

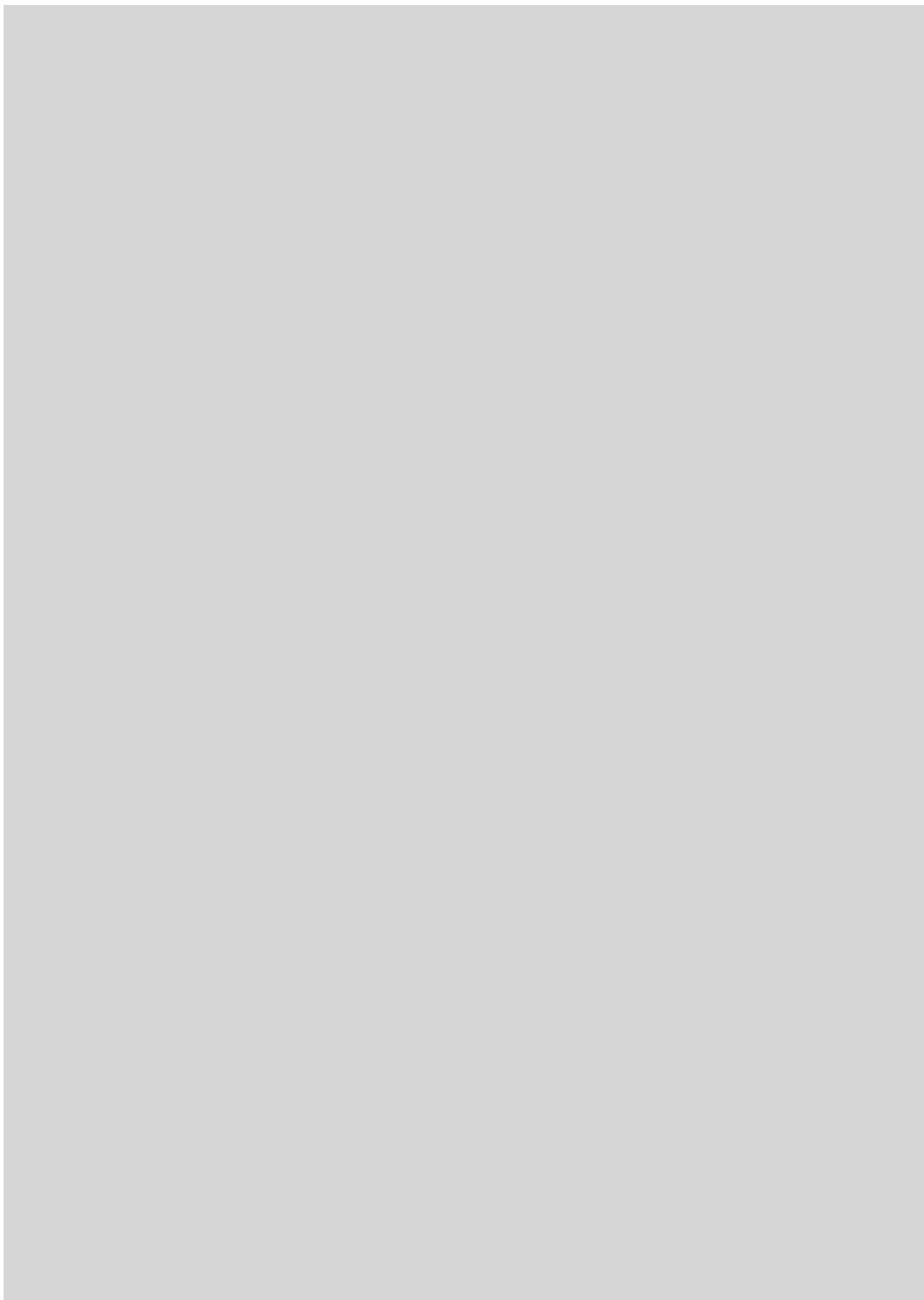
TEMAS 38

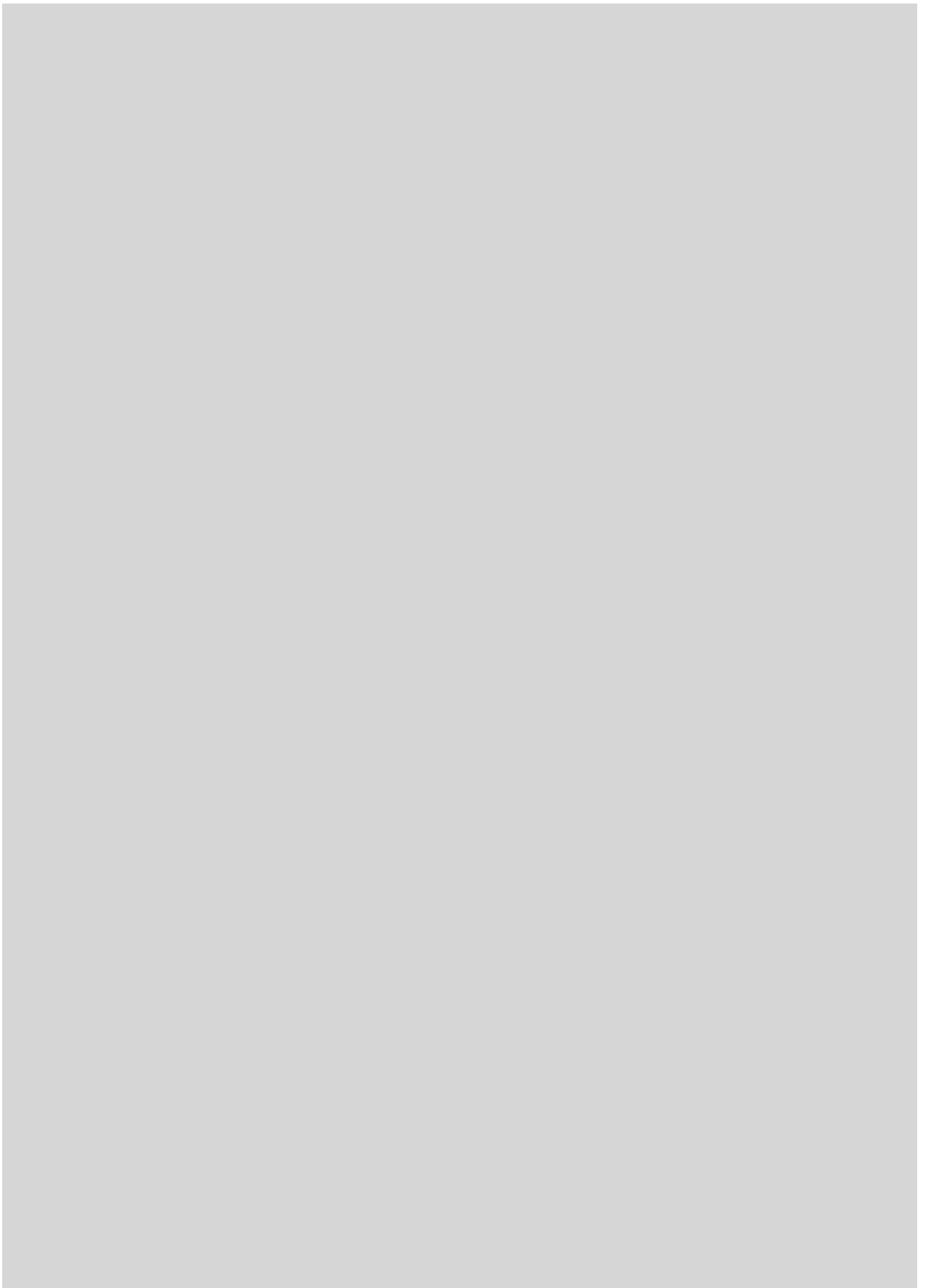
INVESTIGACION
CIENCIA
Edición española de **SCIENTIFIC AMERICAN**

Nueva Genética



6,50 EURO





Sumario

ADN

4 Topoisomerasas de ADN de tipo II

Joaquim Roca

14 Microsatélites de ADN

E. Richard Moxon y Christopher Wills

20 Micromatrices de ADN

Stephen H. Friend y Roland B. Stoughton

ARN

28 MicroARN

César Llave

36 Interferencia de ARN

Nelson C. Lau y David P. Bartel

EPIGENETICA

44 El genoma oculto

W. Wayt Gibbs

51 El nacimiento de la epigenética

W. Wayt Gibbs

58 La evolución codificada

Stephen J. Freeland y Laurence D. Hurst

66 Importancia del contexto en la genética

H. Frederik Nijhout

GENOMA HUMANO

74 Los comienzos de la industria del genoma humano

Kathryn Brown

79 La fiebre bioinformática

Ken Howard

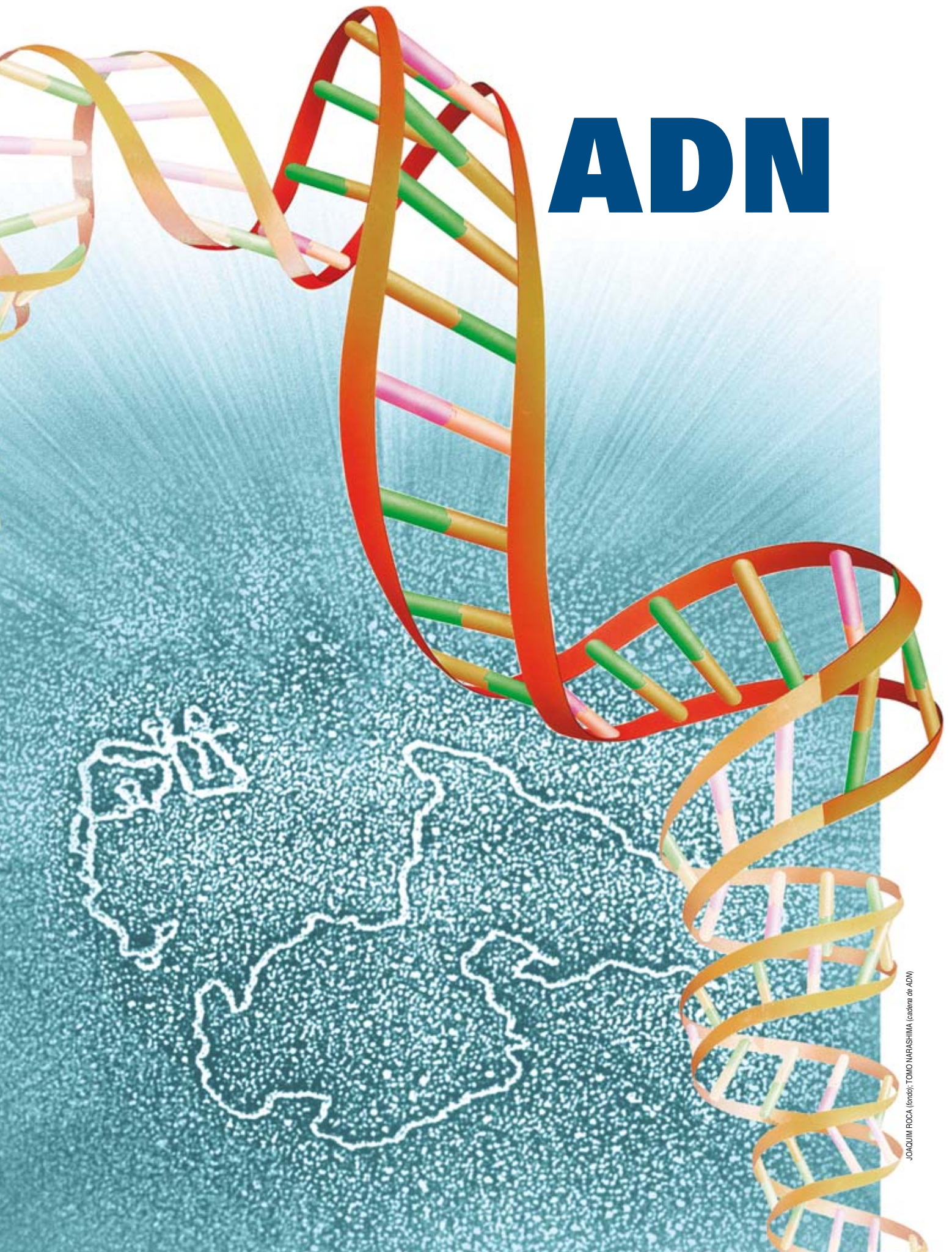
84 El cromosoma de la masculinidad

Karin Jegalian y Bruce T. Lahn

90 Genética e historia de las poblaciones del norte de Africa y la península Ibérica

E. Bosch, F. Calafell, S. Plaza, A. Pérez-Lezaun, D. Comas, J. Bertranpetit

ADN



Topoisomerasas de ADN de tipo II

Mediante cortes momentáneos en las cadenas del ADN las topoisomerasas de tipo II modulan la torsión de la molécula y eliminan los anudamientos que se generan en la doble hélice durante los procesos de actividad genética

Joaquim Roca

Cuando en los años cincuenta se descubrió la estructura del ADN, el soporte de la información genética pasó a ser un objeto tangible. La complementariedad entre las bases nucleotídicas de las cadenas que forman la doble hélice de ADN y la elucidación del código genético escrito en la secuencia de dichas bases establecieron los fundamentos de la biología moderna.

Desde entonces, se ha trabajado sin descanso en los mecanismos moleculares implicados en la replicación, transcripción, recombinación y reparación del ADN. Queda por averiguar la modulación de esos procesos y su integración con otras funciones de la vida celular. En este ámbito, uno de los aspectos de mayor repercusión biológica lo ofrece la estructura del ADN: su organización espacial y su topología.

La doble hélice de ADN tiene un diámetro de 2 nanómetros (dos milmillonésimas partes de un metro), pero su longitud puede abarcar varios centímetros si se trata de una molécula con millones de bases nucleotídicas. Tal disparidad entre diámetro y longitud del ADN nos adelanta ya cuán condensado se halla en el interior celular, donde forma los cromosomas. En cada cromosoma, la longitud del ADN se comprime diez mil veces, lo que equivale a recoger en nuestro puño un finísimo hilo de un kilómetro de largo.

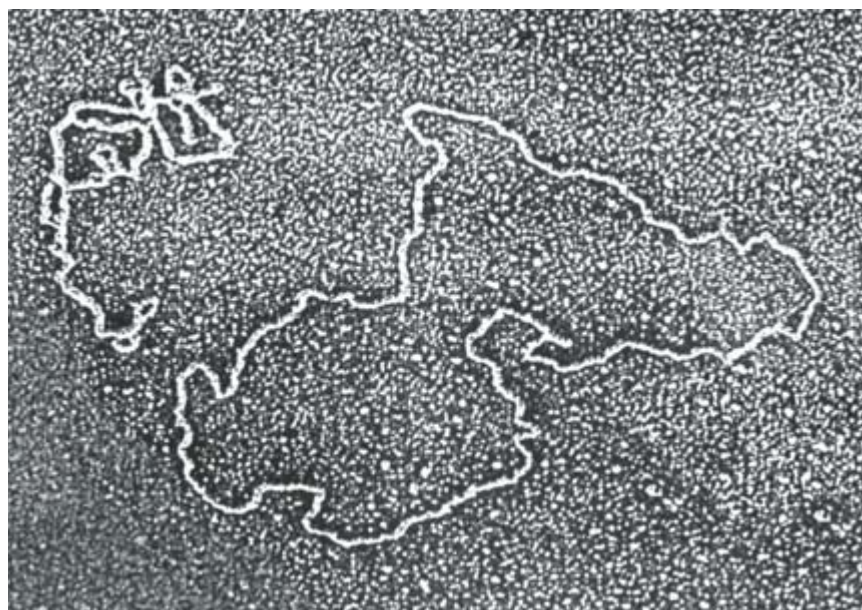
La condensación del ADN está determinada mediante precisos mecanismos moleculares. La doble hélice se retuerce sobre sí misma una y otra vez dibujando hélices y tejiendo fibras cada vez más complejas. De un modo paralelo se agrupan, entre sí, segmentos de ADN distantes varios miles de pares de bases para formar grandes asas o lazos.

Zarcillos

Además de mantenerse unidas por el apareamiento de las bases nucleotídicas, las dos cadenas de la doble hélice de ADN se enroscan en zarcillos muy cerrados. Cada cadena gira en sentido dextrógiro alrededor de la otra con un paso de hélice cercano a 3,4 nanómetros, lo que implica 10,5 pares de bases en cada giro aproximadamente. El grado de enzarzamiento se expresa mediante el número de enlace, un parámetro topológico

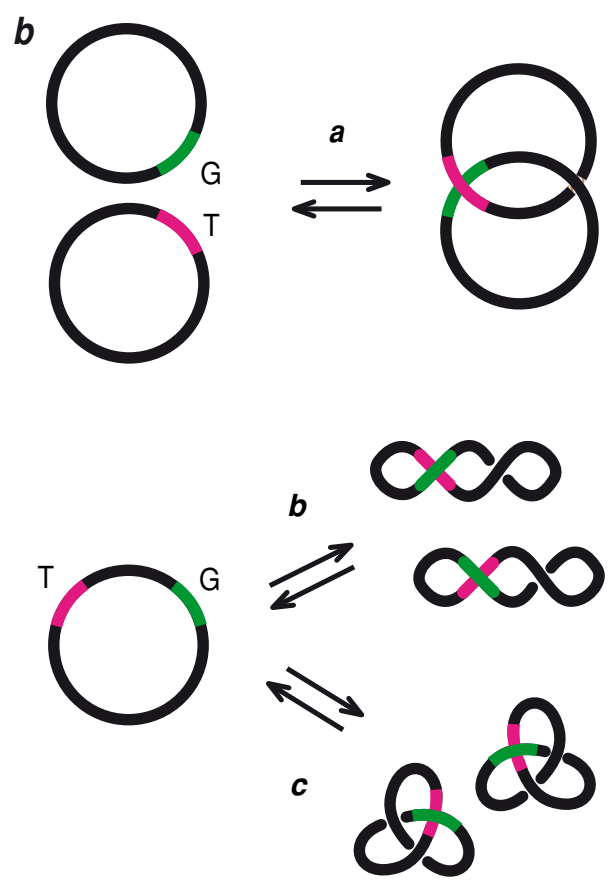
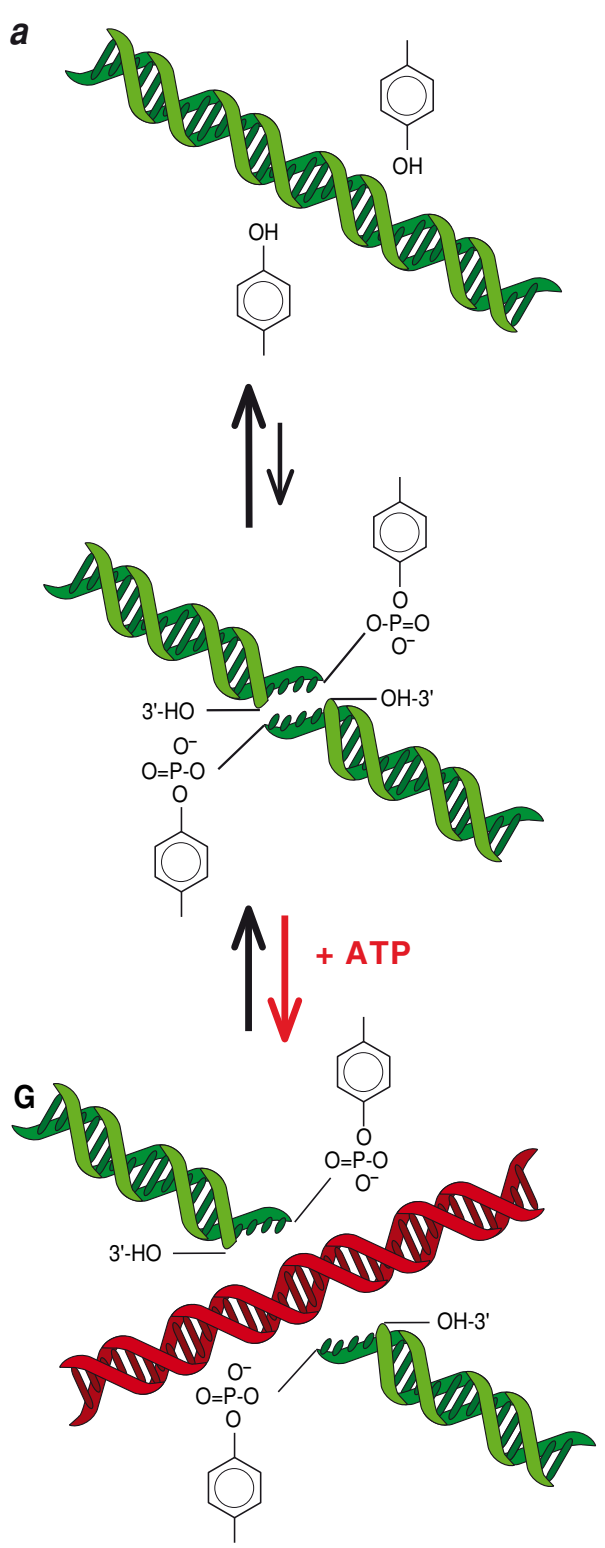
cuyo valor aumenta una unidad cada vez que una cadena completa un giro alrededor de la otra. Así, por cada mil pares de bases el número de enlace entre las cadenas del ADN adquiere un valor cercano a cien.

La enorme longitud del ADN, junto al intenso enroscamiento de las cadenas de la doble hélice, genera constantes problemas topológicos dentro del minúsculo espacio celular. Así, durante su replicación, las dos cadenas de ADN de cada cromosoma deben



JOAQUIM ROCA

1. LA EXISTENCIA DE MOLECULAS DE ADN circulares se conoce por microscopía electrónica desde los años sesenta. Curiosamente, se observa que muchas de esas moléculas se encuentran retorcidas sobre sí mismas (izquierda). Adoptaban una estructura similar a la de un tubo de goma cuando, antes de unir sus extremos, hacemos girar varias veces uno de ellos. Hoy sabemos que este exceso de torsión o superenrollamiento ocurre en todas las moléculas de ADN en el interior de las células. Ello es debido a que el número de enlace entre ambas cadenas de la doble hélice presenta en promedio un déficit del 5%. Las topoisomerasas son capaces de eliminar esa torsión mediante cortes momentáneos en segmentos del ADN, entre los cuales provocan el paso de otros segmentos. La repetición de este proceso permite recuperar el valor normal del número de enlaces y el ADN queda más relajado (derecha).



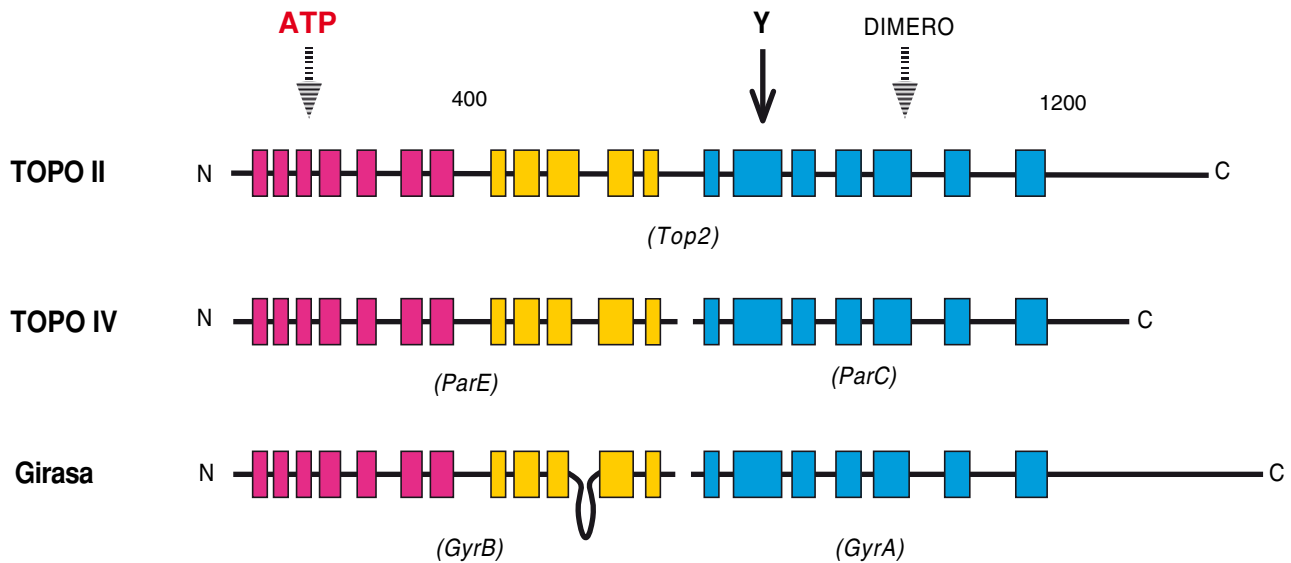
2. LAS TOPOISOMERASAS DE TIPO II son enzimas homodiméricas. Transportan una doble hélice de ADN, o segmento T (*en rojo*), a través de un corte transitorio en otra doble hélice de ADN, o segmento G (*en verde*). Para cortar ambas cadenas del ADN, la topoisomerasa ataca dos enlaces internucleotídicos separados por cuatro pares de bases (A). La escisión consiste en una transesterificación reversible; en el curso de la misma se forma un intermediario covalente entre el fosfato del extremo 5' del ADN y un aminoácido tirosina en cada mitad de la enzima. En presencia de ATP, la topoisomerasa transporta otro segmento de ADN a través del segmento escindido. Si el segmento G y el segmento T residen en moléculas de ADN distintas, la topoisomerasa encadenará o desencadenará dichas moléculas de ADN (B,a). Si ambos segmentos se hallan en la misma molécula de ADN, la topoisomerasa producirá cambios en el grado de superenrollamiento (b) o de anudamiento (c) de dicha molécula.

desenlazarse del todo, para condensarse de nuevo en cromosomas independientes; lo que requiere reducir a cero el número de enlace entre las cadenas de ADN en el cromosoma original. De no ser así, al terminar la replicación, las nuevas moléculas de ADN persistirían enzarzadas o encadenadas entre sí.

Superenrollamiento

En los años sesenta del siglo pasado se produjo un descubrimiento sorprendente en la topología del ADN. Se hallaron moléculas de ADN circulares. Retorcidas sobre sí mismas de una manera singular, recuerdan la figura de un tubo de goma cuando, al unir sus extremos, hacemos girar

varias veces uno de ellos. En el caso del ADN, este superenrollamiento es consecuencia de la torsión generada por un exceso, o por un defecto, del valor del número de enlace entre ambas cadenas de la doble hélice. Sabemos hoy que la torsión constituye un fenómeno ubicuo en el ADN intracelular, que presenta en pro-



3. CARACTER UBICUO DE LAS TOPOISOMERASAS de tipo II. Las encontramos en células eucariotas, procariontas y en numerosos virus. Cada mitad de la enzima consta de una o más subunidades, codificadas por genes independientes. En los eucariotas, las topoisomerasas de tipo II, o TOPOII, forman dímeros de una proteína de 170 kilodalton (unos 1400 aminoácidos) codificada por el gen *Top2*. En bacterias, las topoisomerasas de tipo II constituyen tetrameros, integrados por dos pares de subunidades proteicas. Por ejemplo, en *E. coli* la TOPO IV es codificada por los genes *ParE* y

ParC, y la girasa por los genes *GyrB* y *GyrA*. La estrecha homología en su secuencia de aminoácidos (zonas rectangulares) nos revela que todas las topoisomerasas de tipo II guardan parentesco evolutivo y poseen estructuras muy similares. El dominio responsable de la unión e hidrólisis del ATP (en rojo) ocupa la región amino terminal (N) de la enzima, mientras que el dominio principal de dimerización se halla cerca de la región carboxiterminal (C). En la figura se indica la posición de la tirosina (Y) involucrada en el corte y sellado del ADN.

medio un déficit del 5 % en el valor de su número de enlace. En moléculas de ADN circulares, esta torsión no puede disiparse mientras no se produzcan cortes en las cadenas que permitan a sus extremos rotar libremente. En moléculas lineales de ADN de gran longitud, la torsión queda confinada a dominios discretos entre las estructuras que las mantienen condensadas. Los cambios de torsión y superenrollamiento generados en la doble hélice determinan la conformación local del ADN a lo largo del cromosoma; influyen de un modo notable en la transcripción y recombinación del genoma.

La célula debe disponer de mecanismos para eliminar los encadenamientos y anudamientos generados en el ADN, así como para modificar el número de enlace de la doble hélice y modular, por ende, su grado de torsión y superenrollamiento. Tales mecanismos tendrían que operar cortando las cadenas del ADN para que las atravesaran otras cadenas, con la consiguiente restauración de la continuidad de las cadenas escindidas.

Topoisomerasas

Si bien se esperaba que en ese delicado proceso modificador participaran varias actividades enzimáticas,

en el transcurso de los años setenta se descubrió que las hoy denominadas topoisomerasas se bastaban para alterar la topología del ADN (véase “Topoisomerasas de ADN”, por James C. Wang, en INVESTIGACIÓN Y CIENCIA, septiembre 1982).

Dos rasgos distintivos caracterizan a esas enzimas. En primer lugar, pueden cortar y empalmar repetidamente los enlaces fosfodiéster que unen los nucleótidos constituyentes de las cadenas de ADN. En segundo lugar, permiten que otras cadenas de ADN pasen entre los dos cabos momentáneamente escindidos. Para evitar que los cabos del ADN escindido vayan a la deriva, las topoisomerasas los sujetan con firmeza, mientras otras cadenas de ADN los atraviesan. En el desempeño de esa tarea, las topoisomerasas utilizan la energía del enlace internucleotídico escindido para unirse covalentemente al cabo 3' o 5' del ADN. Cuando empalman nuevamente el ADN, revierte esa unión covalente: restablecen el enlace internucleotídico inicial.

La comparación de las propiedades catalíticas y de la secuencia de aminoácidos lleva a una clasificación de las topoisomerasas en tres tipos o grupos evolutivos distintos: topoisomerasas de tipo IA, topoisomerasas de tipo IB y topoisomerasas de tipo II.

Las topoisomerasas de tipo IA cortan y empalman cadenas aisladas de ADN; forman el intermediario covalente con el cabo 5' del segmento escindido. Las de tipo IB cortan y empalman una de las cadenas en una doble hélice de ADN; establecen el intermediario covalente con el cabo 3' de la cadena escindida. Por último, las topoisomerasas de tipo II cortan y empalman ambas cadenas de una doble hélice simultáneamente, formando intermediarios covalentes con los cabos 5'. A diferencia de las dos primeras, las topoisomerasas de tipo II son enzimas homodiméricas, es decir, se constituyen con dos mitades idénticas; requieren ATP para su funcionamiento.

Enzimas fascinantes

Resulta sorprendente que unas simples proteínas puedan cortar momentáneamente el ADN y sostener los extremos escindidos mientras transportan otro segmento de ADN a través de ellos. A este respecto, las topoisomerasas de tipo II provocan auténtica fascinación; téngase presente que, al cortar las dos cadenas de la doble hélice, ponen en continuo aprieto la integridad del genoma.

Interesado por el mecanismo de acción de las topoisomerasas de tipo II, me incorporé, en 1988, al laboratorio