REB 2003

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



Órgano de información de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC

Departamento de Bioquímica Facultad de Medicina UNAM



Facultad de Medicina, UNAM



Sociedad Mexicana de Bioquímica, AC

EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

Vol. 22

No. 3

SEPTIEMBRE 2003

COMITÉ EDITORIAL

EDITORES FUNDADORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias e Instituto Politécnico Nacional

JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales Universidad Autónoma de Querétaro

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina

Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina

Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES

CARLOS CERVANTES VEGA

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

SOCORRO CONCEPCIÓN DURÁN VARGAS

Instituto de Investigaciones Biomédicas Universidad Nacional Autónoma de México

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina

Universidad Nacional Autónoma de México

GRACIELA MEZA RUIZ

Instituto de Fisiología Celular

Universidad Nacional Autónoma de México

RAFAEL MORENO SÁNCHEZ

Instituto Nacional de Cardiología

"Dr. Ignacio Chávez"

ROSARIO ADELAIDA MUÑOZ CLARES

Facultad de Química

Universidad Nacional Autónoma de México

JORGE JOEL REYES MÉNDEZ

División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana

EMILIO ROJAS DEL CASTILLO

Instituto de Investigaciones Biomédicas Universidad Nacional Autónoma de México

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Instituto de Fisiología Celular

Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina

Universidad Nacional Autónoma de México

ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

Instituto de Fisiología Celular

Universidad Nacional Autónoma de México

EDITOR EN JEFE

JOSE VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados Instituto Politécnico Nacional

COORDINADOR DE CORRESPONSALES

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina

Universidad Nacional Autónoma de México

ASISTENTE EDITORIAL

MARIVEL ROJAS GARCÍA

Facultad de Medicina

Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES

MARÍA DE LOS ANGELES BOFFILL CÁRDENAS

Facultad de Ciencias Médicas

Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara, Cuba

ALMA LETICIA BORBOA OSUNA

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Sinaloa

JOSÉ CARLOS GARCÍA PIÑEIRO

Instituto de Ciencias Básicas "Victoria de Girón" Instituto Superior de Ciencias Médicas, La Habana, Cuba

EMA IRMA VEJAR RIVERA

Facultad de Ouímica

Universidad de Sonora

GUADALUPE OLIVA

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Tamaulipas, Matamoros, Tamps.

KATERINA LIRA RUÁN

Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Mor.

MARÍA DEL CARMEN RÍOS DE MOLINA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires, Argentina

Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la Universidad Nacional Autónoma de México en la base de datos **PERIÓDICA** (Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias)

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), publicación trimestral de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC. Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-281, Coyoacán, CP 04510 México, D. F. Certificados de: Licitud de Título: 12000; Licitud de Contenido: 8397 No. de expediente 1/432"2"/15792; Reserva al título en derecho de autor No. 04-2002-030616225500-102. Diseño: Efrén Huerta Balderas; Tiraje: 1,000 ejemplares. Impresión: Departamento de Impresos de la Facultad de Medicina, UNAM. Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg. No. PP09-0403; UNAM-Depto. de Bioquímica y Facultad de Medicina.

REB 2003 Vol 22 Núm 3 Septiembre de 2003

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

| EDITORIAL | OTRAS COMUNICACIONES |
|---|--|
| LAS HABILIDADES INTELECȚUALES | PROBLEMA BIOQUÍMICO. CINÉTICA ENZIMÁTICA: |
| DEL ESTUDIANTE DE BIOQUÍMICA | INHIBICIÓN POR PRODUCTO. |
| Yolanda Saldaña Balmori | Marcela Varela Gómez |
| ARTÍCULOS | CRUCIBIOQ. |
| | QUÍMICA DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS. |
| IMPORTANCIA DE LOS DOMÍNIOS DE INTERACCIÓN | Yolanda Saldaña Balmori |
| PROTEICA EN LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS | |
| EN LOS SISTEMAS DE TRANSDUCCIÓN | RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO |
| Alejandro Zentella Dehesa y Rocío Alcántara | Marcela Varela Gómez |
| Hernández 117 | COLLICIÓN AL CRUCIDIO |
| PLÁSTIDOS NO FOTOSINTÉTICOS: SU PAPEL | SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ Yolanda Saldaña Balmori161 |
| METABÓLICO Y LOS INTERCAMBIADORES | Totalida Satdalia Dallilott101 |
| DE SU MEMBRANA INTERNA | INFORME DEL XXX TALLER DE ACTUALIZACIÓN |
| Aurora Lara Núñez y Rogelio Rodríguez Sotres | BIOQUÍMICA |
| <i>y e e</i> | Óscar Flores Herrera, Alejandro Sosa Peinado, Héctor |
| DEFENSAS NATURALES EN EL GRANO DE MAÍZ | Riveros Rosas y Edgar Vázquez Contreras |
| AL ATAQUE DE Sitophilus zeamais | , |
| (MOTSCH, COLEOPTERA: CURCULIONIDAE): | INFORME DEL XI CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN |
| MECANISMOS Y BASES DE LA RESISTENCIA | MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C |
| Silverio García Lara, Andrew J. Burt, J. Antonio Serratos, | Yolanda Saldaña Balmori, Celia Virginia Sánchez |
| David M. Díaz Pontones, John T. Arnason y David J. Bergvinson | Meza y Sara Morales López |
| Deigvilison 138 | VOCABULARIO INGLÉS-ESPAÑOL DE BIOQUÍMICA |
| EL LICOPENO ES EL SUSTRATO PARA LA BIOSÍNTESIS | Y BIOLOGÍA MOLECULAR |
| DE BIXINA | Verónica Saladrigas y Gonzalo Claros |
| Juan Manuel Zaldívar Cruz y Gregorio Godoy | |
| Hernández 146 | CORRESPONSALES DE LA REVISTA DE |
| | EDUCACIÓN BIOQUÍMICA179 |
| | INSTRUCCIONES PARA LOS |
| | COLABORADORES DE LA REVISTA |
| | DE EDUCACIÓN BIOOUÍMICA180 |

REB 22(3): 115-116 115

EDITORIAL

LAS HABILIDADES INTELECTUALES DEL ESTUDIANTE DE BIOQUÍMICA

Uno de los retos más importantes de la enseñanza es el desarrollo de un pensamiento creativo en los estudiantes, que el aprendizaje les sirva para adquirir un criterio propio, de lo contrario sólo se tendrá individuos que son repetidores de la información.

El desarrollo de las habilidades intelectuales, como la expresión de las formas de asimilación de un contenido académico, es uno de los problemas más importantes de la enseñanza a todos los niveles, especialmente en la educación superior ya que son los profesionistas los que deberán aplicar la información adquirida, al tener la respuesta más adecuada a los cuestionamientos que la sociedad les haga.

La inteligencia ha sido definida por múltiples investigadores, pero en todas las definiciones el componente común es el que explora la capacidad de respuesta, el razonamiento y las alternativas de solución a problemas. Para poder avanzar como estudiante, por una carrera universitaria, se requiere un nivel de desarrollo de la inteligencia en la que el aprendiz actúe sobre proposiciones concretas, con mecanismos de lógica formal en la que puede deducir relaciones y concretar ideas.

El conocimiento y las habilidades tienen una estrecha relación, el primero se hará eficaz cuando se domina la habilidad; de nada sirve que un estudiante haya obtenido durante todo su desarrollo escolar excelentes calificaciones debido a su gran capacidad de memorización, si en el ejercicio profesional no tiene la intuición –léase habilidad— para diseñar estrategias que le ayuden a resolver un problema.

Siempre se ha dicho que una de las funciones de la Universidad es la de transmitir conocimientos y fomentar el saber; pero a mi juicio, la función más importante tendría que ser la de desarrollar la inteligencia e inducir mecanismos mentales. Dentro de las habilidades más importantes que el estudiante de la carrera de Medicina habrá de desarrollar están las que le permitan tener un pensamiento lógico, va que la asimilación del contenido que se exprese con el desarrollo de la inteligencia es altamente significativo; el aprendizaje adquirido le permitirá tener habilidad para: describir, definir, determinar, clasificar, analizar, caracterizar, comparar, relacionar, interpretar, explicar y argumentar cualquier situación clínica con la que se encuentre.

A la mayoría de los estudiantes de la carrera de Medicina, la asignatura de Bioquímica les resulta dificil y algunos de los aspectos que aumentan la dificultad de su aprendizaje radican en el nivel de abstracción a que se debe llegar para su comprensión y asimilación, además de la poca motivación que tienen al estudiarla, debido a que ellos piensan que esta ciencia es poco aplicable en su práctica profesional, por demás está decir que esta asignatura juega un papel fundamental en la formación de habilidades tanto prácticas como de razonamiento y en el desarrollo del pensamiento creador del estudiante, es una materia que debe contribuir a que en él se lleve a cabo el proceso mental para enfrentarse y resolver adecuadamente situaciones, tanto en relación con las disciplinas en las que la bioquímica es requisito, como en la aplicación de su conocimiento en la práctica médica mediante los procesos de induccióndeducción, análisis-síntesis y abstracciónconcreción.

116 REB 22(3): 115-116

que insistir en el aprendizaje de una determinada ruta metabólica, sería preferible que los estudiantes aprendieran a aprehender. Cuando el estudiante logra el aprendizaje de la bioquímica, al igual que el de otras materias, es porque en él se han establecido redes mentales que le permiten integrar conocimientos previos, además de que encuentra que esos conocimientos son de utilidad en su formación: pero es insoslayable el papel del profesor, es indispensable que éste tenga conocimientos sólidos en bioquímica, además de los elementos fundamentales de psicología y pedagogía para poderlos comunicar y con ello propiciar que en el estudiante se desencadene el complejo proceso del aprendizaje, el que sólo será ostensible cuando sea capaz de tener respuestas adecuadas debido a las habilidades intelectuales adquiridas. El mejor papel que el profesor puede tener es el de ser conductor del proceso de enseñanza-aprendizaje, donde debe prevalecer la acción de orientación sobre la de información.

Debido al cambio acelerado de los conocimientos

muchas fuentes de información, pienso que, más

en el mundo actual y a la facilidad de recurrir a las

Por otro lado, el profesor no puede allanar las carencias en las materias como son la química y la biología —que son la base para el aprendizaje de la bioquímica— con las que los estudiantes a veces llegan de las instituciones educativas anteriores, debido a que en ocasiones, el conocimiento tiene poca solidez ya que no se han estimulado las

habilidades intelectuales para interpretar, explicar, analizar y comparar a la altura de las necesidades que la bioquímica exige, pero lo que sí puede hacer, es ayudar a que los estudiantes se den cuenta de tales deficiencias mediante actividades que los conduzcan a rescatar aquello que debieran haber aprendido, ayudarles a despertar en ellos el deseo de adquirir ese nuevo aprendizaje y a que vean que el conocimiento exige esfuerzo, estudio, atención, rigor, disciplina y voluntad.

En fin, una pieza que puede ser muy importante para que el estudiante decida interesarse por el aprendizaje de la bioquímica, es el nivel de comunicación que tenga con su profesor, basado fundamentalmente en el respeto y la confianza mutua. El respeto del profesor por los estudiantes se expresa cuando: aclara las dudas que ellos planteen, escucha sus opiniones, ofrece ayuda al que va más atrasado, se interesa por las razones que hacen que el estudiante no asista con regularidad a clase, en una palabra les estimula a que aprendan; por otro lado el respeto del estudiante hacia el profesor se apoya en el reconocimiento de sus habilidades intelectuales, del conocimiento que tiene de la bioquímica y materias afines, de su comportamiento, del método de enseñanza, de la calidad humana y del interés que muestre por sus estudiantes.

> Dra. Yolanda Saldaña Balmori Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM

REB 22(3): 117-129

Importancia de los Dominios de Interacción Proteica en la Formación de Complejos en los Sistemas de Transducción*

Alejandro Zentella Dehesa¹ y Rocío Alcántara Hernández¹

RESUMEN

A lo largo de la evolución las células han desarrollado sofisticados sistemas de comunicación intercelular que a través de receptores específicos les permiten responder a estímulos externos, locales o incluso muy distantes. Al igual que muchos otros procesos celulares, los sistemas de transducción requieren de la formación de complejos multiproteicos. Se postula que las isoformas de los diferentes componentes que se asocian y el orden en que éstos se incorporan al complejo contribuyen a definir el tipo de respuesta celular generada. Las interacciones de los diferentes componentes dependen de regiones discretas de las proteínas denominadas dominios de interacción proteica, de los cuáles se han identificados varias docenas. Estas interacciones son altamente específicas y se rigen por principios bioquímicos sencillos, como interacciones entre residuos de aminoácidos polares, hidrofóbicos o con carga. Inicialmente se propuso que los diferentes componentes de estos complejos se encuentran dispersos en el citoplasma y que la formación de complejos se basa en la difusión simple y un encuentro azaroso. Sin embargo, una visión alterna propone la existencia de complejos preformados. Igualmente se propone que durante la aproximación de los componentes éstos influyen unos sobre otros incrementando la probabilidad de formar complejos estables. En este trabajo se revisan algunos de los conceptos más relevantes de las interacciones de los dominios proteicos ejemplificados en cuatro sistemas de transducción.

PALABRAS CLAVE: Región conductora, proteína andamio, proteína adaptadora, dominios homólogos a Src tipo 2 (SH2), dominios homólogos a Src tipo 3 (SH3).

ABSTRACT

Throughout evolution cells have involved sophisticated intracellular communication systems that through specific receptor allow them to respond to specific external local or distant stimuli. Just as many other cellular processes, transduction systems require the formation of multiproteic complexes. It has been postulated that the type and order in which the isoforms of the different components are incorporated into these complexes contribute to define the type of cellular response. The interactions between the different components depends on discrete regions of the proteins known as domains of proteic interactions from which several dozens have been identified. These interactions are highly specific and follow simple biochemical principles, such as the interactions between polar aminoacid residues, or those with hydrophobic or charged residues. Initially it was postulated that the different components of these complexes were dispersed in the cytoplasm and that complex formation was based on simple diffusion and random collisions. Nevertheless, an alternative vision postulates the existence of preformed complexes. It has been also postulated that during their approach, the two components influence each other in such a way that they increase the probability of forming stable complexes. In this review we present some of the most relevant concepts of the interactions of the proteic domains using four representative transduction systems.

KEY WORDS: Steering region, scaffold protein, adapter protein, Src homology domain type 2 (SH2), Src homology domain type 3 (SH3).

^{*}Recibido: 15 de abril de 2003. Aceptado: 8 de julio de 2003.

¹Departamento de Biología Celular, Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, México, D. F., 04510. Tels.: 5622-5609 y 5622-5612. Correo E: azentell@ifc.unam.mx; ralcanta@ifc.unam.mx

INTRODUCCIÓN

La descripción clásica de una vía de transducción de señales intracelulares muestra una secuencia lineal de eventos, en la que los diferentes componentes: receptores, proteínas acopladoras, amplificadoras y efectoras se encuentran distantes entre sí activándose de manera sucesiva. Todo esto termina en la activación de efectores que modifican el comportamiento celular, como ocurre con factores de transcripción que modulan la expresión de genes específicos que producen respuestas celulares específicas al estímulo inicial.

Sin embargo, este concepto está cambiando. Actualmente, se considera que la transducción de señales no ocurre de manera lineal, y que las diferentes moléculas que participan no se reclutan individualmente. En esta nueva visión se considera que se requiere de la formación de complejos multiproteicos para que se puedan transmitir las señales. A estas agrupaciones o módulos multiproteicos se les ha denominado transducisomas, pudiendo requerirse de más uno de estos transducisomas en diferentes etapas de un mismo proceso de señalización. En muchos casos, los elementos implicados en la señalización se encuentran anclados entre sí por medio de proteínas que funcionan como adaptadoras o andamios (1). El estudio de estos complejos multiproteicos ha permitido comprender con mayor claridad cómo ocurre la integración de distintas vías de comunicación intracelular, un concepto conocido desde hace mucho tiempo como interacción cruzada ("cross-talk"). Esta visión que contempla complejos proteicos preformados, permite explicar la rapidez y especificidad con la que se dan muchas respuestas celulares, algo que no resulta evidente si se considera una secuencia lineal de reclutamiento durante la señalización.

DOMINIOS SH2 Y SISTEMAS DE TRANSDUCCIÓN

El camino recorrido para llegar a esta nueva forma de visualizar las vías de transducción ha sido largo y abarca más de dos décadas. Puede decirse que un hallazgo significativo ocurrió en 1980, cuando el grupo de Joseph Schlessinger en la Universidad de Nueva York, indicó por primera vez que la unión del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) a su receptor con actividad intrínseca de cinasa de residuos de tirosina, ocasiona su dimerización y transfosforilación en residuos de tirosina en su extremo citoplásmico. Esto dio lugar un poco más adelante a que el grupo de Tony Pawson demostrara que la fosforilación del receptor es lo que permite el reclutamiento de proteínas que reconocen a las tirosinas modificadas por medio de dominios análogos a los que presenta la oncoproteína Src de donde se derivaron su siglas SH (del inglés: Src homology domain). Estas interacciones en particular, que se dan por medio de los dominios de homología tipo 2 (SH2) presentes en moléculas acopladoras como Grb2 inician la formación de un complejo multiproteico transduccional que se forma alrededor del receptor de PDGF una vez activado (1).

Durante la década siguiente, a mitad de los años 90's, Tony Pawson e Hidesaburo Hanafusa, entre otros investigadores, revelaron que muchas de las proteínas que participan en la comunicación intracelular presentan dominios SH2. Un análisis más detallado de su función reveló que en todas las proteínas analizadas, los dominios SH2 sirven para conectar una proteína con otra (1).

Adicionalmente, algunas proteínas con dominios SH2 tienen además dominios SH3 a través de los cuales se unen a otras proteínas (2).

La importancia de las interacciones mediadas por los dominios SH2 se refleia en los numerosos estudios cristalográficos orientados a comprender las bases bioquímicas que median estas interacciones (2). El dominio SH2 reconoce tirosinas fosforiladas en un contexto definido de 3 a 6 residuos de aminoácidos adyacentes al carboxilo terminal de la tirosina fosforilada en la proteína. Otras variantes de este tipo de dominios, como el SH3 reconoce en las proteínas específicamente segmentos ricos en prolina, en un contexto Pro-X-X-Pro (2, 3). En la Tabla I se muestran algunos ejemplos de proteínas con dominios SH2 y SH3, así como el papel que tienen en la transducción de señales (1, 2, 3).

Otras proteínas tienen dominios SH4 los cuales reconocen residuos de tirosina en la vecindad de la membrana plasmática. Las proteínas que portan dominios SH4 se encuentran asociadas a la cara citoplásmica de la membrana celular por medio de una miristoilación en un residuo de glicina (4).

La fosforilación de residuos de tirosina (P-Tyr) de muchos receptores es crucial para activar su vía de señalización, ya que esta modificación hace posible el reclutamiento de diferentes proteínas con dominios SH2 en respuesta al estímulo.

Podemos mencionar dos sistemas de transducción en donde esta forma de interacción proteica (P-Tyr/dominio SH2) es clave. El primero es el sistema de receptores para factores de crecimiento con actividad enzimática de cinasa de residuos de tirosina. El ejemplo prototipo es el receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas

PROTEÍNAS DEL COMPLEJO DE SEÑALIZACIÓN ACTIVO DEL RECEPTOR BETA PARA EL FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DE PLAQUETAS (R-PDGFβ)

TABLA I

PROTEÍNA **DOMINIO FUNCIÓN** Grb2 SH2/SH3 Adaptadora Sos PDZ/SH3 Promueve el intercambio de nucleótidos Ras SH2 **GTPasa** SH2/SH3 Activa GTPasas Gap SHP-2 Fosfatasa de residuos de Tyr SH2 Src SH2/SH3 Cinasa de residuos de Tyr Fosfolipasa PLCγ SH2 PI-3K p85 SH2/SH3 Cinasa del anillo de inositol **MEK** N-terminal Cinasa de residuos de Ser/Thr y Tyr MAPK D/FXPP Cinasa de residuos de Ser/Thr

Se indican los dominios de interacción proteica de cada proteína y su función.

(R-PDGFβ). Este receptor se transfosforila en 9 residuos de tirosina a los cuales se asocian específicamente proteínas con dominios SH2. Los residuos fosforilados Tyr579 y Tyr581 reclutan a Src, Tyr684 a Grb2, Tyr740 y Tyr751 a la PI-3K, Tyr771 a RasGAP, Tyr857 a PTPH-2, Tyr1009 a SHP2 y Tyr101 a la PLCγ (5) (Tabla I).

Por análisis cristalográfico se ha definido que el plegamiento del dominio SH2 comprende dos α -hélices entre las cuales se encuentra una hoja- β antiparalela. La conformación que presenta el dominio SH2 crea una zona con carga positiva sobre una de las caras de la hoja- β a la cuál se ancla el residuo de tirosina fosforilada, y también una superficie plana sobre los otros residuos de la secuencia contexto hacia el extremo carboxilo de la tirosina fosforilada (2).

Se han reportado más de 100 variantes del dominio SH2 presentes en una gran diversidad de enzimas y proteínas acopladoras (2, 3 y 4) y que pequeños cambios en su secuencia (constituido por aproximadamente 100 aminoácidos) pueden

alterar la especificidad de unión, aun si los cambios de secuencia se presentan fuera del sitio de reconocimiento. Por ejemplo, el dominio SH2 de Src reconoce a la secuencia pTyr-Glu-Glu-Ile. Si hay una mutación de un residuo de treonina por un triptofano dentro del dominio SH2, pero fuera de la secuencia de reconocimiento cambia la especificidad de la proteína. Esto ocurre porque el dominio SH2 mutado de Src cambia la superficie de contacto y asemeja a la superficie de contacto del dominio SH2 pero ahora de Grb2. Esto ocurre a pesar de que la secuencia que es reconocida por Grb2 es muy diferente (pTyr-X-Asn) (2).

El segundo es el sistema de receptores de células del sistema inmune (TCR). Este receptor es fosforilado en dos residuos de tirosina de la región denominada ITAM (Immunoreceptor -Tyrosine-based Activated Motif). Particularmente, cada una de las cadenas CD3 (ϵ , γ o δ) tienen un ITAM y cada cadena ζ tiene dos. Algunos de los elementos con dominios SH2 que se aso-

cian son cinasas de la familia Src (Yes, Lck, Fyn) y ZAP-70. Además, también se unen proteínas adaptadoras como LAT, SLP-76 y Vav, que también tiene actividad de intercambiadora de nucleótidos (Tabla I) (4).

En ambos casos, la importancia de la fosforilación en varios sitios, radica en la posibilidad de que un mismo sistema cuente con distintos patrones de fosforilación, permitiendo que un mismo sistema receptor pueda generar diferentes respuestas celulares.

DIVERSIDAD DE DOMINIOS DE INTERACCIÓN PROTEICA

La identificación de los dominios de interacción proteica SH2 llevó a la búsqueda e identificación de muchos otros dominios de interacción como los PTB, FHA, WD40, WW, EVH1, PH, FYVE, PX, ENTH y Tubby, sólo por mencionar algunos. Los dominios PTB reconocen elementos con una vuelta tipo beta o "β-turn" Asn-Pro-X-Tyr.

Otros dominios tales como FHA y WD40 reconocen residuos fosfo-

rilados en serina y treonina (3). Los bromodominios de las acetiltransferasas de histonas, reconocen residuos de lisina ya sea metilados o acetilados (2). Algunos dominios de interacción al igual que el SH3 reconocen regiones ricas en residuos de prolina, estos son el WW y el EVH1. Los dominios llamados PDZ reconocen regiones en el extremo carboxilo de las proteínas. Adicionalmente, existen dominios proteicos que se unen a fosfolípidos, estos se conocen como dominios PH, FYVE, PX, ENTH y Tubby (2).

A la fecha se han identificado al menos, 50 dominios distintos de interacción proteica y 200 proteínas que tienen uno o más de estos dominios. A las proteínas que tienen varios dominios de interacción se les conoce como andamios o multicontactos ya que tienen la capacidad de asociarse de manera simultánea con varias proteínas formando un complejo de señalización (1). En este sentido, el panorama de la transducción de señales mediada por la agrupación de proteínas se ha tornado dificil de entender, ya que al parecer existe la posibilidad de la formación de grupos proteicos muy grandes con componentes variables.

APROXIMACIONES EXPERIMEN-TALES AL ESTUDIO DE LA FOR-MACIÓN DE COMPLEJOS

Las interacciones entre proteínas han sido estudiadas ya desde hace muchos años por medio de diferentes técnicas bioquímicas, moleculares y celulares. Por ejemplo, la coinmunoprecipitación ha permitido demostrar que las interacciones proteína-proteína se establecen muy rápidamente y en orden secuencial (6). Un ensayo funcional de las interacciones proteicas como el ensayo de doble híbrido ha permitido corroborar la capacidad que

los diferentes dominios tienen para mediar las interacciones proteicas y para determinar la especificidad y la estabilidad de estas interacciones (7). El ensayo FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) que pone en evidencia la proximidad de dos proteínas, ha permitido cuantificar las afinidades de interacción entre dos o más proteínas (8). Con ayuda de la técnica de microscopía confocal también ha sido posible observar la formación in vivo de complejos proteicos entre dos proteínas marcadas con dos colorantes fluorescentes de diferente color y mostrar su localización subcelular en respuesta a la estimulación de los receptores (6).

Si bien la presencia de dominios de interacción proteica son determinantes en la formación de un dímero, éste no es el único requisito. La interacción entre dos proteínas requiere además condiciones fisicoquímicas particulares en el ambiente celular, tales como una energía libre y fuerza electrostática favorables que en conjunto resultan ser más eficientes en la formación de un complejo a que si se considerara un proceso totalmente azaroso. Estas condiciones permiten que la aproximación entre ambas proteínas tengan constantes de velocidad superior a 7 x 10⁹ M⁻¹s⁻¹, la esperada teóricamente, si el proceso sólo dependiera de la difusión libre. Ya que muchas constantes de velocidad a las que se dan diversas respuestas celulares son mayores, es de suponer que las interacciones proteicas se dan bajo condiciones en las que las colisiones no ocurren al azar. Además, en la formación de complejos proteicos es importante que cada proteína tenga una orientación y una conformación definidas que permita que ambas proteínas interactúen de forma óptima.

EL MODELO DE CONDUCCIÓN O "STEERING"

Inicialmente, se sugirió que los componentes que integran los complejos proteicos se encuentran dispersos homogéneamente en el citoplasma de la célula y que la asociación entre dos proteínas, llámense 1 y 2, es azarosa, de tal forma que puede no formarse un complejo proteico (Fig.1A). Por lo tanto para que se lleve a cabo la interacción entre la proteína 1 v la proteína 2 son necesarias tanto su difusión libre, como su rotación libre. En este proceso el ángulo de aproximación de cada proteína también es determinante para que se pueda dar dicha interacción. Por ejemplo, si sólo se consideran dos de las tres dimensiones la probabilidad de que las proteínas 1 y 2 se encuentren con la orientación adecuada sería de (1/360)*(1/360) = 7.7*10-6 (Fig. 1B). Con este ejemplo queda de manifiesto que la eficiencia de los sistemas de transducción basados únicamente en la difusión libre y la libre rotación de las moléculas sería muy ineficiente. Esta paradoja ha llevado a proponer que existe un componente adicional. Esto, con base en la velocidad que se necesita para la formación de muchos de estos complejos. Se ha postulado que un proceso de difusión dirigida es el que incrementa la probabilidad de que se establezca el anclaje preciso entre ambas proteínas (9). Se propone que este fenómeno ocurre cuando una de las dos proteínas ingresa al campo electrostático de la otra. A este espacio de influencia se le ha denominado región de conducción o "steering region". Una vez que una proteína se encuentra adentro de este espacio, la probabilidad de interacción entre las dos proteínas se incrementa. Esto ocurre en parte si los ángulos de rotación de cada proteína son más

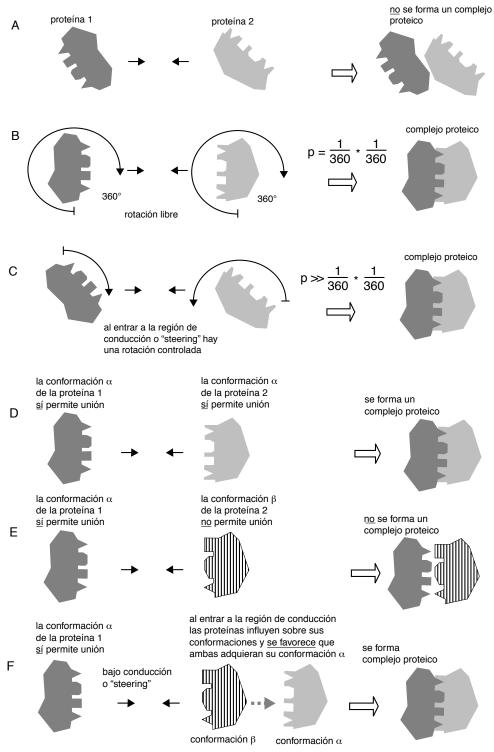


Figura 1. Importancia de la conducción o "steering" en la formación de complejos proteicos. La orientación de los dominios complementarios entre dos proteínas y 2 es determinante para la formación de un complejo proteico (A, B y C). Sólo uno de los ángulos de rotación de cada una de las proteínas permite el alineamiento correcto entre las dos superficies de interacción (B). Bajo el modelo de conducción, ambas proteínas afectan mutuamente su orientación incrementando significativamente la probabilidad de un alineamiento correcto (C). Adicionalmente, sólo ciertas conformaciones de ambas proteínas pueden dar lugar a complejos (E, D y F). Si consideramos que la proteína 2 puede tener dos conformaciones alternas $\alpha y \beta$, y que sólo la conformación α puede formar un complejo con la proteína 1, no hay interacción cuando la proteína 2 tiene conformación β (D). Bajo el modelo de conducción se incrementa significativamente la probabilidad de adoptar las conformaciones correctas (F).

controlados (Fig. 1C). La reorientación que las proteínas 1 y 2 adquieren durante su aproximación se explica con base en la distribución espacial particular, tanto de las cargas positivas como negativas de ambas proteínas. Este proceso de reorientación dirigida, resulta determinante para que exista una adecuada asociación entre los dominios que deben unirse. De tal manera que este proceso de orientación culmina con la formación de un complejo proteico específico y estable (Figs. 1B y 1C). Se considera que la región de conducción incrementa el número de ángulos y orientaciones posibles en las que las proteínas 1 y 2 pueden aproximarse para formar un complejo estable (Fig. 1F). Además, las proteínas que se encuentran en solución en el citoplasma de la célula, por ejemplo, pueden adquirir más de una conformación y sólo una de ellas es la que se considera la más favorable para que se realice dicha unión (Figs. 1D, E y F). Desde este punto de vista, las proteínas 1 y 2 podrían dar lugar a un complejo proteico sólo si las conformaciones de las dos proteínas fueran las adecuadas (Fig. 1D). De no ser así, la probabilidad de formar un complejo vuelve a ser muy limitada (Fig.1E). En este sentido, también se ha postulado que la conducción o "steering" puede favorecer simultáneamente la adquisición de la conformación adecuada que permita la formación del complejo (Fig.1F). En la asociación de las proteínas bacterianas TEM1-βlactamasa (TEM1) y su inhibidor BLIP (Beta Lactamase Inhibitor Protein) se ha observado una atracción mayor a distancias grandes sólo si la orientación de ambas proteínas es la correcta (9).

El modelo de conducción o "steering" permite explicar el reclutamiento secuencial de diferentes componentes, si se considera que una vez formado el complejo proteico, éste es ahora más eficiente en el reclutamiento de un tercer componente, y así sucesivamente. Se ha propuesto que una vez formados los contactos proteína-proteína el complejo se estabiliza tanto por las proteínas de andamiaje como por el establecimiento de múltiples interacciones entre los miembros del complejo.

La disociación de los elementos que forman el complejo marca el término de la señalización y por lo tanto, también debe ser un proceso regulado. A pesar de que aún no hay suficiente evidencia bioquímica, se postula qué cambios en el estado de fosforilación de las proteínas mediados por fosfatasas o bien, la fosforilación de las proteínas en posiciones inhibitorias, sean los eventos que desencadenen los cambios de conformación y/o del ambiente electrostático que desestabiliza al complejo. El resultado sería que pequeños cambios en uno de los componentes del complejo alteran las fuerzas que lo estabilizan, de tal manera que una rotación pequeña de una proteína con respecto de la otra hace que salgan de sus campos electrostáticos de influencia permitiendo su disociación (9).

Los resultados experimentales en este campo indican que para que se establezca una asociación proteica es indispensable: 1) el rearreglo estructural de las superficies de interacción con el fin de eliminar cualquier impedimento estérico que desfavorezca la unión, 2) que las cargas positivas y/o negativas de ambas proteínas se localicen en la superficie, 3) que exista una distancia muy pequeña entre ellas, de 5 a 20 Å y 4) una orientación correcta de los dominios de interacción proteica de las proteínas que interactúan.

Se ha demostrado con ensayos bioquímicos y de biología celular y molecular que los complejos proteicos formados para la transducción de señales tienen un recambio rápido. Por tanto, el modelo de conducción o "steering" permite explicar el dinamismo de estos complejos proteicos en los sistemas de transducción, explicando la velocidad a la que se forman, se recambian y se desensamblan.

EJEMPLOS DE COMPLEJOS MUL-TIPROTEICOS EN SISTEMAS DE SEÑALIZACIÓN

A continuación se presentan algunos ejemplos representativos de los diferentes complejos multiproteicos que se pueden formar dependiendo del tipo de familia de receptores activados.

El estudio de un gran número de receptores de membrana en eucariontes ha llevado a agruparlos en grandes familias: receptores de 7 dominios transmembranales (como los receptores adrenérgicos), receptores con dominios intracelulares de cinasas de residuos de tirosina (como los receptores de insulina y de factores de crecimiento), receptores con dominios intracelulares de cinasas de residuos de serina y/o treonina (como el receptor del factor transformate beta), receptores con dominios de muerte (como el del factor de necrosis tumoral alfa), receptores restringidos al sistema inmune (como el receptor de las células T o TCR), entre otros. Al analizar los componentes de los complejos que se forman al activar a estas diferentes familias de receptores se ha encontrado que hay grupos de proteínas particulares para cada una. Este descubrimiento permite explicar cómo la señalización de diferentes familias de receptores es un proceso

independiente de otros, sin embargo, no resuelve cómo es que diferentes receptores dentro de una misma familia producen diferentes respuestas celulares, aun cuando los componentes activados son muy similares o incluso son idénticos.

RECEPTOR PARA EL FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DE PLAQUETAS (PDGF) DE LA FA-MILIA DE RECEPTORES CON ACTIVIDAD INTRÍNSECA DE CI-NASA DE RESIDUOS DE TIROSINA

El estudio del mecanismo de transducción del receptor del el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) arrojó las primeras evidencias de la formación de complejos multiproteicos durante los procesos de transducción (1). Los receptores de PDGF son representativos de la familia de receptores para factores proteicos que presentan un dominio intracelular con actividad de cinasa de residuos de tirosina, cuya activación por ligando implica su dimerización y transfosforilación. La fosforilación ocurre en varios residuos de tirosina, y sirve como una señal para enlazar a una variedad de efectores y moléculas acopladoras tales como la PLC-y (fosfolipasa C gamma) v Grb2 respectivamente (Fig. 2). La unión de estas diferentes proteínas al receptor lleva a la activación de diferentes respuestas celulares. Así, por ejemplo, la PLC-y y la PI-3K generan segundos mensajeros, como el Ca²⁺ y fosfoinosítidos ligados a la activación de cinasas como a algunos miembros de la familia PKC. Por otro lado, la fosfatasa SHP-2 regula el estado de fosforilación del receptor apagando la señal de activación. Finalmente, al receptor activado también se une la proteína acopladora Grb2. Esta unión en particular está asociada a la proliferación celular, la respuesta mejor

caracterizada que parte de este receptor de membrana. En este sistema la unión de Grb2 al receptor se da por un dominio SH2, mientras que la unión de Grb2 a Sos se da por un dominio SH3 (Tabla I), por lo que en ausencia de fosforilación del residuo que es reconocido por Grb2, no se pueden formar complejos. En este caso, parecería que los componentes de la vía mitogénica (Grb2, Sos y Raf) tendrían que ser reclutados por difusión libre del citoplasma. Hasta ahora, en células de mamífero no se ha reportado la coinmunoprecipitación de estos

componentes en células no estimuladas, lo que apoya esta idea. Sin embargo, en levaduras se ha identificado a STE5 como una proteína de andamiaje que mantiene asociadas, formando un complejo, a las cinasas homólogas de Raf, MEK y MAPK (10).

De esta forma, la unión del PDGF a su receptor da lugar a diferentes respuestas que además parecen ser independientes unas de otras (1, 5) (Fig. 2). Una vez que Grb2 se une al receptor ésta sirve como proteína adaptadora para reclutar a la proteína Sos, que a su vez activa a Ras.

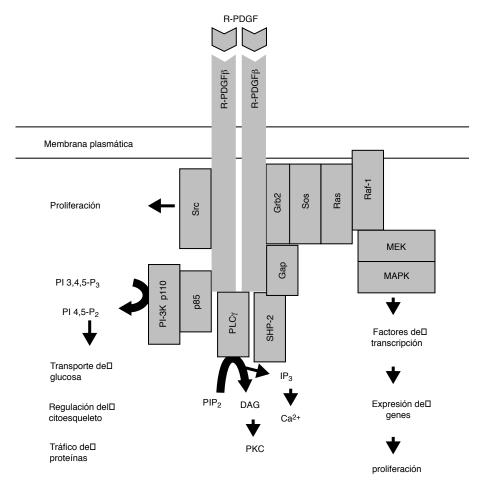


Figura 2. Complejo de señalización del R-PDGF beta. La unión del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) a su receptor específico Tipo β (R-PDGF β) induce tanto la dimerización como la transfosforilación de 9 residuos de tirosina de la región citoplásmica, lo que permite la asociación directa al R-PDGF de por lo menos 10 proteínas citosólicas distintas que regulan distintas respuestas celulares o la actividad del receptor. Los dominios SH2 y SH3 de estas proteínas juegan un papel muy importante en la formación del complejo.

A partir de la activación de Ras se inicia una cascada de fosforilaciones por las cinasas Raf, MEK y la MAPK (ERK1/2), que fosforila finalmente factores de transcripción que modulan la expresión de genes reguladores del ciclo celular (Fig. 2). Sin embargo, no hay que olvidar que el encendido de una u otra vía también depende de la expresión de los diferentes componentes en un tipo celular específico.

La cristalografía del dominio SH2 de proteínas como Grb2 y Src, por ejemplo, ha proporcionado información valiosa sobre las características que regulan la interacción proteica. En el caso particular de Grb2, se ha observado que el plegamiento ("folding") de su dominio SH2 usa un residuo de triptofano para reconocer eficazmente al residuo de fosfotirosina en el contexto pTyr-X-Asn (2). El dominio SH2 también puede unirse a este mismo sitio en

su forma no fosforilada, pero con menor afinidad ya que ambos dominios tienen energía de unión suficiente para el reconocimiento de los residuos adyacentes, de tal manera que se obtiene un grado de unión específica, pero probablemente la reacción sea rápidamente revertida.

Al analizar la cinética de asociación de proteínas con uno o dos dominios SH2 se ha encontrado un efecto cooperativo, esto quiere decir que la presencia de dos de estos dominios hace más eficiente el reconocimiento. Así, proteínas con dos dominios SH2 como la PLCy, la fosfatasa SHP-2, la subunidad catalítica de la PI-3K o el regulador RasGAP se unen más eficientemente a sus blancos, que proteínas con un solo dominio, como sucede en Grb2 o Src (2, 3 y 4). En la Tabla I se muestran las proteínas que forman parte del sistema del R-PDGF y sus dominios de interacción.

RECEPTOR β_2 -ADRENÉRGICO DE LA FAMILIA DE RECEPTORES DE SIETE DOMINIOS TRANSMEMBRANALES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G

De manera general, los sistemas de transducción de hormonas adrenérgicas se componen por receptores de siete dominios transmembranales, acoplados a proteínas G heterotriméricas que activan enzimas efectoras como la PLCB, que producen segundos mensajeros. Al complejo formado por el ligando, el receptor y la proteína G se le bautizó inicialmente como un sistema de tres componentes (11). Estudios más recientes muestran que el receptor, además de asociarse básicamente a estos elementos durante la señalización, puede interactuar con otras proteínas para formar un complejo de transducción que incluye cinasas, fosfatasas, adaptadoras y proteínas de andamiaje, entre otras (Tabla II).

TABLA II

PROTEÍNAS DEL COMPLEJO DE SEÑALIZACIÓN ACTIVO DEL RECEPTOR β₂-ADRENÉRGICO (β₂-AR)

| PROTEÍNA | DOMINIO | FUNCIÓN Receptor acoplado a proteínas G | |
|---------------|---|--|--|
| β_2 -AR | PDZ, D(N)PXXY | | |
| Dímero βγ | PH, WD40 | Anclaje a la membrana y moduladores de proteínas efectoras | |
| PLCβ | PDZ | Fosfolipasa | |
| AKAP | PDZ, N-terminal | Andamio | |
| ΡΚCδ | C1 y C2 | Cinasa de residuos de Ser/Thr | |
| PKA | DD (contiene un surco hidrofóbico) | Cinasa de residuos de Ser/Thr | |
| GRK2 | PH, RGS | Cinasa de residuos de Ser/Thr | |
| PP2A | HEAT | Fosfatasa de residuos de Ser/Thr | |
| PP2B | Región hidrofóbica | Fosfatasa de residuos de Ser/Thr | |
| Clatrina | LLDLE | Proteína estructural de vesículas | |
| Arrestina | Lámina β 1, α -hélice y lámina β del C-terminal. Regiones ricas en prolina | Adaptadora | |
| AP-2 | No se conoce | Adaptadora | |

Se indican las proteínas que pueden reclutarse al receptor, ya sea de forma constitutiva o en respuesta al estímulo. Se muestran los dominios de interacción proteíca de cada proteína y su función.

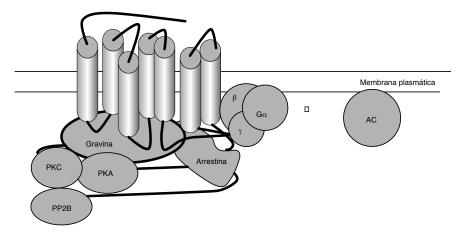
En este sistema de transducción podemos ejemplificar: a) la existencia constitutiva de complejos y b) las diferentes afinidades de interacción entre los diferentes componentes.

En contra de la idea de que los complejos multiproteicos se forman sólo una vez que el receptor ha sido activado, en este sistema se ha demostrado que existen complejos preformados. El receptor y la proteína G pueden formar un compleio aún en ausencia del ligando. En este modelo de preacoplado, el receptor tiene una conformación inactiva con la cual se une exclusivamente a la proteína G (12). El receptor β_2 adrenérgico, el prototipo de esta familia, además de interactuar con la proteína G se encuentra asociado de forma constitutiva con enzimas, tales como las isoformas clásicas de la PKC y la PP2A, y también con proteínas como la arrestina, que participa en el mecanismo que da lugar a la pérdida de respuesta del receptor (desensibilización). Igualmente, se asocia con la gravina, una AKAP (A-Kinase Anchoring Protein) que recluta a las proteínas antes mencionadas (12) (Fig. 3A). Se ha postulado que estos complejos preformados juegan un papel importante en la señalización, permitiendo un efecto bioquímico rápido y específico al mantener cerca del receptor a los elementos que regulan su estado de fosforilación, elementos que se encuentran río abajo de su activación por el ligando. Se piensa que la presencia de estas enzimas, en el complejo, hace posible que cuando son requeridas durante el proceso de transducción sea innecesario que difundan desde un sitio distante. En presencia del ligando, aumentan los componentes del complejo. Por una parte, se reclutan más de las proteínas que ya estaban asociadas en los complejos constitutivos. Por otra, se reclutan nuevos componentes, tales

como la cinasa GRK2 y Src, las fosfatasas PP2B y PP1, la adaptadora AP-2 y la clatrina, proteína estructural de las vesículas de internalización del receptor (13).

En la formación de complejos, las afinidades de la interacción entre cada uno de los componentes son importantes para definir el orden en el que éstos se agregan y también para determinar la estabilidad de los complejos formados. Por ejemplo, los complejos formados entre el regulador de la proteína G (RGS4), el dímero $\beta\gamma$ de la proteína G y la subunidad α (tanto con GDP unido como con GTP) y la PLC β se han caracterizado con gran detalle. Midiendo la transferencia de energía entre las proteínas marcadas con

A. Receptor no ocupado por el ligando



B. Receptor ocupado por el ligando

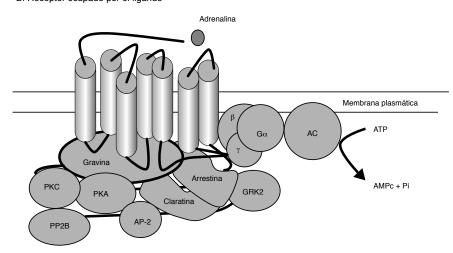


Figura 3. Complejo de señalización del receptor β 2-adrenérgico. *A)* En general, en ausencia del ligando el receptor y la proteína G heterotrimérica pueden existir como complejo. En este modelo el receptor "preacoplado" a la enzima efectora (AC) tiene una conformación inactiva. El receptor β 2-adrenérgico además, forma parte de un complejo preformado con otras proteínas (gravina, PKC, PKA, PP2B y la arrestina). B) Cuando el receptor β 2-adrenérgico es activado por su ligando, ocurre un cambio conformacional que le permite asociarse con la proteína $G\alpha$ s que activa a la adenilato ciclasa (AC) para generar AMPc. Otras proteínas se integran al complejo (PP2A; GRK2; que participan en el equilibrio de su estado de fosforilación y la clatrina y AP-2, que participan en el proceso de internalización del receptor).

fluoróforos, se han calculado experimentalmente las energías de contacto entre dichos componentes (14). Los resultados obtenidos indican que la asociación entre la proteína reguladora RGS4 y las subunidades α y βy es muy fuerte, con una Kd menor a 1 nM. Si in vivo estas condiciones prevalecen, explicarían cómo es que la proteína reguladora RGS4 se encuentra unida a las subunidades de la proteína G. aún en ausencia de ligando. Por otra parte, la proteína reguladora también puede interaccionar con la PLCβ, pero esta interacción es 10 veces menos afín que la interacción entre RGS4 y las subunidades α y β y. Esto implica que este complejo RGS4-PLCβ tiene una vida media más corta, sugiriendo que se trata de complejos transitorios. Estas evidencias fisicoguímicas de interacciones in vitro ofrecen un sustento para explicar porqué algunos complejos son más estables y prevalecen más tiempo, mientras que otros tienen una vida media corta. Es probable que haya otros componentes, como los cambios conformacionales de las proteínas, que contribuyen a la estabilización de los complejos o bien que existan múltiples contactos entre varios de los elementos que forman el complejo. Se ha postulado que el cambio en el estado de fosforilación de los diferentes componentes es la señal que da origen a dichos cambios conformacionales.

RECEPTOR DE LAS CÉLULAS T (TCR) DE LA FAMILIA DE RECEP-TORES DEL SISTEMA INMUNE

El receptor de las células T (TCR) es miembro de la familia de receptores con una de las composiciones más complejas por el número de proteínas que se requieren para formar un complejo de señalización activo. La unión del antígeno al TCR promueve ya sea, la diferenciación,

la sobrevivencia o la regulación de la función de las células T, respuestas enfocadas principalmente hacia la protección del organismo contra agentes infecciosos (4).

El TCR está formado por las subunidades α y β a las que se unen además los complejos CD3γ/CD3ε y CD3δ/ CD3ε, así como dos cadenas ζ. Al complejo del TCR activo también se añaden otras proteínas. Las primeras en asociarse son las cinasas Lck y Fyn que lo fosforilan, posteriormente, se une la cinasa ZAP-70 que fosforila a LAT y a SLP-76, ambas proteínas adaptadoras. La fosforilación de LAT crea sitios de reconocimiento para proteínas con dominios SH2, como la PLCy1 y para las proteínas adaptadoras Grb2, Grap y Gads. Por su parte, SLP-76 sirve de plataforma para la PLCy, para Vav un intercambiador de nucleótidos, para el adaptador Nik y para la cinasa Itk (4).

Se ha propuesto que los sistemas de receptores con muchos componentes, como el TCR y otros característicos de células del sistema inmune, reflejan un alto grado de regulación v de selectividad para su activación. La unión del antígeno al TCR promueve el ensamblaje de todas estas distintas subunidades v cadenas en una combinación y secuencia particular para cada antígeno reconocido por el TCR. A pesar de la multitud de elementos que participan, el ensamblaje depende en gran medida de sólo nueve residuos de aminoácidos altamente conservados en las hélices transmembranales de las cadenas α , β , CD3δ, CD3ε, CD3γ y ζ. Mientras que dos residuos básicos presentes en la cadena α interaccionan electrostáticamente con dos residuos ácidos del dímero CD3δ/CD3β, el otro residuo básico de la cadena \alpha lo hace con residuos ácidos de las cadenas \(\Cappa \). Algo similar ocurre entre

un residuo básico de la cadena β y dos residuos ácidos del dímero CD3γ/CD3ε (15). EL reducido número de residuos que participan en la formación de estos complejos muestra una vez más la importancia de pequeños dominios en las interacciones proteína-proteína.

RECEPTOR DEL FACTOR DE NE-CROSIS TUMORAL ALFA (TNF-α) DE LA FAMILIA DE RECEPTORES CON DOMINIOS DE MUERTE

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es una citocina con función pleiotrópica, que induce respuestas biológicas como la muerte celular por apoptosis, la proliferación o la diferenciación, además de ser un mediador clave en la activación de la respuesta del proceso inflamatorio (16).

Se han identificado dos receptores para el TNF-α denominados receptor tipo I (TNFRI) y receptor tipo II (TNFRII), de los cuales el más estudiado es el tipo II. El TNFRI es una proteína con un solo pase transmembranal que en respuesta al ligando forma un trímero. Inicialmente, a través de sus dominios citoplásmicos, el trímero activo recluta diferentes proteínas adaptadoras (17). Esta interacción ocurre a través de tres dominios de interacción proteica denominados dominios de muerte (DD) que se localizan en el extremo intracelular de cada una de las subunidades que forman al receptor. La primera proteína adaptadora que se asocia al receptor es TRADD (TNF-Receptor Associated Death Domain). Esta proteína tiene dominios efectores de muerte (DED) con los que puede asociarse a las siguientes proteínas adaptadoras: TRAF (TNF-Receptor Associated Factor) y FADD (Fas-Associated Death Domain). A éstas se unen de manera secuencial zimógenos de caspasas y/o cinasas

de residuos de serina y treonina. Al dominio DD del TNFRI también puede unirse la proteína adaptadora denominada FAN (<u>Fas Associated Neutral sphingomyelinase</u>), que media la activación de la esfingomielinasa neutra en la membrana plasmática.

Al parecer, la diversidad en las respuestas celulares al TNF-α está mediada en gran parte por el tipo de proteína adaptadora que se asocia al receptor, así como por el tipo de efectores que se integran al complejo de señalización. Por ejemplo, sólo de la proteína TRAF existen seis isoformas de las cuales tres son ubicuas (las isoformas 2, 3 y 6) y tres tienen un patrón de expresión restringido a órganos como el bazo, testículos o el pulmón (las isoformas 1, 4 y 5) (18). Esto sugiere que la expresión de cada isoforma de TRAF tiene una regulación específica. Además, las distintas isoformas de TRAF tienen la capacidad de asociarse directamente a una gran variedad de receptores relacionados con la familia definida por el TNFRI, tales como CD40, R-IL-15, R-IL-17, entre otros. También interactúan con cinasas efectoras o amplificadoras como IRAK, NIK, RIP, PKCζ y Src; e incluso con proteínas adaptadoras y reguladoras como TRIP, A20, TRADD, filamina o la nucleoporina (18).

La amplia gama de posibles interacciones proteicas y la expresión diferencial de las moléculas que forman los complejos transduccionales del TNFRI pueden explicar, al menos en parte, porqué en ninguna célula primaria el TNF-α induce apoptosis, pero sí lo hace en diferentes tipos de células transformadas. De la misma manera, permite entender cómo esta citocina puede evocar diferentes respuestas en un sólo tipo celular, como ocurre en las células endoteliales. Mientras que en

cultivos primarios de células endoteliales de microvasculatura induce proliferación, en las células endoteliales del cordón umbilical humano induce un fenotipo activado característico de la reacción inflamatoria.

La vía apoptótica que activa el TNFRI es la mejor caracterizada en cuanto a la formación de un complejo de señalización. En respuesta al ligando se forma un complejo multiproteico denominado disco de muerte o DISC. En este complejo participan las proteínas TNFRI-TRADD-FADD y la procaspasa 8 y la estabilidad del complejo depende de los dominios DD y DED de dichas proteínas. Algunos estudios de unión de estos dominios han revelado que la interacción DD-DD como la que sucede entre el TNFRI y FADD es de carácter electrostático, mientras que la interacción DED-DED entre FADD y la procaspasa 8 es de carácter hidrofóbico (17). Por otra parte, la vía de sobrevivencia y proliferación requiere del TNFRI y de su asociación con TRADD-FADD v NIK o RIP.

El estudio cristalográfico de dos de estos elementos en el sistema del receptor Toll en Drosophyla melanogaster ha permitido visualizar con detalle las interacciones proteicas entre TRAF y NIK. Al analizar la formación de complejos diméricos entre los dominios DD de la proteína adaptadora Tube (análoga a TRAF) y la cinasa Pelle (análoga a NIK) se ha revelado que la asociación DD-DD involucra una mezcla de varios tipos de interacciones químicas, algunas electrostáticas, otras hidrofóbicas y otras más de naturaleza polar (19). Se ha propuesto que pueden existir variantes de los dominios DD que presentan dos de las tres interacciones químicas identificadas en este sistema.

La estructura cristalina revela que el dímero Tube-DD-DD-Pelle adop-

ta una estructura tridimensional en forma de haz helicoidal ("helical bundle") con seis hélices arregladas de manera antiparalela, en una especie de sandwich, en donde una cara está formada por las hélices 1, 4 y 6 y la otra por las hélices 2, 3 y 5. Cuatro de los cinco residuos de aminoácidos conservados (LWLF) del dominio DD de Pelle forman un núcleo hidrofóbico relevante para la interacción. La estructura permite tener interfaces plásticas o móviles que hacen posible el contacto entre las hélices de los dominios de muerte. La topología de los dominios DD es similar a la de los dominios DED (19).

Todo esto muestra nuevamente que la unión y estabilización de complejos multiproteicos dependen de pequeños dominios y de las características bioquímicas que rigen sus interacciones.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La complejidad en las redes de señalización en los organismos superiores depende de un gran número de interconexiones proteicas. Estas interacciones proteína-proteína están mediadas por dominios de interacción proteica, de los cuáles se han descrito varias docenas. Estos dominios se encuentran como módulos dentro de la secuencia primaria de una gran variedad de proteínas. En ocasiones, las proteínas pueden presentar diferentes dominios de interacción proteica con funcionamiento independiente, permitiendo su interacción simultánea con dos o más proteínas. La manera en la que estos dominios interaccionan entre sí, se rige por parámetros tales como: 1) la concentración de cada proteína, la cual depende tanto de la vida media como de su control genético, 2) la afinidad de la interacción, que puede ser constante o afectada por cambios postrasduccionales,

3) la estabilización de la unión por las distintas conformaciones adquiridas, ya sea por fosforilacion o por asociación con otras proteínas, 4) la existencia de una región conductora ("steering region") cuyo principio se basa en la densidad de carga y en superficies hidrofóbicas o polares, 5) la localización subcelular que depende de modificaciones como la miristoilación o la acetilación y 6) la agregación, ya sea directa o indirecta con los receptores. Estos puntos en conjunto permiten explicar la gran diversidad en las funciones biológicas que una sola proteína puede desempeñar en una célula bajo un contexto biológico definido.

Se postula que los sistemas de señalización han evolucionado junto con los módulos de interacción proteica. Una vez establecido el sistema de etiquetado bioquímico de proteínas por fosforilación de residuos de tirosina, serina o treonina, surgieron los dominios de interacción proteica controlados por estos cambios. El análisis de secuencias muestra que los dominios SH2 son probablemente un grupo ancestral de este tipo de dominios. La naturaleza modular de los dominios proteicos ha permitido que dominios de interacción como SH2 se integren a proteínas con una gran variedad de funciones. La diversidad de proteínas con dominios SH2 ejemplifica cómo los dominios de interacción proteica contribuyen a la formación de nuevas vías y complejas redes de señalización.

Nuevas herramientas han permitido analizar estas interacciones tanto *in vitro* como *in vivo*. El ensayo de FRET, la coinmunoprecipitación, y la técnica de microscopía confocal han permitido evidenciar y visualizar la formación de complejos proteicos funcionalmente relevantes, y conocer la dinámica y la especificidad de estas asociaciones. El desarrollo de

la biología molecular ha permitido generar deleciones y mutaciones puntuales específicas definiendo con gran detalle las regiones de interacción entre dos proteínas. Adicionalmente, ha permitido aplicar los ensayos de doble híbrido y de despliegue de fagos a gran escala, generando bibliotecas de dominios proteicos.

Estas técnicas junto con la cristalografía, la resonancia magnética y la espectrometría de masas han hecho posible entender con gran detalle la naturaleza bioquímica de las interacciones entre algunos de los dominios de interacción.

Finalmente, el surgimiento de la genómica, de la proteómica y de su relación con la bioinformática promete ampliar, mucho más allá de lo esperado, la identificación de dominios de interacción en todas las proteínas codificadas por un genoma. Los estudios preliminares de proteómica en levaduras y nemátodos están preparando el camino para su aplicación en humanos. Si bien la identificación de todos los dominios de interacción proteica y de las bases bioquímicas que modulan sus interacciones no responderá todas las preguntas relevantes de los sistemas de transducción, sí permitirá conocer al menos todos los circuitos de señalización que pueda formar un tipo celular bajo una condición fisiológica definida.

GLOSARIO

C1; dominio de unión del activador ("activator-binding C1 domain").

C2; dominio de unión a calcio ("Ca²⁺-binding C2 domain").

DD; dominio de muerte ("death domain").

DD*; dominio de dimerización y reclutamiento ("<u>D</u>imerization/ <u>Docking domain</u>).

DED; dominio efector de muerte ("death effector domain").

EVH1; dominio homólogo a VASP (fosfoproteína estimulada por vasodilatador/inductor ("vasodilator inducer stimulated phospho protein").

FHA; dominio asociado a cabeza bifida ("Forkhead-associated").

FYVE; dominio rico en cisteínas que se une a 2 iones Zn²⁺, su nombre deriva de la primera letra de las cuatro proteínas en las cuáles se identifica Fab1p, YOTB, Vac1p y EEA1 (early endosomal antigen 1) ("small zinc finger-like domains; (Fab1p, YOTB, Vac1p y EEA1) domains").

HEAT; dominio que se encuentra en proteínas como Huntigtina, factor de elongación, subunidad A de la cinasa de lípidos TOR ("<u>H</u>untingtin-<u>E</u>longation-<u>A</u> subunit-TOR").

PDZ; dominio de densidad postsináptica /discogrande/201 ("postsynaptic-density-95/Disck-large/201").

PH; dominio homólogo a pleckstrina ("Pleckstrin domain").

PTB; dominio de unión a una tirosina fosforilada ("phosphotyrosinebinding domain").

RGS; dominios homólogos a las proteínas reguladoras de la señalización de proteína G. (RGS) ("Regulatory proteíns of <u>G</u> protein <u>Signalling</u> domains").

SH1-4; regiones homólogas a la oncoproteína Src en los dominios 1, 2, 3 y 4 ("Src-homology 1, 3, 4 domains").

Tubby; dominio rechoncho ("tubby domain").

WD40; dominio de 7 repeticiones de hoja-beta ("seven blanded beta propeller WD40 repeat domain").

WW; dominio con 2 residuos de triptofano conservados ("WW domain").

AGRADECIMIENTOS

A Rosario Villaseñor por su colaboración en la elaboración del manuscrito

REFERENCIAS

- **1.** Scott J D y Pawson T (2000) Cell communication: the inside story. Scientific American *282*: 54-61.
- **2.** Pawson T, Gish G D y Nash P (2001) SH2 domains, interaction modules and cellular wiring. TRENDS Cell Biol *11*: 504-511.
- **3.** Pawson T, Raina M y Nash P (2002) Interaction domains: from simple binding events to complex cellular behavoir. FEBS Lett *513*: 2-10.
- **4.** Kennedy J S, Raab M y Rudd C E (1999). Signaling scaffolds in immune cells. Cell Calcium *26*: 227-235.
- **5.** Bernard A y Kazlauskas A (1999) Phosphospecific antibodies reveal temporal regulation of platelet-derived growth factor β receptor signaling. Exper Cell Res 253: 704-712.
- **6.** Shogren-Kanaak M A, Alaimo P J y Shokat K M (2001) Recent advances in chemical approaches to the study of biological systems. Annu Rev Cell Dev *17*: 405-433.
- **7.** Stephens D J y Banting G (2000) The use of yeast two-hibrid screens in studies of protein:protein interactions involved in traffiking. Traffic 1: 763-768.
- 8. Wounters F S, Verveer P J y Bastiaens P I H (2001) Imaging biochemistry inside cells. TRENDS Cell Biol 11: 203-211.
- **9.** Selzer T y Schreiber G (2001) New insights into the mechanism of protein-protein association. Proteins *45*: 190-198.
- **10.** Park S H, Zarrinpar A y Lim W A (2002) Rewiring MAP kinase pathways using alternative scaffold assembly mechanisms. Science *299*: 1061-1064.

- **11.** Skalar L A, Swann W N, Fay S P y Oades Z G (1989) Real-time analysis of macromolecular assembly during cell activation. Edit. Vandehoek, J Y. Biology of Cellular Transduction Signals. pp. 1-10.
- **12.** Kukkonen J P, Näsman J y Akerman KEO (2001) Modelling of promiscuous receptor-Gi/Gs-protein coupling and effector response. Science *22*: 616-622.
- **13.** Pierce K L, Premont R T y Lefkowitz R J (2002) Seventransmembrane receptors. Nature/Mol Cell Biol *3*: 639-650.
- **14.** Dowal L, Elliot J, Popov S, Wilkie T M y Scarlata S (2001) Determination of the contact energies beetwen a regulator of G protein signaling and G protein subunits and phospholipases Cβ1. Biochemistry *40*: 414-421.
- **15.** Call M E, Pyrdol J, Wiedmann M y Wucherpfennig K W (2002) The organization principle in the formation of the T Cell Receptor-CD3 complex. Cell *111*: 967-979.
- **16.** MacEwan D J (2001) TNF receptor subtype signaling: differences and cellular consequences. Cell Signall *14*: 477-492.
- **17.** Kaufmann M, Bozic, D, Briand C, Bodmer J-L, Zrebe O, Kohl A, Tschopp J y Grutter M G (2002) Identification of a basic surface area of the FADD death effector domain critical for apoptotic signaling. FEBS Lett *527*: 250-254.
- **18.** Wajant H, Henkler F y Scheurich P (2001) The TNF-receptor-associated factor family scaffold molecules for cytokine receptors, kinases and their regulators. Cell Signall *13*: 389-400.
- **19.** Xiao T, Towb P, Wasermann S A y Sprang S R (1999) Three-dimensional structure of a complex between the death domains of Pelle and Tube. Cell *99*: 545-555.

130 REB *22*(3): 130-137

PLÁSTIDOS NO FOTOSINTÉTICOS: SU PAPEL METABÓLICO Y LOS INTERCAMBIADORES DE SU MEMBRANA INTERNA*

Aurora Lara Núñez¹ y Rogelio Rodríguez Sotres¹

RESUMEN

Los plástidos son orgánulos presentes en casi todas las células vegetales y que, en las células fotosintéticas, dan lugar a los cloroplastos. Aun no siendo fotosintéticos, los plástidos son centrales para el metabolismo vegetal, ya que son sitios de biosíntesis de lípidos, almidón y aminoácidos aromáticos. Los plástidos poseen una doble membrana, pero la membrana interna es la que posee sistemas selectivos de transporte para el intercambio de precursores y metabolitos con el resto de la célula. En las células fotosintéticas se han caracterizado diversos sistemas que regulan el intercambio mutuo de precursores para la biosíntesis en el citosol y el estroma plastidial. Reportes recientes documentan diferencias en dichos intercambios en el metabolismo no fotosintético y señalan que su importancia es mucho mayor de lo que se había anticipado. En este trabajo se describen los sistemas de intercambiadores identificados hasta hoy en la literatura y se discuten sus funciones durante el proceso de acumulación de reservas en las semillas de cereales, modelo en el que ha habido recientemente un mayor avance.

PALABRAS CLAVE: Intercambiador, transportador, plástido, membrana.

ABREVIATURAS: TPT, transportador de triosas fosfato; DHAP, dihidroxiacetona fosfato; 3PGA, 3 fosfoglicerato; G3P, glicerol 3-fosfato; PPT, transportador de fosfoenolpiruvato; PEP, fosfoenolpiruvato; 2PGA, 2-fosfoglicerato; HPT, transportador de hexosas fos-

fato; XPT, transportador de xilulosa fosfato; Xul-5-P, xilulosa 5-fosfato; GS, glutamina sintasa; GOGAT glutamina/2-oxoglutarato aminotransferasa; OPPP, ruta oxidativa de pentosas fosfato; OMT, transportador de 2-oxoglutarato/malato; DTC, transportador general de dicarboxilatos; OAT, transportador de oxalacetato/malato; MDH, malato deshidrogenasa; NADPH, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato.

ABSTRACT

Plastids are organells present in almost every plant cell. They differentiate into chloroplasts in photosynthetic cells and, in non-photosynthetic cells, they play an important role in the biosynthesis of lipids, starch and aromatic amino acids. They are enclosed by a double membrane, but the inner one is responsible for the selectivity of the metabolite exchange with the cytosol. A number of molecular systems mediating the exchange of metabolites have been identified in chloroplasts, but recent reports indicate that non-photosynthetic plastidial transporters are not the same, and seem to have greater relevance in the regulation of metabolism than previously thought. Here, we describe these nonphotosynthetic exchange systems, and discuss their roles in relation to the reserve accumulation process during seed maturation, a model in which there has been a recent and significant progress.

KEY WORDS: Translocators, exchangers, plastids, membrane.

^{*}Recibido: 31 de enero de 2003. Aceptado: 8 de julio de 2003.

¹Departamento de Bioquímica Vegetal, Facultad de Química, UNAM. Ciudad Universitaria, C. P. 04510. México, D. F. Tel.: 5622-5285, Fax: 5622-5329. Correo E: auroraln@correo.unam.mx

INTRODUCCIÓN

odas las células vegetales poseen orgánulos exclusivos denominados plástidos. En éstos se llevan a cabo diferentes reacciones esenciales para el metabolismo vegetal, tales como la biosíntesis de ácidos grasos, de algunos aminoácidos, de almidón y de diversos metabolitos secundarios, así como la reducción de nitratos y nitritos en amonio y la fijación de azufre. Además, en las células fotosintéticas, los plástidos se diferencian en cloroplastos, orgánulos responsables de cosechar la energía luminosa y transformarla en energía química para la fijación reductiva de CO₂, nitrato y sulfato en moléculas orgánicas (1).

Los plástidos, al igual que las mitocondrias, poseen un doble sistema de membranas y un DNA propio. En ellos ocurren transcripción y traducción, aunque sólo una peque-

ña porción de sus proteínas está codificada en su genoma, por lo que las restantes, codificadas por el genoma nuclear, son importadas del citosol por un complejo sistema de importación (2).

La membrana externa plastidial es permeable, permite pasar compuestos de alto peso molecular y algunas proteínas pequeñas. En cambio, la membrana interna es poco permeable y el intercambio de metabolitos entre el citosol y el medio al interior del plástido, llamado estroma, está mediado por proteínas transportadoras (Fig. 1). Entre ellas encontramos poros y canales, que permiten el paso de moléculas pequeñas con poca (poros) o mucha (canales) selectividad; bombas, que transportan moléculas selectivamente en contra de su diferencia de concentración usando energía en forma de ATP; y translocadores, que mueven metabolitos, ya sea uno a la vez (uniportadores), o acoplando el transporte simultáneo de dos metabolitos relacionados, en una misma dirección (simportadores), o en direcciones opuestas (antiportadores). Dichos metabolitos incluyen precursores producidos por el plástido y que son requeridos por la maquinaria biosintética citosólica. Otros compuestos transportados regulan la disponibilidad de energía y el balance de carbono, fósforo, nitrógeno y azufre entre ambos compartimentos (3).

Debido a su alta selectividad y a la diversidad de los metabolitos que se intercambian entre el estroma plastidial y el citosol, el estudio de los intercambiadores en la membrana interna del plástido ha cobrado un gran interés en los últimos años. Desde los estudios de la fotosíntesis en los años 70's y 80's se había demostrado que el intercambio de

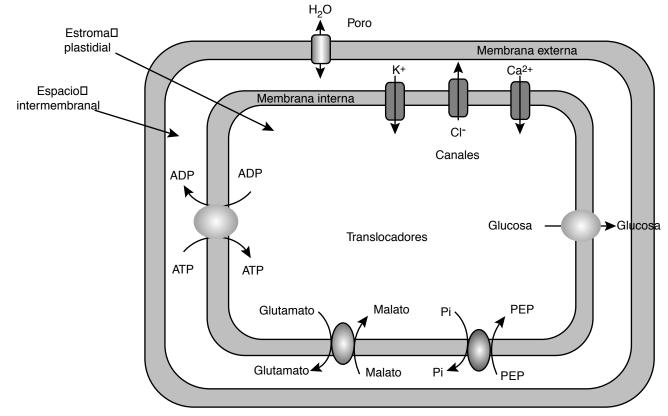


Figura 1. Diferentes tipos de proteínas transmembranales capaces de movilizar iones y solutos de un lado al otro de una bicapa lipídica. Las actividades aquí mostradas se han reportado en membrana interna en plástidos, o externa, en el caso de los poros.

compuestos fosforilados por fosfato y el intercambio de dicarboxilatos juegan un papel muy importante en la regulación de la fotosíntesis y en el control del balance de carga energética, potencial redox, carbono y fósforo entre el cloroplasto y el citosol (3). Pero además, se demostró que el intercambio de compuestos fosforilados posee un papel regulador de la síntesis y degradación de azúcares en el citosol (1, 3). El objetivo de este artículo es presentar la información generada hasta la fecha acerca de los intercambiadores presentes en la membrana interna plastidial y discutir su participación e importancia en las vías metabólicas citosólicas y del interior del plástido.

TIPOS DE PLÁSTIDOS

Los plástidos se clasifican de acuerdo a su función, su estructura interna y su origen. Los mejor caracterizados de todos los plástidos son sin duda los cloroplastos. Estos plástidos son verdes, tienen forma lenticular y en su interior se encuentra el aparato fotosintético en una organización de membranas internas denominada grana, que debe su forma al apilamiento de los sacos fotosintéticos llamados tilacoides. Los cloroplastos realizan la fotosíntesis, pero también participan en otras rutas metabólicas.

Los cromoplastos contienen niveles relativamente altos de carotenos y otros pigmentos, que les confieren tonos rojos, anaranjados y amarillos. Se presentan en pétalos, frutas y hojas senescentes. Los etioplastos se forman en células de hojas en crecimiento cuando están en completa oscuridad y le confieren a las hojas una tonalidad amarilla por la presencia de protoclorofila, un precursor de la clorofila. Poseen centros cristalinos conocidos como cuerpos prolamelares y se diferencian muy rápidamente en cloroplastos en cuanto se exponen las plántulas a la luz solar (1).

Los proplastos o eoplastos son incoloros, se encuentran en células meristemáticas de tallos, raíces, embriones y endospermo; éstos se pueden diferenciar en cualquiera de los demás tipos de plástidos.

El metabolismo interior de cada uno de estos tipos de plástidos se ajusta a las necesidades del tejido en que se encuentren y la etapa de desarrollo del mismo (4).

Leucoplasto es un término generalmente aplicado a plástidos incoloros, pero, a diferencia de los proplastos y los etioplastos, no son progenitores de otro tipo de plástidos. Dentro de este grupo se encuentran los amiloplastos y elaioplastos. Los primeros contienen cantidades sustanciales de gránulos de almidón y se encuentran en raíces y tejidos de almacenamiento, tales como el cotiledón, el endospermo y los tubérculos, mientras que los elaioplastos tienen grandes cantidades de lípidos almacenados y se hallan en células epidérmicas de algunas familias de monocotiledóneas como las orquídeas y en las células embrionarias de muchas semillas, siendo especialmente abundantes en las oleaginosas (1).

METABOLISMO PRINCIPAL EN LOS PLÁSTIDOS

La mayoría de la investigación realizada en plástidos se ha enfocado en los cloroplastos, en particular, en el metabolismo fotosintético de fijación de CO₂ atmosférico que culmina en el ciclo de Calvin. En los cloroplastos, el carbono fijado produce inicialmente ácidos de tres carbonos, que se reducen gracias a la energía captada por las reacciones luminosas de la fotosíntesis, dando lugar a

triosas y hexosas fosforiladas (5). Las hexosas pueden ser almacenadas temporalmente en forma de almidón, o exportadas al citosol para satisfacer las necesidades energéticas o biosintéticas del resto de la célula y, además, las de los tejidos no fotosintéticos de la planta. Los cloroplastos también son sitios en los que ocurre la síntesis de ácidos grasos, terpenos, varios aminoácidos y metabolitos secundarios. La mayoría de estos compuestos puede ser exportados al resto de la célula, pero pocos son enviados a otros tejidos. En el interior de los cloroplastos se lleva a cabo la síntesis de ATP dependiente de la luz conocida como fotofosforilación, la cual está acoplada con la transferencia de electrones en la membrana tilacoidal (4).

Por otra parte, los plástidos de semillas en desarrollo, flores, frutos, tallos y raíces no poseen la capacidad de generar ATP ni de fijar carbono a través de la energía solar. Por ello, para satisfacer sus demandas energéticas o metabólicas deben importar precursores del citosol. Sin embargo, estos orgánulos poseen casi todas las otras rutas metabólicas presentes en los cloroplastos, que resultan indispensables para las células y que sólo se encuentran en plástidos. Entre las rutas más importantes en el estroma plastidial se encuentran: (i) la biosíntesis de ácidos grasos, base de la síntesis y recambio de todas las membranas de la célula y para la que se ha propuesto al malato, al piruvato y al acetato como precursores principales (1), (ii) la biosíntesis del almidón, que sirve de reserva de energía y de carbono y para la cual las hexosas activadas (en su forma de ADP-glucosa) son las precursares inmediatas (1), (iii) la biosíntesis de aminoácidos aromáticos, terpenos y otros

metabolitos secundarios, derivados del shikimato, que en los plástidos se producen a partir de fosfoenolpiruvato y eritrosa-4-fosfato (5, 6), (iv) la ruta oxidativa de las pentosas fosfato (que comparte numerosas reacciones con el ciclo de Calvin). responsable de generar el poder reductor necesario para el anabolismo, e importante también como productora de pentosas fosfato, que se emplean en la síntesis de nucleótidos (7), (v) la asimilación de nitrógeno inorgánico en amonio, el cual sirve en la síntesis de aminoácidos, ácidos nucleicos, cofactores y clorofila, entre otros compuestos (4) y (vi) la reducción de sulfato y biosíntesis de cisteína y metionina a partir de los cuales se sintetizan metabolitos esenciales y secundarios (4). Los principales productos metabólicos de estas rutas se ilustran en la figura 2.

Para obtener su energía, los plástidos no fotosintéticos realizan también procesos catabólicos, tales como la glucólisis, para la cual existen isoenzimas en el citosol y en el plástido. En este caso, la compartamentalización permite que un proceso ocurra en dos sitios distintos dentro de una célula y sea regulado de distinta forma para responder a las necesidades metabólicas de cada

micro ambiente, en armonía con las demandas del resto de la célula (8). Un punto crucial de la coordinación metabólica celular es el control del intercambio de intermediarios de todas las diferentes vías metabólicas que ocurren en forma simultánea en el citosol y en el estroma plastidial (2). Es por eso que, en los últimos años, se ha intensificado la investigación de los transportadores de la membrana de este último orgánulo. pues diversas evidencias refuerzan la propuesta de que tienen un papel central en la regulación del metabolismo tanto intraplastidial, como citosólico.

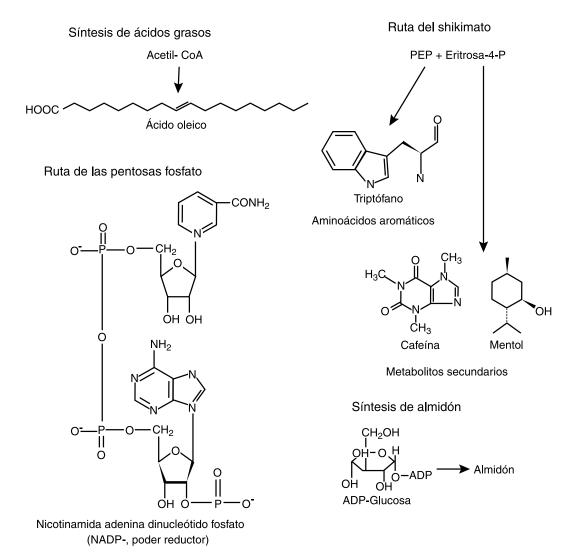


Figura 2. Principales productos metabólicos que se producen en el interior de los plástidos no fotosintéticos.

1. INTERCAMBIADORES DE COM-PUESTOS FOSFATADOS

En plantas se ha estudiado una familia de transportadores que intercambian compuestos fosfatados por ortofosfato. Hasta la fecha se han reportado cuatro tipos. Las evidencias sugieren que están constituidos por una proteína monomérica que atraviesa 6 veces la membrana y que se requieren dos de estos monómeros para crear un sitio activo de transporte (6). Una característica común a todos estos sistemas, es que mantienen intacto el balance de fosfato entre ambos compartimentos, ya que por cada fosfato orgánico transportado, se reintegra un fosfato inorgánico al compartimento donador. En las hojas de muchas especies, está muy claramente documentado, que el nivel citosólico de fosfato inorgánico disponible para el cloroplasto, determina la cantidad de carbono exportado al citosol (4).

i) Intercambiador triosas-fosfato/fosfato (TPT, por sus siglas en inglés: "triose phosphate translocator"). Este transportador intercambia fosfato inorgánico por compuestos de tres carbonos con un fosfato unido covalentemente al C-3, principalmente, dihidroxiacetona fosfato (DHAP), el gliceraldehído-3-fosfato (G3P) y el 3 fosfoglicerato (3PGA). El TPT ha sido extensamente estudiado y se conoce su secuencia de aminoácidos, a través del gen que lo codifica en diferentes especies vegetales tales como espinaca, maíz, trigo, chícharo y tabaco. Se expresa principalmente en tejidos fotosintéticos como las hojas y se ha propuesto que su función principal es la de exportar al citosol triosas-fosfato resultantes de la fijación del CO₂ atmosférico, en donde entran a la ruta de la gluconeogénesis para formar glucosa-6-fosfato y sacarosa. La sacarosa puede ser, a su vez, exportada a tejidos no fotosintéticos como semillas, raíces y frutos. Por su parte, la glucosa no utilizada puede también entrar nuevamente al cloroplasto (véase más adelante) y almacenarse en gránulos de almidón (3, 5).

ii) Intercambiador fosfoenolpiruvato/fosfato (PPT, por sus siglas en inglés: "phosphoenolpyruvate translocator"). Los metabolitos que este transportador intercambia eficientemente son compuestos de tres carbonos con un fosfato unido covalentemente al C-2. Ellos son fundamentalmente el fosfoenolpiruvato (PEP) y el 2-fosfoglicerato (2PGA). Su selectividad es suficiente para considerar que in vivo no participa en el intercambio de triosas fosfato o G3P por fosfato. Se conoce también la secuencia de bases del gen que lo codifica y ha sido estudiado en semillas de maíz, trigo, chícharo y en brotes de coliflor, así como en Arabidopsis. El PPT se expresa principalmente en tejidos no fotosintéticos, incluidas las semillas.

Puesto que se ha visto que las plantas transgénicas de *Arabidopsis* que expresan el gen en antisentido son deficientes en la síntesis de metabolitos secundarios del grupo de los isoprenoides y aminoácidos aromáticos, se propone que su papel es importar PEP del citosol, para alimentar la ruta del shikimato en el interior del plástido y que representa uno de los puntos con mayor importancia en el control metabólico de esta vía (5).

Por otro lado, dado que se sabe que los plástidos tienen una piruvato cinasa activa y una piruvato deshidrogenasa semejante a la presente en la mitocondria, se ha propuesto que el PEP puede ser transformado hasta acetil-Coenzima A y servir como precursor de los ácidos grasos dentro del plástido. Esta hipótesis ha sido explorada experimentalmente

in vitro (9) en sistemas de plástidos aislados, pero aún no se cuenta con suficiente evidencia acerca de su posible relevancia *in vivo* (6).

iii) Intercambiador hexosasfosfato/fosfato (HPT, por sus siglas en inglés: "hexose phosphate translocator"). Este transportador intercambia glucosa-6 fosfato (G6P) por fosfato, aunque se ha reportado que en algunas especies posee una selectividad más pobre y también puede intercambiar por fosfato a la glucosa-1 fosfato (G1P) e incluso a las triosas fosfato y G3P. Se conoce la secuencia del mensaje para esta proteína y su topología es similar a los demás miembros de esta familia de intercambiadores. En los cloroplastos, se ha propuesto que su función es la de drenar el carbono fijado en el ciclo de Calvin durante la fotosíntesis hacia el citosol, así como intercambiar triosas fosfato por hexosas fosfato durante el mismo proceso (5). Se ha reportado que algunos plástidos carecen de algunas enzimas de la gluconeogénesis (8), por lo cual se requiere exportar triosas para que en el citosol se conviertan en hexosas fosfato, tras lo cual, los excedentes regresarían al cloroplasto para ser almacenadas como almidón. En los periodos de oscuridad, este mismo transportador tendría la función de exportar al citosol hexosas fosforiladas, provenientes de las reservas de almidón, para proveer de carbono y energía al resto de la célula.

Aunque se ha reportado la expresión de esta proteína en plástidos de tejidos no fotosintéticos, su papel y la forma en que se regula es aún incierta, ya que hay reportes que demuestran que la fosforilación e incorporación de hexosas a los plástidos no fotosintéticos podría estar estrechamente ligada con la exportación de ácidos grasos hacia el citosol (10).

iv) Intercambiador pentosasfosfato/fosfato (XPT, por sus siglas en inglés: "xylulose-5-pentose
protein translocator"). Recientemente se ha identificado en *Arabidopsis*este nuevo transportador plastidial
capaz de intercambiar fosfato inorgánico o triosas fosfato por xilulosa
5-fosfato (Xul-5-P) y, en menor grado, ribulosa 5-fosfato, pero que no
intercambia ribosa 5-fosfato ni
hexosas fosfato. El XPT se expresa
en hojas, flores, tallos y raíces en
todas las etapas del desarrollo de la
planta.

La Xul-5-P es un intermediario tanto del ciclo reductivo de las pentosas fosfato (ciclo de Calvin) como de la ruta oxidativa de pentosas fosfato (OPPP). Ambos ciclos proveen al plástido de esqueletos carbonados para otras reacciones metabólicas, tales como producción de la ribulosa 5-P, necesaria en la biosíntesis de nucleótidos, la eritrosa 4-fosfato, un intermediario de la ruta del shikimato (6) y posiblemente ácido glucónico, precursor en la síntesis de inositol fosfato y de ácido fítico. Se ha propuesto que la función del transportador XPT es la de proveer esqueletos carbonados a la ruta de pentosas fosfato plastidial en forma de Xul-5-P, especialmente, bajo condiciones de alta demanda por intermediarios de este ciclo (7), aunque su papel podría ser el opuesto, al proveer de pentosas fosfato al citoplasma para diversos procesos biosintéticos. Se ha encontrado que el nivel de expresión de este transportador se incrementa cuando las plantas son sometidas a estrés oxidativo (7).

2. TRANSPORTADORES DE ÁCI-DOS ORGÁNICOS

Tanto los cloroplastos como los plástidos no fotosintéticos necesitan importar y exportar ácidos orgánicos para satisfacer algunas de sus demandas metabólicas tales como la fijación de nitrógeno en aminoácidos, la síntesis de ácidos grasos, así como, posiblemente, la biosíntesis de ciertos metabolitos secundarios.

Mediante elaborados estudios de la cinética del transporte de dicarboxilatos en cloroplastos aislados se caracterizó un sistema de dos componentes de especificidades distintas pero parcialmente sobrelapadas, capaces de intercambiar malato por distintos ácidos orgánicos. Uno de estos transportadores media la entrada de 2-oxoglutarato en intercambio por malato estromal (transportador 2-oxoglutarato/malato, OMT), aunque también puede intercambiar succinato y fumarato, mien-

tras que el otro cataliza la salida de glutamato por malato citosólico (transportador general de dicarboxilatos, DTC), pero también puede intercambiar malato por aspartato (11). Se ha propuesto que estos transportadores trabajan en cascada conformando lo que se conoce como sistema de doble lanzadera, similar al previamente reportado para mitocondrias, en el que el plástido importa 2-oxoglutarato y exporta malato, pero luego importa malato y exporta glutamato; el resultado es un intercambio de 2-oxoglutarato por glutamato, sin transporte neto de malato (11).

Este sistema de doble transporte ha sido relacionado con la asimilación de amonio, misma que en el interior de los plástidos es necesaria para complementar la reducción de nitrito (12). En este proceso, participan 2 enzimas del estroma plastidial: glutamina sintasa (GS) y glutamina/2-oxoglutarato aminotransferasa (GOGAT). El mecanismo completo se esquematiza en la figura 3.

Otro transportador de dicarboxilatos intercambia oxalacetato por 2-oxoglutarato o malato (transportador de oxalacetato/malato, OAT) y participa en un sistema tipo lanzadera conocido como válvula de malato que contribuye a proporcionar

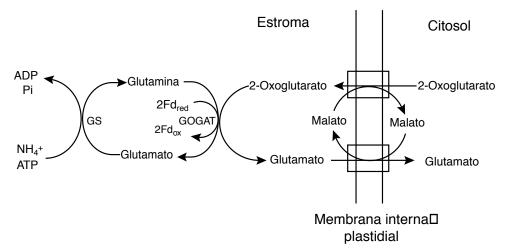


Figura 3. Papel de los transportadores de dicarboxilatos en la fijación de amonio en forma de glutamato en cloroplastos.

poder reductor al interior del plástido vía MDH dependiente de NADPH plastidial.

Ya se han secuenciado los genes que codifican para OMT y DTC en *Arabidopsis* y se conocen secuencias homólogas para OMT en espinaca y otras especies vegetales (12). Esta familia de proteínas son monómeros con 12 dominios transmembranales con una región hidrofilica intermedia.

Estos transportadores pueden intercambiar malato por otros dicarboxilatos tales como fumarato y succinato, como ya se indicó arriba, así como los tricarboxilatos citrato e isocitrato. El significado de estos intercambios a nivel fisiológico no es claro, ya que no se ha documentado una función metabólica para estos compuestos en el estroma plastidial, lo que no significa que no la tengan. Finalmente, el malato puede también ser descarboxilado a piruvato en el interior de los plástidos por acción de la malato deshidrogenasa descarboxilante o enzima málica.

Esta posibilidad dio lugar a la propuesta de que el malato podría servir como fuente de carbono para la síntesis de ácidos grasos (9). Para que el malato represente una fuente de carbono, se requeriría de un mecanismo para incorporarlo sin que, como ocurre en los intercambios, se deba ceder a cambio otro compuesto carbonado equivalente, ya que así no habría ganancia neta de carbono. Diversos resultados experimentales de nuestro grupo de trabajo (resultados no publicados) y de otros grupos (10) no apoyan esta hipótesis, ya que la adición de malato tanto a plástidos aislados de semillas en desarrollo, como a embriones de maíz en desarrollo incubados in vitro, no resulta en una incorporación significativa de este compuesto a los lípidos. Sin embargo, un hallazgo reciente de nuestro laboratorio indica

que los plástidos no fotosintéticos poseen un transportador capaz de intercambiar malato por pirofosfato (13). Este descubrimiento plantea nuevas hipótesis alternativas sobre las posibles funciones para este sistema de transportadores, ya que este intercambio sí puede modificar el balance de carbono/fósforo de los compartimentos separados por la membrana plastidial, además de que el pirofosfato puede tener múltiples funciones fisiológicas dentro de las células vegetales (14). Este intercambiador podría participar, junto con la pirofosfatasa vacuolar, la cual acopla la hidrólisis del pirofosfato con la translocación electrogénica de protones, en la regulación de la concentración de pirosfosfato en el citosol (14). Desde luego, un conocimiento más profundo de la relevancia fisiológica de estos intercambios, hasta ahora sólo investigados in vitro, requiere de estudios adicionales.

Aun cuando no es estrictamente un intercambiador, se ha reportado la existencia de un transportador de piruvato cuyo papel es alimentar la síntesis de ácidos grasos en semillas de plantas con metabolismo C4 (15). A la fecha no se ha demostrado la presencia de este transportador en tejidos no fotosintéticos, pero de presentarse, podría ser significativo en el intercambio de carbono entre el estroma plastidial y el citosol.

Es importante mencionar la entrada de acetato al plástido, la cual se lleva a cabo a través de difusión pasiva (9) y no ha sido reportado algún tipo de transportador con afinidad al acetato, pero ha sido documentado que en algunas especies éste es el mejor precursor en la síntesis de ácidos grasos, aun cuando la entrada de acetato es lenta y se duda que sea suficiente para sustentar la síntesis de ácidos grasos *in vivo* (9).

3. INTERCAMBIADOR DE NU-CLEÓTIDOS DE ADENINA

Este intercambio se presenta en la membrana de varios organelos tales como la mitocondria, el aparato de Golgi, retículo endoplásmico, así como en el plástido. Su papel es facilitar el intercambio de ATP por ADP y se plantea que en los plástidos no fotosintéticos introduce ATP al estroma devolviendo ADP al citosol (1). La importación de energía parece ser necesaria para el anabolismo de moléculas de almacenamiento al interior del plástido o para estimular la degradación de almidón durante la noche o en los períodos de inanición. Una característica significativa de este intercambiador es que implica una ganancia neta de fosfato para el compartimiento que importa la energía creando un desbalance de fosfato (1). En las mitocondrias, el balance de fosfato puede ser restituido por medio de un intercambio de fosfato/OH- y de malato/fosfato. En plástidos aislados de semillas de ricino se reportó también un intercambio malato/fosfato (3), pero no ha sido documentado en ningún otro tipo de plástido y no está presente en los plástidos aislados de semillas de maíz (resultados de nuestro laboratorio, aún no publicados). Sin embargo, como se mencionó antes, esta función podría ser cubierta por el intercambio de malato por pirofosfato que parece estar mediado por el intercambiador de dicarboxilatos, en conjunto con la actividad de pirofosfatasa, cuya presencia en plástidos ha sido documentada (10).

Los intercambiadores de nucleótidos de adenina son proteínas muy hidrofóbicas, integrales de membrana que poseen 12 cruces transmembranales (5). Su cinética ha sido muy estudiada en mitocondrias animales, ya que son responsables de proveer a la célula con el ATP generado por la fosforilación oxidativa. En las plantas, han sido mejor estudiados en los cloroplastos, ya que realizarían una función equivalente en la célula vegetal al exportar el ATP producido por la cadena de transporte de electrones fotosintética (3), sin embargo, su importancia en los plástidos no fotosintéticos no ha sido analizada con la misma profundidad.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El grupo de proteínas transportadoras analizadas en este artículo juega un papel crucial en el metabolismo biosintético de la planta, ya que intercambian metabolitos clave de las rutas biosintéticas al interior del plástido y son sitios potenciales de regulación de dichas rutas. Sin embargo, se requieren aún numerosos estudios para lograr una comprensión más detallada de su contribución a las diferentes actividades metabólicas de los compartimentos que separan y el nivel de control que pueden ejercer sobre los procesos metabólicos al interior del plástido y en el citosol.

También, es probable que tengan funciones fisiológicas que aún no havan sido documentadas; especialmente porque, aunque la especificidad de cada una de estas proteínas ha sido investigada in vitro, falta aún mucho por conocer respecto a lo que realmente intercambian in vivo, en donde el sobrelapamiento de especificidades, aunado a los cambios simultáneos de las concentraciones de diversos metabolitos, en respuesta a las necesidades cambiantes de una célula vegetal, dificultan completar un modelo detallado de la interrelación de la membrana interna plastidial con el resto de la célula.

REFERENCIAS

- **1.** Neuhaus H E y Emes M J (2000) Nonphotosynthetic metabolism in plastids. Annu Rev Plant Physiol Mol Biol *51*: 111-140.
- **2.** Joyard J, Teyssier E, Miege C, Berny-Seigneurin D, Marechal E, Block M A, Dorne A J, Rolland N, Ajlani G y Douce R (1998) The biochemical machinery of plastid envelope membranes. Plant Physiol *118*: 715-723.
- **3.** Neuhaus H E y Wagner R (2000) Solute pores, ion channels, and metabolite transporters in the outer and inner envelope membranes of higher plant plastids. Biochim Biophys Acta *1465*: 307-323.
- **4.** Buchanan B B, Gruissem W y Jones R L (2000) Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Editado por American Society of Plant Physiologists. Maryland, USA. pp 37-45, 605-610, 787-796, 824-845, 1227-1229.
- **5.** Flügge U I (1999) Phosphate translocators in plastids. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol *50*: 27-45.
- **6.** Herrmann, K M y Weaver L M (1999) The shikimate pathway. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol *50*: 473-503.
- **7.** Eicks M, Maurino V, Knappe S, Flügge U I y Fisher K (2002) The plastidic pentose phosphate translocator represents a link between the cytosolic and the plastidic pentose phosphate pathways in plants. Plant Physiol *128*: 512-522.
- **8.** Plaxton W C (1996) The organization and regulation of plant glycolysis. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol *47*: 185-214.

- **9.** Smith R G, Gauthier D A, Dennis D T, Turpin D H (1992) Malate- and pyruvate-dependent fatty acid synthesis in leucoplasts from developing castor endosperm. Plant Physiol *98*: 1233-1238.
- **10.** Eastmond P J y Rawsthorne S (2000) Coordinate changes in carbon partitioning and plastidial metabolism during the development of oilseed rape embryos. Plant Physiol *122*: 767-774.
- **11.** Flügge I U, Woo K C y Heldt H W (1988) Characteristics of 2-oxoglutarate and glutamate transport in spinach chloroplasts. Planta *174*: 534-541.
- **12.** Taniguchi M, Taniguchi Y, Kawasaki M, Takeda S, Kato T, Sato S, Tabata S, Miyake H y Sugiyama T (2002) Identifying and characterizing plastidic 2-oxoglutarate/malate and dicarboxylate transporters in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiol *43*: 706-717.
- **13.** Lara Núñez A, Chávez Montes R A, Hernández-Domínguez E E y Rodríguez Sotres R (2001) Partición del carbono en las semillas de cereales durante la fase de llenado. En: Bioquímica y biología molecular de plantas. Editoras: Bernal-Lugo y Loza-Talavera. Facultad de Química, UNAM, México D. F. pp 147-166.
- **14.** Heinonen J K (2001) Biological role of inorganic pyrophosphate. Kluwer Academic Publishers. 53-60; 93-111.
- **15.** Eastmond P J y Rawsthorne S (2000) Coordinate changes in carbon partitioning and plastidial metabolism during the development of oilseed rape embryos. Plant Physiol *122*: 767-774.

138 REB *22*(3): 138-145

DEFENSAS NATURALES EN EL GRANO DE MAÍZ AL ATAQUE DE *SITOPHILUS ZEAMAIS* (MOTSCH, COLEOPTERA: CURCULIONIDAE): MECANISMOS Y BASES DE LA RESISTENCIA*

Silverio García Lara^{1,4}, Andrew J. Burt², J. Antonio Serratos^{1,3}, David M. Díaz Pontones⁴, John T. Arnason² y David J. Bergvinson¹

RESUMEN

Sitophilus zeamais (Motsch), el gorgojo del maíz es uno de los insectos más destructivos del grano almacenado y cuvo control es difícil de lograr. Sin embargo, se han caracterizado variedades de maíz resistentes a esta plaga. Estructuralmente, los mecanismos de resistencia en estas variedades se localizan en el pericarpio, la aleurona y el endospermo. Las bases bioquímicas de estos mecanismos de resistencia se deben en parte a los niveles elevados de compuestos fenólicos que limitan la entrada del insecto al grano y disminuyen la disponibilidad de nutrientes. Los ácidos fenólicos se encuentran enlazados con los carbohidratos de la pared celular y son considerados particularmente importantes en el fortalecimiento del pericarpio. La herencia de este mecanismo es poligénica con efectos maternos dominantes. La investigación en curso sugiere que los marcadores moleculares y genes asociados con la resistencia podrán en un futuro utilizarse en el desarrollo de nuevas variedades de maíz resistentes a esta plaga.

PALABRAS CLAVE: *Sitophilus zeamais*, maíz resistente, bases y mecanismos de resistencia, ácidos fenólicos y marcadores moleculares.

ABSTRACT

Sitophilus zeamais (Motsch) the maize weevil is one of the most destructive insects of stored grain and of difficult control. However, resistant maize varieties have been described. Structurally, the resistance mechanisms in these varieties are located in the pericarp, aleurone layer and endosperm. The biochemical basis of these resistance mechanisms are in part, due to the elevated levels of phenolic compounds that limit access to the grain and reduce the availability of nutrients. The phenolic acids are bound to cell wall carbohydrates and are considered particularly important in the pericarp fortification. The inheritance of this mechanism is polygenic with dominant maternal effects. Ongoing research suggests that molecular markers and genes associated with resistance can be used in the future of development of new resistant varieties to this storage pest.

KEY WORDS: *Sitophilus zeamais*, maize resistance, mechanism and bases of resistance, phenolic acids and molecular markers.

INTRODUCCIÓN

S itophilus zeamais (Motsch, Coleoptera: Curculionidae) o gorgojo del maíz es el insecto considerado como la plaga de maíz almacenado más importante a escala mundial. Se estima que genera pérdidas del 20 al 90% en áreas subtropicales y tropicales, afectando principalmente a los agricultores de escasos recursos. En México, la incidencia de esta plaga supera el 80% en regiones húmedas y es la primera causa de daño en postcosecha. El alto costo de los insecticidas, el riesgo

^{*}Recibido: 11 de marzo de 2003. Aceptado: 8 de julio de 2003.

¹Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), Apartado Postal 6-641, C. P. 06600, México, D. F. ²Departamento de Biología, Universidad de Ottawa, 30 Marie Curie, Ottawa, Canadá, K1N 6N5. ³INIFAP, Apartado Postal 10, C. P. 56230, Chapingo, México. ⁴Departamento de Ciencias de la Salud, UAM-Iztapalapa, Apartado Postal 55-5350, C. P. 09340, México, D. F. Correo E: d.bergvinson@cgiar.org

de contaminación del ambiente y el peligro potencial que representa su utilización ha hecho necesaria la búsqueda de nuevas opciones de control en el manejo integral de esta plaga. Una alternativa ha sido el uso de variedades de maíz resistentes. Este método de control es de fácil adaptación, ambientalmente seguro, económico y compatible con otras medidas de control biológico. En las últimas décadas se ha destacado la importancia de obtener germoplasma resistente a las plagas de almacén, con el fin de identificar y estudiar los factores que confieren dicha resistencia. En este trabajo se describen los mecanismos de defensa natural presentes en el grano de maíz contra la infestación de S. zeamais, haciendo énfasis en las bases bioquímicas de la resistencia. Asimismo, se señala el uso de marcadores moleculares en el estudio de regiones genómicas asociadas con la expresión de los mecanismos de defensa y la posibilidad de incorporar genes de resistencia.

DESARROLLO DE PLANTAS RE-SISTENTES

La resistencia de la planta huésped al ataque de insectos se define como el conjunto de caracteres heredables que confiere protección contra el ataque de éstos. La importancia de emplear variedades resistentes se debe a que éstas contienen mecanismos de defensa desarrollados a lo largo de la co-evolución entre plantas e insectos.

El proceso de identificación de estas variedades y de sus mecanismos de resistencia requiere de la participación de científicos de distintas áreas y de un trabajo interdisciplinario. Un modelo para el desarrollo y liberación de variedades con ventajas de resistencia al ataque de plagas de almacén se presenta en la figura 1. Entre los elementos más im-

portantes destacan el estudio de fuentes de germoplasma resistente, las bases y los mecanismos de defensa.

FUENTES DE GERMOPLASMA RE-SISTENTE

Desde la década de los años cincuenta se iniciaron los estudios para la identificación de variedades de maíz resistentes a S. zeamais partiendo de una amplia diversidad genética. Se ha establecido que las variedades indígenas ancestrales procedentes de México y América Central, como las razas Nal-tel, Chapalote y Palomero toluqueño y las variedades tradicionales de África, presentan niveles de resistencia significativamente altos (Tabla I) (1, 2). Varios autores coinciden en señalar que los insectos han ejercido una presión selectiva sobre las variedades locales. la cual ha sido favorecida por la selección de los agricultores.

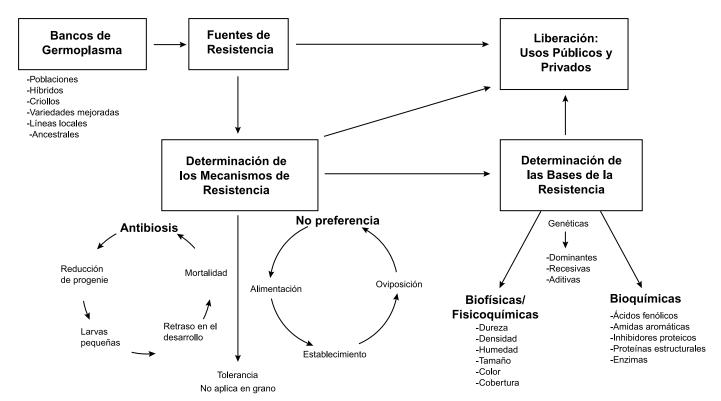


Figura 1. Proceso de desarrollo y liberación de variedades de maíz resistente a plagas de almacén.

TABLA I

GERMOPLASMA DE MAÍZ IDENTIFICADO CON RESISTENCIA A Sitophilus zeamais

| GENOTIPO | VARIEDAD | ORIGEN ^a |
|------------------------------|--|-----------------------------------|
| Criollos del grupo Nal-Tel | Razas indígenas locales | Variedad local, Belice |
| L578 y L690 | Líneas e híbridos mejorados | USDA, ARS |
| Pools y criollos locales | Pools y razas locales | CIMMYT, Banco de germoplasma |
| Criollos | Razas indígenas locales | Variedad local, Malawi y Zimbabwe |
| Gdogbe, NH2 | Razas locales | IITA, variedad local |
| Pool 17, 18 y 33 | $MCPs^1$ | CIMMYT, Banco de germoplasma |
| Nal-Tel, chapalote, palomero | Razas indígenas locales | CIMMYT, Banco de germoplasma |
| L108, L605 y L654 | Híbridos mejorados | USDA, ARS |
| p.e. Hi41, Tzi18 y 8329-15 | Líneas tropicales, híbridos y VPL ² | IITA, CIMMYT |
| B37, B68, R805 y T220 | Líneas e híbridos mejorados | USDA |
| Híbridos, Pob28 y Pool 23MCP | Híbridos, MCPs ¹ y poblaciones | CIMMYT Zimbabwe |

^aUSDA: Departamento de Agricultura, E.U.A.; ARS: Servicio de Investigación Agrícola, E.U.A.; CIMMYT; IITA: Instituto Internacional de Agricultura Tropical. ¹Maíces de alta calidad proteica. ²Variedades de polinización libre.

Variedades modernas

El germoplasma de maíz presenta niveles de resistencia muy diversos. La liberación y uso de variedades modernas se ha acompañado de reportes que indican un incremento en la susceptibilidad a plagas de almacén (3). Ejemplos de estas variedades incluyen híbridos (Pioneer 230, El Salvador) y poblaciones (TZSR-W, IITA v Población 43 "La Posta", CIMMYT). Esta desventaja se debe a que el germoplasma mejorado se selecciona con criterios agronómicos que no consideran la evaluación de caracteres como la susceptibilidad a plagas de almacén. A pesar de ello, se han identificado nuevas fuentes de resistencia en algunos grupos y se han caracterizado los factores que confieren dicha protección (1, 4, 5).

Métodos de evaluación de la resistencia

Los criterios para detectar y evaluar resistencia en el grano de maíz con-

tra el ataque de S. zemais se fundamentan en la cuantificación del daño causado por el insecto (porcentaje de daño, pérdidas de peso del grano y nivel de infestación), parámetros biológicos y reproductivos del insecto en contacto con el grano (sobrevivencia, oviposición, cantidad y aptitud de la progenie, tiempo de desarrollo e índice de susceptibilidad) v características fenotípicas del grano asociadas con la resistencia (aspectos biofísicos y bioquímicos). Algunos métodos consideran relevante clasificar el tipo de bioensavo (libre elección o confinamiento en variedades de maíz), el lugar donde ocurre la infestación (campo o almacén) y la forma de almacenamiento (mazorca con o sin cubierta o en grano). Recientemente la implementación de nuevas técnicas se basa en el conocimiento de las bases bioquímicas de la resistencia (4, 6), las cuales han permitido disminuir tiempo, costos y variabilidad en la selección.

MECANISMOS DE DEFENSA NATURAL

Se ha establecido que en las variedades resistentes a insectos funciona alguno de los siguientes mecanismos de defensa: no preferencia, antibiosis y tolerancia. La no preferencia se define como la capacidad que tiene una planta para mantener alejados a los insectos evitando que la utilicen como sitio de refugio, oviposición o alimento. La antibiosis consiste en la acción de sustancias que son producidas por las plantas y que afectan negativamente el desarrollo, reproducción o sobrevivencia de los insectos. La tolerancia involucra la capacidad de una planta para crecer, reparar daños y reproducirse aún bajo presión de poblaciones de insectos que matarían a plantas susceptibles, pero es un mecanismo que no opera en granos y semillas debido a su estado de latencia. En el grano de maíz se ha establecido que la no preferencia y la antibiosis funcionan contra S. zeamais (1, 2).

Estos mecanismos están localizados en el pericarpio (no preferencia) y en el endospermo (antibiosis) y sus bases involucran propiedades biofísicas y bioquímicas que se describen a continuación (Tabla II).

BASES DE LA RESISTENCIA Características biofísicas

La cubierta de la mazorca es la primera barrera de aislamiento contra el ataque de insectos. El número, la longitud y la rigidez de las hojas están relacionadas con el grado de infestación en el campo y el daño al grano producido por S. zeamais. La estructura de la mazorca representa un segundo obstáculo para el ataque del insecto. La obstrucción debido al arreglo y espacio entre granos adyacentes influye en el proceso de infestación. El grano ha sido el más estudiado debido a que representa la ultima barrera de defensa y es la estructura que utiliza el insecto para su reproducción. Las propiedades del grano como la dureza correlacionan de manera negativa con el daño y el índice de susceptibilidad a S. zeamais. La proporción de endospermo córneo guarda esta misma relación. En cambio el contenido de humedad del grano correlaciona en forma positiva con la susceptibilidad. Varios autores han analizado

posibles relaciones con la forma del grano, tamaño, textura, color y olor sin poder establecer hasta este momento correlaciones consistentes.

Características bioquímicas

En el maíz se han estudiado dos grupos de compuestos relacionados con la resistencia: 1) factores de calidad nutricional: carbohidratos solubles. almidón, lípidos y proteínas, y 2) factores no nutritivos o metabolitos secundarios como flavonoides, ácidos fenólicos, amidas aromáticas y lignina. En particular, los factores nutricionales del metabolismo primario se relacionan de manera directa con la supervivencia y reproducción de las poblaciones de insectos; sin embargo, no es clara su relación específica con la susceptibilidad. Por el contrario, el grupo de los ácidos fenólicos y las amidas aromáticas son la base de los mecanismos de no preferencia y antibiosis en el grano de maíz.

Amidas aromáticas

Las amidas aromáticas que están involucradas en la resistencia a la invasión del insecto se localizan tanto en las paredes celulares de la aleurona como en las del pericarpio. Las amidas más abundantes son la diferuloil putrescina y la *p*-dicoumaril putresci-

na (Fig. 2), aunque recientemente se ha demostrado la presencia de una tercera amida conjugada *p*-coumaroilferuloil-putrescina. Se ha propuesto que estas amidas pueden tener efectos de antibiosis sobre *S. zeamais* (6), debido a sus propiedades insecticidas y su estrecha similitud estructural con toxinas de artrópodos (7).

Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos fueron identificados como los primeros factores de resistencia contra S. zeamais en maíces locales de Belice. Al evaluar la toxicidad de extractos fenólicos en dietas artificiales se encontró que reducían el consumo de alimento en insectos adultos, aunque las etapas más susceptibles a estos compuestos son los primeros estadios larvarios (4). Los niveles de estos ácidos correlacionan negativamente con los parámetros de desarrollo de este insecto (5) y al parecer constituyen una base general de resistencia debido a que se han demostrado efectos similares con el barrenador grande del grano (Prostephanus truncatus). otra plaga de almacén. Dentro de este grupo destacan los ácidos hidroxicinámicos. Estos ácidos están ubicados en el pericarpio e incluyen al ácido cis-ferúlico, ácido transferúlico, ácido p-coumárico y ácido

TABLA II

| MECANISMO Y BASES DE LA RESISTENCIA EN MAÍZ A Sitophilus zeamais | | | | | |
|--|-------------------------|--|-------------------------|-------------|--|
| MECANISMO | BASE BIOQUÍMICA | COMPUESTO | LOCALIZACIÓN | CITA | |
| Antibiosis y no preferencia | Ácidos hidroxicinámicos | Ácido ferúlico y derivados: ácidos diferúlicos y quinonas | Pericarpio | 1, 4, 5 y 6 | |
| No preferencia | Enzimas | Peroxidasas | Pericarpio | 1 y 11 | |
| No preferencia | Proteínas estructurales | Extensinas | Pericarpio | 9 y 12 | |
| Antibiosis | Amidas aromáticas | Diferuloil putrescina y <i>p</i> -dicoumaril putrescina | Aleurona: Endospermo | 6 y 7 | |
| Antibiosis | Inhibidores enzimáticos | Inhibidor de proteasa e inhibidor de amilasas | Endospermo | 10 | |

sinápico (Fig. 2). El ácido *trans*ferúlico es el más abundante y el
principal ácido asociado con la
resistencia. Este compuesto se ha
propuesto como un indicador bioquímico confiable en la evaluación
de resistencia en maíz y como una
herramienta útil de pre-selección
en programas de mejoramiento (6).

Fortalecimiento de la pared celular del pericarpio

A pesar de que se han demostrado efectos directos de repelencia al ácido ferúlico (4), éste no se encuentra libre en el grano. El mecanismo por el cual este ácido contribuye a la resistencia es mediante la formación de diferulatos que coadyuvan al fortalecimiento de las paredes celulares. Este fortalecimiento estructural puede hacer que los nutrimentos sean menos accesibles, y por lo tanto, el grano menos atractivo para los insectos. Una ventaja adicional de la presencia de estos ácidos en maíz es que brindan beneficios en la salud humana al funcionar como antioxidantes en dietas ricas en fibra.

El entrecruzamiento de los componentes de la pared celular del pericarpio influye sobre las propiedades de accesibilidad, extensibilidad, plasticidad, digestibilidad y adherencia. Las paredes celulares vegetales contienen ácidos fenólicos que están estratificados entre los polisacáridos. En maíz, el ácido p-coumárico y el ácido trans-ferúlico se encuentran en forma de feruloil y p-coumaroil arabinoxilanos. Existen dos mecanismos de enlace entre carbohidratos y ácidos fenólicos. El primero es la ciclo-adición entre los carbonos etilénicos de los dos ácidos fenólicos catalizado por la presencia de luz UV y cuyo resultado es la formación de los llamados ácidos truxílicos v truxínicos. Este mecanismo ocurre con el ácido p-coumárico. El ácido

Ácido Sinápico

Ácido p-Coumárico

Dihidroxicinamoil putrescina

Coumaroil R = H-□ Feruloil R = CH₃O-

Figura 2. Estructura de los metabolitos secundarios implicados en la resistencia de maíz a la plaga de almacén Sitophilus zeamais (Motsch).

p-coumárico es importante en la formación de lignina y puede contribuir en el fortalecimiento estructural. El otro mecanismo es una reacción oxidativa acoplada, la cual puede ser catalizada por varios sistemas enzimáticos como la peroxidasa/peróxido de hidrógeno, polifenol oxidasa y lacasa. En estas reacciones los radicales fenoxi pueden reaccionar juntos para formar varios isómeros diméricos (5-5', 8-0-4', 8-5' y 8-8'). Se especula que los diferulatos también pueden participar en la unión entre polisacáridos y la lignina. Recientemente se ha descubierto que en cultivos celulares de maíz los

feruloil arabinoxilanos pueden unirse mediante la acción de la peroxidasa en las vesículas del Golgi y posteriormente secretarse durante los procesos de expansión de la pared (8). Esto sucede preferentemente cuando el tejido es joven, sin embargo en tejido maduro se enlazan posteriormente a nivel de la pared celular con el objetivo de aumentar su rigidez (Fig. 3).

Modelo de la pared celular del pericarpio

El modelo de la pared celular del pericarpio de maíz propuesto por Saulnier y Thibault (9) indica la presencia de heteroxilanos (arabinosa y xilosa, 50%), microfibrillas de celulosa (22%), compuestos fenólicos (5%), ácidos diferúlicos (2.5%) y trazas de lignina y proteínas. En este modelo los heteroxilanos se encuentran altamente entrelazados por medio de puentes diferúlicos, constituyendo una red junto con las microfibrillas de celulosa. Asimismo, las proteínas estructurales pueden unirse entre sí por medio de puentes de isoditirosina y con los ferulatos adheridos a heteroxilanos, generando una compleja red insoluble (Fig. 4). Este tipo de entrecruzamientos favorece el fortalecimiento de la pared celular formando una barrera mecánica (1, 9), la cual influye directamente en la dureza de esta estructura.

Proteínas en la resistencia

Las proteínas, como base de algunos mecanismos de defensa, representan una alternativa de marcadores bioquímicos en variedades resistentes. Se incluyen en este grupo a inhibidores enzimáticos, proteínas estructurales y enzimas. La presencia de inhibidores enzimáticos en estructuras latentes, como los granos, funcionan como sustancias protectoras contra pla-

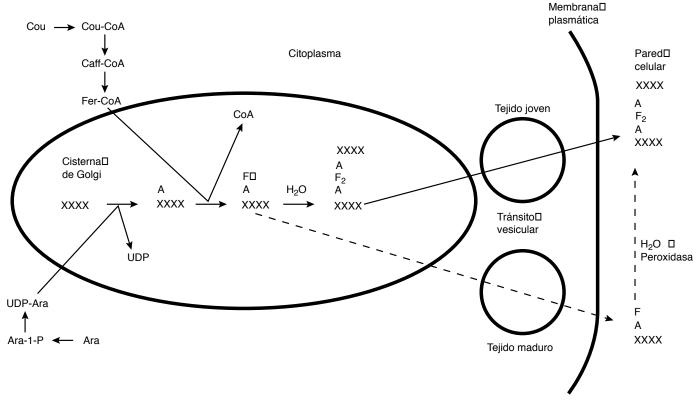


Figura 3. Vía metabólica y subcelular de la producción de diferuloil-polisacáridos en cultivos celulares de maíz. Cou: ácido coumárico, Caff: ácido caféico. Fer: ácido ferúlico, Ara: arabinosa. Diagramas, XXXX: cadena de xilanos, A: cadena con extremo de arabinosa, F: cadena con extremo feruloil, F2: puente de diferuloil (modificado de la referencia 8).

gas y representa un descubrimiento reciente en las interacciones planta-insecto. Algunos tipos de inhibidores de proteinasas y amilasas que afectan los procesos digestivos de plagas como *S. zeamais* han sido descritos en granos de maíz (10). Sin embargo, su caracterización no ha sido completada pues se desconocen aspectos de su especificidad y efectividad.

Por otro lado, las enzimas oxidativas como las peroxidasas y las polifenol oxidasas se encuentran asociadas a la resistencia de manera indirecta. Se ha demostrado que la actividad de estas enzimas permite la implementación de mecanismos de defensa al catalizar la oxidación de varios compuestos en maíz, los cuales limitan la penetración del insecto a través del pericarpio. Un ejemplo es la hidroxilación de fenoles en quinonas

cuyo resultado visible es el oscurecimiento del pericarpio. Estas quinonas son tóxicas para las plagas de almacén (11). Además, estas enzimas pueden participar en el aumento de la rigidez de la pared celular catalizando uniones entre proteínas ricas en hidroxiprolina o extensinas con lignina y ácidos fenólicos con heteroxilanos (Fig. 4).

Las extensinas son proteínas estructurales que se sintetizan durante el desarrollo y se acumulan en altas concentraciones en las paredes celulares de estructuras de protección como el pericarpio (Fig. 4). La presencia de extensinas se ha relacionado con mecanismos de defensa en varias plantas y con el grosor y dureza del pericarpio (12), pero hasta el momento sólo se ha sugerido una asociación discreta entre éstas y la resistencia a *S. zeamais*.

ASPECTOS GENÉTICOS DE LA RESISTENCIA

Los mecanismos y bases de la resistencia mencionados presentan variaciones en su expresión, vinculada con la contribución genética del grano. Las características heredables de defensa se han establecido con base en modelos que consideran la correspondencia entre las estructuras del grano en diferentes generaciones y carga genética. Por medio de la aplicación de varios modelos genéticos lineales se ha podido determinar que la concentración de compuestos fenólicos en pericarpio, de inhibidores de proteinasas en endospermo y la resistencia estructural del grano, tienen una acción genética significativa. Estos análisis han definido efectos aditivos y dominantes de los genes asociados con la expresión de estas características (10).

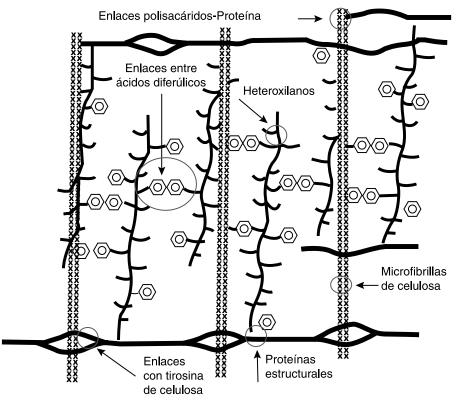


Figura 4. Modelo de la pared celular del pericarpio de maíz señalando las uniones entre ácidos fenólicos, carbohidratos y proteínas (modificado de la referencia 9).

Otros estudios indican que la herencia de la resistencia es poligénica y de origen materno. Se sabe además que factores ontogénicos, ecológicos y ambientales afectan significativamente la expresión de la resistencia en el grano de maíz. Los procesos que ocurren durante el desarrollo de la semilla inciden en la acumulación de los metabolitos asociados con la resistencia. Las enzimas involucradas son codificadas por genes, cuya expresión es específica de tejidos y que es controlada a diferentes niveles, no obstante aún se desconocen muchos aspectos de su regulación.

PERSPECTIVAS BIOTECNOLÓ-GICAS

El avance en el conocimiento de las bases y mecanismos de resistencia de maíz al ataque de *S. zeamais* esta-

blece posibilidades de manipular estas características a escala molecular. Actualmente existen dos estrategias biotecnológicas de mejoramiento e incorporación de características agronómicas deseables en maíz: 1) el uso de marcadores moleculares para la selección genotípica asistida y la identificación de genes y 2) incorporación de genes de resistencia a estas plagas.

Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares (características genotípicas) ofrecen ventajas en la identificación de grupos de genes, determinación de mecanismo de defensa e incremento de la estabilidad y duración de la resistencia. Marcadores del tipo de RFLP (polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción) y SSR (microsatélites) se han utilizado para construir mapas genéticos de resistencia en maíz a distintos lepidópteros, catalogando regiones genómicas y permitiendo la selección genotípica asistida (13). Recientemente nuestro grupo ha iniciado la construcción de un mapa genético en maíz para caracterizar las regiones cromosómicas involucradas en la resistencia a la infestación de *S. zeamais*. Se espera que con esta información sea posible seleccionar variedades de manera más eficaz y permita identificar genes que confieran resistencia a esta plaga.

Plantas transgénicas

Alternativamente se han reportado los primeros resultados de maíz transgénico resistente a plagas de almacén utilizando el gen de avidina (14) y de genes involucrados en los mecanismos naturales de resistencia. como la sobre-expresión de peroxidasas aniónicas en maíz (15). Se sabe que el maíz transgénico comercial que expresa δ-endotoxinas (CryI y II) de Bacillus thuringiensis es específico para lepidópteros y no funciona para coleópteros como S. zeamais. Cabe mencionar que esta tecnología tiene todavía una aceptación limitada y está sujeta a regulaciones en muchos países. En el caso particular de la avidina se ha establecido que puede ser tóxica para mamíferos. Otros genes como el de la enzima fenilalanina amonio liasa y de proteínas estructurales están consideradas como candidatos idóneos sujetos a evaluación.

En el futuro inmediato se espera que la biotecnología permita avances significativos en los estudios de resistencia a insectos a través de la manipulación de vías metabólicas y la localización de genes nativos, para su aplicación en la búsqueda y la generación de variedades de maíz resistentes.

REFERENCIAS

- Arnason J T, Baum B, Gale J, Lambert J D H, Bergvinson D, Philogene B J R, Serratos A, Mihm J y Jewell D C (1994) Variation in resistance of Mexican landraces of maize to maize weevil *Sitophilus zeamais*, in relation to taxonomic and biochemical parameters. Euphytica 74: 227-236.
- **2.** Derera J, Pixley K V y Giga P D (2001) Resistance of maize to the maize weevil: I. Antibiosis. Afr Crop Sci J *9*: 431-440.
- **3.** Kossou D K, Marech J H y Bosque-Perez N A (1993) Comparison of improved and local maize varieties in the Republic of Benin with emphasis on susceptibility to *Sitophilus zeamais* Motschulsky. J Stored Prod Res 29: 333-34.
- **4.** Serratos A, Arnason J T, Nozzolillo C, Lambert J D H, Philogene B J R, Fulcher G, Davidson K, Peacock L, Atkinson J y Morand P (1987) Factors contributing to resistance of exotic maize populations to maize weevil, *Sitophilus zeamais*. J Chem Ecol *13*: 751-763.
- 5. Classen D, Arnason J T, Serratos J A, Lambert J D H, Nozzolillo C y Philogene B J R (1990) Correlation of phenolic acid content of maize to resistance to *Sitophilus zeamais*, the maize weevil in CIMMYT's collections. J Chem Ecol 16: 301-315.
- **6.** Sen A, Bergvinson D, Miller S S, Atkinson J, Fulcher R G y Arnason J T (1994) Distribution and microchemical detection of phenolic acids, flavonoids and phenolic acid amides in maize kernels. J Agric and Food Chem *42*: 1879-1883.
- **7.** Panagabko C, Chenier D, Fixon-Owoo S y Atkinson J K (2000) Ion-pair HPLC determination of hydroxycinnamic acid monoconjugates of putrescine, spermidine, and spermine: potential plant defense compounds. Phytochem Anal *11*: 11-17.

- **8.** Fry C S, Williams S C y Paterson A E J (2000) Intraprotoplastic and wall-localized formation of arabinoxylan-bound diffeurates and larger felurate coupling-products in maize cell-suspension cultures. Planta *211*: 679-692.
- **9.** Saulnier L y Thibault J F (1999) Feluric acid and diferulic acids as components of sugar-beet pectins and maize bran heteroxilans. J Sci Food Agric *79*: 396-402.
- 10. Serratos J A, Blanco-Labra A, Arnason J T y Mihm J A (1997) Genetic of maize grain resistance to maize weevil. En: Insect resistance maize: Recent advances and utilization; Proceedings of an international Symposium held at CIMMYT. Editor: Mihm J A. CIMMYT, pp 132-138.
- **11.** Dowd P F (1994) Enhanced maize (*Zea mays* L.) pericarp browning: association with insect resistance and involvement of oxidizing enzymes. J Chem Ecol *20*: 2777-2803.
- **12.** Hood E E, Hood K R y Fritz S E (1991) Hydroxiprolinerich glycoprotein in cells walls of pericarp of maize. Plant Sci *79*: 13-22.
- **13.** Yencho G C, Cohen M B y Byrne P F (2000) Applications of tagging and mapping insect resistance loci in plants. Annu Rev Entomol *45*: 393-422.
- 14. Kramer J K, Morgan T D, Throne J E, Dowell F E, Bailey M y Howard J A (2000) Transgenic avidin maize is resistant to storage insect pest. Nat Biotechnol 18: 670-674.
- **15.** Dowd P F, Herms D A, Berhow M A y Lagrimini L M (2000) Mechanism of insects resistance in transgenic plants (over) expressing a tobacco anionic peroxidase. Plant Perox Newslett *14*: 93-100.

146 REB *22*(3): 146-154

EL LICOPENO ES EL SUSTRATO PARA LA BIOSÍNTESIS DE BIXINA*

Juan Manuel Zaldívar Cruz¹ y Gregorio Godoy Hernández²

RESUMEN

En la actualidad no existe en la literatura un modelo para explicar la biosíntesis del apocarotenoide denominado bixina, por lo que no se conoce si la bixina es producto de degradación de otros carotenoides cíclicos, como el ácido abscísico (ABA), o si existe un conjunto de enzimas específicas para su biosíntesis. Por lo tanto, en esta revisión de los datos bioquímicos sobre la biosíntesis de apocarotenoides, se propone el posible sustrato y probable ruta de biosíntesis de la bixina presente en las semillas del achiote (Bixa orellana L.). El modelo propuesto es similar al que se reporta en bacterias, se basa en el licopeno, un carotenoide lineal de 40 átomos de carbono, a pesar de que en plantas, los modelos vigentes para explicar la biosíntesis de apocarotenoides se basan en carotenoides cíclicos.

PALABRAS CLAVE: Bixina, licopeno, dioxigenasas, apocarotenoides.

ABSTRACT

In the present time, a model has not been proposed to explain the biosynthesis of the apocarotenoid bixin, hence it is not known whether bixin is cleavage product of other cyclic carotenoids, such as abscisic acid (ABA), or if a specific set of enzymes exists for its biosynthesis. In this review based on the available biochemical data on the apocarotenoids biosynthesis, we propose the possible substrate and probable biosynthetic pathway for bixin that is present in the seeds of annatto (*Bixa orellana* L.). The proposed model is similar to the one reported in bacteria and is based on lycopene, a linear carotenoid with 40 carbon atoms, although in plants, the models to explain the apocarotenoids biosynthesis are based on cyclics carotenoids.

KEY WORDS: Bixin, lycopene, dioxygenase, apocarotenoids.

INTRODUCCIÓN

os apocarotenoides (*apo* significa "a partir de") son compuestos que provienen de cadenas largas hidrocarbonadas de carotenoides de 40 átomos de carbono, los cuales han perdido átomos de carbono de la cadena lineal por medio de reacciones oxidativas. El enorme número de apocarotenoides en la naturaleza se debe a la gran cantidad

de precursores carotenoides (más de 600 han sido identificados), variaciones en el sitio de oxidación en la cadena, y las subsecuentes modificaciones (1). Para la nomenclatura de los apocarotenoides, el prefijo apo- está precedido por el número del átomo de carbono del cual todo el resto de la molécula ha sido removido, por ejemplo, la β-citraurina (28 carbonos) es el 3-hidroxi-8'-

apo-β-caroten-8'-al y la crocetina (20 carbonos) es el ácido 8,8'-dia-pocaroteno-8,8'-dioico. Los carotenoides con 30 átomos de carbono son considerados apocarotenoides para propósitos de nomenclatura (2). Estos compuestos están ampliamente distribuidos en la naturaleza y algunos poseen funciones biológicas importantes en diversos organismos. Por ejemplo, la vitamina A es necesaria para el

^{*}Recibido: 11 de marzo de 2003. Aceptado: 9 de septiembre de 2003.

¹Estudiante del Doctorado en Ciencias y Biotecnología de Plantas. Correo E: zaldivar@cicy.mx ²Investigador-Asesor. Correo E: ggodoy@cicy.mx. Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida, Yucatán, México. Fax: (999)981-39-00.

desarrollo y la visión en animales, mientras que en plantas, el ácido abscísico (ABA) participa en el desarrollo de la semilla y en la adaptación a una variedad de condiciones de estrés. Las plantas producen un gran número de apocarotenoides volátiles y estos compuestos probablemente sirvan como atraventes de insectos y contribuyan al olor y sabor. Algunos pigmentos de apocarotenoides tienen valor económico. como la bixina y la crocetina. En la actualidad muchos apocarotenoides han sido identificados en plantas, pero sus funciones aún permanecen desconocidas (1). Además son muy pocas las rutas de biosíntesis que han sido elucidadas para apocarotenoides, destacando la ruta de biosíntesis para la vitamina A y para ABA. Por lo que en esta revisión se propone la posible ruta de biosíntesis de la bixina, un apocarotenoide presente en las semillas del achiote (Bixa orellana L.), que es empleado como colorante en margarinas, mantequilla, quesos, helados, yogurt, bebidas enlatadas y en condimentos, así como para potenciar el color de la masa en productos de panadería. para teñir sedas y telas de algodón, y en la industria de los cosméticos debido a sus propiedades antioxidantes (3). Basándonos en los datos bioquímicos reportados en la literatura sobre la biosíntesis de apocarotenoides, proponemos que la biosíntesis de la bixina se lleva a cabo a partir de carotenoides lineales como se reporta en bacterias para algunos apocarotenoides y se propone al licopeno, un carotenoide lineal de 40 átomos de carbono, como el precursor de esta ruta. Concluyendo que la bixina no puede formarse a partir de carotenoides cíclicos, aunque en la actualidad, éste sea el modelo vigente para la biosíntesis de los apocarotenoides en plantas.

BIOSÍNTESIS DE APOCAROTE-NOIDES

Existen algunos modelos propuestos para explicar la formación de apocarotenoides, en plantas, bacterias y animales. Algunos autores sugieren que la biosíntesis de apocarotenoides se realiza a partir de carotenoides de al menos 40 átomos de carbono, como el β-caroteno y la zeaxantina. Actualmente, los dos modelos más aceptados son los que proponen como sustratos a carotenoides homo o bicíclicos (1, 4, 5) y a carotenoides lineales (2), siendo la ruptura enzimática de carotenoides en uno o dos sitios específicos de la cadena de polieno, la reacción clave en la biosíntesis de apocarotenoides (5).

Se ha sugerido que los apocarotenoides se forman al azar, como productos de la fotooxidación o por la co-oxidación provocada por lipoxigenasas. Sin embargo, también se ha sugerido que los apocarotenoides de importancia biológica podrían requerir de mecanismos más precisos para su biosíntesis, que incluyan rutas y enzimas específicas para su formación (6). Existe evidencia para este tipo de enzimas en organismos de los 5 reinos, pero se cuenta con poca información sobre su caracterización. Recientemente, ha sido clonado el gen que codifica para la 9-cis-epoxi-carotenoide dioxigenasa, la enzima que participa en la biosíntesis de ABA. La identificación y caracterización de este gen ha provisto de bases para la identificación adicional de enzimas que degradan a carotenoides (1).

BIOSÍNTESIS DE APOCAROTE-NOIDES A PARTIR DE CARO-TENOIDES HOMO O BICÍCLICOS

Este modelo propone que la formación de apocarotenoides involucraría enzimas dioxigenasas, que actuarían sobre precursores con anillos en los extremos de la cadena lineal que contienen dos de las cuatro moléculas de oxígeno en la molécula de ABA (5) y que apocarotenoides como la vitamina A (C_{18}), la crocina (C_{20}), β -ciclocitral (C_{10}), micorradicinas, persicaxantina (C_{25}) y persicacromo (C_{27}), se forman a partir de carotenoides de 40 átomos de carbono con un anillo en cada extremo, como el β -caroteno, 9-cis-neoxantina, 9-cis-violaxantina y la zeaxantina (1, 4, 5, 6, 7).

Las dioxigenasas incorporan O₂ dentro de un sustrato orgánico y se caracterizan por catalizar reacciones de hidroxilación, desaturación y epoxidación, así como por su similaridad de secuencias (1). Las dioxigenasas actúan sobre carotenoides y otros polienos e incluyen a las enzimas de plantas que rompen el doble enlace de la neoxantina, la lignostilbeno dioxigenasa de bacterias y la proteína RPE65 ("Retinal Pigment Epithelium") de vertebrados (5). La característica general de la reacción es la degradación oxidativa, por medio de la dioxigenasa, de un doble enlace en la cadena de polieno (Fig. 1), en posición central (enlace 15,15') o en un doble enlace lateral (enlaces 11',12'; 9',10' o 7',8') (8) dando como resultado la formación de dos moléculas de apocarotenoides con igual o diferente longitud de la cadena (1, 5).

La enzima que corta en la posición 15,15' libera dos moléculas simétricas de retinal (Fig. 1), mientras que las que cortan en la posición lateral (Fig.1) producen dos moléculas de longitud asimétrica, y dependiendo del enlace producen β-apo-8'-carotenal (enlace 7',8'), β-apo-10'-carotenal (enlace 9',10') o β-apo-12'-carotenal (enlace 11',12'). Después de la ruptura asimétrica, los carbonos adicionales son removidos del producto lineal por medio de un mecanismo similar

Figura 1. Biosíntesis del ácido retinoico a partir del β-caroteno (carotenoide bicíclico), por medio de la acción de dos tipos de dioxigenasas. Corte simétrico o asimétrico (adaptado de referencia 5).

al de la β-oxidación, para formar una molécula de ácido retinoico (1, 5). En plantas superiores, se ha encontrado una reacción de rompimiento enzimático oxidativo de un doble enlace situado en uno de los extremos de la cadena. Ejemplo de estas reacciones son la formación de la crocetina en el azafrán, la citraurina y otros apocarotenoides en cítricos y del ABA (4). Experimentos que apoyan este modelo fueron realizados por Gross y Eckhardt (7), los que reportaron la presencia de dos pigmentos apocarotenoides en la manzana Golden (Malus), en un cítrico (Citrus sinensis) y en el aguacate (Persea americana), siendo estos la persicaxantina, un epoxicarotenol de 25 carbonos y el persicacromo de 27 carbonos. Por otra parte, Pfander y Schurtenberg (8) reportaron que la crocetina, un compuesto de 20 átomos de carbono,

presente en el azafrán (*Crocus sativus* L.), se formaba a partir de la degradación de carotenoides de 40 átomos de carbono como el β -caroteno o xantofilas (Fig. 2), ya que en el azafrán se encontraron cantidades de β -caroteno, fitoflueno, tetrahidrolicopeno y de fitoeno, además de la presencia de picrocrocina y safranal, los cuales poseen la misma estereoquímica que la zeaxantina. La enzima que corta en el enlace 7,8 es una dioxigenasa denominada originalmente 7,8-carotenasa (8).

BIOSÍNTESIS DEL ÁCIDO ABSCÍSICO (ABA)

La biosíntesis del ABA es la ruta más estudiada para la formación de apocarotenoides en plantas. Esta ruta involucra dioxigenasas y los sustratos son carotenoides con ciclos en los extremos terminales como la neoxantina, 9-cis-violaxantina y 9'-cis-

neoxantina (1, 4). En plantas, se ha identificado una enzima que cataliza la ruptura asimétrica de carotenoides, después de la identificación de una mutante del maíz (vp14) que mostraba un defecto en la biosíntesis de ABA. La proteína (VP14) codificada por el gen funcional, cataliza la ruptura del 9-cis-epoxi-carotenoide para formar apo-aldehídos de 25 C y la xantoxina como se indica en la figura 3 (1, 6,). VP14 muestra una significativamente alta homología con la lignostilbeno dioxigenasa de Pseudomonas paucimobilis, con la proteína RPE65 humana y con dos secuencias en el genoma completo de la cianobacteria Synechocystis y es capaz de utilizar 9-cis-violaxantina y 9'-cis-neoxantina como sustratos (1, 4). La 9-cis-epoxicarotenoide dioxigenasa cataliza la reacción de degradación oxidativa de un doble enlace (enlace 11,12),

Figura 2. Biosíntesis de la crocetina y la picrocrocina a partir de la zeaxantina (carotenoide bicíclico), debido a la acción de una dioxigenasa. Corte asimétrico en un extremo de la cadena (enlace 7'8') (modificado de referencia 8).

generando dos productos con grupos aldehídos en el sitio de ruptura (Fig. 3). La nomenclatura utilizada para designar a los genes que tienen homología con Vp14 es la de genes de 9-cis-epoxicarotenoides dioxigenasas o enzimas degradadoras de neoxantina (NCED) (1).

Recientemente se han identificado y caracterizado más 9-cis-epoxicarotenoides dioxigenasas (NCEDs) de otras plantas: Lycopersicum esculentum Mill), Phaseolus vulgaris, Zea mays, P. americana Mill y Vigna unguiculata (1). En la secuencia del genoma de Arabidopsis han sido identificadas 9 enzimas potencialmente capaces de degradar carotenoides; una de estas enzimas rompe el doble enlace de la posición 9,10 y 9',10' de una gran variedad de carotenoides, lo que produce una degradación de tipo simétrica, rindiendo dialdehídos de 14 C. La prevalencia de los productos de 14 C (rompimiento simétrico) sobre el producto de 27 C (rompimiento simple) podría indicar que la enzima funciona como un dímero, rompiendo simultáneamente a ambos extremos terminales (1). Los sustratos que han sido probados con estas enzimas son la 9'-cis-neoxantina y la 9-cis-violaxantina. Otros estudios se han enfocado a la sobreexpresión del gen que codifica a la 9-cis-epoxicarotenoide dioxigenasa, demostrando que esta enzima es clave en la biosíntesis de ABA y siendo la reacción en el doble enlace 11-12 del 9-cis-epoxicarotenoide el paso limitante en la biosíntesis de este compuesto (6).

Muchas de las NCDEs identificadas podrían catalizar reacciones de rompimiento de enlaces de carotenoides no involucradas en la biosíntesis de ABA, otras podrían catalizar reacciones de rompimiento de dobles enlaces de sustratos de otros carotenoides, parecido a la lignostilbeno dioxigenasa de procariotas (1).

BIOSÍNTESIS DE APOCAROTE-NOIDES A PARTIR DE CAROTE-NOIDES LINEALES

No se ha descrito la biosíntesis de apocarotenoides en plantas a partir de carotenoides lineales. Solamente ha sido reportada en bacterias como Staphylococcus aureus y Streptococcus faecium, pero el mecanismo de acción y el tipo de enzimas involucradas no han sido elucidadas. Para el caso de S. aureus, el sustrato inicial es el fitoeno y los productos finales son carotenoides con 30 átomos de carbono llamados diapocarotenoides (Fig. 4). Los compuestos formados son análogos del fitoeno: fitoflueno, ζ-caroteno, 7,8,11,23tetrahidrolicopeno y neurosporeno y los llamados diapocarotenos: diapofitoflueno, diapo-ζ-caroteno, diapo-7,8,11,12-tetrahidrolicopeno y el diaponeurosporeno, respectivamente (2). En S. faecium se ha reportado la presencia de 4,4'-diapofitoeno, 4,4'-diapofitoflueno, 4,4'-diapoζ-caroteno, 4,4'-diapo-7,8,1112tetrahidrolicopeno, 4,4'-diaponeurosporeno, 4-hidroxi-4,4'-diaponeurosporeno, 4-D-glucopiranosiloxi-4,4'-diaponeurosporeno, 4,4'-diaponeurosporen-4-al y 4,4'diapolicopen-4-al (2).

BIXINA

La bixina es un compuesto de 25 átomos de carbono con 9 dobles enlaces, cuyo nombre químico es el éster monometílico del ácido 6,6'-diapoψ, ψ-carotenodioico (3). Es un pigmento de color naranja-amarillento que se extrae del arilo o cubierta de las semillas de *B. orellana* L. (9) y es soluble en aceite, mientras que la norbixina, que es el producto formado por su saponificación y es soluble en agua (10).

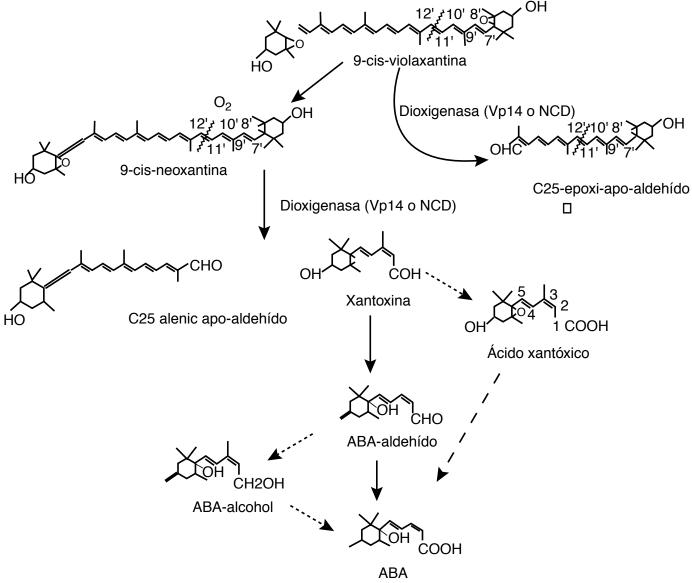


Figura 3. Biosíntesis del ácido abscísico (ABA) en plantas superiores. Los precursores pueden ser carotenoides de C_{40} (fioteno, ξ-caroteno, licopeno y β-caroteno), los cuales dan lugar a los epoxicarotenoides como la 9-cis-violaxantina, que es el sustrato para las dioxigenasas. Se proponen tres posibles rutas para la formación del ABA, la vía ABA-aldehído (la vía más probable en plantas), la vía ácido xantóxico, donde la xantonina es oxidada a ácido xantóxico que se convierte a ABA y la tercera vía, donde el ABA-aldehído primero es convertido a ABA-alcohol, para finalmente convertirse en ABA (modificado de referencia 1).

BIOSÍNTESIS DE LA BIXINA

La bixina pertenece a la pequeña familia de apocarotenoides naturales presente en las semillas de *B. orellana* (11). Los análisis de la concentración de bixina en las semillas han demostrado que representa más del 80% de los carotenoides presentes, por lo que se sugiere que debería de existir un control enzimático para su

biosíntesis, más que una degradación oxidativa al azar semejante a la degradación del β-caroteno (Fig. 5A). Aunque en la actualidad no se conocen enzimas que corten carotenoides de cadena lineal en plantas, ni modelos que propongan la formación de apocarotenoides a partir de éstos, no debe descartarse que la bixina pudiera formarse a partir de carotenoides lineales (Fig. 5A), ya que en las semillas de *B. orellana* se han encontrado trazas de otros carotenoides, siendo estos β,β-caroteno, criptoxantina, luteína, zeaxantína y metil-bixina y algunos otros apocarotenoides como el metil (9'Z)-apo-6'-licopenoato, el metil (9Z)-apo-8'-licopenoato, donde la ca-

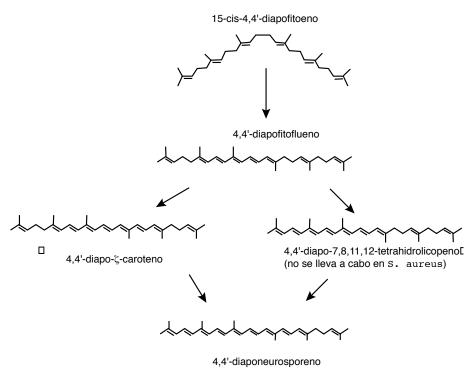


Figura 4. Biosíntesis del 4,4'-diaponeurosporeno, un caroteno lineal de 30 átomos de carbono en bacterias como Streptococcus faecium. No se conocen las enzimas que actúan, ni los enlaces en los que intervienen (2).

racterística principal de estos apocarotenoides es poseer más de 30 átomos de carbono (3, 9, 12, 13).

La detección del metil(9'Z)-apo-6'-licopenoato (Fig. 5B) y de los carotenoides de 40 átomos de carbono como el fitoeno, fitoflueno, ε-caroteno y neurosporeno apoya la teoría de la degradación oxidativa en ambos extremos de la cadena (12). Se han encontrado apocarotenoides lineales de gran tamaño (ésteres de apocarotenoides de C_{30} y C_{32} y derivados del licopeno), así como la presencia de dioxigenasas que cortan carotenoides cíclicos en otras plantas y animales. Sin embargo, la estructura de la bixina corresponde a una cadena lineal con 9 dobles enlaces y 25 átomos de carbono, y las dioxigenasas conocidas cortan asimétrica o simétricamente a carotenoides homo o bicíclicos liberando apocarotenoides con un número menor de

carbonos que la bixina y con un ciclo en la cadena, por lo que debe descartarse que la biosíntesis de la bixina se lleve a cabo por esta vía (Fig. 5A). Por lo anterior, se propone que la bixina podría formarse en una serie de reacciones que al menos incluva rompimiento de dobles enlaces en los extremos de la cadena donde estaría involucrada una enzima dioxigenasa, siendo su sustrato un carotenoide lineal como el licopeno (cuya estructura tiene similitud estereoquímica con la bixina) y otros pasos subsecuentes en el esqueleto lineal del licopeno para la formación de la bixina (Fig. 5B).

CONCLUSIONES

El análisis de los datos bioquímicos sobre la biosíntesis de apocarotenoides, nos sugieren que el licopeno (carotenoide lineal) podría ser el sustrato para la formación de la bixina, como ocurre en algunas bacterias. Además la presencia del metil 9'Zapo-6'-licopenoato, fitoeno, fitoflueno, ξ-caroteno v neurosporeno en semillas de achiote, apoya la degradación oxidativa en ambos extremos de la molécula de licopeno, como la posible ruta de formación de la bixina (12). Durante la revisión bibliográfica para sustentar nuestra nueva propuesta en plantas, el grupo de Covello del Consejo Nacional de Investigación de Canadá (14), a través del "análisis de etiquetas de secuencias expresadas" (ESE) utilizando una biblioteca sustraída (ARN de semillas-ARN de hojas) de ADN complementario, identificaron genes de algunas enzimas (dioxigenasas, aldehído oxidasas, deshidrogenasas y carboxilmetil transferasas) posiblemente involucradas en la biosíntesis de bixina y proponen que el licopeno es el sustrato.

El sitio específico de biosíntesis de la bixina son los cloroplastos y en forma específica los cromoplastos, los cuales están presentes en tejidos fotosintéticos y no fotosintéticos. Hasta ahora, el único estudio embriológico en la especie, indica la presencia de células pigmentadas en las capas parenquimatosas (15) lo que sugeriría que el arilo de la semilla de achiote, probablemente también sea un sitio de biosíntesis y no sólo de acumulación de bixina. Los datos del grupo de Covello, sugieren lo mismo. Sin embargo, en nuestro grupo hemos detectado y cuantificado bixina en hojas, hipocótilos y raíces de plántulas de achiote, así como también en cultivos in vitro de callos y suspensiones celulares (Datos no mostrados), lo que indica que el arilo no es el único sitio de biosíntesis de bixina, sino que también lo son los tejidos fotosintéticos (hojas e hipocótilos) y probablemente hasta tejidos no fotosintéticos (raíz).

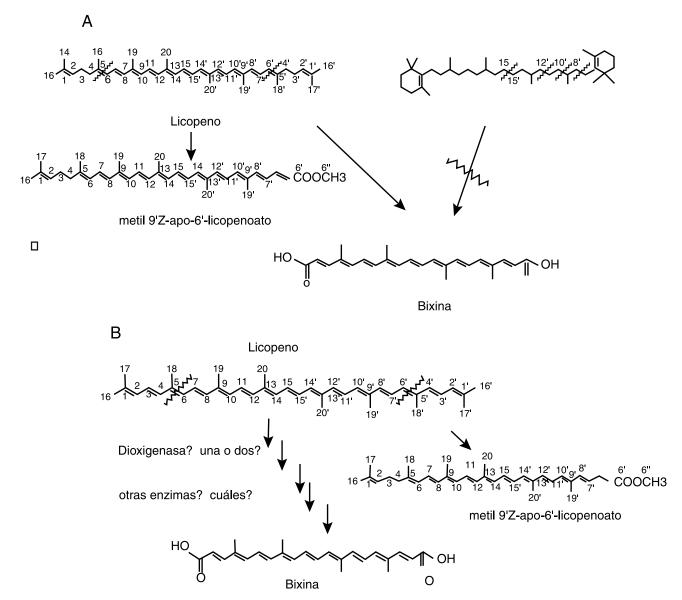


Figura 5. Biosíntesis de la bixina a partir del licopeno. **A)** Comparación de las estructuras del licopeno y del β -caroteno como posibles precursores de la bixina, se desconocen las enzimas que intervienen y se señalan los enlaces donde actuarían las dioxigenasas involucradas en la ruta de biosíntesis (enlaces 5,6 y 5'6' para el licopeno y 7'8', 9'10' y 11'12' para el β -caroteno). **B)** Modelo para la biosíntesis de la bixina teniendo como sustrato al licopeno y se señalan los enlaces donde cortarían las enzimas dioxigenasas involucradas en la reacción (5,6 y 5'6').

PERSPECTIVAS

Como hasta ahora no se tiene elucidada la ruta de biosíntesis de la bixina, sería recomendable realizar estudios empleando la adición de precursores marcados isotópicamente [¹³C] de la ruta de biosíntesis de los carotenoides como gliceraldehído 3-fosfato y piruvato, para obtener el patrón de marcaje del ¹³C

en la molécula de licopeno. Otro aspecto a considerar sería el uso de herbicidas como el norflurazon o derivados de pirimidina como el herbicida J852 y la dihidropirona LS80707, ya que estudios previos mostraron que el norflurazon conduce a la acumulación de fitoeno en hojas de *Capsicum annuum* tratadas con este herbicida, ya que es un

potente inhibidor de la fitoeno desaturasa (PDS), mientras que el J852 inhibe a la PDS y a la ζ-caroteno desaturasa (ZDS) lo que induce una acumulación de fitoeno y ζ-caroteno, con lo que se podría afectar la acumulación de bixina. Finalmente, el empleo de las técnicas de la ingeniería genética podría permitirnos identificar cual es el carotenoide que actúa

Figura 6. Biosíntesis de la luteína y la neoxantina a partir del ξ -caroteno. Zds: caroteno desaturasa, Lyc- ε : Licopeno ε -ciclasa y Lyc- β : Licopeno β -ciclasa.

como precursor. El sobreexpresar el gen que codifica para la ζ -caroteno desaturasa (Zds), permitiría notar si la acumulación de licopeno, incrementa la concentración de bixina, mientras que silenciando (con ARN antisentido) (Fig. 6) el gen que codi-

fica para la licopeno ciclasa (*Lcy*), se podría lograr un aumento en la concentración de licopeno y de esta manera probablemente favorecer el aumento en la biosíntesis de bixina y afectar directamente la producción de xantofilas totales (Fig. 6).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con el proyecto No. 28643-B y la beca de doctorado de Juan Manuel Zaldívar Cruz (No. 66872).

REFERENCIAS

- **1.** Schwartz S, Qin X y Zeevaart J (2001) Characterization of a novel carotenoid cleavage dioxygenase. J Biol Chem *276(27)*: 25208-25211.
- **2.** Goodwin T W (1980) The biochemistry of the carotenoids. Volume I Plants. 2^a Ed. Chapman and Hall, New York, NY, USA, p 377.
- **3.** Aparnathi K D, Lata R y Sharma RS (1990) Annatto (*Bixa orellana* L.) its cultivation, preparation and usage. J Trop Agric 8 (1): 80-88.
- **4.** Qin X y Zeevaart J (1999) The 9-cis-epoxycarotenoid cleavage reaction is the key regulatory step of abscisic acid biosynthesis in water-stressed bean. Proc Natl Acad Sci USA 96(26): 15354-15361.
- **5.** Von Lintig J y Vogt K (2000) Filling the Gap in Vitamin A Research. Molecular identification of an enzyme cleaving b-carotene to retinal. J Biol Chem *275(16)*: 11915-11920.
- **6.** Schwartz S, Tan B, Gage D, Zeevaart J y McCarty D (1997) Specific oxidative cleavage of carotenoids by VP14 of maize. Science *276*: 1872-1874.
- **7.** Gross J y Eckhardt G (1981) Structures of persicaxanthin, persicachrome and other apocarotenols of various fruits. Phytochemistry 20 (9): 2267-2269.

- **8.** Pfander H y Schurtenberg H (1982) Biosynthesis of C₂₀-carotenoids in *Crocus sativus*. Phytochemistry 21(5): 1039-1042.
- **9.** Srivastava A, Shukla Y N, Jain S P y Kumar S (1999) Chemistry, pharmacology and uses of *Bixa orellana* –a review. J Med Arom Plant Sci *21*: 1145-1154.
- **10.** Godoy Hernández G (2000) El achiote, una especie subexplotada. Ciencia y Desarrollo *26(152)*: 34-39.
- **11.** Mercadante A, Steck A, Rodríguez Amaya D, Pfander H y Britton G (1996) Isolation of methyl 9'Z-apo-6'-lycopenoate from *Bixa orellana*. Phytochemistry *41(4)*: 1201-1203.
- **12.** Mercadante Z, Steck A y Pfander H (1997) Isolation and identification of new apocarotenoids from annatto. J Agri Food Chem *45(4)*: 1050-1054.
- **13.** Jondiko I y Pattenden G (1989) Terpenoids and an apocarotenoid from seeds of *Bixa orellana*. Phytochemistry *28(11)*: 3159-3162.
- **14.** Jako C, Coutu C, Roewer I, Reed D, Pelcher L y Covello P (2002) Probing carotenoid biosynthesis in developing seed coats of *Bixa orellana* (*Bixaceae*) through expressed sequence tag analysis. Plant Sci *163*: 141-145.
- **15.** Chopra R y Kaur H (1965) Embryology of *Bixa* orellana Linn. Phytomorphology *15*: 211-214.

REB 22(3): 155

PROBLEMA BIOQUÍMICO

Marcela Varela Gómez, Instituto de Fisiología Celular, UNAM

Tema: Cinética enzimática: Inhibición por producto

La enzima málica tiene un mecanismo Bi Ter ordenado en estado estacionario en el que participan como substratos el malato y el NAD⁺ y como productos el piruvato, el bicarbonato (HCO₃) y el NADPH. Determine usando un diagrama de Cleland el orden de unión de los substratos y el orden de liberación de los productos de acuerdo a los patrones de inhibición por producto que se presentan en la siguiente tabla:

TABLA I

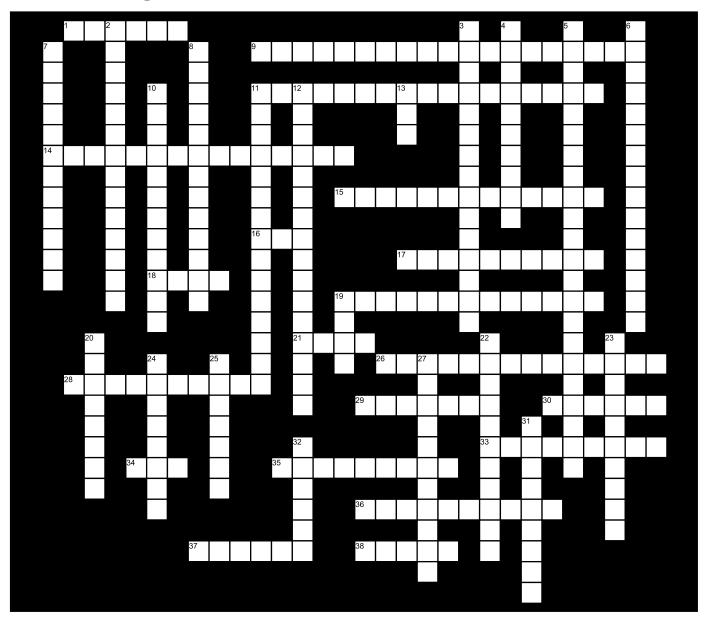
| PATRONES DE INHIBICIÓN POR PRODUCTO DETERMINADOS PARA LA REACCIÓN CATALIZADA POR LA ENZIMA MÁLICA ⁽¹⁾ | | | | |
|---|-----------------------|-----------------------------|--------------------|--|
| Producto Inhibidor | Substrato variable | Substrato fijo no saturante | Tipo de inhibición | |
| NADH | NAD ⁺ | malato | Competitivo | |
| NADH | malato | NAD ⁺ | No competitivo | |
| HCO_3 HCO_3 | NAD+ | malato | No competitivo | |
| | malato | NAD ⁺ | No competitivo | |
| Piruvato | NAD ⁺ | malato | Incompetitivo | |
| Piruvato | malato | NAD ⁺ | Incompetitivo | |

⁽¹⁾ Hsu RY, Lardy HA, Cleland WW (1967) JBC 242: 5315.

CRUCIBIOQ

Yolanda Saldaña Balmori

QUÍMICA DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS



HORIZONTALES

- 1 Investigador que junto con Crick postuló que el DNA nativo está constituido por una doble hélice de cadenas anti-
- paralelas, con giro hacia la derecha.
- **9** Ácido nucleico que codifica la información hereditaria en la mayoría de los seres vivos.
- 11 Fenómeno que ocurre cuando al DNA nativo se calienta y se separan las dos hebras.
- 14 Desoxinucleósido de la gua-
- 15 Ácido ribonucleico del cual hay por lo menos 20 diferentes, su función es acoplar una región de su estructura con otra del RNA mensajero durante la síntesis de las proteínas.

- 16 Número de puentes de hidrógeno que hay en la unión de adenina y timina en el DNA.
- 17 Anillo de seis elementos: cuatro carbonos y dos nitrógenos, que con diferentes sustituyentes da lugar a timina, citosina y uracilo.
- 18 Región de la secuencia codificante de un gen, que se traduce en proteína.
- 19 Tipo de anemia en la cual ocurre una mutación ocasionada por una sustitución de timina por adenina en el gen de la hemoglobina, que la conduce a la codificación de diferente aminoácido.
- 21 En el DNA la guanina se une a la citosina mediante puentes de hidrógeno.
- **26** Nombre con el que se designa al RNA mensajero que contiene información para sintetizar un solo polipéptido.
- 28 Palabra o frase que se deletrea de manera idéntica al derecho y al revés. Aplicable a las regiones de DNA donde hay repeticiones invertidas en la secuencia de bases.
- 29 Base nitrogenada que no forma parte del DNA y es el producto de desaminación de la citosina.
- **30** Base nitrogenada que no está presente en el RNA.
- 33 Nucleósido de la adenina.
- 34 Siglas del ácido nucleico cuyos segmentos reciben el nombre de gen.
- 35 Agentes como la luz ultravioleta y el ácido nitroso, que son capaces de dañar al DNA oca-

- sionando la síntesis anormal de una proteína.
- **36** Forma que adopta la doble hebra del DNA.
- **37** Aldopentosa, participa en la constitución de ribonucleótidos.
- **38** Secuencia de tres nucleótidos en un ácido nucleico que codifica a un aminoácido.

VERTICALES

- 2 Introducción de un DNA extraño a la célula, acción que la hace adquirir un nuevo fenotipo.
- 3 Otra forma de llamar a los ácido nucleicos, por el hecho de ser polímeros de nucleótidos.
- 4 Alteraciones en la estructura del DNA que originan variaciones permanentes en la información genética.
- **5** Ejemplo de esta estructura son el desoxitimidilato y desoxiadenilato, entre otros.
- 6 Término con el que se define a las hebras del DNA ya que ante una adenina siempre hay una timina y ante una guanina una citosina.
- 7 En los polinucleótidos, es el enlace covalente que une a dos nucleótidos por el grupo hidroxilo 5' de uno y el hidroxilo 3' del siguiente.
- **8** Llamamos así a 3 ácidos nucleicos con estructura y función diferentes.
- 10 De los estudios de Watson y Crick se sabe que así es la

- orientación de las dos bandas del DNA.
- 11 Nucleótido de adenina que contiene desoxirribosa.
- 12 Se llama así a la replicación del DNA estudiada por Meselson y Stahl, ya que al separarse las dos hebras, cada cadena sirve de molde para la síntesis de una nueva cadena.
- 13 Siglas del ácido nucleico que está presente en los ribosomas y que lleva a cabo la síntesis de las proteínas.
- 19 Número de pares de bases que hay en una vuelta completa de la forma B del DNA.
- 20 Las fotografías de difracción de rayos X que Rosalind _____ obtuvo fueron un aporte muy importante para la elucidación de la estructura del DNA.
- 22 Se produce por desaminación de la adenina por la acción de una oxidasa y da lugar a la xantina.
- 23 Nucleótido de la citosina.
- 24 Regiones del DNA en las células eucariotas que no se expresan para la síntesis de la cadena polipeptídica.
- 25 Residuo de ácido que junto con un nucleósido da lugar a un nucleótido.
- 27 Nucleósidos fosforilados, son la subunidad monomérica de los ácidos nucleicos.
- 31 Tipo de ácido ribonucleico que transporta la información desde un gen hasta el ribosoma
- **32** Base constituida por los anillos pirimidina e imidazol.

158 REB *22*(3): 158-160

RESPUESTAS AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

Los estudios de inhibición por producto son uno de los enfoques más comúnmente utilizados en la determinación del mecanismo cinético de una enzima, debido a que a partir de estos se puede deducir el orden de unión de los substratos y de liberación de los productos en ambos sentidos de la reacción.

Para estos experimentos las velocidades iniciales se determinan de manera usual pero se utilizan diferentes concentraciones fijas de inhibidor (incluyendo cero) en la mezcla de reacción y concentraciones saturantes o no saturantes del substrato fijo variable. Cabe enfatizar que la concentración del substrato fijo debe cuidarse, pues puede modificar el patrón de inhibición por producto. En el caso de la enzima málica presentamos los resultados de los experimentos a concentraciones no saturantes del substrato fijo (1).

El tipo de inhibición por producto se puede determinar fácilmente al analizar el efecto del inhibidor sobre la pendiente y el intercepto sobre el eje vertical (ordenada al origen) de gráficas de dobles recíprocos.

Un producto (P) actuará como un **inhibidor competitivo** con respecto a un substrato variable (S) solamente si *P y S son mutuamente excluyentes*, lo cual implica que P y S compiten por la misma forma de la enzima o si P se une antes que S en una secuencia ordenada para dar lugar a una forma de la enzima que no une S (2). En este caso solamente la pendiente del gráfico de dobles recíprocos se ve afectada, pero no la ordenada al origen al variar la concentración del producto (Tabla IIA).

Si en el gráfico de dobles recíprocos los interceptos sobre el eje vertical son los que se modifican y no la pendiente al aumentar la concentración de producto, se obtendrá una serie de líneas paralelas que corresponden al patrón gráfico de un inhibidor de tipo incompetitivo (Tabla IIB). P será un **inhibidor incompetitivo** con respecto a S *solamente si S debe unirse antes que P* en la secuencia de reacción (2). En este caso P y S no son mutuamente excluyentes porque se unen a diferentes formas de la enzima y no están interconectados por pasos reversibles porque existen entre ellos pasos que experimentalmente no se llevan a cabo (ver explicación más adelante).

P actuará como un inhibidor **mixto o no competitivo** con respecto a S si P y S son mutuamente excluyentes y P puede unirse antes que S(2). En este caso tanto las pendientes como los interceptos se incrementan al aumentar la concentración de producto y las líneas convergen en un punto a la izquierda del eje vertical, ya sea por arriba, en o debajo del eje horizontal, incluso pueden no cruzarse en el mismo punto (Tabla IIC). Es conveniente aclarar que se puede clasificar a un compuesto indistintamente como inhibidor no competitivo o como inhibidor mixto. Algunos autores consideran un inhibidor no competitivo a aquél en el que las líneas de dobles recíprocos se cruzan sobre el eje de las equis y al resto de los patrones de cruce (por encima o por debajo) los definen como mixtos (2). Sin embargo, Cleland (3) considera que no existe una justificación teórica sólida que permita distinguir entre ambos tipos de inhibidores, por lo cual define como inhibidor no competitivo a cualquier compuesto que modifique tanto interceptos (1/Vmáx) como pendientes (Km/ Vmáx) en el gráfico de dobles recíprocos al aumentar su concentración.

Una vez revisados estos antecedentes, podemos definir el mecanismo cinético de la enzima málica analizando los patrones de inhibición por producto que se muestran en la Tabla I. En el caso de la enzima málica el producto NADH es un inhibidor competitivo con respecto al sustrato variable NAD⁺, lo cual indica que estas dos moléculas se unen a la misma forma de la enzima. Con esta evidencia podemos proponer que ambas moléculas sólo se pueden unir a la enzima libre (E), es decir, en la reacción forward de la enzima málica el NAD⁺ es el primer sustrato que se une y el NADH es el último de los tres productos en liberarse.

Con esta información se puede concluir que el malato se une en segundo lugar. Para apoyar esta propuesta en la secuencia de unión de los substratos se analiza el tipo de inhibición del NADH con respecto al malato. Si el malato es el segundo substrato en unirse, eso implicaría que el NADH y el malato se unen a diferentes formas de la enzima (*E y ENAD*⁺ respectivamente), y en consecuencia, el NADH inhibiría la reacción de manera no-competitiva con respecto al malato. Además el malato y el NADH pueden estar conectados reversiblemente debido a que

TABLA II

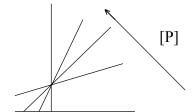
PATRONES GRÁFICOS DE DOBLES RECÍPROCOS Y DEFINICIÓN DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS

TIPO DE INHIBICIÓN Vmáx $_{
m ap}$ (Vmáx/Km $)_{
m ap}$ PATRÓN GRÁFICO

A. Competitivo

*V*máx

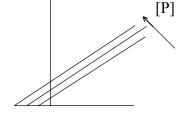
(Vmáx/Km) (1+ I/Kic)



B. Incompetitivo

/máx (1+ I/Kiu)

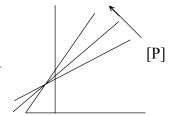
Vmáx/Km

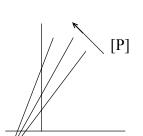


C. No competitivo o mixto

Vmáx (1+ I/Kiu)

 $\frac{V \text{máx/Km}}{(1+\text{I/Kic})}$





Vmáx_{ap} (Velocidad máxima aparente) y (Vmáx/Km)_{ap} (Constante de especificidad) para cada tipo de inhibición. P = concentración de inhibición; Kic = constante de inhibición competitiva; Kiu = constante de inhibición incompetitiva.

existe una secuencia ordenada estricta desde la liberación del NADH hasta la unión del malato al complejo enzima-NAD⁺. La interconexión entre un substrato y un producto por pasos reversibles conduce a una competencia, indirecta, por la enzima. Por

lo tanto esperaríamos que el NADH fuera un inhibidor no competitivo (o mixto) con respecto al malato como se muestra en la Tabla I. Con los datos analizados podemos proponer un esquema cinético parcial de la reacción de la enzima málica (Esquema I). 160 Varela Gómez M



Esquema I. Diagrama de Cleland obtenido a partir de los patrones de inhibición por producto del NADH con respecto a los dos sustratos.

Para determinar el orden de liberación de los otros dos productos (HCO₃⁻ y piruvato) es necesario analizar sus patrones de inhibición con respecto a ambos substratos. De acuerdo con los datos que se presentan en la tabla I, el HCO₃⁻ es un inhibidor no competitivo con respecto a ambos substratos. Este patrón de inhibición indica que este producto se une a una forma diferente de la enzima a la que se unen los substratos, pero las cuales están interconectados por pasos reversibles. Por otro lado, el piruvato es un inhibidor de tipo incompetitivo con respecto a ambos sustratos. Esto sugiere que el piruvato se une a una forma de la

enzima diferente a la que se unen los sustratos, pero a diferencia de lo que se determinó para el HCO₃, no existen pasos reversibles que interconecten directamente a las formas de la enzima que unen los sustratos y al piruvato. La explicación de que no existan pasos reversibles entre la liberación del piruvato y la unión del NAD⁺ y el malato es que entre estos eventos se produce la liberación de otro producto.

Finalmente, con este análisis podemos proponer que el HCO₃⁻ es el primer producto que se libera y el piruvato el segundo. Por lo tanto el esquema de Cleland final para la enzima málica es el siguiente:



REFERENCIAS

- 1. Hsu RY, Lardy HA, Cleland WW (1967) *JBC* **242**, 5315.
- 2. Segel, H I. (1975). Enzyme Kinetics. John Wiley and Sons, New York, USA pp 342-344
- **3.** Cleland, W W (1970) Steady State Kinetics. **En**: The Enzymes volumen 2. Editor: Boyer PD. Academic Press., New York pp 1-65



Comercializadora e Importadora de Productos Químicos, S.A. de C.V.

Proveedores de Insumos Nacionales e Importados para la Industria Farmacéutica, Química, Cosmética, Alimenticia, Hospitalaria e Investigación

- * Biología Molecular
- * Microbiología
- * Bioquímica
- * Inmuno química
- * Fibrosis
- * Farmacología
- * Virología
- * Etc....

- * Inmunología
- * Validación
- * Equipos para Laboratorio

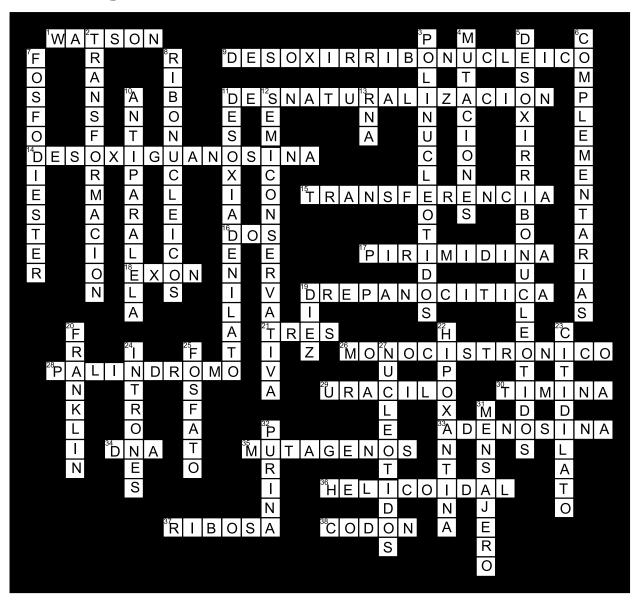
Somos tu mejor opción, cotizaciones en menos de 24 horas, Excelente tiempo de entrega, contáctanos.

Calle 3 Privada Alicia Mz. 8 Lote 3 Col. Cuchilla Pantitlán, México, D. F. Tel.: 5115-4708 Tel./Fax: 5758-9726 E-Mail: cipquim@hotmail.com

REB 22(3): 161 161

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ

QUÍMICA DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS



Informe del XXX Taller de Actualización Bioquímica durante la Semana de la Educación Bioquímica 2003

Este año el XXX Taller de Actualización Bioquímica (TAB03), se celebró en la Ciudad de México en las instalaciones de la UNAM, del 11 al 14 de agosto de 2003. El Comité Organizador estuvo conformado por los doctores Alejandro Sosa Peinado, Héctor Riveros Rosas, Edgar Vázquez Contreras y Óscar Flores Herrera, todos ellos profesores del curso de Bioquímica y Biología Molecular que se imparte en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Durante la ceremonia de inauguración del programa académico del XXX Taller, el Dr. José Narro, director de la Facultad de Medicina de la UNAM, destacó la importancia de continuar este tipo de actividades que han permitido una comunicación directa entre los académicos involucrados en la generación de los conocimientos, los responsables de transmitirlos y los alumnos de pre y posgrado.

Asimismo, la Dra. Ana María López Colomé, al hacer la presentación del evento, señaló que también se cumplen 27 años de la publicación del libro *Mensaje Bioquímico*, así como la reciente institución del reconocimiento Forjadores de la Ciencia en la UNAM, entre quienes se encuentra el Dr. Armando Gómez Puyou, ponente en este evento. De igual manera, recordó que en este año se cumplen cinco décadas del descubrimiento de la estructura del ADN por James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins y Rosalyn Franklin; la primera secuenciación de una proteína: la insulina de bovino, también en 1953, por Frederick Sanger. Entre los invitados se encontraron los doctores Hugo Aréchiga (q.e.p.d.) y Gregorio Pérez Palacios.

Los trabajos preparativos para el XXX TAB iniciaron desde un año antes. Se convocó a participar a profesores y estudiantes de Bioquímica y materias afines de diversas instituciones de Educación Media Superior y Superior tanto del Distrito Federal como del interior de la República. La difusión del programa del Taller de Bioquímica se realizó mediante carteles, anuncios en la Gaceta UNAM, la Gaceta de la Facultad de Medicina, la Revista de Educación Bioquímica, la revista ¿Cómo Ves?, así

como a través de correo electrónico e Internet, principalmente por medio de la página electrónica dedicada especialmente a promocionar y aportar información del evento (http://bq.unam.mx/%7Ecomitetab/), a la cual también se puede acceder a través de la página del Departamento de Bioquímica de la propia Facultad.

Se inscribieron un total de 221 estudiosos de la Bioquímica. 71 profesores, 106 estudiantes de licenciatura y 39 estudiantes de posgrado. El número de asistentes de los diferentes estados de la República fue el siguiente:

| Baja California Sur | 1 | Irapuato | 1 |
|---------------------|-----|------------|---|
| Campeche | 1 | Morelos | 2 |
| Chihuahua | 5 | Nuevo León | 3 |
| Distrito Federal | 186 | Puebla | 2 |
| Estado de México | 6 | Sinaloa | 2 |
| Guanajuato | 2 | Tamaulipas | 1 |
| Hidalgo | 1 | Veracruz | 3 |

Además contamos con la presencia de estudiantes de Argentina y Cuba, y un profesor español.

Adicionalmente, acudieron sin registrarse entre 40-60 profesores y/o estudiantes, quienes asistieron a las conferencias de su interés o en función de su disponibilidad de tiempo. Cabe señalar que para el 70% de los inscritos, esta fue la primera vez que asisten al Taller de Actualización Bioquímica.

El programa del TAB03 consistió en dos tipos de sesiones: las matutinas donde se celebraron conferencias magistrales, en las que se revisaron temas de actualidad, y las sesiones vespertinas que fueron teórico-prácticas, en éstas se abordó la construcción de hipertextos con el uso del Atlas TI.

Los temas y ponentes del XXX Taller de Actualización de Bioquímica fueron los siguientes:

Bases Bioquímicas y Fisiopatológicas de las enfermedades peroxisomales. Gerardo Jiménez Sánchez, del Consorcio Promotor del Instituto de Medicina Genómica, México, y Johns Hopkins University, Baltimore MD, USA.

- Virtudes y pecados de una enzima: la F₀F₁ ATP sintasa. Marieta Tuena de Gómez Puyou, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.
- Sistema de secreción de proteínas en bacterias: biogénesis flagelar y translocación de factores de virulencia. Berta González Pedrajo, de Yale University, BA, USA.
- ¿Cómo se determinan estructuras de proteínas por resonancia magnética nuclear? José Federico del Río Portilla, del Instituto de Química de la UNAM.
- La complejidad de las proteínas: relación entre estabilidad, flexibilidad y catálisis en las enzimas. Armando Gómez Puyou, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.
- Microarreglos de DNA. Jorge Ramírez, de la Unidad de Microarreglos ubicada en el Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.
- ¿Es tóxico el etanol? Enrique Piña, de la Facultad de Medicina de la UNAM.
- Experimentación en el pez cebra: un modelo para la biología del desarrollo. Ernesto Maldonado, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.
- Mecanismos de regulación en el mantenimiento de la línea germinal de *C. elegans*. Rosa Navarro, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.
- Neurobiología de la toma de decisiones. Ranulfo Romo, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.
- La migración de genes de la mitocondria al núcleo y la evolución de los genomas mitocondriales. Diego González Halphen, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.
- La vitamina biotina modifica los patrones de expresión genética en células humanas. Alfonso León del Río, del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.
- Hipertexto y aprendizaje en la educación superior. Iliana Cuenca Almazán y Manuel Aguilar Tamayo, de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Como ha sido costumbre, los ponentes disertaron sobre el tema de su presentación desde un enfoque básico, general e integral, hasta llegar a los aspectos más relevantes y de frontera, que habitualmente sólo se encuentran en las publicaciones especializadas más recientes. Al término de cada presentación, los profesores y asistentes tuvieron la posibilidad de que sus dudas fueran aclaradas por los ponentes, lo

que permitió un intercambio fructífero de ideas y conocimientos.

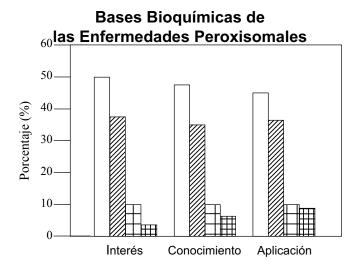
El tema de cada ponencia se redactó por los ponentes de las pláticas, como una monografía que fue arbitrada por el Comité Editorial del Mensaje Bioquímico y posteriormente publicada en el libro Temas Bioquímicos de Vanguardia 2003 (colección Mensaje Bioquímico, Vol. XXVII), el cual fue distribuido oportunamente a todos los inscritos al XXX Taller de Actualización Bioquímica. Es importante mencionar que la edición electrónica de Temas Bioquímicos de Vanguardia puede ser consultada de forma gratuita a través de la siguiente página de Internet: http://bq.unam.mx/mensajebioquímico. Esto permitirá dar una mayor difusión al excelente trabajo que hicieron todos los expositores y que se pone al alcance de un gran número de profesores y estudiantes, quienes podrán actualizar sus conocimientos a través de este medio.

Como ha ocurrido desde sus inicios, en el Taller de Actualización Bioquímica se realizó una encuesta entre los asistentes, a fin de conocer en forma objetiva y oportuna, los resultados de este evento. La opinión sobre la suficiencia y oportunidad de la información recibida para anunciar el programa de actividades, sobre la duración del evento y de las sesiones, así como del interés que generó cada ponencia para seguir estudiando dicho tema, el conocimiento que adquirieron y la aplicación que dicho conocimiento tendrá sobre actividades docentes, se presenta en las siguientes gráficas.

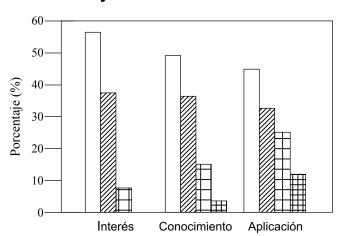
Es importante señalar que más del 70% de los profesores asistentes utilizan el libro Mensaje Bioquímico, para complementar sus clases y proporcionar a sus alumnos artículos citados en el mismo como bibliografía. Aunado a esto, el 87% de los asistentes consideran que su participación en el Taller repercute positivamente en su formación personal y su práctica docente.

En lo referente a nuestra Universidad, los participantes del XXX Taller de Actualización Bioquímica fueron académicos y alumnos de las Escuelas o Facultades de Ciencias, Medicina, Psicología, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Odontología, Química, Cuautitlán, Iztacala y Zaragoza. Además tuvimos una importante presencia de estudiantes y profesores de los Institutos de Fisiología Celular, de Investigaciones Biomédicas y de Química.

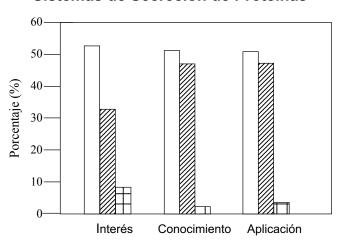
Las Instituciones ajenas a nuestra Universidad que estuvieron representadas durante el evento fueron: el



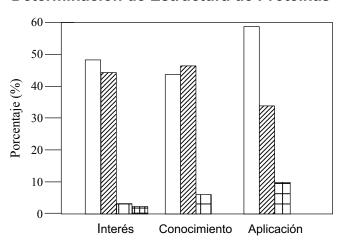
Virtudes y Pecados de la ATPsintasa



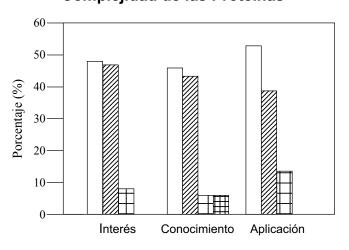
Sistemas de Secreción de Proteínas



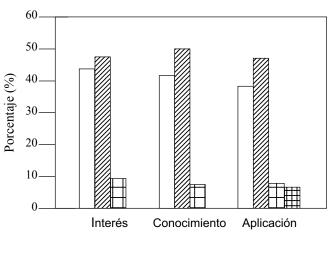
Determinación de Estructura de Proteínas

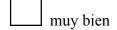


Complejidad de las Proteínas



Microarreglos de DNA

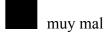










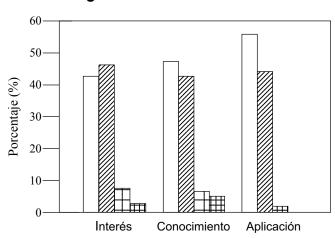


REB 22(3): 162-166 **165**

0

Interés

¿Es Tóxico el Etanol?

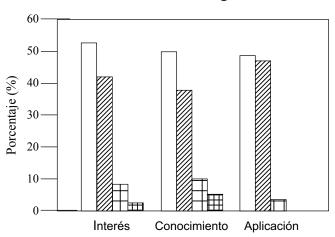


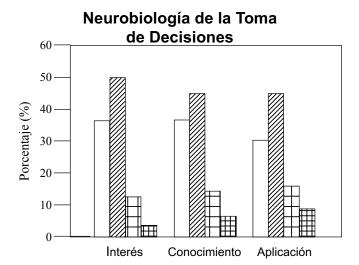
Experimentación con el Pez Cebra 50 (%) 40 10 10

Conocimiento

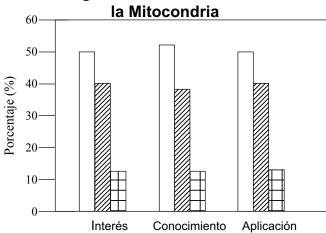
Aplicación

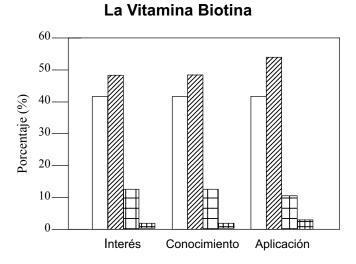
El nemátodo C. elegans





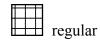
Migración de los Genes de





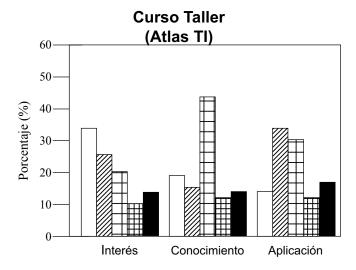
muy bien











Instituto Politécnico Nacional, el Instituto Tecnológico Agropecuario No. 5, el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, la Universidad Autónoma Metropolitana (Unidades Iztapalapa y Xochimilco), la Universidad Autónoma de Baja California Sur, la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, la Universidad Autónoma de Chihuahua, la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, la Universidad Autónoma de Nuevo León, la Universidad Autónoma de Puebla, la Universidad Autónoma de Sinaloa, la Universidad Autónoma de Tamaulipas, la Universidad del Estado de Veracruz, la Universidad Monte Morelos y la Universidad Panamericana.

El 90% de los participantes opinaron que la información del programa académico del XXX Taller de Actualización Bioquímica fue recibida en forma oportuna y suficiente.

El 80% de los asistentes consideró que la duración del evento y de las sesiones fue adecuada.

Finalmente queremos destacar que la edición del libro *Temas Bioquímicos de Vanguardia 2003* (colección Mensaje Bioquímico, Vol. XXVII) y el ciclo de conferencias del Taller de Actualización Bioquímica, también necesitan de otro tipo de colaboradores que son los patrocinadores. Agradecemos las facilidades que nos proporcionaron en todo momento el Dr. José Narro Robles, Director de la Facultad de Medicina, UNAM; la Dra. Ana María López Colomé, Jefe del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM; el Dr. Hugo Aréchiga Urtuzuástegui (q.e.p.d.), Jefe de la Divi-

sión de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina, UNAM; el Dr. Luis Felipe Abreu Hernández, Coordinador del Posgrado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud, UNAM; la Dra. Rosario Muñoz Clares, Coordinadora del Posgrado en Ciencias Bioquímicas, sede Facultad de Química, UNAM. Asimismo, el proyecto del Taller de Actualización Bioquímica cuenta con el apoyo financiero de la Red Latinoamericana de Biología (RELAB), dependiente del CONACYT, por el cual deseamos agradecer en especial a la Dra. Alicia González Manjarrez por su dedicado apoyo. Dentro del personal de la Facultad de Medicina, deseamos agradecer la colaboración de la Lic. Julieta Ambriz y al personal de diseño gráfico a su cargo; al CP Alfonso Aguirre, Jefe de la imprenta; a los doctores Alejandro Cerritos y Francisco Hernández del Departamento de Cómputo; al Lic. Armando Barbosa Calderón, Jefe Administrativo del Departamento de Bioquímica, así como la Dra. Alicia Cea Bonilla, Dra. Patricia del Arenal Mena, Dr. Antonio Caso, Quím. Héctor Delgado, Biol. Adriana Julián Sánchez, Sra. Rosa María López y Sra. Marivel Rojas García. En esta ocasión también contamos con la colaboración de las siguientes compañías, a las cuales agradecemos sinceramente: Grupo Dartos. S. A., McGraw Hill Interamericana, Editorial Pearson Education / Addison Wesley.

Gracias a la participación de los ponentes y asistentes, el Comité Organizador del XXX Taller de Actualización Bioquímica seguirá retroalimentándose para ofrecer cada vez mejores programas de actividades, acordes al desarrollo de esta actividad científica.

Comité Organizador del XXX Taller de Actualización Bioquímica:

Oscar Flores Herrera
Facultad de Medicina, UNAM
Alejandro Sosa Peinado
Facultad de Medicina, UNAM
Héctor Riveros Rosas
Facultad de Medicina, UNAM
Edgar Vázquez Contreras
Instituto de Química, UNAM

Informe del XI Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C.

Durante los días 14, 15 y 16 de agosto y en el marco de la Semana de Educación Bioquímica 2003 en el Auditorio Alfonso Caso de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), se realizó el Congreso de la Asociación, el cual como ya es costumbre, sirve de vehículo de comunicación entre los asociados. El tema central del Congreso fue "Diagnóstico de la Enseñanza de la Bioquímica en México". La invitación a participar se hizo por correo postal, por correo electrónico y mediante la convocatoria en éste nuestro órgano de comunicación la REB, en los volúmenes 21(4) y 22(1), a los miembros de la Asociación y a la comunidad académica que tiene acceso a la revista.

El tema arriba mencionado se eligió considerando que la Asociación tiene el compromiso, con los bioquímicos del país, de servir de vínculo de comunicación en cuanto a la enseñanza de la bioquímica en las diferentes escuelas o facultades en lo relacionado con: planes de estudio, programas, contenidos, enfoques, duración de los cursos, materiales de apoyo, número de estudiantes, criterios de evaluación, etc. Las participaciones con las que contamos durante este Congreso son el inicio de los materiales con que se contará para ese diagnóstico y debido a la complejidad y extensión del contenido para lograr reunirlo, se propone que se conserve el mismo título como tema del Congreso, durante el número de años que se considere necesarios, para tener una relativa representación de la información a la que nos estamos comprometiendo.

El programa estuvo constituido de cinco conferencias: "Educación química" por el doctor Andoni Garritz, de la Facultad de Química de la UNAM; "Mecanismos moleculares de la fisiopatología de la enfermedad causada por priones en humanos" por los doctores Jorge Guevara, del Instituto Nacional de Neurología y Edgar Zenteno, de la Facultad de Medicina de la UNAM; "El Departamento de Bioquímica del Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) del Instituto Politécnico Nacional (IPN): sus primeros 40 años" por el doctor Agustín Guerrero, del propio Instituto; "Enfermedades virales

emergentes: El caso del Síndrome Respiratorio Agudo (SARS)" por el doctor Gustavo Reyes Terán, del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, y "El funcionamiento de las enzimas" por el doctor José Víctor Calderón Salinas, del CINVESTAV del IPN.

Las presentaciones cortas fueron: "Factores que afectan el aprendizaje de la bioquímica en la Facultad de Medicina de la UNAM" por A Cea Bonilla, HJ Delgadillo Gutiérrez y Y Saldaña Balmori; "Estructura y función molecular en la Escuela de Biología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla" por JR Dávila Márquez, LM García Flores y SA Espinosa Morales; "Importancia de que la materia de Biogímica en la carrera de Médico Cirujano sea teórica-práctica" por R Milán Chávez y CV Sánchez Meza; "Los intereses de los estudiantes y la investigación formativa" por A de la Roz y HJ Delgadillo Gutiérrez; "Incidencia de los conocimientos de química en el aprendizaje de la bioquímica en la Facultad de Medicina de la UNAM" por A Cea Bonilla, MY Gutiérrez Cárdenas y H Hiranaka Nakatsura; "La materia de Bioquímica en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León" por H Martínez Rodríguez, AA González Blanco, R Ramírez Hernández, AR Cruz Cabrera, B Alemán de Puente y HA Barrera Saldaña; "Grupo experimental en la enseñanza de la bioquímica" por A Sakuntala Gonzara y ME Carvajal Juárez; "La investigación modular en las licenciaturas profesionales en la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X)" por HJ Delgadillo Gutiérrez y A de la Roz; "Manual de Bioquímica I. UAM-Iztapalapa" por E González Soto, L Bucio Ortiz, F Díaz de León Sánchez, E Cortés Barberena, L Pérez Flores y P Damián Matsumura: "La enseñanza de la bioquímica en el Sistema Modular Xochimilco de la UAM. Estudio de caso" por MG Valdéz Hernández; "La calidad como objetivo estratégico en la educación médica" por MD Ramírez González y "La enseñanza de la bioquímica en la División de Ciencias de la Salud en la Universidad de Monterrey" por G Quintero Flores.

Un grupo formado por los profesores: ME Revuelta Miranda, JL Rico Pérez, A Hernández Beltrán, ME Esquivel Mondragón, T Nopal Guerrero, JF Montiel Sosa, B Rosas Gutiérrez, MP Zúñiga Cruz, O Grajales Muñiz y R Santiago Díaz, de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, presentaron la Mesa Redonda: "Modelos educativos multidisciplinarios de la enseñanza de la bioquímica en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán".

El hacer una relación de los trabajos presentados tiene la intención de invitar a los lectores de la REB, sean miembros o no de la Asociación, a preparar una contribución para el próximo Congreso ya que es importante promover la comunicación y la participación activa entre los docentes de bioquímica y ciencias afines, y de esa manera contribuir a que se logre tener un catálogo de programas, enfoques, sitios, contenidos, etc. de las escuelas o facultades en las que se enseña esta disciplina.

Se inscribieron 47 profesores y la asistencia a las sesiones fue constante pues osciló entre 40 y 50 personas ya que asistieron algunos profesores y estudiantes no inscritos; 18 profesores iniciaron su trámite para el registro como nuevos miembros de la Asociación. Se hizo la invitación a diferentes casas editoriales para participar durante el Congreso y en esta ocasión contamos con la presencia de Deu Press, Mc Graw Hill y Pearson Educación de México.

Con base en el artículo noveno de los Estatutos de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. en REB 21(4):276, 2002 se publicó la convocatoria para que los Asociados postularan candidatos a ocupar la Presidencia de la Asociación para el siguiente bienio. En la Sesión de Negocios se llevó a cabo la votación y quedó electa por unanimidad la doctora Yolanda Saldaña Balmori, miembro fundador de la Asociación, como nueva Presidenta para el bienio 2003-2005. Posteriormente, contó con la aceptación de la doctora Rocío Salceda Sacanelles, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, para cubrir el cargo de Vicepresidenta v de la doctora Celia Virginia Sánchez Meza, del Departamento de Bioquímica de la Facualtad de Medicina de la UNAM, para ser la Secretaria-Tesorera durante esta gestión.

En la misma sesión, el doctor Marco Antonio Juárez Oropeza, Presidente saliente, propuso la modificación de algunos incisos del artículo cuarto de los Estatutos que se refiere a los objetivos de la Asociación, dichas modificaciones se aceptaron previa discusión. La modificación de los Estatutos tiene por objeto cumplir con los requisitos fiscales señalados por la Secretaría de la Hacienda y Crédito Público para poder recibir donativos y emitir recibos fiscales deducibles de impuesto. Por otro lado, se informó que próximamente se contará con la publicación de la REB en internet, un servicio apovado por el doctor Jaime Más Oliva, Director del Programa Universitario de Investigación en Salud, UNAM. Finalmente, el doctor Juárez Oropeza agradeció la colaboración de las doctoras Alicia Cea Bonilla y Patricia Durán Torres en las tareas de colaboradoras de la Mesa Directiva de la Asociación como Vicepresidenta y Secretaria-Tesorera respectivamente, durante el trienio 2000-2003.

La Semana de Educación Bioquímica, que se realiza desde hace once años, permite que en días vecinos, dos actividades académicas con diferente perfil como son el Taller de Actualización Bioquímica que organiza el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM y el Congreso de la Asociación, puedan contribuir a que los profesores tengamos un mejor ejercicio docente.

Es muy importante mencionar que para la realización del Congreso se contó con el apoyo del Departamento de Bioquímica, tanto de la Jefatura del Departamento como del área administrativa, con el del Departamento de Diseño Gráfico, el de la Secretaría de Enseñanza Clínica Internado y Servicio Social, así como las gestiones hechas por la propia Dirección de la Facultad de Medicina ante su Unidad de Estudios de Posgrado, queremos expresar nuestro agradecimiento y reconocer que su participación fue muy significativa para la realización del Congreso.

La Comisión Organizadora: Yolanda Saldaña Balmori Celia Virginia Sánchez Meza Sara Morales López

Vocabulario Inglés-Español de Bioquímica y Biología Molecular

(2.ª entrega)

GONZALO CLAROS¹ Y VERÓNICA SALADRIGAS²

Artículo reproducido con autorización de Panace@, Boletín de Medicina y Traducción 2003; 4 (11) 18-29. http://www.medtrad.org/Panacea/PanaceaPDFs/Marzo2003.htm

aberrant mRNA: ARNm aberrante.

Moléculas de ARNm de características peculiares (ARN ultraleídos — readthrough —, con estructura secundaria compleja debido a la presencia de apareamientos intracatenarios, con modificaciones covalentes, con falta de edición o ARN incompletos), que son sustrato de degradación por parte de proteínas específicas en la ribointerferencia. Véase READ-THROUGH, RNA EDITING Y RNA INTERFERENCE.

acyl-: acil-.

Nombre genérico del grupo funcional que resulta de la eliminación de un grupo hidroxilo de los ácidos orgánicos tales como los aminoácidos.

acylated tRNA: aminoacil-ARNt.

→ AMINOACYL tRNA.

amino acid-accepting RNA: ARN de transferencia.

→ TRANSFER RNA.

amino acid-tRNA ligase: aminoácido-ARNt-ligasa.

Grupo de enzimas específicas que catalizan la formación de un aminoacil-ARNt (L-aa-ARNtaa) a partir de ATP, el aminoácido específico (L-aa) y el ARNt aceptor correspondiente (ARNtaa), con liberación de pirofosfato (PPi) y AMP:

ATP + L-aa + ARNtaa = AMP + PPi + L-aa - ARNtaa

Hay tantas aminoácido-ARNt-ligasas como aminoácidos constituyentes de proteínas (21): tirosina-ARNt-ligasa, leucina-ARNt-ligasa, Balanina-ARNt-ligasa, etc.

Observación: según el Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (NC-IUBMB), el nombre oficial de estas enzimas del grupo 6.1.1 (Ligases forming aminoacyl-tRNA and related compounds) es aminoacid-ARNt ligases, pero también reciben otras denominaciones: aminoacyl-tRNA synthetases; aminoacyltransfer ribonucleate synthetases; aminoacyl-transfer RNA synthetases; aminoacyltransfer ribonucleic acid synthetases; aminoacyl-tRNA ligases; amino acid-transfer RNA ligases; amino acid-transfer ribonucleate synthetases; amino acid translases; amino acid tRNA synthetases.

aminoacyl tRNA: aminoacil-ARNt.

Molécula de ARNt unida a su aminoácido específico. La unión se efectúa mediante un enlace éster entre el carboxilo del aminoácido y el hidroxilo de la posición 3' de la adenosina terminal del ARNt. Las enzimas que catalizan estas uniones son las aminoácido-ARNt-ligasas.

aminoacyl-tRNA synthetase: aminoácido-ARNt ligasa.

→ AMINOACID-tRNA LIGASE.

antisense-RNA control: regulación por ARN complementario, regulación por ARN antiparalelo,

regulación por ARN antisentido.

1 Mecanismo de regulación génica común a los tres reinos de la naturaleza, observado solo recientemente en los organismos eucariotas. Los ARN monocatenarios reguladores se unen, por complementariedad total o parcial de bases, a uno o varios ARN monocatenarios efectores o mensajeros específicos (sense RNA) y, tras formar el híbrido correspondiente, logran impedir el desempeño de la función del ARN efector o la traducción en proteína del ARN mensajero.

2 Por extensión, técnica de laboratorio que se basa en la utilización de ARN monocatenarios complementarios para reducir la expresión de un gen específico.

Observación: los ARN complementarios naturales suelen ser moléculas de 35 a 150 nucleótidos de largo, de estructura terciaria compleja (que facilita el reconocimiento y la unión al ARN específico) y con capacidad de difundir a otros compartimentos celulares. Pueden estar codificados en cis (es decir, se transcriben de un promotor localizado en la hebra opuesta de la misma molécula de ADN) o, más raramente, en trans. Desde el punto de vista metabólico algunos son estables (la mayoría de los codificados en cromosomas y unos cuantos de origen fágico o transposónico), pero otros son inestables (los implicados en la regulación del número de copias de plásmidos).

Véase ANTISENSE RNA y SENSE RNA.

Doctor en Ciencias. Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Universidad de Málaga (España). Dirección para correspondencia: claros@uma.es. ²Doctora en Ciencias Biológicas, con especialización en Biología Molecular por la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (Argentina). Traductora y revisora. Novartis Pharma AG, Basilea (Suiza).

Argonaute proteins: proteínas Argonauta.

Familia de proteínas que se caracterizan por tener dos dominios estructurales denominados PAZ y Piwi (este último en el extremo carboxilo). Se identificaron inicialmente en mutantes de *Arabidopsis* que presentaban una morfología foliar anómala, pero luego se comprobó que existen en numerosos organismos eucariotas. Un miembro de esta familia, la *Ago-2*, es una subunidad del complejo RISC en *Drosophila melanogaster*.

backbone: esqueleto.

- a) Pentose-phosphate backbone, sugar-phosphate backbone (esqueleto de pentosas y fosfatos): serie concatenada de anillos de desoxirribosas o ribosas de una hebra de ácido nucleico, enlazados entre sí por sus posiciones 5' y 3' a través de un grupo fosfato. Los azúcares y fosfatos confieren las propiedades estructurales al ácido nucleico, en cuyas bases nitrogenadas, que no forman parte del esqueleto, se almacena la información.
- b) protein backbone, peptide backbone (esqueleto proteico): estructura básica de todos los polipéptidos formada por la serie de enlaces peptídicos que conectan los aminoácidos de una cadena polipeptídica entre sí, con exclusión de los grupos radicales (-R) asociados a estos aminoácidos.
- c) carbohydrate backbone (esqueleto glucídico): serie concatenada de monosacáridos unidos entre sí por enlaces glucosídicos entre el carbono anomérico de uno de los monosacáridos y uno de los carbonos del otro monosacárido, distinto del anomérico.

carbohydrate backbone: esqueleto glucídico.

→ BACKBONE.

charged tRNA: aminoacil-ARNt.

→ AMINOACYL tRNA.

cognate tRNAs: ARNt cognados, ARNt análogos.

- **1 Dí**cese de dos ARNt reconocidos por la misma aminoacil-ARNt-ligasa (aceptan, pues, el mismo aminoácido) que tienen anticodones idénticos, pero distinta estructura terciaria.
- **2** Dícese de dos ARNt reconocidos por la misma aminoacil-ARNt-ligasa (aceptan, pues, el mismo aminoácido) que tienen anticodones distintos, pero reconocen el mismo codón en el ARNm. Esto es posible gracias a que el codón y el anticodón se reconocen con cierto titubeo (*wobble*). Véase WOBBLE.

Observación: los ARNt cognados también se conocen con el nombre de «ARNt isoaceptores», pues son capaces de aceptar el mismo aminoácido.

→ ISOACCEPTING tRNA.

co-suppression: cosupresión.

Inhibición postranscripcional conjunta de la expresión de un gen endógeno y de su copia transgénica. Es un mecanismo esencialmente idéntico o similar al de la ribointerferencia (RNA interference), pero recibió este nombre cuando fue descubierto inicialmente en plantas transgénicas del género Petunia. Véase POSTTRANSCRIPTIONAL GENE SILENCING (PTGS) y RNA INTERFERENCE.

countertranscript: transcrito complementario.

→ ANTISENSE RNA.

denaturation: desnaturalización.

Desplegamiento total o parcial de la conformación nativa de un polipéptido, una proteína o un ácido nucleico. Las proteínas con estructura terciaria, como lo son casi todas las enzimas y proteínas que desempeñan funciones de regulación, se desnaturalizan o despliegan al ser calentadas o cuando varía el pH de la disolución en la que se encuentran. Puede ser un proceso irreversible, que se acompaña de la pérdida de la actividad biológica y de la solubilidad de la molécula. En el caso de los ácidos nucleicos, no se considera desnaturalización la pérdida de superenrollamiento, pero sí la desaparición de los puentes de hidrógeno entre cadenas complementarias.

denature, to: desnaturalizar.

Perder un biopolímero (por ejemplo, una proteína o un ácido nucleico) su estructura original.

Dicer: Dicer.

Enzima que interviene en los procesos de ribointerferencia (*RNA interference*) y de represión de la traducción (*translational repression*). Consta de varios dominios, uno con actividad helicasa del ARN, dependiente de ATP (en el extremo amino), un dominio PAZ, dos dominios contiguos con actividad endorribonucleasa III (ARNasa III) en serie y un dominio de unión a ARNbc (en el extremo carboxilo). Desde el punto de vista evolutivo es una enzima muy conservada. Actúa sobre moléculas de ácido ribonucleico de dos tipos:

a) ARNbc de 100 o más pares de bases. En este caso, la enzima divide el ARNbc en fragmentos regulares de 21 a 25 pares de bases conforme se va desplazando a lo largo de la molécula; este proceso requiere energía (ATP). Los fragmentos resultantes se denominan «ARN interferentes pequeños» (*small interfering RNA*) y son indispensables para la degradación de ARNm invasores o aberrantes en el fenómeno de la ribointerferencia. Véase RNA INTERFERENCE y SMALL INTERFERING RNA. b) ARN en forma de horquilla de aproximadamente70 nucleótidos (ARNhc).

En este segundo caso, la enzima escinde la horquilla y las zonas no apareadas del ARN horquillado, y libera un fragmento monocatenario de 21 a 23 nucleótidos (línea negra). Este fragmento se denomina «ARN temporal pequeño» (*small temporal RNA*) y es indispensable para la regulación postranscripcional de algunos ARNm endógenos. Véase MICRORNA, SHORT HAIRPIN RNA, SMALL TEMPORAL RNA y TRANSLATIONAL REPRESSION.

DNA backbone: esqueleto del ADN.

→ BACKBONE.

DNA-dependent RNA polymerase: ARN polimerasa dependiente de ADN.

→ DNA-DIRECTED RNA POLYMERASE.

Observación: es una antigua y frecuente denominación de la enzima cuyo nombre sistemático y recomendado es «ARN polimerasa dirigida por ADN».

DNA-directed RNA polymerase: ARN polimerasa dirigida por ADN.

→ PNA POLYMERASE.

double-stranded RNA interference: ribointerferencia, interferencia por ARN (iARN).

→ RNA INTERFERENCE.

dsRNA-induced gene silencing: ribointerferencia, interferencia por ARN (iARN).

→ RNA INTERFERENCE.

dsRNA trigger: ARNbc desencadenante.

→ TRIGGER, RNA INTERFERENCE.

elicitor: inductor, desencadenante.

→ TRIGGER.

Observación: se solían llamar y se siguen llamando de este modo las sustancias que inducen la formación de fitoalexinas —productos de defensa— en las plantas vasculares; las fitoalexinas pueden ser de origen exógeno (procedentes de microorganismos patógenos) o endógeno (procedentes de la degradación de la pared celular). Hoy día, la voz se utiliza casi siempre para denominar cualquier molécula inductora de un proceso.

HDGS: HDGS.

→ HOMOLOGY-DEPENDENT GENE SILENCING (HDGS).

highly repetitive DNA: ADN altamente repetitivo.

ADN no codificante formado por secuencias muy cortas de nucleótidos que se repiten en serie numerosas veces y se disponen en grandes conglomerados en los genomas eucariotas. Cuando se desnaturaliza tiende a volver a hibridarse muy rápido. Comprende el ADN satélite, minisatélite y microsatélite. En los seres humanos representa el 10 % del genoma nuclear. Véase MICROSATELLITE, MINISATELLITE y SATELLITE DNA.

homology-dependent gene silencing (HDGS): silenciamiento génico por homología de secuencias.

Matzke y cols. acuñaron este término en 1994 para nombrar los procesos de inhibición de la expresión de un gen específico que se basan en la existencia de homología entre secuencias de ácidos nucleicos. Se clasifican en dos tipos: cuando la homología entre las secuencias de los ácidos nucleicos afecta a la región promotora de un gen dado se produce el «silenciamiento transcripcional» de dicho gen (*transcriptional gene silencing*, TGS); cuando la homología entre las secuencias de los ácidos nucleicos afecta a la región codificante de un gen dado ocurre el «silenciamiento postranscripcional» de dicho gen (*post-tran-*

scriptional gene silencing, PTGS). Véase RNA INTERFERENCE, POST-TRANSCRIPTIONAL GENE SILENCING (PTGS).

initiator tRNA: ARNt iniciador.

Metionil-ARNt que reconoce específicamente el codón de inicio de la traducción de una proteína —generalmente AUG, pero en las bacterias también puede ser GUG o UUG— en el sitio P del ribosoma. Pese a tener el anticodón UAC específico de la metionina, no puede reconocer los codones AUG del interior del ARNm, porque su estructura se lo impide. En los organismos procariotas, la metionina unida a este ARNt está formilada y el ARNt iniciador se indica con el símbolo ARNt fMet (tRNAfMet); en los organismos eucariotas, en cambio, la metionina no está formilada y el ARNt iniciador se suele indicar con el símbolo ARNtiMet (tRNAiMet). Tanto en los eucariontes como en los procariontes, el símbolo del ARNt que reconoce los AUG internos es ARNtmMet (tRNAmMet). (Estas convenciones de escritura pueden presentar ligeras variantes.).

intergenic DNA: ADN intergénico.

ADN de los genomas eucariotas que separa los genes entre sí. Lo conforman secuencias de diversas clases, en ocasiones extremadamente repetidas, como sucede en los genomas de las plantas. El ADN intergénico constituye un gran porcentaje del genoma de numerosos organismos, incluido el de los seres humanos, y no carece necesariamente de función. Algunos autores consideran que los promotores forman parte del ADN intergénico (en este caso, el ADN intragénico constaría solamente de exones e intrones). Véase JUNK DNA.

isoaccepting tRNAs: ARNt isoacceptores.

→ COGNATE tRNAS.

junk DNA: ADN redundante.

1 ADN de los genomas eucariotas, de función desconocida. En estos genomas, muy poco ADN son secuencias codificantes (en los seres humanos, solo en torno al 3 % del genoma codifica proteínas) y un gran porcentaje del genoma no tiene función asignada (cerca del 97 % del genoma humano está compuesto sobre todo de intrones y de ADN intergénico). Este ADN de función desconocida suele denominarse junk DNA y engloba diversos tipos de secuencias, tanto únicas como repetidas, a saber: 1) retroelementos; 2) repeticiones en tándem cortas (short tandem repeats) de secuencias específicas de nucleótidos, como (GATA)n, localizadas en el ADNc de ciertos ARNm (algunos son ARNm de proteínas que se asocian a las membranas celulares e intracelulares); 3) intrones; dentro de las secuencias intrónicas existen repeticiones dispersas de tipo Alu y L1, que componen cerca del 35 % de la longitud total de los intrones humanos; 4) ADN intergénico; 5) ADN de la heterocromatina, un ADN muy repetido y condensado, característico de los centrómeros, los telómeros o el cromosoma Y. Véase INTERGENIC DNA.

2 ADN singular, habitualmente ramificado, que a veces se forma in vitro durante la multiplicación de un ADN catalizada por la ADN-polimerasa I de *E. coli*.

Observación: en su primera acepción, el ADN redundante recibe otros nombres: selfish DNA, intergenic DNA. No se debe confundir con los espaciadores no transcritos o intergénicos (non-transcribed spacers). Algunos autores se refieren a él como si fuera sinónimo de «ADN no codificante» (non-coding DNA), pero esto es un error. En los libros de texto en castellano figura asimismo con las traducciones literales de «ADN basura» o «ADN chatarra» (junk DNA) o de «ADN egoísta» (selfish DNA). Sin embargo, ahora se tiende a considerar erróneos estos nombres, pues parece haber indicios de que esta fracción de ADN desempeña una función específica dentro del genoma celular.

microsatellite: microsatélite.

ADN sin función conocida del genoma eucariota, formado por repeticiones en serie de unidades compuestas de unos pocos nucleótidos (menos de una decena), que pueden llegar a tener una longitud total de hasta cien pares de bases. Se encuentran dispersas por todo el genoma eucariota. Estas unidades nucleotídicas breves se identificaron por primera vez dentro del ADN satélite, y por su pequeño tamaño recibieron el nombre de «microsatélites». Véase SATELLITE DNA.

microRNA: microARN.

Pequeñas moléculas de ARN monocatenario (de 21 a 25 nucleótidos) que se aparean con el extremo 3' de ARNm homólogos e impiden la traducción de éstos en proteínas. Desempeñan un papel regulador de la traducción. Véase stRNA y TRANSLATIONAL REPRESSION.

minisatellite: minisatélite.

ADN sin función conocida del genoma eucariota, formado por repeticiones en serie de unidades compuestas de una decena de nucleótidos, que pueden llegar a tener una longitud total de 500 a 30 000 pb. Se encuentran dispersas por todo el genoma eucariota, incluso en los telómeros; por ejemplo, en los telómeros de los cromosomas humanos existen repeticiones de hexanucleótidos (TTAGGG) de unas 10 000 a 15 000 pb de longitud (la telomerasa añade estas secuencias para asegurar la multiplicación completa del cromosoma). Estas unidades nucleotídicas breves se identificaron por primera vez dentro del ADN satélite y por su menor tamaño recibieron el nombre de «minisatélites». Véase SATELLITE DNA.

miRNA: miARN.→ MICRORNA.

misacylated tRNA: disaminoacil-ARNt, ARNt disaminoacilado. → MISCHARGED tRNA.

mischarged tRNA: disaminoacil-ARNt, ARNt disaminoacilado. Molécula de ARNt unida a un aminoácido equivocado. *Observación:* según el DUE, el adverbio «mal» puede anteponerse a verbos o participios «para expresar que la acción o estado

que expresan se realiza o tiene lugar de manera perjudicial o

que no es la que conviene, la deseada o la debida» (como en «malvivir», «malherir», «malaconsejado», «malhablado», «malacostumbrado», etc.), de modo que también cabe la posibilidad de traducirlo por «ARNt malaminoacilado» o «ARNt malaminoacilado».

moderately repetitive DNA: ADN moderadamente repetitivo. ADN formado por secuencias presentes en más de una copia en el genoma. Cuando se lo desnaturaliza tiende a volver a renaturalizarse o a reasociarse más rápido que el ADN no repetido. En los seres humanos representa el 30 % del genoma nuclear.

nascent: incipiente, nuevo, naciente.

Adjetivo que califica a una molécula en vía de síntesis o que acaba de ser sintetizada.

- a) nascent RNA (ARN incipiente): molécula de ARN en vía de síntesis;
- **b) nascent RNA** (ARN nuevo): molécula de ARN recién sintetizada;
- **c) nascent polypeptide** (polipéptido naciente): polipéptido en vía de síntesis que emerge por el sitio P del ribosoma.

nested genes: genes anidados.

Genes situados dentro de los intrones de otros genes en los genomas eucariotas. Los genes anidados pueden a su vez contener o no intrones. En este último caso, posiblemente sean copias retrotranscritas de algún gen. Constituyen cerca del 6 % del genoma humano.

nonrepetitive DNA: ADN no repetitivo.

ADN formado por secuencias nucleotídicas presentes una sola vez o en muy pocas copias en el genoma. Cuando se lo desnaturaliza tiende a volver a renaturalizarse o a reasociarse muy despacio. Es el único componente de los genomas procariotas y un componente importante de los genomas eucariotas. Constituyen el 60 % del genoma humano.

PAZ domain: dominio PAZ.

Dominio de unos 110 aminoácidos que toma su nombre de las tres familias de proteínas en las que se ha encontrado: Piwi, Argonauta y Zwille/Pinhead. También es común a ciertas proteínas de la diferenciación celular y de la ribointerferencia tales como CAF, Sting y Dícer.

*pentose-phosphate backbone: esqueleto de pentosas y fosf*atos. → BACKBONE.

peptide backbone: esqueleto peptídico.
→ BACKBONE.

peptide bond: enlace peptidico.

Enlace covalente resultante de una reacción de condensación entre el grupo carboxilo a de un aminoácido y el grupo amino a de otro, con pérdida de una molécula de agua. Los aminoácidos de una proteína se enlazan entre sí mediante enlaces peptídicos.

peptide linkage: enlace peptídico.

→ PEPTIDE BOND.

*phosphodiester backbone: esqueleto de enlaces fosf*odiéster. → BACKBONE.

Piwi box: dominio Piwi.

Dominio conservado de unos 40 a 80 aminoácidos descubierto por primera vez en el extremo carboxilo de las proteínas Piwi—forma abreviada de P-element induced wimpy testis— y Sting de Drosophila. Forma parte de un dominio estructural más grande (de 300 aminoácidos), también muy conservado, que está presente, incluso, en los genomas procariotas. Se desconoce su estructura y función, pero suele caracterizar a las proteínas que participan en la ribointerferencia y el mantenimiento de las células precursoras de la línea germinal de Drosophila.

polymerase: polimerasa.

Nombre común con el que se designan las enzimas que forman polímeros de nucleótidos.

post-transcriptional gene silencing (PTGS): silenciamiento génico postranscripcional.

Degradación citoplasmática del ARNm de un gen específico debido a la presencia de ARNbc complementarios a él. Puede acompañarse de metilaciones en el gen específico. Son fenómenos de silenciamiento génico postranscripcional la cosupresión, la extinción (*quelling*) y la ribointerferencia. Véase CO-SUPPRESSION, HOMOLOGY-DEPENDENT GENE SI-LENCING (HDGS), QUELLING y RNA INTERFERENCE.

PPD proteins: proteínas PPD.

→ ARGONAUTE PROTEINS.

Observación: el acrónimo PPD proviene del nombre «PAZ and Piwi Domain». Véase PAZ domain y Piwi box.

pre-RISC: preRISC.

Complejo RISC antes de su activación con ATP. Véase RNA-INDUCED SILENCING COMPLEX y RNA INTERFERENCE.

*pre-stRNA: p*reARNtp.

→ SHORT HAIRPIN RNA.

protein backbone: esqueleto proteico.

→ BACKBONE.

PTGS: PTGS.

→ POST -TRANSCRIPTIONAL GENE SILENCING.

quelling: extinción (quelling).

Inhibición transitoria de la expresión de un gen específico por introducción de secuencias transgénicas homólogas en el hongo filamentoso *Neurospora crassa*. Es esencialmente idéntica al fenómeno de cosupresión. Véase COSUPPRESSION.

Observación: la palabra quelling fue acuñada en 1992 por Nicoletta Romano y Giuseppe Macino (ambos del Dipartimento di Biopatologia Umana, del Policlinico Umberto I, Università di Roma 'La Sapienza', Roma, Italia) sobre la base de una sugerencia de Claudio Scazzocchio. Se aconseja colocarla entre paréntesis la primera vez que aparezca mencionada en el texto.

RdRP: RdRP.

→ RNA-DIRECTED RNA POLYMERASE.

readthrough: ultralectura.

1 readthrough RNA (ARN ultraleído): transcripción del ADN más allá de la secuencia de terminación normal del gen, cuando la ARNpolimerasa dirigida por ADN no reconoce la señal de finalización de la transcripción.

2 readthrough protein (proteína ultraleída): traducción de una proteína más allá del codón normal de finalización de lectura del ARNm, cuando el codón de finalización de lectura se convierte por mutación en un codón determinante de un aminoácido (*sense codon*).

refolding: renaturalización, replegamiento.

→ RENATURATION.

renaturation: renaturalización, reasociación.

Recuperación de la conformación que tenía un biopolímero desnaturalizado (proteína, ADN, etc.) al reestablecerse las interacciones físicas y químicas de la conformación original. En general se habla de «renaturalización de una proteína» y de «reasociación de un ácido nucleico». Véase DENATURATION.

repetitive DNA: ADN repetitivo.

ADN formado por secuencias nucleotídicas que están presentes en más de una copia en el genoma. El ADN repetido se clasifica en dos clases: ADN moderadamente repetitivo (*moderately repetitive DNA*) y ADN altamente repetitivo (*highly repetitive DNA*).

RISC: RISC.

→ RNA-INDUCED SILENCING COMPLEX.

RNA-dependent RNA replicase: ARN replicasa dependiente de ARN.

→ RNA-DIRECTED RNA POLYMERASE.

Observación: es una antigua y frecuente denominación de la «ARN polimerasa dirigida por ARN», que es el nombre sistemático de esta enzima. Se recomienda utilizar la denominación oficial.

RNA-directed RNA polymerase (RdRP): ARN polimerasa dirigida por ARN.

Enzima que cataliza la extensión del extremo 3' de un ARN, añadiendo un nucleótido cada vez, utilizando como plantilla un ARN. Es indispensable para la multiplicación de los virus de genoma de ARNmc y tiene actividad polimerasa, aún en ausencia de un cebador (*primer*).

Observación: según el Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (NC-IUBMB), el nombre oficial de esta enzima (EC 2.7.7.48) es RNAdirected RNA polymerase, pero también recibe otras denominaciones: RNA nucleotidyltransferase (RNA-directed); RNA nucleotidyltransferase (RNA-directed); RNA-dependent ribonucleate nucleotidyltransferase; 3D polymerase; PB1 proteins; PB2 proteins; phage f2 replicase; polymerase L; Q-β replicase; phage f2 replicase; ribonucleic acid replicase; ribonucleic acid-dependent ribonucleate nucleotidyltransferase; ribonucleic acid-dependent ribonucleic acid polymerase; ribonucleic replicase; ribonucleic synthetase; RNA replicase; RNA synthetase; RNA transcriptase; RNA-dependent ribonucleate nucleotidyltransferase; RDRP; RNA-dependent RNA polymerase; RNA-dependent RNA replicase; transcriptase.

RNAi: iARN.

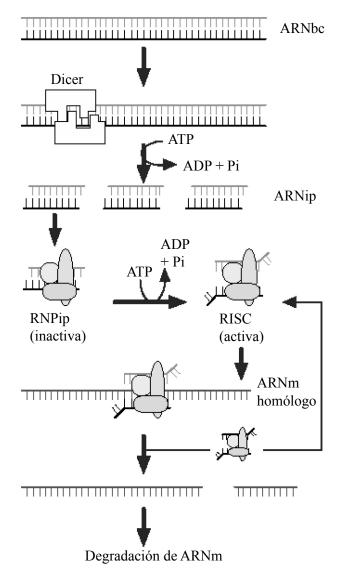
→ RNA INTERFERENCE.

RNA-induced silencing complex (RISC): complejo silenciador inducido por ARN (RISC).

Complejo citoplasmático de unos 500 kDa formado por una molécula de ARNip y una serie de proteínas todavía no identificadas ni caracterizadas en su totalidad. La molécula de ARNip sirve de guía al complejo ribonucleoproteico para reconocer y degradar el ARNm específico en el fenómeno de la ribointerferencia. Una de las subunidades de este complejo riboproteico es una proteína de la familia Argonauta (ago2), también denominada miRNP en las células humanas. La enzima responsable de la degradación del ARNm es una endorribonucleasa desconocida, que lleva el nombre provisional de SLICER. Se presume que RISC está asociado a los ribosomas y que sólo se activa en presencia de ATP; su forma inactiva se denomina pre-RISC o siRNP. Véase RNA INTERFERENCE, SLICER y SMALL INTERFERING RIBONUCLEOPROTEIN (siRNP).

RNA interference (RNAi): ribointerferencia, interferencia por ARN (iARN).

1 Mecanismo de silenciamiento post-transcripcional de genes específicos asociado a la presencia de ARN bicatenarios (ARNbc) homólogos en el citoplasma celular. Consiste en la degradación específica de los ARNm complementarios de una de las hebras del ARNbc. Los ARNm degradados suelen ser transcritos de genes víricos, transposones, transgenes, ARNm aberrantes e incluso cualquier ARNm endógeno que presente complementariedad de bases con una de las hebras del ARNbc. El inicio de la ribointerferencia coincide con la aparición, en el citoplasma celular, de una larga molécula de ARN bicatenario, conocida con el nombre de «ARNbc desencadenante» (dsRNA trigger). Los ARNbc se forman espontáneamente en el curso de la multiplicación de ciertos virus (a través de una ARNpolimerasa dependiente de ARN) y asimismo a partir de ARNm celulares aberrantes o de transgenes, por mecanismos todavía desconocidos, probablemente a través de una ARNpolimerasa depen-



diente de ARN (aunque todavía no se ha identificado ninguna en los seres humanos). Luego, una primera endorribonucleasa denominada «Dícer» (Dicer) fragmenta el ARNbc en una serie de ARNbc de 21 a 25 nucleótidos de longitud denominados «ARN interferentes pequeños» (ARNip). Cada ARNip recién producido se asocia con una serie de proteínas con actividades diversas y forma el complejo RISC. En este complejo, una de las hebras del ARNip sirve de guía para localizar cualquier ARNm complementario presente en la célula con vistas a su destrucción por parte de una endorribonucleasa del complejo RISC, provisionalmente denominada «Eslícer» (*Slicer*), que escinde en dos el ARNm reconocido. Se trata de un mecanismo extremadamente conservado entre los organismos eucariotas (protozoarios, mamíferos, plantas, peces, insectos, hongos, invertebrados y seres humanos) y se ha postulado que desempeña un papel fundamental en la defensa de esos organismos contra la invasión de ácidos nucleicos intrusos (como los virus). También se le atribuye una función de mantenimiento de la integridad del genoma (por supresión de la movilización de transposones y la

acumulación de ADN repetido en la línea germinal) y de destrucción de ARNm aberrantes, incompletos o inestables. Además, existen indicios de que la ribointerferencia afecta a la expresión de genes endógenos por otros mecanismos; en algunas plantas, por ejemplo, la presencia de ARNbc induce metilaciones genómicas en zonas homólogas a una de las hebras del ARNbc. Se ha propuesto que algunos de los componentes del aparato de ribointerferencia participan en la regulación de la expresión de genes celulares. Por último, mientras en algunos organismos (por ejemplo, en las células humanas) se manifiesta como un fenómeno transitorio (que cede con la desaparición del ARNbc exógeno desencadenante), en otros (plantas y nemátodos), se amplifica y difunde hacia el resto de las células del organismo, pudiendo llegar a ser heredable, al menos por algunas generaciones (en Drosophila y en nemátodos, pero no en plantas). Véase DICER, RISC, SIRNA.

2 Por extensión, técnica de laboratorio que se basa en la introducción de ARN bicatenarios desencadenantes o de ARN pequeños interferentes (ARNpi) en un organismo o en una población celular para suprimir la actividad de un gen específico, la mayoría de las veces con miras a estudiar la función de un gen del que se conoce su secuencia pero no su función.

Observación: el término RNA interference o double-stranded RNA interference fue acuñado por Andrew Fire y Craig Mello en 1998 cuando investigaban la supresión de la expresión de un gen con ARN complementarios en el nemátodo C. elegans. Descubrieron que una inyección de ARN monocatenarios complementarios de un gen endógeno, que estaba contaminada con pequeñas cantidades de ARNbc, producía una inhibición del gen endógeno más potente que la que lograban los ARN monocatenarios purificados. En la actualidad, la ribointerferencia se considera un fenómeno idéntico o muy similar a la cosupresión, el silenciamiento postranscripcional y la extinción (quelling). Véase CO-SUPPRESSION, POST -TRANSCRIPTIONAL GENE SILENCING y QUELLING.

satellite DNA: ADN satélite.

ADN del genoma eucariota sin función conocida, formado por unidades repetidas en serie -no hay consenso en cuanto a la longitud de estas unidades; según algunas fuentes varían de 5 a 200 pares de bases— y pueden llegar a ocupar un espacio de hasta cientos de miles de pares de bases e incluso mayor, lo que otorga a este ADN propiedades únicas, por ejemplo, la de poder identificarlo como una fracción separada de la banda principal de ADN en un gradiente de densidad en cloruro de cesio, de allí la denominación de «satélite» (no obstante, en los seres humanos, no todas estas secuencias se distinguen como una banda separada en un gradiente de densidad, tal es el caso del ADN satélite alfa y del ADN alfoide, que constituye el grueso de la heterocromatina centromérica en todos los cromosomas humanos). Representa más del 10 % del genoma eucariota. Se ubica sobre todo en los centrómeros y los telómeros de los cromosomas. Véase HIGHLY REPETITIVE DNA, MICRO-SATELLITE y MINISATELLITE.

satellite RNA: ARN satélite.

Pequeña molécula de ARN (aunque de tamaño superior a 350 nt) que en las plantas vasculares se encapsida con otros virus; también se conoce con el nombre de «virusoide».

satellite virus: virus satélite.

Virus defectuoso que necesita de otro virus (por lo general del mismo género) para poder multiplicarse y encapsidarse.

selfish DNA: ADN redundante.

→ JUNK DNA.

sense RNA: ARN mensajero, ARN efector.

→ MESSENGER RNA (mRNA).

Observación: el término sense RNA se aplica por lo general a moléculas de ARNm. Véase ANTISENSE RNA, ANTISENSE-RNA CONTROL y MESSENGER RNA (mRNA).

short hairpin RNA (shRNA): ARN horquillado corto (ARNhc). Molécula de ARN monocatenario que adopta la forma de una horquilla debido a apareamientos intracatenarios: Es sustrato de la endorribonucleasa Dícer, que al escindirlo libera un ARN monocatenario de unos 22 nt denominado «ARN temporal pequeño» (segmento negro de la figura, el ARNtp). El ARNhc se conoce asimismo con el nombre de stRNA precursor (pre-stRNA). Véase Dicer, small temporal RNA y stRNA

shRNA: ARNhc.

precursor.

→ SHORT HAIRPIN RNA.

silencing trigger: desencadenante del silenciamiento.

→ TRIGGER, RNA INTERFERENCE.

siRNA: ARNip.

→ SMALL INTERFERING RNA.

siRNP: RNPip.

 \rightarrow pre-RISC.

Slicer: Eslícer.

Enzima con actividad endorribonucleasa del complejo ribonucleoproteico RISC. Véase RISC, RNA INTERFERENCE. *Observación:* el nombre de esta enzima proviene de un juego de palabras entre los verbos *to dice* (cortar en cubitos) y *to slice* (cortar en rebanadas).

small interfering ribonucleoprotein (siRNP):

ribonucleoproteína interferente pequeña (RNPip).

→ PRE-RISC.

small interfering RNA (siRNA): ARN interferente pequeño (ARNip).

Pequeños ARNbc de 21 a 25 nucleótidos, resultado de la fragmentación de un ARNbc de mayor tamaño por parte de la endorribonucleasa DICER en el fenómeno de ribointerferencia.

Los dos últimos nucleótidos de cada extremo 3' quedan sin aparear —son nucleótidos protuberantes (*overhang*)— y sus extremos 5' están fosforilados. Véase DICER, RNA INTERFERENCE, SMALL TEMPORAL RNA.

small temporal RNA (stRNA): ARN temporal pequeño (ARNtp).

Pequeñas moléculas de ARN monocatenario (de 21 a 25 nucleótidos) que no se traducen en proteína y que desempeñan una función reguladora al reprimir la traducción de ARNm específicos en determinados momentos del desarrollo de un organismo. Actúan bloqueando la traducción del ARNm al unirse con secuencias parcialmente complementarias de la secuencia trasera (3'UTR) del ARNm, sin afectar a la integridad del mismo. Fueron descubiertos por primera vez en el nematodo *Caenorhabditis elegans*. Constituyen una subclase de microARN. Véase Dicer, microRNA, trailer sequence y translational repression.

Sting domain: dominio Sting.

 \rightarrow IIIWI BOX.

stRNA: ARNtp.

→ SMALL TEMPORAL RNA.

stRNA precursor: precursor del ARNtp.

→ SHORT HAIRPIN RNA.

sugar-phosphate backbone: esqueleto de azúcares y fosfatos. → BACKBONE.

TGS: TGS.

→ TRANSCRIPTIONAL GENE SILENCING (TGS).

transgene-induced co-suppression: cosupresión inducida por transgenes.

→ CO-SUPPRESSION, RNA INTERFERENCE.

Observación: es un caso de ribointerferencia causada por ARNbc de origen transgénico.

transgene silencing: silenciamiento por transgenes.

 \rightarrow TPANSGENE-INDUCED CO-SUPPRESSION, COSUPPRESSION.

transcriptional gene silencing (TGS): silenciamiento génico transcripcional.

Bloqueo de la transcripción de un gen activo debido a la presencia de secuencias homólogas (por ejemplo, ARNbc homólogos). Se acompaña de metilaciones locales, usualmente en el promotor del gen. Las metilaciones traen aparejados a su vez cambios estructurales en la cromatina, que entonces se convierte en heterocromatina y pierde la capacidad de transcribirse. Se trata de un fenómeno epigenético estable y heredable. Véase RNA INTERFERENCE.

translational repression: represión de la traducción.

Regulación temporal de la expresión de un gen durante el desarrollo de un organismo eucarionte gracias a la presencia de pequeños ARN monocatenarios denominados «ARN temporales pequeños» (ARNtp), que se hibridan con los correspondientes mensajeros (ARNm) e inhiben de este modo su traducción en proteína. Véase DICER, SMALL TEMPORAL RNA.

trigger: desencadenante, inductor.

Dícese de la biomolécula o señal que induce o desencadena un proceso celular.

tRNAfMet: ARNtfMet.

→ INITIATOR tRNA.

tRNAiMet: ARNtiMet.

→ INITIATOR tRNA.

uncharged tRNA: ARNt.

Molécula de ARNt sin su aminoácido.

VIGS: VIGS.

→ VIRALLY INDUCED GENE SILENCING.

*virally induced gene silencing (VIGS): silenciam*iento génico inducido por virus (VIGS).

→ RNA INTERFERENCE.

Observación: es un caso de ribointerferencia causada por ARNbc de origen vírico.

viroid: viroide.

Pequeña molécula de ARN monocatenario circular (~350 nt), de multiplicación autónoma, que infecta a las células de las plantas vasculares. Posee una gran autocomplementariedad de bases, carece de genes y, por lo tanto, no expresa proteínas ni se encapsida, sólo se multiplica utilizando el aparato sintético de la célula. En cada ciclo de multiplicación, forma concatámeros que luego se escinden por un mecanismo autocatalítico para fomar nuevos viroides. Se presume que son intrones convertidos en unidades de multiplicación autónoma, pues tienen actividad ribonucleasa. Tienen un gran poder infeccioso en las plantas vasculares y se sospecha que también existen en el reino animal.

virusoide: virusoide.

→ SATELLITE RNA.

wobble: titubeo.

Propiedad de reconocimiento de codones y anticodones mediante la cual una base que ocupa la primera posición del anticodón del ARNt puede aparearse con distintas bases ubicadas en la tercera posición del codón del ARNm, de suerte que un mismo ARNt es capaz de reconocer más de un codón. Por ejemplo, un único ARNtTyr (anticodón 3'-AUG-5') traduce los codones 5'-UAU-3' y 5'-UAC-3' en tirosina:

codón 5' UAC 3'

anticodón 3' AUG 5'

Si entre codones y anticodones sólo hubiera apareamientos perfectos de bases, las células deberían contener tantas especies de ARNt como codones existen en el ARNm. Lo cierto es que, debido a este reconocimiento titubeante, muchos ARNt se aparean con más de un codón. Cabría esperar, pues, que el número de ARNt fuera menor que el número de codones representantes de aminoácidos del código genético (61). No obstante, se han identificado más de 80 especies de ARNt en *E. coli* y hasta 50-100 ARNt distintos en células de animales y vegetales, por lo tanto, la cantidad de moléculas de ARNt es superior tanto al número de aminoácidos presentes en las proteínas (21) como al número de codones del código genético.

Zwille protein: proteína Zwille.

Miembro de la familia de proteínas Argonauta (ARGONAUTE PROTEINS), identificado inicialmente en *Arabidopsis*, donde

interviene en la regulación del desarrollo del meristemo apical durante la embriogénesis. También recibe el nombre de PIN-HEAD.

Agradecimientos

A los doctores Ángel Herráez (Profesor titular de Bioquímica y Biología Molecular en la Universidad de Alcalá de Henares, Madrid, España) y Jesús Sanz (Profesor titular de Bioquímica y Biología Molecular en la Universidad Miguel Hernández, Elche, España) por la lectura crítica de esta segunda entrega del vocabulario de bioquímica y biología molecular, y a José Antonio Díaz Rojo (Investigador Titular. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia (España) por los comentarios y sugerencias recibidos en relación con su contenido.

BIBLIOGRAFÍA

Bernstein E, Denli AM, Hannon GJ. The rest is silence. RNA 2001; 7: 1509-1521.

Brantl S. Antisense-RNA regulation and RNA interference. Biochim Biophys Acta 2002; 1575: 15-25.

Cárdenas J, Fernández E, Muñoz J, Pineda M. Glosario de Biología Molecular. Córdoba: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba; 1996.

Chiu YL, Rana TM. RNAi in Human Cells: Basic structural and functional features of small interfering RNA. Mol Cell 2002; 10: 549-561.

Chopra M, Pachuk C, Satishchandran C, Giordano T. Using RNA interference to modulate gene expression. Targets 2002; 1: 102-108.

Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular: Enzyme Nomenclature. Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of Enzyme-Catalysed Reactions. < http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/enzyme/> [consulta: 12.11.2002].

Cooper GM. The Cell: A molecular approach, 2.a ed. Washington, D.C.: ASM Press; 2000.

Dernburg AF, Karpen GH. A Chromosome RNAissance. Cell 2002; 111: 159-162.

Fire A, Xu SA, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. Nature 1998; 391: 806-811.

Fristensky, B. Plant Molecular Genetics. http://www.biochem. arizona.edu/classes/bioc471 [consulta: 11.09.2002].

Glick DM. Glossary of Biochemistry and Molecular Biology. http://www.portlandpress.com/pp/books/online/glick/ [consulta: 11.09.2002].

Grosshans H, Slack FJ. Micro-RNAs: small is plentiful. J Cell Biol 2002; 156: 17-21.

Hannon GJ. RNA interference. Nature 2002; 418: 244-251.

Hutvágner G, Zamore PD. RNAi: Nature abhors a doublestrand. Curr Opin Genet Dev 2002; 12: 225-232.

Kanno T, Naito S, Shimamoto K. Post-transcriptional gene silencing in cultured rice cells. Plant Cell Physiol 2000; 41: 321-326.

Knight SW, Bass BL. The role of RNA editing by ADARs in RNAi. Mol Cell 2002; 10: 809-817.

Lewin B. Genes VII. Nueva York: Oxford University Press; 2000

Lindenbach BD, Rice CM. RNAi targeting an animal virus: news from the front. Mol Cell 2002 (2): 925-927. Revisión.

Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Biología celular y molecular. 4.ª ed. Madrid: Panamericana; 2002.

Lucy SP, Guo, HS, Li WX, Ding SW. Suppression of post-transcriptional gene silencing by a plant viral protein localized in the nucleus. EMBO J 2000; 19: 1672-1680.

Makalowski W. The human genome structure and organization. Acta Biochim Pol 2001; 48: 587-598.

Martínez de Sousa J. Diccionario de redacción y estilo, 2.ª ed. Madrid: Pirámide; 1997.

Mathews CK, Van Holde KE, Ahern KG. Biochemistry. San Francisco: Addison Wesley Longman; 1999.

McManus MT, Petersen CP, Haines BB, Chen J, Sharp PA. Gene silencing using micro-RNA designed hairpins. RNA 2002; 8: 842-850.

MeSH Browser de la NCBI. http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/entrez/meshbrowser.cgi [consulta: 02.10.2002].

Metzenberg S. Recombinant DNA techniques. http://www.escience.ws/b572/[consulta: 11.09.2002]. Moliner M. Diccionario de uso del español (DUE), 2.ª ed. (versión 2.0 en CD-ROM). Madrid: Gredos; 2001.

Morel JB, Vaucheret H. Post-transcriptional gene silencing mutants. Plant Mol Biol 2000; 43: 275-284.

Moss EG. RNA interference: it's a small RNA world. Curr Biol 2001; 11: R772-R775.

Navarro FA. Diccionario crítico de dudas inglés-español de medicina. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2000.

Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry. Nueva York: Worth Publishers; 2000.

Nicholl DST. An Introduction to Genetic Engineering, 2.^a ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2002.

Nishikura K. A short primer on RNAi: RNA-directed RNA polymerase acts as a key catalyst. Cell 2001; 107: 415-418.

Smith AD et al. (Eds.) Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology. Revised edition. Oxford: Oxford University Press; 2000.

Peers EA, Barragán JV, Vinyals FA, Mora JA. Diccionario inglés-español Cassell. Londres: Cassell & Co.; 1976.

Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Paisley. Peptide bond and peptides. http://www.biol.paisley.ac.uk/Courses/StFunMac/glossary/peptides.html [consulta: 03.03.2003].

PFAM: Protein families database of alignments and HMMs http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml [consulta: 03.03.2003].

Pickford AS, Catalanotto C, Cogoni C, Macino G. Quelling in *Neurospora crassa*. Adv Genet 2002; 46: 277-303.

Swiss Institute of Bioinformatics. PROSITE: Database of protein families and domains. http://us.expasy.org/prosite/ [consulta: 03.03.2003].

Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Vocabulario Científico y Técnico. Madrid: Espasa Calpe; 1990.

Real Academia Española. Diccionario de la lengua española, 22.ª ed.; 2001 [mencionado frecuentemente como DRAE 2001] http://buscon.rae.es/diccionario/drae.htm [consulta: 02.10.2002].

Romano N, Macino G. Quelling: transient inactivation of gene expression in *Neurospora crassa* by transformation with homologous sequences. Mol Microbiol 1992; 6: 3343-3353.

Shi Y. Mammalian RNAi for the masses. Trends Genet 2003; 19: 9-12.

Singer M, Berg P. Genes y genomas, una perspectiva cambiante. Barcelona: Omega; 1993.

Swiss Institute of Bioinformatics. SWISS-PROT Protein Knowledgebase. List of keywords. http://www.expasy.org/cgi-bin/keywlist.pl [consulta: 14.02.2003].

Unilever Education Advanced Series. Proteins. http://www.schoolscience.co.uk/content/5/chemistry/proteins/index.html [consulta: 03.03.2003].

Voet D, Voet JG, Pratt CW. Fundamentals of Biochemistry. Nueva York: John Wiley & Sons; 1999.

Waterhouse PM, Wang MB, Finnegan EJ. Role of short RNAs in gene silencing. Trends Plant Sci 2001; 6: 297-301.

Wong GKS, Passey DA, Huang YZ, Yang Z, Yu J.Is "junk" DNA mostly intron DNA? Genome Res 2000; 10: 1672-1678.

Zamore PD, Tuschl T, Sharp PA, Bartel DP. RNAi: Double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals. Cell 2000; 101: 25-33.

Zamore PD. RNA interference: listening to the sound of silence. Nat Struct Biol 2001; 8: 746-750.

REB 22(3): 179

CORRESPONSALES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

Si eres miembro de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C o suscriptor de la REB y vives fuera de la Ciudad de México, te invitamos a que seas corresponsal de nuestra revista en el sitio donde radiques.

Nos interesa contar con corresponsales adscritos a las Instituciones de Educación Superior en todos los estados de la República, así como en lugares de Centro y Sudamérica, España y otros sitios en donde la REB sea leída.

También nos interesa conocer y publicar las noticias más significativas que en nuestro campo ocurran en los diferentes lugares, ya sean seminarios, cursos, congresos, talleres, publicaciones, etc.

En el documento Normas del Comité Editorial, que es el que nos rige, hay un apartado para esta actividad, mismo que a continuación se transcribe:

5. DE LOS CORRESPONSALES

- 5. a) Los corresponsales de la REB son profesores y/o investigadores, que sin formar parte del Comité Editorial, coadyuvan en las actividades de la revista. El corresponsal debe ser un miembro sobresaliente de la comunidad académica local o regional. Es deseable un corresponsal en cada una de las Instituciones de Educación Superior de la República Mexicana, Centroamérica, Sudamérica y otras regiones de habla hispana.
- 5. b) Uno de los editores se encargará de la coordinación de los corresponsales y de la comunicación con ellos para lograr que los objetivos se cumplan. El puesto será rotatorio y se cambiará cada dos o cuatro años, de acuerdo con el Comité Editorial.
- 5. c) La proposición de corresponsales se hará, mediante documento firmado por cuando menos dos de los editores, que se acompañará con el *Curriculum Vitae* del candidato propuesto.
- 5. d) La discusión del ingreso de un corresponsal deberá realizarse después de que el Coordinador de Corresponsales haya circulado la información correspondiente y con la asistencia en pleno del Comité Editorial.

- 5. e) Para ser aceptado, el candidato deberá contar con la aprobación por consenso de los miembros del Comité Editorial.
- 5. f) En caso de ser admitido, se le hará una invitación formal a la que se anexarán estas normas. Iniciará sus actividades como corresponsal, al recibir el Editor en Jefe la aceptación escrita del candidato.
- 5. g) El Comité Editorial dará el crédito correspondiente a los corresponsales en la revista en el formato que el propio Comité decida.
- 5. h) La salida de un corresponsal puede ser por renuncia voluntaria, presentada por escrito, o bien por acuerdo del Comité Editorial, después de la evaluación de sus actividades.

5.1 RESPONSABILIDADES DE LOS CORRESPONSALES

- 5.1.a) Envío a través del Coordinador de Corresponsales de al menos una contribución propia o de su comunidad al año y de las noticias relevantes de su localidad o región.
- 5.1.b) Mantenimiento del archivo de los suscriptores de la REB de su localidad y comunicación inmediata de los cambios en él.
- 5.1.c) Colaboración en la promoción, difusión y distribución de la REB entre los miembros de su comunidad.
- 5.1.d) Colaboración en las promociones de financiamiento económico de la revista.
- 5.1.e) Elaboración y envío anual de un informe de sus labores que a través del Coordinador de Corresponsales se hará llegar al Comité Editorial junto con una crítica a los números correspondientes.

Por favor, dirige tu correspondencia a la Coordinadora de Corresponsales, Comité Editorial de la REB, Apartado Postal 70-821, México, 04510, DF, MÉXICO, o bien al Tel: (52) 5623-2168/Fax: (52) 5616-2419. email: balmori@laguna.fmedic.unam.mx

Yolanda Saldaña Balmori Coordinadora de Corresponsales de la REB. **180** REB *22*(3): 180

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

La REB es una revista dedicada a la divulgación de temas interesantes y relevantes en el campo de la Bioquímica y de áreas afines. Está dirigida a profesores y estudiantes, por lo que se sugiere que la presentación de los trabajos se ajuste a sus lectores y sea clara y explícita. Serán bienvenidas las contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones. Se solicita a los autores que revisen algunos de los últimos números de esta publicación para que vean estilo, tipos de abreviaturas, etc., así como que se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial:

I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- 1) El artículo deberá enviarse en un disco para computadora, escrito en los procesadores de textos "Winword" o "Word-perfect", con una extensión máxima de 15 cuartillas a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 caracteres por renglón). Éste deberá ir acompañado de tres impresiones del artículo y de la solicitud para su publicación, firmada por cada uno de los autores.
- 2) El trabajo debe iniciarse con el título del artículo, nombre de los autores, iniciando por nombre propio completo y marcado como pie de nota, la afiliación del o los autores (por ejemplo: departamento e institución), domicilio, código postal, ciudad, estado, país, teléfono, fax y correo electrónico en caso de tenerlos. Debe incluirse cuatro renglones más abajo, un título breve con un máximo de 60 caracteres, incluyendo los espacios, para insertarlo como cabeza de página.
- Se deberá incluir un resumen en idioma español y uno en inglés, de más o menos diez renglones, que irán seguidos por conjuntos de tres a seis palabras clave.
- 4) Se sugiere un máximo de quince referencias, tanto específicas como de lecturas recomendadas, numeradas entre paréntesis en el texto de forma progresiva conforme vayan apareciendo. Cada una debe contener: nombres de los autores, año de publicación entre paréntesis, título del artículo, nombre oficial de la revista abreviado como aparece en el Current Contents, número del volumen en cursivas y antecedido por dos puntos el número de la primera y última páginas, de acuerdo con lo que se muestra en el siguiente ejemplo:

Fraga C G y Oteiza P I (1995) Vitaminas antioxidantes: Bioquímica, Nutrición y participación en la prevención de ciertas patologías. Bol Educ Bioq *14*: 12-17.

Weindruch R (1996) Caloric restriction and aging. Sci Amer 274: 32-38.

Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma:

Wood K J (1992) Tolerance to alloantigens. En: The molecular biology of immunosuppression. Editor: Thomson A W. John Willey and Sons Ltd, pp 81-104.

Los libros se citarán de acuerdo con este ejemplo y podrán incluir las páginas totales o las consultadas:

- Lehninger A L, Nelson D L y Cox M M (1993) Principles of Biochemistry. Worth Publishers, New York, NY, USA, p 1013.
- 5) Se aceptarán como máximo seis ilustraciones, figuras más tablas, las cuales deberán estar dibujadas sobre papel albanene con tinta china o bien impresiones láser o presentarse como fotografías en blanco y negro sobre papel brillante, cuya

localización deberá estar señalada en el texto. La limitación en el número de figuras, de tablas y de referencias, obliga a los autores a que se seleccionen aquellas que sean realmente importantes e informativas. Las figuras se deberán numerar con arábigos y las tablas con romanos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán adicionar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán de tamaño, aproximadamente a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores a los dos milímetros. Las tablas se deberán presentar conforme alguna de las publicadas en los números de 1999. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá dársele el crédito correspondiente u obtener el permiso para su publicación. Las figuras dentro del texto deberán mencionarse con minúsculas, la palabra entera y sin paréntesis; cuando se haga referencia a ellas deberá citarse así (Fig. X) numerándolas con arábigos. Las tablas siempre llevarán la inicial a mayúscula y se numerarán con romanos.

- 6) Se deberá evitar hasta donde sea posible los pies de páginas. Las abreviaturas poco comunes que se utilicen en el texto deberán enlistarse en la primera página.
- 7) Se recomienda revisar los números recientes para familiarizarse con el estilo de la revista.

II. OTRAS COMUNICACIONES

- El tema de las otras comunicaciones puede ser muy variado; desde resúmenes de artículos interesantes, relevantes o significativos, información de tipo general, avisos de reuniones académicas y cursos, bolsa de trabajo, comentarios o erratas de artículos publicados previamente, etcétera.
- El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- El trabajo deberá enviarse igual que como se especifica en el inciso I-1.
- 4) Se aceptará un máximo de dos referencias incluidas entre paréntesis en el texto según el inciso I-4. En caso de que se juzgue necesario se podrá incluir una figura o una tabla, de acuerdo con las características que se indican en el inciso I-5.

Los manuscritos serán leídos por tres revisores en un lapso no mayor de dos meses. Las correcciones y sugerencias, así como las pruebas de página se enviarán al primer autor. en caso necesario se recurrirá a revisores externos al Comité Editorial.

El disco y las tres copias de los manuscritos se deberán enviar a la Revista de Educación Bioquímica, Apartado Postal 70-281, México 04510, DF o bien por intermedio del corresponsal de la REB en su localidad.



POSGRADO EN CIENCIAS BIOQUÍMICAS UNAM

POSGRADO RECONOCIDO COMO DE EXCELENCIA INTERNACIONAL EN MAESTRÍA Y DOCTORADO POR EL CONACYT

Acércate y conoce las áreas de investigación en las que puedes realizar tu Maestría y/o Doctorado

FACULTAD DE QUÍMICA

- Biotecnología y Bioingeniería de Alimentos
- Bioquímica y Biología Molecular de Plantas
- Bioquímica Clínica
- Biomedicina Molecular

INSTITUTO DE FISIOLOGÍA CELULAR

- Bioenergética de membranas
- Estructura y función de proteínas
- Transducción de señales
- Biofísica de canales iónicos
- Fisiopatología molecular

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA

- Biología Estructural
- Biología Molecular
- Biología Molecular de Plantas
- Biología del Desarrollo
- Genética
- Genómica

Consulta nuestra página en:

www.posgrado.unam.mx/mdcbq

o dirígete a la

Facultad de Química: Edificio de Alimentos y Biotecnología 1er. piso, Conjunto "E", Circuito de la Investigación Científica, Cd. Universitaria, 04510, D.F.

Leticia García Gutiérrez: téléfono y fax: 56 22 52 99 e-mail: lgarcia@dgep.posgrado.unam.mx

o al

Instituto de Biotecnología: Unidad de Docencia y Formación de Recursos Humanos Chamilpa, Cuernavaca, Morelos Apartado Postal 510-3, Cuernavaca, Mor. c.p. 62271

> Ing. Jalil Saab: teléfono 56 22 78 59 e-mail jalil@ibt.unam.mx