

EL GENE: ESTRUCTURA, REGULACION, EXPRESION Y DESARROLLO *

Enrique Bravo **

I. INTRODUCCION

Una de las preguntas fundamentales en Biología es "qué es un gene?". Esta pregunta comenzó a contestarse a comienzos de la década de los años 40, a raíz de los trabajos que demostraron el papel del ácido desoxirribonucleico (DNA) en la determinación de la patogenicidad de un neumococo. Se concluyó que la información genética de esta bacteria estaba contenida en su DNA y no en otros constituyentes moleculares. La investigación se amplió a otros organismos incluyendo animales y vegetales y muy pronto se generalizó el concepto de que el DNA constituía la base física de los genes, el soporte material de la herencia. Aún en los virus, en los que existe un solo tipo de ácido nucleico, DNA o RNA, pero no ambos y se demostró que los genes virales están constituidos por su DNA o por su RNA.

Un gran aporte al desarrollo del conocimiento de la estructura de los genes fué el modelo de la molécula DNA planteado en 1953 por J. Watson y F. Crick. El modelo de la doble hélice de nucleótidos apareados en sus bases nitrogenadas, A con T y G con C, brindó una explicación satisfactoria a las propiedades físico-químicas y biológicas de esta molécula. Sobre todo, el modelo permitía explicar, a través del proceso de replicación semiconservativa, con cada una de las cadenas sirviendo como "molde", la capacidad de duplicar, conservar y transferir la información genética. La síntesis de cadenas complementarias a las parentales aseguraba la generación de moléculas "hijas" idénticas y por lo tanto, la transmisión fiel de las características hereditarias a la descendencia.

II. ESTRATEGIA Y REGULACION DEL GENE

Los estudios sobre la estructura de los ácidos nucleicos y de su relación con la información genética, han permitido concluir que los genes son desde el punto de vista físico y químico, las secuencias de los nucleótidos que constituyen las moléculas de DNA y RNA.

* Contribución Departamento de Biología, Universidad del Valle

**Biólogo, M.Sc. Departamento de Biología, Universidad del Valle.
Apartado Aéreo 25340 Cali

Cada nucleótido está constituido por una base nitrogenada (adenina, guanina, citosina y timina en el DNA o uracilo en el RNA), un azúcar de 5 carbonos (ribosa en el RNA y desoxirribosa en el DNA) y ácido fosfórico. Los nucleótidos se unen por medio de enlaces tipo éster fosfórico formando las cadenas del ácido nucléico. Un gene se podría concebir entonces, como aquella secuencia de nucleótidos que está especificando información para la síntesis de otras moléculas, generalmente ácido ribonucléico o proteínas, incluyendo las secuencias de control y regulación.

Un gene se expresa cuando la información que está contenida en su estructura molecular (estructura primaria) se utiliza para producir otras moléculas, dentro de la línea de flujo de información establecida en las células (Figura 1).

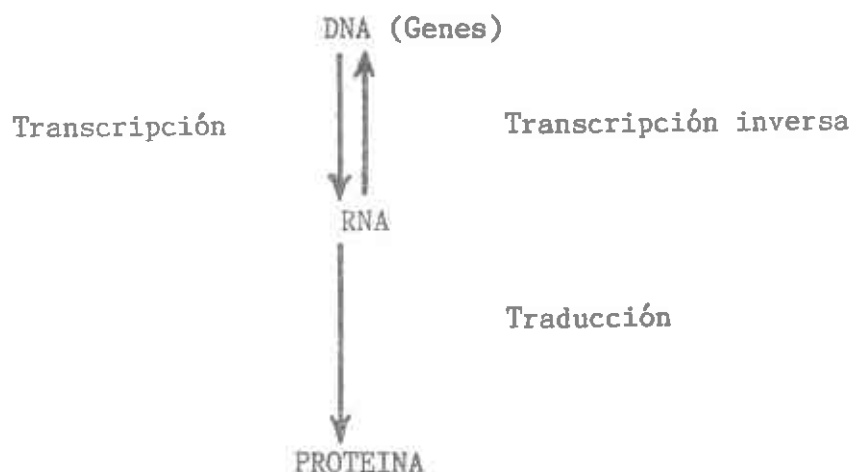


Figura 1. Flujo de información generada a partir del DNA.

A partir del DNA, por transcripción se sintetizan los distintos tipos de ácidos ribonucléicos: ribosomales, mensajeros, de transferencia, nucleares pequeños. Los ácidos ribonucléicos mensajeros son intermediarios en la expresión de los genes que especifican la síntesis de proteínas. La secuencia de nucleótidos del RNA mensajero sirve de "molde" para establecer la secuencia de los aminoácidos de las proteínas. Esta equivalencia es determinada por lo que se ha denominado el "código genético": cada tres nucleótidos en la secuencia del RNA mensajero determinan la posición de un aminoácido particular en la proteína.

En las células no está bien establecido un flujo de información inverso proteína RNA, pero en el metabolismo de los llamados retrovirus, grupo al cual pertenece el virus de la inmunodeficiencia humano (HIV) y numerosos virus oncogénicos de animales, el material genético viral, constituido por RNA, se emplea como molde para la síntesis de DNA en proceso que se ha denominado transcripción inversa.

El control de la expresión de los genes se puede ejercer en cualquiera de los niveles de síntesis de las moléculas involucradas en la información genética. Ya sea a nivel de la replicación del DNA, a nivel de la transcripción del RNA o al de la traducción o síntesis de proteínas. Por ejemplo, la replicación selectiva de ciertos sectores del DNA (amplificación génica) podría conducir a la mayor expresión de ciertos genes debido a la presencia de un mayor número de copias del mismo.

Sin embargo, el mecanismo de control más común es en el inicio de la transcripción para evitar que el gene sea transcrito o para estimular su transcripción. El RNA mensajero puede, a su vez, ser traducido o no y aún, las proteínas, como productos finales de este flujo de información, pueden ser controladas de diversa manera: pueden ser no funcionales tal como son sintetizadas y deben pasar por un proceso de maduración para ser activadas o pueden depender en su funcionamiento de la presencia de efectores metabólicos que actúen como activadores o inhibidores.

III. MODELOS EN CELULAS PROCARIOTICAS Y EUCARIOTICAS

El control de la expresión de los genes se vé influenciado por las particularidades estructurales y funcionales de las células procarióticas y eucarióticas. La falta de compartimentalización en la célula procariótica, en la cual el material genético nuclear no está físicamente separado del citoplasma, posibilita que inmediatamente, a medida que se transcribe el RNA mensajero, se unan los ribosomas y comience la síntesis de la proteína. Por lo tanto en procariotes, como las bacterias, el control de la expresión de los genes se ejerce principalmente al nivel de la iniciación de la transcripción.

La célula eucariótica, en cambio, es compartimentalizada. Posee una separación entre el material nuclear y el resto de la célula. Después de la transcripción, el RNA mensajero debe salir del núcleo e ir hasta el citoplasma en donde están los ribosomas. Generalmente, el RNA mensajero eucariótico se transcribe como un precursor que debe ser procesado y convertido en RNA mensajero maduro, listo para la traducción. Por lo tanto, en la célula eucariótica el control podría efectuarse al nivel de la iniciación de la transcripción, pero también podría darse un control post-transcripcional que decidiera si el pre-RNA mensajero es procesado y madurado o no. Ambos niveles de control han sido suficientemente detectados en células eucarióticas.

El control de la transcripción en procariotes se comenzó a revelar en los años sesenta en el Instituto de Biología Molecular, Luis Pasteur en Francia, con los trabajos de Jacob y Monod sobre el control de la síntesis de varias enzimas de la bacteria Escherichia coli, relacionadas con el metabolismo del azúcar lactosa. Como la lactosa no es un sustrato energético de utilización frecuente por la bacteria, las enzimas empleadas en su metabolismo se mantienen a una concentración muy baja. Cuando la bacteria consume, por ejemplo, glucosa como fuente principal de energía, existen alrededor de 5 moléculas de β -galactosidasa por célula. La β -galactosidasa es la enzima que cataliza la hidrólisis de la lactosa para producir glucosa y galactosa, uno de los primeros pasos metabólicos para utilizar el disacárido. Cuando las bacterias son trasladadas a un medio que contiene lactosa como única fuente de carbono y energía, hay un rápido aumento de la concentración de β -galactosidasa. En cuestión de pocos minutos, el número de moléculas de la enzima aumenta de 5 a 5000 por célula. Este fenómeno fué denominado por Jacob y Monod, inducción enzimática. Cuando las células se regresan a un medio con glucosa, al poco tiempo el número de moléculas de β -galactosidasa regresa al valor inicial.

Diversos experimentos bioquímicos y genéticos permitieron descartar que el fenómeno de inducción de la β -galactosidasa se debiera a procesos de activación e inhibición al nivel de la proteína. La existencia de diversos mutantes que fallan en la inducción o que mantienen niveles permanentemente altos de β -galactosidasa y el hecho, además, de que la inducción aumentará también los niveles de otras 2 enzimas, la β -galactósido permeasa (que facilita la entrada de la lactosa a la célula) y la β -tiogalactósido acetil transferasa (con función desconocida), hizo concluir que el proceso dependía de un grupo de genes: los genes estructurales y los genes de control o de regulación.

-- Modelos del operón. Los genes estructurales son las secuencias del DNA bacteriano que contienen la información para la síntesis de las enzimas β -galactosidasa, β -galactósido permeasa y β -tiogalactósido acetil transferasa.

Estos genes estarían contiguos en el genoma bacteriano. Adyacentes a los genes estructurales estarían las secuencias que tienen que ver con la transcripción y su control, a saber: el promotor, es la secuencia reconocida por la RNA polimerasa o transcriptasa para unirse al DNA e iniciar la transcripción, un gene regulador, que al ser transcrito y traducido produce una proteína denominada represor y el operador, que es la secuencia del DNA reconocida por el represor uniéndose a ella con gran afinidad. La unión del represor a la secuencia del operador, situada entre el promotor y el comienzo del primer gene estructural, impide la transcripción y por lo tanto, evita la expresión de los genes estructurales.

El conjunto de los genes estructurales para las enzimas del metabolismo de la lactosa y de los genes para el control de su transcripción (regulador y operador) se denominó operón de lactosa u operón lac de E. coli y fué el primer modelo de control de expresión genética propuesto para los procariotes.

Los promotores bacterianos son secuencias de alrededor de 40 pares de nucleótidos de longitud. El promotor del operón lac de E. coli contiene 2 regiones: una para la unión de la RNA polimerasa, con secuencias ricas en AT bordeadas por secuencias ricas en GC. La otra región tiene secuencias simétricas de tipo palindrómico y es el sitio de unión de una proteína de 44 kdal., denominada CAP. Esta proteína se activa como AMP cíclico y estimula la transcripción por la RNA polimerasa. La proteína CAP cubre las secuencias del -87 al -49 y la RNA polimerasa del -48 al + 5 (+1 es el sitio del comienzo de la transcripción). Las secuencias simétricas de tipo palindrómico pueden formar estructuras espaciales como "tallos y lazos" en forma de trébol que podrían ser señales que reconocerían las proteínas para ubicar el sitio para su unión con el DNA.

El gene operador (O+) del operón lac está situado a continuación del promotor. El represor, al unirse a la secuencia del operador, "protege" los nucleótidos del -3 al +21, interfiriendo la unión y el movimiento de la RNA polimerasa y por lo tanto, bloqueando la transcripción de los genes estructurales.

El panorama, entonces sería el siguiente: cuando la bacteria dispone de una fuente de carbono y energía distinta de la lactosa, el represor se halla unido al operador, evitando la transcripción. Por esta razón, sólo se detectan cantidades mínimas de la enzima β -galactosidasa. En presencia de lactosa como única fuente de carbono y energía, el disacárido, convertido en el isómero alolactosa por la β -galactosidasa, se une al represor, inactivándolo. El represor ya no puede unirse al sitio operador y la transcripción se inicia. La alolactosa recibe, entonces, el nombre de inductor ya que induce la síntesis de las 3 enzimas del metabolismo de la lactosa (inducción coordinada).

La inactivación del represor sería una consecuencia de cambios conformacionales, es decir, de la estructura tridimensional del represor, que le harían variar al patrón de asociación con el DNA y la consecuente pérdida de su afinidad por él. Al desprenderse el represor, la RNA polimerasa puede cumplir su función de síntesis de RNA mensajero y así las proteínas enzimáticas comienzan a ser sintetizadas, aumentando su concentración (Figura 2).

- Otro sistema de Operón. Otro modelo interesante de "control negativo" de la transcripción es el operón de histidina en Salmonella typhimurium. Este sistema está constituido por 9 genes estructurales que codifican las enzimas para la síntesis del aminoácido histidina, con sus corres-

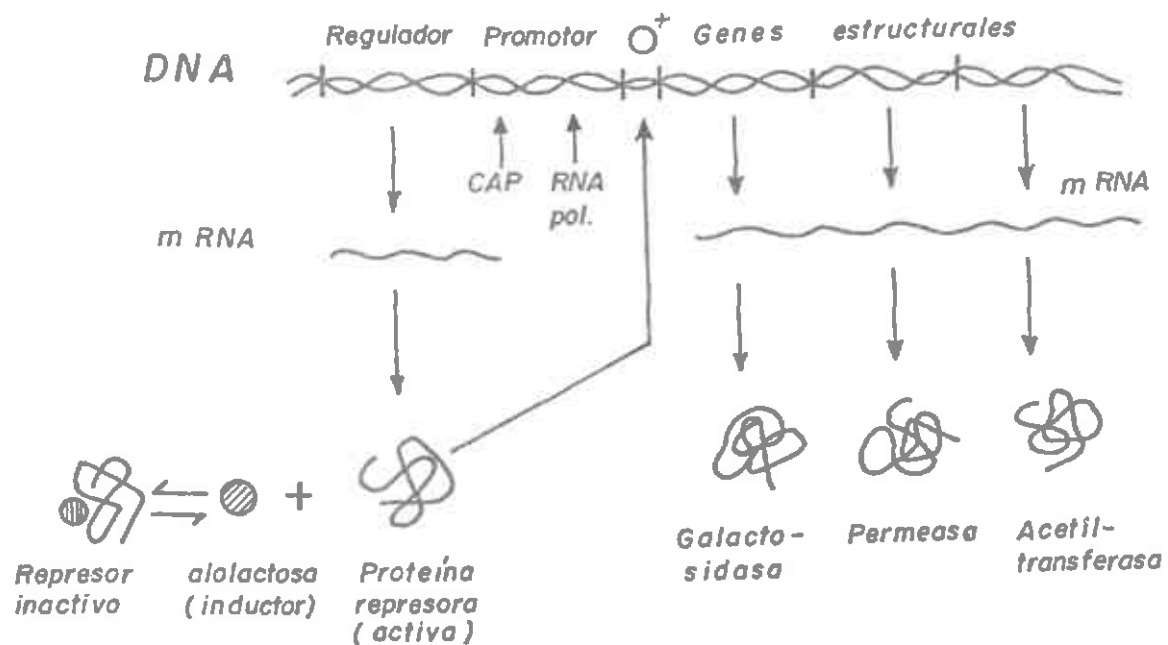


Figura 2. Esquema del modelo del operón lac de Escherichia coli.

pendientes genes de regulación, promotor y operador. El represor, producido por el gene regulador, es inactivo y por tanto, la transcripción de los genes estructurales procede. Si la bacteria puede obtener del medio ambiente una fuente de carbono y energía y nitrógeno, por ejemplo, en forma de NH_4Cl , la célula sintetizará el aminoácido utilizando las enzimas codificadas por el operón. Pero, si el aminoácido está en el medio, la bacteria lo incorpora y la síntesis endógena cesa. Lo que ocurre es que el histidinil-tRNA_{his} actúa como un co-represor, que al unirse al represor lo vuelve activo. La unión de este complejo co-represor-represor al operador impide la transcripción de los genes estructurales.

En las bacterias se han reconocido diversos operones que controlan la expresión de distintos genes ligados al metabolismo de sustancias importantes para esos microorganismos. Se han detectado también diversas modalidades de control, algunas de ellas del tipo "positivo". Por ejemplo, en el operón de arabinosa (operón ara) el gene regulador produce una proteína que estimula la transcripción en presencia de arabinosa, pero la impide en ausencia del azúcar.

Los sectores del DNA que contienen los genes estructurales y las secuencias de control situadas por delante y a continuación, usualmente se denominan unidades transcripcionales (Figura 3).

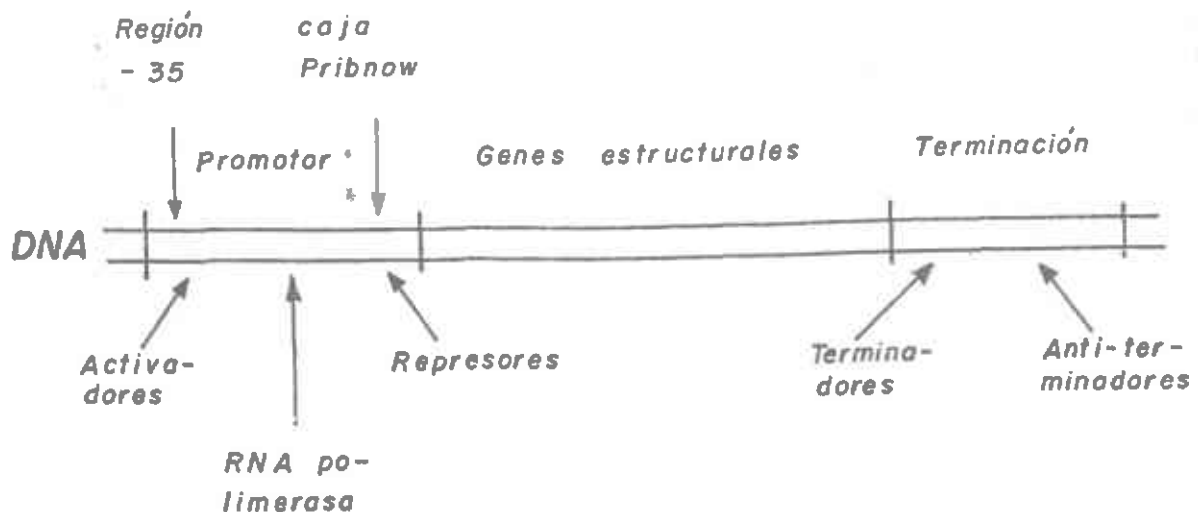


Figura 3. Esquema simplificado de una unidad transcripcional bacteriana.

Las regiones promotoras de muchos genes bacterianos muestran 2 "secuencias consenso", críticas para la exacta y rápida iniciación de la transcripción: la llamada "caja Pribnow", de aproximadamente 6 nucleótidos alrededor de la posición -10 y la secuencia TGTGACA, alrededor de la posición -35. La caja Pribnow muestra una secuencia similar a TATAAT y siempre se encuentra en los promotores bacterianos.

El control de la expresión de genes bacterianos puede estar también ligado a eventos especiales del desarrollo y la diferenciación. Por ejemplo, muchas especies de bacterias forman esporas, células especializadas, metabólicamente durmientes, que son capaces de sobrevivir a la desecación, el calor, la exposición a sustancias tóxicas y la escasez de nutrientes, por meses y a veces años. En *Bacillus subtilis* se desarrolla una endospora por un proceso que dura alrededor de 8 horas.

La esporulación envuelve la síntesis de numerosas enzimas y otras proteínas nuevas, que no aparecen en las células vegetativas. Análisis genéticos de mutantes de *B. subtilis* que crecen normalmente pero son capaces de esporular, sugiere que tal vez de 25 a 50 genes es necesario activar para la formación de la espora.

- Control de la expresión de los genes eucarióticos. A nivel de las células y organismos eucarióticos, la cuestión del control de la expresión de los genes muestra facetas más complejas. Aunque, como en los organismos procarióticos, el material genético está constituido por el DNA, usualmente se presenta distribuido en varias moléculas o cromosomas y se encuentra asociado a diversas proteínas estructurales de la cromatina. Entre éstas sobresalen las histonas. El DNA eucariótico aparece enrollado en un núcleo protéico constituido por las histonas denominadas H2A, H2B, H3 y H4. Otra clase de histonas (H1) influye en el grado de compactación de la cromatina, la cual adquiere su máximo nivel de condensación en la metafase de la mitosis y está bastante

relajada en la interfase. Se ha demostrado que las histonas influyen en la expresión de los genes eucarióticos. Al separar las histonas del DNA, la velocidad de transcripción del DNA, in vitro, aumenta hasta un 30%. La adición nuevamente de las histonas disminuye la actividad transcripcional. Durante la mitosis, cuando los cromosomas adquieren su máximo grado de condensación, no se detecta síntesis de RNA ni de proteínas. Es decir, que las histonas estarían involucradas en el control de la transcripción de los genes eucarióticos. Sin embargo, las histonas son proteínas muy conservadas en sus secuencias de aminoácidos, que no difieren mucho de un organismo a otro, ni cambian sensiblemente durante el desarrollo ni la diferenciación. En estas condiciones, se las supone incapaces de actuar como mecanismo discriminatorio, para "encender" o "apagar" selectivamente la expresión de genes. Más bien, las histonas podrían considerarse represores generales,, inespecíficos. Los genes, mientras estén enrollados alrededor de las histonas o estén condensados en forma de cromatina compacta, no pueden ser transcritos. Aquí se plantea la necesidad de un control positivo, o sea, que los genes deben ser "estimulados" o inducidos a expresarse.

Comparando las cantidades de DNA de los genomas haploides de diversos organismos eucarióticos con el DNA de la bacteria Escherichia coli, P.M. $2,5 \times 10^9$ y $3,8 \times 10^6$ pares de nucleótidos, se observa que el de levadura es alrededor de 5 veces mayor, el de un erizo de mar es casi 15 veces más grande, el de Drosophila 150 veces...Mientras el genoma de E. coli tiene capacidad para codificar la producción de unas 3.000 proteínas diferentes, una planta tendría la potencialidad de elaborar varios millones de proteínas distintas. Sin embargo, no es probable que toda esa cantidad de proteínas sea producida efectivamente por ninguna planta o animal por complejo que sea. A lo sumo se elaboran entre 10.000 y 100.000 proteínas diferentes en un organismo eucariótico.

La pregunta entonces es: y el resto del DNA, el que no codifica proteínas ni RNAs ribosomales y de transferencia, para qué sirve?

El "supuesto" exceso de DNA de los organismos eucarióticos es notorio¹² si se observa que el contenido de DNA de las células humanas, 6×10^{12} g, es muy similar al de maíz e inferior al de trigo, la soya o los tulipanes, pero, generalmente pensamos que el organismo humano es mucho más complejo que las plantas mencionadas.

Los análisis de hibridización de RNA mensajeros con el DNA, de cinéticas de renaturalización y de secuencias, han indicado que existen genes llamados "de una sola copia", porque generalmente se encuentran representados una sola vez en el genoma haploide de la célula. Los genes de una sola copia usualmente coinciden con genes que codifican proteínas. En las bacterias casi todo su DNA, alrededor del 99,7%, es de una sola copia.

En los organismos eucarióticos se encuentra que sólo una parte de su DNA contiene genes de una sola copia. Por ejemplo, en el hombre es el 70%, en terneros 55%, en el sapo 55% y en caracoles 40%. El resto

está constituido por secuencias que se repiten muchas veces a lo largo del genoma. Algunas de ellas son secuencias cortas, de a veces menos de una decena de nucleótidos, que se repiten hasta millones de veces. En el hombre, el 8% de su DNA está formado por secuencias representadas entre 100.000 y un millón de veces. Esto conduce a concluir que en los organismos eucarióticos hay un tipo de DNA que no codifica proteínas ni RNA ribosomal y de transferencia, pero que ha persistido a lo largo de la evolución, lo cual apunta a que de todos modos cumple algún papel funcional de importancia.

En general, los niveles de transcripción del DNA en los organismos eucarióticos es muy bajo. En el erizo de mar, el RNA mensajero transcrito en el oocito únicamente equivale al 3% del DNA celular y en gástrula sólo se expresa el 2% y a medida que se especializan los tejidos la proporción de DNA transcrito disminuye. En un momento dado un animal o una planta expresan, como máximo, el 6% de los genes que contienen.

La neurona humana, una de las células más complejas y eficientes que hay en la naturaleza sólo expresa alrededor del 4% de los genes. Casi siempre la especialización va acompañada de una disminución del número de genes que se expresan. En cambio, algunos genes seleccionados se expresan intensamente.

Las histonas son moléculas que sufren modificaciones químicas por fosforilación, acetilación y alquilación. Algunos de estos cambios preceden a los eventos de transcripción de genes específicos. La activación de genes particulares ha sido observada con claridad en los cromosomas politénicos, presentes en las células de las glándulas salivales y otros tejidos de dípteros o también en las células de almacenamiento de las semillas de leguminosas como el frijol. Los cromosomas politénicos son gigantes, constituidos por hasta 1.000 moléculas de DNA. Presentan una apariencia de bandas oscuras e interbandas claras que coincidirían con sectores de mayor o menor condensación de la cromatina. Ocasionalmente se observan ensanchamientos denominados "puffs" y cuando son muy amplios, anillos de Balbiani. La incubación de células con cromosomas politénicos con uridina tritiada y posterior autorradiografía, ha demostrado que los puffs y anillos de Balbiani corresponden a sectores en los que está ocurriendo transcripción.

Interesantemente, durante el desarrollo de la metamorfosis de la mosca Drosophila haivii, se ha observado que la posición y el tamaño de los "puffs" o ensanchamientos cambian de acuerdo al estado o etapa del desarrollo.

A finales de la década de los años 60, Britten y Davidson propusieron un modelo de regulación de la expresión de los genes en eucariotes que trató de conjugar las características propias del genoma eucariótico, reprimido de manera generalizada y necesitado de estimulación para su expresión y los hallazgos con respecto a los operones bacterianos, adaptando el funcionamiento a las condiciones complejas del genoma eucariótico (Figura 4).

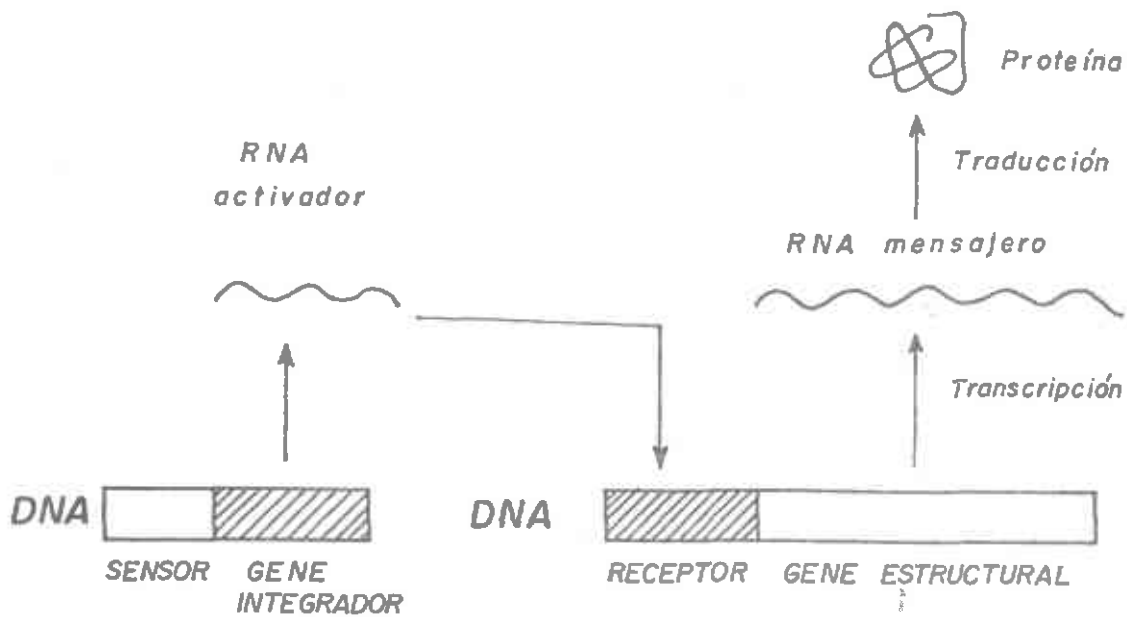


Figura 4. Elementos básicos del modelo de Britten y Davidson sobre la regulación de la expresión genética en eucariotes.

El modelo plantea que los genes estructurales eucarióticos no se transcriben directamente sino que deben ser estimulados. La estimulación se puede ejercer a través de distintos tipos de metabolitos actuando sobre el gene sensor.

La acción de las hormonas esteroides parece apoyar el principio general de regulación planteado en el modelo. Hormonas como la progesterona entran al citoplasma a través de la membrana plasmática. Allí se unen a un receptor protéico. El complejo hormona-receptor va hasta el núcleo y estimula la transcripción de genes específicos. Los RNA mensajeros producidos salen al citoplasma en donde dirigen la síntesis de proteínas específicas. El efecto de la hormona precisamente consiste en el resultado de la función de las nueve proteínas sintetizadas.

En el caso de los embriones de semillas vegetales, cuando éstas son hidratadas, a partir del embrión se liberan moléculas de hormonas, como por ejemplo, el ácido giberélico. Esta hormona estimula a las células de la capa de aleurona o producir enzimas hidrolíticas. Se ha observado que en el transcurso de pocas horas después del remojo, empiezan a ser vertidas enzimas hidrolíticas sobre el endospermo, las cuales comienzan a degradar las reservas contenidas allí. Después del tratamiento con ácido giberélico se induce la síntesis de RNA mensajero que coincide con el comienzo de la producción de alfa-amilasa. En cambio, las células de la capa de aleurona en ausencia del ácido giberélico prácticamente no inducen síntesis de la enzima.

Es evidente que las hormonas, o por lo menos algunas de ellas, hacen parte del sistema de control de la expresión de genes tanto en organismos animales como vegetales. La maduración del tomate, por ejemplo,

parece estar influenciada por la hormona etileno. Esta, induce la síntesis de una enzima de maduración, la galacturonasa. El análisis de patrones electroforéticos de mutantes de la maduración muestra a la galacturonasa en muy poca proporción o ausente del todo.

El control de la expresión de los genes eucarióticos puede estar condicionado también a la existencia de genes "interrumpidos" ("split genes"). Estos genes fueron detectados al hacer experimentos de hibridización de moléculas de RNA mensajero con el DNA de donde habían sido transcritos. El RNA mensajero se aparea complementariamente con el DNA del gene de donde proviene. En algunos casos, sin embargo, se observa que algunos sectores del DNA no tienen su contraparte en el RNA mensajero. Es como si algunas secuencias de los genes presentes en el DNA no hubieran sido transcritas o hubieran sido eliminadas del RNA, posteriormente a su transcripción. Se ha demostrado, que estas secuencias intercaladas o intrones, se encuentran presentes en los transcritos de RNA primarios, pero luego son eliminadas en un proceso de maduración conocido como "splicing". Las secuencias sobrevivientes en el RNA mensajero o exones, quedarán codificando las secuencias de aminoácidos de las proteínas (Figura 5).

La eliminación de los intrones debe hacer parte de los procesos de control de la expresión de los genes eucarióticos.

Tal como fué planteado para el caso de los procariotes, la evidencia acumulada sugiere que la transcripción de los genes eucarióticos también estaría enmarcada en el concepto de unidades transcripcionales. Estas unidades podrían contener los siguientes elementos estructurales y funcionales:

1. Señal que indica la iniciación de la información para la síntesis de la proteína (región del codón AUG del mRNA).
2. Delante de la señal de iniciación están las secuencias de control, el promotor y los sitios de interacción con las moléculas que estimulan o atenúan la transcripción.
3. Los exones y los intrones.
4. La región codificadora del péptido señal. Los genes de algunas proteínas, particularmente de las que van a ser almacenadas, secretadas o distribuidas a los organelos, poseen un sector, al comienzo, que codifica el péptido señal. Este péptido situado en el extremo amino, facilita el paso de la proteína a través de las membranas celulares.
5. Señal para la terminación de la información que codifica la secuencia de aminoácidos de la proteína. En esta región hay uno o dos de los codones de terminación UAA, UGA y UAG.

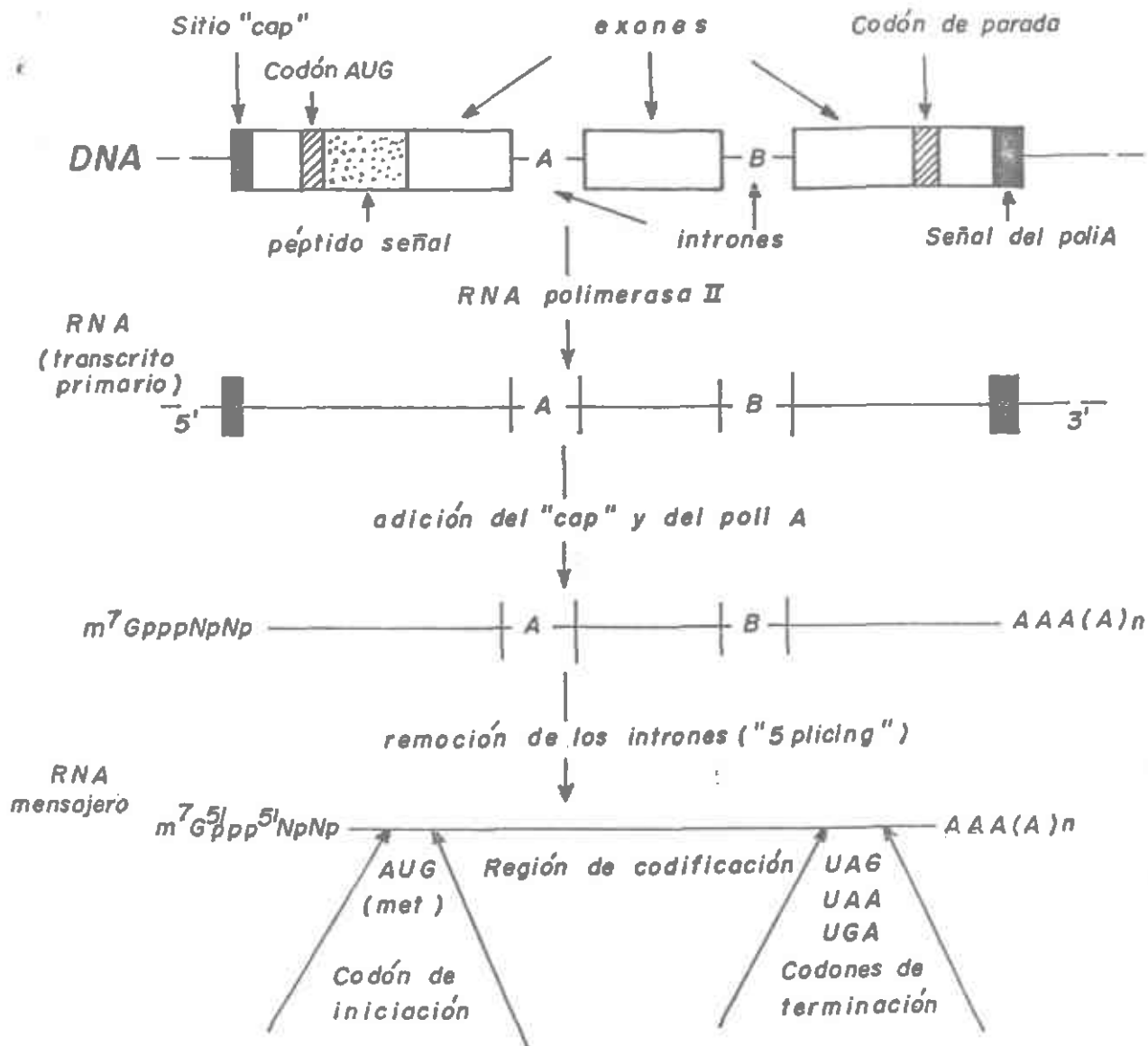


Figura 5. Pasos en el procesamiento del RNA mensajero.

6. Los RNAs mensajeros eucarióticos tienen una secuencia que se adiciona al extremo 5', denominada "cap" o "casquete". También se les añade al extremo 3', una "cola" de hasta 200 nucleótidos de adenina (la cola de poli-A). Para la colocación de estas secuencias adicionales deben existir señales específicas. El casquete y el poli-A son importantes para la estabilidad del mRNA.

Se han identificado numerosas secuencias de nucleótidos, relativamente cortas, que aparentemente son importantes para la transcripción, el procesamiento del RNA mensajero y la síntesis de proteínas. Se han encontrado ligeras variaciones de estas secuencias "consenso" básicas en todos los genes de animales y plantas. Una de estas secuencias de supuesto control transcripcional es la "caja TATA", la cual determina el sitio de la iniciación de la transcripción. En las plantas ésta secuencia está localizada generalmente 16 a 54 nucleótidos "aguas arriba" del sitio del casquete del mRNA. La secuencia real varía levemente en diferentes genes vegetales y está relacionada con una secuencia similar en los genes animales. Hay evidencia que la secuencia TATA funciona como un sitio de reconocimiento para la RNA polimerasa II, en plantas. Las deleciones de nucleótidos en esta región reduce o suprime la expresión genética. Una segunda posible secuencia de regulación de la transcripción, es la "caja AGGA" o "CAAT", localizada a alguna distancia "aguas arriba" de la "caja TATA".

El importante papel que cumplen las secuencias situadas por delante ("aguas arriba") de la señal de iniciación (codón AUG del mRNA) para la regulación de la expresión de genes eucarióticos, se puede visualizar con claridad analizando, por ejemplo, los resultados obtenidos con genes de plantas sensibles a la luz o fotogenes. Uno de tales fotogenes es el gene nuclear que codifica la subunidad pequeña de la enzima Rubulosa-1, 5-bifosfato carboxilasa-oxigenasa, abreviadamente "Rubisco". El gene, denominado *rbcS*, responde dramáticamente ante la luz: las plantas crecidas en la oscuridad contienen menos de un veinteavo del RNA mensajero de *rbcS* que producen las plantas crecidas en la luz. Además, la expresión del gene específico de tejido pues se expresa intensamente, en presencia de la luz, en las hojas y en proporción mucho menor en el tallo, pero no funciona en las raíces.

El gene *rbcS* de guisante ha sido clonado para estudiar su expresión bajo diversas circunstancias experimentales, particularmente determinando el efecto que causan las deleciones en la región del promotor, "aguas arriba" de la "caja TATA", sobre el funcionamiento del gene.

La deleción de un segmento "aguas arriba" de la caja TATA causa la reducción dramática de la expresión del gene en las hojas en presencia de la luz y la anula por completo en el tallo. Si la deleción abarca parte de la región de la caja TATA, el gene *rbcS* no se expresa en ningún tejido de la planta. Esto demuestra que las secuencias colocadas aguas

arriba de la señal de iniciación están involucradas en el control de la expresión del gene rbcS en presencia de la luz. Por este motivo se las ha denominado "elemento de respuesta a la luz". Si el "elemento de respuesta a la luz" se inserta en la región del promotor de un gene que normalmente se expresa en todos los tejidos de la planta, en presencia de la luz o en oscuridad, este gene híbrido cambia su expresión: se vuelve dependiente de la luz y sólo se expresa en hojas y en menor grado en el tallo, como lo hace el gene rbcS (Figura 6).

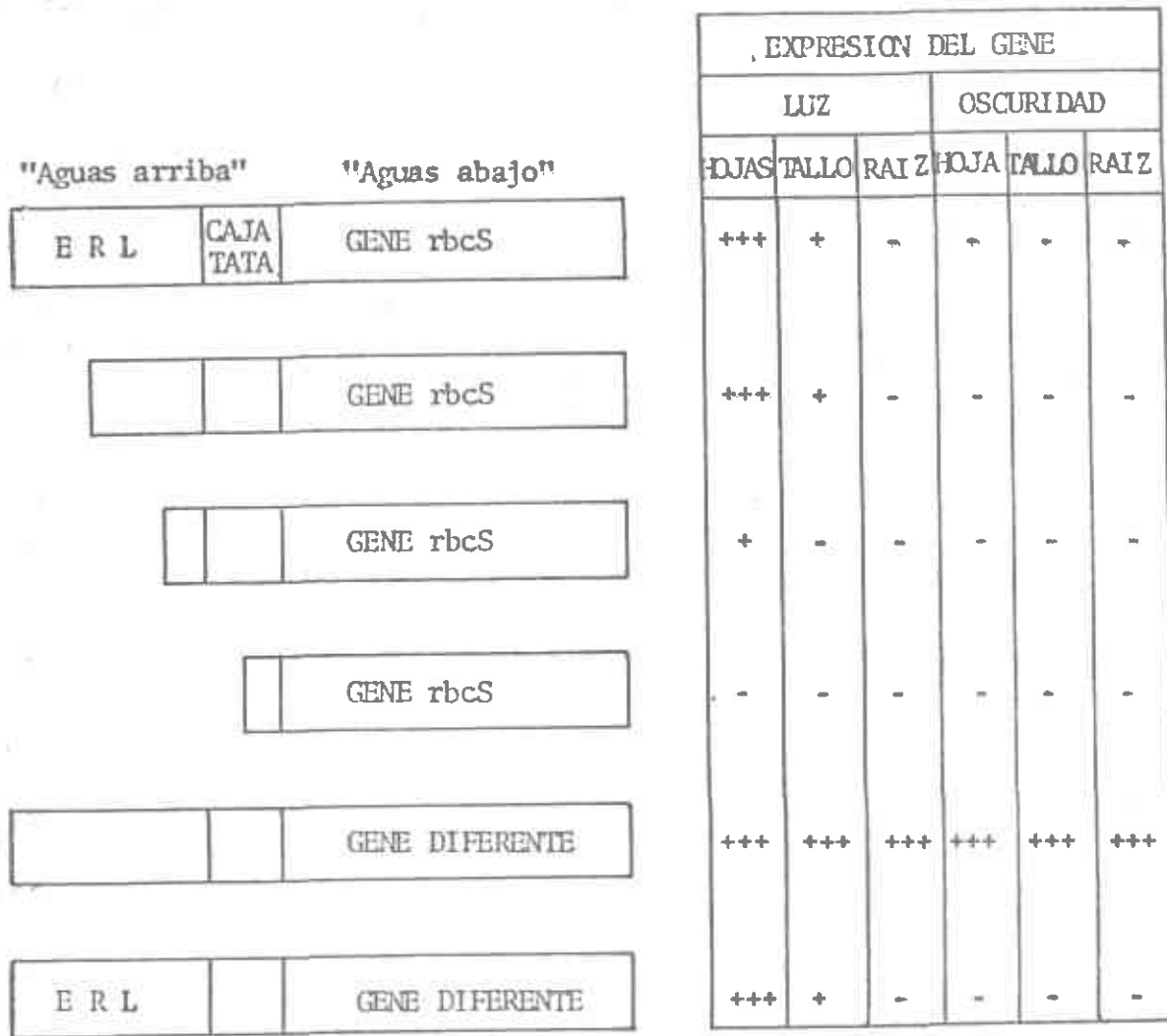


Figura 6. Manipulaciones genéticas que involucran deleciones en el "elemento de respuesta a la luz (ERL)" del gene rbcS de guisante.

III. RESUMEN

En esta breve revisión se ha puntualizado el control de la expresión genética especialmente al nivel de la transcripción. Sin embargo, se sabe que esta regulación ocurre también en otros varios niveles: procesamiento del RNA, estabilización de los RNA mensajeros y traducción o síntesis de proteínas.

Desafortunadamente, los mecanismos de regulación génica que ocurren después de la transcripción permanecen completamente desconocidos, aunque está claramente establecido el hecho de que hay diferencias en la vida media o recambio de los RNA mensajeros, como también en la velocidad con que son traducidos a proteínas. Los mecanismos de control concomitantes a éstos fenómenos no son todavía claros.

IV. BIBLIOGRAFIA

1. Britten, R.J. and Davidson, E.H. 1969. Gene regulation for Higher Cells: A theory. *Science* 165: 349.
2. Brown, D.D. 1984. The role of stable complexes that repress and activate eucaryotic genes. *Cell* 37: 359.
3. Corden, J. et al. 1980. Promoter sequences of eukaryotic protein coding genes. *Science* 209: 1406.
4. Darnell, J.E. Jr. 1983. The processing of RNA. *Sci. Amer.* 249:90.
5. Darnell, J.E. Jr. 1982. Variety in the level of gene control in eukaryotic cells. *Nature* 297: 365.
6. Darnell, J. Lodish, H. and Baltimore, D., 1986. *Molecular Cell Biology*. Scientific American Books. New York.
7. Grierson, D. and Covey S., 1984. *Plant Molecular Biology*. Blackie. Glasgow. 176 p.
8. Jacob, F. and Monod, J. 1961. Genetic Regulatory Mechanisms in the Synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.* 3: 318.
9. Khoury, G. and Gruss, P. 1983. Enhancer elements. *Cell* 33: 313.
10. Moses, P.B. and Chua, N.H. 1988. Light switches for plant genes. *Sci. Amer.* 258(4): 64.
11. Rosner, A. et al. 1975. The early synthesis and possible function of a $0,5 \times 10^6$ Mr. RNA after transfer of dark grown Spirodela plants to light *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 67: 383.