BEB 84

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

VOLUMEN III | No. 2 | JUNIO 1984

EDITORIAL

EL POSGRADO EN BIOQUIMICA

Hace ya cerca de 25 años que se iniciaron los primeros intentos para establecer un programa de posgrado en bioquímica. Los esfuerzos se iniciaron casi simultáneamente en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, y en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, en el Politécnico, y por la participación conjunta de las Facultades de Medicina y de Química, y el Instituto de Investigaciones Biomédicas, en la UNAM.

Fue un pequeño grupo de investigadores que con numerosas dificultades inició estos estudios de posgrado, cargando con un gran número de cursos buscando la colaboración de colegas, tanto nacionales como extranjeros para llegar finalmente a producir doctores en bioquímica de muy alto nivel. El esfuerzo que se invirtió para producir graduados se vió coronado por el éxito.

Los resultados obtenidos en los distintos cursos de posgrado y el desarrollo de la bioquímica y áreas afines como resultado de los esfuerzos iniciales, se tradujeron en que, por ejemplo, para el año de 1979 alrededor de una tercera parte de los egresados de los programas de posgrado de la Facultad de Química de la UNAM, fueran bioquímicos. En parte como resultado del desarrollo logrado, se iniciaron otros programas afines, como en el Colegio de Ciencias y Humanidades de la UNAM, con un enfoque más amplio en preparar posgraduados en Investigación Biomédica Básica; hace algunos meses en este programa se ha llegado a implantar también un área de bioquímica.

Esta aparente dispersión de algunos programas de posgrado, se justifica por las características particulares de cada grupo de trabajo y la lejanía que existe, por ejemplo, entre el Instituto Politécnico y la UNAM y la diversificación de áreas e intereses de los distintos lugares donde se hace bioquímica. A esto se suma la necesidad de bioquímicos que un país tan grande como el nuestro tiene, no sólo de bioquímicos, sino de investigadores científicos en general.

En la bioquímica y algunas áreas afines, se han llegado a desarrollar programas de posgrado que debieran hacer autosuficiente al país para la formación de docentes e investigadores. Aunque de cualquier manera es necesario hacer un posdoctorado, de preferencia fuera del país, estamos ya en condiciones de preparar al personal, no sólo con capacidad de realizar labores del más alto nivel, sino inclusive de promover también la formación de grupos nuevos en áreas nuevas.

Son tan numerosas las aplicaciones de la bioquímica, que tampoco debemos preocuparnos por las posibilidades de empleo de los egresados. Por otra parte, sí debe ser nuestra preocupación central la calidad de éstos.

Debemos mantener un alto nivel y hacer crecer estos posgrados para llegar a una cada vez más sólida infraestructura científica capaz de servir de base a las múltiples opciones de actividad de los futuros bioquímicos. Sólo así podremos lograr mejores perspectivas, no sólo

COMITE EDITORIAL

GUILLERMO ALVAREZ LLERA
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ALFONSO CARABEZ TREJO
Centro de Investigaciones en Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

GUILLERMO CARVAJAL
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional

ALBERTO HAMABATA
Centro de Investigación y Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

JOSE ANTONIO HOLGUIN HUESO
Instituto Nacional de Cardiología
"Dr. Ignacio Chávez"

JESUS MANUEL LEON CAZARES
Centro de Investigaciones en Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

ENRIQUE PIÑA GARZA
Faculta de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

COORDINADOR EDITORIAL
YOLANDA SALDAÑA DE DELGADILLO
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES
Serafín Aguado (Morelia, Mich.), Ma. Dolores Alvarez Bruneliere (León, Gto.), Humberto Avila Rodríguez (Durango, Dgo.), Alberto Boveris (Buenos Aires, Argentina).Carlos Corredor (Cali, Colombia), Alfredo Delgado (Monterrey, N.L.), Manuel Escobar L. (Zacatecas Zac.), Jesús R. Garcilaso (Hermosillo Son.), Ma. Cristina González de Mac Swiney, (Mérida, Yuc.), Luis Rogelio Hernández Montenegro (Saltillo, Coah.), Ma. Guadalupe Oliva Ruiz (Tampico, Tamps). Ma. Guadalupe Puga (Querétaro, Qro.), Héctor Reyes Leal (Ciudad Juárez, Chih.). José Alberto Rivera Brechu (México, D.F.), Jesús M. Rodríguez (San Luis Potosí, S.L.P.) Alba Marina Valdez de García (Guatemala Guatemala. C.A.), Manuel Vázquez T. (Santo Domingo. República Dominicana).

INDICE

BEB 84 Vol. III, Núm. 2 de junio 1984

EDITORIAL

El Posgrado en Bioquímica. Antonio Peña Díaz . . 1

ARTICULOS

La Especificidad de la Síntesis de Proteínas en Eucariontes. Alberto Hamabata, Mitla García Maya 3
"Aspectos Bioquímicos del Ciclo Celular. Alfredo Saavedra Molina 14
La Función del Proceso de Transporte de Ca^{2+} Mitocondrial. Una Cuestión en Debate. Ligia Toro Calzada y Sergio Estrada O. 18

OTRAS COMUNICACIONES

Estudios Bioorgánicos sobre los Sitios Receptores. Guillermo Carvajal Sandoval 21
Receptores en la Farmacología Clásica y en la Biología Celular. Guillermo Carvajal Sandoval 21
La Bioquímica de la Memoria: Una Hipótesis Nueva y Específica. Guillermo Carvajal Sandoval . . 22
Datos en Apoyo de que el Producto Génico Transformante del Virus del Sarcoma de Rous, Fosforila al Fosfatidilinositol y al Diacilglicerol. Guillermo Carvajal Sandoval 22
Se asocia una proteína transformante de un Virus de Sarcoma Aviario con la Actividad de Fosfatidilinosoitol Cinasa. Posible papel en la Tumorigénesis. Guillermo Carvajal Sandoval 22
Método de Tinción de Proteínas con Azul de Coomasie, después de Electroforesis en Geles de Poliacrilamida. Samuel Zinker 23

Mensaje Bioquímico 24

INDICES DE REVISTAS 28

Instrucciones para los colaboradores del Boletín de Educación Bioquímica 32

FACULTAD DE MEDICINA, U.N.A.M.

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA,

DR. FERNANDO CANO VALLE
Director

DR. ULISES AGUILAR BATURONI
Secretario General

C.P. EDUARDO MUÑOZ GONZALEZ
Secretario Administrativo

DR. HECTOR MAYAGOITIA DOMINGUEZ
Director General

DR. GONZALO HALFFTER
Director Adjunto de Desarrollo Científico

DONATIVO PCCBCNA-420864

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA (BEB) es una publicación trimestral editada por el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Registro en Trámite. Correspondencia Y. Saldaña de Delgadillo. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina UNAM. Apdo. Postal 70159. Delegación Coyoacán. 04510 México, D.F.

en la investigación básica, sino también en áreas como la salud, alimentos, industria y otras numerosas aplicaciones de la bioquímica y áreas afines a la resolución de los problemas que aquejan al país. Si con la misma calidad actual, pudiéramos multiplicar por diez la capacidad de todos los posgrados nacionales, es posible que apenas estuviéramos en el límite inferior de nuestras necesidades para proveer a México de los investigadores que requiere.

Dr. Antonio Peña Díaz
Centro de Investigaciones en Fisiología Celular, UNAM.

LA ESPECIFICIDAD DE LA SINTESIS DE PROTEINAS EN EUCARIONTES

Alberto Hamabata y Mitla García Maya. Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Apdo. Postal 14-740. México 07000, D. F.

A. INTRODUCCION

La síntesis de proteínas es uno de los procesos distintivos de la vida en la Tierra, la maquinaria para llevarla a cabo es una de las que se han conservado a través de todas las formas vivientes. De entre los componentes subcelulares sólo los ribosomas y las membranas han persistido a través del tiempo. Los procesos de la síntesis de proteína (Fig. 1) se repiten de manera sorprendente desde las bacterias hasta los mamíferos y plantas superiores. Los ribosomas tienen prácticamente la misma estructura y

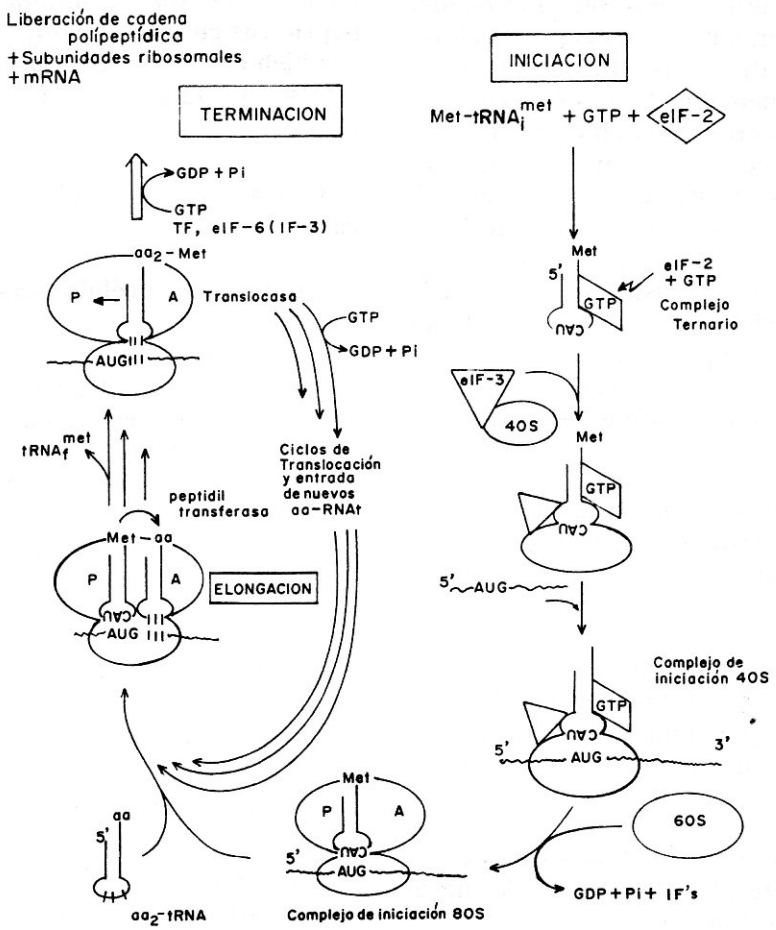


Figura 1. Esquema de la síntesis de proteínas.

la misma división de funciones entre la subunidad pequeña y la grande, los eventos de la formación del aminoacil-tRNA, la de la unión peptídica y la translocación ribosomal son virtualmente pasos idénticos en todos los organismos.

Sin embargo, se empieza a encontrar, en forma sorprendente, que al menos el proceso de iniciación de la biosíntesis protéica no es igual entre procariontes, eucariontes y organelos (1, 2).

Uno de los problemas más importantes y fascinantes y aún sin solución es la especificidad de la biosíntesis de proteínas. Este problema es el factor común en la regulación de todos los procesos metabólicos, el funcionamiento celular, el crecimiento, el desarrollo y la diferenciación de los organismos vivos.

En contraste con otras vías metabólicas conocidas, la biosíntesis de proteínas tiene una enorme cantidad de sustratos, cofactores y productos. El ribosoma debe tener la capacidad de seleccionar entre varios tipos y especies de mRNA para sintetizar proteínas específicas en distintos tiempos y a diferentes velocidades. Si se piensa en el enorme número de proteínas intra y extracelulares conocidas, las cuales varían en mucho en sus proporciones molares, el problema de la especificidad de la biosíntesis proteica adquiere una dimensión extraordinaria. Ahora bien, si las reacciones biosintéticas son comunes a todas las proteínas de procariontes y de eucariontes, ¿cómo se regula en forma selectiva la síntesis de proteínas específicas? La iniciación de la formación de la cadena polipeptídica es el paso limitante en el proceso de la biosíntesis de proteínas en la mayoría de los sistemas activos, es ahí donde se han descrito la mayor parte de los mecanismos de control traduccional y que afecta la eficiencia relativa de la traducción de diferentes especies de mRNA.

El estudio del control de la traducción es muy complejo. Solamente, visto a nivel de la iniciación, involucra muchos sitios posibles donde se puede ejercer esta regulación.

1) El ribosoma, incluyendo no sólo su funcionamiento, sino también la síntesis de las distintas especies de proteínas que componen las subunidades pequeña y grande, la síntesis de sus rRNA y el autoensamble.

2) Síntesis y disponibilidad de las especies de tRNA, específicamente para el proceso de iniciación de los tRNA iniciadores.

3) Síntesis y disponibilidad de aminoácidos.

4) Enzimas activadoras de aminoácidos, incluyendo la Met-tRNA Met_i sintetasa y transformilasa de bacterias.

5) Transcripción de los mRNA con el codón iniciador, AUG, en la secuencia primaria y en las estructuras secundaria y terciaria apropiadas. Debe incluirse también la velocidad de transcripción, procesamiento, transporte, almacenamiento y estabilidad de esos mRNA.

6) Los distintos factores de iniciación.

A través de esta revisión se hará énfasis en organismos eucariontes y con este término se hará alusión a los sistemas citoplásmicos; se hará la distinción pertinente cuando se refiera a los organelos: cloroplasto y mitocondria. En el caso de bacterias, la discusión se centrará en las eubacterias.

EL PROBLEMA:

A pesar de que existe sólo una maquinaria para llevar a cabo la biosíntesis de proteínas en una célula, ésta es capaz de autorregular todo el proceso para que no sólo se sinteticen varias cadenas polipeptídicas en un momento dado del ciclo celular y cambien en otro momento a la síntesis de otras proteínas, sino también la velocidad con la que se sintetizan.

O sea, las especies proteicas celulares pueden variar:

1) En una misma célula, dependiendo de:

   a) Su ciclo celular
   b) La disponibilidad de nutrimentos
   c) El pH, tipo de iones inorgánicos y fuerza iónica
   d) Las hormonas
   e) La introducción de DNA extraño
   f) Los estimuladores e inhibidores y
   g) El nivel de desarrollo y grado de diferenciación.

2) De una célula a otra.

3) De un tejido a otro.

4) De un organismo a otro.

Los estudios realizados en bacterias muestran que la especificidad a nivel de la especie proteica que se va a sintetizar, se logra al regular la transcripción del mRNA correspondiente, aunque la existencia

de varias especies de mRNA no explica su traducción diferencial a distintas velocidades. En eucariontes ésto es por demás insuficiente, ya que se ha mostrado que la existencia de un mRNA dado no es garantía de que va a ser traducido en la proteína correspondiente.

B. COMPONENTES DE LA INICIACION

1. Ribosomas.

1.1 Proteínas ribosomales

Los componentes proteicos de los ribosomas de *Escherichia coli* se conocen con gran amplitud. Existen 52 especies proteicas diferentes en el ribosoma completo, ya que aún cuando hay 21 proteínas en la subunidad pequeña y 32 en la grande, resulta que la proteína S20 (S = small) es idéntica a la L26 (L = large), (Tablas I a III). Existe sólo una copia de proteína por ribosoma, con la excepción de la proteína acídica L7/L12 de la cual hay 4. Los estudios con anticuerpos han permitido la localización de esas proteínas, la mayoría de las cuales se encuentran en la superficie del ribosoma. A la fecha se ha determinado la secuencia primaria de las 52 proteínas y se han llevado a cabo, con éxito, experimentos de desensamblaje y reensamblaje de ribosomas funcionales.

Los ribosomas de eucariontes, vistos al microscopio electrónico, tienen forma semejante al de los procariontes aunque un poco más grandes (Tabla I). La electroforesis bidimensional revela un patrón de proteínas bastante diferente al de las bacterias y se obtiene un número mayor de cadenas polipeptídicas, 70 a 80 en lugar de las 52 especies proteicas mencionadas arriba. Las proteínas ribosomales de eucariontes se parecen a aquellas de las bacterias en

TABLA I

COMPARACION ENTRE RIBOSOMAS DE DIFERENTES FUENTES

Fuente	Forma y Tamaño	Contenido Proteico	Homología funcional, electroforética e inmunológica	Especies Proteicas
Escherichia coli	–	37%	–	52
Citoplasma	Forma semejante a los de bacteria pero más grandes	50%	Poca homología con los de bacteria[a]	
Cloroplasto	Forma y tamaño semejante a los de bacterias		Mucha homología con los de bacteria	70-80
Mitocondria	Tamaño muy variable desde más pequeños que los de bacterias hasta más grandes que los de citoplasma de eucariontes	70%	Ninguna homología con bacterias o citoplasma.	

[a] La excepción es la L7/L12, proteína acídica que participa en los pasos de la síntesis de proteínas en los que interviene el GTP. La homología estructural y funcional se ha demostrado no sólo porque los anticuerpos contra L7/L12 bacteriana inhiben la función de ribosomas de eucariontes, sino porque se ha logrado con éxito la reconstitución de ribosomas de levaduras utilizando la proteína bacteriana.

TABLA II

COMPOSICION PROTEICA DE LOS RIBOSOMAS DE VARIAS ESPECIES (2).

Fuente	Coeficiente de Sedimentación			Núm. de proteínas	
	Subunidad pequeña	Subunidad grande	Ribosoma completo	Subunidad pequeña	Subunidad grande
Escherichia coli	30S[c]	50S	70S	21	32
Cloroplastos de plantas superiores[a]	30S	50S	70S	22-24	32-35
Mitocondria[b]					
Levadura	37S	50S	70-74S	33	38
Plantas	40S	60S	78-80S	–	–
Mamíferos	~30S	~40S	55-60S	33	52
Citoplasma de eucariontes					
Levadura	40S	60S	80S	30-32	41-4
Roedores	40S	60S	80S	∿31	~49

[a] *11 proteínas se encuentran codificadas en el organelo.*
[b] *Sólo 1 proteína se encuentra codificada en el organelo (Neurospora).*
[c] *S = unidad de sedimentación = 10^{-13} cm seg^{-1}*

que son pequeñas, básicas e insolubles, pero la semejanza termina ahí, ya que no comparten un gran número de determinantes antigénicos. Por supuesto que existe una notable excepción, la proteína acídica L7/L12 (nomenclatura en bacterias), la cual está involucrada en los pasos de la síntesis de proteínas en los que interviene el GTP. Esta proteína tiene un carácter bastante conservado, determinado por la homología de su secuencia de aminoácidos, este carácter conservado se pone de manifiesto también a nivel funcional: los anticuerpos dirigidos contra la L7/L12 de bacteria inhiben la función de los ribosomas de eucariontes y además se ha logrado la reconstitución funcional de ribosomas de levadura utilizando la L7/L12 de bacteria. Existen otras homologías, aunque son mucho más frecuentes las diferencias, entre las proteínas ribosomales de procariontes y eucariontes (Tabla III).

TABLA III

PROTEINAS RIBOSOMALES DE BACTERIA (4)

	Subunidad pequeña	Subunidad grande
Numeradas	S1 a S21	L1 a L34[a]
Redundantes	S20 = L26	L7 = N-acetil L12 (L7/L12) L8 = $(L7/L12)_4$·L10
No numeradas	S1A; NS1, NS2;	L31'; A, B.
Ausentes en mutantes	S1; S6; S9; S17; S20,	L1; L11; L15; L19; L24; L27; L28; L29; L30; L33.
Regulan síntesis de proteínas ribosomales	S4; S7; S8.	L1; L4; L10.

[a] *En 1970 se describieron 21 proteínas en la subunidad pequeña y 34 en la grande. Actualmente, esos números se han reducido a 21 y 32 especies proteicas en las subunidades respectivas al tomar en cuenta las proteínas redundantes o repetidas. Si se considera que la S20 es igual a la L26, entonces el número total de especies proteicas diferentes se reduce a 52 por ribosoma 70S.*

Es interesante que aunque es muy pequeña la semejanza entre los ribosomas de eucariontes y de procariontes, los ribosomas de cloroplastos se parecen más a los de las bacterias. Estos últimos son semejantes en tamaño, tipo y topografía de las proteínas y especies de rRNA (Tablas I y II). No se conocen con detalle las proteínas ribosomales del cloroplasto, pero se ha mostrado que hay reacción inmunológica cruzada entre ribosomas de cloroplastos de *Chlamydomonas* y las de *E. coli.*

En contraste, los ribosomas de mitocondrias no tienen parecido a los ribosomas de procariontes ni eucariontes. Su tamaño varía desde aquellos más pequeños que los de las bacterias, hasta más grandes que los ribosomas citoplásmicos de eucariontes. Contienen una mayor proporción de proteína relativa al RNA (70%) que el ribosoma citoplásmico de eucariontes (50%) y el de *E. coli* (37%) (Tabla I). La movilidad electroforética de las proteínas ribosomales de mitocondrias es bastante diferente a las correspondientes de ribosomas citoplásmicos de eucariontes y procariontes y no se ha demostrado inmunidad cruzada con ninguna de las dos últimas.

1.2 Los RNA ribosomales.

La comparación de los rRNA de distintos organismos y organelos celulares, tanto en sus secuencias primarias y sus homologías, como en los modelos construídos sobre bases teóricas y experimentales, muestra que las diferencias entre estos rRNA no son tan grandes como en el caso comparativo de las proteínas ribosomales discutidas arriba. Más aún, se ha llegado a postular un ancestro común para los rRNA de la subunidad pequeña, incluyendo a los de organelos como la mitocondria y el cloroplasto.

Los ribosomas bacterianos contienen invariablemente 3 componentes nucléicos: 5S, 16S, 23s (S = unidad de sedimentación = 10^{-13} cm seg^{-1}). Los ribosomas de eucariontes suelen contener 4 componentes, aunque muestran mayor diversidad que las bacterias, estos componentes se designan como 5S, 5.8S, 18S, y 25 a 28S. Se han descrito desviaciones raras de este patrón como la ruptura del rRNA grande de los insectos en dos piezas y la existencia de dos fragmentos provenientes del rRNA 5.8S en *Drosophila.*

Los rRNA de cloroplasto son muy parecidos a los de las bacterias. La subunidad grande contiene además otras especies de RNA, la 4.5S en ribosomas de plantas superiores y la 3S y 7S en *Chlamydomo-*

nas reinhardii. Sin embargo la homología se conserva ya que el rRNA 4.5S de *Zea Mays* tiene una homología del 65% con la porción 3' terminal del rRNA 23S de *E. coli*, y los rRNA 7S y 3S que se han descrito en *C. reinhardii* son homólogos al extremo 5' del RNA 23S de cloroplasto de maíz y de bacteria. Es posible que los rRNA pequeños de la subunidad grande hayan aparecido por fragmentación durante la secuencia evolutiva del rRNA grande de las bacterias.

Nuevamente, las mitocondrias muestran una mayor diversidad estructural y de tamaño en los rRNA grandes y varía mucho la presencia de la especie pequeña 5S.

El rRNA 5S, el cual se transcribe por separado en eucariontes, confirma las homologías discutidas arriba en función de sus estructuras primaria y secundaria. Los rRNA 5S de cloroplasto y de bacteria son muy parecidos entre sí; el correspondiente de eucariontes está más alejando, el rRNA 5S de mitocondrias de trigo aunque tiene características propias también comparte cierta homología con los dos primeros. Resulta curioso que los ribosomas de mitocondrias de mamífero y de levadura carezcan del rRNA 5S y es sorprendente este hecho en vista de las funciones tan importantes que se le atribuyen en otros ribosomas.

2. Factores Proteicos Solubles.

Los llamados factores de iniciación IF y eIF, (en inglés), son proteínas solubles que difieren de las proteínas ribosomales estructurales en que participan en forma cíclica en la iniciación de la síntesis de proteínas o sea que se unen al Met-tRNA$_i$ (ver nomenclatura más adelante), al ribosoma o al mRNA en algún paso de la iniciación y se despegan al concluir su función.

Se han reconocido 3 proteínas que han sido altamente purificadas a partir de *E. coli* que intervienen en la formación de los complejos de iniciación, mientras que en sistemas de eucariontes se han descrito un mínimo de 8 factores de iniciación que cumplen funciones similares a los 3 IF de bacteria (Tabla IV) y además otras funciones adicionales que

TABLA IV

FACTORES DE INICIACION

E. coli	(3)	IF-1, IF-2, IF-3
Eucariontes[a]	(8)	Caracterizados: eIF-1, eIF-2, eIF-3, eIF-4A, eIF-4B, eIF-4C, eIF-4D, y eIF-5.
	(9)	Factor que interviene en el reciclamiento del eIF-2.
	(10)	El eIF-6 que promueve la disociación del ribosoma en sus subunidades.
	(11)	Factor que interactúa con el 7-metilguanosina (casquete o "cap") (m^7 G) del mRNA, llamado "Cap-binding protein" (CBP). Copurifica con el eIF-3 y eIF-4B.
	(12)	Otros

[a] *A la abreviatura de factor de iniciación, IF, de bacteria se añadió una e de eucarionte, eIF.*

no comparten los procariontes, como un factor que interviene en el reciclo de eIF-2, y otro factor que interactúa con el casquete 7-metilguanosina (m^7G) del mRNA. Falta mucho trabajo para conocer con claridad las funciones y el mecanismo de los factores de iniciación hasta ahora descritos en eucariontes y es posible que la lista de factores proteicos solubles se alargue más.

El factor de iniciación 2 tiene la misma función en ambos tipos de células: procariontes y eucariontes, favorece la unión dependiente de GTP del $tRNA_i^{Met}$ a la subunidad pequeña. El mecanismo no se conoce. En ausencia de ribosomas el IF-2 for-

ma un complejo binario con formilmetionina (fMet) -$tRNA_i^{Met}$, pero este complejo es inestable *in vitro*. Por otro lado el IF-2 es capaz de unirse en forma estable con la subunidad ribosomal 30S en ausencia de Met-tRNA y de GTP. De manera que sólo se puede indicar que en procariontes la interacción entre IF-2, GTP y fMet-$tRNA_i^{Met}$ se lleva a cabo sobre la superficie del ribosoma bacteriano. Esto contrasta con los eucariontes como en el caso del reticulocito de conejo, donde el eIF-2 forma complejos ternarios estables con Met-$tRNA_i^{Met}$ y GTP en solución, este complejo ternario se une luego a la subunidad pequeña del ribosoma. Además, este sistema requiere de otra proteína que recicla el eIF-2, el cual se libera como un complejo con GDP a partir del ribosoma. Este factor de reciclamiento no existe en *E. coli* donde el GDP no permanece unido al IF-2 bacteriano después de la hidrólisis del GTP.

El equilibrio entre los ribosomas y sus subunidades se desplaza en favor de la disociación en subunidades en presencia de factores de iniciación. En *E. coli* esto se logra mediante la unión del IF-3 a la subunidad ribosomal pequeña y en eucariontes el eIF-6 se une a la subunidad grande. El mecanismo es distinto, pero ambos factores evitan la reasociación de las subunidades ribosomales.

Otro ejemplo de lo poco que sabemos de los mecanismos es la participación de los factores de iniciación en la unión del mRNA a los ribosomas. Esta reacción que en bacterias se estimula con la adición de IF-3 ¡requiere cinco factores en eucariontes!

En cuanto a la traducción diferencial de especies de mRNA, resultaría muy interesante saber si los factores de iniciación participan activamente en la selección de sitios de iniciación específicos en las especies de mRNA o solamente estabilizan la unión en los sitios seleccionados por la subunidad ribosomal pequeña. Hasta el momento la mayor parte de la evidencia experimental obtenida en procariontes sugiere que el reconocimiento de los sitios de iniciación en el mRNA es una propiedad intrínseca de la subunidad pequeña del ribosoma, pero ya empiezan a emerger datos que demuestran la participación de ciertos factores de iniciación de eucariontes con la habilidad para discriminar entre varios mRNA (vea Discusión más adelante).

3. Los tRNA Iniciadores.

Las representaciones convencionales de las especies de tRNA iniciadores en procariontes y eucariontes son: $tRNA_f^{Met}$ (f = formil) y $tRNA_i^{Met}$ (i = iniciador) respectivamente, ($tRNA_f^{Met}$ y $tRNA_i^{Met}$ en inglés); por conveniencia de este trabajo se utilizará la nomenclatura $tRNA_i^{Met}$ independientemente de su origen. Los subscritos f e i distinguen la especie $tRNA^{Met}$ de iniciación de aquella que dona su metionina en posiciones internas de la cadena polipeptídica, la cual se designa como $tRNA_m^{Met}$ (m = medium).

El papel sin paralelo que tiene el $tRNA_i^{Met}$ en la síntesis de proteína podría implicar que posee una estructura única que lo hace diferente a los otros tRNA. Sin embargo, los estudios de las estructuras primaria, secundaria y terciaria de varias especies de tRNA no muestran muchas características distintivas notables.

Un hecho muy aparente en los sistemas de traducción de bacteria, cloroplasto y mitocondria es que el $tRNA_i^{Met}$ es formilado y se ha descrito una transformilasa que transfiere el grupo formato del N^{10}-formil-tetrahidrofolato para dar el N-fMet-tRNA. Esto puede ser importante en la iniciación, ya que el IF-2 de *E. coli* interactúa sólo con los tRNA que llevan un aminoácido con el grupo amino bloqueado. Además del fMet-$tRNA_i^{Met}$ que participa sólo en la iniciación en bacterias, cloroplastos y mitocondrias, también existe el Met-$tRNA_{ir}^{Met}$ que dona su grupo metionil durante el proceso de elongación de la cadena polipeptídica, mientras que el citoplasma de eucariontes contiene dos especies Met-tRNA ambos no formilados. Uno participa en la iniciación y otro en la elongación. Al contrario que en sistemas de procariontes la formilación del grupo Met disminuye la afinidad del Met-$tRNA_i^{Met}$ por los factores de iniciación eucarióticos. Esto aumenta la posibilidad de que los $tRNA_i^{Met}$ deben contener características distintivas que los haga diferentes a los tRNA no iniciadores, sin embargo, esta hipótesis no se ha comprobado.

La comparación de $tRNA_i$ de distintas fuentes a niveles primarios, secundarios y terciarios, sólo han mostrado ciertos hechos distintivos, pero no se ha podido establecer que ésos sean los responsables de la especificidad. El único hecho universal es la presencia de 4 pares G·C en posiciones idénticas en todos los $tRNA_i$: en los lugares 3, 12, 30 y 31. Los $tRNA_i$ de eucariontes se pueden distinguir por tres características: (a) la presencia de AUCG o AψCG (ψ = pseudouridina) en vez de la secuencia usual TψC (T = ribotimidina) en las posiciones 54 o 57 de la asa IV; (b) una A en el lugar de la pirimidina usual en posición 60 y (c) una C en vez de U en posición 33.

En este contexto es interesante preguntar cuáles serían las características de los $tRNA_i$ que son re-

conocidas por la Met-tRNA$_i^{Met}$ sintetasa y la transformilasa bacteriana. Es obvio que el campo requiere de una enorme cantidad de investigaciones.

4. Los RNA mensajeros.

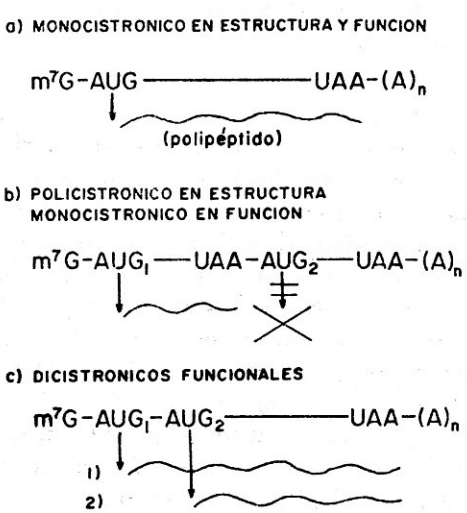
Otra posibilidad que explique la aparente selección de especies específicas de mRNA para su traducción es la estructura del mismo mensajero. Por ejemplo, los intentos de traducir mRNA de una especie celular en sistemas heterólogos, o sea, la traducción de un mRNA de procariontes en ribosomas de eucariontes, o viceversa, han tenido poco éxito, lo que sugiere diferencias en el reconocimiento de especies distintas de mRNA. Puede ser, como se ha discutido antes, que la falta de reconocimiento radique en los ribosomas, los factores de iniciación, etc. o bien que el mRNA carezca de las estructuras que son reconocidas.

En procariontes no es raro encontrar formas múltiples de mRNA derivadas de un solo gene. Esto se debe a la variación del sitio donde se inicia la transcripción o a la extensión del procesamiento postranscripcional. Por lo general los mRNA de bacteria son policistrónicos y contienen secuencias de longitud variable que no se traducen, éstas son de 26 a 200 nucleótidos en el extremo 5' y otra secuencia corta de este tipo en el extremo 3'. La mayoría de los mRNA bacterianos tienen secuencias intercistrónicas que no se traducen, con una longitud de 1 a 400 nucleótidos, se han encontrado muchos ejemplos donde se carece de las regiones intercistrónicas y un cistrón empieza inmediatamente después de otro, inclusive se ha descrito el traslape de una base entre el codón de terminación de un cistrón y el codón iniciador del siguiente, o sea: UGAUG, tal vez este hecho tenga algún significado en la regulación, pero no se ha demostrado que la traducción del cistrón corriente arriba interfiera con la traducción del cistrón corriente abajo, los casos en que esa demostración ha resultado positiva no se relacionan a la presencia de codones de terminación y de iniciación traslapados.

El codón iniciador en mRNA de procariontes es por lo general AUG, aunque los ribosomas bacterianos también reconocen otros: GUG, UUG y AUU con menos eficiencia. Hay ejemplos donde GUG y UUG funcionan como señales de "reinicio" después de un codón sin sentido.

Corriente arriba a partir del codón iniciador en mensajeros de procariontes se ha descrito la presencia de una secuencia rica en purinas, llamada de Shine-Dalgarno, de aproximadamente 10 nucleótidos de longitud (5). A esta secuencia se le ha dado una enorme importancia en el proceso de iniciación en procariontes, ya que es complementaria del extremo 3' del RNA ribosomal 16S y precede cada cistrón en los mRNA policistrónicos. Se han publicado muchas evidencias donde el apareamiento entre el extremo 3' del RNA de la subunidad ribosomal pequeña y la secuencia Shine-Dalgarno del mRNA permite la selección de los sitios de iniciación en mRNA de procariontes. La kasugamicina se une cerca del extremo 3' del rRNA 16S y es un inhibidor potente de la iniciación.

Los mRNA de eucariontes son por lo general monocistrónicos, aunque hay excepciones confirmadas (Fig. 2). Esta regla significa no sólo que un



Todos los mRNA celulares caracterizados. Muchos mRNA de virus animales incluyendo al reovirus, virus de la influenza, virus de la estomatitis vesicular y virus de vacuna.

mRNA 19S tardío del virus del polioma.
mRNA tardíos del adenovirus

mRNA 19S tardío del virus Simian.
mRNA de la timidina cinasa del virus Herpes simple
RNA E1b de adenovirus

Figura 2. Síntesis de cadenas polipetídicas dirigidas por mRNA de eucariotes (2). En general, el ribosoma reconoce el primer codón iniciador (a y b), aunque en pocas ocasiones es posible obtener dos cadenas polipeptídicas a partir de un solo mRNA (c).

mRNA dirige la síntesis de una sola cadena polipeptídica, sino también que la proteína codificada más cercana al extremo 5' es la que se sintetiza, como se ejemplifica en la figura 2 (b), o sea que, en el caso de mRNA policistrónicos de eucariontes, sólo se expresa el cistrón más cercano al extremo 5' del mRNA. Esta restricción la impone no el mRNA sino el ribosoma eucarionte, como se ha demostrado. Si se incuba el mensajero policistrónico del bacteriófago lambda en un sistema de síntesis de proteínas *in vitro*, los ribosomas de *E. coli* traducen el primero y el segundo cistrones, mientras que los ribosomas de trigo sólo traducen el primero. Esta falla en la traducción de cistrones localizados corriente abajo respecto al primero, se puede interpretar en el sentido de que los ribosomas eucariontes no reconocen sitios de iniciación internos ni reinician en el segundo cistrón después de traducir el primero. Esto está de acuerdo con la naturaleza monocistrónica de los mRNA eucariontes, pero también elimina el mecanismo regulador predominante que siguen los procariontes: los mRNA policistrónicos que coordinan la síntesis de un grupo de proteínas. Se ha propuesto un mecanismo en eucariontes que sustituye al de procariontes, y es posible que no sea el único. El mecanismo en eucariontes se basa en la fusión de genes que producen, en vez de un mRNA policistrónico como las bacterias, una "poliproteína" derivada de un solo y enorme mRNA. Se pueden citar algunos ejemplos, las subunidades $\alpha 2$ y $\beta 2$ de la triptofano sintetasa están codificados en genes separados en la *E. coli* y fundidas en un solo gene de *S. cerevisiae* que codifica para una proteína bifuncional. Tal vez el ejemplo más impresionante es la sintetasa de ácidos grasos de mamíferos que corresponde a 7 cadenas polipeptídicas en *E. coli*.

Los mRNA de eucariontes muestran 4 características estructurales distintivas. a) Presencia de 7-metilguanosina unida por un enlace trifosfato 5'-5' poco usual al nucleótido del extremo 5', formando lo que se llama un casquete (cap en inglés) (m^7 GpppNpN-). b) Una cola de poliadenílico, poli (A), de 50 a 200 residuos, unido al extremo 3'. c) Ausencia de la secuencia de Shine-Dalgarno en el lado 5' del codón iniciador. A pesar de que se han realizado extensas investigaciones, no se ha llegado a conclusiones firmes sobre la participación del casquete m^7G- y de la cola poli(A) en la regulación de la traducción. El poli(A) puede contribuir a aumentar la estabilidad del mRNA. La ausencia de Shine-Dalgarno obliga a pensar de que existe otro mecanismo de reconocimiento del sitio de iniciación por los ribosomas en eucariontes. Como se dijo antes, en bacterias, la base para la selección de sitios de iniciación en el mRNA que tiene poca estructura secundaria, incluye el apareamiento complementario de bases entre la región Shine-Dalgarno del mRNA y una secuencia de nucleótidos cerca del extremo 3' del RNA ribosomal 16S. d) En contraste con las bacterias, los ribosomas eucariontes sólo reconocen al codón AUG como señal de iniciación. Los ribosomas de eucariontes probablemente localicen el sitio de iniciación a través de un mecanismo de monitoreo. Hay muchas evidencias circunstanciales que apoyan la hipótesis de que la subunidad 40S con los eIF asociados se une al extremo 5' del mRNA y luego migra corriente abajo hasta el primer codón iniciador AUG, el cual sería el más cercano al extremo 5'. Se han encontrado sólo 18 mRNA entre más de 200 en donde el inicio de la síntesis de proteínas se establece en un codón interno, y este hallazgo ha conducido a una versión modificada del modelo de monitoreo. La subunidad ribosomal 40S con los factores de iniciación correspondientes se une al extremo 5' y busca corriente abajo un codón iniciador flanqueado por cierta secuencia que puede modificar la eficiencia del reconocimiento. Se ha identificado tentativamente la secuencia óptima como $\begin{matrix}A\\G\end{matrix}$NN<u>AUG</u>G (en donde N es cualquier base) basado en el estudio de más de 200 mensajeros y experimentos de unión *in vitro* con oligonucleótidos que contienen AUG. Otras secuencias menos favorables son GNN<u>AUG</u>$\begin{matrix}C\\U\end{matrix}$ o $\begin{matrix}C\\U\end{matrix}$NA<u>AUG</u>G. Si la subunidad 40S se encuentra primero con la secuencia óptima, la síntesis de proteína se inicia ahí, pero si la primer secuencia iniciadora es menos favorable algunos de los ribosomas se detienen e inician en ese punto, otros pasarán de largo e iniciarán en otro codón de iniciación corriente abajo. Esto introduce una flexibilidad interesante en el sistema, o sea que es posible que un mRNA de eucariontes dirija la síntesis de 2 cadenas polipeptídicas distintas si el primer AUG se encuentra en una secuencia desfavorable y también que la ruptura de un mRNA puede dejar descubierto un codón iniciador interno que ahora puede actuar como sitio iniciador. Este mecanismo sugiere que los extremos 5' son importantes para unir a la subunidad 40S e iniciar el monitoreo, en este contexto el casquete m^7G tal vez sea importante facilitando la unión.

CONTROL DE LA INICIACION

Un buen número de evidencias señalan que el control de la síntesis de proteínas se lleva a cabo a nivel de la iniciación tanto en procariontes como en eucariontes. Tal control es cualitativo y cuantitativo. El control de la calidad se refiere a la traducción diferencial de especies de mRNA respecto a otras especies, o sea, dada una gran variedad de mRNA diferentes, el ribosoma traduce un grupo de

mRNA en forma preferencial en ciertas condiciones, al cambiar estas condiciones se traduce otro grupo distinto de mensajeros. La regulación de la cantidad se refiere a que la frecuencia de iniciaciones aumenta o disminuye según las condiciones celulares.

Los mecanismos de regulación de la iniciación pueden ser muy complejos y en su mayoría apenas empiezan a conocerse. Por ejemplo, uno de los sistemas más estudiados es la síntesis de proteínas en reticulocitos y en sus lisados libres de células, la cual se inhibe en ausencia de hemina, en donde, en realidad, funcionan dos mecanismos (Fig. 3). El

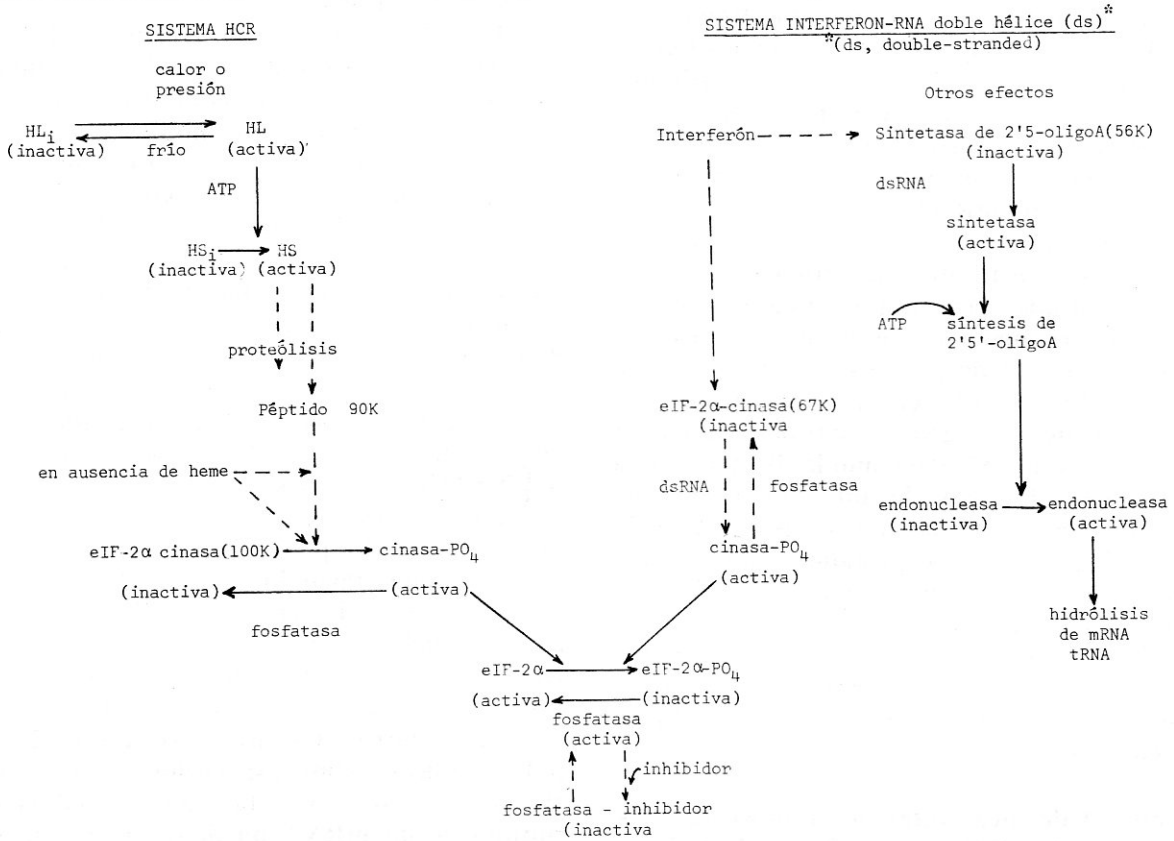


Figura 3. Regulación de la síntesis de proteína en reticulocito. Se muestran dos sistemas descritos: el HCR (Hemin-controlled repressor), represor controlado por hemina y el sistema de RNA doble hélice (dsRNA, double-stranded RNA) – interferón. Ambos sistemas involucran la fosforilación, independiente de cAMP, de la subunidad α del eIF-2, catalizada por proteína cinasas distintas, una de 100 Kd y otra de 67 Kd. El sistema HCR contiene además la activación de otras 3 proteínas, una lábil a la temperatura (HL, heat-labile), otra estable a la temperatura (HSheat-stable) y un péptido de 90 Kd, aunque es posible que existan otros componentes adicionales del sistema. La adición de RNA doble hélice (dsRNA) al lisado de reticulocitos causa inhibición de la síntesis de proteína que depende también de la fosforilación de la eIF-2α, aunque la proteína cinasa activada es diferente a la anterior. Existe alguna relación entre el dsRNA y el interferón. El dsRNA induce al interferón y éste es esencial para que se manifieste el efecto inhibitorio del dsRNA. Además el interferón causa otros fenómenos moleculares (a) la síntesis de 2'5'-oligoadenilatos que inhiben la síntesis de proteínas y activan una endonucleasa y (b) aumenta la sensibilidad de la activación de la eIF-2α cinasa por el dsRNA. Se desconocen muchos detalles de ambos mecanismos todavía (3).

velocidad inicial. Esta inhibición de la síntesis de proteína en ausencia de hemina es potenciada por ATP y revertida por GTP o AMP cíclico y se ha identificado a nivel de la unión del complejo ternario Met-tRNA$_f^{Met}$, eIF-2 y GTP con la subunidad ribosomal pequeña.

2) La síntesis de proteínas en lisados de reticulocitos también se inhibe por la adición de RNA doble hélice (double stranded RNA, dsRNA, en inglés).

3) Cuando se añade glutatión.

4) Cuando el lisado se prepara de células incubadas en anaerobiosis y con inhibidores de la fosforilación oxidativa.

control de la iniciación de la síntesis de proteínas dependiente de hemina en lisados de reticulocitos apareció bastante confuso, cuando se llegó a describir que esta iniciación se inhibía bajo al menos siete condiciones diferentes:

1) Deficiencia de heme. Típicamente, cuando se mide la velocidad inicial de incorporación de ^{14}C-leucina en polipéptidos en un lisado de reticulocitos a 37°C, en ausencia de hemina, durante los primeros 5 min de la incubación la incorporación del aminoácido marcado es igual a la del control con hemina añadida, después de ese tiempo la incorporación disminuye drásticamente a 2 % o 5% de la

5) Cuando el lisado de reticulocitos se dializa para eliminar compuestos de bajo peso molecular.

6) Cuando el lisado se somete a presiones altas o a

7) Temperaturas altas.

A pesar de las causas de inhibición tan dispares, parece que cada condición conduce a la fosforilación de la subunidad α la más pequeña, del eIF-2, o sea la eIF-2α (PM_r = 38,000) y finalmente a la inhibición de la iniciación. Como se puede ver en la figura 3 el mecanismo de la represión controlada por hemina (HCR, Hemin-controlled repressor) involucra un sistema de cascada en donde participan al menos 3 componentes: la proteína lábil al calor (HL, heat-labile factor), otra estable al calor (HS, heat-stable factor) y un péptido de 90 Kd, aunque es muy probable que aparezcan nuevos componentes en este mecanismo (Fig. 3).

Además la síntesis de proteína en lisados de reticulocitos también se inhibe por la adición de cantidades muy pequeñas de RNA doble hélice (dsRNA). La cinética de inhibición es muy similar a la causada por la ausencia de heme, también involucra la fosforilación de la eIF-2α aunque la proteína cinasa es distinta a la del sistema HCR. Se ha descrito una interrelación muy interesante entre el dsRNA y el interferón. El interferón se induce con dsRNA. El tratamiento de células animales sensibles con interferón causa que los lisados de esas células muestren una sensibilidad al dsRNA similar a la observada en lisados de reticulocitos. En ausencia del tratamiento, los lisados de la mayoría de las células son relativamente insensibles al dsRNA. Además de este efecto el interferón activa la síntesis de 2'5'-oligoadenilatos (pppA2'p5'A2'p5'A y de otros tamaños) que inhiben la síntesis de proteínas y activan una endorribonucleasa. Se ha descrito que esta endonucleasa degrada preferencialmente RNA ribosomal, mRNA de globina y tRNA, pero no RNA de reovirus.

Otros ejemplos de traducción diferencial de mRNA son: a) La inhibición causada por una infección viral de la síntesis de proteínas celulares; b) Los efectos de sales sobre la eficiencia relativa de la traducción de mRNA específicos y c) Los efectos de hormonas vegetales sobre el patrón de proteínas sintetizadas.

Si se infectan células HeLa con virus polio, la síntesis de proteínas de la célula hospedera cae en 80% a 90% en 2 a 4 h después de la infección, mientras que la síntesis de proteínas virales llega a un máximo en ese mismo periodo. Se ha demostrado que no hay degradación de los mRNA celulares existentes en el momento de la infección. Se han propuesto al menos tres mecanismos que explican esta traducción diferencial de los mRNA virales con respecto a los mensajeros celulares.

1. El virus induce la modificación de factores de iniciación o altera el requerimiento de factores. La adición del eIF-4B a sistemas de síntesis de proteínas libre de células es capaz de inhibir la traducción del RNA del virus de la encefalomiocarditis y por otro lado, favorece la traducción del RNA del virus de la estomatitis vesicular. No se ha podido confirmar esta hipótesis.

2. El virus induce cambios en la composición iónica intracelular o en la fuerza iónica y se favorece así la síntesis preferencial de proteínas virales. Esta hipótesis se basó en la observación de que los mRNA virales se traducen mejor *in vitro* en concentraciones relativamente altas de cationes monovalentes, mientras que los mRNA celulares son preferidos a bajas concentraciones de sal. Se sugirió que los virus producen cambios en la permeabilidad de la membrana plasmática que resulta en un aumento en la concentración intracelular de sales. La hipótesis ha recibido un fuerte apoyo con el resultado de experimentos *in vivo*. La transferencia de células intactas recién infectadas con virus a medios hipertónicos hace que se acelere la síntesis de proteínas virales. Es posible que los diferentes mRNA virales y celulares tengan una concentración óptima de sal para su traducción preferencial.

3. El virus produce modificaciones en el ribosoma, estos cambios pueden ser desde la fosforilación de proteínas ribosomales hasta la unión al ribosoma de alguna proteína inducida por el virus. Estos ribosomas alterados traducirían preferencialmente mRNA virales. Efectivamente, se ha publicado que las proteínas S2 y S16 de ribosomas de células HeLa se fosforilan cuando se infectan con virus de vacuna; por otro lado, que una proteína del virus de la vacuna inhibe la traducción de mRNA naturales en lisados de reticulocitos, pero no tiene efecto sobre la síntesis de polipéptido dirigida por poli(U) utilizado como mensajero.

La mayoría de estos estudios se refieren al reconocimiento preferencial entre mRNA virales y celulares, o sea mensajes provenientes de DNA exógeno. Sin embargo, un ejemplo que nos hace pensar que esos mecanismos de traducción preferencial ocurren también en células intactas y normales es el efecto de las fitohormonas. La capa de aleurona de semillas de cereales no germinadas, normalmente sintetizan un grupo de proteínas que se distinguen con facilidad en una autorradiografía de un electro-

foregrama en gel de poliacrilamida. La incubación de la aleurona con ácido giberélico (GA_3) induce la síntesis preferencial de α-amilasa, la cual constituye el 60% de las proteínas que se sintetizan en presencia de esta fitohormona. Este efecto se revierte al patrón original de síntesis de proteínas, si se adiciona ácido abscísico (ABA) a las células inducidas de la aleurona. Se ha demostrado que el mRNA de α-amilasa es muy estable y que el cambio en especies proteicas sintetizadas en presencia de una u otra fitohormona no se debe a la desaparición de mRNA.

RESUMEN

Los mRNA de eucariontes no se traducen necesariamente en proporción a su abundancia molar. Existe una traducción selectiva tanto cualitativa como cuantitativa que afecta las especies de proteínas que se sintetizan, así como su cantidad relativa, según las condiciones celulares. Hasta el momento no se conocen las características estructurales de los mRNA y de los componentes del sistema de síntesis de proteínas, tampoco se conocen factotes proteicos y menos aún los mecanismos que contribuyan a esta aparente selección de la traducción, sin embargo, es evidente que la proporción relativa de péptidos que se sintetizan a partir de una poza de mRNA se puede modificar cambiando las condiciones de traducción o la velocidad de la síntesis.

REFERENCIAS GENERALES

1. Hunt, T. (1980). The initiation of protein synthesis. Trends in Biochem. Sci. *5*, 178-180.
2. Kozak, M. (1983). Comparison of initiation of protein synthesis in procaryotes, eucaryotes, and organelles. Microbiol. Rev. *47*, 1-45.
3. Kramer, G., Henderson, A.B., Grankowski, N. y Hardesty, B. (1980). Translational control in eucaryotes. En Ribosomes: Structure, Function and Genetics (Chambliss, G., Craven, G.R., Davis, J., Davis, K., Kahan, L. y Nomura, M., eds). University Park Press, Baltimore, pp. 825-845.
4. Liljar, A. (1982). Structural studies of ribosomes. Progr. Biophys. Molec. Biol. *40*, 161-228.

REFERENCIA ESPECIFICA.

5. Shine, J. y Dalgarno, L. (1974). The 3'-terminal sequence of *E. coli* 16S ribosomal RNA: complementarity to nonsense triplets and ribosome binding sites. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *71*, 1342-1346.

ASPECTOS BIOQUIMICOS DEL CICLO CELULAR

Alfredo Saavedra Molina. Depto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, UNAM.
Apdo. Postal 70159, Ciudad Universitaria, México 04510, D.F.

El ciclo celular se inicia cuando se completa la división de una célula y termina cuando se completa la siguiente división; así a medida que progresa el ciclo celular se observan fundamentalmente dos procesos plenamente identificados: la duplicación del DNA y la división celular. Howard y Pelc (1) utilizando estos dos eventos dividen el ciclo celular en cuatro fases sucesivas: G1, S, G2 y D o mitosis (Fig. 1).

Esta división facilitó el análisis descriptivo del ciclo celular por medio de estudios con autorradiografía y citofotometría en los años cincuenta. Durante la década siguiente se estudiaron los eventos del ciclo en forma separada; la duplicación del DNA se estudió en cultivos sincronizados mediante incorporación de timidina tritiada (2). Desde 1970 destaca el uso de inhibidores que bloquean alguna fase del ciclo y como consecuencia sincronizan el cultivo celular; se obtuvieron mutantes del ciclo celular de levadura (cdc), que ayudaron a esclarecer algunas etapas del ciclo; se efectuaron estudios de sincronización con bromodesoxiuridina, los cuales

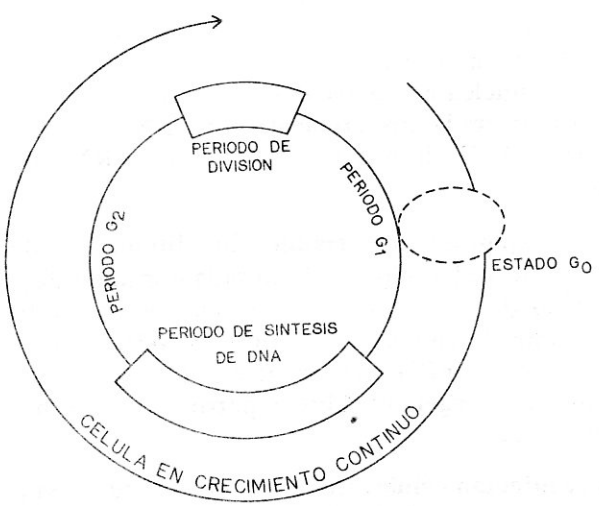


Figura 1: Principales eventos del ciclo celular. Las proporciones relativas de las fases del ciclo celular varían considerablemente de una línea celular a otra, pero la reproducción de cada célula consiste fundamentalmente de crecimiento acoplado con duplicación del DNA y seguido de división celular. Tomado de Reproduction of eukaryotic cells. (4).

permitieron desarrollar modelos de regulación del ciclo celular, tanto en microorganismos como organismos pluricelulares y en cultivos de tejidos.

Existen dos tipos de sincronización: a) cuando ocurre en forma *natural*; los embriones de erizo de mar son uno de los mejores sistemas de sincronía natural; los huevos pueden ser fertilizados simultáneamente obteniéndose durante los tres primeros ciclos una sincronía excelente. El moho del fango *Physarum polycephalum* es un plasmodio que contiene un compartimento citoplásmico con miles de núcleos los cuales siguen su ciclo en perfecta sincronía natural. b) cuando se induce *experimentalmente* se obtiene sincronía de dos tipos: sincronía selectiva y sincronía inducida. En la sincronía selectiva se obtiene la separación física de las células que están en un mismo estado del ciclo provenientes de una población asincrónica; consiste fundamentalmente en la separación de células por tamaño o por selección de células dividiéndose en los cultivos.

Se pueden seleccionar células sincrónicas por su velocidad de sedimentación, aplicándose el hecho de que a un tamaño dado de las células todas estarán aproximadamente en la misma posición del ciclo celular. Otra modalidad es por selección mitótica aplicada a líneas celulares que crecen en monocapa en cultivo, en mitosis las células se tornan rugosas y mediante agitación con medio líquido se separan obteniéndose rendimientos de hasta 99%.

La sincronía inducida se lleva a cabo bloqueando el progreso del ciclo celular y de esta manera todas las células son detenidas en la misma posición del ciclo. Se pueden obtener cultivos sincronizados por medio de choques térmicos o inhibiéndose la síntesis del DNA con drogas como: hidroxiurea, arabinósido de citosina, fluorodesoxiuridina, etc. (Fig. 2).

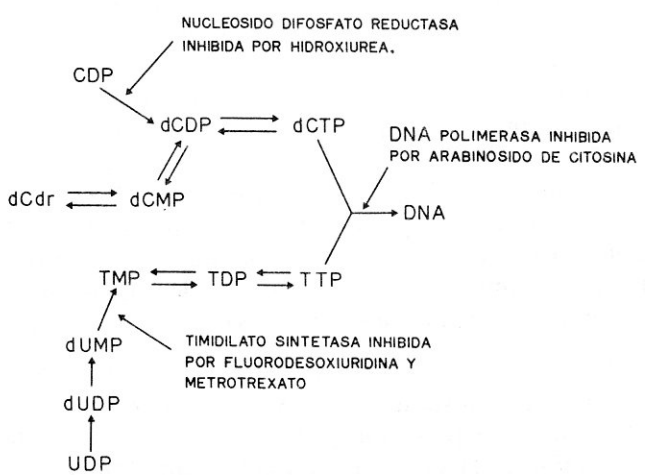


Figura 2: Inhibición de la síntesis de DNA. Inhibición de la síntesis de dCTP o de TTP o inhibición de la actividad de la DNA polimerasa (4).

También se obtiene sincronía inducida privando al cultivo de aminoácidos como la leucina o la isoleucina, aquí las células se detienen en el periodo G1.

PERIODO G1.

Muestra gran variabilidad con respecto a la duración; la variación en tamaño de las células hijas al inicio de su ciclo es un factor importante para definir acertadamente esta variabilidad. Se han propuesto tres modelos de regulación para células detenidas durante G1: a) inhibición específica de reproducción celular en tejidos, b) inhibición del crecimiento dependiente de la densidad celular en cultivo y c) inhibición de la reproducción celular por privación de nutrimentos en el medio de cultivo. Se ha demostrado correlación entre la masa de una célula hija y el aumento porcentual de la masa durante el periodo G1, por tanto, la célula al nacer es pequeña y crece a través de G1 hasta obtener su tamaño crítico para poder pasar al periodo S. Ciertamente se involucran interacciones núcleo-citoplasma mas complejas que el observar exclusivamente el papel de la masa celular o el crecimiento de la célula en la iniciación de la duplicación del DNA, pero estos dos ultimos hechos son cada vez más demostrativos.

La síntesis de constituyentes celulares durante la fase G1 como RNA, proteínas o fosfolípidos es contínua, observándose que al reducir el aporte de aminoácidos en este periodo, disminuye el grado de síntesis de proteínas, así mismo al inhibirse la entrada de fosfato o uridina se provoca el mismo efecto en la síntesis de RNA. Por otro lado, la captación de hexosas para la formación de carbohidratos se lleva a cabo en la fase temprana de G1; el transporte de adenosina no cambia durante el crecimiento de la célula en G1, aunque la cinética y el mecanismo de transporte difiere para cada uno de los nutrimentos. Se ha sugerido que la síntesis de enzimas que funcionan en la provisión de desoxinucleótidos de trifosfato, precursores del DNA, se lleva a cabo en la fase tardía de G1; aún cuando el significado de su presencia en el periodo G1 revela mecanismos de regulación muy importantes para la proliferación celular, no se han podido explicar situaciones en las cuales se tiene ausencia del periodo G1 como es el caso para *Physarum*, la levadura *Schizosaccharomyces pombe, Amoeba proteus* o en los micronúcleos de *Tetrahymena.*

PERIODO S

En la iniciación del periodo S al menos dos factores están involucrados: 1) El "encendido" de la duplicación nuclear se muestra como un fenómeno inducible; el inductor parece ser un factor, posiblemente una molécula pequeña producida por estímulo nuclear, difusible a través del citoplasma y presente en el núcleo durante todo el proceso dupli-

cativo. Este factor inductor no es específico de especie. Rao y col. (citado en 3) proponen un modelo en el que el inductor se acumula gradualmente durante el periodo G1 hasta alcanzar un nivel que permite el paso G1 → S. 2) Otro factor esencial para iniciar la duplicación del DNA es una síntesis previa de proteínas como sucede en plantas (3), aunque una vez que se ha iniciado la duplicación la síntesis puede no ser necesaria, tal es el caso de células procariontes o de eucariontes como plantas y levaduras (3).

El patrón de síntesis de DNA en mitocondrias y en cloroplastos es diferente del que se observa en el DNA nuclear, ambos son regulados de manera independiente; aparentemente tanto el DNA mitocondrial como el de cloroplastos se encuentran duplicando durante todo el ciclo celular.

Por medio de incorporación de precursores radiactivos y de autorradiografía se encontró que existen entre 10^3 y 10^4 unidades replicativas adheridas en la membrana nuclear sintetizando DNA durante la fase S. La síntesis de RNA examinada mediante autorradiografía es contínua durante todo el periodo S. Otras macromoléculas como carbohidratos también muestran un grado de síntesis contínuo en este periodo del ciclo celular.

PERIODO G2

Representa el tiempo requerido por una célula para sintetizar los elementos necesarios para la condensación del cromosoma y la construcción y operación del aparato mitótico. En algunas clases de células, aquéllas que no presentan el periodo G1, el periodo G2 es más complejo. Las células de la epidermis del oído de ratón exhiben sincronía natural de bloqueo en el periodo G2; por otro lado las histonas tienen un papel importante durante este periodo; por ejemplo la fosforilación de la histona F1 se lleva a cabo durante las fases S y G2 obteniéndose el máximo de fosforilación en G2 y además tiene relación temporal con la condensación del cromosoma, permaneciendo fosforiladas durante la mitosis ya que en la fase G1 se defosforilan. Existe correlación entre la histona F1 fosforilada presente en células proliferativas y la histona F1 no fosforilada en células no proliferativas; por otro lado, la enzima encargada de la fosforilación es la fosfoquimasa que purificada y añadida a un cultivo de *Physarum* acelera la entrada de las células en G2 a mitosis (4). La síntesis de macromoléculas como RNA y proteínas es necesaria para completar G2.

PERIODO M Y DIVISION

Teóricamente el periodo G2 termina cuando empieza la condensación mitótica del cromosoma aunque la posición de transición no ha podido ser identificada en forma precisa. Las actividades de síntesis de RNA y de proteínas se suprimen; en general los mecanismos moleculares de la serie de eventos que suceden durante la división celular son desconocidos.

CICLO CELULAR Y MEMBRANA

Los cambios fisiológicos y bioquímicos brevemente enumerados a lo largo del ciclo celular se acompañan de ajustes en el funcionamiento de la membrana celular que pueden ejemplificarse al revisar el transporte de cationes monovalentes en el ciclo celular. Durante la fase G1 las células de pulmón de hamster chino (citado en 5) presentan un potencial de membrana bajo, el cual se incrementa rápidamente durante las fases S y G2, disminuyendo cuando las células entran en mitosis; aparecen también respuestas específicas del ciclo celular a factores de crecimiento externos, principalmente en G1. Boonstra y col. (5) enuncian que en la fase G1 podría existir la expresión de un receptor específico para factores de crecimiento por medio del cual posteriormente las células iniciarían una secuencia de eventos iónicos que disparan la entrada al periodo S; algo similar ocurre cuando se adicionan factores de crecimiento purificados a células sin dividirse.

El transporte de cationes monovalentes se encuentra estrechamente ligado con el transporte de iones (Ca^{2+}, H^+) y nutrimentos como aminoácidos y azúcares.

Respecto a los cationes divalentes, la relación entre el calcio y el ciclo celular ha sido discutida en diferentes tipos celulares, tanto en células de mamífero transformadas (6) como en microorganismos (7). Los resultados obtenidos indican que el transporte del ión calcio se lleva a cabo en la fase temprana del periodo S antes de que las células entren en mitosis; sin embargo si se añade ácido etilenglicol (Bis-β-amino etilenglicol) N, N, N', N', tetraacético EGTA (quelante de iones calcio) a un cultivo sincronizado de células de mastocitoma P-815 de ratón al inicio del periodo S o en M, no se afecta el ciclo normal (8), observándose además que se obtiene el máximo nivel de transporte de calcio en la parte media del periodo S (Fig. 3).

Saavedra y col. (7) encontraron en un cultivo sincronizado de levadura que existe correlación entre el inicio de la gemación y el transporte de calcio; la aparición de la yema, futura célula hija, en la levadura coincide con la iniciación del periodo S. También el calcio y los nucleótidos cíclicos interactúan en el control de la mitogénesis en linfocitos (citado en 4). Se puede aceptar que el calcio tiene un papel

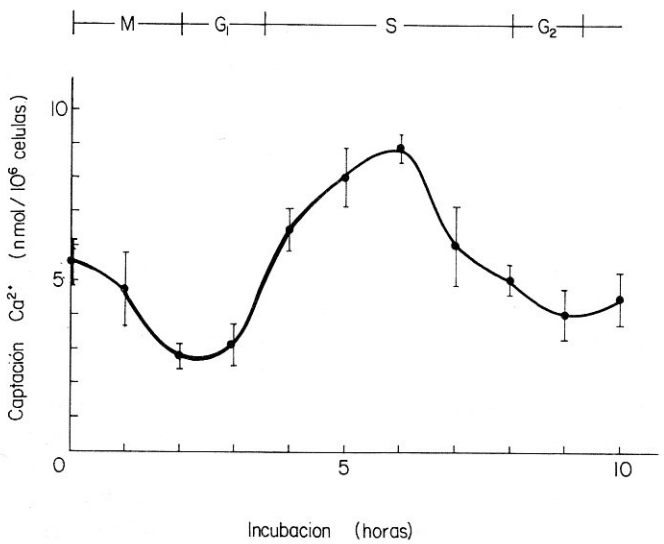


Figura 3: Ciclo celular de células de mastocitoma P-815 dependiente de la captación de calcio. Las células fueron sincronizadas por el método de bloqueo con colchicina e incubadas a 37°C. (8).

importante en el control del crecimiento celular. Por otro lado, el magnesio podría regular aquellas vías metabólicas en las cuales los pasos limitantes son reacciones de transfosforilación (9). Otros cationes divalentes como zinc, cadmio y mercurio estimulan la síntesis de DNA en células de embrión de pollo a concentraciones subtóxicas (9).

El estudio de la división celular a nivel molecular estriba esencialmente en la identificación de factores de crecimiento y factores inhibidores del crecimiento celular, así como los genes o productos de los genes que regulan ordenadamente el proceso de la división celular.

En términos de regulación de genes responsables de la proliferación celular deben distinguirse dos problemas: 1) la identificación de los genes y 2) el mecanismo por el cual esos genes son activos o reprimidos. Ambos problemas son importantes puesto que los mismos genes están claramente presentes tanto en células bloqueadas como en células proliferativas y por tanto la división celular dependerá de si esos genes son expresados o no.

MICROINYECCION

Un enfoque interesante para estudiar el papel selectivo de una molécula informativa en el ciclo celular es el de la microinyección (10). Consiste en la introducción artificial de genes en particular o productos de genes a células biológicamente funcionales. Esta técnica ofrece la ventaja de estudiar la expresión de la molécula introducida la cual puede ser seguida a puntos definidos como es el caso de la incorporación de timidina tritiada al DNA, o la aparición de una proteína; además es posible seguir síntesis de polipéptidos en pocas células después de una microinyección manual de DNA o mRNA por medio de una electroforesis bidimensional (citado en 10). La microinyección manual integra la técnica de cultivo de células, micromanipulación y microscopía de contraste de fases, pudiendo microinyectarse volúmenes altamente concentrados de hasta 10 femtolitros. Las células pueden ser monitoreadas, examinadas, despegadas, clonadas o analizadas inmediatamente o a cualquier tiempo después de la microinyección; por ejemplo para estudios de proliferación celular, células detenidas, células sincronizadas a tiempos específicos de su ciclo celular, etc.

BIBLIOGRAFIA

1. Howard, A. y Pelc, S.R. (1953). Synthesis of deoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. Heredity. *6* (Suppl.) 261-273.
2. Quastler, H. y Sherman, F.G. (1959). Cell population in the intestinal epithelium of the mouse. Exp. Cell Res., *17*, 420-438.
3. Giménez-Martín, G., Navarrete, M.H., Torre de la, C. y Lôpez-Sáez, J.F. (1982). Intensidad de replicación del ADN en el ciclo celular de meristemos. Estudios sobre Biología (Hom. al prof. Bustinza). Ed. Univ. Complutense, Madrid. p. 33-59.
4. Prescott, D.M. (1976). Reproduction of Eukaryotic Cells. Academic press, N.Y.
5. Boonstra, J., Mumery, C.L., van Zoelen, E.J.J., van der Saag, P.T. y de Laat, S.W.(1982). Monovalent cation transport during the cell cycle. Anticancer Research. *2*. 265-274.
6. Paul, D. y Ristow, H.J. (1979). Cell cycle control by Ca^{++}- ions in mouse 3T3 cells and in transformed 3T3 cells. J. Cell Physiol. *98*, 31-40.
7. Saavedra-Molina, A., Villalobos, R. y Borbolla, M. (1983). Calcium uptake during the cell cycle of *Saccharomyces cerevisiae*. FEBS Lett., *160* (1-2), 195-197.
8. Negishi, M., Atsuchi, I., y Tomita, K. (1982). Calcium uptake in mastocytoma P-815 cells. Biochim. Biophys. Acta, *687*, 179-188.
9. Pardee, A.B., Dubrow, R., Hamlin, J.L. y Kletzei, R.F. (1978). Animal Cell Cycle. Ann. Rev. Biochem. *47*, 715-750.
10. Galanti, N., Soprano, K., Jonak, G. y Baserga, R. (1982). Microinjection of cloned SV40 DNA fragments in the study of cell proliferation. Annals. Of the New York Acad. Sci. *397*, 238-248.

LA FUNCION DEL PROCESO DE TRANSPORTE DE Ca^{2+} MITOCONDRIAL

UNA CUESTION EN DEBATE

Liga Toro Calzada* y Sergio Estrada
* Universidad Autónoma Metropolitana. ** Dirección General de Investigación en Salud, S.S.A.

En los últimos años se ha hecho evidente que el ión Ca^{2+} actúa como organizador, promotor y mensajero de un elegante y complejo sistema de información y comunicación celular. También el Ca^{2+} ha emergido como modulador de la amplitud de diversos procesos celulares fundamentales. A manera de ejemplo, puede señalarse que dentro de los eventos y procesos moleculares y celulares generales que están bajo el control del ión divalente se encuentran: el procesamiento y control de la información visual; la regulación electroquímica del impulso nervioso; la acción de transducción de diversas hormonas; numerosas actividades mecanoquímicas celulares y fenómenos como la transformación, la diferenciación y la fecundación celular, así como eventos particulares del tipo de las transiciones plásticas de macromoléculas membranales.

Por otro lado, a lo largo de los últimos 20 años se han generado centenares de trabajos particulares, los cuales han descrito con acuciosidad las peculiaridades del proceso por el cual la mitocondria transporta Ca^{2+} a través de su membrana interna. Una de varias razones y ciertamente no la más importante, que estimuló la ejecución de dichos estudios, fué el considerar que el transporte de Ca^{2+} mitocondrial controlaba el nivel del calcio citoplásmico, actuando como amortiguador de los grandes cambios de concentración de calcio libre requeridos en el citosol.

Sin embargo, estudios realizados en fechas recientes han demostrado que las mitocondrias del axón gigante de calamar tanto como las de músculo liso, cardíaco y esquelético, poseen muy bajas concentraciones del Ca^{2+} libre en su matriz (= 0.1 μM) lo cual indica que éste organelo, en condiciones fisiológicas no acumula grandes cantidades de Ca^{2+}, es decir, no tiene un papel importante como amortiguador de la concentración de Ca^{2+} citosólico (1).

Asimismo, se ha encontrado que la mitocondria es capaz de regular de manera delicada los flujos de Ca^{2+} a través de su membrana, mediante dos vías principales e independientes entre sí; una que controla la entrada del ión y otra que regula su salida (2). Esto indica que aún cuando el papel de la mitocondria no sea el de regular la concentración de Ca^{2+} libre en citosol, éste, aunque bien parezca paradoja, puede ser el de modular su propia concentración de calcio intramitocondrial. Por supuesto, la pregunta central sobre este doble sistema de transporte sería ¿para qué?, ¿tiene este sistema algún significado propio en la membrana mitocondrial? ¿podría ser que el sistema de transporte membranal de este organelo evolucionó hacia un doble sistema de flujos para mantener independiente el control metabólico mitocondrial del citoplásmico?

Al respecto, no parece haber ninguna duda que existen claras diferencias entre el translocador mitocondrial responsable del influjo o entrada con respecto al sistema de transporte involucrado con el eflujo o salida.

El sistema de entrada aceptado universalmente, consiste en un translocador de tipo uniporte regulado por el potencial eléctrico, el cual se genera a través de la membrana mitocondrial por la distribución asimétrica de iones. En este sentido, la regulación de los movimientos de calcio llevada a cabo única e inequívocamente por el potencial eléctrico interno de la propia mitocondria es consistente con la hipótesis de que el sistema de flujos de calcio tiene el propósito primario de beneficiar la función mitocondrial y no la citoplasmática. De este modo, es el valor y, por supuesto, el signo del potencial eléctrico mitocondrial y no la concentración del calcio citoplasmático, quien actúa como monitor y señalador del ingreso neto de calcio a la mitocondria. Este uniporte es inhibido por rojo de rutenio con un alto grado de especificidad y a muy bajas concentraciones (la unión de 1 pmol/mg proteína es suficiente para inhibirlo). También el transportador se inhibe con los elementos de la serie de los lantánidos.

La entrada de Ca^{2+} a la mitocondria se ve aumentada cuando al catión se agrega un anión capaz de cotransportarse con H^+, como el fosfato inorgánico (P_i). Sin embargo, el Pi *per se* no actúa directamente sobre el translocador del influjo modificando su cinética, sino que penetra independientemente a través de un acarreador Pi-H , previniendo

a través de un acarreador $Pi\text{-}H^+$, previniendo así la formación de un mayor ΔpH.

Además, se han propuesto otros acarreadores para el influjo de Ca^{2+}, que han sido altamente cuestionados como son los simportadores $(Ca)_2{}^{4+}/HPO_4^{2-}$ y Ca^{2+}/β-hidroxibutirato.

Por otro lado, no existe ya ninguna duda en el presente de la existencia de un sistema de transporte de Ca^{2+} mitocondrial que específicamente regula el eflujo del ión divalente y el cual es independiente y diferente al translocador membranal que regula el influjo del ión al interior de la partícula. Sin embargo, debe señalarse que en contraste con el transportador que controla el influjo, el sistema de eflujo todavía no ha sido bien caracterizado, a pesar de que en los últimos 10 años éste ha sido campo de intenso estudio. El sistema, sin embargo presenta claras diferencias con el acarreador de influjo con respecto a su regulación. Una de sus características es no ser inhibido por la presencia de rojo de rutenio o lantánidos.

El requerimiento de sodio también distingue al influjo del eflujo de calcio; así, inicialmente, se propuso la existencia de un acarreador Na^+/Ca^{2+} que catalizaba el eflujo de Ca^{2+} en mitocondrias de corazón, músculo esquelético, glándula parótida, corteza suprarrenal y cerebro, y el cual se supuso que no existía en riñón, hígado, pulmón y útero. Empero, estudios más recientes muestran la existencia de este tipo de acarreador también en hígado. Se ha encontrado recientemente que la actividad de este supuesto acarreador Na^+/Ca^{2+} de hígado puede ser regulada por glucagon y agonistas β-adrenérgicos (3). También es altamente sugerente que el sodio sea un elemento primario para el control de eflujo del calcio, toda vez que la membrana mitocondrial de hígado muestra una afinidad natural para intercambiar sodio por protón más que alta que para intercambiar potasio por protón.

Asimismo, en los inicios del estudio del eflujo de Ca^{2+}, también se propuso en mitocondrias de hígado la existencia de un acarreador de tipo uniporte Ca^{2+}/H^+ regulado por el estado de óxido-reducción de los piridin-nucleótidos (4), sin embargo, se demostró más tarde que puede haber eflujos de Ca^{2+} independiente de cambios en el estado de óxido-reducción de los piridin-nucleótidos y que además, en las condiciones estudiadas, el eflujo de Ca^{2+} puede ocurrir a través del uniporte al invertirse su actividad cuando se colapsa el $\Delta\psi$.

No es tampoco de sorprender que el protón sea una de las principales especies iónicas que independiza el control del eflujo del calcio citoplasmático. En efecto, la poza metabólica de protones es el recurso energético predominante de la mitocondria y como tal puede garantizar la autonomía del organelo para mantener su homeostásis iónica, con respecto a la del citoplasma.

Por otra parte, existe un buen número de evidencias que señalan que el fosfato inorgánico está involucrado en el proceso directo de eflujo de Ca^{2+}, o bien como regulador del proceso. La regulación de este tipo de transporte por el ΔpH no está aún bien definida (5, 6). En estos últimos años se ha encontrado que en ciertas condiciones experimentales cuando se observa eflujos de Ca^{2+} dependiente de Pi, la presencia de ATP o Mg^{2+}, evita eventos en la mitocondria considerados como síntomas o reflejos de una catástrofe irreversible y deteriorante de la integridad membranal (colapso de $\Delta\psi$, aceleración de la respiración, salida de Mg^{2+}, salida de adenín nucleótidos e hinchamiento mitocondrial). Sin embargo también recientemente se ha demostrado que el colapso del $\Delta\psi$ en las condiciones expuestas no es un proceso irreversible, lo que abre entonces una nueva pregunta acerca del significado de estos eventos (7).

Finalmente un hallazgo en el estudio del eflujo de Ca^{2+} y su regulación, realizado por nuestro laboratorio, es el hecho de encontrar que el eflujo de Ca^{2+} muestra especificidad en cuanto a su requerimiento de sustratos oxidables; ésto es, el eflujo de Ca^{2+} acoplado al de Pi es promovido específicamente por β-hidroxibutirato, pero no por diversos metabolitos oxidables a través del ciclco de Krebs o directamente por vía oxidativa mitocondrial. Este eflujo, tanto de Ca^{2+} como de Pi, es inhibido al modificar el ΔpH mediante el uso de ionóforos carboxílicos, o bien en presencia de N'-etilmaleimida. El hecho de que la actividad del ionóforo catión monovalente/H^+ influya sobre el eflujo de Ca^{2+}, muestra la posibilidad de que, *in situ*, sea el antiporte Na^+/H^+ el que esté acoplado al eflujo de Ca^{2+} y que por lo tanto el acarreador Na^+/Ca^{2+} en mitocondrias de hígado no exista (8).

También consistente con la premisa de que el equilibrio iónico mitocondrial debe ser visto como un proceso independiente de las transiciones de calcio citoplasmático, lo constituye el hecho de que el acetoacetato tanto como el β-hidroxibutirato, oxidados en la mitocondria, controlan homólogamente el eflujo de calcio. Ambos aniones constituyen un sistema de recambio de equivalentes de óxido-reducción el cual primariamente puede estar orientado a suplir una fuente permanente de equivalentes reductivos en la matriz mitocondrial. Es evidente entonces, que la mitocondria posee una regulación

muy fina de sus propios niveles de calcio lo cual, estando regulado por el equilibrio Donnan y por los grandientes electroquímicos del Ca^{2+} y otras especies iónicas como el protón o el sodio, obviamente ocurre sin manifiesta dependencia unívoca de las concentraciones del calcio celular. Esto es asimismo compatible con el posible origen evolutivo independiente de la célula y la mitocondria. De aquí se desprende con naturalidad que el significado fisiológico del mecanismo de recambio mitocondrial de calcio involucre en sí la regulación del propio calcio intramitocondrial como un medio de controlar la capacidad transductora de energía de la mitocondria a través de equilibrar la magnitud y el signo de las diferencias de potencial electroquímico útil para capacitar la síntesis de ATP. Esta alternativa, para ser válida, requiere, sin embargo de que sea debidamente esclarecido el mecanismo molecular del acoplamiento entre los procesos de influjo y eflujo. Es más, no sólo ésta alternativa, sino la comprensión del papel del transporte de calcio mitocondrial en el procesamiento y control de la información visual, de la transdución en diversas hormonas y de la regulación electroquímica del impulso nervioso, entre otros, requiere de que sea bien caracterizado el proceso molecular detallado de los flujos de calcio. Esto se muestra con el hecho de que el ionóforo modelo de calcio, HLR-X537, descubierto por nuestro laboratorio, no solo transporta calcio, sino que también, como acarreador móvil aniónico, es capaz de transportar aminas biotransmisoras a través de membranas. El mismo translocador puede entonces mover al calcio y a otros metabolitos que están funcionalmente acoplados al rol biológico del catión divalente en ciertas estirpes celulares de alto rango.

Resumiendo, aquellos investigadores que están únicamente interesados en esclarecer el mecanismo molecular de la contracción muscular pueden afirmar que el transporte de calcio mitocondrial no es ciertamente el sistema buffer que auxilia al retículo sarcoplásmico muscular a mover grandes cantidades de calcio del y hacia el citoplasma. Esto no sorprende en lo mínimo a quienes trabajan en problemas de bioenergética y biomembranas. Hubiese sorprendido si la mitocondria se hubiese comportado como un buffer inespecífico eficiente.

Sin embargo, aquellos que están interesados en el rol del transporte de calcio en la conservación de energía, en la neurobiología, en la diferenciación celular, en la respuesta hormonal y en las transiciones plásticas de macromoléculas e interfases biológicas, entre otros procesos y fenómenos biológicos fundamentales, seguramente obtendrán una información de gran utilidad sustantiva al problema que cultivan cuando se aclare en detalle el mecanismo molecular del proceso de transporte de calcio en la membrana mitocondrial.

REFERENCIAS ESPECIFICAS

1. Somlyo, A.P. Somlyo, A V., Shuman, H., Scarpa, A., Endo, H. e Inesi, G. (1981). Mitochondria Do not Accumulate Significant Ca^{2+} Concentra ions in Normal Cells. En: Calcium and Phosphate Transport Across Biomembranes. Academic Press, New York, p.p. 87-93.

2. Ackerman, K.E.O. y Nicholls, D.G. (1983). Physiological and Bionergetic Aspects of Mitochondrial Calcium Transport. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. *95*, 149-201.

3. Goldstone, T.P., Duddrige. R.J. y Crompton M. (1983). The Activation of Na^{+} –Dependent Efflux of Ca^{2+} from Liver Mitochondria by Glucagon and β-adrenergic Agonists. Biochem. J. *210*, 463-472.

4. Lehninger, A.L., Vercesi, A. y Bababunmi, E.A. (1978), Regulation of Calcium release by the Oxido-Reduction State of Pyridine Nucleotides. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *72*, 187-190.

5. Tsokos, J. Cornwell, T.F. y Vlasuk, G. (1980). Ca^{2+} Efflux from Liver Mitochondria Induced by a Decrease in Extramitochondrial pH. FEBS Lett. *119*, 297-300.

6. Bernardi. P. y Azzone, G.V. (1983). Regulation of Ca^{2+} Efflux in Rat River Mitochondria. Role of Membrane Potential. Eur. J. Biochem. *134*, 377-383.

7. Toninello, A., Siliprandi, D. y Siliprandi, N. (1983). On the Mechanism by which Mg^{2+} and Adenine Nucleotides Restone Membrane Potential in Rat Liver Mitochondria Deenergized by Ca^{2+} and Phosphate. BBRC *11*, 792-797.

8. Toro, L., Toro, M. y Estrada-O., S. (1981). Specific regulation of mitochondrial calcium efflux by the oxidation of β-hydroxy-butirate coupled to the activity of the Pi-H^{+} and the Ca^{2+}/H^{+} porters. Biochem. Soc. Trans. *B59,* 132 P.

REFERENCIAS GENERALES

1. Ontko, J.A. y Westbrook, D.J. (1983). Dual Effects of Calcium on the Oxidation of Fatty Acids to Ketone Bodies in Liver Mitochondria. BBRC *116*, 173-179.
2. Williamson, J.R., Cooper, R.H. y Hoek, J.B. (1981). Role of Calcium in the Hormonal Regulation of Liver Metabolism. BBA *639*, 243-295.

ESTUDIOS BIOORGANICOS SOBRE LOS SITIOS RECEPTORES

(Nakanishi, K. Editor., Bioorganic Studies on Receptor Sites., TETRAHEDRON., *40*: (3) 455-592 (1984).

Este notable simposio organizado por el bien conocido Prof. Koji Nakanishi, de la Universidad de Columbia, EE.UU. recoge las contribuciones de un numeroso grupo de químicos asociados o no con bioquímicos de muy diversos lugares del mundo. Reconoce el Prof. Nakanishi "que la ciencia aquí es menos exacta que a la que el químico está acostumbrado y que este cambio algunas veces los conduce a caminos sin salida y a la frustración hasta que se consigue la comprensión y el manejo adecuado de los biopolímeros".

Como dice Nakanishi, los "recién llegados" al campo pueden contribuir con ideas frescas y hacer progresar esta importante área del conocimiento de las ciencias de la vida.

El simposio incluye catorce contribuciones originales, todas de interés: "Ruptura del DNA por afinidad. Rompimiento del DNA específico de secuencia por Distamicina-EDTA·Fe(II) y por EDTA-Distamicina·Fe(II)". "La estructura cristalina y la conformación molecular de la *treo*-5-metilmetadona, en relación con la unión al receptor opioide". "Siete nuevas rodopsinas isoméricas impedidas. Un reexamen de la estereoespecificidad del sitio de unión de la opsina bovina". "Unión covalente rápida y floja de cetonas como un mecanismo molecular en los receptores olfatorios de los vertebrados. Producción química de anosmia selectiva". "Marcado de fotoafinidad de la rodopsina bovina". "Interacción DNA-Bleomicina. Unión específica de secuencia de nucleótidos y ruptura del DNA por la Bleomicina". "Inactivación autocatalítica del citocromo P-450 y la cloroperoxidasa por el 1-aminobenzotriazol y otros precursores de arinos". "Neurotoxinas fotoactivables en el estudio de receptores de membranas". "Marcado de fotoafinidad para proteínas que se unen a hormonas juveniles de los insectos. Síntesis y evaluación "in vitro".

"Aislamiento de análogos de la saxitoxina sulfatados en la cadena lateral. Su significado en la interpretación del mecanismo de acción". "Ciclodextrinas funcionalizadas como receptores artificiales. Unión del huésped al bisimidazolil-β-ciclodextrina zinc". "Estudios con compuestos modelo relacionados con las peroxidasas-II. La reactividad química de un compuesto de protohemina multivalente". "Interacciones de la vancomicina y la ristocetina con péptidos como un modelo para la unión a las proteínas". "Ciclofano porfirinas y sus complejos metálicos. Estudio biomimético sobre el sitio receptor de la unión del oxígeno a la hemoproteína".

Guillermo Carvajal Sandoval
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
Instituto Politécnico Nacional.

RECEPTORES EN LA FARMACOLOGIA CLASICA Y EN LA BIOLOGIA CELULAR

Los días 22 y 23 de julio de 1983, tuvo lugar en Oxford un Symposium para conmemorar el XXV Aniversario de la revista BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY. Los resultados se publican en: Biochem. Pharmacol., 33: (6) 833-943 (1984) que constituye todo el número. Son cuarenta autores y 14 artículos, cuyos títulos son: "Criterios para los sitios receptores en los estudios de unión". "Receptores nicotínicos a la acetilcolina: una visión general", "Ligandos para los receptores de las benzodiazepinas con eficacia positiva y negativa". "El receptor hepático adrenérgico alfa$_1$". "Interacciones "in vitro" de agonistas y antagonistas con receptores β-adrenérgicos". "Interacciones de agonistas con receptores D-2 a la dopamina: evidencia para la existencia de una población de receptores simples existentes en estados de afinidad a agonistas múltiples en membranas estriatales de rata". "El receptor de la insulina: su estructura y función". "Transporte axonal de receptores: coexistencia con neurotransmisores y el reciclaje". "Farmacología de rereceptores de esteroides: de estudios moleculares y celulares hasta drogas antihormonales eficientes". "El receptor de los glucocorticoides en el hígado de rata". "El receptor Ah: especificidad de unión ¿sólo para compuestos químicos exógenos?". "Receptores para la transferrina: estructura y función". "Mecanismo de acción de los ésteres del forbol como promotores de los tumores: receptores específicos para ligandos lipofílicos". "Síntesis concomitante de factores de crecimiento y sus receptores-un aspecto de la transformación maligna".

Guillermo Carvajal Sandoval.
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
Instituto Politécnico Nacional.

LA BIOQUIMICA DE LA MEMORIA: UNA HIPOTESIS NUEVA Y ESPECIFICA

(Lynch, G. y Baudry, M., The Biochemistry of Memory: A new and Specific Hypothesis., SCIENCE., *224*: (4653) 1057-1063 (1984).

Estudios recientes han descubierto un proceso sináptico con las propiedades requeridas para una etapa intermedia en el almacenamiento de la memoria. En las membranas sinápticas del cerebro anterior, el calcio aumenta rápida e irreversiblemente, el número de receptores para el glutamato (un probable neurotransmisor) activando una proteinasa (la calpaína) que degrada a la fodrina, una proteína similar a la espectrina. Este proceso proporciona un medio mediante el cual la actividad fisiológica podría producir cambios de larga duración en la química sináptica y en la ultraestructura. Debido a que este proceso sólo está pobremente representado en el tallo cerebral, se emite la hipótesis de que este es responsable de aquellas formas de memoria localizadas en el telencéfalo.

Guillermo Carvajal Sandoval.
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
Instituto Politécnico Nacional.

DATOS EN APOYO DE QUE EL PRODUCTO GENICO TRANSFORMANTE DEL VIRUS DEL SARCOMA DE ROUS, FOSFORILA AL FOSFATIDILINOSITOL Y AL DIACILGLICEROL

(Sugimoto, Y., Whitman, M., Cantley, L.C. y Erikson, R.L., Evidence that the Rous sarcoma virus transforming gene product phosphorylates phosphatidylinositol and diacylglycerol., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., *81:* 2117-2121 (1984).

Se investigó la capacidad del producto génico transformante $pp60^{v\text{-}src}$ purificado del virus del Sarcoma de Rous, para fosforilar el fosfatidilinositol y el diacilglicerol. El fosfatidilinositol se fosforiló para formar tanto derivados mono como difosforilados. el 1, 2-Diaciglicerol se fosforiló para formar ácidos fosfatídicos. Estas actividades demostraron la misma termolabilidad y la misma sensibilidad a los inhibidores demostrada por la caseína-cinasa de $pp60^{v\text{-}src}$. Además, cuando los fibroblastos de embrión de pollo transformados por una mutante del virus sensible a la temperatura para la transformación se pasó de la temperatura no-permisiva a la permisva, se observó un aumento de 50 a 100% en la marca del fosfatidilinositol-4-fosfato, en el fosfatidilinositol-4, 5-bifosfato y en el ácido fosfatídico, comparados con las células no infectadas.

Guillermo Carvajal Sandoval.
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
Instituto Politécnico Nacional.

SE ASOCIA UNA PROTEINA TRANSFORMANTE DE UN VIRUS DE SARCOMA AVIARIO CON LA ACTIVIDAD DE FOSFATIDILINOSITOL CINASA: POSIBLE PAPEL EN LA TUMORIGENESIS.

(Macara, I.G., Marinetti, G.V. y Balduzzi, P.C., Transforming protein of avian sarcoma virus UR2 is associated with phosphatidylinositol kinase activity: Possible role in tumorigenesis., Proc., Natl Acad. Sci. USA., *81*: 2728-2732 (1984).

La proteína transformante del virus del sarcoma aviario UR2, $p68^{v\text{-}ros}$, tiene una actividad de proteína cinasa específica para la tirosina, similar a la de $p60^{v\text{-}src}$ y a varios otros productos de los oncogenes. Sin embargo, esta actividad no se ha ligado inequívocamente con la transformación y permanece en duda la acción fisiológica de estas proteínas. Ahora se ha encontrado que la $p68^{v\text{-}ros}$, también está asociada con la actividad de cinasa del fosfatidilinositol (ATP: PtdIns 4-fosfotransferasa, EC 2.7.1.67). El fosfatidilinositol 4,5-bifosfato [(PtdIns (4,5) P_2] inhibe específicamente esta actividad y la autofosforilación de la $p68^{v\text{-}ros}$. Además, las células transformadas por UR2 demostraron aumentos significativos en el marcado con ^{32}P del PtdIns 4-fosfato y en el PtdIns(4,5)P_2 así como en la formación de sus catabolitos, inositol 1,4-bisfosfato e inositol 1,4,5-trifosfato, comparado con las células no-infectadas. Estos resultados sugieren que una función fisiológicamente relevante de las cinasas de los oncogenes, podría ser la fosforilación de PtdIns y que el recambio aumentado del PtdIns4P y del PtdIns (4,5)P_2 podrían jugar un papel en la transformación, aumentando la formación del diacilglicerol, un catabolito de los polifosfoinosítidos que activan a la cinasa C. Esta proteína se copurifica con el receptor para el éster del forbol, y su activación está probablemente íntimamente ligada con la mitogénesis. Esta hipótesis sugiere un mecanismo mediante el cual ciertas proteínas oncogénicas podrían causar el típico crecimiento irrestricto de las células transformadas y podría explicar por-

qué los promotores de los tumores imitan o remedan muchos de los efectos de la transformación maligna.

Guillermo Carvajal Sandoval.
Escuela Nacional de Ciencis Biológicas.
Instituto Politécnico Nacional.

METODO DE TINCION DE PROTEINAS CON AZUL DE COOMASIE, DESPUES DE ELECTROFORESIS EN GELES DE POLIACRILAMIDA.

Introducción. El azul de Coomasie es uno de los colorantes más empleados para teñir proteínas incluidas en geles de poliacrilamida. Debido a que la intensidad del color es proporcional a la concentración de proteína en las bandas (manchas en el caso de geles bidimensionales) teñidas, se le puede usar con fines cuantitativos. Esto último se ve limitado por la dificultad para eliminar por completo al colorante que se adsorbe inespecíficamente a la matriz del gel. Es más, el color de "fondo" imposibilita detectar concentraciones de proteínas menores de 0.5 microgramos particularmente si son geles ácidos. El protocolo que se detalla a continuación elimina prácticamente todo el color basal; nos ha permitido detectar hasta 10 nanogramos de proteína en geles de isoelectroenfoque, pH ácido, pH básico o pH neutro en presencia de dodecil sulfato de sodio.

1. *Precipitación de las proteínas en el gel.*

1.1. Terminada la electroforesis, el gel se sumerge, en un recipiente adecuado, que contenga ácido tricloroacético (TCA) al 12.5% durante: a) 30 min (geles en placa hasta de 1 mm de grosor); b) 2 horas (geles en placa entre 1.5 mm a 3 mm de grosor); c) 6 horas (geles cilíndricos de 6 mm de diámetro), con agitación constante.

1.2. Lavar el gel con agua destilada. Cambiar el agua cada 15 min las veces que sea necesario, para eliminar todo el TCA libre (medir el pH del agua con papel indicador).

2. *Tinción de las proteínas.*

2.1. El gel se sumerge en una solución de azul de Coomasie al 0.1% disuelto en metanol-ácido acético-agua destilada (25:10:65 v/v) durante: a) una hora (geles en placa hasta de 1 mm de grosor); b) 3 a 5 horas (geles en placa entre 1.5 mm a 3 mm de grosor); c) 14 horas (geles cilíndricos de 6 mm de diámetro) en agitación constante.

3. *Desteñido del gel.*

3.1. Retire la solución de azul de Coomasie y elimine el exceso lavando el gel con agua destilada.

3.2. Sumerja el gel en las siguientes soluciones bajo agitación constante:

3.2.1 Etanol al 50% durante: a) 10 min (geles en placa hasta de 1 mm de grosor); b) 30 min (geles en placa entre 1.5 a 3 mm de grosor); una hora (geles cilíndricos de 6 mm de diámetro).

3.2.2 Etanol-ácido acético-agua destilada (30:7:63 v/v) durante: 30 min (geles en placa hasta de 1 mm de grosor); b) 4 horas (geles en placa entre 1.5 a 3 mm de grosor); c) 5 horas (geles cilíndricos).

3.2.3 Metanol-ácido acético-agua destilada (25:10:65 v/v) hasta eliminar todo el colorante de fondo.

4. *Comentarios;*

a) En el paso 1.2. es indispensable eliminar todo el TCA o de lo contrario el azul de Coomasie precipita y no penetra en el gel. b) El tratamiento más prolongado con etanol al 50% (paso 3.2.1.) puede afectar la tinción de algunas proteínas. c) Todas las soluciones son reutilizables. El azul de Coomasie de las soluciones de desteñido se elimina filtrándolas a través de carbón activado granular.

Dr. Samuel Zinker
Depto. de Genética y Biología Molecular.
CINVESTAU. I.P.N.

MENSAJE BIOQUIMICO

El Mensaje Bioquímico es una publicación anual editada por el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM. Esta publicación contiene el material de trabajo del Taller de Actualización Bioquímica del año correspondiente.

El Mensaje Bioquímico es difundido al inicio de cada Taller entre los asistentes y puesto a la venta en la librería de la Facultad de Medicina. Los volúmenes del I al VI contienen respectivamente los artículos escritos por los ponentes de los Talleres del V al X y vienen a constituir una excelente revisión de su tema, completado cada artículo con una extensa bibliografía.

Estamos anexando los índices de estos seis volúmenes y si usted desea contar con ellos, sírvase enviar a la Dra. Yolanda S. de Delgadillo, un cheque a nombre de la Facultad de Medicina, UNAM, por la cantidad de $1,155.00 en Moneda Nacional, costo de los seis volúmenes mencionados y otro cheque a nombre de la propia doctora S. de Delgadillo por la cantidad de $1,200.00 para gastos de envío.

MENSAJE BIOQUIMICO

VOL. I *TRABAJOS DEL V TALLER DE ACTUALIZACION BIOQUIMICA*

EDITORES: Y. SALDAÑA DE DELGADILLO, G. ALVAREZ LLERA Y E. PIÑA GARZA

PROLOGO VII
YOLANDA SALDAÑA DE DELGADILLO
Historia de los Talleres de Actualización Bioquímica 1
CARLOS DEL RIO ESTRADA
Las enzimas, magos del cambio químico 11
ANA CECILIA RODRIGUEZ DE ROMO, RANULFO ROMO Y PABLO RIVERA HIDALGO
Metabolismo de las lipoproteínas: hiperlipoproteinemias 23
MARTA ZENTELLA DE PIÑA Y GABRIEL CARRILLO S.
Bases moleculares del origen de la vida 71
FRANCISCO JAVIER SANCHEZ GARCIA
Experiencia integrativa de Bioquímica con otras materias 119
JESUS RUBEN GARCILASO PEREZ
Aspectos bioquímicos de los virus oncogénicos 135
GUILLERMO ALVAREZ LLERA Y SARA MORALES LOPEZ
La Nutrición: una unidad de autoenseñanza 147
LUIS ROGELIO HERNANDEZ MONTENEGRO
Excreción de ácido ascórbido en esquizofrénicos 165
ALFREDO DELGADO ARREDONDO
Bioquímica y Cibernética 182
JOSE ANTONIO PLIEGO
Efecto de la temperatura sobre la velocidad y la energía de activación de las reacciones catalizadas por enzimas membranales 205
J. EDGARDO ESCAMILLA MARVAN
La esporulación bacteriana 219
ALBERTO HUBERMAN
Biosíntesis de proteínas en procariotes 247

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina
U.N.A.M. México, 1978

MENSAJE BIOQUIMICO

VOL. II *TRABAJOS DEL VI TALLER DE ACTUALIZACION BIOQUIMICA*

EDITORES: Y. SALDAÑA DE DELGADILLO, F. FERNANDEZ GAVARRON Y J.C. DIAZ ZAGOYA

FRANCISCO FERNANDEZ DEL CASTILLO.
Breves Notas sobre el Departamento de Bioquímica IX
ENRIQUE PIÑA GARZA.
Apuntes para la Historia de la Bioquímica en México XIII
PROGRAMA .....
RAFAEL PALACIOS.
Organización del Genoma de Eucariotes 1
JOSE ALBERTO RIVERA BRECHU, HUMBERTO TRONCOSO ALTAMIRANO Y GERMAN DE LA GARZA.
Aspectos Generales sobre Bioquímica Ruminal 15
JUAN C. DIAZ ZAGOYA.
El mecanismo molecular de la iniciación del trabajo de parto 35
EDGARDO ESCAMILLA Y MARTA ZENTELLA DE PIÑA.
Purificación de Proteínas 65
MARGARITA ESCOBEDO GAMEROS, ROBERTO GUADARRAMA, ANGEL ABBUD Y AGUSTIN GONZALEZ LICEA.
Síndromes de Mala absorción. Enfermedad Celiaca o Enteropatía inducida por gluten: contribuciones al estudio de la etiología 93
MANUEL V. ORTEGA.
Mutaciones de ganancia en microorganismos: un posible mecanismo evolutivo ... 103
ALFONSO CARABEZ.
Membranas biológicas 113
PABLO R. RIVERA HIDALGO Y DANIEL HERNANDEZ LOPEZ.
Velocidad de Captación de los lípidos séricos 157
JOSUE GARZA F. JULIO QUEROL Y JOSE H. GARZA.
Radioinmunoanálisis; un análisis por competencia 183
JOSE ANTONIO YRIZAR, FEDERICO FERNANDEZ, FRANCISCA SANDOVAL, YOLANDA SALDAÑA, MA. EUGENIA GARCIA, MAGDALENA CARRILLO.
La teoría de grafos aplicada a la enseñanza de la Bioquímica en la carrera de Médico Cirujano de la U.N.A.M. 209

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina
U.N.A.M. México, 1979

MENSAJE BIOQUIMICO

VOL. III TRABAJOS DEL VII TALLER DE ACTUALIZACION BIOQUIMICA
EDITORES: Y. SALDAÑA DE DELGADILLO, J.C. DIAZ ZAGOYA Y J. GUZMAN GARCIA

Prólogo VII
YOLANDA SALDAÑA DE DELGADILLO.
La Investigación Docente IX
Programa XIII
FERNANDO ARIAS Y ORLANDO MARTIN.
Actividad invasora del trofoblasto y síntesis del activador del plasminógeno 1
WILHELM HANSBERG.
El ciclo de vida vegetativa de *N. Crassa* 31
GUILLERMO ALVAREZ, FRANCISCA SANDOVAL, YOLANDA SALDAÑA Y JOSE HUERTA.
Modelo para la sistematización de la enseñanza de la Bioquímica basado en la Teoría de Grafos 59
JOSEPH L. RABINOWITZ.
Alcoholismo. Aspectos bioquímicos 77
ENEDINA JIMENEZ, EUSTOLIA QUEZADA Y JESUS KUMATE.
Clasificación isoenzimática de amibas 87
ALBERTO HAMABATA Y J. LUIS MARTINEZ
El papel del agua en la germinación de las semillas 105
ALEJANDRO BLANCO.

Estructura de proteínas 139
MA. EUGENIA GARCIA SALAZAR.
La glucosa como carbohidrato, programa audiovisual de autoenseñanza 163
GABRIEL CARRILLO, RAFAEL REBOLLAR, ALFONSO JURADO, CARMEN ALVAREZ Y DAVID AVILA.
El área de difusión como generador de apoyos para la enseñanza de la Bioquímica en la Facultad de Medicina de la U.N.A.M. 175
LEONOR FERNANDEZ.
Estudios sobre el metabolismo de las purinas 193
MAGDALENA CARRILLO Y GABRIEL CARRILLO.
Algunas investigaciones que conciernen directamente al proceso enseñanza-aprendizaje 233
SERGIO ESTRADA O., GRACIELA BEATY Y MIREYA TORO.
La transducción de energía en la mitocondria 243
EDMUNDO CHAVEZ.
El transporte de aniones en mitocondrias 279

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, U.N.A.M.
México, 1980

MENSAJE BIOQUIMICO

VOL. IV TRABAJOS DEL VIII TALLER DE ACTUALIZACION BIOQUIMICA

EDITORES: Y. SALDAÑA DE DELGADILLO, A. HAMABATA NISHIMUTA Y J. GUZMAN GARCIA

PROLOGO 1
PROGRAMA 2
PHILIP P. COHEN
Aspectos de la Regulación de la Biosíntesis de Urea 3
J. JUAN ORTEGA CERDA Y CARLOS ALCOCER CUARON.
Departamento Multidisciplinario de Ciencias Básicas 24
J. A. HOLGUIN Y M. SIERRA.
Acción de los Digitálicos sobre la ATPasa de ($Na^+ + K^+$) 49
M. TUENA DE GOMEZ PUYOU Y A. GOMEZ PUYOU.
Estructura, Función y Regulación de las H^+–ATPasas. 93
J. JOSE MARTINEZ GUERRA.
Plan Unitario 121
ALEJANDRO BRAMBILA CENTENO.
Enseñanza de la Bioquímica en la U.A.G. 135
CRISTINA GONZALEZ DE MACSWINEY.
Papel Celular del Calcio 147
ELIAS HUMBERTO AVILA.
Metabolismo de las Coenzimas de Nicotinamida y Adenina 175
GUSTAVO GONZALEZ BONILLA Y SARA MORALES LOPEZ.
La Enseñanza de la Bioquímica en el Programa de Medicina General Integral 209
LILIA BENAVIDES P. Y ARCELIA DE LA ROZ P.
La Enseñanza de la Bioquímica en el Sistema Modular de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (U.A.M.–X) 233
HECTOR BOURGES RODRIGUEZ.
La Nutrición y la Enseñanza de la Bioquímica 253
JESUS MANUEL RODRIGUEZ.
Regulación de la Degradación de Proteínas 289
SAUL VILLA TREVIÑO.
Mecanismo de Acción de Substancias Químicas Carcinogénicas. Iniciación del Cáncer 321

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, U.N.A.M.
México, 1981

MENSAJE BIOQUIMICO

VOL. V TRABAJOS DEL IX TALLER DE ACTUALIZACION BIOQUIMICA

EDITORES: Y. SALDAÑA DE DELGADILLO, S. MORALES LOPEZ Y A. BRUNNER LIEBSHARD.

PROLOGO 9
PROGRAMA 10
ALBERTO HUBERMAN
Modificaciones Químicas Postraduccionales de las Proteínas y sus efectos Biológicos 11
ANTONIO PEÑA
El Transporte de Iones en Sistemas Biológicos 21
ANGEL ARROYO-BEGOVICH Y ANGEL ZARAIN-HERZBERG
Bioquímica y Fisiología de Entamoeba 39
FERNANDO BELTRAN
Consideraciones para La Organización de La Clase 57
MA. CARMEN GOMEZ EICHELMANN
Elementos Transponibles en Procariontes 75
EDMUNDO CALVA M.
El Colifago Lambda como Vehículo de Clonación 87
VICENTE DIAZ SANCHEZ, JOSUE GARZA FLORES, MA. DEL CARMEN ONEGA Y CATALINA CUELLAR
Las Hormonas Esteroides y su Aplicación en el Control de la Fertilidad en el Humano 103
JESUS MANUEL RODRIGUEZ M.
Nutrición, Crecimiento y Desarrollo. Materia Curricular de la Licenciatura de Médico-Cirujano en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí 119
ALEJANDRA VAZQUEZ, LUZ DEL CARMEN CASTELLANOS Y MANUEL ROBERT
Los Plasmidos Ti como Vectores Moleculares para la Transformación de Células Vegetales en Cultivo 127
ABIGAIL RAYAS VERA Y CARLOS GOMEZ-LOJERO
Fotosíntesis Anoxigénica 155
JESUS R. GARCILASO
Evaluación de los Cursos de Bioquímica en la Escuela de Ciencias Químicas de la Universidad de Sonora 189
ESTEBAN CELIS FLAM
Anticuerpos Monoclonales 201
JESUS CALDERON Y EVA E. AVILA
Movilidad de las Proteínas de la Superficie Celular 215

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina
U.N.A.M. México, 1982.

MENSAJE BIOQUIMICO

VOL. VI TRABAJOS DEL X TALLER DE ACTUALIZACION BIOQUIMICA

EDITORES: Y. SALDAÑA DE DELGADILLO, F. SANDOVAL ZAPATA Y A. HAMABATA NISHIMUTA.

PROLOGO I
PROGRAMA III
RICARDO TAPIA I.
Estudios Neuroquímicos de la Función de la Membrana Neuronal en la Transmisión Sináptica 1
LUIS R. HERNANDEZ M.
Bases Bioquímicas de la Memoria 21
MAGDALENA OLIVA Y GUADALUPE VELEZ P.

Las Prácticas de Laboratorio en la Enseñanza de la Bioquímica en la Facultad de Química de la U.N.A.M. 53
MARIO CALCAGNO M.
Metabolismo de los Aminoazúcares y su Regulación 79
ESTELA SANCHEZ DE JIMENEZ
Regulación de la Síntesis de Proteínas en la Germinación de Cereales 105
LOURIVAL D. POSSANI P. Y ALEJANDRO ALAGON C.
Cromatografía 125
GABRIEL CARRILLO S.
Moléculas Transportadoras de Oxígeno 159
SUSANA RAMIREZ R.
Genética Humana: Amplio Campo de Acción para el Bioquímico 177
ANTONIO VELAZQUEZ A. Y RICARDO ORTIZ P.
Prevención y Tratamiento de los Errores Innatos del Metabolismo 185
ALEJANDRO ALAGON C. Y LOURIVAL D. POSSANI P.
Electroforesis 227
JORGE PEREZ GAVILAN Y J. PABLO PEREZ GAVILAN
Aspectos Bioquímicos y Acción Microbiana en la Leche 273
VICENTE LOPEZ M.
Inmovilización de Enzimas 317
EDMUNDO CALVA M. Y ALMA I. AYALA
DNA y RNA: Metodología Experimental Básica 353
ENRIQUE HONG
Bases Farmacológicas del uso Terapéutico Potencial de los Prostanoides en el Tratamiento de la Ulcera Péptica 375
MARTA S. FERNANDEZ
Propiedades Electrostáticas de Superficies Biológicas 393
JAVIER PADILLA P., F. CARLOS DE LA VEGA L., CRISTINA EGUIA L. Y ROBERTO PERALTA R.
El Método Cibernético en la Enseñanza 427

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina
U.N.A.M. México, 1983.

INDICES DE REVISTAS

Trends in Biochemical Sciences

Published by the INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY and ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV

Volume 9, No. 5 Contents *May 1984*

Journal Club
The cellular distribution of steroid hormone receptors: have we got it right?, *by Colin R. Clark* 207
A better view of beta-receptors, *by Miles D. Houslay* 208
Further evidence for the common ancestry of cytochrome *b-c* complexes, *by J. Barber* 209

Features
Supercooling of tissue water to extreme low temperature in overwintering plants, *by Milon F. George and Michael J. Burke* 211
Open Question: What turns platelets on?, *by T. J. Rink and T. J. Hallam* 215
Emerging Techniques: Chromosome microdissection and microcloning, *by V. Pirrotta* 220

Letters to the Editor
Intermembrane space and the mechanism of biological free energy transduction, *from Olaf van Kooten* 221
The intermembranous space and the structure of mitochondrial 'membrane' in oxidative phosphorylation, *from V. Sitaramam and D. Sambasiva Rao* 222
The cytosol, cytoplasm and cytomatrix, *from C. J. Masters* 223

Reviews
Structure, function and evolution of the major histocompatibility complex of the mouse, *by Michael Steinmetz* 224
Three-dimensional crystals of ribosomal particles, *by Ada Yonath* 227
Protease nexins: cell-secreted proteins which regulate extracellular serine proteases, *by Daniel J. Knauer and Dennis D. Cunningham* 231
Are biological structures piles of molecules or just heaps?, *by John Galloway* 233
Lipoproteins, cell membranes and cellular functions, *by James S. Owen, Neil McIntyre and Michael P. T. Gillett* 238

100 Years Ago
Gram's staining reaction, Gram types and cell walls of bacteria, *by René Scherrer* 242

Book Review Supplement
An Era in New York Biochemistry: a Festschrift for Sarah Ratner (Maynard E. Pullman) *by John T. Edsall* 246
An introduction to the Physical Chemistry of Biological Organization (A. R. Peacocke) *by Joers W. Stucki* 246
Hemoglobin: Structure, Function, Evolution, and Pathology (R. E. Dickerson and I. Geis) *by Maurizio Brunori* 247
Interferon and cancer (K. Sikora) *by Velio Bocci* 247
DNA for Beginners (Israel Rosenfield, Edward Ziff and Borin Van Loon) *by Tim Hunt* 248
Recombinant DNA Techniques: An Introduction (R. L. Rodriguez and R. C. Tait) *by D. A. Ritchie* 249
Recombinant DNA: A Short Course (James D. Watson, John Tooze and David T. Kurtz) by *Rex L. Chisholm* 249
Molecular Biology: A Comprehensive Introduction to Prokaryotes and Eukaryotes (David Freifelder) *by Ian D. Hickson* 250
The Regulation of DNA Replication and Transcription (Mirko Beljanski) *by Klaus Geider* 250
Photosynthetic Prokaryotes: Cell Differentiation and Function (G. C. Papageorgiou and L. Packer) *by Venetia A. Saunders* 251
Gene Structure and Regulation in Development (Stephen Subtelny and Fotis C. Kafatos) *by Martin H. Johnston* 251
Biochemistry in Clinical Practice (D. L. Williams, and V. Marks) *by C. P. Price* 252
The Lively Membranes (Rutherford Robertson) *by Angelo Azzi* 253
Diabetes and the Endocrine Pancreas: A Biochemical Approach (William Montague) *by S. J. H. Ashcroft* 253

Noticeboard VI

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

El BEB es una revista dedicada a la divulgación de temas interesantes y relevantes en el campo de la bioquímica y en áreas afines. Está dirigido a profesores y estudiantes no especializados, por lo que se sugiere que la presentación de los trabajos se ajuste a sus lectores y sea simple explícita y didáctica. Serán bienvenidas las contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones. Solicitamos a los autores se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial.

I. ARTICULOS DE REVISION

1) El manuscrito no debe exceder de 12 cuartillas escritas a máquina a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por renglón).

2) Se aceptarán como máximo 6 figuras o tablas. La limitación en el número de figuras, tablas y referencias obliga a los autores a que seleccionen aquellas realmente importantes e informativas. Numere las figuras con números arábigos y las tablas con números romanos. Adicione las leyendas y pies de figuras en una hoja aparte. Considere que las figuras y tablas serán reducidas de tamaño, aproximadamente a 1/2 o 1/4 de la hoja carta, las letras o números más pequeños, una vez hecha la reducción no deben ser menores a los 2 mm.

3) Sugerimos un máximo de 10 referencias tanto específicas como lecturas recomendadas. Cada referencia debe contener: nombre(s) del autor(es), año entre paréntesis, título del artículo, nombre de la revista, volumen a cursiva y el número de la primera y última páginas. Ejemplos:

a) Miller, C.O. (1982). Cytokinin Modification of Mitochondrial Function. Plan Physiol. 69, 1274-1277.

b) Larkins, B.A., Pearlmutter, N.L. y Hurkman, W.J. (1979). The mechanism of zein synthesis and deposition in protein bodies of maize endosperm. En The Plant Seed. Development, Preservation, and Germination. Editores: Rubenstein, I., Phillips. R.L., Green, C.E. y Gengenbach, B.G. Academic Press. New York. pp. 49-55.

4) Evite hasta donde sea posible los pies de páginas. Las abreviaturas poco comunes utilizadas en el texto deberán, enlistarse en la primera página.

II. OTRAS COMUNICACIONES

1) El tema de las otras comunicaciones puede ser muy variado: desde resúmenes de artículos interesantes, relevantes o significativos, información de tipo general, bolsa de trabajo, etc.

2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera muy explícita.

3) El manuscrito debe ser de una a cuatro cuartillas de longitud, escritas en máquina a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por línea).

4) Se aceptarán un máximo de dos referencias incluídas entre paréntesis en el texto. En casos en que se juzgue necesario se podrá incluir una figura o tabla.

Los manuscritos serán leídos por dos revisores, uno de ellos familiarizado con el tema y el otro ajeno al mismo. Las correcciones y sugerencias se comunicarán al primer autor.

Envié el original y dos copias de los manuscritos a la Dra. Yolanda Saldaña de Delgadillo. Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, Apdo. Postal 70-159, Delegación Coyoacán, 04510 México, D.F., o al Dr. Alberto Hamabata, Depto. de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Apdo. Postal 14-740, 07000 México, D.F. o bien a través del corresponsal BEB.