

RESUMEN / ABSTRACT

La transcripción en eucariotas son eventos a los que se les investiga con gran interés, pues es uno de los pasos cruciales para tratar de entender cómo la información del DNA es transformada en un organismo complejo. Aquí se revisan algunos de los pasos más importantes del control de la transcripción genética, haciendo énfasis en la estructura de la cromatina. Se dan algunos ejemplos ilustrativos.

Transcription in eucaryotes is a process investigated with great interest because is one of the crucial steps to understand how the DNA information is transformed in a complex organism. In this paper some of the most important steps in the genetic transcription control are revised giving some illustrative examples.

Recibido: 24 de Septiembre de 2002

Aceptado: 12 de Junio de 2003

\* Departamento de Biología Molecular de Plantas, Instituto de Biotecnología, UNAM. Av. Univ. 2001 Col. Chamilpa. Cuernavaca, Morelos 62210. Correo electrónico: jcraya2001@yahoo.com.mx

# La Estructura de la Cromatina y la Regulación de la Transcripción.

Juan Carlos Raya Pérez\*.

## INTRODUCCIÓN

Con la secuenciación de gran número de genomas de distintos organismos y sobre todo el de humano y otros eucariotas (levadura, arroz, *Arabidopsis*, *Fugu rubripes*, *Caenorhabditis*), ha crecido el interés por saber cómo se regula la expresión de los genes, cómo hacen las células para encenderlos o apagarlos de acuerdo a sus programas de diferenciación y desarrollo. Se podría decir que nos falta conocer cómo lee e interpreta la célula la información contenida en las cadenas del DNA: cómo a partir de una tira de ácido desoxirribonucleico se logra obtener un organismo con órganos, tejidos, extremidades y otras partes del cuerpo organizadas de manera admirable (figura 1).

Con el refinamiento de las técnicas microscópicas y bioquímicas se ha podido establecer que el DNA (ácido desoxirribonucleico) está organizado en nucleosomas. Anteriormente, los microscopistas habían podido observar la apariencia nudosa de la cromatina, luego se vió con mayor claridad que tenía la apariencia de perlas ensartadas en un hilo, los nucleosomas, que están formados por octámeros de histonas, los cuales son proteínas pequeñas cargadas positivamente. Las histonas se descubrieron en 1884 como componentes universales de los cromosomas eucariotas y al refinarse los métodos de extracción se halló que estaban constituídas por 5 tipos, H1, H2A, H2B, H3 y H4. La secuenciación de H4 permitió saber que había una conservación casi perfecta entre las distintas especies (Kornberg y Lorch, 1999), aunque también se ha detectado que la histona H3 está sujeta a presiones adaptativas (Talbert *et al.*, 2002). El nucleosoma está compuesto de 146 pares de bases alrededor del centro protéico de histonas. Si se impide la síntesis de histonas en levaduras se pierde el arreglo en nucleosomas y se prenden los genes que estaban previamente apagados (Kornberg y Lorch, 1999). Así, la transcripción de genes que codifican para proteínas requiere, además de la presencia de la pol II, factores generales de transcripción, T F IIA, B, D, E, F y H; TF IID es un complejo compuesto de varias subunidades que incluyen a TBP, la subunidad que se une a la caja TATA (Kim *et al.*, 1994) (figura 2).

**PALABRAS CLAVE:** Transcripción; RNA polimerasa II; Complejos remodeladores; Cromatina; Potenciadores; Promotores; Factores de transcripción.

**KEYWORDS:** Transcription; RNA polymerase II; Remodeling complexes; Chromatin; Genes; Enhancers; Promoters; Transcription factors.



Figura 1. Del genoma a la vida: “la construcción final” de un organismo requiere del encendido y apagado de gran cantidad de genes, activándose vías de transducción de señales que actúan en serie y/o en paralelo para lograr que las “instrucciones” se ejecuten en los tiempos y zonas precisas a fin de obtener el “producto” requerido.

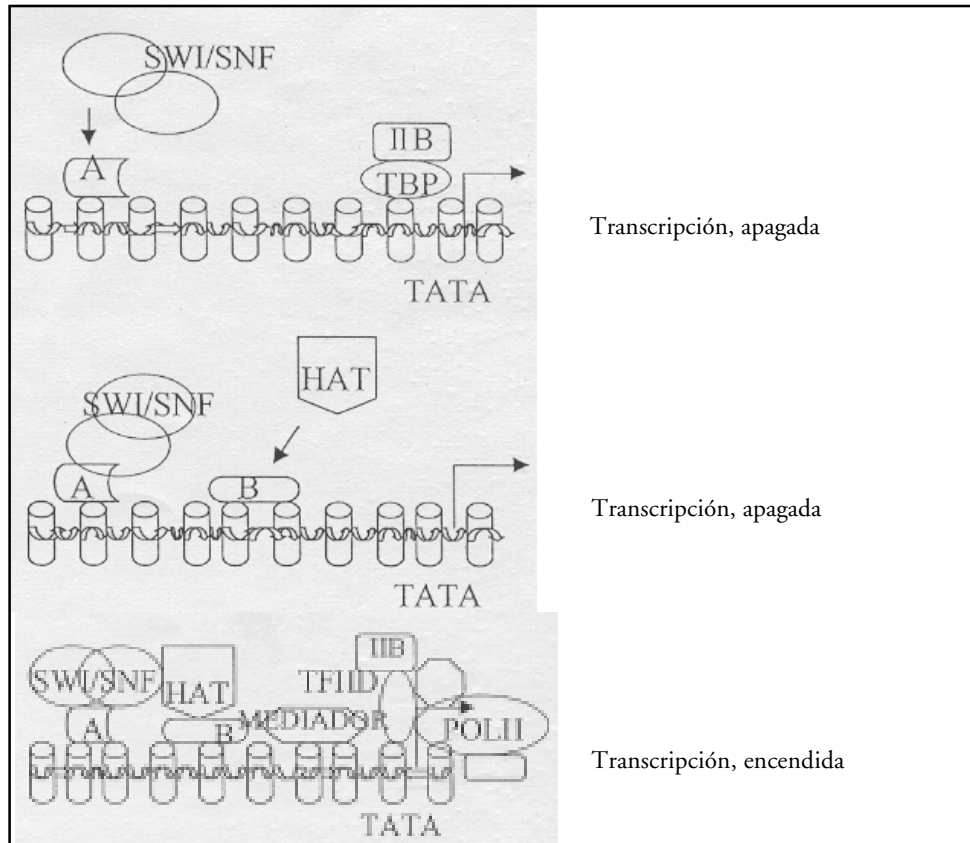
La posición que ocupa la cromatina dentro del núcleo es también importante para la regulación; la que se localiza en el nucleolo o la periferia nuclear es menos móvil que la que ocupa el interior del núcleo. Los telómeros están anclados en la periferia del núcleo, donde hay heterocromatina anclada a la membrana nuclear y eucromatina adyacente al poro nuclear; al parecer la membrana nuclear puede servir de anclaje a los factores de transcripción, contribuyendo así a la regulación genética (Carmo-Fonseca, 2002). Las regiones del genoma que no se transcriben están empacadas en heterocromatina, que está muy condensada, por lo cual no es accesible a las proteínas que participan en la transcripción. Los genes que se transcriben están en la eucromatina, que es más accesible.

El “corazón” del nucleosoma comprende al ADN enrollado (como un ovillo) alrededor del tetrámero de histonas  $(H3)_2(H4)_2$  en el centro y las H2A-H2B con dos copias de cada una en los extremos; los centros de los nucleosomas se conectan entre sí a través de los conectores “linkers”, secuencias de DNA de longitud va-

riable pero importantes para la regulación genética. La histona H1 está cerca del centro del nucleosoma pero en el interior de la fibra de cromatina, junto con el “conector” al que se une; las otras histonas tienen unas “colas” que sobresalen desde el corazón del nucleosoma y la cola de la histona H4 de un nucleosoma interactúa con el dímero H2A-H2B en la cara plana del nucleosoma adyacente. Las interacciones histona-DNA se restringen a la columna de enlaces fosfodiéster de las hebras del DNA en la superficie interna de la superhélice; hay interacciones electrostáticas y puentes de hidrógeno con el fos-

fato y contactos no polares con la desoxirribosa. Debido a esto y a que no interactúan con las bases del ADN, las histonas pueden empacar cualquier DNA, sin importar su secuencia (Kornberg y Lorch, 1999).

Cada tipo celular, durante la diferenciación y el desarrollo, empaca sus genes en un patrón único que es mantenido a lo largo del ciclo celular y por lo tanto durante las divisiones celulares, heredándose las características del linaje celular de generación en generación. Podría decirse que las células de determinado órgano mantienen accesibles los genes que usarán para cumplir su función y mantendrán apagados el resto (Orphanides y Reinberg, 2002; Pflumm 2002). Por otra parte, el silenciamiento de los transgenes está correlacionado con un aumento en la metilación del promotor del gen y es meiótica y mitóticamente heredable (Li *et al.*, 2002; Bender, 2001; Choi *et al.*, 2002). Las evidencias indican que la “desrepresión” o “liberación” al nivel de la fibra de cromatina precede a la del nucleosoma individual; en vertebrados los genes transcripcionalmente activos (encendidos) están en dominios cromosomales tan grandes como 100 kb (kilobases); en éstos parece haber una descondensación de la cromatina e



**Figura 2.** Una proteína se une al ADN de modo específico A y recluta un complejo remodelador de cromatina (SWI/SNF) que estabiliza la unión de A al modificar la estructura nucleosomal. En algunos promotores un complejo parcial de iniciación de la transcripción (TF IIB, TBP) es capaz de unirse en este paso. Después de la remodelación de la histona la acetil-transferasa (HAT) es dirigida al promotor, donde acetila al nucleosoma y facilita la unión del segundo activador transcripcional; el complejo de iniciación puede estar completo en este paso (TFIID, pol II) sobre algunos promotores. La proteína B compromete a un complejo co-activador-mediador que confiere especificidad a la interacción con los componentes del complejo de iniciación (Emerson 2002).

incluye un locus que puede regular la actividad de varios genes dentro de un dominio único (locus regulador) y a los aisladores “insulators” que delimitan las fronteras del dominio y que además muestran un incremento en la acetilación de las colas de las histonas. Hay aminoácidos específicos sobre las colas de las histonas que pueden ser modificados por acetilación, fosforilación, ubiquitinación y ADP-ribosilación, lo que ha llevado a postular que existe un código de histonas, es decir, que dependiendo de las modificaciones que presenten éstas, los genes pueden o no transcribirse. Se propone que los distintos patrones de modifi-

cación en las colas que están a la altura o nivel de los promotores de los genes, facilitan o impiden la unión de las proteínas que modifican la cromatina, incluidos los coactivadores y los correpresores. La fosforilación de la H3 en su residuo de serina 10, junto con la acetilación del residuo de la lisina 9 y/o la lisina 14 provoca la activación de genes que se expresan de manera temprana durante el desarrollo de la planta; pero la fosforilación de H3 y la incorporación de un análogo pericéntrico de H3, junto con otras señales, puede inducir la condensación mitótica del cromosoma (Gamble y Freedman, 2002; Li *et al.*, 2002; Kornberg y Lorch, 1999).

La posición de los genes en el núcleo y la compartimentalización de proteínas son: otro modo de regular la transcripción.

Las plantas, levaduras y animales tienen dos tipos de histona acetil-transferasa (HAT-A) y (HAT-B); la segunda acetila histonas en el citosol mientras que la primera la acetila en el nucleosoma; la acetilación permite la transcripción mientras que la desacetilación lo impide; en plantas hay tres tipos de desacetilasas (HDAC); una tipo RPD3, otra HDA1; ambas parecidas a las de levadura y tienen además un tipo HD2 que parece ser propio de plantas (Li *et al.*, 2002). Las HATs, HDACs, metil transferasas e histona cinasas son reguladores que catalizan la modificación post-traduccional de las histonas. El reclutamiento de HATs y HMTs a los promotores de los genes por parte de los activadores da como resultado la acetilación y metilación, respectivamente, de las histonas y se requieren para la activación de muchas clases de genes. El reclutamiento de las HDACs por parte de los represores transcripcionales provoca la desacetilación de las histonas y se requieren para la represión (Orphanides y Reinberg, 2002).

## LOS COMPLEJOS REMODELADORES DE CROMATINA

La accesibilidad del DNA a la proteína es regulada por varios complejos enzimáticos que alteran la estructura del nucleosoma en una forma dependiente de ATP o por modificación de las histonas; este remodelamiento de la cromatina permite que pueda interactuar con los factores de transcripción, mediante los cuales, los genes son expresados de manera específica (Emerson, 2002).

Uno de los complejos multiprotéicos que modifican la estructura del nucleosoma es SWI/SNF; este complejo es capaz de transferir el octámero de histona de una cadena de ADN a otra y, además, está evolutivamente muy conservado (figuras 3 y 4). Otra manera de poner accesible el DNA a los factores de transcripción es deslizando la cadena de DNA sobre las histonas, dejando así expuesta una parte de la cadena que antes no lo estaba (Choi *et al.*, 2002) (figura 4).

Como se mencionó, al parecer, en una primera fase se modifican las colas de histona y en

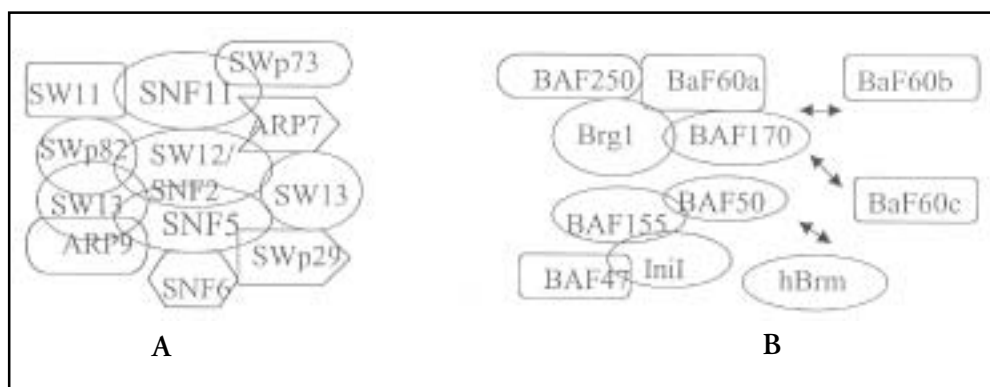
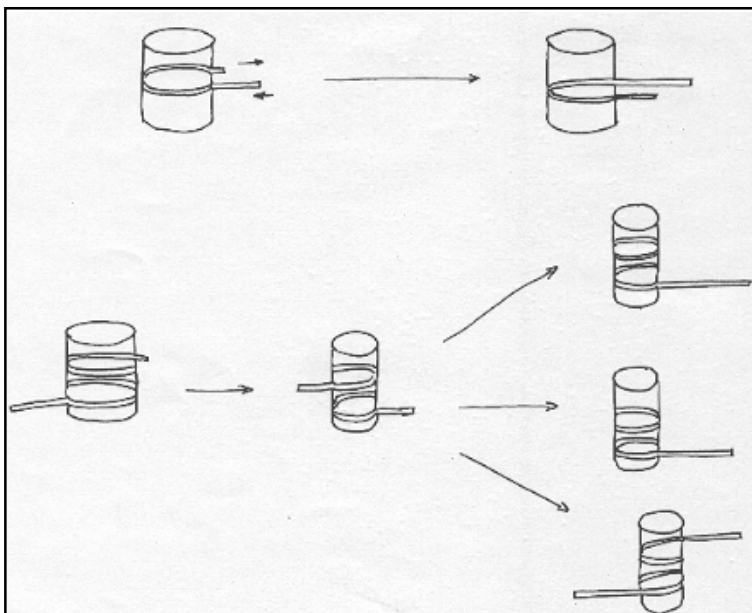


Figura 3. Los complejos remodeladores de cromatina dependientes de ATP están constituidos por un gran número de subunidades; en A se muestra el de levadura y en B el de humano (Narlikar *et al.*, 2002).



**Figura 4.** Arriba, remodelación del nucleosoma en una forma dependiente de ATP por deslizamiento. La cadena de ADN es deslizada sobre el complejo de histonas a fin de que queden “expuestas” regiones específicas para que puedan unirse las proteínas que reconocen estas secuencias. Abajo, los cambios conformacionales pueden involucrar al ADN, a las histonas o a ambos y de esta manera se permite la unión de proteínas que reconocen secuencias específicas de ADN (Narlikar *et al.*, 2002).

una segunda se da el reclutamiento de factores como consecuencia de la modificación de las histonas y se provoca el cambio local de la estructura de la cromatina; después de esto se da el reclutamiento de la maquinaria basal de transcripción. La transcripción requiere no sólo la unión de proteínas activadoras al promotor, también se necesitan proteínas mediadoras que forman complejos grandes que interactúan con activadores o represores y la RNA polimerasa II (pol II) para facilitar o reprimir la transcripción al llevar las señales desde los factores de regulación a la maquinaria de iniciación basal (Emerson, 2002, Martel *et al.*, 2002). Los activadores y represores interactúan con el dominio carboxilo-terminal de la pol II y los mediadores se requieren para la regulación de muchas familias de genes. Hay dos tipos de correguladores de la transcripción: coactivadores reclutados por receptores nucleares unidos a ligando y corre-

presores reclutados por receptores sin ligando unido o unidos a antagonistas (Orphanides y Reinberg, 2002). Es decir, los receptores nucleares al unir su ligando, unen también al corregulador y activan la transcripción. En cambio, cuando no tienen ligando unido forman parte del complejo que reprime la transcripción.

Los factores de transcripción tienen actividad de HAT y muchos correpresores tienen actividad de desacetilasa (Kornberg y Lorch, 1999). Las DNA-metil transferasas y las histona desacetilasas están evolutivamente muy conservadas; en plantas MET1 mantiene la metilación de dinucleótidos CpG y CMT3 en CpNpGp y la metilación en éstos parece ser parcialmente redundante para silenciar la mayoría de los genes; por ejemplo, la vernalización (exposición corta a frío) reduce la metilación del DNA y promueve la flora-

ción temprana en *Arabidopsis*. El DNA metilado atrae proteínas de unión a metil-citosina (MeCp) que a su vez recluta desacetilasas que ayudan a formar la estructura de la cromatina inactiva (Li *et al.*, 2002, Bender, 2001).

La maquinaria de transcripción es ensamblada sobre los promotores, que se encuentran cerca del sitio donde se inicia la transcripción; los activadores y represores se unen a otras secuencias de DNA y afectan el estado transcripcional del gen, estas secuencias pueden estar localizadas en la vecindad del promotor, en regiones delimitadas llamadas elementos reguladores cis, o pueden hallarse alejadas a miles de bases del promotor e influir, no obstante, sobre el nivel de la transcripción del gen. El orden en que los distintos complejos se unen a un promotor parece depender del tipo de promotor; en el *Ho* de la levadura primero se reclutan los complejos remodeladores de cromatina y luego los que tienen actividad HAT; el orden inverso se observa en el promotor del interferón (IFN- $\beta$ ). El

receptor de glucocorticoides se une a un elemento corto de DNA en el surco mayor de la doble hélice y puede unirse a esta secuencia a pesar de que se halle en la región ocupada por el nucleosoma; en cambio, el factor activador nuclear 1 reconoce una secuencia más larga de DNA y es incapaz de unirse a ella si ésta se encuentra en los dominios de un nucleosoma (Orphanides y Reinberg, 2002). Los puentes de hidrógeno son muy importantes en el reconocimiento de las secuencias a las que se unirán los factores de transcripción; enlaces mediados por agua e interacciones de Van der Waals también toman parte para establecer la interacción, aunque contribuyen más a estabilizar el complejo que a determinar la especificidad; hay también interacciones hidrofóbicas que contribuyen a la unión de la proteína con el ADN (Kornberg y Lorch, 1999).

### ALGUNOS EJEMPLOS DE LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN

Los receptores de hormonas esteroideas, localizados en el núcleo, se unen a potenciadores (enhancers) cercanos a promotores de respuesta a estas hormonas. En ausencia de ligando (hormona) los receptores se hallan unidos a correpresores que atraen el complejo sin3-HDAC y reprimen la transcripción. Cuando unen al ligando los receptores reclutan al complejo p300/CBP, que tiene actividad de HAT, para potenciar la transcripción, además de que también interactúan con el complejo mediador que da la señal a la pol II para iniciar la transcripción (Kornberg y Lorch, 1999).

La proteína NF-E2 está compuesta por las subunidades p18 y p45 y es un activador necesario para la expresión de la  $\beta$ -globulina; el loci que codifica para ésta se halla localizado en la heterocromatina centromérica lo mismo que p18, mientras p45 se halla localizado en la eucromatina. Durante la diferenciación y antes de que se exprese el gen de la globulina, p18 es trasladado hacia la eucromatina y se une a p45;

una vez que se lleva a cabo la diferenciación el loci de la  $\beta$ -globulina pasa de la heterocromatina a la eucromatina y el gen es transcrito de manera activa (Emerson, 2002).

El potenciador del gen del interferón  $\beta$  está libre en el nucleosoma pero la caja TATA no está accesible a los factores de transcripción; la HAT GCN5 entra al principio para acetilar al nucleosoma, que permite al complejo de HAT, CBP y la pol II unirse a la región de inicio de la transcripción (Emerson, 2002).

Dos proteínas conocidas como CBP/p300 parecen ser reguladas mediante diversas modificaciones, incluyendo varias cinasas que las fosforilan; de hecho no hay interacción física entre CBP y p300. CBP es fosforilada en el residuo de serina 436 en una forma dependiente del factor de crecimiento y esta fosforilación permite el reclutamiento de los promotores dependientes de AP-1, además de reclutarse al complejo fos, jun y el factor de transcripción específico de pituitaria Pit-1 (Gamble y Freedman, 2002). También, CBP/p300 puede ser metilado por CARM 1 cuando es blanco de receptores hormonales localizados en el núcleo; cuando CBP/p300 está metilado no puede ser reclutado por el activador CREB, de esta manera se impide la estimulación de la transcripción en respuesta a la vía del cAMP (AMP cíclico). CARM1 funciona entonces como coactivador de promotores inducibles por hormonas o como correpresor de genes de respuesta a cAMP a través de la metilación del nucleosoma o la metilación del cofactor (Emerson, 2002).

En el tejido vegetativo de plantas, el gen de la faseolina tiene un promotor (phas) no inducible por ABA (ácido abscísico), pero que presenta una alta respuesta en embriones intactos. La respuesta diferencial al ABA en los dos tejidos se debe a que en hoja el promotor phas se halla en una estructura de cromatina represiva pero en semillas en desarrollo adopta una configuración distinta, concomitante con su activación transcripcional. El cambio en la cromatina es mediada a través de PvALF, un factor de

transcripción específico de semilla; el cambio permite la unión de factores de transcripción activados por ABA (Li *et al.*, 2002).

Otros mecanismos de silenciamiento de genes, como aquéllos que se ponen en marcha para silenciar ciertos genes que llevan la impronta paterna o materna (imprinting), están siendo también desentrañados, como el caso del gen DME, que codifica para una proteína de localización nuclear y con actividad de glicosilasa; esta proteína podría marcar al alelo MEA materno en el gametofito hembra permitiendo su expresión después de la fertilización y como el alelo paterno no está marcado, no se expresa. Una de las funciones de MEA es impedir la proliferación de la célula central y el desarrollo del endospermo antes de la fertilización (Choi *et al.*, 2002). En animales también parece intervenir el ARN en el silenciamiento de genes; a partir del cromosoma X inactivo se produce un ARN (ARN ist) que “decora” al cromosoma silenciado y parece iniciar el silenciamiento; la metilación del residuo de la lisina 9 de H3 “marca” además la heterocromatina constitutiva, pero no la facultativa (Carmo-Fonseca, 2002).

En células de mamífero se requiere de la actividad del proteosoma para que se dé la actividad transcripcional inducida por el receptor de estrógenos; la ubiquitinación potencia la actividad de un factor de transcripción, pero también es señalado de este modo para su degradación; la subunidad más grande de la pol II también es ubiquitinada durante la transcripción *in vitro*, lo que podría marcarla asimismo para la degradación. En la levadura se requiere del proteosoma 19S para el alargamiento de la transcripción (Orphanides y Reinberg, 2002).

Poco después de iniciada la transcripción el RNA que está siendo sintetizado es modificado por la adición de un “capuchón” (cap) en su extremo 5’ que lo protege del ataque de nucleasas y sirve para la unión de proteínas que participan en su exportación al citosol; este capuchón toma luego parte en la traducción.

Cuando la pol II llega al final del gen, se detiene y el nuevo RNA es escindido y se le agrega una cola de poli A en el extremo 3’. El mRNA es llevado al citosol y se inicia la traducción mediante el reconocimiento del codón de iniciación por factores traduccionales en conjunción con subunidades del ribosoma (Orphanides y Reinberg, 2002).

El estudio del control de la transcripción es un tema de investigación básica que ha permitido explorar, por ejemplo, acerca de las relaciones filogenéticas entre organismos (White y Bell, 2002); pero también ha permitido avanzar en el conocimiento de lo que ocurre con los transgenes, por qué se expresan más o menos o son silenciados dependiendo del sitio de inserción del transgen en la cromatina. Esto, evidentemente, tiene una aplicación al transformar genéticamente a los organismos (Sutter *et al.*, 2003). En plantas un tipo de histona (H2A) es esencial para la integración del T-DNA en *Arabidopsis* (Li y Holmes-Davis, 2002). Finalmente, como se dijo en la introducción, este tema es muy amplio y avanza rápidamente. La importancia de la regulación de la transcripción de los RNA mensajeros que codifican para los RNA ribosomales 18S, 5.8S y 28S, a los que la célula dedica hasta el 50% de su actividad transcripcional, es objeto de grandes esfuerzos a fin de elucidarla (Moss y Stefanovsky, 2002). De hecho, el control de la RNA polimerasa II, al momento de iniciar y llevar a cabo su actividad es un tema que abarca muchas páginas en sí mismo (Young *et al.*, 2002).

## REFERENCIAS

- Bender J. (2001). A vicious cycle: RNA silencing and DNA methylation in plants. *Cell*. 106:129-132.
- Carmo-Fonseca M. (2002). Understanding nuclear order. *Trends Biochemical Science* 27:332-334.
- Choi Y., M. Gehring, L. Johnson, M. Hannon, J.J. Harada, R.B. Goldberg, S.E. Jacobsen, R.L. Fischer (2002).

- Demeter, a DNA glycosylase domain protein, is required for endosperm gene imprinting and seed viability in Arabidopsis. *Cell*. 110:33-42.
- Emerson B.M. (2002) Specificity of gene regulation. *Cell*. 109:267-270.
- Gamble M.J. y L.P. Freedman (2002). A coactivator code for transcription. *Trends Biochemical. Science* 27:165-167.
- Narlikar G.J., H. Y Fan y R.E. Kingston (2002). Cooperation between complexes that regulate chromatin structure and transcription. *Cell*. 108:475-487.
- Kim y J., S. Bjojklund, Yang Li, M.H. Sayre y R.D. Kornberg (1994). A multiprotein mediator of transcriptional activation and its interaction with the c-terminal repeat domain of RNA polymerase II. *Cell*. 77:599-608.
- Kornberg R.D. y Y. Lorch (1999). Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the Eukaryote chromosome. *Cell*. 98:285-294.
- Li G., T.C. Hall y R. Holmes-Davis (2002). Plant chromatin: development and gene control. *BioEssays*. 24:234-243.
- Martel, L.S., H.J. Brown y A.J. Berk (2002). Evidence that TAF-TATA Box-binding protein interactions are required for activated transcription in mammalian cells. *Molecular Cell Biol*. 22:2788-2798.
- Moss T., V. Y. Stefanovsky (2002). At the center of eucaryotic life. *Cell*. 109:545-548.
- Orphanides G. y D. Reinberg (2002). A unified theory of gene expression. *Cell*. 108:439-451.
- Pflumm M. F. (2002). The role of DNA replication in chromosome condensation. *BioEssays*. 24:411-418.
- Sutter, N. B., D. Scalzo, S. Fiering, M. Groudine, D. I. K. Martin (2003). Chromatin insulation by a transcriptional activator. *Proceedings National Academy Sciences*. 100:1105-1110.
- Talbert P..S., R. Masuelli, A.P. Tyagi, L. Comai, y S. Henikoff (2002). Centromeric localization and adaptative evolution of an *Arabidopsis* histone 143 variant. *Plant Cell*. 14:1053-1066.
- White, M. F. y S. D. Bell (2002). Holding it together: chromatin in the Archeae. *Trends Genetics*. 18:621-626.
- Young B. A., T. M. Gruber, C. A. Gross (2002). Views of transcription initiation. *Cell*. 109:417-420.
- Zhu Q., M. I. Ordiz, T. Dabi, R.N. Beachy y C. Lamb (2002). Rice TATA Binding protein interacts functionally with transcription factor II B and the RF2a bZIP transcriptional activator in an enhanced plant *in vitro* transcription system. *Plant Cell*. 14:795-803.