

Glosario de Patología molecular

M. Cuatrecasas

Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Saní Jaume, Calella, Barcelona, España.

Cebadores (*primers*)

Secuencia corta y específica de nucleótidos complementaria a los extremos del DNA que se desea amplificar. Las cadenas de DNA se separan por calor, posteriormente se acoplan los cebadores a cada una de ellas y luego se sintetiza un nuevo DNA a partir de los cebadores. Estos pasos se realizan varias veces, obteniendo finalmente una gran cantidad de fragmentos de la secuencia de DNA que se quiere amplificar.

Codón

Conjunto de tres nucleótidos o bases en la cadena de RNA que codifican un aminoácido determinado. Existen cuatro bases posibles: A (adenina), U (uracilo), G (guanina) y C (citosina). Necesitamos una clave distinta para cada uno de los 20 aminoácidos. Con tres bases son posibles $4^3=64$ combinaciones. Esta clave es degenerada, en el sentido de que algunos aminoácidos están representados por más de un codón. Además existen codones de parada o terminación, que son los que no codifican ningún aminoácido.

Diana o sitio de restricción

Secuencia corta y específica de la doble cadena de DNA que es reconocida y cortada por una enzima determinada (enzima de restricción).

Enzimas de restricción

Son enzimas bacterianas que reconocen una secuencia corta y específica de DNA de entre cuatro y ocho

pares de bases de longitud. Cortan el DNA de doble hebra en estos lugares específicos llamados dianas o sitios de restricción y producen fragmentos de restricción. Se aíslan a partir de bacterias y se denominan de acuerdo con la cepa bacteriana de la que derivan. Pueden cortar las dos cadenas de DNA en el mismo punto, generando extremos romos, o en sitios distintos, dejando colas de cadena sencilla en los sitios de corte (extremos cohesivos), que permitirán unir fragmentos de DNA no homólogos.

Exón

Secuencia codificante de DNA. Son los fragmentos de un gen que están presentes en el RNA transcrito de ese gen.

Gen supresor tumoral

Tiene como principal función la de regular el crecimiento y frenar la proliferación celular, imprescindible para el funcionamiento normal de la célula y del organismo. La pérdida de su función contribuye a la aparición de tumores. La transformación maligna se da cuando la célula es homocigota para el alelo mutado, es decir, ambos alelos pierden su función, se inactivan por mutación u otros mecanismos, denominándose oncogenes recesivos. Se han identificado más de una veintena.

Genes reparadores (*mismatch repair genes*)

Son genes que forman parte de una compleja maquinaria molecular encargada de reparar mutaciones

que se producen de forma espontánea por errores de la DNA polimerasa, o de forma inducida por agentes mutágenos externos. Estos genes pueden alterarse y causar la aparición de alteraciones genéticas al azar, que afectan la función de protooncogenes, genes supresores tumorales, etc. Los genes reparadores identificados son el *hMSH2*, homólogo del gen bacteriano *mutS*, y los *hMLH1*, *hPMS1* y *hPMS2*, homólogos del gen bacteriano *mutL*.

Inestabilidad de microsatélites

El DNA microsatélite consiste en repeticiones de secuencias cortas de DNA de dos o tres nucleótidos, distribuidos en tándem a lo largo del genoma. Son específicas de cada región cromosómica y confieren un gran polimorfismo genético. Al conocerse la secuencia de la mayoría, representan una diana adecuada para estudiar si existe variabilidad genética en ellos, comparando siempre el tejido tumoral con el normal del mismo paciente. La secuencia más común es (CA)_n, de la que existen 50.000-100.000 repeticiones en el genoma humano. Los genes causantes de la inestabilidad de microsatélites codifican proteínas que reparan el DNA de forma errónea (*mismatch repair genes*), que es el mecanismo de carcinogénesis de estos genes. Su mutación altera la capacidad de las células para reparar los errores que se producen al replicarse el DNA y activa oncogenes o inactiva genes supresores tumorales. El análisis de la inestabilidad de microsatélites es el método para estudiar la inestabilidad genética, que son alteraciones genéticas derivadas de los errores en los sistemas de reparación del DNA.

Mutación puntual

Es el cambio permanente de un nucleótido por otro en la cadena de DNA. Da lugar a proteínas anómalas en su estructura o función. Puede ser patógeno o no.

Oncogén y protooncogén

Son genes con mutaciones en uno de sus alelos, lo que les confiere una ganancia de función o activa-

ción. Los oncogenes, o genes causantes de cáncer, derivan de protooncogenes, genes celulares que regulan el crecimiento, la proliferación y la diferenciación celular. Se alteran activándose de forma constitutiva y mantienen la señal mitógena permanentemente activa. Los alelos mutados se denominan genes transformantes dominantes porque transforman células aunque exista un alelo normal. Los oncogenes codifican proteínas, oncoproteínas, similares a los productos normales de los protooncogenes pero sin elementos reguladores. Las células transformadas que las producen no responden a factores de crecimiento ni a otras señales externas. Se han descrito más de 100 oncogenes distintos y se dividen en cuatro categorías según el tipo de actividad en la proliferación celular.

PCR

(Polymerase Chain Reaction, reacción en cadena de la polimerasa)

Amplificación enzimática de una secuencia determinada de DNA por una secuencia de ciclos repetitivos de desnaturalización del DNA por calor, unión de la cadena de DNA al cebador y extensión del cebador mediante la enzima DNA polimerasa. Se puede realizar a partir de tejido fresco o fijado e incluido en parafina. Se usa para detectar mutaciones puntuales, translocaciones, deleciones e inserciones génicas. Es una técnica altamente sensible.

PCR-RFLP

(PCR de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción)

Es una PCR destinada a amplificar un determinado fragmento de DNA conocido por incluir un RFLP. Las discrepancias entre los dos alelos se demuestran por las diferencias en la longitud de los productos de PCR o por la distinta sensibilidad a la acción de las enzimas. Esta técnica es más rápida para el screening de RFLP que el *Southern Blot*.

RFLP
(Restriction Fragment Length Polymorphism, polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción)

Son diferencias de la secuencia del DNA en los lugares de reconocimiento de las enzimas de restricción heredadas, lo que origina variaciones en la longitud de los fragmentos resultantes del corte por estas enzimas. El patrón de bandas resultante es característico y diferente en cada caso. Una mutación puntual puede modificar o eliminar los lugares de reconocimiento de una determinada enzima de restricción, lo que resulta en un patrón de bandas diferente al que se observa normalmente. Estas diferencias heredadas en los lugares de reconocimiento

de las enzimas de restricción son las huellas dactilares del DNA de cada individuo.

Splicing

Corte y ensamblaje. Es un proceso intranuclear que se desarrolla sobre el transcrito temprano de RNA, retirando los intrones y posteriormente ensamblando los exones para constituir el RNA maduro.

Transcripción

Es la síntesis de una copia complementaria de una de las cadenas de DNA en forma de RNA. Esta copia sintetizada lleva la información genética del DNA. La transcripción está catalizada por la enzima RNA polimerasa.

