tipo VII (c. 1)
 Glucosa fosfato isomerasa, deficiencia de (c. 19)
 Glutación peroxidasa, deficiencia de (c. 3)
 Glutación reductasa, deficiencia de (c. 8)
 Glutacionuria (c. 22)
 Hemocromatosis (c. 6)
 Hemofilia A (c. X)
 Hemofilia B (c. X)
 Hemoglobinopatía por mutaciones de los genes de las α -globinas (c. 16)
 3-Hidroxiacil-CoA deshidrogenasa, deficiencia de (c. 7)
 11- β -Hidroxilasa, deficiencia de (c. 8)
 21-Hidroxilasa, deficiencia de (c. 6)
 Hiperbetalipoproteinemia (c. 2)
 Hipercolesterolemia familiar (c. 19)
 Hiperlipoproteinemia tipo 1 (c. 8)
 Hiperlipoproteinemia tipo 1b (c. 19)
 Hiperlipoproteinemia tipo 3 (c. 19)
 Hipersensibilidad a la debrisoquina (c. 22)
 Hipertermia maligna (una forma) (c. 19, otros)

Hipertrigliceridemia (c. 11)
 Hipoceruloplasminemia hereditaria (c. 3)
 Hipocondroplasia (c. 4)
 Hipofosfatasa infantil (c. 1)
 Hipofosfatemia (c. X)
 Hipoplasia cortical suprarrenal con deficiencia de glicerocinasa (c. X)
 Hipoprotrombinemia (c. 11)
 Hipotiroidismo hereditario congénito (c. 8)
 Hirschsprung, enfermedad de (c. 10 y c. 13)
 Holoprosencefalia tipo 3 (c. 7)
 Holt-Oram, síndrome de (c. 12)
 Homocistinuria (tipos dependiente y no dependiente de vitamina B6) (c. 21)
 Hormona de crecimiento, deficiencia de (c. 17)
 Huntington, enfermedad de (c. 4)
 Inactivador de C3b, deficiencia del (c. 4)
 Inhibidor de la plasmina, deficiencia del (c. 18)
 Inmunodeficiencia por deficiencia de adenosina desaminasa (ADA) (c. 20)
 Inmunodeficiencia por hiper-IgM (c. X)
 Interferón α , deficiencia de (c. 9)
 Interleucina 2, deficiencia de (c. 4)
 Intolerancia a la fructosa (c. 9)
 Intolerancia a la sacarosa (c. 3)
 Iodoperoxidasa tiroidea, deficiencia de (c. 2)
 Kallmann, síndrome de (c. X)
 Langer-Giedion, síndrome de (c. 8)
 Lesch-Nyhan, síndrome de (c. X)
 Leucemia mielogénica crónica (c. 9)
 Leucemia/linfoma de células T (c. 14)
 Leucodistrofia metacromática (c. 22)
 Leucodistrofia metacromática (deficiencia de SAP-1) (c. 10)
 Li-Fraumeni, síndrome de (c. 17)
 Linfoproliferativo, síndrome (c. X)
 Lipasa pancreática, deficiencia de (c. 10)
 Lipidosis galactosilceramida (c. 14)
 Lipofuscinosis ceroidea infantil tipo neuronal (c. 1)
 Lowe, síndrome de (c. X)
 Malabsorción de glucosa/galactosa (c. 22)
 Manosidosis (c. 19)
 Marfan, síndrome de (c. 15)
 Meningioma (c. 22)
 Menkes, síndrome de (c. X)
 Miller-Dieker, síndrome de (c. 17)
 Miocardiopatía familiar hipertrófica tipo 3 (c. 15)
 Miocardiopatía hipertrófica (c. 14)
 Miocardiopatía hipertrófica familiar (c. 1)
 Miopatía congénita tipo Batten-Turner (c. 16)
 Miopatía del core central (c. 19)

Miopatía miotubular (c. X)
 Miotonía congénita (c. 17)
 Miotonía congénita (dos tipos) (c. 7)
 Morquio, síndrome B de (c. 3)
 Mucopolipidosis tipos II y III (c. 4)
 Mucopolisacaridosis I (Hurler/Scheie) (c. 4)
 Mucopolisacaridosis IVa (c. 16)
 Mucopolisacaridosis IVb (c. 3)
 Mucopolisacaridosis tipo II (c. X)
 Mucopolisacaridosis tipo VI (Maroteaux-Lamy) (c. 5)
 Mucopolisacaridosis VII (c. 7)
 Nefritis hereditaria (síndrome de Alport) (c. X)
 Nefronoptosis juvenil (c. 2)
 Neoplasia endocrina múltiple 1 (c. 11)
 Neoplasia endocrina múltiple-2 (c. 10)
 Neoplasia endocrina múltiple-3 (c. 10)
 Neuroepitelioma (c. 22)
 Neurofibromatosis tipo 1 (c. 17)
 Neurofibromatosis tipo 2 (neurinoma del acústico) (c. 22)
 Neuropatía amiloidea familiar (varios tipos) (c. 18)
 Niemann-Pick, enfermedad de (c. 11)
 Niemann-Pick tipo C (c. 18)
 Noonan, síndrome de (un locus) (c. 12)
 Norrie, síndrome de (c. X)
 Nucleósido fosforilasa, deficiencia de (c. 14)
 Ojos de gato, síndrome de los (c. 22)
 Ornitina transcarbamilasa, deficiencia de (c. X)
 Osteogénesis imperfecta (c. 17)
 Osteogénesis imperfecta (Col1A2) (c. 7)
 Osteosarcoma (c. 13)
 Otopalatodigital tipo 1, síndrome (c. X)
 Parálisis hiperpotasémica periódica (c. 17)
 Paramiotonía congénita (c. 17)
 Paraplejía espástica (forma cromosómica X) (c. X)
 Pelizaeus-Merzbacher, enfermedad de (c. X)
 Persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (una forma) (c. 7)
 Plasminógeno tipos I y II, deficiencia del (c. 6)
 Poliposis colónica familiar (c. 5)
 Porfiria cutánea tarda (c. 1)
 Porfiria eritropoyética congénita (c. 10)
 Porfiria hepática aguda (c. 9)
 Porfiria hepatocitropoyética (c. 1)
 Porfiria intermitente aguda (c. 11)
 Porfiria variegata (c. 14)
 Prader-Willi, síndrome de (c. 15)
 Proteína C, deficiencia de (c. 2)
 Proteína S, deficiencia de (c. 3)
 Protoporfiria (c. 18)
 Rabdomiocarcinoma (c. 11)
 Región crítica de Cri-du-chat (c. 5)
 Región cromosómica BCR para la leucemia mielogénica crónica (c. 22)
 Resistencia a la hormona tiroidea (c. 3)
 Resistencia al cortisol (c. 5)
 Retinitis pigmentosa (defectos en la periferina) (c. 6)
 Retinitis pigmentosa tipo 1 (c. 8)
 Retinitis pigmentosa tipo 2 (c. X)
 Retinitis pigmentosa tipo 3 (c. X)
 Retinitis pigmentosa tipo 4 (c. 3)
 Retinoblastoma (c. 13)
 Retinosquiasis (c. X)
 Rieger, síndrome de (c. 4)
 Rubinstein-Taybi, síndrome de (c. 16)
 Sarcoma de Ewing (c. 22)
 Septal auricular, defecto (una forma) (c. 6)
 Seudoaldosteronismo (c. 4)
 Seudohipoparatiroidismo tipo 1a (c. 20)
 Seudo-Zellweger, síndrome (c. 3)
 Sinostosis craneana de Saethre-Chotzen (c. 7)
 Sinostosis craneana tipo 2 (c. 5)
 Smith-Lemli-Opitz, síndrome de (c. 7)
 Smith-Magenis, síndrome de (c. 17)
 Sordera neurosensorial (c. 13)
 Sordera para los tonos bajos (c. 5)
 Susceptibilidad a la poliomielitis (c. 19)
 Susceptibilidad a la toxina de la difteria (c. 5)
 Susceptibilidad al parkinsonismo (c. 22)
 TFM, defecto del receptor de andrógenos (c. X)
 Tirosinemia tipo 1 (c. 14)
 Tirosinemia tipo 2 (c. 16)
 Transcobalamina II, deficiencia de (c. 22)
 Transcortina, deficiencia de (c. 14)
 Tricorinofalángico tipo 1, síndrome de (c. 8)
 Triosafofosfoisomerasa, deficiencia de (c. 12)
 Tripsinógeno, deficiencia de (c. 7)
 Tromboastenia tipo Glanzmann (c. 17)
 Tumor de Wilms tipo 2 (c. 11)
 Tumor de Wilms-aniridia compleja (c. 11)
 Uña-rótula, síndrome de (c. 9)
 Usher tipo 1, síndrome de (c. 14)
 Usher tipo 2, síndrome de (c. 1)
 Velocardiofacial, síndrome (c. 22)
 Von Hippel-Lindau, síndrome de (c. 3)
 von Willebrand, enfermedad de (c. 12)
 Waardenburg tipo I, síndrome de (c. 2)
 Werner, síndrome de (c. 8)
 Williams-Beuren, síndrome de (c. 4)
 Wilson, enfermedad de (c. 13)
 Xantomatosis cerebrotendinosa (c. 2)
 X frágil, síndrome del (c. X)
 Xeroderma pigmentoso grupo C (c. 3)

Zellweger, síndrome de (c. 7)
Zellweger tipo 2, síndrome de (c. 1)

Advertencia: hay numerosos trastornos similares causados por mutaciones de los genes en otros loci, a veces con otras formas de herencia. Esta lista y sus mapas correspondientes no están completos, sino que son ejemplos. Para un mapa y una lista completos véase el catálogo de McKusick, ed. 12ª y OMIM, 1998.

Bibliografía general

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P.: *Molecular Biology of the Cell*. 4th ed. Garland Publishing Co., New York, 2002.
- Alberts, B., Bray, D., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P.: *Essential Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing Co., New York, 1998.
- Ayala, F.J., Kiger, J.A.: *Modern Genetics*. 2nd ed. Benjamin Cummings Publishing Co., Menlo Park, CA, 1984.
- Baudet, A.L.: Genetics and disease. p. 365-394. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. 14th ed., A.S. Fauci et al., eds. McGraw-Hill, New York, 1998.
- Brown, T.A.: *Genomes*. 2nd ed Bios Scientific Publishers., Oxford, 2002.
- Burns, G.W., Bottinger, P.J.: *The Science of Genetics*. 6th ed. Macmillan Publishing Co., New York and London, 1989.
- Campbell, N.A.: *Biology*. 2nd ed. Benjamin Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1990.
- Cavalli-Sforza, L.L., Menozzi, P., Piazza, A.: *The History and Geography of Human Genes*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 1994.
- Childs, B.: *Genetic Medicine. A Logic of Disease*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1999.
- Connor, J.M., Ferguson-Smith, M.A.: *Essential Medical Genetics*, 4th ed., Blackwell Scientific Publishers, Oxford, 1993.
- Dobzhansky, T.: *Genetics and the Evolutionary Process*. Columbia University Press, New York and London, 1970.
- Emery A.E.H. *Methodology in Medical Genetics*. 2nd ed. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1986.
- Falconer, D.S.: *Introduction to Quantitative Genetics*, 2nd ed. Longman, London, 1981.
- Fauci, A.S., Braunwald, E., Isselbacher, K.J., Wilson, J.D., Martin, J.B., Kasper, D.L. Hauser, S.L., Longo, D.L., eds.: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 14th ed., McGraw-Hill, New York, 1998.
- Gehring, W.: *Master Control Genes in Development and Evolution. The Homeobox Story*. Yale University Press, New Haven, 1999.
- Gelehrter, T.D., Collins, F.S., Ginsburg, D.: *Principles of Medical Genetics*, 2nd ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 1998.

- Gilbert-Barness, E., Barness, L.: *Metabolic Diseases. Foundations of Clinical Management, Genetics and Pathology*. Eaton Publishing, Natick, MA 01760 USA, 2000.
- Glover, D., Hames, B.D., eds: *DNA Cloning: A Practical Approach. Core Techniques*. Vol.1, IRL Press, Oxford, 1995.
- Griffith, A.J.F., Suzuki, D.T., Miller, J.H., Lewontin, R.C., Gelbart, W.M.: *An Introduction to Genetic Analysis*. 7th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
- Harper, P.S.: *Practical Genetic Counselling*. 5th ed., Butterworth-Heinemann, Oxford, 1998.
- Jameson, J.L., ed: *Principles of Molecular Medicine*. Humana Press, Totowa, New Jersey, 1998.
- Jorde, L.B., Carey, J.C., White, R.L.: *Medical Genetics*. 2nd ed. C.V. Mosby, St. Louis, 2000.
- King, R., Rotter, J., Motulsky, A.G., eds: *The Genetic Basis of Common Disorders*. Oxford University Press, Oxford, 1992.
- Knippers, R.: *Molekulare Genetik*, 7. Aufl. Georg Thieme Veriag, Stuttgart- New York, 1997.
- Koolman, J., Röhm, K.-H.: *Color Atlas of Biochemistry*. Thieme, Stuttgart - New York, 1996.
- Korf, B.R.: *Human Genetics: A Problem-Based Approach*, 2nd ed., Blackwell Science, Malden, MA, 2000.
- Kulozik, A.E., Hentze, M.W., Hagemeyer, C., Bartram, C.R.: *Molekulare Medizin*. de Gruyter, Berlin - New York, 2000.
- Levitan, M.: *Textbook of Human Genetics*, 3rd ed., Oxford University Press, Oxford, 1988.
- Lewin, B.: *Genes VII*. Oxford University Press, Oxford, 2000.
- Lewontin, R.C.: *The Genetic Basis of Evolutionary Change*. Columbia University Press, New York, London, 1974.
- Lodish, H., Burk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D., Darnell, J.: *Molecular Cell Biology (with an animated CD-ROM)*. 4th ed. W.H. Freeman & Co., New York, 2000.
- McKusick V.A.: *Mendelian Inheritance in Man. A Catalog of Human Genes and Genetic Disorders*. 12th ed., Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1998. (Also see online version OMIM).
- Muller, R.F., Young, I.D.: *Emery's Elements of Medical Genetics*. 10th ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, 1998.
- Murphy, E. A., Chase, G.E.: *Principles of Genetic Counseling*. Year Book Medical Publishers, Chicago, 1975.
- Ohno, S.: *Evolution by Gene Duplication*. Springer Verlag, Heidelberg, 1970.

Ott, J.: Analysis of Human Genetic Linkage. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1991.

Passarge, E.: Genetische Grundlagen der Inneren Medizin, p. 21-54. In: Die Innere Medizin, 10. Auflage, W. Gerok, Ch. Huber, Th. Meinertz, H. Zedler, eds., Schattauer Verlag Stuttgart, 2000.

Passarge, E.: Genetik, p. S-56. In: Klinische Pathophysiologie, 8. Auflage, W. Siegenthaler, ed., Thieme Verlag Stuttgart, 2001.

Pasternak, J.J.: An Introduction to Human Molecular Genetics. Fitzgerald Science Press, Bethesda, Maryland, 1998.

Purves, W.K. Orians, G.H., Heller, H.C.: Life. The Science of Biology. 4th ed. Sinauer Associates, Inc. and W.H. Freeman & Co., Salt Lake City, 1995.

Rimoin, D.L., Connor, J.M., Pyeritz, R.E., eds: Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics, 3rd ed., Churchill-Livingstone, Edinburgh, 1996.

Rothwell, N.V.: Understanding Genetics. A Molecular Approach, Wiley-Liss, New York, 1993.

Schmidtkje, J.: Vererbung und Vererbtes - Ein humangenetischer Ratgeber. Rowohlt Taschenbuch Verlag, Reinbek bei Hamburg, 1997.

Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., Valle, D., eds: The Metabolic and Molecular Bases of Information on Inherited Disease. 8th ed., McGraw-Hill, New York, 2001.

Segal, N.: Entwined Lives: Twins and what they tell us about human behavior. Dutton Books, New York, 1999.

Snustad, D.P., Simmons, M.J., Jenkins, J.B.: Principles of Genetics. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1997.

Stent, G., Calendar, R.: Molecular Genetics. An Introductory Narrative. 2nd ed. W.H. Freeman & Co., San Francisco, 1978.

Strachan, T., Read, A.P.: Human Molecular Genetics. 2nd ed. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1999.

Stryer, L.: Biochemistry. 4th ed. W.H. Freeman, New York, 1995.

Sutton, M.E.: An Introduction to Human Genetics, 4th ed., Harcourt Brace Jovanovich Publishers, San Diego, 1988.

Terwilliger, J., Ott, J.: Handbook for Human Genetic Linkage. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1994.

Thompson, M.W., McInnes, R.R., Willard H.F.: Genetics in Medicine, 5th ed., W.B. Saunders, Philadelphia, 1991.

Tomasello, M.: The Cultural Origins of Human Cognition. Harvard University Press, Cambridge, MA, 1999.

Vogel, F., Motulsky, A.G.: Human Genetics. Problems and Approaches. 3rd ed., Springer Verlag Heidelberg-New York, 1997.

Watson, J.D., Hopkins, N.H., Roberts, J.W., Steitz, J.A., Weiner, A.M., eds: Molecular Biology of the Gene. 4th ed. The Benjamin Cummings Publishing Co., Menlo Park, California, 1987.

Selected Websites for Access to Genetic Information

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine. Johns Hopkins University (Baltimore, Maryland) and the National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, Maryland), 2000, at World Wide Web URL: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>).

GeneClinics, a clinical information resource relating genetic testing to the diagnosis, management, and genetic counseling of individuals and families with specific inherited disorders: (<http://www.geneclinics.com>).

Information on Individual Human Chromosomes and Disease Loci: Chromosome Launchpad: (<http://www.geneclinics.com>).

National Center of Biotechnology Information Genes and Disease Map: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/disease/>).

Medline: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>).

MITOMAP: A human mitochondrial genome database: (<http://www.gen.emory.edu/mitomap.html>), Center for Molecular Medicine, Emory University, Atlanta, GA, USA, 2000.

Glosario

Definiciones de términos genéticos

Acéntrico - se refiere al cromosoma o cromátida sin centrómero.

Acoplamiento (Bateson, Saunders, Punnett, 1905) - configuración en *cis* (q.v.) de heterocigotos dobles.

Acrocéntrico (White, 1945) - se refiere al cromosoma con un centrómero muy próximo a uno de los extremos, lo que determina la existencia de un brazo largo y otro muy corto.

Agente intercalante - componente químico que puede ocupar el espacio entre pares de bases adyacentes en el DNA.

Aguas abajo (downstream) - en dirección 3' de un gen.

Aguas arriba (upstream) - en dirección 5' de un gen.

Aislamiento genético (Waklund, 1928) - población física o socialmente aislada que no se cruza con individuos no pertenecientes a esa población (no hay panmixia).

Alelo (Johannsen, 1909) o **alelomorfo** (Bateson y Saunders, 1902) - cada una de las formas alternativas de un gen en un locus génico determinado.

AMP cíclico (cAMP) - adenosinmonofosfato cíclico; es un segundo mensajero producido como respuesta a la estimulación de una proteína G acoplada a un receptor.

Amplificación - producción de copias adicionales de secuencias de DNA.

Amplificación génica (Brown y David, 1968) - producción selectiva de múltiples copias de un gen determinado sin el incremento proporcional de otros genes.

Anafase (Strasburger, 1884) - estadio de la mitosis y de la meiosis I y II. Se caracteriza por el movimiento de cromosomas homólogos (o cromátidas hermanas) hacia los polos opuestos del huso de división celular.

Aneuploide (Täckholm, 1922) - que posee menor o mayor número de cromosomas que el normal.

Aneusomía - desviación de la presencia normal de segmentos de cromosomas homólogos. Aneusomía por recombinación se refiere a la duplicación/deficiencia resultante de la recombinación cruzada dentro de una inversión (reversión invertida).

"Annealing" - hibridación de dos moléculas de DNA que se realiza a altas temperaturas para lograr una máxima especificidad; por ejemplo, unión de un cebador (primer) al DNA molde durante la PCR.

Anticuerpo - proteína (inmunoglobulina) que reconoce y se une a un antígeno en el contexto de una respuesta inmune.

Anticuerpo monoclonal - anticuerpo con especificidad para un solo antígeno, producido por una sola célula progenitora.

Antígeno - sustancia con una estructura molecular de superficie que desencadena una respuesta inmune, por ejemplo, la producción de anticuerpos, o que reacciona con un (su) anticuerpo específico (reacción antígeno-anticuerpo), o ambas cosas.

Apoptosis - muerte celular programada, caracterizada por una serie de acontecimientos celulares regulados cuyo resultado es la muerte celular, para eliminar una célula dañada o una normal que deja de ser necesaria durante el desarrollo.

Atenuador (attenuator) - secuencia que regula la terminación de la transcripción, involucrada en el control de la expresión de algunos operones en bacterias.

Atrasada, cadena de DNA (lagging strand) - es la nueva cadena de DNA copiada de la cadena 3' - 5'. Es sintetizada (replicada) en forma de fragmentos pequeños en dirección 5' - 3' (fragmentos de Okazaki), que luego se unen.

Australopithecus - es el género del fósil Hominidae de Eurasia. Caminaba erecto; el tamaño de su cerebro se encontraba entre el del hombre moderno y otros primates modernos; poseía una mandíbula grande y maciza. Vivió hace 4 a 5 millones de años.

Autorradiografía (Lacassagne y Lattes, 1924) - detección fotográfica de una sustancia radiactiva incorporada por metabolismo a una célula o tejido. La distribución de la sustancia con marca radiactiva puede detectarse, por ejemplo en tejidos, células o cromosomas metafásicos mediante la colocación de una película fotográfica y una emulsión fotográfica en contacto estrecho con el preparado.

Autosoma (Montgomery, 1906) - cualquier cromosoma con excepción de los sexuales (estos últimos por lo general se los designa como X o Y). Autosómico se refiere a genes o segmentos cromosómicos que se localizan en los autosomas.

Auxotrófico (Ryan y Lederberg, 1946) - se refiere a células o líneas celulares que no pueden crecer en un medio mínimo, a menos que se lo complementa con un nutriente determinado (cf. prototrófico).

Bacteriófago - es un virus que infecta bacterias. Habitualmente se abrevia como fago.

Banco genético - colección de fragmentos de DNA que en conjunto representan al genoma del cual derivan (biblioteca genética).

Biblioteca - véase DNA, biblioteca de.

Bivalente (Haecker, 1892) - configuración del apareamiento de un par de cromosomas homólogos durante la primera fase de la división meiótica. Como regla, en células somáticas diploides el número de bivalentes corresponde a la mitad del número normal de cromosomas. Los bivalentes son el prerrequisito citogenético para la recombinación cruzada (*crossing over*) de cromátidas no hermanas. Durante la meiosis una célula trisómica forma un trivalente a partir de los cromosomas trisómicos.

Burbuja de replicación - región desenrollada de la doble hélice de DNA en la cual tiene lugar la replicación.

Cadena codificante de DNA - es la cadena de DNA con la misma secuencia que la de RNA (mRNA) utilizada para la traducción (RNA sentido). La otra molécula de DNA, que dirige la síntesis de mRNA, es la cadena molde (véase RNA antisentido).

Caja CAT o CAAT (CAT o CAAT box) - secuencia reguladora de DNA en la región 5' de genes eucariotes; los factores de transcripción se unen a esta secuencia.

Caja hogness (hogness box) - secuencia de nucleótidos que es parte de los promotores de los genes eucariotes.

Caja homeótica (homeobox) - segmento de DNA altamente conservado en los genes homeóticos.

Caja Pribnow (Pribnow box) - parte de un promotor (es la secuencia TATAAT 10 pb aguas arriba del gen) en procariontes.

Caja TATA - secuencia conservada de DNA no codificante de unos 25 pb en la región 5' de la mayoría de los genes eucariotes. Consiste principalmente en secuencias del motivo TATAAAA. También conocida como caja hogness (cf. caja pribnow, de procariontes).

Caminata cromosómica (chromosome walking) - aislamiento de secuencias de DNA superpuestas, con el objetivo de encontrar un gen en el cromosoma estudiado.

Cariotipo (Levitsky, 1924) - conjunto de cromosomas de una célula, individuo o especie.

cDNA - DNA complementario de una cadena de RNA (utilizada como molde), que fue sintetizado por la enzima transcriptasa inversa.

Cebador (Primer) - oligonucleótido de DNA o RNA que luego de la hibridación con un DNA complementario invertido, tiene un extremo 3'-OH al cual la DNA polimerasa puede agregar nucleótidos para sintetizar una cadena nueva.

Célula híbrida - es una célula somática generada por la fusión de dos células en cultivo. Esta nueva célula contiene el juego cromosómico completo o incompleto de las células parentales. Las células híbridas son una herramienta importante en el trazado de mapas genéticos.

Célula troncal (stem cell) - célula capaz de renovarse a sí misma por división, con conservación del potencial para diferenciarse dentro de una vía particular del desarrollo. Se pueden distinguir células troncales totipotenciales y pluripotenciales.

Células B - linfocitos B.

Células T - linfocitos T.

Centimorgan - es una unidad de medida de longitud en un mapa de ligamiento de genes (*linkage map*). [100 centimorgan (cM) = 1 Morgan]. La distancia entre dos loci génicos en centimorgan corresponde a la frecuencia de su recombinación expresada como porcentaje; por ejemplo, un cM corresponde a un 1% de frecuencia de recombinación. El nombre se debe a Thomas H. Morgan (1866-1945), quien en 1910 inició los experimentos de genética clásica en *Drosophila*.

Centrómero (Waldeyer, 1903) - región cromosómica a la cual se anclan las fibras del huso durante la mitosis o meiosis. Aparece como una constricción durante la metafase.

Chaperona - es una proteína necesaria para el ensamblaje o plegamiento correctos de otra proteína.

Ciclina - proteína que participa en la regulación del ciclo celular.

Ciclo celular - ciclo de vida de una célula individual. En células que se dividen se pueden distinguir las cuatro fases siguientes: G1 (interfase), S (síntesis de DNA), G2 y mitosis. Las células que no se dividen se encuentran en fase G0.

Cigoteno (de Winiwarter, 1900) - estadio de la profase de la meiosis I.

Cigoto (Bateson, 1902) - es la nueva célula diploide formada por la fusión de dos gametos haploides, un óvulo y un espermatozoide durante la fertilización. Es la célula a partir de la cual se desarrolla el embrión.

Cis, secuencia en - se refiere a una secuencia reguladora de un gen localizada en el mismo cromosoma (*cis*); la **secuencia en trans** es la región reguladora presente en otro cromosoma.

Cis/trans (Haldane, 1941) - en analogía con los isómeros químicos, se refiere a la posición de genes doblemente heterocigotos (heterocigotos en dos loci de genes vecinos) en cromosomas homólogos. Cuando dos alelos determinados, por ejemplo, mutantes, se encuentran adyacentes en el mismo cromosoma, se dice que están en posición *cis*. Si se encuentran enfrentados en diferentes cromosomas homólogos, se ubican en posición *trans*. En la prueba de *cis/trans* (Lewis, 1951; Benzer, 1957) se utilizan métodos genéticos (*complementación genética*) para determinar si dos genes mutantes se encuentran en posición *cis* o *trans*. En referencia al lineamiento genético, las expresiones *cis* y *trans* son análogas a los términos acoplamiento y repulsión (q.v.).

Cistrón (Benzer 1957) - es la unidad funcional capaz de producir el efecto de un gen. Esta unidad es definida a través de la prueba de *cis/trans*. Si un fenotipo es un mutante con alelos en posición *cis* que no se complementan entre sí (complementación génica), éstos son considerados alelos de un mismo cistrón. Si se complementan entre sí se los considera no alélicos. Esta definición de Benzer fue ampliada (Fincham, 1959). Según esta última definición, un cistrón es un fragmento de DNA que codifica para una unidad de un producto de un gen. Dentro de un cistrón las mutaciones en posición *trans* no pueden complementarse entre sí. El término cistrón es el "equivalente funcional" del término gen.

Citocina - es una molécula de secreción pequeña. Puede unirse a receptores de la superficie celular de algunas células, lo que dispara la proliferación o diferenciación de éste.

Citoesqueleto - es una red de proteínas de sostén en el citoplasma y la membrana celular.

Clade - es un grupo de organismos que evolucionaron de un mismo ancestro.

Clon (Webber, 1903) - es una población de moléculas, células u organismos que se han originado de una sola célula o un solo antepasado, y son idénticos a éstos y entre sí.

Clonado, eficiencia de - mide la posibilidad de clonación a partir de una única célula de un cultivo de células de mamífero.

Clonado, vector de - es un plásmido, fago o cromosoma artificial de levadura (*YAC: Yeast Artificial Chromosome*), usados para transportar un fragmento de DNA con el propósito de clonarlo (producir múltiples copias del fragmento).

CMH (complejo mayor de histocompatibilidad) (Thorsby, 1974) - es el principal sistema de histocompatibilidad, formado por los genes de antígenos de clase I y III del sistema de HLA, incluidos los genes de clase II.

CML - cultivo mixto linfocitario (Bach y Hirschhorn; Bach y Lowenstein, 1964). CML es una prueba para hallar diferencias en el fenotipo HLA-D.

Código genético - información contenida en los tripletes de los nucleótidos de DNA utilizada para incorporar un aminoácido determinado en un producto de un gen.

Codominante - véase dominante.

Codón (Crick, 1963) - es una secuencia de tres nucleótidos (un triplete), en el DNA o en el RNA, que codifica para un aminoácido determinado o para una señal de terminación de una secuencia de aminoácidos.

Codón ámbar - el codón de terminación UAG.

Codón de terminación - cada uno de los tres tripletes que señalan el fin de la traducción (UAG, UAA, UGA).

Codón sin sentido - codón que no posee una molécula normal de tRNA. Se refiere a cualquiera de los tres tripletes que terminan la traducción (UAG, UAA, UGA).

Complejo sinaptonémico (Moses, 1958) - estructuras paralelas asociadas con la formación del quiasma durante la meiosis, visibles con el microscopio electrónico.

Complementación genética (Fincham, 1966) - es el efecto de complementación (restauración de la función normal) de mutantes dobles en distintos loci de un gen. Como ejemplo, véase la complementación genética para xeroderma pigmentoso ilustrada en la página 82.

Concatémero - asociación de moléculas de DNA de extremos complementarios, unidas "cabeza-cola" y repetidas en tándem. Se forman durante la replicación de los genomas de algunos virus y fagos.

Concordancia - es la aparición de un rasgo o patología en ambos miembros de una pareja de mellizos (monocigotos o dicigotos).

Condensación cromosómica prematura (Johnson y Rao, 1970) - inducción de la condensación cromosómica en un núcleo interfásico luego de la fusión con una célula en mitosis. Los cromosomas condensados de fase S aparecen pulverizados (corresponde a la tan nombrada pulverización cromosómica).

Conector de DNA (*linker DNA*) - oligonucleótido de DNA sintético, de cadena doble, que posee un sitio de reconocimiento para una enzima de restricción y puede unirse a un fragmento de DNA conocido. También se refiere al fragmento de DNA entre dos nucleosomas.

Conjugación - es la transferencia de DNA de una bacteria a otra.

Consanguinidad - es la relación por sangre. Dos o más individuos se denominan consanguíneos (relacionados por sangre) si tienen uno o más antepasados en común. Una expresión cuantitativa de consanguinidad es el coeficiente de endogamia (q.v.).

Contig - serie de fragmentos de DNA superpuestos (secuencias contiguas).

Conversión génica (Winkler, 1930; Lindgren, 1953) - interacción de alelos que conduce a un intercambio genético desigual durante la meiosis. La conversión génica es el proceso de transferencia genética no recíproca. Un gen sirve como secuencia donante, sin quedar afectado, y el otro recibe secuencias nuevas y sufre la variación.

Cooperación metabólica (Subak-Sharpe y col., 1969) - corrección del fenotipo en células en cultivo, por contacto con células normales o productos celulares. Un ejemplo de corrección metabólica es la corrección cruzada de células cultivadas de diferentes patologías, por almacenamiento incorrecto de mucopolisacáridos, o la corrección de células deficientes en HGPRT por células normales.

Corpúsculo de Barr - véase cromatina X.

Cos, sitio - es un sitio de restricción necesario para el clivaje y empaquetamiento de una cadena pequeña de DNA en la cabeza del fago λ .

Cósmido - plásmido que posee el sitio cos del fago λ , además de secuencias necesarias para la replicación. Sirve como vector de clonado para fragmentos de DNA de hasta 40 kb.

Cromátida (McClung, 1900) - subunidad longitudinal de un cromosoma que resulta de la replicación cromosómica; dos cromátidas permanecen unidas por medio del centrómero y son visibles durante la profase temprana y la metafase de la mitosis, y entre el diploteno y la segunda metafase de la meiosis. Las cromátidas hermanas provienen de un mismo cromosoma; cromátidas no hermanas son las cromátidas de cromosomas homólogos.

Luego de la división de los centrómeros en la anafase las cromátidas hermanas se denominan cromosomas hijos. La *ruptura de una cromátida* o una aberración cromosómica del tipo de la cromátida afecta sólo a una de las dos cromátidas hermanas, ya que este daño surgió luego de la replicación del DNA en la fase S (véase ciclo celular). Un daño antes de la fase S afectará ambas cromátidas y se denominará aberración isocromatídica (*isochromatid break*).

Cromatina (Flemming, 1882) - es el material teñido que puede observarse en el núcleo durante la interfase. Está compuesto por DNA, proteínas básicas de los cromosomas (histonas), proteínas no histónicas y pequeñas cantidades de RNA.

Cromatina X (formalmente llamada corpúsculo de Barr o cromatina sexual) (Barr y Bartram, 1949) - condensación teñida de oscuro en el núcleo celular interfásico, que representa un cromosoma X inactivado.

Cromatina Y - (corpúsculo F; Pearson, Bobrow, Vosa, 1970) - es el brazo largo brillante y fluorescente del cromosoma Y visible en el núcleo interfásico.

Cromómero (Wilson, 1896) - Cada una de las condensaciones de los cromosomas que se disponen en forma lineal, visibles en la profase meiótica y, en algunas condiciones, también en la mitótica. Los cromómeros se ordenan en patrones específicos para cada cromosoma.

Cromosoma (Waldeyer, 1888) - son las estructuras que contienen a los genes; están compuestas por cromatina y son visibles durante la división nuclear como hilos o bastones. Los **cromosomas politénicos** (Koltzoff, 1934; Bauer, 1935) son una forma especial de cromosomas de las glándulas salivales de algunas larvas de Diptera (mosquitos y moscas).

Cromosoma en anillo - cromosoma circular. En los procariontes el cromosoma normal tiene forma de anillo. En los mamíferos, éste representa una anomalía estructural e implica la pérdida de material cromosómico.

Cuadrirradial, figura - configuración asumida por los segmentos homólogos de cromosomas involucrados en una translocación recíproca, cuando se aparean durante la meiosis. Raramente esta figura puede presentarse durante la mitosis.

Cuerpo polar (Robin 1862) - célula en involución que aparece durante la ovogénesis y que no se desarrollará más allá como ovocito.

D, bucle (*D loop*) - es una región del DNA mitocondrial en la cual una cadena está apareada con RNA que, en consecuencia, desplaza a la otra cadena.

Dalton - es una unidad de masa atómica, equivalente a 1/12 de la masa del núcleo del ^{12}C ($1,657 \times 10^{-24}\text{g}$).

Dedos de cinc - estructura con forma de dedos hallada en muchas proteínas reguladoras que se unen al DNA. Los "dedos" se sujetan juntos a través de un átomo de cinc estratégicamente ubicado.

Deficiencia (Bridges, 1917) - pérdida de un segmento cromosómico como resultado de una recombinación cruzada defectuosa, ya sea desigual, o dentro de una inversión (q.v.) o de un cromosoma en anillo (q.v.). Surge en el mismo momento que una duplicación complementaria (q.v.). Este acontecimiento se denomina *delección/duplicación*.

Delección (Painter y Muller, 1929) - pérdida total o parcial de un cromosoma o de algunas bases nucleotídicas del DNA.

Desnaturalización del DNA - separación de las cadenas de una molécula de ácido nucleico de cadena doble, para dar lugar a dos cadenas simples. Se denomina **renaturalización** al apareamiento de dos moléculas complementarias de ácidos nucleicos de cadena simple.

Diacinesis (Haecker, 1897) - estadio tardío durante la profase I de la meiosis.

Dicéntrico, cromosoma (Darlington, 1937) - cromosoma aberrante que contiene dos centrómeros.

Dicigóticos - mellizos que provienen de dos cigotos diferentes (hermanos mellizos). Por el contrario, se denominan **monocigóticos** los mellizos que provienen del mismo cigoto (gemelos idénticos).

Diploide (Strasburger, 1905) - células u organismos que poseen dos juegos de cromosomas homólogos, uno proveniente del padre (paterno) y otro de la madre (materno).

Diploteno (*Dictyotene* o *Diplotene*) - estadio durante el desarrollo fetal del ovocito en el cual la profase meiótica se interrumpe. En las mujeres los ovocitos alcanzan el estadio de diploteno en las 4 semanas previas al nacimiento; el desarrollo subsiguiente de los ovocitos se detiene hasta la ovulación, durante la cual continúa la meiosis.

Discordancia - es la aparición de un rasgo o patología determinados en sólo un miembro de una pareja de mellizos (monocigotos o dicigotos).

Disomía uniparental (DUP) - presencia de los dos cromosomas homólogos de un par provenientes de un solo progenitor. Se distingue la disomía uniparental por *isodisomía*, en la cual los cromosomas son idénticos, de la heterodisomía, en la cual son homólogos pero diferentes.

Dispermia - se refiere a la penetración de un óvulo por dos espermatozoides.

Distribución bimodal - se refiere a la curva que representa una frecuencia de distribución con dos picos. Si la curva de frecuencia de distribución de un rasgo de la población es bimodal, por lo general es evidencia de la existencia de dos fenotipos diferentes distinguibles cuantitativamente.

Disyunción, sin (Bridges, 1912) - distribución defectuosa de cromosomas homólogos durante la meiosis. En la mitosis no disyuntiva el error de distribución se produce durante la mitosis.

Diversidad - diferentes fenotipos dentro de un tejido.

DNA (ácido desoxirribonucleico) - es la molécula que contiene la información genética primaria en forma de una secuencia lineal de nucleótidos en grupos de tres (tripletes) (véase codón).

DNA satélite (*sDNA*) (Sueoka, 1961; Britten y Kohne, 1968) - es aquella molécula de DNA que contiene repeticiones en tándem de secuencias de nucleótidos de diferentes longitudes. El sDNA puede separarse del resto por centrifugación en un gradiente de densidad en cloruro de cesio, luego del cual aparece como una o más bandas (satélites) separadas de la masa principal de DNA. En eucariontes los DNA satélites livianos (ricos en AT) pueden distinguirse de los pesados (ricos en GC).

Las *microsatélites* son pequeñas repeticiones en tándem (2 - 10) de nucleótidos de DNA; los *minisatélites* son repeticiones en tándem de 20 - 100 pares de bases; los satélites de DNA clásicos son en repeticiones largas de 100 - 6.500 pb (véase pág. 73).

DNA polimerasa - enzima que sintetiza DNA. Para comenzar la síntesis necesita un cebador de RNA o una cadena complementaria de DNA.

DNA recombinante - molécula de DNA constituida por partes de diferente origen.

DNA Z - conformación alternante del DNA. A diferencia del DNA B normal (modelo de Watson - Crick), la hélice está enrollada hacia la izquierda y en ángulos (en zigzag, de ahí DNA Z).

DNA, biblioteca de - es una colección de moléculas de DNA clonadas que contiene el genoma completo (**biblioteca genómica**), o de fragmentos de cDNA obtenidos a partir del mRNA producido por un tipo celular determinado (**biblioteca de cDNA**).

DNasa (desoxirribonucleasa) - enzima que digiere DNA.

Dominante (Mendel, 1865) - se refiere a un rasgo genético que puede observarse en un individuo heterocigoto. Los términos "dominante" y "recesivo" se refieren al comportamiento de los alelos en un locus determinado. El efecto observado depende en parte de la exactitud de la observación. Cuando es posible observar el efecto de cada uno de los dos alelos diferentes (heterocigotos) de un locus, se dice que estos alelos son codominantes. En el nivel del DNA, los genes alélicos en dos loci homólogos son codominantes.

Dominio - es una región distinguible de la estructura terciaria de una proteína o una región particular de un cromosoma.

Dosaje genético - se refiere al grado de expresión cuantitativa de un gen. También se utiliza en referencia al número de copias de un gen en el genoma.

DUP - disomía uniparental (véase disomía).

Duplicación (Bridges, 1919) - adición de un segmento cromosómico como resultado de una recombinación cruzada defectuosa (véase deficiencia). También puede referirse a pares de bases nucleotídicas de DNA adicionales. La duplicación de genes tiene un papel muy importante en la evolución de los organismos eucariontes.

Duplicación en tándem - segmentos idénticos y cortos de DNA adyacentes entre sí.

Efecto fundador (founder effect) - es la presencia de un alelo determinado en una población debido a la mutación en un solo ancestro.

Efecto positivo negativo - mutación que ejerce un efecto funcional negativo en un alelo.

Eficacia biológica (biological fitness) - probabilidad (entre 0,0 y 1,0) de que un gen sea transferido a la generación siguiente. Para un genotipo y un medio ambiente determinados, la eficacia biológica (o reproductiva) se determina por la tasa de supervivencia y fertilidad.

Electroforesis (Tiselius, 1937) - procedimiento para la separación de moléculas basado en su diferente velocidad de migración en un campo eléctrico. Como medio de soporte se usan geles formados por sustancias como el almidón, la agarosa, la acrilamida, etc. Hay modificaciones técnicas que permiten un mayor poder de discriminación; por ejemplo, la electroforesis en dos dimensiones (el campo eléctrico se rota 90° para la segunda migración) o el cese de la migración en el punto isoeléctrico (enfoque isoeléctrico).

Elongación - adición de aminoácidos a una cadena polipeptídica.

Elongación, factor de - es una proteína que se asocia a los ribosomas durante la adición de aminoácidos; FE para procariontes y FEe para eucariontes.

Empalme (splicing) - uno de los pasos del procesamiento del transcripto primario de RNA, en el cual los intrones son removidos y los exones se unen.

Empalme, unión del - secuencias de los límites entre intrones y exones.

Endocitosis - es la captación específica de material extracelular en la superficie celular. El material es rodeado por una invaginación de la membrana plasmática, que se pellizca para dar lugar a una vesícula unida a la membrana que contiene el material

Endogamia, coeficiente de o coeficiente de consanguinidad (inbreeding coefficient) (Wright, 1929) - es la medida de la probabilidad de que dos alelos en un locus génico de un individuo sean idénticos por descendencia; por ejemplo, que sean copias de un mismo alelo de un ancestro en común a ambos padres (IPD, identidad por descendencia). También puede referirse a la proporción de loci homocigotos de un individuo.

Endonucleasa - grupo heterogéneo de enzimas que clivan uniones entre nucleótidos de DNA de cadena simple o doble, o de RNA.

Endorreduplicación (Levan y Hauschka, 1953) - es la replicación cromosómica durante la interfase sin una verdadera mitosis. En metafase, los cromosomas endorreduplicados están formados por cuatro cromátidas que yacen una al lado de la otra, unidas entre sí por dos centrómeros vecinos.

Enzima (E. Büchner, 1897) - proteína que cataliza una reacción biológica. Las enzimas están formadas por una parte proteica (apoenzima), responsable de su especificidad, y una parte no proteica (coenzima), necesaria para su actividad. Las enzimas se unen a sus sustratos y durante el transcurso de la reacción éstos se alteran metabólicamente o se combinan con otras sustancias. La mayoría de las reacciones químicas con catálisis enzimática pueden clasificarse dentro de los siguientes seis grupos:

1) hidrólisis (clivaje con adición de H₂O), por *hidrolasas*;

2) transferencia de un grupo molecular de un donante a una molécula receptora, por *transferasas*;

3) oxidación y reducción por *oxidasas* y *reductasas* (transferencia de uno o más electrones o átomos de hidrógeno, de una molécula que será oxidada a otra molécula que será reducida);

4) isomerización, por *isomerasas* (mediante el cambio de la posición de un átomo o grupo funcional dentro de una molécula);

5) unión de dos moléculas sustrato para formar una molécula nueva, por *ligasas (sintetasas)*;

6) clivaje no hidrolítico por formación de una unión doble en una o ambas moléculas formadas por *liasas*.

Epigenética, influencia - es la influencia de un factor que cambia el fenotipo sin alterar el genotipo.

Episoma (Jacob y Wollman, 1958) - plásmido (q.v.) que puede existir tanto en forma independiente en el citoplasma como integrado al genoma de la bacteria huésped.

Epistasis (Bateson, 1907) - interacción de genes en un mismo locus génico (alélica) o en diferentes loci (no alélica) para alterar la expresión fenotípica.

Epítipo - parte de una molécula antigénica que se une a un anticuerpo.

Especiación (Simpson, 1944) - formación de especies durante la evolución. Uno de los primeros pasos hacia la especiación es el establecimiento de una barrera reproductora en contra del intercambio genético. Un mecanismo frecuente es la inversión cromosómica.

Especies (Ray, 1670) - población natural en la cual hay cruzamiento entre los individuos que comparan un grupo de genes en común.

Eucarionte (Chatton, 1925) - plantas y animales formados por células poseedoras de un núcleo en el que están contenidos los cromosomas.

Eucromatina (Heitz, 1928) - cromosoma o segmento de un cromosoma que se tiñe con menor intensidad que la heterocromatina (q.v.). La eucromatina es la porción de cromatina, que no está condensada por completo, en el núcleo interfásico.

Euploide (Täckholm, 1922) - se refiere a células, tejidos o individuos con el juego completo normal de cromosomas característico de esa especie (cf. aneuploide, heteroploide, poliploide).

Exocitosis - es un proceso específico por el cual las partículas no difusibles son transportadas a través de la membrana plasmática para ser descargadas en el espacio extracelular.

Exón (Gilbert, 1978) - segmento de DNA representado en el mRNA maduro de organismos eucariontes (cf. intrón).

Exonucleasa - es una enzima que cliva únicamente los extremos de las cadenas de nucleótidos, ya sea el extremo 5' o el 3' (cf. endonucleasa).

Expresión - es el efecto observable de un gen activo.

Expresividad (Vogt, 1926) - se refiere al grado de expresión fenotípica de un gen o genotipo. La ausencia de expresividad también se denomina ausencia de penetrancia.

Factor de iniciación - proteína que se asocia con la subunidad pequeña de los ribosomas cuando comienza la síntesis proteica (FI en procariontes y FE en eucariontes).

Factor de resistencia - un gen plasmídico que provee resistencia para algún antibiótico.

Fago - véase bacteriófago.

Familia multigénica - grupo de genes relacionados por su evolución común.

Fase S (Howard y Pelc, 1953) - fase de síntesis del DNA (replicación del DNA) entre las fases G1 y G2 del ciclo celular eucarionte.

Fenocopia (Goldschmidt, 1935) - fenotipo no hereditario que recuerda un fenotipo genéticamente determinado.

Fenotipo (Johannsen, 1909) - efecto observable de uno o más genes en un individuo o célula.

Feromona - molécula señalizadora capaz de alterar el comportamiento o la expresión génica de otros individuos de la misma especie.

Fibroblasto - es un tipo de célula del tejido conectivo. Puede propagarse en frascos de cultivo que contienen el medio apropiado (*cultivos de fibroblastos*).

Fingerprint ("huella digital") - es un patrón característico de DNA o proteínas.

Fitoheماغlutinina (FHA) - sustancia proteica que se extrae de los porotos (*Phaseolus vulgaris*). Se utiliza para separar los glóbulos rojos de los blancos. Nowell (1960) descubrió su capacidad de inducir transformación blástica (véase transformación) y la división celular en linfocitos. Es la base de los cultivos estimulados por fitoheماغlutinina para el análisis cromosómico.

Fragmento de Okazaki - secuencia de nucleótidos corta, que se sintetiza en la cadena atrasada de DNA durante la replicación (q.v.) (véase pág. 42).

G6PD - glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

Gameto (Strasburger, 1877) - célula germinal haploide, ya sea un espermatozoide (masculino) o un óvulo (femenino). En mamíferos los machos son heterogaméticos (XY) y las hembras homogaméticas (XX). En aves las hembras son heterogaméticas (ZW) y los machos homogaméticos (ZZ).

Gen (Johannsen, 1909) - factor hereditario que constituye una unidad simple de material hereditario. Corresponde a un segmento de DNA que codifica la síntesis de una cadena polipeptídica (cf. cistrón).

Gen, flujo de (Berdson, 1950) - transferencia de un alelo de una población a otra.

Gen homeótico - es uno de los genes del desarrollo de *Drosophila* que, por medio de una mutación, puede conducir al reemplazo de una parte del cuerpo por otra.

Gen, producto de un - polipéptido o RNA ribosómico codificado por ese gen (véase proteína).

Gen regulador - gen que codifica para una proteína que regula otros genes.

Gen reportero - es un gen utilizado para analizar otro gen, en especial para estudiar su región reguladora.

Genes, familia de - son un grupo de genes relacionados, a lo largo de la evolución, en virtud de la identidad o gran similitud de algunas de sus secuencias codificantes.

Genética (Bateson, 1906) - es la ciencia de la herencia y la bases hereditarias de los organismos; deriva del griego *génésis* (origen).

Genético, grupo (*gene cluster*) (Demerec y Hartman, 1959) - es un grupo de dos o más genes vecinos con funciones similares; por ejemplo, el sistema HLA o los genes de inmunoglobulinas.

Genético, mapa - posición de los loci genéticos en los cromosomas. Un mapa físico se refiere a la posición absoluta de loci genéticos; la distancia entre ellos expresada en número de pares de bases. Un mapa genético expresa la distancia de loci genéticamente vinculados en función de su frecuencia de recombinación.

Génica, frecuencia - es la frecuencia de cierto alelo en un locus determinado en una población (frecuencia de alelo).

Genoma (Winkler, 1920) - todo el material genético de una célula o de un individuo.

Genómica - campo de la ciencia que estudia la estructura y función del genoma entero (véase parte II, Genómica).

Genómico, examen (*genome scan*) - búsqueda con marcadores de un loci en todos los cromosomas para relacionarlo con un locus no trazado en un mapa genético.

Genotipo (Johannsen, 1909) - constitución genética total o parcial de un individuo o célula (cf. fenotipo).

Germinal - se refiere a células germinales como el opuesto a células somáticas.

Germinal, célula - célula capaz de diferenciarse por meiosis para dar origen a gametos (son el opuesto a células somáticas).

Girasa - es una topoisomerasa que desenrolla el DNA.

Grupo alquilo - átomos de carbono e hidrógeno unidos en forma covalente, como en los grupos metilo o etilo.

Haploide (Strasburger, 1905) - se refiere a células o individuos con un solo juego de cromosomas; los gametos son haploides.

Haplotipo (Ceppellini y col., 1967) - combinación de alelos en dos o más loci genéticos muy relacionados en el mismo cromosoma; por ejemplo, en el sistema HLA (q.v.).

Helicasa - es una enzima que desenrolla y separa las dos cadenas de la doble hélice de DNA rompiendo los puentes de hidrógeno durante la transcripción o la reparación.

Hélice - bucle - hélice (*Helix - loop - helix*) - motivo estructural de algunas proteínas que se unen el DNA, como los factores de transcripción.

Hemicigoto - genes y loci genéticos de los que un individuo posee una sola copia, como la presencia de un solo cromosoma X en células de machos (XY), o debido a la pérdida del locus homólogo.

Heredabilidad (Lush, 1950; Falconer, 1960) - es la razón entre la varianza genética aditiva y la varianza fenotípica total. La varianza genotípica es el resultado de la interacción de factores genéticos y no genéticos en una población.

Herencia citoplasmática - transmisión de la información genética que se encuentra en las mitocondrias. Como los espermatozoides no contienen mitocondrias, la transmisión de esta información tiene un origen materno.

Heterocarion (Ephrussi y Weiss, 1965; Harris y Watkins, 1965; Okada y Murayama, 1965) - una célula que contiene dos o más núcleos con diferentes genomas.

Heterocigoto (Bateson y Saunders, 1902) - presencia de dos alelos diferentes en un locus génico determinado (cf. homocigoto).

Heterocromatina (Heitz, 1928) - es un cromosoma o segmento cromosómico que permanece fuertemente marcado en la interfase, la profase temprana y la telofase tardía, porque permanece condensado, como todo el material cromosómico durante la metafase. Es lo contrario de la eucromatina, que se vuelve invisible durante la interfase. La heterocromatina corresponde a los cromosomas o segmentos cromosómicos con poca o nula actividad genética. La heterocromatina *constitutiva* puede distinguirse de la *facultativa*. Un ejemplo de heterocromatina facultativa es el cromosoma X heterocromático resultante de la inactivación de uno de los cromosomas X en células femeninas de mamífero. Un ejemplo de heterocromatina constitutiva es la heterocromatina central de los centrómeros, que pueden demostrarse como bandas C.

Heterodisomía - presencia de dos cromosomas homólogos provenientes de un mismo progenitor (cf. isodisomía y DUP).

Heterodúplex - se refiere a la región de una molécula de DNA de cadena doble formada por cadenas no complementarias, que se originaron de diferentes moléculas de DNA doble cadena (dúplex).

Heterogamético (Wilson, 1910) - producción de dos tipos de gametos (q.v.) diferentes; por ejem-

plo, X e Y (machos) en mamíferos o ZW en aves hembras.

Heterogeneidad genética (Harris, 1953; Fraser, 1956) - corresponde a un fenotipo aparentemente uniforme que es consecuencia de dos o más genotipos diferentes.

Heteroploide (Winkler, 1916) - se refiere a las células o individuos con un número anormal de cromosomas.

Heterosis (Shull, 1911) - incremento de la eficacia biológica de genotipos heterocigotos en comparación con sus genotipos parentales homocigotos en plantas y animales.

Hfr, célula - una bacteria que posee secuencias de DNA que permiten una frecuencia alta de transferencia de DNA durante la conjugación.

HGPRT - hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferasa. Es una enzima del metabolismo de las purinas que está inactiva en el síndrome de Lesch-Nyhan.

Hibridación (*hybridization*) - cruza entre dos plantas o animales genotípicamente diferentes pertenecientes a una misma especie. El término se utiliza a veces en un sentido más estrecho: 1) en inglés también llamado *annealing*: unión de dos moléculas complementarias de ácidos nucleicos de cadena simple para formar moléculas de cadena doble (DNA con DNA, RNA con RNA o DNA con RNA); 2) fusión de células en cultivo (in vitro) provenientes de diferentes especies (hibridación celular).

Hibridación de células somáticas - formación de híbridos celulares en cultivo.

Histocompatibilidad - compatibilidad de tejidos determinada por el complejo mayor de histocompatibilidad CMH (véase HLA).

Histona (Kossel, 1884) - proteína del nucleosoma asociada al cromosoma. Las histonas H1-H4 forman el nucleosoma (q.v.).

HLA (Dausset, Terasaki, 1954) - sistema A de antígeno leucocitario humano (*human leukocyte antigen system A*). Algunos autores dicen que el término se refiere a Los Ángeles (LA), donde Terasaki realizó descubrimientos importantes.

Homocigosis, trazar un mapa por (*homozygosity mapping*) - trazado de mapas genéticos mediante la identificación de regiones cromosómicas que son homocigotas, en descendientes que provienen de padres con un ancestro común (apareo consanguíneo) (véase identidad por descendencia).

Homocigoto (Bateson y Saunders, 1902) - presencia de dos alelos idénticos en un locus génico determinado.

Homólogo - se refiere a un cromosoma o locus génico de origen materno o paterno similar.

Hox, genes - grupos de genes de mamíferos que contienen secuencias de caja homeótica. Son importantes en el desarrollo embrionario.

ICH (intercambio entre cromátidas hermanas, o en inglés SCE, sister chromatid exchange) (Taylor, 1958) - intercambio entre las dos cromátidas de un cromosoma metafásico. Luego de dos ciclos de replicación, en una célula cultivada en presencia de un análogo halogenado de una base (p. ej., 5-bromodeoxiuridina), ambas cadenas de DNA de una de las cromátidas presentarán sustituciones por el análogo halogenado de la base, mientras que en la otra cromátida se encontrará sustituida sólo una cadena de DNA. Como resultado, ambas cromátidas presentarán diferentes intensidades de tinción y es posible determinar el sitio donde se produjo la recombinación recíproca de las dos cromátidas (véase pág. 334).

Identidad por descendencia (IPD; identity by descent, IBD) - se refiere a alelos homocigotos en un locus génico, que son idénticos porque fueron heredados de un ancestro en común (véase consanguinidad).

Impronta genómica (genomic imprinting) - diferente grado de expresión de un alelo o segmento cromosómico, de origen paterno o materno, que depende de cambios ocurridos durante la gametogénesis.

In silico - proceso que tiene lugar dentro de una computadora; por ejemplo, el análisis de datos biológicos.

In vitro - proceso biológico que tiene lugar fuera de un organismo vivo o en un ambiente artificial en un laboratorio.

In vivo - dentro de un organismo vivo.

Inactivación X (Lyon, 1961) - inactivación de uno de los dos cromosomas X en células somáticas de mamíferos femeninos durante el período embrionario temprano, mediante la formación de la cromatina X.

Incidencia - tasa de ocurrencia de una enfermedad en una población. Por el contrario, la prevalencia es el porcentaje de la población que está afectado por una enfermedad en particular, en un momento determinado.

Inductor - molécula que induce la expresión de un gen.

Inmunoglobulina - es una molécula que se une a antígenos.

Inserción - inserción de material cromosómico de origen no homólogo en un cromosoma, sin translocación recíproca (q.v.).

Inserción, secuencia de (SI) - pequeño transposón bacteriano que transporta genes de su propia transposición (q.v.).

Intensificador (enhancer) - segmento regulador de DNA que actúa en *cis* y contiene sitios de unión para factores de transcripción. El intensificador se localiza a gran distancia del promotor. Produce un aumento en la tasa de transcripción de un gen (unas 10 veces).

Interfase - es el período del ciclo celular entre dos divisiones celulares (véase mitosis).

Intrón (Gilbert, 1978) - es un segmento de DNA no codificante dentro de un gen (cf. exón). Se transcribe pero luego es removido del transcripto primario del RNA, antes de la traducción.

Inversión (Sturtevant, 1926) - alteración estructural de un cromosoma a través de la ruptura de dos sitios, reversión de la dirección del segmento intermedio y reinserción. Una inversión *pericéntrica* incluye el centrómero en el segmento invertido. Una inversión *paracéntrica* no abarca el centrómero. La inversión no causa signos clínicos per se, pero representa un riesgo genético potencial porque puede producirse recombinación cruzada en el sitio de la inversión y ocasionar una aneumomía en la descendencia (aneumomía por recombinación). La inversión cromosómica desempeña un papel muy importante en la evolución.

Isocromosoma (Darlington, 1940) - cromosoma compuesto por dos brazos idénticos conectados por el centrómero; por ejemplo, dos brazos largos o dos cortos de un cromosoma X. Implica duplicación del brazo doble y deficiencia del brazo ausente. El isocromosoma puede tener un centrómero o dos.

Isodisomía - presencia de dos cromosomas idénticos provenientes de un mismo progenitor (cf. heterodisomía).

Isotipo - cadenas de inmunoglobulinas estrechamente relacionadas.

Isozima o isoenzima (Markert y Möller, 1959; Vessell, 1959) - cada una de las múltiples formas distinguibles de enzimas con función similar en un

mismo organismo. Las isoenzimas son una expresión bioquímica del polimorfismo genético.

Lampbrush, cromosoma (Rückert, 1892) - es un tipo especial de cromosoma que se encuentra en los ovocitos primarios de muchos vertebrados e invertebrados, durante el estado de diploteno de la división meiótica, y en los espermatoцитos de *Drosophila*. Los cromosomas muestran numerosos bucles laterales de DNA que son acompañados por síntesis de RNA y proteínas.

Lazo - es una forma intermedia de RNA durante el empalme, en la cual se forma una estructura circular con una cola por una unión 5'-2'.

Leptoteno - es un estadio de la meiosis (q.v.).

Letal, equivalente (Morton, Crow y Muller, 1956) - es un gen o una combinación de genes que en el estado homocigoto es letal en el 100% de los individuos. Se puede referir a un gen que es letal en el estado de homocigosis, a dos genes diferentes que tienen un 50% de letalidad cada uno, a tres genes diferentes que tienen 33% de letalidad cada uno, etc. Se asume que cada individuo posee 5 o 6 equivalentes letales.

Letal, factor (Bauer, 1908; Hadorn, 1959) - es una anomalía del genoma que conduce a la muerte intrauterina; por ejemplo, numerosas anomalías cromosómicas.

Líder, secuencia - pequeña secuencia N-terminal de una proteína que se requiere para dirigirla a su blanco.

Ligado al X - se refiere a genes en el cromosoma X.

Ligamiento genético (Morgan, 1910) - localización de loci génicos en el mismo cromosoma suficientemente cerca como para evitar una segregación independiente.

Ligamiento, desequilibrio de (linkage disequilibrium) (Kimura, 1956) - asociación no aleatoria de alelos de loci génicos próximos, que se desvía de su frecuencia individual predicha por el equilibrio de Hardy-Weinber. El desequilibrio de ligamiento por lo general se debe al efecto fundador (q.v.).

Ligamiento, grupo de - loci génicos en el mismo cromosoma que se encuentran tan cerca uno del otro que en general se heredan juntos sin recombinación.

Ligando - molécula capaz de unirse a un receptor y, en consecuencia, inducir una señal en la célula; por ejemplo, una hormona.

LINE (long interspersed nuclear element) - secuencia de DNA nuclear larga, dispersa y repetida (véase pág. 244).

Linfocito - célula del sistema inmune de alguno de los dos tipos genéricos: linfocitos B de la médula ósea y linfocitos T derivados del timo.

Lisosoma (deDuve y col., 1955) - organela citoplasmática pequeña que contiene enzimas hidrolíticas.

Locus génico (Morgan, Sturtevant, Muller, Bridges, 1915) - posición de un gen en un cromosoma.

Mapa de restricción - segmento de DNA caracterizado por un patrón particular de sitios de restricción.

Mapa, distancia de - es la distancia entre loci génicos expresada en términos físicos (número de pares de bases, kb, 1.000 pb, o Mb, un millón de pb) o en términos genéticos (frecuencia de recombinación, expresada como cM, centimorgan. Un cM corresponde a 1%).

Mapa, trazado de - varios métodos que permiten determinar la posición de un gen en un cromosoma (mapa físico) o su distancia relativa a otros loci génicos y su orden relativo (mapa genético).

Marcador genético - alelo utilizado para reconocer un genotipo determinado.

Es una característica de polimorfismo genético que puede utilizarse para distinguir el origen parental de dos o más alelos.

Marco de lectura - secuencia de nucleótidos de DNA que puede leerse en tripletes para codificar un péptido (véase marco de lectura abierto).

Marco de lectura abierto (MLA), (open reading frame, ORF) - secuencia de DNA de longitud variable que no contiene codones de terminación y, por lo tanto, puede ser traducida (véase pág. 48).

Medio selectivo - medio que favorece el crecimiento de células en cultivo que contienen un gen determinado.

Megabase (Mb) - Un millón de pares de bases.

Meiosis (Farmer y Moore, 1905) - división nuclear especial de las células germinales, que conduce a la reducción del juego de cromosomas del estado diploide al haploide. La profase de la primera división meiótica, de importancia especial, consta de los siguientes estadios: leptoteno, cigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis.

Mendeliana, herencia (Castle, 1906) - tipo de herencia que sigue las leyes de Mendel, en contraposición a la herencia extracromosómica que está

bajo el control de factores hereditarios citoplasmáticos (DNA mitocondrial).

Metacéntrico - cromosomas divididos por el centrómero en dos brazos de longitud similar.

Metafase (Strasburger, 1884) - estadio de la mitosis en el cual se hacen visibles los cromosomas condensados.

Mitosis (Flemming, 1882) - división nuclear durante la división de células somáticas. Está constituida por la profase, la metafase, la anafase y la telofase.

Mitótico, índice (Minot, 1908) - proporción de células que están en mitosis en un momento dado.

Mixoploidía (Nemec, 1910; Hamerton, 1971) - tejido o individuo que posee células con diferentes números de cromosomas (mosaico cromosómico).

Molde o templado - molécula que determina la secuencia de nucleótidos para la formación de otra molécula similar (complementaria) (véase DNA y RNA).

Monocapa (Abercrombie y Heaysman, 1957) - lámina de una sola capa de células diploides cultivadas sobre el fondo de un frasco de cultivo.

Monocigótico - cada uno de los gemelos provenientes de un solo cigoto (cf. dicigótico).

Monosomía (Blakeslee, 1921) - ausencia de un cromosoma en un juego cromosómico que, de otro modo, sería diploide.

Morfógeno - proteína que está presente en los tejidos embrionarios, en un gradiente de concentración tal que induce algún proceso del desarrollo.

Mosaico - tejido o individuo constituidos por células genéticamente diferentes siguiendo la misma regla que el origen del cigoto (cf. quimera).

mRNA (Brenner, Jacob y Meselson, 1961; Jacob y Monroé, 1961) - RNA mensajero.

mtDNA - DNA mitocondrial.

Mutación (de Vries, 1901) - alteración permanente del material genético. Hay de diferentes tipos entre los que se incluyen mutaciones puntuales por intercambio, pérdida o inserción de pares de bases dentro de un gen y mutaciones cromosómicas con alteración de la estructura cromosómica. Una *mutación de sentido alterado* es una alteración que da como resultado un producto genético (proteína) que contiene una sustitución de un aminoácido por otro que no corresponde. Una *mutación sin sentido* es una alteración que produce un codón de terminación en el medio del mensaje genético, lo que de-

termina la formación de un producto final totalmente inadecuado.

Mutación de sentido alterado - mutación que cambia un codón por otro correspondiente a un aminoácido distinto (véase mutación sin sentido).

Mutación puntual - alteración del código genético dentro de un solo codón. Un posible mecanismo es el intercambio de una base: una pirimidina por otra (o una purina por otra), que se denomina *transición* (Frese, 1959); por ejemplo, timidina por citosina (o adenina por guanina); o a través del intercambio de una pirimidina por una purina o viceversa; lo que da lugar a una *transversión*; por ejemplo, una timidina por una adenina o viceversa (Frese, 1959). Además de los dos tipos de intercambio, una mutación puntual puede ser causada por la inserción de una base nucleotídica o una deleción de uno o varios pares de bases.

Mutación sin sentido - mutación cuyo resultado es la falta de cualquier tipo de información genética; por ejemplo, un codón de terminación (véase mutación de sentido alterado).

Mutación, tasa de - frecuencia de una mutación por locus, por individuo, por generación.

Mutágeno - agente químico o físico capaz de inducir una mutación.

Mutante débil - es una mutación que sólo causa pérdida parcial de una función.

Noqueo génico (Knockout) - inactivación intencional de un gen en un organismo experimental, con el objetivo de obtener información acerca de su función (es igual que la inactivación génica dirigida).

Northern blot - técnica que involucra la transferencia de moléculas de RNA a una membrana de nitrocelulosa, mediante un procedimiento similar al Southern blot (q.v.).

Nucleósido - compuesto formado por una base purica o pirimidica y un azúcar (ribosa o desoxirribosa) (cf. nucleótido).

Nucleosoma (Navashin, 1912; Kornberg, 1974) - subunidad de la cromatina que consiste en DNA enrollado, alrededor de proteínas tipo histonas, en una configuración espacial definida.

Nucleótido - unidad monomérica de las cadenas de polinucleótidos que forman los ácidos nucleicos. El nucleótido es un éster de fosfato que consiste en una base de purina o pirimidina, un azúcar (ribosa

o desoxirribosa como pentosa) y un grupo fosfato (véase pág. 28).

Número modal (White, 1945) - número de cromosomas de un individuo o una célula.

Ocre, codón - es el codón de terminación UAA.

Oncogén (Heubner y Todaro, 1969) - secuencia de DNA de origen viral que puede llevar a la transformación maligna de una célula eucarionte luego de integrarse en el genoma celular (véase protooncogén).

Operador (Jacob y Monod, 1959) - sitio de reconocimiento de un operón en el cual tiene lugar la regulación por control negativo de la transcripción, a través de la unión de represores.

Operón (Jacob y col., 1960) - en procariontes, un grupo de genes funcional y estructuralmente relacionados que son regulados en forma conjunta.

Origen de replicación (ORI) - sitio de comienzo de la replicación del DNA.

Ortólogo - secuencia de DNA homólogo o gen que ha evolucionado de un ancestro común entre especies; por ejemplo, los genes de la α -globina y la β -globina (véase parólogo).

Palíndromo (Wilson y Thomas, 1974) - repetición invertida de una secuencia lineal de bases de DNA, que ayuda a formar una estructura de horquilla por apareamiento de bases de secuencias complementarias.

Panmixia (Weismann, 1895) - sistema de apareamiento entre parejas elegidas al azar, en contraposición al apareamiento ordenado.

Paquiteno (de Winiwarter, 1900) - estadio de la profase de la meiosis I.

Par de bases (pb) - dos bases del DNA - una purina y una pirimidina - enfrentadas entre sí y unidas por puentes de hidrógeno. Los pares de bases normales son A con T y C con G en una molécula de DNA de doble hélice. En el RNA se pueden formar otros pares.

Parólogo - secuencia de DNA o gen que ha evolucionado de un ancestro común dentro de una especie; por ejemplo, ambos loci α en seres humanos (véase ortólogo).

Parasexual (Pontocorvo, 1954) - se refiere a la recombinación genética por medios no sexuales; por ejemplo, por hibridación de células en cultivo (véase hibridación).

Patrón de bandas (cromosómicas) (Painter, 1939) - patrón de tinción cromosómica que consiste en

la alternancia de bandas transversales oscuras con bandas blancas. Cada segmento de cromosomas homólogos muestra el mismo patrón de bandas específico, caracterizado por la distribución y el tamaño de las bandas, lo que puede utilizarse para identificar ese segmento. El término fue introducido por Painter, en 1939, para el patrón lineal de bandas, con tinción intensa y débil, en los cromosomas politénicos de algunos díptera (mosquitos, moscas). Cada banda es definida en relación con las de su entorno. Las secciones entre las bandas se denominan interbandas.

PCR (del inglés *polymerase chain reaction, reacción en cadena de la polimerasa*) (Mullis, 1985) - técnica que consiste en la propagación (amplificación) in vitro de una secuencia determinada de DNA. Es un proceso cíclico de cambios de temperatura que permite la desnaturalización del DNA, la hibridación (*cannalina*) de los oligonucleótidos cebadores apropiados para amplificar la secuencia de interés, y la síntesis (elongación) del segmento que sigue aguas abajo de los cebadores.

Penetrancia (Vogt, 1926) - frecuencia o probabilidad de expresión de un alelo (cf. expresividad).

Péptido - compuesto de dos o más aminoácidos unidos por uniones peptídicas.

Plásmido (Lederberg, 1952) - estructura de DNA circular, con replicación autónoma, hallada en bacterias. Aunque por lo general se encuentra separada del verdadero genoma, puede integrarse a los cromosomas del huésped.

Plastos - cualquiera de los diferentes tipos de organelas halladas en las células vegetales; por ejemplo, cloroplastos.

Pleiotropía (Plate, 1910) - expresión de un gen con aspectos fenotípicos múltiples aparentemente no relacionados.

PLFR, polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (en inglés, *RFLP, restriction fragment length polymorphism*) - producción de fragmentos de DNA de diferentes longitudes, tras el clivaje con una enzima de restricción determinada, debidos a diferencias heredadas en un sitio de restricción.

Población (Johannsen, 1903) - individuos de una especie que se cruzan y constituyen un conjunto genético común (cf. raza).

Poliadenilación - adición de múltiples residuos de adenina en el extremo 3' del mRNA eucarionte, luego de la transcripción.

Policistónico, mensajero - mRNA que incluye regiones codificantes de más de un gen (en procariontes).

Poligénico (Plate, 1913; Mather, 1941) - rasgos codificados por varios o muchos genes cuyos efectos no pueden determinarse en forma individual. Como sinónimo, a veces se utiliza el término multi-génico.

Polimerasas - enzimas que catalizan la combinación de nucleótidos para formar RNA o DNA (transcripción genética y replicación de DNA).

Polimorfismo genético (Ford, 1940) - es la existencia de más de un alelo normal en un locus génico, con una frecuencia del alelo más raro superior al 1%. El polimorfismo puede existir en varios niveles, por ejemplo, variantes en la secuencia del DNA, en la secuencia de los aminoácidos, en la estructura cromosómica o en los rasgos fenotípicos (págs. 164 y siguientes).

Polipéptido - véase péptido.

Poliploide (Strasburger, 1910) - células, tejidos o individuos que poseen más de dos copias del genoma haploide; por ejemplo, tres (triploide) o cuatro (tetraploide). En el hombre, la triploidia y la tetraploidia son en general letales y, como regla, llevan a abortos espontáneos.

Politénicos (Koltzoff, 1934; Bauer, 1935) - tipo especial de cromosomas como resultado de repeticiones endorreplícaciones de un solo cromosoma. De este modo surgen los cromosomas gigantes (cf. cromosoma).

Prevalencia - véase incidencia.

Prion - partículas infecciosas proteínicas que causan trastornos degenerativos del sistema nervioso central.

Procarionte - organismo unicelular sin membrana nuclear (sin núcleo) ni organelas intracelulares.

Profago - es un genoma viral (fago) integrado dentro del genoma bacteriano (huésped).

Promotor - región del DNA, definida en el extremo 5' de un gen, que se une a los factores de transcripción y a la RNA polimerasa durante la iniciación de la transcripción. La secuencia -10 es la secuencia consenso TATAATG, alrededor de 10 pb aguas arriba de un gen procarionte (Caja Pribnow).

Propósito (proband propositus) - individuo de un pedigrí que determina el estudio genético de una familia completa.

Proteína - uno o más polipéptidos con secuencia de aminoácidos y estructura tridimensional específicas. Las proteínas son biomoléculas que representan los elementos claves estructurales de las células vivas y que participan en casi todas las reacciones celulares y bioquímicas (véase producto génico).

Proteoma - el juego completo de todas las genes codificadores de proteínas o todas las proteínas producidas por ellos.

Protooncogén (oncogén celular) - es un gen eucariote que puede estar presente en forma truncada en un retrovirus, en el que puede comportarse como un oncogén.

Prototrófico - células o líneas celulares que no requieren la adición de un nutriente especial al medio de cultivo (cf. auxotrófico).

Provirus - DNA de cadena doble derivado de un retrovirus (con genoma de RNA), que se incorporó al genoma de una célula eucariote.

Prueba de Ames - prueba de mutagenicidad llevada a cabo con una mezcla de hígado de rata y bacterias mutantes.

Puente de hidrógeno - unión química débil no covalente entre un átomo electronegativo (generalmente oxígeno o nitrógeno) y un átomo de hidrógeno; es importante en la estabilización de la estructura tridimensional de las proteínas o en el apareamiento de bases en los ácidos nucleicos.

Punto de ruptura (breakpoint) - sitio de ruptura en una alteración cromosómica (translocación, inversión o deleción).

Quiasma (Janssens, 1909) - región de recombinación cruzada reconocida citológicamente en un bivalente. En algunos organismos el quiasma se mueve hacia el extremo de los cromosomas (terminación del quiasma durante las fases de diploteno tardío y diacinesis [véase meiosis]). El número promedio de quiasmas en bivalentes autosómicos humanos es alrededor de 52 en hombres y 25-30 en mujeres. El número de quiasmas en el hombre fue determinado por primera vez en 1956, en una publicación que confirmaba el número de cromosomas normal en el hombre (C. E. Ford y J. L. Hamerton, Nature 1956; 178: 1020).

Quimera (Winkler, 1907) - un individuo o tejido formado por células de diferentes genotipos de origen precigótico.

Raza - población (q.v.) que difiere de otra en la frecuencia de algunos de sus alelos génicos (L. C.

Dunn: Hereditary and Evolution in Human Populations, Harvard University Press, Cambridge, Mass., 1967). De acuerdo con lo anterior, el concepto de raza es flexible y relativo, definido en relación con el proceso evolutivo. El término raza puede utilizarse para clasificar grupos, mientras que la clasificación de los individuos en general es incierta y de valor biológicamente dudoso.

Receptor - proteína transmembrana o intracelular involucrada en la transmisión de una señal celular.

Recesivo (Mendel, 1865) - se refiere al efecto genético de un alelo (q.v.) en un locus génico que se manifiesta fenotípicamente sólo en estado homocigoto (q.v.).

Recombinación (Bridges y Morgan, 1923) - formación de nuevas combinaciones de genes, como resultado de la recombinación cruzada entre cromosomas homólogos durante la meiosis.

Recombinación cruzada (crossing over) (Morgan y Cattel, 1912) - es el intercambio de información genética, entre dos cromosomas homólogos, mediante la formación del quiasma (q.v.) en el diploteno de la meiosis I; permite la recombinación de loci de genes vecinos (vinculados).

La recombinación cruzada también puede darse en células somáticas antes de la mitosis (Stern, 1936). Una recombinación cruzada desigual (Sturtevant, 1925) es resultado del mal apareamiento de segmentos de DNA homólogos en el sitio de recombinación. Esto da lugar a una estructura alterada de segmentos de DNA o cromosomas, con la duplicación en una molécula y la deleción en la otra.

Recombinación, frecuencia de - es la frecuencia de recombinación entre dos o más loci génicos. Se expresa como el valor theta (θ). Un θ de 0,01 (1% de frecuencia de recombinación) corresponde a 1 centimorgan (cM).

Renaturalización del DNA - combinación de cadenas simples complementarias de DNA para formar DNA de cadena doble (cf. desnaturalización).

Reparación (Muller, 1954) - corrección de daños estructurales y funcionales de DNA.

Reparación por escisión - reparación de grandes lesiones del DNA en las cuales un trecho de nucleótidos (alrededor de 14 en procariontes y 30 en eucariotes) es escindido de la cadena afectada y reemplazado por la secuencia normal (resíntesis).

Repetición invertida - dos copias idénticas del mismo segmento de DNA pero con orientaciones

opuestas. Son una característica importante de los retrovirus.

Replicación - duplicación idéntica de DNA.

Replicón (Huberman y Riggs, 1968) - una unidad individual de replicación discontinua de DNA en eucariotes.

Repulsión (Bateson, Saunders y Punnett, 1905) - término que indica que los alelos mutantes de loci génicos heterocigotos vecinos yacen en cromosomas opuestos; por ejemplo, en configuración *trans* (véase *cis/trans*).

Restricción, enzima o endonucleasa de - (Meselson y Yuan, 1968) - endonucleasa que cliva DNA en una secuencia básica específica (sitio de restricción o secuencia de reconocimiento).

Restricción, sitio de - secuencia particular de bases nucleotídicas en el DNA, que permite a una enzima de restricción determinada clivar una molécula de DNA en ese sitio (sitio de reconocimiento) o cerca de él.

Retículo endoplasmático - sistema complejo de membranas dentro del citoplasma.

Retrocruza - cruza de un animal heterocigoto con uno de sus padres homocigotos. En una retrocruza doble están involucrados dos loci génicos heterocigotos.

Retrotransposón - secuencia de DNA móvil que puede insertarse a sí misma en una posición diferente utilizando la transcriptasa inversa (véase transposón).

Retrovirus - virus cuyo genoma está constituido por RNA, que se multiplica en una célula eucariote mediante la conversión a DNA de cadena doble.

Rho, factor - proteína involucrada en la terminación de la transcripción en *E. coli*.

Ribosoma (Roberts, 1958; Dintzis y col., 1958) - estructura molecular compleja, en células procariontes y eucariotes constituida por proteínas específicas y RNA ribosómica en diferentes subunidades. La traducción de la información genética se lleva a cabo en los ribosomas.

RNA (ácido ribonucleico) - polinucleótido con estructura similar a la del DNA, con la excepción de que el azúcar es la ribosa en lugar de la desoxirribosa.

RNA antisentido - cadena de RNA complementaria del mRNA. Por lo tanto, no puede utilizarse

como molde para una transcripción normal. El término antisentido en general se utiliza para referirse a una secuencia de DNA o RNA que es complementaria del mRNA.

Ruptura isocromatídica - véase cromátida.

Salvaje, tipo o forma (wild-type) - se refiere al genotipo o fenotipo de un organismo que se encuentra en la naturaleza o en condiciones estándar de laboratorio; el término se aproxima a "normal".

Satélite (Navashin, 1912) - pequeña masa de material cromosómico, adherida al brazo corto de un cromosoma acrocéntrico (q.v.) por un apéndice o tallo estrecho. Está involucrado en la organización de los nucléolos. La región del tallo puede teñirse mediante una tinción específica con plata (tinción RON, región organizadora del nucléolo o *NOR stain* en inglés). El tamaño del satélite, el largo de su tallo y la intensidad de su fluorescencia luego de la tinción con acridina, son marcadores citogenéticos de polimorfismo.

Satélite de DNA (sdDNA) (Sueoka, 1961; Kit, 1961; Britten y Kohne, 1968) - DNA que es más pesado (rico en GC) o más liviano (rico en AT) que la masa de DNA principal (véase DNA). No debe confundirse con la región satélite de los cromosomas acrocéntricos.

Secuencia consenso - secuencia de DNA muy similar o idéntica en diferentes genes u organismos.

Secuencia de duplicación autónoma (ARS - *Autonomously replicating sequence*) - es una secuencia de DNA que permite la replicación.

Secuencia señal de expresión (EST: *expressed sequence tag*) - sitio secuenciado de un gen que se expresa, "señala" (*tags*) una porción de cDNA no secuenciado que se encuentra a continuación; la señal se utiliza para trazar mapas genéticos (véase sitio de secuencia señal).

Secuencias Alu - familia de secuencias de DNA relacionadas, cada una posee una longitud de 300 pares de bases que contiene el sitio de restricción para la enzima de restricción Alu; existen alrededor de 500.000 copias de la secuencia Alu dispersas por todo el genoma humano.

Segregación (Bateson y Saunders, 1902) - separación de alelos de un locus génico en meiosis y su distribución a diferentes gametos. La segregación es la causa de la distribución 1:1 de los genes alélicos a diferentes cromosomas.

Selección (Darwin, 1858) - reproducción o supervivencia preferencial de diferentes genotipos en condiciones ambientales diferentes.

Selección, coeficiente de - expresión cuantitativa (de 0 a 1) de la desventaja que tiene un genotipo (comparado con un genotipo estándar) en transmitir genes a la generación siguiente. El coeficiente de selección (*s*) indica cuánto disminuye la eficacia biológica (1-*s*); por ejemplo, un coeficiente de selección de 1 indica una falta completa de eficacia biológica.

Semiconservativo (Delbrück y Stent, 1957) - modo normal de replicación del DNA. Mientras una cadena de DNA se conserva por completo, la otra se renueva (sintetizada de *ново*) en su totalidad.

Señal, secuencia - secuencia de aminoácidos N-terminal de una proteína de secreción; es necesaria para el transporte de la proteína al destino topográfico correcto dentro de la célula.

Seudogén - secuencia de DNA muy similar a un gen pero carente de función, debido a la integración de un codón de terminación, una delección o cualquier otro cambio estructural. Un pseudogén procesado está constituido por secuencias de DNA que se parecen a la copia del mRNA del gen original (normal); por ejemplo, no contiene intrones.

Seudohermafroditismo - condición en la cual un individuo posee las gónadas de un sexo y la apariencia fenotípica del sexo opuesto.

Silenciadora, secuencia - secuencia eucarionte de DNA que bloquea el acceso de las proteínas de actividad génica necesarias para la transcripción, mediante la formación de heterocromatina en esa área en particular.

Sinapsis (Moore, 1895) - apareamiento de cromosomas homólogos durante la profase meiótica.

Síndrome - dentro de la genética humana, conjunto de características clínicas y patológicas relacionadas etiológicamente, aunque los detalles de esa relación todavía no se ha descubierto.

SINE (*short interspersed nuclear element*) - secuencia de DNA nuclear corta, dispersa y repetida (cf. LINE).

Sinténicos (Renwick, 1971) - loci génicos localizados en el mismo cromosoma, estén relacionados o no.

Sitio activo - región de una proteína que es responsable de su actividad funcional.

snRNP (*small nuclear ribonucleoprotein particles*) - partículas de ribonucleoproteínas nucleares pequeñas. Complejos de pequeñas moléculas nucleares de RNA y proteínas.

Somática, célula - cualquier célula del organismo que no se reproduce por meiosis ni forma gametos (lo opuesto a las células germinales).

Somático - se refiere a células y tejidos del cuerpo como opuesto a germinal (en referencia a células germinales).

Sonda (*probe*) - fragmento de DNA o RNA definido utilizado para identificar secuencias complementarias por hibridación específica.

Southern blot (Southern, 1975) - método de transferencia de fragmentos de DNA de un gel de agarosa a una membrana, tras haberlos separado por tamaño mediante electroforesis.

"Spliceosoma" (spliceosome) - agregación de diferentes moléculas que pueden empalmar ("*splice*") RNA.

SSS (sitio de secuencia señalada) - segmento corto de DNA de una secuencia conocida.

Submetacéntrico - cromosoma constituido por un brazo corto y otro largo debido a la posición del centrómero.

Telocéntrico (Darlington, 1939) - cromosomas o cromátidas con un centrómero terminal, sin brazo corto ni satélite. No existen en seres humanos.

Telomerasa - enzima ribonucleoproteica que agrega bases nucleotídicas en el telómero.

Telómero (Muller, 1940) - son las áreas terminales de ambos extremos de un cromosoma que contienen secuencias consenso específicas (véase pág. 180)

Tendencia genética (Wright, 1921) - cambios que se producen al azar en la frecuencia de un gen dentro de una población. Es relevante en especial en poblaciones pequeñas, en las cuales cambios al azar en la frecuencia reproductiva de un alelo determinado puede cambiar la frecuencia de ese alelo. En ciertas condiciones un alelo puede desaparecer por completo de una población (pérdida) o puede estar presente en todos los individuos de una población (fijación).

Teratógeno (Ballantyne, 1894) - agente químico o físico que lleva a desórdenes del desarrollo embrionario y malformaciones.

Terminador (terminator) - secuencia de DNA que señala el fin de la transcripción.

Tetraploide (Nemec, 1910) - que posee doble juego cromosómico diploide; por ejemplo, cuatro de cada tipo de cromosoma (4n en lugar de 2n).

Topoisomerasas - clase de enzimas que pueden controlar la estructura tridimensional del DNA cortando una de sus cadenas, rotándola sobre la otra y ensamblándola de nuevo (clase I), o cortando y reensamblando ambos extremos (clase II). Se utiliza para desenrollar la doble hélice de DNA durante la transcripción.

Traducción - segundo paso en la extracción de la información genética. En este caso, la secuencia de tripletes del mRNA es traducida a una secuencia correspondiente de aminoácidos para formar un polipéptido, como producto del gen.

Transcripción - es la síntesis del RNA mensajero (mRNA), el primer paso en la extracción de la información contenida en el DNA.

Transcripcional, unidad - todas las secuencias de DNA necesarias para codificar para el producto de un gen determinado (operacionalmente correspondiente a un gen). Incluye el promotor y las secuencias codificantes y no codificantes.

Transcriptasa inversa - complejo enzimático presente en los virus de RNA y que pueden sintetizar DNA a partir de un molde de RNA.

Transcripto - copia de RNA de un segmento del DNA de un gen activo.

Transcripto primario - RNA original transcripto de un gen eucarionte antes de ser procesado (empalme, adición del CAP y poliadenilación).

Transducción (Zinder y Lederberg, 1952) - transferencia de genes de una célula a otra (por lo general bacterias) por virus especiales, los bacteriófagos.

Transfección - introducción de DNA puro en una célula viva (cf. transformación).

Transformación - este término posee diferentes significados en biología. En genética se distinguen tres tipos diferentes de transformación: 1) *transformación maligna*, transición de una célula normal a un estado maligno con pérdida del control de la proliferación, 2) *transformación genética* (Griffith, 1928; Avery y col., 1944), cambio de los atributos genéticos de una célula mediante la transferencia de información genética y 3) *transformación blástica*, reacción de los linfocitos a sustancias mitógenas (p. ej., fitohemaglutinina o antígenos específicos) que promueven la división celular.

Transgénico - animal o planta a los cuales se les ha introducido un gen clonado que se ha incorporado de manera estable. Revela información acerca de la función biológica del (trans)gen.

Transición - reemplazo de una purina por otra o de una pirimidina por otra (véase mutación).

Translocación - transferencia de todo un cromosoma o parte de él a otro cromosoma. Una traslocación es casi siempre *recíproca*, ya que lleva a un intercambio de segmentos de cromosomas no homólogos. Una translocación entre dos cromosomas acrocéntricos que pierden sus brazos cortos y se fusionan por los centrómeros, se denomina translocación de tipo *fusión* (translocación robertsoniana).

Translocación recíproca - intercambio mutuo de partes cromosómicas.

Transposón - secuencia de DNA capaz de moverse e insertarse en una nueva localización del genoma.

Transversión - reemplazo de una purina por una pirimidina o viceversa (véase mutación).

Triplete - secuencia de tres nucleótidos que comprende un codón de ácido nucleico y representa el código para un aminoácido (código de tripletes, véase codón).

Trisomía (Blakeslee, 1922) - cromosoma que se agrega a un par de cromosomas homólogos.

tRNA aminoacídico o aminoacil tRNA - un RNA de transferencia que transporta un aminoácido.

Unión covalente - unión química estable entre átomos de una misma molécula que comparten uno o más pares de electrones (a diferencia de una unión no covalente como la de los puentes de hidrógeno).

Unión fosfodiéster - unión química que liga nucleótidos adyacentes de DNA o RNA.

Unión no covalente - unión química (débil) entre un átomo electronegativo (por lo general oxígeno o nitrógeno) y un átomo de hidrógeno (véase puente de hidrógeno), en la que no se comparten electrones.

Variación - diferencia entre individuos relacionados; por ejemplo, entre padres y su descendencia o entre individuos de una población.

Vector - molécula que puede incorporar y transferir DNA.

Vector de expresión - vector de clonado que contiene secuencias de DNA capaces de transcribirse y traducirse.

Virión - partícula o unidad viral completa extracelular.

Virus - DNA o RNA de tamaño y secuencia definidos, envuelto en una cápsula proteica codificada por sus genes y capaz de replicarse sólo en una célula huésped susceptible (véase Parte I).

Western blot - técnica que permite identificar antígenos proteicos, en principio similar al método Southern blot (q.v.).

Xenogénico - trasplante entre individuos de diferentes especies.

YAC (yeast artificial chromosome, cromosoma artificial de levadura) - es un cromosoma de levadura dentro del cual se ha insertado DNA extraño para su replicación en células de levadura. Los YAC pueden incorporar fragmentos relativamente grandes de hasta alrededor de 1.000 kb.

Zoo blot - es un Southern blot que contiene secuencias de DNA conservadas de genes relacionados de diferentes especies. Se toma como evidencia de que las secuencias nuevas halladas son secuencias codificantes de un gen (véase pág. 250).

BIBLIOGRAFÍA

- Bodmer, W.F., Cavalli-Sforza, I.L.: *Genetics and the Evolution of Man*. W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1976.
- Brown, T.: *Genetics. A Molecular Approach*, 2nd ed. Chapman & Hall, London, 1992.
- Brown, T.A.: *Genomes*. BIOS Scientific Publishers, Oxford, 1999.
- Dorland's Illustrated Medical Dictionary, 28th ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1994.
- Muller, R.F., Young, L.D.: *Emery's Elements of Medical Genetics*, 10th ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1998.
- Griffiths, A.J.F., et al.: *An Introduction to Genetic Analysis*, 7th ed. W.H. Freeman, New York, 2000.
- Lewin, B.: *Genes VII*. Oxford University Press, Oxford, 2000.
- Lodish, H., et al.: *Molecular Cell Biology*, 4th ed. W.H. Freeman, New York, 2000.
- Passarge, E.: *Definition genetischer Begriffe (Glossar)*, pp. 311-323. In: *Elemente der Klinischen Genetik*. G. Fischer, Stuttgart, 1979.

Rieger, R., Michaelis, A., Green, M.M.: *Glossary of Genetics and Cytogenetics*, 5th ed. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1979.

Rothwell, N.Y.: *Understanding Genetics. A Molecular Approach*. Wiley-Liss, New York, 1993.

Tanaka, Y., Macer, D.: *Sense, nonsense and antisense*, *Trends Genet.* 10:417, 1994.

Watson, J.D.: *Molecular Biology of the Gene*, 3rd ed. Benjamin, Menlo Park, California, 1976.

Whitehouse, L.H.K.: *Towards the Understanding of the Mechanism of Heredity*, 3rd ed. Edward Arnold, London, 1973.

Website:

Glossary of Genetic Terms, National Institute of Human Genome Research (<http://www.nhgri.nih.gov/DIR/VIP/Glossary/>).

Índice analítico

Los números de páginas en **negrita** mencionan las entradas principales.
Las enfermedades humanas se nombran en **negrita**.

A

- A-DNA, 40, 41
Abordaje en tiro de escopeta (shotgun), 242
Acardia, 162, 163
Acetil-CoA colesterol transferasa (ACAT), 360
Acetilcolina, 272, 273
 receptores, 272, 273
 colinérgicos, 272
 muscarínicos, 272
Ácido(s), 22, 23
 desoxirribonucleico. Véase *DNA*
 grasos, 26, 27
 nucleicos, **28**, 29. Véase también *DNA*; *RNA*
 ribonucleicos. Véase *RNA*
Actina, 374, 376
Actinomicina D, 222, 223
Activador, 252
Adenilato ciclasa, 268, 269
Adenina, 28, 29, 36, 37
Adenosina
 desaminasa, deficiencia, 28
 difosfato (ADP), 124, 266
 trifosfato (ATP), 124, 266, 268
Adenovirus, 92, 98, 99
Adrenalina, 266, 268
Adrenoleucodistrofia neonatal, 350
Agammaglobulinemia ligada al X, 314
Aldehídos, 22, 24
Alelos, 134, 138, 140
 análisis
 de ligamiento, 150
 de segregación, 148. Véase también *Gen(es)*
 frecuencia, 156, 157
 equilibrio de Hardy-Weinberg, **158**
 factores influyentes, 158, 159
 variación geográfica, 168, 169
 herencia monogénica, **142**
 heterogeneidad, 406
 ligamiento, 144
Alfa-amanitina, 222
Alfa-antitripsina, **364**
Alfa-hélice, 32, 33
 proteínas de unión al DNA, 218, 219
Alquilación, 70, 71
Amanita phalloides, 222
Aminoácidos, 22, **30**
 código genético, 48, 49. Véase también *Proteínas*
 colágeno, 380, 381
Análisis
 de cambio de banda, 220
 por hibridación de oligonucleótidos, 72, 73, 408, 409
 gen(es) de la rodopsina, 280, 281
 de ligamiento, 10, 144, 145, **150**
 multilocus, 150, 151
 LOD scores, 150, 151
 por micromatrices, **260**
 de restricción, **62**
Anemia
 de células falciformes, 7, 168, 169, **340**, 342, 348
 ventaja selectiva de los heterocigotas, 168, 169, 340
 de **Fanconi (AF)**, 334, 335
Aneuploidía, 196, 197
Anquirina, 374
Anticuerpos. Véase *Inmunoglobulinas*
Antígenos, 300
 leucocitarios humanos (*ALH* o *HLA*), 308
 unión a receptores de células T, 310, 311
Aparato de Golgi, 20
Apolipoproteína-B, 216
Apoptosis, 264, 322
 Caenorhabditis elegans, 296, 297
Arabidopsis thaliana, desarrollo embrionario, **298**
Arveja (*Pisum sativum*), 132, 133, 134, 135
Aspectos
 éticos, 11, 248
 sociales, 11, 248
Ataxia
 espinocerebelosa tipo 1, 394
 telangiectasia, 334, 335
Atenuador, 210, 211
ATM, gen, 80, 334
Atrapamiento exónico (*exon trapping*), 250, 251
Atrofia muscular espinobulbar tipo Kennedy, 394
Audición, **284**

Ausencia bilateral congénita de los vasos deferentes (ABCVD), 276*Australopithecus*, 258

Azufre, compuestos de, 22, 23

B

Bacterias, 6, **84-87** aislamiento de mutantes, **84**

conjugación, 86, 87

 control de la expresión génica, **208-211**

inducción, 208

represión, 210, 211

 recombinación, **86**

transposones, 252, 253.

Bacteriófagos, **88**, 242

fago lambda, 88

genoma, 234, 235

Bandas

C, 178

 G, 178, **186** R, **186**

Bastones, células, 278, 279

Becker, distrofia muscular de (DMB), 378**Beckwith-Wiedemann**, síndrome de, 398*Bicoid*, gen, 292

mutación, 290, 291

Biston betularia, 164, 165*Bithorax*, complejo, 292

mutación, 292, 293

Braquidactilia, 4

Brotar, 94, 95

Butirilcolinesterasa, 372

C

Caenorhabditis elegans, 296 desarrollo embrionario, **296**

Caja

HMG, 390

Pribnow, 206

TATA, 102, 212

Canal(es)

del calcio, 270

hipertermia maligna y, 372, 373

 del cloro, defecto, **276**

iónicos, 270, 271

 defectos genéticos, **274**

dependientes del voltaje, 270, 271

del potasio, 270

del sodio, 270

Cáncer

células, patrones de expresión génica, 260, 261

colorrectal, 326, 327 **hereditario no polipósico (CCHNP)**, 68, 326 **de mama**, 328

BRCA1, gen de susceptibilidad, 80, 328, 329, 406

BRCA2, gen de susceptibilidad, 80, 328, 329, 406

de ovario, 328

Cápside, 92, 94

Carbono, 22

compuestos, 22, 23

enlaces carbono-nitrógeno, 22, 23

Cariotipificación espectral, 194, 195

 Cariotipo, **184**

cariotipificación espectral, 194, 195.

 Véase también *Cromosomas*

por citometría de flujo, 184, 185

 patrones de bandas, 174, 184, **186**

Cascada lumínica, 278, 279

 Casquete (*cap*) de 7-metil-guanosina, 214, 215

CCAAT, secuencia, 102

Ceguera para los colores, 282, 283

Células, 20

killer, 310

B, 300, 301

defectos, 314

ciliadas, cóclea, 284, 285

 eucariontes, 20, 21, **104-123**

replicación del DNA, 42, 43

transcripción, 46, 47

helper, 310

híbridas, 122, 123

por irradiación, 122, 123

 membrana plasmática, 20, 21, 26, **95**, **353**

nerviosas olfatorias, 286, 287

 núcleo, 20, 21, **204**

plasmáticas, 302

 procariontes, 20, **84-87**

genoma, 234

replicación del DNA, 42, 43

transcripción, 46, 47. Véase también

Bacterias; *Virus*

T, 300, 301, 310

citotóxicas, 310

helper, 310

defectos, 314

troncales embrionarias (ES), 230, 231

vegetales, 20, 21

Centríolos, 20, 114

Centrómero, 114, 118, 178

- Centrómero (*Cont.*)
posición de, 182, 183
- CEPH (Centre pour l'Étude du Polymorphisme Humain), familias, 72, 73
- Cetonas, 22, 24
- CFTR*, gen, 276, 277
- Ciclinas, 112
- Ciclo
celular, 112, 114
control del, 112, 264, 316, 320, 322
lisogénico, 88, 89
lítico, 88, 89
- Cinasas dependientes de ciclinas (Cdks), 112
- Citoesqueleto, proteínas del, 374
células musculares, 376
eritrocitos, 374
- Citomegalovirus, 98
- Citoplasma, 20
- Citocinesis, 114
- Citosina, 28, 29, 36, 37
- Clonado, 56-59, 242
cDNA, 58, 240
cromosoma artificial de levadura (YAC), 110, 111, 242
dependiente de células, 56, 57
funcional, 246, 247
gen(es) candidatos, 246, 247
posicional, 10, 246, 247
gen(es) de la fibrosis quística, 276, 277
vectores de clonado, 56, 57, 58, 59, 242
- Cloroplastos, 20, 124
genoma, 126, 127
- CMH (complejo mayor de histocompatibilidad), 308, 310, 312
susceptibilidad a la diabetes y, 362, 363
- Cóclea, 284, 285
- Código genético, 2, 7, 48
abreviado, 48, 49
genoma mitocondrial, 126
marco de lectura abierto (*MLA*, *ORF*), 48, 49
redundancia, 48
- Codón, 48
- Colágeno, 380
gen(es) del procolágeno, 380, 381
osteogénesis imperfecta y, 382, 383
- Colesterol, 26, 358, 360
- Complejo
Antannapedia, 292, 293
mutación, 290, 291
- mayor de histocompatibilidad (*CMH*, *MHC*), 308, 310, 312
susceptibilidad a la diabetes y, 362, 363
- de sarcoglucanos, 376
- sinaptonémico, 118, 119
- de la sintrofina, 376
- ultrabithorax*, 292
- Complementación, 82, 83
- Conductos
de Müller, 388
de Wolf, 388
- Conjugación, 86, 87
- Conos, células, 278, 282, 283
- Consanguinidad, 160, 161
- Consejo eugénico o genético, 138, 406
- Conversión génica, 116, 392
- Corte con la ribonucleasa A, 408, 409
- Corynebacterium*, 238
- Cósmidos, 242
- CREB, gen de unión a, 404
- Cromatina, 114, 170, 171, 172
cromosomas lampbrush, 176
X, 228, 229
- Cromosoma(s), 2, 5, 7, 170-173
aberraciones, 182, 188
estructurales, 182, 183, 200, 202.
Véase también *Mutación(es)*
numéricas, 196, 400-403
cromosoma 1 derivativo con material extra, 202, 203
cromosoma 15 isodicéntrico adicional, 202, 203
cromosoma 21 derivativo adicional, 202, 203
detección de, 202
- acrocéntrico, 182, 183
fusión céntrica, 198, 199
- en anillo, 200, 201
- artificial de levadura (YAC), 110, 194, 242
identificación de segmentos de DNA codificante, 250, 251. Véase también *Cariotipo*; *cromosoma X*; *cromosoma Y*
- caminata cromosómica, 242
- centrómero, 114, 118, 178
- dicéntrico, 200, 201
- estructura/función, relación, 178
- evolución, 254, 255
- Filadelfia, 8, 192, 193, 320, 332, 333
- fusión céntrica, 198, 199
- inversión, 200, 201
- Isocromosoma, 200, 201
- lampbrush, 176
- levaduras, 108

- localización
de enfermedades genéticas, 410-420
génica, 10
- meiosis, 116, 118
- metacéntrico, 182, 183
- metafásicos, 114, 115, 172, 182, 186
aberraciones, 182
hibridación in situ, 192
identificación de cromosomas, 194
microdissección, 250, 251
patrones de bandas, 186
preparación para el análisis, 190
secuencias teloméricas, 192, 193
tipos de, 182, 183
- mitosis, 114
- polimorfismo, 164
- politénicos, 174
- secuencias
centroméricas (CEN), 108, 109
de replicación autónoma (ARS), 108, 109
teloméricas (TEL), 108, 109, 192, 193
- submetacéntrico, 182, 183
- telocéntrico, 182, 183
- telómero, 114, 178, 180
- X
adicionales, 402, 403. Véase también *Síndrome de Klinefelter*
genómica comparada, 256, 257
homologías de secuencias, 256, 257
síndrome del X frágil, 394, 396
- Y, 8, 140, 178, 388
adicional, 402
homologías de secuencias, 402
mutaciones, 390, 391
región determinante del sexo SRY, 386, 387, 388, 390, 391
- Crossing over. Véase *Recombinación cruzada*
- Cultivo
celular, 7, 122, 190
de fibroblastos, 90, 122, 123
de la piel, 122, 123
- CYP21*, gen, 392
- D
- Danio rerio* (pez cebra), 294
- Datura stramonium* (mala hierba de Jimson), 400, 401
- Debrisoquina, metabolismo, 370, 371
- Deficiencia
de cortisol, 392
hereditaria de la fructosa 1,6-bifosfato, 24

- de la seudocolinesterasa sérica, 372, 373
- Déficit
de glucosa-6-fosfatasa, 7
deshidrogenasa, 168, 169
- Degradación del heparán sulfato, 354, 355
- Deleciones, 46, 47, 404
DNA mitocondrial, 130, 131
enfermedades por improntas (*imprinting*), 398, 399
gen(es)
de la distrofina, 376, 377, 378
de las globinas, 342, 343, 346, 347
demostración, 348, 349
hiperplasia suprarrenal congénita y, 392, 393
segmento cromosómico, 182, 183
síndromes por microdeleciones, 404, 405
- Depurinación, 70, 71
- Desaminación, 70, 71
- Desarrollo
embrionario, 290
Arabidopsis thaliana, 298
Caenorhabditis elegans, 296
Drosophila, 290
mutaciones embrionarias letales, 290, 291
mutantes del desarrollo, 290
gen(es) de caja homeótica, 292
impronta genómica (*imprinting*), 226, 227
inactivación del cromosoma X, 228, 229
pez cebra, 294
ontogenia de la hemoglobina, 336, 337. Véase también *Desarrollo embrionario*
óseo, 384
- Desequilibrio de ligamiento, 158
- Determinación del sexo, 386
- Diabetes mellitus, 24, 362
insulinodependiente (DBID), 362
no insulinodependiente (DMNID), 362
- Diagnóstico genético, 406-409
- Diacinesis, 118, 119
- Diferenciación sexual, 388
trastornos, 390
hiperplasia suprarrenal congénita, 392
principio indiferenciado, 388, 389
- Difosfato de adenosina (ADP), 124, 266
- 5-dihidrotestosterona, 388, 390
- Dímero de cierre de leucinas, 220, 222

- Disacáridos, 24, 25
Disgenesia gonadal, 390
 Disomía uniparental (DUP), 398, 399
Displasia
 campomélica, 390
 cleidocraneal, 384, 385
 esquelética distrófica, 168, 169
 Disrupción génica dirigida, 230
 Distancia genética, 146
 Distribución normal, 154, 155
Distrofia(s)
 congénita de la córnea, 168, 169
 miotónica, 394, 395
 musculares, 376, 378, 379
 de Becker (DMB), 378
 de Duchenne, 378
 Distrofina, 376, 377, 378
 gen de la (DMD), 376, 377, 378, 379
 Distrofina-glicano, complejo, 376, 377
 Disyunción, ausencia de, 196, 400
 trisomía y, 400, 401
 Diversidad genética, 3
 evolución y, 166, 167
 gen(es) del receptor de células T, 306, 307. Véase también *Polimorfismo genético*
 inmunoglobulinas, 306, 307
 generación de, 304
 variación geográfica, 164
División
 celular, 112, 114-117
 influencia de los factores de crecimiento, 316. Véase también *Meiosis*; *Mitosis*
 de la maduración. Véase *Meiosis*
 DNA, 2, 6, 34-45, 244
 A-DNA, 40, 41
 amplificación, 66. Véase también *Clonado*
 análisis por micromatriz (*microarray*), 260
 B-DNA, 40
 bibliotecas, 60
 de DNA genómico, 60, 61
 examinación, 60, 61
 trazado de un mapa por STS, 240, 241
 cDNA, 9, 58
 amplificación, 66, 67
 análisis por micromatrices (*microarrays*), 260, 261
 biblioteca, 60, 61
 clonado, 58
 preparación de, 58, 59
 trazado de un mapa por EST, 240, 241
 clonado de. Véase *Clonado*
 componentes de, 36
 desnaturalización, 38, 39
 DNA satélite, 244, 245
 estructura del, 6, 36-41
 en los cromosomas de lampbrush, 176
 metafísicos, 172
 estructuras alternativas, 40
footprinting, 220
 hélice doble de, 6, 38, 182
 hibridación, 38, 408
 in situ, 192
 fluorescente, 202
 múltiple (M-FISH), 194, 195
 histonas y, 170, 171
 huella digital (*fingerprint*), 166
 identificación de segmentos codificantes, 250
 lineal, problema de replicación, 180, 181
 metilación, 70, 71, 224
 mutación, 46, 47, 68-71
 polimorfismo, 72, 164
 como portador de la información genética, 34
 proteínas de unión al, 172, 218, 220
 recombinación. Véase *Recombinación genética*
 regiones de unión a proteínas, 220, 221
 renaturalización, 38, 39
 reparación, 3, 68, 80, 264, 322
 del apareamiento incorrecto, 68, 80, 81
 de la cadena doble por recombinación homóloga, 80, 81
 por escisión, 80, 81
 por replicación, 80, 81
 xeroderma pigmentosum y, 82
 repetitivo, 244
 replicación. Véase *Replicación*
 satélite, 244, 245
 secuenciación, 52-55, 242
 abordaje en tiro de escopeta (*shotgun*), 242
 automatizada, 54, 55
 clon por clon, 242
 por degradación química, 52, 53
 por terminación de la cadena, 52, 53
 por "termociclación", 54, 55
 síntesis, retrovirus, 100, 101

- traducción. Véase *Traducción*
 transcripción. Véase *Transcripción*
 transferencia entre células, 90
 Z, 40, 41
 DNMT3 B, gen, 224, 225
Drosophila, 5
 cromosomas politénicos, 174, 175
 desarrollo embrionario, 290
 mutaciones
 del desarrollo, 290
 embrionarias letales, 290
 organización segmentaria, 290, 291
 polimorfismo bioquímico, 166, 167
 Duplicaciones, 254, 255, 404
 hiperplasia suprarrenal congénita y, 392, 393
 segmento cromosómico, 182, 183

E

- EcoRI*, 56, 64
 Efecto
 fundador, 158
 materno, genes, 290
 Elastina, gen de la, 404
 Electroforesis, 7, 220, 250, 374, 406
 de campo pulsátil transversal (TAFE), 250
 demostración del polimorfismo, 166, 167
 en gel, 166, 167, 220, 374, 406
 con gradiente de desnaturalización, 408, 409
 Elementos
 genéticos móviles, 252. Véase también *Transposones*
 de respuesta, 218, 219
 hormonal (ERH), 218, 219
 Empalme (*splicing*), 50, 51, 204
 alternativo, 216, 217
 Endocitosis, 94, 95, 352
 mediada por receptores, 352, 353, 358, 359
 receptor de LDL, 358, 359
 Endogamia, 160, 161
 Endolisosomas, 352
Enfermedad(es)
 por almacenamiento, 354
 de glucógeno, 8, 24
 de mucopolisacáridos, 354, 356
 tipo I (Hurler), 354, 356, 357
 tipo II (Hunter), 354, 356, 357
 de células I, 354, 355
 del hueso quebradizo, 382. Véase también *Osteogénesis imperfecta*
- de Hunter, 354, 356, 357
 de Huntington, 394, 395
 de Hurler, 354, 355, 356
 por impronta (*imprinting*), 398
 inmunodeficientes
 adquiridas, 314, 315
 hereditarias, 314, 315
 mitocondriales, 130
 de los peroxisomas, 350
 de orina de jarabe de arce, 30
 de Tay-Sachs, 26
 de Von Gierke, 8
 de Von Recklinghausen, 324, 325
 de Von Willebrand, 368, 369
 Véase también *Síndromes*
 Enzimas, 32
 inducción, bacterias, 208.
 de restricción, 9, 56, 62, 64
 ejemplos de, 64, 65
 Epstein-Barr, virus, 98
 Equilibrio de Hardy-Weinberg, 158
 Eritrocitos, 340, 374
 anemia de células falciformes, 340, 341
 proteínas
 del citoesqueleto, 374
 de membrana, 374, 375
Escherichia coli, 42, 64, 80, 86, 110, 206
 genoma, 234, 235
 secuencia completa, 236
 inducción enzimática, 208
 operones, 234
 operón lac, 208, 209, 234
 Esgingolípidos, 26
 Espectrina, 374, 375
 Espermatogénesis, 120, 121
 Espermatozoides, 120
 Ésteres, 22, 23
 Esteroides, 26, 27
 hormonas, 218, 220, 221
 Eucromatina, 174, 178, 179
 Eugénica, 5
 Evolución, 3, 254
 construcción de un árbol evolutivo, 254, 255
 cromosomas, 254, 255
 diversidad genética y, 166, 167
 humana, 258
 familia de los supergenes de las inmunoglobulinas, 312
 filogenética, 254, 255
 genes, genomas, 254
 genoma mitocondrial, 128, 129
 genómica comparada, 256
 hemoglobina, 336, 337

Exones, 3, 9, 50, 51
 gen(es) de las inmunoglobulinas, 304
 mezcla de (*exon shuffling*), 254, 255
 Expresión génica
 análisis en micromatrices de DNA,
 260, 261
 bacterias, 210
 líneas celulares de cáncer humano,
 260, 261
 patrón mosaico, 228, 229. Véase
 también *Regulación génica*;
Transcripción; *Traducción*

F

Factor(es)
 de coagulación sanguíneo VIII, 366
 de crecimiento, 218, 264, 265
 activación de receptores, 316, 317
 control del ciclo celular, 112, 316
 derivado de plaquetas, receptor del,
 316, 317
 determinante de los testículos (TDF),
 388

F (fertilidad), 86, 87
 de inhibición mülleriano (MIF), 388
 de transcripción, 206, 212, 220
 específicos de osteoblastos (FEO),
 384
 de unión al centro (core) (CBFA1), 384
 mutaciones, 384, 385
 de Von Willebrand, 368

FADH₂, 124
 Fagos. Véase *Bacteriófagos*

Familia

de genes receptores
 de feromonas, 288
 para el gusto, 288
 de los odorantes, 286
 de receptores de tirosina cinasas
 (RTQs), 264, 265

Farmacogenética, 372

Farmacogenómica, 3

Feminización testicular, 390, 391

Fenilcetonuria, 30

Fenotipo, 132, 133, 134, 138, 140, 141,
 406

determinación del fenotipo masculino,
 386, 387
 feminización testicular, 391
 hiperplasia suprarrenal congénita,
 392, 393
 mutantes embriológicos de
 arábidopsis, 298, 299
 osteogénesis imperfecta, 382, 383

polimorfismo, 164, 165
 síndrome del X frágil, 396, 397
Fibrosis quística, 274, 276
 gen(es) *CFTC*, 276, 277
 Filogenético, 254, 255
 evolución humana, 258, 259
 Fingerprint, 166. Véase también *DNA*,
huella digital
 Finlandia, frecuencias de enfermedades
 hereditarias, 168, 169
 FISH, 192, 202
 Footprinting, 220. Véase también *DNA*
 Fosfatasa ácida, 166, 167
 Fosfato, compuestos de, 22, 23
 Fosfoglucomutasa, 166, 167
 Fosfolípidos, 26
Fosforilación oxidativa, 124, 125
 Fotoactivación, 278, 279
 Fotorreceptores, 278-283
 rodopsina, 278
 mutaciones en la, 280
 visión color, 282
 polimorfismo, 282, 283
Fructosuria benigna, 24
 Fusión céntrica, 198, 199

G

Gametos, 116, 120, 198, 226
 Gametogénesis, 120, 226
 Gemelos, 162
 concordantes, 162, 163
 dicigóticos, 162, 163
 discordantes, 162, 163
 monocigóticos, 162, 163, 362
 siameses, 162
 Gen(es), 2, 4, 9, 36, 38, 46, 172
 análisis, 242
APC, 326, 406
 de caja homeótica (*homeobox*), 292
 candidatos, 10, 246, 247
 del citocromo P450, 370
 del CMH, 308
 constitutivo, 210
 distribución
 geográfica, 168
 en la población, 156
 duplicación, 254, 255, 404
 del efecto materno, 290
 estructura, 50
 exones, 3, 9, 50, 51
 intrones, 3, 10, 50, 51, 214
 estructurales, 214, 215
 evolución, 254
 familias, 2, 10

FMRI, 396
 fusión, 332, 333
gap, 290, 292
 de la globina, 338
 anemia de células falciformes, 340,
 341
 mutaciones, 340, 341, 342, 344, 345,
 346, 347
 demostración, 348, 349
 de las hemoglobinas, 338
 anemia de células falciformes, 340,
 341
 mutaciones, 340, 341, 342, 344, 345,
 346, 347
 demostración, 348, 349
 del HLA, 308
 susceptibilidad para la diabetes y,
 362, 363
Hunchback, 292
 identificación, 246, 250
 de inmunoglobulinas, 304
 mecanismos de reordenamiento, 306
Knirps, 292
 mutación, 290, 291
Krüppel, 292
 mutación, 290, 291
 localización cromosómica, 10
 locus, 3, 10
 mezcla de exones, 254, 255
Nanos, 292
 mutación, 290
 número de, 2
 de la *polaridad segmentaria*, 290, 292
 del procolágeno, 380, 381
 mutaciones en la osteogénesis
 imperfecta, 382, 383
 del receptor de células T, 310, 311
 de la regla de los pares (*pair rule*),
 290, 292
 de la respuesta inmune, 308
 del retinoblastoma, 330, 331
 saltarines, 252. Véase también
Transposones
 selectores homeóticos, 290
 SOX9, 390
 SRY (Y relacionado al sexo), 386, 388,
 390
 mutaciones, 390, 391
 supresores de tumores, 318, 326.
 Véase también *Alelos*; *Genoma*;
 mutaciones, 318, 319

Genética, 4

aspectos
 éticos, 11, 248
 sociales, 11, 248

de células somáticas, 122
 educación, 11
 historia, 4-8, 13-17
 humana, 7
 medicina y, 8
 molecular, 9, 20-83
 poblacional, 156
 Genómica, 2, 234
 análisis, 242
 micromatrices de DNA, 260
 bacteriófago, 234, 235
 cloroplastos, 126, 127
 comparaciones, 256
E. coli, 234, 235
 secuencia completa, 236
 evolución, 254
 humana, 244, 245
 Proyecto Genoma Humano, 3, 10, 248
 mitocondrial, 126, 127
 humana, 128
 naturaleza dinámica, 10, 252
 organización, 244
 plásmido, 238
 retrovirus, 100, 101
 secuenciación, 242
 tamaño, 242, 243
 virus de DNA, 98, 99
 virus de RNA, 96, 97
 Genotipo, 134, 138
 frecuencia, 156, 157
 segregación de genotipos parentales,
 140
 Glioforinas, 374
 Glóbulos rojos. Véase *Eritrocitos*
 Glucolípidos, 26
 Glucosa, 24, 25
 Glucosaminoglucanos, 356
Gota, 28
 Grupos sanguíneos, 138
 Guanina, 28, 29, 36, 37

H

Harmonia axyridis, 164, 165
 Hélice-bucle-hélice (HLH), motivo, 220
 Hemaglutinina, 96
 Hembra XY, 390
 Hemicigosidad, 404
Hemofilia A, 366
 herencia ligada al cromosoma X, 366,
 367
 Hemoglobina, 336, 338
 evolución de la, 336, 337
 inestable, 342, 343
 ontogenia, 336, 337

Hemoglobina (*Cont.*)
 persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (PHHF), 346
 tipos, 336, 337

Herencia
 autosómica
 dominante, 4, 140, 142, 143
 análisis
 de ligamiento, 144, 145
 de marcadores genéticos, 148, 149
 recesiva, 4, 140, 142, 143
 análisis de marcadores genéticos, 148, 149

ligada al cromosoma X, 140, 142, 143, 396
 análisis de marcadores genéticos, 148, 149
 hemofilia A, 366, 367
 materna, enfermedades mitocondriales, 128, 130, 131
 mendeliana, 4, 116, 132-137
 desviación, 132
 segregación, 134
 independiente de dos rasgos, 136
 monogenética, 142

Hermafroditismo, 388

Heterocigosidad, 134, 138
 frecuencia, 166, 167
 pérdida, células tumorales (PH), 318, 319, 326. Véase también *Polimorfismo genético*

Heterocromatina, 178, 179
 constitutiva, 178, 179

Heterocromatina constitutiva, 178, 179

Heterogeneidad genética, 406

Heteroplasma para las mutaciones mitocondriales, 128, 130, 131

Hibridación, 38, 408
 in situ, 192
 fluorescente (FISH), 202
 múltiple (M-FISH), 194, 195

Híbridos por radiación, 122, 123

Hidratos de carbono, 24

Hidrógeno, 22

Hidrolasas, 352
 defectos, 354

21-hidroxilasa, 390, 392, 393

Hindi, 64

Hipercolesterolemia familiar, 358

Hiperplasia suprarrenal congénita, 392-393

Hipertensión hereditaria, 274

Hipertermia maligna, 274, 372, 373

Hiperuricemia, 28

Hipoglucemia hiperinsulinémica persistente familiar de la infancia, 274

Histamina, 266

Histonas, 170, 171, 182

HIV, 100, 102, 310, 314, 315

HMG-CoA reductasa, 360

Homeostasis, 362

Homo sapiens, 258

Homocigosidad, 134, 138
 consanguinidad y, 160

Homología, 254, 255
 receptores para LDL, 358, 359
 secuencias del cromosoma X, 256, 257
 del cromosoma Y, 256, 257

Hormona(s), 26, 218, 264, 266, 268
 adrenocorticotrofina (ACTH), 266, 392
 antimülleriana (AMH), 388
 clases, 268, 269
 diferenciación sexual y, 388, 389
 esteroides, 218, 220, 221

HTLV (virus de la leucemia/linfoma de células T humanas), 100

I

Ictalarus punctatus, 286

Identidad por descendencia (IBD), 160, 161

Impronta
 cerebral, 388
 enfermedad por, 398
 genómica, 226
 Véase también *Deleciones*

Inactivación del cromosoma X, 228, 256

Inhibidor de proteasas, 364

Inmunodeficiencia combinada severa (IDCS), 314

Inmunoglobulinas, 300, 301, 302, 312
 evolución de la familia de supergenes, 312
 generación de la diversidad genética, 304
 inmunoglobulina G (IgG), 302, 303
 mecanismos de reordenamiento génico, 306

Inserción, 46, 47, 252, 253

Insulina, 6, 32, 216, 266, 362
 estructura
 primaria, 6, 32, 33
 secundaria, 32
 terciaria, 32, 33
 formación, 362, 363

Intensificadores (*enhancers*), 102, 212, 216, 217, 218, 220

Interacciones célula-célula, 264

Interfase, 112, 114, 178, 179, 182
 hibridación in situ, 192

Intolerancia hereditaria a la fructosa, 24

Intrones, 3, 10, 50, 51, 214

Inversión, 200, 201

Isocromosoma, 200, 201

L

Lámina beta, 32, 33

Lampbrush, 176. Véase también *Cromosoma(s)*

Lamprepeltis getulus californiae, 164, 165

Leucemia, 332
 mielóide crónica (LMC), 192, 193, 332

Levaduras, 104-109
 ciclo celular, 104, 105
 control, 112, 113
 cromosoma artificial (YAC), 110, 194, 242
 identificación de segmentos de DNA codificantes, 250, 251
 gen(es) mitocondriales, 126, 127
 secuencias
 centroméricas (CEN), 108, 109
 de replicación autónoma (ARS), 108, 109
 teloméricas (TEL), 108, 109
 sistema de dos híbridos, 106, 107
 tipo de apareo, 104, 105
 determinación, 106, 107

Ligamiento, 144, 145, 146

Ligandos, 266

Linfocitos, 190, 300, 301
 recombinación somática, 304, 305

Lípidos, 26, 27

Lipoproteína de baja densidad (LDL), 358. Véase también *Receptor del LDL*

Lisosomas, 20, 352
 defectos enzimáticos, 354
 formación, 352, 353

Locus de disociación (*Ds*), 252, 253

LOD scores, 150, 151

Luz UV, 70, 80
 sensibilidad, 82

M

Macho XX, 386, 390

Maíz, 252, 253

Mala hierba de Jimson, 400, 401

Malaria, 168, 169, 340, 344

Maleato deshidrogenasa, 166, 167

Manosa-6-fosfato, receptores, 352, 353
 formación de la señal de reconocimiento, 352, 353, 354

Mapa(s)
 genéticos. Véase *Mapa(s), genómicos*
 génicos. Véase *Mapa(s), genómico*
 genómicos, 240, 242, 246
 cromosomas artificiales de levaduras y, 110, 111
 físicos, 240, 241
 genéticos, 240, 241
 plásmido pTP10, 238, 239
 trazado de un mapa
 por EST, 240, 241
 por STS a partir de una biblioteca clonada, 240, 241
 de restricción, 64

Marcadores genéticos, 148

Marchantia polymorpha, 126, 127

Marco de lectura abierto (MLA, ORF), 48, 49. Véase también *Código genético*

Meiosis, 116, 118
 falta de disyunción, 196, 400

Membrana plasmática, 20, 21, 26
 proteínas de transmembrana, 270, 271
 células musculares, 376, 377
 eritrocitos, 374, 375
 motivos de transmembrana de siete hélices, 270, 271, 272
 transmisores de señales de transmembrana, 270, 272

Metabolismo
 de la fructosa, trastornos, 24
 de la galactosa, trastornos, 24

Metilación, 70, 71, 224

Metiltransferasa, 224.

Microsatélites, 72, 242, 243
 inestabilidad, 68

Minisatélites, 72, 242, 243

Miofilamentos, 376

Mioglobina, 336, 338

Mitocondria, 20, 124, 125
 fosforilación oxidativa, 124, 125
 genoma, 126, 127
 cooperación con el genoma nuclear, 128, 129
 herencia materna, 128, 130, 131
 humano, 128, 258
 mutación, 128, 130, 131
 relación evolutiva, 128, 129
 transferencia de electrones, 124, 125

Mitosis, 112, 114, 316

Mixovirus, 92, 96

Modelo del umbral poligénico, 154, 155
 Monofosfato cíclico
 de adenosina (cAMP), 266
 formación, 268, 269
 hidrólisis, 268, 269
 de guanosina (cGMP), 266
 como transmisor en la visión, 278, 279
 Monooxigenasas, 370
 Monosacáridos, 24, 25
 Monosomía, 196, 197, 198, 400
 X. Véase *Síndrome de Turner*
 Mosaicismo, 228, 229, 382, 400
 Mosca de la fruta. Véase *Drosophila*
 Motivo(s)
 de dedos de cinc, 218, 219
 de membrana de siete hélices, 270, 271, 272
Mucopolidosis tipo II, 354
 Mucoviscidosis. Véase *Fibrosis quística*
 Muerte celular programada. Véase *Apoptosis*
 Mus musculus. Véase Ratón
 Mutación(es), 5, 8, 46, 47, 68, 70
 alfa-antitripsina, 364, 365
 análisis, 294, 408
 bacterias, 84
 cambio de marco de lectura, 46
 cáncer de colon y, 326, 327
 deleciones, 46, 47, 404
 síndromes por microdeleciones, 404, 405
 del desarrollo
Arabidopsis thaliana, 298, 299
Caenorhabditis elegans, 296, 297
Drosophila, 290
 mutaciones embrionarias letales, 290, 291
 pez cebra, 294, 295
 DNA mitocondrial, 128, 130, 131
 heteroplasma, 128, 130, 131
 duplicaciones, 182, 183, 254, 404
 de *Fushi tarazu*, 290, 291
 gen(es)
CBFA1, 384, 385
 de la distrofina, 376, 377, 378, 379
 de la fibrosis quística, 276
 de las globinas, 340, 341, 342, 344, 345, 346, 347
 demostración de los, 348, 349
 del retinoblastoma, 330
 SRY, 390, 391
 supresor de tumores, 318, 319
 de susceptibilidad al cáncer de mama, 328, 329

hiperplasia suprarrenal congénita, 392, 393
 inestables, 252, 253
 inserción, 46, 47
 modificaciones de bases, 70
 no isthmus (sin istmo), 294, 295
 número inestable de repeticiones de trinucleótidos, 78, 79, 394-397
 osteogénesis imperfecta, 382, 383
 proteínas p53, 322, 323
 receptor para LDL, 360
 regiones promotoras, 212
 rodopsina, 280
 sin sentido, 46
 de sentido alterado, 46
 síndrome del X frágil, 396
 de las somitas fusionadas, 294, 295
 sustitución, 46, 47
 tipos, 46, 47
 transición, 46
 transversión, 46
 Mutagénesis, pez cebra, 294, 295
 Mutágenos, 70
 Mutante(s)
 de auxotrofismo, 84
even-skipped, 290, 291
Mycoplasma genitalium, 236

N

NADH, 124
 deshidrogenasa, complejo, 124, 126, 128
 reductasa, 128
 Neandertales, 258
Nefrosis congénita, 168, 169
 Nematodo. Véase *Caenorhabditis elegans*
 Neuraminidasa, 96
Neurofibromatosis, 324
 Neurofibromina, 324, 325
Neurospora, 272
 Neurotransmisores, 272
 receptores, 272
Nicotiana longiflora, 152, 153
 Noradrenalina, 266
 Northern blot, hibridación, 62
 Núcleo, 20, 21, 204
 Nucléolo, 204, 205
 Nucleósidos, 28, 29
 Nucleosomas, 170, 172
 Nucleótidos, 28, 29, 36, 37
 alteración mutagénica, 68, 69
 análogos de bases, 70, 71
 polimorfismo

en la longitud de secuencias simples (PLSS), 72, 73
 en un solo nucleótido (PSN), 72, 73
 repeticiones de trinucleótido
 expansión, 78-89
 inestable, 78, 79, 394-397

O

Oído, 284, 285
 Olfato, sentido del, 286
 Oncogenes, 102, 318, 320, 326
 mecanismos de activación, 320, 321
 Operón, 208, 234
 lac, 208, 209, 234
 del triptófano, 210, 211, 234
 Órgano(s)
 de Corti, 284
 de Jacobson, 288
 linfáticos, 300, 301
 vomeronasal, 288
 Ortología, 254, 255
 Osteoblastos, 84
Osteogénesis imperfecta, 382
 Ovocitos, 120
 anfibios, cromosomas lampbrush, 176, 177
 Ovogénesis, 120, 121

P

Paladar hendido/labio leporino, 402, 404
Pancitopenia hereditaria, 334
 Papilas gustativas, 288
 Papovavirus, 92, 98
 Paquiteno, 118, 119
 Paralogía, 254, 255
 Paramixovirus, 94
 Parvovirus, 98, 99
 Patrones de bandas, 174, 184, 186, 194
 Pedigrí, 138, 139, 142, 143
Pellia epiphylla, 178
 Pérdida de heterocigosidad, células tumorales (PH), 318, 319, 326
 Peroxisomas, 20, 350, 351
 reacciones bioquímicas, 350, 351
Persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (PHHF), 346
 Pez cebra
 desarrollo embrionario, 294
 mutagénesis inducida, 294, 295
 Picornavirus, 92
 Pirimidina, 28, 29, 36, 37
Pisum sativum (arveja), 132, 133, 134, 135

Planta aromática milenrama, 164, 165
 Plásmidos, 90
 genoma, 238
 pTP10, 238
 resistencia a drogas, 238, 239
 transformación por, 90, 91
 vector plasmídico, 56, 57, 58
 PLFR, 62, 63, 72
Pneumococcus, 34
 Poliadenilación, 214, 215
 Polilla salpicada (*Biston betularia*), 164, 165
 Polimorfismo
 conformacional de cadena simple (PCCS), 250, 251
 genético, 3, 72, 164-167
 bioquímico, 164, 166
 condiciones ambientales y, 164, 165
 cromosómico, 164
 DNA, 72, 164
 electroforesis en gel, 166, 167
 fenotipo, 164, 165
 fotorreceptores, 282, 283. Véase también *Diversidad genética; Heterocigosidad*
 frecuencia, 166, 167
 productos génicos, 166, 167
 regiones hipervariables, 166
 de longitudes de fragmentos de restricción (PLFR), 62, 63, 72
 demostración de mutaciones, 348, 349
 Poliiovirus, 96, 97
Poliposis colónica, 326, 327
familiar, 326
 diagnóstico indirecto del DNA, 326, 327
 Polisacáridos, 24, 25
 Poxvirus, 92, 98
 Principio de transformación, 6, 34, 35
 Proceso de visualización, 278
 Profase, 114, 116, 118, 119
 Programa genético, 2
 Promotores, 102, 206, 207, 208, 212, 213, 218
 mutación, 212
 RNA polimerasa, 212, 213
 Proteína(s), 2, 32
 cinasas, 266
 del citoesqueleto, 374
 células musculares, 376
 eritrocitos, 374
 estructura
 primaria, 6, 32, 33
 colágeno, 380, 381

- Proteína(s) (*Cont.*)
 secundaria, 32, 33
 terciaria, 32, 33
 G, 266, 268, 270
 estimuladoras, 268, 269, 286
 Ras, 316, 317
 P53, 322
 Ras, 316, 317
 receptora olfatoria, 286, 287
 del retinoblastoma (RB), 112, 330, 331
 de membrana, 270, 271
 células musculares, 376, 377
 eritrocitos, 374, 375
 motivos de membrana de siete
 hélices, 270, 271, 272. Véase
 también *Aminoácidos*
 de unión al DNA, 172, 218, 220
 síntesis, 204, 205
 inhibidores, 222, 223
 Proteoma, 2, 236
 centro del proteoma, 256
 Proto-oncogenes, 320
 Proyecto Genoma Humano, 3, 10, 248
 Prueba de la proteína trunca (PPT), 406, 407
 Puentes
 disulfuros, 22
 peptídicos, 32, 33
 Purina, 28, 29, 36, 37
 Puromicina, 222, 223
- Q**
 Quiasma, 118, 119
- R**
 Rabdomiosarcoma, 322
 Rabdovirus, 92, 96, 97
 Rasgos
 dominantes, 134, 135, 136, 138, 140
 genéticos cuantitativos, 152
 distribución normal, 154, 155
 multigénicos, 152
 poligénicos, 152, 154
 recesivos, 134, 135, 136, 138, 140
 Ratón(es), 182, 256
 cariotipo, 184, 185
 desarrollo óseo, 384, 385
 determinación del sexo, 386, 387
 mutantes nulos o *knockout*, 230
 transgénico, 230, 386
 trisomías, 400, 401
 Reacción(es)
 adversas a drogas, 372, 373
 en cadena de la polimerasa (PCR), 66
 detección de repeticiones cortas en
 tándem, 72, 73
 tipificación por PCR, 406, 407
 Receptor(es). Véase *Receptores de
 superficie celular*
 del ácido gamma-aminobutírico
 (GABA), 270
 acoplados a proteínas G, 264, 268,
 270, 288
 de andrógenos, 390, 391
 de células T, 302, 303, 310, 312
 diversidad genética, 306, 307
 genes, 310, 311
 unión al antígeno, 310, 311
 de la insulina, 362, 363
 del LDL, 358, 359
 mutaciones, 360
 de la rianodina, 372
 de superficie celular, 264
 acoplados a proteínas G, 264, 264-
 269
 de células T, 302, 303, 310
 efecto
 directo del ligando, 266, 267
 indirecto del ligando, 266, 267
 de factores de crecimiento, 316, 317
 familia de receptores tirosina cinasas
 (RTK), 264, 265
 de insulina, 362, 363
 de neurotransmisores, 272
 de rianodina, 372
 tipos, 266
 Recombinación
 cruzada (*crossing over*), 116, 118, 144,
 145
 gen(es) de la globina, 342, 343
 en una región invertida, 200, 201
 genética, 74, 116, 144, 145
 bacterias, 86
 distancia genética y, 146
 frecuencia, 146
 gen(es) de las inmunoglobulinas,
 304, 306, 307
 homóloga, 80
 reparación de DNA de cadena doble,
 80, 81
 somática, 304
 a través de la recombinación
 cruzada (*crossing over*), 118, 144,
 145
 Recombinasas, 306
 Redundancia del código genético, 48
 Regiones hipervariables, 166
 Regulación génica, 208

- bacterias, 208-211
 inducción, 208
 represión, 210
 control de la transcripción, 212-215,
 216, 220, 264
 disrupción génica dirigida, 230
 edición del RNA, 216, 217
 empalme alternativo de RNA, 216, 217
 inhibidores, 222
 intensificadores (*enhancers*), 216, 217
 metilación del DNA, 224
 niveles de control, 216, 217
 proteínas de unión al DNA, 218
 Reovirus, 92
 Reparación
 del apareamiento incorrecto, 68, 80,
 81
 por escisión, 80, 81
 de la replicación, 80, 81
 Repeticiones
 en tándem
 cortas (RTC), 72, 73
 de número variable (RTNV o VNTR),
 72
 gen(es) de la insulina, 362
 terminales largas (LTRs), 102, 242
 de trinucleótidos
 expansión, 78-89
 inestables, 78, 79, 394-397
 Replicación, 38, 39, 42
 desplazamiento, 68, 69
 DNA lineal, 180, 181
 errores, 68, 69
 eucarionte, 42, 43
 horquilla de replicación, 42, 43
 procarionte, 42, 43
 virus, 92, 93, 94
 de DNA, 98
 retrovirus, 100, 101
 de RNA, 96, 97
 Replicones, 42
 Resistencia a drogas, 238, 239
 múltiples, 238, 239
 Respuesta inmune, 300, 301
 Retardo mental, 396
 Retículo endoplasmático, 20
 Retina, 278
 Retinitis pigmentosa, 280, 281
 Retinoblastoma, 330
 Retrocruza, 134, 135
 Retroelementos, transposición, 76, 77
 Retrotransposones, 76, 100, 102, 244
 Retrovirus, 92, 100-103, 320
 endógeno, 76, 77
 genoma, 100, 101
 integración al DNA celular, 102, 103
 replicación, 100, 101
 síntesis de DNA, 100, 101
 transcripción, 102, 103
 RFLP. Véase *PLFR*
 Ribosomas, 204, 205
 RNA, 3, 36, 204
 edición, 216, 217
 empalme (*splicing*), 216, 217
 alternativo, 216, 217. Véase también
RNA mensajero (mRNA); *RNA
 ribosómico (rRNA)*; *RNA de
 transferencia (tRNA)*
 mensajero (mRNA), 3, 7, 38, 44, 48,
 204, 214, 215
 Casquete (*cap*) de 7-metil-
 guanosina, 214, 215
 empalme (*splicing*), 50, 51
 alternativo, 216, 217
 poliadenilación, 214, 215
 polimerasa, 206, 207, 212
 promotores, 212, 213
 regulación, 208
 ribosómico (rRNA), 204, 205
 de transferencia (tRNA), 44, 45
 aminoacil tRNA, 222, 223
 Rodopsina, 278
 mutaciones, 280
- S**
Saccharomyces cerevisiae, 104, 106,
 108, 112, 113, 324
 gen(es) mitocondriales, 126, 127.
 Véase también *Levaduras*
Saccharomyces pombe, 112, 113
 Sangre, análisis cromosómico, 190
 Sarcolema, 376, 378
 Sarcoma, 320
 Secuencia(s)
 centroméricas (CEN), 108, 109
 de DNA nuclear
 corta y dispersa (SINE), 244, 245
 larga y dispersa (LINE), 244, 245
 de duplicación autónoma (ARS), 108,
 109
 de inserción (SI), 76, 77, 252
 teloméricas (TEL), 108, 109, 192, 193
 Secuenciación. Véase *DNA*
 por termociclación, 54, 55
 Segregación, 134-137
 análisis con marcadores genéticos,
 148
 genotipos parentales, 140
 herencia

Segregación (*Cont.*)

- autosómica
 - dominante, 4, 140, 142, 143, 148, 149
 - recesiva, 4, 140, 142, 143, 148, 149
- ligada al cromosoma X, 140, 142, 143, 148, 149
- monogénica, 142
- segregación independiente de dos rasgos, 136

Segundos mensajeros, 266, 268

Selección, 168

- ventaja selectiva de los heterocigotas, 168, 169, 340

Seno urogenital, 390

Señal de terminación, 210

seudocolinesterasa, 372, 373

seudogenes, 76, 77

seudohermafroditismo, 388

SIDA. Véase *Síndrome de inmunodeficiencia adquirida*; *HIV*

Siembra en placa de una réplica, 84, 85

Síndrome

- adrenogenital, 390, 392
- de Angelman (SA), 398, 399
- ATR-16, 344
- cerebro-hepato-renal tipo Zellweger, 350, 351
- del Cri-du-chat, 404, 405
- de DiGeorge, 314, 404
- de Down, 8, 196, 198, 400
- de la hernia uterina, 390
- ICF, 224
- de inestabilidad genómica, 334
- de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), 314. Véase también *HIV*
- de Jervell y Lange-Nielsen, 274
- de Klinefelter, 8, 196, 386, 402, 403
- de Langer-Giedion, 192
- de Lesch-Nyhan, 28
- de Li-Fraumeni, 322, 323
- de Liddle, 274
- de Martin-Bell, 396
- de Prader-Willi (SPW), 398, 399
- del QT largo, 274, 275
- tipos moleculares, 274, 275
- de resistencia a la insulina, 362
- de Rubinstein-Taybi, 404, 405
- de la ruptura de Nijmegen, 334
- de Russell-Silver, 398
- sanguíneo (SS), 334, 335
- de Shprintzen, 404
- de Turner, 8, 196, 386, 402, 403
- de Ullrich-Turner, 402
- velocardiofacial, 404

de Werner, 334

de William-Beuren, 404, 405

de Wolf-Hirschhorn, 404, 405

del X frágil, 394, 396

de Zellweger, 350

Véase también *Enfermedad (es)*

Sintonía, 146

Sistema

- auditivo, 284, 285
- de citocromos, 124, 126, 128, 370
- gen(es) de los citocromos P450, 370
- de dos híbridos, 106, 107
- inmune, 300
- complejo mayor de histocompatibilidad (*CMH* o *MCH*), 308. Véase también *Células B*; *Células T*; *Receptores de células T*
- componentes, 300
- quimiosensorial, 288, 289
- de traducción de señales, 264
- transmisores de señales de transmembrana, 270

Sordera, 284

Southern blot, hibridación por, 62, 72,

348, 408

zoo blot, 250, 251

Splicing. Véase *Empalme*

Stem cells embrionarias, 230, 231

Véase también *Células troncales embrionarias*

regulación de la síntesis del triptófano, 210, 211

Streptomyces, 222

Sustitución, 46, 47

T

Talasemia, 168, 169, 344, 346

hemoglobinas, 336, 337, 344

Tasa de excreción de la fenilbutazona, 162

Tecnología de DNA recombinante, 9

Telofase, 114

Telomerasa, 180

Telómero, 114, 178, 180

estructura, 180, 181

Tendencia genética, 158, 168

Testosterona, 388, 389, 390

Tetraploidía, 196, 402

Thermophilus aquaticus, 66

Timina, 28, 29, 36, 37

dímeros inducidos por luz UV, 70, 71

Tipos de apareos, 140, 141

levaduras, 104, 105

determinación del, 106, 107

Togavirus, 92, 96, 97

Toracodelfos, 162, 163

Toxina colérica, 269

Traducción, 38, 44, 45, 90, 91, 204, 214

inhibidores, 222

virus de RNA, 96, 97

Transcripción, 38, 44, 45, 46, 47, 204, 206, 214

control, 212-215, 216, 220, 264

inhibidores, 222. Véase también

Regulación génica

cromosomas lampbrush, 176

identificación del punto de iniciación, 206, 207

unidad, 206, 207

virus, 92, 93, 94, 95

de DNA, 98, 99

retrovirus, 102, 103

de RNA, 96, 97

Transcriptasa inversa, 9, 100, 101

Transducina, 278

Transfección, 90, 91

Transformación, 90, 91

Translocación, 198

4;8, 192, 193

Filadelfia, 192, 193, 320, 332, 333

recíproca, 198, 199, 404

robertsoniana, 198

Transportador ABC, 236

Transposición, 76, 252

retroelementos, 76, 77

Transposones, 76, 77

bacterias, 252, 253

retrotransposones, 76, 100, 102, 244

Trastornos por poliglutaminas, 78

Trazado de un mapa

por EST, 240, 241

por STS, 240, 241

Trifosfato de adenosina (ATP), 124, 266, 268

Triglicéridos, 26

Triploidía, 196, 197, 226, 402, 403

Triptófano

operón, 210, 211, 234

regulación de la síntesis, 210, 211

Trisomías, 196, 197, 400

en la mala hierba de Jimson, 400, 401

en el ratón, 400, 401

trisomía 13, 8, 196, 400

trisomía 18, 8, 196, 400

trisomía 21, 400. Véase también

Síndrome de Down

Tumores, 316

oncogenes, 320

patrones de expresión génica en células cancerosas, 260, 261

proteína p53, 322.

U

Uracilo, 28, 29, 36

V

Variación

geográfica, 164

multifactorial, 152

Vesículas cubiertas, 352

Virus, 92-103

bacteriófagos, 88

brotación, 94, 95

clasificación, 92, 93

de DNA, 98

de la estomatitis vesicular (VSV), 96, 97

herpes, 92, 98, 99

de la influenza, 92, 96, 97

de las paperas, 94

replicación, 92, 93, 94, 96, 97, 98

retrovirus, 76, 77, 92, 100

de RNA, 92, 93, 96

genoma, 96, 97

replicación, 96, 97

retrovirus, 76, 77, 92, 100-103

traducción, 96, 97

del sarcoma de Rous, 320

sendai, 94

SV40, 98, 99

traducción, 96, 97.

transcripción, 92

transducción, 90, 91

Varicela-Zoster, 98

Visión color, 278, 282-283

X

X, cromosoma. Véase *Cromosoma X*

Xeroderma pigmentoso, 82

Y

Y, cromosoma. Véase *Cromosoma Y*

Z

Zea mays, 252

Zoo blot, 246, 250, 251