

CONCEPTOS BÁSICOS DE GENÉTICA

ROSARIO RODRÍGUEZ ARNAIZ
AMÉRICA CASTAÑEDA SORTIBRÁN
MARÍA GUADALUPE ORDÁZ TÉLLEZ



Aviso legal

Conceptos Básicos de Genética

Rosario Rodríguez Arnaiz, América Castañeda Sortibrán y María Guadalupe Ordáz Téllez

Esta edición de un ejemplar (24.9 MB) fue elaborada con la colaboración de la Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial de la UNAM. El cuidado de la edición estuvo a cargo de Mercedes Perelló Valls. La formación de este ejemplar en formato ePub fue realizada por Rosa María del Angel.

Diseño de la portada Adrián D. Fortíno O

Esta obra se financió con recursos del Proyecto PAPIIT RL200116 de la DGAPA.

Primera edición electrónica en formato ePub: 15 de mayo de 2016.

D. R. © 2016 UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Ciudad Universitaria, 04510, Ciudad de México.

Facultad de Ciencias
Departamento de Biología Celular

ISBN: 978-607-02-7969-0

Prohibida su reproducción parcial o total por cualquier medio sin autorización escrita de su legítimo titular de derechos.

Esta edición y sus características son propiedad de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Hecho en México.



PREFACIO A LA TERCERA EDICIÓN

La genética es la disciplina científica que trata sobre la herencia y la variación, analiza las reglas de transmisión de las características de padres a hijos; los mecanismos moleculares mediante los cuales los genes controlan el crecimiento, el desarrollo y el aspecto de las células y de los individuos; la estructura génica de las poblaciones y la variación en las frecuencias génicas generación tras generación que son la base del proceso evolutivo. El análisis y comparación de secuencias han permitido conocer las relaciones entre especies dentro y fuera de los grupos, taxones biológicos clases y reinos biológicos.

Actualmente ningún área de la biología puede entenderse sin el conocimiento de la genética ya que los genes no sólo controlan todos los procesos celulares sino también son los responsables, en primera instancia, del curso de la evolución. La genética es entonces una disciplina analítica básica cuyos conceptos unifican y dan sentido a la biología contemporánea.

El propósito de este libro es el de presentar a los estudiantes universitarios, de forma concisa, el estado actual del conocimiento básico de la genética. El texto cubre en su totalidad el programa de la asignatura obligatoria que se imparte en la licenciatura en Biología de la Facultad de Ciencias, pero puede emplearse en otros programas introductorios al campo de la Genética tanto en la Universidad Nacional Autónoma de México, como en otras instituciones de educación superior. El libro consta de explicaciones rigurosas y de numerosas tablas, esquemas y dibujos ya que la experiencia nos ha mostrado que, en muchas ocasiones, la imagen y la síntesis facilitan la comprensión y el aprendizaje. Para lograr construir el edificio conceptual de la disciplina el estudiante debe haber tomado cursos de biología celular, biología molecular, química orgánica, álgebra y estadística. El libro recoge la experiencia docente de las autoras llevada a cabo durante varias décadas en la Facultad de Ciencias. El texto se elaboró con base en los apuntes y notas preparatorias a los cursos impartidos, tomados de la consulta a diversos textos de Genética, los que se enlistan en la bibliografía al

final del texto.

Este libro trata sobre los conceptos básicos de la Genética disciplina que se divide para su estudio en tres áreas generales: clásica, molecular y de poblaciones. El libro está elaborado siguiendo un enfoque histórico de modo que se tratan en los primeros capítulos los temas relacionados con la genética clásica o mendeliana que es necesaria para comprender la genética molecular y la de poblaciones. La genética clásica estudia las leyes mediante las cuales la información genética se transmite de generación en generación. La genética molecular trata sobre la organización y expresión del material genético y, sobre cómo la información genética heredada por un organismo dirige el desarrollo y las actividades de ese organismo. La genética de poblaciones estudia el origen de la variación genética así como las bases genéticas de la evolución biológica. Los capítulos han sido escritos como unidades discretas, de modo que, si el profesor así lo desea puede seguir un orden diferente en la enseñanza.

La Genética es una disciplina fascinante, es bien sabido que ningún otro campo de la Biología ha tenido un impacto tan definitivo sobre nuestro conocimiento acerca de los seres vivos y de los procesos y mecanismos que mantienen la vida. Los avances de la Genética son tan espectaculares que no pasa más de un lustro sin que se acumulen nuevos conceptos y paradigmas. De modo que en la tercera edición se han incorporado algunos de los avances que han impactado a la disciplina. Asimismo se ha incorporado al inicio de cada tema una pequeña introducción.

Los artículos de investigación original en genética son notablemente muy numerosos, sin embargo, hemos incluido al final del texto un grupo de referencias por cada capítulo, en las que se estableció algún concepto básico de la disciplina o que resultan relevantes para profundizar sobre un tema particular. Muchas de ellas han sido revisadas y comentadas en seminarios *ad hoc* durante los cursos semestrales. La gran mayoría de los libros científicos y de los artículos de investigación se escriben en inglés, por lo cual, los profesores e investigadores de habla española leen y escriben con mucha fluidez en inglés que es el idioma científico universal. Hemos

tratado de traducir muchos de los vocablos ingleses al español, sin embargo, en algunas ocasiones, como en el caso del DNA (ácido desoxiribonucleico) preferimos emplear la sigla inglesa ya que es la abreviatura con la que se le conoce en todos lados. Al final del texto se presenta un glosario con las definiciones de las palabras empleadas en el libro.

Hemos leído, revisado y corregido el libro varias veces, sin embargo, dado que toda obra es perfectible, esperamos que los estudiantes, profesores y lectores disfruten el texto y nos comuniquen los errores que encuentren.

La primera edición del libro fue elaborada e impresa gracias al Programa de Apoyo a Proyectos Institucionales para el Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME-UNAM, Proyecto EN205603). La primera reimpresión fue coordinada por la Lic. Mercedes Perelló Vals y realizada en Las prensas de Ciencias de la Facultad de Ciencias.

La segunda edición fue impresa en Las prensas de Ciencias, el cuidado de esta segunda edición estuvo a cargo de la Lic. Mercedes Perelló Valls y de la Dra. Rosario Rodríguez Arnaiz. Ambas ediciones fueron revisadas y dictaminadas por el Comité Editorial de la Facultad de Ciencias. Esta edición se acompañó de un disco interactivo cuyo diseño fue realizado por el pasante de biólogo Jesús Huitzilihuitl Torres Hernández y los contenidos: animaciones, imágenes, autoevaluaciones y textos fueron realizados por América Nitxin Castañeda Sortibrán, Marco Antonio Carballo Ontiveros, María Guadalupe

Ordaz Téllez, Beatriz Rodarte y Claudia Segal. Todos coordinados por Rosario Rodríguez Arnaiz. Además en el disco interactivo se incorporó en cada capítulo un tema denominado «Personajes de la Genética» en el cual se presenta un breve resumen de los trabajos y contribuciones de los científicos que realizaron los descubrimientos más importantes, que establecieron los conceptos universales que dan unidad a la Genética en particular y a la Biología en general y/o que propusieron las teorías o hipótesis que incentivaron los procesos de investigación. Este proyecto se realizó gracias al Programa de Apoyo a Proyectos Institucionales para el Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME-UNAM, Proyecto PE200606). La tercera edición

estuvo bajo el cuidado de la Lic. Mercedes Perelló Valls y de la Dra. Rosario Rodríguez Arnaiz y se realizó de forma digital gracias a la colaboración de los pasantes de Biología Claudia Flores Loyola y Alejandro Monterrosas Márquez en la elaboración a colores de las figuras. El texto fue subido a la plataforma de e-book por la Lic. Patricia Muñetón de la Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial de la UNAM. Esta obra en su primera versión digital pudo realizarse gracias al apoyo de la Dirección General de Asuntos de Personal Académico PAPIIT Proyecto RL 200116.

Ciudad Universitaria mayo 2016.

01. INTRODUCCIÓN

El objeto de estudio de la genética son los genes, éstos afectan nuestro peso, altura, color del pelo, color de la piel, susceptibilidad a enfermedades y desórdenes así como nuestra inteligencia y personalidad. Cuando se aplicaron a gran escala los principios genéticos a la agricultura se produjo, entre los años 1950 y 1960, la revolución verde. La industria farmacéutica se ha beneficiado con la manipulación de bacterias y hongos para producir diversos medicamentos y aditivos de alimentos que han mejorado nuestra vida diaria. La industria biotecnológica emplea metodologías moleculares para producir sustancias con valor comercial y terapéutico como la insulina y la hormona de crecimiento. El papel esencial que ha representado la genética en la caracterización de enfermedades de origen genético y su tratamiento como la anemia perniciosa, las distrofias y las coreas, entre otras. En la Biología la genética ha impactado diversos campos de conocimiento tales como la biología del desarrollo, la taxonomía, la ecología y la evolución. A pesar de la enorme diversidad del mundo biológico, los seres vivos compartimos los mismos sistemas genéticos conformados por ácidos nucleicos, DNA y RNA, que realizan todas las funciones de autoreplicación y expresión génica.

La Genética es entonces la ciencia que estudia la transmisión de la información hereditaria de generación en generación. Los genes pueden estudiarse a nivel molecular, bioquímico, celular, orgánico, familiar, poblacional o evolutivo. La Genética es por lo tanto la ciencia que estudia la herencia y la variación, en tanto que la herencia fija los moldes o patrones biológicos, el medio ambiente, interno y externo, afecta y modula el desarrollo y las actividades del individuo. La genética es una disciplina científica que ocupa un lugar central en la biología y en las ciencias de la salud.

La genética se divide para su estudio en tres áreas: (i) de la transmisión, de los caracteres hereditarios de padres a hijos, generación tras generación (ii) molecular, la que se refiere a la naturaleza química de la herencia, (iii) de poblaciones, composición genética de individuo miembros de una población y cómo cambia en

función del tiempo y adecuación en los espacios geográficos, es decir, micro y macroevolución. Las diversas investigaciones en el campo de la genética se han realizado con organismos considerados modelo, que han facilitado los análisis genéticos, ya que han acumulado gran cantidad de información. Entre ellos se encuentran la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, el nemátodo *Caenorhabditis elegans*, la bacteria del colon *Escherichia coli*, el ratón *Mus musculus*, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la planta *Arabidopsis thaliana*.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La selección artificial de animales domésticos y plantas cultivadas con características deseadas fue una práctica que se realizó desde el origen del hombre sedentario, se tienen evidencias de que los chinos mejoraron el arroz, así como de los nativos americanos que mediante la misma práctica mejoraron el maíz antes del Neolítico. Los babilonios, en los años 6,000 antes de Cristo, pulieron piedras en las que dejaron labradas representaciones sobre la polinización artificial, sobre las cruces entre palmeras datileras, así como pedigríes de caballos. Se tienen diversas evidencias del interés de los seres humanos, acerca del origen de las plantas y de los animales, por ejemplo, los griegos trataron de explicar la existencia de animales como la jirafa que pensaban era el resultado de la cruce entre el leopardo y el dromedario; el camello entre el dromedario y el jabalí; y el plátano entre la acacia y la palmera.

Las primeras teorías sobre la herencia, fueron propuestas por los filósofos griegos Hipócrates, en el siglo V antes de Cristo (AC), y Aristóteles en el siglo IV AC. La escuela hipocrática propuso la **Teoría de la Pangénesis** que postula que el semen masculino se forma en muchas partes del cuerpo y a través de los vasos sanguíneos llegan “los humores activos”, portadores de los caracteres hereditarios, a los testículos. Aristóteles en su análisis de la herencia humana propuso la **Teoría del Esencialismo** que postula en general que todas las especies poseen “una esencia” que las define y las hace únicas. Este concepto aplicado a la herencia plantea que el semen masculino posee un calor vital que al unirse a la

sangre menstrual, le da forma y potencia a una sustancia amorfa, a partir de la que se produce un modelado que genera un descendiente adulto. Estas ideas permearon el pensamiento de muchos naturalistas hasta bien entrado el siglo XIX. Durante la Edad Media, época caracterizada por los dogmas religiosos, la historia no muestra ningún avance científico relevante, fue hasta el Renacimiento cuando empiezan a realizarse algunos descubrimientos relacionados con la genética, se postulan las teorías de la epigénesis y la de la preformación, que estuvieron vigentes hasta el siglo XIX.

La biología nace como disciplina científica en el siglo XVII, durante los siguientes tres siglos se acumularon muchos conocimientos provenientes de la biología experimental y se postularon una serie de ideas (hipótesis) sobre la base de la vida. William Harvey (1578-1657), conocido por sus experimentos, que demostraron que el corazón bombea la sangre hacia el sistema circulatorio, observó óvulos y espermatozoides humanos, y postuló la **Teoría de la Epigénesis** que propone que el organismo deriva de sustancias presentes en el huevo, que se ensamblan y diferencian durante el desarrollo embrionario. La **Teoría de la Preformación** propuesta en el siglo XVII dice que en los espermatozoides se encuentra un organismo adulto completo – el *homunculus* – el cual iba creciendo conforme avanzaba el desarrollo. Antón van Leewenhoek (1632-1723) el personaje que construyó el primer microscopio observó en los espermatozoides unos “animáculos” que corresponden al homunculus propuesto por los preformistas.

Jean Baptiste Pierre Antoine de Monet, caballero de Lamarck (1744-1829) es conocido por haber planteado una de las primeras teorías sobre la transmutación, término con el que se explicaba en esa época la evolución, apoyó la idea de la generación espontánea como fuente original de todos los seres vivos: los organismos con diferentes niveles de complejidad se han originado mediante actos únicos y diferentes de generación espontánea que ocurrieron en tiempos distintos. La escuela lamarckiana se ha desacreditado por la idea de la herencia de los caracteres adquiridos, sin embargo, Lamarck uno de los personajes de la historia de la biología más polémico y controvertido, fue un gran científico ya que propuso ideas

muy avanzadas para su tiempo. Fue el primero en estudiar a los invertebrados de forma sistemática y uno de los primeros en proponer que la transmutación más que la intervención divina era la responsable de los cambios que se observan en plantas y animales a través del tiempo.

En 1834 los botánicos alemanes Matthias Schleiden y Theodor Schwann postularon la **Teoría Celular** que plantea que todos los organismos están formados por células. El principio de la continuidad de la vida, a través de la división celular, generalización propuesta por el fisiólogo alemán Rudolf Virchow en 1858 señala que cada organismo se origina a partir de una célula indiferenciada que tiene las potencialidades para producir un ser vivo completo (*omnis cellula e cellula*), se incorporó a la teoría celular.

En 1859 se publica el libro *El origen de las especies por medio de la selección natural* de Charles Robert Darwin en el que se propone la idea de la selección natural, que intenta explicar las causas del cambio evolutivo, de los descendientes con modificaciones y del papel del hombre en el universo fuera de la mano de Dios. La laguna más importante de la teoría de la evolución propuesta por Darwin fue la ausencia de una explicación sobre las bases genéticas de la herencia y en consecuencia de la variación, laguna que fue llenada hasta los años 1930s cuando se propone la nueva síntesis de la teoría de la evolución conocida como neodarwinismo. Charles Darwin propuso, aunque de forma provisional, la **Teoría de la Pangénesis** en la que describe que son gémulas, en lugar de los humores hipocráticos, las unidades físicas que representan a las diferentes partes del cuerpo que él creía se reunían en la sangre para ir hacia el semen.

Johann Gregor Mendel (1822-1884) es considerado el padre de la genética. Realizó diversos experimentos con el guisante *Pisum sativum*, y aunque no fue el primero en tratar de mejorar a las plantas por hibridación, si fue el primero en emplear un método de observación y de diseño para la experimentación, contó y clasificó los guisantes resultantes de sus cruces, comparó las proporciones obtenidas con modelos matemáticos y formuló una hipótesis para estas diferencias. Mendel postuló patrones matemáticos exactos

para la transmisión de los caracteres hereditarios discretos, aún cuando no se conocía el mecanismo biológico involucrado. Es el fundador de la **escuela mendeliana**. Francis Galton (1822-1911) propone, en 1869, **la escuela biométrica** que concibe a la herencia como la suma de fraternidades en poblaciones grandes, más que en individuos. Galton propuso que el estudio estadístico y cuantitativo de los caracteres métricos en una población debía conducir al establecimiento de una teoría general de la herencia. William Roux (1883) establece que los cromosomas son los portadores de los factores hereditarios, postula la alineación lineal de las unidades hereditarias a lo largo de los filamentos cromosómicos. La **Teoría de la Continuidad del Plasma Germinal**, postulada por August Weismann (1885), reconoce dos tipos de tejidos: el somatoplasma que forma el cuerpo del organismo y el germoplasma que es inmortal ya que es a través de este tejido que se mantiene la continuidad de la información genética, es decir, el cuerpo es solamente el huésped del material genético que será transmitido a las generaciones futuras. Weismann también propone que en los organismos pluricelulares que se reproducen sexualmente, el número de unidades hereditarias se reduce a la mitad durante la formación del óvulo y del espermatozoide, proceso conocido como meiosis.

NACIMIENTO DE LA GENÉTICA

En 1900, el alemán Carl Correns, el holandés Hugo de Vries y el austriaco Erick von Tchermak-Seysenegg redescubren simultánea e independientemente los trabajos de Mendel. Theodor Boveri y Walter Sutton (1902) sugieren que los genes se encuentran en los cromosomas. William Bateson en 1906 bautiza con el nombre de genética – del vocablo inglés generate (generar) – a la ciencia naciente. El botánico danés Wilhelm Johannsen definió los conceptos de genotipo y fenotipo. Propuso: *“el fenotipo es el carácter físico de un individuo, el genotipo es su constitución genética”*. Johannsen también estableció la influencia que puede desempeñar el ambiente sobre el fenotipo de un individuo y aclaró que el genotipo es el único determinante en la transmisión de las características a la siguiente generación, de modo que las variaciones somáticas no pueden heredarse. Archibald Garrod (1909) demuestra que los productos de

los genes son las enzimas.

Alfred Sturtevant, Calvin Bridges y Thomas Morgan identifican los mecanismos genéticos del encadenamiento y de la recombinación con lo que desarrollan el mapa génico de *Drosophila melanogaster*. Demuestran la **Teoría Cromosómica de la Herencia**. En los años 1930 Georges Beadle, Boris Ephrussi y Edward Tatum postulan la hipótesis un gen = una enzima, y sientan las bases para entender al gen como una unidad funcional.

En 1937 Theodosius Dobzhasky publicó el libro *La genética y el origen de las especies*, donde mostró que los mecanismos evolutivos pueden analizarse con los procedimientos de la genética, sintetizó las observaciones que había obtenido en poblaciones mendelianas y convirtió los complejos modelos matemáticos de Sewall Wright en modelos de adaptación local. Th. Dobzhasky, Ronald Fisher, Wright y John Haldane propusieron una nueva síntesis de la teoría de la evolución en la que convergen las escuelas mendeliana, biométrica y darwiniana, mediante la genética de poblaciones.

En 1944 Oswald Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty identifican al DNA como el material genético. James Watson y Francis Crick (1953) proponen el modelo de la doble hélice y establecen que el gen es una unidad química, hecho que marcó una revolución conceptual en el campo de la genética. En 1958 Matthew Meselson y Franklin Stahl demuestran que el DNA se replica semiconservativamente. Para 1961 queda descifrado el código genético. Paul Berg crea, en 1972, la primera molécula recombinante de DNA, hecho que abrió la posibilidad de la clonación génica y de la manipulación genética. En 1977 de forma independiente y simultánea Allan Maxam y Walter Gilbert en EUA, y Frederick Sanger en el Reino Unido desarrollan las metodologías para secuenciar moléculas de DNA. Kary Mullis en 1985 desarrolla la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permite replicar en el laboratorio grandes cantidades de DNA. En 1995 Robert David Fleischmann y colaboradores reportan la primera secuencia completa del genoma de un organismo, el de la bacteria *Haemophilus influenzae*. En el año 2001 se logra el mapa físico del genoma humano. Este hecho marca otro hito en el desarrollo de la disciplina, comparable a la

revolución conceptual que se produjo cuando se descubrió la estructura de los ácidos nucleicos.

Este brevísimo resumen histórico muestra que la genética nació y se desarrolló de forma espectacular durante todo el siglo XX, y resulta ser el campo de la Biología más fascinante, ya que permite entender los procesos hereditarios que son esenciales para comprender el fenómeno de la vida. No cabe duda que la genética ha impactado en forma definitiva a la biología celular, a la biología molecular, al estudio de la fisiología, de los desarrollos vegetal y animal, a la sistemática, a la evolución y a la ecología. El estudio integrativo de estas disciplinas no sería posible sin el conocimiento de los procesos genéticos que subyacen en cada uno de ellos. La genética es, por lo tanto, la disciplina que unifica y da sentido a la biología contemporánea.

LOS GENES Y LA HERENCIA

El *gen* es la unidad funcional fundamental de la herencia ya que porta la información de una generación a la siguiente. Desde el punto de vista físico es un pequeño segmento de la doble hélice que conforma a la molécula del ácido desoxirribonucleíco (DNA). El descubrimiento de la estructura molecular y la comprensión de las funciones que realizan los genes han permitido tratar de contestar algunas de las grandes preguntas de la biología, éstas son, de acuerdo con Francisco Ayala (1984):

¿Qué hace a una especie ser lo que es? Los genes determinan las características hereditarias de una especie de generación en generación y a la vez expresan en cada generación la información hereditaria que se encuentra en las secuencias de nucleótidos del DNA, expresión que especifica la secuencia de aminoácidos de las proteínas. Éstas son las macromoléculas más importantes de un organismo. Las proteínas son los productos de los genes. En la expresión de los genes, el ambiente en el cual el organismo se desarrolla y desenvuelve, juega un papel central para determinar las características del individuo.

¿Cuál es la unidad fundamental de todos los seres vivos? La unidad de todos los seres vivos es el código genético que relaciona

la secuencia de nucleótidos en el DNA con la secuencia de aminoácidos en las proteínas. El código genético es universal, es decir, es el mismo en todos los seres vivos: bacterias, algas, hongos, plantas y animales.

¿Cuáles son las causas de variación dentro de una especie? Los genes se encuentran en los organismos diploides en formas alternadas denominadas *alelos*. Las variantes alélicas se presentan por el proceso de mutación, fuente natural que genera la variabilidad hereditaria en una especie, ésta se manifiesta a nivel de las proteínas.

Los genes están formados por DNA, con relación a las funciones biológicas, el DNA tiene tres propiedades fundamentales: su organización y capacidad de autocopiarse replicación; la información contenida en el DNA que hereda un organismo se expresa y dirige el desarrollo y la vida de ese organismo - generación de la forma y de la función; los genes pueden cambiar de una forma alélica a otra mediante el fenómeno de mutación, que es raro pero que ocurre con cierta regularidad, es la base que genera variación en una especie y es la materia prima de la evolución.

ORGANIZACIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO

El complemento de DNA de un organismo es su *genoma*. Este puede presentarse en forma única denominada *haploide* –como en las bacterias, y la mayoría de las algas y hongos– o en dos complementos ó genomas denominados *diploides* tal como ocurre en la mayoría de los hongos, las plantas y los animales (Fig.1.1). El genoma está conformado por una sola molécula de DNA organizada en una estructura que conocemos como *cromosoma*. En los organismos diploides los dos cromosomas de un par se llaman *homólogos*. Cuando un cromosoma se replica antes de la división celular se replican todos los genes que en él se encuentran, de modo tal que después de la división celular de una célula somática, las dos células hijas contienen el genoma completo.

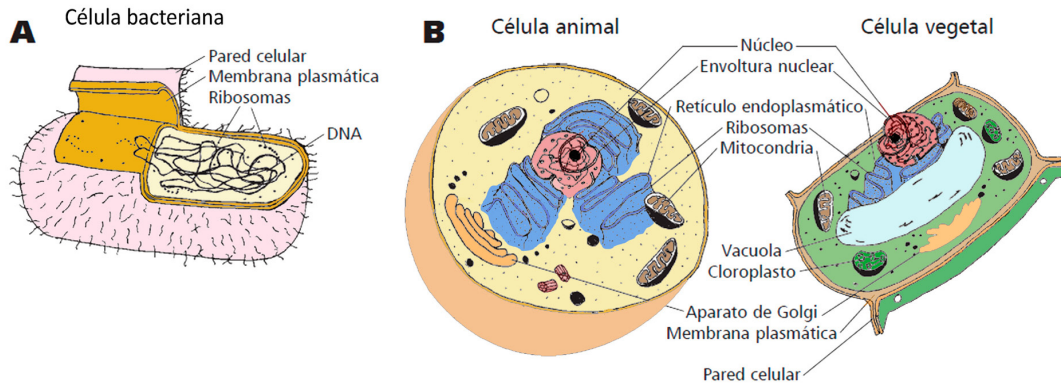


Fig 1.1. A. Célula procarionte; B célula eucarionte

El DNA es una estructura lineal en forma de doble hélice. Cada hebra o cadena de la doble hélice está formada por unidades o nucleótidos que consisten de un grupo fosfato, una molécula del azúcar desoxirribosa y una de las cuatro bases nitrogenadas: adenina (A), timina (T), citosina (C) y, guanina (G). Las bases nitrogenadas se encuentran en el centro de la molécula de la doble hélice y, se unen entre sí a través de puentes de hidrógeno, dos entre la adenina y la timina y tres entre la guanina y la citosina. Las bases nitrogenadas están unidas al azúcar la que a su vez se une al grupo fosfato, mediante un puente fosfodiéster, que se encuentra por fuera formando una columna. En el DNA los nucleótidos están conectados entre sí en las posiciones de los carbonos 5' y 3' de la desoxirribosa, razón por la cual cada cadena tiene una polaridad en posición opuesta, es decir, son antiparalelas (Fig. 1.2).

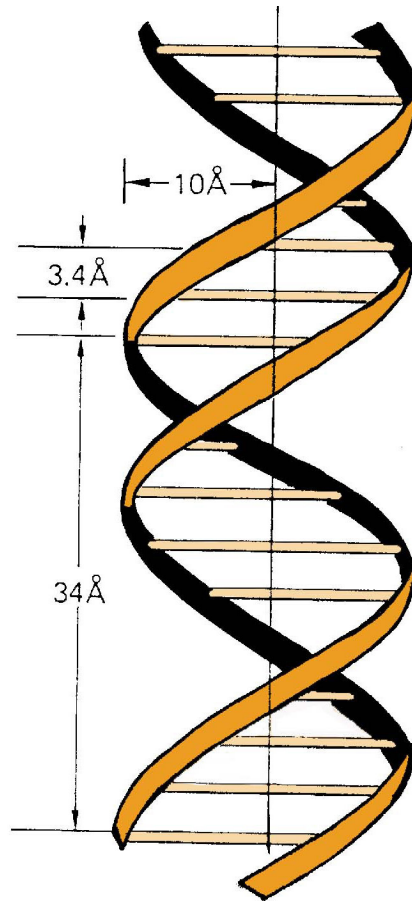


Fig 1.2. La doble hélice

Las bases nitrogenadas son estructuras planas hidrofóbicas complementarias, en el momento de la replicación las dos cadenas de la doble hélice unidas por los puentes de hidrógeno se rompen, proceso que es mediado por una endonucleasa. Las bases expuestas de cada cadena sirven como moldes o templates para la réplica de la complementaria, los nucleótidos que han sido sintetizados dentro de la célula atraviesan el núcleo por difusión, y son incorporados a la cadena en formación proceso que es mediado por la DNA polimerasa. Esta enzima une una secuencia específica de nucleótidos en el origen de la replicación y luego va polimerizando – incorporando nucleótidos – en las nuevas cadenas hijas a imagen y semejanza de la cadena que sirve como molde. Debido a que las cadenas son complementarias las hebras hijas son idénticas a la

cadena original, este proceso de replicación se denomina semiconservativo (Fig. 1.3).

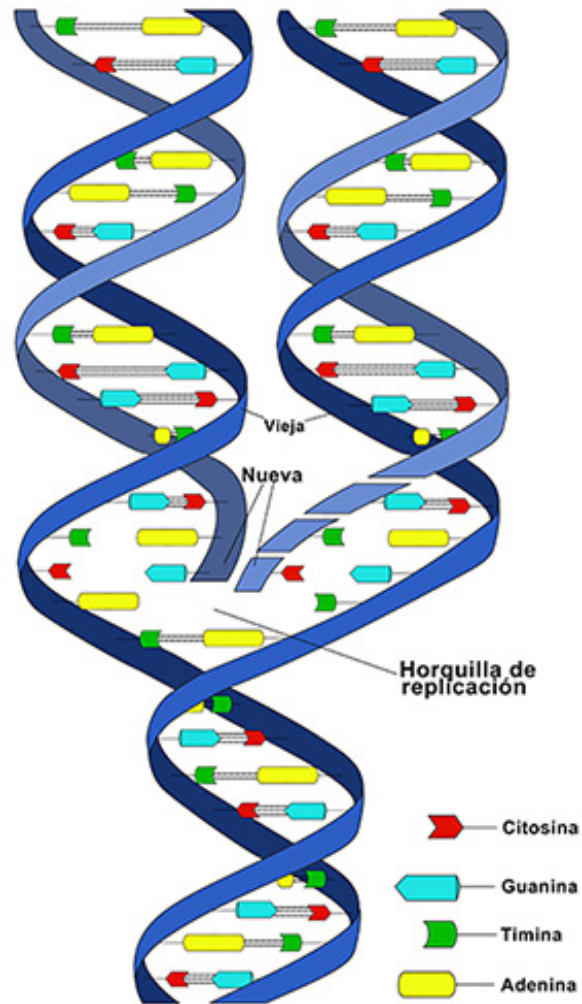


Fig. 1.3. Replicación

EXPRESIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO

Cada gen funcional se traduce por la maquinaria celular y se genera un producto que usualmente es una proteína. El primer paso en la expresión génica es la transcripción de la información genética contenida en el DNA a una molécula intermedia de cadena sencilla: el ácido ribonucleico (RNA) que contiene como azúcar a la ribosa. El

RNA está compuesto, como el DNA, de nucleótidos, la única diferencia en cuanto a su composición es que en lugar de la base nitrogenada timina se encuentra el uracilo (U). La polimerización de ribonucleótidos se realiza siempre a partir del extremo 3' de la cadena en crecimiento y, se lleva a cabo por la RNA polimerasa. La copia de RNA o transcrito contiene la secuencia completa de un gen (Fig. 1.4). En los eucariontes los genes tienen en un extremo secuencias reguladoras, a las que se pegan diversas proteínas que regulan la transcripción, y en el otro extremo secuencias que codifican para la terminación de la transcripción (Fig. 1.5). En muchos genes de los eucariontes la secuencia que codifica para los dominios estructurales de la proteína, denominados exones, está interrumpida por secuencias no codificantes denominadas intrones. Éstos son removidos en el interior del núcleo del transcrito primario quedando la secuencia de RNA mensajero maduro formada por las regiones codificantes o exones. El RNA mensajero (RNAm) sale del núcleo, la secuencia es traducida en el citoplasma donde se realiza la síntesis de proteínas en los organelos conocidos como ribosomas. El código genético está formado por grupos de tres nucleótidos (tripletes), denominados codones de los cuales existen 64 (ya que el arreglo de cuatro nucleótidos en tripletes es: $4 \times 4 \times 4 = 64$). Cada codón codifica para al menos un aminoácido (61 codones) o para una señal de terminación de la traducción (3 codones). Los ribosomas se pegan al extremo 5' del RNAm y se van moviendo sobre el mensaje catalizando la incorporación de aminoácidos en la cadena polipéptidica en crecimiento. Cada aminoácido es transportado al ribosoma por un RNA de transferencia (RNAt) específico. Cada gen codifica para una proteína específica y cada proteína realiza una función específica en la célula.

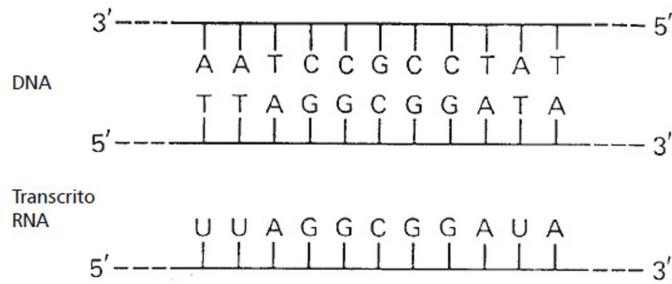
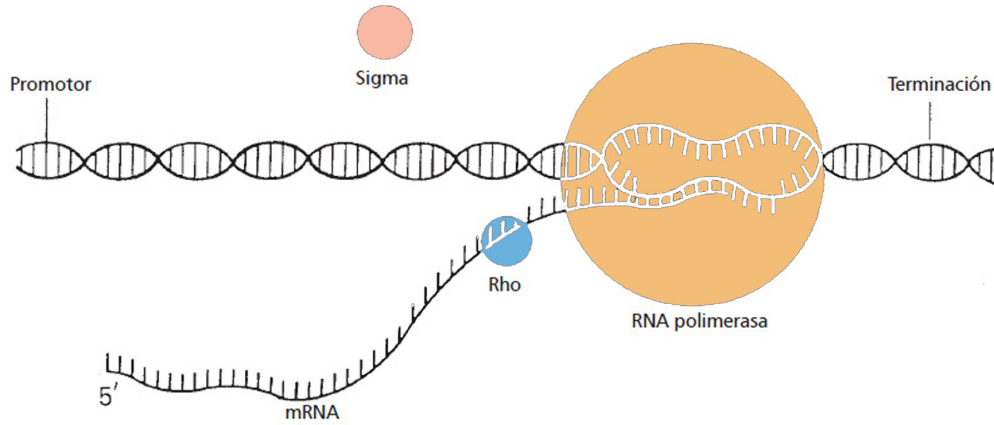


Fig. 1.4. Transcripción en procariontes

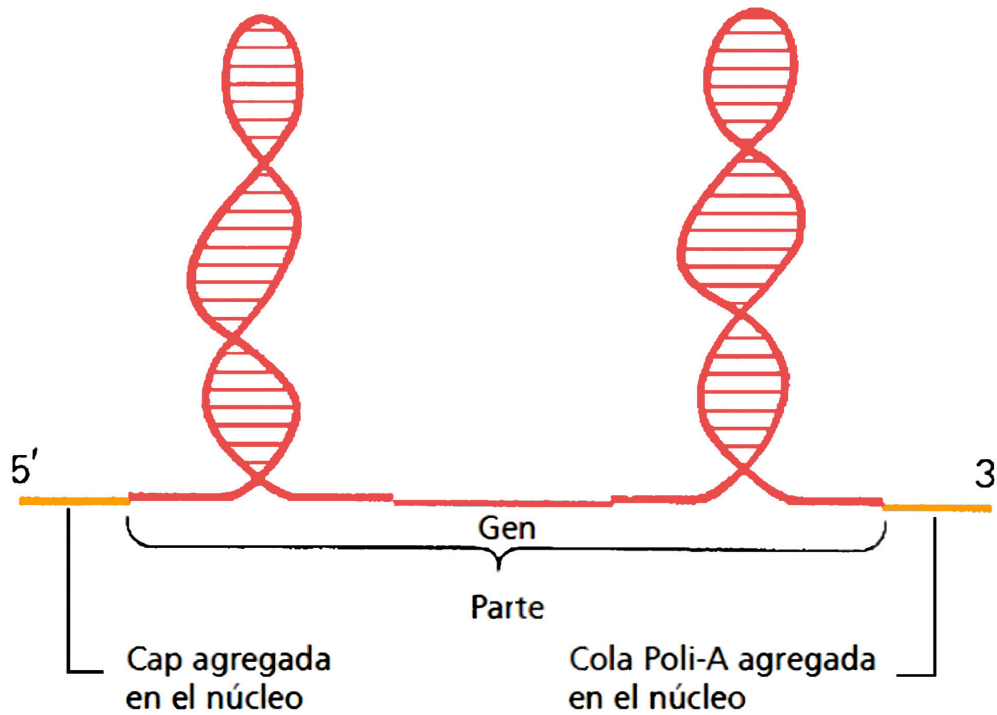


Fig. 1.5. Transcripción en eucariontes

En los procariontes los genes, por regla general, no tienen intrones. La expresión génica, transcripción y traducción del mensaje genético, se realiza con el concurso de las mismas moléculas: RNAm y RNAt y RNAr (ribosomas). Las células procariontes no contienen compartimentos celulares, por lo cual, la expresión génica se realiza en el mismo espacio – el citoplasma – y al mismo tiempo (Fig. 1.6).

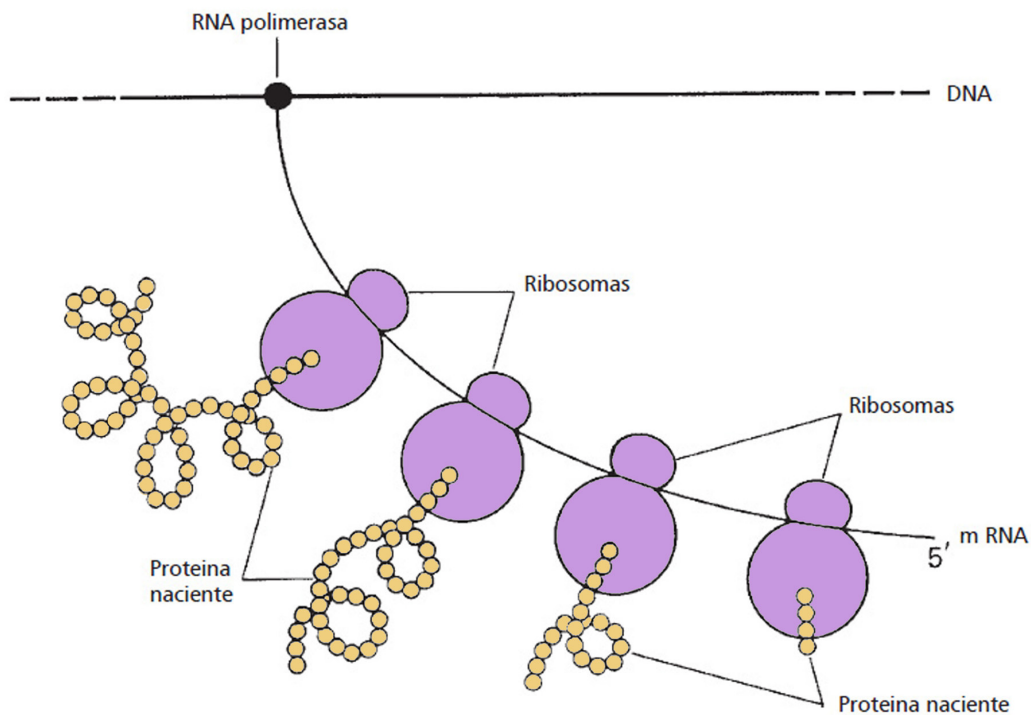


Fig. 1.6. Traducción en procariontes

En los seres vivos los genes suelen estar regulados, algunos de éstos se expresan continuamente y se conocen como *genes constitutivos* ó *domésticos*, éstos son necesarios para que la célula lleve a cabo sus funciones básicas. Otros genes se expresan en momentos particulares y bajo condiciones específicas, estos genes se conocen como *inducibles*.

Mutación

La forma alternada de un gen o *alelo* se presenta en los organismos diploides por pares: cada cromosoma porta en un lugar específico el alelo de un gen (Fig. 1.7). La constitución alélica de un organismo es su *genotipo*; las variantes alélicas producen diferencias que se manifiestan en el fenotipo. La variación genética puede deberse a que un gen se herede de forma discreta – *herencia discontinua* – o a varios genes que participan por sumación en la producción de un rasgo – *herencia continua*. Las mutaciones en el DNA pueden ser de varios tipos: sustitución de un nucleótido por otro, delección, inserción o duplicación. A nivel de las proteínas los cambios en el DNA pueden ser silenciosos o que modifiquen su composición de aminoácidos, alteran su forma y estructura, y reducen o nulifican su función. Las mutaciones en los genes y en los cromosomas ocurren en frecuencias muy bajas en las poblaciones naturales, son al azar, y son las fuentes básicas de toda variabilidad genética.

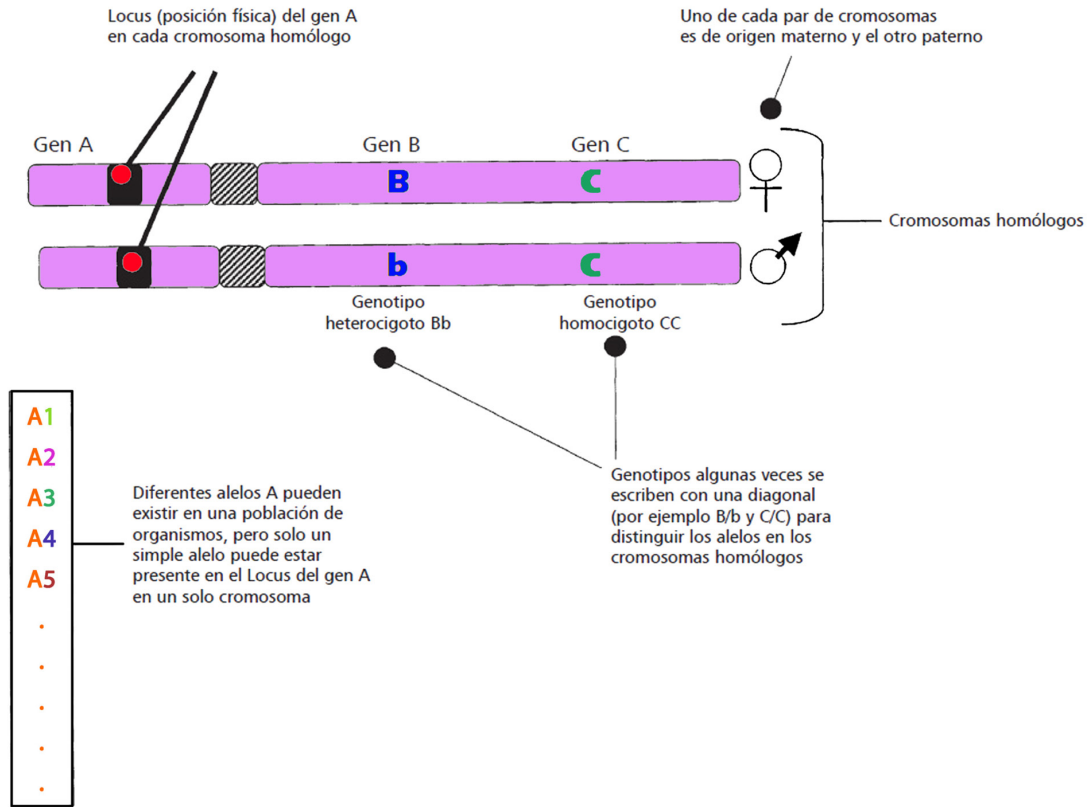


Fig. 1.7. Alelos

Evolución

Una de las generalizaciones más importantes que han resultado de la genética molecular es que los seres vivos, a pesar de ser tan diversos, comparten muchas características genéticas y bioquímicas, tales como, la información que está codificada en la secuencia de bases del DNA, la transcripción de esta información al RNA, y la traducción o síntesis de proteínas que se lleva a cabo en los ribosomas. A nivel bioquímico muchas enzimas y proteínas, algunas de ellas muy conservadas en el proceso evolutivo, son similares en cuanto a la secuencia de aminoácidos, la estructura tridimensional y las funciones que llevan a cabo en los organismo. Estas similitudes muestran que existe una unidad en la vida ya que todos los seres vivos comparten un origen común. El proceso evolutivo se lleva a cabo cuando en una población de organismos van operando

gradualmente cambios en la constitución genética en función del tiempo. Desde el punto de vista evolutivo los seres vivos no sólo comparten una unidad vital sino que también los grupos de organismos comparten un ancestro común. Así la interposición de una molécula de RNA intermedia en el flujo de la información genética del DNA o del RNA a la síntesis de proteínas es consistente con el hecho de que las formas primitivas de vida portan al RNA como molécula informacional y para la catálisis de proteínas. Las relaciones evolutivas entre las formas más importantes de vida han permitido construir un árbol filogenético con base en las similitudes en la secuencia de nucleótidos de una molécula de RNA que se encuentra en los ribosomas, de modo que se distinguen, de acuerdo a Mitchell Sogin, tres grandes reinos: *Bacteria*, *Archae* y *Eukarya* (Fig. 1.8).

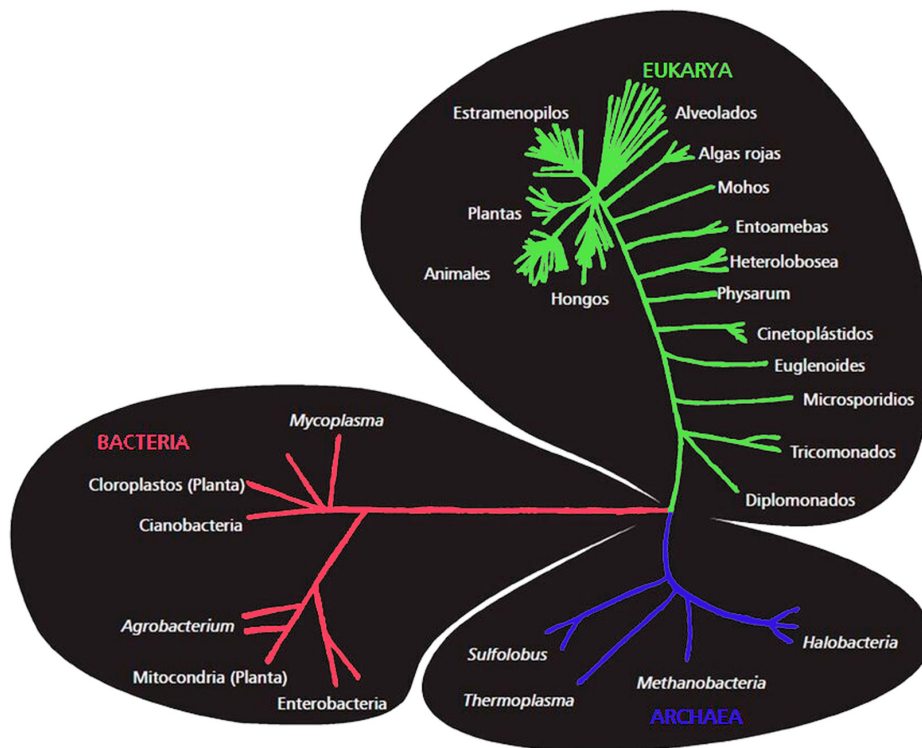


Fig. 1.8. Tres reinos (Sogin, 1991)

1. *Bacteria*. Este reino incluye a las bacterias y algas azules

(cianofíceas). Las células de estos organismos no contienen un núcleo ni mitocondrias, tienen una pared celular y se dividen por fisión binaria.

2. *Archaea*. Microorganismos que producen metano, capaces de vivir en ambientes muy extremos, tales como, agua muy caliente o con concentraciones elevadas de sales. Como las bacterias carecen de compartimentos celulares, la maquinaria para la replicación del DNA y para la transcripción es semejante a la que se presenta en los Eukarya, sin embargo, las funciones metabólicas son similares a las de las bacterias. Más de la mitad de los genes de Archaea son exclusivos de los organismos que conforman este reino.

3. *Eukarya*. Este reino incluye a todos los organismos cuyas células contienen un esqueleto interno membranoso denominado retículo endoplásmico, núcleo rodeado de una membrana y mitocondrias. Su DNA está organizado en forma de cromosomas, la división celular se lleva a cabo a través de la mitosis. El grupo incluye a seres vivos multicelulares tales como plantas, animales, hongos y también a algunos unicelulares como las amebas y los protozoarios ciliados.

Los miembros de los reinos Bacteria y Archaea corresponden, en otra nomenclatura, a los procariontes seres vivos unicelulares que carecen de compartimentos celulares, tienen un genoma haploide, el DNA es circular y desnudo. Los Eukarya agrupan a los eucariontes organismos, unicelulares o pluricelulares, cuyas células presentan membrana, citoplasma y núcleo, su genoma suele ser diploide, el DNA está siempre asociado a proteínas formando los cromosomas, estructuras en forma de varilla.

GENOMAS Y PROTEOMAS

Los métodos contemporáneos de secuenciación de genomas completos han permitido conocer la secuencia del DNA de organismos tan diversos como los virus, bacterias, arqueobacterias, hongos, plantas, animales y el ser humano. Hasta la fecha se han secuenciado alrededor de 3,500 genomas (Nucleic Acid Research 43, 2015). El tamaño del genoma se expresa en millones de pares de bases o *megabases*. El genoma de muchos de estos organismos

es muy compacto y la mayoría de los genes expresan un producto. En contraste el genoma humano, contiene grandes cantidades de DNA no codificante. Al comparar el tamaño del genoma de la mosca de la fruta con el de los seres humanos puede notarse que éste es casi 30 veces más grande pero codifica solamente para 2.5 proteínas más (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Comparación entre genomas y proteomas de diversos seres vivos (Rubin *et. al. Science* 287, 2000).

Organismo	Tamaño del genoma en Mb	Nro. De genes en el proteoma	Nro. De proteínas	Familias proteicas compartidas
<i>Haemophilus influenzae</i>	4.6	1,700	1,400	
<i>Saccaromyces cereviseae</i>	13.0	6,150	4,400	
<i>Caenorhabditis elegans</i>	100.0	18,250	9,500	<i>S. cereviseae</i> y <i>C. elegans</i> 3,000
<i>Drosophila melanogaster</i>	120.0	13,350	8,000	<i>C. elegans</i> y <i>D. melanogaster</i> 5,000
<i>Homo sapiens</i>	3,200.0	32,000	10,000	<i>D. melanogaster</i> y <i>H. sapiens</i> 7,000

Al conjunto de proteínas que puede codificar un genoma se le conoce como *proteoma*. En los seres vivos menos complejos el proteoma suele corresponder con el número de genes. En otros seres vivos más complejos, como los seres humanos, algunos genes

codifican para la producción de dos o más proteínas, proceso que se lleva a cabo mediante el empalme alternativo en el cual segmentos de un transcrito de RNA puede unirse en diferentes combinaciones generando una variedad de RNA mensajeros. Se ha calculado que al menos un tercio de los genes humanos sufren empalme alternativo generando de 2 a 7 RNAs mensajeros distintos. Por lo que si el número de genes en el genoma humano es de 25,000 mediante el empalme alternativo se pueden producir entre 50,000 y 75,000 proteínas diferentes.

En la mayoría de los eucariontes las familias de proteínas relacionadas pueden agruparse con base en la similitud en la secuencia de los aminoácidos. El origen de estas familias proteicas se debe a que durante el proceso evolutivo un gen ancestral se duplicó y a través del tiempo se produjeron cambios en la secuencia que dieron origen a una nueva función relacionada con la primera, de modo que, la nueva proteína retiene la suficiente similitud en la secuencia de aminoácidos como para relacionarla con la secuencia ancestral. Así los genes y proteínas que derivan de una secuencia común a través de la duplicación y que realizan funciones relacionadas se conocen como *parálogos*. Los genes *ortólogos* son aquellos que realizan la misma función y que se originaron por un proceso de especiación. Los genes homólogos derivan entonces de un ancestro común, la diferencia en cuanto a los tipos de homología (genes parálogos y genes ortólogos) se refiere a la naturaleza del evento mediante el cual comparten el ancestro común: duplicación (parálogos) y especiación (ortólogos).

2. MECANISMOS DE LA DIVISIÓN CELULAR. MITOSIS Y MEIOSIS

La importancia del núcleo de las células y de su contenido fue sugerido en 1840 por el naturalista Carl Nägeli quien observó que en las células en división el núcleo se divide primero. Para 1870 se estableció que la división del núcleo es un requisito indispensable para la división celular, hecho que fue reforzado cuando Oskar Hertwig (1875) observó el ingreso de un sólo espermatozoide a un óvulo durante la fecundación, es decir, la unión de dos núcleos en la fertilización. Otro hecho importante ocurrió cuando el biólogo alemán Walter Flemming (1879) usando colorantes básicos pudo notar que éstos eran absorbidos de manera diferencial por algunas partes de la célula. En particular, observó que algunos colorantes eran absorbidos preferentemente por un material que se encuentra en el núcleo al que denominó cromatina (del vocablo cromos = color). Observó también diferentes estadios del ciclo de vida celular, pudo notar que la cromatina se arreglaba en cuerpos fibrilares, que la membrana nuclear desaparecía, que aparecía una estructura como un sol, a la que denominó áster, y que ésta se dividía en dos dirigiéndose cada una a polos opuestos de la célula. Observó como la cromatina se condensaba para formar cuerpos coloreados, a los que denominó cromosomas, que luego migraban en partes iguales a los extremos de la célula a través de unas fibras que salían del áster. Posteriormente cada célula se dividía en dos quedando formadas al final del proceso dos células cada una con un complemento cromosómico igual. Se había descubierto la mitosis.

CICLO CELULAR

En los organismos diploides el ciclo de vida de las células somáticas se conoce como ciclo celular, comprende dos fases: la interfase y la división celular. Durante la interfase los cromosomas no son visibles al microscopio ya que se encuentran desespiralizados, mientras que durante la división celular los cromosomas ya compactados pueden observarse al microscopio. En la interfase el material genético se replica en la fase de síntesis (S) la cual es precedida por una fase denominada G1 (del vocablo inglés gap =

hueco, intervalo) y seguida de otra fase llamada G2. La fase G1 es el periodo de 6 a 12 horas que sigue a una división celular, la célula dobla su tamaño y masa debido a la continua síntesis de todos sus componentes como resultado de la expresión de los genes que codifican a las proteínas responsables de su fenotipo particular. La fase S (de síntesis del DNA) corresponde al tiempo (6-8 h) durante el cual se replica el DNA. Cada cromosoma pasa a tener dos cromátidas, es decir, dos moléculas de DNA de cadena doble, que son copia una de la otra. El período comprendido entre la finalización de la replicación del DNA y el inicio de la división es la fase G2 (3-4 h). Durante ella, las células se preparan para la escisión en dos células hijas y sintetizan todas las enzimas que intervienen en la división celular. La mitosis (M) corresponde a la división celular propiamente dicha. El tiempo que dura el ciclo celular depende de la estirpe celular. Entre los eucariontes la mayoría de las células completan un ciclo celular en alrededor de 24 horas. Casi todas las células somáticas pasan por este ciclo de vida, sin embargo, algunas, las más especializadas permanecen en una etapa previa a G1 denominada fase G0, en la cual paran su progresión hacia la división celular. En este estadio pueden permanecer días, meses o años. La duración de cada una de las fases del ciclo celular se muestra en la Fig. 2.1.

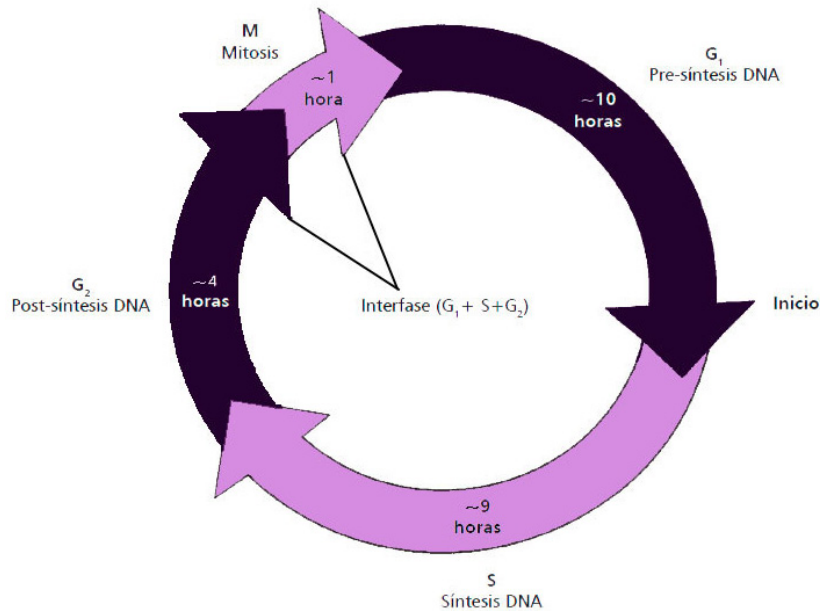


Fig. 2.1. Ciclo celular

MITOSIS

La división celular o mitosis se divide para su estudio en profase, metafase, anafase y telofase. Durante la interfase los núcleos de las células muestran una apariencia granular y difusa, los cromosomas están completamente desespiralizados, puede observarse en esta fase uno o más cuerpos oscuros denominados nucleolos. Las células diploides tienen un contenido de material genético igual a 2, son entonces $2n\ 2c$. En la fase S los cromosomas se replican, las cromátidas recién sintetizadas permanecen unidas al centrómero, de modo que la célula al término de esta fase es $2n\ 4c$. En la fase G₂, como parte de la preparación de la célula a la división celular, el organizador de los microtúbulos o centrosoma se divide en dos, y los dos productos migran hacia los polos del núcleo.

La fase M inicia con la profase en la cual los cromosomas replicados se condensan, los nucleolos y la membrana nuclear desaparecen al término de esta fase. La metafase empieza cuando aparece el huso acromático, estructura bipolar microfibrilar que se forma a expensas de los centrosomas. Cada cromosoma se une a

través del centrómero a las fibras del huso acromático, esta estructura se conoce como cinetocoro. Todos los cromosomas se alinean en la parte media del huso generándose una estructura que se conoce como placa ecuatorial, en este momento los cromosomas alcanzan su máximo grado de condensación. En la anafase los centrómeros se dividen longitudinalmente, las dos cromátidas hermanas empiezan a moverse hacia los polos opuestos del huso. Movimiento que resulta, al menos en parte, por el acortamiento progresivo de las fibras del huso que empuja a los cromosomas a los polos opuestos. Al término de la anafase cada grupo tendrá el mismo número de cromosomas y el mismo contenido de material genético que el núcleo que le dio origen ($2n2c$). Durante la telofase la membrana nuclear se forma alrededor de cada grupo de cromosomas, aparece el nucleolo y el huso acromático desaparece. Los cromosomas empiezan a descondensarse hasta que ya no son visibles como unidades discretas. Las dos células hijas que resultan de la división aparecen ya con una imagen típica de una célula en interfase (Fig. 2.2). El proceso mitótico suele durar menos de una hora en las células que se dividen continuamente.

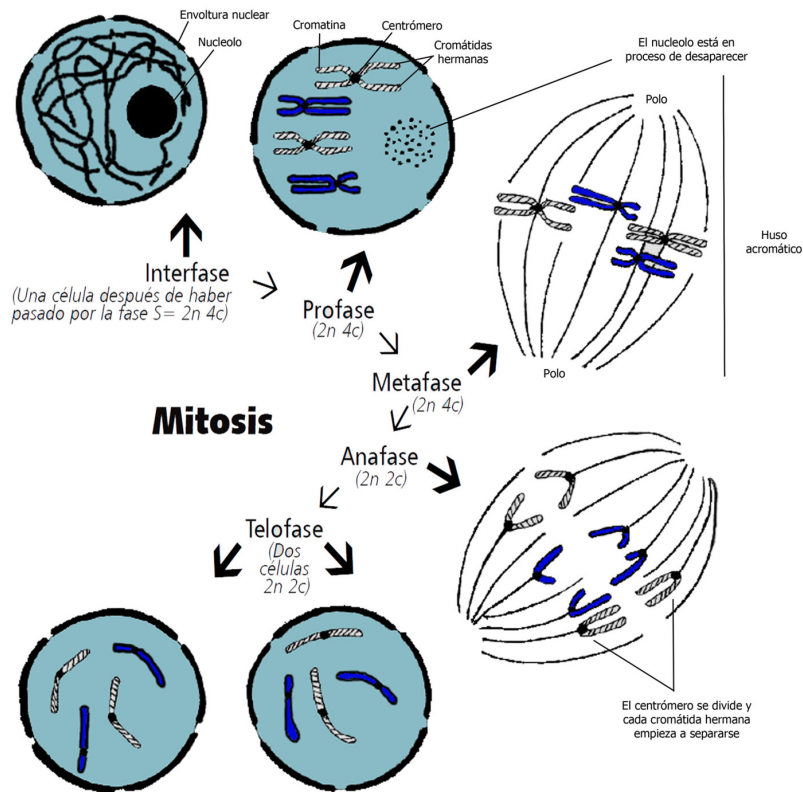


Fig. 2.2. Mitosis

Significado de la Mitosis

La mitosis es una división ecuacional, las dos células hijas que resultan del proceso son idénticas entre sí, como lo son a la célula progenitora que les dio origen. Durante la mitosis no hay apareamiento de homólogos, ni intercambios genéticos, por lo cual se asume que este tipo de división celular es esencialmente conservativo.

MEIOSIS

La meiosis es un tipo de división celular más compleja, es además un proceso que puede requerir días inclusive semanas, se presenta en las células germinales de los eucariontes. La meiosis consiste de dos divisiones nucleares sucesivas y una sola replicación del material genético. Como resultado de la meiosis se forman cuatro células

haploides con un solo contenido de material genético (n c).

La primera división meiótica o meiosis I se conoce también como la fase reduccional ya que el número cromosómico se reduce a la mitad. Por analogía con la mitosis las fases de la meiosis I se denominan profase I, metafase I, anafase I y telofase I. La profase I es el estadio más largo, puede durar varios días en la mayoría de los eucariontes superiores. Esta fase consta de varias subfases: leptóteno, cigóteno, paquíteno, diplóteno y diacinesis. En el leptóteno los cromosomas empiezan a hacerse visibles, se observan como estructuras filamentosas, los pares de cromátidas empiezan a aparearse, se observan también numerosos gránulos, denominados cromómeros, cuyo número, tamaño y posición es característica de cada cromosoma. El cigóteno se caracteriza por el apareamiento de las cromátidas hermanas de los cromosomas homólogos, estos apareamientos o sinapsis empiezan en los extremos de los cromosomas y a medida que se van realizando los cromómeros se asocian de forma muy precisa. Cada par de cromosomas en proceso de sinapsis se conoce como bivalente. En el paquíteno ocurre el evento más importante de la profase I el intercambio de la información genética o recombinación homóloga. La evidencia física de este evento se conoce como intercambio ("crossing-over") el cual es sólo evidente hasta que inicia la siguiente fase. En el diplóteno los cromosomas empiezan a separarse, sin embargo, todavía permanecen unidos a través de los quiasmas que se formaron como resultado del intercambio físico entre las cromátidas de los cromosomas homólogos. Es en esta fase en la que queda detenida la meiosis I en los seres humanos hasta la adolescencia. En la diacinesis los cromosomas empiezan a separarse, los bivalentes retienen al menos un quiasma hasta el inicio de la anafase, la membrana nuclear empieza a desaparecer e inicia la formación del huso acromático (Fig. 2.3)

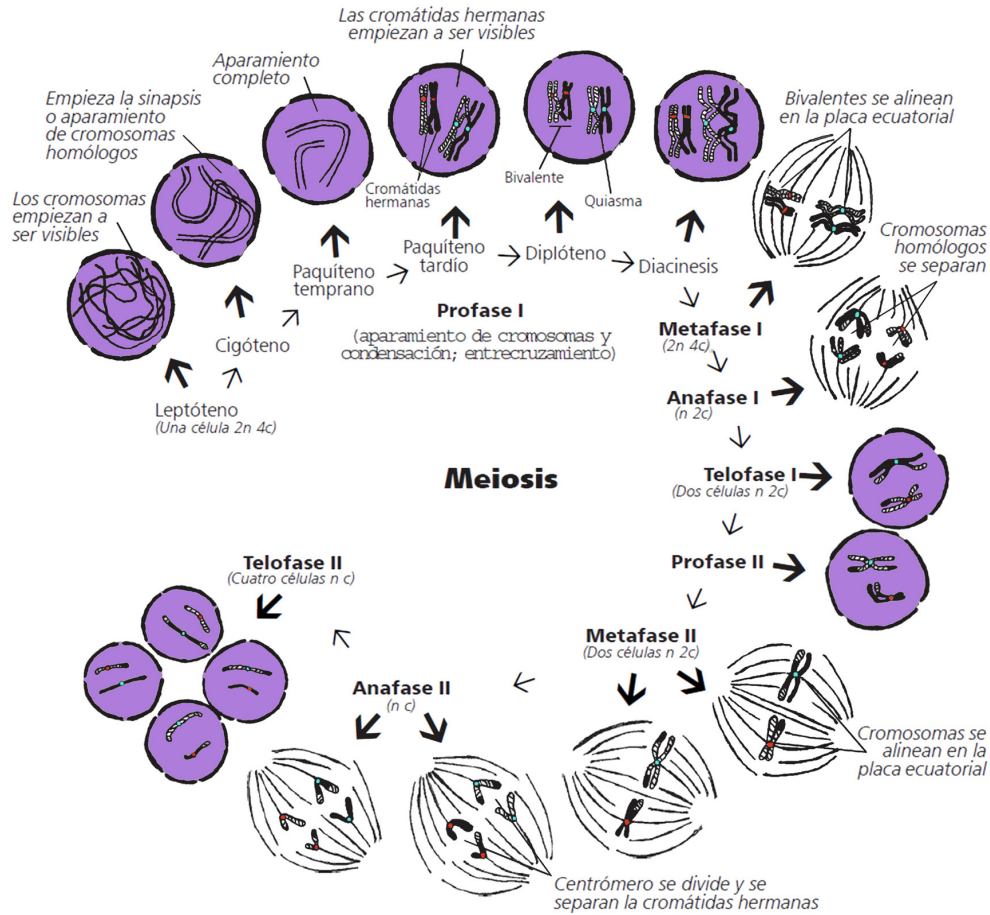


Fig. 2.3. Meiosis

En la metafase I los bivalentes se van colocando para formar la placa ecuatorial, los centrómeros de los dos cromosomas homólogos se encuentran en los lados opuestos de la placa. La orientación del centrómero es un proceso que se lleva a cabo al azar, determina cuál miembro de cada bivalente se va a mover a un polo. La demostración experimental de este mecanismo en 1913 apoyó la idea de que los cromosomas son las estructuras celulares que contienen el material genético.

En la anafase I los cromosomas homólogos cuyas cromátidas están unidas al centrómero se separan y mueven a los polos opuestos de la célula, de ahí el nombre de fase reduccional.

En la telofase I las dos células hijas tienen un complemento

haploide de cromosomas, aun cuando, su contenido es de 2, es decir, las células son $n = 2c$. El huso acromático desaparece y, dependiendo de la especie, puede formarse una membrana nuclear que rodea a cada célula, o bien, inicia la segunda división meiótica. En cualquier caso nunca ocurre una replicación entre las dos divisiones meióticas.

La segunda división meiótica o meiosis II se denomina división ecuacional. En la profase II se forma el huso acromático, en la metafase II los cromosomas se alinean en placa ecuatorial; al inicio de la anafase II, los centrómeros se dividen longitudinalmente, las cromátidas de cada cromosoma se mueven a los polos opuestos del huso. En la telofase II se forma la membrana nuclear y el citoplasma se divide quedando formadas 4 células cada una $n = c$ (Fig. 2.3). La segunda división meiótica es muy parecida a una mitosis.

Significado de la Meiosis

Las consecuencias más importantes de la reproducción sexual son la segregación (propiedad de los alelos de un locus) y la recombinación (relación entre alelos de diferentes locus). La meiosis I es una división reduccional ya que el núcleo resultante contiene la mitad de los cromosomas y de los centrómeros que contenía la célula progenitora, en esta etapa se ha llevado a cabo el intercambio genético y por lo tanto los productos pueden diferir en cuanto al contenido genético. La recombinación entre cromátidas, que se lleva a cabo en la profase I, contribuye a generar una gran variabilidad genética, los intercambios se llevan a cabo, de una meiosis a otra, en puntos diferentes a lo largo del cromosoma, por lo que es muy difícil que se repita el mismo patrón de intercambios. En la metafase I los cromosomas, de origen paterno y materno, tienen la misma probabilidad de migrar a uno u otro lado de la placa ecuatorial. El número de combinaciones posibles de cromosomas es muy grande cuando el número de cromosomas de una especie también es grande, por lo que la probabilidad de que los gametos tengan cromosomas con la información genética de un solo progenitor es muy pequeña. La meiosis II es una división ecuacional lo que implica la división de los centrómeros.

REGULACIÓN DEL CICLO CELULAR

En las células de todos los eucariontes el ciclo celular está regulado a través de diversos complejos proteicos. En la fase G1 existe un punto de control o retén llamado el punto de restricción R en el que la célula comprueba que ha generado la masa necesaria para seguir adelante y comenzar la síntesis de DNA y, también, que las condiciones ambientales sean favorables: presencia de nutrientes, sales y temperatura adecuadas; y de factores que induzcan crecimiento. Es el punto de control más importante.

En la fase G2 existe un segundo punto de control o retén G2 / M, en el que la célula debe comprobar dos condiciones antes de dividirse: que ha duplicado la masa de modo que puede dar lugar a dos células hijas, y que ha completado la replicación del DNA, y sólo lo ha hecho una vez. Finalmente, las células entran en la fase de mitosis M (1 h) propiamente dicha. Los cromosomas se condensan enormemente haciéndose visibles al microscopio óptico como entidades individuales, y los microtúbulos se organizan a partir de dos cuerpos polares que se sitúan en ambos extremos de la célula y forman el huso acromático que va a servir como guía a los cromosomas.

En este momento existe otro punto de control, el retén M (Metafase), que sólo permite seguir adelante si todos los cromosomas están alineados sobre el huso. Si esto es así, las cromátidas hermanas se separan yendo cada una hacia un polo de la célula (anafase). Cuando llegan a los extremos (telofase), la célula comienza a escindirse (citocinesis) por la zona media dando lugar a dos células hijas. La membrana nuclear vuelve a formarse y los cromosomas a descondensarse, originándose dos células hijas idénticas en principio a la progenitora (Fig. 2.4).

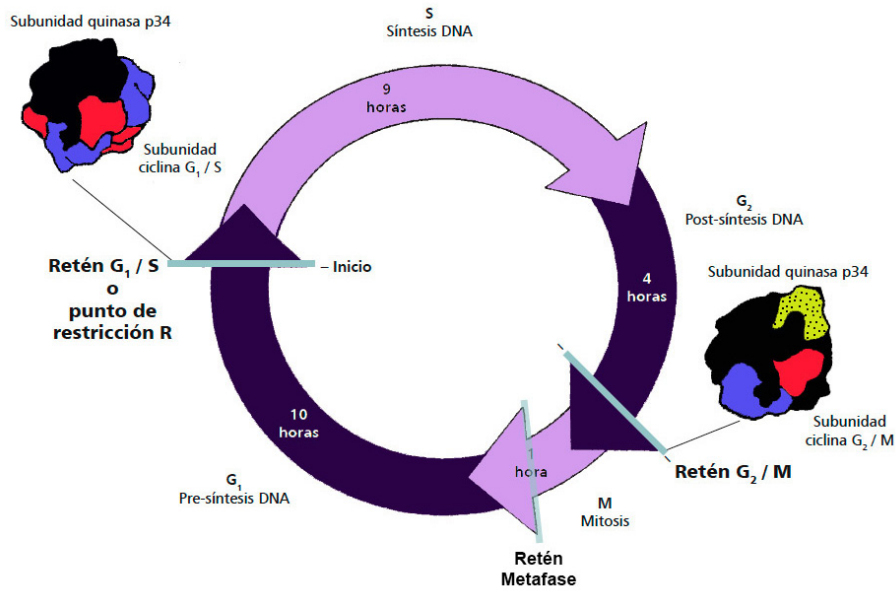


Fig. 2.4. Retenes del ciclo celular

La regulación genética del ciclo celular se lleva a cabo desde los estadios tempranos, la progresión de una fase a la otra está controlada por complejos proteicos característicos formados por varias subunidades de ciclinas y por quinasas dependientes de ciclinas (Cdk). Las quinasas son proteínas que agregan grupos fosfato a los grupos hidroxilo presentes en varios aminoácidos como la tirosina, la serina y la treonina. Las ciclinas, denominadas así porque su abundancia cambia dependiendo de la etapa del ciclo celular, se unen a las quinasas formándose un complejo ciclina-Cdk que fosforila al sustrato (aminoácido). Una vez que la proteína es fosforilada el complejo se separa. Otra ruta de regulación del ciclo celular es la desfosforilación de las proteínas proceso que es mediado por las enzimas fosfatasas. Diversas ciclinas se encuentran en etapas específicas del ciclo celular, su traducción está ligada al ciclo celular y depende de la ciclina que se expresó previamente. La presencia en la célula de cada complejo activo ciclina-Cdk resulta en la activación de un factor de transcripción que promueve la transcripción del gen que codifica para la ciclina que se requiere en la siguiente fase del ciclo celular. La desaparición de las ciclinas depende de varios eventos, tales como, una rápida inactivación en la

transcripción de un gen que codifica para una ciclina; un nivel alto de inestabilidad del mensajero o de la proteína misma. La ciclina desaparece cuando el gen ya no se transcribe y el mRNA y las proteínas se degradan en la célula.

El paso de G₀ a G₁ es mediado por los complejos Cdk4-ciclina D y Cdk6-ciclina D1 que estimulan a diversos factores de crecimiento e inician la vía de transducción de señales que regula la transcripción de D1 cuyo sustrato es la proteína del retinoblastoma (RB). Esta proteína está asociada con la producción de tumores en la retina de los seres humanos, a la que volveremos en el capítulo de biología molecular del cáncer. Las ciclinas D y D1 dependientes de las quinasas Cdk4 y Cdk6 inician la fosforilación de RB a la mitad de la fase G₁, proceso que termina cuando se expresa la ciclina E. Al final de la etapa G₁ el complejo Cdk2-ciclina fosforila los sustratos específicos que transcriben los genes que codifican para las histonas y otros genes cuyos productos se emplean en la síntesis del DNA. Una segunda fosforilación inactiva a RB y libera al factor de transcripción E2F. Este es el retén o punto de restricción R (Fig. 2.5). En la transición G₁ / S se expresa la ciclina A que forma un complejo con Cdk2 (Cdk2-A) que es necesario para que inicie la replicación del DNA. Cuando la célula ya está en la etapa de síntesis el complejo Cdk2-A fosforila a E2F e inhibe su unión al DNA por lo que inactiva su función como factor de transcripción. La actividad del complejo Cdk2-A se requiere durante toda la fase S ya que además mantiene fuertemente fosforilada a la proteína RB. La transición entre G₂ / M está mediada por la ciclina B que forma un complejo con Cdk1 que promueve la mitosis. Este complejo fosforila proteínas estructurales.

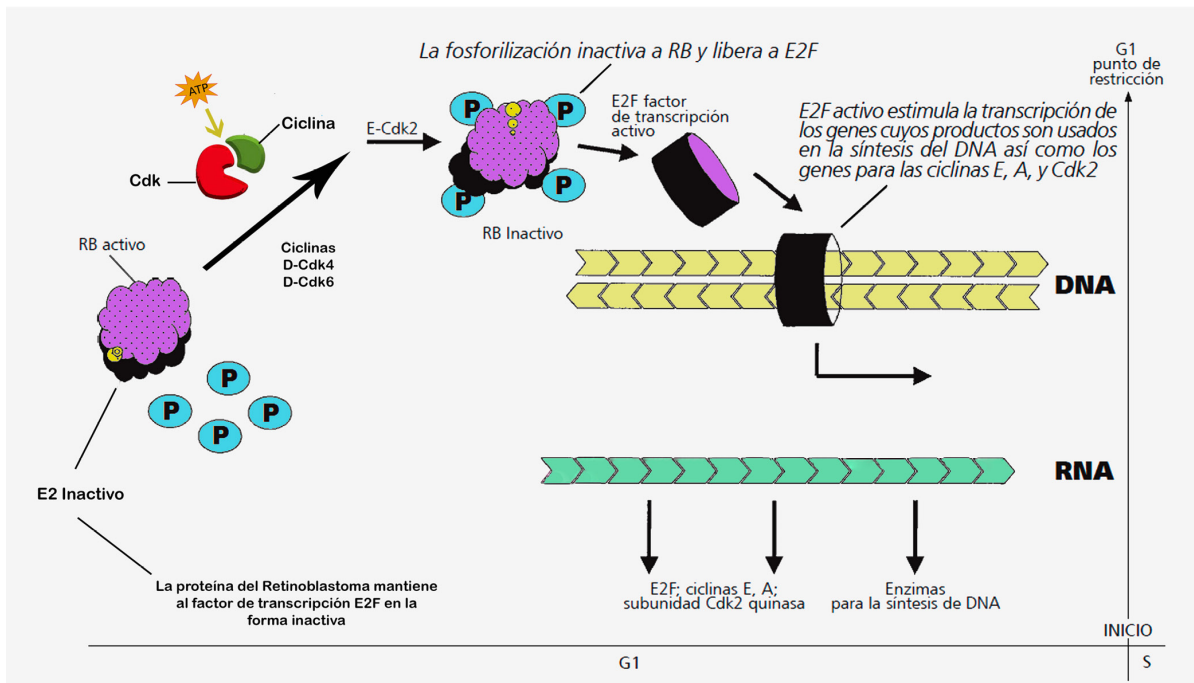


Fig. 2.5. Complejos proteicos que actúan en el punto de restricción R

La existencia de puntos de control o retenes del ciclo celular es clave. Permiten que todo el proceso tenga lugar cuando la célula está correctamente preparada mediante una triple comprobación de que las condiciones necesarias para iniciar una nueva fase se han dado. Sirven de retenes o frenos durante el ciclo, asegurando que una fase no se inicie antes de que la anterior haya terminado, y permiten el control del ciclo por señales externas. Existen muchas células diferenciadas en el organismo que sólo sintetizan las proteínas que necesitan para mantener su actividad, sin crecer ni dividirse a pesar de que las condiciones externas sean favorables. Por otra parte, si las células crecieran en tamaño o masa más deprisa o más despacio de lo que se dividen se harían cada vez más grandes o más pequeñas respectivamente, cuando en realidad las células mantienen su tamaño durante generaciones. Todo ello indica que existe un control fino del metabolismo celular para adecuar el crecimiento con la división celular.

CICLOS DE VIDA EN DIFERENTES EUKARIONTES

Entre los eucariontes existen diversos ciclos de vida y tipos de reproducción sexual: diplonte, haplonte y haplo-diplonte. La mayoría de las plantas tienen ciclos de vida muy complejos que incluyen dos estadios o generaciones diferentes: el esporofito es diploide y produce esporas haploides a través de la meiosis y el gametofito que es haploide genera gametos haploides mediante mitosis. Este ciclo de vida se conoce como alternancia de generaciones. Sin embargo el proceso en plantas y animales es básicamente el mismo, ya que la meiosis conduce a la reducción del número cromosómico y a la producción de células haploides. Entre las plantas fanerógamas, las angiospermas o plantas con flores, ya sean hermafroditas; monoicas, plantas con flores masculinas y femeninas que coexisten en la misma planta; o dioicas, plantas femenina y masculina, el esporofito es la parte vegetativa de la planta mientras que el gametofito que contiene esporas haploides por mitosis genera los gametos masculino y femenino. En las fanerógramas y los animales el ciclo de vida se denomina diplonte ya que los organismos están formados por células somáticas diploides y células germinales haploides. Éstas últimas se forman a partir de células diploides que mediante la meiosis forman gametos, óvulos y espermatozoides haploides, que a través de la fecundación forman un cigoto diploide a partir del cual y por mitosis se genera el individuo. El ciclo haploide es característico de los hongos ascomicetos, seres vivos unicelulares que son haploides y se reproducen de forma vegetativa mediante conidiosporas. Eventualmente en estos seres vivos se forman ascosporas que pueden fusionarse generándose un cigoto diploide el cual sufre un proceso de recombinación meiótica al término del cual se forman cuatro células haploides denominadas ascosporas. El ciclo de vida haplo-diplonte es característico de briofitas y pteridofitas en estas plantas coexiste un talo gametofito haploide que es la fase visible del ciclo de vida y un talo esporofito que es la fase diploide multicelular que produce por meiosis esporas haploides.

3. GENÉTICA MENDELIANA

La domesticación de los animales y la selección de plantas con caracteres deseables es una práctica muy antigua, se basa en el hecho de que los rasgos se transmiten de una generación a la otra con cierta predictibilidad. El estudio de los patrones que gobiernan la herencia de los caracteres generación tras generación se conoce como genética de la transmisión o herencia mendeliana, la que se debe a Juan Gregorio Mendel quién descubrió, en 1865, las reglas que gobiernan la transmisión de los caracteres hereditarios discretos. Mendel, hijo de un agricultor, nació en 1822 en Heinzendorf, entonces parte del imperio austro-húngaro hoy estado Checo. Fue maestro de física y de historia natural en la secundaria, ingresó como monje al distinguido monasterio de Santo Tomás en Brünn (hoy Brno, república Checa) donde hizo sus experimentos sobre la hibridación en plantas de chícharo en el huerto aledaño al monasterio. Leyó su trabajo en la Sociedad de Historia Natural de Brünn en 1865, en dos sesiones realizadas en febrero y marzo de ese año, después de las cuales no hubo ninguna pregunta. Poco antes de su muerte (en 1884) Mendel dijo a uno de los jóvenes monjes “Mi trabajo científico me ha dado muchas satisfacciones, estoy convencido que serán apreciados mucho después de mi muerte”. Esta predicción se cumplió 16 años después cuando en 1900 sus trabajos fueron redescubiertos simultánea e independientemente por el alemán Carl Correns, el holandés Hugo de Vries y el austríaco Erick von Tschermak.

De la misma manera que Charles Darwin quien fue su contemporáneo, pero a quién nunca conoció, Mendel propuso una teoría científica, en lugar de las fuerzas místicas que entonces se creía dirigían el mundo natural y a sus habitantes. Se demostró años después, que los mecanismos propuestos por Mendel para explicar la herencia y la variación se adaptan de forma precisa a los conceptos de evolución y selección natural propuestos por Darwin en 1859. Tanto Mendel como Darwin cambiaron profundamente nuestras ideas sobre nuestro lugar en el mundo natural y sobre nuestras relaciones con el mundo de los seres vivos. Estos dos gigantes del siglo XIX sentaron los fundamentos teóricos y las explicaciones para entender los mecanismos naturales que gobiernan los cambios

evolutivos en los sistemas biológicos.

Hubo por lo menos cuatro razones por las cuales el trabajo de Mendel no fue comprendido y permaneció en la oscuridad durante 35 años: (1) antes de los experimentos de Mendel los naturalistas trataban de encontrar una explicación sobre la transmisión de las características que pueden ser medidas (variación continua), como la altura, el peso, la longevidad, el tamaño del cráneo. Mendel trabajó con algunas características que se heredan de forma discreta y constante (variación discontinua) tales como la forma de la semilla, el color del cotiledón y la posición de las flores, entre otras (2) no se conocía ningún elemento químico (como los genes) al cual asignar dichas características. (3) Mendel, en lugar de trabajar de forma descriptiva como lo hacían los naturalistas de la época, realizó diversas cruzas, contó las progenies y convirtió esos datos en proporciones de clases observadas, es decir, trabajó con herramientas matemáticas. (4) No se había descrito el fenómeno de la división celular (mitosis).

El nombre de Mendel se asocia al de los chícharos (*Pisum sativum*) planta con la que realizó sus experimentos por varias razones fundamentales: podía adquirir las semillas fácilmente a través de los campesinos de la comarca; las características de las semillas y de las plantas eran fácilmente identificables y analizables; las plantas pueden autofecundarse o bien el experimentador puede realizar fertilizaciones cruzadas de manera sencilla. Mendel escogió sus organismos experimentales con mucho cuidado, usó aproximaciones sistemáticas para diseñar y realizar sus experimentos, seleccionó caracteres simples que mostraron claramente ser diferentes y con formas alternativas; se concentró en una característica por experimento; llevó registros precisos de cada experimento; contó los diferentes tipos de individuos producidos en cada crusa experimental y durante varias generaciones, por lo tanto pudo cuantificar precisamente la información obtenida; construyó la historia de la transmisión de la característica en cada grupo de plantas durante varias generaciones. Mendel elaboró un modelo matemático, que deriva del binomio de Newton, representando con mayúsculas a los caracteres dominantes y con minúsculas a los recesivos, además empleó la teoría combinatoria que derivó años

después en la estadística con la cual esta disciplina pasa a formar un papel esencial en la biología. A pesar de que en esa época no se sabía nada acerca del DNA y de los cromosomas, Mendel se dio cuenta de que cada progenitor contribuye con un número de elementos individuales a la herencia del carácter. Estos elementos llamados por Mendel “factores” son, en términos modernos, los genes. Además Mendel se dio cuenta de que los factores permanecen sin cambio generación tras generación.

CRUZA MONOHÍBRIDA

Mendel realizó sus primeros experimentos con base en la herencia de un solo carácter, lo que se denomina craza monohíbrida. La craza monohíbrida se realiza cuando se cruzan individuos de dos variedades, cada una de las cuales muestra una de las formas alternativas del carácter bajo estudio. A la craza progenitora se le denomina P, a la progenie resultante se le denomina primera generación filial o F_1 , y a los individuos que resultan de la autofertilización de la F_1 se les denomina segunda generación filial o F_2 . De esta forma se puede continuar con las generaciones sucesivas si fuera el caso.



La primera craza monohíbrida que Mendel realizó involucró a la característica altura del tallo, con las formas alternadas de plantas con tallo alto y plantas con tallo enano, características que se mantienen generación tras generación, si las plantas se autofecundan. Así que la craza progenitora la realizó entre plantas altas por enanas, para lo cual emasculó a una planta enana y colocó en su estigma el polen proveniente de una planta alta, es decir, realizó una fertilización cruzada. En la F_1 obtuvo solamente plantas altas. Luego dejó que las plantas de la primera generación se auto fertilizaran obteniendo en la F_2 entre 1,064 plantas, 787 altas y 277 enanas, una proporción cercana a 3:1 (Fig. 3.1).



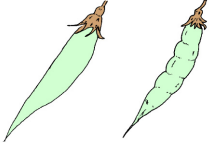
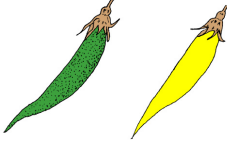

P Alta x enana
 F_1 Alta
 P_2 (F_1 x F_1) Alta x Alta
 F_2 3 Alta : 1 enana

Fig. 3.1. Cruza monohíbrida

Mendel eligió siete características que mostraban dos formas alternativas y mutuamente excluyentes. Hizo los cruzamientos entre plantas del chícharo que presentaban cada una de las características obteniendo, en cada caso, resultados similares a los antes descritos. Todos los descendientes de la F_1 fueron idénticos a uno de los progenitores, mientras que en la F_2 obtenía una proporción cercana a 3:1 (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Los siete caracteres estudiados por Mendel en el chícharo y los resultados obtenidos de las cruza monohíbridas.

Carácter	Cruza entre plantas con caracteres alternativos	Apariencia de la primera generación	Nro. de plantas observadas en la segunda generación	Proporciones F_2 calculadas
Altura del tallo	Alta x enana 	Alta	787 altas: 277 enanas	2.84: 1
Forma de la semilla	Redonda x arrugada 	Redonda	5474 redonda: 1850 arrugada	2.96: 1
Color del cotiledón	Amarillo x verde	Amarillo	6022 amarillo: 2001 verde	3.01: 1

				
Color de la envoltura de la semilla	Gris x blanco 	Gris	705 gris: 224 blanco	3.15: 1
Apariencia de la vaina	Inflada x constreñida 	Inflada	882 inflada: 299 constreñida	2.95: 1
Color de la vaina	Verde x amarilla 	Verde	428 verde: 152 amarilla	2.85: 1
Posición de las flores	Axial x terminal 	Axial	651 axial: 207 terminal	2.84: 1

Mendel encontró en las cruzas monohíbridas resultados similares en la F_1 y en la F_2 independientemente de cuál progenitor (P) hubiera dado origen al polen o al óvulo. Es decir, en las cruzas recíprocas los resultados siempre eran parecidos y no dependían del progenitor,

masculino o femenino.

Mendel propuso la existencia de factores discretos para cada carácter, sugirió que estos factores eran la base de la herencia, que se transmitían sin cambios, generación tras generación, determinando los distintos rasgos o caracteres que se presentan en una planta. Además Mendel dedujo, de los resultados de la cruce monohíbrida, que los caracteres están controlados por unidades discretas o factores que se encuentran por pares en cada organismo; que cuando dos factores distintos responsables de un solo carácter se encuentran en un individuo, uno de los factores domina (carácter dominante) sobre el otro que se denomina recesivo (carácter recesivo); durante la formación de los gametos los factores se separan o segregan al azar, de modo que cada gameto recibe a uno u a otro con la misma probabilidad.

En el ejemplo anterior, las plantas progenitoras altas portan un par de factores idénticos (AA), de la misma forma que las plantas progenitoras enanas portan un par de factores iguales (aa). Todos los gametos de las plantas progenitoras altas portan un factor alto (A), mientras que todos los gametos de las plantas enanas producen gametos con un factor enano (a). Una vez realizada la fecundación todas las plantas de la F_1 reciben un factor alto (A) de un progenitor y uno enano (a) del otro progenitor restituyéndose la condición par (diploide). Dado que alto es dominante sobre enano, las plantas F_1 serán altas. Cuando las plantas de esta generación (Aa) forman sus gametos, el principio de segregación señala que cada gameto recibirá al azar y con la misma probabilidad ya sea el factor alto ó el factor enano (Fig.3.2).

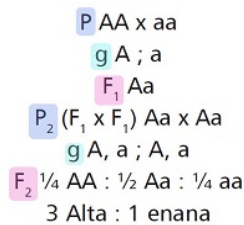


Fig. 3.2. Cruza entre plantas progenitoras dominantes por recesivas

Las deducciones que derivan de las cruzas monohíbridas son (1) cada planta porta dos factores (genes) que codifican para un carácter. (2) Cada alelo o miembro de un par de genes se separan o segregan uno de otro durante la formación de los gametos, de modo que la mitad de los gametos porta un miembro del par y la otra mitad de los gametos porta al otro miembro del par. (3) El rasgo o carácter que aparece sin cambios en la primera generación es el dominante. (4) Los alelos se segregan o separan con una probabilidad igual. Este concepto de segregación igual se denomina **Primera Ley de Mendel o Ley de la segregación de caracteres**.

TERMINOLOGÍA

Para ilustrar los resultados obtenidos por Mendel de la cruce monohíbrida tenemos que introducir algunos términos así como los símbolos con los que se denotan los factores.

Al rasgo distintivo o característica que se observa a simple vista (altura, color, textura) se le denomina fenotipo. El fenotipo también puede no ser visible a simple vista por lo que puede detectarse mediante pruebas específicas que lo identifiquen (cociente respiratorio, proteínas del suero, entre otros).

Sabemos hoy que todos los factores mendelianos son las unidades hereditarias llamadas *genes*. El término *gen* que introdujo Wilhem Johanssen en 1909 es el factor hereditario que gobierna un rasgo. Cada característica fenotípica, como la altura del tallo de una planta, está dada por combinaciones diferentes, de formas alternadas de un solo gen a las que como ya mencionamos se denominan alelos.

Los símbolos que se emplean para nombrar a los alelos suelen ser, por convención, tomados de la primera letra que denota al carácter más conspicuo. La letra minúscula denota al carácter recesivo, mientras que la mayúscula denota al carácter dominante. En el ejemplo, el alelo enano será *d* y el alto será *D*, los alelos deben escribirse por pares tal como se encuentran en los individuos diploides (*DD*, *Dd*, *dd*). Estos símbolos denotan a los alelos de un

gen o genotipo. Al conocer el genotipo de un individuo es posible establecer su fenotipo. Cuando dos alelos son idénticos decimos que el individuo es homocigoto (DD ó dd), cuando los alelos son diferentes decimos que el individuo es heterocigoto (Dd) (Fig. 3.3).

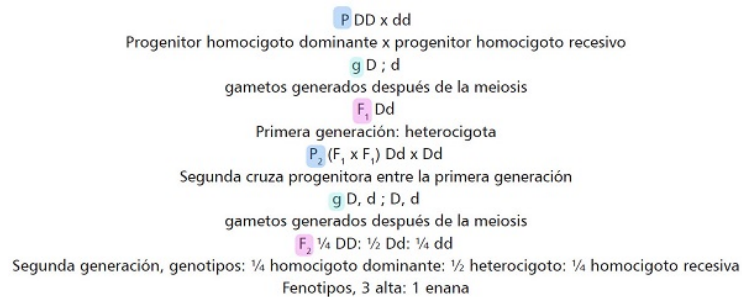


Fig.3.3. Terminología de una cruce mendeliana

CUADRADO DE PUNNETT

Los genotipos y fenotipos que resultan de la combinación de los gametos durante la fecundación pueden representarse de forma sencilla construyendo una matriz, actualmente denominada cuadrado de Punnett, en honor a Reginald C. Punnett, un genetista inglés que lo ideó a principios del siglo XX y lo denominó tablero de ajedrez. Cada uno de los gametos que produce un progenitor se coloca en una matriz formada por columnas horizontales y verticales en un cuadrado en el que las horizontales representan a los gametos producidos por la hembra y las columnas verticales representan a los generados por el macho. Después se realizan las combinaciones posibles que se pueden producir durante la fecundación, colocando a los genotipos en los cuadros correspondientes. A partir del cuadrado de Punnett pueden deducirse tanto la proporción genotípica (1:2:1) como la fenotípica (3:1) que resultan de la cruce monohíbrida (Fig. 3.4).

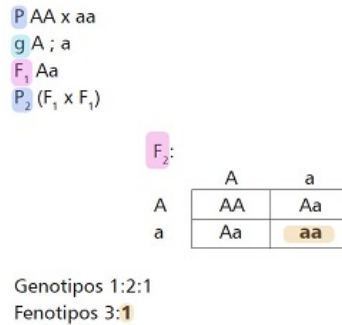


Fig. 3.4. Cuadrado de Punnett para una cruce monohíbrida

CRUZA DIHÍBRIDA

Mendel diseñó otra serie de experimentos en los que cruzaba a plantas que diferían en dos caracteres alternativos. Así plantas del chícharo con semillas lisas (WW) y de color amarillo (GG) las cruzó con plantas con semillas arrugadas (ww) y de color verde (gg). En la primera generación todas las plantas fueron heterocigotas (WwGg) con semillas de apariencia lisa y de color amarillo. De modo que amarillo es dominante sobre verde y liso sobre arrugado. Al dejar que se autofecundara la F₁ encontró en la F₂ 9/16 de las plantas con apariencia lisa y de color amarillo, 3/16 arrugado y amarillo, 3/16 liso y verde y 1/16 arrugada y verde. En la figura 3.5 se muestra de forma genérica los genotipos y fenotipos esperados en una cruce dihíbrida.

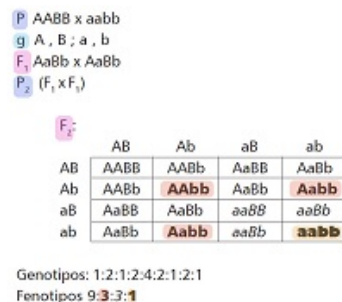


Fig. 3.5. Cruza dihíbrida

Si se hicieran cruza monohíbridas para cada carácter en cuestión se obtendría una proporción fenotípica de 3:1 para cada uno. Debido a que los caracteres alternativos se heredan de forma independiente, es posible predecir las frecuencias de todos los fenotipos en la F_2 aplicando la ley de probabilidades del producto: cuando se dan simultáneamente dos eventos independientes la probabilidad de que ocurran juntos es igual al producto de sus probabilidades por separado.

Por lo que al obtener la proporción 9:3:3:1, sin conocer el genotipo, se postula que están involucrados dos genes o dos pares de alelos con dominancia absoluta de un alelo sobre otro. Mendel concluyó que *los miembros de pares de alelos diferentes (genes) se distribuyen independientemente uno de otro durante la formación de los gametos*. Esta es la **Segunda ley de Mendel o Ley de la distribución independiente**.

RETROCRUZA

Mendel ideó un método muy sencillo para conocer el genotipo de organismos con fenotipo dominante. Esta cruce se conoce como cruce de prueba o retrocruza y consiste en cruzar a un individuo que muestra el fenotipo dominante por un individuo homocigoto recesivo, la proporción fenotípica que se obtiene es de 1:1 (Fig. 3.6). La retrocruza se emplea rutinariamente para encontrar fenotípicamente a los individuos portadores de genes recesivos cuya expresión está enmascarada por genes dominantes.

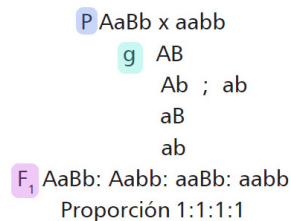


Fig. 3.6. Retrocruza

CRUZA TRIHÍBRIDA

Mendel continuó con sus experimentos realizando cruza entre individuos que diferían en tres características de tipo discreto. El resultado de esta cruza, aunque más compleja, puede calcularse de acuerdo a los principios de segregación y de distribución independiente, y confirma que el principio general de herencia se debe a unidades discretas que existen en forma alternada. El análisis de la F₂ muestra una distribución de genotipos 27:9:9:9:3:3:3:1 (Fig. 3.7). Esta relación puede expresarse como 2ⁿ clases fenotípicas, donde n es el número de diferentes genes involucrados en la cruza: 2³ = 8 clases fenotípicas. El número de clases genotípicas puede calcularse mediante 3ⁿ donde n es el número de pares diferentes de alelos involucrados en una cruza entre progenitores heterocigotos. El número de combinaciones de gametos producidas por la fertilización al azar se calcula sobre la base de 4ⁿ (Tabla 3.2).

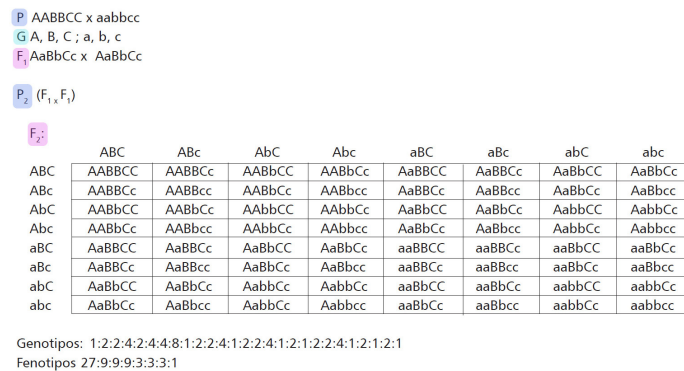


Fig. 3.7. Cruza trihíbrida

Tabla 3.2. Número de clases fenotípicas, genotipos y combinaciones de gametos producidos por fertilización al azar.

Nro. de alelos (genes)	Nro. de tipos de gametos formados	Nro. de combinaciones de gametos producidas por	Nro. de clases de genotipos en la	Nro. de clases de fenotipos en la progenie que pueden ser
------------------------	-----------------------------------	---	-----------------------------------	---

	por cada individuo	fertilización al azar	progenie	generados por heterocigotos
1	2	4	3	2
2	4	16	9	4
3	8	64	27	8
4	16	256	81	16
5	32	1,024	243	32
6	64	4,096	729	64
7	128	16,384	2,187	128
8	256	65,536	6,561	256
9	512	262,144	19,683	512
10	1,024	1,048,576	59,043	1,024
n	2 ⁿ	4 ⁿ	3 ⁿ	2 ⁿ

MÉTODO BIFURCADO

Es un método que simplifica los cálculos al considerar, mediante un esquema ramificado, cada par de caracteres alternativos por separado y luego se combinan los resultados. Este método se basa en la teoría combinatoria y en las leyes de probabilidad establecidas para las cruzas de dos o más caracteres. Se asume que cada par de genes se comporta independientemente en la formación de los gametos. Para el caso de la craza trihíbrida se realiza combinando tres cruzas entre monohíbridos (Fig. 3.8).

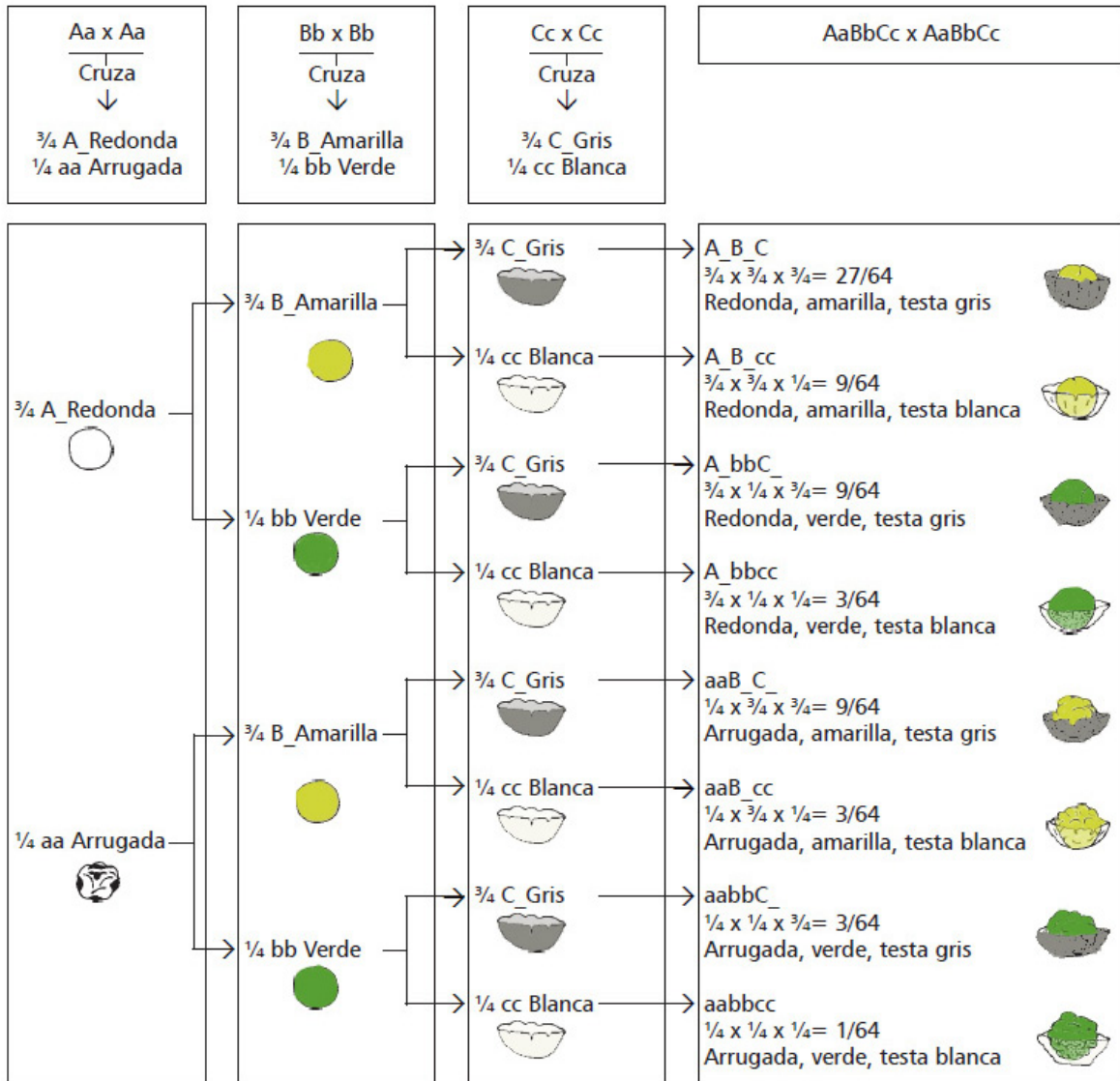


Fig. 3.8. Método bifurcado para la obtención de fenotipos en una cruce trihíbrida

Hay que hacer notar que si la herencia de caracteres en la progenie fuese debida a una mezcla o producto de fusión de la herencia de los padres y no a la segregación y mantenimiento de la variabilidad generada por la recombinación, entonces la reproducción sexual podría devorar y consumir la variación heredable presente en las poblaciones panmíticas a una tasa prodigiosa, tanto como que la variación genética se reduciría a la mitad en cada generación. Y por

tanto a una velocidad asombrosa una población podría consistir de individuos genotípicamente uniformes.

PROBABILIDAD Y ESTADÍSTICA

La probabilidad de ocurrencia de un evento puede determinarse conociendo algo acerca de cómo ocurre. Si por ejemplo tengo una baraja con 52 cartas y solamente una es el rey de oros, entonces la probabilidad de que salga esta carta en el barajeo será de $1/52 = 0.019$ mientras que la probabilidad de obtener un as de cualquier palo es de $4/52 = 0.077$

Los tres métodos para calcular las probabilidades son la regla de la adición, la regla de la multiplicación y la distribución binomial. La regla de la adición o regla de la suma establece que la probabilidad de ocurrencia de cualquier evento en particular es igual a la suma de las probabilidades individuales, si es que los eventos son mutuamente excluyentes, es decir, que dos no pueden ocurrir al mismo tiempo. La regla de la multiplicación establece que la probabilidad de ocurrencia de dos o más eventos estadísticamente independientes es igual al producto de sus probabilidades individuales. La probabilidad de ocurrencia de una combinación específica de eventos independientes y mutuamente excluyentes se determina con la distribución binomial, que es aquella donde hay solo dos posibilidades, tales como masculino/femenino o si/no.

El análisis genético de la herencia mendeliana normalmente recae en la interpretación de valores numéricos obtenidos directamente como observaciones en una progenie. Estos datos se cuantifican como proporciones de clases fenotípicas.

Al aplicar varios métodos estadísticos el genetista puede: (1) juzgar cuando los datos numéricos se ajustan o no al patrón hereditario esperado, (2) calcular la probabilidad de que ocurra un evento una vez que se ha establecido el patrón, (3) juzgar estadísticamente cuando existe una base genética en el patrón de transmisión hereditaria bajo estudio.

En los patrones de herencia mendeliana, que se deben a dominancia completa de un alelo sobre otro, se puede calcular la proporción de los fenotipos mediante el binomio $(3:1)^n$ donde n es el

número de genes involucrados, y, mediante el trinomio $(1:2:1)^n$ el número de genotipos esperados.

EL TEOREMA DEL BINOMIO

El teorema del binomio (binomio de Newton) permite predecir la frecuencia de genotipos y fenotipos involucrados en los análisis de las cruzas y de los árboles genealógicos o de los pedigríes. La expresión del teorema del binomio es útil para situaciones en las cuales una o más alternativas pueden ocurrir al azar para cada evento independiente, tales como: macho o hembra, cara o cruz de una moneda. En el binomio $(a+b)^n$ a representa la probabilidad de que ocurra una alternativa y b de que ocurre la otra alternativa que es excluyente del mismo evento; n representa los eventos independientes o los individuos. Si se trata de dos eventos independientes, entonces $n = 2$ y la probabilidad para todas las combinaciones posibles es $(a+b)^2$; para tres eventos independientes es $(a+b)^3$, etc. (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Teorema del binomio.

Binomio	Poder binomial (n)	Nro. de términos en la expansión	Nro. de combinaciones
$(a+b)$	1	2	2
$(a+b)^2$	2	3	4
$(a+b)^3$	3	4	8
$(a+b)^4$	4	5	16
$(a+b)^5$	5	6	32

Para desarrollar el binomio de Newton: el exponente de a pierde uno en cada progresión y el de b lo gana; el coeficiente se obtiene multiplicando el coeficiente del primero por el exponente del primer término dividido entre el término en cuestión (Fig. 3.9). Con los coeficientes que preceden a cada expresión del binomio se construye

el triángulo de Pascal (Fig. 3.10). En donde todos los valores distintos a 1 se obtienen sumando los dos números que se encuentran directamente encima de ellos.

$$\begin{array}{l}
 (a+b) \\
 (a+b)^2 \\
 (a+b)^3 \\
 (a+b)^4 \\
 (a+b)^5
 \end{array}
 \begin{array}{l}
 a+b \\
 a^2+2ab+b^2 \\
 a^3+3a^2b+3ab^2+b^3 \\
 a^4+4a^3b+6a^2b^2+4ab^3+b^4 \\
 a^5+5a^4b+10a^3b^2+10a^2b^3+5ab^4+b^5
 \end{array}$$

Fig. 3.9. Expansión del binomio de Newton que incluye todas las combinaciones posibles de eventos alternativos

n	Coefficientes binomiales	Nro. total de combinaciones
0	1	1
1	1 1	2
2	1 2 1	4
3	1 3 3 1	8
4	1 4 6 4 1	16
5	1 5 10 10 5 1	32

Fig. 3.10. Triángulo de Pascal

Si aplicamos la distribución binomial y queremos, por ejemplo, conocer en una familia con n número de hijos la probabilidad de que sean de un sexo o de otro, entonces considerando que cada sexo tiene una probabilidad independiente de $1/2$, ($a = 1/2$ y $b = 1/2$), entonces se puede seleccionar el término apropiado para calcular el valor numérico de una frecuencia con una combinación particular, considerando que $a = \text{♂}$ y $b = \text{♀}$ (Tabla 3.4).

Tabla 3.4. Distribución binomial para el cálculo del número de hijos en una familia.

Nro. De hijos	$(1/2+1/2)^n$	Distribución
1	$(1/2+1/2)$	$1/2 (1\text{♂}) + 1/2 (1\text{♀})$
2	$(1/2+1/2)^2$	$1/4 (2\text{♂}) + 1/2 (1\text{♂}:1\text{♀}) + 1/4 (2\text{♀})$

3	$(1/2+1/2)^3$	$1/8 (3♂) + 3/8 (2♂:1♀) + 3/8 (1♂:2♀) + 1/8(3♀)$
4	$(1/2+1/2)^4$	$1/16(4♂) + 4/16 + (3♂:1♀) + 6/16(2♂:2♀) + 4/16(1♂:3♀) + 1/16(4♀)$
5	$(1/2+1/2)^5$	$1/32(5♂) + 5/32(4♂:1♀) + 10/32(3♂:2♀) + 10/32(2♂:3♀) + 5/32(1♂:4♀) + 1/32 (5♀)$

La distribución binomial puede aplicarse también para calcular la probabilidad de otras variables discretas como las caras de una moneda. Así si lanzo al aire una moneda existe la misma probabilidad (1/2) de que al caer al suelo caiga cara o caiga cruz. Si la lanzo cien veces existe la probabilidad teórica de que caiga 50 veces cara y 50 veces cruz. Si se lanzan al aire dos monedas simultáneamente, cien veces, éstas se comportan independientemente una de la otra, por probabilidad se espera que caigan 1/4 cara cara 1/2 cara cruz y 1/4 cruz cruz (Fig. 3.11). Distribución que es paralela a la segregación de genotipos (1:2:1) en una cruce monohíbrida.

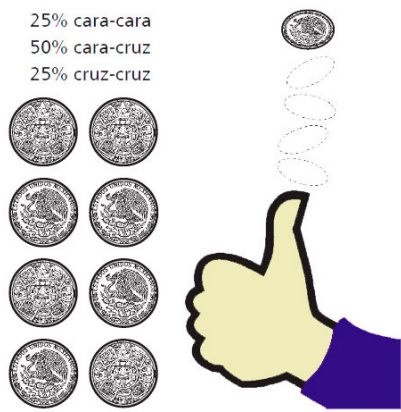


Fig. 3.11. Probabilidad de tener cara o cruz cuando se lanzan dos monedas al aire de forma simultánea

La proporción es el promedio de resultados esperados cuando ocurren eventos independientes (Fig. 3.12). Por lo que si dos o más eventos son independientes, la probabilidad de que ocurran juntos es,

de acuerdo a ley de probabilidades del producto, el producto de sus probabilidades por separado.

2 caras= $1/2 \times 1/2 = 1/4$
3 caras= $(1/2)^3 = 1/8$
4 caras= $(1/2)^4 = 1/16$
Aparición sucesiva de 2
caras= $1/4 \times 1/4 = 1/16$

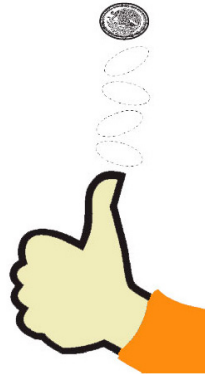


Fig. 3.12. Promedio de resultados esperados cuando ocurren dos eventos independientes

JI CUADRADA

La prueba de bondad del ajuste o estimación de la validez de una hipótesis para variables discretas se denomina prueba de ji cuadrada. Se basa en los acontecimientos observados y el cálculo de los esperados bajo una prueba de hipótesis, llamada hipótesis nula (**H₀**). La hipótesis nula establece que no existen diferencias entre los valores observados y los esperados. De modo que si se acepta la H₀, se aceptan las proporciones propuestas. Si se rechaza la H₀, entonces se debe plantear otra hipótesis, la alternativa H_A, para explicar los datos. Esta prueba estadística toma en cuenta:

- (a) el tamaño de la muestra. A medida que éste aumenta, la desviación respecto de la proporción esperada disminuye, por lo que en una muestra grande el impacto sobre las desviaciones al azar disminuye.
- (b) la desviación de la proporción esperada.
- (c) los grados de libertad se calculan con base en el número de clases de fenotipos, es decir, $n - 1$.

(d) del tamaño total de la muestra se obtienen los valores teóricos, así que para dos clases, el cálculo de ji cuadrada es:

$$\chi^2 = \frac{(o_1 - e_1)^2}{e_1} + \frac{(o_2 - e_2)^2}{e_2} \quad \text{o bien } \chi^2 = \sum \frac{d^2}{e}$$

donde o = observado; e = esperado; d = diferencia

Una vez calculada la ji cuadrada se determina el número de grados de libertad como uno menos que el número de clases (n -1), debido a que se calcula el número esperado (e) para todas las clases menos una, la cual debe contener toda la progenie restante, es decir, una vez que se determina una clase la otra se determina automáticamente. Con este valor se procede a buscar el dato de ji cuadrada en las tablas de ji cuadrada y se determina la probabilidad con la cual los datos obtenidos se ajustan a la hipótesis propuesta. El valor de probabilidad (P) permite establecer el límite para aceptar o rechazar una hipótesis. Este límite con frecuencia se establece en la probabilidad de 0.05 (5%). Cuando el valor de P es >0.05 entonces la desviación no es estadísticamente significativa por lo que se acepta la **H₀**; si P<0.05 la desviación entre lo observado y lo esperado es significativa, es decir, los resultados no son consistentes con la H₀ planteada (Tabla 3.5).

Tabla 3.5. Tabla de Ji cuadrada.

Grados de libertad	Probabilidades						
	0.99	0.95	0.80	0.50	0.20	0.05	0.01
1	0.000	0.004	0.064	0.455	1.642	3.841	6.635
2	0.020	0.103	0.446	1.386	3.219	5.991	9.210
3	0.115	0.352	1.005	2.366	4.642	7.815	11.345
4	0.297	0.711	1.649	3.357	5.989	9.488	13.277
5	0.554	1.145	2.343	4.351	7.289	11.070	15.086
6	0.872	1.635	3.070	5.348	8.558	12.592	16.812

7	1.239	2.167	3.822	6.346	9.803	14.067	18.475
8	1.646	2.733	4.594	7.344	11.030	15.507	20.090
9	2.088	3.325	5.380	8.343	12.242	16.919	21.666
10	2.558	3.940	6.179	9.342	13.442	18.307	23.209
15	5.229	7.261	10.307	14.339	19.311	24.996	30.578
20	8.260	10.851	14.578	19.337	25.038	31.410	37.566
25	11.524	14.611	18.940	24.337	30.675	37.652	44.314
30	14.953	18.493	23.364	29.336	36.250	43.773	50.892

Por ejemplo: Mendel obtuvo en la F_2 en la cruce monohíbrida considerando la altura del tallo en las plantas, 787 altas: 277 enanas, por lo que si realiza la prueba de ji cuadrada se obtienen los resultados que se muestran en la Tabla 3.6. De modo que se acepta la H_0 , la segregación de esta característica es 3:1 y se espera encontrar una desviación al azar, si se repite el mismo experimento bajo las mismas condiciones, que oscila entre un 30 y un 50% de probabilidad.

Tabla 3.6. Prueba de H_0 para una cruce monohíbrida.

Fenotipo	Tallo alto	Tallo enano
Hipótesis	3	1
Valores observados (o)	787	277
Valores esperados (e)	798 (1064 x 3/4)	266 (1064 x 1/4)
Desviación (d; o-e)	-11	11
$d^2; (o-e)^2$	121	121
d^2/e	121/798= 0.152	121/266= 0.455

	$\Sigma = 0.607$	
	$n-1 = 2-1 = 1$	
	$P(\text{tablas}) = >0.3 <0.5$	

Tomando en cuenta la cruce dihíbrida Mendel obtuvo en la F_2 considerando la altura del tallo en las plantas y el color de las semillas los siguientes datos: 315 altas con semillas verdes: 101 altas con semillas amarillas: 108 enanas con semillas verdes: 32 enanas con semillas amarillas, de modo que si calculamos la ji cuadrada bajo la hipótesis 9:3:3:1 entonces se obtienen los resultados que se muestran en la Tabla 3.7. Por lo que se acepta la H_0 , la segregación se ajusta a la proporción 9:3:3:1.

Tabla 3.7. Prueba de H_0 para una cruce dihíbrida.

Fenotipo	Alta, verde	Alta, amarilla	Enana, verde	Enana, amarilla
Hipótesis	9	3	3	1
o	315	101	108	32
e	313 (556 x 9/16)	104 (556 x 3/16)	104 (556 x 3/16)	35 (556 x 1/16)
d	-2	-3	4	-3
d^2	4	9	16	9
d^2/e	0.013	0.086	0.154	0.257
		$\Sigma = 0.51$		
		$n-1 = 3$		
		$P(\text{tablas}) >0.5 <0.8$		

ÁRBOLES GENEALÓGICOS

También denominados pedigrís son las representaciones, con una simbología particular, del patrón hereditario de un carácter particular. Es el sistema más antiguo de la genética, incluso fue usado en la antigüedad. Debido a que entre los seres humanos no es posible realizar cruzas controladas, los genetistas han recurrido a la reconstrucción de la historia familiar de transmisión de una característica mediante el análisis de los matrimonios ocurridos. El árbol genealógico, es el análisis del patrón de transmisión de un carácter determinado en diversas generaciones a partir de los resultados obtenidos en un apareamiento ya efectuado. El miembro de la familia por el cual se acude a la consulta del especialista en genética se conoce como *propositus* (propósito del estudio). Se construyen con la simbología que se muestra en la figura 3.13. Con este sistema puede predecirse la probabilidad de expresión de un determinado carácter en una familia, ya sea en matrimonios emparentados o bien en individuos que van a casarse y tienen una historia familiar de transmisión de un carácter particular. En la Fig. 3.14 se muestra el árbol genealógico de transmisión de la polidactilia.

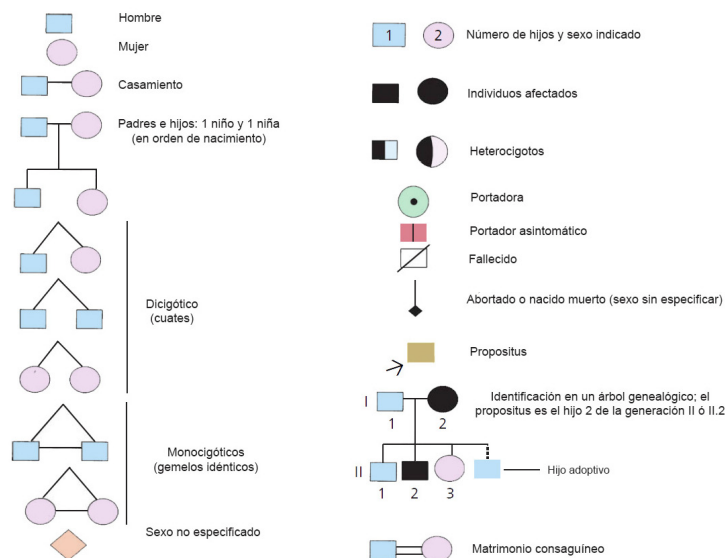


Fig. 3.13. Simbología para la construcción de árboles genealógicos

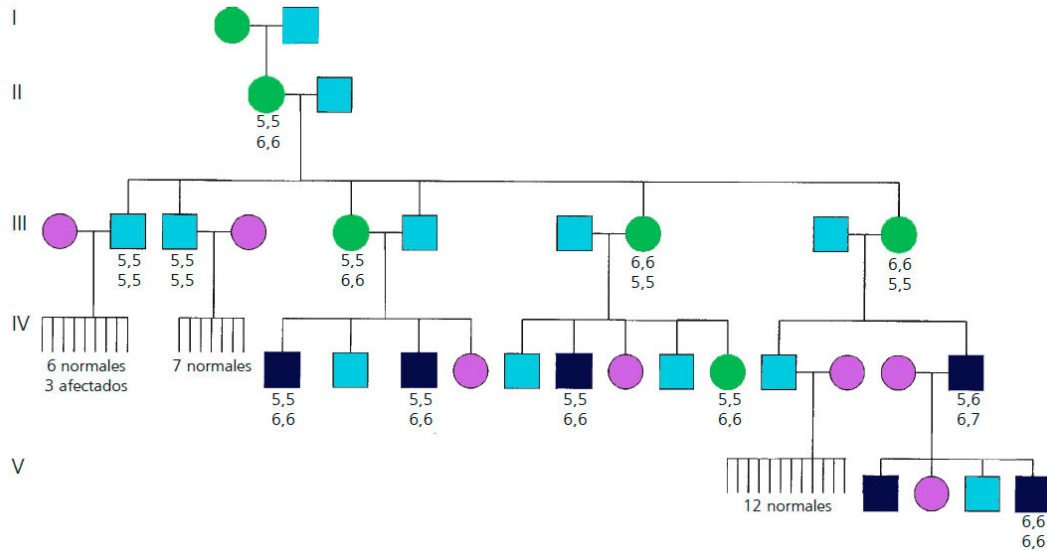


Fig. 3.14. Árbol genealógico de transmisión del carácter dominante que produce dedos supernumerarios (polidactilia). Los números superiores indican el número de dedos en las manos izquierda y derecha. Los números inferiores indican el número de dedos en el pie izquierdo y en el derecho respectivamente

HERENCIA MENDELIANA EN EL HOMBRE

Entre los seres humanos los apareamientos muestran patrones de transmisión de características que se heredan mendelianamente. Los individuos afectados pueden mostrar un patrón de herencia dominante, recesiva, autosómica o ligada al sexo.

Cabe hacer notar que aunque el rasgo se herede mendelianamente, las proporciones mendelianas rara vez se observan en las familias, debido fundamentalmente al hecho de que éstas suelen ser pequeñas. En un apareamiento monohíbrido es frecuente encontrar la proporción 1:1 aún cuando el carácter sea recesivo.

Para encontrar una proporción semejante a la 3:1 en una familia sería necesario que estuviera conformada por alrededor de 20 hijos (15:5).

Un carácter será autosómico dominante cuando el fenotipo en cuestión tiende a aparecer en cada generación, a partir de padres y madres afectados, quienes lo transmiten indistintamente a los hijos e hijas de la siguiente generación. Ejemplos: la miopía; un tipo de acondroplasia (enanismo); la polidactilia (dedos supernumerarios), rasgo que fue descubierto por Maupertius en 1752 y del que construyó el primer árbol genealógico considerando a cuatro generaciones (Fig. 3.14); la sindactilia (dedos fusionados) y la braquidactilia (dedos acortados). La corea de Huntington es otra enfermedad que se debe a un gen autosómico dominante que se manifiesta entre la tercera y cuarta década del individuo afectado. Produce degeneración neuronal que se traduce en convulsiones y muerte prematura. Se debe a la repetición múltiple de una secuencia corta en el gen.

Un carácter será autosómico recesivo cuando el fenotipo aparece en una generación a partir de progenitores no afectados y, se presenta indistintamente en hombres y mujeres. La condición homocigota recesiva puede presentarse en una generación mientras que las generaciones precedentes o las posteriores no están afectadas. El carácter homocigoto recesivo se hereda a partir de dos individuos heterocigotos (portadores) en los cuales el alelo dominante produce la cantidad de proteína activa suficiente para las necesidades de la célula condición que se denomina haplosuficiente. Ejemplos: la fenilcetonuria, error congénito del metabolismo en el cual los individuos no pueden convertir el aminoácido esencial fenilalanina en tirosina, debido a una mutación en la enzima fenilalanina hidroxilasa. En su lugar los individuos afectados acumulan ácido fenilpirúvico, compuesto que interfiere con el desarrollo del sistema nervioso por lo que se produce retraso mental. La fibrosis quística es otro rasgo que se hereda mendelianamente, los individuos afectados tienen una proteína defectuosa que transporta el cloro a través de las membranas celulares, lo que se traduce en la secreción de cantidades elevadas de moco en los pulmones que pueden conducir a la muerte no sólo por la obstrucción respiratoria sino

también por infecciones en las vías respiratorias superiores. El albinismo se hereda por un gen recesivo que en condición homocigota produce una proteína más pequeña que es disfuncional.

4. MODIFICACIONES A LAS PROPORCIONES MENDELIANAS

En la herencia mendeliana los caracteres se producen por patrones individuales de los genes con dominancia completa de un alelo sobre otro, sin embargo, un gen por si mismo raras veces actúa solo, sus efectos se producen en un contexto celular que está determinado por muchos otros genes y productos y por las condiciones ambientales en las que se expresa. La acción génica es un término que trata de cubrir los variados y complejos eventos que se presentan desde el nivel de los genes hasta el nivel de expresión en el fenotipo. Así la mayoría de los genes producen un fenotipo conspicuo, es decir, una mutación puede ser visible en una estructura particular, y a su vez afectar otras estructuras y características del organismo. Este fenómeno se conoce como *pleiotropía*. El gen que produce color de ojos blanco (*white*) en *Drosophila* es pleiotrópico ya que también afecta la pigmentación de los ocelos, de los tubos de Malpigio y de las capas epiteliales que recubren a las gónadas, entre otros. Estos efectos múltiples se deben a que para la formación del pigmento las células deben contar con los precursores de éstos y, en el caso de la mutación *white*, la ruta metabólica para la producción del pigmento está bloqueada, lo que se traduce a nivel celular en la ausencia de pigmentación. Otra generalización, que es inversa a la anterior, con respecto a la acción génica es la que se refiere al concurso de los productos de varios genes en la producción de un fenotipo. Así la pigmentación del ojo en *Drosophila* se produce por la acción de alrededor de 100 genes, los que se expresan en rutas metabólicas complejas con numerosos pasos enzimáticos coordinados.

Los alelos de un gen pueden interactuar de diferentes maneras a nivel bioquímico y funcional, de lo que resultan diferentes variaciones en el tipo de dominancia y en los efectos marcados en el fenotipo por las diferentes combinaciones alélicas.

DOMINANCIA INCOMPLETA O HERENCIA INTERMEDIA.

Se refiere a la ausencia de dominancia de un alelo sobre el otro,

el genotipo se expresa fenotípicamente. La proporción F_2 1:2:1 muestra el patrón hereditario de dominancia incompleta de dos alelos de un mismo gen. Los heterocigotos de la F_1 y de la F_2 muestran un fenotipo intermedio, lo que sugiere el patrón de herencia intermedia. En la naturaleza existen muchos ejemplos de este patrón, entre ellos:

El color del plumaje en aves de corral en el que se cruza entre progenitores con plumaje blanco (bb) por negro (BB), genera en la F_1 aves con color de plumaje gris (Bb), denominados azul andaluz. Si se cruza la F_1 x la F_1 se obtiene en la siguiente generación (F_2) 1 negro (BB): 2 grises (Bb): 1 blanco (bb) (Fig. 4.1).

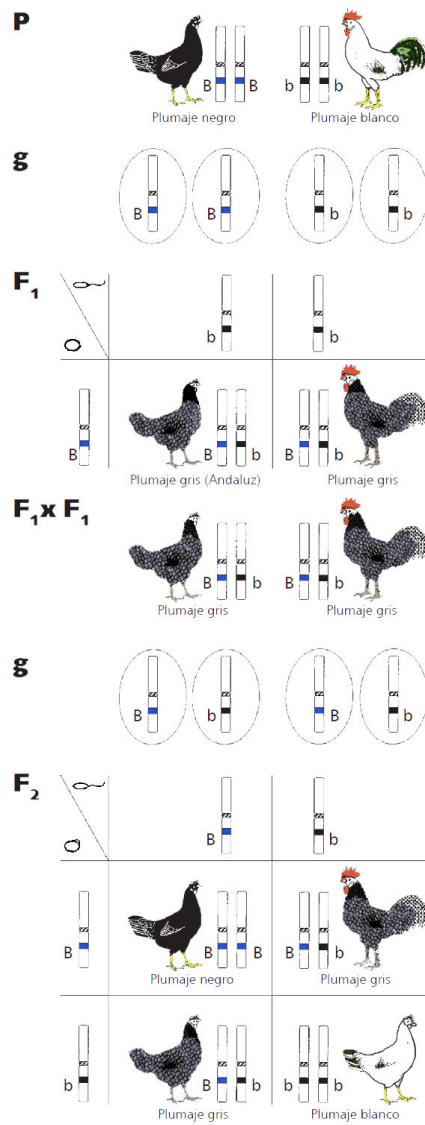


Fig. 4.1. Herencia intermedia, color del pelaje en aves de corral

CODOMINANCIA

Es un patrón hereditario en el cual el heterocigoto expresa en el fenotipo a ambos alelos. Un buen ejemplo de codominancia lo muestran los antígenos de la superficie de los eritrocitos sintetizados por M y N cuya herencia es gobernada por un par de genes L^M y L^N .

Los antígenos y proteínas pueden ser identificados por una reacción de aglutinación cuando se mezclan con los anticuerpos apropiados. Los anticuerpos producidos por el suero de un individuo sensibilizado por el antígeno, se llaman *antisueros*. Si la sangre de un individuo se mezcla con el antisuero de otro individuo, las células se aglutinan o permanecen suspendidas en la mezcla. La aglutinación se realiza cuando el antisuero contiene los anticuerpos específicos que pueden reaccionar con el antígeno en la superficie de los eritrocitos, así una persona con antígeno M puede identificarse mediante la aglutinación cuando su sangre se mezcla con el antisuero M. Las células que tengan el antígeno N permanecerán suspendidas, no se aglutinan con el antisuero M. Si los antígenos M y N están presentes en la muestra de sangre, la aglutinación se llevará a cabo con el antisuero M y con el antisuero N (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Alelos, genotipos, antígenos y fenotipos del sistema MN.

Alelos	Genotipos	Antígenos	Fenotipos
L^M	$L^M L^M$	M	M
L^N	$L^M L^N$	MN	MN
	$L^N L^N$	N	N

Otro ejemplo de codominancia está dado por el gen de la globina que gobierna la síntesis de la hemoglobina. El gen $Hb\beta$ produce a la hemoglobina beta que forma parte de la molécula adulta de la hemoglobina. El alelo más común es el gen Hb^A . Otro alelo de $Hb\beta$ es el Hb^S que codifica para la producción de eritrocitos en forma de hoz. Los alelos para la β - globina, Hb^A y Hb^S , son codominantes y los fenotipos pueden identificarse por electroforesis. En los homocigotos ($Hb^S Hb^S$) se produce la anemia falciforme. Los eritrocitos tienden a agruparse y los grumos obstruyen los capilares, la corriente sanguínea no es fluida, los episodios de obstrucción son dolorosos y tienden a debilitar al individuo en su corta vida. Los alelos

Hb^A y Hb^S son codominantes a nivel molecular, pero a nivel fenotípico el alelo normal se comporta como dominante.

ALELOS MÚLTIPLES

El sistema de grupos sanguíneos ABO está determinado por polisacáridos que se encuentran en la superficie de los eritrocitos. Los alelos I^A e I^B son codominantes y se expresan fenotípicamente en una persona como AB. La identificación se realiza por el método de aglutinación (Fig. 4.2). El genotipo A se aglutina con el antisuero A, el B con el B. Otro fenotipo O se produce por el alelo i⁰ que es recesivo a ambos (Tabla 4.2). El sistema ABO introduce otra variación a la herencia mendeliana, que involucra a un solo gen, pero que en términos de la población se refiere a más de dos alelos, este es el patrón de alelos múltiples.

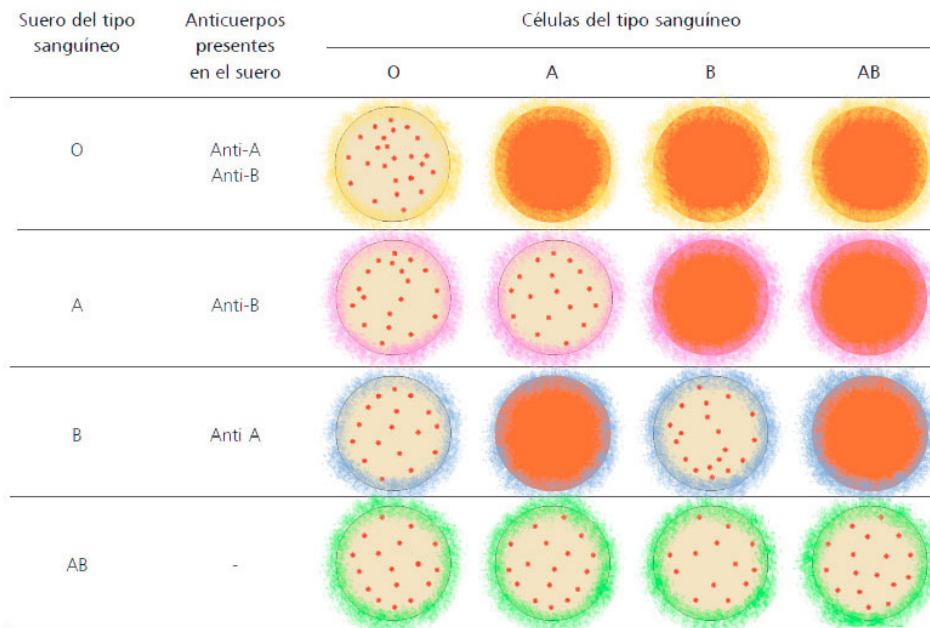


Fig. 4.2. Aglutinación del sistema sanguíneo ABO

Tabla 4.2. Alelos, genotipos, antígenos, fenotipos y transfusión para el sistema ABO.

--	--	--	--	--

Alelos	Genotipos	Antígenos	Fenotipos	Transfusión
I ^A	I ^A I ^A	A	A	A
	I ^A i ⁰	A	A	0
I ^B	I ^B I ^B	B	B	B
	I ^B i ⁰	B	B	0
i ⁰	I ^A I ^B	AB	AB	Cualquiera
	i ⁰ i ⁰	0	0	0

Existen tres genes que controlan la expresión de los antígenos ABO: (1) el gen H (que se encuentra en el cromosoma 19) codifica para la producción de una enzima transferasa H, la cual une una molécula de L-Fucosa a la galactosa terminal de un precursor común unido a los lípidos o proteínas de membrana del eritrocito dando origen al antígeno H el cual es el precursor en la formación de los antígenos ABO. (2) el gen ABO (se encuentra en el cromosoma 9) que contiene tres alelos: el alelo A codifica para la transferasa A que cataliza la adición de un residuo de N-acetilgalactosamina al antígeno H generándose el antígeno A. El alelo B codifica para la transferasa B que cataliza la adición de un residuo de D-galactosa al antígeno H generándose el antígeno B. El alelo O difiere del alelo A en que contiene la delección de un nucleótido (guanina en la posición 261) lo que ocasiona un cambio en el marco de lectura y una proteína truncada sin actividad de transferasa. (3) el gen Se (se encuentra en el cromosoma 19) codifica para la enzima fucosiltransferasa que se expresa en el epitelio de los tejidos secretores (glándulas salivales, tracto respiratorio y tracto gastrointestinal) que cataliza la producción del antígeno H. Los individuos “secretores” son aquellos que poseen al menos un alelo dominante que codifica para la biosíntesis de una enzima funcional la cual genera el antígeno H en las secreciones, precursor para la producción de los antígenos A y/o B dependiendo del genotipo del individuo. Los individuos homocigotos recesivos (*se/se*) no pueden producir el antígeno H y por tanto son “no secretores”.

El fenotipo Bombay o grupo sanguíneo *h/h* no contiene antígenos

H y por tanto tampoco contiene antígenos A y/o B. Al no producir la enzima activa H (transferasa H) que transforma la sustancia precursora H, no pueden producir los antígenos A y/o B en sus glóbulos rojos aunque tengan los alelos en su genoma. Al no producir el antígeno H desarrollan de forma natural anticuerpos anti-H, además de contener en su suero los anticuerpos anti-A y/o anti-B según sea el caso.

Los alelos múltiples han sido identificados para muchos genes. En *Drosophila melanogaster* el locus *white* controla el color de los ojos, el alelo en forma silvestre (w^+) produce color de ojos rojos, el alelo mutado (w) genera color de ojos blancos. Morgan en 1912 obtuvo entre sus cultivos moscas con color de ojos eosina. Como el blanco, el eosina es recesivo frente al silvestre. En 1913 Surtevant propone que el color eosina y el blanco son formas alternadas mutantes del mismo gen, es decir, son alelos múltiples del locus *white* (Fig. 4.3).

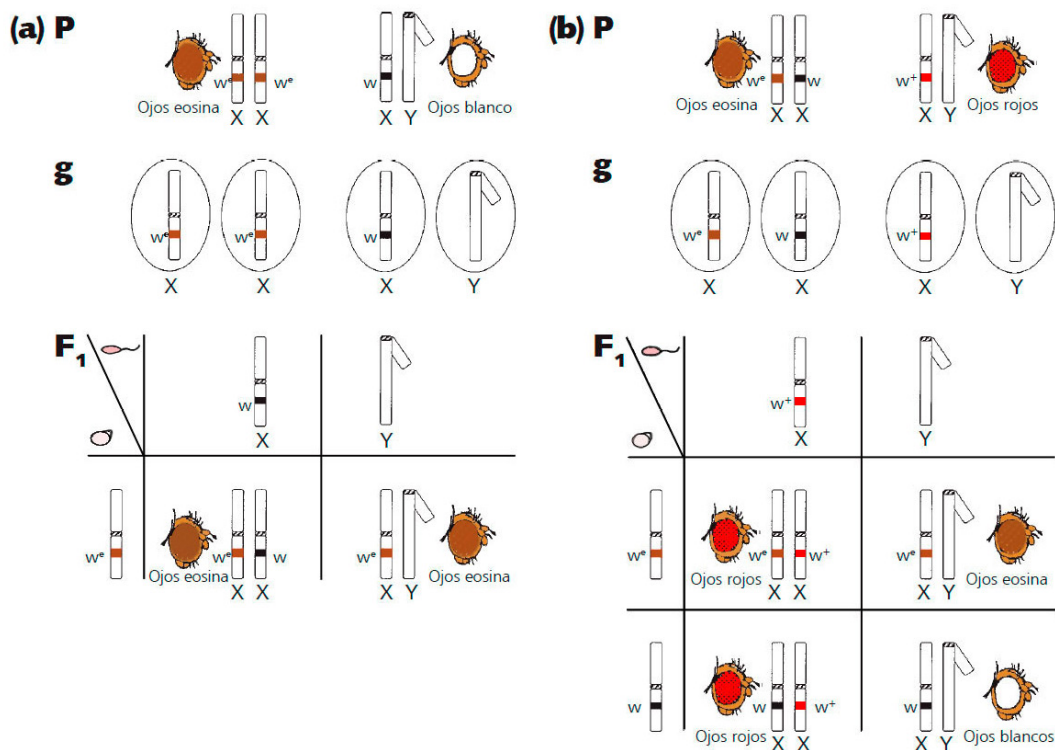


Fig. 4.3. Cruza entre individuos que portan alelos múltiples

- a) Hembras con color de ojos eosina por machos con color de ojos blancos
- b) Hembras con color de ojos eosina (heterocigotas) por machos con color de ojos rojos (silvestres)

Años después fueron descritos una serie de 12 alelos múltiples en el locus *white*. Todo el grupo de alternativas alélicas puede encontrarse en la población. El fenotipo que cada una produce está en relación con la cantidad de pigmento que se deposita en los ojos (Tabla 4.3).

Tabla 4.3. Genotipos y cantidad de pigmento de los alelos múltiples del locus *white* en *Drosophila melanogaster*.

Genotipo*	Cant. pigm	Genotipo	Cant. pigm.
w^+/w^+	1	w^{ch}/w^{ch}	0.041
w^{col}/w^{col}	0.163	w^e/w^e	0.032
w^{sat}/w^{sat}	0.140	w^{bl}/w^{bl}	0.031
w^{co}/w^{co}	0.080	w^a/w^a	0.020
w^w/w^w	0.065	w^t/w^t	0.006
w^{a3}/w^{a3}	0.063	w/w	0.004
* orden de dominancia: de $w^+ \rightarrow w$			

NÚMERO DE ALELOS MÚLTIPLES

El número de genotipos posibles que pueden presentarse en una población en una serie de alelos múltiples depende del número de alelos involucrados (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Número de alelos, genotipos, homocigotos y heterocigotos en la herencia debida a alelos múltiples.

Nro. alelos	Nro. genotipos	Nro. homocigotos	Nro. heterocigotos
1	1	1	0
2	3	2	1
3	6	3	3
4	10	4	6
5	15	5	10
n	$\frac{n(n+1)}{2}$	n	$\frac{n(n-1)}{2}$

NOTACIÓN DE GENES

A dominante, a recesivo

bw+ silvestre, bw café

B barra, B+ silvestre

w⁺, w^e, w^a alelos múltiples

+/+ cromosoma homólogo

a+/+b en el mismo cromosoma

Hb^AHb^S genes dominantes

GENES LETALES

Algunos genes alteran la viabilidad en los individuos portadores, si el gen en cuestión es dominante el homocigoto morirá, situación que ocurre también cuando el gen en cuestión es recesivo. Los genes letales suelen expresarse en los heterocigotos en los que disminuyen la viabilidad. Así, entre las aves de corral el gen C llamado rastrero en condición homocigota dominante es letal, en condición heterocigota produce un fenotipo que se denomina trepador, en el cual las aves no pueden volar, y en condición homocigota recesiva el individuo es normal. La proporción mendeliana 3:1 se transforma en

2:1 ya que desaparecen de la población $\frac{1}{4}$ de los individuos (Fig. 4.4).

P ♀♀ Cc x ♂♂ Cc
Trepador trepador

F1 ♀♀ y ♂♂

$\frac{1}{4}$ CC rastrero = letal

$\frac{1}{2}$ Cc trepador

$\frac{1}{4}$ cc normal

Fig. 4.4. Cruza, en aves de corral, entre organismos que portan un alelo letal. La proporción 1:2:1 pasa a ser 2:1 cuando un gen es letal

MODIFICADORES

Algunos genes modifican los efectos visibles de otros y por lo tanto alteran las proporciones mendelianas. Un supresor es un alelo que revierte el efecto de una mutación en otro gen, restituyéndose el fenotipo silvestre. Por ejemplo suponga que el gen a^+ produce un fenotipo normal, mientras que el gen a produce un fenotipo anormal. Una mutación recesiva en el gen supresor s suprime el efecto de a , de modo que, el genotipo $a/a s/s$ produce el fenotipo silvestre. Las supresiones pueden presentarse también en las cruza dihíbridas.

INTERACCIÓN GÉNICA

Los genes actúan determinando el fenotipo, el cual resulta de patrones altamente complejos e integrados de reacciones moleculares que están bajo control genético. La proporción mendeliana 9:3:3:1 implica la presencia de dos genes que se comportan y distribuyen independientemente uno de otro ya que cada

uno produce un carácter. A veces esta proporción se modifica debido a la acción de dos o más genes no alélicos que controlan la misma característica. El fenómeno de interacción génica fue descubierto por William Bateson y su colaborador Reginald Punnett en 1900 al estudiar la forma de la cresta en las gallinas. Al cruzar gallinas con cresta en forma de roseta por gallos con cresta en forma de chicharo en la F_1 aparece una nueva forma de cresta (nuez) como resultado de la interacción entre dos genes no alélicos; en la F_2 aparece otro tipo de cresta, el sencillo, resultado de la interacción de los dos genes (cuatro alelos) en forma recesiva (Fig. 4.5). La proporción dihíbrida 9:3:3:1 se produce debido a que las mutaciones se encuentran en dos rutas metabólicas paralelas (Fig. 4.6).

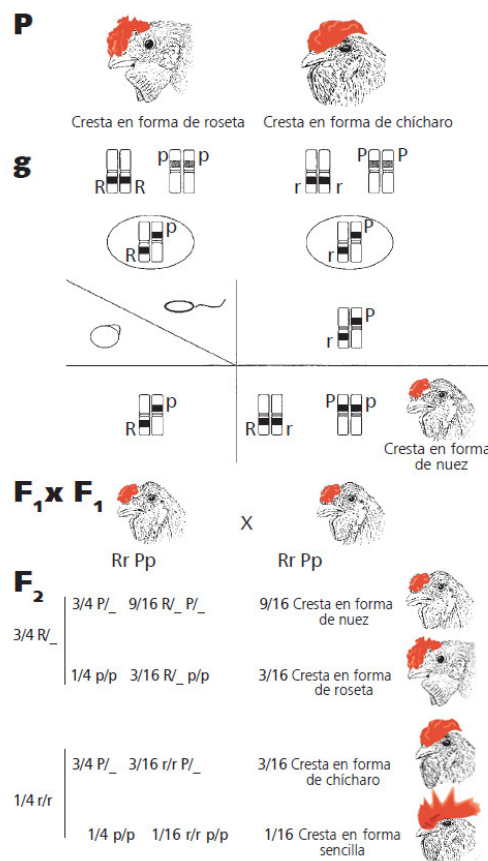


Fig. 4.5. Interacción génica: forma de la cresta en pollos

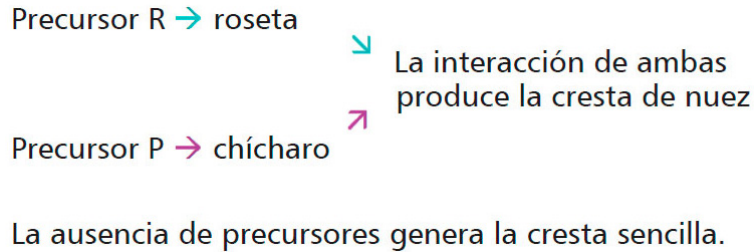


Fig. 4.6. Rutas de producción de las crestas

PROPORCIÓN 9:6:1= GENES DUPLICADOS CON EFECTO ACUMULATIVO

La forma del fruto en la calabaza puede ser esférica ($A/- b/b; a/a B/-$) discoidal ($A/a B/b$) o alargada ($a/a b/b$), así que cuando se cruzan dos líneas puras con forma esférica se obtienen en la primera generación calabazas con forma discoidal. Si éstas se auto fecundan en la siguiente generación se obtendrán 9/16 de calabazas con forma discoidal, 6/16 de forma esférica y 1/16 alargadas (Fig. 4.7). Cada alelo dominante sólo especifica un fenotipo, ambos alelos juntos generan un nuevo fenotipo, y cuando ambos alelos están en forma homocigota recesiva se produce un fenotipo diferente.

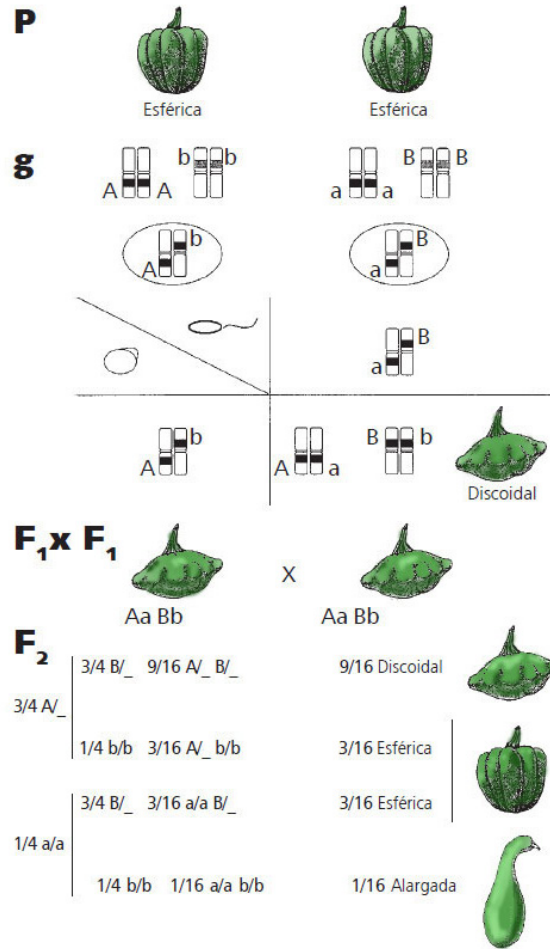


Fig. 4.7. Genes duplicados con efecto acumulativo proporción 9:6:1

Las bases bioquímicas de este patrón hereditario se desconocen, se presume que cada uno de los alelos en condición dominante específica la forma esférica, cuando están presentes dos alelos dominantes estos interactúan para generar el fenotipo discoidal y los cuatro alelos en forma recesiva producen el fenotipo alargado.

PROPORCIÓN 9:3:4 = EPISTASIS RECESIVA

Es un mecanismo genético en el cual la expresión de un gen interfiere con la expresión de otro gen que gobierna la misma característica. El gen que se expresa es epistático sobre el gen al que enmascara que se denomina hipostático. Este patrón fue

descrito al estudiar el color del pelaje en los roedores. Así cuando se cruzan entre sí ratones con pelaje agutí por albinos, la primera generación es agutí. Si se cruzan entre sí estos individuos en la segunda generación se obtienen 9 agutí: 3 negros: 4 albinos de los cuales 3/16 son $A+/- c/c$ en donde c/c se comportan como epistático y por lo tanto impide la expresión de $A+/-$ (Fig. 4.8).

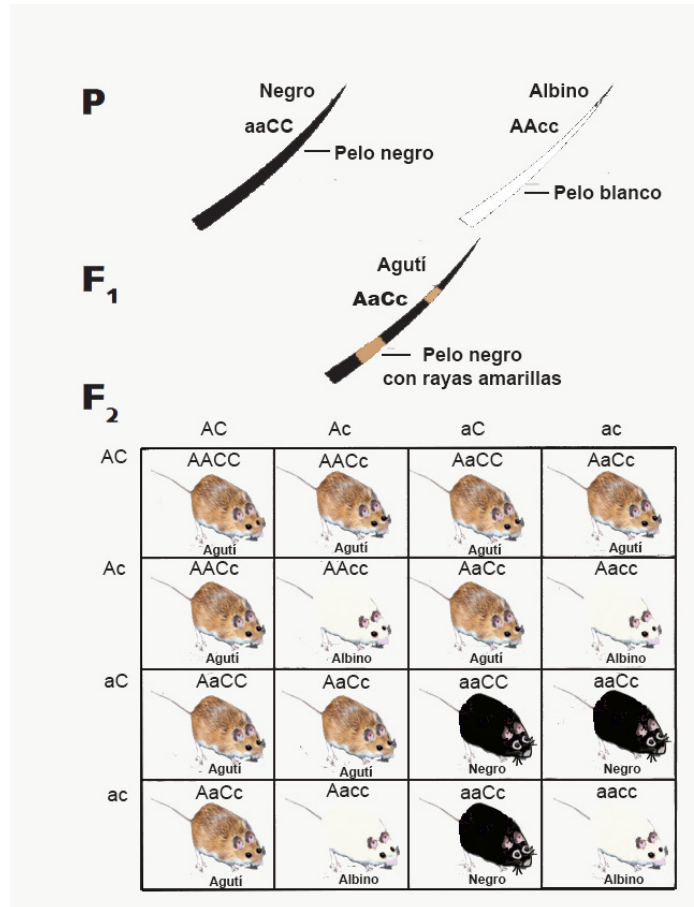


Fig. 4.8. Epistasis recesiva 9:3:4

En realidad son muchos los genes que controlan el color de la piel en los roedores. En un locus el gen C especifica el producto que es necesario para la producción del pigmento, su alelo c en forma homocigoto recesiva impide que se presente la coloración y por ello los roedores son albinos; el gen $A+$ determina el pelaje agutí, su alelo a produce pelaje no agutí. En otro locus el gen B especifica la

producción de pelaje negro, su alelo b produce color café. El gen S produce color parejo, su alelo s genera moteado. El gen D color intenso, su alelo d diluido. En el locus A+ el alelo múltiple A^Y produce color amarillo, el cual en condición homocigota es letal, en condición heterocigota (A^Y/A+) se produce color amarillo, mientras que la condición homocigota A+/A+ genera el pelaje agutí. La proporción que se obtiene en la progenie a partir de la cruce entre dos heterocigotos (A^Y/A+) con pelaje amarillo es la 2:1, característica de un gen letal (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Genes que controlan el color del pelaje en roedores.

Gen en un locus	Alelo
C = pigmentación	C = albino
A ^Y = amarillo	A ⁺ = agutí (codominantes) a = no agutí (recesivo)
B = negro	b = café
S = parejo	s = moteado
D = intenso	d = diluido

PROPORCIÓN 9:7= GENES RECESIVOS DUPLICADOS

El color de la flor en el chícharo dulce es púrpura, el cual es dominante sobre el color blanco dando una proporción 3:1, sin embargo, algunas variedades son blancas puras. Cuando se cruzan dos variedades puras blancas en la primera generación se producen solamente plantas con flores púrpura y en la segunda generación se obtiene una proporción de 9/16 púrpura y 7/16 blancas (Fig. 4.9).

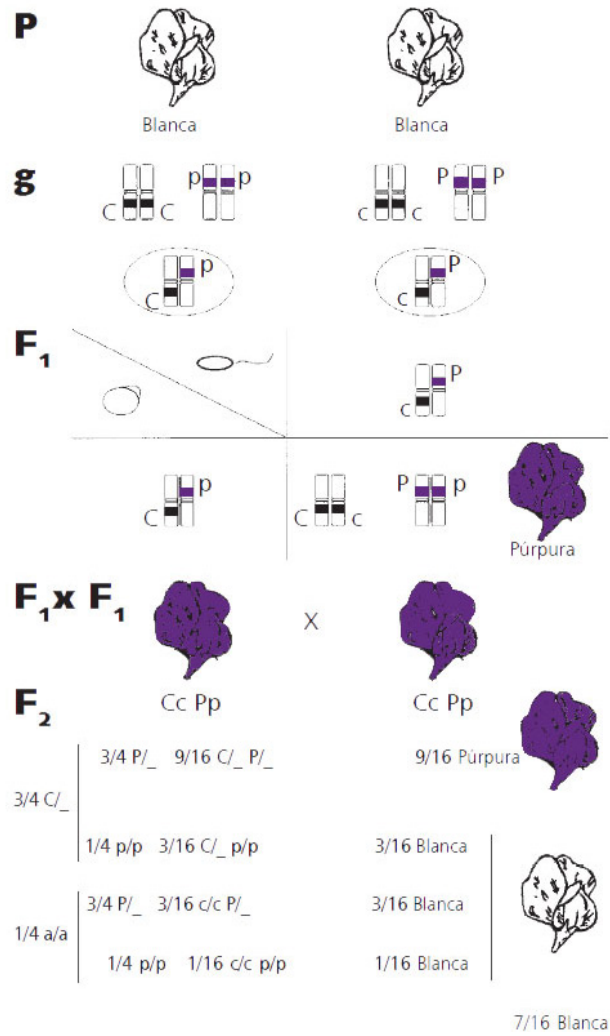


Fig. 4.9. Genes recesivos duplicados 9:7

Por lo tanto el púrpura se produce cuando al menos dos genes no alélicos ($C/-P/-$) interactúan para producir el color; el blanco se genera cuando al menos uno de los dos genes no alélicos se presenta en condición homocigota recesiva ($C/- p/p$, $c/c P/-$, $c/c p/p$) (Fig. 4.10).

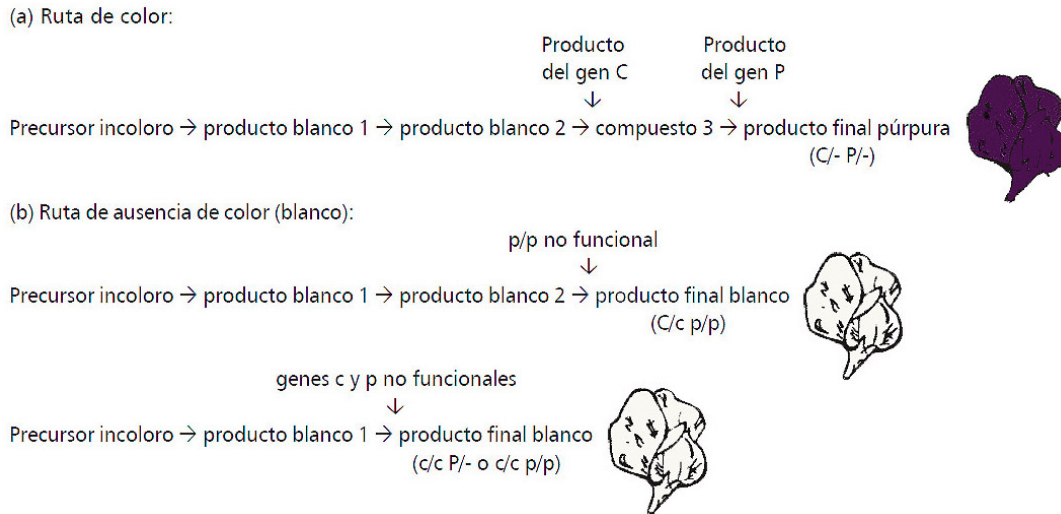


Fig. 4.10. Ruta bioquímica del aprón 9:7

PROPORCIÓN 12:3:1 = EPISTASIS DOMINANTE

Color del fruto en la calabaza Los genes W y Y controlan el color del fruto, éste puede ser blanco, verde o amarillo. Si se cruzan calabazas con color de fruto blanco por calabazas con color de fruto verde en la primera generación todas las calabazas tendrán color de fruto blanco y en la segunda se obtiene una proporción de 12/16 blanco, 3/16 amarillo y 1/16 verde (Fig. 4.11).

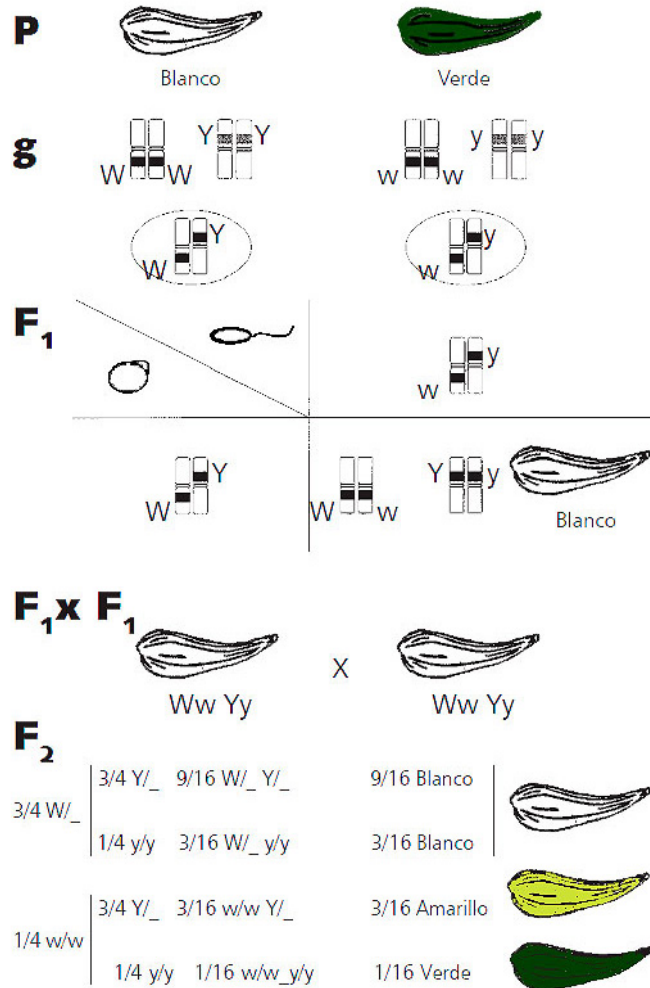


Fig. 4.11. Epistasis dominante 12:3:1

El gen W es epistático sobre Y al que inhibe, de modo que cuando un alelo W está presente el color será blanco, en las plantas w/w el color es amarillo, y cuando los cuatro alelos están en forma recesiva el color será verde (w/w y/y) (Fig. 4.12).

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

Epistasis recesiva 9:3:4. a/a es epistático para B/b.

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

Epistasis dominante y recesiva 13:3. A es epistático para B y b; b/b epistático para A y a.

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

Interacción genética 9:3:3:1. Dos genes no alélicos interactúan para producir un rasgo.

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb

ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb
----	------	------	------	------

Genes recesivos duplicados **9:7**. A/- B/- un fenotipo; otro fenotipo: a/a B/- A/- b/b y a/a b/b

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	Aabb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

Epistasis dominante **12:3:1**. A/- es epistático para B/- y b/b; a/a B/- otro fenotipo; a/a b/b otro distinto.

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	Aabb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

Epistasis dominante duplicada **15:1**. A es epistático para B y b, B epistático para A y a; aabb otro fenotipo.

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	Aabb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

Tabla 4.7. Relaciones de dominancia.

		A/A	A/A	A/a	A/a	A/A	a/A	a/a	a/a	a/a	
		B/B	B/b	B/B	B/b	b/b	b/b	B/B	B/b	b/b	
Más de cuatro clases fenotípicas	A y B dominancia incompleta	1	2	2	4	1	2	1	2	1	
Cuatro	A dom. completa B dom. completa	3		6		1	2	3		1	
Cuatro fenotipos	A y B dominancia completa	9				3		3		1	
Menos de cuatro fenotipos	A epistático para B y b	12						3		1	
	A epistático para B y b b/b epistático para A y a	12+1 (aabb) = 13						3		0	
	a/a epistático para B y b	9				3		4			
	a/a epistático para B ; b b/b epist. para A y a	9				7					
	A epistático para B y b; B epist. para	15									1

	A y a			
	Genes duplicados	9	6	1

EL AMBIENTE Y LA EXPRESIÓN GENÉTICA

La constitución genética del cigoto especifica el potencial del organismo para desarrollarse y funcionar. Muchos y muy variados factores pueden influir en la expresión de los genes durante el desarrollo y la diferenciación, uno de ellos es el ambiente, tanto interno como externo. El fenotipo resulta pues de la interacción entre el genotipo y el ambiente, así, plantas con genotipo dominante o heterocigoto para el rasgo altura del tallo (T/T o T/t) mostrarán el fenotipo alto si las condiciones del ambiente son adecuadas para el crecimiento. El gen se expresa en condiciones favorables de luz, agua, calidad y cantidad de nutrientes provenientes del suelo.

El desarrollo de un organismo a partir del cigoto es un proceso regulado en el cual se da el crecimiento y la diferenciación del embrión en formación. El desarrollo es esencialmente irreversible bajo condiciones ambientales normales. Los cuatro procesos principales que interactúan de manera muy compleja durante el desarrollo son:

- 1) La replicación del material genético.
- 2) El crecimiento.
- 3) La diferenciación en diversos tipos celulares.
- 4) La agregación de células para conformar los diferentes tejidos y órganos.

Cualquiera de estos procesos es susceptible a los cambios ambientales, si los productos de los genes que controlan estos patrones se ven afectados por el medio interno o externo. De modo que aunque los individuos tengan el mismo genotipo (como los gemelos monocigotos, los clones o las líneas puras) esto no quiere decir que los individuos muestren un fenotipo idéntico.

En algunos casos los individuos con un genotipo igual no muestran

el fenotipo, la frecuencia con la que un gen homocigoto recesivo se expresa en los individuos de una población se conoce como penetrancia. Ésta será completa (del 100%) cuando todos los individuos homocigotos recesivos, los homocigotos dominantes y los heterocigotos muestren el mismo fenotipo, por ejemplo, los sistemas ABO y MN. La penetrancia será incompleta cuando los individuos que porten un genotipo igual no muestran el fenotipo esperado (<100%), por ejemplo, el retinoblastoma, la polidactilia y la sindactilia son enfermedades autosómicas dominantes que presentan penetrancia incompleta ya que no todos los individuos que portan el gen muestran el fenotipo. La penetrancia se refiere entonces a la frecuencia con la cual un gen se expresa en una población de individuos con genotipo igual.

La expresividad de un gen se refiere al grado o nivel con el cual se expresa un gen en los individuos. La variabilidad en la expresión se presenta de severa a ligera pasando por la intermedia. La polidactilia muestra también expresividad variable en los individuos portadores: pueden presentarse varios dedos en una mano pero no en la otra, en un pie o en ambos. La osteogénesis imperfecta, otro carácter autosómico dominante, muestra penetrancia casi completa pero expresividad diferencial entre los seres humanos. Los tres rasgos más importantes de la enfermedad son esclerótica azul, fragilidad de los huesos y sordera. En los individuos en los cuales el gen se expresa de forma severa muestran los tres rasgos, en los de expresividad intermedia se presentan dos y en los de expresividad ligera solo una de las tres.

EFFECTOS DEL AMBIENTE INTERNO

En el ambiente interno se llevan a cabo continuamente diversos y complejos procesos bioquímicos, la dinámica integral de éstos con relación a la intrincada expresión de los genes en función del desarrollo y crecimiento del individuo empiezan a desvelarse. Así algunos factores relacionados con la expresión de los genes son la edad y el sexo del individuo.

La edad del individuo con relación a la expresión génica es un factor importante, ya que, sabemos que los genes no se expresan

todos al mismo tiempo. La corea de Huntington es una enfermedad que se presenta en los seres humanos adultos, se debe a un gen dominante que se manifiesta en individuos con constitución H^+/H , los síntomas iniciales de la enfermedad empiezan a manifestarse en la tercera década de la vida del individuo, los efectos devastadores en el sistema nervioso central que conducen a la muerte se presentan entre la cuarta y la quinta década de la vida. El gen se mantiene en la población porque cuando éste se manifiesta los individuos portadores ya formaron su familia y lo heredaron a sus hijos. La distrofia muscular de Duchene es otra enfermedad devastadora que también se debe a un gen dominante que se expresa entre los dos y los tres años de vida del niño. Este carácter tiende a desaparecer de la población, ya que los individuos afectados mueren antes de dejar descendencia.

El sexo puede limitar o influir la expresión de genes autosómicos. En el patrón de herencia limitada al sexo, uno de los dos sexos expresa los dos fenotipos que se esperan debidos a la herencia mendeliana, mientras que el otro sexo sólo expresa uno. En los pollos el gen h controla el tipo de plumaje, el genotipo h^+/h^+ genera plumaje de gallina, la constitución h/h produce plumaje de gallo en machos y plumaje de gallina en las hembras, el genotipo h^+/h genera fenotipo de gallina en ambos sexos (Tabla 4.8). La explicación de este hecho se basa en las notables diferencias que existen en ambos sexos en cuanto al tipo y cantidad de hormonas sexuales, las cuales son necesarias para el desarrollo de la piel y por lo tanto del plumaje.

Tabla 4.8. Patrón de herencia limitada al sexo en aves.

Genotipo	Fenotipo (Plumaje)	
	Hembras	Machos
h^+/h^+	Gallina	Gallina
h^+/h	Gallina	Gallina
h/h	Gallina	Gallo

En los seres humanos algunos caracteres limitados al sexo son la amplitud de la pelvis, la edad en la que se presenta la menstruación y la producción de leche que se expresan sólo en el sexo femenino.

La herencia influida por el sexo se da por un par de alelos con segregación 3:1, la dominancia y recesividad del gen en cuestión se manifiesta de manera inversa dependiendo de la constitución hormonal. La calvicie es un carácter influido por el sexo, en condición b^+/b^+ se produce cabello normal, el genotipo b/b produce calvos en ambos sexos, mientras que el heterocigoto b^+/b produce hombres calvos y mujeres normales. El gen b actúa como dominante en los varones y como recesivo en las mujeres (Tabla 4.9).

Tabla 4.9. Patrón de herencia influida por el sexo en los seres humanos.

Genotipo	Fenotipo		Proporción	
	Varones	Mujeres	Varones	Mujeres
b^+/b^+	Normal	Normal	3 Calvo	3 Normal
b^+/b	Calvo	Normal	1 Normal	1 Calvo
b/b	Calvo	Calva		

El labio leporino y el tartamudeo se expresan con mayor frecuencia en varones, mientras que la ausencia de incisivos laterales y el copete blanco se manifiestan más frecuentemente en mujeres.

EFFECTOS DEL AMBIENTE EXTERNO

Muchos factores del ambiente externo afectan la expresión de los genes, tales como la temperatura, la luz, los nutrientes, los agentes infecciosos y la exposición a compuestos químicos, entre otros.

La temperatura es un factor físico que modula las reacciones químicas que se llevan a cabo en las células. En la onagra *Oenothera lamarckiana* las flores tienen color rojo cuando la temperatura es de 23°C y blancas a una temperatura de 18°C. Entre

los conejos el color del pelaje puede mostrar diversos fenotipos que dependen de la temperatura. Los conejos himalaya criados bajo condiciones diferentes de temperatura pueden mostrar diversos fenotipos, tal como se muestra en la tabla 4.10. En *Drosophila melanogaster* el mutante sensible a la temperatura llamado *shibire* (del japonés paralizado) que codifica para la proteína dinamina, esencial para la transmisión nerviosa, es letal condicional bajo condiciones específicas de temperatura. Si las moscas se cultivan a una temperatura permisiva (18 a 20°C) serán viables, mientras que a temperaturas restrictivas (> a 29°C) las moscas al carecer de señalización sináptica se paralizan.

Tabla 4.10. Fenotipo de los conejos himalaya criados en diferentes rangos de temperatura.

Fenotipo	Temperatura
Himalaya con pelaje blanco	>30°C
Himalaya con orejas y patas negras	25°C
Himalaya con orejas, patas y manchas negras	<25°C

Los nutrientes pueden desencadenar la expresión de genes diversos. La fenilcetonuria es una enfermedad que se produce en los seres humanos por un gen autosómico recesivo. Los individuos fenilcetonúricos carecen de la ruta metabólica para transformar el aminoácido esencial fenilalanina en tirosina y por ello excretan desde el momento del nacimiento ácido fenilpirúvico. Este error congénito del metabolismo, descubierto por Archibal Garrod en 1908, produce retraso mental severo. Debido a que la enfermedad se detecta desde el nacimiento, puede controlarse mediante la eliminación de la dieta de los alimentos que contengan fenilalanina, lo que propicia que el niño se desarrolle normalmente.

Algunos compuestos químicos, como las drogas terapéuticas, pueden afectar el desarrollo embrionario, los organismos así

producidos se dice que son copias fenotípicas o fenocopias. Se entiende que las fenocopias son modificaciones no hereditarias que se manifiestan en el fenotipo y que son debidas a cambios ambientales, sin embargo, sus efectos pueden ser semejantes a los producidos por los genes. Entre los seres humanos, la exposición de mujeres embarazadas al agente sedante talidomida produjo, entre 1959 y 1961, nacimientos de niños anormales afectados en los huesos largos, húmero y fémur, de las extremidades. La droga fue retirada del mercado cuando pudo correlacionarse la ingesta del medicamento y los efectos devastadores que producen en los embriones en gestación. Estos efectos son muy semejantes a los que produce un gen autosómico dominante con expresividad diferencial.

La exposición de la madre embarazada al virus de la rubéola, entre los días 35 y 50 de la gestación, puede producir efectos muy severos en el embrión tales como cataratas, sordera y defectos cardíacos, efectos que también se producen por genes autosómicos recesivos. Así como la exposición de la madre al virus Zika, portado por el mosquito transmisor *Aedes aegypti*, genera microcefalia.

5. BASES CROMOSÓMICAS DE LA HERENCIA

A partir del análisis genético de la transmisión de las características de padres a hijos y entre generaciones, algunos investigadores pronto reconocieron que el comportamiento de los factores mendelianos durante la producción de los gametos es similar al comportamiento de los cromosomas durante la meiosis (Fig. 5.1). Lo cual indujo a los investigadores de principios del siglo XX a localizar a los genes en los cromosomas, y a Walter Sutton y Theodor Boveri (1903), de forma simultánea e independiente, a proponer la Teoría cromosómica de la herencia, que dice “los genes están en los cromosomas”. Para los estudiantes actuales la **teoría cromosómica de la herencia** no representa más que un hecho evidente por sí mismo, sin embargo, para la época en la que fue postulada requirió muchos años de investigación, finalmente facilitó el vínculo entre la genética y la citología y permitió establecer la integridad física de los cromosomas en la interfase, entre otros hechos.

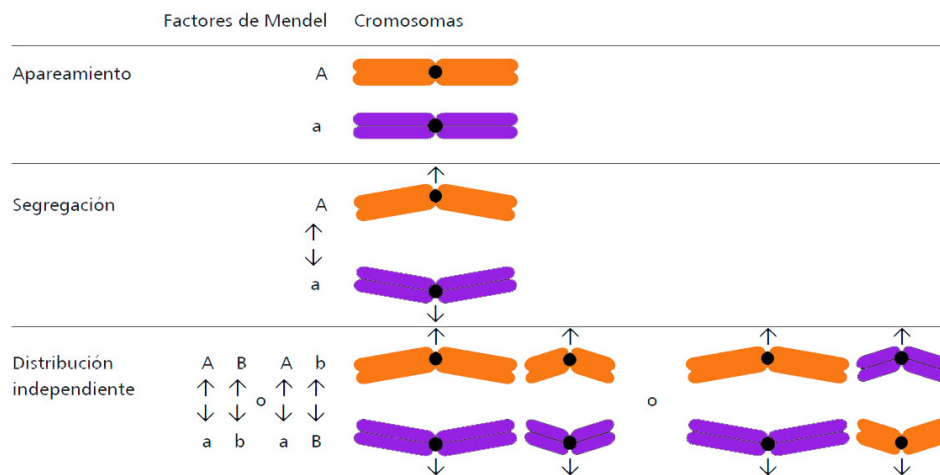


Fig. 5.1. Comportamiento paralelo de los genes y de los cromosomas durante la meiosis

DETERMINACIÓN DEL SEXO Y HERENCIA LIGADA AL SEXO

La prueba de la teoría cromosómica de la herencia ocurrió cerca de 10 años después de ser postulada, surgió de los experimentos

relacionados con la herencia de las características que portan los cromosomas sexuales, que están representados en forma diferencial en los dos sexos de los eucariontes. El descubrimiento de estos cromosomas provino de las investigaciones realizadas entre 1901 y 1905 por McClung, Wilson y Stevens, al estudiar la espermatogénesis de los grillos y otros insectos del género Orthoptera. McClung y colaboradores encontraron que todos los cromosomas menos uno, al que denominaron accesorio o adyacente, estaban apareados durante la meiosis en los machos (22 bivalentes más un cromosoma accesorio), mientras que en las hembras todos los cromosomas estaban apareados (23 bivalentes), sugiriendo que el cromosoma accesorio estaba involucrado en la determinación del sexo (Fig. 5.2).

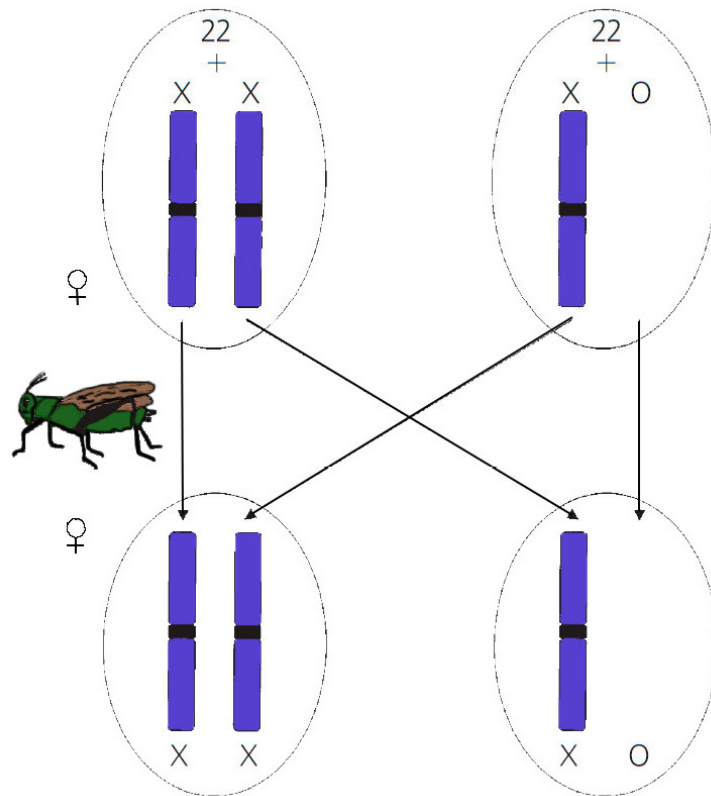


Fig. 5.2. Mecanismos de determinación del sexo XX-XO

Wilson y Stevens describieron el mecanismo involucrado y denominaron al cromosoma accesorio cromosoma X, de esta forma se dilucidó el mecanismo de determinación del sexo XX/XO. Pronto se descubrió, en otros insectos, en particular en *Drosophila*

melanogaster, el mecanismo XX/XY. Estos descubrimientos permitieron establecer que el sexo del producto se determina por el azar, dependiendo del gameto masculino que fertilice al óvulo, con una proporción de sexos en la especie de 1:1.

En 1910 Thomas Hunt Morgan descubre el patrón de herencia ligada al sexo, al observar en un cultivo silvestre de *Drosophila melanogaster* con color de ojos rojos a un macho con color de ojos blancos. Morgan cruzó a este macho por hembras de color de ojos rojos y encontró que en la primera generación todos los individuos tenían color de ojos rojos. Al cruzar a los miembros de la primera generación entre sí encontró en la segunda generación 2,459 hembras con color de ojos rojos, 1,011 machos con color de ojos rojos y 782 machos con color de ojos blancos (Figs. 5.3a y 5.3b). Ya que estos resultados se ajustan a la proporción mendeliana 3:1 se concluyó que rojo era dominante sobre blanco. Para determinar si las hembras podrían tener ojos blancos, Morgan hizo una retrocruza entre hembras de la primera generación heterocigotas con color de ojos rojos por machos con color de ojos blancos y obtuvo una segregación de 129 hembras con ojos color rojo: 132 machos con color de ojos rojos: 88 hembras con color de ojos blancos y 86 machos con color de ojos blancos. Una proporción cercana a 1:1:1:1 que es la típica de la retrocruza (Fig. 5.4). Al hacer la crucea recíproca entre hembras progenitoras con color de ojos blancos por machos con color de ojos rojos, en la primera generación obtuvo hembras de color rojo y machos con color de ojos blanco, y en la segunda generación hembras y machos con color de ojos rojos y hembras y machos con color de ojos blancos (Fig. 5.5).

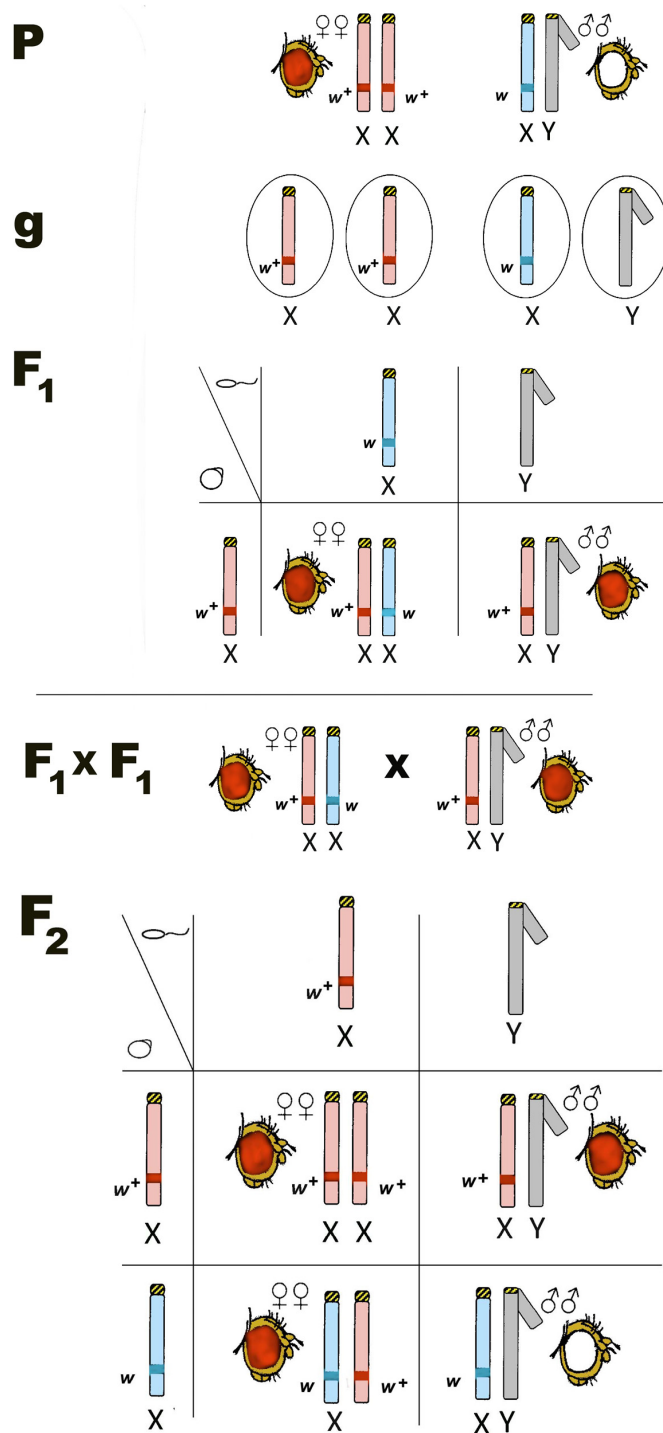


Fig. 5.3. Patrón de herencia ligada al sexo en *Drosophila* (Morgan, 1910)

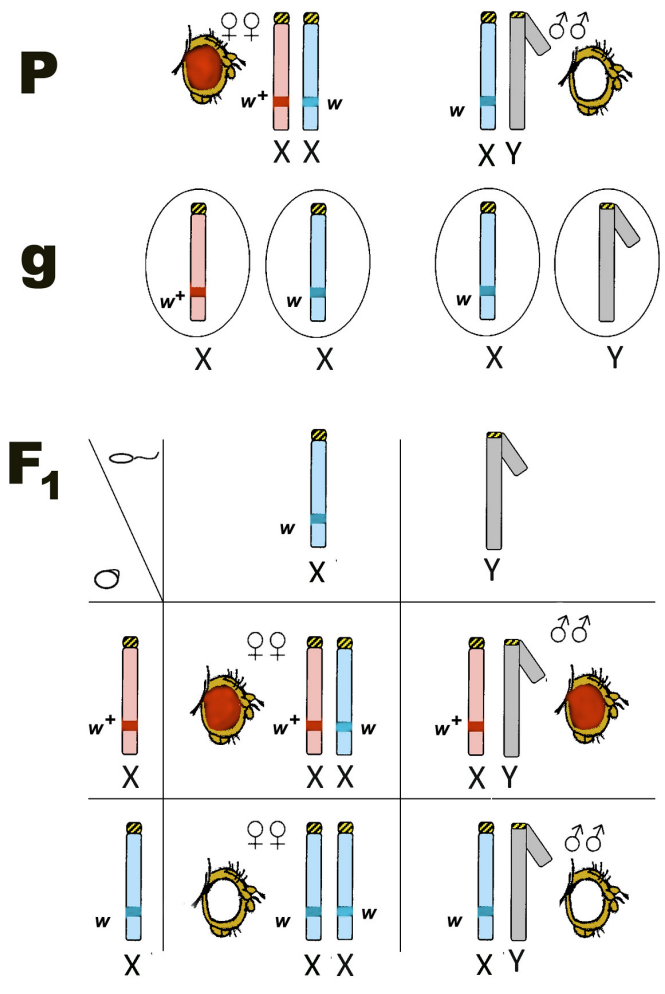


Fig. 5.4. Retrocruza entre hembras Heterocigotas por machos con color de ojos blanco

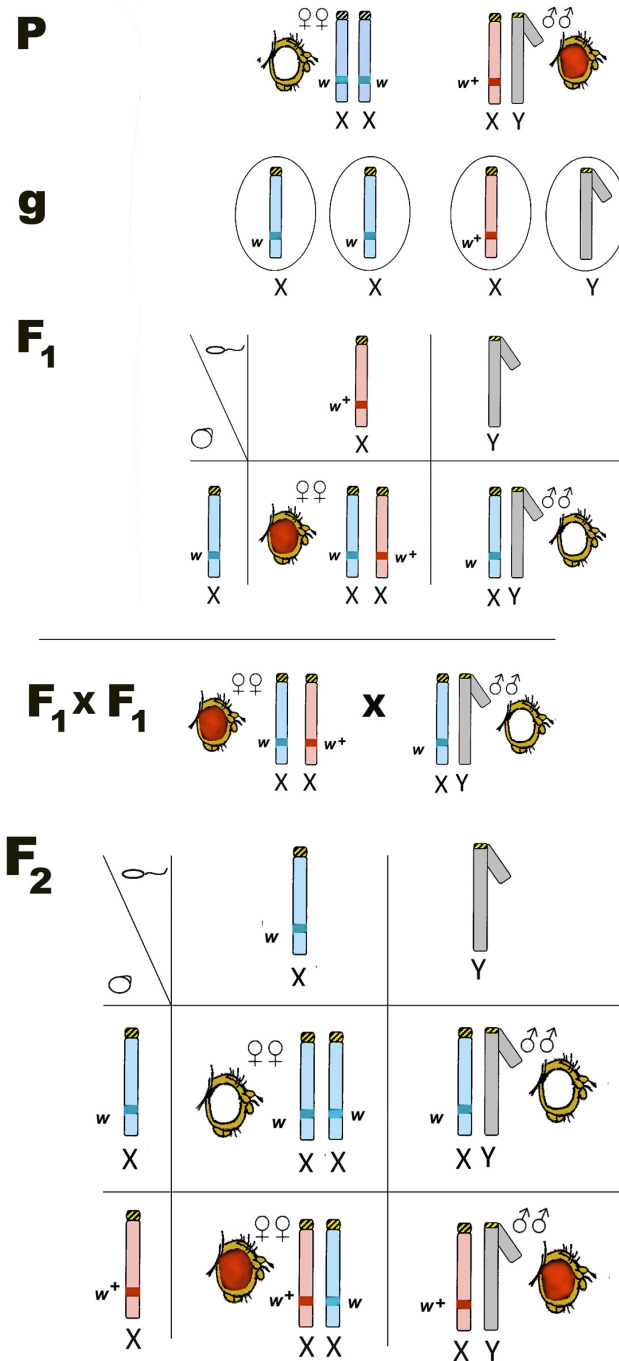


Fig. 5.5. Cruza recíproca entre hembras con color de ojos blancos y machos con color de ojos rojos

Por lo tanto en la herencia ligada al sexo la característica se hereda del abuelo al nieto a través de la hija que funciona como portadora; las cruza recíprocas producen resultados en la progenie diferentes; la expresión fenotípica es más frecuente en machos que

en hembras; un gen ligado al cromosoma X nunca se transmite directamente del padre al hijo.

En 1913 Calvin Bridges, un estudiante de Morgan encontró, en una cruce entre hembras de color de ojos blancos con machos de color de ojos rojos, una hembra entre 2,000 con color de ojos blancos y 1 macho entre 2,000 con color de ojos rojos (Fig. 5.6).

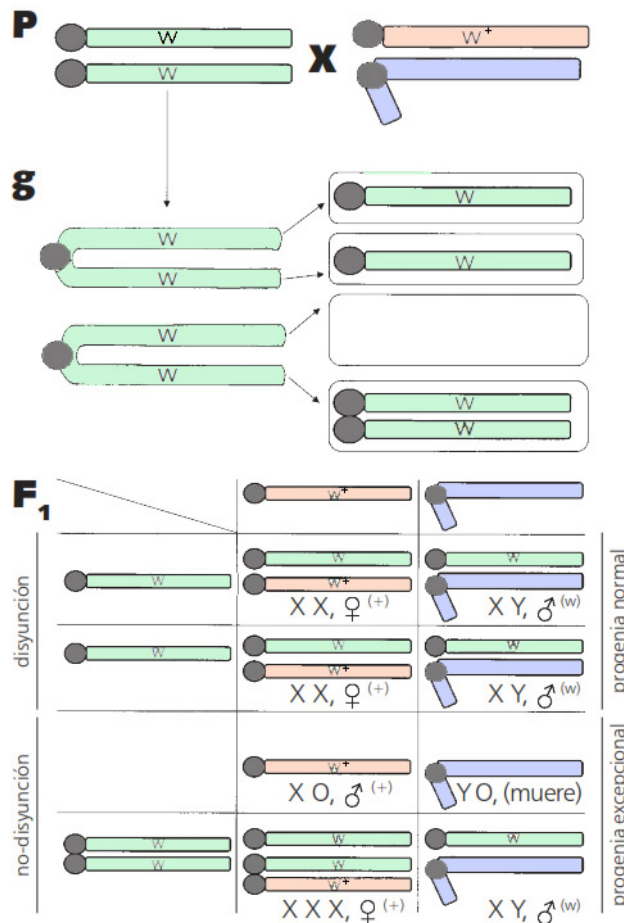


Fig. 5.6. Individuos provenientes de la no-disyunción primaria

La explicación de este hecho se basa en la falta de segregación de los cromosomas durante la meiosis, fenómeno conocido como no-disyunción primaria. Si la falta de segregación ocurre en la primera división meiótica se producen gametos XX y O, si la no-disyunción se presenta en la segunda división meiótica se producen gametos XX, O y X. Estos gametos al ser fertilizados producen en la siguiente generación cuatro genotipos diferentes: XX, XXY, XO y YO este último letal por lo que se obtiene una proporción 2:1 (Fig.5.7).

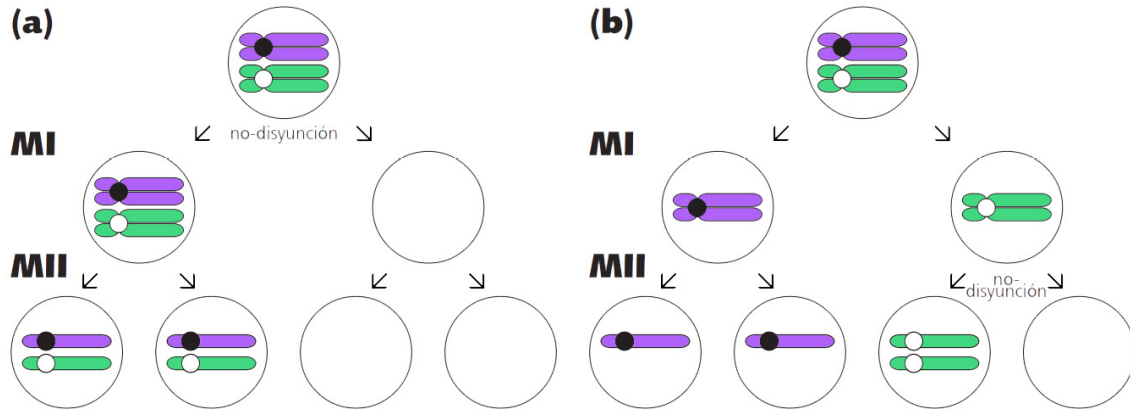


Fig. 5.7. Consecuencias de la no-disyunción primaria

a) en la primera división meiótica (XX, 0)

b) en la segunda división meiótica (XX, X, 0)

Bridges encontró que la hembra XXY, con color de ojos blancos, era fértil, mientras que el macho XO, con color de ojos rojos, era estéril. Bridges cruzó a la hembra excepcional XXY (blanco) con machos XY (rojo) y postuló que encontraría dos tipos de progenie: (a) la disyunción X, XY durante la meiosis en las hembras producirá, después de fertilización con gametos X ó Y, hembras XX (rojo) hembras XXY (rojo) machos XY (blanco) machos XYY (blanco); (b) la disyunción XX, Y durante la meiosis de las hembras producirá, después de la fertilización, hembras XXX (rojo, estéril), hembras XXY (blanco, fértil) machos XY (rojo) y machos YY (letal) (Fig. 5.8). Con estos experimentos Bridges demostró la correlación entre el patrón hereditario aneuploide con un gen específico, localizado en un cromosoma particular, es decir, demostró inequívocamente la teoría cromosómica de la herencia.

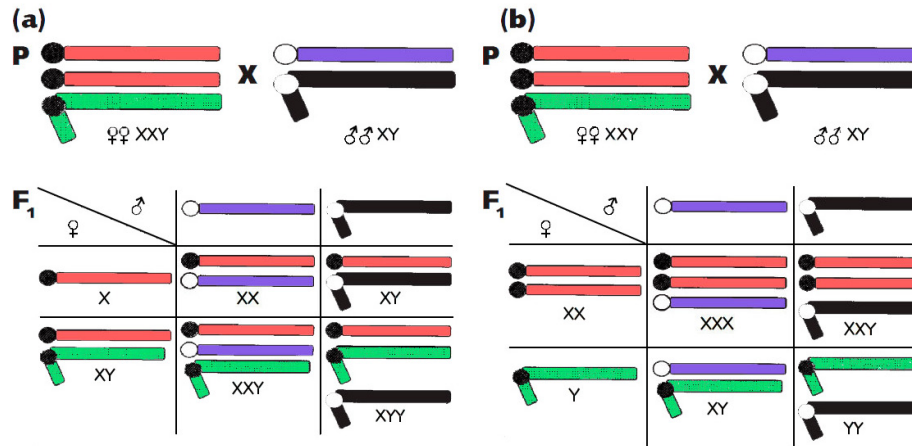


Fig. 5.8. Consecuencias de la no disyunción en hembras XXY

- a) Disyunción X, XY
- b) Disyunción XX, Y

EQUILIBRIO EN LA DETERMINACIÓN DEL SEXO

Bridges demostró en *Drosophila* que la determinación del sexo era más complicada que la simple segregación de los cromosomas sexuales, ya que los individuos XXY son hembras y los XO son machos, por lo que el cromosoma Y no está involucrado en la determinación del sexo, solo gobierna la fertilidad del macho. Los genes determinantes para el sexo femenino y para el sexo masculino se encuentran tanto en el cromosoma X como en los autosomas. Todos los individuos llevan genes determinantes para ambos sexos. Bridges postuló la **teoría del balance sexual** o **sistema de balance génico**, en la que la determinación del sexo depende del balance entre el número de cromosomas X y el número de autosomas. El cromosoma X tiene genes que producen efectos femeninos mientras que los autosomas contienen genes con efectos masculinos. Cuando el número de cromosomas X es igual al número de autosomas, relación 1:1, se produce una hembra; mientras que cuando el número de cromosomas X entre el número de autosomas genera una relación de 0.5 se produce un macho (Tabla 5.1).

Tabla 5.1. Equilibrio entre el número de cromosomas X y el número de autosomas en la determinación del sexo en *Drosophila melanogaster*.

Número de cromosomas X	Complemento de autosomas	% X : A	Sexo
2 (XX)	2	1	Hembra
1 (XY)	2	0.50	Macho
1 (XO)	2	0.50	Macho (estéril)
2 (XXY)	2	1	Metahembra (fértil)
3 (XXX)	2	1.50	Superhembra (estéril)
4 (XXXX)	3	1.33	Superhembra (estéril)
2 (XX)	3	0.67	Intersexo
4 (XXXX)	4	1	Hembra tetraploide
3 (XXX)	4	0.75	Intersexo

PATRONES DE HERENCIA LIGADA A LOS CROMOSOMAS SEXUALES

La herencia ligada al sexo por definición es la ligada al cromosoma X, la herencia parcialmente ligada al sexo se refiere a los genes que se localizan en la región homóloga de los cromosomas X y Y; la herencia holándrica es la ligada al cromosoma Y; el individuo hemicigoto es el que porta cromosomas sexuales heteromórficos (Fig. 5.9).

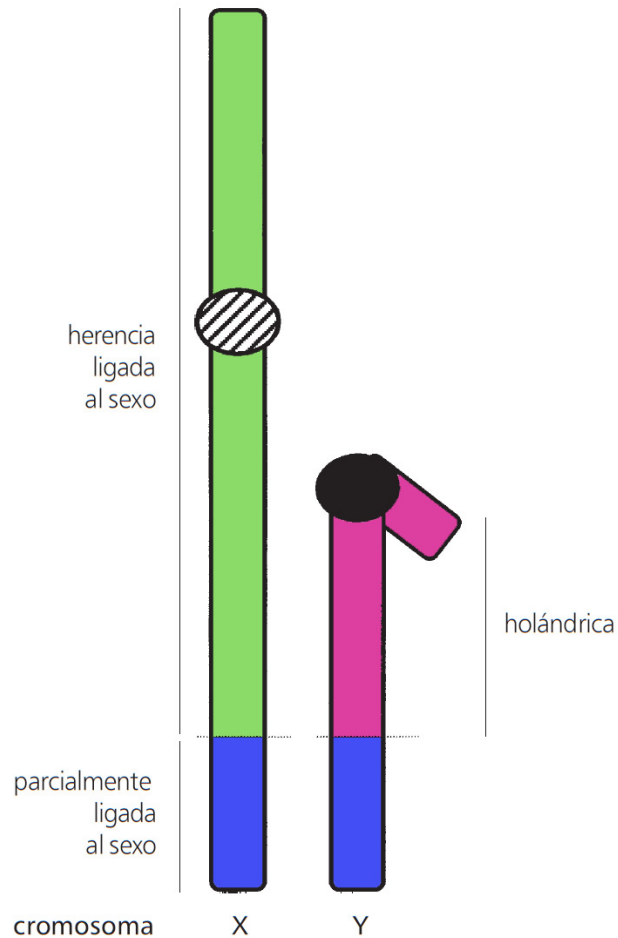


Fig. 5.9. Patrones de herencia ligada a los cromosomas sexuales

EL CROMOSOMA Y EN LA DETERMINACIÓN DEL SEXO

Bridges demostró que en *Drosophila* el cromosoma Y no determina el sexo su presencia asegura la fertilidad. En los mamíferos, en particular, en los seres humanos el cromosoma Y sí determina el sexo ya que los individuos XXY son varones y los XO son mujeres.

En otros vertebrados, como las aves, el mecanismo de determinación sexual por cromosomas es sensiblemente distinto. En estos organismos el sexo homogamético es el macho y el heterogamético es la hembra, lo que llevó a establecer el mecanismo ZZ-ZW.

Las plantas con flores suelen ser hermafroditas, se ha calculado

que alrededor del 85% de las fanerógamas presentan flores con estambres y pistilos. Cerca del 10% de las plantas son monoicas, es decir, coexisten flores masculinas y flores femeninas en la misma planta. En el maíz el sexo de la flor se define por genes simples, que determina si la flor será femenina (jilote) o masculina (panoja). El resto de las fanerógamas, alrededor del 5%, son dioicas, es decir, existen plantas femeninas y plantas masculinas, en ellas el sexo está determinado mediante el mecanismo XX-XY.

En la planta *Melandrium album* el sexo lo determina el cromosoma Y. Los genes que determinan la masculinidad se encuentran en el cromosoma Y, mientras que los que determinan la feminidad se encuentran tanto en el X como en los autosomas. El cromosoma Y es muy grande, en la porción diferencial se han identificado cuatro regiones que influyen en la determinación del sexo y en la fertilidad de las plantas macho. La región I suprime la feminidad, en ausencia de esta región las plantas son bisexuales; la región II promueve el desarrollo masculino, al perderse esta región la planta es femenina; la región III porta genes que aseguran la fertilidad de la planta masculina, en ausencia de esta región la planta es estéril la región IV es la homóloga entre el X y el Y (Fig. 5.10).

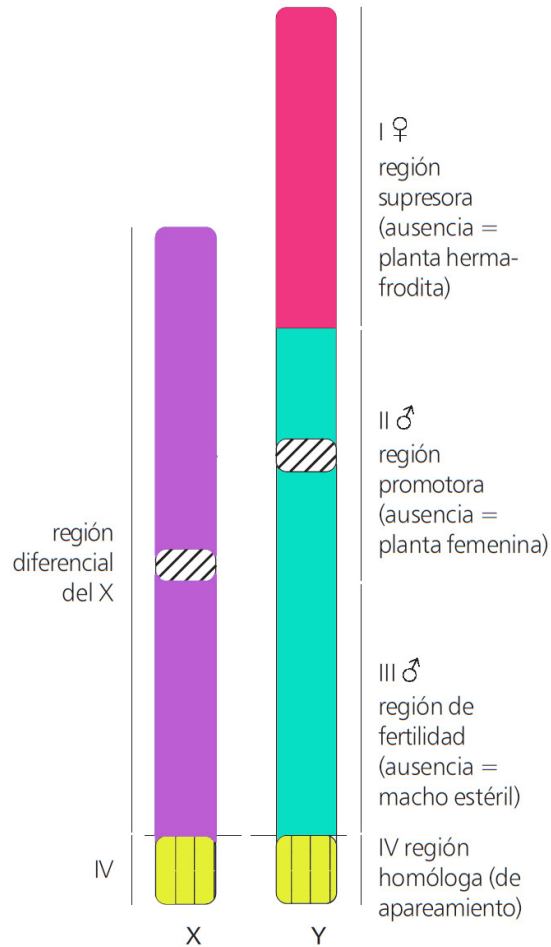


Fig. 5.10. Cromosomas X y Y en *Melandrium album*

En los seres humanos la determinación del sexo se lleva a cabo por el mecanismo XX-XY y como se señala más adelante la presencia del gen SRY en el cromosoma Y determina la masculinidad. El papel crucial que juega el cromosoma Y en la determinación del sexo en nuestra especie provino del análisis de dos desórdenes cromosómicos que afectan a los seres humanos. En 1959 se descubren el síndrome de Klinefelter ($2n = 47 XXY$) y el síndrome de Turner ($2n = 45 X0$). En el primer caso la presencia de un cromosoma Y funcional genera un fenotipo masculino. En el segundo caso la sola presencia de un cromosoma X produce un fenotipo femenino aunque disfuncional y acompañado de malformaciones.

HAPLO-DIPLOIDÍA EN HIMENÓPTEROS

En hormigas, avispas y abejas es frecuente que los machos se originen por partenogénesis, es decir, a partir de óvulos no fecundados y por lo tanto los organismos serán haploides. Las hembras, reinas y obreras, provienen de óvulos fecundados. Por lo cual este arreglo haploide-diploide está involucrado en la determinación del sexo.

En la avispa parásita *Habrobacon* los machos pueden ser haploides o diploides. Los machos que son haploides, pueden tener los genotipos X_a , X_b y X_c , mientras que los que son diploides siempre son homocigotos para los genes a , b y c (X_aX_a , X_bX_b y X_cX_c). Las hembras son siempre diploides y en condición heterocigota para estos genes (X_aX_b , X_aX_c , X_bX_c). Este gen se comporta en realidad como un alelo múltiple. Entonces la determinación del sexo en estos organismos se debe tanto a la condición haploide-diploide como a la presencia de alelos múltiples que en condición homocigota-heterocigota determinan el sexo del individuo.

HERENCIA LIGADA AL SEXO EN EL HOMBRE

Los análisis de transmisión de caracteres entre los seres humanos requieren, obviamente, de métodos diferentes a los análisis que se realizan mediante cruza controladas. Se construyen historias familiares ó árboles genealógicos los que permiten encontrar la clave de la transmisión.

De hecho la herencia ligada al sexo fue uno de los primeros patrones de herencia descubierto en el hombre. Ya desde la época griega se sabía que los caracteres se heredaban del abuelo al nieto a través de la hija que se suponía transmitía las características. La dificultad para distinguir los colores es una alteración que se conoce desde 1794 cuando John Dalton construyó el árbol genealógico para la ceguera parcial a los colores rojo-verde, hoy conocida como daltonismo. El de la hemofilia se construyó hacia 1793 (Fig. 5.11).

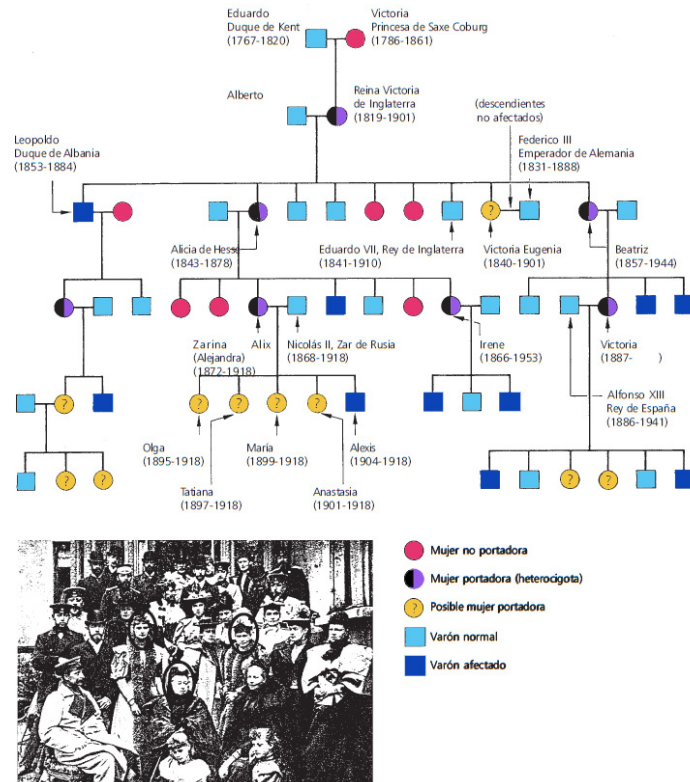


Fig. 5.11. Árbol genealógico de la transmisión de la hemofilia en monarquías europeas

El daltonismo puede presentarse para el color rojo, para el verde, o de forma parcial a otros colores. En cada caso está involucrado un gen.

GENES INCOMPLETAMENTE LIGADOS AL SEXO

Los cromosomas sexuales X y Y contienen por regla general una sección homóloga con genes que se heredan mendelianamente pero no independientemente del sexo. El locus bobbed de *Drosophila* fue el primer gen descubierto que se hereda parcialmente ligado al sexo. En los seres humanos la ceguera total a los colores, la retinitis pigmentosa, la nefritis y el xeroderma pigmentosum son caracteres que se encuentran en la región homóloga de los cromosomas X y Y.

LIGAMIENTO AL CROMOSOMA Y

Los genes que se encuentran en el cromosoma Y se heredan directamente de padre a hijo. Se han identificado al menos 6 genes

en el genoma humano que producen este patrón de herencia holándrica. La hipertrichosis del pabellón auricular es uno de ellos característica que se ha empleado en la medicina legal para determinar la paternidad. El gen TDF (factor determinante del testículo) identificado en el Y, juega un papel crucial en el desarrollo de la masculinidad.

LIGAMIENTO AL SEXO EN AVES

Entre las aves el mecanismo de determinación sexuales el ZZ-ZW, los machos son homocigotos y las hembras hemicigotas. El patrón de herencia ligada al sexo se transmite de la abuela a la nieta a través del hijo que funciona como portador. En las aves de corral el sexado de los pollos puede realizarse utilizando un gen ligado al sexo. El gen k^+ genera crecimiento normal de las plumas, su alelo k produce crecimiento lento de las plumas, de modo que al cruzar hembras con crecimiento normal de las plumas por machos con crecimiento lento en la siguiente generación se tendrán machos con crecimiento normal y hembras con crecimiento lento de las plumas (Fig. 5.12).

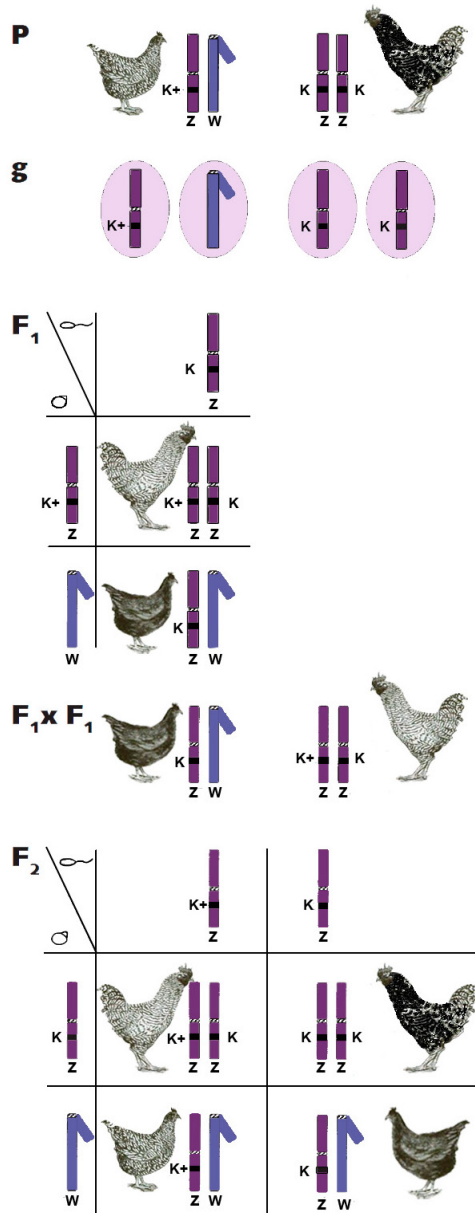


Fig.5.12. Autosexado en aves de corral

MECANISMOS MOLECULARES EN LA DETERMINACIÓN DEL SEXO

Las observaciones clínicas y el análisis cromosómico de varios hombres que mostraron diversas deleciones en el cromosoma Y permitieron establecer que solamente una pequeña región distal del brazo corto del cromosoma Y se requiere para producir el desarrollo masculino. Esta es la región cromosómica relacionada con el sexo en

el Y (SRY – *Sex determining Region on the Y chromosome*). Contiene el gen SRY que se localiza muy cerca de la región pseudoautosómica o homóloga al segmento distal del cromosoma X, que es la región que se aparea durante la meiosis del macho. El gen SRY tiene un solo exón y es miembro de la familia de factores de transcripción SOX (*Sex determining región Y – BOx 9*). En el ratón SRY se expresa solamente entre los días 10.5 y 12.5 del desarrollo embrionario,

El gen SRY se aisló y clonó en 1990 a partir del síndrome, común en ratones y seres humanos, que produce reversión sexual. Los individuos que padecen este síndrome tienen dos cromosomas X, pero fenotípicamente son machos (o varones). Los trabajos de Robin Lovell-Badge y Peter Goodfellow mostraron que estos individuos portan un fragmento del cromosoma Y en su genoma, duplicación que se produce por un proceso de recombinación ilegítima entre el cromosoma X y el Y. El pedazo de cromosoma Y se pega a uno de los extremos del cromosoma X. El fragmento del cromosoma Y porta un gen que induce reversión sexual en las hembras XX que muestran un fenotipo externo e interno totalmente masculino. Estos individuos son estériles. El síndrome de feminización testicular obviamente se presenta en individuos XY, los que son hemicingotos para el gen Tfm (mutación que induce la feminización testicular) que es un receptor de andrógenos que recibe la señal de la testosterona y entonces se producen los caracteres sexuales secundarios masculinos. El gen mutado es incapaz de recibir la señal de la testosterona lo que conduce a la ruta de feminización. Estos individuos fenotípicamente son hembras y estériles. El mecanismo molecular de determinación del sexo en *Drosophila melanogaster* se trata en el capítulo 16 sobre la regulación de la expresión genética en eucariontes.

DIFERENCIACIÓN SEXUAL

Una vez que queda determinado el sexo mediante la constitución cromosómica, XX o XY en las células primordiales, se presentan una serie de procesos constitutivos de desarrollo que ocurren pronto durante la embriogénesis y que conducen a la diferenciación gonadal tanto del género masculino como del femenino. Inicialmente todas las estructuras involucradas están indiferenciadas y bajo la influencia de

diversos genes se desarrolla el sexo gonadal. Los conductos de Wolf se desarrollan en presencia de testosterona y la médula gonadas dará origen a la vesícula seminal y a la próstata. En ausencia de testosterona los conductos de Müller darán origen a partir de la corteza gonadal al ovario, conductos de Falopio, útero y vagina superior.

CITOGENÉTICA

Es el estudio de la estructura física de los cromosomas y su correlación con las funciones genéticas. La citogenética moderna implica también el estudio de las funciones genéticas con métodos moleculares: hibridación, electroforesis, enzimas de restricción. La topografía cromosómica permite detectar los cambios en la estructura de los cromosomas. Para ello es necesario conocer primero la condición normal para luego, a través de la topografía alterada, establecer el tipo de cambio o mutación cromosómica que se produce.

TOPOGRAFÍA CROMOSÓMICA

Las partes estructurales de los cromosomas son la constricción primaria o centrómero, estructura que ocupa un lugar fijo en el cromosoma cuya función es la de dirigir a los cromosomas hacia los polos durante la división celular. Por su posición permite clasificar a los cromosomas en metacéntricos, cuando se encuentra en la parte media del cromosoma, el cual contiene dos brazos del mismo tamaño, submetacéntricos cuando se localiza en la región subcentral produciéndose dos brazos uno corto denominado p y uno largo denominado q; y acrocéntricos cuando el centrómero se encuentra en un extremo del cromosoma (Fig. 5.13). La constricción secundaria es una estructura que se tiñe menos intensamente que el resto de la cromatina; al menos existe una constricción secundaria por complemento cromosómico. En esta estructura se encuentran cientos de miles de copias que codifican para RNA ribosomal que una vez transcrito, al término de la división celular, se almacena en el nucleolo, estructura que entonces se hace evidente.

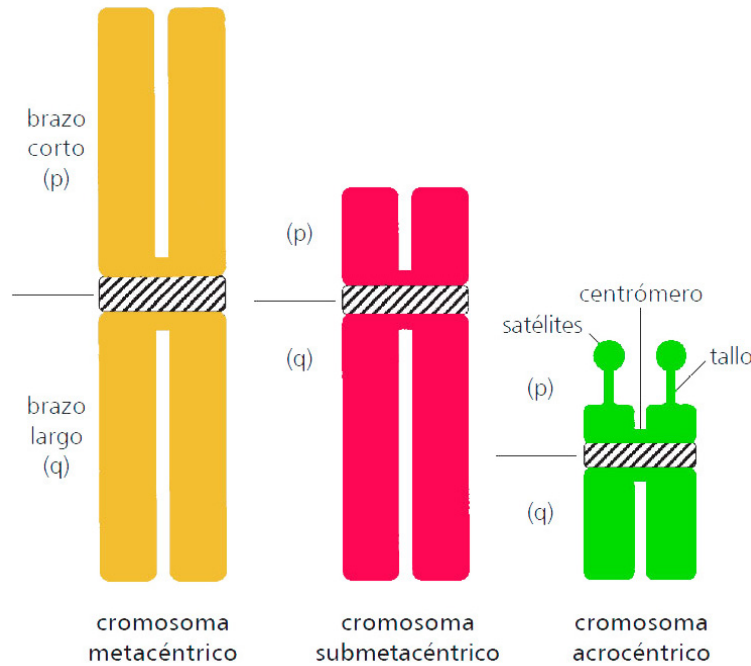


Fig. 5.13. Cromosomas metacéntrico, submetacéntrico y acrocéntrico

COMPLEMENTO CROMOSÓMICO

La ordenación de los cromosomas por tamaño constituye el cariotipo de una especie. El número normal de cromosomas en las células somáticas de los seres humanos es $2n= 46$. En las mujeres se encuentran 22 pares de autosomas y dos cromosomas X, en los hombres además de los 22 autosomas se encuentran dos cromosomas sexuales dimórficos: X y Y. El cariotipo consta de siete grupos de cromosomas (A al G) ordenados por tamaño de mayor a menor, y por posición del centrómero, de metacéntrico a acrocéntrico (Fig. 5.14). En el complemento se encuentran 5 organizadores nucleolares, 3 en los cromosomas del grupo D y 2 en el grupo G éstos son cromosomas acrocéntricos con satélites, estructuras que frecuentemente son indicadoras de la presencia del organizador nucleolar.

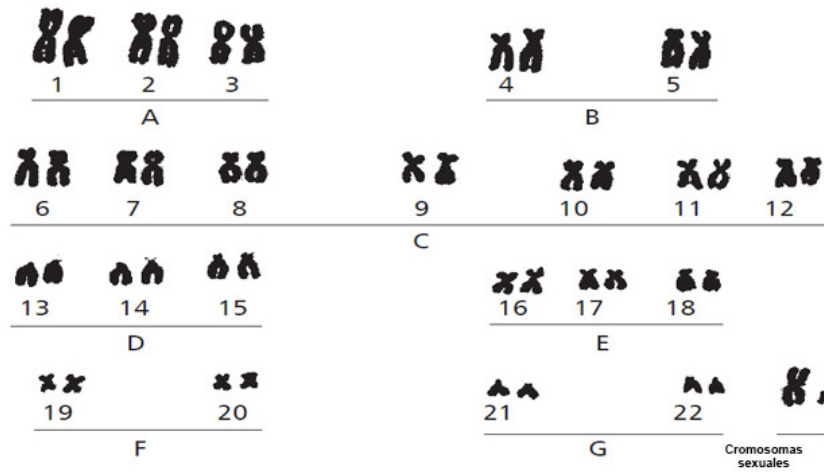
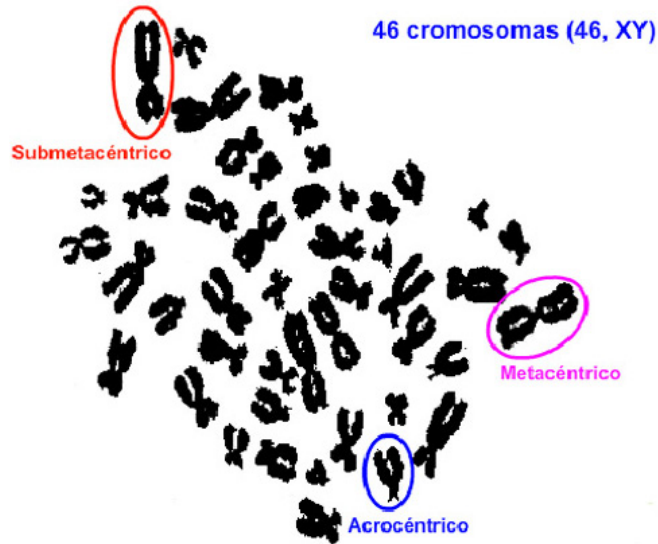


Fig. 5.14. Cariotipo normal humano

BANDEO CROMOSÓMICO

Las primeras técnicas de tinción de los cromosomas permitieron contar bien a los cromosomas que conforman el cariotipo de una especie, y observar alteraciones en su morfología cuando éstas eran muy evidentes. Posteriormente se desarrollaron nuevas técnicas de tinción, que permitieron identificar con precisión a cada uno de los pares de cromosomas, mediante la observación de los cromosomas teñidos diferencialmente, procedimientos que se conocen como técnicas de bandas o bandeo cromosómico. Las bandas Q se obtienen al tratar a los cromosomas ya fijados con fluorocromos,

como la quinacrina de ahí su nombre, los que tiñen a la heterocromatina constitutiva. Mediante el empleo de hidróxido de sodio (o de bario) como agente desnaturalizante y la reasociación en soluciones amortiguadores se logra la tinción de los centrómeros, de la heterocromatina constitutiva que los rodea, de los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos y de la porción distal del brazo largo del cromosoma Y (bandas C). Las bandas C pueden obtenerse también al tratar a los cromosomas con la endonucleasa de restricción Alu I. Las bandas C ponen de manifiesto la localización de la heterocromatina constitutiva que corresponde al ADN satélite o repetido.

Posteriormente se desarrollaron otros procedimientos en los cuales se hace una digestión suave con enzimas proteolíticas, como la tripsina y/o la endonucleasa Hpa II, y la subsiguiente tinción con el colorante Giemsa, que revela un patrón de bandeo transversal que muestra bandas claras y bandas oscuras. Este patrón de bandeo se conoce como bandas G, se cree que se debe a regiones de la cromatina que están más o menos condensadas de modo que las regiones más claras (menos densas) absorben menos colorante que las oscuras. En estudios de marcaje de los desoxiribonucleótidos se ha mostrado que las bandas claras contienen genes activos.

CROMOSOMAS POLITÉNICOS

Un tipo especializado de bandeo cromosómico naturales el de los cromosomas politénicos. Se encuentran en algunos órganos secretores de los dípteros, tales como las glándulas salivales y los tubos de Malpighi, en los cuales los cromosomas se replican sin que las cromátidas se separen, a medida que el cromosoma aumenta el número de réplicas se alarga. En particular los cromosomas politénicos de *Drosophila* han sido materia de investigación para muchos citogenetistas. *Drosophila* tiene un número cromosómico diploide de 8 cromosomas (Fig. 5.15.a). En las glándulas salivales de este insecto se presentan 2^{10} vueltas de replicación sin división celular lo que genera 1,024 fibras de cromatina en apareamiento somático generándose bandas e interbandas. Debido a que los cromosomas homólogos permanecen unidos durante el proceso de replicación en las células de las glándulas se observan sólo cinco

cromosomas. Los centrómeros están unidos en el centro en una estructura que se conoce como cromocentro (Fig. 5.15.b). El patrón de bandas e interbandas es específico de cada cromosoma politénico, Calvin Bridges pudo identificar, hacia 1936, alrededor de 5,000 bandas (Fig. 5.15.c) y construyó el mapa citológico al localizara los genes en las bandas. En los cromosomas politénicos pueden encontrarse zonas ensanchadas –denominadas puffs– o ampliamente distentidas –anillos de Balbiani– que corresponden a zonas de síntesis de RNA. Estos cromosomas han sido herramientas invaluable tanto para el estudio y análisis de los rearrreglos cromosómicos como para la localización por hibridación *in situ* de genes en los cromosomas.

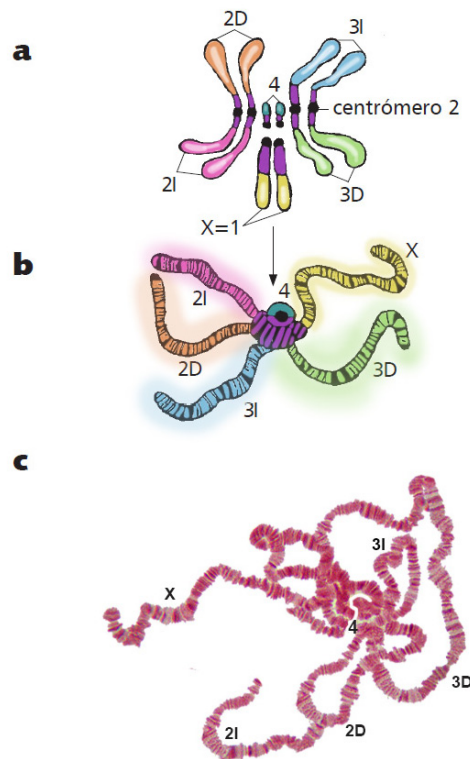


Fig. 5.15. Cromosomas de *Drosophila melanogaster*: a) cromosomas en metafase de una célula somática; b) resultado del proceso de endoreduplicación que da origen a la politenia; c) cromosomas politénicos (D: brazo derecho I: brazo izquierdo) y patrón de bandas e interbandas

FORMAS DE LA CROMATINA

La cromatina existe en los cromosomas en dos formas: laxa denominada eucromatina o cromatina verdadera que es la que se transcribe y traduce, y condensada denominada heterocromatina la que se replica, pero no se transcribe ni se traduce. La heterocromatina, a su vez, existe en las células en dos formas, la constitutiva y la facultativa. La constitutiva, como su nombre indica, siempre está condensada, se encuentra alrededor del centrómero en todos los cromosomas del complemento y en todos los eucariontes. La facultativa contiene genes activos que se condensan o inactivan en respuesta a condiciones fisiológicas durante el desarrollo. En las diferentes estirpes celulares del cuerpo de los eucariontes gran parte de la cromatina permanece condensada, estado que depende del tipo celular en cuestión. Un estado bien conocido de la heterocromatina facultativa es el cromosoma X en los seres humanos. En el varón es eucromático y en la mujer uno es eucromático y el otro se condensa durante el desarrollo embrionario, proceso que es al azar y ocurre al dieciseisavo día de la gestación.

CROMATINA SEXUAL

El sexo en embriones de mamíferos puede determinarse en células en interfase. Ya en 1909 Winiwater y Sainmont describieron un cuerpo basófilo en las células somáticas de algunos mamíferos. Para 1949 Murray Barr y Ewart Bertram encontraron estos cuerpos basófilos en células nerviosas de gatos hembras, mientras que en los machos estos cuerpos no aparecen. Esta diferencia constante se debe a, de acuerdo con Susumo Ohno quién fue el primero en sugerirlo, que en las hembras un cromosoma X está condensado e inactivado. Este cuerpo se conoce como corpúsculo de Barr o cromatina sexual, permite distinguir en células somáticas o en epitelios de descamación el sexo de un mamífero normal, además se utiliza para diagnosticar anomalías numéricas de los cromosomas sexuales, ya que siempre se encontrarán un número de corpúsculos de $n-1$ que el número de cromosomas sexuales (Tabla 5.2). El cromosoma Y en los seres humanos porta pocos genes, en general los asociados a la diferenciación sexual y a la fertilidad del macho, el resto es heterocromático. En particular el gen SRY (región del Y que determina el sexo) codifica para el producto de determinación

testicular (TDF) que induce a que el tejido embrionario gonadal se diferencie hacia testículos. En su ausencia (las mujeres XX carecen del gen SRY) se produce el desarrollo de la gónada femenina. La ausencia del cromosoma X es letal, no existen organismos vivos YO.

Tabla 5.2. Número de cromosomas X y de corpúsculos de Barr.

Nro. cromosomas sexuales	Nro. corpúsculos Barr
XY	0
X0	0
XX	1
XXX	2
XXXX	3
XXY	1
XXXY	2

COMPENSACIÓN DE DOSIS

La presencia de un número distinto de cromosomas X en hembras y machos en las especies, representa un problema para el desarrollo, ya que las hembras producen el doble de productos proteicos que los machos. Esta diferencia potencialmente es detrimental ya que la cantidad de proteínas representa un papel esencial durante el desarrollo. La compensación de dosis es un mecanismo que iguala la cantidad de proteínas producidas por los genes ligados al sexo. En *Drosophila melanogaster* la compensación de dosis se lleva a cabo mediante el aumento en la actividad de los genes ligados al X en los machos. En el gusano *Caenorhabditis elegans* se lleva a cabo reduciendo a la mitad la actividad genética de los genes ligados al X en hembras. En los mamíferos placentados, como ya se mencionó, el mecanismo de compensación de dosis implica la inactivación molecular de uno de los cromosomas X en las hembras.

Un buen ejemplo de inactivación de uno de los cromosomas X a

nivel del organismo es el del color del pelaje en los gatos domésticos (*Felis catus*). En estos mamíferos el color del pelaje se debe a muchos genes y puede ser liso o con manchas naranja y negras tipo carey que se conocen como calico. Un solo locus en el cromosoma X determina la presencia de color naranja. Los alelos de este gen son X^+ que produce pelaje negro y X^0 que genera pelaje naranja. Los machos al ser hemicigotos muestran su pelaje ya sea negro (X^+Y) o naranja (X^0Y), pero nunca calico (al menos que su constitución genética sea aneuploide X^+X^0Y). En las hembras el color del pelaje puede ser negro (X^+X^+), naranja ($X^0 X^0$) o calico (X^+X^0). En estas últimas los parches naranja son clones que derivan de una célula en la cual se inactivó el alelo negro; mientras que los parches negros se producen por la inactivación del alelo naranja en la célula original.

HIPÓTESIS DE LYON

En las hembras de los seres vivos que presentan dimorfismo sexual un cromosoma X es de origen materno y el otro cromosoma X es de origen paterno. ¿Cuál de los dos cromosomas se inactiva? ¿Es esta inactivación al azar? ¿Se inactiva el mismo cromosoma en todas las células somáticas? En 1962 Mary Lyon, propuso una hipótesis para responder a estas preguntas. La hipótesis de Lyon se refiere a la inactivación por azar de uno de los cromosomas X durante las etapas tempranas del desarrollo en los mamíferos. Se sugiere que es un mecanismo de compensación de dosis para los genes ligados al sexo, generándose un solo cromosoma X activo en los mamíferos, por lo que se produce una equivalencia en las copias funcionales de los genes ligados al sexo en ambos sexos. Este proceso de inactivación se conoce como lyonización. Cabe señalar que una vez que se inactiva un cromosoma X en una célula, se producirán líneas celulares con ese cromosoma inactivado, por lo cual las hembras de los mamíferos son mosaicos, en cuanto a la expresión fenotípica de los genes ligados al sexo.

El cromosoma que se inactiva se superhelicoidiza formando una heterocromatina facultativa que se le llama corpúsculo de Barr en honor al investigador que la descubrió. Barr y Bertram fueron los primeros en observar este cromosoma condensado en 1949 posteriormente Mary Lyon en 1961 sugirió que era el cromosoma X

inactivo.

La cromatina X es un corpúsculo intranuclear de forma planoconvexa que mide de 0.7 a 1.2 μm de diámetro y se tiñe con colorantes nucleares. La inactivación ocurre en los mamíferos durante el desarrollo temprano (del día 12 al 16 después de la fecundación).

La inactivación del cromosoma X requiere del gen XIST (*X-Inactivation Specific Transcript*) que se encuentra en ese cromosoma. XIST codifica para un mensajero grande que contiene entre 17 y 19 kb en los seres humanos y alrededor de 15 kb en ratón. El RNA de XIST se acumula a lo largo del cromosoma X y procede a inactivar a todos (o casi todos) los genes de ese cromosoma. Durante las primeras fases del desarrollo embrionario de la hembra el locus XIST se expresa en ambos cromosomas X pero rápidamente se inactiva en uno y permanece en otro, no se sabe cómo se elige al cromosoma que va a ser inactivado. La transcripción continúa en uno de los cromosomas lo que lleva a la acumulación de XIST RNA convirtiendo a ese cromosoma en un corpúsculo de Barr. La transcripción de XIST cesa en el otro cromosoma X permitiendo que sus genes se expresen. El «apagado» del locus XIST en el cromosoma X activo es realizado por la metilación de las secuencias reguladoras del XIST. La metilación comúnmente resulta en la represión del gen, de modo que, la metilación bloquea permanentemente la expresión del gen XIST y permite la continua expresión de los genes ligados al otro cromosoma X. La metilación de los restos de citosina en el DNA, especialmente en los sitios promotores, dificulta la transcripción.

Las metilaciones se producen en secuencias específicamente reconocidas que generalmente se agrupan en «islotas» ricas en GC, con frecuencia dentro o cerca de regiones reguladoras de la transcripción. La metilación de estos dinucleótidos inhibe la transcripción de los genes al interferir en la capacidad de los factores de transcripción para reconocer los sitios de unión en el DNA y creando una estructura de la cromatina altamente compacta (heterocromatina) y por lo tanto silenciando a ese gen. La inactivación del cromosoma X en el embrión de la hembra parece ser

completamente al azar. Por lo que no se puede predecir si será el cromosoma X de origen paterno o el de origen materno el que será inactivado en una célula particular. Este no es el caso para las membranas extraembrionarias (que formarán el amnios, la placenta y el cordón umbilical). El cromosoma heterocromático está por tanto hipermetilado, se replica de forma tardía y se encuentra hipoacetilado sobre un centro de histonas H2A.

Sin embargo, algunos genes que se encuentran en el cromosoma X escapan a la inactivación. ¿Qué pasa con los cerca de 18 genes que se encuentran en el cromosoma X y en el cromosoma Y? Las evidencias sugieren que al parecer no hay necesidad de que se inactive una copia para mantener el balance con la situación en los machos, por lo que estos genes escapan a la inactivación en hembras.

DETERMINACIÓN AMBIENTAL DEL SEXO

En algunos animales la determinación del sexo se produce por las condiciones ambientales debido a que no poseen cromosomas sexuales. El medio modifica el metabolismo de las células embrionarias, haciendo que se diferencien unas de otras y determinando el sexo. En algunos anfibios, reptiles y peces la temperatura es un factor ambiental determinante en la incubación de los huevos, en el desarrollo y la proporción de los sexos varía drásticamente entre las diferentes especies dependiendo de los regímenes de incubación. Generalmente se presentan rangos estrechos de temperatura (1-2 °C) que generan proporciones sexuales mixtas y temperaturas por encima o por debajo de este rango pueden determinar a uno u otro sexo únicamente. Este rango de temperatura es denominado rango de temperatura de transición y es un parámetro importante en la determinación del sexo en reptiles, el cual varía considerablemente entre poblaciones.

Gunther Köhler (2005) distingue 4 grupos en los que se pueden clasificar los tipos de determinación sexual, que se presentan en estos animales. (1) Las hembras se desarrollan en mayor proporción a los machos a temperaturas elevadas, y los machos se desarrollan en mayor proporción a las hembras a temperaturas bajas (tortugas).

(2) Ocurre al contrario, en donde a mayores temperaturas la proporción de machos será mayor, en cambio a bajas temperaturas la proporción de hembras será mayor (cocodrilos). (3) Las hembras se desarrollan en mayor proporción tanto a temperaturas bajas como altas, y los machos se desarrollan en mayor proporción a temperaturas intermedias (lagartos). (4) Sucede lo contrario al grupo anterior en donde la proporción de machos será mayor tanto a temperaturas altas como a bajas y la proporción de hembras será mayor a temperaturas intermedias (lagartijas).

La determinación sexual por temperatura en los reptiles es dependiente de hormonas como el estrógeno el cual es esencial para la formación del ovario. Cuando se inhibe la producción de estrógenos, los huevos eclosionan en machos aún cuando las temperaturas de incubación fueran para la producción de hembras. Asimismo, se determinó una correlación entre la enzima aromatasa y la cantidad de estrógenos, dado que esta enzima es la encargada de convertir la testosterona en estrógeno y se encuentra tanto en las gónadas como el cerebro. El factor *Sf1* (*Steroidogenic factor 1*) es un receptor nuclear que regula la transcripción de muchos genes corriente abajo, incluyendo muchas enzimas esteroideogénicas como la aromatasa. En la gonadogénesis temprana, modula la proliferación celular y previene la apoptosis en la formación de las gónadas bipotenciales en ambos sexos. También juega un rol importante en la determinación y el desarrollo de los testículos. En algunas especies como en la tortuga *Trachemys scripta*, se producen altos niveles de expresión de *Sf1* durante el desarrollo de los testículos al igual que aumenta los niveles de aromatasa en la determinación del ovario. Cinco genes específicos están involucrados en la formación de los testículos en las especies que tienen determinación sexual regulada por temperatura: *Sox9*, *Sox8*, *Fgf9*, *Mis* y *Dmrt*. Sin embargo, parece que los genes más importantes en la diferenciación de los testículos en las tortugas, cocodrilos y lagartijas son *Sox9* y *Dmrt1*, los cuales se expresan al comienzo de la formación de las gónadas y se restringen a la formación de testículos durante el periodo final de temperatura sensible. *Dmrt1* es un gen, que en algunas tortugas se expresa más a temperaturas bajas, esto origina un desarrollo mayor de machos en los huevos. En algunas

especies la proporción de machos se da a temperaturas altas, por lo que la expresión de *Dmrt1* es ayudada por la expresión de los genes *Sox*, en muchas especies por el gen *Sox9*, lo cual contribuye a que *Dmrt1* se exprese y puedan formarse los testículos en los embriones. En los cocodrilos se ha visto que la expresión de los genes *Sox* se presenta tanto en machos como en hembras durante el desarrollo gonadal. La diferenciación de los ovarios en reptiles es mediada principalmente por la participación de hormonas como el estrógeno y sus receptores $ER\alpha$ y $ER\beta$, sin embargo se han determinado la participación de dos genes específicos *FoxL2* y *Rspo1*.

6. ESTRUCTURA DE LOS CROMOSOMAS

En los eucariontes el DNA es una sola molécula linear que está asociada siempre a proteínas básicas del tipo de las histonas lo que conforma un complejo núcleo proteico denominado cromatina. Alrededor del 20% de la cromatina es DNA el resto son proteínas. La estructura de la cromatina fue dilucidada por Arthur Kornberg (1981) empleando a la DNAsa, enzima que rompe a los cromosomas en fragmentos pequeños a los que denominó nucleosomas. El nucleosoma es un octámero formado por dos unidades de las proteínas histonas H2A, H2B, H3 y H4. El DNA se enrolla en esta estructura proteica, cada nucleosoma contiene alrededor de 164 pb. La histona H1 es una proteína estructural que une a dos nucleosomas y se cree que los estabiliza (Fig. 6.1).

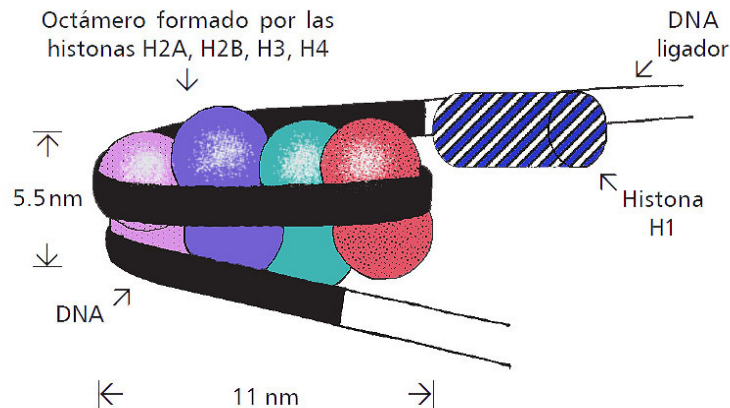


Fig. 6.1. Nucleosoma

El enrollamiento de los nucleosomas produce el solenoide, estructura que mide alrededor de 30 nm. Otro nivel de empaquetamiento convierte al solenoide en la estructura tridimensional que conocemos como cromosoma y que mide alrededor de 700 nm. Al remover químicamente a las histonas se ha observado, por microscopía electrónica, que el DNA aparece asociado a un esqueleto proteico que se conoce como andamio o

escalera. El tratamiento posterior de los cromosomas deshistonizados con nucleasas permitió aislar y caracterizar a las proteínas no histonas que forman la parte central del andamio. Por métodos inmunocitoquímicos, utilizando anticuerpos policlonales antiproteínas no histonas, se demostró *in vivo* que el antígeno se encuentra solamente en los cromosomas mitóticos, además se logró caracterizar a la proteína no histona que forma la escalera como la topoisomerasa II, enzima involucrada en el enrollamiento del DNA. Del andamio se proyectan lateralmente lazos de DNA. Los solenoides están arreglados como lazos que emanan de forma espiral de la matriz central (Fig. 6.2). La escalera central juega un papel muy importante en el mantenimiento de la organización estructural durante la replicación.

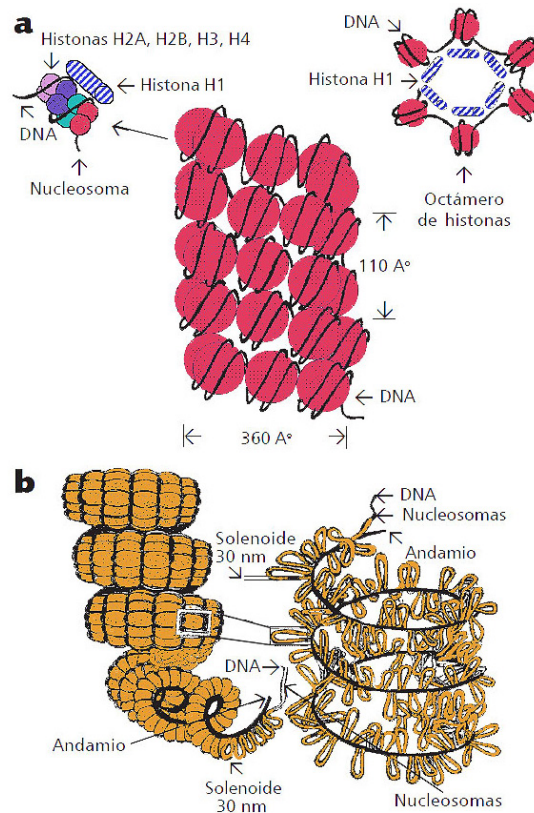


Fig. 6.2. (a) solenoide (b) andamio

CENTRÓMEROS Y TELÓMEROS

Los centrómeros son regiones específicas de los cromosomas de los eucariontes que se hacen visibles durante la condensación de los cromosomas. Son el componente principal del cinetocoro y están formados por un complejo de DNA y proteínas a los cuales se unen las fibras del huso acromático y mueven a los cromosomas hacia los polos durante los diferentes procesos de división celular (mitosis y meiosis). Se ha mostrado, por microscopía electrónica, que el centrómero de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* contiene una sola fibra proteica, complejo que está formado por unos 220 pares de bases. Las secuencias que lo conforman son cuatro regiones denominadas CDE, de las cuales tres están muy conservadas y la cuarta (CDE4) es muy variable de un centrómero a otro (Fig. 6.3). En la mayoría de los eucariontes el centrómero está formado por varias fibras que contienen grandes cantidades de DNA repetitivo denominado satélite alfa, secuencias que contribuyen a la actividad del centrómero.

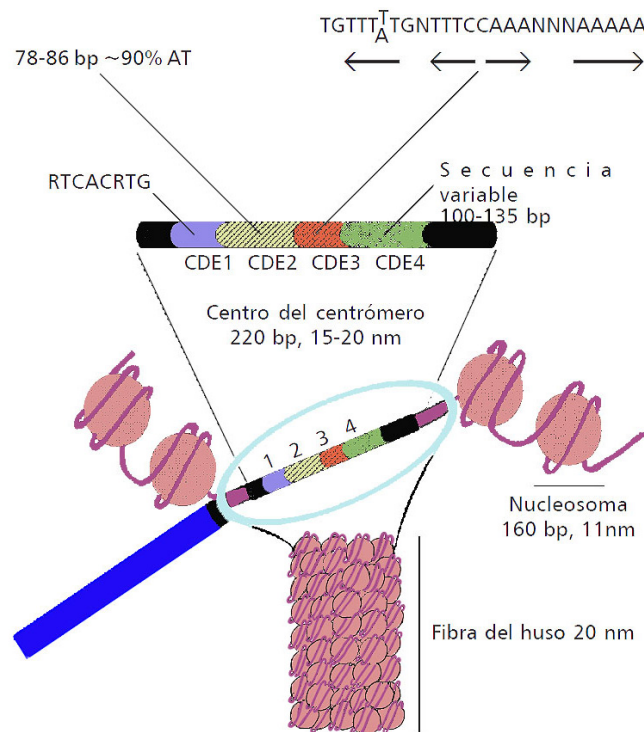


Fig. 6.3. Centrómeros de *Saccharomyces cerevisiae*. La letra R denota a cualquier purina y la N a cualquier nucleótido

Los telómeros son las partes terminales de los cromosomas, fueron identificados por Hermann Müller en los años 1930s, están conformados por un complejo especial DNA-proteína, y son esenciales ya que proveen de estabilidad a los cromosomas. En casi todos los eucariontes estudiados, el ADN telomérico (ADNt) consiste de repeticiones en tandem de pequeñas secuencias nucleotídicas con una distribución asimétrica de los pares G : C, las G se acumulan en una de las hebras (hebra G) y se encuentran agrupadas. La hebra G está orientada de 5' a 3' hacia el extremo del telómero y forma el extremo 3' del ADN cromosómico. En la zona más extrema no está apareada formando un segmento final monofibrilar con una longitud que varía según la especie. La longitud del telómero es variable. En *Oxytricha* y *Euplotes* es apenas de 38 pb mientras en ratones alcanza 150 kb. Cada organismo posee una longitud media característica. La cantidad de ADNt por cromosoma también fluctúa.

En algunos organismos la longitud promedio de los telómeros responde a cambios genéticos o nutricionales. Las secuencias de ADNt mejor caracterizadas se muestran en la tabla 6.1. La mayoría de las secuencias son cortas y precisas, como en *Tetrahymena* que es de 6 pb (TTGGGG). Sin embargo, en *S. cerevisiae* es heterogénea, y muy larga en *Kluyveromyces lactis* donde presenta 25 pb. Especies muy distantes pueden presentar la misma secuencia, como los vertebrados, y especies muy cercanas como *Tetrahymena* y *Oxytricha* ser diferentes aunque muy relacionadas.

Tabla 6.1. Secuencias de ADN telomérico mejor caracterizadas.

Organismo	Secuencia
Tetrahymena	TTGGGG
<i>Oxytricha</i>	TTTTGGGG
<i>Giardia</i>	

	TAGGG
<i>Physarum</i>	TTAGGG
<i>Kluyveromyces</i>	TCGGATTTGATTAGGTATGTGGTGT
<i>Neurospora</i>	TTAGGG
<i>Caenorhabditis</i>	TTAGGG
<i>Vertebrados</i>	TTAGGG

Las proteínas teloméricas (PT) pueden presentarse asociadas al extremo monofibrilar o a la zona adyacente de doble hebra. El mecanismo que restituye los extremos de la molécula de DNA en un cromosoma recae en la enzima telomerasa, activa en las células germinales e inactiva en las células somáticas de los seres humanos. En las células somáticas se va generando un acortamiento de los telómeros en cada división celular debido a que la DNA polimerasa no puede añadir nucleótidos en el extremo 3' pero las telomerasa si, de modo que cuando el telómero alcanza un cierto límite la mitosis se interrumpe y las células quedan en estado G0. En las células cancerosas la telomerasa se reactiva lo que promueve, entre otros mecanismos, la proliferación celular. La enzima es una ribonucleoproteína y para su actividad son esenciales tanto el componente proteínico como el ARN. Las telomerasas difieren de todas las polimerasas en que utilizan un molde interno en vez de uno externo, lo cual impone limitaciones estéricas específicas para la elongación del iniciador y la catálisis. La telomerasa alarga el ADN iniciador por la adición uno a uno de los desoxinucleósidos trifosfatados y así genera las repeticiones en tandem de los telómeros. Actualmente, se propone la existencia de 2 sitios enzimáticos independientes de interacción con el ADN iniciador. Uno contiene el molde de ARN y alinea el extremo 3' del iniciador para su elongación en el centro catalítico. El otro se une al ADN iniciador hacia el extremo 5' del molde y proporciona una vía de salida para la hebra en crecimiento. Este modelo explica la adición de varias repeticiones sin que la enzima se disocie del ADN iniciador. Este sitio

catalítico único debe moverse en relación con el ARN molde. La enzima posee también actividad de endonucleasa que pudiera estar relacionada con una función de corrección.

MUTACIONES CROMOSÓMICAS

La mayoría de los individuos de las especies diploides ($2n$) contienen dos dotaciones haploides de cromosomas (n), una de origen paterno y otra de origen materno. Sin embargo, algunas veces ocurren variaciones en este patrón, las que incluyen cambios en el número individual de los cromosomas del complemento, cambios en el complemento total y cambios en la estructura, variaciones debidas al reordenamiento del material genético. Estos cambios se conocen genericamente como mutaciones cromosómicas, término que se aplica tanto al proceso que les da origen como al producto que resulta.

Las mutaciones o aberraciones cromosómicas son de dos tipos. Cambios en el número de los cromosomas y cambios en la estructura.

CAMBIOS EN EL NÚMERO DE CROMOSOMAS

El número cromosómico puede cambiar de forma espontánea en las células debido a accidentes durante la segregación. Este proceso ha ocurrido desde que se originó la vida en la Tierra. Muchos de los vegetales con los que los seres humanos nos alimentamos contienen números cromosómicos que han cambiado en el curso de la evolución. Muchos agrónomos manipulan el número cromosómico en sus huertos con el propósito de obtener plantas con un valor alimenticio mayor, ya que se ha asociado el tamaño del vegetal con las reservas alimenticias.

La relevancia principal de los números cromosómicos se refiere a nuestra especie, si se considera que la mayoría de las enfermedades determinadas genéticamente se producen por cambios en el número de los cromosomas. Además se sabe que alrededor del 15% de los embarazos en los seres humanos terminan en abortos espontáneos y, en alrededor de la mitad el feto contenía números cromosómicos anormales.

Las especies de eucariontes normalmente tienen un número diploide de cromosomas en sus células somáticas, y un número haploide en los gametos. Los cambios numéricos completos generan las euploidías, mientras que los cambios numéricos de un cromosoma del complemento producen las aneuploidías (Tabla 6.2).

Tabla 6.2. Terminología empleada para denotar los cambios en el número de cromosomas.

Término	Se refiere a:
EUPLOIDÍA	Múltiplos de n
Monoploide (haploide)	n
Diploide	2n
Triploide	3n
Tetraploide	4n
Poliploide	3n, 4n, 5n, etc.
Autopoliploide	Múltiplos del mismo genoma
Alopoliploide	Múltiplos de diferentes genomas
ANEUPLOIDÍA	$2n \pm$ cromosomas
Monosomía	$2n - 1$
Trisomía	$2n+1$
Tetrasomía	$2n+2$

Euploidias

Los cambios numéricos completos, que impliquen múltiplos del número haploide, se conocen también como poliploidias, se denotan con el sufijo -ploide. Se pueden encontrar individuos $3n$, $4n$, $5n$, $6n$, etc. La poliploidía es muy rara en el reino de los animales, sin

embargo, es muy común en el reino de las plantas. Se ha calculado que la mitad de las fanerógamas conocidas son poliploides, por lo que se asume que ha sido un mecanismo importante en la evolución del reino.

Los monoploides (n) se desarrollan por partenogénesis, sus gametos se forman por mitosis. Si un monoploide sufre meiosis, la probabilidad de que todos sus cromosomas se vayan a un polo es: $(1/2)^x$ donde x es el número de cromosomas.

La poliploidía par (4, 6, 8...) suele ser más exitosa, que la impar (3, 5, 7...). En esta última se generan problemas durante la sinapsis en la meiosis I lo que produce gametos inviables, con un número impar de cromosomas, debido a que no están equilibrados genéticamente.

La poliploidía puede originarse por fallas en la segregación cromosómica durante la meiosis (no-disyunción primaria o secundaria), generándose gametos diploides, que se unen por autofertilización produciendo un individuo tetraploide ($4n$) mecanismo conocido como *autopoliploidía*. Los autopoliploides pueden obtenerse mediante inducción, aplicando choques térmicos durante la meiosis, con el empleo del alcaloide colchicina en las células somáticas durante la mitosis. La colchicina interfiere con la formación del huso acromático por lo que los cromosomas no pueden separarse durante la anafase y migrar hacia los polos. De modo que cualquier autopoliploide porta juegos múltiples de cromosomas del mismo genoma. Los autopoliploides impares pueden tener problemas durante la meiosis por los multivalentes que se forman durante la sinapsis, distorsión en la segregación que produce gametos inviables. Por ejemplo los triploides son usualmente autopoliploides que pueden originarse cuando un individuo tetraploide sufre meiosis y sus gametos ($2n$) son fertilizados por un gameto haploide (n) (Fig. 6.4)

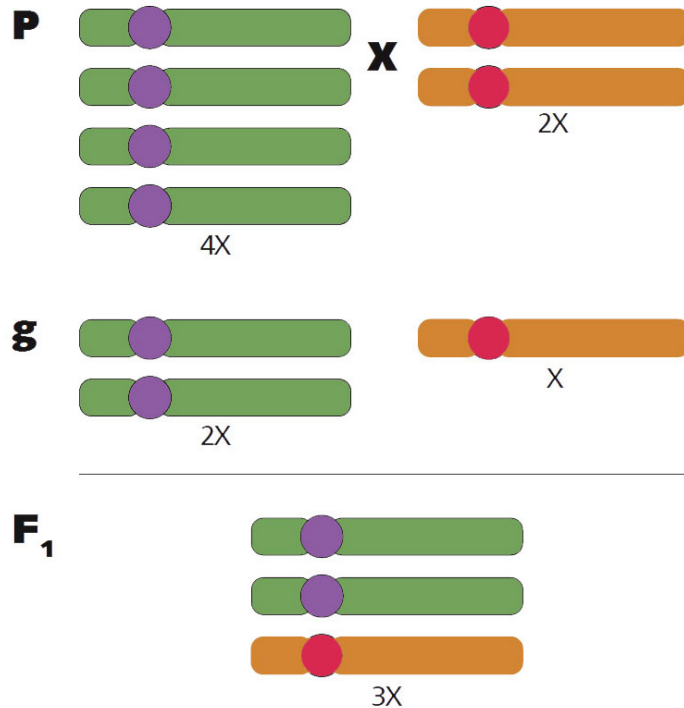


Fig. 6.4. Triploides originados por autopoliploidía

Los plátanos comerciales son triploides ($3n = 33$). La probabilidad de que en la meiosis todos los univalentes pasen al mismo polo es $(1/2)^{n-1} = 1/1,024$ de modo que efectivamente son estériles y sin semillas, cualidad muy apreciada tanto por productores como por consumidores.

Los autopoliploides son por lo general más grandes que los diploides, aumento que se debe a un incremento en el tamaño de las células más que a un incremento en el número de células. Los autopoliploides suelen ser variedades con alto valor comercial. Por ejemplo, las papas, algunas variedades de manzanas y las sandías son triploides; la alfalfa, el café y el cacahuate son tetraploides; la fresa comercial es octoploide.

La aloploidía se origina cuando los genomas de dos especies se unen generándose un nuevo organismo. El experimento clásico es el que realizó el genetista ruso Karpechenko en 1928, quien cruzó plantas de rábano con plantas de col, con la idea de obtener un híbrido que tuviera las hojas de la col y la raíz del rábano, sin

embargo, el híbrido resultó tener las hojas del rábano y la raíz de la col y además resultó ser estéril (Fig. 6.5).

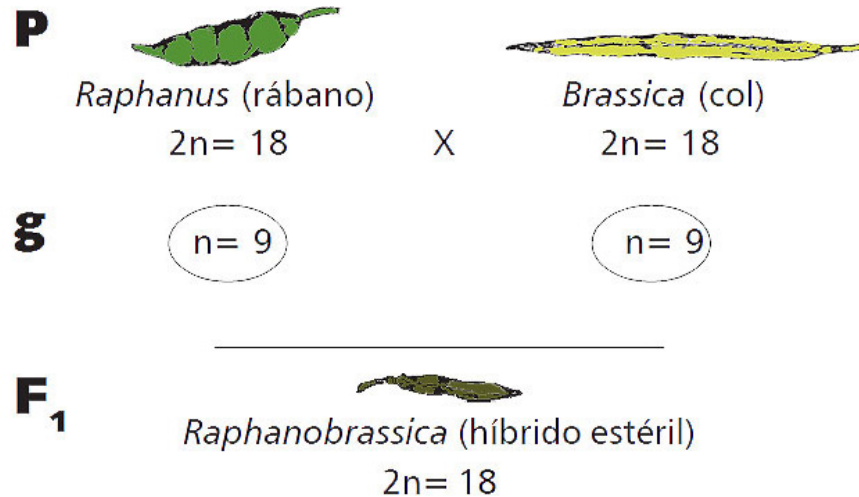


Fig. 6.5. Primer alopoliploide obtenido por Karpachenko en 1928

La alopoliploidía es la poliploidia más frecuente entre las plantas, debido a que son generalmente fértiles porque cada genoma tiene su compañero, los cromosomas se aparean formando bivalentes, por lo que no se produce ninguna distorsión y la sinapsis es normal. La poliploidia es más común en las angiospermas que en las gimnospermas. Se considera que el 50% de las angiospermas se han originado por aloploidia más que por autoploidia.

Los anfiploides son autoploides fértiles o dobles diploides fértiles (Fig. 6.6). Las plantas poliploides no tienen disturbios fisiológicos porque carecen de cromosomas sexuales, además pueden propagarse de forma asexual. Casi todas las plantas de interés agronómico son poliploides: trigo, maíz, fresa, etc. En los animales las distorsiones que se producen con relación a los cromosomas sexuales, o al balance entre el número de cromosomas sexuales y de autosomas, hace que la poliploidía sea poco frecuente.

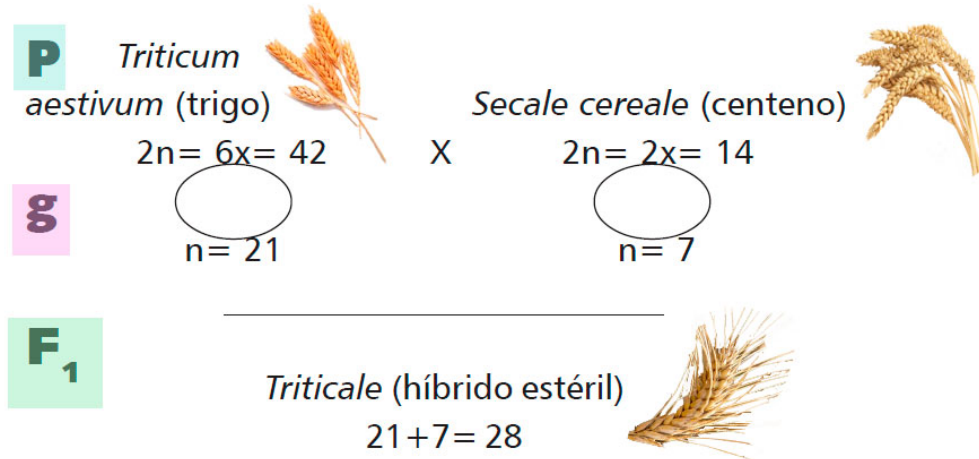


Fig. 6.6. Obtención de un anfidiplóide

Aneuploidía

Un aneuploide es un organismo en el cual el número de cromosomas está alterado y difiere del diploide por tener un cromosoma de un par representado una, tres, cuatro o más veces. La aneuploidía se origina por rezago de un cromosoma durante la anafase de la división celular, por la falta de separación (no-disyunción) de los cromosomas homólogos durante la meiosis, o por no-disyunción de cromátidas hermanas durante la mitosis, esta última produce mosaicos, que serán mayores o menores dependiendo del momento en que ocurrió el fenómeno. En el caso de la meiosis la no disyunción puede ocurrir en la meiosis I o en la meiosis II, tanto durante la espermatogénesis como en la ovogénesis.

Las aneuploidías pueden ocurrir en cualquier cromosoma del complemento. Se denotan con el sufijo – somía al que antecede el nombre del número, así monosomía indica presencia de un solo cromosoma de un par, trisomía un cromosoma presente tres veces, etc.

La nulisomía ($2n-2$) es letal en los individuos diploides. Sin embargo, la variedad de trigo hexaploide puede tolerar la nulisomía ya que aparentemente el tetraploide (4 cromosomas homólogos) puede compensar al par de homólogos que faltan.

Las monosomías ($2n-1$) suelen ser deletéreas debido a que (i) el cromosoma que falta altera el balance génico total, (ii) el cromosoma que queda representado una sola vez puede portar un gen recesivo deletéreo que se expresa fenotípicamente en la condición hemicigota. La monosomía para cualquier autosoma en los seres humanos es letal, el embrión muere en el útero. Sin embargo para el cromosoma X es viable: el complemento cromosómico $45X$ produce el síndrome de Turner. Los individuos son mujeres estériles, de estatura pequeña y con inteligencia cercana a la normal. La frecuencia en la población es de 1 en 5,000 nacidos vivos.

Las trisomías ($2n+1$) en los seres humanos, por desgracia, se toleran mejor cuando se trata de los cromosomas sexuales y de los autosomas pequeños del complemento (grupos D, E y G). La combinación $47 XXY$ (1/ 1,000 varones nacidos vivos) produce el síndrome de Klinefelter, los individuos afectados son estériles debido a atrofia testicular, presentan pechos desarrollados, vello púbico y retraso mental severo. La constitución XYX (1/1,000 varones nacidos vivos) se ha asociado con un comportamiento antisocial. Los chicos YY son fértiles, ya que durante su meiosis se forman gametos X y Y, nunca YY o XY . La trisomía del cromosoma 21 ($21, G+$) es la única trisomía de los autosomas en los seres humanos de la que sobrevive un número relativamente grande de individuos. La esperanza media de vida es de 17 años y solamente el 8% de los afectados sobrevive más allá de los 40 años. Se ha correlacionado la incidencia de la enfermedad con la edad de la madre (Tabla 6.3) aunque también se ha demostrado un efecto menos pronunciado con la edad del padre. El efecto materno se desconoce, sin embargo, se han postulado varias correlaciones biológicas: (i) las diferencias fisiológicas entre hombres y mujeres; (ii) la incidencia de la no-disyunción aumenta con la edad de la madre; (iii) todos los oocitos en las mujeres permanecen detenidos en la fase de diplóteno desde el nacimiento hasta que continúa la meiosis en la pubertad con la aparición de la menstruación; (iv) esta asociación puede romperse accidentalmente y generar oocitos aneuploides por no disyunción; (v) la mayoría de estos oocitos se producen en anafase I. Los individuos con trisomía 21 presentan diversos signos y síntomas: estatura baja, paladar pequeño y hendido, cara plana, retraso mental severo, entre otros.

Las mujeres suelen ser fértiles tienen hijos que son diploides o trisómicos; los varones trisómicos son estériles. Las otras dos trisomías debidas a autosomas que sobreviven al nacimiento son la trisomía del 13 o síndrome de Patau (1/15,000 nacidos vivos) en la que los niños afectados presentan retraso mental severo, cabeza pequeña y mal formada (microcefalia), sordos y con una esperanza de vida de 130 días. La trisomía del 18 se conoce como síndrome de Edwards (1/7, 500) los bebés presentan mandíbula pequeña, pelvis delgada algunos mueren en las primeras semanas después del nacimiento. Entre el 80 y el 90% de los niños afectados mueren a los 2 años.

Tabla 6.3. Correlación entre la edad de la madre y la incidencia del síndrome de Down.

Edad de la madre (en años)	Incidencia (nacidos vivos)	Frecuencia (%)
16-24	1/1700	0.06
25-29	1/1100	0.09
30-34	1/770	0.13
35-39	1/250	0.40
40-44	1/80	1.25
>45	1/25	4.00

FUSIÓN CÉNTRICA

Los aneuploides también pueden ocurrir por fusión céntrica, fenómeno en el que dos cromosomas acrocéntricos pequeños se reúnen formando uno grande. Los centrómeros se retienen y cambia el cariotipo pero no el número de brazos cromosómicos ni la información genética. Este mecanismo ha sido importante en la evolución de plantas y animales. En particular se ha demostrado, por el patrón de bandas G, que el cromosoma 2 de los seres humanos

proviene de la fusión, a través de los telómeros, de dos cromosomas acrocéntricos (el 12 y el 13) que se encuentran en el chimpancé, nuestro pariente más cercano. Esta fusión de cromosomas redujo el número de cromosomas en los seres humanos, de 48 que es el que se presenta en los grandes monos (chimpancé, gorila y orangután) a 46 que es el característico de la especie humana.

CAMBIOS EN LA ESTRUCTURA DE LOS CROMOSOMAS

Pueden involucrar a cromosomas completos o a genes, ambas alteraciones implican cambios en la secuencia lineal del DNA. Las aberraciones estructurales se descubrieron a través de los efectos genéticos que producen, los que luego fueron confirmados mediante la observación de los cromosomas con el microscopio óptico. Pueden deberse a pérdida o ganancia de segmentos o de genes (deleciones y duplicaciones) o bien al rearrreglo en la estructura (translocaciones e inversiones).

DEFICIENCIAS O DELECCIONES

Pérdida de genes o de secciones cromosómicas como resultado de uno o dos rompimientos cromosómicos de modo que pueden ocurrir en el extremo de un cromosoma en cuyo caso se denominan terminales o bien la pérdida ocurre en la parte interior de un cromosoma deficiencia denominada intersticial (Fig. 6.7). Se producen de forma espontánea o de forma inducida por mutágenos o por virus, pueden o no ser restituidas. La pérdida de material genético por regla general es deletérea, su magnitud varía dependiendo de la cantidad de material genético perdido. En condición homocigota suelen ser letales mientras que en condición heterocigota son viables, en estos casos los genes recesivos suelen expresarse dando lugar al fenómeno de semidominancia. Entre los seres humanos se conocen varios síndromes debidos a deleciones: la deleción del brazo corto del cromosoma 5, específicamente en las bandas distales 5p 15.2 y 5p 15.3, genera el síndrome del maullido de gato (*cri du chat*) que se caracteriza porque los individuos lloran de forma semejante al maullido de los gatos, presentan microcefalia y retraso mental. La deleción del brazo largo del cromosoma 22

produce el cromosoma filadelfia que se asocia con leucemia mieloide crónica.

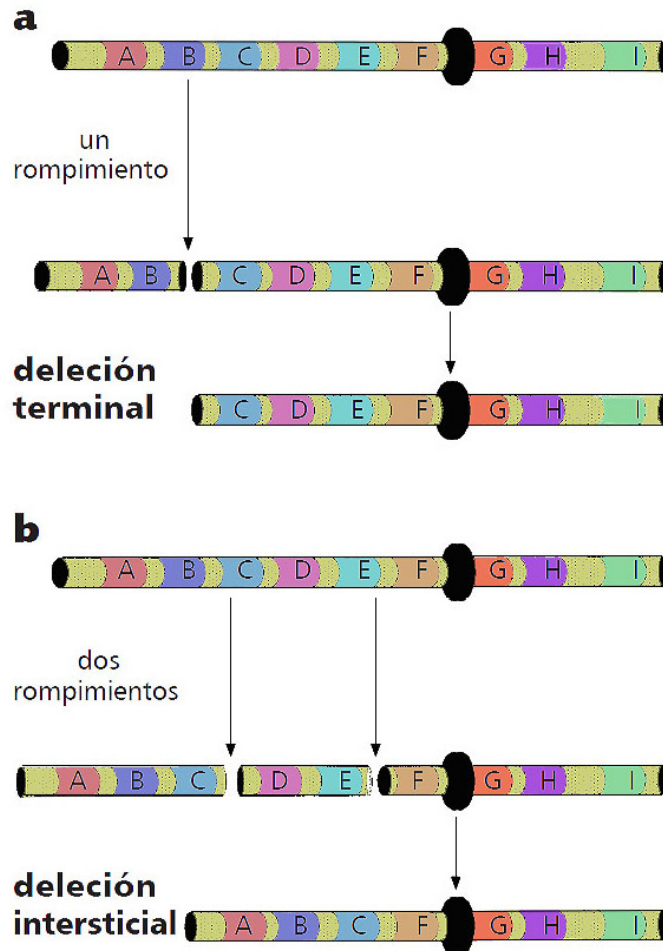


Fig. 6.7. Tipos de deleciones (a) terminal (b) intersticial

En las células somáticas las deleciones en algunos cromosomas se asocian con el desarrollo de tumores sólidos. Por ejemplo: la deleción de la banda p21 del cromosoma 1 se asocia con neuroblastoma, de la banda p22 con melanoma; las deleciones en las bandas p14 y p23 del cromosoma 3 con carcinoma de pulmón; la de la banda p13 del cromosoma 11 con el tumor de Wilms. En *Drosophila* pueden detectarse en los cromosomas politénicos como asas que se producen por la falta de bandas en uno de los

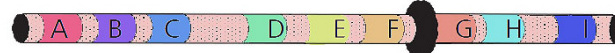
cromosomas apareados.

DUPLICACIONES

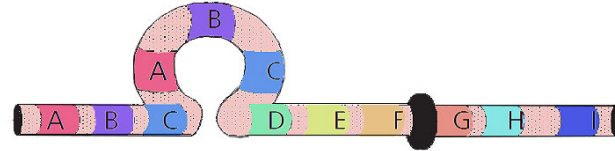
Se refiere a la presencia por duplicado de un gen o región cromosómica. Estas mutaciones cromosómicas pueden dar origen al fenómeno de redundancia génica, además se ha demostrado que han sido causa importante de la variabilidad en la evolución genética. En la mayoría de los organismos existen copias múltiples, agrupadas, de los genes que codifican para el RNA ribosomal (rRNA), las que se han originado por duplicación del gen original. En *Escherichia coli* alrededor del 0.4% del genoma haploide corresponde a rDNA lo que equivale a 5-10 copias del gen. En *Drosophila* 0.3% del genoma haploide corresponde a rDNA lo que equivale a 130 copias del gen. La mutación bobbed (bb) ligada al X se debe a la delección de un número variable de copias del gen rDNA. Las moscas mutantes tienen baja viabilidad y desarrollo incompleto. Lo que demuestra que la redundancia del rDNA que se presenta en los genotipos silvestres es necesaria para la adecuada producción de ribosomas durante el desarrollo embrionario.

Las duplicaciones se observaron por primera vez en *Drosophila* en los cromosomas politénicos, pueden ocurrir en tandem (ABCABC) (Fig. 6.8a) o en forma reversa (ABCCBA) (Fig. 6.8b). Se asume que se originan por entrecruzamientos desiguales (Fig. 6.9). Los ojos compuestos de la mosca de la fruta contienen 800 omatidias, la mutación dominante que produce ojos en forma de barra (B) produce un efecto de posición ya que el grado de expresión genética se modifica con relación al número de omatidias: hembras con dos duplicaciones tienen más omatidias (68) que las se tienen 3 (45) (Tabla 6.4).

Duplicación



a en tandem



b reversas

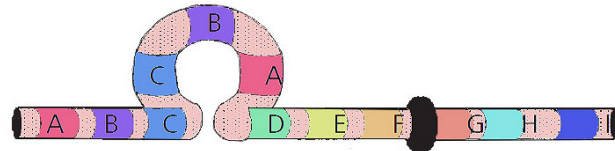


Fig. 6.8. Tipos de duplicaciones (a) en tándem (b) reversas

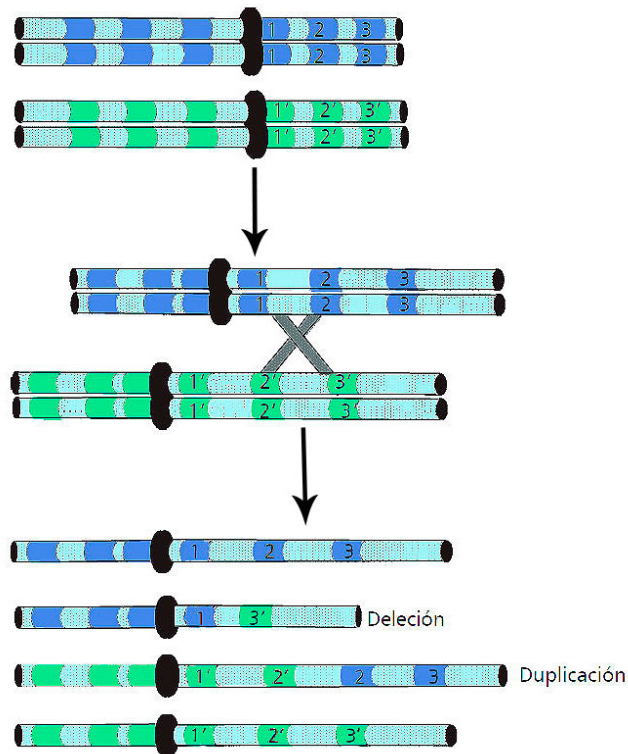


Fig. 6.9. Consecuencias del entrecruzamiento desigual que se producen: un cromosoma con una delección, un

cromosomas con una duplicación y dos cromosomas normales

Tabla 6.4. Genotipos duplicados y número de omatidias en los ojos compuestos de hembras de *Drosophila*.

Genotipo	Nro. de omatidias
B ⁺ /B ⁺	800
B/B ⁺	358
B/B	68
BB/B	45

A nivel molecular se han detectado, por técnicas de DNA recombinante, familias de cientos de miles de DNA repetitivo que seguramente se originaron por duplicaciones. Además algunas homologías entre genes funcionales pueden explicarse por duplicaciones que ocurrieron en diferentes tiempos de la historia evolutiva de las especies, entre las más conocidas son los genes que codifican para la producción de las hemoglobinas. La hemoglobina adulta consiste de 2 cadenas alfa y dos cadenas beta, la homología entre ambas es evidente por su secuencia de aminoácidos. La diversificación se supone que ocurrió hace 500 millones de años, tiempo en el que se cree que ocurrió la primera duplicación en la historia de los vertebrados. Mientras aparecía la divergencia en los codones que especifican a la alfa y a la beta globina, permanecía también una asombrosa identidad en la organización de las secuencias génicas: ambos genes tienen tres regiones codificantes (exones) separados por 2 regiones no codificantes (intrones). Los exones en los genes humanos corresponden a los residuos de los aminoácidos en la cadena alfa: 1-30, 32-99 y 100-141, en la cadena beta a 1-30, 31-104 y 104-146. Además de la divergencia que se presenta en las secuencias codificantes, ya que solo 63 aminoácidos de las cadenas alfa y beta se encuentran en la misma posición, la organización génica ha permanecido virtualmente sin cambios en los

últimos 500 millones de años.

INVERSIONES

Se deben a rompimientos en un segmento de un cromosoma y a la reunión ulterior con un giro de 180° quedando la secuencia de genes invertida. Se detectan, a nivel genético, por la frecuencia de recombinación que es diferente a la establecida por mapeo. A nivel citológico pueden detectarse comparando los patrones de bandas en los cromosomas politénicos o en el cariotipo humano.

Las inversiones son de dos tipos, dependiendo si está o no está involucrado el centrómero. En la paracéntrica el centrómero no está involucrado, mientras que en la pericéntrica si lo está (Fig. 6.10).

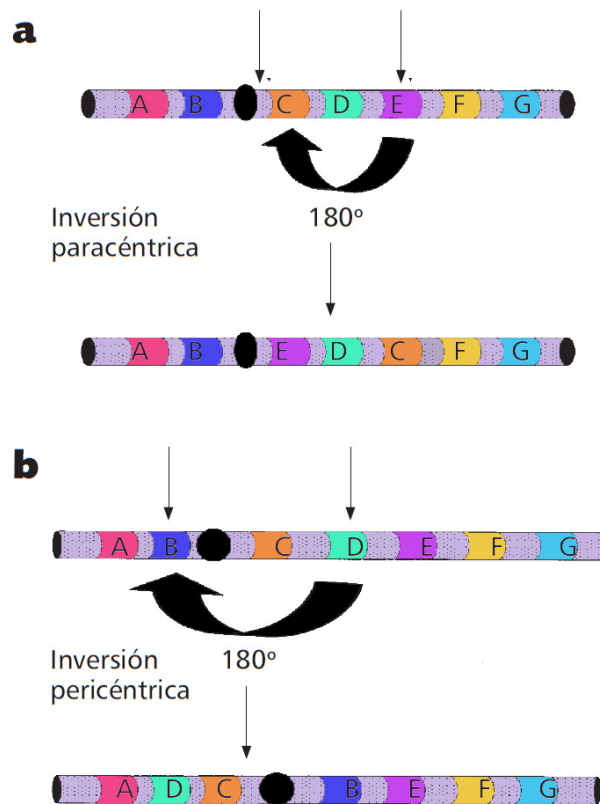


Fig. 6.10. Tipos de inversiones (a) paracéntrica, nótese que la morfología no cambia (b) pericéntrica, la morfología si cambia

El comportamiento genético de las inversiones paracéntricas

puede ser el siguiente: durante el apareamiento de los cromosomas en la profase I de la meiosis se forma un asa en la región correspondiente a la inversión. Dependiendo donde se produzca el entrecruzamiento en un individuo portador de una inversión paracéntrica se producen puentes dicéntricos y fragmentos acéntricos. A medida que avanza la meiosis los cromosomas se separan durante la anafase I: el fragmento acéntrico se pierde y el puente dicéntrico se rompe al azar. Se generan al término de la meiosis cuatro productos: un cromosoma normal, dos cromosomas que portan deleciones y un cromosoma con la inversión paracéntrica (Fig. 6.11).

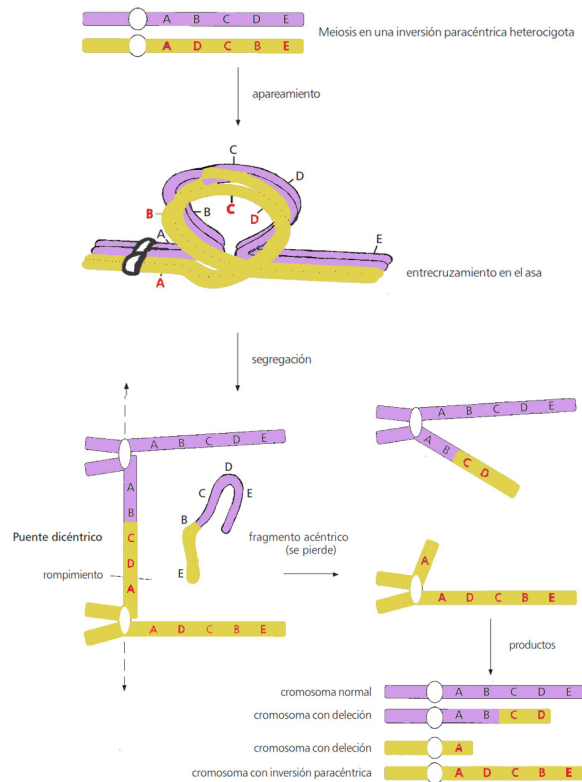


Fig. 6.11. Consecuencias de una inversión paracéntrica en un individuo portador

Como consecuencia de una inversión pericéntrica en condición heterocigota se generan gametos que portarán deficiencias y duplicaciones por lo cual son disfuncionales (Fig. 6.12). En

Drosophila, debido a peculiaridades de la ovogénesis, los cromosomas aberrantes no se incluyen en el óvulo maduro, por ello es posible recobrar las inversiones.

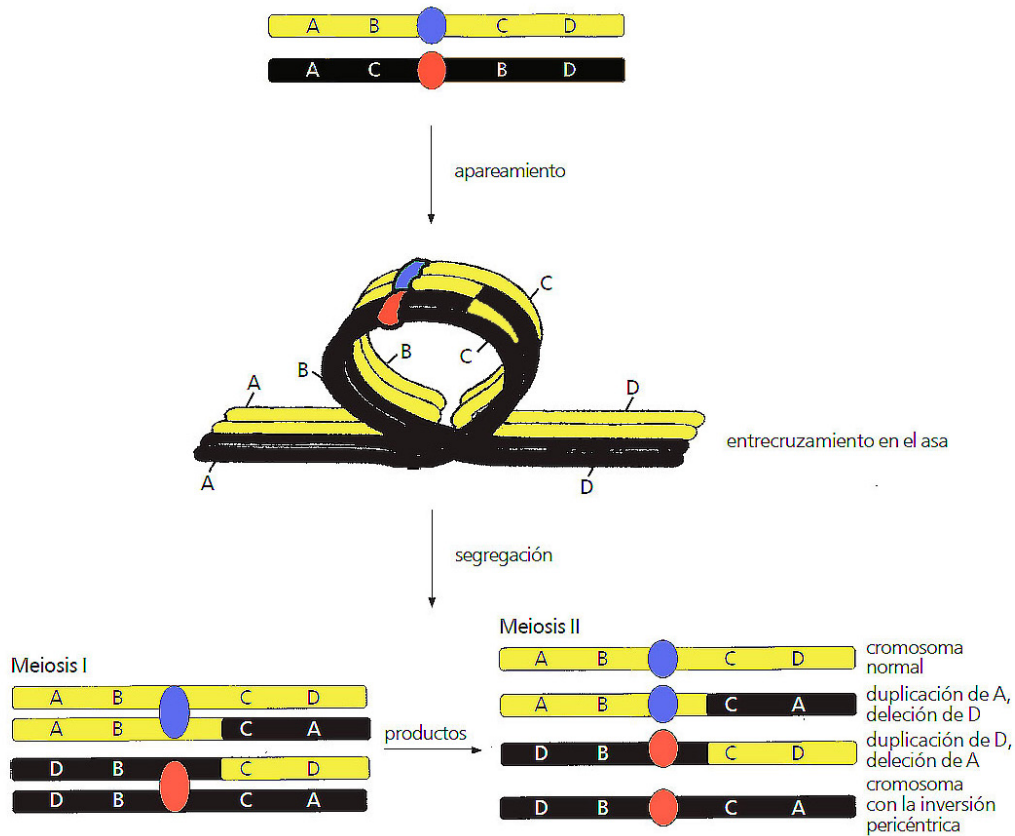


Fig. 6.12. Consecuencias de una inversión pericéntrica en un individuo portador

TRANSLOCACIONES

Resultan de la transferencia de parte del material genético de un cromosoma a otro no homólogo. Puede ocurrir de forma simple, cuando la transferencia es de uno a otro cromosoma, recíproca o balanceada cuando están involucrados dos cromosomas y robertsoniana cuando la transferencia involucra a dos cromosomas acrocéntricos (Fig. 6.13).

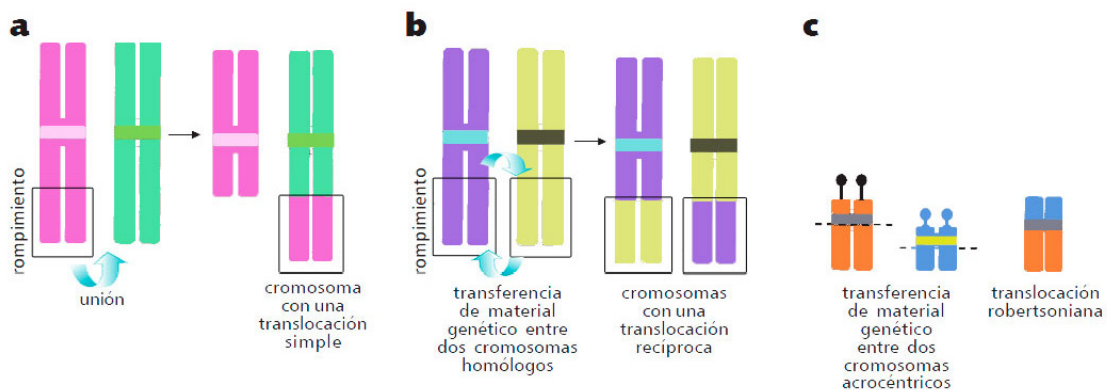


Fig. 6.13. Tipos de translocaciones (a) simple (b) recíproca o balanceada (c) robertsoniana

Las translocaciones recíprocas en condición heterocigota producen tanto efectos citológicos como genéticos, durante la meiosis. Una disyunción adyacente se genera cuando a cada polo va una cromátida translocada y una normal produciendo deficiencias y duplicaciones que suelen ser inviables. Y se produce una segregación alterna cuando ambas cromátidas portadoras de la translocación se dirigen a un polo y las normales a otro lo que genera productos completos y viables (Fig. 6.14). El resultado neto de la segregación en un organismo portador de una translocación balanceada es la producción de la mitad de los gametos viables y de la otra mitad inviable, fenómeno conocido como semiesterilidad. Entre las plantas los productos de la segregación adyacente abortan en las células germinales, mientras que en los animales los gametos que los portan son viables pero letales a nivel del cigoto.

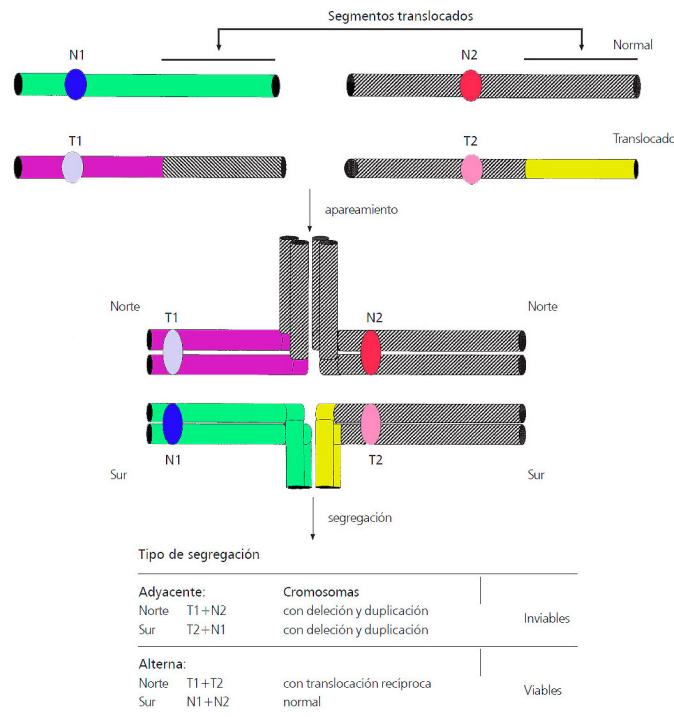


Fig. 6.14. Consecuencias de una translocación recíproca balanceada cuando los cromosomas se aparean en la meiosis: segregaciones adyacente y alterna

Las translocaciones balanceadas en los seres humanos son viables, siempre y cuando se transmitan en condición heterocigota. El síndrome de Down se produce en el 95% de los casos por no-disyunción durante la meiosis, fenómeno que ocurre al azar y por lo tanto no es recurrente. Sin embargo, en el 5% restante el síndrome de Down se produce por una translocación robertsoniana por lo cual el síndrome es recurrente y hereditario. Los individuos portadores sanos muestran un complemento $2n= 45$ que se debe a una translocación D/G (14-21) mutación que no tiene efectos fenotípicos. En la meiosis de este individuo una cuarta parte de los gametos tendrá dos copias del cromosoma 21, una cuarta parte porta los cromosomas normales, un cuarto de los gametos porta el cromosoma translocado 14-21 y otra cuarta parte porta solamente una copia del 14. Cuando ocurre la fecundación por un gameto normal haploide ($n= 23$) pueden producirse cuatro tipos diferentes de

cigotos: (1) podrá tener 46 cromosomas y tres copias del 21, por lo tanto el embrión en gestación presenta el síndrome de Down, (2) embrión portador de la translocación robertsoniana, (3) individuo normal, y (4) letal por ausencia de un cromosoma 21 (Fig. 6.15).

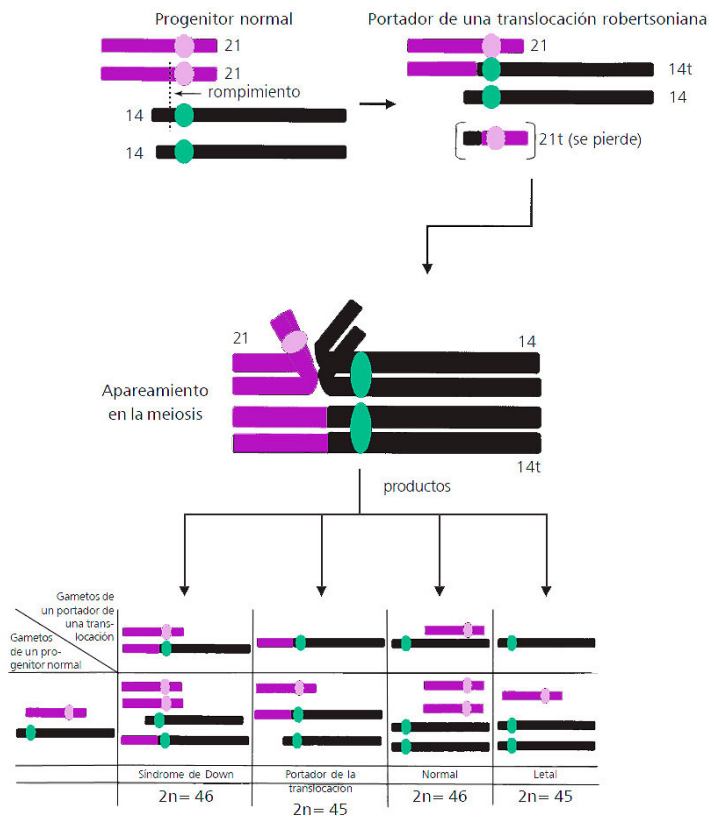


Fig. 6.15. Producción de un niño con síndrome de Down a partir de un progenitor que porta una translocación robertsoniana

EFFECTOS DE POSICIÓN

Las translocaciones, dependiendo de si se producen cerca de lejos de la heterocromatina constitutiva, pueden producir un resultado que se conoce como efecto de posición que genera variegación en el color. En *Drosophila* el locus que produce ausencia de color en los ojos (*white*) se encuentra cerca del extremo del cromosoma X. Si se

produce una translocación recíproca entre el cromosoma X que porta w^+ y el IV, entonces, de acuerdo con los experimentos realizados por Burke Judd en 1972, la expresión de w^+ dependerá de sí la translocación se produce cerca o lejos de la heterocromatina generándose un ojo que a nivel fenotípico es un mosaico (Fig. 6.16). Esta variegación es un efecto de posición debido a que la expresión inestable del gen es un reflejo de su posición a consecuencia del rearreglo.

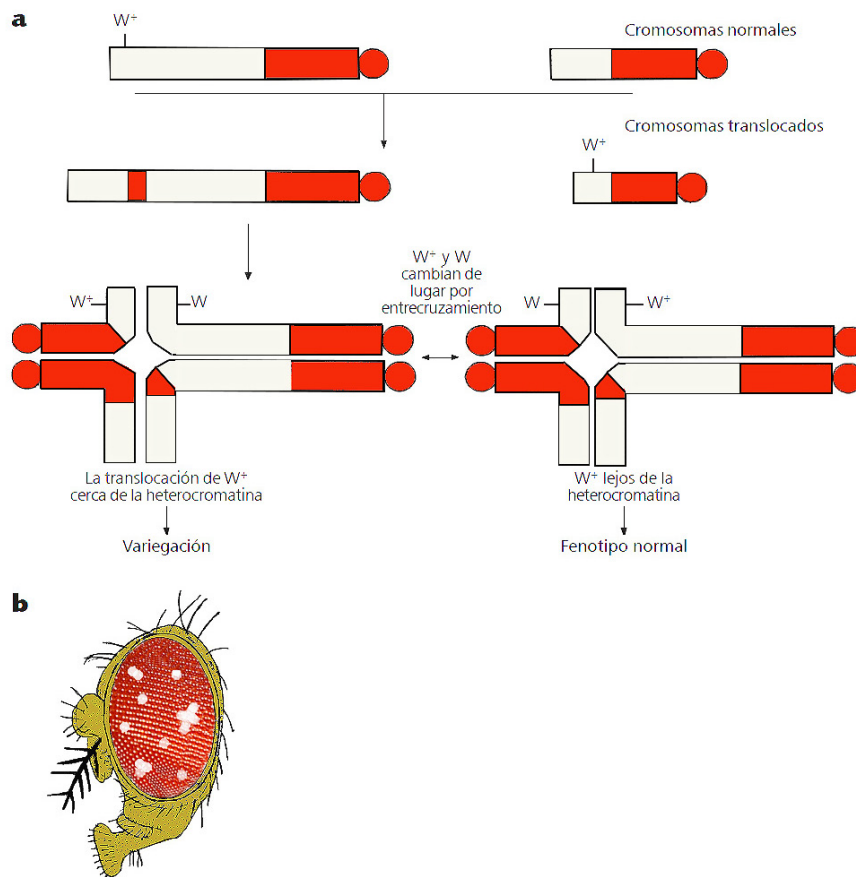


Fig. 6.16. Efectos de posición generados por una translocación (a) cercana a la heterocromatina genera variegación, lejos produce el fenotipo silvestre (b) aspecto del ojo de *Drosophila melanogaster* como consecuencia del efecto de posición

En la tabla 6.5. se muestra el promedio de anomalías cromosómicas encontradas entre 100,000 embriones humanos que cursaron tanto en abortos espontáneos como en individuos nacidos vivos.

Tabla 6.5. Anomalías cromosómicas encontradas entre 100,000 embriones humanos.

Complemento cromosómico	Nro. de abortos espontáneos	Nro. de nacidos vivos
Normal (2n = 46)	7,500	84,450
CAMBIOS EN EL NÚMERO		
Trisomías:		
13	128	17
18	223	13
21	350	113
Otras (autosomas)	3,176	0
Cromosomas sexuales:		
45 X	1,350	8
47 XXX	21	44
47 XXY	4	44
47 XYY	4	46
Poliploidias:		
Triploides	1,250	0
Tetraploides	450	0
Otros (mosaicos)	280	49
CAMBIOS EN LA		

ESTRUCTURA		
Translocaciones balanceadas (euploides)	14	164
Translocaciones no balanceadas (aneuploides)	225	52
Total	15,000	85,000

**

7. MAPEO GÉNICO EN EUKARIOTES

Los genes están en los cromosomas y desde luego hay más genes que cromosomas. Los genes que están en el mismo cromosoma se transmiten en proporciones distintas a los que están en cromosomas diferentes los cuales generan la distribución independiente. El patrón hereditario que producen los genes que están en el mismo cromosoma llevó a la localización relativa de los genes en los cromosomas, es decir, al mapeo génico.

Se dice que los genes que están en el mismo cromosoma tienden a transmitirse juntos, es decir, están ligados. En la primera profase meiótica, cuando los cromosomas homólogos se aparean se produce un intercambio recíproco entre los cromosomas, fenómeno conocido como entrecruzamiento, el cual produce una combinación de alelos (recombinación). Los cromosomas se separan al término de la meiosis generándose progenie recombinante.

En 1906 William Bateson y Reginald Crundall Punnett describieron excepciones a las leyes de Mendel. Estos autores encontraron en cruza monohíbrida entre plantas de chícharo la proporción 3:1, mientras que en las cruza dihíbrida no encontraron la distribución independiente 9:3:3:1. Al cruzar plantas con flores púrpura (P) y semillas alargadas (L) con plantas con flores rojas (p) y semillas redondas (l), la primera generación mostró ser púrpura con semillas alargadas, es decir, mostró los caracteres dominantes, pero en la segunda generación las plantas con los caracteres púrpura y alargado, rojo y redondo, aparecieron más frecuentemente que púrpura redondo y rojo alargado. Por lo tanto las combinaciones parentales aparecieron con más frecuencia que las recombinantes (Fig. 7.1).

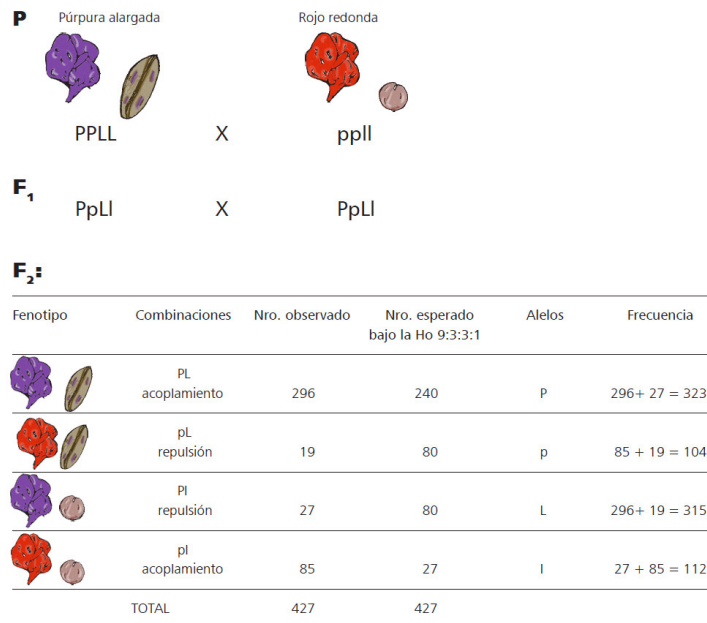


Fig. 7.1. Resultados obtenidos por Bateson y Punnett (1906) al cruzar plantas con flores púrpura (P) y semillas alargadas (L) por plantas con flores rojas (p) y semillas redondas (l)

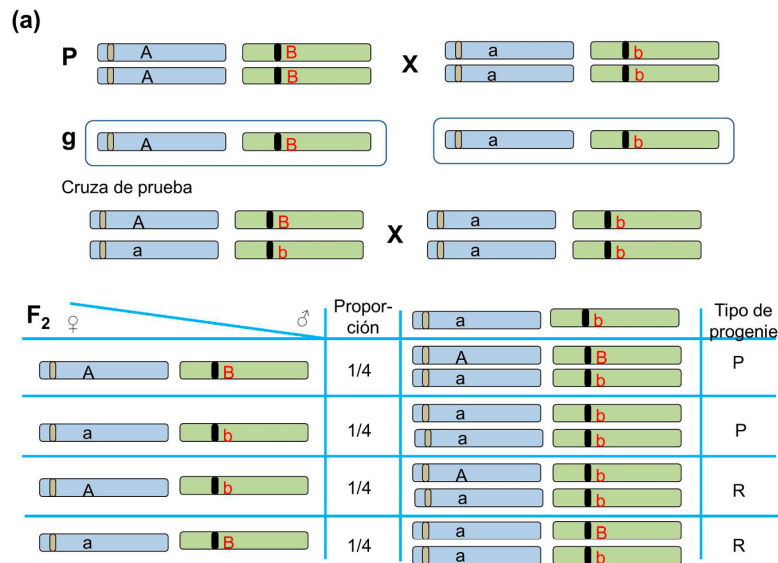
Los autores no pudieron explicar sus resultados, sin embargo, propusieron la teoría del acoplamiento-repulsión que en parte los explican: los genes dominantes que entraron juntos a los gametos están en fase de acoplamiento génico parcial, mientras que los dominantes y recesivos están en fase de repulsión. Por analogía con la química orgánica, la fase de acoplamiento se denomina cis y la fase de repulsión se denomina trans. En el ejemplo anterior las cruza entre: Púrpura alargado x rojo redondo están en fase de acoplamiento génico (cis), mientras que en la cruza: púrpura redondo x rojo alargado están en fase de repulsión (trans).

LIGAMIENTO COMPLETO E INCOMPLETO

La explicación de estos resultados la obtuvieron Thomas Hunt Morgan y su estudiante Alfred Sturtevant, en 1911, cuando postularon la Teoría del encadenamiento. Al trabajar con dos, de los seis, genes ligados al sexo hasta entonces conocidos en *Drosophila*, pudieron concluir que los genes que están en el mismo cromosoma

tienden a transmitirse juntos, mientras que los que están en cromosomas diferentes se comportan independientemente, de modo que postularon que las frecuencias características del entrecruzamiento entre dos genes podrían estar relacionadas con la distancia física que separa a dos genes en un cromosoma.

Las cruzas entre hembras con color de cuerpo amarillo (y) por machos con color de cuerpo silvestre (y^+) y las cruzas entre hembras con color de ojos bermellón (v) y machos con color de ojos silvestre (v^+) producen los resultados esperados para genes ligados al sexo, pero, cuando se hace la cruce dihíbrida se producen otros resultados, pudiendo predecirse tres posibilidades (Fig. 7.2a, b, c):



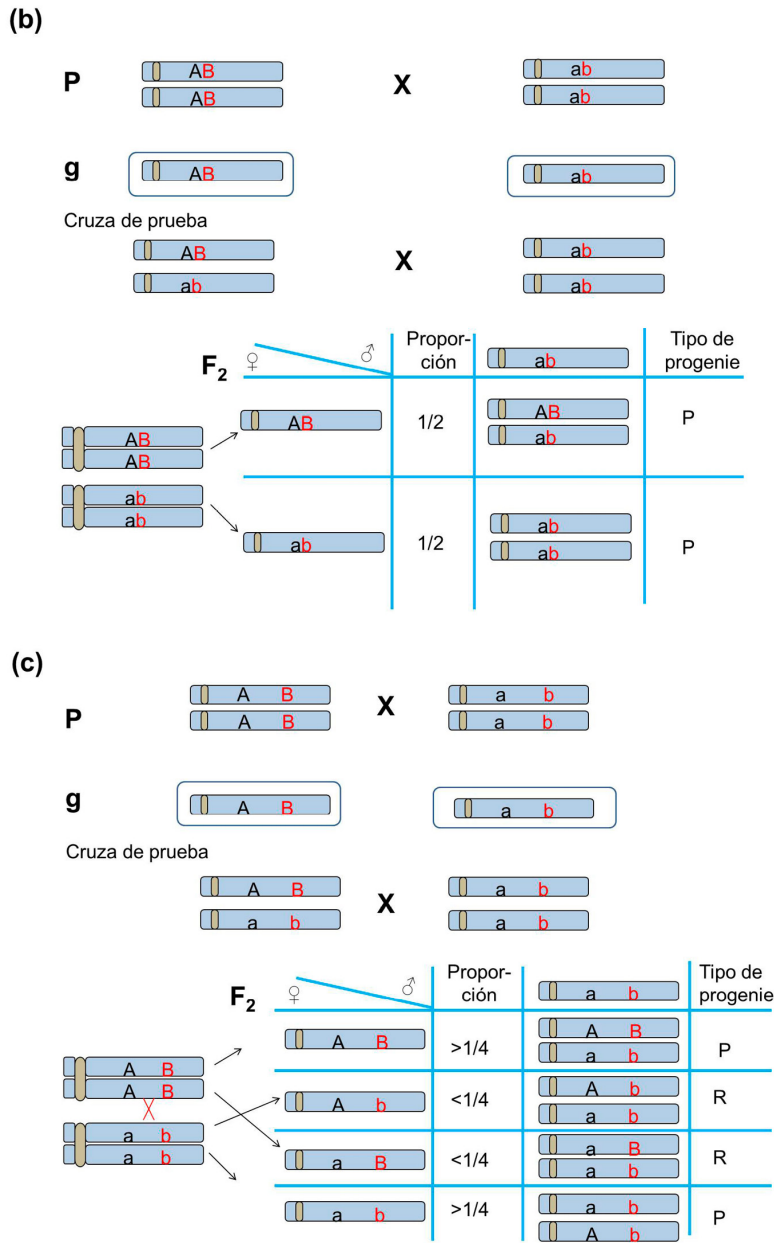


Fig. 7.2. Proporciones esperadas cuando los genes:

- (a) se distribuyen en forma independiente
- (b) muestran ligamiento completo
- (c) muestran ligamiento incompleto

1. Comportamiento independiente produciéndose en la F₂ una proporción 1:1:1:1
2. Ligamiento completo produciéndose en la F₂ sólo

combinaciones parentales en la proporción 1:1

3. Ligamiento incompleto produciéndose combinaciones parentales en proporciones mayores a las recombinantes.

Si los genes están incompletamente ligados, entonces, como resultado de la recombinación se obtendrán en la F_2 tanto combinaciones parentales (P) como recombinantes (R) en porcentajes variables que dependen de la distancia que hay entre dos genes (Fig. 7.3).

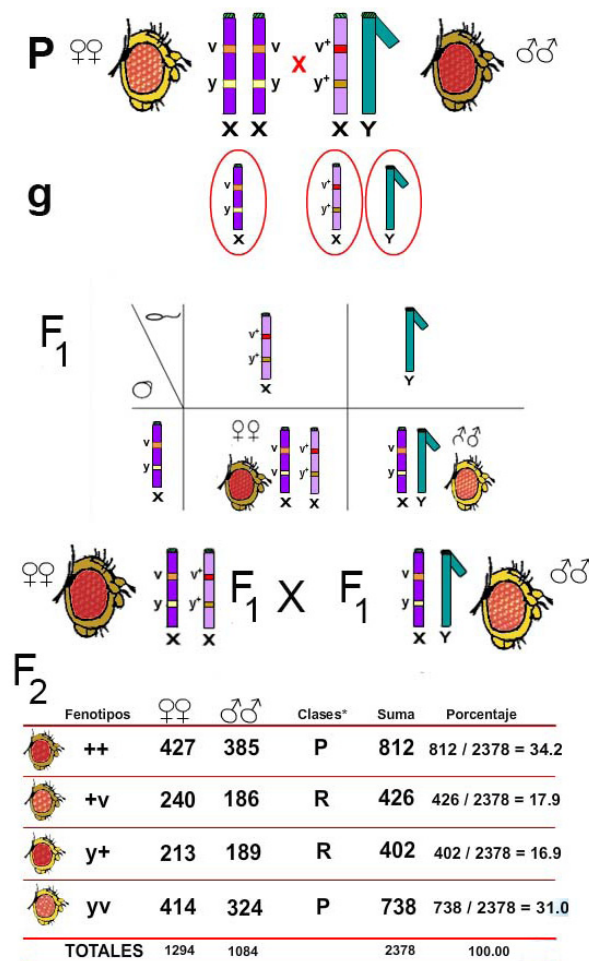


Fig. 7.3. Resultados obtenidos por Morgan y Sturtevant (1911) al cruzar hembras mutantes yv con machos silvestres

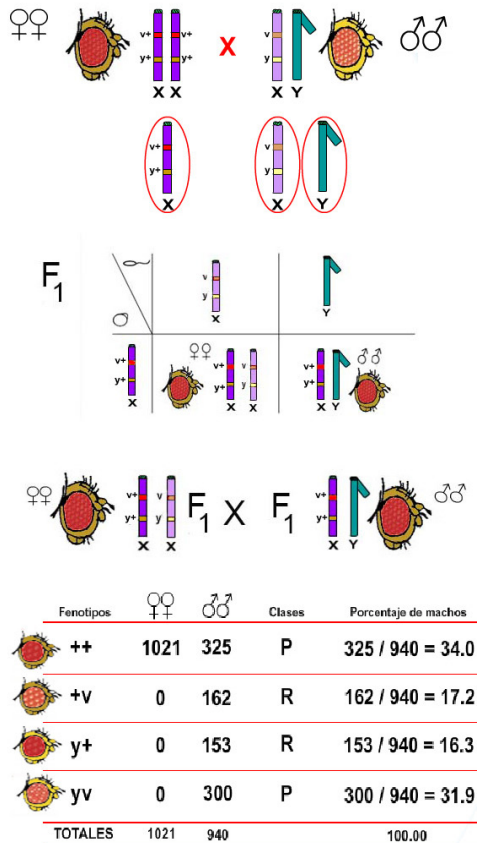


Fig. 7.4. Resultados obtenidos por Morgan y Sturtevant (1911) al hacer la crucea recíproca

Morgan y Sturtevant procedieron a hacer después la crucea recíproca que produce los resultados que se muestran en la Fig. 7.4. Morgan postuló que si ocurría un intercambio entre los genes mutantes localizados en los dos cromosomas X de las hembras de la F_1 se obtendrían los resultados observados en la F_2 . Sugirió que como resultado del intercambio se producen alrededor de 17% de combinaciones recombinantes, ya que los resultados de ambas cruces, en cuanto a porcentajes, son similares. Morgan concluyó que existen genes ligados en el orden lineal a lo largo de los cromosomas y que el porcentaje de recombinación entre cualesquiera de dos genes depende de la distancia que los separa. Con estos datos Morgan y Sturtevant calcularon el porcentaje de recombinación como:

$$\% \text{ de recombinación} = \frac{\text{Número de recombinantes}}{\text{Total de individuos de la cruce de prueba}} \times 100$$

Para calcular el porcentaje de recombinación pueden hacerse las cruzas tanto en fase cis (Fig. 7.5) como en fase trans (Fig. 7.6).

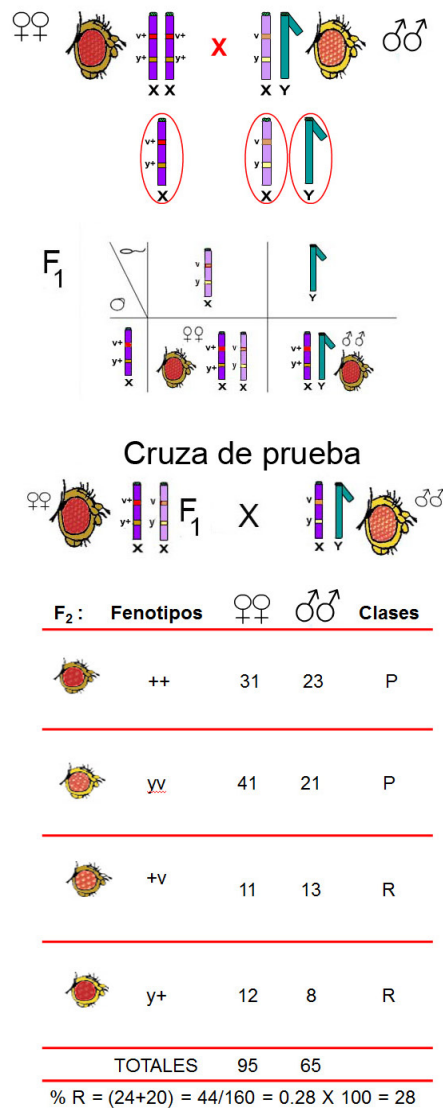


Fig. 7.5. Porcentaje de recombinación en fase cis

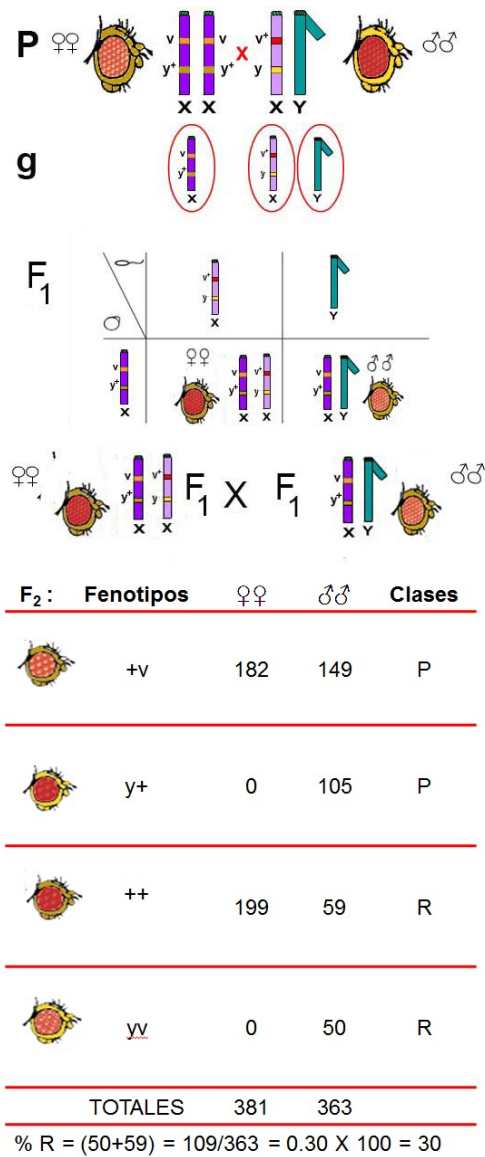


Fig. 7.6. Porcentaje de recombinación en fase trans

Estos porcentajes muestran el mismo patrón de ligamiento y la misma frecuencia de recombinación, tanto si los alelos dominantes de ambos genes están en un mismo cromosoma en fase de acoplamiento génico (cis), como si están en fase de repulsión (trans).

Si el ligamiento es una consecuencia de que los genes estén localizados en el mismo cromosoma, se explica entonces la

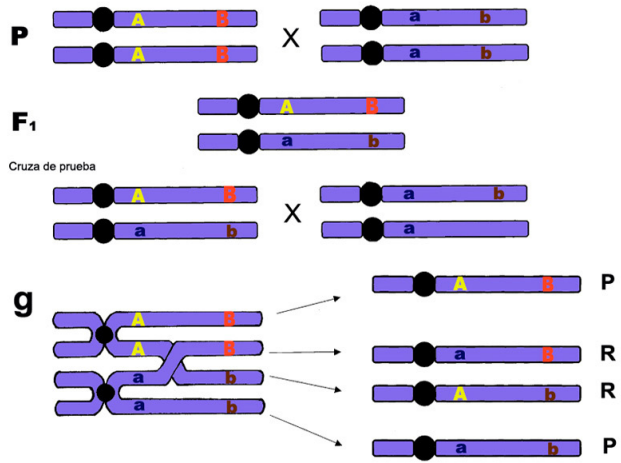
tendencia a heredarse juntos en las combinaciones parentales. La recombinación de alelos durante la meiosis explica la presencia de nuevas combinaciones, las recombinantes, de modo que, las combinaciones parentales muestran la ausencia de entrecruzamiento, mientras que en las recombinantes si se presentó este fenómeno.

MAPEO POR RECOMBINACIÓN, CON DOS MARCADORES. EL CENTIMORGAN

Los valores de la recombinación varían entre 0 y un máximo de 50% para dos genes ligados, valores mayores generan una distribución independiente. Los genes ocupan un lugar fijo, denominado *locus* (del latín: lugar), en el cromosoma. El concepto de distancia en un mapa génico fue demostrado por Sturtevant, de modo que, los genes que están en un mismo cromosoma están ordenados en forma unidimensional, es decir, en arreglo lineal.

Si la distancia entre dos genes es grande será mayor la probabilidad de que ocurra un entrecruzamiento entre ellos, por el contrario si la distancia es menor la probabilidad será menor. El porcentaje de recombinación obtenido puede convertirse en una medida de la distancia que separa a los genes ligados, así una unidad de mapa equivale a 1% de recombinación. Esta es una medida relativa que no puede convertirse a unidades físicas (por ejemplo, micras, milimicras, etc.).

Al emplear la retrocruza pueden determinarse los números relativos de las clases progenitora (P) y F_1 recombinante (R) en la progenie, lo mismo en fase cis (Fig. 7.7) que en fase trans (Fig. 7.8).



♀	♂		
		 	P 390
		 	P 410
		 	R 26
		 	R 24

$\% R = 50/850 = 0.058 \times 100 = 5.8$

Fig. 7.7. Acoplamiento génico (cis)

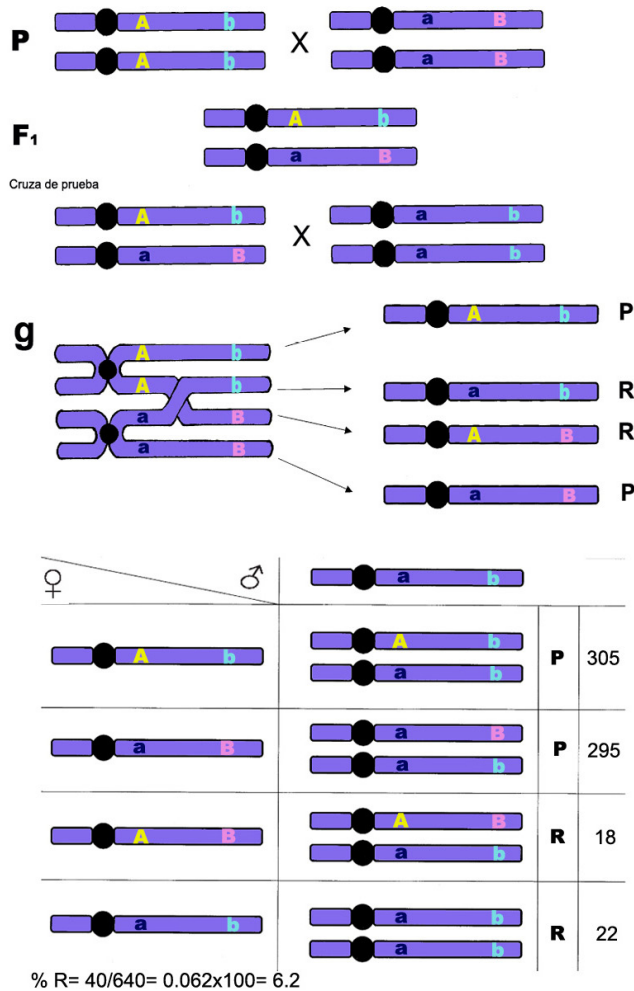


Fig. 7.8. Repulsión génica (fase trans)

El porcentaje de recombinación equivale entonces a unidades de mapa, así, 1% de recombinación equivale a una unidad de mapa, que en honor al trabajo de Morgan se denomina centimorgan (cM) lo que es igual a 1,000 kb. Por lo tanto 1 Morgan equivaldría a 100% de recombinación.

Debido a que la recombinación es recíproca, se espera un número más o menos igual de recombinantes. Si ocurre un entrecruzamiento, entonces un exceso de fenotipos de la clase progenitora, producto de la retrocruza, indica que los genes están ligados.

El mapeo génico de ligamiento de un cromosoma provee varios tipos de información:

1. Los tipos de progenie que se obtienen en una cruce, es decir, las combinaciones parentales y las recombinantes.
2. Información en cuanto al orden y a la distancia que separa a dos genes en un cromosoma.
3. Se obtienen distancias iguales en fase cis y en fase trans, debido a que los genes ocupan un lugar fijo en el cromosoma.
4. Describe el genoma de una especie.

ENTRECruzAMIENTOS DOBLES

El porcentaje de recombinación se convierte directamente en el porcentaje de entrecruzamiento entre genes, el que a su vez se traduce en unidades de mapa o centimorgans, que denotan la distancia que separa a dos genes en un cromosoma.

Este método, sin embargo, tiene una falla, ya que la recombinación y el entrecruzamiento no son lo mismo. El entrecruzamiento es el proceso de intercambio físico entre segmentos homólogos, mientras que la recombinación se identifica genéticamente a través del genotipo de la progenie. Se infiere que la recombinación se debe al entrecruzamiento entre dos genes, pero los valores de la recombinación genética y de los entrecruzamientos detectables no son siempre los mismos. El entrecruzamiento ocurre al azar entre dos genes, si la distancia entre ellos es muy grande, la probabilidad de genes están separados por 30 centimorgans, entonces ocurrieron 30% de entrecruzamientos. Cual será la probabilidad de que ocurran entrecruzamientos dobles? De acuerdo con la ley de probabilidad del producto será el producto de sus probabilidades por separado, es decir $0.30 \times 0.30 = 0.09 = 9\%$. La consecuencia de los entrecruzamientos dobles, en el mapeo con dos marcadores, es que se producen combinaciones parentales (Fig. 7.9).y por ello conducen a una subestimación de la distancia que separa a dos genes. En el ejemplo anterior en lugar de 30 cM la distancia real es de 21 cM ($30 - 9 = 21$) siendo el 9% de la combinaciones parentales producto de los entrecruzamientos dobles.

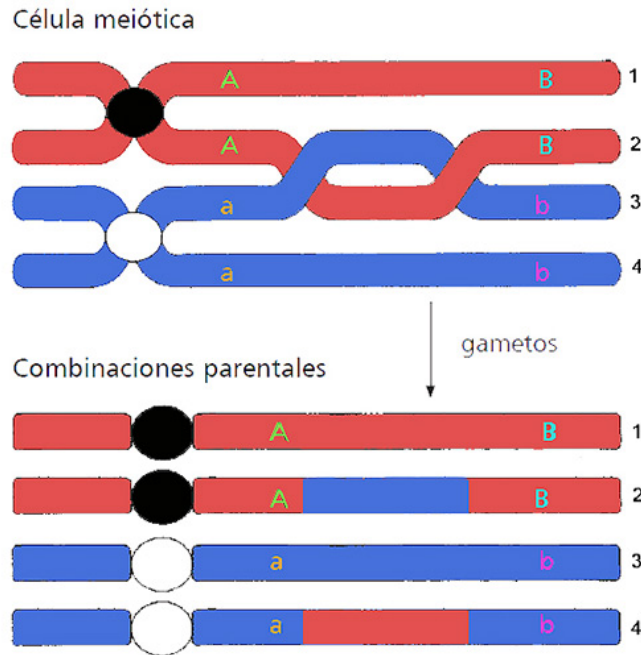


Fig. 7.9. Consecuencias de un doble entrecruzamiento entre dos genes ligados.

La proporción de entrecruzamientos que se detectan en los experimentos para localizar (mapear) a dos genes en un cromosoma se considera que es directamente proporcional a la distancia que los separa, sin embargo, esto no es del todo cierto ya que la distancia está subestimada. Especialmente cuando los genes están muy alejados la probabilidad de que ocurran dobles entrecruzamientos entre los marcadores es muy alta y la imprecisión es mayor. Estas imprecisiones son consecuencia de las probabilidades que se pueden explicar con base en la distribución de Poisson que permite predecir matemáticamente las distintas frecuencias de los resultados. Se aplica cuando el número de eventos es pequeño mientras que el número de veces que el evento puede ocurrir en una muestra es relativamente grande. Existen tres formas posibles de que ocurra un doble entrecruzamiento entre dos genes que están muy separados en un cromosoma, éstas son: (1) un intercambio doble entre dos de las cuatro cromátidas no produce recombinantes, genera las combinaciones parentales; (2) un intercambio doble entre tres de las

cuatro cromátidas produce un 50% de cromátidas recombinadas, y (3) un intercambio doble entre las cuatro cromátidas produce un 100% de recombinantes. Por lo tanto al sumar estos tres tipos de intercambios, los porcentajes máximos posibles de recombinación entre dos genes son del 50% (Fig. 7.10).

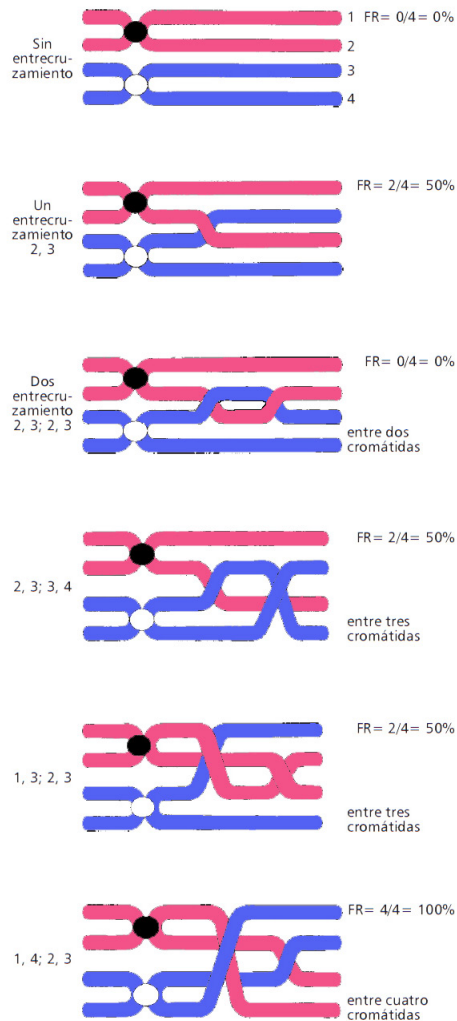


Fig. 7.10. Demostración de que el porcentaje máximo de recombinación es del 50%

MAPEO DE TRES PUNTOS

Morgan hizo cruces con otros genes ligados al sexo, en particular,

empleó moscas hembras que portaban en sus cromosomas X tres mutaciones: color de cuerpo amarillo ($y = yellow$); ojos blancos ($w = white$) y cuerpo pequeño ($m = miniature$). La cruce progenitora consistió en hembras homocigotas para los tres marcadores (ywm/ywm) por machos silvestres ($+++/Y$), la F_1 dejó que se cruzara entre sí y en la F_2 encontró los resultados que se muestran en la Fig. 7.11.

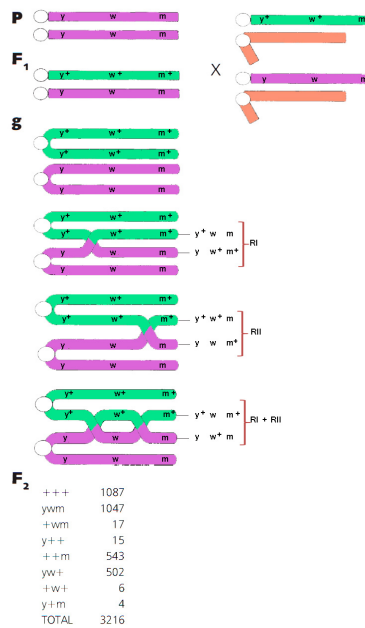


Fig. 7.11. Resultados obtenidos por Morgan (1911) al cruzar hembras homocigotas con tres marcadores (ywm) por machos silvestres

Procedimiento para el mapeo de tres genes:

1. Determinar los parentales que corresponden a las clases que ocurren más frecuentemente
2. Determinar la ocurrencia de entrecruzamientos dobles, clases que definirán al gen que está en medio en el mapa y por lo tanto el orden teórico de los tres genes (sin considerar cual está a la derecha y cual a la izquierda). Estas son las clases menos numerosas, ya que la probabilidad de que ocurra es menor.

3. Determinar la región I como la que ocurre a la izquierda del marcador central y la región II la que se presenta a la derecha del marcador central. A cada región deben sumarse los entrecruzamientos dobles ya que éstos reflejan, de manera más precisa la distancia real que separa a dos genes en un cromosoma (Fig. 7.12).

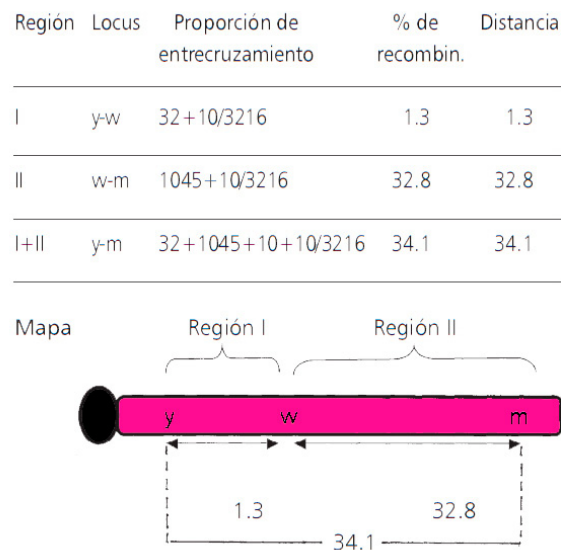


Fig. 7.12. Mapeo de tres genes ligados al sexo

El fenómeno de interferencia génica se refiere al grado en que un entrecruzamiento afecta a la incidencia de otro entrecruzamiento en una región adyacente de la misma cromátida. De modo que si ocurre un entrecruzamiento en una región, se reduce la probabilidad de que ocurra otro en la misma región, ya que los dobles recombinantes representan dos entrecruzamientos sencillos. En el ejemplo anterior se puede calcular la frecuencia de dobles entrecruzamientos así:

- (1) Frecuencia observada de entrecruzamientos dobles = $10/3216$
= $0.03 = 0.3\%$
- (2) Frecuencia esperada de entrecruzamientos dobles = $0.013 \times 0.328 = 0.0042 = 0.42\%$

Cuando los genes se encuentran muy cerca, se reduce el número

real de dobles recombinantes esperados. Este número esperado no coincide con el observado, puede notarse que éste es menor. Entonces la interferencia génica se mide mediante el coeficiente de coincidencia:

Coeficiente de coincidencia = Frecuencia observada de entrecruzamientos dobles/frecuencia esperada de entrecruzamientos dobles.

En el ejemplo de la Fig. 7.12 el coeficiente de coincidencia será:

$$CC = 0.3\%/0.42\% = 0.70$$

Para valores de coincidencia menores a 1 la distancia del mapa se alarga para reflejar los dobles recombinantes observados y esperados. Los valores de coincidencia son entonces inversamente proporcionales a la interferencia. Si la interferencia es completa la coincidencia para otro entrecruzamiento será de cero. La ausencia de interferencia dará un valor de coincidencia cercano a la unidad.

MAPAS GENÉTICOS

En los organismos en los que se han descubierto gran número de mutantes, como en *Drosophila*, el ratón y el maíz, con los cuales es además posible realizar cruza controladas, ha sido factible localizar numerosos genes en los cromosomas y construir mapas genéticos mediante la frecuencia de recombinación. En particular en *Drosophila melanogaster* se habían localizado hacia 1935 cerca de 5,000 genes ligados en los cuatro cromosomas del insecto (Fig. 7.13).

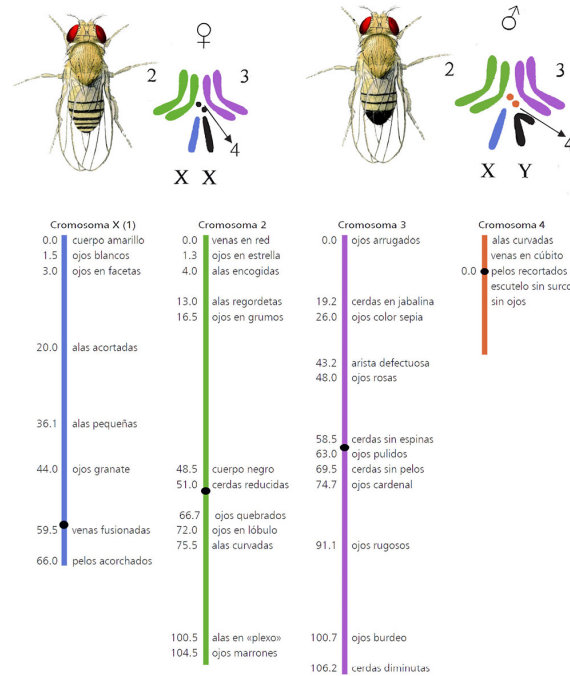


Fig. 7.13. Mapa genético parcial de los cuatro cromosomas de *Drosophila melanogaster*

MECANISMOS DEL ENTRECruzAMIENTO

El entrecruzamiento puede caracterizarse por ser un proceso que involucra el intercambio de partes de cromosomas homólogos, lleva a la recombinación de genes ligados y ocurre después de la replicación de los cromosomas en el estado de cuatro filamentos, cada entrecruzamiento involucra sólo a dos de las cuatro cromátidas. La recombinación es entonces el proceso biológico natural que genera la variación genética que portan los gametos.

EVIDENCIAS CITOGÉNÉTICAS DEL ENTRECruzAMIENTO

Aunque el fenómeno de recombinación fue postulado en 1911, no fue sino hasta 1931 cuando se demostró experimentalmente, por medio de dos reportes independientes, clásicos por su elegancia: el de la Dra. Bárbara McClintock en el maíz y el del Dr. Curt Stern en *Drosophila*.

En el caso de los experimentos realizados en *Drosophila*, Stern hizo las cruzas apropiadas para obtener hembras heterocigotas con los dos cromosomas diferentes tanto desde el punto de vista alélico como físico. Uno de los cromosomas X de la hembra porta los marcadores de forma de ojo en Barra (*B*, dominante) y color de ojos clavel (*car*, recesivo). El otro cromosoma X de la hembra porta un fragmento del cromosoma Y y los alelos dominantes de los marcadores antes mencionados. La cepa de machos porta en su cromosoma X el marcador ojos de color clavel, y en cuanto a la forma del ojo ésta es silvestre. En la siguiente generación el fenotipo de la progenie muestra provenir de cromosomas en los que se presentó o no se presentó el fenómeno del entrecruzamiento durante la formación de los gametos (Fig. 7.14).

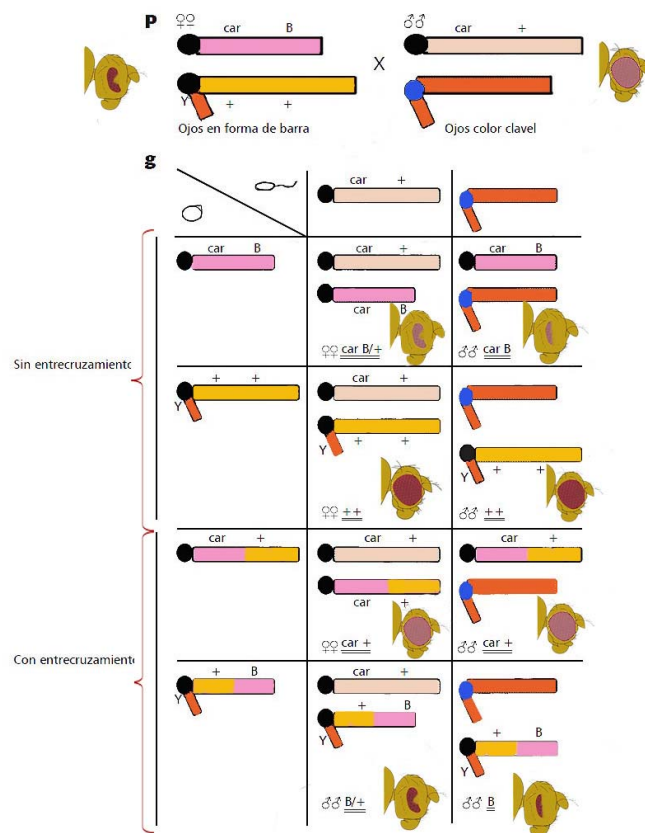


Fig. 7.14. Demostración de la recombinación por Curt Stern (1931)

TIEMPO Y MECANISMO DEL ENTRECruzAMIENTO

El experimento de Stern mostró muy elegantemente y de forma inequívoca la ocurrencia del entrecruzamiento, pero no el mecanismo que lo produce. Para entonces se postularon dos hipótesis:

1. Si el entrecruzamiento ocurre antes de la replicación los gametos portarán solamente combinaciones parentales o combinaciones recombinantes. Esta hipótesis denominada de la selección de copia, fue postulada por Belling en 1930, descartada unas décadas después mediante experimentos realizados en la levadura *Neurospora crassa*.
2. Si el entrecruzamiento ocurre después de la replicación, al final de la profase I de la meiosis, los gametos portarán tanto combinaciones parentales como recombinantes. Esta hipótesis postulada por Darlington también en 1930, se denominó de rompimiento y reunión y fue comprobada experimentalmente en 1961.

ANÁLISIS DE TÉTRADAS

Los hongos ascomicetos son eucariontes haploides que se reproducen durante su ciclo vegetativo mediante esporas denominadas conidiosporas. También pueden formar células reproductoras durante su ciclo biológico que, aunque se denominan isogametos, son diferentes en cuanto a su superficie química, de modo que hay isogametos positivos y negativos.

En los hongos se producen durante la meiosis esporas en tétradas en arreglo ordenado (*Neurospora crassa*) o desordenado (*Saccharomyces cerevisiae*). Cuando se hacen cruza entre progenitores haploides $a+b+$ x ab se pueden encontrar tres tipos de tétradas cada una mostrando un patrón distintivo de segregación alélica:

- (1) $a+b+$ $a+b+$ ab ab = esporas de ditipo parental (PD) con los genotipos parentales
- (2) $a+b$ $a+b$ $ab+$ $ab+$ = esporas de ditipo no parental (NPD) con

las combinaciones producto de la recombinación

(3) $a+b+$ $a+b$ $ab+$ ab = esporas en tétradas (T) con tipo parental y recombinante

Por la frecuencia con que aparecen PD:NPD se puede conocer si los genes están en el mismo cromosoma, es decir, ligados o si están en cromosomas diferentes y se distribuyen de forma independiente. Un exceso de ditipo parental (PD) indica ligamiento mientras que una proporción igual de PD:NPD indica independencia. En una cruce teórica en la que se consideran dos alelos mutantes a y b de dos *loci* distintos en *Neurospora crassa* supongamos que se producen 500 tétradas, tal como se muestra en la Fig. 7.15.

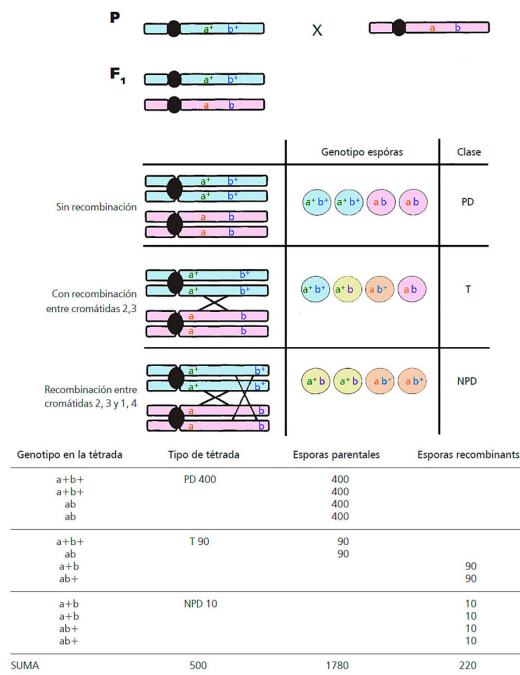


Fig. 7.15. Mapeo de dos puntos mediante el análisis de tétradas en *Neurospora crassa*

Todas las tétradas producen uno de los tres fenotipos esperados, en diferentes proporciones. Con estos datos puede calcularse la frecuencia de recombinación mediante la fórmula:

$$\%R = \frac{\frac{1}{2} T + NPD}{\text{total de tétradas}} \times 100 = \frac{45 + 10}{500} = 11\%$$

o bien mediante la fórmula:

$$\%R = \frac{\text{total de esporas recombinantes}}{\text{total de esporas}} = \frac{220}{2.000} = 11\%$$

Entonces los genes a y b están separados por 11 cM.

MAPEO GÉNICO EN LOS SERES HUMANOS

Por razones obvias en la especie humana no es posible localizar genes en los cromosomas mediante las metodologías experimentales empleadas con los organismos modelo. Los primeros datos que se obtuvieron de genes ligados se realizaron mediante el análisis de la transmisión de alguna característica al construir los árboles genealógicos respectivos.

Para estimar la frecuencia de recombinación y la distancia en unidades de mapa (cM), se emplea el método del abuelo por medio del cual es posible determinar si la madre es heterocigota para dos genes ligados en el mismo cromosoma X (cis) o en los dos cromosomas Xs (trans). Sólo es posible si se conoce el genotipo del abuelo (Fig. 7.16).

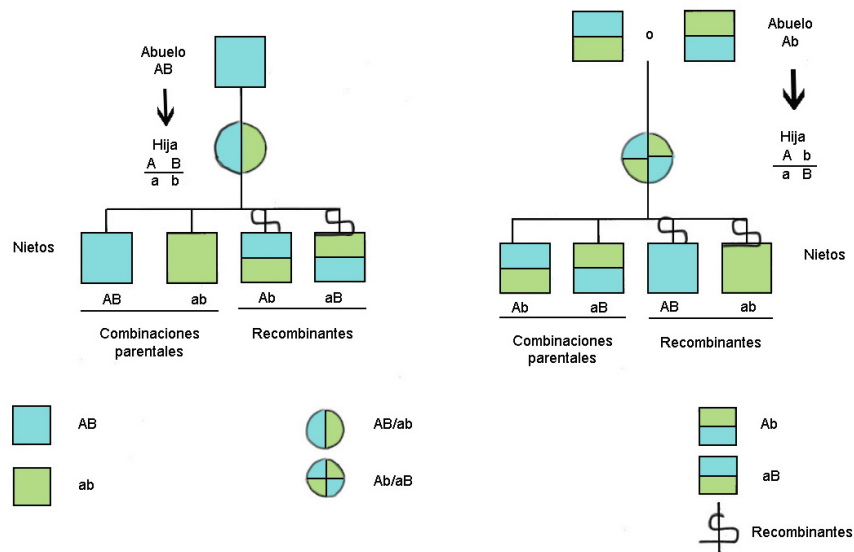


Fig. 7.16. Método del abuelo para el mapeo de genes ligados al sexo en los seres humanos

Si por ejemplo se encuentra en una muestra un recombinante entre 20 individuos para los genes ligados al sexo que codifican para la glucosa 6 deshidrogenasa y para el daltonismo, entonces la frecuencia de recombinación será de $1/20 = 5\%$.

MAPEO MEDIANTE EL ANÁLISIS DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Los genes humanos también pueden mapearse por medio del análisis de las células somáticas empleando la metodología de hibridación de células somáticas desarrollada por Georges Barsky en los años 1960s. Se basa en la fusión de dos células somáticas provenientes de dos especies distintas (humanas y de roedores) formando una células híbrida. La fusión celular se logra empleando el compuesto químico etilen glicol o el virus Sendai inactivado con rayos UV. El tratamiento modifica la superficie celular lográndose la fusión de las células somáticas, las células en principio son binucleadas formando un heterocarionte, luego los núcleos se fusionan formándose una célula híbrida o sincarionte en la que es posible distinguir a los cromosomas provenientes de las dos especies, ya que son diferentes tanto en tamaño como en estructura. En las divisiones mitóticas sucesivas se originan colonias de células en las que se van perdiendo al azar algunos cromosomas. El método más empleado es el de células humanas y de ratón, en el que por razones desconocidas, se van perdiendo los cromosomas humanos quedando diploide el complemento somático proveniente del ratón. De modo que en lugar de encontrar 86 cromosomas (40 del ratón y 46 del humano) se encuentran entre 41 y 55 cromosomas en la célula híbrida, siendo 40 del ratón y entre 1 y 15 del complemento humano.

Este método se ha empleado con éxito ya que se producen muchas líneas celulares somáticas mutantes, los genes de ambas especies se expresan en la célula híbrida, por lo que las proteínas funcionales pueden analizarse por métodos bioquímicos. La correlación entre la presencia o ausencia de cada cromosoma con la presencia o ausencia de cada proteína se denomina prueba de sintenia. El sistema es complicado ya que no siempre se retiene el

mismo cromosoma en las línea celular, sin embargo, se construyen paneles o clones híbridos como se muestra en la tabla 7.1.a. Posteriormente se analizan por métodos bioquímicos las enzimas presentes en cada clon híbrido (Tabla 7.1.b). Se comparan ambas y por concordancia se concluye que las tres primeras enzimas se encuentran en el cromosoma X y la timidin quinasa en el cromosoma 17. Mediante el empleo de esta metodología ha sido posible localizar cientos de genes humanos.

Tabla. 7.1. Mapeo de células somáticas. Prueba de sintenia para asignar genes a cromosomas humanos.

(a)								
Clon	Cromosomas humanos que se retienen en las líneas celulares							
	X	2	3	4	5	16	17	18
A	+	+	+	+	-	-	-	-
B	+	+	-	-	+	+	-	-
C	+	-	+	-	+	-	+	-

(b)					
Clon	HGPRT ^a	G6PDb	PGKc	TKd	
A	+	+	+	-	
B	+	+	+	-	
C	+	+	+	+	

^a Hipoxantin guanin fosforil transferasa, ^b glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, ^c fosfoglicerato quinasa, ^d timidin quinasa

Otra herramienta empleada con mucho éxito para mapear genes en los cromosomas humanos es la técnica HAT (hipoxantina-aminopterina-timidina) que se basa en el hecho de que sólo los

híbridos resultantes de una fusión pueden sintetizar DNA. La síntesis de DNA se realiza en las células a partir de trifosfatos de purinas y pirimidinas, los que a su vez se sintetizan a partir de monofosfatos, los que provienen de moléculas precursoras o bien del reciclamiento de las purinas y las pirimidinas. La aminopterina inhibe la síntesis de las bases nitrogenadas a partir de las moléculas precursoras, por lo cual, las células son dependientes del mecanismo de reciclamiento; la hipoxantina (HGPRT) es la enzima que se requiere para el patrón de reciclamiento de las purinas mientras que la timidin quinasa (TK) es necesaria para el patrón de reciclamiento de las pirimidinas. Si se fusionan células humanas $tk^+ hgprt^- / tk^+ hgprt^-$ con células de ratón $tk^- hgprt^+ / tk^- hgprt^+$ en presencia de aminopterina solo las células híbridas en las que se retenga al menos un cromosoma X que porte el alelo tk^+ ($tk^+ hgprt^- / tk^- hgprt^+$) proliferan (Fig. 7.17).

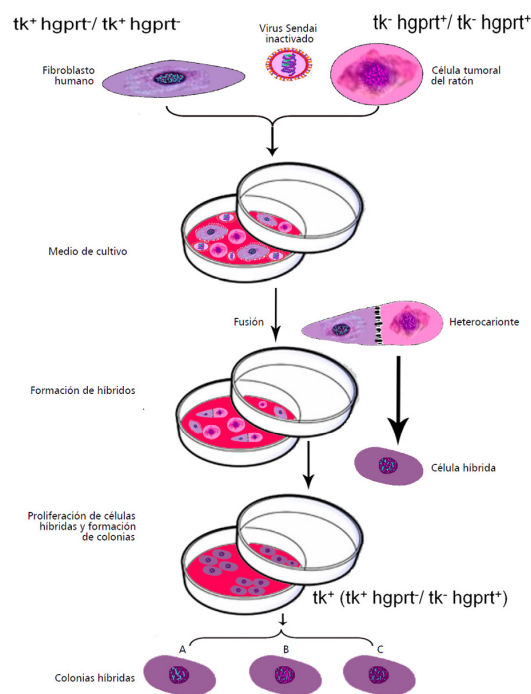


Fig. 7.17. Método HAT (Ruddle y Kucherlapati, 1974)

RECOMBINACIÓN MITÓTICA

La segregación se refiere a la separación de alelos, proceso que ocurre de forma natural durante la meiosis. Sin embargo, la separación de alelos puede ocurrir excepcionalmente en las células somáticas. Calvin Bridges en los años 1930s observó en hembras heterocigotas de *Drosophila* para un marcador dominante que produce cerdas delgadas ($M+/M$) sectores en el cuerpo con las cerdas silvestres (M), fenómeno conocido como variegación o coexistencia de diferentes sectores en los tejidos somáticos. Bridges concluyó que este fenotipo se había producido como resultado de una no-disyunción mitótica. Unos años después (1936) Curt Stern descubre el primer caso de segregación de alelos producto de la recombinación mitótica. Al hacer cruces en *Drosophila* de hembras con cerdas acortadas ($y+ sn/y+ sn$) por machos con color de cuerpo amarillo ($y sn+/Y$) las hembras de la primera generación fueron, de acuerdo a lo esperado, silvestres ($y+sn/ysn+$). Sin embargo, en algunas hembras observó sectores del cuerpo con manchas simples que mostraban el fenotipo amarillo ($y sn+/y sn$), producto de la recombinación mitótica entre los dos marcadores. En otras hembras observó manchas simples con el fenotipo singed ($y sn/y+sn$). En otras más observó la coexistencia de sectores adyacentes que mostraban los fenotipos de los marcadores amarillo y cerdas acortadas, estas manchas gemelas son productos recíprocos de la recombinación mitótica que ocurre entre el marcador cerdas acortadas y el centrómero. Estos son mosaicos o individuos que muestran en sus tejidos dos o más genotipos que se reconocen a través del fenotipo (Fig. 7.18).

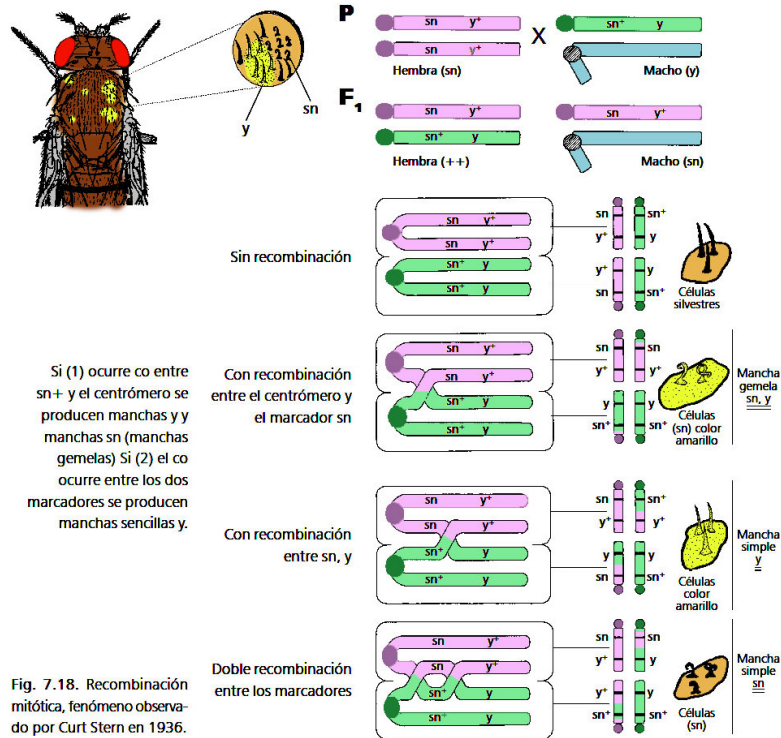


Fig. 7.18. Recombinación mitótica, fenómeno observado por Curt Stern en 1936

Es claro que los cromosomas homólogos de las células somáticas normalmente no se aparean. La recombinación mitótica es pues una excepción más que una regla, sin embargo, recientemente se ha asociado a la pérdida de la heterocigosis debida a la recombinación mitótica con algunos procesos de iniciación de cáncer.

INTERCAMBIOS ENTRE CROMÁTIDAS HERMANAS

En la mitosis, cada cromosoma está formado por dos cromátidas hermanas unidas entre sí a través del centrómero. Se ha demostrado, con el empleo de varias técnicas de tinción diferencial, que entre las cromátidas hermanas pueden darse intercambios recíprocos semejante al entrecruzamiento. Estos intercambios entre cromátidas hermanas no originan nuevas combinaciones alélicas. La técnica consiste en dejar crecer cultivos celulares a los cuales se añade un análogo de la timidina, la 5-bromodesoxiuridina BUdR, durante dos ciclos de replicación de modo que las cromátidas

quedan marcadas con 5-BudR. El par de cromátidas hermanas que está marcado se tiñe menos intensamente con el colorante Hoechst 33258 (o con naranja de acridina) que el cromosoma que tiene marcada una sola cromátida (Fig. 7.19).

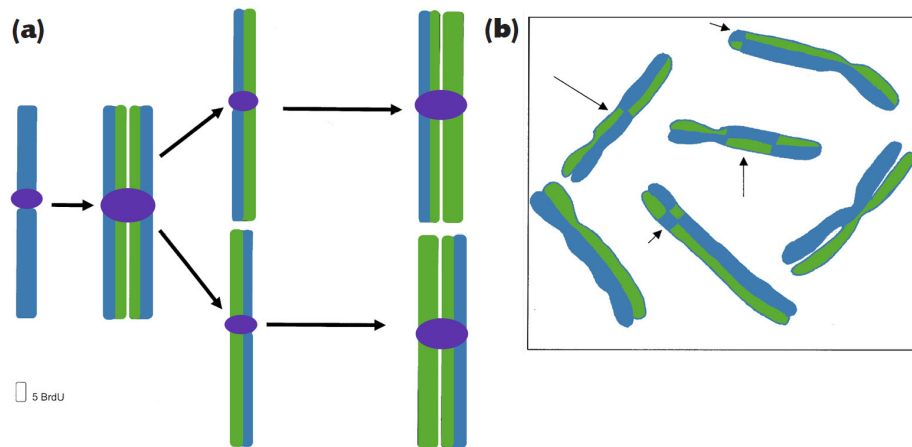


Fig. 7.19. ICHs (a) tinción diferencial de las cromátidas con 5-Brdu (b) Observación de los ICHs

El significado biológico de los ICHs se desconoce, sin embargo, está relacionado con el mecanismo de replicación del DNA. El fenómeno puede ser inducido por agentes físicos (como los rayos X), químicos (mutágenos) y biológicos (virus). Se presentan también con alta frecuencia en algunas enfermedades humanas como el síndrome de Bloom, que se produce por una mutación en el gen BLM del cromosoma 15, gen que codifica para la helicasa, enzima que juega un papel esencial en la replicación.

8. GENÉTICA DE BACTERIAS Y VIRUS

Las bacterias conforman el grupo más numeroso de seres vivos del planeta. Contribuyen al reciclamiento de nutrientes en los ecosistemas tales como el nitrógeno, el azufre y el carbono. Algunas bacterias son agentes infecciosos mientras que otras son simbioses de nuestra boca e intestinos. Actualmente se emplean como fábricas industriales para la producción de un amplio rango de productos orgánicos. Su DNA es circular, único y desnudo, además portan en sus células moléculas de DNA autónomas denominadas plásmidos. Las bacterias pueden ser parasitadas por fagos específicos denominados bacteriófagos. Se reproducen de forma asexual y parasexual. Pueden cultivarse en medios líquidos, semilíquidos, o sólidos y se hacen visibles cuando las colonias alcanzan los 10 millones de células. Cada colonia deriva de una sola célula. Se denominan silvestres o prototofas las colonias que son capaces de crecer en un medio mínimo conformado por agar, una fuente de carbono orgánico como glucosa o lactosa y sales minerales. Mientras que las auxotofas son aquellas colonias que carecen de alguna ruta metabólica porque las células han sufrido alguna mutación. Estas colonias pueden ser visibles en placas por ejemplo la prototrofa para el metabolismo de la lactosa se tiñe de rojo, mientras que la auxotrofa es hialina. Su reproducción es asexual aunque existen eventos de transferencia de información genética denominados parasexuales.

MAPEO GÉNICO EN PROCARIONTES: TRANSFORMACIÓN CONJUGACIÓN Y TRANSDUCCIÓN

La recombinación genética en procariontes, bacterias y virus que los infectan, es una transferencia de una vía, de uno o más genes de una célula donadora a una receptora. La recombinación en los procariontes se refiere a la sustitución de uno o más genes presentes en una cepa por los de otra que es genéticamente diferente. Este fenómeno es diferente al que se presenta en eucariontes ya que la recombinación produce intercambios

recíprocos en estos organismos. Sin embargo, el resultado final es el mismo: la información genética se transfiere de un organismo a otro generándose un genotipo diferente. Estos procesos semejantes a la reproducción sexual de los eucariontes se denominan sistemas parasexuales ya que cumplen la misma función: hay recombinación entre los genes homólogos y la segregación posterior.

La transmisión en procariontes se lleva a cabo mediante tres procesos:

1. *Transformación* en donde un fragmento de DNA donador ingresa a una célula receptora.
2. *Conjugación* proceso en el cual dos células bacterianas establecen contacto y se transfiere material genético de una a otra.
3. *Transducción* transferencia mediada por virus que funcionan como vectores.

Las bacterias crecen en medios de cultivo líquido (en cajas de Petri) o semilíquido (en tubos de ensayo) que consisten en agar, una fuente de carbono orgánico (glucosa o lactosa) y sales inorgánicas. Este medio se denomina *mínimo*. Las bacterias que crecen en este medio mínimo deben ser capaces de sintetizar todos los componentes orgánicos esenciales tales como aminoácidos, purinas, pirimidinas, vitaminas, azúcares y ácidos grasos. En tal caso las bacterias serán silvestres o *prototróficas* (+), mientras que si no son capaces de crecer en el medio mínimo, debido a que han sufrido una mutación y han perdido la capacidad para sintetizar uno o varios componentes orgánicos, las bacterias serán *auxotróficas* (-) y sólo crecerán en un medio completo al que se agrega el o los compuestos orgánicos que es incapaz de sintetizar. Si la bacteria puede sintetizar un antibiótico será resistente (r), si no puede será susceptible (s). Debido a que los procariontes son haploides el genotipo corresponde al fenotipo. Los fenotipos estudiados son: tamaño, color y textura de las colonias; resistencia a antibióticos o infección viral; dependencia o independencia a aminoácidos o vitaminas.

TRANSFORMACIÓN

Fue observada por Frederick Griffith y colaboradores en 1928,

quienes realizaron diversos experimentos con varias cepas de la bacteria que produce la neumonía, *Diplococcus pneumoneae*. Algunas cepas de la bacteria producen la enfermedad en vertebrados, seres humanos y ratón, mientras que otras son inocuas. Las células virulentas poseen una cápsula de polisacáridos, mientras que las células avirulentas no la poseen son por lo tanto acapsuladas. Las bacterias encapsuladas forman colonias lisas (S) mientras que las acapsuladas generan colonias rugosas (R). Esta característica permite distinguir a las cepas en cultivo. Cada cepa bacteriana puede estar formada por tipos diferentes denominados *serotipos*. Cada serotipo se encuentra en un estado fisiológico particular y a su vez se caracteriza por tener una estructura química del polisacárido específica, que puede identificarse por métodos inmunológicos. Estos se designan con números romanos. Griffith y colaboradores emplearon las cepas II R y III S (muertas por calor), las inyectaron juntas a ratones los que murieron. Sin embargo, el análisis de la sangre de los ratones mostró grandes cantidades de bacterias vivas III S (Fig. 8.1). Griffith concluyó que las bacterias III S muertas por calor eran las responsables de convertir a las células II R en III S, llamó a este fenómeno transformación y sugirió que se debía a la presencia de la cápsula de polisacáridos.

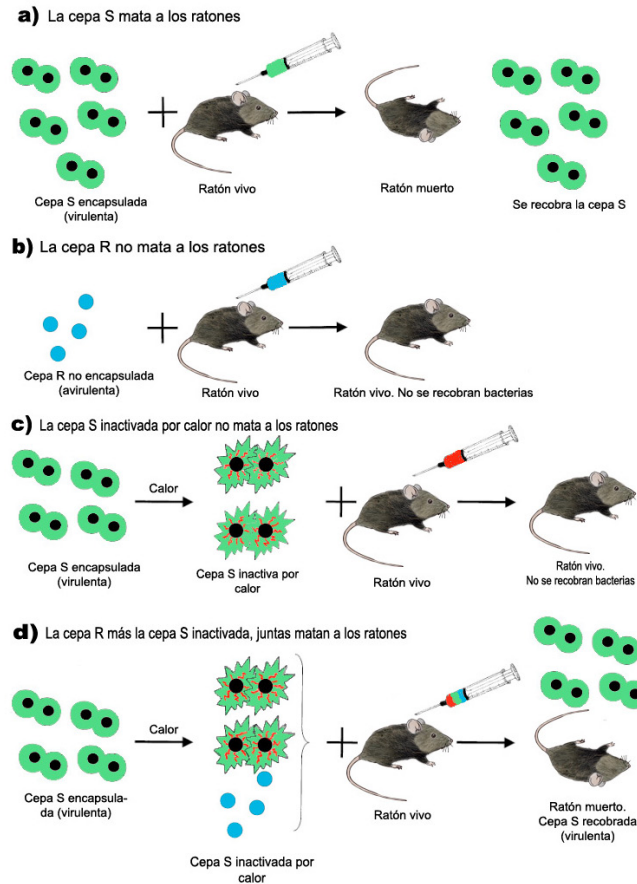


Fig. 8.1. Experimento de Griffith y colaboradores (1928)

En 1944 Avery, McLeod y McCarthy, después de 10 años de trabajos experimentales, muestran que el DNA actúa como principio transformante específico de la cápsula de polisacáridos y demuestran, de forma inequívoca y con un experimento muy elegante, que el DNA es el material genético responsable de la transformación.

Para que se lleve a cabo la transformación se requiere que la célula sea capaz de incorporar DNA foráneo es decir que sea *competente*. Fenómeno que implica que la célula debe tener una proteína de superficie o factor de competencia que se pega al DNA extracelular por medio de una reacción que requiere de energía. En *Streptococcus pneumoniae* la competencia o habilidad para sufrir transformaciones requiere de la expresión de más de 120 genes

(conjunto de genes denominado regulón) que propician el ingreso del DNA foráneo. Estos genes deben prenderse y apagarse en una secuencia muy precisa que está regulada y se activa en presencia de la proteína estimuladora de la competencia (CSP) la cual activa la expresión génica en cascada. La longitud del DNA transformante es de 10 a 20 kb. En el proceso una de las dos cadenas del DNA es digerida por nucleasas y solamente una hebra de la doble hélice participa en la transformación, ésta se alinea a la región complementaria del genóforo bacteriano. Este fragmento sustituye a la región homóloga que se escinde y degrada en la célula. La transformación se presenta en forma natural y con frecuencia en *Bacillus subtilis* y en *Shigella paradysenteriae*. En otras bacterias se deben ajustar las condiciones de cultivo para hacerlas competentes e iniciar la transformación artificial.

Si una célula receptora es deficiente para dos marcadores a- b- (*endogenote*) y se introduce un fragmento donador proficiente para esos marcadores a+ b+ (*exogenote*) se esperan tres clases de genotipos transformados: a+ b- a- b+ y a+ b+. El DNA donador se fragmenta al azar durante la extracción de modo que genes muy pegados se incluyen en los fragmentos mientras que genes muy separados van a fragmentos diferentes. Por lo que se requieren dos eventos de transformación para generar un transformante doble, si los genes están muy separados se generan menos transformantes dobles (Fig. 8.2) que cuando los genes están más unidos (Fig. 8.3).

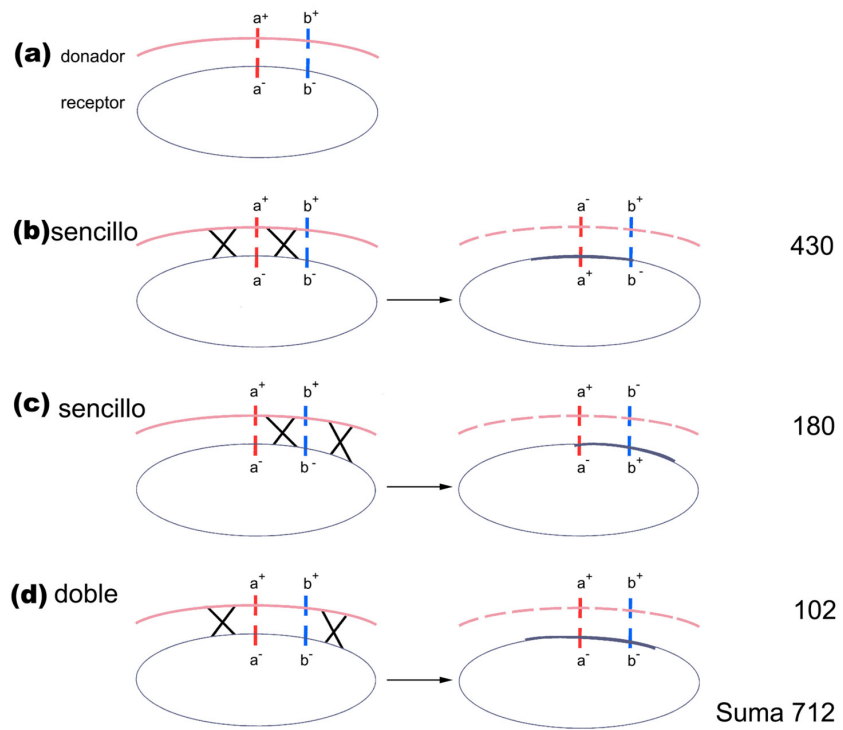


Fig. 8.2. Transformantes obtenidos cuando los genes están muy separados

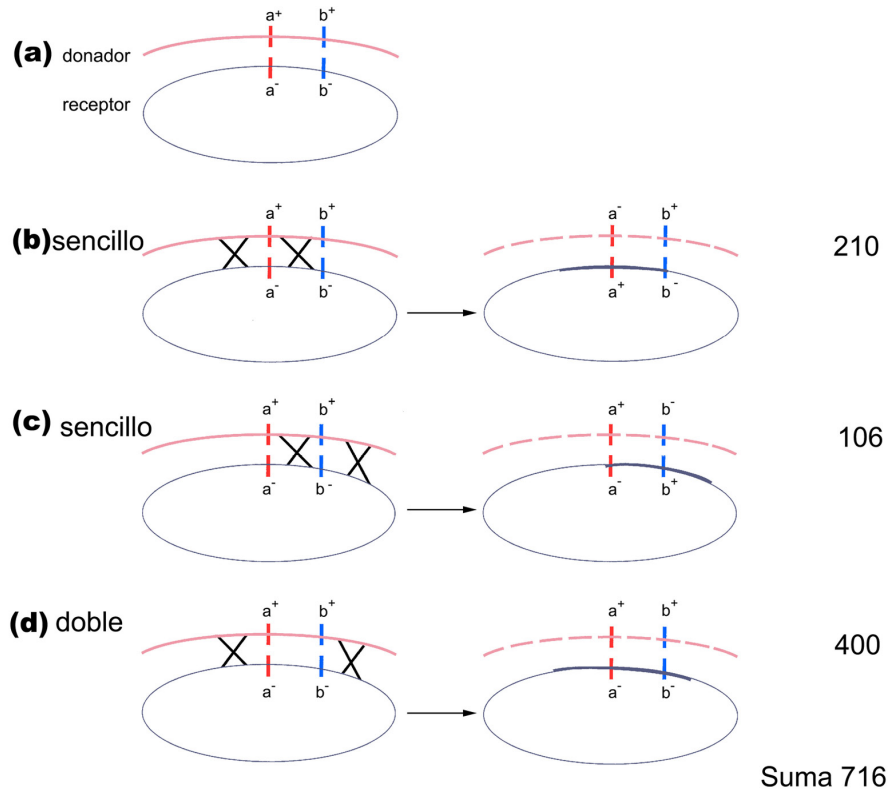


Fig. 8.3. Transformantes obtenidos cuando los genes están muy unidos

En la transformación el DNA donador se integra al receptor mediante entrecruzamientos, el DNA receptor se elimina y luego se degrada en el citoplasma. La integración de una hebra de DNA (lineal) del donador al genóforo bacteriano (estructura circular) requiere de un número par de entrecruzamientos, si esto no ocurre entonces el DNA receptor se abre y la célula muere (Fig. 8.4).

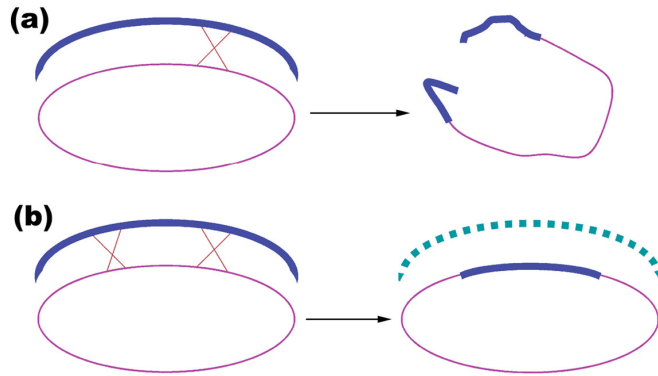


Fig. 8.4. Mecanismo de integración de una hebra de DNA a un DNA circular (a) con un solo entrecruzamiento (b) con dos entrecruzamientos

Para fines de mapeo solo se emplean los transformantes sencillos ya que los dobles transformantes no indican la distancia debido a que los entrecruzamientos ocurren por fuera de $x \ a \ _ \ b \ x$. Además los recombinantes no ocurren en número similares en los procariontes ya que la recombinación no es recíproca.

La distancia entre los marcadores se calcula mediante la fórmula:

% de recombinación = Número de recombinantes/ total de transformantes

En la tabla 8.1 se muestra el mapeo por transformación con dos marcadores.

Tabla 8.1. Mapeo por transformación con dos marcadores.

Marcador	Transformante	Recombinante
a^+b^-	130	130
a^-b^+	70	70
a^+b^+	800	0
Suma	1,000	200

% R = 200/1,000= 20%; distancia entre a y b 20 cM.		
--	--	--

El mapeo por transformación puede realizarse con tres marcadores. Puede notarse en la tabla 8.2 que cinco de las seis clases de dobles entrecruzamientos producen transformantes sencillos o dobles; el exceso de triples transformantes indica que los tres genes están ligados, en esta clase los entrecruzamientos dobles ocurrieron por fuera de los marcadores; los entrecruzamientos cuádruples producen la clase menos numerosa con base en ella se determina el gen que está en medio (Fig. 8.5 transformante $a^+ b^- c^+$).

Tabla 8.2. Tipos de transformantes en el mapeo con tres marcadores.

Sencillos	Dobles	Triples
$a^+b^-c^-$ 300	$a^+b^+c^-$ 150	$a^+b^+c^+$ 1,400
$a^-b^+c^-$ 60	$a^-b^+c^+$ 290	
$a^-b^-c^+$ 140	$a^+b^-c^+$ 10	

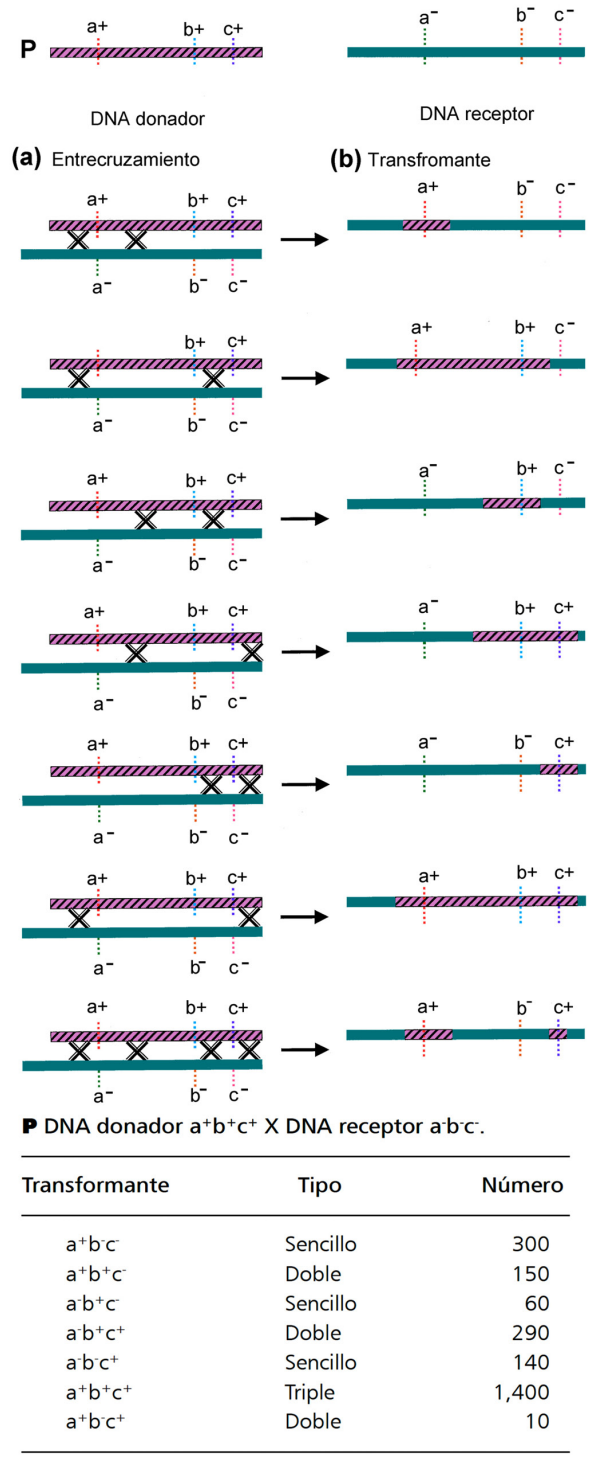


Fig. 8.5. Mapeo por transformación de tres puntos

Para calcular la distancia entre los tres marcadores, se trabaja

con dos marcadores al mismo tiempo, considerando que los triples transformantes no son recombinantes ya que el segmento donador se integra sin cambio al receptor. Se calcula la distancia de los marcadores con base en la proporción de recombinantes entre el total de transformantes (Tabla 8.3).

Tabla 8.3. Cálculo de las distancias relativas entre tres genes (a, b y c) por transformación y construcción del mapa genético

Transformantes para los genes a y b (sin considerar a c):		
Sencillos	$a^+b^-(c^-)$	300
	$a^-b^+(c^-)$	60
	$a^-b^+(c^+)$	290
	$a^+b^-(c^+)$	10
	Total	660
Dobles	$a^+b^+(c^-)$	150
	$a^+b^+(c^+)$	1,400
	Total	1,550
	Suma	2,210
Distancia entre a y b $660/2,210 = 0.30 \times 100 = 30$		
Transformantes para a y c (sin considerar a b):		
Sencillos	$a^+(b^-)c^-$	300
	$a^-(b^-)c^+$	140
	$a^+(b^+)c^-$	150
	$a^-(b^+)c^+$	290
	Total	880

Dobles	$a^+(b^+)c^+$	10
	$a^+(b^+)c^+$	1,400
	Total	1,410
	Suma	2,290
Distancia entre a y c $880/2,290 = 0.38 \times 100 = 38$		
Transformantes para b y c (sin considerar a):		
Sencillos	$(a^-)b^+c^-$	60
	$(a^-)b^-c^+$	140
	$(a^+)b^+c^-$	150
	$(a^+)b^-c^+$	10
	Total	360
Dobles	$(a^-)b^+c^+$	290
	$(a^+)b^+c^+$	1,400
	Total	1,690
	Suma	2,050
Distancia entre b y c $360/2,050 = 0.18 \times 100 = 18$		
Mapa genético:	a b	c
	30	18

CONJUGACIÓN

Fue descubierta por Joshua Lederbeg y Edward Tatum en 1946 en la bacteria *Escherichia coli*. Demostraron que la información genética de una bacteria se transfiere a otra mediante recombinación. Los experimentos iniciales consistieron en cultivar cepas de bacterias auxotrofas; la cepa A requería metionina y biotina para poder crecer, mientras que la cepa B requería treonina, leucina

y tiamina. Ninguna de las dos cepas podía crecer en medio mínimo. Al combinar a las cepas A y B encontraron prototofos (Fig. 8.6).

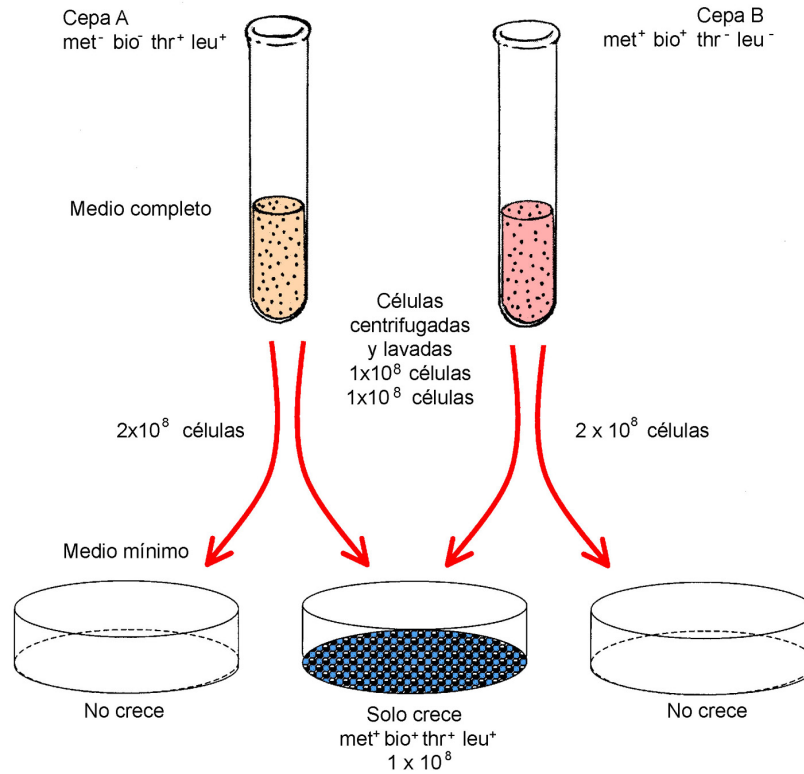


Fig. 8.6. Experimento de conjugación de Lederberg y Tatum (1946)

Si se cruzan dos cepas auxotrofas $a^+b^+c^+d^-e^-$ x $a^-b^-c^-d^+e^+$ sólo las prototrofas $a^+b^+c^+d^+e^+$ pueden crecer en medio mínimo, lo cual puede deberse a: (1) mutación reversa. Si la tasa de mutación reversa es de 1×10^5 /gen para que ésta ocurra sería de $1 \times 10^5 \times 10^5 \times 10^5 = 1 \times 10^{15}$ pero Lederberg y Tatum habían observado que los prototofos aparecían con una frecuencia de 1×10^6 (2) transformación. No encontraron prototofos cuando añadieron extractos de DNA a células vivas (3) conjugación. Realizaron un experimento en el que colocaron las cepas en un tubo de vidrio en U, una de cada lado, con un filtro a la mitad que permitía el paso del medio pero no el contacto con las células, no encontraron

prototrofas. Al quitar el papel filtro y permitir el contacto entre las células, encontraron prototrofas en una frecuencia de 1×10^6 por lo que concluyeron que la condición para que se lleve a cabo la recombinación por conjugación, es el contacto celular.

Lederberg asumió que los cultivos parentales se comportaban como en los sistemas de apareamiento sexual de los eucariontes, pero William Hayes en 1953 demostró que el cambio genético es unidireccional. Al cruzar una cepa A susceptible a estreptomycin por una cepa B resistente al antibiótico, Hayes encontró prototrofos; al hacer la cruce recíproca ($A - st^r \times B - str^s$) no encontró prototrofos, por lo cual solo se producen prototrofos si B es viable, es decir, la cepa A funciona como donadora y la B como receptora. Hayes demostró que el estado donador lo confiere un factor de fertilidad **F** que se transmite a las células receptoras durante el proceso de conjugación, convirtiéndose éstas en donadoras (Fig. 8.7). Demostró también que F se transmite de forma independiente al genóforo bacteriano. En las cruces entre cepas donadoras (F+) y receptoras (F-) la frecuencia de recombinación es de 1×10^6 . Investigaciones posteriores mostraron que existen cepas en las cuales la frecuencia de recombinación es muy alta, del orden de 1×10^4 a 1×10^5 , denominadas de alta frecuencia de recombinación (*Hfr*). Las cepas donadoras *Hfr* transfieren sus genes a las cepas F- pero éstas pueden permanecer siendo F-. El comportamiento de las cepas F+ y *Hfr* en diversos experimentos permitió concluir que: (1) en las cepas *Hfr* el factor F está integrado en el genóforo bacteriano (2) en las cepas F el factor es autónomo (3) las cepas pueden pasar de ser F+ a *Hfr* cuando el factor F se integra al genóforo bacteriano, evento que ocurre en una frecuencia de 1×10^4 a 1×10^5 (4) el factor de fertilidad pasa de una cepa donadora F+ a una receptora F- durante la conjugación (5) En las cepas *Hfr* este factor es el último en transferirse (6) el factor F es una entidad genética denominada *episoma*, plásmido capaz de ser autónomo bajo ciertas condiciones o de integrarse al genóforo bacteriano en otras condiciones. Del episoma F se transfiere a la cepa receptora durante la conjugación una hebra, a partir de $oriT$, ésta se replica y queda conformada la doble hélice del episoma.

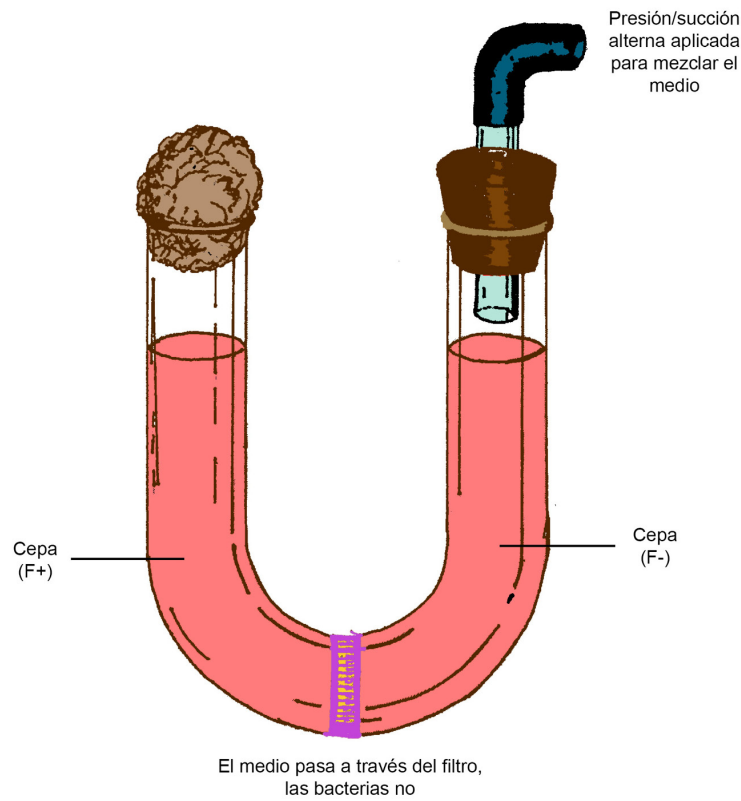


Fig. 8.7. Experimento del tubo en U (Hayes, 1952)

François Jacob y Ellie Wollman iniciaron al final de los 1950s los trabajos de mapeo del genoma de *Escherichia coli* por la técnica de conjugación interrumpida que consiste en la agitación de los cultivos a intervalos diferentes de tiempo. Si se cruza una cepa donadora Hfr prototrofa para varios genes a+b+c+d+e+ por una receptora F-auxotrófica para a-b-c-d-e- y se van sembrando los productos en medio mínimo en tiempos diferentes, se demuestra la transferencia secuencial de los genes en función del tiempo en el que se había permitido que ocurriera la conjugación (Tabla 8.4).

Tabla 8.4. Mapeo genético por conjugación. Datos obtenidos por Jacob y Wollman (1956).

--

Marcador	Tiempo
a	9 minutos
b	10 minutos
abc	13 minutos
abcd	17 minutos
abcde	25 minutos
Hfr	90 minutos
Mapa genético circular = abcde	

Jacob y Wollman hicieron otros experimentos con otras cepas Hfr, aunque se demostró que los genes se transfieren linealmente con el tiempo, los genes que entraban primero y seguían después eran variables de una cepa a otra. Las diferencias se deben al punto de origen (O) y a la dirección en la que entraba cada gen. Para explicar estos resultados Jacob y Wollman propusieron que el genóforo de *Escherichia coli* es circular y que el factor F+ puede integrarse en diferentes puntos del genóforo bacteriano. El sitio donde se integra es el punto de origen (O) que determina el punto inicial de transferencia, aunque Hfr es el último marcador en pasar durante la conjugación. De hecho en el genoma de *Escherichia coli* existen 10 sitios donde F+ se puede integrar.

De modo que el tiempo que tarda en pasar cada marcador en minutos corresponde a las unidades de mapa, es decir, a la distancia que los separa en el genóforo. El cálculo posterior que se hizo, con base en múltiples experimentos, y es el siguiente: el cromosoma circular de *E. coli* tarda en pasar completo 100 minutos, 1 minuto corresponde a 20 unidades de mapa por lo que el genóforo contiene 2,000 unidades de mapa. Si existen 10^7 pares de nucleótidos en el genoma de *E. coli* entonces 1% de recombinación equivale a $10^7 / 2,000 = 5,000$ pares de nucleótidos. La técnica de conjugación interrumpida con diferentes cepas Hfr ha permitido mapear el genóforo completo de *Escherichia coli*.

El proceso de integración al genóforo bacteriano del episoma F+,

es reversible y preciso, sin embargo, en algunas ocasiones puede ser aberrante ya que el factor F al separarse del genóforo puede llevarse consigo algunos genes bacterianos, este plásmido se denomina Fgenote o F' la célula bacteriana al ser deficiente en algunos genes se hace dependiente del Fgenote. Si una célula F' se conjuga con una F- el producto tendrá algunos genes en condición diploide, es decir, será un merocigoto; al proceso se le denomina sexducción. Estos merocigotos han sido muy útiles para estudiar, como veremos en el capítulo 11, los procesos de regulación génica en bacterias.

PROTEÍNAS REC

La transferencia de genes en las bacterias, tal como ya se ha señalado, es unidireccional: de una célula que funciona como donadora a otra receptora. El mecanismo bioquímico fue dilucidado a través de estudios genéticos en células mutantes. De modo que, el fenómeno de recombinación entre DNAs bacterianos está mediado por una serie de enzimas denominadas REC que son codificadas por un grupo de genes rec. El gen rec-A codifica para la proteína REC-A que muestra una fuerte afinidad para unirse a moléculas de DNA de hebra sencilla. Este complejo luego se une a la región homóloga del DNA receptor, en el que los productos de los genes rec-B, rec-C y rec-D generan la enzima REC-BCD que ha desespiralizado y cortado al DNA de doble hélice lo que permite que se lleve a cabo la recombinación.

PLÁSMIDOS

En el fenómeno de conjugación, se mencionó que el factor de fertilidad F es un elemento de DNA circular, de doble hélice y autónomo que se encuentra en el citoplasma bacteriano. El factor F contiene genes fundamentales que codifican para la proteína pilina con la cual se construye el tubo de conjugación o *pilus*. Este elemento puede además integrarse al genóforo bacteriano, en tal estado la bacteria será capaz de conjugarse en una frecuencia alta. Debido a esta capacidad de encontrarse en forma autónoma (factor F) o integrada (Hfr) este plásmido fue denominado por Jacob *episoma*.

En las bacterias existen además otros plásmidos autónomos. La mayoría tienen un tamaño que varía entre 1/10 y 1/100 del tamaño del genóforo bacteriano. Los plásmidos que portan resistencia a antibióticos se denominan R, constan de una región determinante para la resistencia a antibióticos (r), y de otra denominada factor de resistencia transfer (RTF) que es la región que le confiere la capacidad para transferirse durante la conjugación. Mientras que la región RTF es muy parecida en todos los plásmidos, la región r es muy variable. Cada determinante r confiere resistencia específica a un antibiótico. Hay plásmidos que confieren resistencia múltiple a diferentes antibióticos, ya que contienen en la región r genes que codifican para la resistencia a ampicilina, canamicina, estreptomina y tetraciclina. Otros plásmidos confieren resistencia a metales, a la producción de enterotoxinas y al metabolismo del camfor. Los plásmidos que no contienen la región RTF no pueden transferirse de forma horizontal a otras bacterias, la bacteria sólo será resistente a uno o a varios antibióticos.

Algunas cepas bacterianas portan un plásmido con factores colicinogénicos, (ColE1) capaces de sintetizar la proteína colicina, que mata a las cepas que no la portan. Estos plásmidos no se transmiten a otras células, a menos que se presenten en una bacteria que además porte el elemento F.

GENÉTICA DE LOS VIRUS

La mayoría de las bacterias son susceptibles al ataque de virus específicos llamados *bacteriofagos*. Un virus consiste de una cápside proteica que envuelve al ácido nucleico, DNA o RNA. Durante la infección el virus se pega a la membrana bacteriana e inyecta su material genético a la célula. La información genética del fago puede tomar dos caminos, en uno de ellos se integra mediante recombinación al genóforo bacteriano, proceso denominado *lisogenia* (Fig. 8.8a). En el otro camino la información genética del virus toma la maquinaria de la célula bacteriana, se apagan los procesos de síntesis bacteriana y se reprograman para la síntesis del material genético del virus. Pasado un corto tiempo muchos descendientes del fago original se producen y se liberan cuando la pared bacteriana se rompe. Este proceso se denomina *lisis* (Fig. 8.8b).

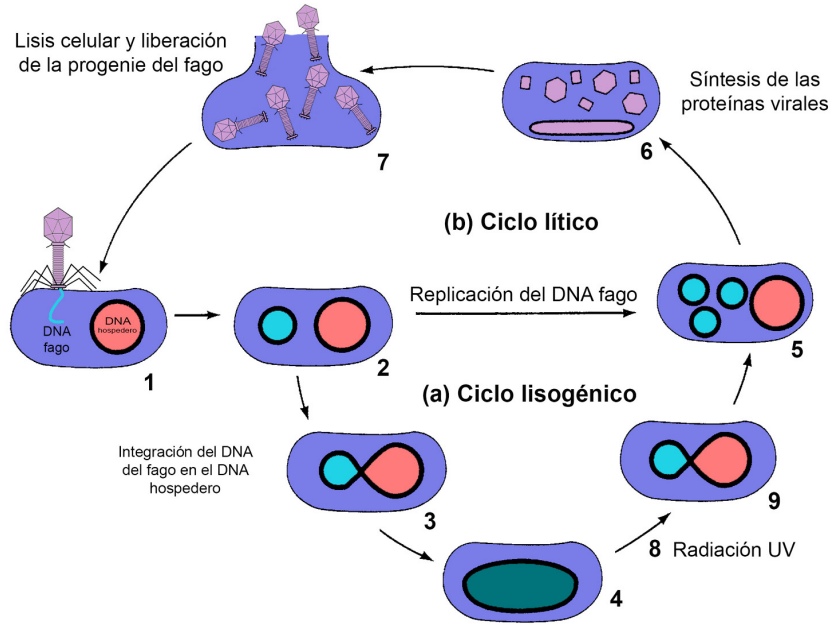


Fig. 8.8. Ciclo de vida típico de un virus (a) lisogénico (b) lítico

Después de la lisis estos fagos pueden infectar a otras células bacterianas, fenómeno que es exponencial, y puede observarse a simple vista en los cultivos bacterianos infectados, ya que en su lugar quedan hoyos denominados placas. Éstas pueden tener diferentes aspectos y tamaños, características que pueden ser analizadas. Por ejemplo el carácter amplitud del huésped (h) genera placas grandes (h+) o placas pequeñas (h-). El rasgo lisis rápida (r) produce placas con bordes irregulares (r+) o con bordes lisos (r-) (Fig. 8.9).

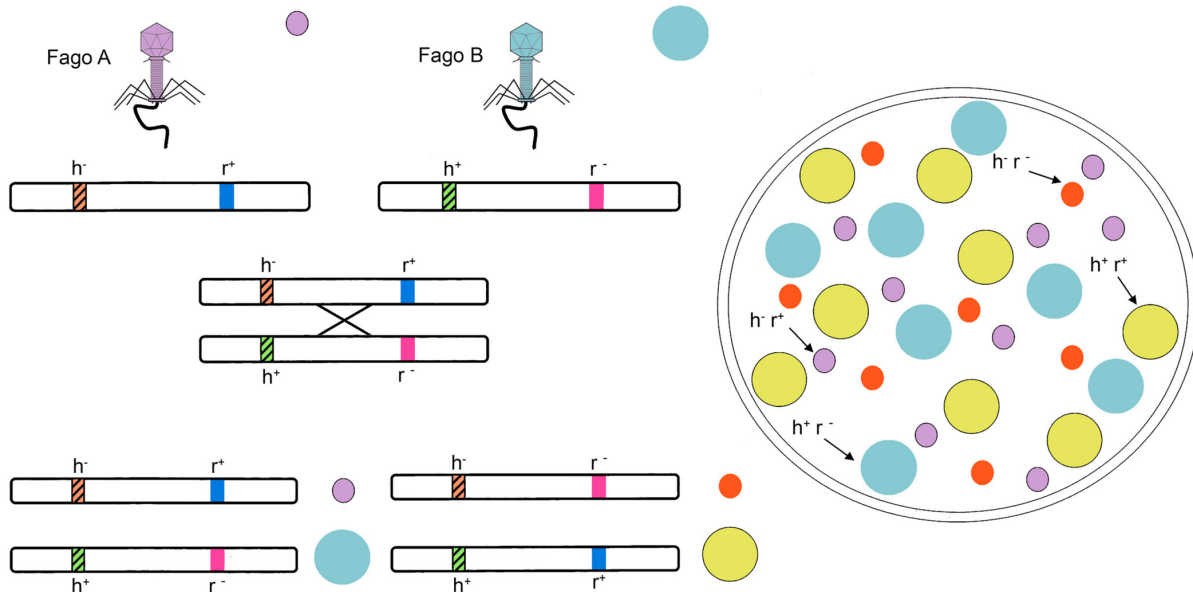


Fig. 8.9. Placas formadas ppor los genes h y r durante la infección mixta a cultivos bacterianos (Hershey y Rotman, 1949)

RECOMBINACIÓN EN VIRUS

Fue descrita por Alfred Hershey y R. Rotman en 1940 en experimentos de infección doble o simultánea del virus T2 en *Escherichia coli*. Si el genotipo de los virus T2 progenitores es $h^- r^+$ x $h^+ r^-$ entonces pueden esperarse, si hay recombinación, cuatro fenotipos distintos: placas $h^- r^+$, placas $h^+ r^-$ (progenitoras), placas $h^+ r^+$ y placas $h^- r^-$ (recombinantes). La frecuencia de recombinación puede calcularse con base en el número de recombinantes / total de placas.

Si en una infección mixta del tipo antes descrito se encuentran tanto placas recombinantes como progenitoras podría establecerse la distancia aparente entre los genes, y tal como se muestra en la tabla 8.5.

Tabla 8.5. Recombinación en virus durante una infección

mixta (Hershey y Rotman, 1949).

Fenotipo	Clase	Nro. de placas
hr ⁺	Progenitora	52
h ⁺ r ⁻	Progenitora	54
h ⁺ r ⁺	Recombinante	40
hr ⁻	Recombinante	18
Entonces la distancia entre h y r es:		
$\%R = 40 + 18 / 164 = 35.4 \text{ cM}$		

TRANSDUCCIÓN

Algunos fagos tienen la capacidad de transportar genes de una bacteria a otra. La transferencia de DNA entre células bacterianas por medio de un virus es un proceso parasexual que fue descrito por Norton Zinder y Joshua Lederberg en 1952 en *Salmonella typhimurium* con el vector P22 y se denomina *transducción*.

La interacción involucra a un fago temperado el cual se encuentra integrado al genóforo bacteriano en forma de profago generación tras generación, proceso denominado, como ya dijimos, lisogenia. Ocasionalmente el profago se separa del genóforo bacteriano volviéndose virulento, empieza el ciclo lítico, se replica el DNA viral y cuando se encapsula puede llevarse parte del DNA bacteriano. Una vez que infecta a otra bacteria la porción de DNA bacteriano puede, mediante entrecruzamientos en la región homóloga, recombinarse proceso denominado *transducción generalizada*, ya que cualquier pedazo de DNA puede ser transferido. Este es un proceso raro ya que ocurre en una frecuencia de 1×10^6 , la cotransducción de dos o tres genes con frecuencia alta implica que están ligados. El método para cuantificar es similar al empleado en la transformación, en promedio el fago puede llevarse una centésima del genóforo bacteriano, esta longitud del genóforo bacteriano es similar a la que tarda en pasar por conjugación 1 minuto, por lo que mediante la

transducción puede hacerse un mapeo más fino.

Algunos fagos temperados sólo transfieren ciertos genes bacterianos, estos son los genes que flanquean el lugar donde se inserta el profago, el tamaño de DNA transducido es similar, el proceso se denomina *transducción especializada*. Por ejemplo el fago λ lisogénico para *Escherichia coli*, cuando pasa al ciclo lítico se lleva los genes para la galactosa y la biotina que son los lugares donde se inserta. El fago $\phi 80$ se lleva los genes para triptófano y supresores. Estos fagos al infectar a otra célula bacteriana inician el ciclo lisogénico, el DNA bacteriano donador se recombina con el receptor generándose estados de diplopía temporal conocidos como merocigotos. Si por ejemplo, una cepa de *E. coli* es auxotrófica para galactosa y es infectada por un fago λ que porte gal+, entonces después de la transducción la bacteria podrá utilizar a la galactosa como fuente de carbono (Fig. 8.10).

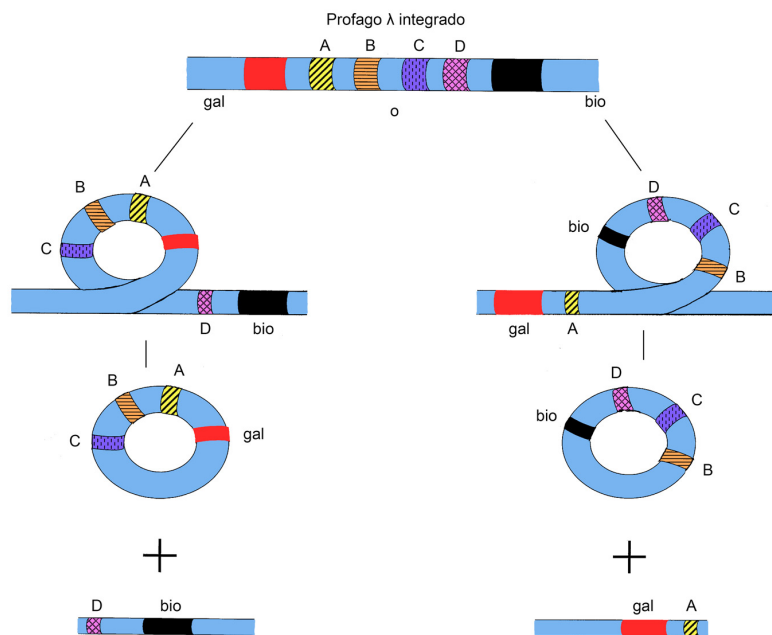


Fig. 8.10. Transducción especializada e integración del fago lambda

RECOMBINACIÓN INTRAGÉNICA EN EL FAGO T4

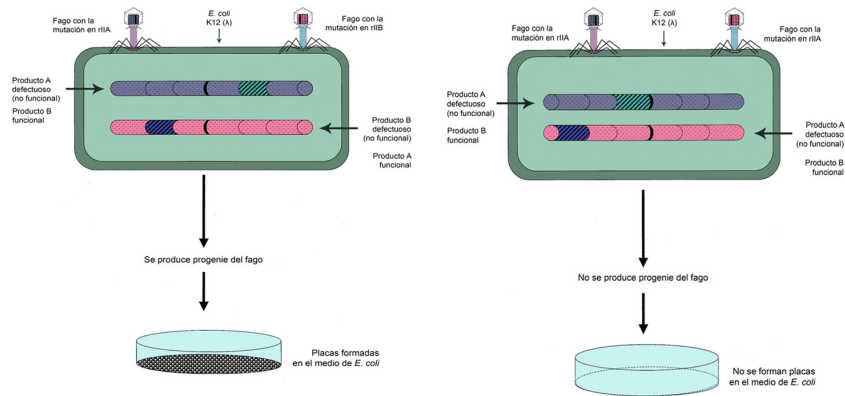
Seymour Benzer realizó en los años 1960s experimentos muy ingeniosos en la región rII del fago T4 que le permitieron demostrar que la recombinación también ocurre dentro de un gen. Para ello aisló numerosos mutantes del gen rII, alrededor de 20,000, que podían infectar a la cepa B de *Escherichia coli* pero no a la K12 (lisogénica para el fago λ). Los bacteriofagos T4 silvestres son capaces de multiplicarse en las cepas de *E.coli* B y K12 (λ) produciendo placas pequeñas. Las mutaciones en la región rII del fago T4 producen placas grandes en *E.coli* B, pero no se propagan en *E. coli* K12(λ) (Tabla 8.6). Debido a la incapacidad de los mutantes rII para crecer en la cepa K12(λ), entonces si se infectan bacterias con dos tipos diferentes de mutantes rII, la recombinación entre estos mutantes puede detectarse, aunque su frecuencia es extraordinariamente baja. Al coinfectar a *E.coli* se tienen en la cepa B millones de placas rII y rII+, y en la cepa K (λ) se obtiene 1 recombinante en 100 millones de progenie (1 en 10^9 en un mililitro), por lo tanto, el sistema rII le permitió a Benzer crear un método de selección de eventos raros sin tener que analizar un gran número de placas. Además encontró que la progenie de los fagos en la cepa K12(λ), selecciona a los recombinantes rII+, debido a que solamente las silvestres pueden crecer en K12(λ).

Tabla 8.6. Tipos de placas que se producen en *E. coli* al ser infectada por diferentes cepas del virus T4, región rII.

Virus T4	<i>Escherichia coli</i>	
	B	K12(λ)
rII	redondas, largas	sin placa
rII+	arrugadas, chicas	arrugadas, chicas

Benzer se topó con un problema que tuvo que resolver antes de abordar los experimentos que le condujeron a resolver la estructura

fina del gen rII. Cuando Benzer estaba realizando sus experimentos encontró que cuando infectaba a bacterias de la cepa K12(λ) con un par de mutantes rII, la combinación de ambos mutantes podía infectar y lisar a K12(λ). Si los fagos rII⁺ son capaces de lisar a las bacterias K12(λ), entonces, cómo podían dos cepas mutantes rII producir una función silvestre? Benzer propuso que el locus rII consta de dos genes distintos, rII A y rII B, de modo que, cada cepa mutante rII proporciona el producto genético silvestre que está mutado en la otra cepa rII, juntos restituyen la función completa de tipo silvestre (Fig. 8.11). De modo que, en posición *trans* suple las funciones mientras que en la *cis* cumple normalmente las funciones. La prueba de complementación cis-trans, le permitió acuñar el término *cistrón* para describir esta complementación genética. Dos o más cistrones pueden dirigir funciones diferentes pero relacionadas en el desarrollo de una característica determinada. La prueba cis-trans o de complementación es una prueba de alelismo funcional: un gen consta de varias unidades funcionales o cistrones. En procariontes los cistrones están unidos, mientras que en eucariontes no (*v.gr.* los genes que codifican para las cadenas a y b de la hemoglobina están en cromosomas diferentes).



Prueba de complementación cis-trans (Benzer, 1962).

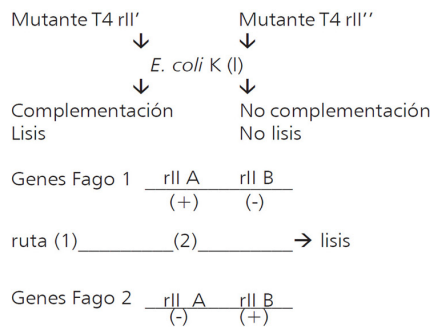


Fig. 8.11. Genes de la región rII del fago T4 y prueba de complementación cis-trans

El análisis del locus rII permitió distinguir experimentalmente entre tres distintos significados de la palabra gen: (1) la palabra gen se refiere en la mayoría de los casos a una unidad funcional que corresponde físicamente a un segmento de DNA que codifica para una proteína. Benzer denominó a esta unidad funcional *cistrón*, de modo que, una unidad funcional se define experimentalmente mediante una prueba de complementación; (2) la palabra gen se refiere también a la unidad de transmisión genética que participa en la recombinación. La frecuencia mínima de recombinación, de acuerdo con Benzer, es de 0.01% (puede detectarse incluso a 0.0001%), unidad llamada *recom*; (3) el término gen se emplea para definir la unidad mínima de cambio genético o mutación, unidad denominada *mutón*. Estas dos últimas acepciones del término gen físicamente corresponden a un nucleótido.

9. ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

La historia sobre el descubrimiento de la base química de la herencia inicia cuando Frederick Miescher (1871) determina la presencia de compuestos químicos en el núcleo a los que denomina *nucleina*. Altman (1889) los llama ácidos nucleicos. Kossell y Neuman (1894) identifican tres de las 4 bases nitrogenadas del DNA. Hammersten (1900) demostró que el DNA contenía azúcar. Levene (1929) la identifica como 2' desoxirribosa y determina que el DNA está formado por 4 tipos distintos de nucleótidos. Cada nucleótido está compuesto por una molécula de desoxirribosa, una de fosfato y una base nitrogenada (A, C, T o G). Signer, Hammarsten y Casperson (1934) demostraron que el DNA es una macromolécula de enorme peso molecular formada por monómeros de repetición variable. George Beadle y Edward Tatum (1940) proponen que los genes funcionan controlando la síntesis de enzimas específicas con lo cual proponen la hipótesis 1 gen = 1 enzima. Erwin Chargaff (1949) analizó el contenido molar de las bases de DNA procedente de diversos organismos y descubrió que en todos los casos $[A]=[T]$ y que $[G]=[C]$, o lo que es lo mismo, $[A+G]=[T+C]$ ([purinas] = [pirimidinas]). Esta es la llamada ley de Chargaff. Mirsky y Ris (1949) demostraron por estudios citoquímicos que la cantidad de ácidos nucleicos permanece constante tanto en las células somáticas ($2n$) como en las células germinales (n). Hasta los años 1950s se pensaba que la base de la vida estaba dada por la presencia de proteínas de modo que el marco molecular para la construcción de las proteínas debía ser muy especializado. Dos experimentos cruciales demostraron que el DNA es el material genético:

1. Experimento de Avery, MacLeod y McCarthy (1944): Extractos purificados de DNA de una cepa de *Diplococcus pneumoneae* pueden transformar genéticamente a otra cepa que porta genes diferentes. Las cepas que forman colonias con bordes lisos son virulentas mientras que las cepas avirulentas forman colonias rugosas en el cultivo. De modo que extractos de tipo virulento II se añadieron a cultivos avirulentos tipo III, poco tiempo después aparecieron

colonias virulentas tipo II en los cultivos avirulentos tipo III. Las formas no infecciosas de la bacteria son avirulentas porque carecen de una cápsula de polisacáridos. Los autores concluyeron que los extractos virulentos tienen la capacidad de transformar a las cepas avirulentas, transmitiendo esta característica a las siguientes generaciones (Fig. 9.1), el principio transformador es el DNA. Además este principio transformador se mantiene cuando se agregan al cultivo RNAsas pero no se mantiene con DNAsas.

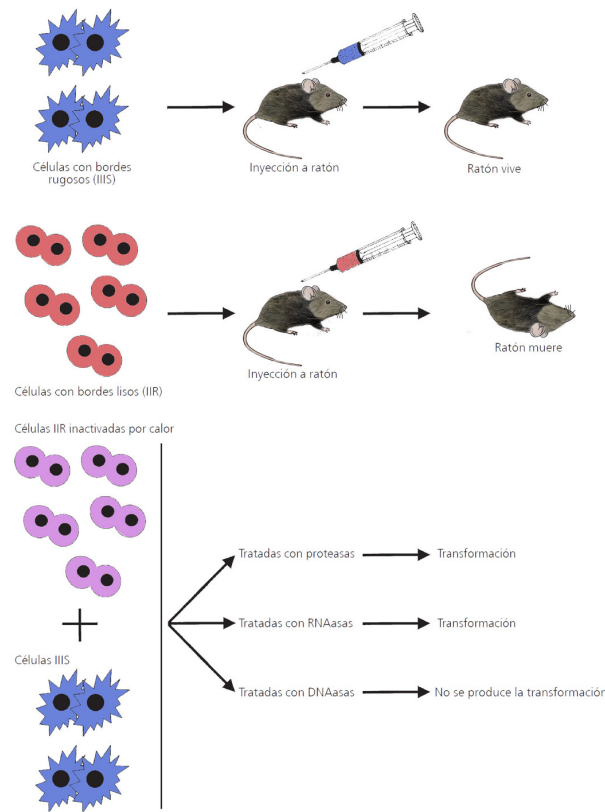


Fig. 9.1. Experimento de Avery, MacLeod y McCarthy (1944)

2. Experimento de Hershey y Chase (1952): el fago T2 tiene cantidades iguales de DNA y proteínas. Cada molécula tiene características particulares, así el DNA contiene fósforo, mientras que las proteínas contienen azufre. Marcaron varias cepas del virus T2 con pulsos de isótopos radiactivos ^{32}P y ^{35}S , demostraron que sólo el DNA, marcado con ^{32}P entra al hospedero, mientras que la

cápside viral, marcada con ^{35}S , queda fuera (Fig. 9.2).

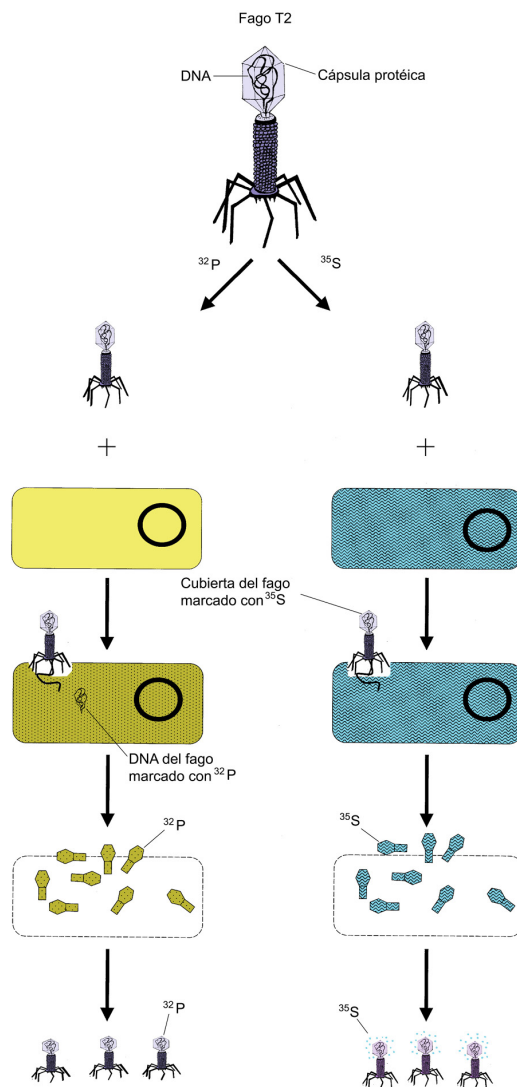


Fig. 9.2. Experimento de Hershey y Chase (1952)

Maurice Wilkins y Rosalind Franklin (1952) realizaron los primeros estudios físicos con el DNA mediante la técnica de difracción de rayos X y observaron que (1) la molécula de DNA es una doble hélice con una estructura muy ordenada (2) la molécula de DNA es helicoidal y tiene 20 Å de diámetro (3) la hélice del DNA está compuesta de dos hebras o cadenas y (4) las bases nitrogenadas que conforman a los nucleótidos están apiladas y separadas por una

distancia de 3,4 Å. James Watson y Francis Crick (1953) combinaron todos estos datos químicos y físicos del DNA integrando todas las piezas del rompecabezas, y propusieron, en un artículo muy corto publicado en la revista Nature, un modelo estructural del DNA.

En el modelo estructural del DNA de Watson y Crick se propone que el DNA es un polímero, es decir, es una larga cadena de subunidades llamadas monómeros unidas entre sí. Cada monómero es un nucleótido. Cada nucleótido está formado por una base nitrogenada (purina o pirimidina), una pentosa (azúcar de 5 carbonos) y una molécula de ácido fosfórico (Tabla 9.1). La unión entre la base y el azúcar se realiza mediante un enlace glucosídico entre el C1 del azúcar y el N9 de una purina o el N1 de una pirimidina. Las dos cadenas están enrolladas una alrededor de la otra formando una doble hélice. Las dos cadenas de polinucleótidos se mantienen equidistantes, al tiempo que se enrollan en torno a un eje imaginario. La unión de los nucleótidos en las hebras es a través de puentes fosfodiéster entre el C3' de la desoxirribosa y el C5' de la siguiente. La doble hélice se mantiene unida a través de puentes de hidrógeno entre las bases complementarias dos entre A -T y tres entre G- C. La cantidad de $A + G / T + C = 1$. La complementariedad entre las bases permite mantener, mediante los puentes de hidrógeno, a las cadenas unidas. Este hecho es además clave para que se lleve a cabo con mucha fidelidad la replicación, ya que cada hebra sirve como molde para la síntesis de la complementaria. La doble hélice es una molécula polarizada en una cadena queda libre el extremo C5' y en la otra el C3' son por tanto antiparalelas. La doble hélice es dextrógira, cada una de las hebras sigue una trayectoria en el sentido de las agujas del reloj. La hélice presenta dos tipos de surcos helicoidales externos, unos son anchos y profundos (surcos mayores) y otros son estrechos y poco profundos (surcos menores). Los dos tipos de surcos son lo suficientemente amplios como para permitir que las moléculas proteicas entren en contacto con las bases. Puede visualizarse a la doble hélice, por analogía, como una escalera en la que los travesaños son las bases nitrogenadas que mantienen unidos a los dos largueros formados por el azúcar y el fosfato. En las células de los eucariontes, el DNA se encuentra localizado principalmente en el núcleo, en forma de cromosomas, que

son estructuras muy complejas formadas por DNA y proteínas histonas. En procariontes, plásmidos, mitocondrias y cloroplastos, el DNA se presenta en forma circular, la doble hélice se cierra por sus extremos. Este DNA circular puede presentar diversos grados de superenrollamiento. En virus, los ácidos nucleicos, DNA o RNA, puede presentarse como una doble hélice cerrada, como una doble hélice abierta o simplemente como una única hebra lineal.

Tabla 9.1. Estructura de los ácidos nucleicos.

Bases	Nucleósido	Nucleótido	Ácido
	(base + azúcar)	(b + a + fosfato)	nucléico
Púricas			
A	adenosina	ac.adenílico	RNA
	desoxiadenosina	ac.desoxiadenílico	DNA
G	guanosina	ac.guanílico	RNA
	desoxiguanosina	ac.desoxiguanidílico	DNA
Pirimídicas			
C	citidina	ac.citidílico	RNA
	desoxicitidina	ac.desoxicitidílico	DNA
T	timidina	ac.timidílico	DNA
U	uridina	ac.uridílico	RNA
A : T G : C; (T+C) = (A+G); pero A + T ≠ C + G			

El modelo de la doble hélice permitió explicar cuatro hechos:

1. Estabilidad durante el metabolismo: el DNA no se degrada, es

estable y persiste esencialmente igual durante la vida celular.

2. Replicación precisa. Cada hebra sirve como molde o templete para la réplica de la complementaria.
3. Variedad molecular en las diferentes especies. El alfabeto genético consiste de cuatro letras, el número teórico de moléculas diferentes es 4^n , si el número promedio de bases en un gen es de 500, entonces hay 4500 formas de arreglo o genes posibles que se pueden construir en unidades permutadas de 500 secuencias diferentes ($500 \times 500 = 250,000 \times 500 = 125,000,000 \times 500 = 7500$ millones).
4. Capacidad para mutar por sustitución de bases durante la réplica. Si en lugar de T se incorpora C, en la réplica siguiente se incorpora G y se mantiene estable.

En la estructura tridimensional, las bases forman moléculas planas, hecho que confiere a la molécula una tremenda estabilidad que impide que las moléculas del agua entren a los espacios que quedan entre las bases. En la naturaleza existen tres formas de DNA: A, B y Z. Las formas A y B las hélices giran hacia la derecha. La forma A está menos hidratada que la B. En la forma A los puentes adquieren una conformación diagonal entre las 6 bases centrales del octámero GGTATACC el diámetro de la hélice mide 2.3 nm. En la forma B los puentes de H son perpendiculares, se forman a partir de 10 bases centrales de un dodecámero CGCGAATTCGCG el diámetro de la doble hélice es de 1.9 nm. La forma B se encuentra en casi todos los seres vivos. En la forma Z las hélices giran hacia la izquierda el apareamiento central se lleva a cabo entre 4 bases CG a partir del trímero CGCGCG el diámetro de la doble hélice es de 1.8 nm. Todavía está en debate si esta forma existe en los seres vivos.

TAMAÑO DEL GENOMA

El complemento genético de una célula es su *genoma*. Este se expresa en unidades de ácidos nucleicos como kilobases (*kb*). Una kilobase corresponde a 10^3 pares de nucleótidos en el DNA de doble hélice, o a 10^3 nucleótidos en ácidos nucleicos de hebra sencilla. Se expresa también como megabases (*Mb*) = 10^6 pares de nucleótidos, ó, 10^6 nucleótidos.

El genoma más pequeño que se conoce es el del bacteriofago MS2 cuyo genoma de hebra sencilla de RNA, que codifica para 4 genes, es de 4kb (3,569 nucleótidos). El del virus SV40 que infecta a monos y seres humanos contiene 5 kb, es un DNA de doble hélice, que codifica para 5 genes. El genoma de *Escherichia coli* contiene 4,600 kb y el de eucariontes puede tener de 13 a 90,000 Mb. (Tabla 9.2).

Tabla 9.2. Tamaño del genoma en diversos organismos de la escala evolutiva.

Organismos	Tamaño
Virus	de 5 a 500 kb
Bacterias	de 1 a 10 Mb
<i>Saccharomyces cereviseae</i> (levadura del pan)	13 Mb
<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)	180 Mb
<i>Homo sapiens</i> (seres humanos)	30,000 Mb
<i>Amphium means</i> (salamandra)	90,000 Mb

EMPAQUETAMIENTO DEL DNA

En las bacterias el material genético está formado por una estructura circular de DNA doble hélice, desnudo y que se denomina *genóforo*. El genóforo puede estar superenrollado generando una estructura de 2 μ (micras) la cual está unida en la parte central a una molécula circular de RNA, medianamente desenrollado formando una estructura de 30 μ , o totalmente desenrollado, estructura en la cual la parte central no aparece y mide 350 μ . (Fig. 9.3).

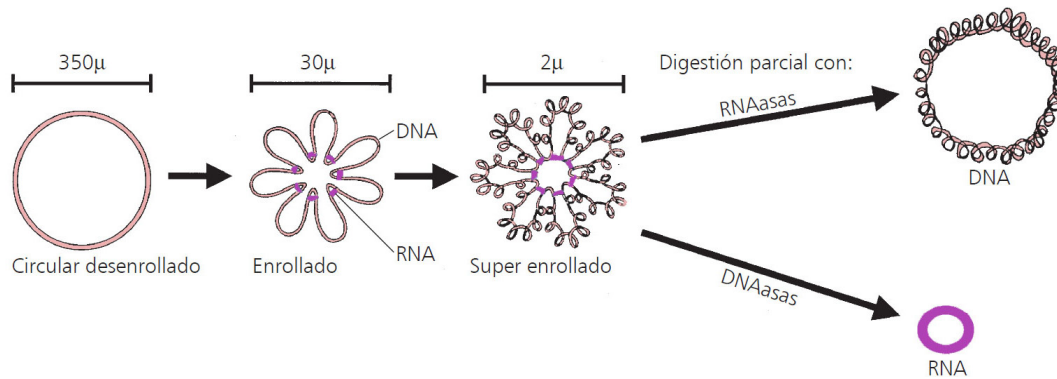


Fig. 9.3. Estructura del genóforo bacteriano

En los eucariontes el DNA siempre está asociado a proteínas lo que constituye la cromatina. Las proteínas estructurales son las histonas y las que intervienen en funciones precisas son las no histonas. Los niveles de complejidad de los cromosomas de los eucariontes son mayores, ya que al menos existen de 20 a 25 veces más genes que en los procariontes. Baste decir que el genóforo de los procariontes tiene un contorno de 1,100 mm o 1 mm, mientras que el genoma haploide humano tiene alrededor de 1,000 mm o 1 metro dividido en 23 cromosomas. Cada cromosoma contiene de 15 a 85 mm de DNA.

¿Cómo una estructura de DNA de 85 mm se condensa hasta formar una de 0.5 μm de diámetro? El DNA se encuentra empaquetado con un alto grado de organización, por niveles, lo que conforma la cromatina. Estos niveles de empaquetamiento, de menor a mayor, son los siguientes: la doble hélice mide 2 nm. El siguiente nivel de empaquetamiento es el nucleosoma, estructura formada, como ya dijimos, por un octámero de proteínas histonas H2A, H2B, H3 y H4, alrededor de las cuales se encuentran 146 pares de bases de DNA, estructura que mide 11nm. Esta unidad básica de la cromatina es el nivel en el cual se llevan a cabo todas las funciones del DNA: replicación, expresión génica y reparación, entre muchas otras. El siguiente nivel es la fibra de cromatina en la cual el nucleosoma está formando, mediante la histona H1, una estructura que se conoce como solenoide que mide 30 nm. La estructura de la

cromatina después de este nivel es complicada y no se ha acabado de dilucidar, sin embargo, se piensa que el plegamiento de una fibra de nucleosomas se encuentra ensamblado en un andamio de proteínas, diferentes a las histonas, formando asas y mide 300 nm. La forma condensada de este andamio genera una estructura de 700 nm que constituye el cromosoma. Después de la replicación el cromosoma metafásico forma una estructura de 1400 nm (Fig. 9.4).

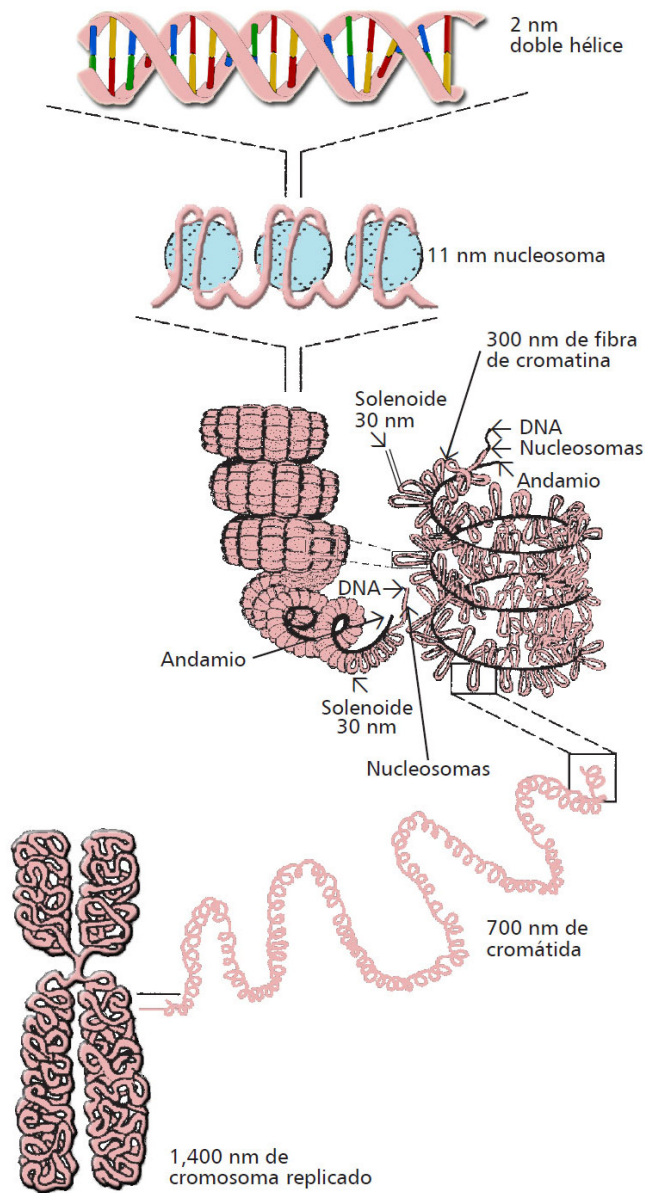


Fig. 9.4. Niveles de empaquetamiento del DNA en

eucariontes

VALOR C

La cantidad de DNA contenida en el genoma haploide de una especie se conoce como *valor C*. Las tendencias del valor C son fundamentalmente dos (1) los eucariontes contienen más DNA en sus genomas que los procariontes, (2) la progresión evolutiva ha ido acompañada de un aumento en la cantidad de DNA. Puede pensarse que el aumento en el valor C es sencillamente el resultado de la necesidad de los organismos de incrementar la cantidad y variedad de sus productos génicos, sin embargo, esta explicación es incorrecta debido a que si los virus y las bacterias tienen de 10^4 a 10^7 pares de bases en su genóforo único y los eucariontes de 10^7 a 10^{11} pares de bases en cada cromosoma ¿serán necesarias 10,000 (10^4) veces más genes en cada cromosoma de los eucariontes que las que se presentan en bacterias? Se ha demostrado que el contenido de DNA en los anfibios y en las fanerógamas, que varía hasta 100 veces dentro del mismo grupo taxonómico, es mayor que el de grupos que han evolucionado más recientemente. Por lo que es dudoso que el desarrollo de una mayor complejidad durante la evolución pueda justificar la cantidad de DNA que se encuentra en los genomas de los eucariontes. Esta conclusión se basa en la paradoja del valor C: el exceso de DNA no parece ser esencial para el desarrollo o para la divergencia evolutiva de los eucariontes. Será este exceso de DNA esencial para los organismos? O es sencillamente DNA que se ha acumulado durante la evolución y no tiene ninguna función?

ORGANIZACIÓN DE LAS SECUENCIAS GÉNICAS

En procariontes las secuencias son únicas, codifican para un producto proteico y por regla general son colineares, es decir, un segmento de DNA codifica para una secuencia de aminoácidos. Los experimentos, por cierto muy elegantes, llevados a cabo por Yanovsky en *Escherichia coli* en los 1960s permitieron demostrar la colinearidad. La enzima triptófano sintetasa es codificada por dos

genes adyacentes, el gen triptofano A codifica para la cadena A y el gen triptofano B para la cadena B. Yanovsky comparó los cambios en la localización de los aminoácidos de las cadenas polipeptídicas en los tipos silvestre y mutados y pudo predecir, por el tipo de sustituciones, la colinearidad. Yanovsky aisló mutantes defectuosos para triptofano A y mapeó éstos en sitios diferentes en el gen. Demostró además que estos genes son alelos funcionales de acuerdo a la prueba de complementación cis-trans. Estos experimentos permitieron conocer la secuencia de bases en el DNA mediante el asilamiento de las proteínas, la secuenciación de los aminoácidos y la deducción de la secuencia en el DNA. Entre los procariontes la regla es la colinearidad.

ORGANIZACIÓN DE LAS SECUENCIAS EN LOS EUCARIONTES

Entre los eucariontes, las secuencias son variadas, los genes consisten de regiones que codifican denominadas *exones* y de regiones que no codifican para un producto llamadas *intrones*. El RNA mensajero heterogéneo nuclear (htRNAm) es una transcripción de la secuencia génica completa que es procesado en el núcleo, generándose un RNA mensajero maduro que luego es transportado al citoplasma para su traducción. En el proceso se eliminan las secuencias no codificantes, se unen entre sí los exones generándose un RNAm maduro que es colinear a la secuencia de aminoácidos en la proteína. Virtualmente todos los genes de los eucariontes están organizados de esta manera, excepto los genes que codifican para las histonas y para el interferón. Se ha encontrado una enorme diversidad en el número de intrones de un gen, así uno de los genes que codifica para las globinas contiene 2 intrones, mientras que uno de los genes que codifica para una cadena polipeptídica de la colágena contiene cerca de 50 intrones.

En los eucariontes, además, existen varios tipos de secuencias: (1) únicas que codifican para polipéptidos (genes estructurales); (2) repetidas, secuencias de longitudes variables repetidas cientos o miles de veces en el genoma. De ellas se conocen dos tipos (a) DNA moderadamente repetido del que se encuentran de 10 a 10^5 copias

por genoma (b) DNA altamente repetido que se encuentran en cantidades mayores a 10^5 copias por genoma, son secuencias sin función conocida.

(a) El DNA moderadamente repetido constituye en el genoma humano alrededor del 30% de las secuencias, éstas pueden ser dispersas o repetidas en tándem. Las secuencias dispersas están formadas por alrededor de 500 pares de bases, existen alrededor de 500,000 en el genoma, se denominan elementos salpicados cortos (SINE). Dentro de ellas se encuentran las secuencias Alu (su nombre deriva del hecho de que la secuencia tiene un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción Alu I que se extrae de la bacteria *Arthrobacter luteus*). 10% de las secuencias SINE están relacionadas con transposones. Además existen secuencias salpicadas dispersas largas (LINE) formadas por 6,500 pares de bases de las cuales hay 40,000 en el genoma humano. Las secuencias repetidas en tandem codifican para histonas; RNA ribosomal (rRNA) subunidades 18 y 28 S, los genes que codifican para estas secuencias se encuentran en el brazo p de los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22; rRNA subunidad 5S que se encuentra en el brazo p del cromosoma 1.

(b) Además existen repeticiones en tándem salpicadas en el genoma de número variable (VNTR) formadas por entre 5 y 100 pares de bases sin función conocida. El número de copias en cada individuo varía formando regiones localizadas de entre 1,000 a 500 pares de bases de longitud, pueden estar dentro de los genes o entre los genes. Estas regiones son la base de la técnica forense de huellas moleculares de DNA, el cual es un patrón de bandas que se obtiene al cortar secuencias de longitud variable con enzimas de restricción que se visualizan luego por Southern. La metodología puede realizarse con cantidades muy pequeñas de DNA. Rutinariamente se emplean 12 sondas diferentes, cada sonda puede emplearse para visualizar el patrón de VNTR en un locus particular, de modo que por ejemplo, la frecuencia de VNTR en un locus puede ser de $1/333 = 0.003$ en otro locus $1/83 = 0.012$, la frecuencia combinada entonces es de 0.000036 . En otro locus $1/100 = 0.01$, en un cuarto $1/25 = 0.04$. Y la frecuencia combinada de los cuatro locus sería de 144×10^9 .

Otro tipo de secuencias altamente repetidas se encuentran alrededor del centrómero constituyen la heterocromatina constitutiva, a la que se le han asignado diversas funciones, tales como: propician el apareamiento adecuado durante la meiosis; juegan un papel estructural estabilizando a los cromosomas; protegen a los genes adyacentes que se expresan; son depositarias de pares de bases y DNA basura. Los transposones y retrotransposones son otras secuencias repetidas que se encuentran en el genoma de los eucariontes, constituyen los elementos salpicados largos (LINES). En mamíferos existen de 20,000 a 40,000 copias por genoma.

REPLICACIÓN

El DNA es la macromolécula que provee la continuidad de una generación a la siguiente, es químicamente muy estable y además se autocopia de manera precisa durante la replicación. Si esto no ocurriera el DNA hijo sería diferente al de la célula progenitora, las proteínas de la progenie serían también distintas y las características de las dos generaciones, serían por ende diferentes. ¿Cómo se realiza la réplica? Watson y Crick (1953) proponen la hipótesis de la replicación semiconservativa, hecho que es comprobado cuando Herbert Taylor, Woods y Hughes (1957) hacen los primeros experimentos de autoradiografía en células de eucariontes y muestran que la replicación es semiconservativa y se realiza en la fase S del ciclo celular. Matthew Meselson y Franklin Stahl (1958) demuestran con un experimento, en el que marcaron con ^{15}N un cultivo bacteriano y estudiando la densidad del DNA durante varias generaciones, que la replicación del DNA es semiconservativa. Cairns (1963) mediante autoradiografía muestra el cromosoma de *E. coli* durante el proceso de replicación. Arthur Kornberg (1960) aísla y caracteriza a la polimerasa I; en 1971 purifica la DNA polimerasa III o replicasa. Kornberg, Brutlag, Wickner, Schekman y Gieder (1971) descubren que se requiere un cebador de RNA para que de inicio la replicación. En ese mismo año Okazaki (1971) resuelve el problema de la síntesis discontinua de la hebra 5'-3'. Huberman y Tsai (1973) observan al microscopio electrónico DNA de células humanas con múltiples replicones.

Estos experimentos mostraron que la replicación del DNA es un proceso extraordinariamente fiel pero no es perfecto, ocasionalmente se producen cambios en la secuencia de los nucleótidos denominados *mutaciones*, lo que genera nuevas variantes alélicas, las que en el proceso evolutivo pueden ser eliminadas, otras son indiferentes y se conservarán o eliminarán al azar, y otras serán mejores y tenderán a sustituir a las preexistentes en las siguientes generaciones.

La réplica es un proceso semiconservativo ya que cada hebra sirve como molde para la réplica de la complementaria. Inicia con la relajación del superenrollamiento de la molécula, proceso que es mediado por unas enzimas denominadas *topoisomerasas*, estas proteínas además introducen cortes en las moléculas. La topoisomerasa I corta hélices sencillas mientras que la topoisomerasa II, también llamada DNA girasa, corta la doble hélice. Estas enzimas también rehacen el superenrollamiento. La separación de ambas hebras la llevan a cabo las *helicadas*, enzimas que rompen los puentes de hidrógeno que mantienen unidas a las dos hebras, en cada hebra se une una molécula de helicada y van avanzando una en dirección 5' a 3' y otra en dirección 3' a 5'. La proteína estabilizadora de unión a hebra sencilla (SSB: *single strand binding protein*) se une a cada una de las dos hebras lo cual impide que se vuelvan a formar los puentes de hidrógeno entre las bases complementarias. El punto donde la doble hélice se separa se conoce como origen de la replicación, en los eucariontes cuyos cromosomas tienen una enorme longitud existen varios orígenes de replicación. Éstos contienen secuencias repetidas de nucleótidos que son reconocidas por las enzimas que intervienen en el proceso. Una vez que las hebras se han separado otras proteínas ocupan el lugar, éstas son las enzimas *polimerasas* encargadas de ir incorporando los nucleótidos complementarios a la hebra en crecimiento. En la célula existen varias polimerasas, todas polimerizan el DNA añadiendo nucleótidos en el extremo 3'OH de una hebras preexistente por lo que la hebra crece en dirección 5' a 3'. Las polimerasas I y II están involucradas en proceso de reparación mientras que la III es la que realiza la replicación. La DNA polimerasa III o *replicasa* además de incorporar el nucleótido complementario a

la hebra en crecimiento realiza el enlace fosfodiéster 5'-3' liberando PP. La replicasa además de su actividad polimerasa 5' a 3' tiene actividad de exonucleasa 3' a 5' lo cual le permite escindir a algún nucleótido que se haya incorporado de forma incorrecta. Debido a que las polimerasas no pueden iniciar la polimerización a partir de un template se requiere que exista una pequeña pieza de RNA de 10 nucleótidos que funciona como *cebador* y a partir del cual la polimerasa ya puede ir añadiendo a la cadena en crecimiento los nucleótidos complementarios (Fig. 9.5).

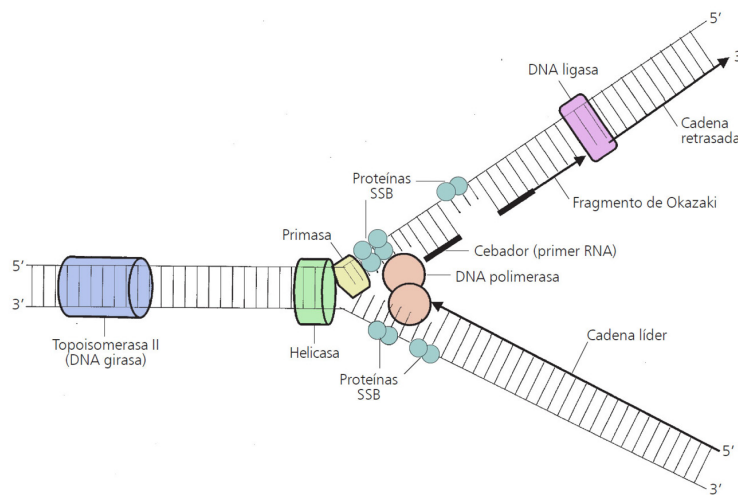


Fig. 9.5. Replicación

ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS

La hipótesis un gen = una enzima propuesta por George Beadle y Edward Tatum en los años 1940s representó el primer paso para entender no sólo cómo funcionan los genes sino también cómo los genes controlan el funcionamiento de las enzimas. Debido a que todas las enzimas son proteínas revisaremos someramente la estructura básica de las proteínas para luego entender cómo se expresan los genes.

Hay que distinguir entre los términos *proteína* y *polipéptido*. Ambas son moléculas formadas por aminoácidos, sin embargo, el

polipéptido es el precursor de toda proteína y la proteína se forma cuando el polipéptido adquiere una conformación espacial tridimensional. Las proteínas de todos los seres vivos están formadas por 20 aminoácidos esenciales (Tabla 9.3).

Tabla 9.3. Los 20 aminoácidos que conforman todas las proteínas de los seres vivos.

Aminoácido	Abreviatura	Letra
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Acido aspártico	Asp	D
Acido glutámico	Glu	E
Cisteína	Cys	C
Fenilalanina	Phe	F
Glutamina	Glu	Q
Glicina	Gln	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptofano	Trp	W

Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V

Cada aminoácido está formado por un grupo amino, un grupo radical R en una cadena lateral y un grupo carboxilo, la fórmula general de los aminoácidos es $H_2N - CHR - COOH$. La cadena lateral o grupo reactivo R es la que proporciona la identidad química a cada aminoácido y puede ser un átomo de hidrógeno (como en la glicina) hasta un anillo (como en el triptófano). De acuerdo con el grupo R los aminoácidos pueden dividirse en cuatro clases principales. (1) hidrofóbicos o no polares, (2) hidrofílicos o polares, (3) cargados negativamente y, (4) cargados positivamente (Tabla 9.4)

Tabla 9.4. Clasificación de los 20 aminoácidos de acuerdo con el grupo reactivo.

Categoría	Aminoácidos
1. Hidrofóbicos (no polares)	Alanina
	Fenilalanina
	Isoleucina
	Leucina
	Prolina
	Metionina
	Triptofano
	Valina
	2. Hidrofílicos (polares)
Cisteína	
Glicina	

	Glutamina
	Serina
	Tirosina
	Treonina
3. Polares cargados positivamente	
(básicos)	Arginina
	Histidina
	Lisina
4. Polares cargados negativamente	
(ácidos)	Ácido aspártico
	Ácido glutámico

La unión de varios aminoácidos mediante puentes covalentes denominados peptídicos conforman al polipéptido, éstos suelen ser polímeros muy largos que forman la estructura primaria de una proteína. La estructura secundaria de una proteína se refiere a la configuración espacial ordenada que adquieren las cadenas polipeptídicas debido al arreglo regular o periódico que se crea cuando se forman puentes de hidrógeno entre los grupos CO y NH de dos residuos adyacentes. Existen dos estructuras secundarias: la hélice α y la hoja plegada β . La estructura terciaria de una proteína se refiere a la conformación tridimensional de una cadena polipeptídica completa que se da cuando ésta se pliega y enrosca sobre sí misma de una forma específica. Este nivel de organización es el que le confiere a la proteína su función específica. La estructura cuaternaria se refiere a las proteínas formadas por más de una cadena polipeptídica, este tipo de estructura es multimérica ya que está formada por varias cadenas polipeptídicas, subunidades o monómeros.

CÓDIGO GENÉTICO Y EXPRESIÓN GENÉTICA

El DNA es la macromolécula que almacena la información genética, es además, la base química y física de la herencia y, tiene el potencial de producir una variedad casi ilimitada de proteínas. El proceso de síntesis de proteínas, a partir del DNA, se conoce genéricamente como *expresión génica*. Se inicia con la transcripción del gen del DNA a una molécula complementaria de RNA, el RNA mensajero (RNAm), información que es traducida o descodificada mediante la inserción específica de aminoácidos durante la síntesis de proteínas. Las proteínas son pues los productos de los genes.

¿Como una molécula de RNA que contiene cuatro nucleótidos (A, G, C, U) puede especificar a los 20 aminoácidos esenciales? Sydney Brenner, a principios de los años 1960s, propuso de forma teórica que el código genético debía estar formado por codones organizados en tripletes, ya que cuatro nucleótidos tomados de 2 en 2 producen sólo 16 combinaciones ($4^2 = 16$), mientras que si están organizados en tripletes producen 64 combinaciones ($4^3 = 64$), desde luego más de las 20 necesarias para especificar a los aminoácidos esenciales.

Otro problema teórico propuesto por Francis Crick en 1957 fue la predicción de que el DNA no sirve como molde directo para la síntesis de proteínas, propuso que debía existir una molécula adaptadora capaz de unirse de forma covalente al aminoácido y que pudiese formar puentes de hidrógeno con la secuencia de nucleótidos. Tal molécula adaptadora es el RNA de transferencia (RNAt) descubierta en 1965 por Robert Holley y colaboradores. Entre 1958 y 1960 se identificaron a los ribosomas en el citoplasma y se encontró que su RNA (RNAr) era muy estable, mientras que el molde intermedio de RNA era muy inestable. Para 1961 François Jacob y Jacques Monod postularon la existencia del RNAm como molécula intermedia entre el DNA y las proteínas.

CÓDIGO GENÉTICO

En 1961 Marshall Nirenberg y Henrich Matthaei produjeron mensajeros sintéticos que sirvieron como molde para la síntesis de

proteínas *in vitro*. Utilizaron para ello un sistema libre de células que contenía: ribosomas, tRNAs, aminoácidos y la enzima poli-nucleótido fosforilasa, que permite la síntesis artificial de moldes de RNA, ya que no requiere de filamentos molde o iniciadores, sintetiza los polímeros de forma aleatoria por adición en los extremos 3' determinados por la disponibilidad de cada difosfato 5' ribonucleósido.

Los experimentos iniciales consistieron en sintetizar homopolímeros de RNA formados por un único ribonucleótido, este mensajero sintético se añadía al sistema *in vitro*, mediante una batería de experimentos en la que se agregaba a cada uno un aminoácido marcado radiactivamente. De modo que fue posible determinar, en las proteínas recién sintetizadas, el aminoácido que contenía (Tabla 9.5).

Tabla 9.5. Incorporación de fenilalanina- ¹⁴C en proteínas sintéticas (Nirenberg y Matthaei, 1961).

RNAm artificial	Radiactividad (eventos/m)
Ninguno	44
poliU	39,800
poliA	50
poliC	38

El siguiente paso fue la construcción de heteropolímeros de RNA. Así si al sistema se le administra A y C en una proporción de 5/6 ADP: 1/6 CD1, el copolímero resultante tendrá A y C en la proporción 5:1. Con base en esta proporción se puede calcular la frecuencia de aparición de cada triplete (Tabla 9.6).

Tabla 9.6. Formación de tripletes posibles en un sistema in

vitro al que se agregó 5/6 ADP : 1/6 CD1 (Nirenberg y Matthaei, 1961).

Composición del codón	Tripletes posibles	Frecuencia calculada	Probabilidad de aparición de cualquier triplete (%)
3 A	AAA	$(5/6)^3 = 125/216$	57.9
2A1C	AAC,ACA,CAA	$(5/6)^2 (1/6) \times 3 = 75/216$	34.8
1A2C	ACC,CAC,CCA	$(5/6) (1/6)^2 \times 3 = 15/216$	6.9
3C	CCC	$(1/6)^3 = 1/216$	0

Estos investigadores realizaron muchos experimentos los que les permitieron determinar la composición de las palabras del código de los tripletes que corresponden a los 20 aminoácidos (aa) esenciales. La asignación de las secuencias específicas a los tripletes fue determinada años después cuando Marshall Nirenberg y Philip Leder (1964) mostraron que el triplete funciona como un *codón* en el RNAm el cual atrae la secuencia complementaria llamada *anticodón* que se encuentra en el RNAt. Pudieron sintetizar tripletes de secuencia conocida, se cargaba un RNAt con un aminoácido radiactivo, se agregaban ribosomas y, todo ello se incubaba en un filtro de nitrocelulosa que retiene a los ribosomas pero no a los componentes más pequeños de la mezcla. De modo que la radiactividad retenida en el filtro corresponde al RNAt cargado que se ha unido al ribosoma, asignándose así el codón específico (Tabla 9.7). Con esta metodología fue posible asignar, entre 1961 y 1964, 50 codones específicos.

Tabla 9.7. Asignación de secuencias específicas a los tripletes (Nirenberg y Leder, 1964).

Trinucleótido	Aminoácido
AUG	Metionina
AAA, AAG	Lisina
AUU, AUC, AUA	Isoleucina
CCG, CCA	Prolina
CCU, CCC	Prolina
GAA, GAG	Ácido glutámico
UUU, UUC	Fenilalanina

Las técnicas para desarrollar mensajeros de secuencia corta repetida muchas veces, fueron desarrolladas por Gobind Khorana e hicieron posible la asignación de los 14 codones restantes y la confirmación de los que ya se habían descifrado. De modo que para 1967 estaban identificados todos, siendo 3 de los 64 codones de terminación: UAA, UAG, UGA (ocre, ámbar y ópalo). El apareamiento codón-anticodón es antiparalelo (por ejemplo CAA-UUG), por lo tanto el primero del codón es el tercero del anticodón. El codón AUG (metionina) es siempre de iniciación (Fig. 9.6). De modo que el extremo NH₂ libre de AUG-metionina, ajusta el sistema de lectura al resto del mensajero en presencia de Mg²⁺.

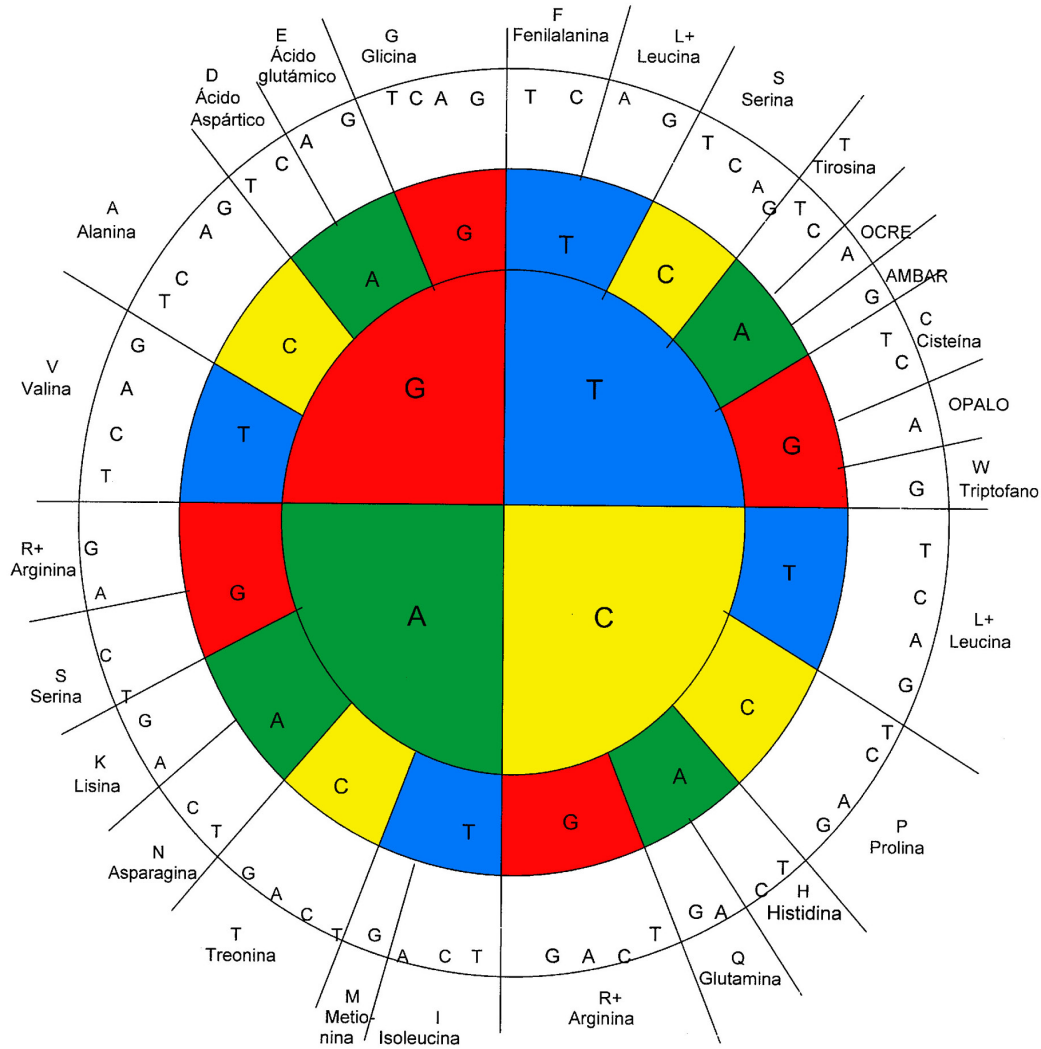


Fig. 9.6. Código genético

El código genético puede caracterizarse por:

- (1) codones en forma de tripletes
- (2) el código tiene puntuaciones: iniciación y terminación de la transcripción.
- (3) casi todos los aa están especificados por más de un codón = redundante. Hay codones sinónimos para 18 de los 20 aa, sólo la metionina (AUG) y el triptofano (UGG) son especificados por un codón.
- (4) el código es consistente: cada uno de los codones especifica

para un aa de los 20.

(5) el código es universal, el mismo codón codifica para el mismo aa en todos los organismos. Por lo tanto el código se estableció pronto en la evolución y ha permanecido virtualmente sin cambios en los últimos billones de años.

La aparente universalidad del código fue modificada hacia 1979 cuando se publican las características del DNA mitocondrial (mtDNA) de los seres humanos y de las levaduras que revelaron algunas excepciones en la asignación de los tripletes. Hacia 1985 se encontraron otras excepciones en bacterias y protozoarios ciliados (Tabla 9.8).

Tabla 9.8. Excepciones a la universalidad del código genético.

Triplete	Palabra del código casi universal	Palabra del código en otros ácidos nucleicos	Organismo (organelo)
AUA	Isoleucina	Metionina	Mitocondrias humanas
AGA AGG	Arginina	Terminación	Mitocondrias humanas
CUA	Leucina	Treonina	Mitocondrias de levaduras
UAA UAG	Terminación	Glicina	<i>Paramecium</i> , <i>Tetrahymena</i>
UGA	Terminación	Triptófano	Mitocondrias humanas y de levaduras <i>Mycoplasma</i>

EXPRESIÓN GÉNICA

Se refiere a la transcripción y traducción de la clave genética, es decir, al flujo de información que conduce a la expresión génica. El DNA dirige la síntesis de una secuencia complementaria de ribonucleótidos generándose el RNA mensajero, proceso denominado transcripción. Esta secuencia escrita en el lenguaje del código genético es luego descodificada durante el proceso de traducción.

La traducción del código genético se realiza con la intervención de los diferentes tipos de RNA de transferencia (tRNAs) que sirven de adaptadores entre los codones del RNAm y los aminoácidos que especifican durante la síntesis de la cadena polipeptídica. El proceso se lleva a cabo en los organelos celulares denominados *ribosomas*.

TRANSCRIPCIÓN

El primer paso en la expresión génica es la síntesis de una molécula de RNA a partir de un segmento de DNA denominado gen. La síntesis enzimática del RNA es similar a la del DNA, sin embargo, varias son las características distintivas de la transcripción: (1) cada molécula de RNA que se produce como resultado de la transcripción deriva de una sola hebra de DNA; (2) los precursores para la síntesis de RNA son 4 ribonucleósidos 5' fosfatos: adenosin-trifosfato (ATP), guanosin-trifosfato (GTP), citidin-trifosfato (CTP) y uridin-trifosfato (UTP); el azúcar es la ribosa; (3) la secuencia de bases en el RNA es determinada por la secuencia de bases de la hebra que sirve como molde en el DNA; (4) la enzima que cataliza y dirige la síntesis del RNA es la polimerasa del RNA dependiente del DNA o *RNA polimerasa*, la cual es capaz de iniciar la síntesis sin la presencia de un cebador; (5) la síntesis de nucleósidos se realiza en dirección 5' a 3', es decir, los nucleósidos se van agregando en el extremo 3'-OH de la cadena en crecimiento.

Entre los procariontes una sola RNA polimerasa es la que transcribe todos los tipos de RNA. La RNA polimerasa de *Escherichia coli* consiste de 4 subunidades de polipéptidos: β , β' , y dos cadenas conjunto denominado corazón o núcleo de la enzima. La forma activa de la enzima contiene además la subunidad sigma (σ), con un peso molecular de 500,000 daltones (Fig. 9.7). El factor σ se

asocia al núcleo de la enzima para dar inicio a la transcripción, por lo tanto, es el regulador de la iniciación de la transcripción.

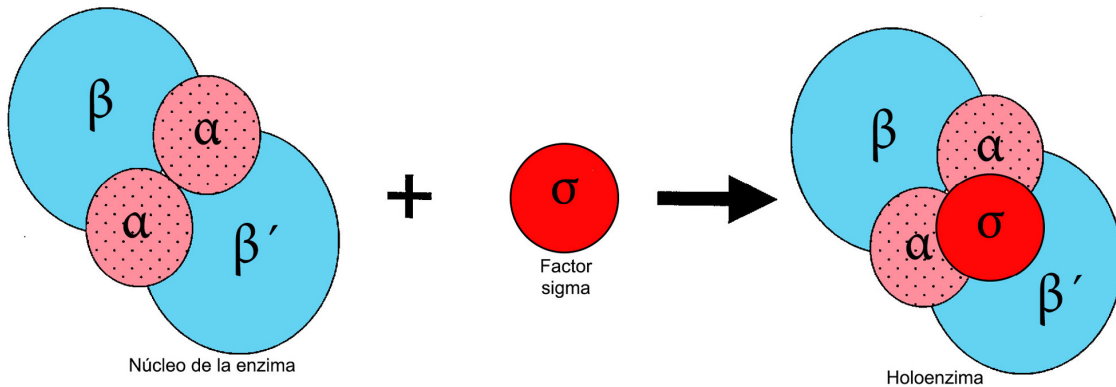


Fig. 9.7. RNA polimerasa de *Escherichia coli*

En los eucariontes existen tres RNA polimerasas que se distinguen por su posición subcelular, y por los tipos de RNA que producen (Tabla 9.9). En la transcripción pueden distinguirse cuatro procesos:

Tabla 9.9. Tipos de RNA polimerasas de los eucariontes, localización y RNAs transcritos.

Tipo	Localización nuclear	RNAs transcritos
I	Nucleolo	18s y 28s rRNAs
II	Nucleoplasma	pre mRNA y mRNA
III	Nucleoplasma	tRNAs y 5s rRNA

1. Reconocimiento del promotor. La cadena de DNA que se transcribe es la cadena molde o con sentido, la cadena complementaria que no se transcribe es la cadena antisentido. LA RNA polimerasa se pega a la cadena molde del DNA en los sitios donde existen secuencias particulares de reconocimiento

denominadas *promotores*. Estas secuencias se encuentran en la región 5' corriente arriba del sitio de iniciación de la transcripción. Los promotores están formados por 20 a 200 bases, la mayoría de ellas comparten algunos motivos denominados *secuencias consenso*, que se refieren a la base o a las bases más frecuentemente observadas en una posición particular. En los procariontes existen dos secuencias consenso por arriba del sitio de iniciación de la transcripción: una localizada aproximadamente a -35 pares de bases con la secuencia consenso TTGACA y otra a -10 nucleótidos que contiene la secuencia consenso TATAAT, denominada caja Pribnow. Esta última se encuentra en muchos promotores de eucariontes, en la misma posición y se denomina caja TATA. La fuerza de unión de la RNA polimerasa está determinada por la similitud en la secuencia consenso. La interacción promotor-polimerasa produce una variación en la iniciación de una vez cada 1 o 2 segundos a una vez cada 10 o 20 minutos (Fig. 9.8). En los eucariontes además de las secuencias promotoras existen *secuencias acrecentadoras* que interactúan con los promotores y determinan el nivel de transcripción, proceso que explicaremos en el tema de regulación génica en eucariontes.

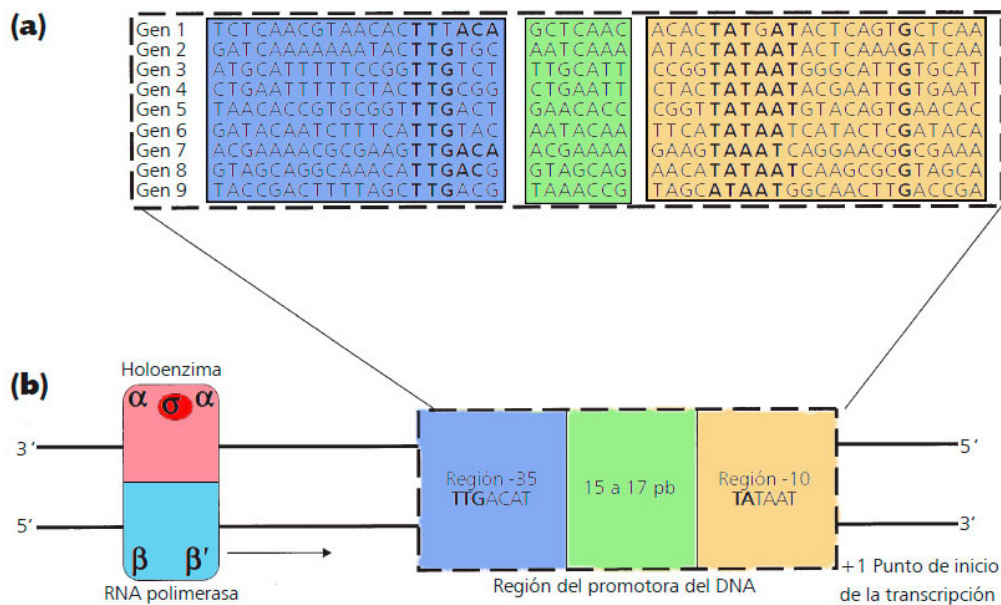


Fig. 9.8. Secuencias promotoras en procariontes (a) regiones promotoras de nueve genes de *E. coli* (b) regiones promotoras a -35pb y a -10pb

2. Iniciación de la cadena. Una vez reconocidos los promotores por la holoenzima ésta se pega a ellos y produce una desnaturalización local del duplex de DNA e inicia la síntesis de una molécula de RNA. La RNA polimerasa cataliza la inserción del primer ribonucleosido trifosfato 5'. El RNA se polimeriza o sintetiza en dirección 5' a 3', por lo tanto el templete de DNA se encuentra en dirección 3' a 5': La transcripción procede de izquierda a derecha (Fig. 9.9).

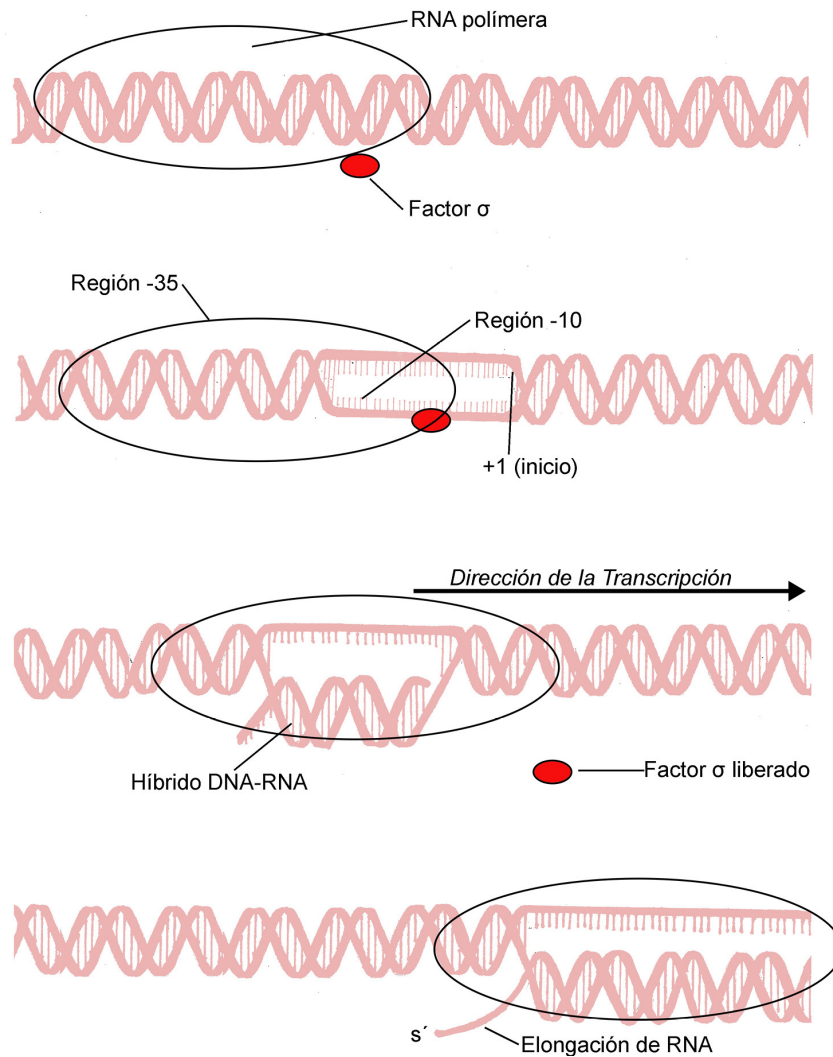


Fig. 9.9. Transcripción: iniciación de la cadena.

- 3. Elongación de la cadena.** El factor σ se disocia de la RNA polimerasa, la RNA polimerasa va moviéndose a lo largo del template de DNA y va agregando nucleótidos a la cadena de RNA en crecimiento. Solamente se separan alrededor de 17 pares de bases cada vez. Una vez que la polimerasa ha pasado las hebras de DNA vuelven a unirse para formar un dúplex.
- 4. Terminación de la cadena.** En el DNA existen secuencias específicas que funcionan como señales de terminación. Al alcanzar estos sitios la RNA polimerasa se disocia del DNA y la recién sintetizada molécula de RNA se libera. Se conocen dos

mecanismos de terminación en *E. coli*. El primero es directo y depende de las secuencias de terminación, de alrededor de 40 nucleótidos, que terminan en un segmento rico en GC y alrededor de seis A's en el template de DNA. Las secuencias transcritas en el RNA son capaces de formar puentes complementarios entre ellos formando un asa seguida de los residuos de U's. Ambas estructuras sirven como señal para la RNA polimerasa y la terminación de la transcripción (Fig. 9.10). El segundo mecanismo requiere de la presencia de una proteína de terminación denominada *rho*, proteína hexamérica formada por seis subunidades idénticas, que se une a un sitio específico del RNA denominado rut. La hidrólisis de ATP en ADP+Pi es la que dirige la terminación.

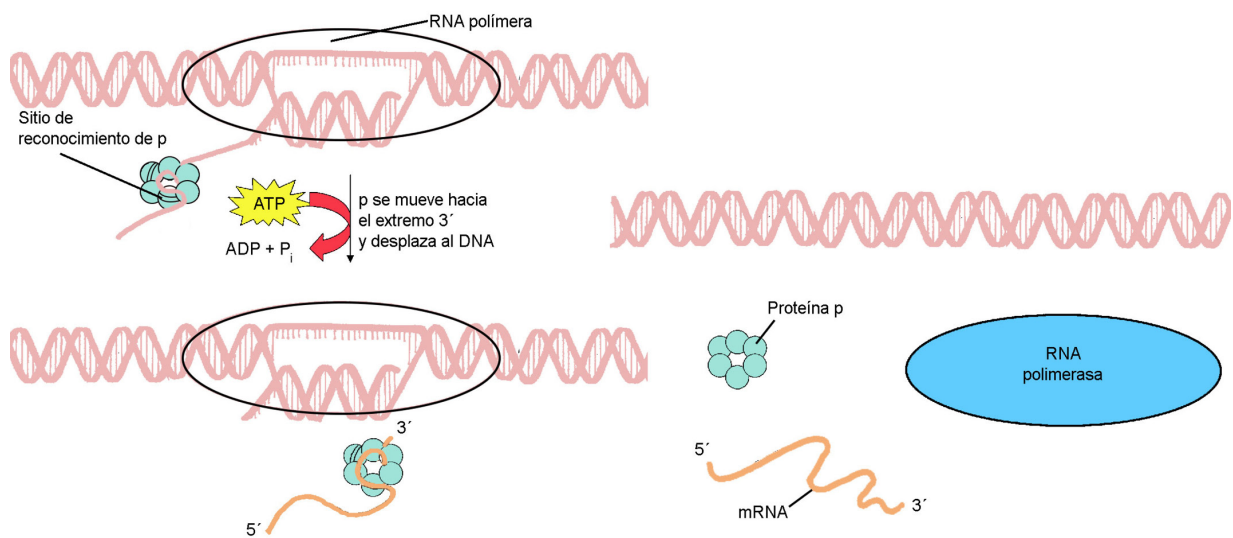


Fig. 9.10. Transcripción: terminación de la cadena.

La molécula de RNA que se sintetiza a partir del template en el DNA se conoce como *transcrito primario*. En los procariontes éste funciona como RNA mensajero el cual se emplea en la síntesis de una cadena polipeptídica. En estos organismos la expresión génica se da en el mismo espacio, el citoplasma, y al mismo tiempo. Los ribosomas pueden unirse a moléculas de RNA recién transcritas e iniciar la traducción (Fig. 9.11).

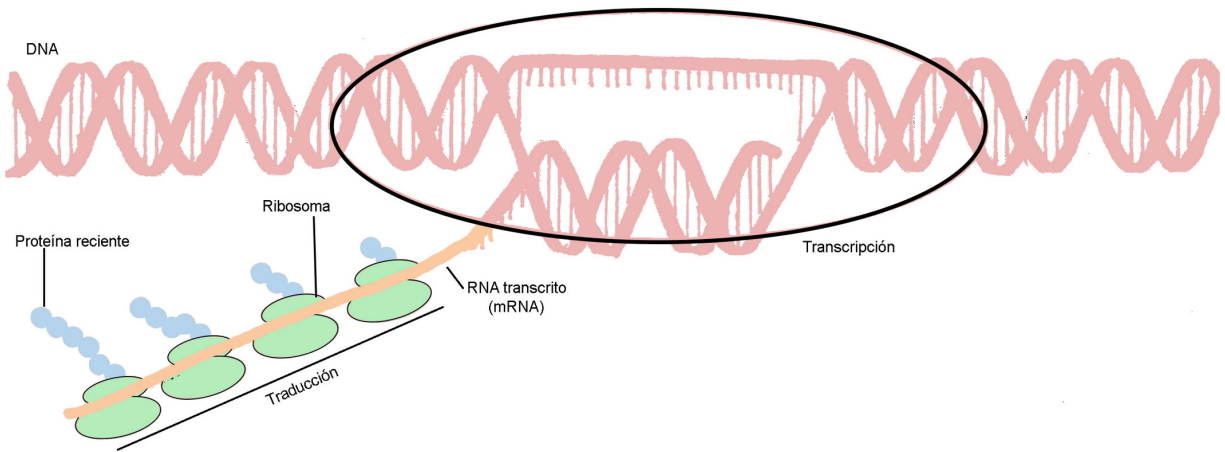


Fig. 9.11. Transcripción en procariontes

En los eucariontes el transcrito primario se produce en el núcleo, debe sufrir modificaciones llamadas en conjunto *procesamiento del RNA* que conducen a la formación de un RNAm maduro que sale del núcleo hacia el citoplasma donde es traducido. El procesamiento del transcrito primario consiste en tres pasos fundamentales:

- i. La adición en el extremo 5' de una 7-metilguanosina que es necesaria para que el ribosoma se pegue al mensajero maduro e inicie la síntesis de proteínas.
- ii. La modificación del extremo 3' por adición de una cola de poliA's, hasta de 200 consecutivas, que se cree ayudan a regular la estabilidad del RNAm.
- iii. Las modificaciones más importantes del transcrito de RNA se producen en las secuencias de nucleótidos. El transcrito primario se denomina pre-RNAm ó RNA heterogéneo nuclear (htnRNA) el cual sufre un proceso de corte de secuencias no codificantes o *intrones* y de empalme de las secuencias codificantes o *exones* para formar un RNAm maduro.

La mayoría de los intrones presentan secuencias consenso: en el extremo 5' empiezan con el dinucleótido GU y terminan en el extremo 3' con el dinucleótido AG. El corte de intrones está mediado por un

complejo ribonucleoproteico de elevado peso molecular conocido como *spliceosoma*, que cataliza el corte de intrones mediante reacciones de transesterificación, formado por alrededor de 100 proteínas y por moléculas muy pequeñas de RNA denominadas snRNP's (del inglés *small nuclear ribonucleoprotein particles*) ricas en uridina. La especificidad del corte está dada por cinco snRNP's: U1, U2, U4, U5 y U6. Los extremos 5' y 3' se unen mediante la U1-snRNA. La U2 se pega al intrón en la región donde se encuentra A y desestabiliza al complejo U4-U6 snRNA formándose un complejo U2-U6 activo que participa en la reacción de corte de los intrones. U5-snRNA alinea a los exones y facilita el paso final de corte de los intrones y la unión de los exones adyacentes (Fig. 9.12).

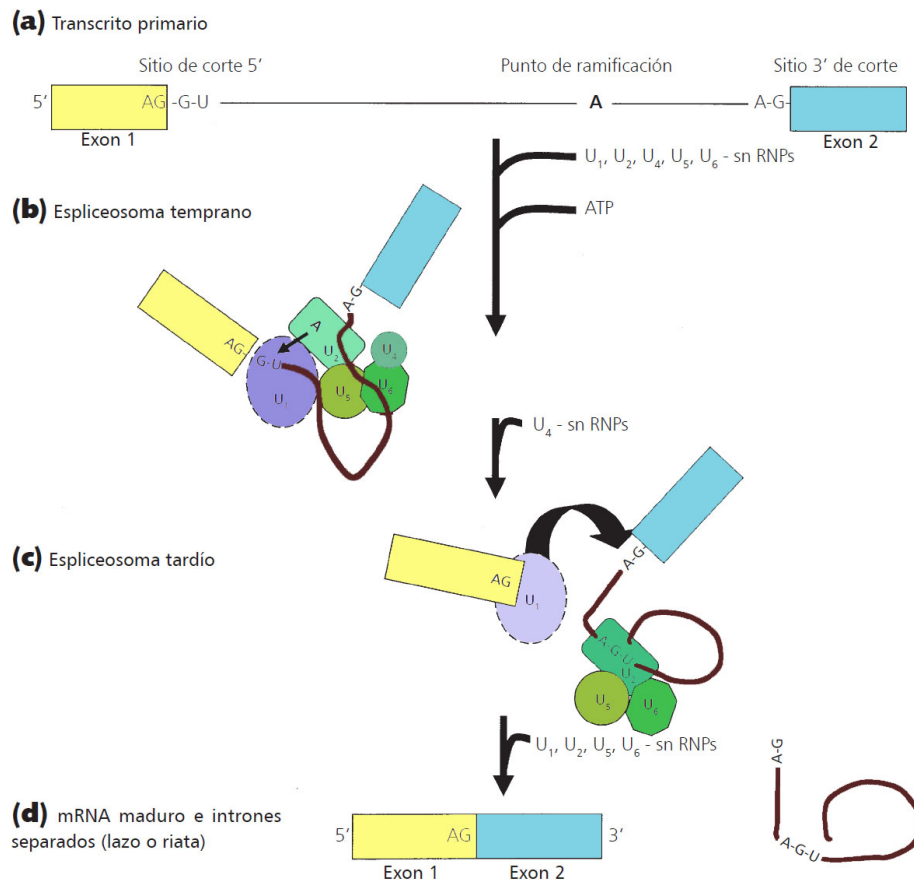


Fig. 9.12. snRNP's: U1, U2, etc

Los intrones están presentes en algunos genes de los organelos. En particular en las mitocondrias, que no contienen spliceosomas, el proceso de corte de los intrones se da por la presencia de una secuencia que es reconocida por una proteína que lo corta. En el ciliado *Tetrahymena* el corte del precursor del RNA ribosomal se da por auto-excisión, en el cual los intrones tienen actividad autocatalítica. Estas moléculas de RNA autocatalíticas se denominan *ribozimas*.

El número de intrones que pueden estar presentes en un gen es muy variable, desde 2, en el gen que codifica para la cadena de la β -globina, hasta 40, en el gen que codifica para una cadena de la colágena. El tamaño de los intrones es también muy variable, de 100 a 10,000 nucleótidos, por lo que la cantidad de RNA que se elimina oscila entre el 50 y el 90%. Aparentemente los intrones no cumplen con ninguna función, las secuencias más importantes son las de señalización de los spliceosomas, sin embargo, se postula que han jugado un papel importante en la evolución ya que han mantenido separados a los exones, secuencias que codifican para los dominios estructurales de las proteínas.

El procesamiento del transcrito de RNA puede llevarse a cabo de más de una forma, generándose un empalme alternativo lo que produce diferentes mensajeros maduros que después de la traducción generan proteínas relacionadas conocidas como *isoformas*.

El RNAm de los procariontes tiene una vida media muy corta, es degradado a los pocos minutos después de la síntesis. En los eucariontes la vida media de los mensajeros maduros es muy variable desde unos pocos minutos hasta horas o días. En cualquier caso la degradación de los mensajeros produce una poza de nucleótidos los que serán reciclados en una nueva síntesis de RNAs.

TRADUCCIÓN

La síntesis de cada una de las proteínas de un organismo se lleva a cabo en las células y es dirigida por una molécula de RNAm que es copia de un segmento de DNA. La traducción del mensajero es la polimerización biológica de aminoácidos en cadenas polipeptídicas.

La producción de proteínas incluye dos procesos:

- i. la transferencia de la información en la cual la secuencia de bases en el RNA determina la secuencia de aminoácidos en la cadena polipeptídica,
- ii. el proceso químico mediante el cual los aminoácidos en una cadena polipeptídica se unen a través de un enlace peptídico y su polimerización.

Para que la traducción se lleve a cabo se requiere de varios componentes:

1. RNA mensajero
2. Ribosomas
3. RNA de transferencia
4. Aminoacil-RNA de transferencia sintetasa

Estos componentes en los procariontes se encuentran en la célula mientras que en los eucariontes, mitocondrias y cloroplastos se encuentran en el citoplasma.

1. El RNA mensajero permite que las dos subunidades del ribosoma se unan ya que proporciona la secuencia de bases que determinan la secuencia de aminoácidos en la cadena polipeptídica.
2. Los ribosomas son las partículas en las cuales se lleva a cabo la síntesis de proteínas. Consisten de dos subunidades, grande y pequeña, que se unen durante la síntesis del polipéptido para formar un ribosoma maduro, Se mueven a lo largo del mensajero y van alineando las moléculas sucesivas de RNAt; los aminoácidos se unen a través de enlaces peptídicos. Una célula bacteriana contiene alrededor de 10,000 ribosomas mientras que una célula de un eucarionte suele contener alrededor de 20,000. Los ribosomas están formados por dos subunidades que contienen RNAr y proteínas. Cuando se asocian las dos subunidades se forma un monosoma. Los ribosomas de procariontes y eucariontes muestran diferencias específicas en cuanto al tamaño de las subunidades, el número de nucleótidos que conforman al RNAr y la cantidad de proteínas. En procariontes el monosoma es una partícula que sedimenta, en

gradiente de densidad de sacarosa, en los 70S mientras que en los eucariontes sedimenta a 80S. En procariontes el monosoma 70S está formado por una subunidad grande de 50S y una pequeña de 30S. La subunidad grande está formada por una molécula de rRNA 23S, por 32 proteínas ribosomales y por una subunidad 5S. La subunidad pequeña contiene rRNA 16S y 21 proteínas. En los eucariontes el monosoma 80S está formado por una subunidad grande 60S y una pequeña 40S. La grande contiene una molécula de rRNA 28S, 50 proteínas y dos moléculas de rRNA 5S y 5.8S. La subunidad pequeña 40S contiene rRNA 18S y 33 proteínas (Tabla 9.10).

Tabla 9.10. Componentes de los ribosomas de procariontes y eucariontes.

Monosoma	Procariontes 70S		Eucariontes 80S	
	Grande	Pequeña	Grande	Pequeña
	50S	30S	60S	40S
rRNA	23S	16S	28S	18S
Nucleótidos	2,900	1,540	4,800	1,900
Proteínas	32	21	50	33
rRNA	5S		5S +5.8S	
Nucleótidos	120		120 160	

Los genes que codifican para los componentes del rRNA se encuentran repetidos en el genoma de todos los seres vivos. En bacterias, como *Escherichia coli*, existen siete copias de una secuencia que codifica para los tres componentes del ribosoma. Este agrupamiento génico determina que, al traducirse, habrá en las células las mismas cantidades de los tres componentes ribosomales. La redundancia en el genoma de eucariontes es mucho mayor. En *Drosophila melanogaster* existen alrededor de 120 copias repetidas en tándem, cada unidad está separada por

un DNA no codificante o espaciador. En *Xenopus laevis* hay alrededor de 500 copias y, en la especie humana los agrupamientos génicos que codifican para el rRNA se encuentran en los extremos de los cromosomas acrocéntricos (13, 14, 15, 21 y 22).

3. RNA de transferencia (tRNA). Son las moléculas que adaptan el aminoácido correcto a los codones específicos del mensajero. Cada grupo sucesivo de tres bases adyacentes en el mRNA forma, como ya se mencionó, un codón mientras que en los tRNAs los tres ribonucleótidos sucesivos, que pueden aparearse con el codón, forman el anticodón. Los tRNAs contienen otra región en el extremo 3' en la cual está unido el aminoácido específico. En el ribosoma los puentes de H entre los tRNAs y el mRNA permiten que los aminoácidos puedan formar el enlace peptídico, Los tRNAs están muy bien caracterizados, están formados por alrededor de 90 nucleótidos y su estructura es muy similar en procariontes y eucariontes. La secuencia completa del tRNA^{ala} fue publicada por Holley y colaboradores en 1965 quienes propusieron el modelo bidimensional de la hoja de trébol del tRNA. La molécula muestra una estructura secundaria debido al apareamiento entre las bases complementarias. Las bases que no se aparean contienen nucleótidos modificados, como el ácido inosínico y el ribotimidílico, denominadas bases extrañas que se incorporan después de la transcripción y que forman lazos en la estructura secundaria (Fig. 9.13). El modelo tridimensional del tRNA fue obtenido por cristalografía de rayos X en 1974 por dos grupos independientes de investigadores (Rich y colaboradores y, Roberts y colaboradores).

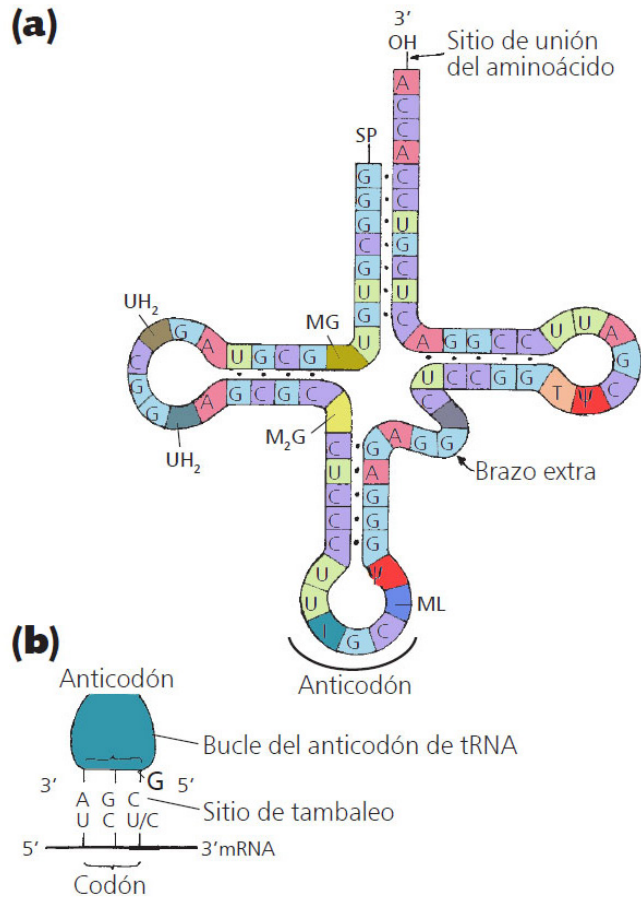


Fig. 9.13. (a) estructura general de un tRNA (trébol) (b) forma de apareamiento codón-anticodón

4. Aminoacil RNA de transferencia sintetasa. Cada enzima de este grupo de moléculas cataliza la unión de un aminoácido específico a su correspondiente tRNA particular. Este tRNA unido a su aminoácido se denomina tRNA cargado o aminoacílico. Como existen 20 aminoácidos esenciales hay 20 sintetasa diferentes. Cada aminoacil RNA de transferencia sintetasa reconoce solamente a su tRNA, de modo que, se mantiene la fidelidad de la traducción. Este fenómeno se describe con frecuencia como segundo código genético. El proceso de carga del tRNA inicia con la activación del aminoácido que reacciona con ATP para formar el ácido aminoaceladenílico, mediante un enlace covalente entre el grupo fosfato 5' del ATP y el extremo

carboxil del aminoácido. Este complejo permanece asociado con la enzima sintetasa específica, el aminoácido se transfiere al tRNA particular y se une de forma covalente al extremo 3' que contiene un residuo de adenina.

El proceso de síntesis proteica puede dividirse en tres etapas distintas: iniciación, elongación y terminación. Cada uno de ellos requiere de moléculas específicas.

Iniciación

Los ribosomas cuando no están participando en la traducción se disocian en sus dos subunidades, grande y pequeña. El codón AUG es el codón de iniciación, en procariontes codifica para formilmetionina y en eucariontes para metionina.

El proceso de iniciación requiere de un complejo formado por una molécula de mRNA; la subunidad pequeña del ribosoma; un tRNA iniciador específico cargado, que en procariontes es el tRNA^{formilmetionina} y en eucariontes es el tRNA^{metionina}; GTP; Mg⁺⁺ y factores proteicos de iniciación (IF). La subunidad pequeña del ribosoma se une a los factores de iniciación, al mensajero y al tRNA de iniciación en el sitio de iniciación. En procariontes el sitio de inicio es una secuencia de seis ribonucleótidos (AGG AGG) conocida como secuencia Shine-Dalgrano que precede al codón de iniciación AUG. En eucariontes el sitio de inicio es el extremo 5' del mRNA que contiene una 7-metilguanosina. Una vez que se ha formado este complejo, éste se mueve a lo largo del mensajero en dirección 3' hasta encontrar al codón de iniciación AUG que indica el inicio de la cadena polipeptídica. Otro factor de iniciación facilita la unión del tRNA de inicio a la subunidad pequeña, paso que ajusta la lectura para que se lean correctamente todos los tripletes posteriores, se une la subunidad grande al ribosoma y se liberan todos los factores de iniciación. En el proceso se hidroliza una molécula de GTP que suministra la energía necesaria. La subunidad grande del ribosoma contiene tres sitios: salida (E), peptidil (P) y aminoacil (A). El tRNA de iniciación (metionina o formilmetionina) se une al sitio P (Fig. 9.14).

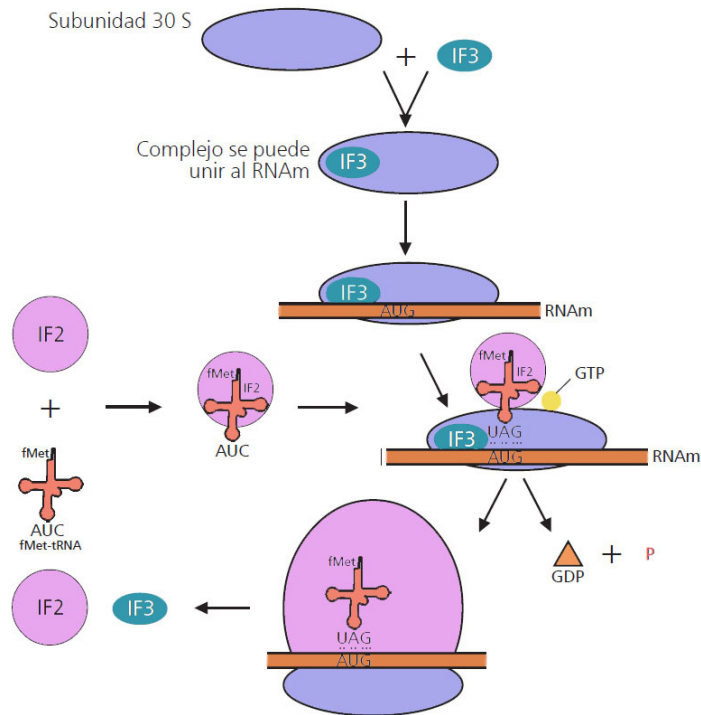


Fig. 9.14. Traducción: iniciación

Elongación

La elongación consiste en tres pasos que se realizan de forma reiterada: la incorporación de cada tRNA aminoacídico, la formación de un nuevo enlace peptídico y el movimiento del ribosoma al siguiente codón del mRNA. La elongación es mediada por tres factores proteicos de elongación: EF-Tu que interviene en la entrada de los aminoacil tRNAs en el sitio A. El Factor de elongación EF-Ts media la separación de EF-Tu del ribosoma y el factor de elongación EF-G interviene en el proceso de translocación del ribosoma. La secuencia del segundo triplete señala que molécula de tRNA cargada se va a colocar en el sitio A, después la peptidil transferasa cataliza la formación del enlace peptídico que une a los dos aminoácidos de la cadena en crecimiento, al mismo tiempo se rompe el puente covalente que existe entre el aminoácido y el tRNA que ocupa el sitio P y antes de que éste se libere pasa por el sitio E de la subunidad grande del ribosoma. El complejo mRNA-aminoácido1-aminoácido 2 se mueve, proceso conocido como translocación, a los siguientes

tres nucleótidos hacia el sitio P. Este proceso requiere de GTP molécula que proporciona la energía necesaria (Fig. 9.15).

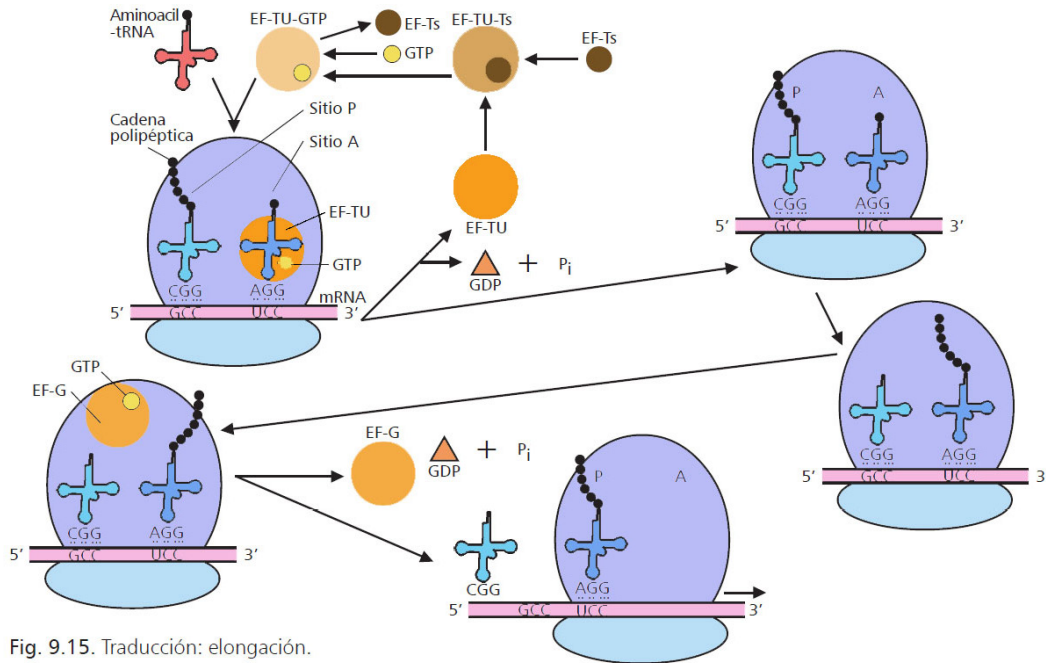


Fig. 9.15. Traducción: elongación

Terminación

La terminación se produce cuando el mRNA contiene uno de los tres tripletes de terminación (UAG, UAA, y UGA), los cuales al no especificar a ningún aminoácido no atraen al sitio A a ningún tRNA, sin embargo, no es el tRNA el que reconoce a los codones de terminación, sino más bien diversos factores proteicos que se conocen como factores de liberación (RF). El RF1 reconoce a los codones UAA y UAG, el RF2 a UAA y UGA, y el RF3 ayuda a catalizar la terminación de la cadena. La cadena polipeptídica está unida al tRNA terminal en el sitio P mientras que el sitio A está vacío, la cadena es liberada en el sitio P y los ribosomas se disocian en sus dos subunidades para lo cual requieren de la energía que les proporciona la hidrólisis de una molécula de GTP (Fig. 9.16).

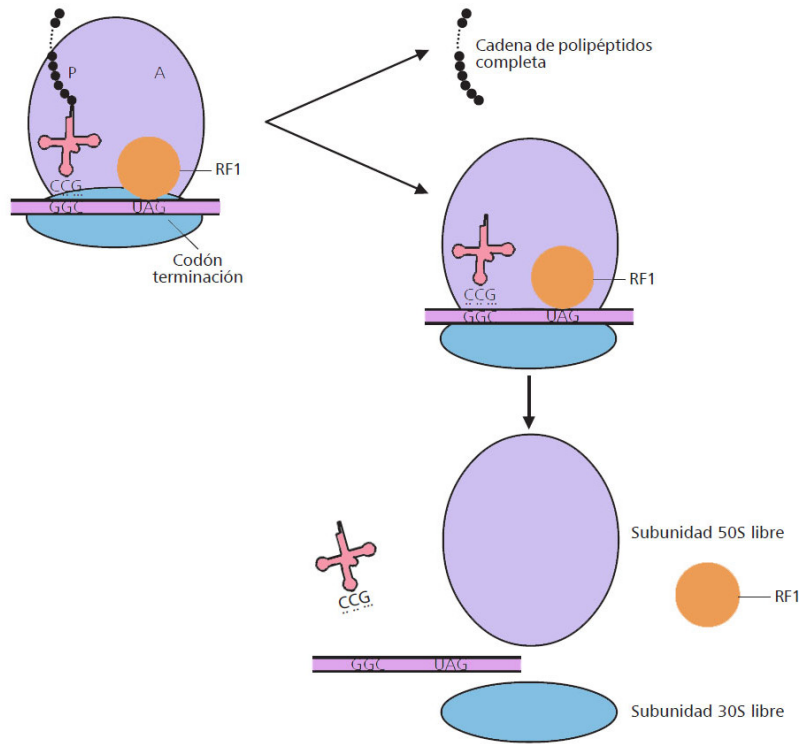


Fig. 9.16. Traducción: terminación

10. MUTACIONES GÉNICAS

La diversidad es un rasgo obvio en la naturaleza, todos los organismos celulares derivan de procariontes que vivieron hace más de 3,000 millones de años, la evolución ha tenido lugar debido, en gran parte, a los cambios en el material genético. La herencia es un proceso esencialmente conservador ya que la información genética está protegida para ser transmitida a la siguiente generación sin cambios, pero ocasionalmente ocurren errores o mutaciones que se producen de forma abrupta, al azar y sin sentido las que se transmiten a las células hijas. Los cambios o mutaciones pueden ocurrir a nivel de los cromosomas en las cuales segmentos o cromosomas completos cambian, llamadas *mutaciones cromosómicas* que describimos en el capítulo 6, o bien, a nivel de los genes, generándose un alelo diferente, denominadas *mutaciones génicas* o *puntuales*. En este capítulo analizaremos las mutaciones a nivel molecular o mutaciones puntuales.

Los nuevos alelos constituyen la materia prima del proceso evolutivo, la selección natural determinará si éstos son neutrales, perjudiciales ó benéficos. La mayoría de las investigaciones en genética se realizan con base en las mutaciones, las que sirven como marcadores para identificar a los genes en multitud de mecanismos y procesos genéticos.

TIPOS DE MUTACIONES POR SU ORIGEN, ESTIRPE CELULAR, EXPRESIÓN GÉNICA Y EFECTOS EN LA FUNCIÓN

Por su origen las mutaciones pueden ser *espontáneas* cuando ocurren de manera natural o *inducidas* cuando el organismo se expone a algún agente mutagénico sea éste físico, químico o biológico. La frecuencia de mutaciones se incrementa en el caso de las mutaciones inducidas con respecto a la frecuencia de las mutaciones espontáneas. Las mutaciones espontáneas pueden ocurrir por una diversidad de mecanismos moleculares, entre ellos, errores durante la replicación, despurinizaciones y daño oxidativo.

Los genes y los cromosomas en los eucariontes pueden mutar en los diferentes estirpes celulares, si una mutación ocurre en una *célula somática* se generará un clon celular que se manifiesta a nivel fenotípico como un sector mutado en un organismo denominado mosaico, el cual genotípicamente es una mezcla de tejido normal y mutado. Las consecuencias de las mutaciones en las células somáticas siempre ocurren en el individuo, es decir no se transmiten a la siguiente generación. Un caso especial es el de las mutaciones que ocurren en los proto-oncogenes, que regulan el ciclo celular, si éstos mutan darán origen a clones celulares descontrolados o tumores. Por lo que las mutaciones somáticas pueden estar relacionadas con enfermedades y con el cáncer proceso denominado carcinogénesis. Si una mutación ocurre a nivel de las *células germinales* ésta se fijará y transmitirá a la siguiente generación, proceso denominado mutagénesis; el efecto de una mutación a nivel germinal puede estar relacionado con la esterilidad en el individuo. Por otro lado, durante el desarrollo embrionario pueden ocurrir mutaciones en el embrión en gestación proceso denominado teratogénesis (Fig. 10.1).

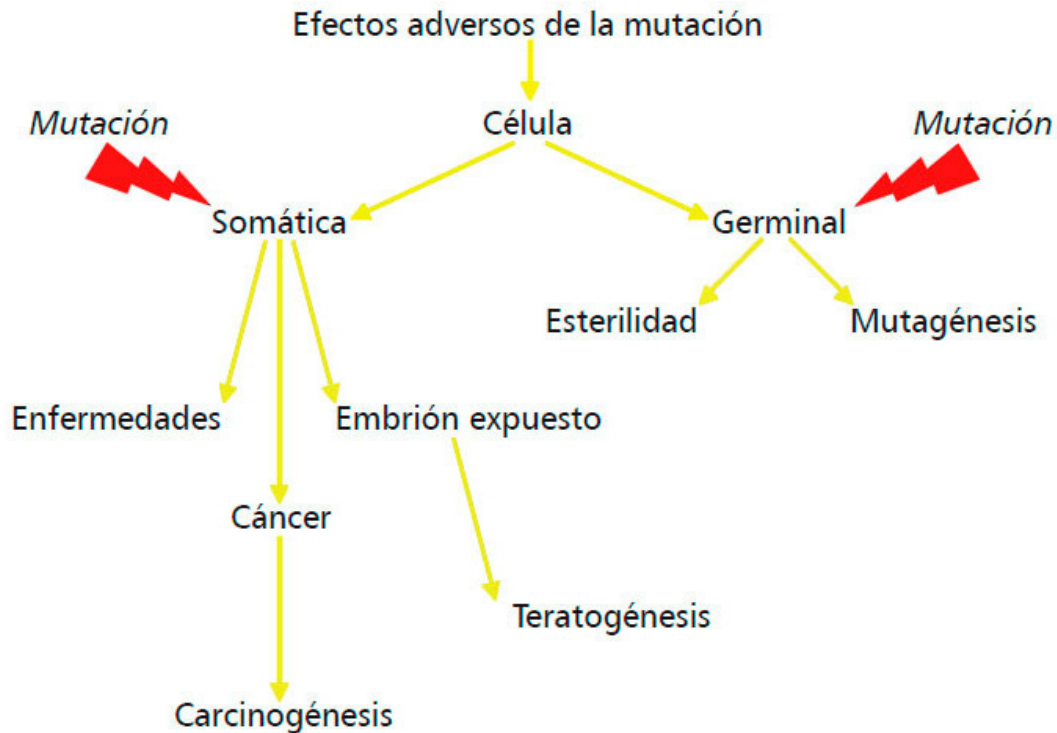


Fig. 10.1. Consecuencias de las mutaciones que ocurren en las células somáticas y en las células germinales

Las consecuencias de las mutaciones a nivel fenotípico pueden ser severas cuando la alteración produce *cambios morfológicos* conspicuos, que pueden ser deletéreos cuando reducen la viabilidad o letales cuando causan la muerte del individuo. Otros cambios que se expresan a nivel fenotípico pueden ser *sutiles* como las mutaciones condicionales que se expresan solamente en ambientes restrictivos, como los cambios en la temperatura, ya que en condiciones permisivas se expresa el silvestre. Las mutaciones *bioquímicas* se expresan por el cambio o pérdida de una función bioquímica, entre los procariontes estas alteraciones resultan en la incapacidad para crecer o proliferar en un medio mínimo; entre los seres humanos los errores congénitos del metabolismo se refieren a cambios en las rutas metabólicas debidos a mutaciones en algunos de los pasos de la química celular. Los cambios que generan *pérdida de función* o mutaciones *nulas* producen la inactivación completa de un gen. Si ocurren en el alelo recesivo, cuando el individuo es heterocigoto para el gen en cuestión, el alelo dominante suplirá la función normal. Las mutaciones que reducen, pero no eliminan, el nivel de expresión del gen o la actividad de un producto génico se denominan *hipomórficas*, ya que el nivel de expresión o actividad del gen varía de individuo a individuo. Por el contrario las mutaciones *hipermórficas* generan un nivel de expresión de un gen por arriba de lo normal, lo cual se debe a que la mutación afecta a los nucleótidos que regulan la expresión de ese gen, por lo cual éste se sobreexpresa. Las mutaciones de *ganancia de función* alteran de forma cualitativa la acción de un gen, ya que el gen en cuestión puede expresarse en un tejido en el que normalmente no está activo son por su naturaleza dominantes, el cambio aleatorio confiere una nueva función al gen (Tabla

10.1).

Tabla 10.1. Tipos de mutaciones por su origen, estirpe celular, forma de expresión y efecto sobre la función

Clasificación	Tipos	Hechos
Por su origen	Espontáneas	Ocurren de forma natural
	Inducidas	Ocurren en presencia de mutágenos
Estirpe celular	Células somáticas	De cualquier tejido, afectan al individuo
	Células germinales	Gametos, se transmiten a la siguiente generación
Cambios morfológicos	Deletéreos	Reducen la viabilidad
	Letales	Causan la muerte del individuo
Expresión	Condicionales	Se expresan bajo ciertas condiciones
	No condicionales	Siempre se expresan
Cambios bioquímicos	Pérdida de función o nulas	Eliminan la función normal
	Hipomórficas	Reducen la función
	Hipermórficas	Aumentan la función
	Ganancia de función, expresión ectópica	Se expresa en tipos celulares equivocados o en tiempos inadecuados

TIPOS DE MUTACIONES PUNTUALES A NIVEL DEL DNA Y DE LAS PROTEÍNAS

El prototipo de una especie o cepa de laboratorio es el *silvestre*, para estudiar las mutaciones se analizan los cambios que ocurren en los organismos silvestres, éstas pueden ser *hacia delante* (+ → a) o bien reversos denominadas *retromutaciones* (a → +). Por su efecto en el fenotipo pueden ser dominantes, que son fáciles de distinguir, o recesivas, que requieren estar en condición homocigota para expresarse en el fenotipo.

Las *mutaciones puntuales* se refieren a las alteraciones moleculares que ocurren en una base del DNA o a cambios en muy pocas bases adyacentes. Las mutaciones *hacia delante* pueden ocurrir por *sustitución* de un nucleótido por otro: cuando una purina cambia por otra purina o una pirimidina cambia por otra pirimidina se presenta una *transición*. Cuando cambia una purina por una pirimidina o viceversa ocurre una *transversión*. Las mutaciones hacia adelante a nivel del DNA pueden ocurrir también por adición o delección de una base, no múltiple de tres, lo cual genera un *cambio de sentido* que a nivel de la proteína se traduce en un corrimiento de marco de lectura.

A nivel de las proteínas, las mutaciones puntuales pueden producir diferentes efectos, debido a la degeneración del código genético y a la existencia de los codones de

terminación. Las mutaciones serán *silenciosas o sinónimas* cuando el cambio se produce en la base de un triplete que codifica para el mismo aminoácido; *neutrales* cuando el cambio en un triplete codifica para otro aminoácido que es equivalente en función; *de sentido equivocado* cuando el triplete codifica para un aminoácido no funcional; *sin sentido* cuando el triplete codifica para un codón de terminación. La repetición de trinucleotidos es una mutación de *expansión*.

Las *retromutaciones* pueden ser *exactas*, cuando una segunda mutación restituye la base original; *equivalentes* cuando la reversión incorpora una base similar que debido a la degeneración del código genera la incorporación de un aminoácido semejante; *supresoras intragénicas* las que se dan por adición primaria de una base y delección secundaria de la misma o por corrimiento en el segundo sitio de un codón; *supresoras extragénicas* que se presentan fundamentalmente a nivel de la región de los anticodones en los tRNAs, o a nivel de supresiones fisiológicas debidas a mutaciones que reducen el transporte de una enzima particular mutada (Tabla 10.2).

Tabla 10.2. Tipos de mutaciones puntuales hacia adelante y de retromutaciones.

Tipo de mutación: hacia adelante	Resultados y ejemplos
<i>A nivel del DNA</i> Sustitución	Purina por purina: transición
	AT → GC
	Pirimidina por pirimidina: transición
	TA → CG
	Purina por pirimidina: transversión
	AT →CG
	Pirimidina por purina: transversión
AT → TA	
Corrimiento de marco de lectura	
Inserción	Uno o más nucleótidos extra
Delección	Uno o más nucleótidos faltantes
Expansión de trinucleotidos = repetición	CGG sitios frágiles CAG Corea CTG Distrofia miotónica
<i>A nivel de las proteínas</i>	AGA → CGA
Silenciosas (sinónimas)	Arginina →à arginina
Neutrales	AAA → AGA
	Lisina → arginina

Equivocadas	El triplete codifica para un aminoácido incorrecto
Sin sentido (terminación)	AAA → UAA
	Lisina → codón de terminación
retromutaciones	
Exactas	AAA → GAA → AAA
	Lisina → glutamina → lisina
Equivalentes	UCC → UGC → AGC
	Serina → cisteína → serina
Supresoras intragénicas	Corrimiento en el segundo sitio de un codón
Supresoras extragénicas	Anticodones de los tRNAs

MUTACIONES GÉNICAS EN LOS SERES HUMANOS

Con el advenimiento de las metodologías moleculares ha sido posible estudiar varias mutaciones génicas que afectan a los seres humanos. Así la base molecular de los antígenos ABO que se encuentran en la superficie de los eritrocitos y en las células epiteliales ha sido desvelado. El sistema se debe a tres alelos múltiples cuyos productos modifican a la sustancia H, modificación que es mediada por la actividad de la glucosiltransferasa. Los antígenos A y B son azúcares unidos a ácidos grasos que sobresalen de la membrana de los eritrocitos. La especificidad de A y B se basa en el azúcar terminal del carbohidrato. Casi todos los individuos poseen una sustancia H a la que se añaden uno o dos azúcares terminales. La sustancia H está formada por tres azúcares: galactosa, N-acetilglucosamina y fucosa. El alelo I^A puede unir la N-acetilglucosamina a la sustancia H. El alelo I^B no puede unir este azúcar pero si une la galactosa a la sustancia H. Los individuos O, homocigotos para *ii*, no pueden añadir ningún azúcar terminal a la sustancia H, no la pueden modificar, por lo que ésta sobresale de la superficie de los eritrocitos. El análisis del DNA de los tres alelos permitió establecer la base molecular del sistema ABO. Al comparar I^A e I^B se encontraron cuatro sustituciones. El alelo *i* muestra la delección de un nucleótido al inicio de la secuencia codificante, mutación de corrimiento de marco de lectura que se extiende durante 100 nucleótidos hasta llegar a un codón de terminación lo que genera un producto no funcional.

El análisis del DNA de los genes responsables de distintas enfermedades hereditarias en los seres humanos empezó en los años 1990s. Por ejemplo la repetición de ciertos nucleótidos se presenta en el alelo normal de algunos genes en los seres humanos, las repeticiones incrementadas en un número variable de veces genera mutaciones. El gen responsable de los *sitios frágiles del cromosoma X*, síndrome asociado con retraso mental, contiene desde cientos a miles de copias de la secuencia CGG, los individuos con hasta 50 copias repetidas del triplete se consideran normales. Los individuos con más de 50 y hasta 200 copias se consideran portadores. Estas repeticiones se encuentran en el promotor.

La *corea de Huntington*, conocida desde la Edad Media como baile de San Vito, se debe a la presencia de repeticiones del triplete CAG en la secuencia codificante 5'. Los individuos con hasta 35 copias se consideran normales, la severidad del síndrome depende

del número de copias. La *distrofia miotónica*, la forma más común de distrofia muscular en los adultos, se debe a un aumento en el número de tripletes CTG en 3'. Las personas normales portan hasta 5 copias del triplete, las medianamente afectadas hasta 50 y las afectas severamente pueden tener hasta 1,000 repeticiones del triplete. La distrofia muscular de Duchene se debe a cambios en el marco de lectura del gen que pueden deberse a deleciones o adiciones lo cual genera una proteína no funcional.

TASA Y FRECUENCIA DE MUTACIÓN

Para cuantificar el número de mutaciones se emplean dos parámetros: la *tasa de mutación* o número de mutaciones en función de alguna unidad biológica de tiempo (por ejemplo genes mutados por replicación génica; células mutadas por división celular, por gameto y por generación, entre otras) y la *frecuencia de mutación* o número de mutaciones que se encuentran en una población, célula o individuo (se expresa como frecuencia por número de gametos, frecuencia por número de esporas o frecuencia por número de individuos). En la Tabla 10.3 se muestran algunas tasas de mutación espontánea en diferentes organismos. Puede notarse que la tasa es muy baja en todos los organismos, que la tasa es muy variable entre los diversos seres vivos y que incluso dentro de un organismo la tasa de mutación espontánea es muy variable en los diferentes genes. En virus y bacterias el promedio de mutaciones espontáneas es de alrededor de 1 de cada 100 millones de divisiones celulares. Entre los eucariontes los ascomicetos muestran una tasa espontánea similar a la de los procariontes. En el maíz, la mosca de la fruta y los seres humanos la tasa espontánea oscila de 1 en 1,000,000 a 1 en 100,000 gametos por generación. Un caso especial, del que se desconocen las causas aunque se postula una baja eficiencia de los sistemas de reparación, es la tasa espontánea de mutación de los ratones que es más alta, varía de 1/100,000 a 1/10,000.

Tabla 10.3. Tasa de mutaciones espontáneas en algunos seres vivos.

Organismo	Carácter	Gen	Tasa	Unidad de medición
<i>Virus T2</i>	Amplitud del huésped	$h^+ \rightarrow h$	1×10^{-8}	Por replicación
	Lisis rápida	$r^+ \rightarrow r$	1×10^{-9}	
<i>Escherichia coli</i>	Fermentación de la lactosa	$lac^- \rightarrow lac^+$	2×10^{-7}	Por división celular
	Independencia a histidina	$his^- \rightarrow his^+$	4×10^{-8}	
	Resistencia a estreptomycin	$est^s \rightarrow est^r$	1×10^{-8}	
<i>Neurospora crassa</i>	Independencia a adenina	$ade^- \rightarrow ade^+$	4×10^{-8}	Frecuencia de mutación entre las esporas asexuales
<i>Zea mays</i>	Ausencia de color	$c^+ \rightarrow c$	2×10^{-6}	Por gameto y por generación

	Granos púrpura	$p^+ \rightarrow p$	1×10^{-5}
<i>Drosophila melanogaster</i>	Ojos blancos	$w^+ \rightarrow w$	4×10^{-5}
<i>Mus musculus</i>	Pelaje diluido	$d^+ \rightarrow p$	3×10^{-5}
	Ojos rosas	$p^+ \rightarrow p$	8×10^{-4}
<i>Homo sapiens</i>	Aniridia	$An^+ \rightarrow An$	5×10^{-6}
	Retinoblastoma	$Rb^+ \rightarrow Rb$	2×10^{-5}

Es importante conocer la tasa y /o la frecuencia de mutación espontánea para luego poder medir la tasa y/o frecuencia de mutaciones inducidas experimentalmente. Al comparar ambos parámetros se puede conocer la potencia de los agentes mutagénicos así como su umbral de acción.

ERRORES DURANTE LA REPLICACIÓN

Las bases nitrogenadas que conforman al DNA pueden existir en formas químicas diversas que difieren en la posición de sus átomos y en los puentes entre los átomos, éstas son sinónimas y se denominan *tautómeros*. Durante la replicación del DNA pueden ocurrir de manera espontánea errores debido a la incorporación de tautómeros. En condiciones normales la guanina y la timina están en forma ceto ($C=O$), los isómeros se encuentran en forma enol (COH), mientras que la citosina y la adenina se encuentran en forma amino (NH_2) y en los isómeros en forma imino (NH). El apareamiento de las bases en la doble hélice se produce siempre entre una purina y una pirimidina, sin embargo, cuando en la célula (o en el núcleo) existe una disposición de tautómeros, la forma enol de la timina se aparea con la guanina (ceto); la forma imino de la citosina se aparea con la forma amino de la adenina, generándose en ambos casos una transición (Fig. 10.2). Si durante la replicación el tautómero se aparea con una base complementaria normal se habrá fijado la mutación puntual.

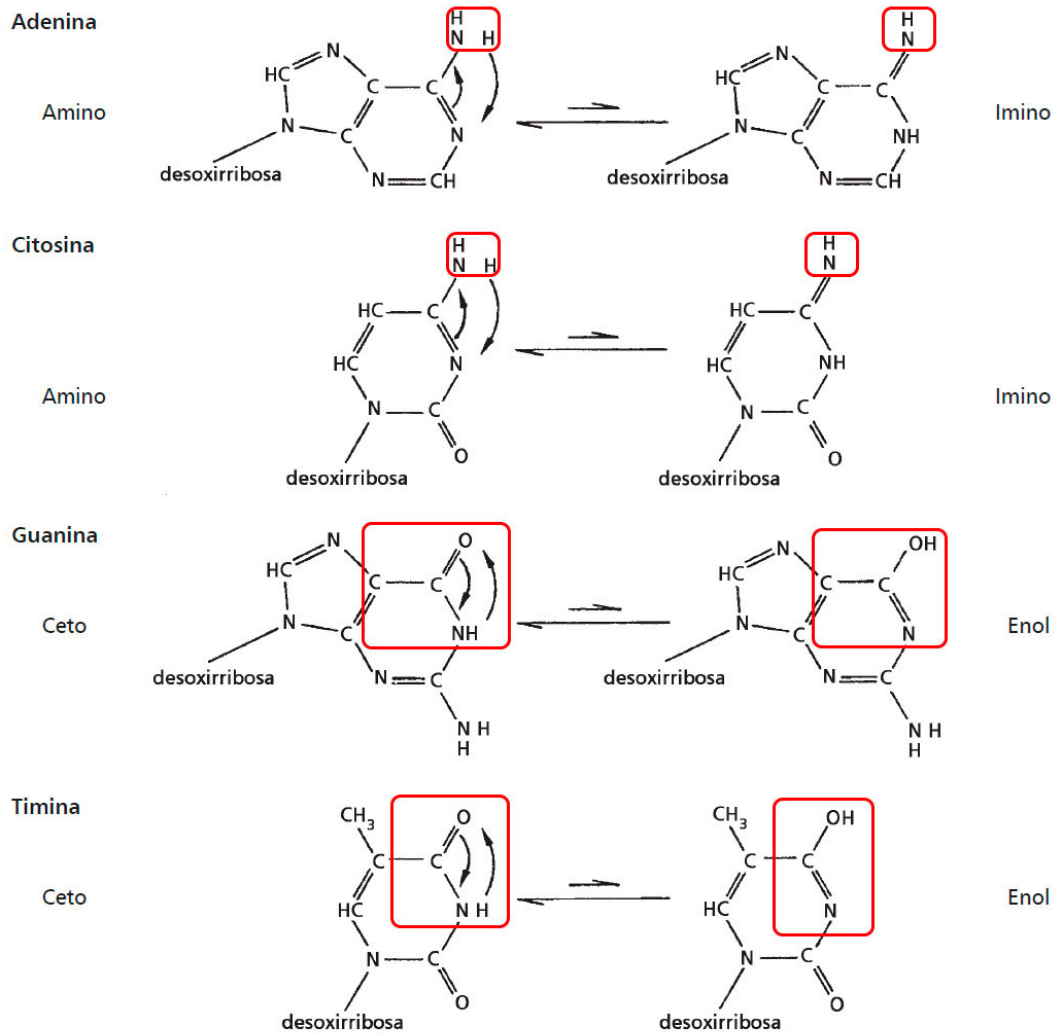


Fig. 10.2. Tautómeros de las cuatro bases nitrogenadas

La pérdida de una base nitrogenada en el DNA puede ocurrir de forma espontánea, en el proceso participan con mucha frecuencia la adenina y la guanina. En estos nucleótidos puede romperse y separarse de la doble hélice el enlace glucosídico que une al C1 de la desoxirribosa y el N9 de la purina generándose un sitio apurínico (AP). La ausencia de una base nitrogenada altera el código genético (si es la hebra que se transcribe y se traduce). Si durante la replicación se inserta un nucleótido, por el proceso de reparación (que se tratará más adelante), puede ocurrir que sea el correcto presentándose entonces una reparación eficiente, por el contrario si la base nitrogenada que se incorpora no es la correcta entonces se produce una reparación promotora de errores generándose una mutación puntual. La desaminación o pérdida espontánea del grupo amino en una base genera también mutaciones puntuales, así si la citosina se desamina se produce uracilo, si la 5-metil-citosina al desaminarse genera timina.

Las reacciones de oxidación que ocurren de forma natural en todas las células generan formas activas de los radicales oxígeno, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los

superóxidos, los que pueden producir daños en las bases nitrogenadas del DNA generándose un apareamiento erróneo durante la replicación.

MUTÁGENOS QUÍMICOS

Son compuestos químicos capaces de inducir mutaciones en el DNA. Cuatro son los tipos fundamentales de mutágenos químicos que pueden alterar el apareamiento de bases sustituyendo a las purinas o las pirimidinas durante la replicación del DNA y por ende producir mutaciones puntuales.

1. Análogos de bases. Son mutágenos químicos en los que algunos radicales están sustituidos. Por ejemplo el 5-bromouracilo (5-BrU), un análogo de la timina, contiene un átomo de bromo en lugar del grupo metilo en el carbono 5. El 5-BrU puede existir en forma enol o en forma ceto. Si la forma enol se incorpora al DNA en lugar de la timina, entonces el 5-BrU se aparea con la guanina produciéndose una mutación de transición (Fig. 10.3). La forma ceto se aparea con la adenina produciendo también una mutación puntual de transición.

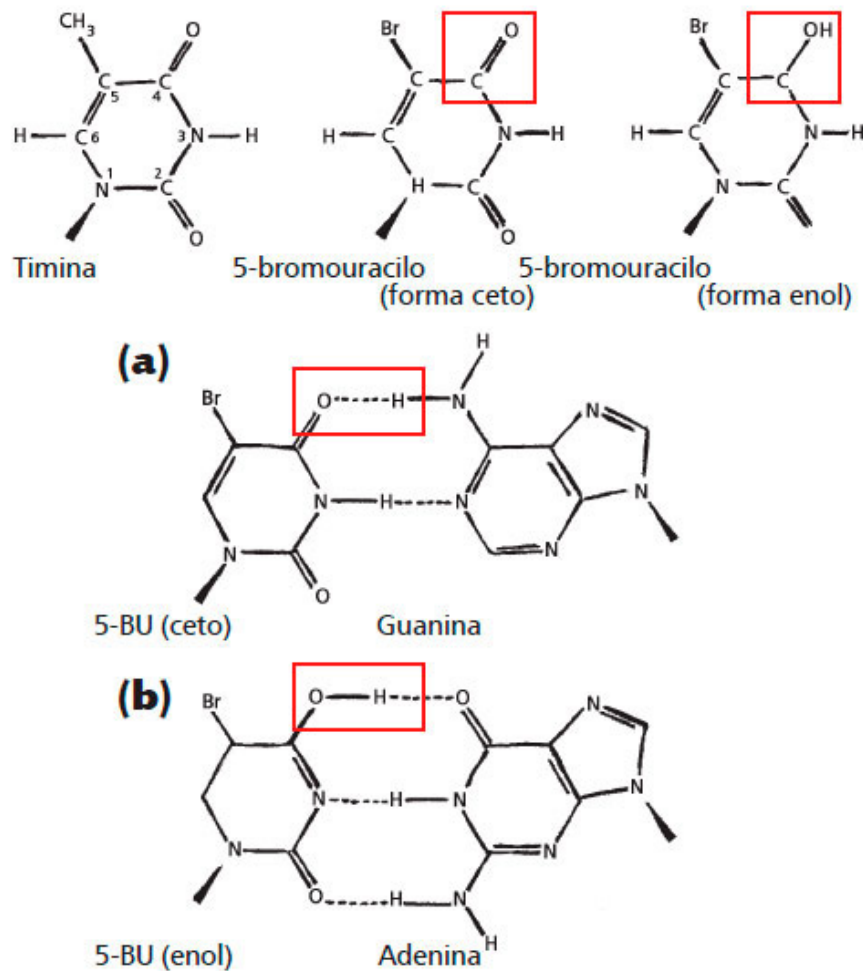


Fig. 10.3. Apareamientos erróneos inducidos por el análogo de base 5-bromouracilo (a) 5-BrU en forma ceto (b) 5-BrU en forma enol

2. **Agentes alquilantes.** Son compuestos químicos que ceden grupos alquilo, metilo o etilo, a los grupos amino o ceto de las bases nitrogenadas. Por ejemplo el etilmetanosulfonato (EMS) alquila los grupos ceto de la guanina (en posición 6) y de la timina (en posición 4). Si se incorpora al DNA producirá una transición (Fig. 10.4).

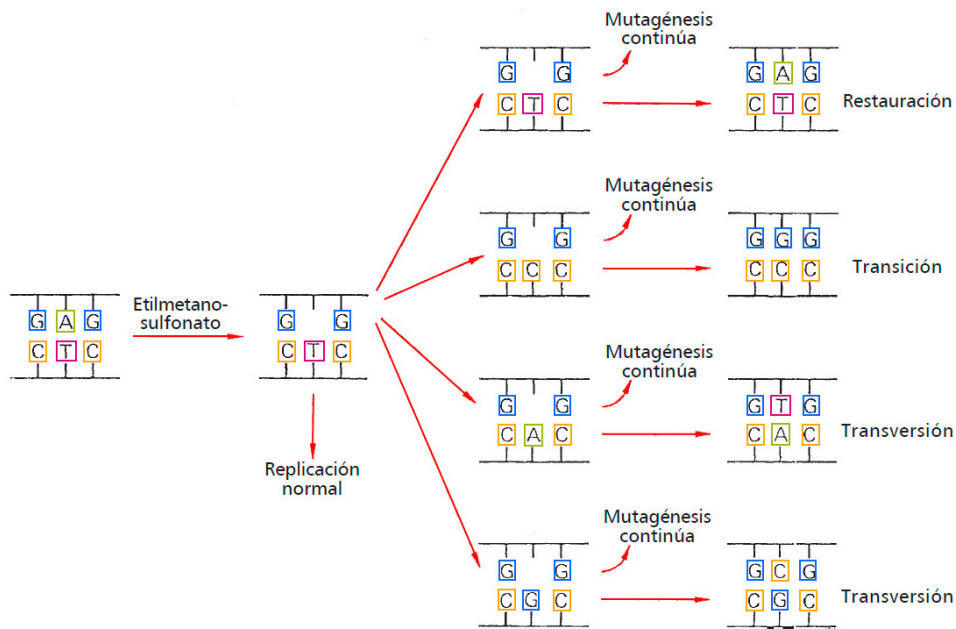


Fig. 10.4. . Inducción de una transición por el agente alquilante etilmetanosulfonato (EMS)

3. **Colorantes de acridina.** Son mutágenos que al tener aproximadamente las mismas dimensiones que un par de bases nitrogenadas apareadas pueden incorporarse en su lugar, generando mutaciones de corrimiento de marco de lectura (adición o delección de uno o más pares de bases). Esta mutación genera huecos en el DNA, los que durante los procesos de replicación, reparación o recombinación, pueden producir un apareamiento incorrecto debido al desplazamiento de una hebra de la doble hélice. Algunos de los colorantes de acridina más estudiados son la naranja de acridina y la proflavina.

4. **Ácido nitroso.** Induce desaminaciones por oxidación. El grupo amino de la citosina puede convertirse en uracilo, en presencia de HNO_2 , apareándose entonces con la adenina. Por otro lado si la adenina se desamina se convierte en hipoxantina la que se aparea con citosina (Fig. 10.5).

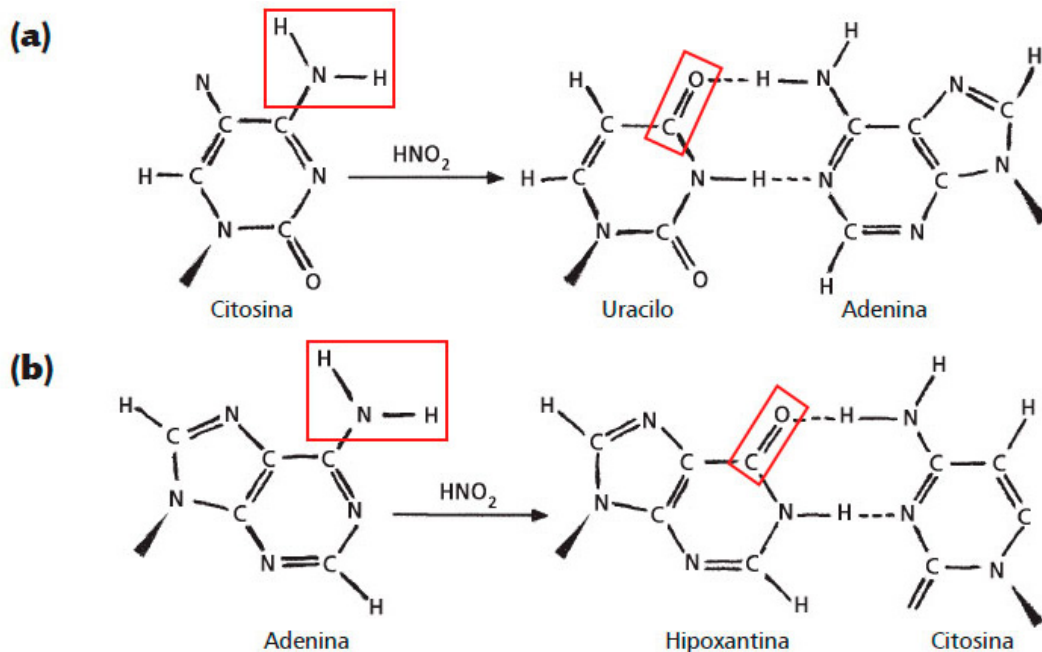


Fig. 10.5. Desaminación oxidativa inducida por el ácido nitroso (a) en la citosina (b) en la adenina

MUTÁGENOS FÍSICOS

Las radiaciones de longitud de onda corta, como los rayos X, los rayos cósmicos y las partículas y radiación que emiten los elementos radiactivos como los rayos γ , y las partículas α y β , o de longitud larga como la radiación ultravioleta (UV) pueden inducir mutaciones en el DNA. La energía de las radiaciones es inversamente proporcional a la longitud de onda.

Las radiaciones de longitud de onda corta son capaces de atravesar los tejidos y ionizar las moléculas que se encuentran en las células, por ello se denominan ionizantes. Estas fuentes de energía son mutagénicas, efecto que demostró Herman Müller en 1927 al tratar a la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* con rayos X. Müller demostró que existe una relación directamente proporcional entre la dosis de radiación y la inducción de mutaciones recesivas ligadas al sexo, asimismo construyó una curva dosis-respuesta en la que mostró que inclusive dosis muy pequeñas de radiación, como los 50 roentgens (1 roentgen (r) es una medida de la dosis de energía) son mutagénicos. Además se demostró que en *Drosophila* el efecto mutagénico es acumulativo, ya que, se obtiene la misma respuesta con un tipo de exposición aguda (una dosis alta) que con una exposición crónica (varias dosis pequeñas) Esta curva sirvió años después para establecer los parámetros permisibles de exposición en los seres humanos.

Los rayos X al penetrar en las células provocan la expulsión de los electrones de los átomos de las moléculas que se encuentran generando así radicales libres y iones muy reactivos que pueden interactuar con las bases nitrogenadas produciendo mutaciones puntuales, lo que resulta en un efecto mutagénico o carcinogénico. La intensidad de un haz de radiación puede medirse cuantitativamente de varias formas (Tabla 10.4). Algunas

unidades, como el becquerel y el curie, describen el número de desintegraciones que emanan del material radiactivo; otras, como el roentgen, tratan con el número de ionizaciones que la radiación produce en el aire; otros más, como el gray y el rad con la cantidad de energía a la que se expone el material y algunas más, como el rem y el sievert, con los efectos de la radiación en los tejidos vivos. Los rayos X también pueden romper a los cromosomas generando diversos tipos de aberraciones, tales como, deleciones, terminales o intercalares, y translocaciones. Esta propiedad de los rayos X es la que se ha explorado para tratar a los tumores malignos en el desarrollo del cáncer, ya que las células tumorales han perdido la capacidad de regular el ciclo celular por lo que proliferan de forma descontrolada.

Tabla 10.4. Unidades de radiación.

Unidades de radiación	Magnitud
Becquerel (Bq)	1 desintegración/Segundo = 2.7×10^{-11} Ci
Curie (Ci)	3.7×10^{10} desintegraciones/segundo o 3.7×10^{10} Bq
Gray (Gy)	1 jule/kilogramo = 100 rads
Rad (rad)	100 ergs/gramo = 0.01 Gy
Rem (rem)	Daño inducido a un tejido vivo producido por 1 rad = 0.01 Sv
Roentgen (R)	Produce una unidad de cambio electrostático por cm^3 de aire seco en condiciones normales de presión y temperatura
Sievert (Sv)	100 rem

En EUA se ha podido calcular la dosis de radiación ionizante que recibimos los seres humanos en un año (Tabla 10.5). Con base en estos datos se ha podido calcular que cada generación de seres humanos recibirá 100 milisieverts como dosis total de exposición natural a las radiaciones ionizantes. Puede notarse en la tabla que 2/3 partes de la radiación natural que los seres humanos absorbemos se debe al gas radón, gas incoloro, inodoro e insípido, producto de la desintegración del radio; del uso de los rayos X como invaluable herramienta de diagnóstico clínico sólo absorbemos 0.39 milisieverts. Debido a que el riesgo que representa la exposición a radiaciones naturales y su correlación con un aumento en la incidencia de enfermedades genéticas es considerablemente bajo, los genetistas estamos más preocupados acerca del riesgo que representa para la salud humana, la exposición a diversos compuestos químicos ubicuos en el ambiente y a los que continuamente se introducen a través de fuentes diversas.

Tabla 10.5. Exposición anual de los seres humanos a diferentes formas de radiación (datos de la National Academy of Sciences, USA 1991).

Fuente	Dosis (en milisieverts; 1 mSv= 0.1 rem)
Gas radón	2.06
Rayos cósmicos	0.27
Radioisótopos naturales en el cuerpo	0.39
Radioisótopos naturales en el suelo	0.28
<i>Total de fuentes naturales</i>	3.00
Rayos X para diagnóstico	0.39
Radiofarmaceúticos	0.14
Productos de consumo (rayos X de la TV, relojes electrónicos) y materiales de construcción	0.10
Caídas de las pruebas de las bombas atómicas	<0.01
Plantas de energía nuclear	<0.01
<i>Total de fuentes no naturales</i>	0.63

La radiación ultravioleta es mutagénica debido a que las pirimidinas absorben la radiación UV con mayor intensidad a una longitud de onda de 260 nm que es la longitud de onda a la que absorbe el DNA. La luz UV induce la dimerización de pirimidinas, especialmente entre dos residuos de timina, y en menor medida entre citosina-citosina y citosina-timina. Los dímeros de pirimidina son letales en las bacterias, razón por la cual se ha utilizado como agente esterilizador en los laboratorios de investigación y de análisis clínicos. La razón por la cual es letal en los microorganismos es que las dimerizaciones inhiben la replicación del material genético que al ser desnudo está más expuesto. La radiación UV es también acumulativa. En los seres humanos se ha correlacionado la exposición a los rayos UV (baños de Sol) con la aparición, después de un periodo de latencia, de cáncer de piel. La radiación UV se ha utilizado en la investigación para estudiar los diversos mecanismos biológicos de reparación.

REPARACIÓN DEL DNA

Como ya se mencionó, en los subtemas precedentes, existen muchos riesgos potenciales que pueden ocasionar errores durante la replicación y por lo tanto en el apareamiento fiel de las bases. De modo que existen errores naturales e inherentes a la replicación del DNA que ocurren en una tasa muy baja denominada *espontánea*, además de otras lesiones espontáneas que conducen al establecimiento de diversas mutaciones génicas. Se ha calculado que el daño espontáneo en el DNA en las células humanas ocurre

a una tasa de un error por mil millones de pares de nucleótidos por minuto, lo que equivale a un daño en el DNA de una célula en 10,000 sitios diferentes cada 24 horas. Sin embargo, a pesar de estos insultos y gracias a los sistemas de reparación, menos de 10/10,000 lesiones en el DNA generan una mutación.

Obviamente esta tasa es mucho mayor cuando las células se exponen a mutágenos físicos y químicos que se encuentran en el ambiente. Afortunadamente los seres vivos han desarrollado, en el curso de la evolución, diversos mecanismos de reparación, que les permiten afrontar las distintas amenazas que podrían causar diversos tipos de alteraciones que generarían mutaciones. Estos mecanismos de reparación han permitido el establecimiento de la vida en la Tierra. Como veremos más adelante algunos defectos en los mecanismos de reparación producen enfermedades devastadoras entre los seres humanos incluidos algunos tipos de cáncer.

Algunos sistemas enzimáticos neutralizan diversos compuestos potencialmente muy dañinos, antes de que interactúen con el DNA. Entre éstos se encuentran diversas enzimas encargadas de la desintoxicación de diversos radicales de oxígeno que se generan durante el metabolismo normal de las células. Entre éstos se encuentran la *superóxido dismutasa*, enzima que cataliza la conversión de los radicales superóxido en peróxido de hidrógeno, y la *catalasa* enzima que cataliza la conversión del peróxido de hidrógeno en agua.

La mayoría de los mecanismos de reparación requieren de las dos hebras de DNA (Para la especificación de la complementaria): El fenómeno de *reparación por reversión* de las lesiones inducidas conduce a la regeneración de la base original. Las *alquiltransferasas* son enzimas que remueven grupos alquilo que introducen los agentes alquilantes, como el EMS, en la posición O⁶ de la guanina. La reparación del daño inducido por luz UV, que fue el primer mecanismo de reparación descubierto, puede revertirse si las células, después de la irradiación, se exponen a la luz azul del espectro visible. La enzima *fotoliasa*, que se encuentra en bacterias y eucariontes inferiores, pero no en los seres humanos, corta los enlaces entre los dímeros de pirimidinas revertiendo los efectos de la luz UV. Esta enzima no opera en la oscuridad por lo que existen otros mecanismos que reparan el daño inducido por UV.

El proceso de *reparación por excisión* incluye la eliminación, en presencia de una endonucleasa, de un pedazo de DNA dañado en una hebra de la doble hélice; excisión que deja un hueco, que es restituido por una polimerasa a partir de la hebra no dañada que sirve como molde o template; una ligasa sella los huecos. En procariontes se remueven de 12 a 13 nucleótidos mientras que en eucariontes se eliminan de 27 a 29 nucleótidos. En *Escherichia coli* el sistema *uvrABC* codifica para las proteínas UvrA, UvrB y UvrC que están implicadas en la reparación de lesiones en la doble hélice tanto por la exposición a UV como por la exposición a compuestos químicos. En los seres humanos este sistema de reparación es mucho más complejo e incluye al menos a 17 proteínas. El proceso de reparación por excisión de bases mediado por la DNA *glicosilasa*, enzima que no rompe el puente fosfodiéster sino más bien el N-glicosídico, genera un sitioapurínico, o apirimidínico (sitio AP). Posteriormente una endonucleasa AP repara el hueco. Las DNA glicosilasas reparan muchas lesiones que ocurren de forma espontánea, tales como, la desaminación de la citosina y de la adenina y la oxidación de bases, o de forma inducida como la alquilación de algunas bases.

La reparación también puede ocurrir después de la replicación, este proceso corta el nucleótido mal apareado incorporando el correcto. El sistema de *reparación de bases mal apareadas* se basa en la enzima *metilasa* de la adenina que reconoce en la hebra recién

sintetizada los residuos no metilados de la adenina en la secuencia 5'-GATC-3' posteriormente escinde las bases mal apareadas en la hebra recién sintetizada y corrige el error. Este sistema de corrección en bacterias incrementa dos órdenes de magnitud la fidelidad del DNA.

Por último el sistema de *reparación por recombinación* o *sistema SOS*, fue descubierto en bacterias deficientes para el mecanismo de reparación por excisión. El sistema es inducible, ya que responde a los daños del DNA no reparados que interrumpen la replicación, y depende de la proteína RecA implicada en los procesos de recombinación. El sistema SOS introduce errores por lo que es mutagénico. En la Tabla 10.6 se muestran los diversos sistemas de reparación que se encuentra en *Escherichia coli*.

Tabla 10.6. Sistemas de reparación en *Escherichia coli* (Griffiths A.J.F. *et.al.* 2000).

Forma general de acción	Ejemplo	Tipo de lesión reparada	Mecanismo
Desintoxicación	Superóxido dismutasa	Previene la formación de lesiones oxidativas	Convierte peróxidos en peróxidos de hidrógeno, los cuales son neutralizados por la catalasa
Remoción directa de las lesiones	Transferasas de grupos alquilo	O ⁶ alquilguanina	Transfiere el grupo alquilo de la O ⁶ alquilguanina a un residuo de cisteína de la transferasa
	<i>Fotoliasa</i>	6-4 fotoproducto	Rompe la unión 6 - 4 y restaura las bases normales
	<i>Fotoliasa</i>	Dímeros UV	Separa los dímeros en la presencia de luz
Excisión general	El sistema de exonucleasas es codificado por los genes <i>uvrABC</i>	Lesiones que causan distorsiones en la doble hélice tales como aductos y foto productos UV	Realiza cortes endonucleótidos a cualquier lado de la lesión; el hueco resultante es reparado por la DNA polimerasa I y la DNA ligasa une
Excisión específica	Endonucleasas AP	Sitiosapurínicos (AP)	Realiza cortes endonucleótidos; la exonucleasa crea un hueco el cual es reparado por la DNA polimerasa I y la DNA ligasa une los fragmentos
	Glucosilasas de DNA	Desamina las bases (uracilo, hipoxantina), ciertas bases metiladas, purinas abiertas bases dañadas	Remueve bases, creando sitios AP, los cuales son reparados por las AP endonucleasas

		oxidativamente y otras bases modificadas	
	Sistema OG	8- oxodG	Una glucosilasa remueve los 8-oxodG del DNA; otras glucosilasas remueven la A de los apareamientos erróneos 8 – oxodG-C , conduciendo a la recreación del par 8- oxodG-C, y entonces la primera glucosilasa remueve el 8-oxodG
Postreplicativa	Sistema de reparación de apareamientos erróneos (mismatch)	Los errores durante la replicación resultan en apareamientos erróneos de las bases	Este sistema reconoce la nueva hebra sintetizada por medio de la detección de los residuos de adenina no metilados en las secuencias 5'- GATC-3' entonces sí reconoce un apareamiento erróneo escinde la base de la cadena recién sintetizada
Sistema SOS		Lesiones que bloquean la replicación	Permite la replicación de la lesión que bloquea, a la doble hélice, lo que resulta en mutaciones frecuentes frente al sitio de la lesión

Diversos errores en los sistemas de reparación en los seres humanos están asociados con enfermedades genéticas y la producción de cáncer. La *xeroderma pigmentosa* (XP) es una enfermedad autosómica recesiva que se produce cuando fallan los mecanismos de reparación por excisión. La enfermedad se produce por la exposición a la luz solar que genera, como ya se mencionó, dimerizaciones de pirimidinas que los individuos con XP no pueden reparar, y que produce tumores malignos en la piel. Otras enfermedades humanas relacionadas con defectos en los sistemas de reparación se muestran en la tabla 10.7.

Tabla 10.7. Enfermedades humanas relacionadas con defectos en los sistemas de reparación (Kornberg, A. y T. Baker 1992).

Enfermedad Defecto genético	Sensibilidad	Susceptibilidad al cáncer	Grupos de complementación	Síntomas
Ataxia telangiectasia defecto en la detección de daño al DNA	Radiación y	Linfomas	5	Ataxia, dilatación de los vasos sanguíneos en piel y ojos, aberraciones cromosómicas, disfunción del sistema inmune

Síndrome de Bloom remoción directa de lesiones	Agentes alquilantes ligeros	Carcinomas, leucemias, linfomas	1	Fotosensibilidad facial, aberraciones cromosómicas
Síndrome de Cockayne reparación por escisión de nucleótidos	Luz UV		2	Enanismo, atrofia retinal fotosensibilidad, progeria, sordera, trisomía del par 10
Anemia de Falconi defectos en la reparación de ligamientos cruzados	Agentes que inducen enlaces cruzados en el DNA	Leucemias	3	Pancitopenia hipoplásica, anomalías congénitas
Xeroderma pigmentosum defecto en reparación por escisión	Luz UV, mutágenos químicos	Carcinomas de piel y melanomas	8	Fotosensibilidad en piel y ojos, queratosis (endurecimiento de la piel)
HNPCC Cáncer de colon sin pólipos y 15% de todos		Colon, ovarios	4	Desarrollo temprano de tumores

MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LAS MUTACIONES

En vista del gran número de compuestos químicos que se encuentran en el ambiente como contaminantes y de los que anualmente se introducen, los genetistas han desarrollado diversos bioensayos, para evaluar la actividad genotóxica, mutagénica y carcinogénica, de los agentes químicos ambientales. El ensayo mutagénico Ames (desarrollado por Bruce Ames en 1979) evalúa la inducción de retromutaciones (de Hist- a Hist+) en cepas bacterianas de *Salmonella typhimurium* que contienen tanto mutaciones de sustitución como de corrimiento de marco de lectura. La frecuencia de reversión es indicativa de la capacidad mutagénica del compuesto sujeto a prueba.

Las bacterias que se emplean en el ensayo se han hecho más susceptibles a la mutagénesis mediante la incorporación de alelos que inactivan los sistemas de reparación por excisión. Además el sistema se ha mejorado al incorporar extractos de hígado, conocidos como fracción S9, que permiten la identificación de aquellos compuestos químicos que requieren ser bioactivados por las enzimas del sistema de los citocromos

P450. La función normal de estas enzimas es la de proteger al organismo de la exposición a compuestos extraños al metabolismo (xenobióticos) y potencialmente genotóxicos, convirtiéndolos en compuestos no tóxicos y fácilmente excretables. Sin embargo, algunos compuestos xenobióticos (artificiales y naturales) son biotransformados por estas enzimas generándose compuestos mutagénicos y/o carcinogénicos.

El ensayo Ames es rápido, barato e informativo, los resultados que se obtienen indican si el compuesto químico es o no es mutagénico, además puede determinarse de forma cuantitativa su potencia. El ensayo de reversión Ames ha permitido evaluar miles de compuestos químicos y de mezclas industriales, particularmente cosméticos, colorantes de pelo, aditivos de alimentos y pesticidas, entre otros, antes de que éstos salgan al mercado y se distribuyan de forma masiva. Como resultado de estas pruebas los industriales han reformulado sus productos muchas veces incorporando a las formulaciones isómeros no mutagénicos. La prueba definitiva sobre la carcinogénesis de un compuesto químico se determina al analizar la pérdida de la heterocigosis y/o la inducción de tumores malignos en animales de laboratorio.

TRANSPOSONES

La historia sobre el descubrimiento de las genes saltarines es fascinante. Inicia cuando en 1938 Marcus Rhoades encuentra modificaciones en la segregación 12:3:1 característica de los granos de maíz (12/16 pigmentados: 3/16 manchados 1/16 blanco). Encuentra que el patrón se modifica produciéndose granos moteados en el fenotipo que debiera ser blanco. Rhoades postula que el patrón de variegación en el color no puede deberse a retromutación en las células somáticas en primer lugar porque la tasa es muy alta y en segundo lugar porque una mutación somática no se hereda a la siguiente generación. Barbara McClintock en los años 1950s descubre un elemento genético al que denominó de disociación (*Ds*) que no ocupa una posición fija en el genoma, es decir, que salta (se transpone) a una nueva posición en la mazorca produciendo aberraciones cromosómicas en el nuevo lugar. El factor genético *Ds* requiere de la presencia de un activador (*Ac*) para moverse. Además *Ac* se mueve dentro del genoma produciendo modificaciones en la expresión de los genes en el sitio de inserción (Fig. 10.6). Estos elementos genéticos se denominan *transposones*. El descubrimiento fue difícil de aceptar entre la comunidad científica que durante los años 1950 a 1970 tenía la interpretación clásica de que los genes se encuentran en los cromosomas en una posición fija. De modo que la idea de que algunos genes pueden cambiar de una posición a otra y como consecuencia del movimiento generar rearrreglos estructurales era muy avanzada para la época. Fue hasta los años 1970s cuando varios grupos de investigadores, de forma independiente, descubren en las bacterias las secuencias de inserción (*IS*) y otros elementos transponibles en diversos eucariontes, que se reconoce que el fenómeno es universal y se le da el crédito al descubrimiento pionero de la Dra. McClintock quien recibe el Premio Nobel en 1983.

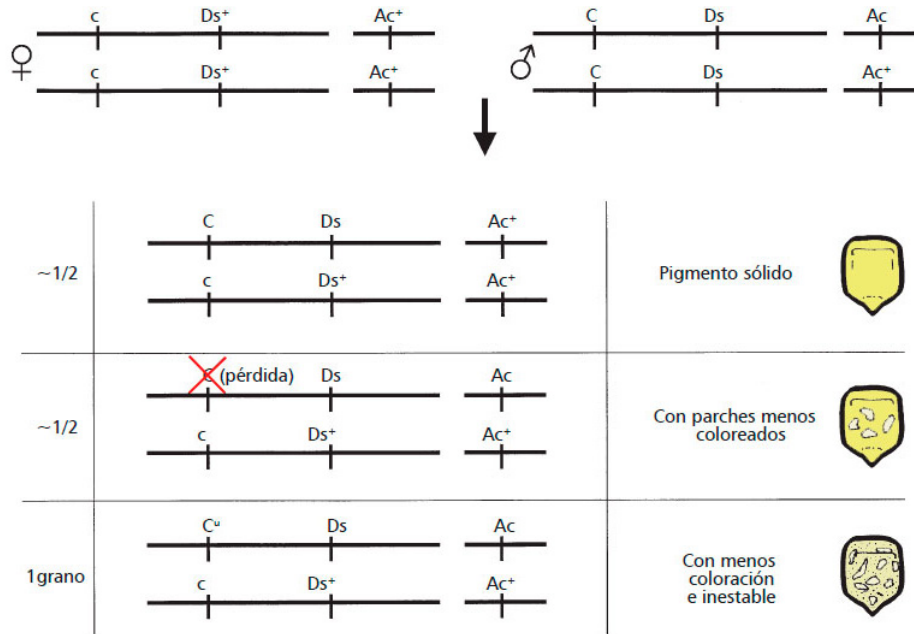


Fig. 10.6. Cruza y resultados del experimento de Barbara McClintock. Transposición de *Ds* en el gen *C* (púrpura) del maíz. *Cu* indica que *Ds* se ha transpuesto a *C*

Muchos años después del descubrimiento de los transposones como los responsables de la variegación del color en el maíz, se logra analizarlos por metodologías moleculares. El primer *Ac* secuenciado resultó tener 4563 pb, secuencia que contiene dos repeticiones terminales invertidas, denominadas IR de 11 pb, dos marcos de lectura abiertos (ORFs) y tres regiones no codificantes. Los ORFs contienen secuencias de iniciación y de terminación y codifican para productos génicos. El primer elemento *Ds* investigado es el *Ds-a*, el cual tiene una estructura casi idéntica a *Ac* excepto porque contiene una deleción de un segmento de 194 pb. Este *Ds* codifica para la enzima transposasa, pero al contener la deleción depende siempre de un elemento *Ac* para su transposición. Otros *Ds* investigados han mostrado tener deleciones más o menos grandes en esta región, sin embargo, todos contienen las IRs que son esenciales para la transposición. Por lo tanto el elemento *Ac* aporta una enzima transposasa funcional (Fig. 10.7).

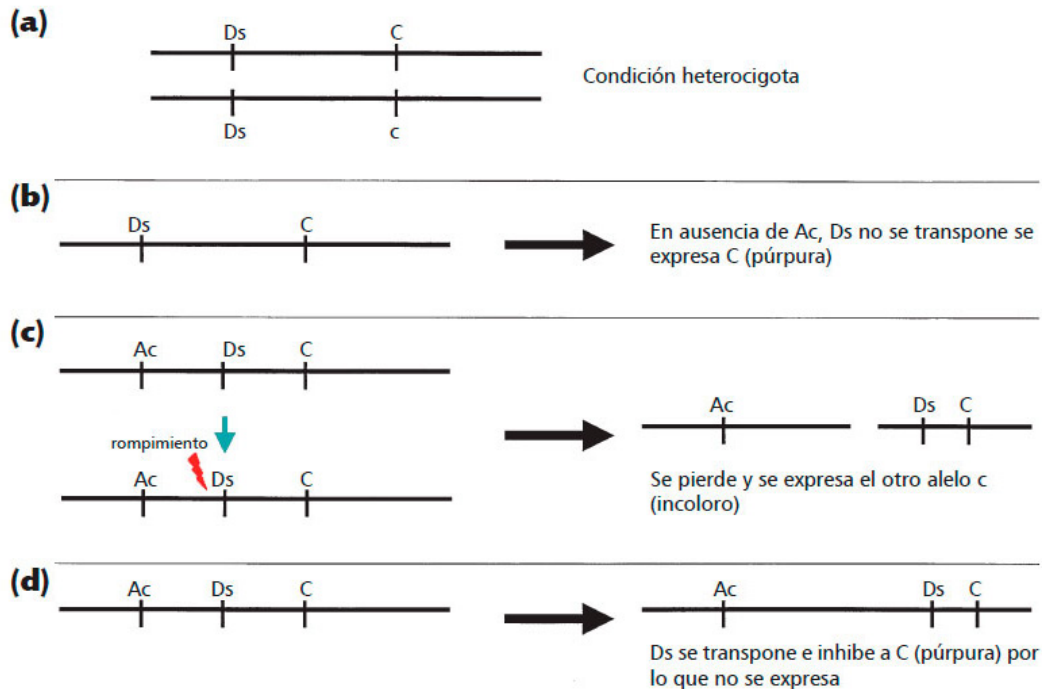


Fig. 10.7. Mecanismos de acción de Ds y Ac

Como ya se mencionó, a partir del descubrimiento de Barbara McClintock, se han descubierto muchos transposones en todos los organismos de la escala evolutiva. Muchos de ellos son muy similares a nivel del DNA por lo que pueden agruparse en familias. El genoma de la mayoría de los seres vivos contiene copias múltiples de una o varias familias de transposones muchos de los cuales han sufrido mutaciones por lo que ya no son funcionales.

SECUENCIAS DE INSERCIÓN Y TRANSPOSONES EN LOS PROCARIONTES

Las primeras secuencias de inserción (IS) analizadas a nivel molecular fueron descubiertas por James Shapiro, en los años 1970s, en *Escherichia coli* con relación a la represión de los genes implicados en el metabolismo de la galactosa. En un principio se pensó que estas secuencias de inserción eran un tipo especial de mutaciones que afectaban a las bacterias, sin embargo, pronto se descubrieron otras IS que se comportaban de manera semejante, es decir, que al insertarse o separarse de una región particular del genoma podían afectar las funciones de los genes: promoviendo o inhibiendo la expresión génica o generando mutaciones. Las IS de *E. coli* contienen todas menos de 2,000 pares de bases, se han numerado de acuerdo con el orden en que fueron descubiertas, así, la IS1 contiene 768 pb y se encuentran de 5 a 8 copias en el genoma. Cada IS contiene en los extremos repeticiones de nucleótidos invertidas, que varían de 16 a 41, y una región codificadora de la proteína transposasa (Tabla 10.8). Cada secuencia está involucrada en el movimiento de una región a otra, ya que reconocen ciertas secuencias homólogas presentes en el genóforo bacteriano que corresponden a los sitios de inserción.

Tabla 10.8. Secuencias de inserción en procariontes (Calos, M. P. y J. H. Millar 1980).

Secuencia de inserción	Frecuencia normal en <i>E. coli</i>	Longitud (pb)	Repetición invertida (pb)
IS1	5-8 copias en cromosomas	768	18/23
IS2	5 en el cromosoma; 1 en F	1327	32/41
IS3	5 en el cromosoma; 2 en F	1400	32/28
IS4	1 ó 2 copias en el cromosoma	1400	16/18

Los transposones (Tn) fueron descubiertos en la bacteria patogénica *Shigella* que produce disentería en los seres humanos. Al aislar las bacterias, de diversos pacientes con diarrea en un hospital de Japón en 1950, se mostró que portaban resistencia múltiple a diversos antibióticos como penicilina, tetraciclina, estreptomina y cloranfenicol. Además este patrón de resistencia múltiple podía transmitirse a otras cepas de *Shigella* e incluso a otras bacterias. Unos años después se demostró que el vector que porta la resistencia a antibióticos es un plásmido, que se denominó R (de resistencia), que se transmite durante la conjugación. El plásmido que confiere resistencia a antibióticos es un transposón que contiene dos secuencias invertidas en los extremos (IR), que corresponden a dos IS, y en el centro el gen que confiere resistencia a un antibiótico en particular, el resto del plásmido está conformado por genes que codifican para las funciones de resistencia y transposición. En la actualidad se han podido caracterizar varios Tn en bacterias, todos tienen longitudes mayores a los 2,000 pb (oscilan entre 2,500 y 20,500 pb). Los transposones I contienen RNA, se mueven en el genoma una vez que el transcrito de RNA se convierte en DNA proceso mediado por la retrotranscriptasa. Los transposones II contienen DNA y se mueven en el genoma directamente una vez que ha sido transcrita y traducida la transposasa. Los Tn pueden moverse de un plásmido a otro generándose de esta forma resistencia múltiple a antibióticos y otras drogas. Actualmente los IS y los Tn bacterianos se consideran ambos elementos transponibles, se encuentran al menos dos copias en el genoma, y pueden localizarse tanto en los plásmidos como en el genóforo bacteriano.

El fago *mu* es un virus formado por un DNA de doble hélice que contiene 36,000 pb. Tiene las características de un IS ya que es capaz de insertarse en plásmidos o en el genoma bacteriano, en cualquier orientación (promoviendo o inhibiendo la expresión génica) y puede provocar mutaciones en el proceso. De ahí su nombre.

TRANSPOSONES EN LOS EUKARIONTES

Entre los eucariontes los elementos transponibles se encuentran en números muy grandes en el genoma, conformando el DNA moderadamente repetido. Por ejemplo en los mamíferos entre el 25 y el 40% de las secuencias corresponden a elementos transponibles que se han ido acumulando en el genoma en el curso de la evolución.

En *Drosophila*. El 10% del genoma de la mosca de la fruta corresponde a Tn's organizados en 30 familias y cada una está representada de 1 a 50 veces. Los elementos

copia, descubiertos por David Hogness en 1975, así llamados porque son genes que transcriben copiosas cantidades de RNA, se encuentran hasta 30 veces en el genoma de las células. Se caracterizan porque pueden insertarse en hasta 100 posiciones diferentes en el genoma. Todos los Tn *copia* son muy semejantes, contienen alrededor de 7,500 pb, tienen en los extremos repeticiones terminales directas (que corresponden a retrotransposones) de 276 pb y repeticiones terminales invertidas de 17 pb. La inserción de algunos *copia* en el genoma genera mutaciones, así la mutación que produce color de ojos durazno (w^a) resulta de la inserción de un *copia* en el locus *white*. Cuando se transpone *copia* se restituye el color silvestre. Otros Tn en *Drosophila* son la familia de elementos P que generan disgenesia en los híbridos, deficiencia que produce esterilidad, no-disyunción y mutaciones. Los elementos P fueron descubiertos cuando se colectaron moscas en el campo, éstas se denominan citotipo P. Cuando hembras P se cruzan por machos de laboratorio (citotipo M) la progenie es normal, pero cuando se realiza una cruce recíproca, entonces, los descendientes muestran ser disgenésicos. El elemento P contiene 3 kb, codifica para dos proteínas: una transposasa necesaria para la transposición que está presente en M, y un represor que se encuentra en P, de modo que, los resultados pueden explicarse con base en que la cepa P produce mucho represor, por lo que no genera ningún efecto, mientras que la cepa M produce mucha transposasa lo que facilita la transposición y la disgenesia. En el genoma se encuentran entre 30 y 50 copias de P. Se ha demostrado que P puede insertarse en la región codificante de un gen interrumpiendo la transcripción, localizarse en la región promotora del gen afectando su expresión o bien en los intrones.

Los elementos P han sido empleados como herramientas para crear mutaciones por inserción, para marcar la posición de genes y para la clonación de genes de interés. Este último aspecto fue explorado por Gerald Rubin y Allan Spardling (1985) quienes demostraron que el DNA del elemento P puede emplearse como vector para transferir genes mediante microinyección de un donador a la línea germinal de una mosca receptora. Asimismo esta metodología se ha empleado con bastante éxito para construir drosófilas transgénicas.

En *Pisum sativum*. El fenotipo rugoso de los chícharos, estudiado por Mendel, hoy se sabe que está asociado a la carencia de una enzima denominada ramificadora del almidón, que inhibe la síntesis de almidón, lo que conduce a la acumulación de sacarosa en la semilla, a un aumento en el contenido de agua y a una mayor presión osmótica que se traduce en una pérdida mayor de agua, que se expresa mediante el fenotipo arrugado. Al secuenciar el gen se encontró que éste contiene una inserción de 8,000 pb con repeticiones terminales invertidas de 12 pb. La presencia de este transposón genera un transcrito no funcional.

En el *genoma de los seres humanos*. El genoma humano contiene un 30% de secuencias repetidas entre ellas existen, como ya se mencionó en el capítulo 8, elementos dispersos cortos (SINE) que son característicos del DNA moderadamente repetido de los mamíferos. En el genoma humano existen unas 300,000 copias de una secuencia de DNA denominada *Alu* que contiene 282 nucleótidos, se encuentra en todo el genoma; cada copia de *Alu* se localiza cada 5,000 a 10,000 bases y constituye el 5% del genoma. No se sabe que contribuya a alguna función celular. Estas secuencias contienen tanto repeticiones directas como invertidas lo que les permite transponerse. La movilidad potencial y los efectos mutagénicos que inducen tienen implicaciones muy importantes en la salud humana. Un ejemplo reciente es el caso de un transposón sorprendido con las manos en la masa. Como se recordará la hemofilia se produce por fallas en la coagulación del factor

sanguíneo VIII, gen que está ligado al sexo. En un niño con hemofilia cuyos padres eran normales, investigado por Haig Kazazian, se encontró que un elemento *A₁u* con una secuencia dispersa larga (LINE) se había insertado en el gen. Al investigar a ambos padres se encontró que ninguno de los dos tenía a LINE en su cromosoma X, pero LINE sí estaba presente en el cromosoma 22 de ambos progenitores, por lo que se propuso que pudo moverse al cromosoma X durante la gametogénesis, e insertarse en el gen normal generándose un hijo hemofílico.

11. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN PROCARIONTES

Los seres vivos viven en un medio que no es constante, para enfrentar los retos del medio cambiante los organismos han desarrollado diferentes mecanismos de respuesta. Un sistema biológico será más eficiente cuando exprese los genes que requiere en el momento preciso. Los microorganismos exhiben capacidades sorprendentes para adaptarse al medio en el que viven, ¿cómo lo hacen? Prendiendo y apagando genes en respuesta a los cambios del medio. La expresión génica puede ser *constitutiva* o *regulada*. La *constitutiva* es la que se refiere a los genes domésticos, que son todos aquellos que codifican para productos necesarios para el mantenimiento de la vida celular, tales como, polimerasas, tRNAs y rRNA. La expresión génica puede estar *regulada* ya sea por la presencia de un sustrato que induce el encendido del sistema, o bien, por la presencia de un producto que reprime la expresión génica.

La expresión génica puede estar regulada en diferentes niveles: transcripcional, procesamiento del RNA, estabilidad de los mensajeros, traduccional y postraduccional. Entre los procariontes el nivel de regulación más importante es el transcripcional y se lleva a cabo mediante dos mecanismos principales: (1) encendido y apagado del sistema ya sea por el sustrato o bien por el producto final, (2) circuitos preprogramados en los que el producto de un grupo de genes apaga o enciende un segundo circuito lo que se conoce como expresión en cascada. En las bacterias las enzimas que participan en una ruta metabólica o se producen todas o no se produce ninguna. Esta regulación coordinada resulta del control en la síntesis de los mensajeros que son policistrónicos, ya que, codifican para los productos génicos que funcionan en la misma ruta metabólica.

Los mecanismos moleculares de la regulación génica son de dos tipos: *negativo* y *positivo*. En el sistema de regulación negativo, la proteína reguladora es un represor que se une al DNA inhibiendo la transcripción. La transcripción de los genes se lleva a cabo una vez que la proteína represora activa, que está unida al DNA por arriba

del sitio de inicio de la transcripción, se separa del DNA. El sistema de regulación negativo puede ser inducible o represible. En el inducible el represor se une al inductor, este tipo de regulación es característico de las rutas metabólicas de degradación de sustratos (*catabolismo*). En el sistema represible la proteína represora o aporepresora se une a una corepresora de modo que la transcripción se para. La regulación represible es característica de las rutas metabólicas biosintéticas (*anabolismo*). En el sistema de regulación positiva, la proteína reguladora estimula la transcripción por lo que se requiere de la presencia de esta proteína activadora de la transcripción la cual se une al sitio de activación en el DNA e inicia la transcripción.

OPERÓN DE LA LACTOSA

La regulación de la expresión génica fue analizada por François Jacob y Jaques Monod (1961) en *Escherichia coli*, bacteria que a partir de sales, fuentes de nitrógeno y de glucosa, como fuente primordial de carbohidratos que se encuentran en su medio natural, es capaz de construir sus nutrientes incluyendo ácidos nucleicos, proteínas y lípidos. La energía necesaria para llevar a cabo estas reacciones bioquímicas provienen del metabolismo de la glucosa, proceso esencial en los seres vivos que se expresa de forma constitutiva. *Escherichia coli* crece normalmente en medios ricos en glucosa, al agregar lactosa al medio se induce la expresión de los genes que la desdoblan en galactosa y glucosa. Los genes que especifican para las enzimas encargadas en desdoblar a la lactosa y los genes que regulan su expresión forman un conjunto de genes denominado *operón* cuya expresión se regula conjuntamente. El sitio regulador está unido al grupo de genes estructurales a los que controla en la misma hebra del DNA corriente arriba en dirección 5' por lo que se conocen como *elementos de regulación en cis*. Las moléculas que controlan la transcripción de los genes estructurales no están unidas a los genes que regulan, por lo que se conocen como *elementos de regulación en trans*.

Los *genes estructurales* del *operón lac* son tres: (i) gen Z que codifica para la b-galactosidasa enzima que convierte a la lactosa en

alolactosa y la rompe en sus componentes glucosa y galactosa; (ii) gen Y que codifica para la galactosa permeasa enzima encargada del transporte activo de la lactosa hacia el interior de la célula; y (iii) gen A que codifica para la galactosa transacetilasa enzima que cataliza la transferencia del grupo acetil de la acetil Coenzima A al 6-OH de un aceptor tiogalatócido. Los *genes reguladores* son el sitio promotor 5' (P) lugar en el que se pega la DNA polimerasa, el sitio represor (R) o gen I que codifica para una proteína represora alostérica, con dos sitios de reconocimiento uno al operador y otro a la lactosa, y el sitio operador (O) al que se pega la proteína represora; el operón está formado por 6155 pares de bases (Fig. 11.1).

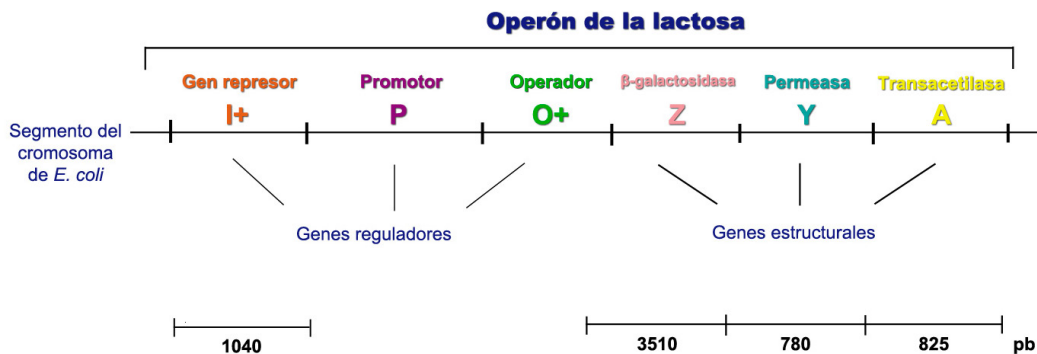


Fig. 11.1. Operón Lac

En ausencia de lactosa la proteína represora se pega al operador y se apaga la transcripción de los genes estructurales; en presencia de lactosa la proteína represora se pega al inductor, la alolactosa, de modo que la polimerasa puede pegarse al promotor y transcribir los genes estructurales (Fig. 11.2). Debido a que la transcripción se produce solamente cuando el represor no se une al operador se dice que está bajo control negativo.

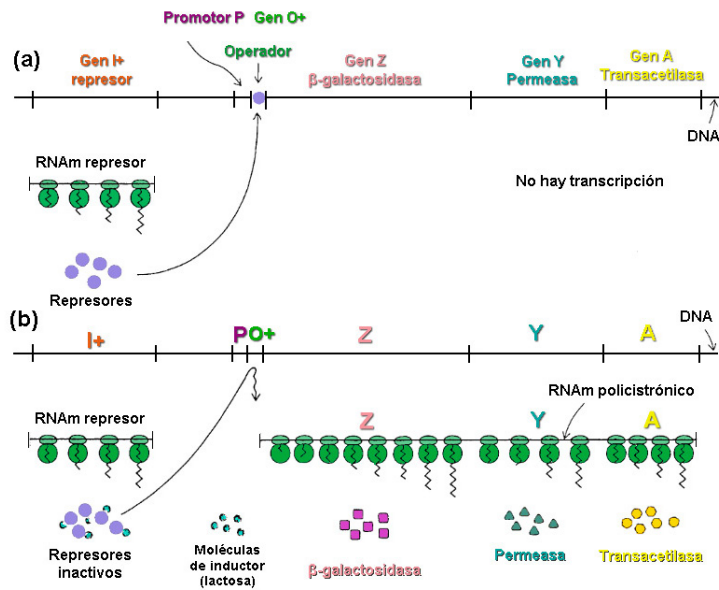


Fig. 11.2. Cómo funciona el operón lac (a) sin lactosa (b) con lactosa en el medio

Para conocer si los genes reguladores actúan por sí mismos o a través de proteínas reguladoras, Jacob y Monod construyeron cepas parcialmente diploides denominadas merodiploides, de modo que si los genes reguladores interactúan directamente en el DNA su influencia será solamente en cis; si, por el contrario es a través de proteínas tendrán el mismo efecto en cis y en trans.

Las mutaciones sin sentido o de terminación producen efectos polares lo que puso en evidencia que los genes se transcriben en una sola molécula, es decir, la transcripción es coordinada y policistrónica (Fig. 11.3).

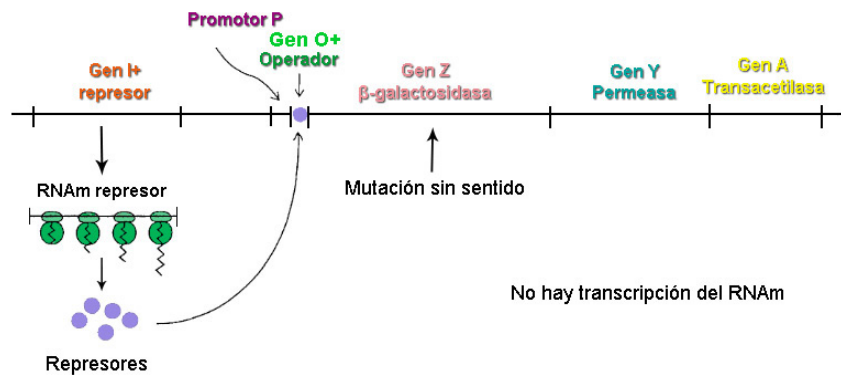


Fig. 11.3. Mutaciones sin sentido (de término) en el operón lac.

Las mutaciones en el operador afectan a los genes adyacentes en el mismo genóforo, efecto conocido como cisdominante, el sistema queda abierto haya o no lactosa en el medio, por lo que los genes se expresan de forma constitutiva, mutaciones denominadas O^c . El gen O no produce ningún producto difusible (Fig.11.4).

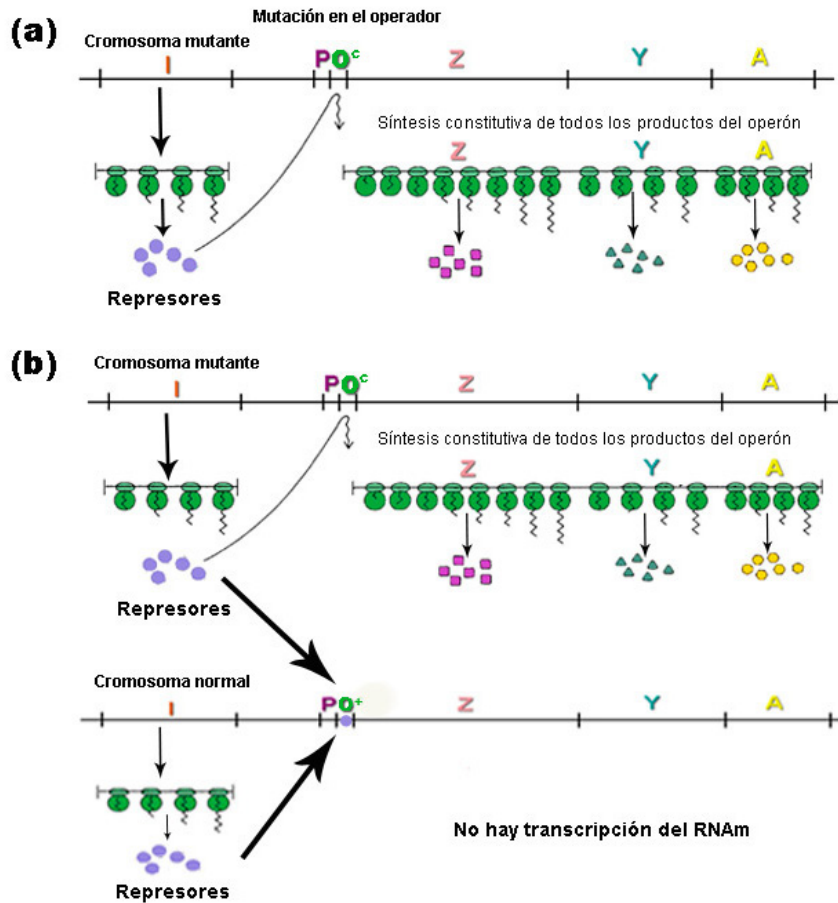


Fig. 11.4. Mutaciones O^c en el operón las (a) en una célula haploide el sistema está siempre abierto (b) en un merocigoto O^c es dominante sobre O^+ por lo que en ausencia de lactosa los genes se transcriben en O^c pero no en O^+

Las mutaciones en el gen I son transdominantes ya que el gen I^+ suplementa los efectos de I^- al generar un producto difusible que es una molécula represora (Fig.11.5).

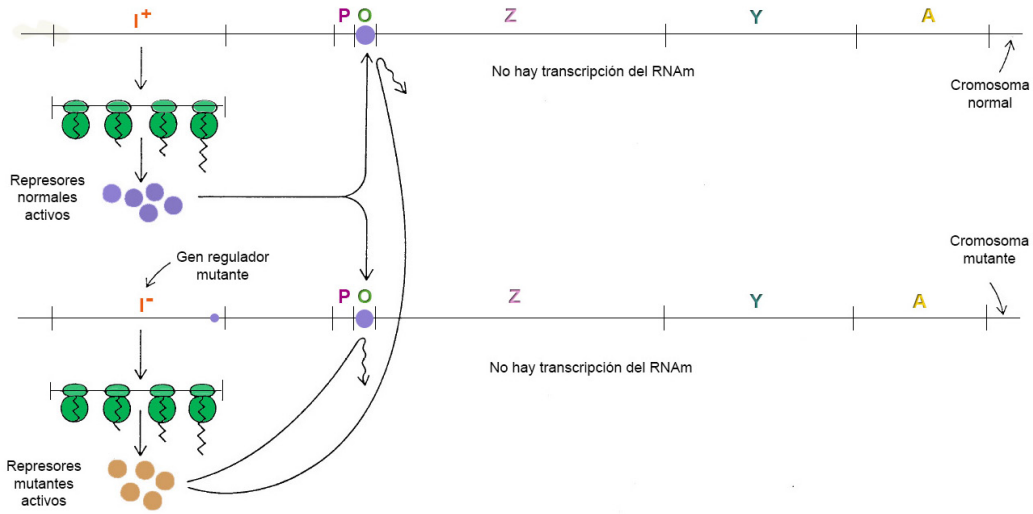


Fig. 11. 5. Mutaciones I en el operón lac. En el merocigoto I^+/I^- el gen I^+ suministra suficiente represor activo que se une a los dos operadores

Las mutaciones en el sitio P inhiben la transcripción ya que P es el sitio de reconocimiento de la polimerasa y es cisdominante (Fig. 11.6).

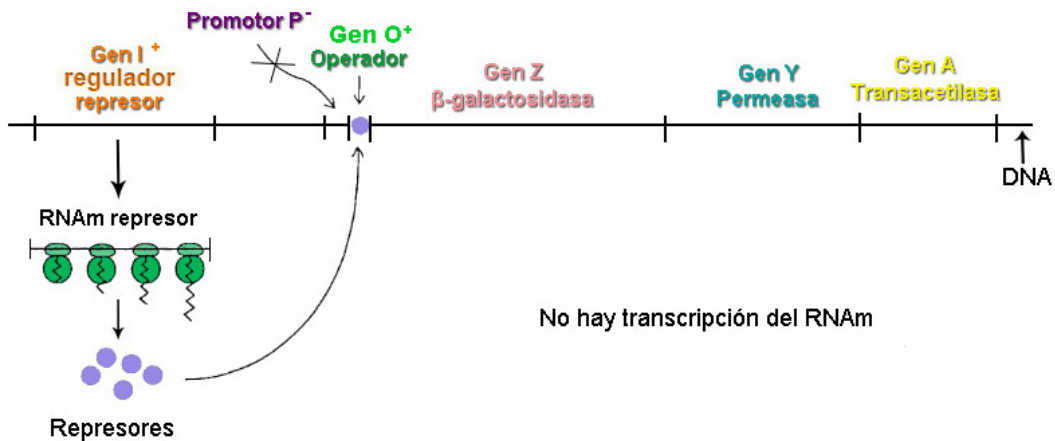


Fig. 11. 6. Mutaciones en el sitio P en el operón lac. La polimerasa no reconoce el sitio promotor por tanto no hay transcripción

CONTROL POSITIVO DEL OPERÓN LAC

Si la lactosa y la glucosa están presentes en el medio, *E. coli* emplea preferentemente como fuente de carbono a la glucosa caso en el cual el operón lac se reprime con un regulador positivo. El regulador P tiene dos sitios de reconocimiento, uno de unión a la polimerasa y otro de unión a la proteína activadora de catabolitos (CAP). La represión por catabolitos o efecto de la glucosa en el operón lac es mediada por la proteína reguladora de catabolitos, CAP, que se pega a una molécula efectora, el AMP cíclico (cAMP) conocido como segundo mensajero. En ausencia de glucosa aumenta la cantidad de cAMP, la proteína CAP se une al cAMP complejo que se pega al sitio P, la RNA polimerasa se une en el sitio P y los genes estructurales se transcriben (Fig.11.7). En presencia de glucosa, disminuyen los niveles de AMP cíclico, el complejo CAP-cAMP decrece por lo que CAP no se puede unir al promotor ni la RNA polimerasa se une eficientemente al promotor de modo que se produce la represión en la transcripción (Fig. 11.8).

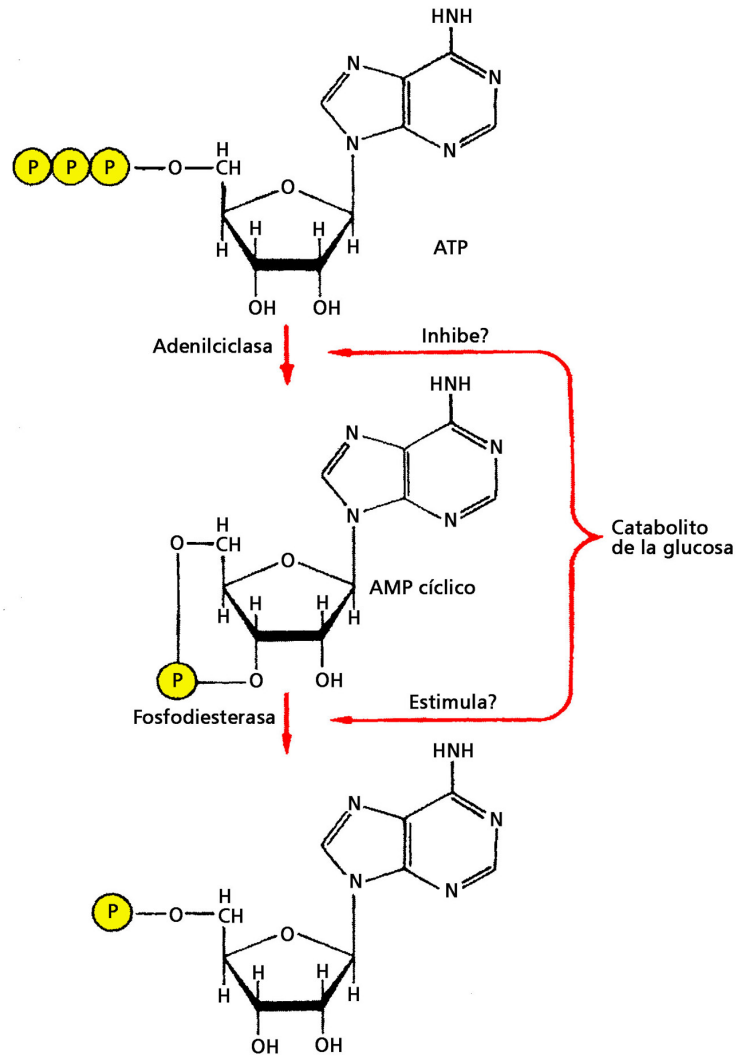


Fig. 11. 7. Proteína reguladora de catabolitos en el operón lac (en ausencia de glucosa)

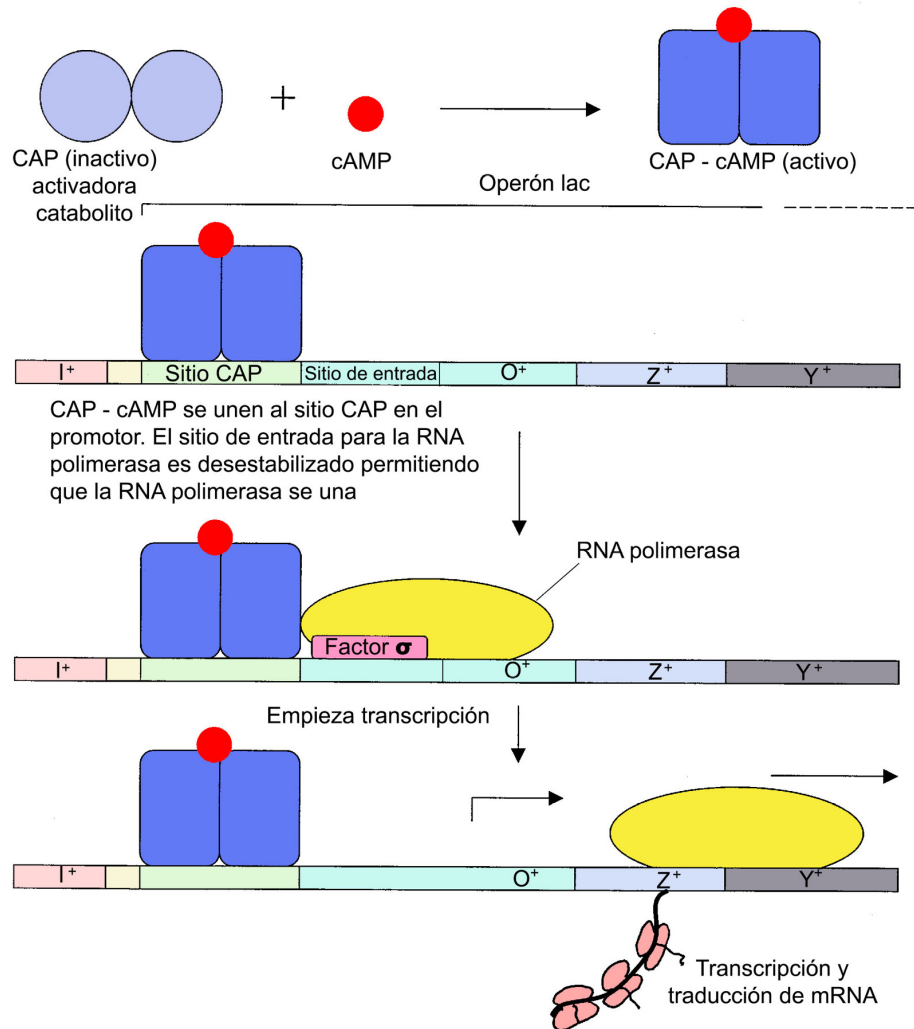


Fig. 11. 8. Represión por catabolitos

La concentración de cAMP intracelular es muy sensible a la presencia o ausencia de glucosa, altas concentraciones de glucosa decrecen la concentración de cAMP, probablemente por inhibición de la adenilciclase enzima que cataliza la formación de cAMP a partir de ATP. Bajas concentraciones de cAMP impiden la formación del complejo CAP-cAMP. CAP es un dímero que se une en regiones adyacentes a una secuencia específica en el DNA, el complejo CAP-cAMP dobla al DNA formando un arco sobre sí mismo de cerca de 90°.

OPERÓN TRIPTÓFANO

Está regulado en forma negativa, represible a través de la cantidad de producto final, si hay mucho triptófano el sistema se apaga. El aminoácido se sintetiza a partir de ácido corísmico. Consta de cinco genes estructurales (ABCDE) y de tres reguladores: promotor (P), operador (O) y secuencia líder (L) (Fig. 11.9).

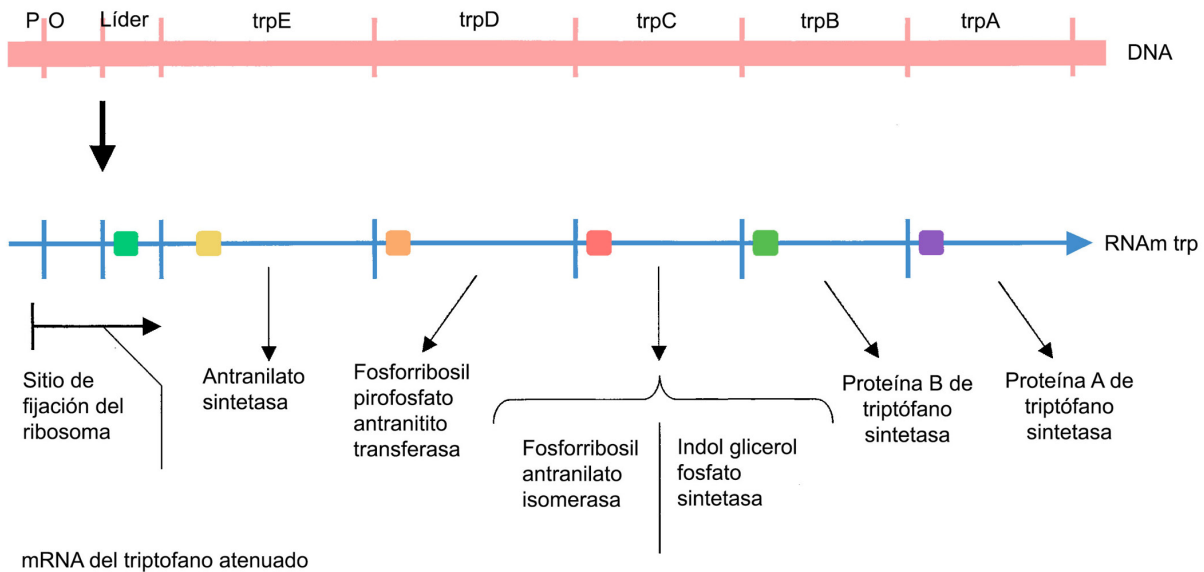


Fig. 11. 9. Operón triptófano

El gen regulador Trp R produce una proteína aporepresora (alostérica) que tiene dos sitios de unión uno al triptófano, y otro al operador. De modo que si hay triptófano en el medio, éste se pega a la proteína represora complejo que se une al operador inhibiéndose la transcripción (Fig. 11.10). Si no hay triptófano en el medio la proteína aporepresora se separa del operador, la RNA polimerasa se pega al promotor, se transcribe la secuencia líder y se transcriben los genes estructurales (Fig. 11.11).

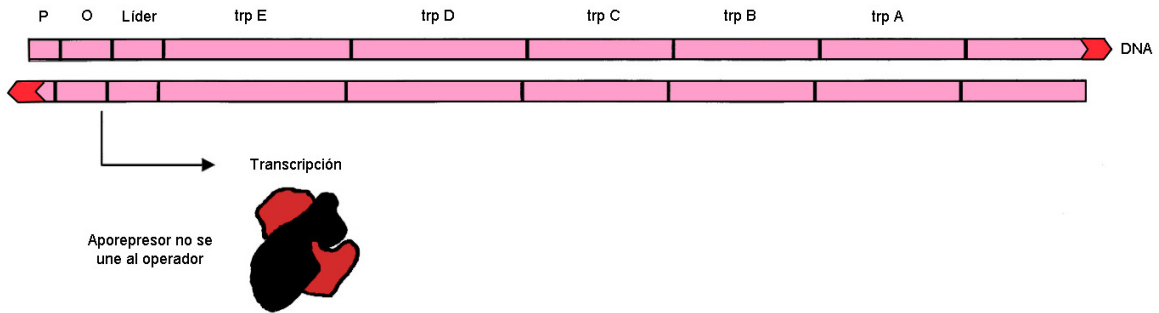


Fig. 11.10. Cómo funciona el operón triptófano en ausencia de triptófano

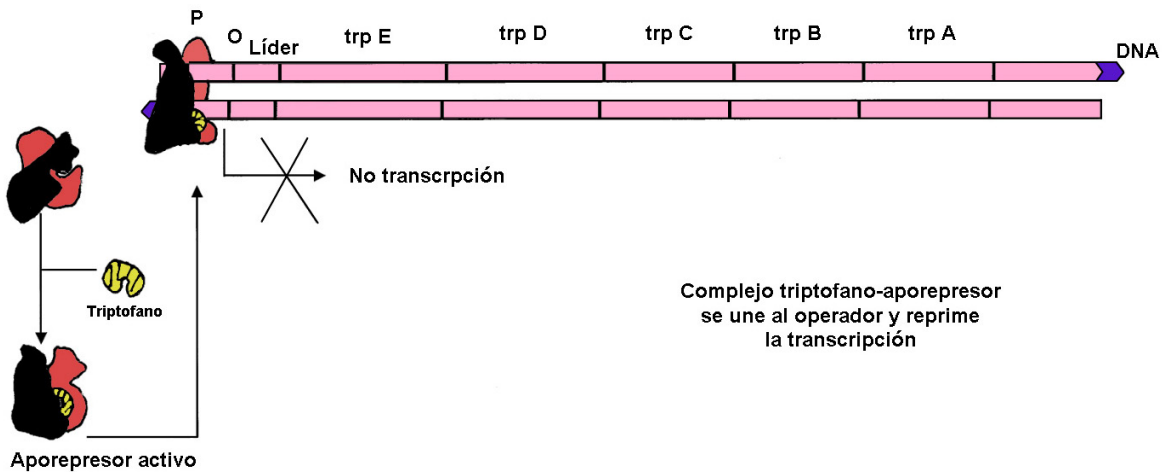


Fig. 11.11. Cómo funciona el operón triptófano en presencia de triptófano

La expresión está controlada a dos niveles (1) represión que controla el inicio de la transcripción y (2) atenuación que controla la terminación de la transcripción. La secuencia líder tiene dos regiones: líder y atenuadora. La secuencia líder reprime la transcripción de 8 a 10 veces, mientras que la represión y la atenuación la inhiben entre 560 y 700 veces. Si hay niveles bajos de triptófano, *E. coli* genera dos tipos de transcritos de mRNA: (a) la secuencia líder más los cinco genes estructurales, (b) la secuencia

líder hasta 140 pares de bases, lo que corresponde a la terminación de la transcripción, o modelo de atenuación UGG + AUG. La secuencia líder consta de cuatro regiones que pueden formar estructuras secundarias por complementación de bases mediante puentes de hidrógeno, el modelo molecular de la atenuación se muestra en la figura 11.12.

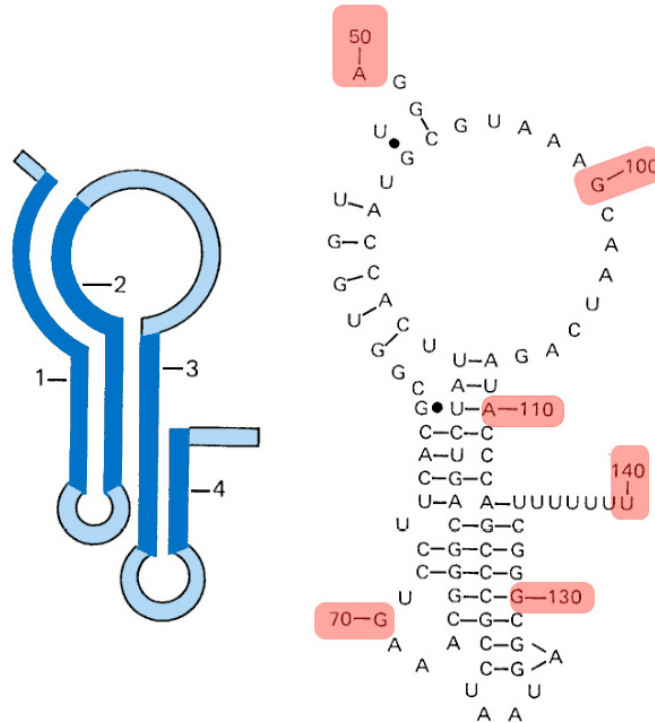


Fig. 11. 12. Modelo de atenuación

Estructuras secundarias: 1+2= pausa; 3+4= terminación estructura que se forma cuando hay altas concentraciones de triptófano en el medio; 2+3= anti-terminador o transcripción continua cuando existen bajas concentraciones de triptófano la región 4 no se puede pegar a la 3, la RNA polimerasa se pega a AUG y se inicia la transcripción (Fig. 11.13).

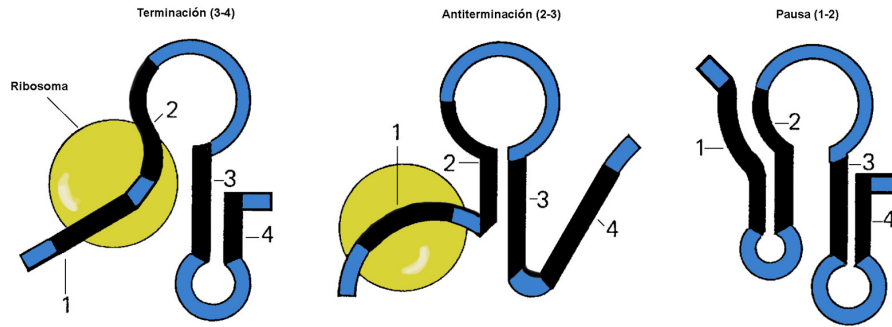


Fig. 11.13. Estructuras secundarias

La expresión del operón triptófano ocurre entonces en primera instancia a través del sistema represor-operador que responde a los niveles de triptófano libres, en segunda instancia ocurre la atenuación que responde a los niveles del complejo trp-tRNA y de triptófano. El atenuador está colocado por abajo del operador en la secuencia líder. El atenuador es parcialmente efectivo en la terminación ya que permite que solo una fracción de la RNA polimerasa transcriba el resto del operón. En presencia de suficiente trp-tRNA y de triptófano el ribosoma se mueve hacia el atenuador y permite que la secuencia líder forme las estructuras secundarias que bloquean la transcripción. En ausencia de triptófano los ribosomas se detienen en el atenuador, de modo que, el transcrito del líder forma la estructura secundaria que permite que continúe la actividad de transcripción.

REGULACIÓN GÉNICA EN BACTERIOFAGOS

El fago lambda (λ) es un fago temperado que cuando infecta a *Escherichia coli* puede establecer el ciclo lítico en el cual se presenta la replicación de su DNA y el ensamble del fago, o puede establecer el estado lisogénico en el cual se integra al genóforo bacteriano. En el primer estado los genes del fago están activos, mientras que en el segundo los genes están reprimidos.

El cromosoma del fago λ es lineal con extremos adhesivos, de manera que una vez dentro de la célula se circulariza, a través de los 12 pares de nucleótidos adheribles utilizando la DNA ligasa

bacteriana, el punto de unión de los dos extremos se encuentra conforme a las manecillas del reloj a las 12 en punto. Los genes están agrupados en el genoma, arreglo que es importante para la regulación de la expresión génica. Los genes para la replicación del genoma viral están agrupados hacia la derecha a la 1, mientras que los involucrados en la lisogenia están hacia la izquierda entre las 10 y las 12 (Fig. 11.14). Debido a que no se han elaborado moléculas represoras de la transcripción, a expensas de la RNA polimerasa bacteriana, se inicia en los promotores tempranos que están hacia la derecha y hacia la izquierda (PR y PI) del gen *cl*. Ambos promotores se encuentran en hebras diferentes del DNA, en sentido opuesto. La transcripción por lo tanto ocurre conforme a las manecillas del reloj en el promotor PR y en contra de ellas en el promotor PI. El paso crítico hacia el establecimiento del ciclo lítico o del ciclo lisogénico es la síntesis del represor de lambda codificado por el gen *cl*. Cuando el represor se une a los operadores OR y OI se reprimen los demás genes de *l*. Si el fago entra al ciclo lisogénico se requiere de la síntesis de la integrasa que se transcribe a partir de su propio promotor. Si el fago entra al ciclo lítico la proteína Cro reprime la expresión del gen *cl*, se transcribe el gen *N* cuyo producto es un antiterminador que promueve la transcripción de los genes virales.

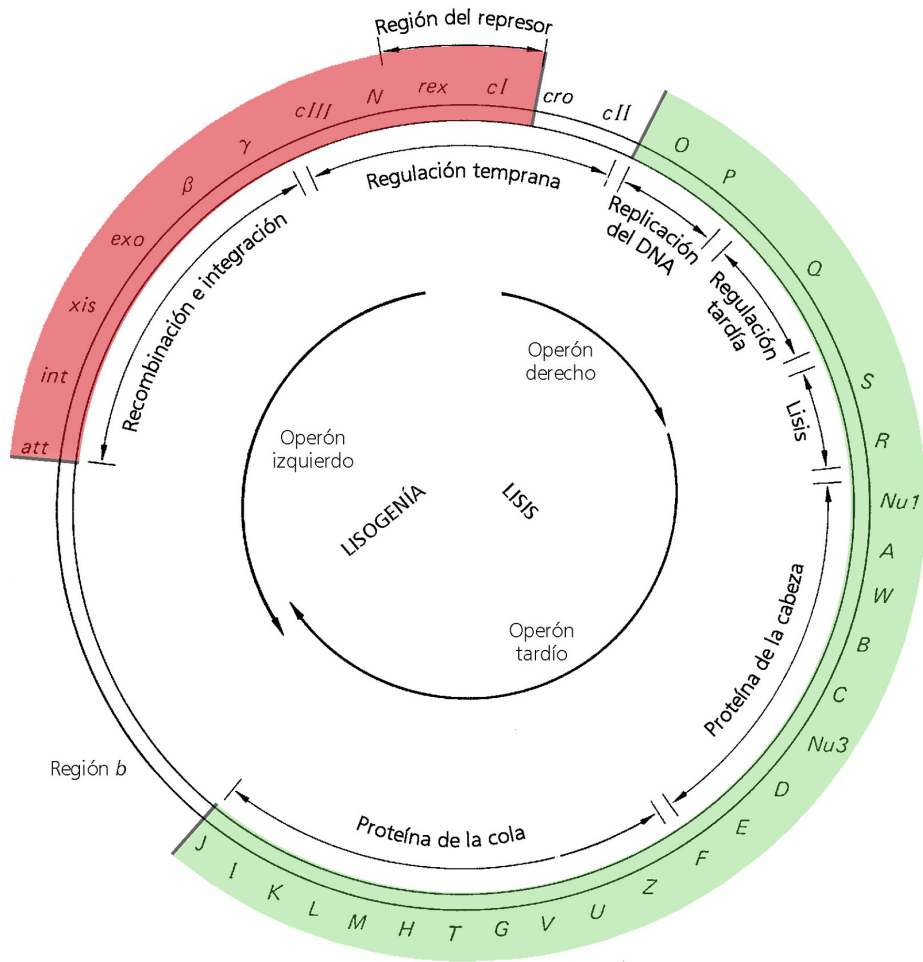


Fig. 11.14. Mapa del genóforo circular del fago lambda

De modo que el establecimiento de uno u otro ciclo dependen de qué región operadora una primero a cada una de estas moléculas, lo que a su vez depende de la concentración de los productos génicos del gen *cII* al interior de la célula bacteriana. Concentraciones altas de *cII* activan al gen *cl* lo que promueve la represión. Concentraciones bajas de *cII* se producen cuando hay mucha glucosa en la célula bacteriana, se expresa el gen *Cro* que reprime a *cl*, de modo que, el fago inicia el ciclo lítico.

En suma el fago λ emplea sistemas muy complejos de regulación para dirigir tanto su ciclo lisogénico como su ciclo lítico. El encendido de uno y otro depende de dos proteínas reguladoras con afinidades

opuestas a los sitios de unión para los operadores, hacia la derecha o hacia la izquierda, que son los que controlan el ciclo de vida del fago lambda.

12. TECNOLOGÍA DEL DNA RECOMBINANTE

El término clonación implica el proceso de creación de una copia idéntica de algo. En Biología el término se emplea para describir muchos procesos diferentes los cuales siempre involucran la duplicación de material biológico de forma asexual, ya sea de fragmentos de DNA (clonación molecular), de células (clonación celular) o de seres vivos completos (clonación de organismos). En sentido amplio, también se emplea para describir algunos procesos de reproducción asexual.

CLONACIÓN MOLECULAR

La clonación molecular es, como veremos en este capítulo, la que se refiere a los procedimientos de aislamiento de una secuencia de DNA de interés, su inserción en un plásmido y la obtención de múltiples copias en un organismo por acción de la DNA polimerasa. La clonación molecular inicia con la obtención del DNA, su fragmentación mediante la digestión con enzimas de restricción, su amplificación por PCR y la obtención de la secuencia de interés. El fragmento amplificado se inserta en un vector mediante una DNA ligasa. Posteriormente el vector con el fragmento de interés unido a su DNA se emplea para transfectar células mediante la electroporación. La electroporación o electropermeabilización consiste en provocar un aumento significativo de la conductividad eléctrica y la permeabilidad de la membrana plasmática celular mediante un campo eléctrico aplicado externamente. Los vectores de clonación contienen ya sea marcadores de color (azul/blanco) en un medio X-gal o marcadores de resistencia a antibióticos. Por último se identifican las colonias que han sido exitosamente transfectadas con el vector que contiene el gen deseado. En cualquier caso en las colonias resultantes se confirma la presencia del fragmento de interés mediante PCR, análisis de restricción y/o secuenciación del DNA.

CLONACIÓN CELULAR

La clonación de células implica la obtención de una población de células a partir de una sola, por lo que todas las células serán

iguales. Este proceso esencialmente asexual ocurre de forma natural en las bacterias y en los hongos unicelulares y requiere solamente de la inoculación de la célula en un medio nutritivo apropiado. En el laboratorio pueden obtenerse cultivos de tejidos celulares a partir de células de organismos multicelulares. Esta es la base de la *clonación terapéutica* que conduce a la producción de copias de células madre. Las células madre son células únicas y esenciales que se encuentran en los animales y que son capaces de dividirse continuamente y por tanto de renovar los tejidos durante la vida del organismo. Las células madre embrionarias son las más versátiles y potencialmente las ideales para la clonación ya que al ser poco diferenciadas no están comprometidas con ninguna función particular. Éstas pueden ser empleadas para generar virtualmente cualquier tipo de célula humana especializada. Se extraen del huevo que se ha dividido durante 5 días, estado conocido como blastocisto. Muchos investigadores esperan que en el futuro cercano estas células puedan ser empleadas para reemplazar células afectadas por enfermedades del corazón, de Alzheimer, y cancerosas, entre otras.

CLONACIÓN DE ORGANISMOS

La clonación de organismos completos se refiere a la creación de organismos genéticamente idénticos que se producen en ausencia de los procesos de reproducción sexual. En la naturaleza la mayoría de los seres vivos unicelulares se originan por reproducción asexual. Entre los organismos pluricelulares la ausencia de fertilización de gametos, como es el caso de algunos insectos haploides que se originan por partenogénesis, o la reproducción vegetativa (apomixis) en las plantas, como es el caso de algunos clones europeos de vid que han sido propagados a través de injertos durante milenios, son ejemplos de clonación natural.

La clonación artificial de organismos es una técnica basada en la transferencia de núcleos, en la que participan dos células la célula somática que dona su material genético y la célula germinal que lo recibe y acepta. Esta última suele ser un ovocito al que se le han extraído sus cromosomas que se encuentran en el citoplasma (ya que aún está en meiosis II). Mediante electrochoques se fusiona el ovocito con la célula que contiene el material genético del individuo

que se quiere clonar. Estos mismos electrochoques son los que estimulan a la célula formada para que se desarrolle, por lo que después se injerta esta célula en el útero de una hembra para darle un ambiente adecuado para su desarrollo.

Se supone que el citoplasma del ovocito receptor contiene todos los elementos (factores de transcripción y RNA) para desdiferenciar al núcleo donado y reorientar el control genético para el desarrollo de un nuevo organismo. En 1996 investigadores del Instituto Roslin del Reino Unido consiguieron clonar a una oveja utilizando células epiteliales de glándula mamaria de una oveja de 6 años de edad (Fig. 12.1). De 277 ovocitos aislados, solamente uno generó un clon completo: la oveja Dolly la que murió a los 7 años de edad, sin alcanzar la esperanza de vida media de las ovejas de la población de la que provenía. En Dolly aparecieron enfermedades y rasgos de envejecimiento prematuro, éste último se ha especulado que fue debido a que al utilizar el DNA de una célula adulta, los telómeros no se regeneraron totalmente por lo cual el clon nació con la edad biológica correspondiente al organismo que donó su DNA.

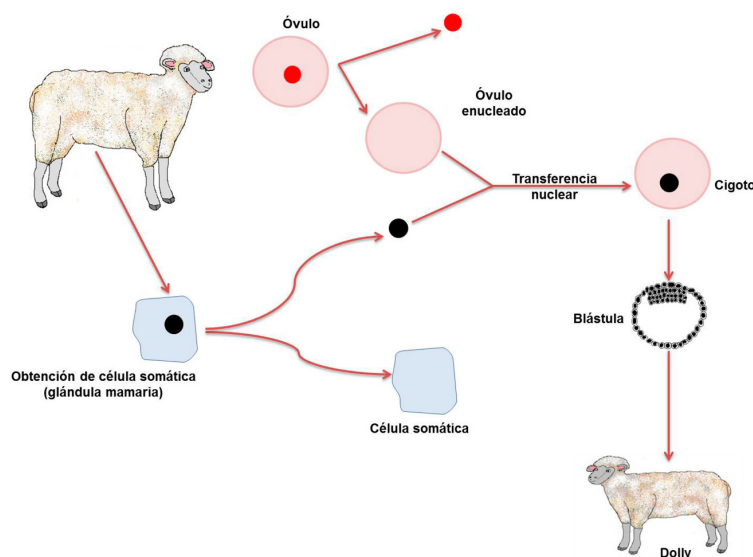


Fig. 12.1. Clonación de la oveja Dolly

En el laboratorio la transferencia de núcleos provenientes de células somáticas a óvulos enucleados conforma la base de la *clonación reproductiva* o generación de copias de animales completos. Estos clones no son idénticos ya que las células somáticas pueden haber acumulado mutaciones en su DNA, además de que las mitocondrias que se encuentran en el citoplasma de las células somáticas no se transfieren, de modo que éstas las proporciona solamente el citoplasma de los óvulos (Fig. 12.2).

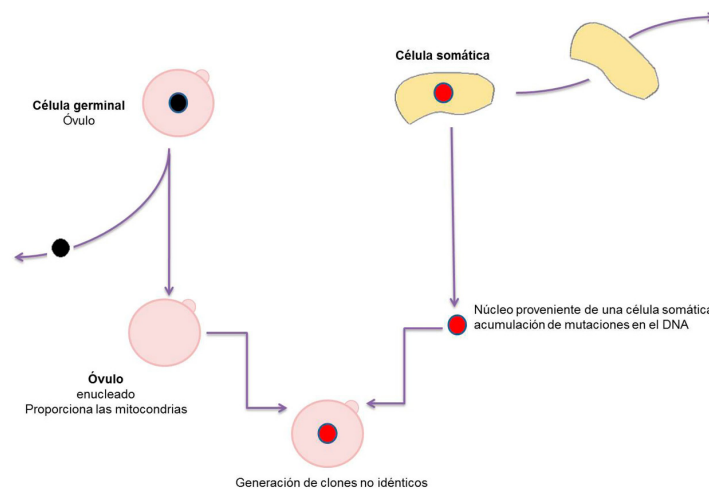


Fig. 12.2. Principios de la clonación reproductiva

La clonación en seres humanos ocurre de manera natural durante la reproducción cuando el cigoto, durante la primera división mitótica, genera dos células que se separan y desarrollan de forma independiente produciendo al término del desarrollo dos individuos idénticos (gemelos monocigóticos). La investigación sobre la clonación humana nunca ha tenido entre sus objetivos los de clonar personas o crear bebés de reserva, sino más bien el de obtener células madre para curar enfermedades. Actualmente está en discusión entre la comunidad científica la clonación terapéutica. Esta puede hacerse mediante el empleo de células madre de origen embrionario o de adulto. Las células madre embrionarias derivan de la masa de células internas del embrión temprano conocido como

blastocisto el cual consiste de entre 50 y 150 células. Este estado se alcanza a los 4 o 5 días después de la fertilización. Las células madre embrionarias son pluripotentes, es decir, son capaces de diferenciarse en cualquiera de las 220 estirpes celulares que conforman a un ser humano adulto (Fig.12.3). Debido a su plasticidad y a su aparente capacidad ilimitada para autoperpetuarse se ha propuesto el empleo de estas células en terapias de regeneración celular después de un daño provocado por algún accidente o enfermedad, sin embargo, hoy día no se ha aprobado el uso de células madre embrionarias para el reemplazo de células adultas.

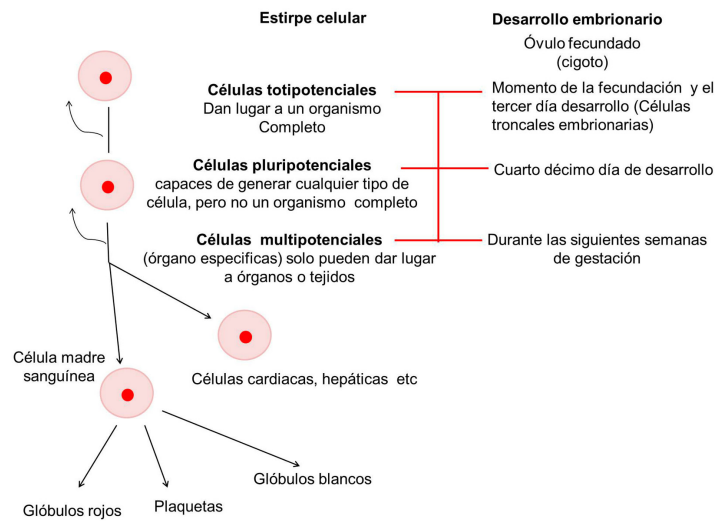


Fig. 12.3. Algunas estirpes celulares que se originan durante el desarrollo embrionario a partir de una célula pluripotente

En ratones, se ha demostrado recientemente, la manipulación genética de células epiteliales las regresa a células embrionarias. Esta reprogramación se logró experimentalmente al agregar solo cuatro genes a las células epiteliales. Los genes son: Oct3/4, Sox3, Klf4 y Myc, todos son factores de transcripción. Oct-4 (*octamer-4*) tiene dominio homeo, su proteína está involucrada en la autorenovación de células madre embrionarias no diferenciadas, por lo cual se emplea como marcador en células no diferenciadas). Los genes Sox se pegan al surco menor de DNA, contienen una

secuencia homóloga denominada caja HMG (*High movility group*), son genes involucrados en la determinación del sexo ya que se encuentran en el cromosoma Y de ahí proviene su nombre (SOX = *SRY related HMG box*). El gen Sox3 está involucrado en el desarrollo neural del cerebelo. Klf4 (*Kruppel like factor 4*) es un gen que regula la expresión de genes específicos de queratina en los epitelios. Myc (*mycoplasma*) regula la expresión de muchos genes, es un proto-oncogen que se encuentra sobreexpresado en un amplio rango de cánceres humanos. C-myc codifica para una proteína nuclear que está involucrada en el metabolismo de los ácidos nucleicos; interviene también como mediadora de la respuesta celular a factores de crecimiento, regula el ciclo celular, la diferenciación y la apoptosis. Las células embrionarias mostraron ser capaces de producir ratones quiméricos pero a su vez los ratones desarrollaron de forma temprana cáncer probablemente debido a la presencia del oncogen Myc.

Las células madre adultas son células indiferenciadas que se encuentran en el cuerpo humano tanto de niños como de adultos, se dividen para reemplazar a las células dañadas y para regenerar a los tejidos. Las células madre adultas poseen dos propiedades fundamentales (i) la de autorenovarse, es decir, de mantener el estado indiferenciado durante numerosos ciclos de división celular; (ii) la de generar algunas estirpes celulares proceso que se denomina plasticidad o transdiferenciación. Estas propiedades se cubren mediante dos mecanismos de división celular, que se han denominado simétricos y asimétricos. Los simétricos dan origen a dos células hijas que mantienen la capacidad de autorenovación durante varios ciclos. Mientras que, los asimétricos producen una célula madre y otra denominada progenitora con capacidad de autorenovación limitada. Estas células se dividen varias veces hasta que se diferencian en una estirpe celular particular (Fig. 12.3).

Por otro lado las células del cordón umbilical son pluripotentes y de hecho pueden emplearse para producir algunas estirpes celulares por procesos tales como la reprogramación genética. El empleo de células madre adultas, tanto para investigación como para terapias de remplazo, no es tan controversial como lo es el empleo de las

células madre embrionarias debido a que no es necesario destruir blastocistos. De hecho estas células se han empleado con bastante éxito para tratar algunos casos de leucemia así como en transplantes de médula ósea.

TECNOLOGÍA DEL DNA RECOMBINANTE

La tecnología del DNA recombinante *in vitro*, ingeniería genética o clonación génica es un término general que engloba todos aquellos protocolos experimentales que conducen a la transferencia de información genética (DNA) desde un organismo donador a otro receptor. La técnica consiste en unir dos fragmentos de DNA de origen diferente en uno solo, que se denomina molécula de *DNA recombinante*, *molécula híbrida* o *quimera*.

El desarrollo de la tecnología del DNA recombinante fue posible una vez que se aislaron y caracterizaron las endonucleasas de restricción o *enzimas de restricción*. Éstas fueron aisladas de bacterias en 1971 por Werner Arber, Hamilton Smith y Daniel Nathans, quienes recibieron el premio Nobel por su descubrimiento y aplicaciones en 1978. Las enzimas de restricción son nucleasas que producen las bacterias como un mecanismo de defensa en contra de los fagos.

De forma simplificada la tecnología del DNA recombinante consiste en aislar un gen de interés del DNA de un organismo que se denomina *donador*, se corta en uno o más fragmentos por medio de una o más enzimas de restricción. Los fragmentos se unen en una nueva combinación y se introducen en pequeñas moléculas de DNA denominadas *vectores*, como los plásmidos y los virus, que se replican de forma autónoma. La molécula recién construida que porta el inserto se denomina *DNA recombinante*, ya que porta tanto el gen de interés, proporcionado por el donador, como el DNA del vector. El DNA recombinante se emplea para transformar a una bacteria. Se deja crecer el cultivo bacteriano y la célula transformada que porte el vector de transformación se dividirá para formar una colonia que contiene millones de células, todas ellas con el vector recombinante. Esta población se conoce como un *clon de DNA*. Posteriormente se analiza, por diferentes metodologías moleculares, el fragmento de

DNA clonado. Luego puede reintroducirse el DNA clonado al donador. El organismo así construido se conoce como organismo *transgénico*. Éstos se han desarrollado ya sea para llevar a cabo investigaciones particulares o bien por razones económicas, tales como, mejorar las variedades de plantas y animales que se emplean como alimento o crear organismos que puedan producir agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades hereditarias de los seres humanos.

PASOS A SEGUIR PARA LA CONSTRUCCIÓN DE DNA RECOMBINANTE

(1)El primer paso que permite construir DNA recombinante consiste en aislar el DNA tanto del donador como del vector. El DNA genómico del donador debe extraerse del núcleo de las células. Los pasos a seguir para realizar una extracción sencilla de DNA son: se parte de una suspensión celular, las células se lisan para liberar el DNA, se añade alcohol y el DNA precipita en la interfase. Con la ayuda de una barra o agitador de vidrio se retira el DNA que se transfiere a otro tubo, esta solución acuosa se trata con RNAasas para eliminar el RNA, las proteínas se eliminan usando fenol (las proteínas pasan a la fase orgánica y el DNA a la fase acuosa). El DNA vector, puede ser un virus o un plásmido, en cualquier caso el vector debe tener capacidad para autoreplicarse en el interior de una bacteria y no puede ser dañino para la bacteria para que éstas puedan crecer y dividirse albergando al DNA de interés. Si se usan plásmidos, entonces éstos se extraen de las bacterias mediante ultracentrifugación en gradiente de densidad de cloruro de cesio.

(2)El siguiente paso consiste en cortar el DNA con enzimas de restricción que actúan como tijeras cortando al DNA en fragmentos en los sitios donde se repiten algunas secuencias de nucleótidos que corresponden al *sitio de restricción* de la enzima. La mayoría de los sitios de restricción consisten en unas secuencias simétricas de cuatro a seis nucleótidos conocidas como *palíndromes*, que son un conjunto de caracteres que se leen lo mismo de derecha a izquierda que de izquierda a derecha, tales como ROMA: AMOR. Una vez que la enzima reconoce el sitio de restricción lo corta, los extremos generados pueden ser pegajosos o cohesivos ya que en el extremo

5'-P queda ROMA y en 3'-OH AMOR; o bien romos. Actualmente se conocen alrededor de 200 enzimas de restricción todas aisladas de bacterias. Se denominan de acuerdo con el organismo en que fueron aisladas, seguido de un número romano (Tabla 12.1). Los sitios de restricción que se encuentran en el genoma de todos los seres vivos no son relevantes ya que no realizan ninguna función, además, el DNA no se corta *in vivo* ya que la mayoría de los organismos carecen de enzimas de restricción.

Tabla 12.1. Algunas enzimas de restricción, organismo del que se extrajeron y secuencia de reconocimiento y corte.

Enzima	Organismo fuente	Secuencia de reconocimiento y corte (*)
Alu I	<i>Arthobacter luteus</i>	5'-AG*CT-3' 3'-TC*GA-5'
BamI	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	5'-G*GATCC-3' 3'-CCTAG*G-5'
BglII	<i>Bacillus globiggi</i>	5'-A*GATCT-3' 3'-TCTAG*A-5'
EcoRI	<i>Escherichia coli</i>	5'-G*AATTC -3' 3'-CTTAA*G-5'
HaeIII	<i>Haemophilus aegyptus</i>	5'-GG*CC-3' 3'-CC*GG-5'
HindIII	<i>Haemophilus influenzae</i>	5'-A*AGCTT-3' 3'-TT CGA*A-5'

PstI	<i>Povidencia stuartii</i>	5'-CTGCA*G-3' 3'-G*ACGTC-5'
Sau3A	<i>Staphylococcus aureus</i>	5'-*GATC-3' 3'-CTAG*-5'
TaqI	<i>Thermus aquaticus</i>	5'-T*CGA-3' 3'-AGC*T-5'

Poco después del descubrimiento de las enzimas de restricción se pudo observar con el microscopio electrónico que los fragmentos de restricción son capaces de circularizarse de forma espontánea. Los círculos pueden relinearizarse mediante calor. Pero si experimentalmente se circulariza un fragmento, con el empleo de una DNA ligasa, entonces éste no puede volver a linearizarse debido a que los extremos se unieron de forma covalente.

La mayoría de las enzimas de restricción cuando cortan en el sitio de restricción lo hacen de forma asimétrica generando extremos pegajosos (Fig. 12.4a), sin embargo, otras lo cortan de manera simétrica lo que produce cortes romos (Fig. 12.4b). Ambos tipos de extremos pueden luego volver a unirse, proceso que es mediado por una DNA ligasa. Mientras que los extremos pegajosos pueden recrear el sitio de restricción original, los extremos romos pueden reunirse con otro extremo romo por lo que no se restituye el sitio de restricción original. Un hecho muy importante, que sin lugar a dudas permitió desarrollar la tecnología del DNA recombinante, es el que las enzimas de restricción reconocen el sitio de restricción sin importar cuál es el origen del DNA.

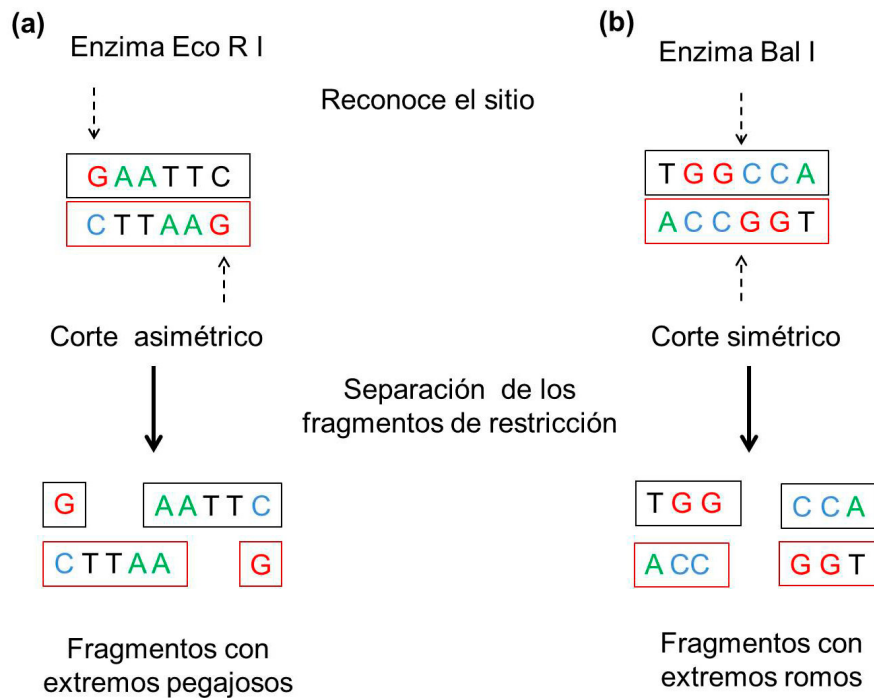


Fig. 12.4. Tipos de cortes que pueden realizar las enzimas de restricción (a) asimétrico (b) seimétrico

(3) El siguiente paso consiste en reunir el fragmento de restricción con un vector. Los más usados son virus como el fago λ , con deleciones que los hacen avirulentos, y plásmidos que portan resistencia a antibióticos. El DNA vector sirve para (i) la entrada del gen deseado a la célula huésped, (ii) provee el sistema de réplica para hacer copias del gen deseado, y (iii) lleva genes marcados para indicar la presencia del DNA recombinante en el huésped. El DNA viral se transmite por infección a las células bacterianas. Los plásmidos se transmiten de manera natural por transformación y conjugación. Uno de los plásmidos más utilizados como vector de clonación es el pBR322 que además fue uno de los primeros plásmidos diseñados para ser usados en la tecnología del DNA recombinante. Los vectores de clonación, en general, se denominan con la letra minúscula p (de plásmido) y alguna abreviatura que puede ser descriptiva o, en el caso del pBR322, anecdótica. La BR

son las iniciales de los investigadores que crearon el plásmido (Bolivar F. y R. Rodríguez) y el 322 es una designación numérica que tiene relevancia para estos investigadores. El plásmido pBR322 contiene 4361 pb, porta dos genes de resistencia a antibióticos: uno confiere resistencia a ampicilina (Ampr) y el otro a tetraciclina (Tetr). Este plásmido contiene un único sitio de corte para Bam HI, SphI y Sall dentro del gen que confiere resistencia a la tetraciclina; un único sitio de corte Pst I en el gen Ampr; y un único sitio de corte EcoRI que no está dentro de ningún DNA codificante. También tiene un origen de replicación que funciona sólo en *Escherichia coli*. Este plásmido se mantiene con un alto número de copias en *Escherichia coli* y no puede ser transferido a otra bacteria. (Fig. 12.5).

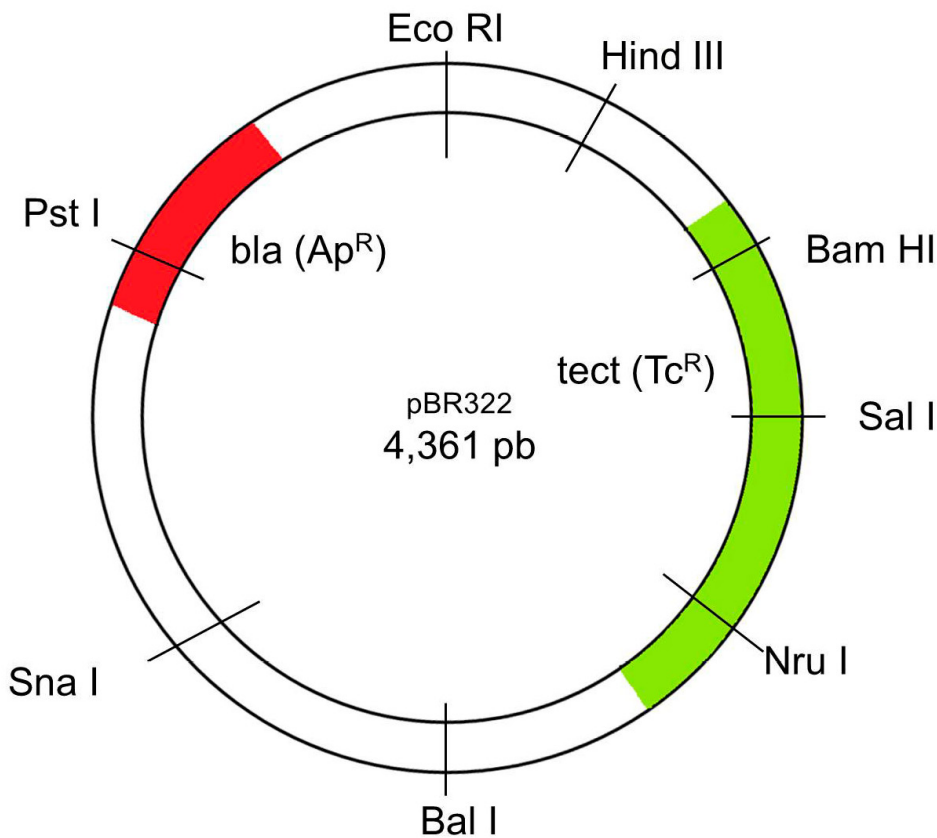


Fig. 12.5. Mapa de restricción del plásmido pBR32. Se muestran los sitios de restricción únicos así como los genes que confieren resistencia a antibióticos. bla(Ap^R) beta-lactamasa gen que confiere resistencia a ampicilina; tet (Tc^R) gen que confiere resistencia a tetraciclina

Por cualquiera de los dos métodos, viral o a través de un plásmido, el DNA recombinante puede ser insertado a la célula huésped. Una vez en ésta, el DNA recombinante se identifica al examinar las colonias que desarrollan el fenotipo del vector. Luego se prueban las colonias para encontrar la que lleva la secuencia deseada.

(4) Posteriormente se mezclan los fragmentos de restricción y el plásmido abierto con el objeto de que los extremos cohesivos generados por la endonucleasa de restricción se unan, los huecos que quedan en el esqueleto azúcar-fosfato se cierran mediante el tratamiento con una ligasa. Se obtiene así una molécula circular de *DNA recombinante* que contiene tanto al DNA del vector como el DNA que queremos clonar.

(5) Finalmente se colocan las moléculas híbridas (DNA recombinante) en presencia de un cultivo de *Escherichia coli*, que previamente se trata con CaCl_2 lo que facilita que penetre el DNA recombinante en la bacteria a través de la membrana celular. El cultivo transformado se deja crecer, en éste el fragmento de DNA unido al vector se habrá clonado, es decir, ya se tienen millones de bacterias con el plásmido híbrido en su interior.

La identificación de la bacteria que porta el plásmido recombinante es relativamente sencilla. Por ejemplo si se emplea el plásmido pBR322 que porta resistencia a ampicilina (Ap^r) y a tetraciclina (Tc^r) y además contiene los sitios únicos de restricción para Pst I, BamHI y Eco RI, pueden producirse tres condiciones diferentes: (a) Si se trata al plásmido con Pst I se destruye al gen que confiere resistencia a la ampicilina (queda intacto el gen que codifica para tetraciclina). (b) Si se le trata con BamHI se destruye Tc^r quedando intacto Ap^r (c) al tratarlo con Eco RI ambos genes quedan intactos (Fig. 12.6). Ahora bien, no siempre se formará un plásmido híbrido, ya que, el plásmido puede abrirse y cerrarse sin capturar ningún DNA extraño y, no siempre el plásmido híbrido penetra a la bacteria, es decir, puede haber bacterias sin plásmidos. La bacteria que porte el plásmido puede identificarse ya que BamHI rompe la resistencia a la tetraciclina, se puede probar por el método de placa replicada

tratada con antibióticos cuales son las colonias resistentes que nos interesan: (i) las bacterias susceptibles a ambos antibióticos no llevan ningún plásmido; (ii) las resistentes a ambos antibióticos portan un plásmido intacto sin DNA recombinante; (iii) las resistentes a ampicilina llevan el plásmido recombinante ya que BamHI tiene su palíndrome dentro del gen que confiere resistencia la tetraciclina y es dentro de este gen donde quedó el DNA clonado.

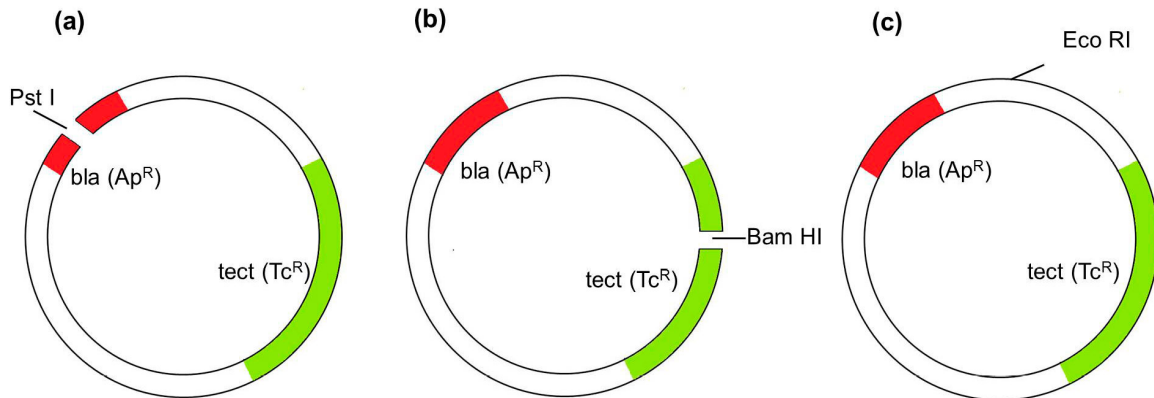


Fig. 12. 6. Condiciones que se producen cuando se trata al plásmido pBR322 con tres enzimas de restricción (a) Con Pst I se destruye el gen que confiere resistencia a ampicilina (b) con BamHI se destruye el gen que confiere resistencia a tetraciclina (c) con EcoR1 ambos genes quedan intactos

En general, dependiendo del tamaño del fragmento que se quiera clonar, se emplean tres tipos de vectores:

1. Plásmidos, cuando el tamaño del fragmento es muy pequeño, de alrededor de 5 kb.
2. Bacteriofago λ cuando el tamaño es cercano a las 20 kb.
3. Cósmidos para fragmentos de cerca de 40 kb. Las moléculas de DNA más largas pueden también clonarse con vectores especializados que se denominan cromosomas artificiales. Éstos se denominan por su origen bacterianos (BACs), derivados del fago P1 (PACs) y obtenidos de levaduras (YACs). Este último porta el centrómero de la levadura y los telómeros de *Tetrahymena*.

BIBLIOTECAS DE DNA

Los segmentos de DNA clonados suelen tener tamaños muy pequeños, por lo que para poder contar con todos los fragmentos de DNA genómico de un organismo se deben construir muchos clones. Al conjunto clonado de todas las secuencias de un organismo se le denomina *biblioteca* de DNA. Para darse una idea del número de clones que hay que construir para contar con la genoteca de un mamífero basta hacer el siguiente ejercicio: si el genoma de un mamífero tiene 5×10^9 pares de bases, y los fragmentos de restricción consisten de 20,000 a 50,000 pb entonces sería necesario establecer de 100,000 a 250,000 clones diferentes.

Existen diferentes tipos de bibliotecas de DNA dependiendo del vector que se haya empleado en su construcción y de la fuente del obtención del DNA: genómico o cDNA. El cDNA se puede sintetizar aislando el RNAm del citoplasma, el que es copiado a DNA en presencia de la transcriptasa inversa, enzima aislada de los retrovirus esta molécula de DNA de hebra sencilla sirve como molde para la síntesis de una complementaria. El cDNA tiene la ventaja de que como se sintetiza a partir de RNAm carece de las secuencias reguladoras y de los intrones, por lo que puede expresarse en bacterias.

Una vez que se ha creado una biblioteca genómica que suele contener cientos de fragmentos clonados, será necesario identificar aquellos clones (líneas celulares) que contengan en el DNA recombinante la secuencia de interés. Estos muestreos se realizan usando *sondas* específicas que encuentran y marcan el clon que contiene el gen de interés. Existen dos tipos generales de sondas las que reconocen el DNA y las que reconocen a las proteínas. Normalmente se utilizan tres métodos de identificación:

- a. Hibridación del DNA con una sonda de DNA radiactivo.
- b. Ensayo inmunológico.
- c. Ensayo de actividad.

a. Hibridación de DNA con una sonda de DNA radiactivo. La hibridación es la construcción artificial de ácidos nucleicos de doble hélice a partir de dos hebras sencillas y por complementariedad de

bases. Cuando una solución de DNA que ha sido calentada se enfría lentamente se produce la rehibridación dando lugar a la estructura inicial. Tal reasociación ocurre sólo si las secuencias de bases son complementarias. Por lo tanto, la hibridación permite la formación de complejos de doble hélice no naturales de DNA: DNA y DNA: RNA. Este es un método muy versátil que permite estudiar el grado de relación genética entre dos ácidos nucleicos.

Debido a que la digestión de DNA genómico con enzimas de restricción genera muchos fragmentos, es posible que una sonda permita la identificación de un fragmento en la mezcla gracias a la técnica desarrollada por E. M. Southern en 1975. En la electrotransferencia tipo Southern el DNA clonado se corta en fragmentos con una o más enzimas de restricción, los fragmentos se separan por electroforesis en gel. El DNA se desnaturaliza en fragmentos de hebra sencilla y éstos se transfieren a membranas de nitrato de celulosa. Primero se une al filtro el DNA de hebra sencilla mediante calor (80°C) o exponiéndolo a luz UV y es entonces cuando se añade la sonda marcada radiactivamente. Cuando la sonda no hibrida con el DNA problema es arrastrada en los lavados. La radiactividad que permanece unida al filtro se mide posteriormente, la sonda se unirá al fragmento(s) con el que tenga complementariedad y se detectará por autorradiografía. Dependiendo de las condiciones de la hibridación, una unión estable requiere una coincidencia superior al 80% en un segmento de 50 bases. Existen dos posibles fuentes de sondas: primero, se puede usar un DNA clonado de un organismo muy relacionado (sonda heteróloga) para lo cual hay que forzar las condiciones de hibridación para compensar las diferencias naturales entre las dos secuencias. Segundo, se puede obtener una sonda por síntesis química. La secuencia de nucleótidos de una sonda sintética se puede deducir de una secuencia conocida de aminoácidos de la proteína que está codificada por el gen que se busca (genética inversa).

La técnica de electrotransferencia tipo Southern (DNA en un gel), puede extenderse a la identificación de una sola molécula de RNA en una mezcla de RNAs previamente fraccionada lo que se conoce como northern (RNA en el gel). La electrotransferencia tipo western permite transferir proteínas fraccionadas a un gel y compararlas con

un anticuerpo marcado que funciona como sonda.

b. Ensayo inmunológico. Si no se disponen de sondas, se pueden utilizar métodos alternativos para examinar una biblioteca de DNA. Por ejemplo, si la secuencia de DNA clonado se transcribe y traduce, la presencia de la proteína, o incluso parte de ella, puede determinarse por ensayos inmunológicos. Para ello se crecen en una placa todos los clones del banco de genes. Una muestra de cada colonia se transfiere a una matriz y se lisan las células liberando las proteínas que se unen a la matriz. La matriz y las proteínas, se tratan con un anticuerpo (Ac primario) que se une específicamente a la proteína (Antígeno) codificada por el gen que se busca. Posteriormente se lava la matriz para eliminar los Ac que no se han unido a la proteína. En este momento, la matriz se trata con un segundo Ac que es específico para el Ac primario. Este segundo Ac está unido a una enzima como, por ejemplo, la fosfatasa alcalina. Después de lavar la matriz para eliminar el exceso del segundo Ac se añade un sustrato incoloro. Si el Ac secundario se ha unido al Ac primario, el sustrato incoloro se hidroliza por la enzima que está unida al Ac secundario produciendo un compuesto coloreado que se acumula en el sitio de reacción. Las colonias de la placa que son correspondientes con los resultados positivos (puntos coloreados) sobre la matriz, contienen bien un gen intacto o una porción de ese gen que es lo suficientemente grande como para producir una parte de la proteína que es reconocida por el primer Ac.

c. Ensayo de actividad. Si el gen que se busca produce un enzima que normalmente no es sintetizada por la célula huésped, se puede llevar a cabo un examen que permita identificar a los miembros de una biblioteca de genes que llevan el gen funcional que codifica para ese enzima. Por ejemplo, han sido aislados los genes de amilasas, endoglucanasas y β -glucosidasas de varios organismos al utilizar un banco de genes de *Escherichia coli* (que no produce esos enzimas) y crecerla en un medio suplementado con un sustrato específico para posteriormente, y utilizando un colorante selectivo, identificar aquellas colonias que son capaces de utilizar el sustrato. Este mismo principio se puede utilizar también en complementación de mutantes auxótrofos, producción de antibióticos, etc.

ANÁLISIS DEL FRAGMENTO CLONADO

Una vez clonado el gen de interés la siguiente etapa consiste en caracterizar la estructura y la función del gen. La determinación de la secuencia del gen corresponde a su estructura. Para llevar a cabo la secuenciación lo primero que se hace es generar distintos fragmentos de DNA que terminen en cada una de las cuatro bases y que queden marcadas radiactivamente. Los fragmentos se separan por electroforesis de modo que las moléculas con diferencia de un nucleótido sean separables en el gel. Esta electroforesis requiere por tanto cuatro carriles, uno para cada fragmento que termina en cada una de las cuatro bases del DNA (adenina, guanina, citosina y timina). La posición de los fragmentos se localiza por autorradiografía y, sabiendo qué base representa a cada carril, es fácil leer la secuencia nucleotídica en un fragmento de DNA. Se han desarrollado dos procedimientos que son el llamado de Maxam-Gilbert y el de Sanger o dideoxi. En el primero (Maxam-Gilbert) se marca radiactivamente el DNA en su extremo 5' con ^{32}P . Posteriormente, este DNA se corta con productos químicos que rompan el DNA en cada una de las cuatro bases (se utilizan 4 tubos separados) y después de una electroforesis donde se separan por su tamaño los distintos fragmentos obtenidos, se hace una autorradiografía para detectar estos fragmentos ya que están marcados radiactivamente y finalmente se leen las secuencias desde arriba hacia abajo en el gel. En el segundo método (Sanger), la secuencia se determina haciendo una copia de DNA de una sola hebra con la enzima DNA polimerasa. Esta enzima utiliza los desoxirribonucleósidos trifosfatos como sustratos y los va añadiendo a un iniciador. En las mezclas de incubación (cuatro tubos) se añaden pequeñas cantidades de los cuatro análogos dideoxirribonucleósidos trifosfatos. Como los análogos dideoxi carecen del hidroxilo 3', la cadena no puede crecer cada vez que la polimerasa los detecte, actuando como auténticos finalizadores específicos de la cadena. Se obtienen fragmentos de diferente longitud dependiendo de las condiciones de incubación, que serán radiactivos bien por utilización de un iniciador radioactivo, bien por serlo los análogos dideoxi. La posición de las bandas se detecta por autorradiografía. Una ventaja importante del método de Sanger es que también puede emplearse

para secuenciar el RNA. Para llevarlo a cabo, se hace una copia de una hebra de DNA (utilizando el RNA como molde) por medio de la transcriptasa inversa. Haciendo la copia de DNA de una hebra en presencia de los análogos dideoxi se generarán fragmentos de varios tamaños que se secuenciarán como se indicó anteriormente. Para determinar la secuencia de una molécula larga, como es el caso de un gen completo, es necesario proceder secuencialmente. Primero el DNA se rompe en fragmentos que se solapan y se determina la secuencia de cada fragmento. Utilizando como guía las secuencias que se solapan, se recompone la secuencia total.

Cuando empezaron los ambiciosos proyectos que implicaron la secuenciación de genomas completos se creó la necesidad de desarrollar sistemas de secuenciación automatizada de DNA, que se basan en el método de los dideoxi, pero que utilizan colorantes fluorescentes para marcar los iniciadores o las bases. Los productos se separan por electroforesis automatizada y las bandas se detectan por espectroscopía fluorescente. En el procedimiento, cada una de las cuatro reacciones utiliza un colorante diferente, de modo que las cuatro reacciones pueden desarrollarse en un único carril. Los resultados se analizan por medio de una computadora con un código de colores para cada base.

Si una región de DNA ha sido ya clonada y secuenciada y resulta ser la de interés, entonces puede amplificarse millones de veces mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta metodología desarrollada por Karin Mullis en 1986, revolucionó la tecnología del DNA recombinante, ya que, permite la amplificación directa de segmentos específicos de DNA sin clonación, puede utilizar pequeñísimas cantidades de DNA como sustrato y no requiere de la digestión del DNA mediada por enzimas de restricción. La técnica de PCR requiere de un segmento de DNA a amplificar, cebadores que son oligonucleótidos que hibridan con la cadena complementaria a la secuencia a amplificar y una polimerasa resistente al calor tal como la Taq polimerasa aislada de la bacteria termófila *Thermus aquaticus*. La técnica se basa en varios pasos que implican cambios en la temperatura que permiten la desnaturalización del DNA de doble hélice, la hibridación de los cebadores y la extensión con la polimerasa. Estos tres pasos forman

un ciclo. Con ayuda de termocicladores automáticos los ciclos pueden repetirse un número predeterminado de veces, por ejemplo 30, resultando al final cientos de millones de veces ampliado el fragmento.

MÉTODOS DE DETECCIÓN DE ENFERMEDADES HEREDITARIAS

Se han desarrollado fundamentalmente dos técnicas de diagnóstico prenatal en los seres humanos, una es la *extracción de las vellosidades coriónicas* y otra es la *amniocentesis*. En la primera se aspira, con ayuda de una jeringa, una pequeña porción de células de la placenta y, tiene la ventaja de que puede realizarse Por vía vaginal entre las semanas 10 y 12 del embarazo. La amniocentesis que se realiza mediante la extracción del líquido amniótico, requiere ser realizada al menos después de la 1ava semana después de la gestación. El líquido amniótico se centrifuga y el cultivo posterior de las células fetales del embrión en gestación permite determinar no solo el sexo del producto sino también mediante análisis bioquímico la detección temprana de enfermedades de origen genético (Tabla 12.2). Por métodos de la tecnología del DNA recombinante es posible digerir el DNA con enzimas de restricción, realizar una hibridación por electrotransferencia tipo Southern, que detecta fragmentos separados por su tamaño, con una sonda clonada que contenga el gen de interés. Pueden detectarse mutaciones de tipo puntual como sustituciones, adiciones y deleciones de nucleótidos.

Tabla 12.2. Detección de enfermedades hereditarias mediante el diagnóstico prenatal (Watson y colaboradores, 1992).

Enfermedad hereditaria	Defecto bioquímico	Incidencia entre los nacidos vivos
Anemia falciforme	Cadena de la β globina defectuosa	1/400 entre las poblaciones occidentales de

		África
β -talasemia	Cadena de la β globina defectuosa	1/400 entre la población mediterránea
Distrofia muscular de Duchenne	Debilitamiento muscular progresivo	1/3,000
Enfermedad de Gaucher	Glucocerebrosidasa defectuosa	1/2,500 judíos ashkenazi 1/75,000 otras poblaciones
Enfermedad de Tay-Sachs	Hexosaminidasa A defectuosa	1/3,500 judíos ashkenazi 1/35,000 otras poblaciones
Fenilcetonuria	Fenilalanina hidroxilasa defectuosa	1/5,000 celtas 1/15,000 otras poblaciones
Fibrosis quística	Proteína que transporta los iones cloro a través de la membrana, defectuosa	1/1,600
Galactosemia	Galactosa 1-fosfato uridil transferasa defectuosa	1/40,000
Hemofilia	Factor de coagulación VIII defectuoso	1/10,000 niños
Leucodistrofia metacromática	Arilsulfatasa A defectuosa	1/40,000

TERAPIA GÉNICA

Las metodologías de aislamiento y clonación de genes específicos se están empleando actualmente para el tratamiento de enfermedades de origen genético en los seres humanos. Ello se

logra transfiriendo alelos normales a los tejidos y células somáticas afectadas, las que producirán en última instancia el producto génico normal. Este proceso se denomina *terapia génica*.

Para la transferencia de genes y sus secuencias reguladoras se emplean vectores de origen viral inactivados y también se propicia la fusión de células con vesículas artificiales que contienen la secuencia de interés. En el caso de que la terapia génica se realice con virus, a los que por ingeniería genética se les ha eliminado de su genoma los genes que les permiten replicarse en el huésped, pero que mantienen intacta su capacidad para infectar, se les inserta el gen humano de interés. Este vector se mezcla *in vitro* con las células humanas donde debe expresarse el gen, el DNA clonado ingresa a la célula a través de un receptor de superficie, posteriormente se integra al genoma de la célula humana, se comprueba que el gen esté activo mediante la expresión del producto génico. Luego las células genéticamente modificadas se reimplantan en el tejido humano donde se expresa el gen normal.

En la actualidad se están tratando diversas enfermedades hereditarias humanas por terapia génica, tales como, la hipercolesterolemia, la distrofia muscular y la fibrosis quística. La hipercolesterolemia es una enfermedad que impide al individuo metabolizar las grasas lo que provoca que el colesterol se deposite en las paredes de los capilares, vasos y arterias, hecho que conduce a la muerte prematura. La enfermedad afecta a 1 de 500 individuos, se debe a un gen autosómico dominante que codifica para los receptores de superficie del colesterol. Para la terapia génica de la enfermedad se extrae una pequeña porción de tejido hepático de un individuo afectado, se disocia *in vitro* y se le pone en contacto con el virus inactivado que porta el gen humano normal. Las células hepáticas modificadas se inyectan al paciente por el vaso sanguíneo que llega al hígado donde se expresa el receptor de superficie que permite el ingreso del colesterol a las células hepáticas.

APLICACIONES DE LA TECNOLOGIA DEL DNA RECOMBINANTE

Los organismos que contienen DNA extraño se denominan

transgénicos. La expresión de genes de cualquier proteína que provenga de un eucarionte en una bacteria por definición se denomina transgénica. La aplicación de la tecnología del DNA recombinante con fines industriales y comerciales se denomina *biotecnología*. El primer producto génico diseñado mediante la tecnología del DNA recombinante y empleado como producto terapéutico fue la insulina, hecho que ocurrió en 1982. Actualmente muchas proteínas de interés para la salud humana, como el interferón, la interleucina, la superóxido dismutasa y la somatostatina, entre otros, se producen de forma industrial por bacterias construidas por ingeniería genética (Tabla 12.3).

Tabla 12.3. Algunos productos génicos desarrollados por biotecnología para usos terapéuticos en los seres humanos.

Producto génico	Uso terapéutico
Insulina	Diabetes
Interferón gamma	Cáncer
Interleucina	Cáncer
Superóxido dismutasa	Transplantes
Somatostatina	Enanismo

Los procariontes y eucariontes diseñados por ingeniería genética constituyen ya un sector dominante de la economía en muchos países del mundo. La tecnología del DNA recombinante se ha empleado para desarrollar variedades mejoradas en plantas de interés económico modificando, por ejemplo, la susceptibilidad a enfermedades producidas por la asociación de bacterias que están en el suelo. La modificación por ingeniería genética de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* ha permitido mantener su capacidad para fijar el nitrógeno en las raíces de la planta, pero ha impedido que la planta infectada desarrolle tumores al eliminar del plásmido Ti

que se encuentra en la bacteria y que es el gen responsable de la producción de tumores.

La resistencia de plantas alimenticias, tales como el maíz y la soya, a sus depredadores naturales, como los insectos, se ha desarrollado mediante ingeniería genética al introducir en su genoma la bacteria *Bacillus thuringensis* que contiene 96 genes que codifican para endotoxinas, proteínas que producen la muerte de las larvas al perforar su intestino. Estas endotoxinas no afectan a los seres humanos ni a otros seres vivos.

La producción de proteínas de interés farmacéutico, como el plasminógeno que se emplea para disolver coágulos en la sangre de los seres humanos, en ovejas transgénicas, es otro campo en el cual la tecnología del DNA recombinante se está empleando con mucho éxito.

13. BIOLOGÍA GENÓMICA

La genómica es la rama de la genética que se encarga del estudio del contenido, organización, función y evolución de los genomas completos de los seres vivos. El genoma se define como toda la información genética presente en un organismo determinado. Los estudios de la genómica, en la segunda mitad de la década de los 90s, han evolucionado de forma espectacular debido a los avances logrados en el desarrollo de nuevas tecnologías que han permitido nuevos abordajes experimentales. Las nuevas tecnologías que permiten los estudios masivos, el desarrollo de técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos y de análisis de expresión génica han facilitado el planteamiento de proyectos de gran envergadura como los distintos proyectos Genoma. El objetivo de estos proyectos es determinar la secuencia completa de nucleótidos presentes en el DNA de una célula u organismo.

La genómica trata de entender la organización molecular y la información genética que contienen los genomas de los seres vivos, así como los productos génicos que cada genoma codifica. Esta nueva subdisciplina emplea diversas metodologías analíticas, en principio, para asignar genes o marcadores genéticos a cromosomas específicos. Los niveles de resolución van desde los mapas de ligamiento pasando por los mapas de restricción hasta llegar a la construcción del mapa físico y la secuenciación completa del genoma. En una segunda fase este catálogo de secuencias servirá para analizar los transcritos y proteínas que se pueden formar a partir de las secuencias que se encuentran en el genoma.

La genómica se ha dividido para su estudio en dos etapas o eras:

- a) la era genómica que comprende a la (i) *genómica estructural* que trata a partir de los mapas genéticos de la localización relativa de los genes, los marcadores moleculares y los segmentos cromosómicos que permiten posicionar los segmentos de los cromosomas, alinear los pedazos de DNA secuenciados y a caracterizar la secuencia completa de un genoma, es decir, a la construcción del mapa físico, y a la (ii) *genómica funcional* que trata de caracterizar tanto el conjunto de transcritos o

transcriptoma como el conjunto de proteínas que codifica un genoma o *proteoma*. Es decir, la genómica funcional es la recolección sistemática de la información sobre la función de los genes haciendo uso de la información y de los elementos de la genómica estructural.

b) la era post-genómica que trata de analizar y comparar genomas y conocer cuáles son las relaciones que existen entre su estructura y función, comprende: (i) *genómica comparada* que trata de encontrar las relaciones evolutivas al comparar los genomas completos de especies o taxones diferentes (ii) *genómica individual* que estudia las variaciones dentro de los genomas entre los individuos de la misma especie, (iii) *proteómica celular* que estudia las proteínas que confieren a las células su forma y función, considerando que los proteomas a diferencia de los genomas son dinámicos y varían de manera espacial y temporal en los seres vivos.

La genómica ha empleado para su estudio diversas técnicas y combinación de metodologías experimentales a gran escala, que a continuación se analizarán de forma somera, con estudios computacionales de los resultados (bioinformática). Los datos así generados han posibilitado la construcción de bases de datos en los cuales se almacena la información biológica.

BIOINFORMÁTICA

El término *Bioinformática* es de nuevo cuño y no se había comenzado a emplear hasta la década de los 90's aunque las aplicaciones de las tecnologías de la información en las ciencias biológicas y de la salud se comenzaron a producir muchos años antes. La bioinformática es una disciplina científica que se interesa por todos los aspectos relacionados con la adquisición, almacenamiento, procesamiento, distribución, análisis e interpretación de la información biológica, se centra entonces en el desarrollo de bases de datos, algoritmos de búsqueda de genes y de programas de cómputo de predicción de genes. Mediante la aplicación de técnicas y herramientas de las matemáticas, de la biología y de la informática, con el propósito de comprender el

significado biológico de una gran variedad de tipos de datos. La Bioinformática es entonces una disciplina científica independiente que proporciona las herramientas y recursos necesarios para la investigación en las ciencias biológicas y de la salud. Es la ciencia en la cual la biología y la informática conforman una única disciplina. Se distinguen tres acepciones en las que se unen la biología y la informática, con objetivos y metodologías bien diferentes:

1. *Bioinformática* o informática aplicada a la biología molecular y a la genética: Investigación y desarrollo de la infraestructura y sistemas de información y comunicaciones que requieren la biología molecular y la genética contemporáneas, tales como, redes y bases de datos para el genoma, y microarreglos, entre otros.
2. *Biología Molecular Computacional* o informática y matemáticas aplicadas a la biología: Computación que se aplica al entendimiento de cuestiones biológicas básicas, en el nivel molecular, mediante la construcción de modelos y la simulación.
3. *Biocomputación* o Biología aplicada a la computación: Desarrollo y utilización de sistemas computacionales basados en modelos y materiales biológicos, tales como, biosensores, computación basada en el DNA, redes de neuronas y algoritmos genéticos, entre otros.

La razón fundamental para la aplicación de la informática en la biología es la de dar respuesta a los diversos procesos biológicos con los que se enfrenta, tales como, (i) una creciente explosión en la cantidad de información la cual necesita la utilización de computadoras para la adquisición y el análisis de los datos. (ii) una perspectiva global en el diseño experimental, ya que, mientras en el pasado el paradigma de la investigación era una ciencia/ un gen/ una proteína/ una enfermedad, ahora se pueden considerar centenares de ellos e incluso abordar el estudio de células completas. (iii) El proceso mediante el cual las hipótesis probadas son generadas, respecto a la función o estructura de un gen o proteína de interés, a partir de la identificación de secuencias similares en organismos mejor caracterizados. Por ejemplo, nuevos estudios de la base molecular de una enfermedad pueden provenir investigando la función

en homólogos del gen de la enfermedad en organismos modelo. (iv) el descubrimiento de las relaciones filogenéticas y evolutivas de los patrones.

Las bases de datos creadas, una vez secuenciado un genoma, permiten tanto el análisis del DNA como de las proteínas. Se consideran bases de datos primarias aquellas que contiene la información sobre la secuencia, mientras que las bases de datos secundarias contienen los resultados del análisis de la secuencia primaria así como variaciones, mutaciones y relaciones evolutivas. Una vez secuenciado el genoma se requiere tratar de identificar genes dentro de la secuencia. No existe ninguna característica universal que marque el inicio y el término de un gen. Sin embargo los genes que codifican para proteínas se caracterizan por tener un marco de lectura abierto, que incluye tanto al codón de inicio como al codón de término así como secuencias que marcan los sitios de corte y empalme de los intrones. Una vez identificado un gen, éste debe ser anotado, es decir, relacionar su secuencia con otra información sobre su función, expresión, la proteína que codifica y la información sobre genes similares presentes en otras especies. El programa de cómputo más empleado es el BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool* por sus siglas en inglés), herramienta que permite investigar si existen en la base de datos secuencias con regiones similares, además de la información sobre el grado de similitud y el significado, en términos de probabilidad, de la coincidencia.

GENÓMICA ESTRUCTURAL

El desarrollo de las metodologías para aislar y clonar grandes fragmentos de DNA estimuló a la comunidad científica internacional a unir esfuerzos y tratar de secuenciar el genoma humano. La secuenciación del genoma humano representó un reto de enormes dimensiones, sin duda alguna, el experimento más ambicioso en la historia de las ciencias biológicas. El proyecto genoma humano nació a principios de la década de los años 1990 y se fijó como meta además la secuenciación de diversos organismos modelo entre ellos los de *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Arabidopsis thaliana*, *Caenorhabditis elegans* y *Drosophila melanogaster*. Para

ello se crearon diferentes centros de secuenciación alrededor del mundo equipados con una infraestructura computacional, de imágenes, robótica y de secuenciación automática que permitió secuenciar cientos de megabases por año.

El objetivo de la genómica estructural es entonces el de caracterizar la estructura de genomas completos, la secuenciación del genoma de una especie conduce a la construcción del mapa físico. El primer genoma completo secuenciado en 1995 fue el de la bacteria *Haemophilus influenzae* seguido de la secuenciación del genoma de una mitocondria y de un cloroplasto, mientras que el primer genoma secuenciado de un eucarionte fue el de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en 1996. El genoma humano fue secuenciado en el año 2000.

Los procedimientos analíticos que han permitido la construcción de los mapas físicos de diversos organismos empiezan con la asignación de un gen o marcador a un cromosoma, su localización mediante la frecuencia de recombinación (mapa genético), la construcción del mapa de restricción (construido con enzimas de restricción), mapa físico y la secuenciación (Fig. 13.1).

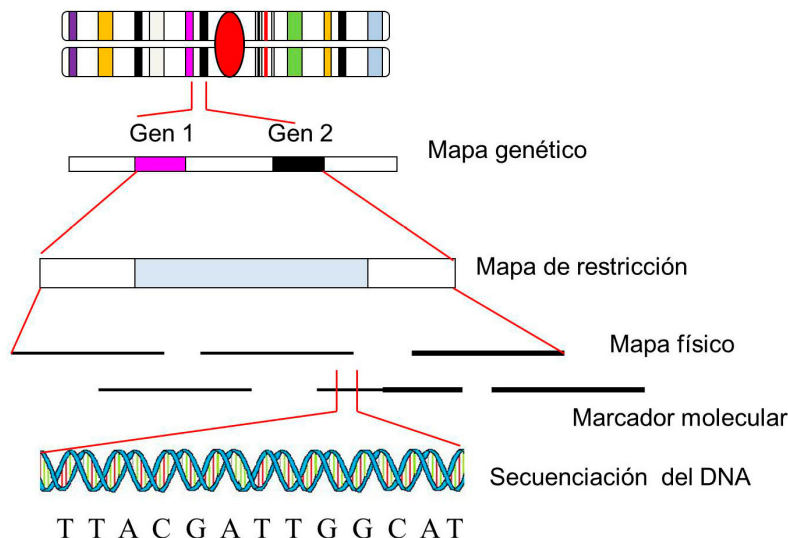


Fig. 13.1. Abordaje general de la genómica estructural

Los mapas genéticos o mapas de ligamiento se construyen con base en la frecuencia de recombinación (cuyos principios básicos se analizaron en el tema 7), que varían entre las diferentes regiones de un cromosoma, por lo cual se considera que son aproximaciones o estimaciones de las distancias físicas reales de los genes a lo largo de los cromosomas. Sin embargo su papel ha sido esencial para el desarrollo de los mapas físicos.

Los mapas físicos se basan en el análisis del DNA y ubican a los genes con relación a su distancia medida en número de pares de bases (pb), kilobases (kb - 1,000 pares de bases) o megabases (Mpb - un millón de pares de bases). Para su construcción se emplean diferentes metodologías, una de ellas emplea enzimas de restricción creándose fragmentos de restricción, éstos se separan mediante electroforesis en gel, se determina así el número de sitios de restricción en el DNA, las distancias entre ellos y la posición de las bandas en el gel. Para mapear los sitios de restricción suelen emplearse varias enzimas de restricción, las que se emplean solas o en combinaciones diversas generándose fragmentos de diferentes tamaños (de 500 a 700 nucleótidos). Se emplean programas informáticos para determinar los mapas de restricción y si el fragmento es muy grande se marca el extremo con radiactividad o se identifica por medio de una sonda. Con metodologías adicionales como el mapeo de sitios de secuencia etiquetados (STS) que localiza secuencias únicas en el DNA; hibridación *in situ* que localiza visualmente a los marcadores y la secuenciación del DNA.

Los genomas de los seres vivos suelen tener un tamaño inmenso, los de las bacterias contienen varios millones de pares de bases, y se encuentran en una sola estructura circular; mientras que los de los eucariontes tienen miles de millones de pares de bases que se encuentran en muchos cromosomas con forma de varilla. La secuenciación no puede empezar en un extremo de un cromosoma y terminar en el otro extremo, como se señaló se generan muchos fragmentos de DNA, en el orden de miles o millones, los cuales deben ensamblarse en el orden correcto, para lo cual se emplean diversas metodologías: (1) secuenciación basada en mapas y (2) secuenciación por fragmentos escogidos al azar (*shotgun*).

Secuenciación basada en mapas

Se basa en el ensamble de fragmentos cortos secuenciados obtenidos a partir de mapas genéticos y físicos detallados lo cual permite localizaciones conocidas de marcadores genéticos, tales como sitios de restricción o secuencias de DNA conocidas, a intervalos espaciados a lo largo del cromosoma. Los cromosomas o fragmentos cromosómicos grandes se separan mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) que permite la separación de moléculas grandes de DNA o mediante citometría de flujo con la cual los cromosomas se clasifican ópticamente por tamaño. Después se corta cada cromosoma mediante la digestión parcial con enzimas de restricción. Los fragmentos grandes así obtenidos son luego clonados mediante la utilización de cósmidos, cromosomas artificiales de levadura (YAC) o de bacterias (BAC). Los clones así generados se reúnen en el orden correcto del cromosoma, ensamblaje que se puede realizar empleando diversas metodologías: (a) creando una sonda de DNA complementario de cada marcador genético los cuales hibridarán con cualquier colonia de una genoteca que tenga un clon con el marcador. Debido a que los clones son mucho más grandes que los marcadores genéticos usados como sondas, algunos clones tendrán más de un marcador y además contendrán áreas que se sobreponen. Un conjunto de fragmentos sobrelapados se conoce como *cóntigo* (*contig*). Enfoque con el cual se secuenció el cromosoma Y humano; (b) el orden de los clones puede determinarse sin el empleo de los mapas genéticos, de modo que se corta un clon con diversas enzimas de restricción, se separan los fragmentos mediante electroforesis en gel, lo cual genera un conjunto único de fragmentos de restricción denominados huella genética. Los patrones de restricción se guardan en una base de datos y mediante un programa informático se examinan los patrones de restricción y las áreas de solapamiento para después ordenar los clones. Una vez ensamblados los clones por cualquiera de estas metodologías se procede a la secuenciación (Fig. 13.2).

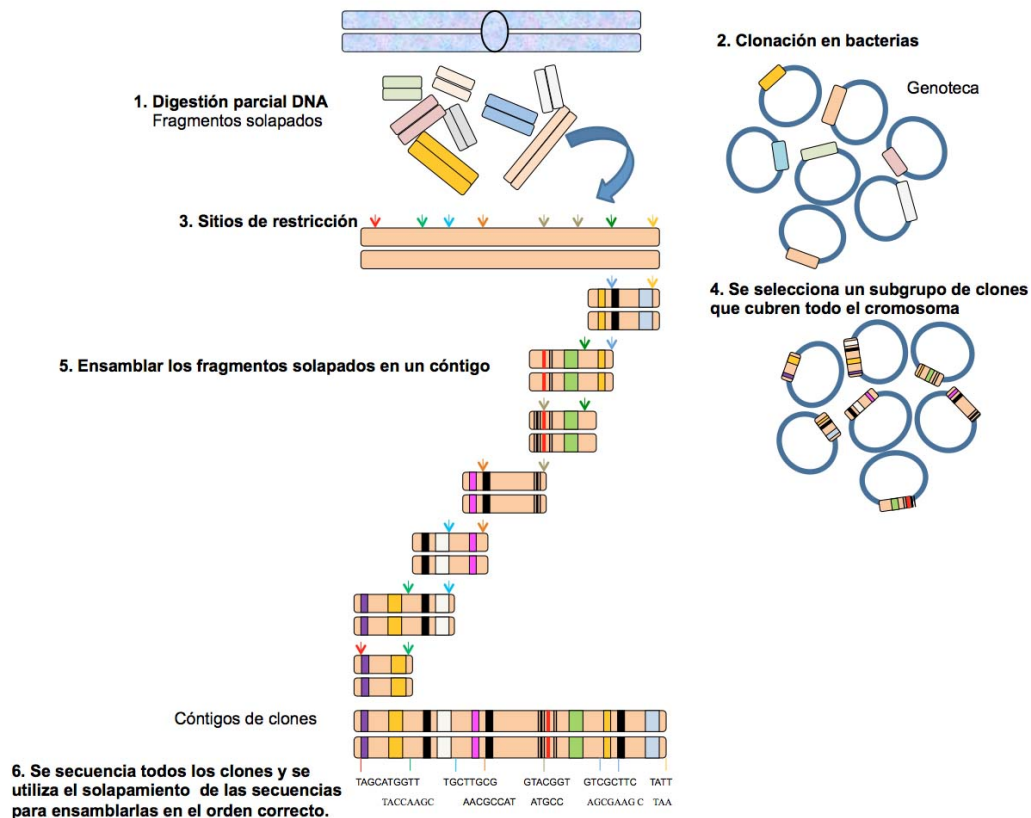


Fig. 13.2. Secuenciación basada en mapas

El Consorcio Internacional público de Secuenciación del Genoma Humano, liderado por Francis Collins, empleó este enfoque para secuenciar el genoma humano. Se cortaron fragmentos de alrededor de 150,000 pbs y se clonaron en BACs, posteriormente emplearon huellas genéticas de restricción para ensamblar los clones de BAC en cóntigos que se posicionaron en los cromosomas mediante el uso de marcadores genéticos y de sondas. Los clones de BAC individuales se cortaron en fragmentos solapados más pequeños, se secuenciaron y por último se ensambló el genoma completo reuniendo la secuencia de los clones BAC.

Secuenciación por fragmentos escogidos al azar (*shotgun*)

Metodología que fue empleada por Craig Venter al crear una

compañía privada, llamada Celera Genomics, con el propósito de secuenciar el genoma humano. Este grupo empleó fragmentos escogidos al azar mediante la preparación de insertos obtenidos directamente a partir del DNA genómico y secuenciados. Posteriormente el ensamblaje se realizó mediante programas informáticos muy potentes que analizan el solapamiento entre los clones pequeños, los cuales pueden incorporarse, mediante ingeniería genética, a plásmidos. El solapamiento de la secuencia implica que la mayor parte del genoma será secuenciado varias veces, de 10 a 15, (Fig. 13.3)

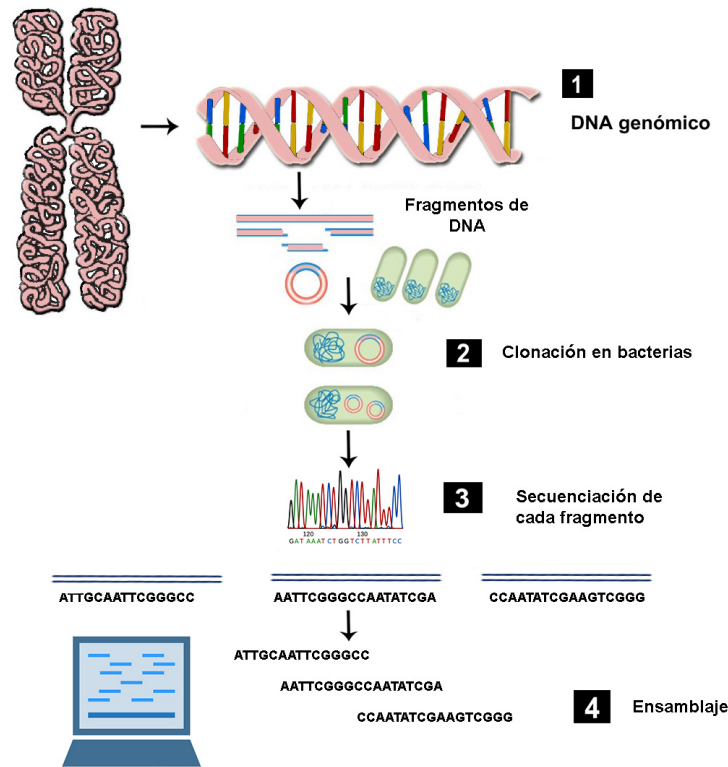


Figura 13.3. Secuenciación por fragmentos escogidos al azar (shotgun): 1) El DNA genómico se corta en numerosos fragmentos pequeños, 2) Los fragmentos son clonados en bacterias, 3) Se secuencia cada fragmento, 4) Se utiliza el solapamiento para ordenar las secuencias y se ensambla todo el genoma a través de herramientas informáticas en la computadora.

Secuenciación de genomas completos

La mayoría de los genomas secuenciados hoy día se han obtenido mediante la secuenciación por fragmentos escogidos al azar (*shotgun*). La comparación entre los genomas secuenciados permitió establecer un número estimado de genes de 1,700 en *H.influenzae*, 6,200 en *S.cereviseae*, 18,250 en *C. elegans*, 13,350 en *D. melanogaster* y 32,000 en *Homo sapiens sapiens* ¿Cómo es posible que la mosca de la fruta, un invertebrado muy complejo, tenga menos genes funcionales que la levadura, eucarionte unicelular? Y todavía más sorprendente, el hecho de que el genoma humano tenga dos veces y medio más genes que el de la mosca. Es claro que el número de genes no puede explicar la complejidad. ¿Todas las características se deben al soporte genómico? ¿Las funciones génicas pueden explicar la variabilidad humana? ¿Cómo nuestras mentes organizan los pensamientos? Estas y otras preguntas se irán desvelando a medida que vayamos comprendiendo las complejas proteínas, aquellas que tienen dominios extracelulares, que permiten las interrelaciones célula-célula y célula-sustrato. Debido a que la conservación de secuencias, entre eucariontes inferiores y los seres humanos, es un fenómeno muy común es claro que los organismos modelo continuarán explicándonos asuntos cruciales de la biología humana.

En términos prácticos el conocimiento de los genomas de los organismos modelo y de los seres humanos podrán revelar información muy importante sobre las enfermedades, el envejecimiento, la neurobiología y otros procesos biológicos. Actualmente se están desarrollando diversas áreas de investigación con un enfoque genómico, entre ellas:

1. La lucha en contra de la diabetes y las enfermedades cardiovasculares.
2. La resistencia a antibióticos
3. La respuesta, positiva o negativa, a medicamentos determinada por causas genéticas (farmacogenómica).

4. Desarrollo humano y envejecimiento.
5. Estudio del cerebro y lucha en contra de las enfermedades del sistema nervioso: Alzheimer, Parkinson, Creutzfeld-Jacob y otras enfermedades mentales.
6. Cáncer, predisposición genética al desarrollo de tumores. Desarrollo de estrategias orientadas al paciente desde la prevención y diagnóstico hasta el tratamiento de la enfermedad.
7. Lucha en contra de las tres enfermedades relacionadas con la pobreza: sida, malaria y tuberculosis.

Polimorfismos de un solo nucleótido

Al analizar las secuencias entre dos seres humanos se ha establecido que la identidad es de alrededor de 99.9% de modo que si el genoma humano tiene 3200 millones de pares de bases las diferencias entre dos personas serán de 3 millones de pares de bases en el DNA. Esta pequeña diferencia es la que hace único a cada ser humano y por tanto es responsable de nuestras características, físicas y de nuestra salud. Los secuenciadores, alrededor del mundo, tratan de encontrar y mapear las diferencias en las secuencias genómicas entre las personas. Un lugar del genoma en el cual los miembros de una especie difieren en un solo par de bases se denomina polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), el cual se produce por mutación y se hereda como una variante alélica. Al comparar el genoma de dos personas se pueden encontrar un SNP cada 1000 pb.

Al conjunto de SNPs y otras variantes genéticas que se encuentran en un cromosoma o en parte de un cromosoma se llaman haplotipos. Los SNPs dentro de un cromosoma están ligados por lo que se heredan juntos. Pueden surgir nuevos haplotipos por mutación o por recombinación, y debido a que la tasa de entrecruzamiento está dada por la distancia relativa entre los genes, los SNPs y otras variantes genéticas pueden asociarse de forma no aleatoria, fenómeno conocido como desequilibrio de ligamiento. Debido a que los SNPs de un haplotipo se heredan juntos un haplotipo que contenga miles de SNPs puede identificarse mediante la identificación de pocos SNPs denominados SNP etiqueta. Se ha calculado que en

la población humana existen 10 millones de SNPs pero debido a los desequilibrios de ligamiento los SNP están presentes en un número más pequeño de haplotipos, alrededor de 100,000, lo cual permite la identificación de la mayoría de haplotipos presentes en el genoma de los seres humanos. Los SNP se han empleado para localizar algunos genes involucrados en enfermedades.

Metagenómica

La secuenciación de genomas completos es una metodología que ha avanzado sustancialmente, hoy día es muy rápida y mucho menos costosa, de modo que diversos grupos de investigadores se han abocado a la secuenciación de genomas completos de los seres vivos que viven en un ambiente común. Hecho que se conoce como metagenómica. Inicialmente los investigadores han realizado estudios de metagenómica en microorganismos, concretamente en bacterias que no pueden cultivarse en los laboratorios por sus propias características, tales como vivir en ambientes extremos, en el fondo de los océanos y en la flora intestinal, entre otros. Entonces se analiza el DNA completo que se extrae de un microambiente, se determina su secuencia y se reconstruye la composición genómica de la comunidad bacteriana. El estudio del microbioma humano permitió establecer que en el intestino humano se encuentran dos tipos de bacterias, las Bacteroidetes y las Firmicutes. Las personas con sobrepeso tienen en su flora intestinal una mayor cantidad de bacterias Firmicutes que las delgadas. Es más en las personas obesas sometidas a una dieta hipocalórica se encontró que las Firmicutes disminuían conforme avanzaba la dieta.

Biología sintética

Este es un nuevo campo de la genética que persigue la construcción de organismos completos a partir del conocimiento que se tiene sobre procesos biológicos fundamentales. Desde 2002 se han realizado varios experimentos con microorganismos, generándose fragmentos de DNA sintetizados en el laboratorio que luego se ensamblan produciendo una copia de un genoma sintético. Este genoma artificial fue luego transplantado a una célula a la cual se le eliminó su genoma original. Esta célula artificial expresó los

genes especificados por el genoma sintético. En 2009 un grupo de biólogos sintéticos reemplazó los nucleótidos del DNA de los cromosomas 6 y 9 de la levadura y los reemplazó por DNA sintético. Este se expresó en la célula aparentemente con normalidad.

Cabe hacer notar que este tipo de experimentos son muy cuestionados y desde el punto de vista bioético muy preocupantes, ya que si bien es posible sintetizar secuencias artificiales en el laboratorio la probabilidad de que éstos representen un riesgo no solo ambiental, sino potencialmente el que puedan emplearse como armas biológicas, es muy alto. Este solo hecho justifica el que se creen Comités de Bioética en todas las unidades de investigación que realicen estudios de ingeniería genética.

GENÓMICA FUNCIONAL

La genómica funcional es la subdisciplina que estudia los patrones de expresión génica y los mecanismos que coordinan esa expresión. Es por lo tanto la que caracteriza el transcriptoma y el proteoma. La caracterización del proteoma puede llevarse a cabo, en primera instancia, mediante el análisis de los marcos de lectura abiertos (ORF) en los que una secuencia de DNA genómico es analizada por un programa de computadora que revisa cada uno de los seis marcos de lectura de todas las secuencias y busca los segmentos que contengan el codón de inicio y que terminen con alguno de los tres codones de terminación. Cualquier ORF de al menos 100 codones, es candidato para ser considerado un gen. Los ORFs pueden ser analizados inicialmente por función, usando las bases de datos disponibles y mediante el alineamiento de secuencias encontrar la homología entre los genes conocidos. Los ORFs alineados proveen una rica información sobre los proteomas potenciales.

El estudio de la expresión de genes puede hacerse mediante el uso de un sistema disponible en la levadura que se denomina GAL4. El gen GAL en eucariontes se activa en presencia de galactosa, su producto es una proteína que degrada a este carbohidrato. La proteína reguladora que activa a GAL es la GAL4. Este es un factor de transcripción que puede activar la transcripción de genes en otros organismos. El activador transcripcional GAL4 tiene dos dominios,

uno de unión al DNA y otro de activación, secuencia que se encuentra a 250 pb por arriba del sitio de inicio (UAS) ambas deben estar presentes para que se inicie la transcripción. UAS tiene cuatro secuencias casi simétricas, de 17 pb cada una, a las que se les unen dímeros de la proteína GAL4. Esta proteína contiene dos dominios de unión al DNA: un dominio de Zn en los primeros 100 aa (extremo amino) que se pega al DNA del gen GAL y el segundo dominio activador es una hélice alfa que contiene aa de carga negativa que se pega a uno de los activadores en UAS. Se requiere que ambas uniones se lleven a cabo para activar al gen. En levaduras la función de GAL4 está regulada por la proteína GAL80. En ausencia de galactosa GAL80 está pegada al dominio activador de cada GAL4, cuando hay galactosa GAL80 libera a GAL4 y ésta activa al gen GAL. El sistema de expresión GAL4 se ha empleado en *Drosophila* ya que en este organismo no se encuentran genes blanco para GAL4. Para lograr la expresión de GAL4 en células y tejidos, un gen GAL4 que carece de la secuencia de activación se inserta al genoma de *Drosophila* mediante un elemento P, dependiendo del sitio de integración, la expresión de GAL4 puede ser dirigida por cualquiera de los acrecentadores que se encuentren en el gen de la mosca. Cuando un segundo gen que contenga a los sitios de unión de GAL4 y a UAS insertado en el promotor se introduce a una cepa y luego se realiza una cruce entre ambas, en la progenie resultante el gen solamente se transcribirá en las células donde se exprese GAL4 (Fig. 13.4).

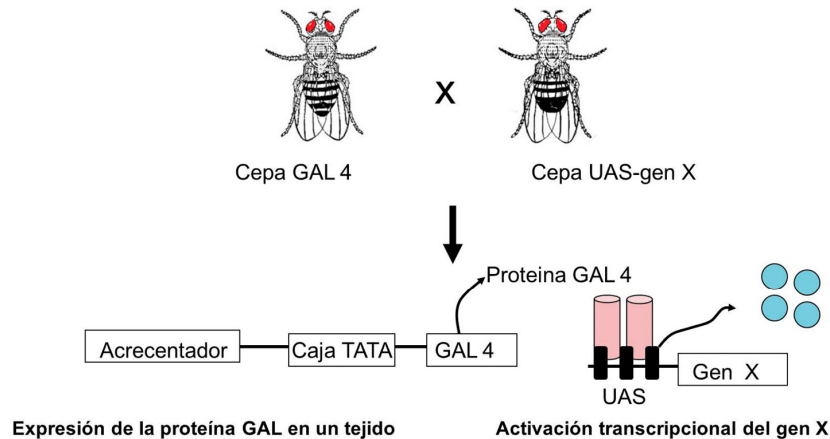


Fig. 13.4. Expresión ectópica de un gen mediante GAL4.

El estudio amplio del patrón de expresión de genes de un organismo ha sido posible gracias al desarrollo de una metodología de chips de DNA, micromatrices o *microarreglos* que se basan en la hibridación de ácidos nucleicos mediante el empleo de un fragmento de DNA, conocido como sonda, que sirve para encontrar secuencias complementarias. Estos consisten en superficies de vidrio planas, portaobjetos, que pueden contener de 10,000 a 100,000 distintas gotas de DNA de hebra sencilla que se secan y tratan para que se fijen al vidrio. La micromatriz puede montarse con mRNA, con DNA o cDNA aislado de células experimentales cuales se marcan con colorantes fluorescentes, la unión de las sondas al vidrio del microarreglo (inmovilización) se rastrea automáticamente con rayo láser. Estas muestras de DNA se hibridan con muestras de cDNA que se obtienen a partir de mRNA en presencia de transcriptasa inversa. La muestra control se tiñe con un colorante fluorescente verde y la experimental con uno rojo. Ambas se mezclan, se establece una competencia en la hibridación con el DNA del microarreglo que será proporcional a la abundancia relativa de cada mRNA en la muestra y de la concentración de los colorantes fluorescentes rojo y verde. Después de la hibridación el chip de DNA se coloca en un scanner de fluorescencia confocal que rastrea cada pixel para grabar la intensidad de cada marcaje fluorescente en cada

una de las celdas del microarreglo. Esto requiere de computación automatizada. Debido a que la densidad del DNA en cada celda no es necesariamente homogénea, a que puede variar de una mancha a otra en el microarreglo y a que la fluorescencia de fondo puede ser diferente, deben hacerse diversas correcciones hasta obtener alrededor de 400 píxeles/celda. Los colores en el chip denotan la forma de expresión relativa del gen en cada celda: el rojo muestra que el gen en cuestión se sobreexpresa, el verde que el gen se subexpresa y el amarillo indica una expresión igual en la muestra control y en la experimental (Fig. 13.5).

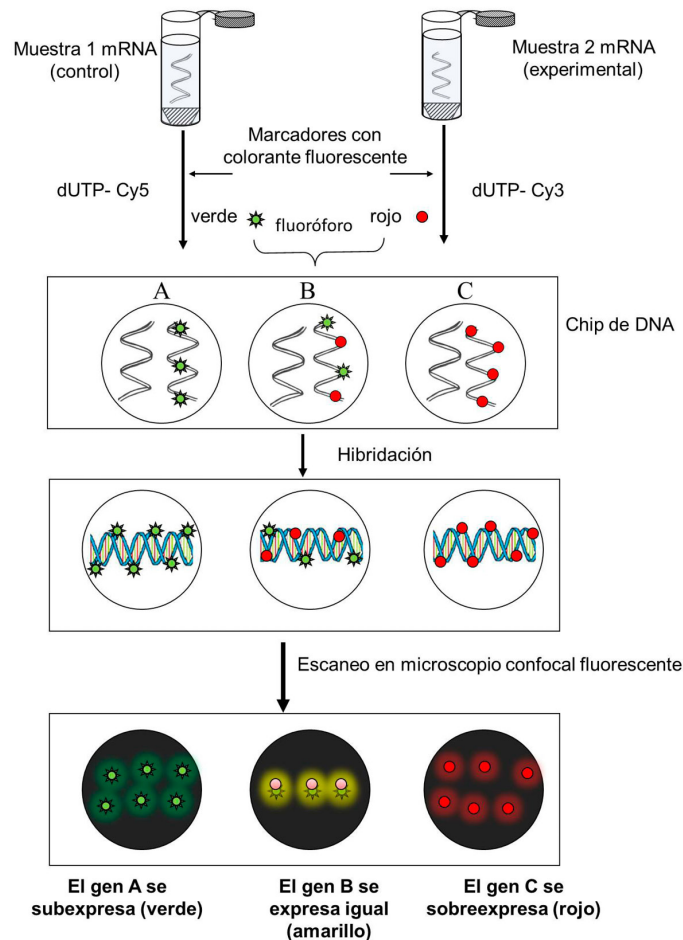


Fig. 13.5. Un método de producción de microarreglo

Los microarreglos pueden detectar los niveles relativos de expresión de cualquier mRNA cuya abundancia en la muestra sea de 1×10^5 (una molécula en 100,000) y diferencias en la expresión tan pequeñas como de 2 x. La enorme cantidad de datos que genera un chip de DNA solo puede ser analizada con ayuda de la bioinformática ya que por ejemplo si en un microarreglo se tienen 1,800 secuencias de mRNA, la sola comparación de una celda con cada una de las celdas de la muestra será del orden de 20 millones. Los microarreglos que cubren casi totalmente el genoma suelen tener una resolución espacial baja; los que se realizan por hibridación *in situ* pueden detectar uno o dos genes y tienen una resolución más alta; los que se realizan por FISH detectan más genes con una alta resolución.

Los microarreglos permiten establecer a gran escala la expresión génica en un tejido particular o en un organismo, pero no permiten conocer el papel bioquímico específico de la proteína ni mucho menos la dinámica de cambio. Por ejemplo si se identifica el producto de un gen como una proteína quinasa, ello sugiere que el gen está involucrado en la transducción de señales, pero no dice nada de su participación en una ruta de señalización particular ni mucho menos que proteína fosforila.

GENÓMICA COMPARADA

En la actualidad se han secuenciado más de 3000 genomas de procariontes y alrededor de 500 de eucariontes. Entre los procariontes el número de genes varía de 1000 a 2000, mientras que entre los eucariontes varía de 6000 a 40000 genes. Entre los procariontes se ha encontrado que las eubacterias contienen en su genoma una alta densidad de genes (alrededor de un gen/kb), mientras que en las archae o bacterias extremófilas el genoma puede estar conformado por más de un cromosoma circular asociado a proteínas histonas y en algunos genes hay intrones, En los procariontes existen diversos mecanismos que les permiten ganar o perder DNA, tales como la inserción de transposones o la transferencia horizontal de genes. Además el número de genes que codifican para la expresión génica, transcripción y traducción, es muy similar entre todas las especies bacterianas. En el genoma de los

eucariontes en general hay poca densidad de genes (alrededor de 1 gen/ 5 kb), se encuentran muchas duplicaciones de genes, que se localizan en el mismo cromosoma o en cromosomas diferentes, las que se han originado por procesos como la recombinación ilegítima. Los genes duplicados dieron origen a familias multigénicas o grupos de genes relacionados evolutivamente que evolucionaron a partir de un gen ancestral. Además el genoma de la mayoría de los eucariontes contiene grandes cantidades de DNA no codificante. El genoma humano posee alrededor del 98.5% de secuencias que no codifican para proteínas, cuya función no es del todo conocida aunque se asume que están involucradas en el control de la expresión génica. Adicionalmente en el genoma de los eucariontes existen secuencias moderadamente y altamente repetidas que se postula surgieron por transposición, así en la planta *Arabidopsis thaliana* el 10.5% de su genoma consiste en repeticiones intercaladas, en el maíz *Zea mays* el porcentaje es del 85% mientras que en *Drosophila melanogaster* es de 3.1% en el gusano *Caenorhabditis elegans* es del 6.5% y en el genoma humano *Homo sapiens sapiens* es de 85%.

Las comparaciones entre secuencias son muy útiles para determinar las relaciones evolutivas entre organismos y para clasificar a los genes por la función que realizan, pero no dicen nada sobre la función exacta que la proteína realiza o la ruta metabólica en la que participa. De modo que los datos generados mediante las herramientas genómicas que conducen a la secuenciación de genomas completos son extraordinariamente valiosos, ya que son la materia prima para poder conocer los productos que generan. La diversidad proteica puede medirse contando el número de dominios que se asocian con una función particular. Así al comparar el número de dominios proteicos de los genomas de los vertebrados con los genomas de los invertebrados se tiene que en el genoma humano hay 1262 dominios contra 1035 de las moscas, la notable diferencia entre ambas especies se da por el barajeo de dominios que se ensamblan en más combinaciones en los seres humanos lo cual da origen a una gran diversidad proteica.

Un característica importante del genoma de los eucariontes es el

grado de homología que se presenta en los genes de especies muy distantes. Alrededor del 60% de los genes presentes en el genoma de las moscas se encuentra en el de los seres humanos; cerca del 18% de los que se encuentran en las plantas y el 99% de los presentes en el ratón son homólogos a los que se encuentran en el genoma humano. Además al comparar las secuencias genómicas de diversos organismos se ha encontrado que muchos genes se encuentran en el mismo orden en el genoma, fenómeno conocido como colinearidad, que se explica por el origen evolutivo de las especies a partir de un ancestro común.

Al comparar las secuencias de 12 especies del género *Drosophila* se encontró que las distintas especies evolucionaron a partir de un ancestro común hace alrededor de 60 millones de años. El tamaño del genoma de estas especies resultó ser muy variable: de 130 a 364 millones de pares de bases, lo cual es debido a la presencia de transposones; el número de proteínas que codifica no es tan variable (de 13,733 en *D. melanogaster* a 17,325 en *D. virilis*). Además cerca del 80% de los genes presentes en *D. melanogaster* se encuentran en las otras 11 especies. En este género los rearrreglos producidos por inversiones y translocaciones jugaron un relevante papel en la evolución.

14. BIOLOGÍA MOLECULAR DEL CÁNCER

El cáncer no es una enfermedad, es más bien, un grupo de enfermedades que afecta a todas las comunidades y nacionalidades humanas, se caracteriza por la presencia de células que no responden a los controles normales de la división celular alterándose todas las señales que regulan la proliferación celular. El cáncer se puede presentar en todas las partes del cuerpo. Los tumores pueden ser *líquidos*, como las leucemias y los linfomas, en los cuales se ven afectadas las células blancas de la sangre; o *sólidos*, como los sarcomas, los gliomas y los carcinomas, que se presentan en diversos órganos y tejidos. Los distintos tipos de cáncer comparten el hecho de que los mecanismos de regulación y control del ciclo celular se ven alterados. El cáncer es entonces una enfermedad genética que se produce en el 90% de los casos por mutaciones, que afectan a un número muy pequeño de células somáticas, y por lo tanto no se transmiten a la siguiente generación. Sin embargo, cerca del 10% de todos los cánceres tienen un origen familiar, es decir, se tiene evidencia de que en una familia se encuentra un gen que predispone a los individuos afectados hacia el estado canceroso.

Las células cancerosas comparten varias propiedades:

1. Todas han perdido el contacto celular, mecanismo que en las células normales inhibe el crecimiento y la división celular adicional,
2. La ruta apoptótica, que en las células normales se dispara cuando éstas están dañadas o carecen de los nutrientes esenciales, no está presente en las células cancerosas.
3. Las células cancerosas contienen niveles muy altos de telomerasa, enzima que las protege contra el envejecimiento y las hace inmortales. Las células normales en cultivo dejan de dividirse una vez que el cultivo alcanza un cierto tamaño, ello es debido a que la actividad de la telomerasa se pierde hecho que contribuye al envejecimiento y a la muerte celular.
4. Las células cancerosas tienen un origen clonal, es decir, todas derivan de una célula que se hizo cancerosa.

La conversión de una célula normal a una cancerosa requiere de muchos pasos en los que se producen múltiples mutaciones. El cambio de una célula normal a una tumoral es progresivo. Se produce paso a paso en la medida en la que se van generando nuevas mutaciones en las células somáticas que van afectando y comprometiendo a los diferentes mecanismos del ciclo celular. La inestabilidad genética en una población celular funciona como un mecanismo precursor del cáncer, ésta se presenta tanto a nivel de los nucleótidos del DNA (mutaciones puntuales) como a nivel del número y estructura de los cromosomas (mutaciones o aberraciones cromosómicas). Las mutaciones producen una población celular genéticamente heterogénea en la cual una célula que muestre una ventaja en la proliferación producirá un mayor número de células que sus vecinas, de modo que, este clon se expande a expensas de otros. Si se producen más mutaciones

entre las células descendientes de este clon, se generará un clon que muestra la capacidad de proliferación típica de una célula cancerosa. La progresión del cáncer puede estar relacionada con mutaciones en los genes que regulan la reparación del DNA. En condiciones normales los mecanismos de reparación del DNA eliminan muchas de las mutaciones generadas, pero las células en las cuales los mecanismos de reparación han sido afectados pueden fijar mutaciones en los genes que regulan la división celular, Así la rara enfermedad genética denominada *xeroderma pigmentosum*, que produce cáncer de piel, se debe a genes de reparación que se encuentran mutados. Y el cáncer de mama puede originarse cuando dos genes involucrados en la reparación del DNA, BRCA1 y BRCA2, se encuentran mutados.

A pesar de que el cáncer afecta a todas las nacionalidades humanas, existen regiones en el mundo donde la prevalencia de ciertos tipos de cáncer es muy alta, por lo que los epidemiólogos han tratado de encontrar factores, tales como el estilo de vida: la dieta, el hábito de fumar, la obesidad, el consumo de alcohol y la exposición a radiación ultravioleta, los cuales producen mutaciones somáticas, estimulan la división celular y/o alteran la progresión cancerosa. Factores que de alguna forma pudieran correlacionarse con el tipo más frecuente de cáncer que en esa región se presenta. Así el cáncer de pulmón se asocia con el hábito de fumar, se presenta en una frecuencia muy alta en los países desarrollados; el de estómago se asocia con la forma de preparar los alimentos (Tabla 14.1).

Tabla 14.1. Asociación entre los tipos de cáncer y el estilo de vida, en diferentes regiones geográficas del mundo.

Tipo de cáncer	Asociación	Región geográfica
Pulmón	Hábito de fumar	Norteamérica, Rusia, China, Corea
Estómago	Hábitos alimenticios: alimentos ahumados	Asia, Centroamérica, Colombia, Chile
Hígado	Virus de la hepatitis B, aflatoxinas	África, Sur de Asia, Japón
Cáncer de piel (melanoma)	Exposición al Sol	Latitudes medias: Norte-américa, Europa central, Suecia, Noruega, Australia, Nueva Zelandia
Cáncer de pecho	Exposición a estrógenos, dieta rica en grasas	Norteamérica, Argentina, Portugal, Europa central, Australia
Cáncer	Virus del papiloma	América central y del sur, India, Paquistán,

cervico-uterino

humano

Arabia, África

PAPEL DE LOS RETENES EN EL CICLO CELULAR

Tal como se mencionó en el capítulo 2, el ciclo celular está bajo control genético, es decir, está regulado. En cada etapa del ciclo celular se transcriben proteínas denominadas ciclinas que forman un complejo con las quinasas dependientes de las ciclinas (CDK), complejo que fosforila a proteínas blanco, las que son necesarias para la siguiente etapa del ciclo celular. Una vez que la ciclina específica es empleada en una etapa del ciclo celular, se degrada con el concurso de proteasas.

La célula es capaz de rastrear las condiciones internas y externas. En ausencia de los nutrientes necesarios, la célula animal es capaz de entrar en un estado de reposo. La estimulación en el crecimiento, cuando ya hay nutrientes, requiere que la célula reinicie el ciclo celular, proceso en el cual es necesaria la actividad del complejo ciclina D-CDK. Las células también son capaces de responder ante el estrés, la disminución de oxígeno, la falta de trifosfatos de nucleósidos en la poza, el daño al DNA y la pérdida en la adhesión celular. Cuando una o varias de estas deficiencias son detectadas el ciclo celular se para en uno de los retenes, los cuales son muy importantes para mantener la estabilidad genética de las células (Fig. 14.1).

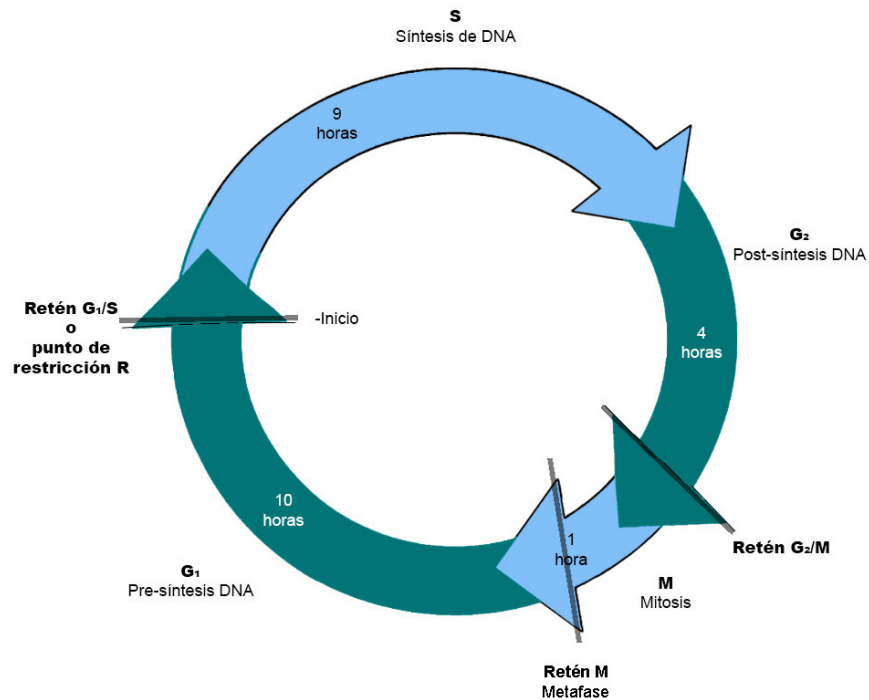


Fig. 14.1. Retenes del ciclo celular que mantienen la estabilidad genética de las células

Si el DNA está dañado, por rompimiento en el esqueleto fosfodiéster o por modificación en el apareamiento de las bases nitrogenadas, el ciclo celular se para. Los nucleótidos alterados pueden ser reparados mediante el patrón de reparación por excisión, mientras que si el DNA está dañado a nivel del esqueleto, la reparación se realiza después de la replicación. En las células animales el retén que checa si el DNA está dañado actúa en las tres etapas del ciclo celular: en la transición G1/S, en la etapa S y en la transición G2/M.

EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN P53

En las células animales existe una proteína que responde al estrés, y en particular, al daño en el DNA, es la proteína p53. En condiciones normales los niveles de p53 son muy bajos, actividad que se mantiene baja por la acción de la proteína Mdm2. Para que p53 actúe como factor de transcripción debe ser activada, primero fosforilada y luego acetilada. Entonces en condiciones normales p53 se une a Mdm2 lo cual impide su fosforilación y promueve su salida del núcleo al citoplasma donde se degrada. Cuando las células han estado en contacto con agentes que dañan al DNA, las células pueden pararse en G1 o en G2. El daño al DNA provoca que la p53 libre se active mediante quinasas y acetilasas que separan el complejo Mdm2-p53, por lo que p53 ya puede actuar como factor de transcripción (Fig. 14.2), de hecho, dispara la transcripción de muchos genes: (i) p21 que inhibe la formación de varios complejos de ciclinas-CDKs por lo cual las células se paran en el punto de restricción R (retén G1/S), (ii) GADD45 inhibe a la proteínas que se requieren para la replicación y reparación del DNA, (iii) 14-3-3sigma inhibe la activación de la ciclina B-CDK por lo que las células se paran en el retén G2/M (iv) *Bax* que actúa como regulador de la muerte celular programada (apoptosis), que cuando se activa se genera una cascada de proteólisis, mediada por caspasas, que culmina con el suicidio celular (Fig. 14.3).

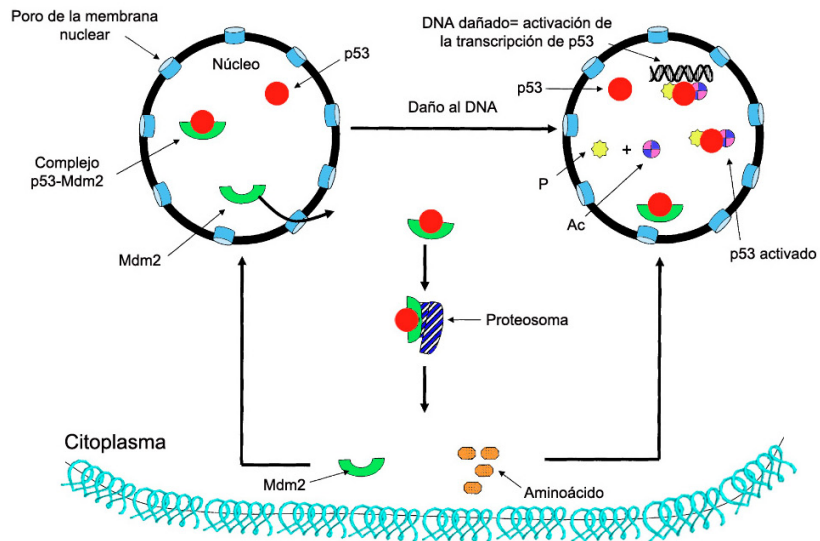


Fig. 14.2. Efectos del daño al DNA sobre la transcripción de p53

La muerte celular programada es un mecanismo de autodestrucción que mantiene la integridad de los tejidos al promover el suicidio de las células que están peligrosamente dañadas. La apoptosis puede ser activada en circunstancias muy diferentes, sin embargo, los eventos que ocurren siempre son los mismos: fragmentación del DNA, disrupción de los organelos, pérdida de la forma de las células (se hacen esféricas), las células se rompen en fragmentos que luego son fagocitados.

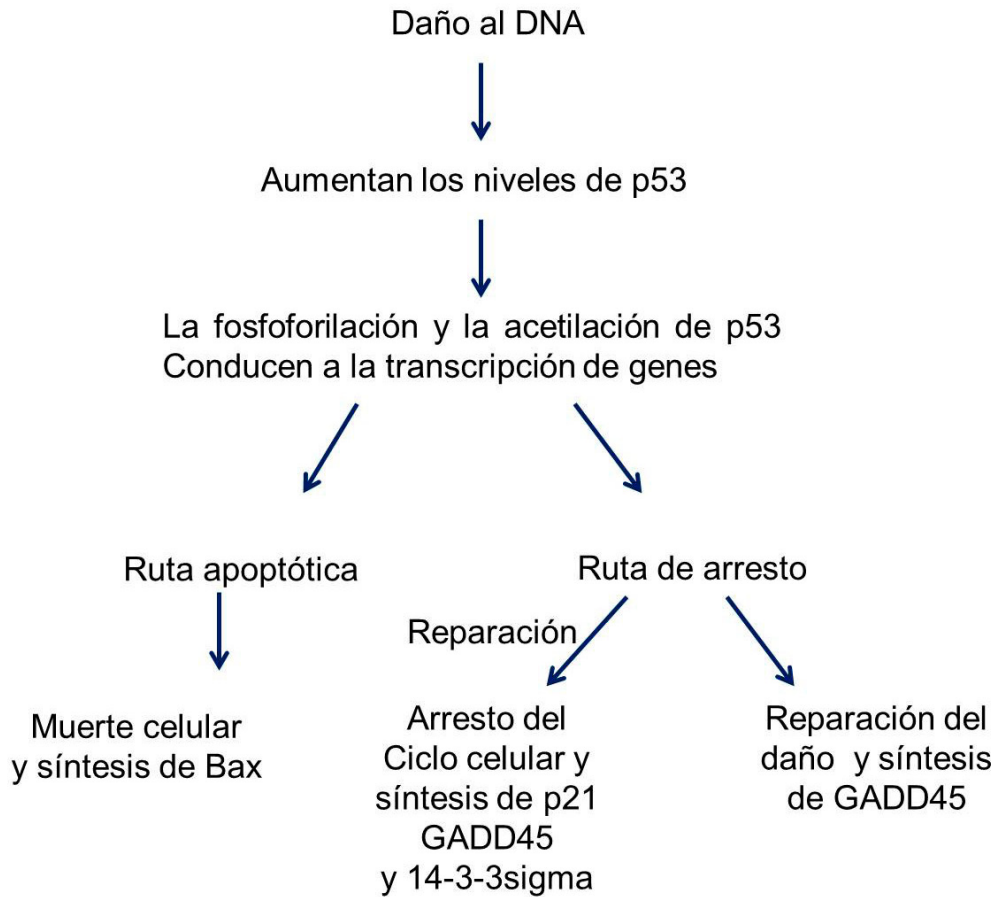


Fig. 14.3. Eventos que se disparan cuando se activa p53

p53 activa la transcripción de Bax, en condiciones normales Bax forma un heterodímero, con un inhibidor de la apoptosis denominado Bcl2. Cuando p53 activa la transcripción de Bax, se promueve la formación de un homodímero Bax-Bax que promueve el ciclo de muerte celular programada. Por otro lado, la activación de los genes asociados con cáncer (oncogenes) pueden aumentar la fosforilación de Bcl2 lo cual bloquea la ruta apoptótica y promueve la inmortalidad celular, es decir, el descontrol del ciclo celular (Fig. 14.4). Debido a las funciones que realiza el factor de transcripción p53 se le ha llamado también guardián del DNA.

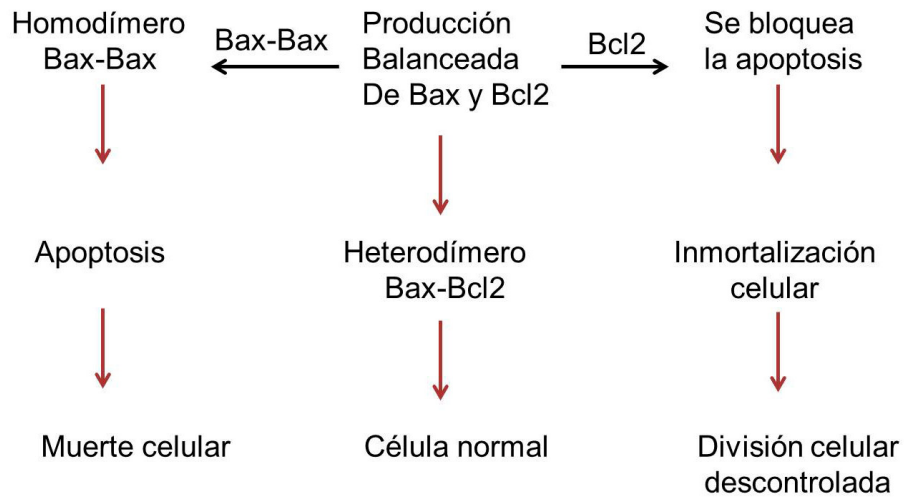


Fig. 14.4. Mecanismos mediante los cuales las proteínas Bax y Bcl2 interactúan para regular la apoptosis

Las fallas en los tres retenes del ciclo celular generan inestabilidad genética. Los defectos en los retenes que detectan daño en el DNA se traducen en aberraciones cromosómicas, tales como, translocaciones, deleciones y amplificaciones. Los errores en la duplicación del centrosoma pueden producir: (a) defectos en el huso acromático que se traducen en la formación de células aneuploides, (b) fallas en la división del centrosoma lo que genera células poliploides, (c) los errores de la detección del daño y al DNA generan mutaciones cromosómicas y amplificación génica (Fig. 14.5).

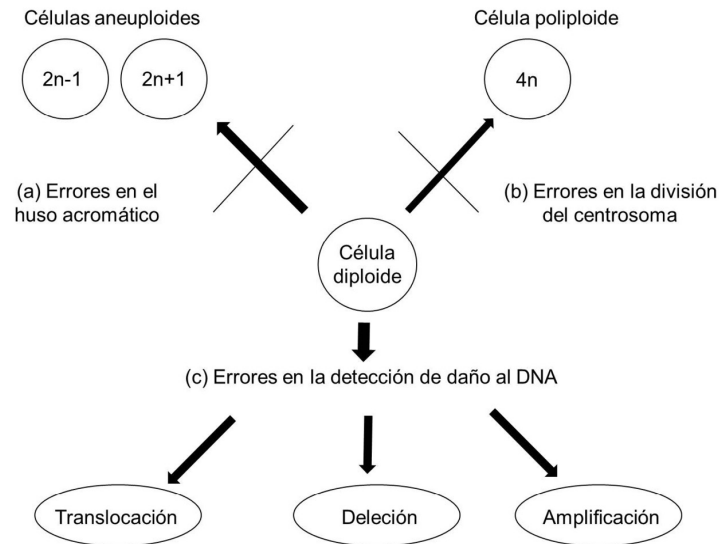


Fig. 14.5. Errores en los retenes del ciclo celular que contribuyen a la inestabilidad genética

ONCOGENES Y GENES SUPRESORES DE TUMOR

Muchos cánceres se producen por alteraciones en el ciclo celular, en particular en el sitio de restricción R, es decir, en la transición G1/S alteración que también afecta a la apoptosis a través de su interacción con p53. Se han descrito muchos genes que regulan la transición G1/S, y proteínas que promueven la progresión del ciclo celular, que activan a los retenes y que gobiernan la ruta apoptótica. Las células tumorales muestran una expresión alterada o una inactivación en uno o varios de estos genes (Fig. 14.6). Los genes que están involucrados en la progresión de las células tumorales son de dos tipos: los oncogenes y los genes supresores de tumores.

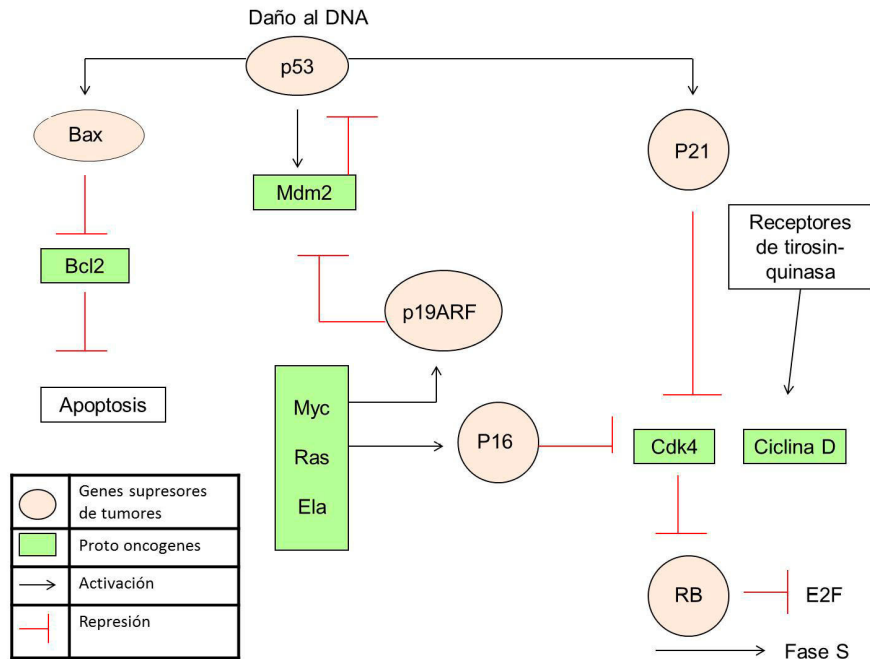


Fig. 14. 6. Interacciones entre los patrones de las proteínas p53 y RB en el control de la apoptosis y la síntesis de DNA

Los oncogenes se originan por mutación de los protooncogenes, genes responsables de funciones celulares básicas. Fueron descubiertos por Peyton Rous en 1909 quien identificó en un sarcoma de gallina a un virus que denominó virus del sarcoma de Rous. Sin embargo, fue hasta 1970 cuando se identificó y aisló del virus sarcoma de Rous al primer oncogen bautizado como *src*. Actualmente se conocen múltiples oncogenes muchos de los cuales en su función normal como protooncogenes son factores de transcripción (*fos*, *jun*, *myc*). Las mutaciones que dan origen a los oncogenes son dominantes por lo que un solo alelo es suficiente para estimular la división celular.

Los genes supresores de tumores, por su parte, impiden que ocurra la proliferación celular. Son más difíciles de identificar porque son recesivos, de modo que ambos alelos tienen que haber mutado para que pueda inhibirse la división celular. La pérdida de la heterocigosis del alelo normal del gen puede poner en evidencia al gen supresor de tumor. Sin embargo la pérdida del alelo recesivo es suficiente para provocar la proliferación descontrolada (*BRCA1*, *p53*, *RB*) Los genes que regulan el ciclo celular y que están alterados en las células tumorales se muestran en la tabla 14.2.

Tabla 14.2. Consecuencias de las alteraciones en los genes que regulan

el ciclo celular en la formación de tumores y tipo de cáncer en el que se presentan más frecuentemente.

Tipo de Gen	Alteración	Consecuencia	Tipo de cáncer (%)
Proto-oncogenes Ciclina D	Sobre-expresión	Promueve la entrada a la fase S	Carcinoma de esófago (35), cáncer de pecho (50)
Cdk 4	Amplificación/mutación	Promueve la entrada a la fase S	Gliomas y sarcomas
EGFR (receptor del factor de crecimiento de la epidermis)	Amplificación o sobre-expresión	Promueve la proliferación mediante la activación constitutiva del factor de crecimiento que activa a la proteína G involucrada en la transducción de señales	Gliomas y astrocitomas (50)
FGFR (factor de crecimiento de fibroblastos)			Cáncer de pecho (20)
Ras	Amplificación y/o mutación	Promueve la proliferación inactiva la actividad de la, GTPasa lo que genera crecimiento y división descontrolada	
Bcl2	Sobre-expresión	Bloquea la apoptosis	
Mdm2	Amplificación	Pérdida de los retenes G1/S y G2/M	Tumores del tejido adiposo (42), osteosarcomas (16), carcinoma de esófago (13)
Genes supresores de tumores p 53	Mutación	Pérdida de las funciones de los retenes	50% de todos los tipos de cáncer: melanoma,

			pulmón, colon, riñones, vejiga, próstata y astrocitos
p21	Mutación	Pérdida de la función del retén G1/S	Gliomas (55), melanomas (50) y carcinomas de varios tipos (50)
Rb	Mutación	Promueve la proliferación al liberar al factor E2F	Melanomas, carcinoma de pulmón y sarcomas (óseos y adiposo)
Bax	Mutación	No se promueve la apoptosis en células dañadas	Adenocarcinoma gástrico y carcinoma colorectal

CÁNCER DE ORIGEN FAMILIAR (O HEREDITARIO)

Como ya se mencionó cerca del 10% de todos los cánceres tiene un origen familiar, es decir, que una de las mutaciones que se asocia con la progresión se hereda a través de la línea germinal. La presencia de esta mutación predispone al individuo al cáncer ya que se reduce el número de mutaciones que se requieren para que una célula precancerosa se transforme en cancerosa. En la actualidad se han caracterizado diversos tipos de síndromes cancerosos debidos a alteraciones hereditarias en diversos genes. Cada tumor progresa por un camino diferente, dependiendo de la mutación hereditaria que el individuo porte, y del momento en que ésta se exprese en una célula (Tabla 14.3).

Tabla 14.3. Síndromes cancerosos hereditarios.

Síndrome	Tumor primario	Tumor secundario	Gen/cromosoma/banda	Funciones
Cáncer colorectal	Cáncer colorectal	Cáncer de ovario, glioblastoma	M5H2/2p22	Reparación de DNA desapareada
Cáncer de	Cáncer de	Cáncer de	BRCA/17q21	Reparación

pecho	pecho	ovario		de rompimientos en la doble hélice
Li-Fraumeni	Sarcoma, cáncer de pecho	Tumor cerebral, leucemia	p53/17p13	Factor de transcripción
Melanoma	Melanoma	Cáncer de páncreas	p16/9p21	Inhibición de Cdk4 y 6
Poliposis adenomatosa del colon	Cáncer colorectal	Tumores gástricos	APC/5q21	Regulación de beta catenina
Retinoblastoma	Retinoblastoma	Osteosarcoma	RB1/13q14	Regulador del ciclo celular (punto R)
Xeroderma pigmentosum	Cáncer de piel		XPB, D, A en diversos cromosomas	Reparación por excisión

TRANSFORMACIÓN DE CÉLULAS NORMALES A TUMORALES: LAS INFECCIONES VIRALES

Las células normales en cultivo pueden, eventualmente, ser infectadas por virus. El comportamiento viral en las células *in vitro*, muestra dos caminos (tal como ocurre con un bacteriófago) que se describieron en el capítulo 8: el lítico y el lisogénico. La infección tipo lisogenia produce en las células en cultivo una morfología particular: las células pierden el contacto entre sí para formar densos cúmulos denominados *fosi* por lo que pierden la característica de las células normales *in vitro* de crecer en monocapa. Por metodologías moleculares (mapeo de restricción) se ha mostrado que los virus se integran al azar al genoma de las células, quedando en calidad de provirus. Los virus que contienen DNA se integran directamente, mientras que los retrovirus primero se transcriben a DNA, proceso que es mediado por la transcriptasa inversa, y luego se integran. Como se recordará el genoma de los virus contiene genes de dos tipos: los que promueven el ciclo lítico, y los que promueven el lisogénico. Algunos de los genes que regulan la expresión proteica viral son oncogenes. Por ejemplo, el virus del sarcoma (v-src) tiene un oncogen homólogo en el genoma de vertebrados (c-src) que codifica para una proteína que es esencial para la proliferación celular normal. Durante la transducción el oncogen pudo ser transportado a otros

individuos o a miembros de otra especie. La sobre-expresión de este gen puede alterar el crecimiento de las células por varios mecanismos. Algunos retrovirus portan el oncogen celular (c-src) que está bajo el control genético del promotor viral (v-src). Otros retrovirus no portan ningún oncogen celular, pero cuando el provirus se integra en un cromosoma, al lado de un oncogen, puede suceder que éste se sobre-exprese al estar bajo el control del promotor viral, tal es el caso del virus que produce leucemia en pollos (denominado ALV por sus siglas en inglés) que se inserta al lado del protooncogen c-myc (Fig. 14.7).

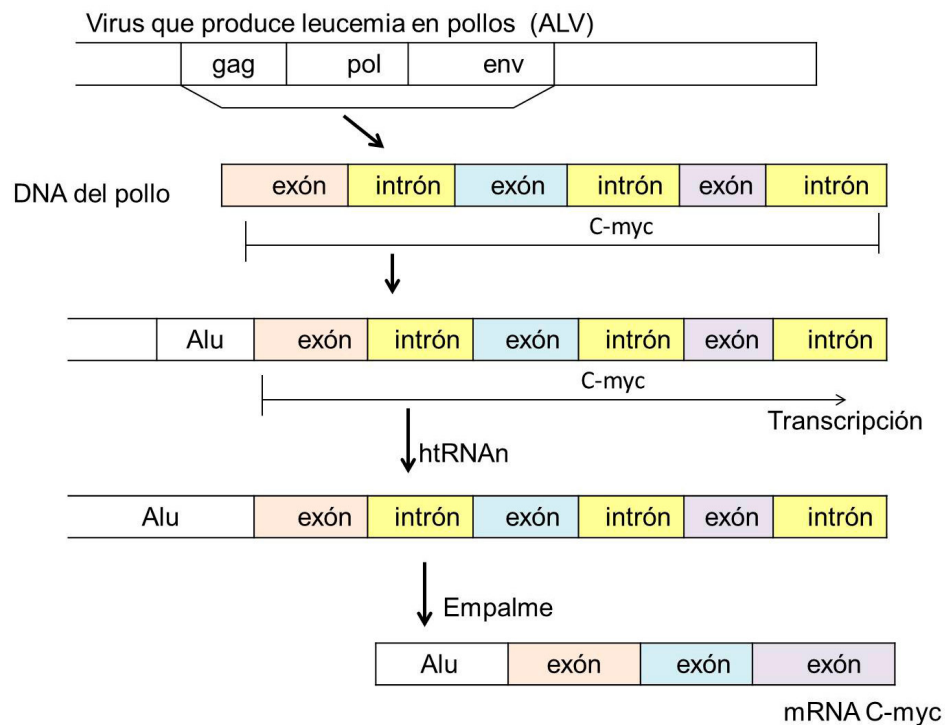


Fig. 14. 7. Integración del virus ALV adyacente al proto oncogen C-myc

El análisis de la función de oncogenes puede realizarse por metodologías moleculares: se extrae el DNA de una célula cancerosa, se fragmenta en piezas pequeñas, luego cada pieza (marcador molecular) se une, por ingeniería genética a un plásmido bacteriano. Los fragmentos marcados se introducen después a células normales en cultivo para detectar si éstas pueden ser transformadas. Este procedimiento se conoce como *transfección*. El gen c-ras es homólogo al virus del sarcoma de rata. El oncogen mutado c-H-ras (un cambio en el nucleótido 12 produce una sustitución de valina por glicina) no sintetiza grandes cantidades de proteína, además de que la proteína mutada no es capaz de hidrolizar uno de sus sustratos (GTP) por lo cual se mantiene la señal activa lo que estimula a las células a dividirse de forma descontrolada (Fig. 14.8).

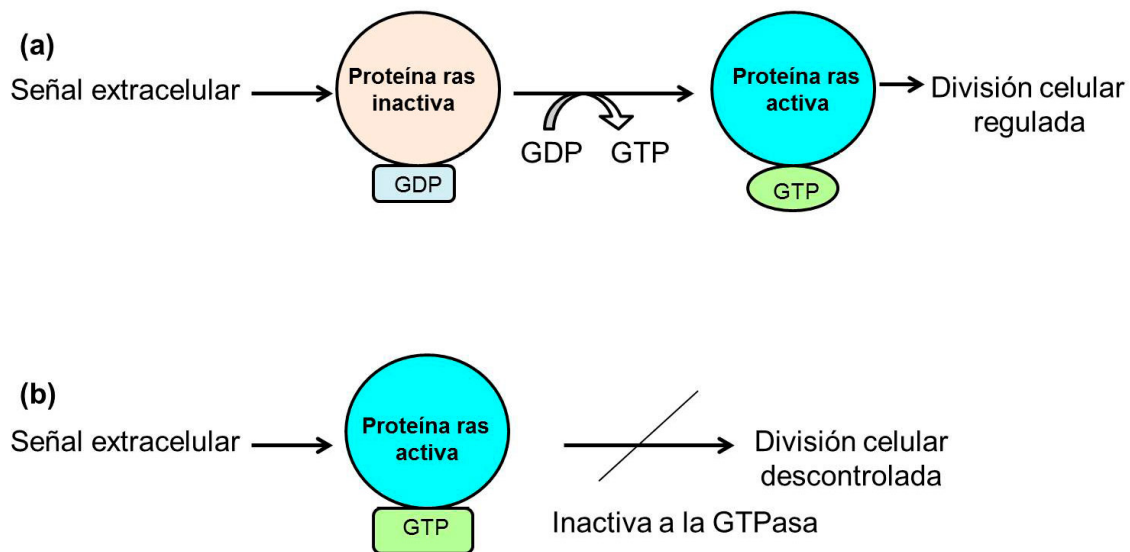


Fig. 14. 8. Señales de la proteína ras (a) normal (b) oncogénica

VIRUS Y CÁNCER HUMANO

En 1980 Robert Gallo de los Institutos Nacionales de Salud de EUA mostró que un tipo muy raro de leucemia en los seres humanos se debía a la integración de un virus, el virus linfotrófico- T (HTLV-1), fenómeno que se lleva a cabo de forma semejante a la integración de ALV en pollos: el promotor del provirus induce la sobre-expresión del gen que codifica para el factor de crecimiento de los linfocitos T. Posteriormente se aisló este gen en pacientes que sufren de SIDA por lo que Gallo y Montagnier lo denominaron virus de inmunodeficiencia adquirida (VIH).

Los virus de DNA y de RNA que infectan a los seres humanos han sido asociados, en muchos casos, a diversos tipos de cáncer: la exposición al virus que produce la hepatitis B incrementa varios órdenes de magnitud el riesgo de desarrollar hepatomas; el virus del papiloma (HPV) con cáncer cervicouterino y el virus de Epstein-Bar, que produce mononucleosis, con el desarrollo de linfomas. Se ha demostrado, en casi todos los casos de cáncer cervicouterino, una asociación epidemiológica entre la infección con HPV y el cáncer. El mecanismo es el siguiente: dos de las oncoproteínas codificadas por HPV se pegan a las proteínas supresoras de tumores generando su inactivación. La proteína E6 se pega a p53 y la E7 a Rb.

CÁNCER Y TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES

Hasta ahora se ha considerado al cáncer como un grupo de enfermedades

genéticas íntimamente relacionadas con los mecanismos de proliferación celular. Sin embargo, para comprender como funcionan las oncoproteínas en la bioquímica celular, el cáncer podría ser considerado también como una enfermedad relacionada con la transducción de señales. Los patrones moleculares mediante los cuales las señales de crecimiento se retransmiten de fuera de la células hacia el citoplasma y el núcleo se denominan *transducción de señales*. Debido a que en varios puntos de la ruta de transducción, la señal puede conducir a que se sigan rutas alternativas, las reacciones en la ruta de transducción se refieren como si fueran una cascada de reacciones.

Un patrón de transducción de señales inicia con la llegada de un “primer mensajero”, que puede ser una hormona, un factor de crecimiento o moléculas tipo insulina, a la superficie celular. Estos mensajeros suelen producirse en una parte del cuerpo y actuar en otra, de cualquier forma permiten la comunicación entre células. Una vez que llega a la superficie celular el mensajero primario, éste se une a la membrana celular a través de un receptor de membrana que transduce la señal química hacia la parte interna de la membrana provocando cambios físicos en el receptor, tales como, su dimerización. Este receptor modificado interactúa con un “segundo mensajero” que introduce la señal al citoplasma y al núcleo. La interacción de estos segundos mensajeros con las proteínas de unión al DNA, que se pegan a las secuencias reguladoras e inician la transcripción de genes específicos, generan las proteínas que regulan la división celular y el crecimiento.

Las mutaciones en cualquiera de las proteínas de la ruta de transducción pueden alterar las señales que regulan la proliferación celular. Las células cancerosas generalmente muestran mutaciones en varias proteínas involucradas en la transducción de señales, otro hecho que apoya el supuesto de que el cáncer requiere de varios eventos mutacionales.

MICRO-RNA Y CÁNCER

Los micro-RNA son pequeñas moléculas de RNA que se aparean con moléculas de RNA mensajero al cual degradan o impiden su traducción. Los micro-RNAs controlan por tanto la expresión genética y el desarrollo. Se ha encontrado, en experimentos con ratones, que la progresión tumoral se debe en gran medida a la ausencia de microRNA en la célula. Se sugiere que concentraciones bajas de micro-RNA en la célula contribuyen al cáncer al posibilitar niveles altos de expresión de oncogenes que se encuentran, en condiciones normales, regulados por los micro-RNA. Así el micro-RNA let-7 controla la expresión del oncogen ras, de modo que si las concentraciones de let-7 en las células de pulmón son bajas se promueve la expresión de la proteína Ras asociada con la formación de cáncer de pulmón. Otros micro-RNA han podido asociarse con la metástasis de tumores de mama, en los cuales altos niveles del micro-RNA 10b promueven la invasión a otros tejidos.

15. HERENCIA EXTRANUCLEAR

Nueve años después del redescubrimiento del trabajo de Gregorio Mendel se describe un tipo de herencia no mendeliana denominada materna (Correns, 1909). 40 años después se describe en *Saccharomyces cerevisiae* el fenómeno se establece la herencia uniparental debida a genes citoplasmáticos que segregan en la proporción 4:0. En este capítulo se analizarán los patrones de herencia extracromosómica, no mendeliana, uniparental, citoplásmica o materna que genéricamente se conocen como herencia extranuclear y se deben a genes que se encuentran fuera del genoma nuclear. Estos genes presentan patrones de transmisión hereditaria característicos, ya que, generalmente se transmiten a través de un sólo progenitor durante la reproducción sexual. Además los genes extranucleares segregan rápidamente durante la mitosis mientras que los genes nucleares segregan durante la meiosis. Los genes extracromosómicos más importantes se encuentran en organelos tales como las mitocondrias y los cloroplastos, su genoma se conoce como mtDNA y cpDNA, respectivamente. Codifican para sus rRNAs y tRNAs específicos, y sus mRNAs se traducen en polipéptidos específicos para el organelo. Los virus y los plásmidos se consideran elementos genéticos extranucleares ya que portan información genética propia y a diferencia de las mitocondrias y los cloroplastos pueden existir de forma autónoma o en forma integrada.

PATRONES DE HERENCIA EXTRANUCLEAR

Varios son los hechos que pueden apoyar un patrón de herencia extranuclear, entre ellos:

1. Las cruza recíprocas producen progenies diferentes. Cuando se sospecha que existe un patrón de herencia extranuclear, entonces, se realizan cruza recíprocas encontrándose que el carácter en cuestión se hereda solamente por la línea materna. La herencia uniparental se debe a que el óvulo materno provee de todo o casi todo el citoplasma en el que va a desarrollarse el embrión, el gameto masculino, por regla general, sólo aporta el núcleo.

2. La progenie muestra herencia no mendeliana en cuanto a la segregación de los productos meióticos. Cuando los genes son nucleares la segregación en los gametos se da en la proporción 2:2, cuando se trata de herencia extracromosómica la segregación que se obtiene es 4:0 ó 0:4.
3. Los factores extranucleares no pueden mapearse con los genes nucleares porque muestran comportamiento independiente.
4. Los factores extranucleares se transmiten a través del citoplasma.
5. Los factores extranucleares en general y los genes de los organelos en particular segregan rápidamente por divisiones mitóticas sucesivas asincrónicas, generando, en muchas ocasiones, el efecto variegado (segregación vegetativa).

HERENCIA DE LOS GENES QUE SE ENCUENTRAN EN LOS ORGANELOS

Los patrones hereditarios de los genes que se encuentran en los organelos pueden estudiarse en tres niveles distintos: expresión, segregación citoplásmica y herencia materna.

EXPRESIÓN

Debido a que una célula tiene muchos organelos, del orden de cientos a miles, es difícil observar cómo una mutación que afecta la expresión de un solo organelo puede influir en el fenotipo de una célula o de un organismo. Sin embargo, muchas mutaciones en los organelos son supresoras, sus frecuencias aparecen y desaparecen enteramente por azar. Un ejemplo de mutaciones supresoras de la expresión es la mutación *petite* en *Neurospora crassa* que genera una deficiencia general en la energía del organelo que se traduce en un tamaño más pequeño. Los organelos que portan la mutación se replican más rápido por lo que se propagan rápidamente. Si una célula *petite* se une a una célula normal se forma un *heteroplasmonte*, las mitocondrias pequeñas irán aumentando en la mezcla rápidamente generándose más células *petit*, se producirán más individuos que porten la mutación *petite*. Esta mutación se debe a que el origen de la replicación se encuentra duplicado, es decir, es

una mutación supresora.

Entre los seres humanos, las citopatías asociadas a las mitocondrias se presentan en células que nunca se dividen, también llamadas postmitóticas, en las que la enfermedad se expresa por un efecto umbral; cuando el número de copias atraviesa el umbral la enfermedad se expresa. Cabe hacer notar que el umbral es variable y característico de las distintas estirpes celulares. Si los niveles altos de mutaciones en el mtDNA se encuentran en el músculo cardíaco, las funciones de éste pueden estar severamente afectadas (Tabla 15.1).

Tabla 15.1. Porcentaje de mutaciones en el mtDNA de diversas células humanas.

Estirpe celular	Porcentaje de la mutación
Músculo liso	4
Cerebro	14
Hígado	14
Corazón	40
Riñón	40
Músculo esquelético	50

SEGREGACIÓN CITOPLÁSMICA

Cuando en una célula coexisten organelos silvestres y organelos mutados, esta célula se denomina heteroplasmonte. Si ésta se divide asexualmente, las células hijas contendrán solamente uno u otro organelo. Este fenómeno se llama segregación citoplásmica y es la base de la prueba del heterocarionte en hongos filamentosos: Si una cepa porta una mutación extracromosómica que produce crecimiento lento de las hifas (*sg-*) y el marcador prototrófico para la biosíntesis de la leucina (*leu+*) y se cruza por otra cepa *sg+ leu-* se forma un heteroplasmonte *sg- leu-* debido a que en condiciones normales

nunca hay fusión nuclear ni recombinación en el heteroplasmonte, por lo que las células auxótroficas derivan exclusivamente de la segregación citoplásmica (Fig. 15.1).

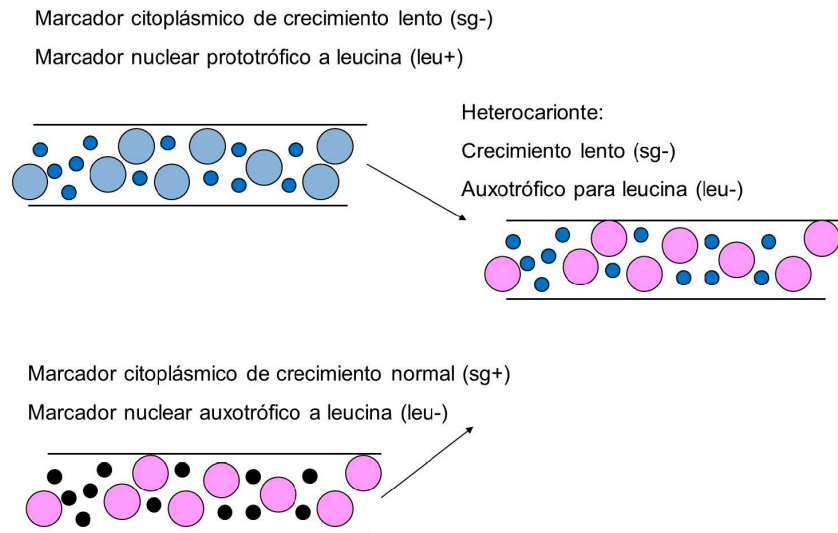


Fig. 15.1. Prueba del heteroplasmonte. Segregación citoplásmica en *Neurospora crassa*

HERENCIA MATERNA

La influencia del ambiente celular materno en el fenotipo de un embrión en gestación se conoce como efecto materno. Es un fenómeno que se refiere, por lo tanto, a la transmisión durante la reproducción sexual del aporte del citoplasma del óvulo al huevo.

Las primeras evidencias sobre la herencia uniparental o materna, es decir, sobre la presencia de genes extranucleares las obtuvo Ruth Sanger en los años 1950s en *Chlamydomonas reinhardtii* organismo en el que encontró que el antibiótico estreptomina produce mutaciones extranucleares que afectan la susceptibilidad, resistencia y dependencia al antibiótico. Además aisló mutaciones extranucleares que afectan la respuesta celular a antibióticos, así como mutaciones que alteran la fotosíntesis. Sanger propuso que este patrón hereditario se debía a genes que se encuentran en los

cloroplastos (Fig. 15.2).

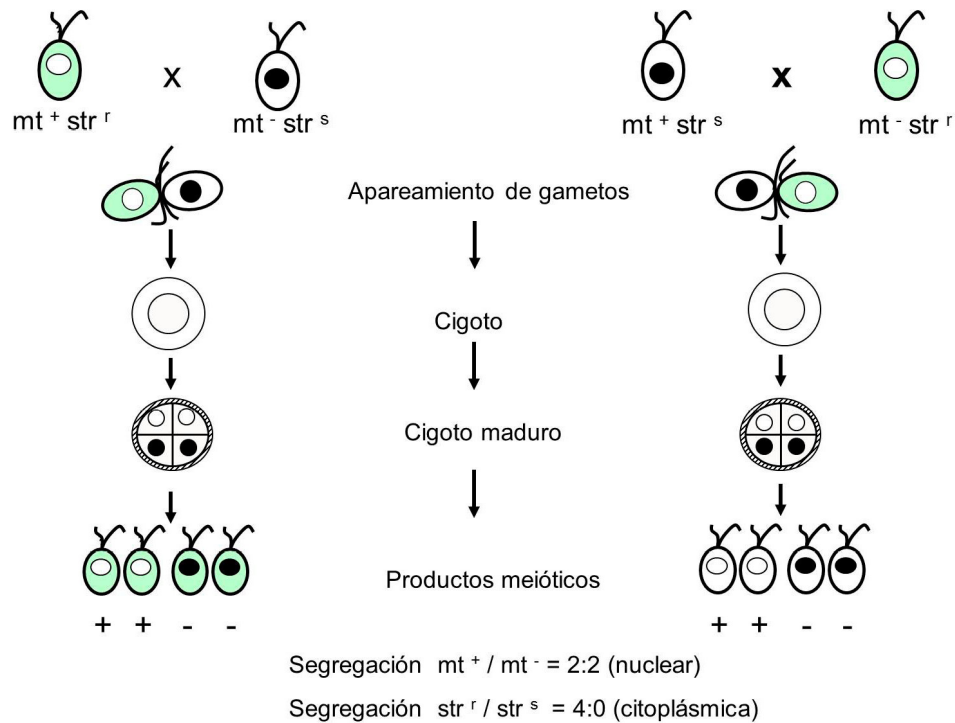


Fig. 15.2. Herencia uniparental de resistencia y susceptibilidad a estreptomicina en *Chlamydomonas reinhardtii*

El mutante “poky” de *Neurospora* crece lentamente y tiene cantidades anormales de citocromo c, pero no contiene ni citocromo a ni b. Las cruces entre mutantes poky x silvestres generan una progenie poky, mientras que la recíproca produce solamente progenie silvestre (Fig. 15.3). Por lo que Mary Mitchel estableció en 1952 que este patrón hereditario es de origen materno.

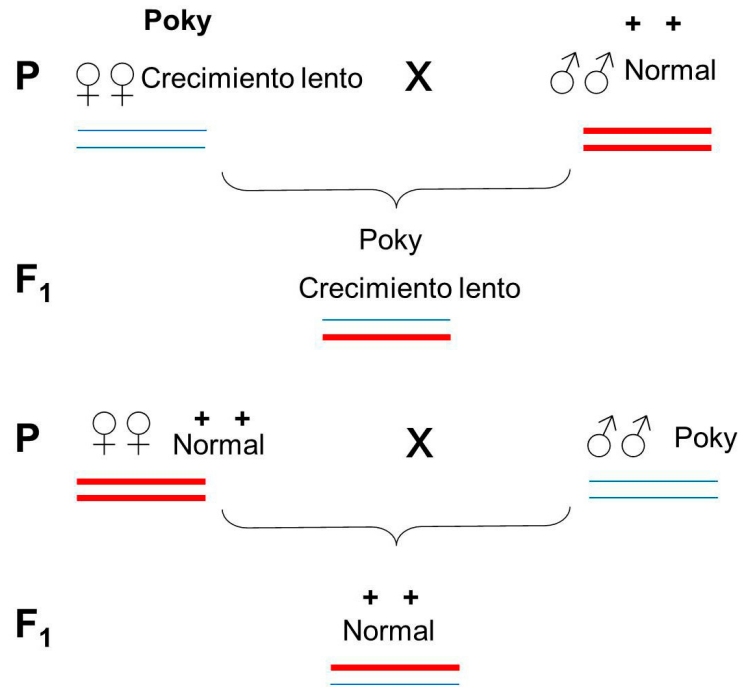


Fig. 15.3. Herencia materna en *Neurospora crassa*

La herencia de la variegación del color en las hojas de la planta *Mirabilis jalapa*, fue descrita por Carl Correns en 1909, como un patrón de herencia materna. Correns hizo diversas cruza con las que pudo demostrar su propuesta (Tabla 15.2). Además pudo mostrar que el fenotipo del macho es irrelevante, porque su contribución a la progenie es de cero.

Tabla 15.2. Resultados obtenidos por Carl Correns (1909) al cruzar plantas de *Mirabilis jalapa* con ramas verdes, blancas y variegadas.

Fenotipo de la rama que porta la flor ♀	Fenotipo de la rama que porta la flor ♂	Fenotipo de la progenie F1
Blanco	Blanco	Blanco (letal)
Blanco	Verde	Blanco (letal)

Variegado	Blanco	Variegado
Blanco	Variegado	Blanco
Variegado	Verde	Variegado
Verde	Blanco	Verde
Verde	Verde	Verde

En el caracol *Limnea peregra* la concha puede enrollarse hacia la derecha o hacia la izquierda, característica que se debe a un gen D que se comporta de forma mendeliana. En condición homocigota dominante y heterocigota (DD, Dd) produce helicoidización dextral, mientras que la condición homocigota recesiva (dd) produce conchas sinestras. Cuando se cruzan caracoles con concha dextral por caracoles con concha sinestral, la progeie muestra toda helicoidización dextral; la crucea recíproca produce caracoles con helicoidización hacia la izquierda (Fig. 15.4).

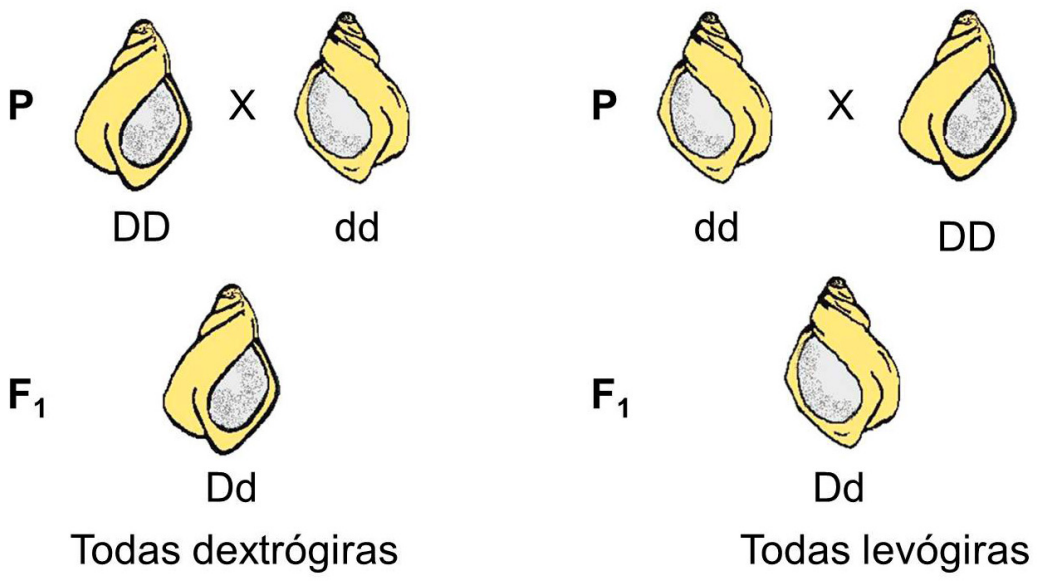


Fig. 15. 4. Helicoidización de la concha en el caracol *Limnea peregra*

HERENCIA INFECCIOSA

Los genes extranucleares pueden estar presentes en las células en forma de plásmidos, virus o bacterias.

La diferencia entre los genes que portan los organelos y los que portan los plásmidos, virus o bacterias es que la célula no puede vivir sin estos últimos. Muchos virus y bacterias pueden transferirse en las células de los eucariontes durante la reproducción. En *Paramecium aurelia* la bacteria kapa se transmite durante la conjugación a través del citoplasma. Sin embargo, el mantenimiento de kapa requiere de la presencia en el núcleo de un alelo dominante K, de modo que, las células homocigotas recesivas (kk) no pueden mantener a las partículas kapa aún cuando éstas se transfieran durante la conjugación. Los paramecios KK ó Kk son asesinos y resistentes a la toxina que produce kapa (Fig. 15.5). Existen otros ejemplos de herencia materna en diversos organismos. En *Drosophila melanogaster* la presencia del virus sigma en el genoma, en calidad de profago, altera la sensibilidad al CO₂ el virus se transmite por línea materna exclusivamente. En ratones la expresión de tumores en las glándulas mamarias está mediada por la presencia de un virus que se comporta como un oncogen.

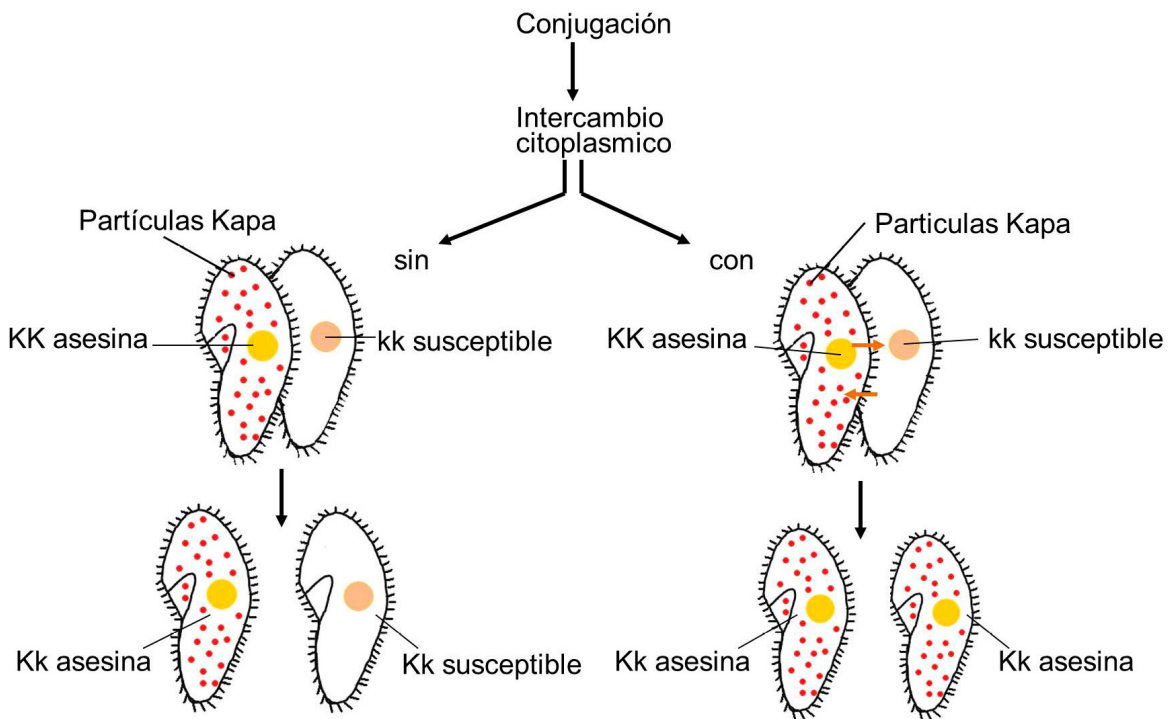


Fig. 15.5. Transmisión de kapa en *Paramecium aurelia*

DNA EN LOS ORGANELOS

La primera evidencia sobre la presencia de DNA en los organelos se obtuvo en 1963, se demostró que el DNA es de doble hélice, circular, con una circunferencia media entre 4.5 y 5.9 μ m en animales y de 30 a 34 μ m en plantas. Posteriormente se demostró la réplica semiconservativa con un punto de origen. Son semiautónomos porque no pueden vivir fuera de la célula ya que dependen, en parte, de la información genética contenida en el núcleo que especifica su estructura, función y regulación. En 1966 A. Linnane mostró que la síntesis de proteínas en el citoplasma y en las mitocondrias podría inhibirse mediante el empleo de algunos antibióticos y drogas, así la cicloheximida para la síntesis de proteínas en el citoplasma más no en las mitocondrias, mientras que el cloramfenicol y la eritromicina muestran el efecto contrario. Posteriormente se descubre la presencia de ribosomas en los cloroplastos y en las mitocondrias, en los primeros 70s y en las

segundas 55s y 80s.

Los organelos se pueden aislar mediante métodos de fraccionamiento celular. Su DNA es circular, sin proteínas asociadas, es decir, es desnudo y existen muchas copias en una célula, ya que existen muchos organelos en la célula. Dentro del organelo existen muchas regiones, algunas de las cuales, se tiñen más intensamente que el resto por lo que se denominan *nucleoides*. Cada nucleoide puede contener de 4 a 18 moléculas de cpDNA, de modo que, por ejemplo una sola célula de betabel puede contener 40 cloroplastos, cada cloroplasto puede portar de 4 a 8 nucleoides, cada nucleoide a su vez contiene de 4 a 18 moléculas de cpDNA así que en cada célula puede haber 5,760 copias del DNA del cloroplasto ($40 \times 8 \times 18 = 5,760$). En cuanto al contenido de las mitocondrias en las células, por ejemplo, una célula haploide de levadura puede contener de 1 a 45 mitocondrias, cada una contiene de 10 a 30 nucleoides, con 4 a 5 moléculas de cada nucleoide. En una célula humana puede haber de 2 a 10 moléculas de mtDNA, sin embargo, el número es muy variable ya que en un fibroblasto puede haber cientos de moléculas de mtDNA hasta alrededor de 100,000 en un oocito.

El DNA de las mitocondrias (mtDNA) y el de los cloroplastos (cpDNA) realizan funciones relacionadas con la obtención de energía, es decir fabrican ATP. El primero mediante la fosforilación oxidativa y el segundo por medio de la fotosíntesis.

mtDNA

Las mitocondrias suministran la mayor parte de la energía que se requiere para la actividad de las células (respiración celular) a través de la oxidación de metabolitos (glucosa, ácidos grasos y aminoácidos) mediante el ciclo de Krebs, la beta-oxidación de ácidos grasos y la fosforilación oxidativa obteniéndose ATP.

Para 1981 se había determinado la secuencia completa del DNA mitocondrial humano, genoma que consiste de 16,569 pares de bases (Fig. 15.6 a). El genoma de las mitocondrias humanas contiene alrededor de 37 genes, en contraste con los 3×10^6 kb y cerca de 40,000 genes del genoma nuclear. La herencia de las mitocondrias es particular ya que los hijos las heredan de la madre,

debido a que se encuentran en el óvulo, por tanto solamente las mujeres las transmiten a la siguiente generación.

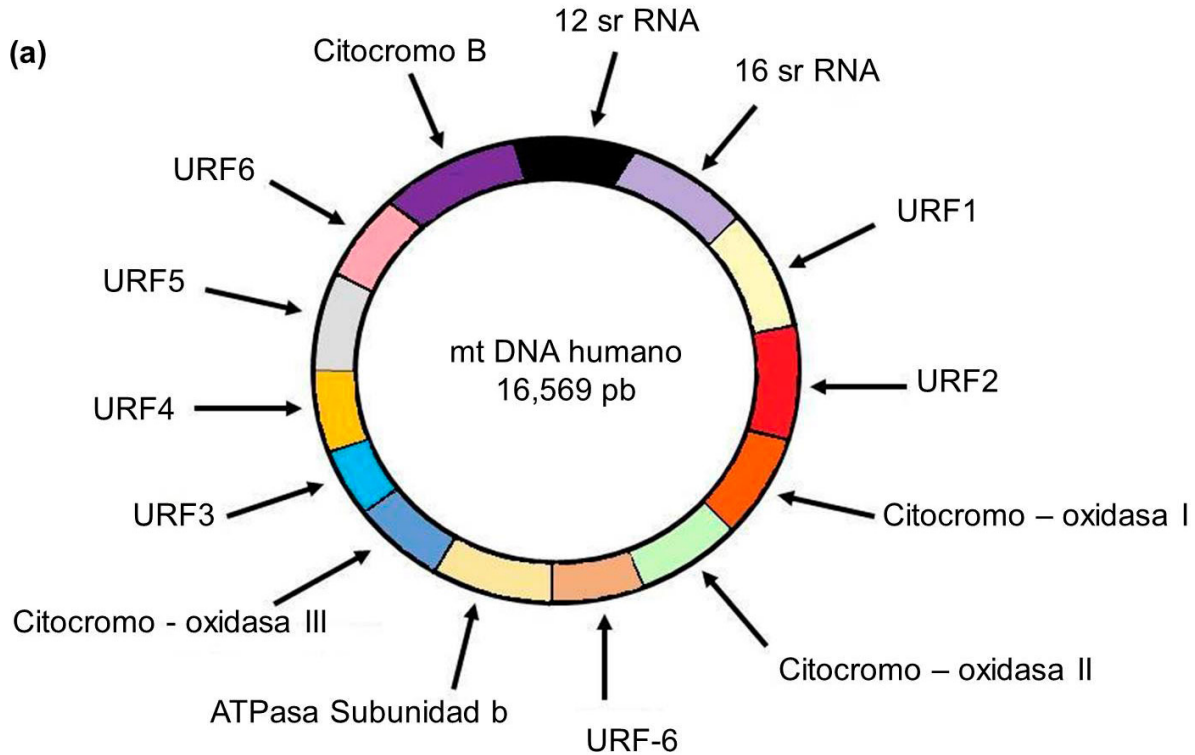


Fig. 15. 6a. Genoma mitocondrial humano: (a) organización del genoma

El genoma mitocondrial codifica para algunas de las proteínas del sistema de fosforilación oxidativa y para los tRNAs, rRNA y proteínas que se emplean en la síntesis de proteínas. El resto de las proteínas se traducen, a partir de mRNA nuclear, en el citoplasma y se transportan a la membrana de la mitocondria donde se ensamblan. Los polipéptidos para las enzimas de la cadena respiratoria se encuentran en las mitocondrias de las levaduras, sin embargo, también se encuentran en los genes nucleares. Las enzimas para el transporte de electrones y para la fosforilación oxidativa se producen por la acción cooperada de los genes nucleares y extranucleares.

Se ha mostrado la presencia de exones e intrones y de regulación

post-transcripcional, por adición de ácido poliadenílico al mRNA maduro. El código genético o codones del genoma mitocondrial es sensiblemente diferente al nuclear, algunos codones diferentes son: AUG en lugar de ser codón de iniciación como en el genoma nuclear, codifica para isoleucina; UGA en el genoma mitocondrial codifica para triptofano, en lugar de ser codón de terminación; AGA Y AGG son codones de terminación en las mitocondrias en lugar de codificar para arginina como ocurre en el genoma nuclear (Tabla 15.3). Otras sorpresas son que los genes mitocondriales contienen intrones y además marcos de lectura abiertos no asignados (URFs) que son secuencias que tienen codones de iniciación correcta, interrumpida por codones de término. Algunos URFs especifican, dentro de los intrones, para la unión de proteínas de empalme alternativo. El genoma mitocondrial humano es más compacto que el de la levadura.

Tabla 15.3. Código genético del mtDNA.

1ra. letra	2da. Letra *				3ra. letra
	U	C	A	G	
U	F	S	Y	C	U
	F	S	Y	C	C
	L	S	Término	W (Término)	A
	L	S	Término	W	G
C	L	P	H	R	U
	L	P	H	R	C
	L	P	G	R	A
	L	P	G	R	G
A	I	T	N	S	U
	I	T	N	S	C
	I	T	K	Término (R)	A

	I (M)	T	K	Término (R)	G
G	V	A	N	G	U
	V	A	N	G	C
	V	A	Q	G	A
	V	A	Q	G	G

* Los paréntesis indican la diferencia con el código genético nuclear

cpDNA

Los cloroplastos son los organelos en los cuales se realiza la fotosíntesis, proceso que tiene dos fases: la luminosa y la oscura. En la primera la energía solar es captada por los electrones de la clorofila y convertida a energía química con la producción de ATP y de NADPH⁺. La fase oscura se caracteriza por ser la fase en la cual se fija el CO₂ mediante el ciclo de Calvin que se realiza en el estroma de los cloroplastos con la producción de carbohidratos.

El genoma del cloroplasto codifica para cuatro tipos de rRNA, para 31 tipos de tRNA y contiene además alrededor de 90 genes que codifican para diversas proteínas, de ellas, 20 están relacionadas con la fotosíntesis y el transporte de electrones. Muchas de las proteínas necesarias para estas rutas se sintetizan en el organelo, otras se sintetizan en el retículo endoplásmico de la célula, luego ingresan al cloroplasto, lugar donde se ensamblan. El genoma cuenta además con la peculiaridad de tener largas repeticiones de nucleótidos invertidas cuya función es un misterio.

ORIGEN EVOLUTIVO DE LOS ORGANELOS

La teoría de la endosimbiosis, propuesta por Lynn Margulis en 1967, trata de explicar el origen de los organelos en la célula eucarionte. Propone que la célula ancestral fue anaerobia, procarionte, capaz de ingerir sólidos a través de su superficie móvil. Esta célula ingirió a una aerobia estableciéndose una relación simbiótica: el huésped proveía de protección y nutrientes y el endosimbionte del mecanismo de respiración aerobio. En ese mundo

el cambio en la cantidad de oxígeno y el consecuente paso de anaerobio a aerobio favoreció a las células hospederas que pronto se adaptaron al medio y proliferaron (Fig. 15.7).

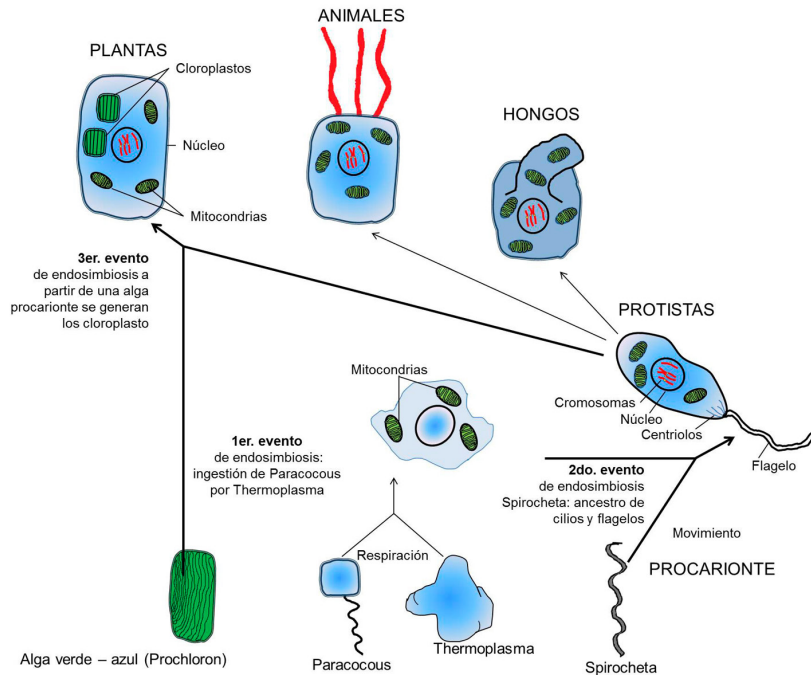


Fig. 15.7. Origen de las células eucariotas de acuerdo con la teoría de la endosimbiosis (Margulis, 1981)

La endosimbiosis se explica por diferentes evidencias experimentales, entre ellas, la organización genómica que es semejante entre bacterias y organelos: DNA circular, sin proteínas histónicas asociadas. La respuesta similar frente a drogas y antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas en las bacterias y en los organelos. Las enzimas específicas para la respiración aerobia (transporte de electrones de la cadena respiratoria) y la fotosíntesis en los organelos son físicamente parte de las membranas como ocurre en las bacterias.

MUTACIONES EN LOS ORGANELOS

El DNA mitocondrial humano muestra una tasa de sustitución de

pares de bases 10 veces mayor que la que se presenta en los genes nucleares. Muchos de estos cambios se expresan como fenotipos anormales, tanto a nivel celular como del organismo. Muchos de estos fenotipos se expresan como deficientes en energía y por lo tanto las células crecen despacio. Las mutaciones en el rRNA mitocondrial generan resistencia a antibióticos.

Deleciones en el DNA mitocondrial humano que generan el fenotipo “*petit*” se denominan citopatías mitocondriales (Fig. 15.6 b). Los órganos más frecuentemente afectados son los que tienen una demanda alta de energía, tales como, músculos y nervios. El *síndrome de Kearns-Sayre (KS)* es en realidad una constelación de síntomas que afectan a los ojos, los músculos, el corazón y el cerebro. Está asociado a una deleción en el DNA mitocondrial.

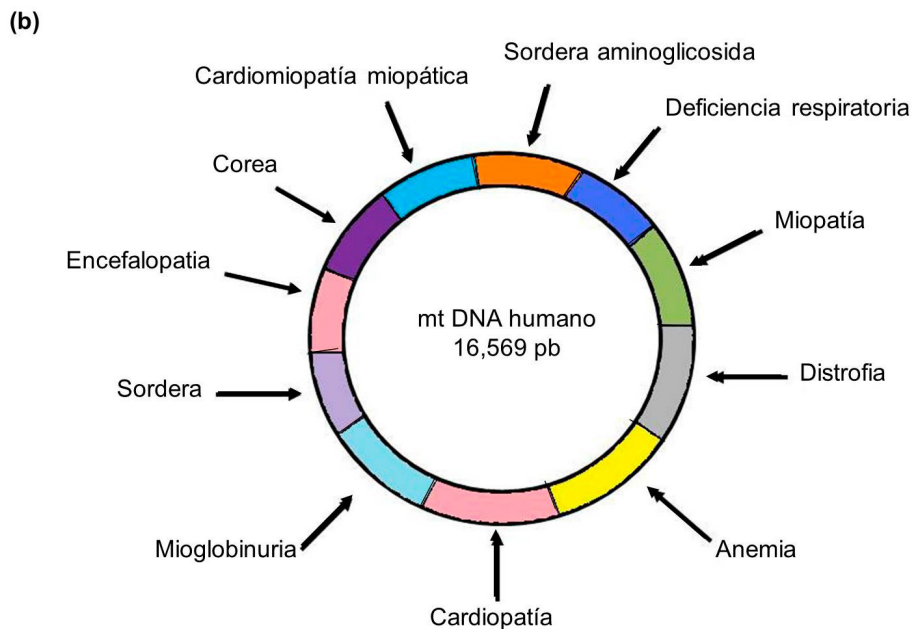


Fig. 15. 6b. Genoma mitocondrial humano: (b) mapa que muestra algunas citopatías

Las mutaciones puntuales en el DNA mitocondrial humano generan diversos síndromes, entre ellos, la *epilepsia mioclónica* que se debe

a la sustitución de una guanina por una adenina en la posición 8344 del tRNA que codifica para la lisina, lo que interfiere con los procesos de traducción en el organelo. La enfermedad afecta principalmente a los músculos, pero también, se expresa en los ojos y los oídos. Los músculos, en particular, las fibras musculares no muestran fosforilación oxidativa. *La neuropatía óptica de Leber* se manifiesta con una ceguera bilateral súbita, alrededor de los 27 años del individuo, se debe a cuatro mutaciones en el DNA mitocondrial que desorganizan el proceso de fosforilación oxidativa. Una de las mutaciones se presenta en la subunidad de la NADH deshidrogenasa en la que se sustituye una arginina por una histidina.

Muchas otras enfermedades humanas se asocian a sustituciones y deleciones en el DNA mitocondrial, tales como, cardiopatías, deficiencias respiratorias, ceguera y sordera, entre otras.

MITOCONDRIAS Y ENVEJECIMIENTO

La teoría del envejecimiento debida a la acumulación de daño genético en las mitocondrias propone que las células acumulan daño que al no ser reparado conduce a su muerte, que la reducción en los procesos de fosforilación oxidativa que se llevan a cabo en las mitocondrias y la acumulación de mutaciones puntuales y de algunas deleciones en este organelo conducen al envejecimiento. Esta teoría requiere todavía de mucha investigación, que permita pasar de la especulación a la comprobación experimental de los supuestos antes mencionados.

16. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÉTICA EN EUCARIONTES

Los eucariontes están formados por miles de células las cuales contienen mucha más información genética que la célula de un procarionte. El DNA de los eucariontes además está siempre asociado a proteínas estructurales conjunto que conforma la cromatina. La información genética de los eucariontes se encuentra en varios cromosomas en el compartimento nuclear. La mayoría de los genes de los eucariontes tiene sus promotores, secuencias reguladoras en cis y proteínas reguladoras en trans. Los cambios en la conformación de la cromatina, la modificación de las histonas y la metilación de las citosinas son procesos epigenéticos que regulan la expresión génica y que analizaremos con detalle en el capítulo 17. La expresión génica se lleva a cabo en diferentes espacios celulares y en tiempos distintos, la transcripción se realiza en el núcleo, mientras que la traducción ocurre en el citoplasma. Los transcritos de los genes sufren, antes de ser transportados al citoplasma, varios procesos de corte, empalme y unión de las secuencias codificantes. La regulación de la expresión génica en eucariontes se presenta en dos grandes categorías: la regulación a corto plazo y la regulación a largo plazo. De esta última, que está relacionada con los procesos de desarrollo y diferenciación, nos ocuparemos en el capítulo 18 de genética del desarrollo. La regulación a corto plazo se presenta en diferentes niveles tales como:

1. Control transcripcional
2. Procesamiento del RNA mensajero
3. Control en el transporte del mensajero al citoplasma
4. Control de la estabilidad del mRNA

Los elementos reguladores que interaccionan para prender y apagar genes pueden ser: secuencias que se encuentran cerca de los genes que regulan; proteínas de unión al DNA y microRNAs que inhiben la expresión génica de forma post-transcripcional. En el genoma de los eucariontes existen tres RNAs polimerasas diferentes: La I involucrada en la transcripción de las subunidades 28S y 18S del rRNA; la II en la transcripción de genes y de microRNAs y la III en la

transcripción de todos los tRNAs, del snRNA y de la subunidad 5S del rRNA.

CONTROL TRANSCRIPCIONAL

La mayoría de los genes de los eucariontes están regulados mediante el mecanismo de control transcripcional en el cual existen dos elementos importantes: las secuencias cortas en el DNA que sirven como sitios de reconocimiento y las proteínas reguladoras que se unen a estos sitios. Las secuencias que controlan la transcripción por arriba del sitio de inicio de la transcripción del gen estructural en dirección 5', son elementos de regulación de cuatro tipos: (1) las secuencias *promotoras*, (2) las secuencias *activadoras* o *acrecentadoras* (3) *las aisladoras* o *silenciadoras* y (4) *las represoras*. Todas ellas se conocen como **reguladores en cis**. Además existen proteínas reguladoras no adyacentes al gen estructural que se denominan **reguladores en trans**.

Secuencias Reguladoras en Cis

(1) Los promotores están formados, como ya se mencionó, por secuencias de nucleótidos que sirven como sitio de reconocimiento para la RNA polimerasa II, enzima encargada de la síntesis de todos los mRNAs, por lo tanto, son esenciales para el inicio de la transcripción. Por regla general se encuentran muy cerca o adyacentes al gen estructural que regulan. La región promotora de la mayoría de los genes de los eucariontes está formada por varios elementos: la caja TATA se encuentra entre los -10 y los -30 nucleótidos, la caja CAAT que se encuentra entre los -70 y -80 pares de bases del inicio del gen estructural, y la caja que contiene la secuencia CGGCGG que se localiza a los -110 nucleótidos. Las mutaciones en estas secuencias consenso reducen fuertemente la tasa de transcripción (Fig. 16.1).

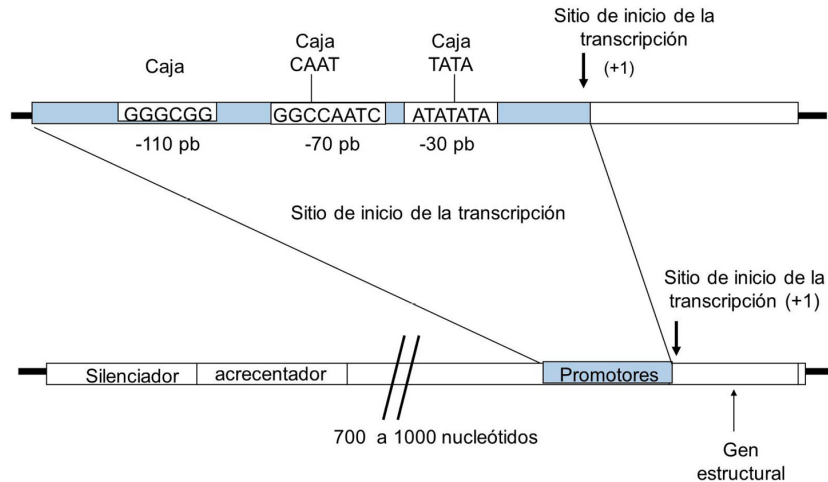


Fig. 16.1. Regiones promotoras presentes en los genes de eucariontes

(2) Las secuencias activadoras o acrecentadores son secuencias que se encuentran en el DNA, no son esenciales para la transcripción pero realizan dos funciones ya que pueden activar al promotor o bien pueden aumentar la tasa de transcripción. Su localización es variada, pueden estar dentro de un gen, en un intrón, o entre dos genes. Algunos acrecentadores pueden afectar la transcripción en promotores muy alejados. Por ejemplo el acrecentador que regula la expresión del gen que codifica para la cadena alfa del receptor de linfocitos T se encuentra a 69000 pb corriente arriba del promotor del gen. El acrecentador se acerca al promotor a través de una gasa interactuando con el aparato basal de la transcripción (Fig. 16.2). Los acrecentadores suelen estar formados por 500 pb de longitud y contener 10 sitios de unión a las proteínas que regulan la transcripción.

factores de transcripción alterando la conformación de la cromatina. El aparato molecular que controla la transcripción en células humanas se ha propuesto que consta de varios componentes: los factores basales de transcripción que posicionan a la RNA polimerasa II en el sitio de inicio de la transcripción; las secuencias activadoras y represoras que regulan la tasa de transcripción, al unirse a moléculas adaptadoras, denominadas coadaptadoras, las que se unen tanto a los factores basales de transcripción como a los activadores y a la proteína de unión a la caja TATA formando un complejo (Fig. 16.2).

Proteínas Reguladores en Trans

Las *proteínas reguladoras* de la transcripción contienen, por regla general, dos dominios funcionales, uno que se une a promotores y acrecentadores denominado *dominio de unión al DNA* y otro que activa la transcripción mediante interacciones proteína-proteína denominado *dominio de activación en trans*. Los motivos estructurales de los factores de transcripción están conformados por diferentes patrones tridimensionales, entre ellos, se han descrito tres: los motivos hélice-giro-hélice, los dedos de zinc y las cremalleras de leucina (Fig. 16.3). Los dominios de unión **hélice-giro-hélice** están conformados por dos hélices separadas por un giro de varios aminoácidos. Los motivos hélice-giro-hélice se encuentran tanto en procariontes como en eucariontes. En los procariontes se han identificado estos dominios de unión en el represor de *cro*, en el cual una de las hélices se une al surco mayor del DNA y la otra hélice estabiliza la interacción uniéndose a la doble hélice del DNA. En los eucariontes estos motivos se han localizado en los *genes homeóticos* que se caracterizan por tener 180 pares de bases muy conservadas, que codifican para una proteína de 60 aminoácidos que forma una estructura hélice-giro-hélice. Las proteínas homeóticas se pegan al DNA y estimulan la transcripción de genes específicos tanto en forma espacial como temporal durante el desarrollo embrionario de muchos eucariontes. Las mutaciones en los genes homeóticos alteran el destino en el desarrollo de varios grupos de células en los discos imaginales de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*. Por su importancia durante el desarrollo volveremos a ellos en el capítulo 18.

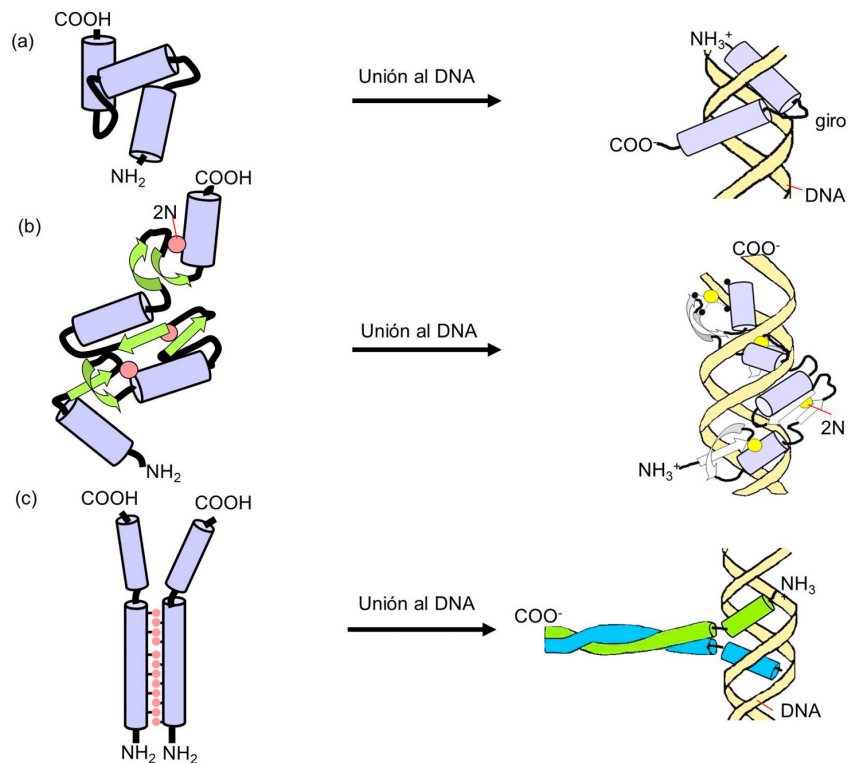


Fig. 16.3. Dominios estructurales de las proteínas que actúan en trans (a) hélice-giro-hélice (b) dedos de zinc (c) cremalleras de leucina

Los **dedos de zinc** son los factores más importantes en la transcripción de los eucariontes, ya que se encuentran en muchas proteínas reguladoras, están conformados por grupos de residuos de cisteína e histidina que se unen a un átomo de zinc doblando la cadena de aminoácidos en una configuración que asemeja a un dedo. Estas proteínas se unen al DNA mediante puentes de hidrógeno en regiones ricas en G.

Las **cremalleras de leucina** están conformadas por un segmento de 35 aminoácidos en el cual existen cuatro residuos de leucina separados por siete aminoácidos. Las regiones ricas en leucina se dimerizan formando una cremallera.

Los factores de transcripción pueden estar controlados por

hormonas esteroideas, las que se consideran moléculas efectoras ya que ingresan a la célula a través de receptores de membrana, se translocan al núcleo y se unen al DNA en secuencias conocidas como *elementos de respuesta hormonal* que se encuentran corriente arriba del codón de iniciación de la transcripción. Los receptores de hormonas esteroideas están conformados por tres dominios: un dominio N-terminal que es muy variable y específico de la hormona esteroidea y que es el sitio de activación transcripcional; un dominio central que se une al DNA mediante dos dedos de zinc; y un dominio C-terminal al que se une la hormona esteroidea y que es la responsable de regular la actividad del receptor (Fig. 16.4).

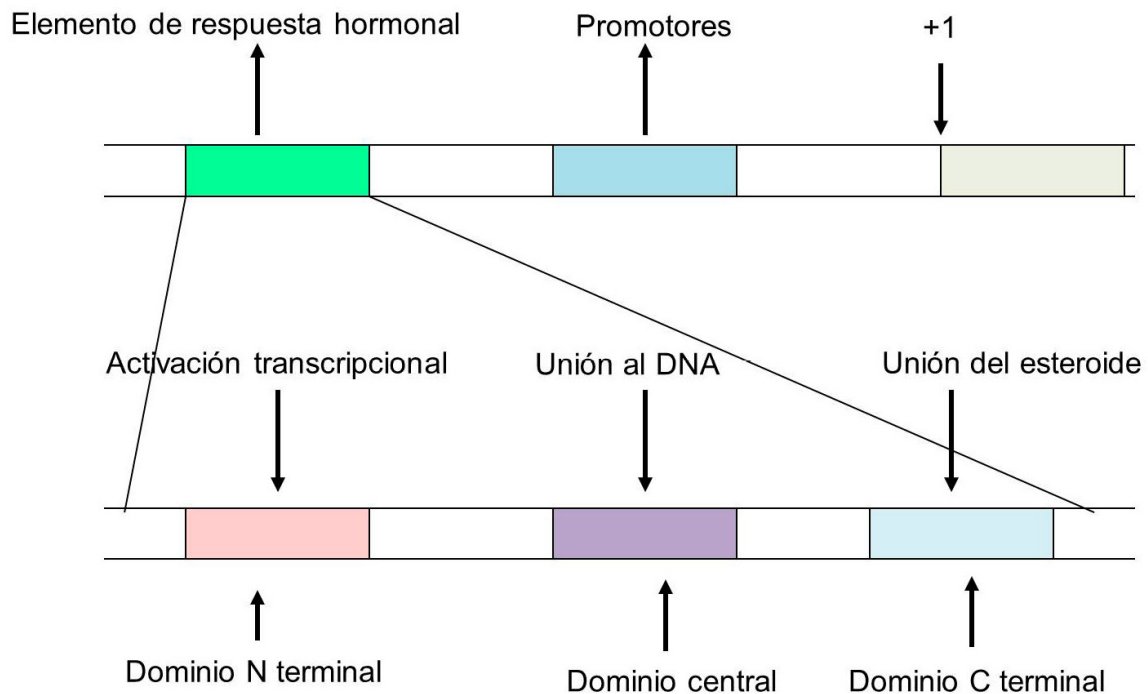


Fig. 16.4. Elementos de respuesta hormonal

Los cambios en la conformación de la cromatina, que permiten la unión de los diversos factores de transcripción, se considera que son de gran importancia en el proceso de control transcripcional.

Además en el proceso de activación de los genes a transcribir intervienen las proteínas histonas, la fosforilación y la acetilación. Los genes activos son sensibles a la acción de la DNAsa debido a que la cromatina se encuentra en un estado laxo. Entre los cambios físicos en la conformación de la cromatina, que desempeñan un papel importante en la regulación de la transcripción, están la modificación, por adición o eliminación de grupos metilo a las bases nitrogenadas, y el cambio en el número de copias de una secuencia, proceso denominado amplificación.

El DNA de los eucariontes se modifica después de la replicación por adición de grupos metilo particularmente a la citosina. Esta *metilación de las citosinas* (^{met} C) ocurre aproximadamente en el 3% del DNA de los mamíferos, actúa como un represor de la expresión genética. Solamente los genes que se expresan no están metilados, existe una relación inversamente proporcional entre la metilación y el nivel de expresión génica. La inactivación de un cromosoma X durante el desarrollo embrionario de los mamíferos, se debe a la metilación casi completa de un cromosoma. Los patrones de metilación son específicos de un tejido, una vez que se establece, se hereda a todas las células descendientes. En *Drosophila* el DNA no se metila por lo que no se considera este fenómeno de regulación universal.

Estos procesos epigenéticos se tratan con más detalle en el capítulo 17.

PROCESAMIENTO DEL PRE-RNA MENSAJERO

El transcrito de pre RNA mensajero en los eucariontes se modifica, como ya se mencionó, en el núcleo antes de su transporte al citoplasma. En el transcrito se eliminan los intrones, se reúnen los exones, se añade una cola de ácido poliadenílico en el extremo 3' y la base 7-metil-Guanosina en el extremo 5'. El corte y empalme alternativo de los exones puede generar diferentes tipos de proteínas, y puede afectar procesos de desarrollo.

Así en *Drosophila melanogaster* el corte y empalme alternativo de un solo exón controlado por el gen *Sex-lethal* (*Sxl*) determina si el embrión se desarrolla como hembra o como macho. Como se

describió en el capítulo 5 de determinación del sexo, en *Drosophila* la proporción X:A determina el sexo genético, este hecho desencadena una cascada de procesos en el desarrollo que resultan en la producción de las células somáticas. En las hembras la proporción X:A = 1 activa la transcripción del gen *Sxl* hecho que no ocurre en los machos por lo cual en la hembra se produce la proteína sex-lethal y en el macho no se produce. La proteína sex letal se une al pre RNA mensajero del gen *transformer (tra)* y dirige su empalme alternativo. Este pre mensajero contiene un codón de terminación en el exón 2, la proteína *Sxl* dirige el corte que elimina al exón 2 del RNA mensajero maduro generándose la proteína *tra* (Fig. 16.5).

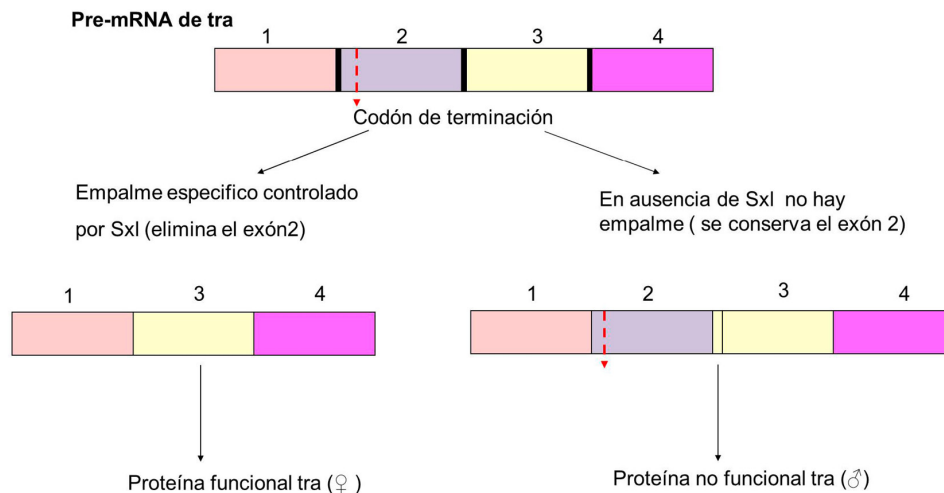


Fig. 16.5. Corte y empalme de los transcritos del gen *tra* en hembras y machos de *Drosophila melanogaster*

En los machos no se produce la proteína funcional *tra* ya que no existe *Sxl*. La proteína *tra* funcional en hembras actúa con el gen *tra-2*, ambas proteínas se unen al premensajero del gen *doublesex (dsx)* que dirigen su procesamiento hacia hembra. Esta proteína inhibe los genes de la ruta del macho mediante la acción coordinada con el producto del gen *intersex (ix)* lo que causa la diferenciación hacia hembra. En el macho al haber solamente proteína *tra-2* el corte y empalme del gen *dsx* resulta en un mensajero de macho (Fig. 16.6).

En ausencia del producto *dsx* las moscas se desarrollan como intersexos.

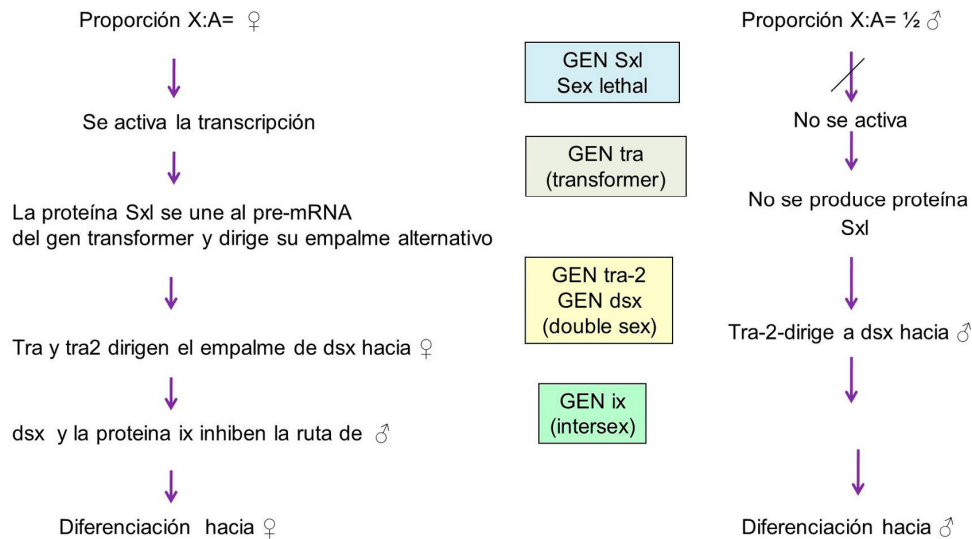


Fig. 16.6. Regulación génica en la determinación del sexo en *Drosophila melanogaster*. Empalmes alternativos y cascada de expresión génica que conducen a la diferenciación sexual

CONTROL EN EL TRANSPORTE DEL MENSAJERO AL CITOPLASMA

El DNA recién transcrito se conoce, como ya dijimos, como RNA heterogéneo nuclear (htRNAm). Cerca de la mitad de los transcritos no salen nunca del núcleo. Se supone que algunas ribonucleoproteínas retienen al htRNAm en el núcleo, o bien que durante el procesamiento del transcrito el pre-RNAm que está unido a los spliceosomas se retiene en el núcleo, ya que por tamaño no puede atravesar los poros de la membrana nuclear. De modo que el spliceosoma que está pegado a un intrón se separa de éste permitiendo que el RNAm salga del núcleo.

CONTROL DE LA ESTABILIDAD DEL MRNA

Una vez en el citoplasma los mensajeros tienen un tiempo de vida, denominado vida media, específica pasado el cual se degradan en el

citoplasma. Los RNA mensajeros con vida media larga sintetizan obviamente más proteína. Algunos mensajeros son muy estables mostrando una vida media muy larga, mientras que otros son inestables y se degradan rápidamente. La vida media de un mensajero puede estar afectada por la presencia de hormonas (Tabla 16.1).

Tabla 16.1. Vida media de diversos mensajeros en presencia o ausencia de efectores.

RNA	Tejido	Señal reguladora (efector)	Vida media del mRNA Con efector	Sin efector
Caseína	Mama	Prolactina	92 horas	5 horas
Ovoalbumina	Oviducto	Estrógeno-progesterona	>24 horas	2-5 horas
Vitelogenina	Hígado (rana)	Estrógeno	500 horas	16 horas
Vitelogenina	Hígado (gallina)	Estrógeno	ca 24 horas	< 3 horas

MICRORNA

Los micro RNA son pequeñas moléculas, de alrededor de 22 nucleótidos, de RNA no codificante que se encuentran en el genoma de plantas, animales y virus (con genoma de DNA), y están involucradas con el silenciamiento post-transcripcional del RNAm. Por tanto su función está relacionada con la regulación de la expresión génica. El microRNA es complementario a una parte de la secuencia de uno o varios mensajeros dando por resultado el silenciamiento del RNA mensajero. Este fenómeno se puede llevar a cabo mediante tres procesos: (1) excisión de la hebra del mensajero resultando dos fragmentos; (2) desestabilización del mensajero acortando la cola de

poliAs; y (3) una menor eficiencia en la traducción del mensajero en los ribosomas.

17. EPIGENÉTICA

El término epigenética se emplea para designar a las modificaciones en el DNA y en la cromatina que son estables durante varios ciclos de división celular pero que no involucran cambios en la secuencia del DNA del organismo. Estos cambios juegan un papel importante en la diferenciación celular ya que permiten a las células mantener de forma estable diversas características aún cuando contienen la misma información genética. En sentido amplio la epigenética es un puente entre el genotipo y el fenotipo, ya que es un fenómeno que cambia el resultado de un *locus* o de un cromosoma sin modificar la secuencia de DNA. En sentido estrecho la epigenética se refiere a la memoria celular que se hereda a las células descendientes y que se basa en la herencia de estructuras proteicas. La epigenética puede definirse como el estudio de un cambio estable en la expresión de los genes o del fenotipo celular, sin que ocurran cambios en el apareamiento de las cadenas Watson-Crick del DNA.

Debido a que el fenotipo de una célula o de un individuo se afecta por los genes que se transcriben, los cambios heredables en el estado transcripcional pueden dar origen a efectos epigenéticos. Existen a nivel celular diferentes niveles en la regulación de la expresión génica, uno de ellos es la remodelación de la cromatina, es decir de los complejos que se forman por la asociación del DNA con las histonas. La remodelación de la cromatina puede iniciarse por modificaciones en las proteínas histonas o por adición de grupos metilo al DNA, particularmente en los sitios ricos en citosina, convirtiéndose ésta en 5-metilcitosina. De modo que los fenotipos epigenéticos resultan de modificaciones en la estructura de la cromatina, pero no en la secuencia de nucleótidos del DNA, mediante varios procesos diferentes: remodelación de la cromatina, modificación de las histonas, metilación del DNA, y silenciamiento mediado por moléculas de RNA.

MODIFICACIONES EN LA ESTRUCTURA DE LA CROMATINA

Tal como se mencionó en el capítulo 6 el DNA de los eucariontes está siempre asociado a proteínas histonas formando un complejo denominado cromatina por lo cual, y a diferencia de los procariontes, los genes son inaccesibles, es decir, se encuentran siempre apagados ya que la estructura de la cromatina en general reprime la expresión génica. La activación (transcripción de genes) se debe en gran medida a modificaciones en la estructura de la cromatina, hecho que es distintivo en el proceso de regulación génica en los eucariontes. Para que un gen pueda transcribirse se requiere de la presencia de diversos factores de transcripción, proteínas reguladoras y de la RNA polimerasa II los cuales generan la estructura basal de la transcripción. Para que ello ocurra se requiere que los genes se vuelvan transcripcionalmente activos, proceso que requiere que la cromatina adopte una configuración más laxa. Estas regiones que son hipersensibles a la DNasa I permiten el acceso a las proteínas reguladoras a los sitios de unión al DNA. Además durante este proceso se requiere que los nucleosomas se reorganicen dejando expuestos al gen (a los genes) para su transcripción. De igual manera

cuando se requiere de la represión génica los octámeros de las histonas se mueven hacia una posición que impide la transcripción. Estos cambios dinámicos en la posición de los nucleosomas se conocen genéricamente como remodelaciones de la cromatina.

REMODELACIÓN DE LA CROMATINA

Actualmente se conoce que algunas proteínas reguladoras y factores necesarios para la transcripción pueden modificar la estructura de la cromatina sin que se altere la estructura de las histonas. Estos complejos remodeladores de la cromatina son proteínas que reposicionan a los nucleosomas y que se unen en sitios específicos al DNA lo cual permite la unión de la RNA polimerasa II y de los factores de la transcripción a los promotores para que de inicio la transcripción.

El complejo de la familia SWI-SNF (por sus siglas en inglés **SW**itch-**S**ucrose **N**on **F**ermentable) aislado de las levaduras, pero presente en muchos seres vivos, es un complejo remodelador de los nucleosomas formado por varias proteínas producto de los genes *swi* y *snf*. El complejo tiene actividad de ATPasa lo cual le permite desestabilizar las interacciones histonas-DNA lo cual expone a los promotores del DNA a la acción de los diversos factores de transcripción. Se han propuesto dos mecanismos diferentes para la remodelación de la cromatina mediada por SWI-SNF:

El primer modelo propone que una difusión unidireccional de un defecto en el enrollamiento del DNA alrededor del nucleosoma resulta en una extensión del DNA sobre la superficie del octámero que permite la entrada del DNA al sitio de unión con el nucleosoma.

El segundo modelo es denominado mecanismo de “protuberancia” o de “recaptura de bucle” e implica la disociación del DNA en el límite del nucleosoma, con una reasociación del DNA dentro del nucleosoma, formando así una protuberancia de DNA sobre la superficie del octámero. El bucle de DNA se propagaría entonces a lo largo de toda la superficie del octámero de histonas como si fuera una ola. De este modo, el DNA se posicionaría de nuevo sin cambios en el número total de contactos ADN-histona.

MODIFICACIONES COVALENTES Y NO COVALENTES EN LAS HISTONAS

Las histonas son las proteínas más conservadas de la naturaleza, ya que son casi idénticas en todos los eucariontes. Esta conservación se asume que se debe a la complicada función estructural que realizan en el empaquetamiento del DNA en el núcleo. Durante mucho tiempo, las histonas fueron consideradas como proteínas sin interés, ya que forman a los nucleosomas. Como se recordará, los nucleosomas están formados por un octámero de histonas cuyos extremos amino quedan por fuera del centro formando lo que se conoce como colas de las histonas. Éstas contienen residuos específicos de lisinas que son capaces de modificarse covalentemente mediante la unión a grupos acetilo y metilo; en las serinas la modificación más frecuente es la fosforilación. Estas reacciones ocurren después

de que las proteínas histonas han sido traducidas y aún después de que las histonas se han incorporado a un nucleosoma. Las histonas se sintetizan durante la fase S y son incorporadas a las hebras hijas del DNA justo detrás de la horquilla de replicación. Las modificaciones covalentes de las histonas son mutuamente excluyentes, en el sentido de que no es posible que una histona sea acetilada y metilada al mismo tiempo, y pueden producirse miles de combinaciones en las colas de las 8 histonas.

Los nucleosomas son entonces las estructuras que permiten los procesos de empaquetamiento y compactación del material genético, sin embargo, hoy día se sabe que la cromatina de los mamíferos contiene aproximadamente una masa igual de proteínas histonas y no histonas, abundancia que sugiere que las histonas deben cubrir actividades funcionales adicionales a las estructurales. Es más la histona H4 ha acumulado sólo dos cambios en la secuencia de aminoácidos en alrededor de 5000 años (diferencia entre la H4 del guisante y de los mamíferos, organismos separados por esa distancia evolutiva). Además del silenciamiento de genes, que sin duda es el cambio epigenético más relevante, la relocalización de genes eucromáticos a zonas heterocromáticas lugar en el que cesa su expresión es otro fenómeno de silenciamiento que fue descubierto en *Drosophila* y se conoce como efecto de posición.

Las modificaciones en las secuencias de las histonas incluyen la acetilación, la metilación y la ubiquitinación. La reacción de acetilación de las histonas es la mejor conocida. Se realiza entre el grupo amino terminal de un residuo de lisina en presencia de acetil CoA. La reacción es reversible lo que implica que los grupos acetilo pueden añadirse o removerse del mismo residuo de histonas. Existen alrededor de 44 residuos de lisinas en las histonas que son capaces de aceptar grupos acetilo, cuya presencia o ausencia provee una gran cantidad de información genética. Por esta razón las modificaciones covalentes de las colas de las histonas se denominan, por analogía con el código genético, «código de las histonas», información que es guardada en las histonas mismas más que en la secuencia de nucleótidos. Se conocen actualmente más de 150 modificaciones de las histonas con un enorme número de patrones posibles cuyos efectos en la estructura de la cromatina y en la regulación transcripcional están empezando a desvelarse. Las evidencias sugieren que los genes activos son ricos en grupos acetilo, están hiperacetilados; mientras que los inactivos carecen de grupos acetilo, están hipoacetilados. La enzima encargada de incorporar grupos acetilo es la acetiltransferasa de las histonas (HAT), enzima que se une al DNA en las regiones reguladoras de algunos genes activando la transcripción mediante la acetilación de las histonas vecinas (Fig.17.1). De la misma manera las enzimas desacetilasas de las histonas son claves en la represión génica.

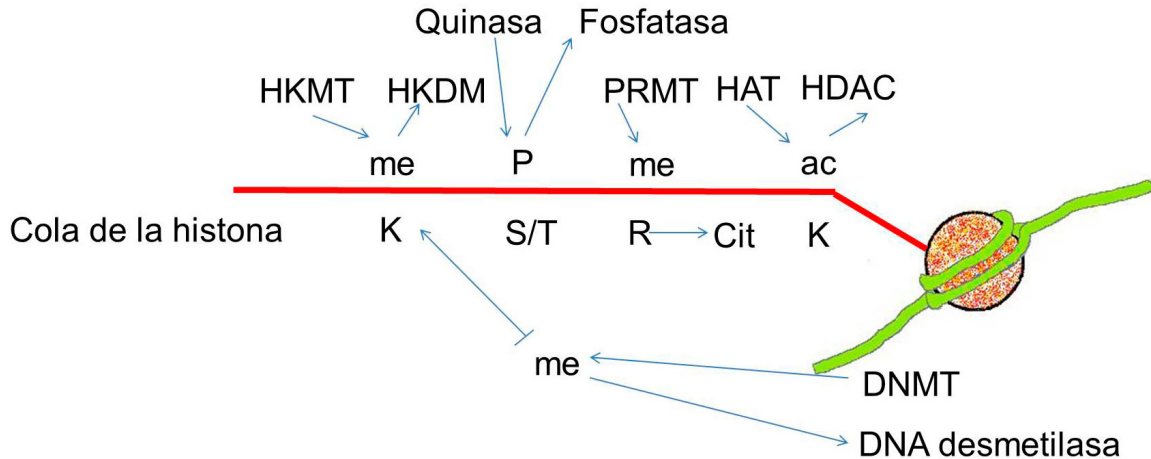


Fig. 17.1. Modificaciones covalentes de las histonas

La acetilación de las lisinas K14 y K9 en la cola de las histonas H3 es mediada por HAT, esta acetilación está asociada a la transcripción activa ya que la lisina normalmente tiene una carga positiva en su extremo amino, por lo que puede unirse a los fosfatos del DNA que tienen carga negativa. Cuando esto ocurre, los complejos transcripcionales pueden unirse al DNA, el cual queda abierto o expuesto a enzimas tales como la RNA polimerasa II de modo que la transcripción de un gen pueda ocurrir. Por otro lado la metilación de la lisina 9 en la histona H3 se ha asociado con la cromatina constitutiva transcripcionalmente silenciosa, es decir, con la heterocromatina constitutiva que se encuentra alrededor de los centrómeros. Las diferentes modificaciones en las histonas pueden funcionar en forma distinta, modificaciones dinámicas múltiples que regulan la transcripción génica de forma sistemática y reproducible.

Las modificaciones covalentes en las histonas están relacionadas con el fenómeno epigenético. En *Drosophila* el tamizado del gen supresor del efecto de posición variegado [Su (var)] reveló la existencia de más de 100 genes que codifican para constituyentes vitales de la heterocromatina. Muchos de estos genes se han conservado desde los insectos hasta los mamíferos, incluyendo la proteína heterocromática 1 (HP1) y la metiltransferasa de la histona H3 K9 Su (var) 3-9.

El proceso básico del desarrollo embrionario temprano en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* reside en el establecimiento y expresión de genes maestros que definen su plan anatómico fundamental, tal como se analizará en el capítulo 18. La genética de *Drosophila* ha puesto de manifiesto otra liga entre la epigenética y la modificación de las histonas en familias muy conservadas de genes homeóticos que regulan el desarrollo de forma antagonista: el grupo *Policomb* y el grupo *tritorax*. Las proteínas Hox del grupo *Policomb*, reprimen la transcripción por modificación de las histonas, las cuales alteran la estructura de la cromatina, facilitando su condensación de manera tal que el DNA no es accesible al ingreso de los diferentes elementos y factores involucrados en la transcripción por tanto

promueven el silenciamiento. Mientras que las proteínas del complejo *tritorax* tienen el efecto contrario ya que promueven la transcripción.

¿Cómo puede la modificación covalente de las histonas remodelar la estructura de la cromatina y ello influir en los patrones de expresión génica? La respuesta a esta pregunta se encuentra en una amplia literatura en la que se ha sugerido que las modificaciones que alteran la carga, tales como la acetilación y la fosforilación, pueden alterar directamente las propiedades físicas de la fibra de cromatina, generando cambios en estructuras de un orden mayor. De modo que las funciones mediadas por un efector se han documentado muy bien, en este modelo la modificación de las histonas estabiliza o recluta la localización de patrones específicos de unión a la cromatina. El paradigma epigenético se basa en que la enzima catalítica su(var)3-9 sirve como «escritora» de la metilación de la histona H3K9; mientras que HP1 sirve como «lectora» o «efectora» ya que reconoce la metilación de H3K9 y dirige el proceso biológico (como la estabilización de la heterocromatina) hacia áreas particulares de la fibra de cromatina. Las enzimas metiltransferasas de las histonas agregan grupos metilo a aminoácidos específicos, tales como lisina o arginina, mientras que las desmetilasas de las histonas eliminan los grupos metilo de las histonas. Estas enzimas no se unen a secuencias específicas del DNA más bien son reclutadas en sitios específicos de la cromatina. Una modificación mediada por metilación es la que se produce por adición de tres grupos metilo a la lisina 4 de la cola de la histona H3, complejo H3K4me3 que se encuentra en los promotores de los genes activos para la transcripción.

Los mecanismos no-covalentes como la remodelación de la cromatina y la incorporación de variantes de histonas especializadas, proveen a la célula de herramientas adicionales para la introducción de variación en el templado de la cromatina.

METILACIÓN DEL DNA

Es la modificación química de la cromatina mejor caracterizada. Entre los mamíferos casi toda la metilación de la cromatina se presenta en los residuos de citosina del dinucleótido CpG. Las regiones del genoma ricas en estos dinucleótidos o con alta densidad de CpG se conocen como islas de CpG en las cuales la metilación del DNA correlaciona con la represión transcripcional. La metilación del DNA es mediada por las DNA metiltransferasas (DNMTs). Se han encontrado que existe una asociación entre los dos procesos que reprimen la transcripción: la metilación del DNA y la desacetilación de las histonas. Se asume que la metilación atrae a desacetilasas que eliminan los grupo acetilo de las colas de las histonas lo cual estabiliza al nucleosoma y reprime la transcripción. Por el contrario la desmetilación del DNA permite que las acetiltransferasas agreguen grupos acetilo al DNA promoviéndose la transcripción.

Los patrones genómicos de metilación de las citosinas juegan un papel central en muchos procesos celulares tales como la organización de la cromatina durante la embriogénesis y la gametogénesis; la silenciación de secuencias centroméricas y de secuencias repetidas, fenómenos que se presentan desde hongos hasta mamíferos;

la inactivación de un cromosoma X en mamíferos; la huella, señal, marca o impresión (*imprinting*) en mamíferos. En todos ellos la metilación del DNA es un componente estable, heredable y crítico de la regulación epigenética.

La formación de la heterocromatina en muchos organismos es mediada, en parte, por la metilación del DNA y sus proteínas de unión en combinación con las modificaciones del RNA y de las histonas que son características de la cromatina silenciada.

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ACRECENTADORES

La unión de diversas proteínas reguladoras a los sitios de unión de un acrecentador (*enhancer*) puede catalizar la formación de un enanceosoma, complejo proteico que actúa de forma sinergista para activar la transcripción. Un ejemplo bien caracterizado de un enanceosoma es el de la regulación del gen que codifica para el interferón β -humano que codifica para la proteína antiviral interferón. Este gen en condiciones normales está apagado pero cuando existe una infección viral se activa en niveles muy altos. La clave de esta activación génica se debe a la unión de diversos factores de transcripción que conducen a la formación de un enanceosoma corriente arriba (± 100 pares de bases) de la caja TATA y del sitio de inicio de la transcripción. Todas las proteínas del b-interferón se unen al DNA de doble cadena quedando expuesto el sitio de unión por afinidad de una proteína coactivadora (CBP) que recluta a la maquinaria transcripcional. La proteína CBP contiene un sitio intrínseco de actividad acetilasa que modifica a las histonas y facilita niveles altos de transcripción.

Existen además complejos reguladores denominados aislantes (*insulators*) cuya función, cuando se encuentran entre un acrecentador y un promotor, es la de impedir que el acrecentador active la transcripción. Estos complejos aislantes que bloquean a los acrecentadores no tienen efectos sobre otros promotores que no estén separados de sus acrecentadores por los aislantes.

IMPRONTA GENÓMICA

Los organismos diploides contiene dos alelos en cada locus autosómico, uno es heredado de la madre y el otro alelo se hereda del padre. La mayoría de los genes expresan ambos alelos en el individuo y el efecto en el fenotipo es independiente del progenitor que transmitió el alelo en cuestión a la descendencia, sin embargo, para algunos genes el sexo del progenitor que aportó el alelo influye en su expresión. El fenómeno de impronta, huella o marca genómica se descubrió hace más de 20 años. Se refiere a patrones poco comunes de herencia de genes autosómicos monoalélicos que se expresan en la descendencia como si existiera una sola copia del gen. No se observan cambios en la secuencia del DNA de los genes marcados, el gen se expresa en la progenie dependiendo de si fue heredado de la madre o del padre. Por ejemplo el alelo del gen *igf2* del ratón se expresa solamente si fue heredado del padre (impronta materna) debido a que la copia que el ratón heredó de la madre está inactiva. De igual forma el alelo *H19* se expresa solamente si se hereda de la madre (impronta paterna). Ello se debe a que las regiones reguladoras

de los genes marcados están metilados de forma específica durante el desarrollo de los gametos. Como se recordará, la metilación del DNA resulta cuando se agregan de forma enzimática grupos metilo al carbono 5 de un residuo de citosina. Tanto la metilación de citosinas como las modificaciones de las histonas pueden heredarse de forma estable de una generación celular a la siguiente, sin que cambie la secuencia de nucleótidos, por lo que estos patrones son epigenéticos. La impronta se inicia durante la gametogénesis, se hereda en los gametos y se transmite al embrión a través del proceso de metilación del DNA y/o acetilación de las histonas (Fig. 17.2).

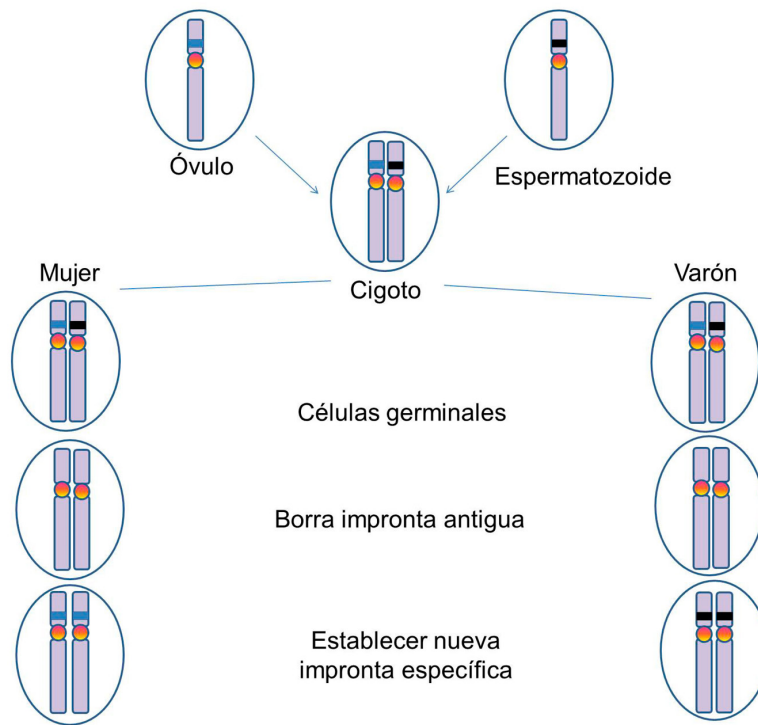


Fig. 17.2. La impronta genómica es una modificación reversible en las células germinales

Los genes *igf2* y *H19* se encuentran agrupados en el cromosoma 7 del ratón. En una región específica del DNA de estos genes agrupados existe un patrón de metilación característico en las células germinales del macho mismo que no está metilado en las hembras. Esta región se conoce como región de control de la impronta (ICR). Sólo la región no metilada de ICR de la hembra se puede unir a una proteína reguladora denominada CTCF, al unirse CTCF actúa como un aislante que bloquea a los acrecentadores impidiendo la activación de la transcripción de *igf2*. Sin embargo el acrecentador de las hembras puede activar la transcripción de *H19*. Estos procesos explican, al menos en parte, porqué la clonación de individuos completos es tan ineficiente en la mayoría de los seres vivos. El peso al nacer de

los seres humanos, está gobernado por el gen *ifg2* (homólogo al del ratón, se encuentra en el cromosoma 11) este gen codifica para una proteína llamada factor de crecimiento insulinosímil II. Si los descendientes heredan un alelo *igf2* de su madre y uno de su padre, la copia paterna se expresa activamente en el feto y la placenta, pero la copia materna es completamente silenciosa. En los ratones se ha demostrado que cuando la copia paterna de *igf2* sufre una delección aparece una placenta pequeña y un descendiente de bajo peso al nacimiento (Fig. 17.3).

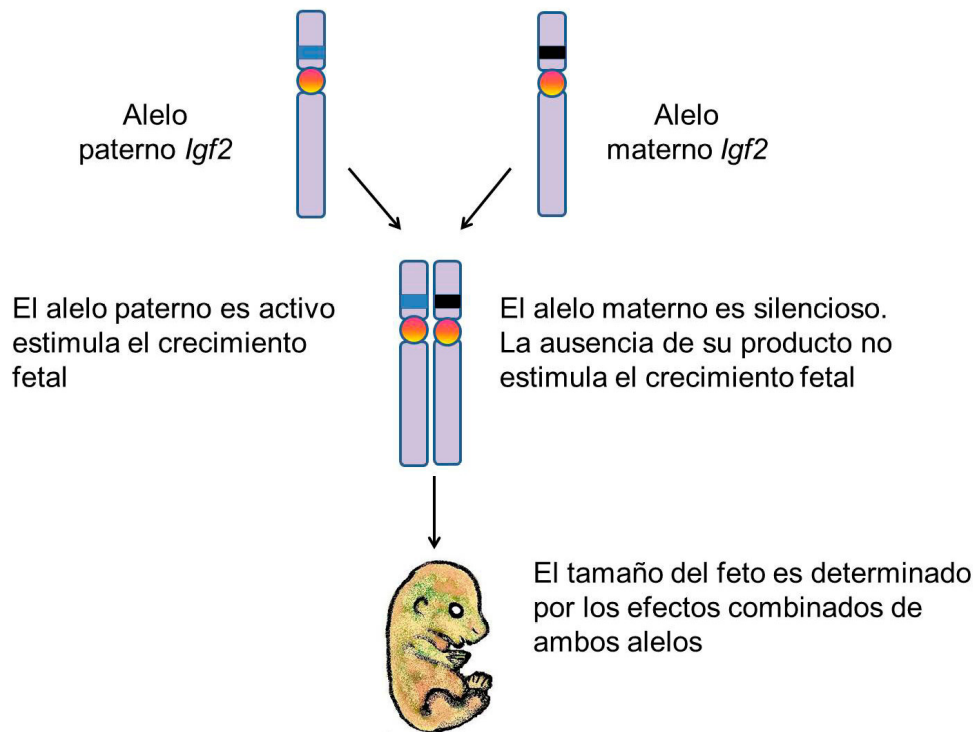


Fig. 17.3. Efecto de la impronta genómica en el tamaño del feto

Tal como se mencionó, las primeras evidencias de la impronta en mamíferos se descubrieron en el ratón mediante diversos experimentos en los cuales núcleos haploides fueron trasplantados para producir cigotos que llevaban: a) el genoma de cada progenitor, b) el genoma de un solo progenitor (hembra) y c) el genoma del otro progenitor (macho). Los embriones resultantes de este experimento mostraron que cuando los embriones portaban solamente el genoma del padre se desarrollaban estructuras embrionarias anormales con placenta normal. Los embriones que solo portaban el genoma de la madre desarrollaban estructuras embrionarias normales pero con la placenta anormal. Cabe hacer notar que ambas condiciones son letales, de modo que se requiere el genoma de ambos progenitores para que se produzca el desarrollo normal del embrión (Fig. 17.4).

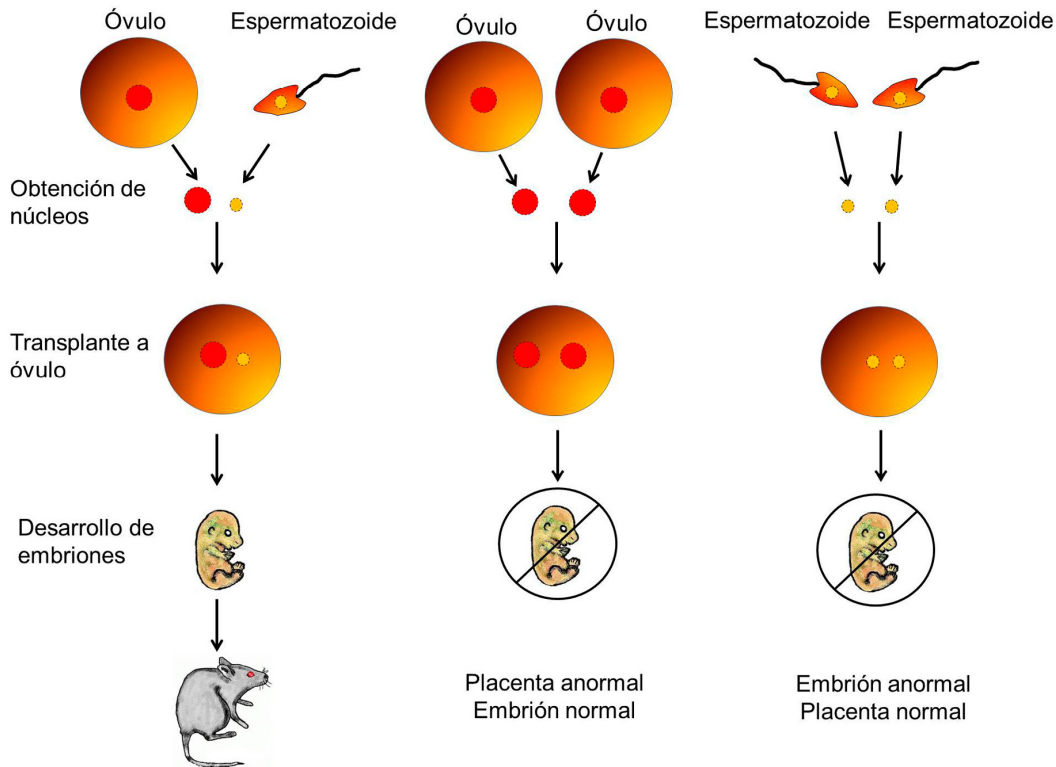


Fig. 17.4. El desarrollo embrionario normal, requiere en mamíferos, de la expresión diferencial de los dos progenitores

En los seres humanos, la mayoría de las células del cuerpo portan dos copias de cada gen, uno proviene del padre y la otra de la madre, normalmente no hay diferencias en la expresión de las dos copias pero en ciertos genes solamente una copia de un progenitor se expresa. En los seres humanos se ha encontrado que los cromosomas 4, 7, 8, 11, 14, 15, 18 y 22 tienen regiones en las que el fenómeno de impronta ocurre. Se observa con claridad en los síndromes de Prader-Willi y en el de Angelman, desordenes genéticos del neurocomportamiento con manifestaciones clínicas diferentes. Ambas patologías pueden presentarse por delección de la región intersticial del brazo largo del cromosoma 15, en las regiones 11 a 13 (15q11- q13). En el síndrome de Prader-Willi la anomalía es de origen paterno mientras que en el síndrome de Angelman es de origen materno. Esta región es susceptible a la impronta mediante la metilación de uno de los alelos parentales causando ausencia de expresión por lo que solo una copia es transcrita. En ambas patologías se pueden encontrar también pacientes sin la delección, por disomía uniparental, que ocurre cuando los dos cromosomas del mismo par provienen de un solo progenitor. En el síndrome de Prader-Willi se ha encontrado que la disomía uniparental materna es del 28% mientras que en el síndrome de Angelman la disomía uniparental paterna es del 4%.

INACTIVACIÓN DE UN CROMOSOMA X

El fenómeno epigenético de inactivación de un cromosoma X produce la compensación de dosis para los genes ligados. En el caso de los mamíferos euterios la compensación de la dosis génica consiste en la inactivación al azar en el embrión de uno de los cromosomas X de las hembras, en tanto que en los tejidos extraembrionarios se inactiva siempre el X paterno. Las secuencias involucradas en este silenciamiento se han mapeado en Xq13.2 y se han descrito varios componentes de la maquinaria de inactivación cromosómica presentes en esta región. En las hembras de mamíferos euterios los dos cromosomas X se distinguen epigenéticamente como cromosoma activo (Xa) y cromosoma inactivo (Xi).

La inactivación está controlada por un locus del propio cromosoma X, conocido como el centro de inactivación del X (Xic). El proceso comienza con la colocalización de las dos regiones Xic de los dos cromosomas X. Xic es un locus que actúa en cis y contiene toda la información para inactivar a todos menos un cromosoma X, la selección del cromosoma que se va a inactivar y la iniciación del silenciamiento. En Xic, se localiza Xce (elemento controlador del X) el cual está implicado en el proceso de elección del cromosoma X que se va a inactivar.

El centro de inactivación de X codifica para al menos dos RNA relacionados con la inactivación cromosómica. Xist es un RNA que sufre *splicing*, no posee un marco de lectura abierta (ORF), es decir, no codifica para ninguna proteína y se produce por ambos cromosomas X antes de la inactivación. Una vez elegido el cromosoma que se va a inactivar, Xist se estabiliza, cubre sólo a un cromosoma X e inicia el silenciamiento del mismo. A medida que se expande por el cromosoma, se van silenciando los genes, adoptando una configuración de heterocromatina. Además se produce la metilación de la histona H3 y la desacetilación de la histona H4. En un principio los dos cromosomas X expresan Xist, aunque de forma inestable. Durante el proceso de inactivación, uno de estos dos Xist es degradado por otro RNA llamado DXPas34, que se encuentra también en el locus Xic, evitando así la inactivación de uno de los cromosomas. Entonces se transcribe Tsix en sentido opuesto en la hebra complementaria de Xist para bloquear la posterior transcripción de Xist y asegurar que el Xa no se inactive en algún momento.

El cromosoma X de *Drosophila* como el de los seres humanos contiene alrededor de 1,000 genes. En los seres humanos la inactivación de un cromosoma X ocurre al azar en estadios muy tempranos del desarrollo. Tal como se describió en el capítulo 5 este cromosoma inactivo produce el corpúsculo de Barr.

Desde el punto de vista epigenético los genes que se encuentran en el cromosoma X inactivado de los seres humanos contienen su DNA hipermetilado, fenómeno que incluye la metilación de la histona H3 en la lisina 9. Una vez silenciados los genes e inactivado un cromosoma X éste permanece inactivo y se hereda a todas las células a las que dará origen. Aunque el fenómeno de compensación de dosis es universal, el mecanismo mediante el cual se produce puede ser muy diferente. En *Drosophila* la expresión de los genes del cromosoma X se compensa, no mediante la inactivación de un cromosoma X, sino más bien

mediante la expresión doble de los genes que se encuentran en el cromosoma X del macho. Este proceso es mediado por el complejo proteína-RNA denominado MSL (letal específico del macho), que se encuentra a lo largo de todo el cromosoma X de los machos, uno de cuyos componentes es la acetiltransferasa de las histonas (HAT) que añade grupos acetilo a las histonas.

GENÉTICA DEL RNA

El RNA y el DNA son ácidos nucleícos que difieren en varios aspectos:

El RNA es normalmente una cadena de nucleótidos sencilla, no una doble hélice. Esta propiedad le confiere características peculiares en cuanto a la flexibilidad y a la capacidad para formar estructuras tridimensionales diversas, ya que se pueden generar apareamientos intramoleculares.

El ácido ribonucleico contiene ribosa, en lugar de desoxirribosa, azúcar con un grupo hidroxilo unido al átomo de carbono 2' (en lugar de un hidrógeno en la desoxirribosa). Además contiene un grupo fosfato que forma el esqueleto azúcar-fosfato con una base que se une covalentemente en la posición 1' de cada ribosa. Las bases nitrogenadas que contiene el RNA son adenina, guanina, citosina y uracilo (U), en lugar de la timina que se encuentra en el DNA. El uracilo puede formar puentes de hidrógeno con la adenina, de la misma manera que lo hace la timina y además, y solamente durante su plegamiento, puede aparearse con la guanina. Los puentes de hidrógeno que forman entre la U y la G son más débiles que los que se forman entre U y A.

El RNA es muy importante en las funciones de los ácidos nucleicos de todos los seres vivos. Está involucrado en los procesos de expresión génica (transcripción y traducción) y algunos tipos de RNA, regulan la actividad de ciertos genes y participan en gran variedad de procesos celulares.

Clases de RNA

El RNA puede ser agrupado en dos clases diferentes: el que porta la información genética codificada para la producción de una proteína y el RNA funcional que no porta información para hacer proteínas y por lo tanto es un producto funcional terminal.

RNA informacional o codificante (en la expresión genética)

mRNA o RNA mensajero es el RNA que porta la información del DNA a los sitios del ribosoma donde se realiza la síntesis de proteínas en las células. La secuencia codificante del mensajero determina la secuencia de aminoácidos de la cadena polipeptídica. En las células de los eucariontes el premRNA contiene la secuencia completa del DNA el cual es editado en el núcleo mediante la eliminación de intrones, lo que conduce a la formación de un mRNA maduro.

El RNA mensajero de transferencia (*tmRNA*) se encuentra solamente en bacterias, es un RNA involucrado en el reciclamiento de los ribosomas 70S, en la degradación de péptidos incompletos y en el rescate de ribosomas atascados.

RNA funcional o no codificante (en la regulación de la expresión génica)

Los RNA no codificantes controlan muchos fenómenos epigenéticos desde los mecanismos de compensación de dosis en *Drosophila* y en mamíferos, hasta el silenciamiento de genes y de secuencias repetidas mediante patrones de interferencia transcripcional y post-transcripcional presentes en la mayoría de los eucariontes.

RNA no codificante o RNA pequeño (*sRNA*, por sus siglas en inglés), entre los cuales se encuentran los ácidos ribonucleicos involucrados en la traducción: los *tRNAs* o RNAs de transferencia y el *rRNA* o RNA ribosomal.

Otros *sRNAs* no codificantes son aquellos que son capaces de catalizar reacciones químicas (corte y ligamiento de moléculas de RNA) y de catalizar la formación del puente peptídico en los ribosomas, moléculas conocidas como *ribozimas*.

El RNA de doble hélice (*dsRNA*) es un RNA que contiene dos hebras complementarias, se encuentra como material genético de algunos virus. En los eucariontes puede desencadenar el proceso de interferencia en el cual moléculas pequeñas de *dsRNA*, denominadas *siRNAs* (moléculas pequeñas de RNA de interferencia, por sus siglas en inglés), pueden silenciar la expresión de algunos genes.

Algunas moléculas de RNA pueden reducir la expresión génica al ser complementarias a parte de un gen, tal como se señaló en el tema 16. Las moléculas pequeñas de RNA de 21 a 22 nucleótidos (*miRNAs*) se encuentran en los eucariontes y actúan como RNAs de interferencia (*RNAi*) mediante la conformación de un complejo efector formado por enzimas y miRNA el cual puede romper al mRNA, en la región que es complementario el miRNA, o bien puede metilar al promotor proceso que generalmente reduce la expresión génica. Otros miRNAs pueden activar genes.

Las moléculas pequeñas de RNA de interferencia (*siRNA*) contienen de 20 a 25 nucleótidos, se producen generalmente por el rompimiento de RNA viral aunque existen fuentes endógenas de *siRNAs*. Este tipo de RNA puede reducir o activar la expresión génica. En los animales existe otro tipo de RNA de interferencia denominado Piwi (*piRNA*) que contiene de 29 a 30 nucleótidos que es activo en la línea germinal, se supone que son una defensa frente a los transposones ya que juegan un papel crucial durante la gametogénesis. La inactivación de un cromosoma X en las hembras de los mamíferos se produce por *Xist* que no es más que un RNA que cubre al cromosoma inactivándolo. Los RNA antisentido (*aRNA*) son muy comunes en bacterias, la mayoría reducen la expresión génica aunque otros la promueven. Algunos mRNAs pueden contener elementos reguladores en cis ya sea en 5'UTR (regiones transcritas no traducidas) o en 3'UTR.

EN EL PROCESAMIENTO DEL RNA

En las células existen muchas moléculas de RNA que están involucradas en la modificación de otros RNAs. El corte de intrones y el empalme de los exones se

lleva a cabo en los sitios de unión que están muy conservados. Cada intrón es cortado en sus extremos los cuales contienen GU en su extremo 5' y AG en el 3' (dupletes conocidos como la regla GU-AG); otro sitio muy conservado es un residuo de adenina que se encuentra entre los nucleótidos 15 y 45 por arriba del sitio 3' de corte. Estos sitios tan conservados sugieren que debe existir una maquinaria celular que reconoce estas secuencias y procede al corte.

Los complejos riboproteicos siempre se localizan en el núcleo por lo que se denominaron RNA pequeños nucleares (snRNAs). Los nucleótidos conservados en el transcrito son reconocidos por cinco ribonucleoproteínas nucleares pequeñas (snRNPs) que son complejos de proteínas y cinco snRNAs (U1, U2, U4, U5 y U6). Estas snRNPs y cerca de 100 proteínas adicionales forman parte del espliceosoma, que es la maquinaria celular que remueve los intrones y reúne a los exones. De modo que los intrones son cortados del pre-mensajero por la acción de los espliceosomas, moléculas que contienen varios RNAs pequeños nucleares (snRNA).

El RNA puede estar alterado cuando presenta nucleótidos modificados, como la inosina y la pseudouridina, proceso enzimático que es dirigido por el RNA pequeño nucleolar (*snoRNA*) que se encuentra en el nucléolo y en los cuerpos de Cajal el cual contiene de 60 a 300 nucleótidos. En la tabla 17.1 se muestran los diferentes tipos de RNA.

Tabla 17.1. Tipos de RNAs, funciones que realizan y distribución en los seres vivos.

Tipo	Abreviatura	Función	Distribución	Referencia
RNA mensajero	mRNA	Codifica para proteínas	Todos los seres vivos	
RNA ribosomal	rRNA	Traducción del mensaje	Todos los seres vivos	
RNA de transferencia	tRNA	Traducción	Todos los seres vivos	
RNA mensajero-de transferencia	tmRNA	Rescate de ribosomas atascados	Bacterias	Gillet y Felpen (2001) Mol.Microbiol. 42, 879-885.
RNA antisentido	aRNA	Regulación génica	Todos los seres vivos	Banal (2002) Bioch.Biophys Acta 1575, 15-25.
RNA pequeño de interferencia	siRNA	Regulación génica	Eucariontes	Ahmad y Henikoff (2002) Cell 111, 281-284

RNA micro	miRNA	Regulación génica	Eucariontes	Lin, Chang, Ying (2006) Methos Mol. Biol. 342: 313-320
RNA de interferencia pequeño tras	tasiRNA	Regulación génica	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Vazquez, Vaucheret (2004) Mol. Cell 16, 1-13.
RNA de interacción Piwi	piRNA	Regulación génica	Animales	Horwich et al. (2007) Curr. Biol. 17, 1265-1272.
RNA pequeño nuclear	snRNA	Varias	Eucariontes y Archaea	Thore et al. (2003) J Biol. Chem. 278, 1239-1247.
RNA pequeño nucleolar	snoRNA	Modificación de nucleótidos en el RNA	Eucariontes y Archaea	Kiss (2001) EMBO J. 20, 3617-3622.
RNA guía	gRNA	Modificaciones del mRNA	Mitocondrias	Alfonso et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25, 3751-3759.
P Ribonucleasa	RNase P	Maduración de tRNAs	Todos los seres vivos	Pannucci et al. (1999) Proc.Natl.Acad.Sci USA 96, 7803-08.
MRP ribonucleasa	RNaseMRP	Maduración de rRNA, replicación del DNA	Eucariontes	Woodhams et al. (2007) BMC Evol. Biol. 7, S13.
RNA del Y	YRNA	Procesamiento del RNA, replicación del DNA	Animales	Perreault et al. (2007) Mol.Biol. Evol. 24, 1678-89.
Telomerasa de RNA		Síntesis de telómeros	Eucariontes	Lusting (1999) Proc.Natl.Acad.Sci. USA 96, 3339-41.
Partícula de RNA de señalización y reconocimiento	SRPRNA	Exportación de proteínas	Todos los seres vivos	Grimaldo y Brochier-Armanet (2006)

				Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci. 361, 1006-1022.
Retrotransposones		Autopropagación	Eucariontes y algunas bacterias	Boeke (2003) Genome Res. 13, 1975-1983.
Viroides		Autopropagación	Plantas infectadas	Flores et al. (2005) Ann. Rev. Phytopath. 43, 117-139.

DEGRADACIÓN DEL RNA

La presencia del mRNA en la célula posibilita la síntesis de proteínas, de modo que la cantidad de proteínas depende de la cantidad de mRNA que exista en la célula. La velocidad de síntesis y de degradación del DNA son dos procesos muy dinámicos. El mRNA en los eucariontes tiene una vida media muy variable, algunos duran unos minutos mientras que otros pueden persistir horas, días e incluso meses.

18. GENÉTICA DEL DESARROLLO

El desarrollo de la forma y función en un organismo se conoce como *morfogénesis*, se produce por la acción de diversos genes en tiempos diferentes durante la progresión ordenada de un programa de eventos de desarrollo. La regulación de la expresión genética a largo plazo está relacionada con los procesos de desarrollo y diferenciación.

La morfogénesis en los virus se lleva a cabo una vez que se establece el ciclo lítico. Algunas proteínas virales se sintetizan 1' después de la infección, el DNA viral se construye a los 5', mientras que las primeras proteínas de cola y de la cabeza aparecen 8' después de la infección; los nuevos fagos completos, ya ensamblados, aparecen a los 14' después de la infección. La lisis bacteriana se presenta en promedio 20' después del ingreso del DNA viral a la bacteria. Estos eventos representan una secuencia ordenada de transcripción del genoma viral. El proceso de ensamblaje es variable, en los más sencillos, la organización se efectúa por auto ensamblaje de moléculas. La información requerida para ensamblar las moléculas es parte de las moléculas mismas, no se requiere de información adicional para especificar el tamaño, la forma o la organización, tal como ocurre en el virus del mosaico del tabaco. La asociación entre moléculas se lleva a cabo por puentes químicos débiles en lugar de puentes covalentes, es por lo tanto, un proceso esencialmente espontáneo. Lo mismo ocurre con los microtúbulos de los dímeros de la tubulina en eucariontes así como en el ensamblaje de los rRNAs y de las proteínas ribosomales. En el virus T4 el proceso es más complejo, de los 100 genes que contiene su genoma, cerca de 50, codifican para el proceso de morfogénesis solamente. La cabeza es un poliedro en cuyo ensamblaje intervienen varios productos génicos que se transcriben en una secuencia ordenada y que luego interaccionan.

Estos procesos son similares en todos los organismos, la morfogénesis no es el simple encendido y apagado de genes en secuencia ordenada debida al control transcripcional. La morfogénesis requiere también de las interacciones entre productos

proteicos de genes diferentes, una mutación en un paso particular de la vía de desarrollo puede bloquear la secuencia morfogénica.

Las levaduras, eucariontes unicelulares, pueden existir indefinidamente en estado haploide. La etapa G1 del ciclo celular es la más importante ya que en ella pueden definirse tres programas distintos: (1) continuación del ciclo celular, replicación del DNA en la fase S, (2) apareamiento con otra célula haploide, formación de un sincarión y reproducción sexual, y (3) entrar a una fase estacionaria y definir su crecimiento celular.

ASPECTOS GENÉTICOS DEL DESARROLLO

Los experimentos de clonación de organismos realizados en la década de los años 1950s demostraron que las células animales conservan el conjunto de la información genética durante el proceso de desarrollo (ver capítulo 12). En los eucariontes pluricelulares los eventos de desarrollo son más complejos que en los eucariontes unicelulares ya que no están confinados a eventos tempranos y tardíos, además de estos eventos temporales coexisten los espaciales o posicionales.

El potencial de una célula para desarrollarse en cualquier tipo celular se denomina totipotencia, Entre los hongos y las plantas las células siguen siendo totipotentes, pero en los animales las células están destinadas a convertirse en tipos celulares específicos después de algunas divisiones celulares del cigoto. Por regla general la totipotencia se conserva hasta la etapa de gástrula, de modo que la célula se compromete a mostrar características de una estirpe celular particular, proceso llamado determinación, luego ocurren cambios irreversibles que conducen al desarrollo embrionario y a la diferenciación celular. Diversos experimentos mostraron que las células somáticas in vitro pueden cultivarse y crecer hasta formar un tejido, pero no pueden producir un individuo completo, sólo clones celulares semejantes a ellas. Sin embargo, las células de la raíz de zanahoria pueden en cultivo dar origen a una zanahoria completa, es decir, las células permanecen totipotentes.

Por técnicas de hibridación molecular, mediante desnaturalización del DNA de dos estirpes celulares y su posterior renaturalización, se

ha mostrado que el genoma es esencialmente idéntico en las diferentes células que conforman los diversos tejidos diferenciados de un organismo. Al realizar un experimento con DNA extraído de células hepáticas y marcado con ^3H y DNA proveniente de riñón marcado con ^{32}P se encontró que ambos hibridan completamente. Sin embargo hay excepciones a esta regla así los genes para RNAr en *Xenopus* se metilan en las células somáticas pero no en los oocitos, estrategia que como ya se mencionó está relacionada con la regulación transcripcional.

GENÉTICA DEL DESARROLLO

El reto más importante de la embriología ha sido la identificación de genes y proteínas que controlan el desarrollo de los animales desde el huevo hasta el adulto.

El genoma de los animales contiene miles de genes. Muchos de ellos codifican para proteínas que funcionan en procesos esenciales para todas las células del cuerpo, por ejemplo, la biosíntesis de macromoléculas y el metabolismo, por lo que se denominan *genes domésticos*. Otros genes codifican para proteínas que realizan funciones especializadas en células del cuerpo, como el transporte de oxígeno, y la defensa inmune, entre otros. Otros genes cuyos productos gobiernan la construcción del cuerpo constituyen las *herramientas genéticas* que están dedicadas al patrón del plan del cuerpo y a la formación de las partes que conforman el cuerpo del organismo.

Dos clases de productos génicos que tienen efectos globales en el desarrollo son de especial interés (1) las familias de proteínas denominadas *factores de transcripción* que regulan la expresión de muchos genes durante el desarrollo, y (2) los miembros de los *patrones de señalización* que median las interacciones a corto y largo plazo entre las células.

La expresión de factores de transcripción específicos y de proteínas de señalización marca la localización de muchas regiones definidas dentro del embrión. Estas proteínas controlan la formación, la identidad y el patrón de la mayoría de los hechos más importantes en el diseño animal y en la diversidad. La expresión temporal y

espacial de estos genes correlaciona con las regiones del animal en las cuales estos genes funcionan. La clasificación de éstas se ha hecho de acuerdo con los fenotipos que producen sus mutaciones. Otro hecho importante es que estas herramientas genéticas están ampliamente conservadas en los diferentes *phyla* animales.

Debido a que el descubrimiento de las herramientas génicas del desarrollo se realizó en *Drosophila melanogaster*, y con base en estos estudios se identificaron posteriormente en otros animales, analizaremos con cierto detalle el caso de la mosca de la fruta. El cuerpo de la mosca está formado por tres partes esenciales: cabeza, tórax y abdomen. El tórax tiene tres segmentos en los cuales se presentan tres pares de patas, en la parte dorsal del segundo segmento torácico se encuentra un par de alas y en el tercero un par de halterios, El abdomen está conformado por ocho segmentos.

Los genes fundamentales para el desarrollo de la mosca se identificaron, en primera instancia, por las catástrofes o monstruosidades que se producen cuando estos genes mutan de forma espontánea en las poblaciones de animales de laboratorio. La inducción de mutaciones al azar, en segunda instancia, mediante el tratamiento con mutágenos físicos o químicos, incrementa de forma importante la frecuencia de genes dañados en el genoma.

GENÉTICA DEL DESARROLLO DE DROSOPHILA MELANOGASTER

Una vez que es fertilizado el óvulo se produce el cigoto que es ovopositado. El núcleo diplode sufre nueve divisiones celulares, sin división del citoplasma, para formar un sincisio o célula multinucleada; posteriormente los núcleos migran a la periferia del huevo sufren otras cuatro divisiones, la membrana celular se invagina rodeando a cada núcleo formándose una monocapa con alrededor de 6000 células que ocupan la superficie externa del embrión que se conoce como blastodermo. Este proceso dura tres horas Posteriormente en el polo posterior del embrión se forma un pequeño grupo de células que darán origen a las células germinales (Fig. 18.1). En el blastodermo o embrión temprano se presentan tres estadios

distintos: (1) Se establecen los ejes anteroposterior y dorsoventral por los genes de efecto materno (2) quedan determinados el número y posición de los segmentos del cuerpo, por la acción de los genes de segmentación que se transcriben después de la fecundación y (3) se establece la identidad de cada uno de los segmentos por la acción de los genes homeóticos (Fig. 18.2).

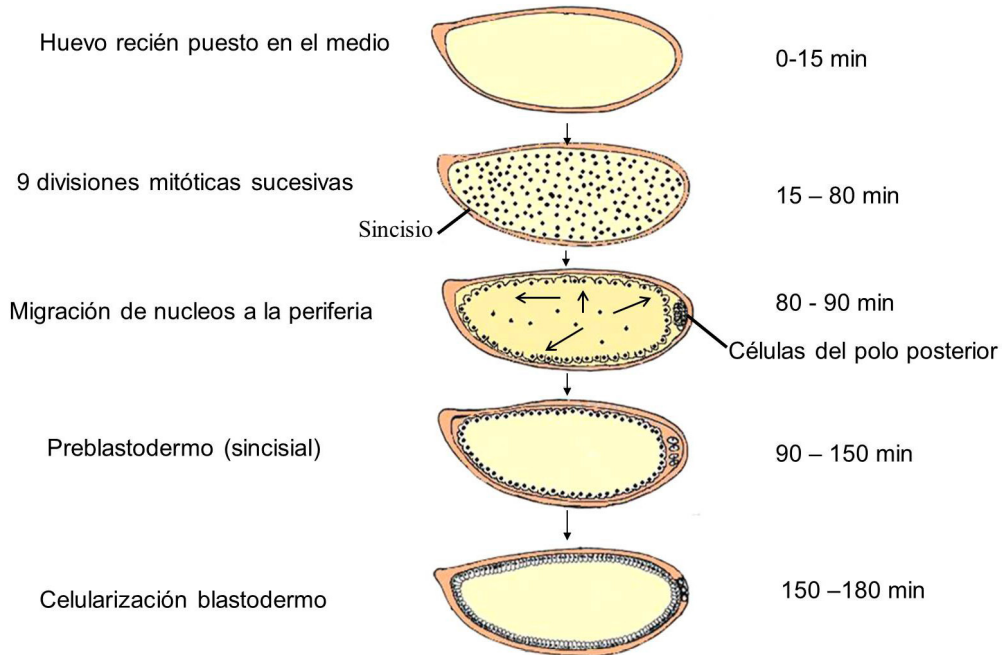


Fig. 18.1. Estadios iniciales del desarrollo en *Drosophila melanogaster*

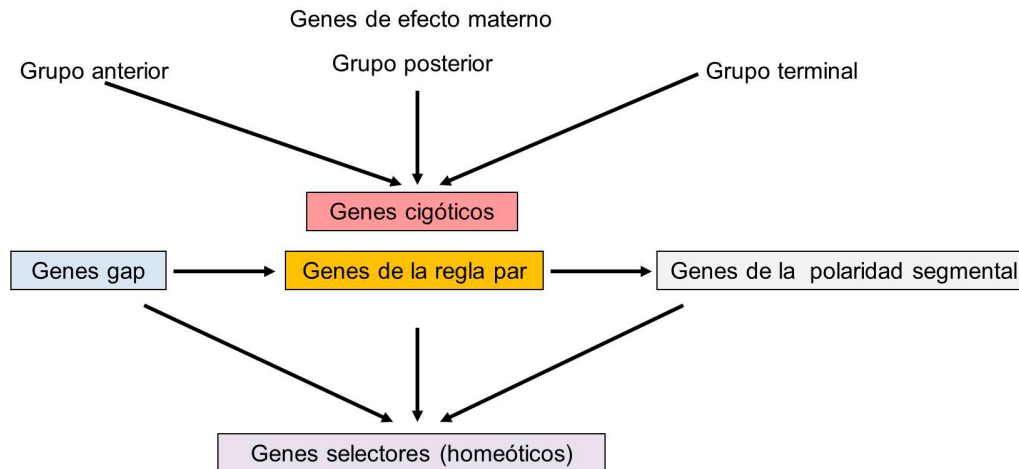


Fig. 18.2. Tipos de genes que se expresan durante el desarrollo embrionario temprano en *Drosophila melanogaster*

Genes de efecto materno

Por la acción de los transcritos de origen materno los productos génicos localizados en las células inician un programa de expresión génica en el núcleo del que resultan la formación de los ejes anteroposterior y dorsoventral. En el blastodermo se reservan células que formarán las estructuras del adulto, éstas forman los discos imaginales. Los mapas bidimensionales de las estructuras adultas se conocen como *mapas de destino* lo que implica que un núcleo migra de acuerdo con un programa y en su posición desarrolla las instrucciones de ese programa.

Codifican para factores de transcripción, receptores y proteínas que regulan la transcripción. Controlan el eje anteroposterior y el eje dorsoventral. El gen más importante para formar la parte anterior es *bicoid* cuya proteína se distribuye en forma de gradiente y se localiza en altas concentraciones en el extremo anterior e induce a la formación de la cabeza. La proteína bicoide es un factor de transcripción que se une a secuencias reguladoras del DNA y estimula la expresión de varios genes. La proteína se une a la región reguladora, corriente arriba, del gen *hunchback* uno de los primeros

genes cigóticos que se activan durante el desarrollo. El gen *hunchback* tiene en la región promotora cinco secuencias consenso 5'-TCTAATCCC-3' en las que se une a la proteína bicoide. El grado de expresión de *hunchback* depende del número de sitios consenso ocupados por la proteína bicoide. El gradiente de la proteína bicoide provoca la transcripción de *hunchback* en la parte anterior pero no en la parte posterior. La proteína *hunchback* estimula la transcripción de los genes que forman la cabeza y el tórax y reprime la expresión de los genes que forman el abdomen. Los genes de la región media, *oskar*, y de la posterior, *caudal* y *nanos*, generan otros morfógenos. La proteína *nanos*, de origen materno, inhibe la expresión de la proteína *hunchback*. *Nanos* se distribuye en forma de gradiente localizándose en altas concentraciones en la parte posterior del embrión. Por tanto la proteína *Hunchback* es estimulada por la proteína *Bicoide* en la parte anterior del cuerpo y reprimida por la proteína *Nanos* en la región posterior.

El eje dorsoventral se forma por la acción de al menos 12 genes distintos, entre los cuales el más importante es *dorsal* el cual se distribuye de forma homogénea hasta la formación del blastodermo que queda redistribuida en el citoplasma de las células de la parte dorsal del embrión, mientras que en las células de la parte ventral es captada por los núcleos, la cual está regida por la proteína *Cactus*, que es fosforilada por la proteína *Toll* siendo entonces degradada. Cuando *Cactus* es degradada, se libera *Dorsal* y entonces puede trasladarse al núcleo donde actúa como un factor de transcripción al unirse a sitios reguladores del DNA activando o reprimiendo genes. La alta concentración de la proteína *Dorsal* en el núcleo activa al gen *twist* que induce el desarrollo de tejidos ventrales, mientras que su baja concentración en el núcleo de las células dorsales activan al gen *decapentaplegic* que especifica estructuras dorsales.

Genes de segmentación

Se transcriben en el embrión y controlan la diferenciación de los segmentos del cuerpo. Estos genes afectan el número y la organización de los segmentos del cuerpo, actúan de forma secuencial y afectan regiones progresivamente más pequeñas; son:

(1) genes *gap* regulan la formación de los segmentos y además dividen al embrión en tres regiones: cabeza, tórax y abdomen. Los genes *gap* codifican para factores de transcripción con motivos de unión al DNA con dedos de zinc. Estos genes correlacionan con varios mutantes: *hunchback*, *Krüppel*, *giant*, *knirp*, *talless* y *huckebein*, mutaciones que generan huecos en los segmentos, o loe eliminan de ahí su nombre. Los genes *gap* a su vez controlan la transcripción de (2) los *genes de la regla par*, cuya acción es la de establecer el límite y destino de cada segmento. Los mutantes *fushi-tarazu*, *even-skipped*, *hairy* y *paired* producen defectos en los segmentos. Estos genes codifican para factores de transcripción que contienen homeodominios hélice-giro-hélice. Estos genes controlan la expresión de (3) los *genes de polaridad segmental* que dividen al embrión en 14 segmentos y a cada segmento en la región anterior y en la posterior. Los mutantes *wingless*, *gooseberry*, *engrailed*, *cubitus interruptus*, y *hedgehog* afectan el patrón de cada segmento al alterar la polaridad generándose una imagen en espejo de parte de otro segmento.

Genes homeóticos

Una vez establecidos el número, orientación y los límites de cada segmento se activan los genes selectores u homeóticos que determinan la identidad de los segmentos de modo que su expresión determina las estructuras que se forman en cada segmento, tales como, antenas, patas, boca y ala, entre otras. Los mutantes de estos genes se denominan mutantes homeóticos y generan la aparición de partes del cuerpo en segmentos incorrectos (Fig. 18.3).

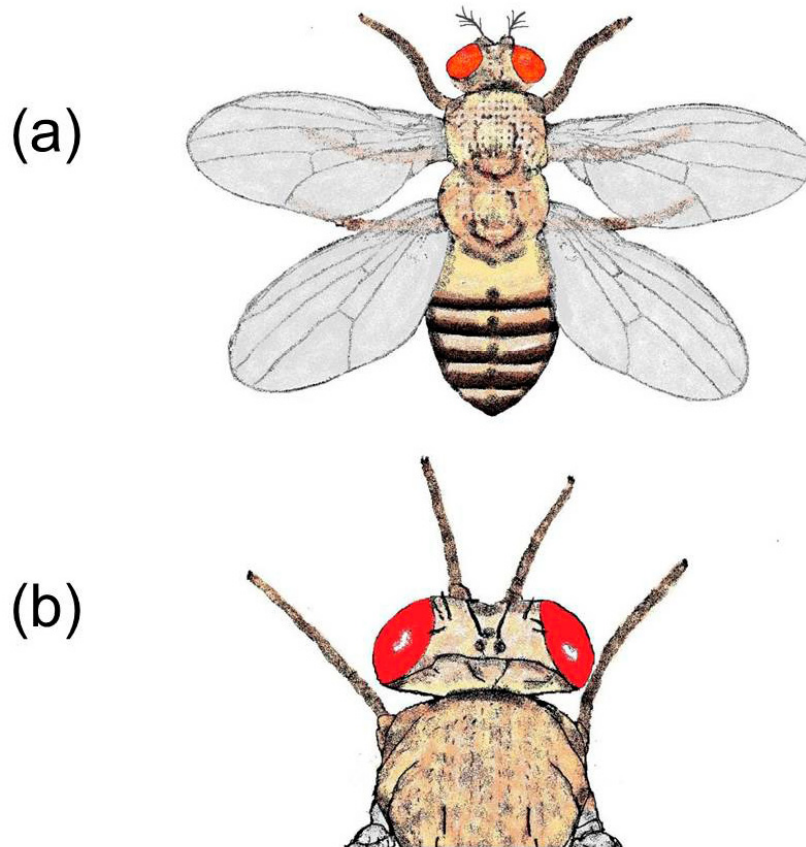


Fig. 18.3. Mutantes homeóticos en *Drosophila* (a) en *Urbitorax* (el tercer segmento del tórax se comporta como el segundo) (b) en *Antennapedia* (las antenas se transforman en patas)

Los genes homeóticos actúan en las células para seleccionar su destino en el desarrollo, por ello se denominan también genes selectores. La cascada de eventos que activa la formación del eje antero-posterior, de los polos anterior y posterior, así como el número de segmentos del cuerpo, su polaridad y organización interna, y la correcta identidad de cada segmento que queda determinada cuando se expresan los genes homeóticos, se muestra en la figura 18.4.

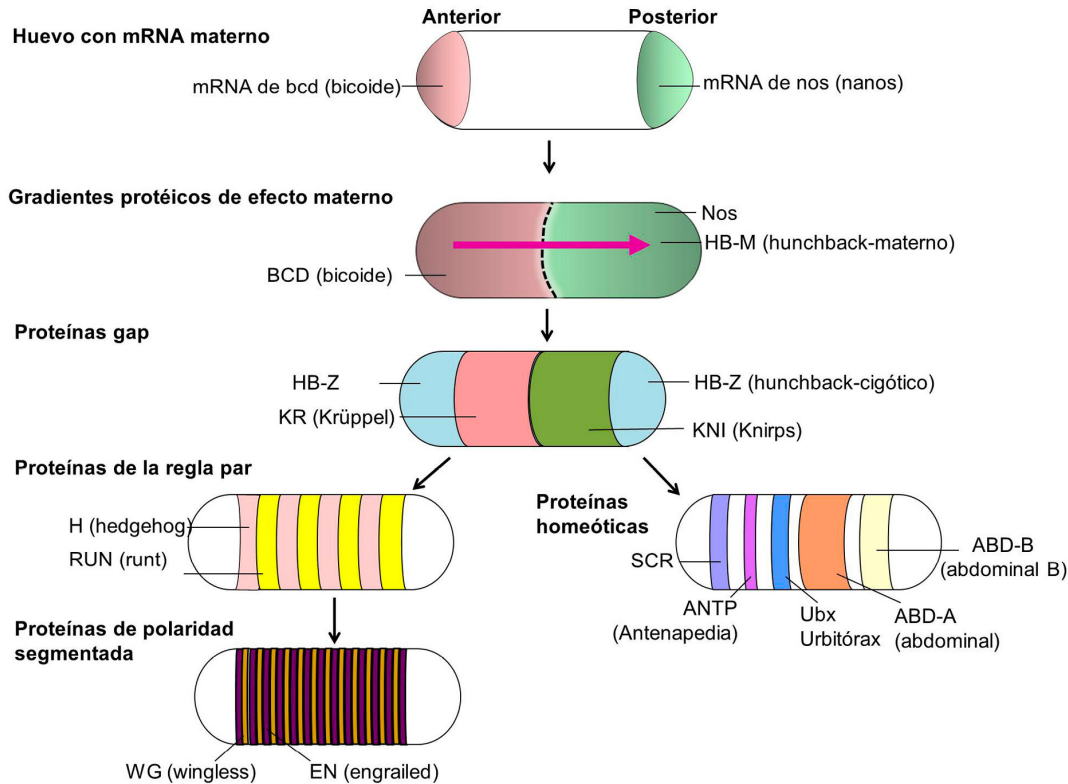


Fig. 18.4. Cascada de eventos en la determinación y destino durante la embriogénesis de *Drosophila*

Se han identificado 8 genes que se denominan genes Hox los que determinan la identidad de diversos segmentos en el embrión, se expresan después de la fecundación y son activados por la concentración específica de las proteínas producidas por los genes cigóticos de segmentación. Estos genes están agrupados en dos complejos génicos en el cromosoma 3, el *Antennapedia* y el *bithorax*. Cada uno contiene diversos genes homeóticos. El complejo *Antennapedia* consta de 5 genes necesarios para especificar las estructuras de la cabeza y de los dos primeros segmentos torácicos, éstos son: *labial*, *proboscipedia*, *Deformed*, *Sex comb reduced* y *Antennapedia*. El complejo *bithorax* contiene 3 genes que codifican para especificar la porción posterior del segundo segmento torácico, de todo el tercero y de los segmentos abdominales, los genes son *Ultrabitorax*, *abdominal-A* y *Abdominal-B*. El orden de los genes en

el cromosoma 3 de estos complejos corresponde con el orden de los segmentos que afectan, desde la parte anterior a la posterior, orden que se conoce como colinear (Fig. 18.5).

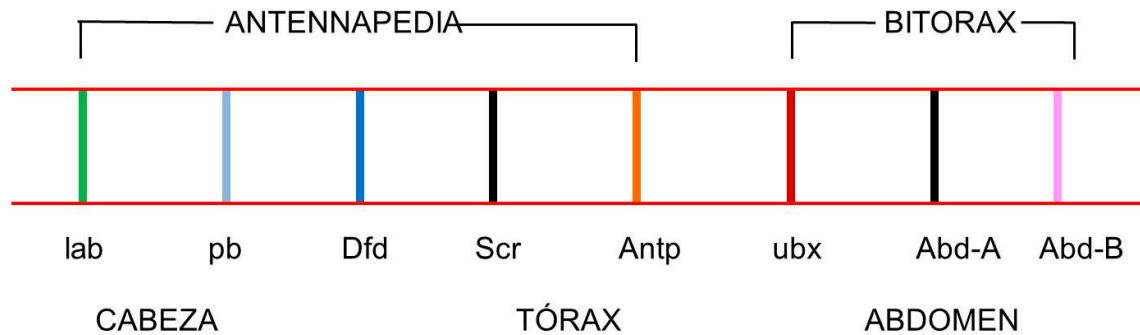


Fig. 18. 5. Genes del complejo Hox en *Drosophila*

Estos genes se expresan en los discos imaginales que proliferan durante los tres estadios larvarios de *Drosophila*, se diferencian en la pupa y forman diversas estructuras en el adulto (Fig. 18.6). Los genes Hox son esenciales en la determinación de la identidad del segmento pero no actúan en la formación de la estructura.

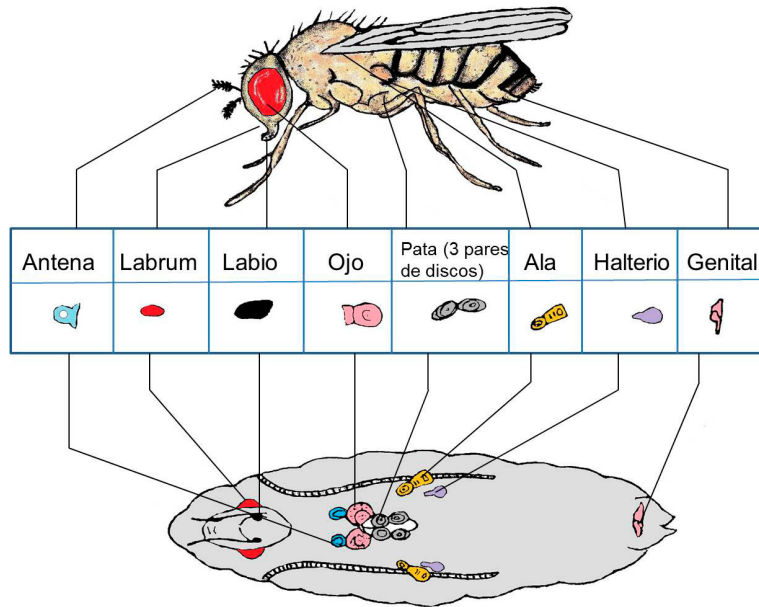


Fig. 18.6. Discos imaginales en la larva de tercer estadio y estructuras a las que da origen (dibujo de Aldi de Oyarzabal)

Cada uno de estos genes codifica para un factor de transcripción que incluye un dominio de unión al DNA codificado por una secuencia de 180 pb denominada caja homeótica, la que codifica para una proteína de 60 aminoácidos denominada proteína homeótica, asociada a la regulación de la transcripción de un grupo de genes específicos que controlan la segmentación. La estructura del homedominio es semejante al dominio de unión al DNA de muchas proteínas reguladoras de procariontes, estos homeodominios se encuentran en más de 20 familias distintas de genes, los que codifican para proteínas de unión al DNA, unión que se establece a través del motivo conservado. Se ha propuesto que cada uno de los genes selectores homeóticos se originaron a partir de un ancestro común por duplicación génica y divergencia posterior.

Estos genes codifican para factores de transcripción con motivos estructurales, tales como, hélice-giro-hélice, dedos de zinc o cremalleras de leucina. Otros genes involucrados en el desarrollo codifican para proteínas que están implicadas en la señalización celular, tanto como ligandos y/o receptores de los ligandos o bien

como componentes de la transducción de señales intracelular. Se han descrito a la fecha siete rutas de señalización en el embrión de *Drosophila*, entre ellas los genes hedgehog, notch, wingless y los factores de crecimiento de las fibroblastos y de la epidermis. Los patrones de señalización constan de al menos un ligando, al menos un receptor en la membrana celular y al menos un factor de transcripción con dominio de unión al DNA. Este patrón es similar en todos los patrones de señalización, aunque a nivel bioquímico, el ligando puede sufrir modificaciones post-traduccionales tales como, fosforilaciones y unión a cofactores que regulan la actividad de los factores de transcripción a través de su translocación al núcleo (Tabla 18.1).

Tabla 18.1. Genes, proteínas, función en el desarrollo presentes en el genoma de *Drosophila* y sus homólogos en el genoma de vertebrados.

Genes/proteínas	Función en el desarrollo	Homólogos en los vertebrados
Con homeodominio		
abdominal-A	Homeótico	No
Abdominal-B	Homeótico	Si
Antennapedia	Homeótico	Si
bicoide	Organizador del eje antero-posterior (materno)	No
caudal	Organizador del eje antero-posterior (materno/cigótico)	Si
deformed	Homeótico	Si
fushi-tarazu	Segmentación de la regla par	No
even-skipped	Segmentación de la regla par	Si

extradenticle	Cofactor de Hox	Si
eyeless	Selector del campo ocular	Si
labial	Homeótico	Si
proboscipedia	Homeótico	Si
Sex combs reduced	Homeótico	Si
Ultrabitorax	Homeótico	Si
Con dedos de zinc		
huckebein	Segmentación gap	No determinado
hunchback	Segmentación gap	No determinado
knirps	Segmentación gap	No determinado
Krüppel	Segmentación gap	Si
tailless	Segmentación gap	Si
Hélice-giro-hélice		
achaeta	Proneural	Si
atonal	Proneural	Si
hairy	Segmentación de la regla par	Si
nautilus	Biogénico	Si
twist	Patrón del eje dorsoventral	Si

GENES CON CAJA HOMEÓTICA EN OTROS ORGANISMOS

Los genes con cajas homeóticas se encuentran conservados en muchos animales, excepto en las esponjas. Entre los vertebrados, se

encuentran en ranas, ratones y seres humanos. Los genes Hox, en los vertebrados están conformados por 13 genes, en lugar de los 8 que se encuentran en *Drosophila*. Los genes Hox de los vertebrados, lo mismo que los de *Drosophila*, codifican para factores de transcripción que determinan la identidad de las diferentes regiones del cuerpo pero no actúan en la conformación de la estructura corporal. El orden relativo en la expresión de estos genes en el eje anteroposterior de los embriones de los vertebrados correlaciona con su posición en cada complejo. Entre los roedores, como el ratón, los genes Hox están agrupados en 4 complejos (Hox a, Hox b, Hox c y Hox d) que se encuentran en cuatro cromosomas del genoma y constan de 39 genes (Fig. 18.7). Este mismo arreglo se encuentra en el genoma humano.

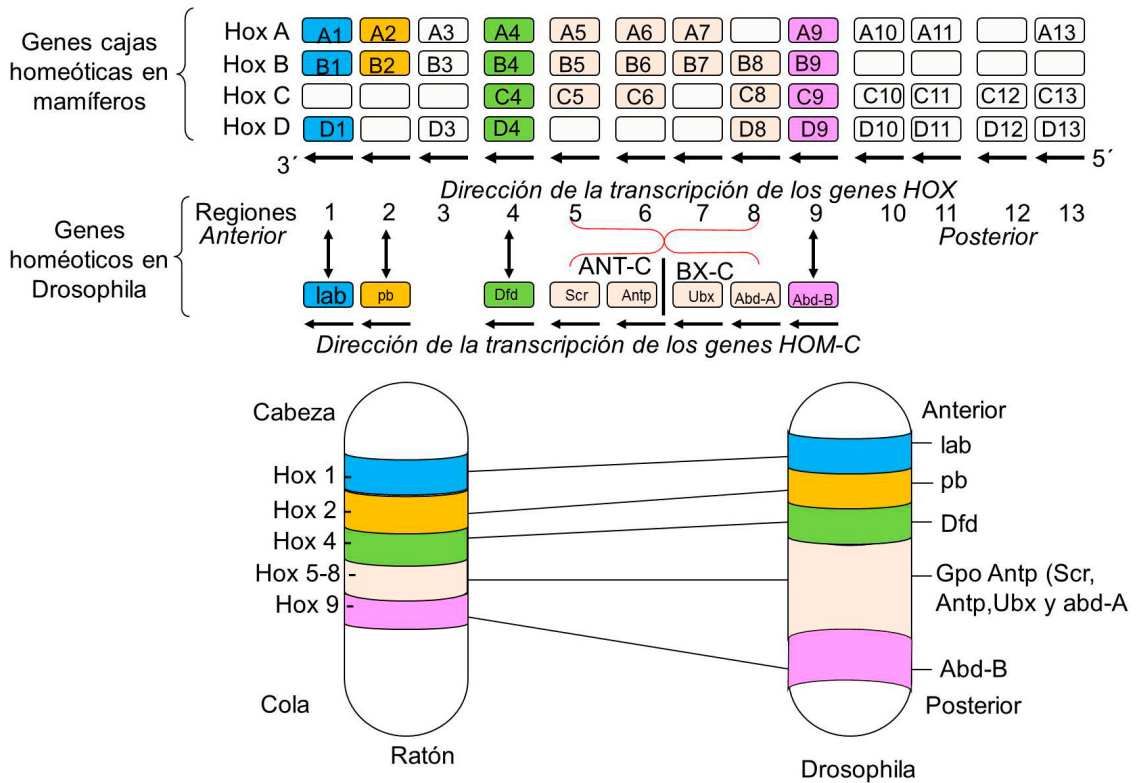


Fig. 18.7. Genes Hox en los mamíferos y comparación con los genes de los insectos

El descubrimiento de los genes homólogos a Hox de *Drosophila* en

vertebrados y otros organismos condujo a la búsqueda de otros genes homólogos a los genes selectores homeóticos. Mediante técnicas de hibridación cruzada insecto-vertebrado fue posible aislar genes homólogos en los dos grandes grupos de animales. El gen *eyeless* de *Drosophilla* se encuentra en el genoma de los vertebrados donde se denomina **Pax-6**, estos genes están involucrados en la formación del ojo. Las mutaciones que afectan o reducen la actividad del gen Pax-6 en ratones generan el fenotipo *small-eye* (sey) lo que resulta en pérdida de tejido ocular, incluyendo la retina, los lentes y la córnea. Las mutaciones en el gen Pax-6 entre los seres humanos pante durante el desarrollo roducen el síndrome de Aniridia con efectos fenotípicos similares a los producidos por *small-eye*. A pesar de las enormes diferencias que existen en la arquitectura y en los principios ópticos de los ojos entre los metazoarios, el gen Pax-6 se comporta como el gen *eyeless* en términos de sus habilidades para producir tejido óptico.

DESARROLLO EMBRIONARIO EN CAENORHABDITIS ELEGANS

El nematodo *Caenorhabditis elegans* es un organismo sencillo cuyo desarrollo dura tres día y su ciclo de vida de dos a tres semanas a una temperatura de 20°C. El adulto está conformado por 1000 células somáticas y alrededor de 2000 células germinales. El cuerpo es alargado, de simetría bilateral, compuesto por piel, tubo digestivo, músculos y nervios, con el cerebro y la boca en la parte anterior del cuerpo y el ano en el posterior. El tubo digestivo está formando por células endodérmicas, un segundo tubo que se encuentra entre el intestino y el tegumento exterior es la gónada. El gusano tiene dos sexos un hermafrodita y otro masculino (menos del 0.05%). Los organismos hermafroditas pueden reproducirse por autofecundación, generándose a partir de un heterocigoto progenie homocigota, o bien por fecundación cruzada. El número de huevos que pone el organismo varía entre 200 y 300.

Varias son las características que lo hacen un organismo modelo, entre ellas: 1) es transparente durante toda su vida; 2) la mayoría son hermafroditas; 3) el adulto tiene 959 células muy bien

caracterizadas a partir de su linaje; 4) es muy sencillo interrumpir la función de genes específicos mediante el RNA de interferencia; 5) su genoma se secuenció en 1998 y codifica para 19,000 genes 40% de ellos semejantes a los del genoma humano; 6) tiene un número diploide de seis cromosomas y un mecanismo de determinación sexual XX-XO; 7) es holometábolo.

El huevo fecundado por divisiones sucesivas genera 558 células que forman un pequeño gusano al interior del huevo, éste eclosiona generándose larvas separadas por cuatro mudas. Después de la última muda el adulto empieza a producir sus propios huevos. El tubo digestivo y la gónada se forman a partir de una célula fundadora que aparece en la división tercera (8 células) para el digestivo y en la cuarta división (16 células) para la gónada. El punto de entrada del espermatozoide define el polo posterior del huevo elongado. Las primeras etapas del desarrollo están reguladas por los genes de origen materno que organizan el patrón asimétrico del huevo. Estos genes son al menos seis se llaman Par (Partición defectuosa) aportan al huevo los gránulos P que se sitúan en la parte posterior de las células hasta el estadio de 16 células en donde solamente una tendrá los gránulos P. Célula que dará origen a la línea germinal.

Las primeras divisiones del huevo se realizan sin crecimiento por lo cual hasta la cuarta división las células se hacen progresivamente más pequeñas. En la primera división quedan determinados por acción de los genes Par y otros genes, las células AB que darán origen a neuronas y faringe en la parte anterior y por la célula P1 Primera posterior. La segunda división da origen a cuatro células en las cuales se expresa el gen Notch en ABp y en P2 los genes Delta y Wnt y en la cuarta célula posterior denominada EMS que dará origen a músculos y a la célula fundadora del tubo digestivo en la etapa en 8 células (tercera división) (Fig. 18.8). La gastrulación ocurre en el estadio de 24 células después de la formación de P4. Horas después ocurre la organogénesis con un número de 558 células. Después de cuatro mudas eclosiona el adulto con 959 células.

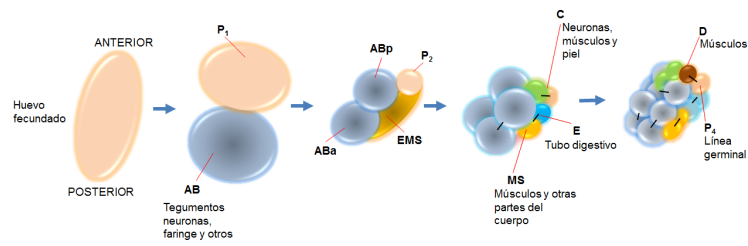


Fig. 18. 8a. Vías de señalización celular que controlan la asignación de caracteres a las células del embrión de *Caenorhabditis elegans* (Alberts y col. 2008)

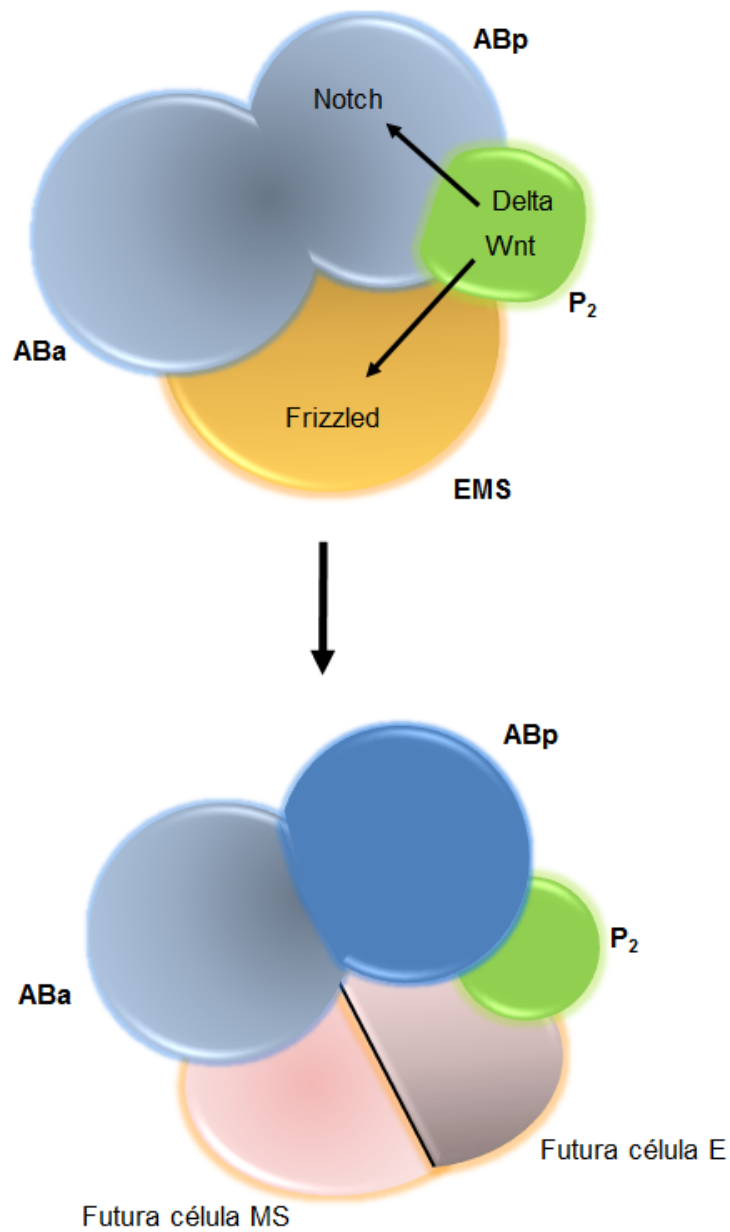


Fig. 18.8b. Señalización en el embrión de cuatro células (Alberts y col. 2008)

Los genes que controlan las herramientas genéticas del desarrollo han sido identificados básicamente a través de las mutaciones las que producen fenotipos denominados heterocrónicos en los cuales las células se comportan como si estuvieran en otra fase larvaria

distinta o en las células del adulto como si estuvieran en estadios larvarios. Estos genes producen casadas reguladoras, algunos de ellos son *Lin 4* y *Let 7* que son microRNAs que como ya vimos son moléculas de regulación génica. El número de células que formarán parte del cuerpo adulto depende tanto de las divisiones celulares como de la muerte celular programada o apoptosis. Un gusano hermafrodita adulto está formado por 1030 células somáticas de las cuales 131 mueren en presencia de los productos de los genes *Ced3*, *Ced4* y *Egl1*. La inactivación de estos genes genera la sobrevivencia de células destinadas a morir y la sobreexpresión produce el efecto contrario. El proceso de apoptosis juega un papel fundamental durante el desarrollo ya que asegura que los distintos tipos celulares que conforman al organismo se encuentren en las proporciones adecuadas.

DESARROLLO EMBRIONARIO EN *ARABIDOPSIS THALIANA*

Las plantas tienen una organización pluricelular muy diferente a la de los animales, pero utilizan el mismo conjunto de herramientas genéticas durante el desarrollo. Las estrategias de desarrollo están muy ligadas a las condiciones del medio ambiente y a dos hechos básicos: que obtienen su energía a partir de la luz solar y que son sésiles.

Arabidopsis thaliana es una angiosperma considerada un organismo modelo ya que se conoce muy bien su genética y biología molecular. La planta es muy pequeña y puede cultivarse en el laboratorio en macetas pequeñas e incluso en cajas de Petri. Las flores son hermafroditas y cada planta puede generar cientos de semillas en alrededor de 10 semanas. El huevo se divide en forma asimétrica estableciéndose así la polaridad del embrión: la célula pequeña se convertirá en el embrión y la grande formará un suspensor que conecta al embrión con el tejido nutritivo. La célula embrionaria diploide prolifera generando dos grupos de células: uno en el extremo del suspensor que dará origen a la raíz y otro grupo de células que dará origen al tallo. Queda establecido entonces el eje raíz-tallo. Se forman después las tres estirpes celulares principales a

saber: epidérmicas, del parénquima y del tejido vascular. Posteriormente las células del tallo generan los dos cotiledones y el embrión queda empaquetada en la semilla. Los meristemos apicales de la raíz y del tallo están formados por células madre. Cuando la semilla germina proceden las divisiones celulares que generan el crecimiento rápido de la raíz que absorbe el agua y sales minerales y del tallo que realiza la fotosíntesis.

El cambio en el meristemo apical para la formación de la flor requiere de varias condiciones tales como la temperatura, la intensidad de la luz, disponibilidad de nutrientes y duración de día. El gen *Constans* cuya expresión se realiza en las hojas es la señal inicial de la floración, el gen regula además la expresión del gen *Flowering locus (Ft)*. Ambos productos génicos viajan por el tejido vascular hasta el meristemo apical donde da inicio la transformación floral. Para que esto ocurra se requiere que sea silenciado el inhibidor de la floración y antagonista de *Ft* el gen *Flowering locus C*. Este gen es silenciado mediante cambios epigenéticos mediados por genes homólogos a los genes del grupo *Polycomb* de *Drosophila*.

Genes homeóticos de *Arabidopsis*: el modelo floral ABC

Los eventos previos al desarrollo de la flor son por tanto varios: (1) transición de una planta madura hacia la floración; (2) transformación del meristemo vegetativo hacia una inflorescencia; (3) formación de la flor mediante el modelo ABC. La floración implica el desarrollo de un programa mediante el cual los mecanismos que generan a las hojas produzcan los cuatro verticilos o apéndices que conforman la estructura floral, éstos siguen un orden preciso primero los sépalos, después los pétalos, los estambres y por último los carpelos. Los cuatro verticilos están definidos por la expresión diferencial en cada uno de ellos de un grupo de genes homeóticos denominados A, B y C que codifican para proteínas reguladoras que determinan la identidad del órgano y dirigen la expresión de la cascada de genes involucrados en el desarrollo de la estructura. El grupo A está involucrado en la formación de los sépalos; los grupos A y B en la de los pétalos; los grupos B y C en el androceo y el grupo

C en los carpelos en el gineceo (Fig. 18.9). Mutaciones en los genes homeóticos alteran a los órganos de la flor. En el grupo A el mutante *Apetala2* afecta a los sépalos que se convierten en carpelos y a los pétalos en estambres. En el grupo B la mutación *Apetala3* transforma los dos verticilos intermedios de modo que los pétalos se convierten en sépalos y los estambres en carpelos. En el grupo C el mutante *Agamous* transforman a los dos verticilos internos en donde los estambres se convierten en pétalos y los carpelos no se desarrollan. En el mutante triple las tres funciones están ausentes y por tanto todos los órganos se han convertido en hojas.

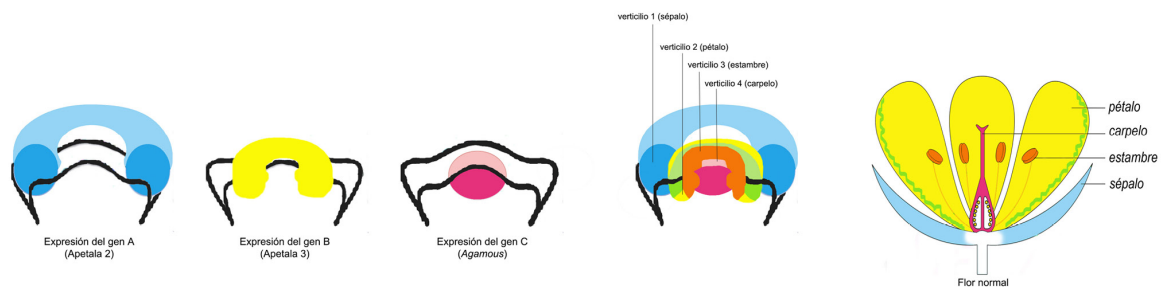


Fig. 18. 9. Patrones de expresión normal de los genes homeóticos ABC en *Arabidopsis thaliana* (Alberts y col. 2008)

19. GENÉTICA CUANTITATIVA

Los rasgos o caracteres de los seres vivos pueden heredarse bajo dos tipos de variación: *la variación discreta* en la cual se presentan categorías discretas mutuamente excluyentes que se cuentan, y *la variación continua* que se caracteriza porque los fenotipos en la población presentan diversos matices intermedios susceptibles a ser medidos. Diversos caracteres de los seres vivos se heredan por la acción de muchos genes que contribuyen a la expresión del carácter, así mismo, su herencia se ve afectada por el ambiente. Estos caracteres se conocen como rasgos multifactoriales debido a que existen muchos factores genéticos y ambientales implicados en su expresión. De modo que, cuando se trata de un carácter que se hereda por este patrón, un solo genotipo puede producir, dependiendo del medio, diversos fenotipos o bien fenotipos parecidos pueden ser el resultado de muchos genotipos diferentes. Entonces las características cuantitativas se deben a dos fenómenos distintos: (1) son poligénicos ya que en su expresión participan muchos genes y por tanto hay muchos genotipos posibles cada uno de los cuales produce un fenotipo diferente (2) los factores ambientales afectan el fenotipo, es decir, el mismo genotipo puede producir un rango de fenotipos cuando las condiciones ambientales varían.

La combinación de la genética cuantitativa con las metodologías moleculares ha permitido localizar las regiones cromosómicas que controlan un rasgo cuantitativo denominadas loci de caracteres cuantitativos o QTL (por sus siglas en inglés *quantitative trait loci*), tales como altura, peso, presión sanguínea, tasa de crecimiento, peso de las semillas, producción de leche en el ganado, entre otras. Se considera que la relación fenotipo-genotipo es compleja de modo tal que cuantos más locus participan en una característica mayor será la complejidad ya que aumenta el número de fenotipos posibles y por tanto las diferencias entre los fenotipos serán más difíciles de distinguir. El ambiente genera una influencia crucial ya que su efecto sobre genotipos iguales puede producir fenotipos muy distintos.

VARIACIÓN CONTINUA

La variación continua fue descrita a finales del siglo XVIII por el naturalista Joseph Gottlieb Kölreuter quien demostró que cuando se cruzan plantas del tabaco altas por enanas en la F_1 todas las plantas muestran una altura intermedia; al cruzar a la F_1 entre sí en la siguiente generación las plantas mostraban variación continua desde el extremo enano hasta el extremo alto pasando por muchas combinaciones intermedias. La distribución del carácter altura muestra ser normal (Fig. 19.1).

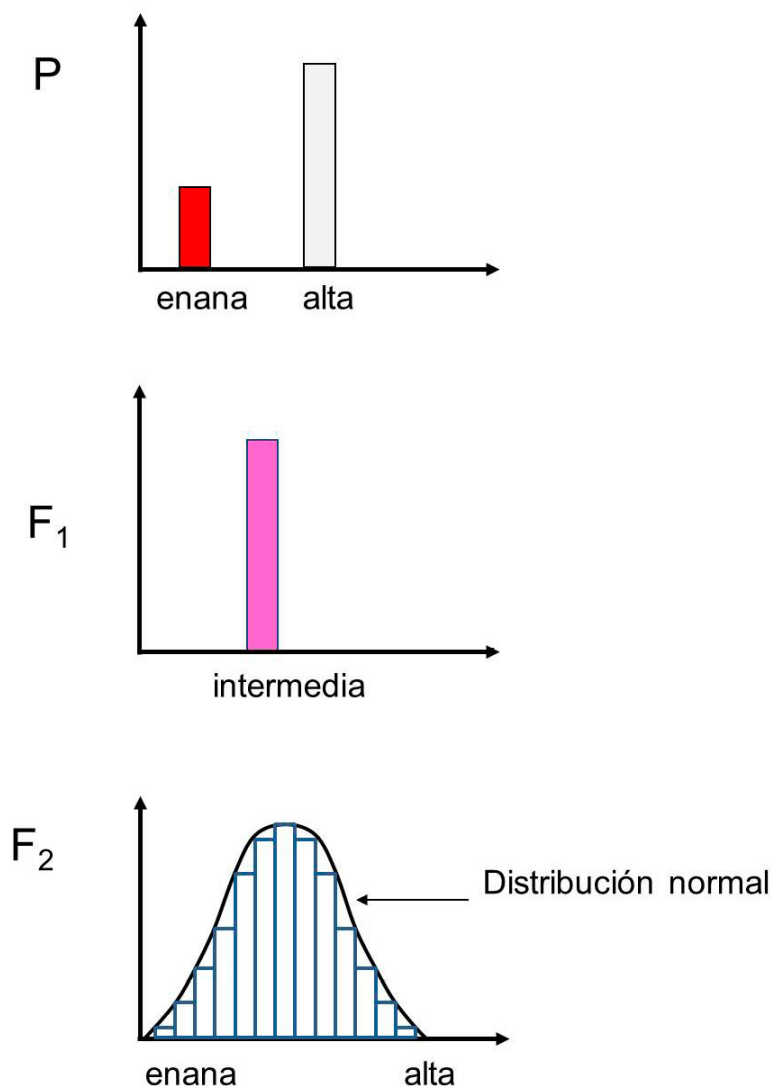


Fig. 19.1. Datos obtenidos por Kölreuter (1789) al cruzar

plantas de *Nicotiana* altas por enanas

La variación continua puede explicarse en términos mendelianos de acuerdo con la hipótesis de los factores múltiples propuesta de Edward East y demostrada por Herman Nilsson-Ehle en la segunda década del siglo XX. Edward East realizó diversas cruces entre plantas de *Nicotiana longiflora* en las que midió el tamaño de la corola, la cual se presentaba en la variedad A con una longitud de 37 a 43 mm y en la B de 91 a 97 mm. En la F_1 obtuvo plantas con una longitud de la corola intermedia: de 61 a 67 mm y en la F_2 de 52 a 82 mm. Por último cruzó entre sí plantas de la F_2 con tamaño de la corola semejante y obtuvo una distribución en campana (Fig. 19.2).

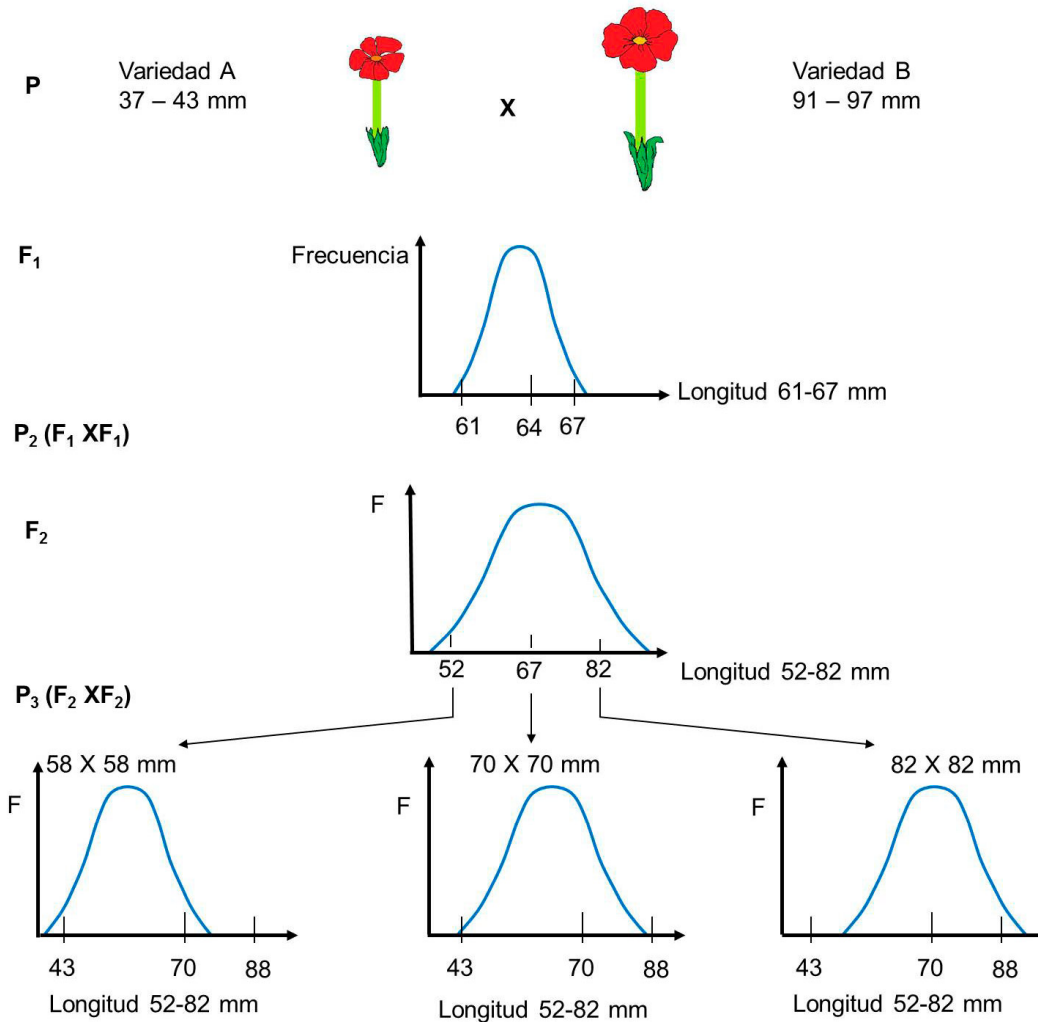


Fig. 19.2. Resultados obtenidos por East al cruzar dos variedades de *Nicotiana* con diferentes longitudes de la corola

Estos resultados le llevaron a proponer la hipótesis de los factores múltiples, que dice:

1. Los caracteres bajo el control de varios factores se pueden medir y pesar.
2. Dos o más pares de genes, que controlan la expresión de un carácter, se expresan en el fenotipo de forma aditiva, por lo que este patrón hereditario se debe a muchos genes (poligenes).
3. Cada locus aporta una cantidad al fenotipo, aunque existe un

alelo que cuantitativamente no contribuye al fenotipo.

4. Juntos los alelos de todos los genes producen una variación continua.
5. El análisis de este patrón hereditario requiere del estudio de un número grande de individuos.

Los experimentos realizados unos años después por Herman Nilsson-Ehle sobre el color de los granos del trigo demostraron los supuestos anteriores. Al cruzar plantas de trigo con semillas rojas por plantas con semillas blancas, la primera generación muestra una coloración intermedia (rosa) y al cruzar la F_1 x la F_1 en la F_2 15/16 de la población muestra algún grado de coloración, mientras que solamente 1/16 de las plantas muestra ausencia total de color. Al analizar cuidadosamente las plantas de la F_2 pudo clasificarlas, de acuerdo a la presencia de color, en cuatro categorías que corresponden al número de alelos aditivos que actúan para producir el carácter. Con estos datos pudo establecer también la proporción esperada en la F_2 (Fig. 19.3).

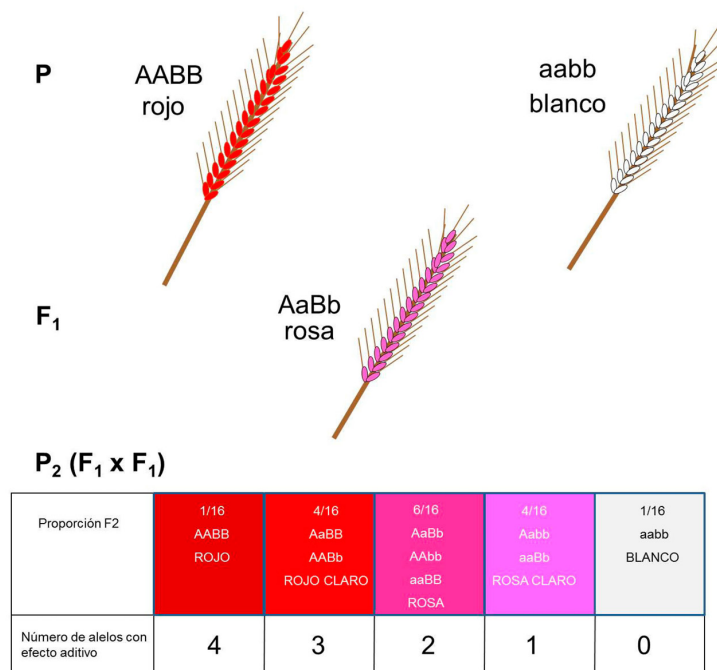


Fig. 19.3. Resultados obtenidos por Nilsson-Ehle al cruzar

plantas de trigo con semillas rojas por plantas con semillas blancas

En los caracteres que se heredan de forma aditiva es posible determinar el número de genes que están involucrados en el patrón cuantitativo. Si se puede determinar la proporción de individuos en la F_2 que corresponden a cualesquiera de los dos fenotipos extremos ($1/4$), entonces es posible calcular el número de genes (n) que están presuntamente implicados, bajo la fórmula $(1/4)^n$ (Tabla 19.1).

Tabla 19.1. Determinación del número de pares de genes (n) implicados en las cruzas poligénicas.

n	Proporción de individuos que expresan un fenotipo extremo ($1/4^n$)	Nro. de clases fenotípicas distintas en la F_2^*
1	1/4	3
2	1/16	5
3	1/64	7
4	1/256	9
5	1/1024	11
* Se calcula mediante $2n+1$ donde n es el número de pares de genes. Si $n = 2$, $2n+1 = 5$ (4,3,2,1,0 alelos aditivos)		

En la figura 19.4 se muestran los resultados de las cruces entre heterocigotos para la herencia poligénica de 1 a 5 genes (10 alelos). Cuando el número de pares de genes es bajo se puede emplear la

fórmula $2n+1$ que permite determinar el número de clases fenotípicas (cuando $n=3$, entonces se tendrán 7 clases fenotípicas (6,5,4,3,2,1,0). A medida que n aumenta la distribución normal se acerca a la curva teórica.

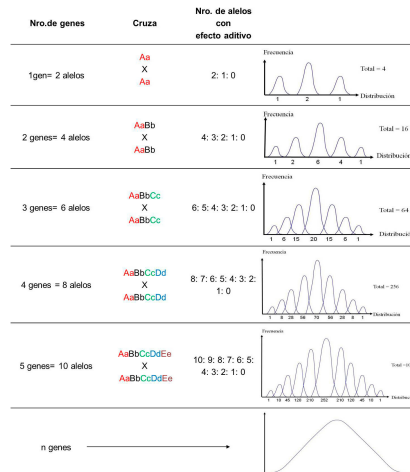


Fig. 19.4. Resultados de las cruzas entre heterocigotos para herencia poligénica de 1 a 5 pares de genes y para n genes

Hacia 1913 C. B. Davenport propuso que la pigmentación de la piel en los seres humanos se debía al patrón de herencia cuantitativa en el que la combinación de 4 alelos (2 genes) produce una proporción fenotípica de 1/16 negro : 4/16 oscuro : 6/16 mulato : 4/16 claro y 1/16 blanco. La pigmentación de la piel es claramente un carácter aditivo, sin embargo, la clasificación de Davenport en cinco clases de pigmentación es arbitraria ya que actualmente se ha demostrado que la coloración de la piel varía de forma gradual y que están involucrados de cuatro a cinco genes (8 a 10 alelos).

Rasgos tales como el peso, la estatura, la presión arterial, la producción de leche, la longevidad, la tasa de crecimiento, la longitud de la vida, así como características de importancia económica entre las plantas y los animales se heredan por la acción aditiva de muchos genes.

ANÁLISIS DE LOS CARACTERES POLIGÉNICOS

Sir Francis Galton (1878) diseñó los métodos estadísticos para el análisis de los caracteres que muestran variación continua, materia que se conoce como *biometría*. Estas herramientas matemáticas son muy importantes para el análisis de los datos experimentales, aunque no ofrecen ninguna explicación sobre los mecanismos genéticos que están involucrados. El análisis de cualquier carácter poligénico implica la obtención de datos a partir de las mediciones que se hagan en una muestra de individuos. El resultado se expresa en forma de una distribución de frecuencias que suele recaer en una curva de distribución normal. La distribución contiene toda la información sobre las mediciones que se han tomado de la muestra, sin embargo, las características de una distribución pueden especificarse de la forma siguiente:

Medidas de Tendencia central, Dispersión y Relación

1. Las **medidas de tendencia central** en las cuales la distribución de todos y cada uno de los valores se agrupan alrededor de un valor central. Entre estos valores se encuentra la *media* (\bar{x}), que no es más que el promedio aritmético de todos los valores ($\bar{x} = \sum xi/n$). La media provee información acerca de la localización de los valores en el centro de la distribución. La *moda* (M_o) que es el número que se repite más veces en la muestra y la *mediana* (M) que corresponde al valor que queda en medio al arreglar todos los números en orden creciente de la muestra.
2. Las **medidas de dispersión** que permiten conocer cuanta dispersión existe entre las medidas individuales de una distribución. La *varianza* (s^2) que mide el grado de variación de cada valor con respecto a la media y se calcula como la suma de los cuadrados de la diferencia de cada valor con respecto a la media dividido entre el tamaño de la muestra menos 1 ($s^2 = \sum (xi - \bar{x})^2/n-1$). La varianza informa acerca de la variabilidad de los datos de modo que a mayor varianza mayor dispersión de los valores. La varianza es un valor elevado al cuadrado, por lo que, sus unidades de medida están también elevadas al cuadrado. Por ello para expresar la variación alrededor de la media en las unidades originales de medida se requiere calcular la raíz

cuadrada de la varianza lo que se denomina *desviación estándar* ($s = \sqrt{s^2}$). En una distribución normal ideal la media más menos una desviación estándar abarca el 68% de todos los datos de la muestra; el 95% corresponde a ± 2 desviaciones estándar y 3 desviaciones estándar abarcan al 99% de todos los valores de la muestra (Fig. 19.5). El *error estándar de la media* (S_x) permite estimar la variación de las medias alrededor de los datos, es entonces, una medida de precisión de la media de la muestra.

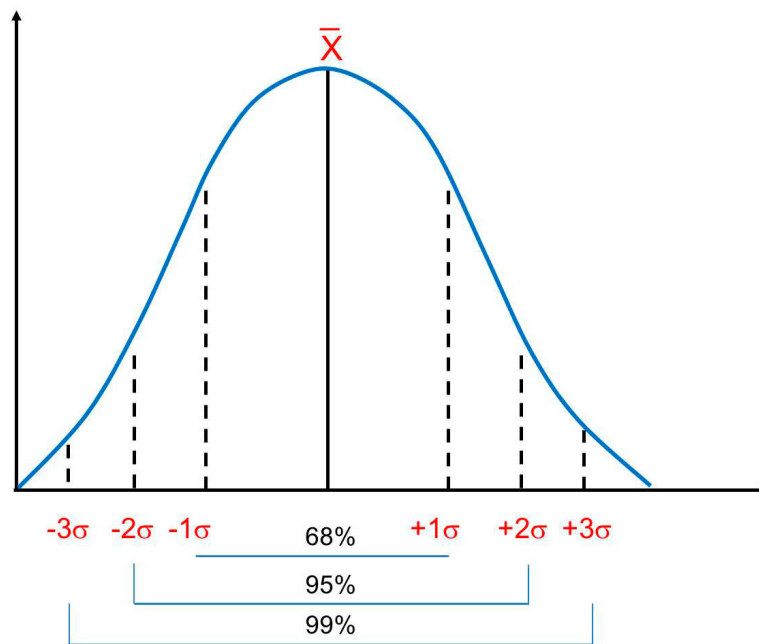


Fig. 19.5. Distribución normal ideal

- Si se consideran dos o más características, **las medidas de relación** permiten conocer cómo éstas están relacionadas. La *covarianza* [$Cov(x,y)$] que es la tendencia de dos caracteres a variar juntos. Por ejemplo el valor $x_i - \bar{x}$ puede ser la desviación en el peso de un progenitor, a partir de una muestra x , mientras que $y_i - \bar{y}$ puede ser la desviación en el peso de un hijo a partir de una muestra y , entonces para estimar la covarianza entre estos parientes se calcula mediante $Cov(x,y) = \sum f_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) / N - 1$

donde N es el número de pares de parientes estudiados. El coeficiente de *correlación* (r) permite medir la relación entre dos o más variables y se calcula mediante $r = \text{Cov}(x,y)/s_x s_y$ donde s_x s_y son las desviaciones estándar de las muestras x, y. Si el coeficiente de correlación es cercano a la unidad (+1.0) entonces la asociación es lineal, cuando $r = -1$ la correlación es inversamente proporcional, pero cuando $r = 0$ entonces x, y no están asociados.

VARIANZA GENOTÍPICA Y VARIANZA AMBIENTAL

Los caracteres cuantitativos se ven afectados no solo por el número de alelos y genes que por sumación contribuyen al carácter, sino también por los efectos del ambiente. Entonces bajo este patrón hereditario el fenotipo de un individuo potencialmente puede estar influido por: (i) elementos genéticos, es decir, el genotipo que se produce por la acción de uno o varios genes, (ii) elementos ambientales, las condiciones ambientales favorables o desfavorables que permiten o impiden la expresión de un rasgo. Por ejemplo, la presencia de nutrientes que posibilitan el crecimiento de los seres vivos y la presencia de fertilizantes, agua y densidad poblacional en los campos de cultivo, entre otros.

Al analizar los caracteres cuantitativos un objetivo importante es el de tratar de conocer la contribución relativa del genotipo y del ambiente en la expresión del carácter. En algunos casos, con organismos experimentales, es posible separar el componente genético del ambiental. Por ejemplo un hibridador podrá comparar la producción en el campo de semillas con el mismo genotipo que se cultivan en ambientes diferentes con la producción de diferentes genotipos en el mismo ambiente. Este tipo de discriminación no puede conocerse para caracteres cuantitativos en los seres humanos. Sin embargo, si es posible comparar los fenotipos de los individuos dentro de la misma población, de modo que, algunas de las diferencias encontradas se deberán al genotipo y otras al fenotipo. Entonces la variación en el fenotipo que se debe a diferencias en el genotipo se denomina *varianza genotípica*. Mientras que la variación en el fenotipo que se debe a diferencias en el ambiente se llama *varianza fenotípica*.

HEREDABILIDAD

Es la estimación del grado en el que los factores genéticos contribuyen a la variación fenotípica, puede comprobarse variando el rango de condiciones ambientales. La heredabilidad en sentido amplio (H^2) mide el grado en el que la varianza fenotípica se debe a la variación de los factores genéticos en una población. La varianza fenotípica (V_F) es a su vez el resultado de tres componentes: la varianza ambiental (V_A), la varianza genética (V_G) y la que resulta de la interacción entre el ambiente y el genotipo (V_{GA}). Por lo tanto:

$$V_F = V_A + V_G + V_{GA}$$

Debido a que la V_{GA} es difícil de medir entonces la heredabilidad en sentido amplio se calcula con base en:

$$V_F = V_A + V_G$$

De modo que la H^2 en sentido amplio expresa la proporción de la varianza debida al genotipo entre la varianza fenotípica:

$$H^2 = V_G / V_F$$

Una heredabilidad en sentido amplio cercana a la unidad indica que las condiciones ambientales no han influido, mientras que una cercana a 0 indicará que la variación ambiental ha sido la responsable de la variación fenotípica observada. Si las diferencias en la producción de leche del ganado o en la producción de huevos en las aves son genéticas entonces se podrán seleccionar a partir de los individuos con mayor producción que serán empleados en las cruces. Si por el contrario las diferencias son ambientales la selección no tendrá efecto alguno.

Este parámetro no es muy preciso para estimar el potencial de selección de un carácter cuantitativo, información que es muy útil en la mejora de plantas y animales con valor comercial, por lo que para estimar el potencial de selección de un carácter se emplea otro parámetro: la heredabilidad en sentido estricto (h^2):

$$h^2 = V_{AD} / V_A + V_D + V_{AD}$$

Donde:

V_{AD} = Varianza genética aditiva que se obtiene del efecto medio de

los componentes aditivos de los genes

V_A = Varianza ambiental

V_D = Varianza genética por la dominancia, desviación de los componentes aditivos que aparece cuando la expresión fenotípica de los heterocigotos para un *locus* no es exactamente intermedia entre los dos homocigotos.

Una heredabilidad en sentido estrecho muy alta predice el impacto que tendrá la selección en alterar a una población.

Un método simplificado para el cálculo de la h^2 es a través de las medias de una población:

$$h^2 = \bar{x}_2 - \bar{x} / \bar{x}_1 - \bar{x}$$

Por ejemplo: si los granos de maíz en una población tienen un diámetro mayor que el deseable ($\bar{x} = 30$ mm) y a partir de ella seleccionamos a la que tiene el diámetro más pequeño ($\bar{x}_1 = 15$ mm), se cruzan entre sí, los granos producidos tendrán una media de 20 mm (\bar{x}_2), entonces podemos calcular la heredabilidad:

$$h^2 = 20-30 / 15-30 = -10/-15 = 0.67$$

Entonces la selección será efectiva para obtener variedades de maíz con un tamaño de grano reducido.

En la tabla 19.2 se muestran algunos datos de heredabilidad en sentido estrecho para varios caracteres en distintos organismos. Puede notarse que la heredabilidad varía mucho entre los diferentes caracteres. La heredabilidad es en general más baja para caracteres esenciales para la supervivencia, tales como, el tamaño de la camada, la producción de huevos, la salida del cascarón y la tasa de concepción. En cuanto a los rasgos menos importantes para la supervivencia como la longitud de la cola, el peso del cuerpo o la longitud de las alas en los dípteros, su heredabilidad es más alta. Es claro que, las estimaciones sobre la heredabilidad aunadas a las técnicas de selección han producido una invaluable mejora en la calidad de los productos animales y vegetales.

Tabla 19.2. Porcentaje de heredabilidad en sentido estrecho para diferentes caracteres en distintos organismos.

Organismo/carácter	Heredabilidad (h²)
<i>Drosophila melanogaster</i>	
Longitud del ala	45
Producción de huevos	18
Gallinas	
Peso del cuerpo	50
Salida del cascarón	15
Vacas	
Peso al nacer	51
Tasa de concepción	3
Ratones	
Longitud de la cola	60
Tamaño de la camada	15

ESTUDIOS DE GEMELOS

En los seres humanos, los gemelos resultan ser sujetos ideales para poder estudiar por separado la varianza genotípica y la varianza fenotípica. La mayoría de los gemelos se crían juntos y por lo tanto están expuestos a ambientes muy parecidos, sin embargo, algunos gemelos pueden separarse y criarse en ambientes diferentes. Bajo estas condiciones ha sido posible investigar las semejanzas y diferencias para un carácter particular y demostrar que las características que permanecen similares en dos ambientes diferentes tienen un componente genético, es decir, son hereditarias. En otra etapa del análisis se pueden comparar las características hereditarias de los gemelos criados juntos con la de los cuates o gemelos dicigóticos, que son tan similares genéticamente como dos hermanos, y determinar la concordancia. Los gemelos serán concordantes para un carácter si ambos lo expresan o ninguno de

ellos lo manifiesta y serán discordantes cuando uno lo presenta y el otro no. En la tabla 19.3 se muestra una comparación de la concordancia para varios caracteres entre gemelos y cuates. En general, una concordancia del 90 al 100% puede indicar que existe un componente genético. Nótese que el sarampión muestra una concordancia del 95%, enfermedad que es producida por un virus, y denota solamente que los gemelos y los cuates comparten el mismo ambiente.

Tabla 19.3. Comparación de la concordancia para varios caracteres en gemelos y cuates.

Carácter	Concordancia Gemelos	Cuates
Grupos sanguíneos	100	55
Color de los ojos	99	38
Retraso mental	97	28
Sarampión	95	89
Epilepsia	69	12
Diabetes	65	5
Cáncer mamario	6	3

LOCALIZACIÓN DE LOCUS DE RASGOS CUANTITATIVOS (QTL)

El empleo de diversas metodologías moleculares ha permitido, en años recientes, la localización e identificación de locus de rasgos cuantitativos (QTL). Un QTL no es un gen es una región del cromosoma que se asocia con un carácter particular. De modo que si la herencia de un carácter particular, por ejemplo el peso, se asocia con un marcador éste debe estar ligado a un QTL. Se han empleado

metodologías disponibles para tal efecto: polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs); microsátelites y polimorfismos de fragmentos de restricción. El mapeo de los QTLs puede realizarse mediante el análisis de ligamiento tradicional en el cual cruza entre cepas homocigotas que difieran en varios alelos y la progenie resultante de la primera generación se retrocruza para poder determinar qué genes están ligados y cuáles no lo están. Se establece entonces si existe alguna correlación entre la herencia de un marcador particular y un fenotipo cuantitativo lo que indicará que un QTL está ligado a ese marcador. El mapeo de QTLs ha permitido detectar diversos caracteres presentes tanto en plantas como en animales. Por ejemplo en el maíz rasgos como el rendimiento del grano, la altura del tallo y la tolerancia a la temperatura son características cuantitativas asociadas a QTLs. En los cerdos son caracteres cuantitativos detectados por QTL la grasa promedio del cuerpo y el crecimiento.

20. GENÉTICA DE POBLACIONES (MICROEVOLUCIÓN)

La genética de poblaciones tiene como objetivo el describir los niveles de variación genética dentro y entre poblaciones (a través de las frecuencias alélicas y genotípicas) y trata de explicar esta variación en términos de las fuerzas evolutivas (mutación, migración, selección y deriva génica). La manera como se distribuye la variación genética dentro y entre poblaciones constituye su estructura genética e involucra el estudio espacial y temporal de las frecuencias genotípicas.

La aplicación de los principios mendelianos al análisis de la estructura génica de las poblaciones naturales, es el objeto principal de estudio de la genética de poblaciones. Se analizan los factores y fuerzas del patrón evolutivo, en los sistemas biológicos, mediante modelos matemáticos sofisticados.

Cada individuo tiene combinaciones de alelos específicos en su genoma, al conjunto de organismos y a su información genética combinada se le conoce como *poza génica*. Las poblaciones son pues agregados de individuos que comparten uno o varios factores, tales como el espacio; en términos genéticos una población es un conjunto o comunidad reproductiva de individuos que se reproduce de forma sexual que comparte una poza génica y se fertiliza de forma cruzada produciendo descendencia fértil, la que a su vez genera hijos fértiles, es decir, es una especie o población mendeliana. De acuerdo con Dobzhansky (1935) en una especie sus miembros tienen la habilidad de intercruzarse y mantener su aislamiento reproductivo de otras especies (definición adoptada por Mayr en 1942) La poza génica se reconstruye en cada generación y la variabilidad de la misma es la que, en función del tiempo, produce la evolución.

Así cuando cruzamos individuos heterocigotos para un gen, Aa , en la primera generación esperamos los genotipos: AA , Aa , aa en términos de probabilidad = 0.25, 0.50 y 0.25, entonces la frecuencia de dos alelos en la poza génica es equivalente a la probabilidad de los gametos que portan esos alelos, es decir, 0.5 para A y 0.5 para a . Usando el binomio $(0.5 + 0.5)^2$ pueden predecirse los genotipos de los individuos en la población, lo que podría revelar el establecimiento del equilibrio génico en la población (Fig. 20.1).

P Aa X Aa

	$\text{♂} \text{♂}$		
Gametos:	$\text{♀} \text{♀}$	0.50 A	0.50 a
	0.50 A	0.25 AA	0.25 Aa
	0.50 a	0.25 Aa	0.25 aa

Fig. 20.1. Frecuencia de genotipos a partir de una cruce entre heterocigotos

El equilibrio génico en las poblaciones puede perdurar un infinito número de generaciones siempre y cuando prevalezcan ciertas condiciones como: (a) que el tamaño de la población tienda a infinito, (b) que las cruces se realicen al azar, (c) que el éxito reproductivo y de supervivencia sea el mismo para todos los genotipos, (d) que no se presente ninguna mutación *de novo* en ningún *locus* génico, (e) que ningún genotipo (individuo) entre o salga de la población. Condiciones que, como analizaremos, es difícil que se cumplan.

LEY DE HARDY-WEINBERG

En 1908 Godfrey Hardy un matemático británico y Wilhem Weinberg, un físico alemán postularon que el equilibrio en las frecuencias alélicas y genotípicas surgirá en una población bajo los siguientes supuestos:

- organismos diploides
- con reproducción sexual
- generaciones que no se sobrelapen
- el apareamiento ocurre al azar
- un gran tamaño de población, virtualmente infinita
- no hay mutaciones nuevas en la poza génica
- no hay migración ni selección de genotipos ni diferencia en la habilidad de sobrevivir y reproducirse

El equilibrio Hardy-Weinberg tiene tres facetas:

1. Las frecuencias alélicas en una población en un locus autosómico en

una población no cambiaran de una generación a la siguiente.

2. Las frecuencias genotípicas de la población están determinadas por las frecuencias alélicas.
3. Si el equilibrio se perturba, se restablecerá en tan solo una generación de apareamiento al azar.

La frecuencia de un alelo designado como p , depende de la frecuencia de su alelo designado como q , la suma de ambos en la población debe ser la unidad o 100%. El binomio $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$ corresponde a la ley de Hardy-Weinberg postulada de forma independiente por ambos en 1908. Describe la frecuencia de alelos en equilibrio en una población mendeliana, y corresponde a los fundamentos matemáticos de la genética de poblaciones. De modo que la frecuencia relativa de las clases genotípicas en una población depende de la frecuencia de los alelos de ese locus génico en la población (Fig. 20.2).

P Aa X Aa

Gametos:	♀ ♀	$p A$	$q a$
	$p A$	$p^2 AA$	$pq Aa$
	$q a$	$pq Aa$	$q^2 aa$

Fig. 20.2. Frecuencia de clases genotípicas en una población a partir de la frecuencia de alelos

En el equilibrio Hardy-Weinberg las poblaciones pueden variar en un amplio espectro de proporciones genotípicas y cada proporción es el reflejo de los dos alelos en el locus. Estas relaciones pueden ser puestas en una gráfica de tal forma que podemos predecir que proporciones genotípicas esperaríamos a partir de las frecuencias alélicas (Fig. 20.3).

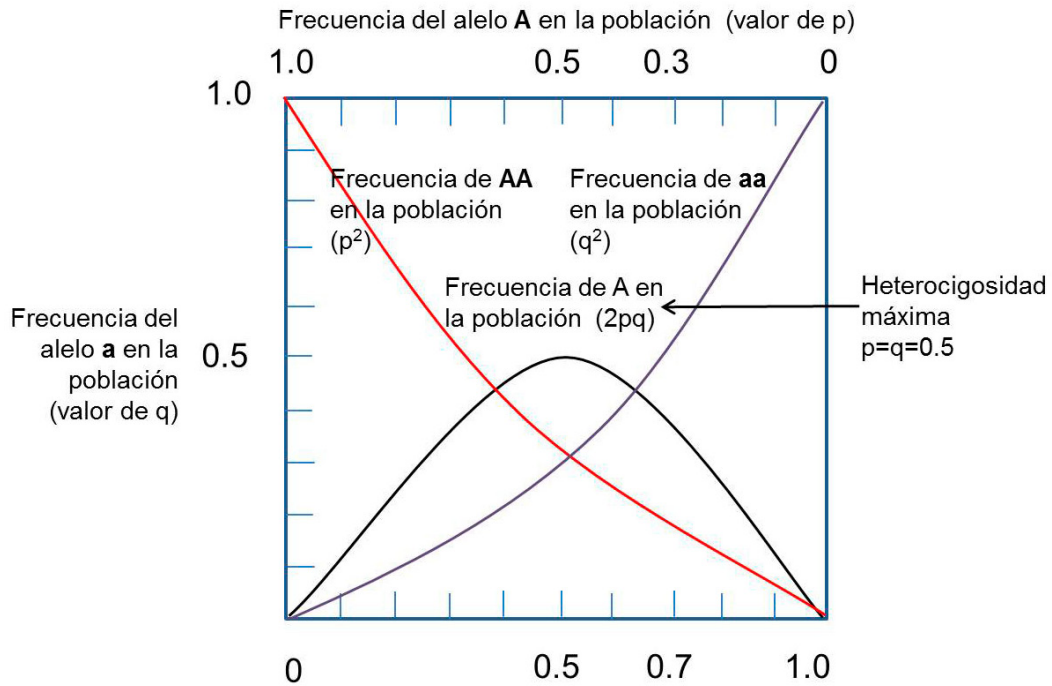


Fig. 20.3. Frecuencia de los genotipos AA, Aa y aa relativa a la frecuencia de los alelos A y a en poblaciones en equilibrio Hardy-Weinberg

Si en una población el alelo A tiene una frecuencia del 70% y el alelo a del 30%, es decir, $p = 0.7$ y $q = 0.3$ y si la fertilización ocurre al azar, entonces la frecuencia de genotipos en la siguiente generación será el producto de la frecuencia de cada alelo (Fig. 20.4).

	♂♂	
♀♀	A=0.7	a=0.3
A= 0.7	p ² AA= 0.49	pq Aa= 0.21
a= 0.3	pq Aa= 0.21	q ² aa= 0.09

Por lo que:

$$(p+q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$$

$$(0.7 + 0.3)^2 = 0.49 + 0.42 + 0.09 = 1$$

Fig. 20.4. Frecuencia de genotipos en una población a partir de la frecuencia del alelo A = 0.7 y a = 0.3.

La fenilcetonuria es un defecto genético en el cual los individuos que portan esta mutación autosómica recesiva son incapaces de transformar la fenilalanina en tirosina. Si la frecuencia de esta enfermedad en la población de caucásicos es de 1 en 3600 entonces:

$$q = \sqrt{q^2} = \sqrt{1/3600} = 1/60 = 0.0167 \text{ (1.67\%)}$$

$$p = 1 - q = 59/60 = 0.9833 \text{ (98.33\%)}$$

$$2pq = 2 (0.0167)(0.9833) = 0.032 \text{ portadores heterocigotos (1/30)}$$

Para genes ligados al sexo, los cálculos de la frecuencia de alelos son los siguientes: dado que los machos son hemicigotos, la frecuencia de un alelo es igual a la frecuencia fenotípica. Así, si el daltonismo se presenta en el 8% de los hombres, entonces $q = 0.08$. Entre las mujeres la probabilidad de ser daltónica es: $q^2 = 0.08 \times 0.08 = 0.0064$ por lo que en una muestra de 10,000 seres humanos 800 serán varones daltónicos y 64 serán las mujeres que presenten ceguera parcial a los colores.

De modo que los genes ligados al sexo no están en equilibrio, si un gen ligado al sexo (X+) se presenta en el 100% de las mujeres y no se encuentra en los varones, en la primera generación, se tendrá en el 100% de los hombres (Fig. 20.5).

P ♀ X⁺X⁺ × ♂ X Y

♂♂

♀♀	X	Y
X ⁺	X ⁺ X	X ⁺ Y
X ⁺	X ⁺ X	X ⁺ Y

Fig. 20.5. Resultado que se obtendría en la F₁ a partir de genes ligados al sexo que no están en equilibrio

Por lo que en los machos la frecuencia pasa de 0 a 100% y en las hembras disminuye de 100 a 50%. En la segunda generación se tendrían los resultados que se muestran en la figura 20.6.

P₂ (F₁ × F₁)

♂♂

♀♀	X	Y
X ⁺	X ⁺ X	X ⁺ Y
X	XX	XY

Fig. 20.6. Resultados que se obtendrían en la F₂

Es decir, el carácter se encuentra en el 75% de las hembras y en el 50% de los machos.

La frecuencia de alelos codominantes en las poblaciones humanas puede estudiarse a través de la frecuencia de los grupos sanguíneos MN. Éstos pueden determinarse serológicamente, al ser codominantes los tres genotipos se expresan fenotípicamente, no hay selección entre los miembros de la población porque el fenotipo no es visible a simple vista, por ello los casamientos son al azar y hasta donde se sabe no existe ventaja adaptativa de un genotipo sobre otro. De modo que si se realiza un

muestreo entre 613 individuos de una población y se determina el grupo sanguíneo:

M = 179, MN 304 y N 130, entonces la frecuencia del alelo L^M puede calcularse como:

$$L^M = \frac{\text{nro. indiv. M} + \frac{1}{2} \text{ indiv. MN}}{\text{total indiv. de la muestra}} = \frac{179 + \frac{1}{2} (304)}{613} = 0.54 = 54\%$$

La frecuencia del alelo L^N es = 1 - L^M = 1 - 0.54 = 0.46, o también:

$$L^N = \frac{\frac{1}{2} (304) + 130}{613} = 0.46 = 46\%$$

La frecuencia de cada genotipo es el producto de la frecuencia de los alelos L^M y L^N, o el producto de la probabilidad de que un gameto que porte un alelo se funda con otro gameto que porte otro alelo, lo que se expresa como (p + q)². Ya que p² es el producto de p x p sacando la raíz cuadrada de p² obtenemos el valor del alelo p. Lo mismo puede hacerse para obtener el valor de q. Una vez que conocemos los valores de p (y/o de q) restamos el valor de 1 y encontramos el valor del otro alelo:

$$p^2 (L^M L^M) = (0.54 \times 0.54) = 0.29; p = \sqrt{0.29} = 0.54$$

$$q = 1 - p = 1 - 0.54 = 0.46, \text{ ó}$$

$$q^2 (L^N L^N) = 0.21; q = \sqrt{0.21} = 0.46$$

Usando los valores observados de los alelos p y q podemos calcular el % de los tres genotipos esperados en la muestra de 613 individuos:

$$p^2 = (0.54)^2 = 0.29; 613 \times 0.29 = 178 L^M$$

$$2pq = 2 (0.54 \times 0.46) = 0.50; 613 \times 0.50 = 306 L^M L^N$$

$$q^2 = (0.46)^2 = 0.21; 613 \times 0.21 = 129 L^N$$

Para alelos múltiples puede aplicarse la expansión del trinomio :

$$(p + q + r)^2 = p^2 + 2pq + 2pr + q^2 + 2qr + r^2 = 1$$

En el sistema de grupos sanguíneos ABO cuya herencia se debe a tres alelos múltiples I^A, I^B, i, los dos primeros codominantes y el tercero recesivo a ambos, la frecuencia de cada alelo es:

$$p = \text{frecuencia de } I^A$$

$$q = \text{frecuencia de } I^B$$

$$r = \text{frecuencia de } i$$

La frecuencia genotípica para el sistema ABO se muestra en la tabla 20.1. Si en una muestra se encuentra que 808 individuos muestran el

fenotipo O (43.7%), 699 el A (37.8%), 259 B (14.0%) y 83 AB (4.5%), entonces podemos calcular la frecuencia de los alelos. La frecuencia de *i* se determina rápidamente sacándole raíz cuadrada al número de individuos que muestran el fenotipo O = 0.437 = 0.66. Los cálculos para el *p* (frecuencia de *I^A*) y para el alelo *q* (*I^B*) son:

$$p = 1 - \sqrt{B+O} = 1 - \sqrt{0.14 + 0.437} = 0.24$$

$$q = 1 - \sqrt{A + O} = 1 - \sqrt{0.378 + 0.437} = 0.10$$

$$\text{De modo que } p + q + r = 0.24 + 0.10 + 0.66 = 1$$

La ley de Hardy-Weinberg tiene varias implicaciones: (1) si hay equilibrio no hay evolución; (2) las frecuencias genotípicas están determinadas por las frecuencias alélicas por lo cual los heterocigotos no exceden al 0.5; (3) si el equilibrio se establece en una generación ello no implica que ésta no esté sujeta a los cambios dados por mutación, selección y migración.

Tabla 20.1. Fenotipos, genotipos y frecuencias genotípicas en el sistema ABO.

Fenotipo	Genotipo	Frecuencias genotípicas
A	$I^A I^A$ $I^A i$	$p^2 + 2pr$
B	$I^B I^B$ $I^B i$	$q^2 + 2qr$
AB	$I^A I^B$	$2pq$
O	ii	r^2

CAMBIOS EN LA FRECUENCIA DE ALELOS EN UNA POBLACIÓN

Las poblaciones en las cuales no se produce ningún cambio en la frecuencia de alelos son estables y no sujetas al proceso evolutivo, ya que éste se produce en función de los cambios genéticos y del tiempo. Los factores que influyen en los cambios genéticos de la población son:

1. Cambios recurrentes de una forma alélica a otra en un locus génico, fenómeno conocido como *mutación*.
2. *Selección*, proceso responsable de la reproducción diferencial de los diversos tipos genéticos que conforman a una población.
3. *Sistemas de apareamiento*, pueden ser al azar o no al azar, lo que determina la proporción de genotipos que se producen en una

generación.

4. *Migración*, entrada o salida de individuos, y por tanto de genotipos, en una población, fenómeno que influye en la proporción de genotipos que conforman la poza génica.
5. *Deriva génica al azar*, fluctuaciones en la frecuencia de alelos, como resultado del azar que tiene efectos neutrales en la adecuación y es muy visible en poblaciones pequeñas.

MUTACIÓN

La mutación es la fuente primaria de variación genética. La variación genética se crea por cambios en el material genético y los cambios heredables constituyen las mutaciones. Podemos considerar a las mutaciones en un sentido amplio, desde aquellas que afectan a las bases del DNA, hasta los cambios en los cromosomas. Puesto que las tasas de mutación son típicamente muy pequeñas (en el orden de 10^{-4} a 10^{-6} mutaciones por gen por generación), la tendencia al cambio de las frecuencias como resultado de una mutación en el curso de unas cuantas generaciones es insignificante, sin embargo, los efectos acumulativos sobre largos períodos de tiempo pueden ser apreciables.

Las mutaciones son cambios recurrentes de un estado alélico a otro, las mutaciones hacia delante (u) y las retromutaciones (v) ocurren en proporciones diferentes. La mutación es una fuerza que afecta la frecuencia de alelos, ya que la mutación de A hacia a , reduce la frecuencia de A y aumenta la frecuencia de a en la poza génica a sus expensas. Lo mismo ocurre de a hacia A . La proporción de mutaciones hacia delante u y las retro-mutaciones v , se expresan mediante la proporción de alelos que mutan/generación, así la proporción de:

$$\begin{array}{ccc} u & & v \\ A \rightarrow a & & a \rightarrow A \\ pu & & pv \end{array}$$

Si la proporción de mutación de $A \rightarrow a = u = 2 \times 10^{-5}$ y la proporción de mutación de $a \rightarrow A = v = 1 \times 10^{-5}$ entonces el aumento de A será pv y el decremento de A será pu . Si la frecuencia inicial (p_0) es $p = 0.6$ y $q = 0.4$, el cambio neto (Δ) en la frecuencia de A en la primera generación (p_1) será:

$$\Delta p = qv - pu$$

$$\Delta p = (0.4) (1 \times 10^{-5}) - (0.6) (2 \times 10^{-5}) = (4 \times 10^{-6}) - (12 \times 10^{-6}) = -8 \times 10^{-6}$$

De modo que la nueva frecuencia del alelo A en p1 es la frecuencia inicial más el cambio en la frecuencia de A o Δp :

$$p_1 = p_0 + \Delta p$$

$$p_1 = 0.6 + (-8 \times 10^{-6}) = 0.599992$$

$$q_1 = 1.0 - 0.599992 = 0.400008$$

Aún cuando la proporción de mutación de A hacia a es el doble de las mutaciones reversas, el efecto en la poza génica es muy pequeño en una generación ya que causa un aumento de a de 8 en un millón de genes en la población.

El punto de equilibrio existirá cuando no hubiere más cambios en las frecuencias alélicas sólo por mutación, es decir:

$$\Delta p = p_u - p_v = 0$$

De modo que p y q estarán en equilibrio (\hat{p} \hat{q})

$$\hat{p}u = \hat{q}v$$

$$\hat{p}u = (1 - \hat{p})v$$

$$\hat{p}u = v - v\hat{p}$$

$$\hat{p}(u + v) = v$$

$$\hat{p} = v/u + v\hat{q} = u/u + v$$

El valor en equilibrio de p (\hat{p}) depende de la proporción de mutación y es independiente del valor inicial de p (p_0). El mismo punto de equilibrio se alcanza a partir de cualquier valor inicial de p_0 y de q_0 incluyendo 0 y 1. En el ejemplo:

$$\hat{p} = 1 \times 10^{-5} / (1 \times 10^{-5}) + (2 \times 10^{-5}) = 0.333$$

$$\hat{q} = 1.0 - 0.33 = 0.667$$

Así en equilibrio hay el doble de genes a en la población ($A = 0.33$, $a = 0.666$). El equilibrio se debe a la proporción de mutaciones opuestas, es dependiente de la frecuencia e independiente de las frecuencias iniciales de esos genes. Sin embargo, el cambio en las frecuencias de los alelos es dependiente tanto de la frecuencia de los alelos como de la proporción de mutación.

El efecto de las mutaciones solo es despreciable en cuanto a la

evolución, sin embargo, el hecho más importante de los procesos mutacionales es que se produce nueva información genética lo que hace que aumente la variabilidad en la poza génica. Las mutaciones, por tanto, son la materia prima de la evolución, éstas aunadas a otros procesos son los que influyen en la velocidad de los cambios evolutivos.

SELECCIÓN

A menudo, las expresiones fenotípicas de varios genotipos incluyen diferencias en fertilidad y viabilidad. La selección natural es el proceso por el cual genotipos con mayor adecuación (i.e., mayor capacidad de sobrevivir y de reproducirse en un ambiente determinado), dejan en promedio más descendencia que genotipos con menor adecuación. La adecuación por tanto tiene dos componentes: la viabilidad y el éxito reproductivo. Será mayor cuando los individuos tienen variantes que les permiten sobrevivir y reproducirse en un medio cambiante. Conforme los alelos favorables incrementan su frecuencia en la población, se forman más genotipos “mejor adaptados”. Como resultado, los tipos y frecuencias de alelos en la población cambian para promover una mejor adaptación de la población al ambiente. La capacidad diferencial de los genotipos parentales para contribuir con gametos funcionales y las tasas de sobrevivencia diferencial de varios gametos y/o cigotos podría cambiar las frecuencias génicas y genotípicas de la descendencia comparada con las de los progenitores.

El concepto esencial de la selección natural es la reproducción diferencial de individuos en una población genéticamente diversa. Propuesta por Darwin y Wallace en 1859, como cualquier carácter que se manifiesta en la población y que deje proporcionalmente más descendencia que otros individuos en la población tenderá a aumentar en frecuencia ya que los genes responsables del carácter aumentarán en frecuencia. El efecto de la selección natural puede medirse, al menos, en situaciones sencillas, así: si las proporciones iniciales de *AA* y *aa* son iguales en una población y por cada 100 individuos *AA* que sobreviven y se reproducen sólo 80 individuos *aa* sobreviven y se reproducen, podemos pensar que la adecuación (*w*) de *aa* es del 80%, entonces:

$$w = 1-s$$

$$0.8 = 1-s$$

$$s = 0.2$$

De modo que *s* es una medida de la desventaja selectiva del genotipo menos adecuado (Tabla 20.2), el cambio en una generación se muestra en la tabla 20.3.

Tabla 20.2. Medida de la desventaja selectiva (s) del genotipo menos adecuado.

	AA	Aa	aa
w	1	1	0.8
s	0	0	0.2

Tabla 20.3. Cambio en la frecuencia de alelos en una generación bajo presión de selección.

Genotipo	Frecuencia inicial	Adecuación (w)	Contribución a la poza génica
AA	p^2	1	$1 \times p^2$
Aa	$2pq$	1	$1 \times 2pq$
aa	q^2	$1-s$	$(1-s)q^2 = q^2 - sq^2$
TOTAL	$p^2 + 2pq + q^2$		$p^2 + 2pq + q^2 - sq^2 = 1 - sq^2$

De lo que se desprende que la fracción sq^2 de todos los gametos *a* es eliminada por selección en contra de los genotipos *aa*.

En el ejemplo, la frecuencia inicial:

$$p_0(A) = 0.6 \text{ y } q_0(a) = 0.4$$

ha cambiado en la F_1 por:

$$\Delta p = \frac{sp_0q_0^2}{1 - sq_0^2} = \frac{(0.2)(0.6)(0.4)^2}{1 - (0.2)(0.4)^2} = \frac{0.0192}{1 - 0.032} = \frac{0.0192}{0.968} = 0.02$$

De modo que el cambio neto en las frecuencias genotípicas en una generación es:

$$p_1 = p_0 + \Delta p = 0.60 + 0.02 = 0.62$$

$$q_1 = 0.38$$

Entonces las frecuencias genotípicas en la siguiente generación derivan de las nuevas frecuencias alélicas, de acuerdo a:

$$(p_1 + q_1)^2 = p_1^2 + 2p_1q_1 + q_1^2 = 1$$

de modo que:

$$(0.62 + 0.38)^2 = (0.62)^2 + 2(0.62 \times 0.38) + (0.38)^2 = 0.384 \text{ AA} + 0.471 \text{ Aa} + 0.144 \text{ aa}$$

El aumento de AA se hace a expensas de aa ya que en la generación inicial (p₀) las frecuencias eran:

$$(p_0 + q_0)^2 = 0.36 \text{ AA} + 0.48 \text{ Aa} + 0.16 \text{ aa}$$

El efecto de la selección no es muy evidente en una generación, pero al ser acumulativo se espera que la frecuencia de aa disminuya en varias generaciones, siempre que las condiciones no cambien alterando la adecuación de los tres genotipos y que la selección desventajosa sea sobre aa.

La velocidad de cambio en las frecuencias alélicas bajo presión de selección puede hacerse evidente en una generación siempre y cuando aa sea letal y la adecuación de AA + Aa sea 1 de modo que w = 0 y s = 1. El homocigoto recesivo no contribuye a la poza génica ya que se elimina, pero el gen se mantiene en la poza génica en las cruza AA x Aa. Las cruza Aa x Aa contribuyen con 1/4 de aa en cada generación, de modo que, a través del tiempo tenemos que la frecuencia del alelo a (q) va cambiando, tal como se muestra en la tabla 20.4.

Tabla 20.4. Cambios en la frecuencia de a (q) en un periodo de 100 generaciones, cuando s = 1 para aa y s = 0 para Aa y AA.

Generación	Frecuencia de q ² (aa)*	Frecuencia de q (a)
0	0.2500	0.50
1	0.1100	0.33
2	0.0600	0.25
3	0.0400	0.20
4	0.0300	0.17
5	0.0200	0.14
10	0.0070	0.08
20	0.0020	0.05
50	0.0004	0.02
100	0.0001	0.01

$$* q_n = q_0 / (1 + nq_0)$$

Por lo que existen en la poza génica cada vez menos genotipos *aa* expuestos al presión de selección, pero el alelo *a* se mantiene protegido en el heterocigoto.

También pueden predecirse cuántas generaciones pasarán para que el alelo *a* alcance una nueva frecuencia. Si la frecuencia inicial del alelo *a* es 0.5 ¿cuántas generaciones tardarán para que tenga la frecuencia 0.01?

$$n = \frac{0.5 - 0.01}{(0.05)(0.01)} = 98$$

Es decir se requiere de 98 generaciones para que el alelo *a* pase de estar representado de 50% a 1% en la poza génica.

O bien el cálculo se haría con base en: $q_n = \frac{q_0}{1 + nq_0}$

Donde q_n = frecuencia del alelo *q*(*a*); q_0 = frecuencia del alelo *q* en la generación 0; n = generación

La selección no es muy efectiva cuando p , q o $s = 1$ lo es más con valores intermedios, aún cuando p , q o $s = 1$ el gen letal *a* se mantiene protegido generación tras generación por el heterocigoto. En la tabla 20.5 se muestran algunos desórdenes que afectan a los seres humanos que son producidos en condición homocigota, así como la frecuencia de portadores y la proporción portadores: receptores.

Tabla 20.5. Algunos desordenes que afectan a los seres humanos que son producidos en condición homocigota, así como la frecuencia de portadores y la proporción portadores: receptores.

Desorden	Frec. de homocigotos <i>aa</i>	Frec. de heterocigotos <i>Aa</i>	Prop. de portadores contra receptores
Anemia falciforme	1 en 400	1 en 10	40:1
Fibrosis quística	1 en 16,000	1 en 20	80:1
Fenilcetonuria	1 en 40,000	1 en 100	400:1
Tay-Sachs	1 en 100,000	1 en 160	625:1
Alcaptonuria	1 en 1,000,000	1 en 500	2,000:1

El efecto combinado de la mutación y de la selección puede ser así: la selección remueve al alelo a , la mutación hacia delante de $A \rightarrow a$ reemplaza al alelo a en la poza génica. De modo que las fuerzas opuestas de mutación y selección pueden llevar a un equilibrio en el que pueden calcularse las frecuencias y estimar desde el punto de vista médico el riesgo de la carga génica.

Si tomamos en cuenta que algunos genes se expresan por epistasis y que existen diferencias en la penetración génica, entonces no necesariamente ocurre en una generación.

Para genes codominantes la selección en contra se muestra en la tabla 20.6. En este caso, como en los anteriores, el equilibrio puede presentarse cuando las fuerzas de mutación y selección son opuestas.

Tabla 20.6. Selección en contra para genes codominantes.

Alelo	Frecuencia	Adecuación	Contribución a la poza génica
a_1	p	1	p
a_2	q	$1-s$	$q - q^2$
SUMA	1		$1 - q^2$

SISTEMAS DE APAREAMIENTO

La ley de Hardy-Weinberg postula que para mantener el equilibrio en las poblaciones, las cruces deben ser al azar. Cuando ello no ocurre se rompe el equilibrio. Las plantas por regla general se autofertilizan lo que conduce a la presencia en la población de muchos genotipos homocigotos, el coeficiente de endogamia F mide la pérdida de la heterocigosis en una población.

El grado de endogamia en una población comúnmente es medido por el coeficiente de endogamia F de Wright (1921), el cual expresa la cantidad de heterocigosis perdida por el cruzamiento entre parientes. El índice F , se define como: $F = 1 - (\text{proporción de heterocigotos observados} / \text{proporción de heterocigotos esperados})$. Este índice tiene un valor de 0 si la población se encuentra en el equilibrio de Hardy-Weinberg, dado que la heterocigosis observada es igual a la heterocigosis esperada, y puede tomar valores de

-1 a +1. Es de -1 si existen exclusivamente individuos heterocigotos en la población y de +1 si sólo se presentan individuos homocigotos. En la tabla 20.7 se muestra la distribución de genotipos durante cinco generaciones de autofertilización a partir de plantas Aa.

Tabla 20.7. Distribución de genotipos durante cinco generaciones de autofertilización a partir de plantas Aa.

Generación	AA	Aa	aa	q (a)	F
F0		1		1/2	0
F1	1/4	1/2	1/4	1/2	1/2
F2	3/8	1/4	3/8	1/2	3/4
F3	7/16	1/8	7/16	1/2	7/8
F4	15/32	1/16	15/32	1/2	15/16
F5	31/64	1/32	31/64	1/2	31/32
F _n	$1 - (1/2)^n / 2$	0	$1/2^n$	1/2	$1 - 1/2^n$
∞	1/2	0	1/2	1/2	1

El efecto neto de la endogamia es el incremento de homocigotos y el decremento de heterocigotos en la población aunque la frecuencia de alelos no cambia, solamente se altera la frecuencia de genotipos de manera direccional.

El coeficiente F expresa la endogamia y la pérdida de la heterocigosis. En las poblaciones humanas existen tabúes para el casamiento entre parientes, así se calcula, que en occidente existen 1 en 200 casamientos entre primos. Si dos personas no relacionadas se casan, sus hijos tendrán 4 abuelos y 8 bisabuelos diferentes; si son primos tendrán 6 bisabuelos, si uno de ellos fue heterocigoto para un carácter defectuoso recesivo, ambos primos pueden portarlo, de modo que, su probabilidad de ser heterocigotos es de 1/4 (1/2 del abuelo x 1/2 del padre) de modo que si son primos hermanos la probabilidad de tener un hijo homocigoto será de 1/4 x 1/4 = 1/16 aa pero si son primos segundos es 1/8 x 1/8 = 1/64 aa. Si ambos progenitores no están relacionados la probabilidad de tener un hijo homocigoto sería de 2pq x 1/4. Si el alelo ocurre en la población en 10⁻⁶ la probabilidad de que el hijo lo porte será de 1 en un millón.

MIGRACIÓN

Flujo génico es un término colectivo que incluye a todos los mecanismos que resultan en el movimiento de genes de una población a otra, como el movimiento de gametos, la extinción y la recolonización de poblaciones enteras, o el movimiento de segmentos extranucleares de DNA, tales como mitocondrias, plásmidos y virus. Estudios experimentales han mostrado que un flujo génico limitado y la deriva génica permiten la diferenciación genética entre poblaciones. Esta unión entre el flujo génico y la estructura genética ha sido establecida en poblaciones de plantas y animales.

El flujo de genes afecta a todos los *loci* nucleares en el mismo sentido, pero cada *locus* y cada carácter fenotípico puede estar gobernado por diferentes regímenes selectivos y diferentes procesos mutacionales, dando como resultado que algunos *loci* pueden mostrar poca diferenciación geográfica mientras otros muestran una diferenciación extrema. Aunque el flujo génico puede restringir la evolución previniendo la adaptación a condiciones locales, también puede promoverla a través de la dispersión de nuevos genes y combinación de genes a través del área de distribución de las especies.

Los estadísticos F son quizás la medida de diferenciación de la población más ampliamente usada; están basados en la partición de la varianza genética dentro y entre las poblaciones, midiendo el grado de endogamia y aislamiento en términos de la distribución de la variación genética. Estos estadísticos nos permiten analizar las proporciones de heterocigotos en tres niveles jerárquicos, dentro de cada subpoblación (F_{IS}), entre subpoblaciones (F_{ST}), y en la población en conjunto (F_{IT}).

Una población subdividida tiene tres distintos niveles de complejidad: individuos (I), subpoblaciones (S), y la población total (T). En términos de heterocigosidad son: H_I = la heterocigosidad de un individuo en una subpoblación, H_S = la heterocigosidad esperada de un individuo en una población equivalente con apareamiento al azar, H_T = la heterocigosidad esperada de un individuo en una población total equivalente con apareamiento al azar. H_I es la heterocigosidad observada promediada a través de todas las subpoblaciones. H_S representa el nivel de heterocigosidad que podría ser encontrado en una subpoblación si la subpoblación tuviese apareamiento al azar. H_T representa cual sería la heterocigosidad si todas las subpoblaciones fuesen puestas juntas y se aparearan al azar.

Los estadísticos F son calculados a partir de las frecuencias genotípicas

en cada locus. F_{IS} mide la reducción relativa de la heterocigosidad con respecto a la esperada bajo apareamiento al azar. Toma un valor positivo cuando la heterocigosidad observada es menor que la esperada, o un valor negativo cuando hay un exceso de heterocigotos con respecto al equilibrio Hardy-Weinberg.

F_{IT} mide la reducción en la heterocigosidad de un individuo relativo a la población total; incluye la contribución debida al apareamiento al azar dentro de las subpoblaciones y la contribución debida a la subdivisión por sí misma.

F_{ST} mide la fijación relativa de alelos alternativos en diferentes subpoblaciones comparando el promedio de las heterocigosidades de las subpoblaciones con la heterocigosidad total esperada bajo apareamiento al azar. La magnitud de la F_{ST} por lo tanto depende de la cantidad de divergencia entre las subpoblaciones en las frecuencias alélicas.

$$FIS = (HS - HI) / (HE)$$

$$FST = (HT - HS) / (HT)$$

$$FIT = (HT - HI) / (HT)$$

Si tomamos los valores de la tabla 20.8, a partir de los mismos podemos calcular las frecuencias alélicas de p y q de acuerdo con la tabla 20.9.

Tabla 20.8. Valores de AA, Aa y aa en tres poblaciones.

Tamaño de muestra	Población 1	Población 2	Población 3
	20	20	20
AA	10	5	0
Aa	4	10	8
aa	6	5	12

Tabla 20.9. Cálculo de la frecuencia de los alelos p y q en tres poblaciones.

Frecuencias	Población 1	Población 2	Población 3
p	$(20 + 1/2 * 8) / 40 = 0.60$	$(10 + 1/2 * 20) / 40 = 0.50$	$(0 + 1/2 * 16) / 40 = 0.20$
q	$(12 + 1/2 * 8) / 40 = 0.40$	$(10 + 1/2 * 20) / 40 = 0.50$	$(24 + 1/2 * 16) / 40 = 0.80$

A partir de estos datos podemos calcular los valores locales de endogamia (Fis) y los valores de flujo génico (FST).

Calculando Heterocigosis observada

- Pob1: $4/20 = 0.20$
- Pob2: $10/20 = 0.50$
- Pob3: $8/20 = 0.40$

Calculando Heterocigosis esperada ($2pq$)

- Pob1: $2 * 0.60 * 0.40 = 0.48$
- Pob2: $2 * 0.50 * 0.50 = 0.50$
- Pob3: $2 * 0.20 * 0.80 = 0.32$

Calculando $F = (\text{Heterocigosis esperada} - \text{Heterocigosis observada}) / \text{Heterocigosis esperada}$

- Pob1 = $(0.48 - 0.20) / (0.48) = 0.583$
- Pob2 = $(0.50 - 0.50) / (0.50) = 0.000$
- Pob3 = $(0.32 - 0.40) / (0.32) = -0.250$

Cada especie está subdividida en poblaciones en las que los individuos se cruzan entre sí, rara vez los miembros de las subpoblaciones de la misma especie inter-cambian genes. Si estas subpoblaciones permanecen aisladas durante mucho tiempo pueden ocurrir cambios importantes en sus pozas génicas debidos a la mutación y a la selección a grado tal que pueden volverse incapaces genéticamente de intercruzarse con otras subpoblaciones, si se diera el caso. Este es el hecho fundamental que conduce a la especiación y a la evolución divergente a partir de poblaciones ancestrales comunes. Sin embargo, pueden ocurrir migraciones, salida (emigración) o entrada (inmigración) de individuos en una población, lo que conduce al intercambio génico que tiende a contrarestar la tendencia hacia la divergencia. Ello puede calcularse mediante el coeficiente de migración (m). Así si en una población la frecuencia de los alelos A y a es:

$$p(A) = 0.1; q(a) = 0.9$$

y recibe 10% de inmigrantes que provienen de una población en donde la frecuencia de los alelos es:

$$p_m(A) = 0.9; q_m(a) = 0.1$$

El cambio en la frecuencia de los alelos será:

$$\Delta p = 0.1(0.1 - 0.9) = 0.08$$

$$p_1 = p_0(0.1) + \Delta p(0.08) = 0.18$$

Por lo que, en este ejemplo extremo, el alelo A aumenta casi al doble en

una generación.

Cuando $p = p_m$ ocurre en la misma frecuencia en ambas subpoblaciones hay equilibrio.

DERIVA GÉNICA AL AZAR

La deriva génica consiste en el cambio en las frecuencias alélicas debido al azar como resultado del muestreo de gametos de generación en generación. La magnitud del cambio de las frecuencias alélicas en cada generación depende del tamaño efectivo de la población. El tamaño efectivo de la población es el tamaño de una población ideal que tenga la misma magnitud de endogamia o de deriva génica que la población que se está considerando. En términos sencillos, el tamaño efectivo de la población es el número de individuos que se reproducen, contribuyendo así con gametos a la siguiente generación. El resultado más importante de la deriva génica es la pérdida de heterocigosidad en las poblaciones.

La mutación, la selección y la migración son presiones ya que puede predecirse la magnitud y la dirección del cambio en la frecuencia de los alelos, aun cuando la mutación es un proceso al azar. La deriva génica al azar se refiere a la pérdida o a la fijación de un alelo en la población por azar, puede ocurrir sin estar relacionada con la selección, es decir, sin tomar en cuenta la ventaja del alelo. El factor más importante para que esto ocurra es el tamaño de la población, de modo que, si una población es muy pequeña el potencial de deriva génica es mayor.

Así si una planta heterocigota Aa que se autofertiliza produce solamente una planta podría, en una sola generación, fijar un genotipo:

P $Aa \times Aa$

F₁ $AA (1/4), Aa (1/2), aa (1/4)$

Si el genotipo que se fija es aa entonces $p = 0$ y $q = 1$ en una generación.

Los cinco factores que hemos mencionado alteran la frecuencia de alelos en la población, por lo que no se mantienen en equilibrio. De éstos algunos son más importantes en unas poblaciones que en otras, sin embargo, la fuerza principal que contribuye a la evolución biológica es la selección natural la que actúa sobre la diversidad genética o variabilidad en la poza génica. Los procesos que contribuyen a la diversidad de genotipos en las poblaciones son: mutación, recombinación, cambios en el número y estructura de los cromosomas y la migración. En poblaciones pequeñas actúa la deriva génica fijando genotipos independientemente de su ventaja o desventaja adaptativa.

21. GENÉTICA EVOLUTIVA (MACROEVOLUCIÓN)

La teoría de la evolución por selección natural propuesta por Charles Darwin en 1859 en su libro sobre *El origen de las especies por selección natural* supuso en su momento una revolución conceptual de grandes proporciones. Un año antes de la publicación de este libro Alfred Wallace había propuesto una teoría sobre el papel de la selección natural en la formación de las especies fruto de sus exploraciones en la cuenca del Amazonas, en el archipiélago indonesio y en Malasia entre 1848 y 1852. El trabajo de Wallace fue leído en la Linnean Society de Londres en 1858. Wallace y Darwin leyeron por su parte el ensayo del economista inglés Thomas Malthus sobre los factores que limitan el crecimiento en las poblaciones y extrajeron la idea de que cuando los recursos son limitados, los organismos que sobreviven y se reproducen están mejor adaptados al medio.

La teoría de la evolución por selección natural propuesta por Darwin y Wallace puede resumirse en varios principios:

1. *El principio de variación.* Entre los individuos de una población siempre existen pequeñas variaciones en la morfología, en la fisiología y en la conducta.
2. *El principio de herencia.* La mayoría de las variaciones tienden a pasar a la siguiente generación.
3. *El principio de selección.* Algunos organismos tienen más éxito que otros, por lo que tienden a sobrevivir y a reproducirse de forma diferencial con respecto a otros individuos.

Aunque la selección natural propuesta por Darwin y Wallace puede explicar la evolución, los autores no pudieron explicar el origen de las variaciones, ni cómo tales variaciones se mantienen en una población. Cuando en los años 1930s se aplicaron los principios mendelianos al estudio de las poblaciones fue posible explicar tanto el origen de la variación (las mutaciones) como el mantenimiento de las misma en las poblaciones (las frecuencias alélicas) y por lo tanto la evolución se consideró como el cambio en la estructura genética de una población en función del tiempo. Esta moderna concepción de la evolución se conoce como neodarwinismo.

La variación genética dentro y entre poblaciones es el resultado de varias fuerzas evolutivas que actúan simultáneamente en una población. La mutación, la migración y los polimorfismos balanceados son fuerzas que diversifican a las poblaciones mientras que la deriva génica, la selección en contra de heterocigotos, y la endogamia generan homocigosis.

TIPOS DE SELECCIÓN

La selección natural influye en la poza génica de diferentes maneras, tales como:

- (1) Reduciendo o eliminando los alelos desventajosos *selección normalizadora* (Fig. 21.1 a). Los genotipos con adecuación baja ($w < 1$) se reducen paulatinamente en la poza génica, mientras que los genotipos con adecuación alta aumentan en cada generación hasta que se alcanza un equilibrio. La selección natural normalizadora produce menos diversidad de genotipos ya que actúa sobre uno de los homocigotos. Para los alelos dominantes, codominantes o recesivos que son letales la tasa de eliminación es mucho más rápida. El precio que se paga con esta estrategia selectiva es que aumenta la adecuación de la población y se reduce la diversidad.
- (2) Desviaciones en la población en dirección hacia su mayor adecuación, las que se producen cuando hay cambios en el ambiente o *selección natural direccional* (Fig. 21.1 b). Un genotipo será favorecido bajo ciertas condiciones ambientales, mientras que el otro será favorecido en otras condiciones. Los ejemplos de este tipo de estrategia son espectaculares, por ejemplo, la evolución de la resistencia a pesticidas en insectos o la resistencia a antibióticos en bacterias.
- (3) El mantenimiento de altos niveles de flexibilidad genética en las especies se debe a la *selección natural balanceadora* (Fig. 21.1 c). Debido a la ventaja adaptativa que confiere a los individuos de una población la presencia de un alelo, que en condición homocigota produce una enfermedad, pero que en condición heterocigota los protege en contra de una parasitosis, el alelo se mantiene en la población. Este tipo de estrategia se refiere

también como un polimorfismo balanceado.

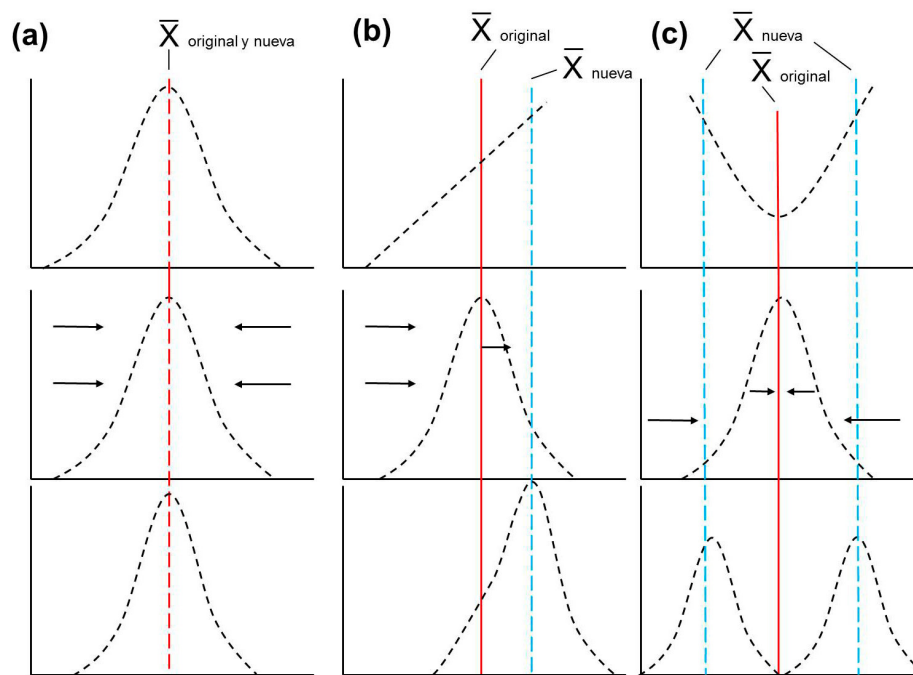


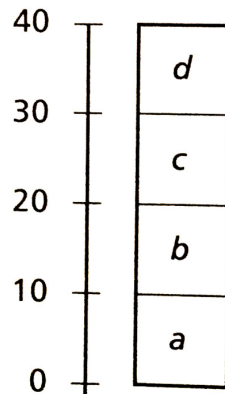
Fig. 21.1. Diferentes estrategias de selección que afectan a la poza génica (a) normalizadora (b) direccional (c) balanceadora

MODELOS Y PATRONES DE ESPECIACIÓN

Una *especie* puede definirse como un grupo de organismos que se cruzan entre sí, es decir, que intercambian genes y que dejan descendencia fértil. El proceso que da origen a una nueva especie se denomina *especiación*.

ANAGÉNESIS

Algunos evolucionistas creen en la producción secuencial de especies a través del tiempo o especiación filética. Por ejemplo, una población aislada en una isla puede cambiar en el curso del tiempo de la especie *a* a la *b*, a la *c* y a la *d* sin dividirse en dos especies nuevas:



Estas nuevas especies producidas en esta forma se denominan especies “sucesionales”, “alocrónicas” o “paleoespecies”. Sin embargo se han rechazado por varios autores (Wiley, 1981) por varias razones:

- 1) El reconocimiento de estas especies es una práctica arbitraria, debido al registro fósil incompleto.
- 2) Si las especies son arbitrarias el mecanismo de especiación también lo es.
- 3) La especiación filética nunca ha sido plenamente demostrada.

Actualmente se admite que el cambio morfológico en el tiempo sin que se genere una nueva especie se le denomina anagénesis.

CLADOGÉNESIS

Modelo en el cual una especie da origen a dos especies después de un largo periodo de tiempo (Fig. 21.2).

El patrón más común para la formación de una nueva especie es a través del aislamiento geográfico. Este tipo de especiación se conoce como *alopátrida*, ocurre en primera instancia por las barreras que representan los accidentes geográficos, tales como, ríos, lagos o montañas, que impiden el intercambio de información genética. Una vez que la población está aislada y que el flujo genético se ha interrumpido se van desarrollando diferencias genéticas debidas a la

adaptación a las condiciones locales, lo cual en función del tiempo puede generar una diversidad genética (que surge por mutación o por deriva) que puede producir nuevos alelos, cambios en la frecuencia de otros e incluso nuevas ordenaciones cromosómicas. Este proceso puede continuar hasta que se formen nuevas especies (Fig. 21.3).

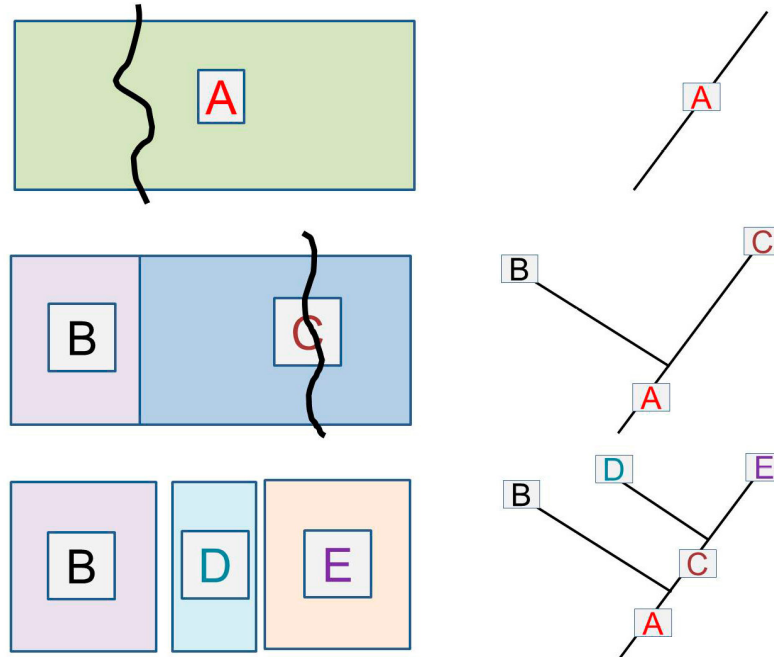


Fig. 21.3. Especiación alopátrida

Existen tres modelos de especiación alopátrida:

Modelo I. *Especiación vicariante o geográfica*. La especiación vicariante es la separación física en dos poblaciones grandes de una sola especie ancestral seguida de la adquisición de independencia de las dos poblaciones, y tiene como características:

- 1) la divergencia de las especies hijas, depende del grado de variación geográfica presente en la especie ancestral.
- 2) el tiempo de diferenciación depende de la cantidad de migración entre las poblaciones.

Modelo II. *Especiación peripátrida*. Este modelo supone que una

nueva especie surge en los hábitats marginales o periféricos (poblaciones que se encuentran en la periferia del área de distribución de la especie), usualmente en los límites de una gran población central. Este modelo supone que las poblaciones periféricas son lo suficientemente diferentes del resto, tal que cuando una separación ocurre se precipitará rápidamente la especiación.

Modelo III. Este modelo supone que el intercambio de individuos (flujo de genes) entre las poblaciones es muy reducido, tal que cuando se presenta una separación geográfica, las poblaciones aumentan su diferenciación preexistente debido al poco intercambio de individuos y las poblaciones divergen y se forman especies hijas rápidamente.

Otro patrón de especiación que no requiere del aislamiento geográfico es la especiación *simpátrida*, la cual se puede definir como un arreglo de mecanismos que producen una especie ancestral sin separación o segregación geográfica de las poblaciones. El mecanismo se basa en la segregación del hábitat, es decir, las especies se diferencian en la misma área de distribución debido a las preferencias ecológicas de parte de algunos individuos de la población o a subpoblaciones, en ella opera el aislamiento reproductivo a partir de la divergencia genética (Fig. 21.4). Un tercer patrón de especiación es la *estasipátrida* este modelo supone que en una población con poca vagilidad (poca movilidad), surgen rearrreglos cromosómicos espontáneos que son viables y se fijan en la población (se mantienen en la población), esto conduce a la formación de una especie nueva dentro del área de distribución de la especie ancestral. Finalmente existe la especiación donde la independencia de especies que se lleva a cabo entre distintos linajes geográficos los cuales mantienen un limitado entrecruzamiento entre especies en una zona de contacto (Fig. 21.5).

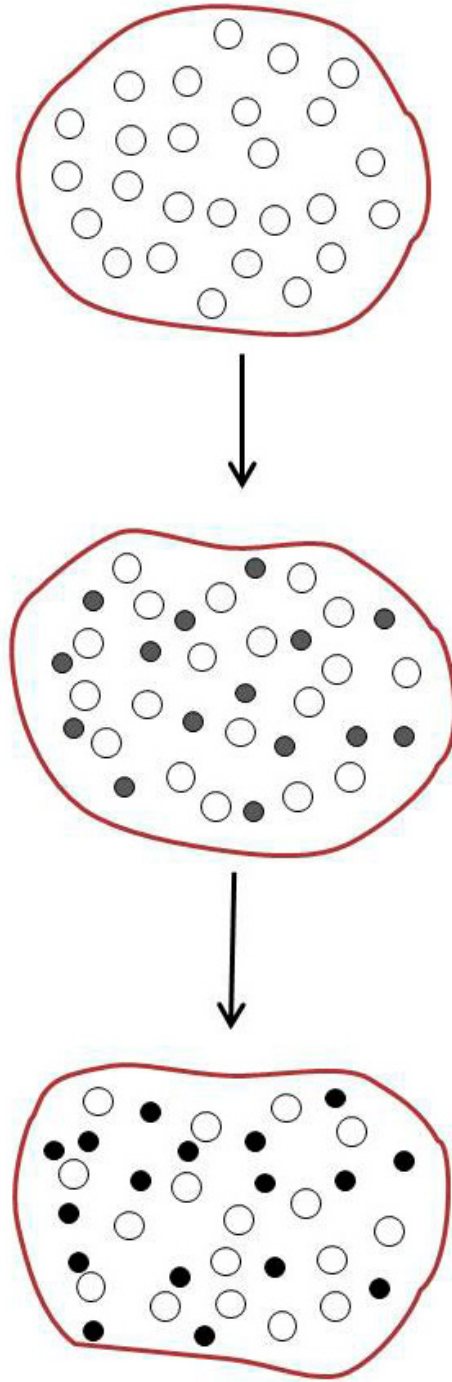


Fig. 21.4. Especiación simpátrida

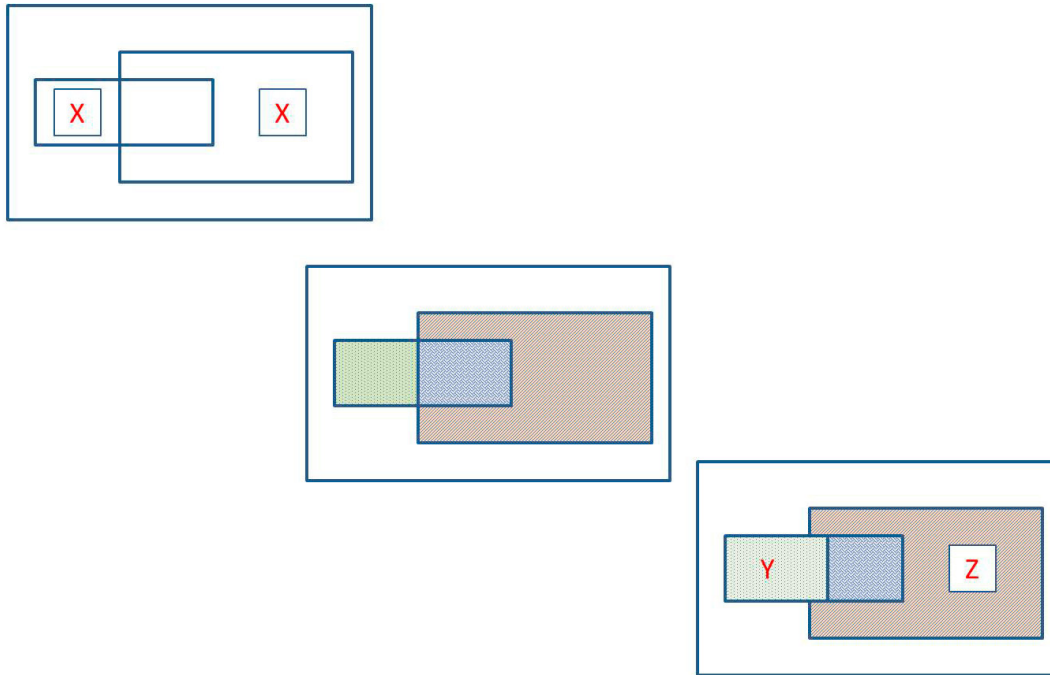


Fig. 21.5. Especiación parapátrida

MECANISMOS DE AISLAMIENTO REPRODUCTIVO

Cualquiera que sea el modelo o el patrón de especiación, en última instancia, se requiere que los individuos de una población desarrollen mecanismos que impidan el intercambio genético. Estos pueden ser de dos tipos:

- (1) *precigóticos* que impiden la formación de cigotos.
 - (a) Carencia de oportunidades para el apareamiento: aislamiento temporal o aislamiento ecológico.
 - (b) Falta de compatibilidad para el apareamiento: Incompatibilidad sexual o conductual, aislamiento mecánico, o aislamiento gamético debido a incompatibilidades fisiológicas.
- (2) *postcigóticos* en los cuales se forman individuos pero son inviables o estériles.
 - (a) Híbridos inviables
 - (b) Híbridos estériles

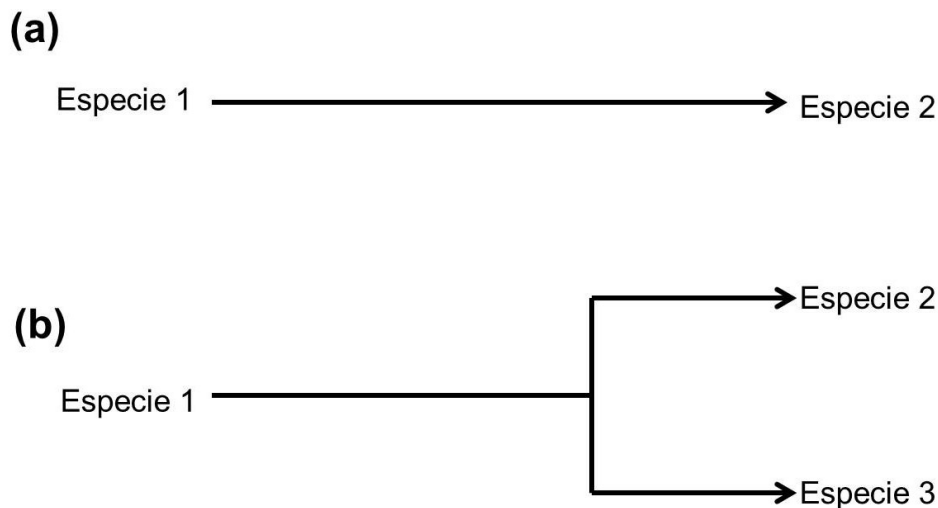


Fig. 21.2. Modelos de especiación (a) anagénesis (b) cladogénesis

Los mecanismos de aislamiento reproductivo postcigóticos son más frecuentes en animales que en plantas, aparentemente debido a que las plantas son mucho más tolerantes a las variaciones cromosómicas y a las incompatibilidades genéticas.

La especiación puede llevarse a cabo de forma gradual, mediante un proceso microevolutivo en el que se van acumulando en los individuos muchas diferencias pequeñas a lo largo del tiempo, o puede ocurrir por cambios derivados de sucesos catastrofistas. Este último modelo ha sido apoyado básicamente por dos ejemplos: (i) el que depende de las reordenaciones cromosómicas (inversiones) como mecanismo de aislamiento reproductivo que proviene de los estudios realizados en Hawaii sobre *Drosophila*, (ii) la especiación por poliploidía (alopoliploidía) en las fanerógamas.

EVOLUCIÓN Y VARIABILIDAD GENÉTICA

Si una población de una especie particular está bien adaptada a su ambiente, y se reproduce con éxito, podría suponerse que los miembros de esta población son genéticamente homogéneos, debido a que los alelos más favorables se han fijado. Sin embargo, el acervo

genético de una población diploide mantiene un alto grado de heterocigosis.

La evolución depende de la presencia de variación genética en una población y de la acción de la selección natural sobre esa variación. La variación genética puede medirse a nivel molecular por metodologías tales como las *aloenzimas* o *alozimas* que representan diferentes formas alélicas de un gen, la variación en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLPs), la hibridación DNA-DNA, los microsatélites (secuencias repetitivas de DNA) y la secuenciación de DNA.

En particular las alozimas han mostrado ser polimórficas en un 60%. Sin embargo, la variación genética detectada por la migración de las proteínas en un campo eléctrico, sólo detecta la mitad de la variación debido a que muchas sustituciones no cambian la carga eléctrica de la molécula.

TASA DE EVOLUCIÓN MOLECULAR

Las sustituciones en el DNA que van acumulándose durante el tiempo, en general, no producen un cambio estructural en la función de las proteínas, solamente una o pocas mutaciones pueden generar cambios en la especificidad de una proteína. De modo que, las mutaciones en el DNA pueden producir tres efectos diferentes:

1. Reduciendo la probabilidad de supervivencia y reproducción en los portadores, es decir, un efecto deletéreo,
2. Aumentando la adecuación al ambiente, es decir, aumenta la eficiencia
3. Sin efecto en la adecuación, es decir, una mutación neutral.

La tasa constante de sustituciones neutras o genéticamente equivalentes al alelo que reemplazan por lo que no son importantes para la evolución, dio origen a la teoría neutralista de la evolución propuesta por Motoo Kimura en los años 1960s. Esta teoría postula que la mayoría de los genes mutantes son selectiva-mente neutros, es decir, no tienen selectivamente ni más ni menos ventaja que los genes a los que sustituyen en el nivel molecular, y que la mayoría de los cambios evolutivos se deben a la deriva genética de genes mutantes selectivamente equivalentes.

Los cambios genéticos neutros no están afectados por la selección natural pero sí se acumulan de forma aleatoria en la población. Su frecuencia queda determinada por la tasa de mutación y los principios de la deriva génica al azar.

EVOLUCIÓN MOLECULAR DEL GENOMA

La forma más directa para detectar la variación genética a nivel molecular es mediante la comparación de secuencias de nucleótidos de los genes de diversos grupos de organismos, lo que permite establecer las relaciones filogenéticas. El citocromo c es una proteína de la cadena respiratoria que se encuentra en las mitocondrias de los eucariontes, su función es la de transferir electrones al oxígeno molecular en todos los seres vivos aerobios. Se supone que el gen se originó hace 1,500 millones de años cuando la atmósfera de la Tierra se volvió aerobia. El gen seguramente estuvo presente en el ancestro procarionte de los eucariontes. La proteína consta de 104 aminoácidos, durante el curso de la evolución, el gen ha sufrido diversas sustituciones en distintos codones, aunque se considera que la tasa de sustituciones ha sido lenta. Las diferencias en los aminoácidos entre diversos organismos muestra que en especies muy relacionadas, como el chimpancé y los monos, sólo existe un aminoácido diferente, mientras que en especies más alejadas, como las levaduras y los seres humanos, las sustituciones corresponden a 38 aminoácidos (Fig. 21.6).

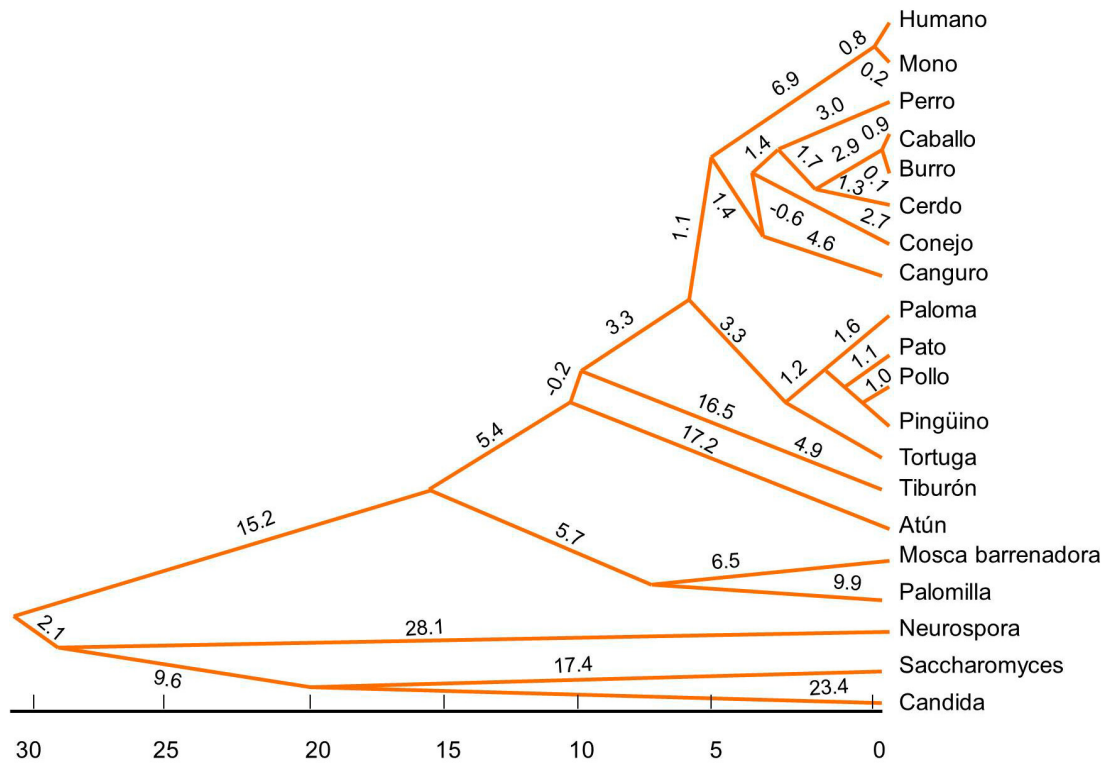


Fig. 21.6. Evolución del citocromo c. Filogenia construida con base en la diferencia de aminoácidos de 20 organismos

Entre los primates homínidos las investigaciones que emplean diferencias en los aminoácidos de las proteínas, no han podido resolver las relaciones evolutivas entre los chimpancés, los gorilas y los seres humanos. Mediante la metodología de hibridación de secuencias de DNA y el registro fósil, se ha podido establecer el patrón evolutivo de los homínidos y el momento, en millones de años, en que se produjo la divergencia (Fig. 21.7) La medida del parentesco se determina mediante el apareamiento de nucleótidos de moléculas de DNA híbrido que se forman cuando se combinan dos hebras sencillas de DNA en dos especies. Este parámetro, de cambio en la hibridación de DNA a una temperatura de 50 °C se conoce como $\Delta T_{50}H$. De acuerdo con los datos de hibridación de DNA, entre la especie humana y el chimpancé, la distancia evolutiva es de 1.8. Ello plantea un problema taxonómico y antropocéntrico,

debido a que diferencias menores a 2 en el ΔT_{50H} de dos especies conduce a su clasificación en el mismo género y en la misma familia, ya que actualmente se consideran a los chimpancés dentro de la familia de los Póngidos y a la especie humana en la de los homínidos. Es más la reciente secuenciación completa del genoma de los chimpancés y de los seres humanos ha mostrado una homología del 99% en las secuencias. De modo que esta inconsistencia deberá resolverse en un futuro próximo.

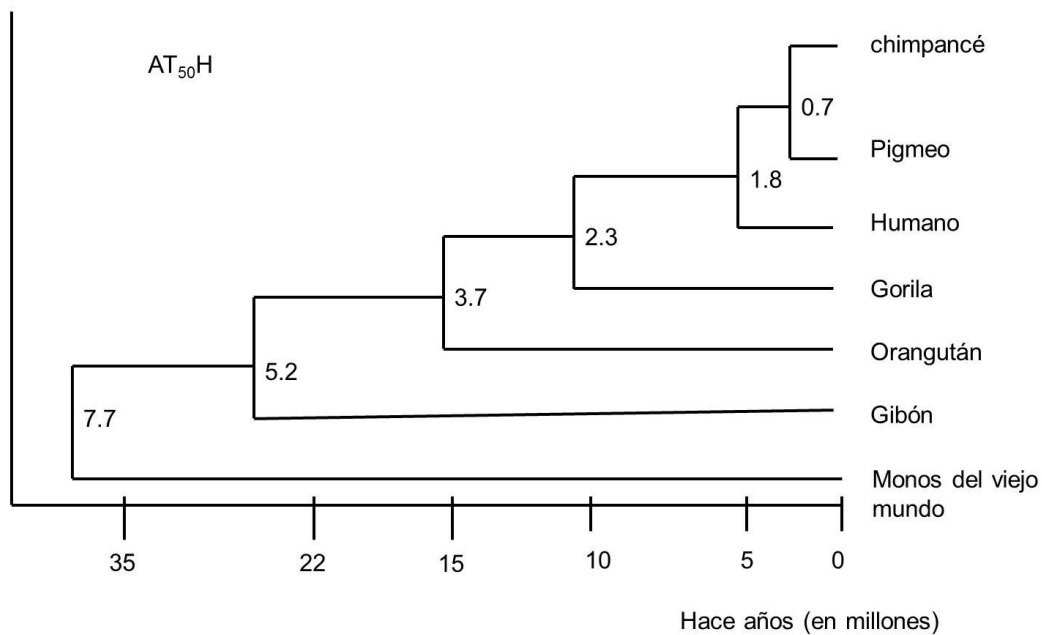


Fig. 21.7. Árbol filogenético de los primates homínidos y de los del nuevo mundo estimado con base en la hibridación del DNA

ORIGEN DE NUEVOS GENES: LAS DUPLICACIONES

La duplicación de pequeñas secciones (cistrón) en el genoma es una consecuencia de la recombinación desapareada. Después de que un segmento de DNA se duplica, existen dos posibilidades: que se mantenga la función original del polipéptido o que la secuencia duplicada vaya diferenciándose por mutación generándose, en

función del tiempo, una variación en la proteína.

Los genes que codifican para las globinas se han originado por duplicación génica y la subsecuente divergencia en el tiempo. El gen para la mioglobina, que codifica para una proteína muscular, se encuentra en los invertebrados que aparecieron hace 650 millones de años. Se supone que hace alrededor de 400 millones de años el gen de la globina se duplicó en el linaje de los vertebrados, la divergencia posterior produjo las globinas α y β . La hemoglobina (Hb) humana adulta es un tetrámero que consiste de dos cadenas α y dos cadenas β que se unen a una molécula hemo. El gen que codifica para la cadena α se encuentra en el cromosoma 16 y el de la cadena β se localiza en el cromosoma 11. En los embriones el 80% de las cadenas β están sustituidas por cadenas γ . Estas dos cadenas polipeptídicas difieren solamente en 10 aminoácidos. Los genes que codifican para las β y γ globinas se encuentran adyacentes en el cromosoma 11 y comparten una estructura intrones-exones idéntica. También se han dilucidado los cambios que ocurren durante el desarrollo en el empleo de las globinas. El embrión temprano empieza empleando las cadenas α , γ , ϵ , ζ diez semanas después son reemplazadas por las cadenas α , β , γ . Cerca del nacimiento la cadena β reemplaza totalmente a la γ . Cabe hacer notar que en todo momento durante el desarrollo existen moléculas de Hb que consisten en dos cadenas tipo α (α , ζ) y dos cadenas tipo β (β , δ , ϵ). Más sorprendentes son los hechos que se refieren tanto al arreglo como al orden de estos genes en los cromosomas. Como ya dijimos los tipo α se encuentran en el cromosoma 16 y los tipo β en el 11. La expresión temporal durante el desarrollo corresponde al orden 5' \rightarrow 3' en cada cromosoma. Este complejo reemplazo de cadenas se presenta solamente en los mamíferos. En los peces, anfibios, reptiles y aves solamente se encuentran las cadenas α y β . En la figura 20.8 se muestra el origen y componentes del sistema de globinas tipo β en vertebrados.

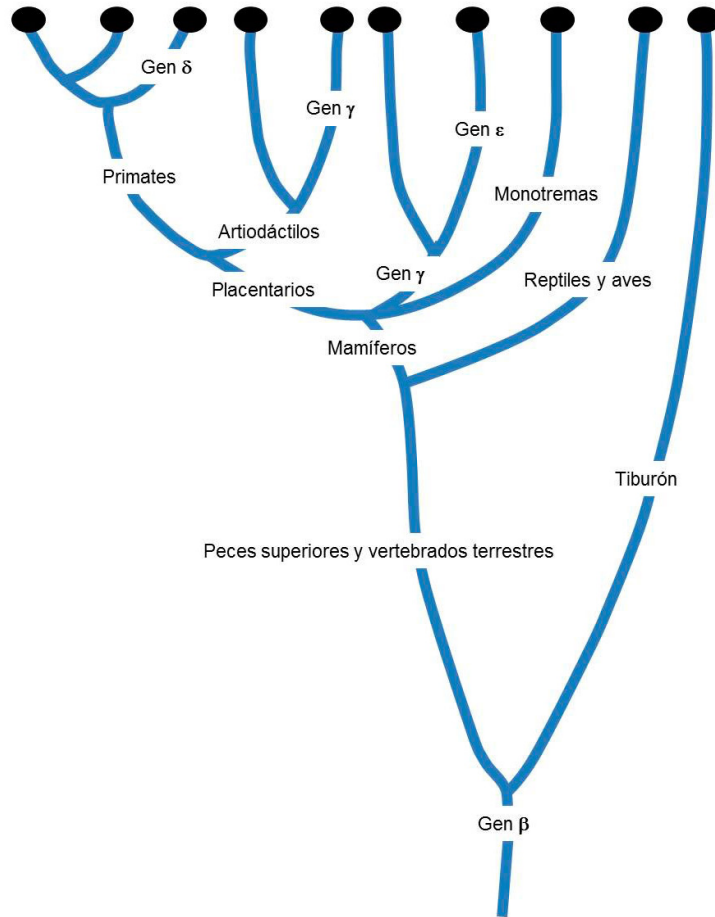


Fig. 21.8. Evolución y clasificación de las beta globinas en vertebrados

GLOSARIO

A

acondroplasia – Enanismo, se hereda en los seres humanos por un gen autosómico dominante.

acrecentador – Proteína reguladora que cuando se une a una secuencia reguladora del DNA activa la transcripción.

acrocéntrico – Cromosoma que tiene el centrómero en la parte distal.

adaptación – En sentido evolutivo, alguna característica hereditaria que le confiere al organismo que la porta una ventaja adaptativa por lo que aumenta su probabilidad de sobrevivir y reproducirse.

adenina (A) – Base nitrogenada púrica. En el DNA se aparea con la timina mediante dos puentes de hidrógeno.

adecuación – Probabilidad relativa de supervivencia y reproducción de un genotipo.

aislantes (*insulators*) – Complejos reguladores de la transcripción que impiden, cuando se encuentran entre un acrecentador y un promotor, que se active la transcripción.

alelo – Una o varias formas alternadas de un gen. En una célula diploide cada gen tiene dos alelos que ocupan el lugar (*locus*) correspondiente en un cromosoma homólogo.

alelos múltiples – Existencia en la población de varios alelos de un gen.

alopoliploide – Organismo que se origina cuando los genomas de dos especies se unen.

alozimas- Formas electroforéticas de proteínas producidas por alelos diferentes.

Alu- Enzima de restricción que se extrae de *Arthobacter luteus*. Secuencias de DNA altamente repetidas en el genoma de los seres humanos.

aminoácido – Molécula orgánica, péptido o compuesto químico que

forma a las proteínas, Cada uno consta de grupos amino y carboxilo.

amniocentesis – Técnica que permite conocer el genotipo de un embrión en gestación, consiste en extraer líquido amniótico y células del epitelio de descamación.

anafase – Etapa de la división celular en la que los cromosomas emigran a los polos.

anabolismo – Fase del metabolismo en la que se sintetizan moléculas complejas a partir de precursores más sencillos.

anagénesis – Modelo de especiación en el que la especie A se transforma en la especie B después de un cierto periodo de tiempo.

análogo de base – Compuesto químico cuya estructura molecular mimetiza a una base nitrogenada.

aneuploide – Célula u organismo en el cual el número de cromosomas está alterado y difiere del diploide por tener un cromosoma de un par representado una, tres o cuatro o más veces.

anfidiploides – Autopoliploides fértiles o dobles diploides fértiles.

angstrom (Å) – Unidad de longitud que se emplea para medir átomos y moléculas. $1 \text{ Å} = 10^{-10}$ de metro ó a 0.1 nanómetros.

anión – Ión cargado negativamente.

anticodón – Un triplete de tres nucleótidos que se encuentra en el RNAt y es complementario al codón que se encuentra en el RNAm.

anticuerpo – Proteína (inmunoglobina) que produce el sistema inmune y que reconoce a otra sustancia (antígeno) y se une a él.

antígeno – Molécula que es reconocida por un anticuerpo, región específica que se une a un anticuerpo o a un receptor de las células T.

antiparalelo – Término empleado para describir la orientación opuesta de las dos cadenas de la doble hélice, es decir, la polaridad de una hebra está orientada en dirección opuesta a la de la otra hebra.

apoptosis – Muerte celular programada genética-mente que es mediada por la producción de enzimas proteolíticas llamadas caspasas.

árbol filogenético – Construcción de la relación evolutiva entre grupos taxonómicos.

árbol genealógico – Construcción simbólica del patrón de herencia de un carácter en el que se muestran las relaciones ancestrales y la transmisión del carácter en una familia a través de varias generaciones.

asca – En los hongos, saco que envuelve a las ascosporas.

ascospora – En los hongos, esporas sexuales.

atenuador – Región adyacente a los genes estructurales del operón triptófano.

ATP – Trifosfato de adenosina. Moneda energética de las células.

autopoliploide – Organismo que se forma por la duplicación de su mismo genoma

autosoma – Cualquier cromosoma del complemento que no sea un cromosoma sexual

auxotrófica (-) – Cepa bacteriana incapaz de sintetizar algún producto, por lo que requiere de su adición al medio de cultivo para poder crecer.

B

BAC – Cromosoma bacteriano artificial, plásmido construido por ingeniería genética, que actúa como vector de clonación, y que es capaz de portar insertos grandes.

bacteriófago – Virus que infecta a una bacteria

balanceador– Cromosoma que porta inversiones múltiples que impiden la recombinación.

biblioteca de DNA -. Conjunto clonado de todas las secuencias genómicas de un organismo.

bioinformática- Disciplina científica que se interesa por todos los

aspectos relacionados con la adquisición, almacenamiento, procesamiento, distribución, análisis e interpretación de la información biológica. Mediante la aplicación de técnicas y herramientas de las matemáticas, de la biología y de la informática, con el propósito de comprender el significado biológico de una gran variedad de tipos de datos.

Biología genómica- La genómica es la rama de la biología que se encarga del estudio de los genomas de los organismos. La genómica trata de entender la organización molecular y la información genética que contienen los genomas de los seres vivos, así como los productos génicos que cada genoma codifica.

biometría – Empleo de herramientas matemáticas y de la estadística para el análisis de datos experimentales generados en la biología.

bivalente – Estructura formada por cuatro cromátidas de dos cromosomas homólogos durante la meiosis.

blastodermo – En el embrión de los insectos la capa de células que rodea a la masa interna de la yema.

braquidactilia – Carácter autosómico dominante que produce en los seres humanos dedos acortados.

C

caja CAAT – Secuencia de DNA muy conservada que se encuentra a los 75 pares de bases corriente arriba del sitio de inicio de la transcripción en los genes de los eucariontes.

caja Hogness – Secuencia de DNA muy conservada que se encuentra a los 25 pares de bases corriente arriba del sitio de inicio de la transcripción en los genes de los eucariontes, corresponde al sitio donde se une la RNA polimerasa II. Se conoce también como caja TATA.

caja homeótica – Secuencia de 180 nucleótidos muy conservada que codifica para una secuencia polipeptídica llamada homeodominio, proteína de unión al DNA que actúa como factor de transcripción. Se encuentra en genes involucrados con

diversos procesos de desarrollo en numerosos seres vivos.

caja Pribnow – Secuencia de DNA muy conservada que se encuentra a los 10 pares de bases corriente arriba del sitio de inicio de la transcripción en los genes de los procariontes. Es el lugar donde se une el factor sigma de la RNA polimerasa.

caja TATA – Ver caja Hogness.

cáncer – Enfermedad genética en la cual los mecanismos de regulación y control del ciclo celular están alterados, por lo que, las células proliferan de forma descontrolada.

CAP – Proteína activadora de catabolitos cuya presencia es necesaria para la activación del operón *lac*.

carácter- Rasgo o atributo que está bajo control genético y que genera un fenotipo.

carcinógeno- Molécula que produce cáncer.

carcinoma – Cáncer de las células epiteliales. El más común de los cánceres que afectan a los seres humanos.

cariotipo – Ordenación de los cromosomas de un organismo por tamaño.

catabolismo – Fase del metabolismo en la que se degradan moléculas complejas, con liberación de energía.

catalasa – Enzima que cataliza la conversión del peróxido de hidrógeno en agua.

cación – Ión cargado positivamente.

cdk – Quinasa dependiente de ciclina. Complejos proteicos que disparan diferentes pasos del ciclo celular mediante la fosforilación de proteínas blanco.

cebador – Fragmento de RNA (o DNA) necesario para el funcionamiento de las polimerasas.

célula competente – Célula capaz de incorporar DNA foráneo.

células B – Linfocitos que producen anticuerpos.

células T– Linfocitos responsables de la respuesta inmune adaptativa. Los linfocitos T incluyen a las células citotóxicas T, a las células ayudantes y a las células reguladoras T.

centimorgan (cM) – Unidad de mapa, distancia entre dos genes ligados, donde 1% de los productos de la meiosis son recombinantes. En términos moleculares es igual a 1,000 kb

centrómero – Región del cromosoma en la cual se unen las proteínas del cinetocoro.

ciclinas – Familia de proteínas que se sintetizan y degradan en tiempos específicos durante el ciclo celular.

ciclo celular – Eventos que ocurren durante la vida de las células que se dividen por mitosis.

cigoto – Óvulo fertilizado.

cistrón – Región de una molécula de DNA que codifica para un polipéptido.

citocinesis – División del citoplasma en dos.

citogenética – Estudio de la estructura física de los cromosomas y su correlación con las funciones genéticas.

citopatías – Enfermedades que se producen por mutaciones puntuales y deleciones en el DNA de las mitocondrias. Se heredan de forma materna.

citosa (C) – Base nitrogenada pirimidica. En el DNA se aparea con la guanina mediante tres puentes de hidrógeno.

cladogénesis – Modelo de especiación en el cual una especie da origen a dos especies después de un largo periodo de tiempo.

clon – Célula o ser vivo genéticamente idéntico a un ancestro que se produce por reproducción asexual.

clonación – Procesos en los cuales está involucrada la duplicación del material biológico ya sea de segmentos del DNA (clonación molecular o DNA recombinante), de seres vivos genéticamente idénticos a partir de células somáticas (clonación de organismos) o de organismos unicelulares (clonación celular).

cloroplasto – Organelo que se encuentra en las plantas, contiene clorofila y es el sitio donde se lleva a cabo la fotosíntesis.

código genético – Tripletas de nucleótidos que codifican para los 20 aminoácidos que constituyen las proteínas de todos los seres

vivos.

codominancia – Patrón hereditario en el cual los dos alelos se expresan fenotípicamente en el heterocigoto.

codón – Triplete de nucleótidos que codifica para un aminoácido.

colinearidad – Relación lineal entre la secuencia de nucleótidos de un gen y la secuencia de aminoácidos en una proteína.

configuración cis – En un organismo heterocigoto cuando dos genes se encuentran en el mismo cromosoma ($+/ab$).

configuración trans – En un organismo heterocigoto cuando dos genes se encuentran en los dos cromosomas homólogos ($a+/+b$).

conjugación – Proceso de reproducción parasexual en el cual dos células bacterianas establecen contacto y se transfieren material genético de una a otra.

corpúsculo de Barr – Cuerpo nuclear que se tiñe intensamente y que corresponde a un cromosoma X inactivado.

cósmido – Vector que permite la clonación de fragmentos de cerca de 40 kb. Híbridos formados por sitios cos del fago lambda insertados en un plásmido.

cpDNA – Ácido desoxirribonucleico de los cloroplastos

cromatina – Complejo formado por DNA y proteínas histonas que conforman a los cromosomas.

cromómero – Estructura enrollada que se observa en los cromosomas durante la profase de la división celular.

cromosoma – Molécula de DNA y proteínas histonas arreglada en forma lineal y que contiene a los genes de los eucariontes.

cromosomas artificiales – Cromosomas construidos por ingeniería genética. Se denominan por su origen en: bacterianos (BACs), derivados del fago P1 (PACs) y obtenidos de levaduras (YACs).

cromosomas politénicos – Cromosomas que se encuentran en las glándulas salivales de los dípteros. Se originan porque sufren varias rondas de replicación sin división celular, proceso conocido como endomitosis.

cruza de prueba – Apareamiento entre un individuo de genotipo

desconocido por un individuo homocigoto recesivo.

cruza monohíbrida – Apareamiento entre dos individuos en los que está implicado un solo carácter.

cruza recíproca – Apareamiento entre dos individuos en el que el genotipo de la hembra en una primera cruce es el genotipo del macho en una segunda cruce.

cuates – Individuos que se producen por la fertilización independiente de dos óvulos y que se gestan al mismo tiempo.

D

dalton – Unidad de masa molecular. Es aproximadamente igual a la masa de un átomo de hidrógeno (1.66×10^{-24} g).

deleción – Pérdida de genes o de secciones cromosómicas como resultado de uno o dos rompimientos cromosómicos.

deletéreo – Que reduce la calidad o la esperanza de vida.

de novo – Que se origina de nuevo.

deriva génica – Variación aleatoria en la frecuencia de alelos en una población. Se observa en poblaciones pequeñas.

desnaturalización – Separación de las dos hebras de la doble hélice.

determinación – Proceso regulado mediante el cual las células cumplen un patrón específico de actividad genética y de destino.

diacinesis – Subfase de la profase I de la meiosis en la cual los cromosomas se separan.

diploide – Organismo con un complemento cromosómico $2n$, es decir, con dos cromosomas de cada par.

diplóteno – Subfase de la profase I de la meiosis en la cual se observan los quiasmas.

disco imaginal – Grupo de células que en los insectos holometábolos, como el embrión de *Drosophila*, está determinado para formar estructuras específicas en el adulto, tales como, antenas, ojos, alas, patas, etc.

distrofia muscular de Duchenne – Anomalía genética entre los seres humanos que se debe a un gen ligado al cromosoma X que afecta a los músculos, debido a que la proteína muscular distrofina se encuentra mutada.

disyunción – Separación de cromosomas en la anafase.

división celular – Proceso mediante el cual se forman dos células a partir de una.

DNA – Ácido desoxirribonucleico, componente fundamental de los genes. Molécula que guarda la información genética de un ser vivo y que se transmite de generación en generación.

DNA girasa – Enzima topoisomerasa que desespiraliza al DNA. Produce además cortes en la doble hélice.

DNA ligasa – Enzima que forma enlaces covalentes entre el extremo 5' de una cadena polipéptida y el extremo 3' de otra.

DNA microsatélite – DNA repetitivo formado fundamentalmente por dinucleótidos.

DNA polimerasa – Enzima encargada de ir incorporando los nucleótidos complementarios a la hebra de DNA en crecimiento.

DNA polimórfico amplificado al azar (RAPDs) – Grupo de varios fragmentos de DNA amplificados por un solo primer en PCR.

DNA recombinante, molécula híbrida o quimera – Técnica molecular que consiste en unir dos fragmentos de DNA de origen diferente en uno solo.

DNA repetitivo – DNA redundante, secuencias que están presentes en muchas copias en los cromosomas.

DNA satélite – Cualquier secuencia de DNA altamente repetida.

DNA_t – Ácido desoxirribonucleico de los telómeros.

doble hélice – Estructura tridimensional del DNA en la cual dos hebras o cadenas antiparalelas de nucleótidos se mantienen unidas mediante puentes de hidrógeno entre las bases nitrogenadas.

dominante – Alelo que se expresa fenotípicamente en condición heterocigota.

duplicación – Mutación que se refiere a la presencia por duplicado de un gen o región cromosómica.

E

ecdisona – Hormona de los insectos implicada en la metamorfosis.

electroforesis – Técnica que permite separar a las moléculas (ácidos nucleicos y proteínas) por su tamaño en un campo eléctrico.

electrotransferencia tipo northern – Transferencia de fragmentos de RNA, separados por electroforesis, de un gel a un papel absorbente, que luego se coloca en una solución que contiene la sonda de interés marcada a la que el fragmento de RNA se pega.

electrotransferencia tipo Southern – Transferencia de fragmentos de DNA, separados por electroforesis, de un gel a un papel absorbente, que luego se coloca en una solución que contiene la sonda de interés marcada a la que el fragmento de DNA se pega.

electrotransferencia tipo western – Membrana que porta una impresión de proteínas, separadas por electroforesis. Puede identificarse una proteína específica mediante la hibridación con un anticuerpo marcado.

efecto de posición – Expresión inestable de un gen debido a la posición que ocupa un rearrreglo en el cromosoma.

elementos de respuesta hormonal – Secuencias que se encuentran corriente arriba del codón de iniciación de la transcripción; sitio al que se unen hormonas generalmente esteroideas.

elemento IS – Secuencia de inserción de menos de 2,000 pares de bases que se transpone en el genoma.

elemento P – Elemento de DNA transponible que se encuentra en el genoma de *Drosophila* y es el responsable de la disgenesia híbrida.

elemento transponible – Segmento de DNA autónomo que contiene más de 2,000 pares de bases, puede insertarse y separarse del

genoma, se encuentran tanto en procariontes como en eucariontes.

empalme alternativo – Reunión de exones de forma alterna.

endogenote – Segmento de DNA en un genóforo bacteriano que es homólogo a un exogenote.

endomitosis - Replicación cromosómica sin división celular.

endonucleasa – Enzima que hidroliza los enlaces fosfodiéster de una cadena de nucleótidos.

enlace covalente – Unión química no iónica formada por los átomos que comparten electrones.

enlace fosfodiéster – En los ácidos nucleicos el enlace covalente entre el grupo fosfato y el nucleótido adyacente.

enlace peptídico – Enlace covalente entre el grupo amino de un aminoácido y el grupo carboxilo de otro aminoácido adyacente.

entrecruzamiento – Intercambio de material genético entre cromátidas.

enzima – Proteína que cataliza una reacción bioquímica.

enzimas de restricción – Nucleasas que producen las bacterias como un mecanismo de defensa en contra de los fagos, cortan al DNA en uno o más fragmentos donde se repite una secuencia de nucleótidos. Se emplean en los procesos de ingeniería genética.

epigenética – Herencia de un cambio fenotípico en la célula o en el organismo que no resulta de cambios en los nucleótidos del DNA. El fenómeno puede deberse a modificaciones heredables de la cromatina, como las metilaciones de las citosinas, o a modificaciones en las histonas que generan la formación de heterocromatina. La inactivación de un cromosoma X durante el desarrollo embrionario y la impronta genómica son algunos ejemplos.

episoma – Elemento genético circular autónomo que se encuentra en las bacterias, puede estar libre en el citoplasma o integrado en el genóforo.

epistasis – tipo de interacción génica en la que un gen impide la expresión de otro gen.

especiación – Proceso que da origen a una nueva especie.

especiación alopátrida – Ocurre en primera instancia por las barreras que representan los accidentes geográficos, tales como, ríos, lagos o montañas, que impiden el intercambio de información genética.

especiación estasipátrida – Modelo que supone que en una población con poca vagilidad (poca movilidad), surgen rearrreglos cromosómicos espontáneos que son viables y se fijan en la población

especiación simpátrida – Arreglo de mecanismos que producen una especie ancestral sin separación o segregación geográfica de las poblaciones.

espliceosoma – Complejo formado por macromoléculas en el núcleo en el que se produce el corte y empalme de los intrones y de los exones.

eucromatina – Cromatina verdadera, es la que se replica, transcribe y traduce.

exogenote – Secuencia de DNA que ingresa a una célula bacteriana y se recombina con el endogenote.

exón – Región de un gen que se traduce, suele corresponder a un dominio estructural de una proteína.

exonucleasa – Enzima que rompe, de uno en uno, nucleótidos que se encuentran al final de una cadena polinucleotídica.

expresividad – Grado con el que un genotipo se expresa fenotípicamente.

extracción de las vellosidades coriónicas – Técnica que permite conocer el genotipo de un embrión en gestación.

F

F1 – Primera generación filial que se produce al hacer una cruce entre dos progenitores.

F2 – Segunda generación filial que se produce al cruzar entre sí a la F1

factor F – Episoma que se encuentra en las bacterias y que les confiere la capacidad para llevar a cabo la conjugación.

fago – Virus.

fenilcetonuria – Error congénito del metabolismo que impide el metabolismo de la fenilalanina.

fenocopia – Modificación no hereditaria que se manifiesta en el fenotipo y que son debidas a cambios ambientales

fenotipo – Rasgo detectable o manifestación de un genotipo.

FISH – Técnica de hibridación *in situ* que emplea sondas marcadas de forma fluorescente.

flujo genético – Intercambio de genes entre dos poblaciones.

fotoliasa – Enzima que se encuentra en bacterias y eucariontes inferiores pero no en los seres humanos, corta los enlaces entre los dímeros de pirimidinas revertiendo los efectos de la luz UV.

frecuencia de mutación– Número de mutaciones que se encuentran en una población, célula o individuo (se expresa como frecuencia por número de gametos, frecuencia por número de esporas o frecuencia por número de individuos).

fusión céntrica – Translocación que implica la unión de dos cromosomas acrocéntricos.

G

G – Guanina, base nitrogenada púrica.

GAL4 – Sistema de levaduras que se emplea para el estudio de la expresión de genes. Es un factor que puede activar la transcripción de genes en otros organismos.

gameto – Célula reproductora que contiene un número de cromosomas haploide.

ganancia de función – Mutación que altera de forma cualitativa la acción de un gen.

gemelos – Individuos genéticamente idénticos que se producen por la fertilización de un solo óvulo, que en la primera división del

cigoto, da origen a dos individuos completos.

gen – Unidad estructural y funcional fundamental, secuencia en el DNA compuesta por una región reguladora y una región que se transcribe como una sola unidad.

gen letal – El que produce la muerte del individuo que lo expresa.

gen homeótico – Gen que controla durante el desarrollo el destino de los segmentos a lo largo del eje antero-posterior de los animales.

gen supresor de tumores – Gen que codifica para una proteína que impide la formación de un tumor.

genes ortólogos – Genes que realizan la misma función y que se originaron por un proceso de especiación.

genes parálogos – Genes que realizan funciones relacionadas, que derivan de una secuencia común y se generaron a través de la duplicación.

genóforo – Material genético bacteriano.

genoma – Constitución genética completa de un organismo.

genómica – Estudio de las secuencias de DNA y de sus propiedades de genomas completos.

genómica comparada – Rama de la biología genómica que trata de encontrar las relaciones evolutivas al comparar los genomas completos de especies o taxones diferentes.

genómica estructural – Rama de la biología genómica que trata de localizar y caracterizar la secuencia de un genoma y que lleva a la construcción del mapa físico.

genómica funcional – Rama de la biología genómica que trata de caracterizar tanto al conjunto de transcritos (transcriptoma) como al conjunto de proteínas que codifica un genoma (proteoma).

genómica individual – Rama de la biología genómica que estudia las variaciones dentro de los genomas entre los individuos de la misma especie.

genotipo – Composición alélica de una célula o de un organismo. Combinación particular de alelos que porta un individuo

específico.

guanina (G) – Base nitrogenada púrica. En el DNA se aparea con la citosina.

H

haploide – Célula o ser vivo con un solo genoma o complemento cromosómico.

haplotipo – genotipo haploide.

haplosuficiente – Gen que en una célula diploide puede promover la función silvestre.

helicasa – Enzima que rompe los puentes de hidrógeno que mantienen unidas a las dos hebras del DNA.

heredabilidad – Medida del grado en que las diferencias fenotípicas observadas para un carácter son genéticas.

Hfr – Capas bacterianas en las cuales se produce la recombinación con una alta frecuencia, debido a que tienen integrado en su genoma al episoma F.

herencia extranuclear – Patrones de herencia extracromosómica, no mendeliana, uniparental, citoplásmica o materna, que se deben a genes que se encuentran fuera del genoma nuclear.

herencia influida por el sexo – Patrón hereditario autosómico que se produce por un par de alelos con segregación 3:1, la dominancia y recesividad del gen en cuestión se manifiesta de manera inversa dependiendo de la constitución hormonal.

herencia ligada al sexo – Ligada al cromosoma X

herencia limitada al sexo – Patrón hereditario de genes autosómicos en el cual uno de los dos sexos expresa los dos fenotipos que se esperan debidos a la herencia mendeliana, mientras que el otro sexo sólo expresa uno.

herencia parcialmente ligada al sexo – Se refiere a la herencia que se debe a los genes que se localizan en la región homóloga de los cromosomas X y Y.

herencia poligénica – Carácter que se hereda por la acción aditiva

de varios genes.

hemigigoto – Organismo que porta cromosomas sexuales heteromórficos

heterocigoto – Individuo que porta alelos distintos en un *locus*.

heterocromatina – Cromatina que se replica, pero no se transcribe ni se traduce.

híbrido – Individuo que se produce cuando se cruzan dos progenitores que portan genotipo diferente. Sinónimo de heterocigoto.

histonas – Proteínas básicas, ricas en arginina y lisina, que juegan un papel estructural en la conformación de la cromatina.

holándrica – Herencia ligada al cromosoma Y.

homocigoto – Individuo que porta alelos idénticos en un *locus*.

homólogo – El miembro de un par de cromosomas. Genes, proteínas o estructuras que son similares ya que comparten un origen evolutivo común.

hormona – Molécula que es secretada por una glándula endócrina al sistema circulatorio y que actúa como señal al activar receptores en una célula blanco.

htRNA – RNA heterogéneo nuclear. Transcripción directa del DNA en los eucariontes.

I

Ig – Inmunoglobina, anticuerpo.

imago – Adulto de un insecto.

impronta genómica – Fenómeno en el cual un gen heredado de ambos padres no se expresa aún cuando ambos genes sean genéticamente funcionales. Los genes así marcados se metilan durante la formación de los gametos (ya sea los espermatozoides o los óvulos).

interfase – Fase del ciclo celular entre dos divisiones.

interferencia génica – Fenómeno que se refiere al grado en que un

entrecruzamiento afecta a la incidencia de otro entrecruzamiento en una región adyacente de la misma cromátida.

intrón – Secuencia con función desconocida de un gen. Se transcribe pero no forma parte del RNA mensajero maduro.

ión – Átomo que ha ganado o perdido electrones y adquiere carga.

in situ – Latinismo quiere decir en su lugar

in vitro – Literalmente en vidrio, experimento que se realiza fuera del organismo.

in vivo – En vivo

inversión – Aberración cromosómica que se produce cuando se rompe un cromosoma y el pedazo se reúne en el mismo cromosoma con un giro de 180°

isoforma – Forma variante de una proteína que puede derivar del corte y empalme alternativo de un transcrito.

isómero – Molécula formada por los mismos átomos y que contiene la misma masa que otra pero que tiene una conformación tridimensional diferente.

isótopo – Una o varias formas de un átomo que contiene el mismo número atómico pero diferente masa atómica.

K

kilobase (kb) – Unidad de longitud que corresponde a 10^3 pares de nucleótidos en el DNA de doble hélice, o a 10^3 nucleótidos en ácidos nucleícos de hebra sencilla.

knockout – Deleción producida por ingeniería genética que inactiva a un gen.

L

leptóteno – Fase de la profase I en la cual los cromosomas se hacen visibles.

leucemia (y linfoma) – Cáncer en los cuales se ven afectadas las células blancas de la sangre.

ligamiento – Asociación de genes en el mismo cromosoma.

ligasa – Enzima que une a dos moléculas en el DNA ya que cataliza la formación del puente fosfodiéster.

LINE – Elementos dispersos largos, secuencias repetidas que se encuentran en el genoma de algunos eucariontes.

línea – Grupo de organismos diploides que se intercrucan y en los cuales se mantiene un genotipo idéntico.

linfoma de Burkitt – Cáncer del sistema linfático que se manifiesta con tumores en la mandíbula. Se debe a una translocación en la que un oncogen queda al lado de una secuencia reguladora en uno de los genes que codifica para la producción de las inmunoglobinas.

lisogenia – Parte del ciclo de vida de un virus, en el cual el virus se integra al cromosoma (o al genóforo) del huésped.

lítico – Parte del ciclo de vida de un virus, que conduce a la muerte (o lisis) de la célula que infecta.

locus – Lugar. Posición de un gen en un cromosoma.

M

macromolécula – Polímero.

marcador – Gen

marco de lectura abierto (ORF) – La sección de una secuencia de DNA, libre de codones de terminación, que empieza con un codón de iniciación y termina con uno de terminación. Corresponde a la secuencia codificante de un gen.

media – Promedio aritmético.

medio mínimo – Medio de cultivo que solamente contiene glucosa, sales inorgánicas y agua.

meiosis– Dos divisiones celulares sucesivas que producen cuatro células hijas con la mitad del número de cromosomas que la célula progenitora.

metabolismo – La suma de reacciones químicas que se producen en

una célula.

metafase – Fase de la división celular en la cual los cromosomas están alineados en el plano ecuatorial de la célula.

metástasis – Dispersión de las células cancerosas de su sitio de origen a otros lugares del cuerpo.

metilación – modificación de una molécula por adición de un grupo metilo.

micra (μ) – Micrómetro (μm), unidad de medición que corresponde a 10^{-6} de metro ó a 10^{-3} de milímetro.

microarreglo – Metodología de chips de DNA.

microsoma - Vesícula que deriva del retículo endoplásmico que se produce por la fragmentación de las células cuando son homogeneizadas.

mieloma – Cáncer de la médula ósea.

mitocondria – Organelo que se encuentra en el citoplasma de las células de los eucariontes. Es el sitio donde se realiza el ciclo del ácido cítrico y de la síntesis de ATP.

mitosis – División celular que produce dos células iguales a la célula progenitora.

megabase (millones de pares de bases, Mb) – Medida de longitud que corresponde a 10^6 pares de nucleótidos, ó, 10^6 nucleótidos.

metacéntrico – Cromosoma que tiene el centrómero en la parte media.

moda – Medida de tendencia central. En una distribución estadística el número que se presenta con la mayor frecuencia.

monoploide – Célula que tiene un solo juego de cromosomas.

morfogénesis - Desarrollo de la forma y función en un organismo.

morfógeno – Molécula que impone un patrón de desarrollo lo que produce que las células adopten destinos diferentes.

mosaico – Tejido que contiene dos o más tipos celulares genéticamente diferentes.

mRNA – Ácido ribonucleico mensajero. Molécula que es la transcripción (madura) de un gen del DNA.

mtDNA – Ácido desoxirribonucleico de las mitocondrias.

mutación – Cambio que se produce en la secuencia de un gen.

mutación cromosómica – Sinónimo de aberración cromosómica.

Cambios en el número o en la estructura de los cromosomas

mutaciones espontáneas – Mutaciones que ocurren de manera natural.

mutaciones génicas o puntuales – Alteraciones moleculares que ocurren en una base del DNA o en muy pocas bases adyacentes.

mutaciones inducidas – Aquellas que se generan cuando el organismo se expone a algún agente mutagénico sea éste físico, químico o biológico .

mutación sensible a la temperatura – Mutación condicional que se expresa dependiendo de la temperatura.

mutación sin sentido – Cambio en un codón que produce la terminación en la traducción del mRNA.

mutación somática – Cambio que ocurre en una célula somática.

mutágeno – Cualquier agente físico, químico o biológico que produce mutaciones.

mutón – Unidad mínima de mutación, corresponde a un nucleótido.

N

nanómetro (nm) – Unidad de longitud igual a 10^{-9} metros ó 10^{-3} micrómetros.

no-disyunción – Falta de separación de los cromosomas durante la división celular.

NOR – Organizador nucleolar. Región del cromosoma donde se encuentra los genes que codifican para rRNA.

nucleasa – Enzima que degrada al DNA al romper el puente fosfodiéster.

nucleótido – Una base nitrogenada, púrica o pirimídica, unida covalentemente a un azúcar, ribosa o desoxirribosa y a un grupo fosfato.

nucleoide – Material genético de los organelos (mitocondrias y cloroplastos).

nucleosoma – Octámero formado por dos unidades de las proteínas histonas H2A, H2B, H3 y H4. El DNA se enrolla en esta estructura proteica.

nulisómico – Célula o individuo que carece de un par de cromosomas.

O

oligonucleótido – Segmento corto de DNA sintético.

oncogen – Gen que contribuye a la producción de cáncer. Los oncogenes son formas mutadas de genes celulares normales denominados protooncogenes involucrados en el control de la división celular.

operón – Grupo de genes, reguladores y estructurales, que se encuentran en las bacterias. Los genes estructurales se transcriben en una sola pieza de mRNA.

organismo modelo – Especie que ha sido muy estudiada y caracterizada genéticamente.

ortólogo – Genes o proteínas de diferentes especies cuya secuencia es similar debido a que descienden de un gen o ancestro común.

oxidación – Pérdida de electrones de un átomo, tal como ocurre cuando se agrega oxígeno a una molécula o cuando se remueve un hidrógeno.

P

p53 – Gen supresor de tumores que se encuentra mutado en cerca del 50% de los cánceres humanos, codifica para una proteína reguladora que se activa cuando el DNA se encuentra dañado por lo que impide la progresión del ciclo celular. Se le llama por ello guardián del genoma.

PAC – Cromosoma artificial construido por ingeniería genética, deriva del fago P1, se emplea como vector de clonación de insertos largos.

palíndrome – Secuencia simétrica de cuatro a seis nucleótidos. Conjunto de caracteres que se leen lo mismo de derecha a izquierda que de izquierda a derecha, tales como ROMA:AMOR.

paquíteno – Fase de la profase I de la meiosis en la que los cromosomas homólogos están en sinapsis.

parálogo – Genes o proteínas con secuencia similar debido al fenómeno de duplicación génica que ocurrió en un ancestro común.

parasexual – Sistema de recombinación unidireccional de información genética que se presenta en los procariontes.

PCR – Reacción en cadena de la polimerasa, técnica que permite amplificar millones de veces un fragmento de DNA.

pedigríe – Árbol genealógico

penetración – Frecuencia con la que individuos de genotipo igual manifiestan, al menos en algún grado, un fenotipo mutante.

pirimidina – Compuesto nitrogenado que se encuentra en los ácidos nucleicos: citosina, timina y uracilo.

plásmido – Molécula de DNA circular, autónoma y extracromosómica.

plásmido R – Plásmido que se encuentra en las bacterias y que porta resistencia a antibióticos.

pleiotropía – Mutación que afecta muchos caracteres.

población – Grupo local de individuos que pertenecen a la misma especie.

polidactilia – Mutación autosómica dominante que produce dedos supernumerarios en manos y pies.

polimerasa – Enzima que cataliza la formación de ácidos nucleicos (DNA o RNA).

polimorfismo – Existencia de dos o más fenotipos en una población asociados con los alelos de un gen.

polimorfismos largos de fragmentos de restricción (RFLP) – Fragmentos de DNA generados por endonucleasas de restricción. Se heredan de forma codominante por lo que se emplean como marcadores genéticos.

polimorfismo balanceado – Polimorfismo genético estable que se mantiene por selección natural.

polipéptido - Cadena de aminoácidos. Precursor de una proteína.

poliploidia - Cambio numérico completo que implica múltiplos del número cromosómico haploide.

primasa – Enzima que fabrica cebadores de RNA durante la réplica del DNA.

primer – Oligonucleótido que se aparea con una hebra de DNA o de RNA y en presencia de una polimerasa promueve la síntesis de una nueva hebra complementaria.

procariontes – Organismos unicelulares que carecen de compartimentos celulares.

profago – Virus integrado al genóforo bacteriano.

promotor – Secuencia que se encuentra corriente arriba del sitio de iniciación de la transcripción a la que se une la RNA polimerasa.

propositus – Literalmente propósito. En genética humana, persona por la que se acude a un genetista por un consejo genético.

proteasa – Enzima que degrada proteínas mediante la hidrólisis del puente peptídico que mantiene unidos a los aminoácidos.

proteína – Polipéptido que adquiere una conformación espacial tridimensional.

proteína estabilizadora de unión a hebra sencilla (SSB: single strand binding protein) – Proteína que se une a cada una de las dos hebras, durante la replicación, lo cual impide que se vuelvan a formar los puentes de hidrógeno entre las bases complementarias.

proteín-quinasa (PK) – Enzima que transfiere el grupo fosfato terminal del ATP a uno o más aminoácidos específicos (tales como serina, treonina o tirosina) a una proteína blanco.

proteínas reguladoras en *trans* – Proteínas que regulan la transcripción contienen, por regla general, dos dominios funcionales, uno que se une a promotores y acrecentadores denominado dominio de unión al DNA y otro que activa la transcripción mediante interacciones proteína-proteína denominado dominio de activación en *trans*.

proteoma – Todas las proteínas que codifica un genoma.

proteómica celular – Rama de la biología genómica que estudia las proteínas que confieren a las células su forma y función, considerando que los proteomas, a diferencia de los genomas, son dinámicos y varían de manera espacial y temporal en los seres vivos.

proto-oncogen – Gen que regula la proliferación celular. Puede convertirse por mutación en un oncogen.

prototrófica (+) – Cepa silvestre capaz de vivir en un medio mínimo.

prueba de complementación cis-trans – Análisis genético que se realiza para determinar si dos sitios mutantes de un gen se encuentran en la misma unidad funcional o cistron.

pseudogen – Gen que ha acumulado mutaciones por lo que es inactivo y no funcional aunque deriva de un gen ancestral funcional.

punto de restricción R – Retén en el ciclo celular entre G1 y S.

purina – Compuesto nitrogenado que se encuentra en los ácidos nucleicos.

Q

quiasma – Evidencia física del entrecruzamiento.

quimera – Mosaico

quinasas dependientes de ciclinas (CDKs) – Proteínas que fosforilan algunos factores de transcripción cuya actividad es necesaria durante ciertas etapas del ciclo celular.

R

rad – Unidad de dosis absorbida de radiación .

Rec A – Proteínas que se unen al DNA durante la recombinación génica y catalizan la sinapsis de las hebras del DNA.

receptor – Cualquier proteína que se une a una molécula señal específica (ligando) e inicia una respuesta celular.

recesivo – Alelo que no se expresa en la condición heterocigota.

recom – Unidad mínima de recombinación (un nucleótido).

recombinación – Intercambio genético, proceso mediante el cual se generan nuevas combinaciones genéticas.

recombinación intragénica – Recombinación dentro de un gen.

recombinación mitótica - Cambio de la información genética en las células somáticas.

rem – Dosis de radiación que produce el mismo efecto biológico que un roentgen.

reparación – Proceso mediante el cual el DNA dañado se repara.

replicación – Síntesis de DNA.

retén – Estado del ciclo celular en el cual se comprueba que se hayan llevado a cabo los eventos que permitan continuar al ciclo.

retinoblastoma – Cáncer de la retina humana.

retrocruza – Cruza retrógrada, cruza entre la F1 y uno de los progenitores.

retromutación (a → +) – Mutación que regresa al tipo silvestre.

retrotransposón – Transposón que se transcribe primero a una copia de RNA y luego a DNA en presencia de la transcriptasa inversa, posteriormente puede insertarse en cualquier lugar del genoma.

retrovirus – Virus de RNA.

ribonucleasa – Enzima que corta al RNA mediante la hidrólisis del puente fosfodiéster.

ribosoma – Organelo en el que se lleva a cabo la traducción del mensaje genético.

ribozima – RNAs con actividad catalítica.

RNA – Ácido ribonucleico.

RNA antisentido – RNA complementario al RNA transcrito de un gen. Puede hibridar con un RNA específico y bloquear su función.

RNA de interferencia (RNAi) – Mecanismo mediante el cual se inactiva un mRNA al introducir una construcción transgénica particular.

RNA de transferencia (RNAt) - Molécula que adapta el aminoácido correcto al codón específico del mensajero.

RNA heterogéneo nuclear (htRNA) – Transcrito primario en los eucariontes.

RNA mensajero – Molécula de RNA que se transcribió del DNA y a partir de la cual se sintetiza una proteína.

RNA policistrónico – mRNA que codifica para varias proteínas. Se encuentra solamente en los procariontes.

RNA polimerasa – Enzima encargada de ir incorporando los nucleótidos complementarios a la hebra de RNA en crecimiento que se sintetiza a partir de DNA.

RNA ribosomal (rRNA) – Molécula de RNA que codifica el organizador nucleolar.

RNA pequeño nuclear (snRNA) – Moléculas de RNA implicadas en el procesamiento del htRNA, por lo que realizan funciones de corte y ligamiento.

RNasa – Enzima que hidroliza al RNA.

roentgen (r) – Unidad de la cantidad de radiación que corresponde a la producción de 2.08×10^9 pares de iones por cm^3 de tejido.

S

sarcoma – Cáncer del tejido conectivo.

satélite (DNA sat) – Región del cromosoma eucarionte que contiene secuencias altamente repetidas. Se encuentra principalmente en el centrómero.

SCE – Intercambio entre cromátidas hermanas.

secuencia – Porción de una molécula de ácido nucleico.

secuenciación – Determinación del orden de los nucleótidos o de los aminoácidos en una molécula de ácido nucleico o de proteína.

segregación – separación de genes o de cromosomas.

selección – Fuerza mediante la cual se altera la frecuencia de alelos en una población debida a la reproducción diferencial.

sinapsis – Apareamiento de cromosomas homólogos durante la meiosis.

síndrome – Signos y síntomas de una enfermedad hereditaria.

SINE – Elementos dispersos cortos, secuencias repetidas que se encuentran en el genoma de muchos eucariontes superiores.

sinsicio – Una célula con muchos núcleos.

sintenia – La presencia, en diferentes especies, de regiones en los cromosomas con los mismos genes en el mismo orden.

sitio activo – Región de la superficie enzimática en la cual un sustrato se une y se logra la reacción de catalización.

sitioapurínico o apirimidínico (AP) – Lugar en el DNA al que le falta una purina o una pirimidina.

solenoid – Superenrollamiento de los nucleosomas.

sonda – Macromolécula de DNA o de RNA marcada que puede detectarse por autoradiografía o por fluorescencia. Se emplea para identificar genes o productos génicos.

superóxido dismutasa – Enzima que cataliza la conversión de los radicales superóxido en peróxido de hidrógeno.

supresor – Mutación secundaria que cancela el efecto de una mutación primaria por lo que se produce un fenotipo silvestre.

sustitución – Mutación en la que cambia un nucleótido por otro.

T

tasa de mutación – Número de mutaciones en función de alguna unidad biológica de tiempo (por ejemplo genes mutados por

replicación génica; células mutadas por división celular, por gameto y por generación, etc).

tautómero – Isómero de un compuesto químico.

tecnología del DNA recombinante *in vitro* (ingeniería genética o clonación génica) – Término general que engloba todos aquellos protocolos experimentales que conducen a la transferencia de información genética (DNA) desde un organismo donador a otro receptor.

telofase – Fase de la división celular en la cual los cromosomas hijos ya se encuentran en los polos opuestos de la célula.

telomerasa – Enzima que agrega unidades repetidas de nucleótidos al final de los cromosomas de los eucariontes, lo que evita su acortamiento después de la replicación.

telómero – Parte terminal de los cromosomas,

tétrada – Las cuatro cromátidas de los cromosomas homólogos que se encuentran apareadas durante la profase I de la meiosis.

tilacoide – Saco membranoso del cloroplasto que contiene clorofila y otros pigmentos en el cual se lleva a cabo la fotosíntesis.

timina (T) – Base nitrogenada pirimídica, se encuentra solamente en el DNA.

timocito – Célula T.

topoisomerasa – Enzima involucrada en el superenrollamiento y en la desespiralización del DNA. Estas proteínas además introducen cortes en las moléculas de DNA.

topoisomerasa I – Introduce cortes en las molécula de hebra sencilla.

topoisomerasa II (DNA girasa) – Corta la doble hélice.

totipotente – Célula que es capaz de diferenciarse a cualquier tipo celular de un organismo.

traducción – Fase de la expresión genética en la que se genera un polipéptido a partir de la secuencia de nucleótidos que se encuentra en el mRNA.

transcripción – Fase de la expresión genética en la que se genera

una molécula de RNA a partir del DNA.

transducción – Transferencia de genes de una bacteria a otra mediada por virus que funcionan como vectores.

transformación – Sistema parasexual en donde un fragmento de DNA donador ingresa a una célula receptora y se recombina.

transición – Mutación puntual en la que una purina cambia por otra purina o una pirimidina cambia por otra pirimidina.

transversión – Mutación puntual en la que una purina cambia por una pirimidina o viceversa.

translocación – Mutación cromosómica en la que se transfiere una parte del material genético de un cromosoma a otro no homólogo.

timina (T) – Base nitrogenada pirimídica.

transgénico – Los organismos que contienen DNA extraño.

transposasa (Tn) – Enzima que corta a un transposón y cataliza.

transposón (Tn) – Elemento transponible.

triplete – Tres nucleótidos. Codón.

triploide – Célula u organismo con tres juegos completos de cromosomas.

trisómico – Célula u organismo que porta tres cromosomas de un par.

U

uracilo (U) – Base nitrogenada pirimídica, se encuentra solamente en el RNA, en lugar de la timina que se encuentra en el DNA.

unidad de mapa – Medida de la distancia entre dos genes que corresponde a la frecuencia de recombinación: centimorgan.

UTR – Región no codificante de un mRNA.

V

valor C – Cantidad de DNA contenida en el genoma haploide de una especie.

variación continua – Los fenotipos en la población presentan diversos matices intermedios susceptibles a ser medidos debidos a la herencia cuantitativa.

variación discreta – Los fenotipos caen en dos o más clases categóricas mutuamente excluyentes.

variegación – La presencia en un tejido de sectores con fenotipos diferentes.

vectores – En la tecnología del DNA recombinante, moléculas de DNA, como los plásmidos y los virus, que se replican de forma autónoma.

vector de clonación – Molécula de DNA muy pequeña que deriva de un bacteriófago o de un plásmido, que porta un fragmento de DNA foráneo y que se introduce (clona) a una célula receptora en la cual el fragmento de DNA se replica.

viabilidad – La probabilidad de que un cigoto sobreviva y se desarrolle en un individuo adulto.

virión – Un solo virus.

virus – Fago. Partícula que contiene RNA o DNA envuelto en una cubierta proteica y que es capaz de replicarse en un hospedero específico.

Y

YAC – Cromosoma artificial obtenido de levaduras.

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B.** 2008. Molecular biology of the cell, Garland Co.
- Ayala, F. J. y J. A. Kriger.** 1984. Genética moderna, Fondo Educativo Interamericano, México.
- Avers, C.** 1984. Genetics, Willard Grant Press, Boston, Mass.USA.
- Brooks, D. R. y D. A. McLennan.** 1991. Phylogeny, ecology and behavior, The University of Chicago Press. USA.
- Carroll S. B., J. K. Grenier y S. D. Weatherbee.** 2001. From DNA to diversity, Blackwell Science.
- Gillespie, J. H.** 1998. Population genetics. A concise guide. The John Hopkins, Univ. Press. Baltimore. USA.
- Griffiths A. J., J. H. Miller, D. T. Suzuki, R. C. Lewontin y W. M. Gelbart.** 2015. An introduction to genetic analysis. W. H. Freeman. 11th Ed.
- Hartl, D. L. y A. Clark.** 1998. Principles of population genetics. 3th ed. Sinauer. Sunderland, MA.
- Hartl, D. L. y E. Jones.** 2006. Essential genetics. 4th ed. Jones and Bartlett Pub. Boston Mas.
- Hartwell L., Hood, L., Lee M. S., Reynolds, A., Silver, L.** 2014. Genetics: from genes to genomes. McGraw Hill Ed., 5th edition.
- Kimura, M.** 1983. The neutral theory of molecular evolution. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- Klug W. S. y M. R. Cummings.** 2014. Concepts of Genetics, 11th edition. Pearson-Prentice Hall.
- Lewin,** 2004. Genes VIII. Pearson Prentice Hall.
- Martínez Arias, A. y A. Stewart.** 2002. Molecular principles of animal development. Oxford Univ. Press.
- Micklos, D. A. y G. A. Freyer.** 2002. DNA science 2nd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Pierce. B.A.** 2015. Genetics: A conceptual approach. 5th. Edition W.H. Freeman and Co, New York
- Puertas M. J.** 1999. Genética: Fundamentos y Perspectivas.

Interamericana McGraw Hill.

Rusell, P. J. 1992 Genetics, Harper Collins Publishers, New York.

Snustad P y Simmons M.J. Principles of Genetics 2011 6th edition

Tamarin R. H. 1996. Principios de Genética. Editorial Reverté, S. A.

Watson, J. D., T.A. Baker, S.P. Bell, Grann A, M.Levine y K.R. Losic. 2005. Biología molecular del gen. Editorial Médica Panamericana. México

REFERENCIAS

Muchos de los libros, artículos (y de los capítulos en libros) que a continuación se recomiendan han sido revisados con los alumnos en seminarios durante los cursos semestrales. Las referencias más importantes por capítulo, en las que se estableció algún concepto básico de genética, se señalan a continuación. Por otro lado los estudiantes interesados en el campo de investigación en genética pueden empezar a leer artículos originales en las revistas indexadas en las que se publican periódicamente los resultados de las investigaciones, tales como, *Genetics*, *Heredity*, *Gene*, *Cell*, *Evolution*, *Mutation Research*, *Molecular and General Genetics*, *PNAS*, *Nature*, y *Science*. Pueden también consultar artículos de revisión en *Annual Review of Genetics*, y *Advances in Genetics*; y artículos de divulgación, muy bien escritos, en *Scientific American*.

CAPÍTULO 1.

INTRODUCCIÓN

- Dunn, L. C.** 1965. *A short history of genetics*. Mc Graw-Hill. New York.
- Friedmann, T.** 2000. Principles for human gene therapy studies. *Science* 287: 2163-2165.
- Jarrell, K. F., D. P. Bayley, J. D. Correia y N. A. Thomas.** 1999. Recent excitement about Archaea. *Bioscience* 49: 530-541.
- Kottak, C. P.** 1994. *Anthropology: The Exploration of Human Diversity*, 6th ed. New York: McGraw-Hill.
- Lander, E. S. y R. A. Weinberg.** 2000. Genomics: journey to the center of biology. *Science* 287: 1777-1782.
- McKusick, V. A.** 1965. The royal hemophilia. *Scientific American* 213(2): 88-95.
- Olby, R. C.** 1966. *Origins of mendelism London*.
- Stern, C. y R. Sherwood.** 1966. *The origins of genetics. A Mendel source book*. W. H. Freeman New York.

- Stubbe, H.** 1972. *History of Genetics: From Prehistoric Times to the Rediscovery of Mendel's Laws*. Translated by T. R. W. Waters. Cambridge, MA: MIT Press.
- Sturtevant, A. H.** 1965. *A History of Genetics*. New York: Harper and Row.
- Verma, I. M. y N. Somia.** 1997. Gene therapy: promises, problems, and prospects. *Nature* 389: 239-242.

CAPÍTULO 2.

MECANISMOS DE LA DIVISIÓN CELULAR. MITOSIS Y MEIOSIS

- Hawley, R. S. y T. Arbel.** 1993. Yeast genetics and the fall of the classical view of meiosis. *Cell* 72: 301-303.
- King, R. W., P. K. Jackson y M. W. Kirschner.** 1994. Mitosis in transition. *Cell* 79: 563-571.
- Kirschner, M.** 1992. The cell cycle then and now. *Trends in Biochemical Sciences*. 17: 281-285.
- Koshland, D.** 1994. Mitosis: back to basics. *Cell* 77: 951-954.
- Mazia, D.** 1974. The cell cycle. *Sci. Am.* 230: 54. **McIntosh, J. R. y M. P. Koonce.** 1989. Mitosis. *Science* 246: 622-628.
- McIntosh, J. R. y K. L. McDonald.** 1989. The mitotic spindle. *Scientific American* 261(4): 48-56. **McIntosh, J. R. y C. M. Pfarr.** 1991. Mini-review: mitotic motors. *Journal of Cell Biology* 115: 577-583. 251
- McKim, K. S y R. S. Hawley.** 1995. Chromosomal control of meiotic cell division. *Science* 270: 1595-1601.
- Morgan, D. O.** 1995. Principles of CDK regulation. *Nature* 34: 131-134.
- Nasmyth, K.** 1999. Separating sister chromatids. *Trends in Biochemical Sciences* 24: 98-103.
- Pennisi, E.** 1998. Cell division gatekeepers identified. *Science* 279: 477-478.

CAPÍTULO 3.

GENÉTICA MENDELIANA

- Corcos, A. y F. Monaghan.** 1985. Some myths about Mendel's experiments. *The American Biology Teacher* 47: 233-236.
- Dronamraju, K.** 1992. Profiles in genetics: Archibald E. Garrod. *American Journal of Human Genetics* 51: 216-219.
- Garrod, A. E.** 1902. The incidence of alkaptonuria: a study in chemical individuality. *Lancet* 2: 1616-1620.
- Monaghan, F. V. y A. F. Corcos.** 1987. Reexamination of the fate of Mendel's paper. *Journal of Heredity* 78:116-118.
- Orel, V.** 1984. *Mendel*. Oxford: Oxford University Press.

CAPÍTULO 4.

MODIFICACIONES A LAS PROPORCIONES MENDELIANAS

- Bodmer, W. F. y L. L. Cavalli-Sforza.** 1976. *Genetics, Evolution and man*, New York. W. H. Freeman.
- Silvers W. R.** 1979. *Coat colors in mice*. New York. Springer-Verlag

CAPÍTULO 5.

BASES CROMOSÓMICAS DE LA HERENCIA

- Allen, G. E.** 1978. *Thomas Hunt Morgan: The Man and His Science*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Bogan, J. S. y D. C. Page.** 1994. Ovary? Testis? A mammalian dilemma. *Cell* 76: 603-607.
- Bridges, C. B.** 1916. Nondisjunction as proof of the chromosome theory of heredity. *Genetics* 1: 1-52.
- Foster, E. A., M.A. Jobling, P. G. Taylor, P. Donnelly, P. de Knijff, R. Mieremet, T; Zerjal y C. Tyler-Smith.** 1998. Jefferson

fathered slave's last child. *Nature* 396, 27-28.

Goto T. y Monk M. 1998. Regulation of X chromosome inactivation in development in mice and humans. *Microbiol. Mol. Rev.* 62, 362.

Graves J.A.M., Distèche C. M., y Toder R. 1998. Gene dosage in the evolution and function of mammalian sex chromosomes. *Cytogenet. Cell Genet.* 80, 94.

Heard P., Clerc P y Avner P. 1997. X Chromosome inactivation in mammals. *Annu. Rev. Genet.* 31, 571.

Kohler, R. E. 1994. *Lords of the Fly: Drosophila Genetics and the Experimental Life.* Chicago: University of Chicago Press.

Marx, J. 1995. Tracing how the sexes develop. *Science* 269: 1822-1824.

McClung, C. E. 1902. The accessory chromosome: sex determinant. *Biological Bulletin* 3: 43-84.

Migeon B.R. 1994 X Chromosome inactivation: molecular mechanisms and genetics consequences. *Trends in Genetics* 10, 230.

Morgan, T. H. 1910. Sex-limited inheritance in *Drosophila*. *Science* 32: 120-122.

Penny, G. D., G. F. Kay, S. A. Sheardown, S. Rastan, y N. Brockdorff. 1996. Requirement for X's in X chromosome inactivation. *Nature* 379: 131-137.

Rastan S. 1994. X Chromosome inactivation and the Xist gene. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 4, 292

Ryner, L. C. y A. Swain. 1995. Sex in the 90s. *Cell* 81: 483-493.

Simpson, E. 1982. Sex reversal and sex determination. *Nature* 300: 404.

Sturtevant, A. M. 1913. The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *J. Exp. Zool.* 14: 43.

Thomas, M. G., T. Parfitt, D. A. Weiss, K. Skorecki, J. F. Wilson, M. le Roux, N. Bradman y D. B. Goldstein. 2000. Y chromosomes traveling south: the Cohen modal haplotype and (

the origins of the Lemba-the "Black Jews of Southern Africa:"
American Journal of Human Genetics 66: 674-686.

Williams, N. 1995. How males and females achieve X
equality. *Science* 269: 1826-1827.

CAPÍTULO 6.

ESTRUCTURA DE LOS CROMOSOMAS

Allen, J. W. y S. A. Latt. 1976. Analysis of SCE formation *in vivo* in
mouse spermatogonia as a new test system for environmental
mutagens. *Nature* 255: 197.

Beermann, W y U. Clever.1964. Chromosome puffs. *Scientific
American* 210(4): 50-58.

Blackburn, E. H. 2000. Telomere states and cell fates. *Nature* 408:
53-56.

Boue, A. 1985. Cytogenetics of pregnancy wastage. *Advances in
Human Genetics* 14: 1-58.

**Brewer, C., S. Holloway, P. Zawalnyski, A. Schinzel y D. Fitz
Patrick.** 1998. A chromosomal deletion map of human
malformations. *American Journal of Human Genetics.*63:1153-
1159.

Brown, S. W. 1966. Heterochromatin. *Sci. Am.* 151: 417.

**Burlingame, R. W., W. E. Love, B. C. Wang, R. Hamlin, H. X.
Nguyen y E. N. Moudrianakis.** 1985. Cry-
stallo-graphic structure of the octameric histone core of the nucleosome at a
resolution of 3.3 Å. *Science* 228: 546-553.

Drets, M. E. y M. W. Shaw. 1971. Specific banding patterns of
human chromosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 68: 2073.

Ephrussi, B. y M. C. Weiss.1969. Hybrid somatic cells. *Sci. Am.* 22:
26.

Feldman, M. y E. R. Sears.1981. The wild resources of wheat.
Scientific American 244(1): 98.

Gardner, R. J. M. y G. R. Sunderland. 1996. *Chromosome*

Abnormalities and Genetic Counseling. Oxford: Oxford University Press.

- Gerald, P.** 1976. Sex chromosome disorders. *New Eng. J. Med.* 294: 706.
- Goodman, R. M. y R. J. Gorlin.** 1983. *The Malformed Infant and Child: An Illustrated Guide.* New York: Oxford University Press.
- Greider, C. W. y E. H. Blackburn.** 1996. Telomeres, telomerase and cancer. *Scientific American* 274(2): 92-97.
- Hagmann, M.** 1999. How chromatin changes its shape. *Science* 285: 1200-1203.
- Hall, J. C.** 1988. Review and hypothesis: somatic mosaicism-observations related to clinical genetics. *American Journal of Human Genetics* 43: 355-363.
- Hieter, P. y T. Griffiths.** 1999. Polyploidy: more is more or less. *Science* 285: 210-211.
- Hulse, J. H. y D. Spurgeon.** 1984. Triticale. *Scientific American* August.
- Komberg, R. D. y A. Klug.** 1981. The nucleosome. *Scientific American* 244(2): 52-64.
- Lejune, J. R., T. y M. Gauthier.** 1959. Le mongolisme premier exemple d'aberration autosomique humaine. *Ann. Genet.* 1: 41.
- Luger, K., A. W. Mäder, R. K. Richmond, D. F. Sargent y T. J. Richmond.** 1997. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389: 251-260.
- McEachem, M. J., A. Krauskopf y E. H. Blackburn.** 2000. Telomeres and their control. *Annual Review of Genetics* 34: 331-358.
- McKusick, V. A.** 1965. The royal hemophilia. *Sci. Amer.* 213: 88.
- McKusick, V. A.** 1998. *Mendelian Inheritance in Man: A Catalog of Human Genes and Genetic Disorders*, 12th ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Patterson, D.** 1987. The causes of Down syndrome. *Scientific American* 257(2): 52-60.

- Pluta, A. F., A. M. Mackay, A. M. Ainsztein, I. G. Goldberg y W. C. Eamshaw.** 1995. The centromere: hub of chromosomal activities. *Science* 270: 1591-1594. **Rabbitts, T. H.** 1994. Chromosomal translocations in human cancers. *Nature* 372: 143-149.
- Rowley, J. D.** 1998. The critical role of chromosome translocations in human leukemias. *Annual Review of Genetics* 32: 495-519.
- Ryder, O. A., L. G. Chemnick, A. T. Bowling y K. Benirschke.** 1985. Male mule foal qualifies as the offspring of a female mule and jack donkey. *Journal of Heredity* 76: 379-381.
- Sánchez-García, I.** 1997. Consequences of chromosome abnormalities in tumor development. *Annual Review of Genetics* 31: 429-453.
- Schulz-Schaeffer, J.** 1980. *Cytogenetics: Plants, Animals, Humans*. New York: Springer Verlag.
- Tjio, J. M. y A. Levan.** 1965. The chromosome number of man. *Hereditas*.42: 43.
- Travers, A.** 1999. The location of the linker histone on the nucleosome. *Trends in Biochemical Science* 24: 4-7.
- Yunis, J. J. y O. Prakash.** 1982. The original man: A chromosomal pictorial legacy. *Science* 215: 1525.
- Wolffe, A.P.** 1998. *Chromatin: Structure and Function*, 3d ed. San Diego: Academic Press.
- Zakian, V. A.** 1995. Telomeres: beginning to understand the end. *Science* 270: 1601-1606.

CAPÍTULO 7.

MAPEO GÉNICO EN EUKARIONTES

- Creighton, H. B. y B. McClintock.** 1931. A correlation of cytological and genetical crossing over in *Zea mays*. *Proceedings of the National Academy of Science* U. S. A. 17: 492-497.
- Crow, J.** 1988. A diamond anniversary: the first genetic map. *Genetics* 118: 1-3.

- McKusick, V. A.** 1971. The mapping of human chromosomes. *Sci. Amer.* 224: 104. **McKusick, V. A y F. G. Ruddle.**1977. The stories of the gene maps of the human chromosomes. *Science* 196: 390.
- Morgan, T. M.** 1911. Random segregation versus coupling in mendelian inheritance. *Science* 34: 384.
- Ruddle, F. H. y R. S. Kucherlapati.**1974. Hybrid cells and human genes. *Scientific American* 231(1): 36-44.
- Stern, C.** 1936. Somatic crossing over and segregation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 21: 625-631.
- Sturtevant, A. H.** 1913. The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *Journal of Experimental Zoology* 14: 43-59.

CAPÍTULO 8.

GENÉTICA DE BACTERIAS Y VIRUS

- Birge, E. A.** 2000. *Bacterial and Bacteriophage Genetics*, 4th ed. New York: Springer-Verlag.
- Dale, J.** 1998. *Molecular Genetics of Bacteria*, 3rd ed. New York: Wiley
- Hershey, A. D. y R. Rotman.** 1942. Genetic recombination between host-range and plaque-type mutants of bacteriophage. *Genetics* 34: 44-71.
- Ippen-Ihler, K. A. y E. G. Minkley, Jr.** 1986. The conjugation system of F; the fertility factor of *Escherichia coli*. *Annual Review of Genetics* 20: 593-624.
- Kruse, H. y H. Sorum.**1994. Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 4015-4021.
- Lederberg, J. y E. L. Tatum.**1946. Gene recombination in *Escherichia coli*. *Nature* 158: 558.

- Miller, R. V.** 1998. Bacterial gene swapping in nature. *Scientific American* 278(1): 66-71.
- Novick, R. P.** 1980. Plasmids. *Scientific American* 243(6): 103-124.
- Pace, N. R.** 1997. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science* 276: 734-740.
- Streisinger, G., R. S. Edgar y G. H. Denhart.** 1964. Chromosome structure in phage T4. 1. Circularity of the linkage map. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 51: 775.
- Walsh, C.** 2000. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature* 406: 775-781.
- Wollman, E. L., F. Jacob y W. Hayes.** 1962. Conjugation and genetic recombination in *E. coli* K-12. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology* 21: 141-162.
- Zinder, N. D. y J. Lederberg.** 1952. Genetic exchange in *Salmonella*. *J. Bact.* 64: 679.

CAPÍTULO 9.

ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

- Avery, O. T., C. M. MacLeod y M. McCarty.** 1944. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. *Journal of Experimental Medicine* 79: 137-158.
- Benzer, S.** 1961. On the topography of the genetic fine structure. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 47: 403.
- Benzer, S.** 1962. The fine structure of the gene. *Scientific American* 206(1): 70-84.
- Cairns, J.** 1966. The bacterial chromosome. *Sci. Am.* 214: 36.
- Crick, F.** 1988. *What Mad Pursuit: A Personal View of Scientific Discovery*. New York: Basic Books.
- Fraenkel-Conrat, H. y B. Singer.** 1957. Virus reconstitution II; combination of protein and nucleic acid from different strains.

Biochimica et Biophysica Acta 24: 540-548.

Griffith, F. 1928. The significance of pneumococcal types. *Journal of Hygiene* 27: 113-159

Hershey, A. D. y M. Chase. 1952. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *Journal of General Physiology* 36: 39-56.

Judson, H. F. 1996. *The Eighth Day of Creation: Makers of the evolution in Biology*, expanded edition. Cold Spring Harbor, JY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Miescher, F. 1871. On the chemical composition of pus cells. *Hoppe-Seyler's Med.-Chem. Untersuch.* 4: 441-460. Abridged and translated in *Great Experiments in Biology*, M. L. Gabriel, and s. Fogel (Eds.). Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1955.

Miller, O. L. 1973. The visualization of genes in action. *Sci. Am.* 214: 36.

Mirsky, A. E. 1968 The discovery of DNA. *Scientific American* 218(6): 78-88.

Watson, J. D. 1968. *The Double Helix*. New York: Atheneum.

Watson, J. D. y F. C. Crick. 1953. Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acids. *Nature* 171: 737.

Zimmerman, S. B. 1982. The three-dimensional structure of DNA. *Annual Review of Biochemistry* 51:395-427.

REPLICACIÓN:

Baker, T. A. y S. H. Wickner. 1992. Genetics and enzymology of DNA replication in *Escherichia coli*. *Annual Review of Genetics* 26: 447-477.

Bell, S. P., R. Kobayashi y B. Stillman. 1993. Yeast origin recognition complex functions in transcription silencing and DNA replication. *Science* 262:1844-1849.

Cairns, J. 1966. The bacterial chromosome. *Scientific American* 214(1): 36-44.

Campbell, J. L. 1986. Eukaryotic DNA replication. *Annual Review of Biochemistry* 55: 733-771. **Cook. P. R.** 1999. The organization of

replication and transcription. *Science* 284: 1790-1795.

Echols, H. y M. F. Goodman.1991. Fidelity mechanisms in DNA replication. *Annual Review of Biochemistry* 60: 477-511.

Ellis, N., J. Groden, T. Ye, J. Straughen, D. J. Lennon, S. Ciocci, M. Proytcheva y J. German.1995. The Blooms's syndrome gene product is homologous to RecQ helicases. *Cell* 83: 655-666.

Frick, D. N. y C. C. Richardson.2000. DNA primases. *Annual Review of Biochemistry* 70: 39-80.

Haber, J. E. 1999. DNA recombination: the replication connection. *Trends in Biochemical Science* 24: 271-276.

Huberman, J. A. 1998. Choosing a place to begin. *Science* 281: 929-930.

Hübscher, U., H. Nasheuer y J. E. Syvaaja.2000. Eukaryotic DNA polymerases: a growing family. *Trends in Biochemical Science* 25: 143-147.

Keck, J. L., D. D. Roche, A. S. Lynch y J. M. Berger. 2000. Structure of the RNA polymerase domain of *E. coli* primase. *Science* 287: 2482-2492.

Kornberg, A y T. A. Baker. 1992. *DNA Replication*, 2d ed. New York: W. H. Freeman and Company.

Kowalczykowski, S. C. 2000. Initiation of genetic recombination and recombination-dependent replication. *Trends in Biochemical Science* 25: 156-164.

Lee, H., M. A. Blasco, G. J. Gottlieb, J. W. Horner, II, G. W. Greider y R. A. DePinho. 1998. Essential role of mouse telomerase in highly proliferative organs. *Nature* 392: 569-574.

Matson, S. W. y K. A. Kaiser-Rogers. 1990. DNA helicases. *Annual Review of Biochemistry* 59: 289-329.

Newton, C. S. 1993'. Two jobs for the origin of replication. *Science* 262:1830-1831.

Nossal, N. C. 1983. Prokaryotic DNA replication systems. *Annual Review of Biochemistry* 53: 581-615.

Radman, M. y R. Wagner.1988. The high fidelity of DNA duplication.

Scientific American 259(2): 40-46.

Stahl, F. W. 1987 Genetic recombination. *Scientific American* 256(2): 90-101.

Stahl, F. W. 1994. The Holliday junction on its thirtieth anniversary. *Genetics* 138: 241-246.

West, S. C. 1992. Enzymes and molecular mechanisms of genetic recombination. *Annual Review of Biochemistry* 61: 603-640.

Waga, S. y B. Stillman. 1998. The DNA replication fork in eukaryotic cells. *Annual Review of Biochemistry* 67: 721-751.

Zakian, V. A. 1995. Telomeres: beginning to understand the ends. *Science* 270: 1601-1606.

TRANSCRIPCIÓN:

Atchinson, M. L. 1988. Enhancers: mechanisms of action and cell specificity. *Annual Review of Cell Biology* 4: 127-154.

Baumann, P., S. A. Qreshi y S. P. Jackson. 1995. Transcription: new insights from studies on archaea. *Trends in Genetics* 11: 279-283.

Cramer, P., D. A. Bushnell, J. Fu, A. L. Gnatt, B. Maier-Davis, N. E. Thompson, R. R. Burgess, A. M. Edwards, P. R. David y R. D. Kornberg. 2000. Architecture of RNA polymerase II and implications for the transcription mechanism. *Science* 288: 640-649.

Gesteland, R. F. y J. F. Atkins. 1993. *The RNA World*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Helmann, J. D. y M. J. Chamberlin. 1988. Structure and function of bacterial sigma factors. *Annual Review of Biochemistry* 57: 839-872.

Kim, Y., J. H. Geiger, S. Hahn y P. B. Sigler. 1993. Crystal structure of a yeast TBP/TATA-box complex. *Nature* 365: 512-527.

Korzheva, N., A. Mustaev, M. Kozlov, A. Malhotra, V. Nikiforov, A. Goldfarb y S. A. Darst. 2000. A structural model of transcription elongation. *Science* 289: 619-625.

- Lee, T. I. y R. A. Young.** 2000. Transcription of eukaryotic protein-encoding genes. *Annual Review of Genetics* 34:77 -138.
- Nikolov, D. B.** 1992. Crystal structure of TFIID TATA- box binding protein. *Nature* 360: 40-45.
- Ptashne, M. y A. Gann.**1997. Transcriptional activation by recruitment. *Nature* 386: 569-577.
- Rowlands, R., P. Baumann y S. P. Jackson.** 1994. The TATA-binding protein: a general transcription factor in eukaryotes and archaeobacteria. *Science* 264: 1326-1329.
- von Hippel, P. H.** 1998. An integrated model of the transcription complex in elongation, termination, and editing. *Science* 281: 660-665.
- Young, R. A.** 1991. RNA polymerase II. *Annual Review of Biochemistry* 60: 689-716.

TRADUCCIÓN:

- Agrawal, R. K., P. Penczek, R. A. Grassucci, Y. Li, A. Leith, K. H. Nierhaus y J. Frank.** 1996. Direct visualization of A-, P-, and; E-site transfer RNAs in the *Escherichia coli* ribosome. *Science* 171: 1000-1002.
- Beadle, G. W. y E. L. Tatum.** 1942. Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 27: 499-506.
- Cech, T. R.** 2000. The ribosome is a ribozyme. *Science* 289: 878-879.
- Dever, T. E.** 1999. Translation initiation: adept at adapting. *Trends in Biochemical Science*.24: 398-403.
- Fox, T. D.** 1987. Natural variation in the genetic code. *Annual Review of Genetics* 21: 67-91. **Gualerzi, C. O. y C. L. Pon.** 1990. Initiation of mRNA translation in prokaryotes. *Biochemistry* 29: 5881-5889.
- Ibba, M. y D. Soll.** 1999. Quality control mechanisms during translation. *Science* 286: 1893-1897.
- Iborra, F. J., D. A. Jackson, and P. R. Cook.**2001. Coupled

transcription and translation within nuclei of mammalian cells. *Science* 293: 1139-1142.

- Khorana, H. G., H. Buchi, H. Ghosh, N. Gupta, T. M. Jacob, H. Kossel, R. Morgan, S. A. Narang, E. Oht y R. D. Wells.** 1966. Polynucleotide synthesis and the genetic code. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology* 31: 39-49.
- Nirenberg, M. y P. Leder.** 1964. RNA code words and protein synthesis I: the effect of trinucleotides upon the binding of sRNA to ribosomes. *Science* 145: 1399-1407.
- Nirenberg, M. W., O. W. Jones, P. Leder, B. F. C. Clark, W. S. Sly y S. Pestka.** 1963. On the coding of genetic information. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology* 28: 549-557.
- Nakamura, Y., K. Ito y L. A. Isaksson.** 1996. Emerging understanding of translational termination. *Cell* 87: 147-150.
- Noller, H. F.** 1991. Ribosomal RNA and translation. *Annual Review of Biochemistry* 60: 191-227.
- Preiss, T. y M. W. Hentze.** 1998. Dual function of the messenger RNA cap structure in poly(A)-tail-promoted translation in yeast. *Nature* 392: 516-519.
- Sachs, A. B., P. Sarnow y M. W. Hentz.** 1997. Starting at the beginning, middle, and end: translation initiation in eukaryotes. *Cell* 89: 831-838.
- Wickner, S., M. R. Mauriz y S. Gottesman.** 1999. Postranslational quality control: folding, refolding, and degrading proteins. *Science* 286: 1888-1893.
- Yusupov, M. M., G. Z. Yusupova, A. Baucom, K. Lieberman, T. N. Earnest, J. H. D. Cate y H. F. Noller.** 2001. Crystal structure of the ribosome at 5.5 Å resolution. *Science* 292: 883-896.

CAPÍTULO 10.

MUTACIONES GÉNICAS

- Ames, B. N.** 1979. Identifying environmental chemical causing

mutations and cancer. *Science* 204: 587.

Beale, G. 1993. The discovery of mustard gas mutagenesis by Auerbach and Robson in 1941. *Genetics* 134: 393-399.

Cairns, J. 1975. Mutation, selection and the natural history of cancer. *Nature* 255: 197.

Cohen, S. N. y J. A. Shapiro. 1980. Transposable elements. *Sci. Amer.* 242: 40.

Cold Spring Harbor Symposia on quantitative biology. 1981. Movable genetic elements. Vol. 45.

Drake, J. W. y R. H. Baltz. 1976. The biochemistry of mutagenesis. *Annual Review of Biochemistry* 45: 11-37.

Fedoroff, N. V. 1993. Barbara McClintock (June 16, 1902-September 2, 1992). *Genetics* 136: 1-10.

Grindley, N. D. F. y R. R. Reed. 1985. Transpositional recombination in prokaryotes. *Annual Review of Biochemistry* 54: 863-896.

Houck, M. A., J. B. Clark, K. R. Peterson y M. G. Kidwell. 1991. Possible horizontal transfer of *Drosophila* genes by the mite *Proctolaelaps regalis*. *Science* 253: 1125-1129.

Howard-Flanders, P. 1981. Inducible repair of DNA. *Sci. Am.* 245: 72.

Keller, E. F. 1983. *A Feeling for the Organism: The Life and Work of Barbara McClintock*. New York: W. H. Freeman and Company.

Ledberg, J. y E. M. Ledberg. 1952. Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. *J. Bact.* 63: 399.

Luria, S. E. y M. Delbruck. 1943. Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics* 28: 491.

Martin, J. B. 1993. Molecular genetics of neurological diseases. *Science* 262: 674-676.

Modrich, P. 199,1. Mechanisms and biological effects of mismatch repair. *Annual Review of Genetics* 25: 229-253.

Muller, M. J. 1927. Artificial transmutation of the gene. *Science* 66: 84.

- Nevers, P. y H. Saedler.**1977. Transposable genetic elements as agents of gene instability and chromosomal rearrangements. *Nature* 268: 109.
- Sancar, A.** 1994. Mechanisms of DNA excision repair. *Science* 266: 1954-1956.
- Stadley, L. J.** 1928. Mutations in barely induced by X rays and radium. *Science* 68: 186.
- Syyanen, M.** 1984. The evolutionary implications of mobile genetic elements. *Annual Review of Genetics* 18: 271-293.
- Tanaka, K. y R. D. Wood.**1994. *Xeroderma pigmentosum* and nucleotide excision repair. *Trends in Biochemical Sciences* 19: 84-86.
- Travers, A.** 1999. The location of the linker histone on the nucleosome. *Trends in Biochemical Science* 24: 4-7.
- Voytas, D. F.** 1996. Retroelements in genome organization. *Science* 274: 737-738.
- Weiner, A. M., P. L. Deininger y A. Efstatiadis.** 1986. Nonviral retrotransposon: genes, pseudogenes, and transposable elements generated by the reverse flow of genetic information. *Annual Review of Biochemistry* 55: 631-661.
- Wolffe, A. P.** 1998. *Chromatin: Structure and Function*, 3d ed. San Diego: Academic Press.
- Yanofsky, C.** 1979. Attenuation in the control of expression of bacterial operons. *Nature* 289: 751.
- Yu, S., J. Mulley, D. Loesch, G. Turner, A. Donnelly, A. Gedeon, D. Hillen, E. Kremer, M. Lynch, M. Pritchard, G. R. Sunderland y R. I. Richards.** 1992. Fragile-X syndrome: unique genetics of the heritable unstable element. *American Journal of Human Genetics* 50: 968-980.

CAPÍTULO 11.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN

PROCARIONTES

- Jacob F. y J. Monod.** 1961. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Journal of Molecular Biology*: 318-356
- Maniatis T. y M. Ptashne.** 1976. A DNA operator-repressor system. *Sci. Am* January.
- Miller J. H. y W. S. Reznikoff eds.** 1980 *The operon* Col Spring Harbor New York.
- Ptashne, M. y W. Gilbert.** 1970 Genetic repressors. *Sci. Amer* June.
- Yanofsky, C.** 1967. The complete amino acid sequence of the tryptophan synthetase H protein k subunits and its relationship with the genetic map of the A gene. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 57: 296.
- Yanofsky, C.** 1981. Attenuation in the control of expression of bacterial operons. *Nature* 289: 751-758.

CAPÍTULO 12.

TECNOLOGÍA DEL DNA RECOMBINANTE

- Andrews, L. B., J. E. Furlarton, N. A. Holtzman, y A. G. Molulsky.** 1994. *Assessing Genetic Risks: Implications for Health and Social Policy*. Washington, DC: National Academy Press.
- Berg, P., D. Baltimore, H. W. Boyer, S. N. Cohen, R. W. Davis, D. S. Hogness, D. Nathans, R. Roblin, J. D. Watson, S. Weissman, y N. D. Zinder.** 1974. Potential biohazards of recombinant DNA molecules. *Science* 185: 303.
- Cohen, J. S., y M. E. Hogan.** 1994. The new genetic medicine. *Scientific American* 271(6): 76-82.
- Cohen, S., A. Chang, H. Boyer y R. Helling.** 1973. Construction of biological and functional bacterial plasmids *in vitro*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 70: 3240-3244.
- Enriquez, J.** 1998. Genomics and the world's economy. *Science* 281: 925-926.

- Friedmann, T.** 1997. Overcoming the obstacles to gene therapy. *Scientific American* 276(6): 96-101.
- Gasser, C. S. y R. T. Fraley.** 1992. Transgenic crops. *Scientific American* 266(6): 62-69.
- Mullis, K. B.** 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American* 262(4): 56-65.
- Murray, A. W. y J. W. Szostak.** 1987. Artificial chromosomes. *Scientific American* 257(5): 62-68.
- Nowak, R.** 1994. Forensic DNA goes to court with O. J. *Science* 265: 1352-1354.
- Roberts, L.** 1992. Science in court: a culture clash. *Science* 257: 732-736.
- Salo, W. L., A. C. Aufderheide, J. Buikstra y T. A. Holcomb.** 1994. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in a pre-Columbian Peruvian mummy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 2091-2094.
- Stein, C. A. y Y. C. Cheng.** 1993. Antisense oligonucleotides as therapeutic agents. *Science* 261: 1004-1011.
- Verma, I. M. y J. Somia.** 1997. Gene therapy: promises, problems, and prospects. *Nature* 389: 239-242.
- Watson J. D., M. Gilman, J. Witowski y M. Zoller.** 1992. *Recombinant DNA*. W. H. Freeman New York.
- Wofenbarger, L. L. y P. R. Phifer.** 2000. The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science* 290: 2088-2093.
- Yan, H., K. W. Kinzler, y B. Vogelstein.** 2000. Genetic testing: present and future. *Science* 289: 1890-1892.
- Zanjani, E. D. y W. F. Anderson.** 1999. Prospects for *in utero* human therapy. *Science* 285: 2084-2088.

CAPÍTULO 13.

BIOLOGÍA GENÓMICA

- Adams, M. D., S. E. Celniker, R. A. Holt, C. A. Evans, J. D. Gocayne,** et al. 2000. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science* 287: 2185-2195.
- Arabidopsis genome Initiative.** 2000. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408: 796-815.
- C. elegans Sequencing Consortium.** 1998. Genome sequence of the nematode *c. elegans*: a platform for investigating biology. *Science* 282: 2012-2018.
- Choe, M. K., D. Magnus, A. L. Caplan, D. McGee y the Ethics of Genomics Group.** 1999. Ethical considerations in synthesizing a minimal genome. *Science* 286:
- Cole, S. T., K. Eiglmeier, J. Parkhill, K. D. James, N. R. Thomson,** et al. 2001. Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature* 409: 1007-1011.
- Davies, K.** 2001. *Cracking the Genome: Inside the Race to Unlock Human DNA*. New York: Simon & Schuster.
- Dean, P. M., E. D. Zanders y D. S. Bailey.** 2001. Industrialscale genomics-based drug design and discovery. *Trends in Biotechnology* 19: 288-292.
- Eisenberg, D., E. M. Marcotte, I. Xenarios y T. O. Yeates.** 2000. Protein function in the post-genomic era. *Nature* 405: 823-826.
- Fraser, C. M., J. Eisen, R. D. Fleischmann, K. A. Ketchum y S. Peterson.** 2001. Comparative genomics and understanding of microbial biology. *Emerging Infectious Diseases* 6: 505-512.
- Howard, K.** 2000. The bioinformatics gold rush. *Scientific American* 283(1): 58-63.
- International Human Genome Sequencing Consortium.** 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921.
- International SNP Map Working Group.** 2001. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single

nucleotide polymorphisms. *Nature* 409: 928-933.

Knight, J. 2001. When the chips are down. *Nature* 410: 860-861.

Mewes, H. W., K. Albermann, M. Bahr, D. Frishman, A. Gleissner, J. Hani, K. Heumann, K. Kleine, A. Maierl, S. G. Oliver, F. Pfeiffer y A. Zollner. 1997. Overview of the yeast genome. *Nature* 387: 7-8.

Pierce B.A. 2014. *Genética un enfoque conceptual*. Editorial Panamericana, Buena Aires, Bogotá, Caracas, Madrid, México, Porto Alegre

Rosamond, J. y A. Allsop. 2000. Harnessing the power of the .genome in the search for new antibiotics. *Science* 287: 1973-1976.

Rubin, G. M., M. D. Yandell, J. R. Wortman, G. L. G. Miklos, C. R. Nelson, I. K. Hariharan, et al. 2000. Comparative genomics of the eukaryotes. *Science* 287: 2204-260

Sander, C. 2000. Genomic medicine and the future of health care. *Science* 287: 1977-1978.

Venter, J. C., M. D. Adams, E. W. Myers, P. W. Li, R. J. Mural, et al. 2001. The sequence of the human genome. *Science* 291: 1304-1351.

CAPÍTULO 14.

BIOLOGÍA MOLECULAR DEL CÁNCER

Bittner, M., P. Meltzer, Y. Chen, Y. Jiang, E. Seftor, M. Hendrix, et al. 2000. Molecular classification of cutaneous malignant melanoma by gene expression profiling. *Nature* 406: 536-540.

Fearon, E. R. y B. Vogelstein. 1990. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61: 759-767.

Hanahan, D. y R. A. Weinberg. 2000. The hallmarks of cancer *Cell* 100: 57-70.

Knudson, A. G. 2000. Chasing the cancer demon. *Annual Review of Genetics* 34: 1-19.

- Lengauer, C., K. W. Kinzler y B. Vogelstein.** 1998. Genetic instabilities in human cancer. *Nature* 396: 643-649.
- Orr-Weaver, T. L. y R. A. Weinberg.** 1998. A checkpoint on the road to cancer. *Nature* 392: 223-224.
- Ponder, B. A.** 2001. Cancer genetics. *Nature* 411: 336-341.
- Weinberg, R. A.** 1991. Tumor suppressor genes. *Science* 254: 1138-1146.
- Weizman, J. B. y M. Yaniv.** 1999. Rebuilding the road to cancer. *Nature* 400:401.

CAPÍTULO 15.

HERENCIA EXTRANUCLEAR

- Anderson, S.** 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290: 457.
- Bibb, M. J.** 1981. Sequence and gene organization of mouse mitochondrial DNA. *Cell* 26: 167.
- Birkey, C. W.** 1978. Transmission genetics of mitochondria and chloroplasts. *Am. Rev. Genet.* 12: 471.
- Bonita, S. B.** 1980. Codon recognition rates in yeast mitochondria. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 77: 3167.
- Farely, A. F. y R. A. Butow.** 1983. Rearranged mitochondrial genes in the yeast nuclear genome. *Nature* 301: 296.
- Fox, T. D.** 1987. Natural variation in the genetic code. *Annual Review of Genetics* 21: 67 -91.
- Gray, M. W.** 1992. The endosymbiotic hypothesis revisited. *International Review of Cytology* 141: 233-357.
- Gray, M. W., G. Burger y B. Franz Lang.** 1999. Mitochondrial evolution. *Science* 283: 1476-1481.
- Gruissem, W.** 1989. Chloroplast RNA: transcription and, processing. In A. Marcus, Ed. *The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise*, pp. 151-191. Vol. 15, *Molecular Biology*. New York: Academic Press.

- Kolodner, R. y K. K. Tewari.**1975. Chloroplast DNA from higher plants replicates by both the Cairns and the rolling circle mechanisms. *Nature* 256: 708.
- Margulis, L.** 1981. *Symbiosis in cell evolution*.Freeman, San Francisco.
- McClintock, B.** 1965.The control of gene action in maize.*Brookhaven Symp Bide* 18: 162.
- Novick, R. P.** 1960. Plasmids.*Sci. Amer.* 243: 102.
- Ojala, D. J. Montoya y G. Attardi.** 1981. RNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. *Nature* 290: 470.
- Poulton, J.** 1995. Transmission of mtDNA: cracks in the bottleneck. *American Journal of Human Genetics* 57: 224-226.
- Rochaix, J. D.** 1978. Restriction endonuclease map of the chloroplast DNA of *Chlamydomonas reinhardy*. *J. Mol. Biol.* 126: 597.
- Sugiura, M.** 1989. The chloroplast genome.In A. Marcus, Ed.*The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise*, pp. 133-150. Vol. 15, *Molecular Biology*.New York: Academic Press.
- Sugiura, M.** 1989. The chloroplast chromosomes in land plants.*Annual Review of Cell Biology* 5: 51-70.
- Sugiura, M., T. Hirose y M. Sugita.** 1998. Evolution and mechanism of translation in chloroplasts. *Annual Review of Genetics* 32: 437-459.
- Vallace, D. C.** 1992. Mitochondrial genetics: a paradigm for aging and degenerative diseases? *Science* 256: 628-632.
- Vallace, D. C.** 1999. Mitochondrial diseases in man and mouse.*Science* 283: 1482-1488.
- Vraffe, M. P.** 1999. The machinery of mitochondrial inheritance and behavior.*Science* 283: 1493-1497.

CAPÍTULO 16.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN

EUCARIONTES

- Beelman, C. A. y R. Parker.** 1995. Degradation of mRNA in eukaryotes. *Cell* 81: 179-183.
- Bestor, T. H.** 1998. Methylation meets acetylation. *Nature* 393: 311-312.
- Bird, A. P. y A. P. Wolffe.** 1999. Methylation-induced repression: belts, braces, and chromatin. *Cell* 99:451-454.
- Blackwood, E. M. y J. T. Kadonaga.** 1998. Going the distance: a current view of enhancer action. *Science* 281: 60-63.
- Green, P. J., O. Pines y M. Inouye.** 1986. The role of antisense RNA in gene regulation. *Annual Review of Biochemistry* 55: 569-597.
- Hodgkin, J.** 1989. *Drosophila* sex determination: a cascade of regulated splicing. *Cell* 56: 905-906.
- Ngg H. H. y A. Bird.** 2000. Histone deacetylases: silencers for hire. *Trends in Biochemical Science* 25: 121-126.
- Pabo, C. O. y R. T. Sauer.** 1992. Transcription factors: structural families and principles. *Annual Review of Biochemistry* 61: 1053-1095.
- Pierce B.A.** 2014. *Genética un enfoque conceptual*. Editorial Panamericana, Buena Aires, Bogotá, Caracas, Madrid, México, Porto Alegre
- Ptashne, M.** 1989. How gene activators work. *Scientific American* 260(1): 41-47.
- Ross, J.** 1989. The turnover of messenger RNA. *Scientific American* 260(4): 48-55.
- Struhl, K.** 1995. Yeast transcriptional regulatory mechanisms. *Annual Review of Genetics* 29: 651-674.
- Tuite, M. F.** 1996. Death by decapitation for mRNA. *Nature* 382: 577-579.
- Tyler, J. K y J. T. Kadonaga.** 1999. The “dark side” of chromatin remodeling: repressive effects on transcription. *Cell* 99: 443-446
- Wolffe, A. P.** 1994. Transcription: in tune with histones. *Cell* 77: 13-

16.

Wolffe, A. P. 1997. Sinful repression. *Nature* 387: 16-17.

CAPÍTULO 17. EPIGENÉTICA

Allis DC et al. 2015 *Epigenetics*. 2nd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Amakawa Y, Sakata Y, Hoki Y, Arata S, Shioda S, Fukagawa T, Sasaki H, Sado T. (2015) A new Xist allele driven by a constitutively active promoter is dominated by Xist locus environment and exhibits the parent-of-origin effects. *Development*. 142(24):4299-308.

Dixon-McDougall T, Brown C. (2016) The making of a Barr body: the mosaic of factors that eXIST on the mammalian inactive X chromosome. *Biochem Cell Biol*. 94(1):56-70. doi: 10.1139/bcb-2015-0016. Epub 2015 Jun 24.

Eggermann T, Perez de Nanclares G, Maher ER, Temple IK, Tümer Z, Monk D, Mackay DJ, Grønskov K, Riccio A, Linglart A, Netchine I. (2015) Imprinting disorders: a group of congenital disorders with overlapping patterns of molecular changes affecting imprinted loci. *Clin Epigenetics*. 7:123. doi: 10.1186/s13148-015-0143-8.

Engel N. (2015) Imprinted X chromosome inactivation offers up a double dose of epigenetics. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 112(47):14408-9. doi: 10.1073/pnas.1520097112.

Ferraro A. (2016) Altered primary chromatin structures and their implications in cancer development *Cell Oncol (Dordr)*. 2016 Mar 23. Review.

He S, Pirity MK, Wang WL, Wolf L, Chauhan BK, Cveklova K, Tamm ER, Ashery-Padan R, Metzger D, Nakai A, Chambon P, Zavadil J, Cvekl A. (2010) Chromatin remodeling enzyme Brg1 is required for mouse lens fiber cell terminal differentiation and its denucleation. *Epigenetics Chromatin*; 3(1):21. doi: 10.1186/1756-8935-3-21.

Lans H, Marteiijn JA, Vermeulen W. (2012) ATP dependent chromatin remodeling in the DNA-damage response. *Epigenetics Chromatin*. 30: 5:4. doi: 10.1186/1756-8935

Niessen HE, Demmers JA, Voncken JW. (2009) Talking to chromatin: post-

translational modulation of polycomb group function. *Epigenetics Chromatin* 2(1):10. doi: 10.1186/1756-8935-2-10.

Ouimette JF, Rougeulle C .(2016) How Many Non-coding RNAs Does It Take to Compensate Male/Female Genetic Imbalance? *Adv Exp Med Biol.* 886:33-49.

Pervjakova N, Kasela S, Morris AP, Kals M, Metspalu A, Lindgren CM, Salumets A, Mägi R. (2016) Imprinted genes and imprinting control regions show predominant intermediate methylation in adult somatic tissues. *Epigenomics* [Epub ahead of print]

Rodrigues JA, Zilberman D. (2015) Evolution and function of genomic imprinting in plants. *Genes Dev* 29(24):2517-31. doi: 10.1101/gad.269902.115.

Sierra MI, Fernández AF, Fraga MF. (2015) Epigenetics of Aging. *Curr Genomics.* 16:435-40.

Tillo D, Mukerjee S, Vinson C. (2016) Inheritance of Cytosine Methylation. *J Cell Physiol.* doi: 10.1002/jcp.25350.

Verhoeven KJ, vonHoldt BM, Sork VL. (2016) Epigenetics in ecology and evolution: what we know and what we need to know. *Mol Ecol.* doi: 10.1111/mec.13617.

Vinayachandran V, Pusarla RH, Bhargava P. (2009) Multiple sequence-directed possibilities provide a pool of nucleosome position choices in different states of activity of a gene. *Epigenetics Chromatin.*2(1):4. doi: 10.1186/1756-8935-2-4.

Wang Z, Tang B, He Y, Jin P. (2016) DNA methylation dynamics in neurogenesis *Epigenomics.* 8(3):401-414.

Wang J, Syrett CM, Kramer MC, Basu A, Atchison ML, Anguera MC. (2016) Unusual maintenance of X chromosome inactivation predisposes female lymphocytes for increased expression from the inactive X. *Proc Natl Acad Sci U S A* pii: 201520113.

Yue M, Charles Richard JL, Ogawa Y. (2016) Dynamic interplay and function of multiple noncoding genes governing X chromosome inactivation. *Biochim Biophys Acta.* 1859(1):112-20.

CAPÍTULO 18.

GENÉTICA DEL DESARROLLO

Alberts, B y col. 2008. *Biología molecular de la célula*, Ediciones

Omega S.A. Barcelona.

- Bray, D.** 2000. *Cell movements: from molecules to motility*. Garland.
- Carroll, S.B. Grenier, J.K., Weatherbee, S.D.** 2001. *From DNA to diversity: molecular genetics and the evolution of animal design*. Blackwell Science Malden, Massachusetts.
- Coen, E.** 1999. *The art of genes*. Oxford University Press.
- De Robertis, E. M., G. Oliver y C. V. E. Wright.** 1990. Homeobox genes and the vertebrate body plan. *Scientific American* 264(1): 46-52.
- Duboule, D. y G. Morata.**1994. Colinearity and functional hierarchy among genes of the homeotic complex. *Trends in genetics* 10: 358-364
- Edelman, G.** 1993. *Topobiology: an introduction to molecular embryology*. Basic Books, New York.
- Gilbert, S.F.** 2000. *Developmental Biology*. 6th edition. Sinauer Ass. Sunderland MA
- Halder, G., P. Callaerts y W. J. Gehring.** 1995. Induction of ectopic eyes by targeted expression of the *eyeless* gene in *Drosophila*. *Science* 267: 1788-1792.
- Hartenstein, V.** 1993. *Atlas of Drosophila development*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Krumlauf R.** 1994. Hox genes in vertebrate development. *Cell* 78: 191-201.
- Jan, Y. N. y L. Y. Jan.** 1998. Asymmetrical cell division. *Nature* 392: 775-778.
- Jacob, E.** 1993. *The logic of living*. Princeton University Press.
- Judson, H.F.** 1996. *The eight day of creation: the makers of the revolution in biology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Lawrence, P.A.** 1992. *The making of a fly*. Blackwell Science, Oxford, United Kingdom.
- Lawrence P. A. y G. Morata.** 1994. Homeobox genes: their function on *Drosophila* segmentation and pattern formation. *Cell* 78: 181-

189.

- Leroi, A.M.** 2014. *The Lagoon. How Aristotle Invented Science*. Viking, New York.
- McKeown M.** 1992. Sex differentiation: the role of alternative splicing. *Current opinion in genetics and development* 2: 229-304.
- Martinez Arias, A., Stewart, A.** 2002. *Molecular principles of animal development*. Oxford University Press Inc., New York.
- Meyer, A.** 1998. *Hox* gene variation and evolution. *Nature* 391: 225-227.
- Perrimon N. y C. Desplan.** 1994 Signal transduction in the early *Drosophila* embryo: when genetics meets biochemistry. *Trends in Biochemical Sciences* 19: 509-513.
- Pierce B.A.** 2014. *Genética un enfoque conceptual*. Editorial Panamericana, Buenos Aires, Bogotá, Caracas, Madrid, México, Porto Alegre
- Ptashne, M.** 1992. *A genetic switch*. 2nd Ed. Blackwell Scientific Publications, Palo Alto
- Quiring R., U. Walldorf, U. Kloter y W. Gehring.** 1994. Homology of the *eyeless* gene of *Drosophila* to the small eye gene in mice and aniridia in humans. *Science* 265: 785-789.

CAPÍTULO 19.

GENÉTICA CUANTITATIVA

- Barton, N. H.** 1989. Evolutionary quantitative genetics: how little do we know? *Annual Review of Genetics* 23: 337-3370.
- Davenport, C. B.** 1913. Heredity of skin color in blackwhite crosses. Carnegie Inst. Wash Publ. 554, Washington, D. C.
- East, E. M.** 1910. A mendelian interpretation of variation that is apparently continuous. *Amer. Nat.* 44: 65.
- East, E. M.** 1916. Studies on size inheritance in *Nicotiana*. *Genetics* 1: 164-176.

- Falconer, D. S. y T. F. C. MacKay (Contributor).** 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*, 4th ed. New York: Addison-Wesley.
- Frary, A., T. C. Nesbitt, A. Frary, S. Grandillo, E. van der Knaap, et al.** 2000. A quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. *Science* 289: 85-88.
- Gillharm, N. W.** 2001. Sir Francis Galton and the birth of eugenics. *Annual Review of Genetics* 2001: 83-101.
- Mackay, T. F. C.** 2001. The genetic architecture of quantitative traits. *Annual Review of Genetics* 35: 303-339.
- Martienssen, R.** 1997. The origin of maize branches out. *Nature* 386: 443-445.
- Moore, K. J. y D. L. Nagle.** 2000. Complex trait analysis in the mouse: the strengths, the limitations, and the promise yet to come. *Annual Review of Genetics* 43: 653-686.
- Paterson, A. H., E. S. Lander, J. D. Hewitt, S. Peterson, S. E. Lincoln y S. D. Tanksley.** 1988. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature* 335: 721-726.
- Plomin, R.** 1999. Genetics and general cognitive ability. *Nature* 402: C25-C29.
- Tanksley, S. D.** 1993. Mapping polygenes.. *Annual Review of Genetics* 27: 205-233.
- Thompson, J. N.** 1975. Quantitative variation and gene number. *Nature* 258: 665.

CAPÍTULO 20.

MICROEVOLUCIÓN

- Bishop, J. A. y L. M. Cook.** 1975. Moths melanism and clean air. *Sci. Am.* 232: 90.
- Buri, P.** 1956. Gene frequency in small populations of mutant *Drosophila*. *Evolution* 10: 367-402.
- Cavalli-Sforza, L. L.** 1969. Genetic drift in an italian population. *Sci.*

Amer. 221: 30.

Cavalli-Sforza, L. L. 1974. The genetics of human population. *Sci. Amer.* 231: 80.

Eckhardt, R. B. 1972. Population genetics and human origins. *Sci. Am.* 244: 154.

Hardy, G. H. 1908. Mendelian proportions in a mixed population. *Science* 28: 49-50.

Hartl, D. L. y A. G. Clark. 1997. *Principles of Population Genetics*, 3d ed. Sunderland, MA: Sinauer.

Lewontin, R. C. 1974. *The genetic basis of evolutionary change*. Columbia University Press.

Lewontin, R.C. 1978. Adaptation. *Sci. Am.* 239: 212.

Mettler, L. E., T. G. Gregg y H. S. Schaffer. 1998. *Population Genetics and Evolution*, 2nd ed. Englewood Cliffs. NJ: Prentice Hall.

Provine, W. B. 2002. *The Origins of Theoretical Population Genetics*, 2nd ed. Chicago: Chicago University Press.

CAPÍTULO 21.

MACROEVOLUCIÓN

Awise, I. C. 1994. *Molecular Markers, Natural History, and Evolution*. New York: Chapman and Hall.

Ayala, F. J. 1978. The mechanism of evolution. *Sci. Am.* 239: 56.

Dobzhansky, T. 1972. *Genética del proceso evolutivo*. Editorial Extemporánea, México.

Kimura, M. 1979. The neutral theory of evolution. *Science* 215: 98.

MacIntyre, R. J., Ed. 1985. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Plenum.

Mayr, E. 1978. Evolution. *Sci. Am.* 239: 46.

Mayr, E. 1970. *Population species and evolution*. Harvard University Press.

- Nei, M. y S. Kumar.**2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*.
Oxford: Oxford University Press.
- Saccheri, I., M. Kuussaari, M. Kankare, P. Vikman, W. Fortelius y I. Hanski.** 1998. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature* 392: 491-494.
- Thompson, J. N. y R. C. Woodruff.**1978. Mutator genes pacemakers of evolution. *Nature* 274: 317.
- White, M. J. D.** 1978. *Modes of speciation*.San Francisco W. H. Freeman.