
Rev Biomed 1996; 7:163-172.

Proteínas de unión a DNA.

Karla Y. Acosta-Viana, Jorge E. Zavala-Castro.

Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.

RESUMEN.

Actualmente son escasas las áreas del campo de la biología en donde no se contemple el uso de técnicas de biología molecular para diversos menesteres, los cuales van desde el diagnóstico preciso y temprano de infecciones por organismos patógenos en plantas, animales y humanos, hasta la generación de vacunas y fármacos específicos y el mejoramiento de especies por medio de ingeniería genética. Esta revisión pretende dar un panorama acerca de uno de los mecanismos más importantes dentro de las células tanto eucariotas como procariotas : el reconocimiento y unión de proteínas a secuencias de DNA.

Palabras clave : Proteínas de unión, DNA, estructura proteica.

SUMMARY.

DNA binding proteins.

Molecular biology techniques are currently employed in almost every field of biology. They

are needed from early and precise diagnosis for infectious diseases in plants, animals and humans to the production of vaccines, specific medicines and the improvement of species through genetic engineering. This paper aims to review one of the most important mechanisms in eukariote as well as prokariote cells: protein-DNA interaction.

Key words : Binding proteins, DNA, protein structure.

INTRODUCCION.

La regulación de la expresión génica, la división celular y la diferenciación dentro de las células eucariotas y procariotas, se encuentran ligados a uno o varios de los mecanismos de empaquetamiento, replicación, recombinación, restricción y transcripción del DNA contenido en su genoma (1,2). La importancia que tienen las interacciones de proteínas con el DNA en éstos mecanismos básicos para la vida de todos los organismos vivos, ha hecho que el entendimiento de

*Solicitud de sobretiros: M. en C. Jorge E. Zavala-Castro, Laboratorio de Biología Celular, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi". Av. Itzaes No 490 x59, Mérida, Yucatán, México, CP. 97000. Tel : (99) 24.64.12 ext 120, Fax : (99) 23.61.20, e-mail zcastro@tunku.uady.mx
Recibido el 11/Julio/1996. Aceptado para publicación el 25/Julio/1996.*

la naturaleza de las interacciones proteína-DNA conlleve a una mejor comprensión de los procesos inherentes para su supervivencia, y ha permitido, entre otras cosas, la generación de fármacos (ej. antibióticos) y pruebas diagnósticas de extrema sensibilidad y especificidad como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

CLASIFICACION DE PROTEINAS ASOCIADAS A DNA.

Se podrían clasificar a las interacciones Proteína-DNA desde varios puntos de vista: de acuerdo a la especificidad hacia una secuencia de DNA, de acuerdo a términos de clases estructurales refiriéndose al motivo de unión al DNA, o agrupándolas de acuerdo al proceso en el que participan dentro de la célula.

ESPECIFICIDAD.

La información codificada en el DNA es organizada, replicada y leída por un variedad de proteínas que se unen al DNA. Algunas proteínas, particularmente las que están involucradas en el empaquetamiento (por ejemplo las histonas) o en procesos de replicación (como las DNA polimerasas), tienen poca o no tienen especificidad hacia una determinada secuencia de DNA mientras que otras proteínas como los represores, activadores transcripcionales y las endonucleasas de restricción tienen una especificidad extremadamente alta para secuencias de DNA y son capaces de encontrar una pequeña secuencia de 10 a 20 pares de bases en un fondo de 10^6 a 10^9 pares de bases. Las bases moleculares del reconocimiento de un sitio específico de unión requiere de una caracterización de las conformaciones tridimensionales de las proteínas, del complejo proteína-DNA, de la secuencia del sitio de unión en el DNA, y de los cambios estructurales que suceden como consecuencia de la interacción. Es así que la descripción de especificidad en el reconocimiento de una secuencia de DNA por parte de una proteína se realiza en base a observaciones y comparaciones entre los eventos que suce-

den en los dos tipos de reconocimiento (1, 3, 4).

CLASES ESTRUCTURALES.

Las proteínas que se unen a DNA pueden clasificarse en términos de clases estructurales (refiriéndose al motivo de unión al DNA) en las siguientes grandes "familias":

1.- HELICE-VUELTA-HELICE (helix-turn-helix o HTH). Muchos dominios dentro de las proteínas de unión a DNA en procariones contienen la estructura de hélice-vuelta-hélice, el cual posee 2 hélices á con la misma orientación que se encuentran conectadas con una región en forma de asa (fig. 1). Las proteínas lambda cro, CAP y la proteína represora lambda de *Escherichia coli*, fueron las primeras proteínas de esta clase estudiadas por cristalografía. Estudios comparativos entre estas tres proteínas revelaron la presencia de un conservado dominio de reconocimiento consistente de dos alfa-hélices simétricas (homodímeros) separadas por un giro discreto en forma beta. Otras proteínas que presentan esta misma estructura son: represor Lac, represor P434,

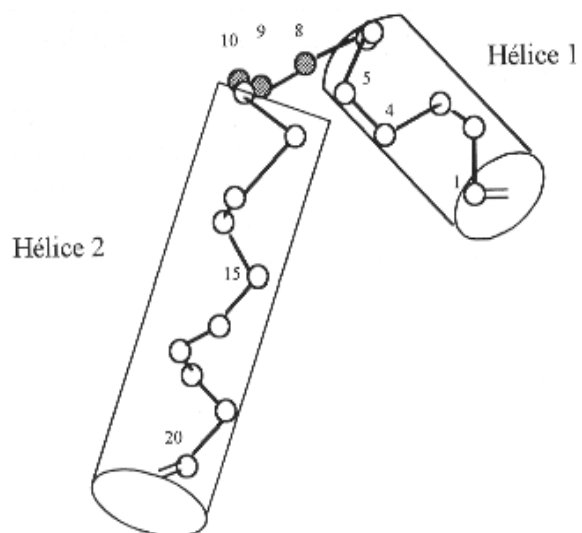


Figura 1.- Esquematación de un motivo hélix-vuelta-hélix. Los residuos contenidos en las formas cilíndricas representan las hélices á, y los sombreados (8-10) conforman el asa (loop) que une las 2 hélices. La hélice 2 es el dominio que se une directamente al DNA.

cro P434, represor trp, proteína FIS, homeodominios, resolvasa gama-delta (2, 3, 5).

2.- DEDOS DE ZINC (Zinc fingers). Los dedos de Zinc son estructuras de unión a DNA que requieren de Zinc para su actividad de unión, y fueron llamados así porque su estructura primaria podía ser dibujada en papel con un átomo de Zinc uniendo residuos de cisteínas e histidinas distantes con una secuencia intermedia descrita como una asa (loop) (1) (fig. 2). Las proteínas de éste tipo usualmente están organizadas en series de 9 dominios repetidos que contienen 30 aminoácidos plegados en una unidad estructural simple alrededor de un átomo de Zinc al que se unen las cisteínas e histidinas en número variable, y que da lugar a las familias descritas hasta el momento: la familia cys-cys-his-his (2 cisteínas y 2 histidinas), la familia cys-cys-cys-cys (4 cisteínas), y la familia cys-cys-his-cys (2 cisteínas y 1 histidina) (2). La estructura dedos de Zinc fué descubierta con los estudios de expresión del gene RNA ribosomal 5S

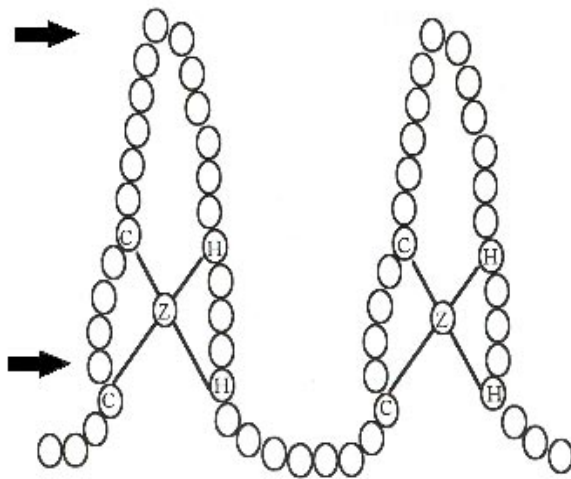


Figura 2.- Estructura del tipo “dedos de zinc”. El esquema pertenece a un motivo de la familia cys-cys-his-his, en donde se puede observar a 2 cisteínas (C) y dos histidinas (H) unidas al núcleo central conformado por una molécula de zinc (Z). La proyección resultante de ésta interacción (comprendida entre las dos flechas) es la que se une directamente con la estructura de DNA.

de *Xenopus laevis*. La transcripción del gene 5S es regulado por un promotor interno al cual se une una proteína reguladora rica en cisteína llamada factor de transcripción IIIA (TFIIIA), que en colaboración con por lo menos otras dos proteínas (TFIIB y TFIIC) se unen en un complejo estable sobre el gene 5S y el cual entonces es el sitio blanco de la RNA polimerasa III para que se lleve a cabo la transcripción. La proteína reguladora TFIIIA es el prototipo de la más grande superfamilia de factores de transcripción en eucariotas. Alteraciones estructurales de estas proteínas reguladoras ocasionadas por ciertos iones aumentan la carcinogénesis y otros procesos malignos (6). Técnicas de cristalografía demuestran que los dedos de Zinc se unen a la hendidura mayor del DNA de la forma B y cubriendo parte de la doble hélice (2, 5), aunque estudios recientes demuestran que los dedos de zinc se unen a sitios del DNA que tienen una conformación intermedia entre la forma A y B del DNA (7). Las proteínas reguladoras de levaduras, mosca de la fruta y de humanos exhiben residuos de cisteínas e histidinas organizados en forma muy similar a la observada en TFIIIA (cis₂his₂) (2, 5). Otros factores de transcripción que presentan conformación de dedos de Zinc son la proteína GATA-1 expresada en células eritroides y juega un papel fundamental para el desarrollo eritroide normal (8) y la proteína MAZ que juega un papel muy importante en el control de la expresión genética de la glicoproteína de superficie celular CD4 (9).

3.- CIERRE DE LEUCINA (leucine zipper o ZIP). Este motivo de unión se observó por primera vez en la secuencia de aminoácidos del factor de transcripción GCN4 de levadura, en el factor de transcripción C/EBP en mamíferos, y en los productos de los oncogenes FOS, JUN y MIC que actúan como factores de transcripción. Cuando las secuencias de estas proteínas fueron trazadas en una espiral, aparece un patrón muy remarcado de residuos de leucina. Estas proteínas tienen generalmente de 60-80 residuos de aminoácidos en dos

distintos subdominios: una región dimerizada conformada por 2 á hélices unidas por medio de interacciones entre cadenas de leucina presentes en ambas hélices (cierres de leucina), y una región básica (que hace contacto con el DNA) (fig. 3). Estudios bioquímicos sugieren que la región de cierre consta de dos hélices alfa, ya sea en forma paralela o antiparalela en un arreglo coiled-coil. Cada una de estas hélices consta de 30-40 residuos de aminoácidos en los cuales hay una leucina cada 7 residuos. La región básica que contiene aproximadamente 30 residuos es una región rica en arginina y lisina, y es la responsable de unirse a la hendidura mayor del DNA. Un modelo propuesto para la unión de esta proteína al DNA es el modelo de "tijeras" en el cual las dos cadenas polipeptídicas adoptan la forma de una letra **Y** donde el tallo de la **Y** corresponde a la región de cierre y los brazos corresponden a la región básica que es la que se une al DNA.

Existe otro motivo de unión en las proteínas que se unen a DNA conocido como **Hélice-asa-hélice** (helix-loop-helix o **HLH**), que presenta

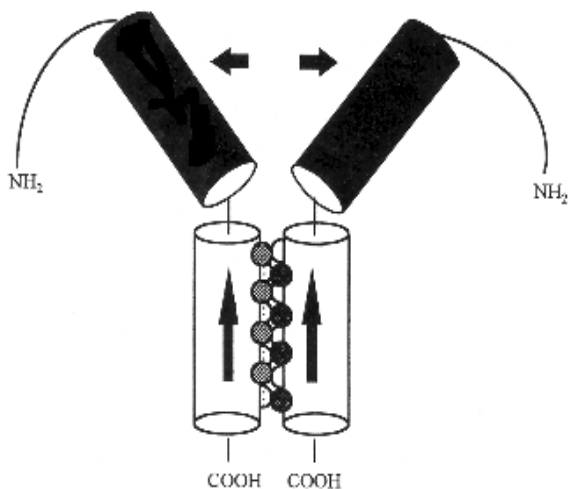


Figura 3.- Esquema de un motivo del tipo de "cierres de leucina". Los círculos sombreados representan las leucinas que interactúan entre sí para mantener unidas a 2 estructuras de hélices á, dejando a 2 estructuras básicas libres (marcadas con las flechas) que son las responsables de la unión al DNA.

ciertas similitudes con los cierres de leucina. Al igual que en los cierres de leucina esta clase estructural tiene una región básica que hace contacto con el DNA y tiene una región dimerizada de dos hélices alfa (2, 4). Las familias cierres de leucina y hélice-asa-hélice tienen una subfamilia de dominios que se conocen con el nombre de Cierres de leucina básicos (bZIP) y los Hélice-asa-hélice básicos (bHLH) (10), que se caracterizan por la presencia de un dominio HLH y ZIP básico adyacente (11). Estos factores de transcripción regulan la expresión genética mediante su unión específica a DNA, y se unen como dímeros a sitios simétricos de DNA (12). El dominio básico de estas proteínas controla la unión a la secuencia de DNA consenso: CANNTG. Esta secuencia consenso esta referida como el motivo caja-E (E-box) y esta presente en las regiones regulatorias de algunos genes tejido-específicos. Las proteínas bHLH pueden ser clasificadas en tres clases: Clase A, proteínas generalmente expresadas (E12, E47, E2-2); clase B, proteínas tejido-específicas (MyoD, myogenin, MRF4); clase C, proteínas con la característica de arreglo en tandem de los motivos bHLH y bZIP (c-Myc, Max, USF, AP4, TFE3 y TFEB) (13).

4.-HOJAS BETA (beta sheets). Todas las proteínas mencionadas anteriormente contienen hélices alfa que presumiblemente interactúan con la hendidura mayor del DNA. Sin embargo existen estudios en los cuales se describe otra familia de proteínas de unión a DNA, que a diferencia de las anteriores se caracterizan por tener dos cadenas antiparalelas de hojas-beta en vez de hélices alfa. La interacción de este complejo es entre las hendiduras del DNA de doble cadena y en la torsión hacia la derecha de la estructura de las hojas-beta. La estructura de los represores arc y metJ de *E. coli* confirman la estructura de hoja-beta para una interacción específica de DNA con su hendidura mayor. La estructura de la proteína HU de *B. stearrowthermophilus* y las proteínas IHF y TFI, muestran la interacción DNA-hoja-beta alternati-

va que involucra un reconocimiento a través de la hendidura menor del DNA (1).

5.-OTRAS FAMILIAS. Mediante estudios cristalográficos se han encontrado que algunas enzimas que modifican al DNA no tienen una estructura con la cual se puedan agrupar en las estructuras anteriormente descritas, como por ejemplo la DNAasa I que es una glicoproteína endonucleasa que cataliza el corte en un sitio no específico del DNA de doble cadena. Esta proteína tiene una estructura compuesta por un centro con dos estructuras en forma de hojas beta de seis hebras fuertemente empaquetadas rodeado de ocho hélices alfa y varias regiones en forma de asa (loop). En contraste con esta enzima las endonucleasas EcoRI y EcoRV de *E. coli* son proteínas diméricas que catalizan cortes en sitios específicos del DNA de doble cadena por reconocimiento de hexanucléotidos. Los estudios acerca de la estructura de estas dos proteínas revelan que la EcoRI es una proteína que consta de 5 hebras de hojas beta rodeadas por hélices-alfa, y la estructura de la EcoRV es de la forma alfa-beta con asas salientes (1).

CLASIFICACION SEGUN EL PROCESO EN EL QUE PARTICIPAN.

Esta clasificación es arbitraria, y se hace con el fin de tener un panorama general de cuales son las proteínas que interactúan con el DNA que participan en los diferentes procesos que se llevan a cabo en el interior de las células.

1.- EMPAQUETAMIENTO.

HISTONAS.- Las moléculas de DNA en los organismos eucariotes son extremadamente largas y la condensación de estas moléculas tan grandes dentro del núcleo de las células está dada por las proteínas conocidas como histonas, las cuales permiten la formación de los cromosomas. Las histonas son proteínas nucleares estructurales que se unen a DNA de una manera no específica y que solo se encuentran presentes en células eucariotas

(3). Estas proteínas son tan abundantes que es común clasificar a las proteínas que se unen a DNA en organismos eucariotes en dos clases generales: histonas y proteínas cromosomales no-histonas. El complejo formado por estas dos clases de proteínas y el DNA nuclear se le conoce con el nombre de cromatina. El empaquetamiento en esta estructura proporciona al DNA la compactación y organización necesarias para llevar a cabo procesos tales como: transcripción, recombinación, replicación y mitosis. Las histonas son proteínas relativamente pequeñas con una alta proporción de aminoácidos cargados positivamente (lisina y arginina), que independientemente de la secuencia de nucleótidos se unen al DNA mediante enlaces iónicos entre las cargas positivas de sus residuos de aminoácidos y las cargas negativas de los grupos fosfato del DNA (3, 15, 16). La estructura secundaria de las proteínas histonas son predominantemente hélices alfa (17).

Existen cinco tipos de histonas clasificadas en dos grupos: 1) Histonas nucleosómicas e 2) Histonas H1. Las histonas nucleosómicas son cuatro pequeñas proteínas de 102 a 135 residuos de aminoácidos (H2A de 13,960 Da, H2B de 13,774 Da, H3 de 15,342 Da, y H4 de 11,282 kDa), son las responsables del enrollamiento del DNA en nucleosomas, y son proteínas altamente conservadas entre especies. El nucleosoma el DNA se pliega alrededor del núcleo octamérico de histonas (que está formado por dos copias de cada histona nucleosómica) en una hélice hacia la izquierda, siendo enlazados entre si por la histona H1. Esta histona está menos conservada entre especies y en el caso de la levadura *Sacharomyces cerevisiae* se pierde (18). En el parásito *Trypanosoma cruzi* se ha demostrado la presencia de las cinco histonas descritas en otros organismos eucariotes incluyendo a la histona H1 (19).

PROTEINAS CROMOSOMALES NO-HISTONAS.- Se entiende por proteínas no-histonas a todas aquellas proteínas diferentes a las histonas, que forman parte de la cromatina. Las

KY Acosta-Viana, JE Zavala-Castro.

proteínas no-histonas incluyen proteínas que participan en la expresión génica y proteínas que intervienen en el mantenimiento de un alto orden estructural. El grupo de proteínas conocidas como de alta movilidad (HMG o High-mobility-group) es una subclase muy bien definida de proteínas no-histonas. Estas proteínas son tradicionalmente (y de manera arbitraria) definidas como las proteínas, con excepción de la ubiquitina, que pueden ser extraídas del núcleo con una solución de NaCl 0.35 M y que son solubles en ácido tricloroacético al 2%. Existen tres subclases de estas proteínas: proteínas HMG-1/2, HMG-14/17 y HMG-I/Y. Las proteínas de la subclase HMG-1/2 se unen preferentemente al DNA cruciforme, pero también se puede unir al DNA de cadena simple y al DNA de doble cadena modificada por la droga cisplatina, y se ha demostrado que estimulan la transcripción *in vitro* por las RNA polimerasas II y III (20). Las proteínas de la subclase HMG-14/17 se unen preferentemente a DNA de cadena simple, y las de la subclase HMG-I/Y se unen a las secuencias ricas en A-T del DNA satélite-alfa localizadas en centrómeros, telómeros, en cromosomas que se encuentran en la metafase en mamíferos, y también se asocian a secuencias promotoras y catalizadores (enhancers) de genes codificadores para proteínas. Las funciones de estas proteínas no son muy claras hasta el momento, pero en diversos estudios se ha reportado que las HMG-1/2 pudieran participar en procesos de recombinación, replicación y/o reparación del DNA, y que las proteínas HMG-I/Y pudieran participar en procesos de regulación génica (16). En *Trypanosoma cruzi*, se han encontrado cuatro proteínas del tipo HMG (HMG-like) designadas como HMG-A, HMG-B, HMG-C y HMG-E, pareciendo corresponder las dos primeras a las HMG-1 y HMG-2 descritas en mamíferos. Las proteínas HMG-E están presentes en mayor cantidad en los estados proliferativos del parásito y las HMG-C en los estados no proliferativos (21).

2.- REPLICACION. En el proceso de replicación del DNA se ven involucradas un elevado número

de enzimas que participan en las diferentes etapas de este proceso (iniciación, elongación y terminación).

-DNA polimerasas. Una enzima que pueda sintetizar una cadena nueva de DNA a partir de una cadena templado se conoce con el nombre de DNA polimerasa. En (*Escherichia coli*) han sido caracterizadas tres DNA polimerasas: la DNA polimerasa I de 109 kDa que esta involucrada en la reparación del DNA dañado y en un papel secundario en la replicación semiconservativa; la DNA polimerasa II de 120 kDa que también esta involucrada en la reparación, y la DNA polimerasa III que es un multímero de más de 250 kDa que es la responsable de la síntesis de novo de DNA. Las tres tienen actividades enzimáticas de elongación y de exonucleasa. Las DNA polimerasas sintetizan una cadena nueva de DNA adicionando nucleótidos al extremo 3'-OH complementando las bases del DNA de la cadena templado, y cuando la base que se agregó es una base errónea la polimerasa tiene la capacidad de removerla (22).

En los organismos eucariotes se han aislado cinco clases de DNA polimerasas designadas como *a*, *b*, *d*, y *e*. Las DNA polimerasas *a*, *b* y *e* son enzimas nucleares asociadas con la replicación cromosomal. La DNA polimerasa *b* es una enzima nuclear de bajo peso molecular involucrada en la reparación de DNA, y la DNA polimerasa *a* se ha descrito principalmente en mitocondria, aunque también se ha encontrado en fracciones citosólica y nuclear. Sin embargo en algunos organismos se ha descrito que en el genoma mitocondrial participan dentro de los procesos de replicación dos tipos de DNA polimerasas del tipo *a* y *b* (23- 25).

-DNA ligasas. Las DNA ligasas son enzimas que unen las cadenas de DNA durante la replicación, reparación, y recombinación en general. Las ligasas pueden formar enlaces fosfodiéster entre los grupos fosfato e hidroxilo de deoxinucleótidos adyacentes en un DNA con un corte (nick). Estas enzimas son las responsables de unir en una sola hebra los fragmentos de Okazaki formados como consecuencia de la síntesis

Proteínas de unión a DNA.

discontinua de DNA (18).

-Proteínas desestabilizadoras de hélice. El DNA de doble cadena requiere desenrollarse para que se pueda llevar a cabo la copia de cada una de sus cadenas. La separación de la doble hélice no ocurre de una manera espontánea, ésta es llevada a cabo por dos familias de proteínas: las DNA helicasas y las Proteínas de unión a DNA de cadena simple (proteínas SSB). Las DNA helicasas usan la energía liberada de la hidrólisis del ATP a ADP para promover la separación de las dos cadenas de DNA. Las proteínas SSB se unen a las cadenas de DNA ya separadas por la helicasa, evitando que se vuelvan a unir antes de que se adicione los nucleótidos correspondientes (18, 26).

-DNA topoisomerasas. Estas enzimas cambian la extensión y forma de la superhélice del DNA, y proporcionan el giro que permite la propagación continua de la horquilla de replicación. Las topoisomerasas promueven la separación o la concatenación de los DNA circulares, deshacen los nudos o enredos en el DNA y también participan de una manera esencial en ciertos tipos de recombinación. Han sido identificadas dos clases generales de topoisomerasas en una amplia variedad de organismos. Las topoisomerasas de tipo I (enzimas de corte-cierre) que remueven por cada ciclo de reacción un giro del DNA. Esta enzima corta una de las dos cadenas de DNA facilitando su rotación hasta que se emparejan ambas cadenas, luego se unen los extremos cortados y con esto queda eliminando un giro de la doble cadena de DNA. En los procariotes solo deshacen giros negativos mientras que en los eucariotes la DNA topoisomera de tipo I elimina tanto giros negativos como positivos. Las DNA topoisomerasas de tipo II remueven giros positivos y negativos en el DNA, pero a diferencia de las de tipo I, catalizan la ruptura transitoria de las dos cadenas de DNA, uniendo posteriormente los segmentos de DNA que han sido cortados. Con la DNA topoisomerasa de tipo II en cada ciclo se remueven dos giros negativos o positivos. Un tipo especial de DNA Topoisomerasa de tipo II que se encuentra en

bacterias es la Girasa, esta enzima remueve un giro positivo de la superhélice de DNA e introduce un giro negativo (18, 27). En parásitos tripanosomatídeos que presentan un genoma mitocondrial muy peculiar que consiste de moléculas de DNA circulares altamente concatenadas en una red llamada cinetoplasto, es de esperarse la acción de las topoisomerasas para que otras enzimas que participan en mecanismos de compactación y regulación pudieran tener acceso a los sitios blanco de esta complicada estructura de DNA. En *Trypanosoma cruzi* y en *Trypanosoma equiperdum* se ha purificado de la fracción nuclear una DNA topoisomerasa de tipo II que en estado nativo tiene un peso molecular de 200 kDa esta proteína participa en la concatenación y decatenación del DNA de doble cadena del genoma mitocondrial (27). En *Crithidia fasciculata* y *Leishmania donovani* se ha aislado una DNA topoisomerasa de tipo II que concatena, decatena y relaja la superhélice del DNA (23, 28-30).

3.- TRANSCRIPCION. La expresión génica se refiere a los procesos por los cuales la información codificada en la estructura del DNA es leída y convertida a moléculas de RNA, para que posteriormente sea traducida a proteínas. En éste proceso una región de una de las dos cadenas de DNA es usada como templado para dirigir la síntesis de una cadena de bases complementarias. Los genes que codifican para proteínas estructurales producen RNAs mensajeros; otros producen RNAs que son por si mismos parte de la maquinaria necesaria para traducir el RNA mensajero en proteínas (RNA ribosomal), y otros codifican para RNAs pequeños ligados al acarreamiento de los aminoácidos (RNA de transferencia). En los organismos procariotes como la *E. coli*, el DNA es transcrito por una sola enzima que es una RNA polimerasa dependiente de DNA (holoenzima RNA polimerasa) que produce las diferentes clases de RNAs; esta holoenzima contiene cinco subunidades polipeptídicas diferentes : dos cadenas alfa, una beta, una beta-primaria, una sigma (factor sigma) y una omega; una forma alternativa de

KY Acosta-Viana, JE Zavala-Castro.

esta holoenzima es el núcleo RNA polimerasa que es cuando la holoenzima pierde su factor sigma que es la que reconoce al promotor e inicia la transcripción (31). En contraste los eucariotes poseen tres diferentes clases de RNA polimerasas-DNA dependientes; la RNA polimerasa I que transcribe el RNA ribosomal, la RNA polimerasa II que transcribe para el RNA mensajero y RNA polimerasa III que transcribe para el RNA de transferencia y otros RNAs pequeños. Tanto en las células procariotas como en las eucariotas intervienen en el proceso de transcripción proteínas reguladoras que se unen al DNA en el promotor o cerca de él, incrementando o disminuyendo la posibilidad de que la RNA polimerasa se una al DNA y comience la transcripción. Estas proteínas incluyen represores, activadores, y factores de transcripción (31).

4.- RESTRICCIÓN. Virtualmente todas las especies de bacterias sintetizan uno o más tipos de endonucleasas que hacen cortes en secuencias específicas de nucleótidos del DNA de doble cadena. Estas endonucleasas son llamadas enzimas de restricción debido a que restringen la permanencia de un DNA "extraño" en la célula bacteriana que produce dicha enzima. El DNA de la bacteria que produce la enzima de restricción no se ve afectado por esta enzima ya que también sintetiza una enzima de modificación que altera la estructura del DNA en los sitios en los cuales actuaría la enzima de restricción. Por lo general las enzimas de restricción reconocen una secuencia única de 4 a 6 nucleótidos. Existen tres tipos de enzimas de restricción: tipo I, estas enzimas reconocen una secuencia específica de nucleótidos y hacen un corte doble en cualquier parte de la molécula a distancias variables dentro del sitio de reconocimiento y tienen actividad de metilasa; tipo II, son enzimas que reconocen secuencias específicas y hacen el corte de la doble cadena de DNA en un punto fijo de esta secuencia; tipo III, reconocen una secuencia específica y cortan el DNA de doble cadena pero el corte lo hacen fuera de la secuencia de reconocimiento de la enzima (aproximadamente a 25

pares de bases del sitio de reconocimiento) y tienen, al igual de las de tipo I, actividad de metilasa. Las enzimas de tipo II son útiles herramientas para la construcción de DNAs recombinantes y para analizar la estructura del DNA, una enzima de restricción clásica de este tipo es la Eco R1 (15, 18).

5.- RECOMBINACION. La recombinación génica incluye varios procesos relacionados que crean nuevas asociaciones de información genética para las células u organismos en los cuales ocurre este proceso, por lo que es un factor muy importante en la evolución. En términos moleculares la recombinación génica crea enlaces covalentes entre secuencias de ácidos nucleicos de dos diferentes regiones de la misma molécula. El genoma de todas las células y de algunos virus codifica para la maquinaria enzimática de síntesis y de reparación de daño de su DNA, y al mismo tiempo son también genéticamente programados para producir enzimas que promueven la recombinación, y de hecho algunas enzimas involucradas en la replicación y reparación del DNA son esenciales para éste proceso. Los sistemas de recombinación mejor conocidos son los de las bacterias (principalmente en *E. coli*) y la de los fagos (partículas virales utilizadas como vehículos de clonación de secuencias codificadoras). Una enzima requerida para una óptima recombinación del tipo homólogo (recombinación general) es la llamada proteína recA. Esta proteína se puede unir tanto a DNA de simple como de doble cadena empleando la energía de hidrólisis del ATP a ADP y fosfato inorgánico para desdoblarse la doble cadena de DNA, y así permitir el apareamiento con una cadena complementaria externa de DNA. Otra enzima que participa en procesos de recombinación es conocida como nucleasa recBCD que tiene acción de endo-exonucleasa y también de helicasa. También existen otras enzimas que participan en los procesos de recombinación, como son las helicasas y las proteínas que se unen a una sola cadena de DNA (SSB) que son necesarias para promover la separación de la doble cadena de DNA

Proteínas de unión a DNA.

en la replicación génica. También participan en el proceso de recombinación la Pol I promoviendo el desplazamiento de las cadenas durante la bifurcación de las cadenas de DNA y las DNA ligasas esenciales para el restablecimiento de la continuidad de las cadenas cortadas. Una Topoisomerasa tipo I y probablemente una girasa son necesarias para manejar la complejidades topológicas del desdoblamiento y resolución de las cadenas cruzadas (15, 18).

COMENTARIOS FINALES.

El conocimiento de los mecanismos moleculares existentes en las diversas especies útiles y patógenas para el hombre, ha redituado en logros en todos los campos de la biología tanto para la producción y mejoramiento de elementos necesarios para la supervivencia de la raza humana, como en el control y erradicación de muchas enfermedades. Dentro de esos mecanismos tiene un interés y relevancia particulares para el entendimiento de varios de los procesos vitales para las células, los que involucran la interacción de dos de las biomoléculas más importantes para su supervivencia: las proteínas y el DNA. Sin embargo es necesario ahondar todavía más en el entendimiento y descripción de ésta interacción, sobre todo dentro de organismos que sean de interés para el desarrollo económico del hombre, o que presenten una amenaza para sus planes de salud.

REFERENCIAS.

- 1.- Freemont PS., Lane AN., Sanderson MR. Structural aspects of protein-DNA recognition. *Biochem J* 1991; 278:17-39.
- 2.- Pabo CO. Transcription factors: Structural Families and Principles of DNA Recognition. *Annu Rev Biochem* 1992; 61:1053-95.
- 3.- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. *Molecular biology of the cell*. Second edition. New York: Garland Publishing, Inc, 1989:481-550.

- 4.- Branden C, Tooze J. *Introduction to protein structure*. New York: Garland Publishing, Inc, 1991: cap. 7 y 8.
- 5.- Johnson PF, McKnight SL. Eukaryotic transcriptional regulatory proteins. *Annu Rev Biochem* 1989; 58:799-839.
- 6.- Hanas JS, Gunn CG. Inhibition of transcription factor IIIA-DNA interactions by xenobiotic metal ions. *Nucleic Acids Res* 1996; 24:924-30.
- 7.- Nekludova L, Pabo CO. Distinctive DNA conformation with enlarged major groove is found in Zn-finger-DNA and other protein-DNA complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:6948-52.
- 8.- Crossley M, Merika M, and Orkin S. Self-association of the erythroid transcription factor GATA-1 mediated by its zinc finger domains. *Mol Cell Biol* 1995; 15:244-56.
- 9.- Duncan DD, Stupakoff A, Hedrick SM, Marcu KB, Siu G. A Myc-associated zinc finger protein binding site is one of four important functional regions in the CD4 promoter. *Mol Cell Biol* 1995; 15:3179-86.
- 10.- Muhle-Goll C, Nilges M, Paastore A. The leucine zippers of the HLH-LZ proteins Max and c-Myc preferentially form heterodimers. *Biochemistry* 1995; 34:13554-64.
- 11.- Fisher DE, Parent LA, Sharp PA. Myc/Max and other helix-loop-helix/leucine zipper proteins bend DNA toward the minor groove. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:11779-83.
- 12.- Johnson NP, Lindstrom J, Baase WA von Hippel PH. Double-stranded DNA templates can induce α -helical conformation in peptides containing lysine and alanine: Functional implications for leucine zipper and helix-loop-helix transcription factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:4840-44.
- 13.- Olson EN. Regulation of muscle transcription by the MyoD family. The heart of the matter. *Cir Res* 1993; 72:1-6.
- 14.- Kim JB, Spotts GD, Halvorsen YD, et al. Dual DNA binding specificity of ADD1/SREBP1 controlled by a single amino acid in the basic Helix-loop-helix domain. *Mol Cell Biol* 1995; 15:2582-88.

KY Acosta-Viana, JE Zavala-Castro.

- 15.- Ayala FJ, Kiger JA. Modern Genetics. California: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc, 1984:109-112.
- 16.- Paranjape SM, Kamakaka RT, Kadonaga JT. Role of chromatin structure in the regulation of transcription by RNA Polimerasa II. Annu Rev Biochem 1994; 63:265- 97.
- 17.- Ptitsyn OB, Finkelstein AV. Prediction of protein secondary structure based on physical theory. Histones. Protein Eng 1989; 2:443-7.
- 18.- Singer M, Berg P. Genes and Genomes. California: University Science Books, 1991: 50-53.
- 19.- Toro GC, Galanti N. H1 histone and histone variants in *Trypanosoma cruzi*. Exp Cell Res. 1988; 174: 16-24.
- 20.- Tremethick DJ, Molloy PL. High movility group proteins 1 y 2 stimulate transcription in vitro by RNA polimerasses II y III. J Biol Chem 1986; 261:6986-92.
- 21.- Morales M, Oñate E, Imschenetzky M, Galanti N. HMG-like chromosomal proteins in *Trypanosoma cruzi*. J Cell Biochem 1992; 50:279-284.
- 22.- Lewin B. Genes IV. New York: Oxford Univesity Press and Cell Press, 1990: cap 18.
- 23.- Ryan KA, Shapiro TA, Rauch CA, Englund PT. Replication of Kinetoplast DNA in Trypanosomes. Ann Rev Microbiol 1988; 42:339-58.
- 24.- Torri AF, Englund PT. Purification of a Mitochondrial DNA Polimerase from *Crithidia fasciculata*. J Biol Chem 1992; 267:4786-92.
- 25.- Torri AF, Englund PT. A DNA polimerase beta in the mitochondrion of the trypanosomatid *Crithidia fasciculata*. J Biol Chem 1995; 270:3495-7.
- 26.- Champoux JJ. Proteins that affect DNA conformation. Annu Rev Biochem 1978; 47:449-79.
- 27.- Douc-Rasy S, Kayser A, Riou JF, Riou G. ATP-independent type II topoisomerase from trypanosomes. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83:7152-7156.
- 28.- Melendy T, Sheline C, Ray DS. Localization of a Type II DNA Topoisomerasa to two sites at the periphery of the kinetoplast DNA of *Crithidia fasciculata*. Cell 1988; 55 : 1083-88.
- 29.- Shapiro TA, Showalter AF. In vivo inhibition of Trypanosome mitochondrial Topoisomerase II: effects on kinetoplast DNA maxicircles. Mol Cell Biolog 1994; 14: 5891-5897.
- 30.- Pasion SG, Hines JC, Aebersold R, Ray DS. Molecular cloning and expresion of the gene encoding the kinetoplast-associated type II DNA topoisomerase of *Crithidia fasciculata*. Mol Biochem Parasitol 1992 50:57-68.
- 31.- Watson JD, Hopkins NH, Roberts JW, Steiz JA, Weiner AM. Molecular biology of the gene. California: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc 1987: Cap 13.