

LA ARQUITECTURA NUCLEAR Y SU DINÁMICA*

Héctor Rincón Arano y Félix Recillas Targa

RESUMEN

El núcleo de una célula constituye el hábitat del genoma eucariote el cual se encuentra estructurado en cromatina. Los avances en el uso de moléculas marcadas con compuestos fluorescentes aunados al progreso en la microscopia de fluorescencia han demostrado que la organización espacial del genoma y de los organelos sub-nucleares es mucho más compleja y dinámica de lo imaginado anteriormente. Además de los procesos de transcripción y procesamiento post-transcripcional se sabe que el genoma adopta una distribución topológica determinada dentro del núcleo. Que los cromosomas ocupan territorios sub-nucleares bien definidos y que se presentan procesos de re-localización de regiones del genoma en sitios específicos del núcleo favoreciendo contactos inter- e intra-cromosomales. Esta nueva visión del núcleo renueva el interés por su estudio y en la actualidad debe considerarse como un eslabón más dentro de la regulación genética y epigenética.

PALABRAS CLAVE: núcleo, cromatina, estructuras sub-nucleares, territorios, dinámica nuclear, re-localización, asas cromatínicas.

INTRODUCCIÓN

Durante la década pasada pocos descubrimientos tuvieron tal relevancia como la noticia de la secuenciación completa de la molécula portadora de la información genética del ser humano, conocida como ADN. Dicha noticia, además de permitir un mayor y mejor entendimiento del genoma, fue mundialmente divulgada como la solución a la mayoría de los defectos genéticos que se generan en los seres humanos. Sin embargo, y sin restarle su importancia práctica, esta información nos muestra solo la entrada a un

complejo mundo de procesos que regulan la información génica contenida en el núcleo celular. En otras palabras, tenemos los planos de cómo el genoma está organizado, pero, apenas estamos empezando a entenderlos y a utilizar la información en ellos contenida.

El núcleo celular y su organización fueron larga e injustamente ignorados, y es hasta años recientes, que se le ha dado importancia al papel fundamental que ésta juega en procesos celulares tan importantes como la división celular, el procesamiento de los men-

ABSTRACT

Cell nucleus represents the natural environment for the eukaryotic genome. The progress on fluorescent reagents for molecular labeling and fluorescence microscopy revealed the nucleus and the genome spatial compartmentalization demonstrating that the cell nucleus is much more complex than previously anticipated. It is well established that transcription and splicing are nuclear processes but today the nucleus needs to be seen as a more dynamic organelle where chromosomes are confined to specific territories and with dynamic re-localization of chromatin fibers inducing inter-chromosomal and intra-chromosomal interactions. This modern view of the eukaryotic cell nucleus illustrates its contribution at multiple levels to genetic and epigenetic regulation.

KEY WORDS: cell nucleus, chromatin, nuclear sub-organelle, territories, nuclear dynamics, re-location, chromatin loops.

sajeros así como su íntima participación en la regulación de la expresión génica. Por lo tanto, el núcleo celular representa, no sólo un sub-organelo celular, sino que además contribuye de manera dinámica en la homeostasis celular y no debe ser considerado únicamente como un contenedor de la molécula de ADN, es decir, del genoma celular.

El núcleo posee una organización definida en espacio y tiempo, es decir, es específica de cada tejido, así como de cada etapa de diferenciación. Dicha organización puede y debe de

*Recibido: 9 de septiembre de 2008 Aceptado: 9 diciembre de 2008

Instituto de Fisiología Celular, Departamento de Genética Molecular, Lab 122 NTE. Circuito Exterior S/N. Ciudad Universitaria. Universidad Nacional Autónoma de México. Coyoacán. México D.F. Apartado Postal 70-242 México, D.F. 04510. Tel: (52 55) 56 22 56 74 FAX: (52 55) 56 22 56 30. Correo E: frecilla@ifc.unam.mx (<http://www.ifsiol.unam.mx/gmdepto.html>)

ser mantenida después de procesos drásticos de re-estructuración, tales como la división celular. Al mismo tiempo, el núcleo es extremadamente dinámico en términos de los componentes que lo constituyen, así como en la regulación de procesos complejos como la transcripción génica, tráfico de proteínas reguladoras, etc. Por lo anterior, la dinámica y organización del núcleo eucarionte se ha convertido en un pilar esencial para el entendimiento de la regulación tanto a nivel genético como epigenético, entendiendo esto último como todos los cambios sobre la expresión génica que no involucran cambios en la secuencia del ADN, como por ejemplo silenciamiento de genes por metilación del ADN.

La visión del núcleo celular ha evolucionado de manera considerable gracias a los avances técnicos en dos áreas específicas: la microscopía de fluorescencia confocal y el desarrollo de estrategias experimentales que permiten el marcaje de moléculas con base en compuestos fluorescentes con amplios espectros de emisión. El progreso en estas áreas del conocimiento ha provocado un cambio drástico en nuestro concepto asociado a la dinámica del núcleo celular eucarionte.

En este artículo pretendemos mostrar una visión actualizada del núcleo celular partiendo de un orden lógico de eventos y componentes, con la finalidad de motivar al lector a renovar y ampliar su conocimiento acerca de este organelo. Describiremos las estructuras y compartimientos sub-nucleares e introduciremos las evidencias que llevan a concluir que el núcleo es un organelo celular altamente dinámico; con el fin de abordar aspectos más interesantes y novedosos asociados con procesos de re-localización al interior del núcleo. Desde esta perspectiva resulta indudable que las funciones del núcleo son imprescindibles para la vida de una célula y que de-

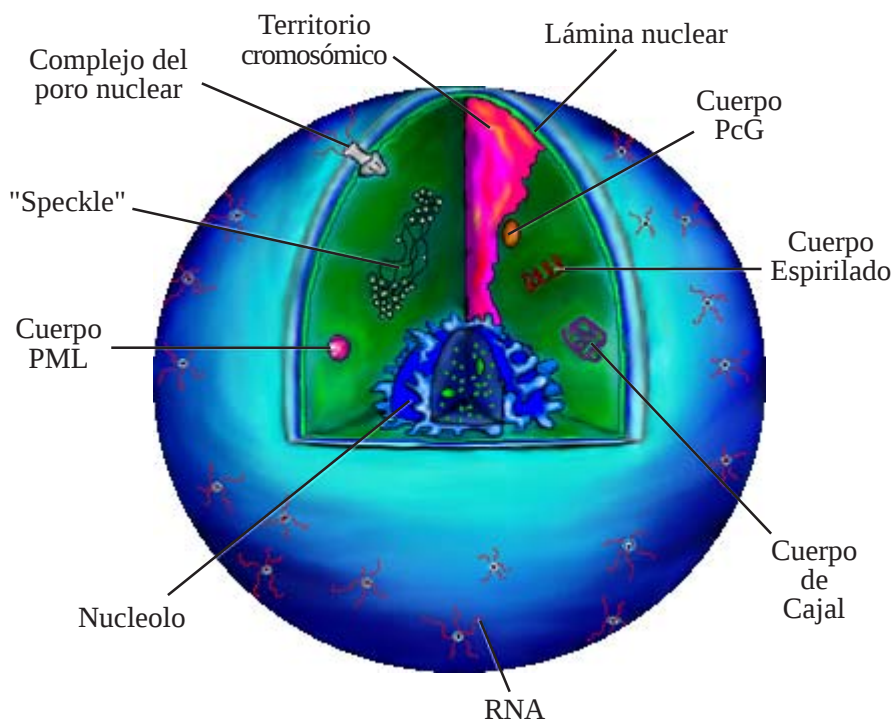


Figura 1. El núcleo celular. Dentro de los componentes del núcleo encontramos al nucleolo, cuerpos de Cajal, cuerpo del grupo Polycomb (PcG), lamina nuclear, «speckle» o cuerpos espiralados, el poro nuclear y cuerpo PML. Asimismo, se remarca la región probable que abarca un cromosoma en interfase (territorio nuclear).

fectos, tanto estructurales como funcionales, pueden contribuir o, incluso, ser responsables de diversas enfermedades.

Estructuras sub-nucleares

Una de las características más evidentes del núcleo consiste en su heterogeneidad en cuanto a sub-estructuras o compartimientos, los cuales varían dependiendo del linaje celular. Desde las eruditas observaciones de Santiago Ramón y Cajal fue clara la presencia de estructuras de diversos tamaños y formas al interior del núcleo, además de la molécula del ADN (en forma de cromosomas condensados). La microscopía óptica y más recientemente la microscopía electrónica permitió una descripción más precisa de dichos componentes nucleares. A pesar de ello, dicha caracterización es incompleta, dado que ha sido difícil atribuir funciones claras a las estructuras sub-nucleares identificadas. El

cuerpo nuclear más nítido y evidente es el nucléolo, sitio altamente especializado donde se localizan y se expresan los genes ribosomales (transcritos por la ARN polimerasa III), así como su posterior procesamiento e inicio del ensamblaje de los ribosomas (Fig. 1). En algunos tipos celulares se pueden apreciar regularmente más de un nucleolo, hecho que se encuentra asociado a los altos requerimientos de ribosomas para la síntesis de proteínas dependiendo de la estirpe celular. Además del nucleolo, existen toda una serie de cuerpos nucleares más pequeños entre los que se encuentran los Cuerpos de Cajal, los cuerpos PML (del inglés: "promyelocytic leukemia") y los "speckles" o cuerpos espiralados entre otros (1). Hasta el momento, la función de estos cuerpos se mantiene en controversia y en algunos casos es un completo misterio. Dentro de las estructuras más estudiadas se encuentran

los Cuerpos de Cajal, los cuales son considerados como sub-compartmentos nucleares donde se concentran y acumulan componentes necesarios para el procesamiento de los ARN pre-mensajeros. En varios estudios, ensayos de inmunofluorescencia muestran la presencia de componentes proteicos tales como diferentes factores de transcripción asociados a los Cuerpos de Cajal. Por otro lado, los "speckles" también conocidos como cuerpos espiralados parecen tener características similares a la de los Cuerpos de Cajal, siendo estos, estructuras dinámicas que se mueven al interior del núcleo en busca de sitios activos de transcripción y procesamiento. Finalmente, los cuerpos PML son los más enigmáticos y su número (de 2 a 10 cuerpos) se incrementa dramáticamente en células neoplásicas (hasta 50), considerando a estas estructuras como un marcador de células tumorales. A pesar de lo anterior, la función exacta de dichas estructuras no ha podido ser dilucidada y siguen siendo un misterio para la biología contemporánea. Aún queda mucho por entender en relación a la contribución de estos cuerpos dentro de la dinámica nuclear, no sabemos si representan sitios de almacenamiento globales de moléculas reguladoras o si participan de manera general y activa en procesos tales como el procesamiento de mensajeros o de la transcripción.

El concepto de territorios sub-nucleares

Brevemente, debemos recordar que la molécula de ADN se encuentra asociada a proteínas conocidas como histonas, a dicha asociación se le denomina nucleosoma, y esta organización representa el nivel primario de compactación del genoma, permitiendo contener de 2 a 4 metros de ADN dentro del núcleo (Fig. 2). A dicha asociación se le conoce en su conjunto como cromatina. La cromatina se

encuentra organizada en dominios cromosómicos bien definidos, compuestos por gradientes de heterocromatina y eucromatina (Fig. 2). La heterocromatina representa las zonas del genoma altamente compactas, con una baja o casi nula presencia de genes. Su contraparte, la eucromatina, se asocia a regiones de

cromatina menos compactas, en donde se encuentra la mayoría de los genes transcripcionalmente activos (conocidos como dominios transcripcionalmente activos). Desde una perspectiva citológica, y a través del uso de la microscopia de fluorescencia, la heterocromatina se ha encontrado predominantemente asocia-

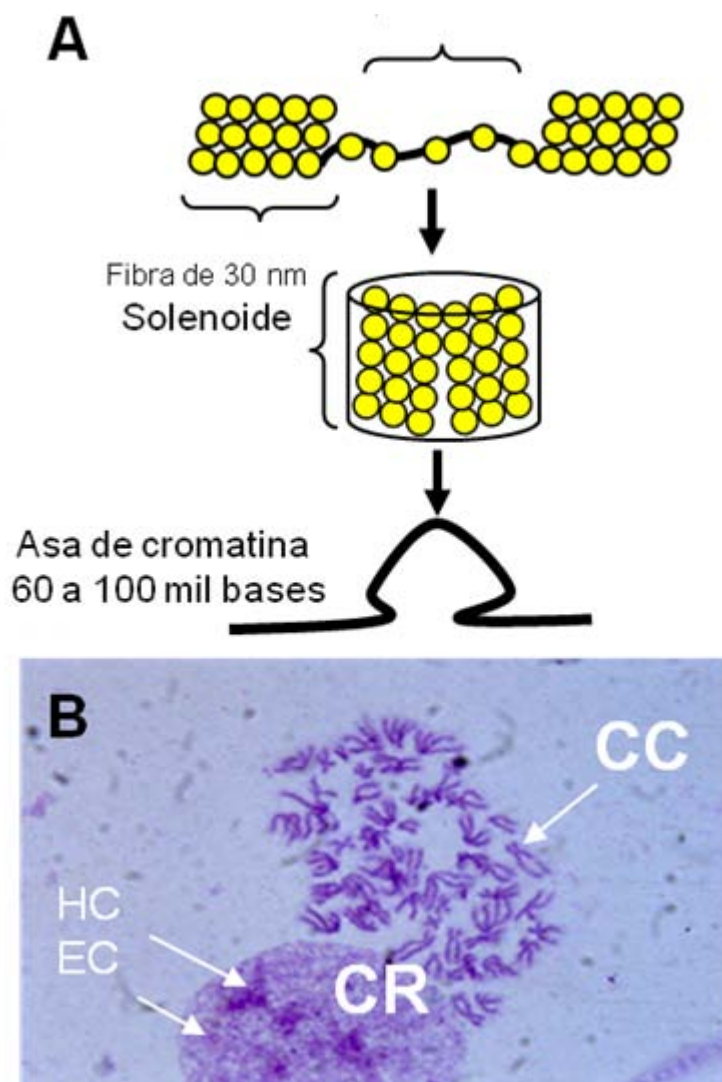


Figura 2. La estructura de la cromatina y sus distintos niveles de compactación. A.- Los círculos representan los nucleosomas, compuestos de ocho histonas enrollando a la cadena de ADN. Seis nucleosomas, con la ayuda de la histona H1, forman el solenoide o fibra de 30 nm. Esta fibra a su vez forma estructuras con un nivel de compactación superior, conocidas como asas, las cuales abarcan grandes áreas del genoma (de 60 a 100 mil bases). La organización de dichas asas -mediante procesos aún desconocidos- da lugar los cromosomas mitóticos. B.- Tinción de Giemsa para identificar el ADN de dos núcleos uno con el genoma en interfase o que no está en división (I) y otro con el ADN condensado a nivel de cromosomas mitóticos (CC), usualmente observados durante la división celular. En el núcleo en interfase se puede observar regiones de heterocromatina (HC) y de eucromatina (EC).

da a la periferia nuclear y al nucléolo, mientras que la eucromatina tiene una localización más central al interior del núcleo.

Contrario a lo que inicialmente se pensaba, los cromosomas no se distribuyen de manera aleatoria al interior del núcleo. Con el advenimiento y desarrollo de múltiples métodos de fluorescencia que permiten teñir cromosomas completos de manera individual, ha sido posible confirmar que los cromosomas ocupan espacios relativamente bien definidos, lo cual llevó a los investigadores a proponer el concepto de territorios cromosómicos (Fig. 3). Con esto en mente, Cremer y colaboradores propusieron que la organización del genoma en territorios cromosómicos y los espacios comprendidos entre ellos, conocidos como compartimientos inter-cromosómicos, tienen una posible relación con la actividad transcripcional de zonas definidas de cada cromosoma (2, 3). Diferentes evidencias experimentales sugieren que en la periferia de los territorios cromosómicos la cromatina se encuentra en un estado más relajado y por lo tanto apta para que los genes localizados en esas zonas sean transcritos. Dichas regiones pueden incluso ser alejadas del territorio formando asas y exponiendo genes o grupos de genes hacia los espacios inter-cromosómicos (Fig. 4A). El alejamiento de una región del genoma con respecto al territorio favorecería la interacción de la maquinaria transcripcional (factores transcripcionales y la polimerasa de ARN) así como la subsiguiente deposición de mensajeros de ARN en vías o canales (espacios inter-cromosómicos) que facilitarían su exportación al citoplasma a través de los poros nucleares. Lo anterior sugiere una coordinación entre los mecanismos de transcripción génica y de exportación de las moléculas mensajeras que serán traducidos en el citoplas-

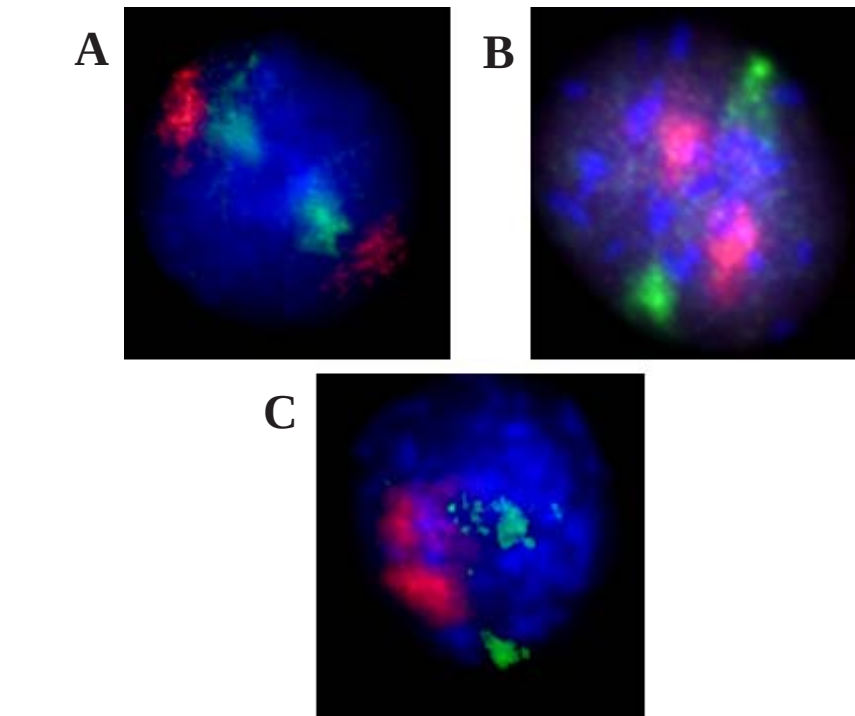


Figura 3. Microscopia fluorescente para el análisis de territorios cromosómicos. A, B.- Territorio nuclear ocupado por los cromosomas 11 (rojo) y 2 (verde), contra-teñidos con DAPI (azul) para localizar el ADN en núcleos de eritroblastos (A) y eritrocitos maduros (B) de ratón. C.- Territorio nuclear ocupado por los cromosomas 14 (rojo) y 12 (verde) en eritroblastos de ratón, en azul se define el resto del genoma con una tinción con DAPI. Aumento 100X. Fotografías proporcionadas amablemente por Steven Kosak and Mark Groudine, Fred Hutchinson Cancer Research Center, SA, USA.

ma (Fig. 4A). Además el modelo prevee que dichos canales servirían como vías de tránsito para componentes nucleares como los Cuerpos de Cajal y los cuerpos espiralados ("speckles"). Por otro lado y hacia el interior de los territorios, la cromatina se encuentra en un estado mucho más compacto y, en consecuencia, con una baja actividad transcripcional.

Otro modelo propone que dentro del territorio que ocupa un cromosoma existen una serie de canales organizados por la propia cromatina que lo atraviesan totalmente (Fig. 4B). Esta propuesta contempla la posibilidad de que los dominios génicos activos se organicen hacia la luz de dichos canales. Así, ellos permitirían el libre flujo de la maquinaria transcripcional a los diferentes dominios génicos localiza-

dos en las paredes de los mismos. Asimismo, la exportación de los ARN mensajeros se vería facilitada para su subsecuentemente utilización en el citoplasma. Por otro lado, los dominios silenciados y la heterocromatina constitutiva parecerían alejarse de dichos canales, agrupándose en centros de convergencia de heterocromatina. Cabe mencionar que este modelo no es excluyente del modelo inicialmente descrito.

Resulta pertinente recordar que hasta este momento, la gran mayoría de las imágenes a partir de las cuales se proponen los modelos de organización se han generado en dos dimensiones (Fig. 4). De lo anterior surge la necesidad de construir y modelar imágenes tri-dimensionales de núcleos para alcanzar una mejor comprensión de la arquitectura más

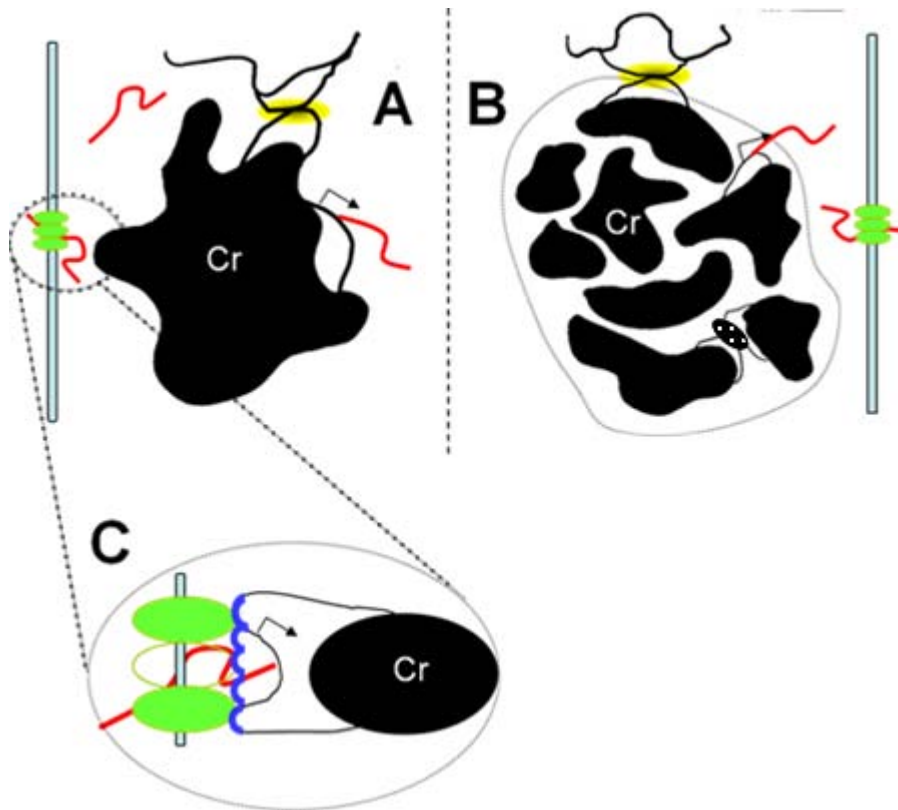


Figura 3. Modelos de actividad transcripcional en un territorio cromosómico. A) un cromosoma (Cr) ocupa una región definida dentro del núcleo, localizando en la periferia del mismo a los genes que deben de ser transcritos a través de asas (—) o que permite la interacción con otras asas del mismo cromosoma o de otro (área amarilla ●, ●). B) Modelo de canales intercromatinianos propone que dentro del territorio (región punteada ○) una serie de canales dentro de los cuales los genes son transcritos (—). EN todos estos modelos se usan estos vía o canales para enviar el ARN mensajero hacia el exterior del núcleo vía los poros nucleares (○) C) Existe evidencia de que elementos en cis (insulators C) son capaces de re-localizar secuencias a regiones cercanas a los poros nucleares, creando dominios transcripcionalmente activos y facilitando el transporte de los RNA al citoplasma.

real y apegada a su contexto natural. De esta manera, nos encontramos ante la necesidad de puntualizar que los modelos aquí descritos constituyen los inicios dentro del objetivo de entender la organización nuclear y su dinámica. Por lo tanto, los conceptos aquí planteados se encuentran en constante evolución y los modelos pueden variar, sobretodo en función de los avances tecnológicos. Consecuentemente, estamos frente a un campo de investigación con un amplio e insospechado futuro.

Dinámica nuclear

Una de las preguntas que se plantean de manera recurrente es ¿Cómo se lle-

va a cabo el tránsito de moléculas al interior del núcleo? Las predicciones teóricas y experimentales son dos: la primera contempla la participación de transportadores o moléculas chaperonas, las cuales serían las responsables de escoltar a otras proteínas a sus sitios de acción. La segunda predicción toma en consideración la difusión libre de moléculas, permitiendo el reconocimiento y discriminación de sus secuencias de unión a través de sus distintas afinidades. Resultados experimentales, utilizando una novedosa metodología de recuperación de fluorescencia después de un fotoblanqueo por rayo láser (conocida como FRET), han permitido eva-

luar el tránsito y movimiento de moléculas al interior de núcleo en tiempo real. Con base en los tiempos de desplazamiento calculados, la mayoría de los datos apoyan la libre difusión de moléculas al interior del núcleo y sugieren que el encuentro con sus sitios de acción se logra mediante la afinidad entre moléculas. Aun con el conocimiento actual, varias preguntas siguen sin resolverse, como por ejemplo la localización y concentración real de los factores necesarios para la expresión génica y otros procesos moleculares dentro del núcleo.

Considerando los primeros estudios bioquímicos sobre la organización del genoma de distintos organismos, recientemente, surge una novedosa propuesta sobre la localización y eficiencia de la transcripción dentro de un cromosoma. Dicha propuesta considera 3 factores determinantes para la adecuada regulación dinámica de los genes, 1) la organización lineal de los genes a lo largo del cromosoma, 2) su localización a lo largo del cromosoma y 3) su relación con la estructura de la cromatina (4-6). Evidencias experimentales preliminares sugieren un modelo en el cual grupos de genes organizados linealmente a lo largo de un cromosoma, pudieran coexistir y participar en vías comunes de regulación. Lo anterior ocurre sin importar la cercanía entre los dominios a expresarse y/o las regiones de heterocromatina que los separan. La funcionalidad de dicha organización favorecería la co-regulación de los genes, así como la probabilidad de compartir (incluso de forma inter-cromosomal) regiones específicas, con el fin de optimizar los recursos necesarios para la regulación, procesamiento y transporte de los productos de la expresión de los genes. Complementado el modelo, la predicción contempla la coexistencia de dominios cromosómicos entre cromosomas. Todo lo anterior apoya

el concepto de dinámica nuclear basado en una clara interdependencia de múltiples procesos que ocurren a distintos niveles.

Un aspecto novedoso, particularmente atractivo y que forma parte de la dinámica nuclear, es la organización del genoma en dominios y su asociación topológica al interior del núcleo. Utilizando como modelo a la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, se han identificado secuencias de ADN que delimitan ciertas regiones que incluyen uno o varios grupos de genes y que en inglés se conocen como "insulators" o "chromatin boundary elements" y que puede considerarse como delimitadores. En la actualidad estas secuencias han sido definidas en diversos organismos tales como levadura, pollo, ratón y seres humanos (7). Los elementos delimitadores contribuyen a la formación y mantenimiento de dominios génicos a través de definir zonas en el genoma donde un gen o grupo de genes son enmarcados por este tipo de elementos regulatorios y de esta forma adquieren una conformación de la cromatina favorable para su transcripción (8, 9). Cabe recalcar que no todos los genes o dominios poseen secuencias (con sus factores transcripcionales asociados) tipo "insulator". En una serie de publicaciones recientes, Corces y colaboradores, utilizando al "insulator" *gypsy* de *D. melanogaster*, han propuesto que las proteínas asociadas a éste, Su(Hw) y mod(mdg4) forman complejos mediante múltiples interacciones en forma de roseta las cuales se asocian a la periferia del núcleo y contribuyen de manera topológica a la formación de asas de cromatina abarcando decenas e incluso centenas de kilobases de secuencia genómica (Fig. 4C) (8). Este tipo de asociaciones induce una citolocalización y topología específica del genoma al interior del núcleo. De manera interesante, cuando las asas y sus genes asociados se encuen-

tran en un estado transcripcionalmente inactivo, las zonas más alejadas a las bases de las asas interaccionan con proteínas represoras. Por el contrario, al activarse la transcripción, dichas proteínas represoras se disocian y las asas parecen migrar hacia la periferia del núcleo con la consecuente activación transcripcional de los genes incluidos en ellas. Este escenario parece ser consistente con el modelo de co-regulación y dinámica nuclear descrito anteriormente. Otro ejemplo está dado por la co-localización de los telómeros de levadura en la periferia del núcleo, con consecuencias directas en la estabilidad de su genoma e incluso control de su ciclo celular. Finalmente, el grupo de Felsenfeld ha demostrado recientemente un proceso análogo al descrito para el "insulator" *gypsy* en el cual la proteína asociada al "insulator" CHS4 de pollo, conocida como CTCF, quién es un factor transcripcional multi-funcional y que se asocia a la gran mayoría de los "insulators" en vertebrados, se une a la nucleofosmina (proteína asociada a la matriz nuclear), pero en lugar de ocurrir en la periferia del núcleo esta interacción se lleva a cabo en la región perinucleolar. Cabe mencionar, que los modelos propuestos para el "insulator" *gypsy* han sido parcialmente corroborados por el grupo de Laemmli y colaboradores mediante una aproximación genética en levadura (9).

En resumen, existen evidencias que demuestran que las secuencias no-codificantes en el genoma contribuyen a la formación de una topología favorable para el control de la expresión genética involucrando claramente a la organización tridimensional del núcleo. Lo anterior apoya sin duda alguna la contribución de la organización del núcleo dentro de la regulación de procesos moleculares y celulares vitales propio de la célula.

Re-localización al interior del núcleo

Una de las demostraciones más claras de la dinámica nuclear y su efecto directo sobre la regulación de la expresión genética son los procesos de re-localización de regiones genómicas al interior del núcleo. En la actualidad se han demostrado tres estrategias que la célula eucarionte utiliza para modular la expresión o no de un dominio génico vía re-localización de secuencias o proteínas específicas a distintos compartimientos nucleares. Históricamente, la primera estrategia fue descrita en linfocitos T e involucra a la proteína Ikaros. Esta es una proteína nuclear cuya función se restringe a etapas en las cuales ciertos genes del linaje linfóide necesitan ser reprimidos. La contribución funcional de Ikaros se basa en la capacidad que tiene para asociarse a secuencias específicas del genoma y re-localizar o redistribuirla la región de unión a zonas de heterocromatina en donde los genes se mantendrían silenciados. Dicho proceso es reversible, ya que cuando Ikaros se disocia de manera regulada de la heterocromatina centromérica, alejándose de ella, se facilita la activación transcripcional del dominio previamente silenciado. La pérdida de la influencia negativa de la heterocromatina favorece la subsecuente formación de un dominio transcripcionalmente activo mediante su re-localización a un nuevo sitio dentro del territorio cromosómico, usualmente regiones de eucromatina; muy probablemente el factor Ikaros es reubicado posteriormente o su función inhibida por otros mecanismos.

La segunda estrategia adoptada por la célula es la asociación de elementos de regulación a secuencias de heterocromatina. Los dos únicos ejemplos son el grupo de genes β -globina y el locus de los genes del receptor de células T (10, 11). El reemplazo de la región de control de locus (LCR) de

los genes β -globina en células eritroides por una región regulatoria específica de células B, provocó la asociación del dominio β -globina a regiones de heterocromatina centromérica. Por otro lado y mediante mecanismos aún desconocidos, estos genes al ser activados se alejan de la heterocromatina, favoreciendo la formación de un entorno de eucromatina que subsecuentemente facilita los pasos finos y locales de regulación transcripcional. En resumen, estos estudios han evidenciado varias estrategias que el genoma ha adquirido para secuestrar regiones de ADN a zonas no permisivas para la transcripción.

Finalmente, la tercera estrategia no incorpora directamente al ADN o a la cromatina. Este proceso tiene que ver con la re-localización y posterior formación de factores transcripcionalmente funcionales. El factor de la familia Maf, NF-E2, es un regulador transcripcional crítico para el desarrollo y la diferenciación eritroide formado por dos subunidades, p18 y p45. En su conformación activa, forma un heterodímero constituido por la subunidad p18 (ubicua) y la subunidad p45 (eritroide específica). En etapas tempranas y previas a la diferenciación eritroide el heterodímero no se forma, dado que la subunidad NF-E2p18 se encuentra "secuestrada" en zonas de heterocromatina. Por el contrario, al iniciarse la diferenciación eritroide la subunidad p18 se disocia y se re-localiza, alejándose de las zonas de heterocromatina (12). Esto trae como consecuencia la formación del heterodímero NF-E2p18/p45 y la subsecuente activación del factor, logrando así su participación en la expresión de genes eritroides, en particular, de los genes globina.

En resumen, los procesos de re-localización al interior del núcleo en una célula eucarionte nos presentan un amplio panorama de investigación, en donde podemos preguntarnos ¿qué tan

generales y conservados son estos mecanismos?, ¿cuántos y qué genes o grupos de genes están sujetos a este tipo de estrategias?

Contactos inter- e intra-cromosómicos

Investigaciones recientes han demostrado que al interior del núcleo se forman asas de cromatina que favorecen contactos físicos entre un mismo cromosoma e incluso entre cromosomas distintos (13-16). Mediante el desarrollo del protocolo experimental llamado "Captura Conformacional de Cromosomas" o 3C ha sido posible demostrar la existencia de estos contactos físicos que favorecen muy probablemente una topología del genoma organizado en cromatina para llevar a cabo procesos de regulación a distintos niveles y de manera específica en tiempo y en espacio. Lo anterior se ve apoyado por la función del factor nuclear CTCF el cual se ha propuesto contribuye a la formación de asas de manera regulada como en los casos de las interacciones intra-cromosómicas del locus improntado *Igf2/H19* (15), en el dominio β -globina de ratón (17) o en los loci *Igf2/H19* y *Wsb1/Nf1* (14). Por lo tanto, estos resultados fortalecen la contribución del núcleo, su dinámica y la organización del genoma eucarionte en los múltiples niveles de regulación epigenética.

Conclusiones y perspectivas

La visión actual del núcleo dista mucho de ser sencilla, por el contrario, el núcleo eucarionte ha mostrado ser tan complejo como cualquier otro organelo celular y por lo tanto no representa un simple contenedor de la información genética. Este ha mostrado que para realizar sus funciones tiene que ser eficiente en la organización dinámica del genoma en coordinación con varias estructuras o sub-organelos necesarios para la homeostasis celular. El mejoramiento de la microscopia

óptica así como del desarrollo de técnicas de marcaje fluorescentes de moléculas ha permitido retomar los estudios citológicos de los procesos celulares. La implementación de metodologías *in vivo* permite determinar que la cromatina, y en especial los factores que regulan la expresión génica, poseen y dan flexibilidad de movimiento al interior del núcleo tanto al genoma como a sus componentes proteicos. Sin embargo, aun con dicha dinámica, los dominios génicos poseen una localización y organización específica causada en gran parte por las características estructurales que la cromatina adquiere en el contexto de un cromosoma. Éstas se encuentran definidas por el orden lineal de los genes y su distribución dentro de un mosaico heterogéneo de regiones de heterocromatina y eucromatina con aparente especificidad para cada estirpe celular. Nosotros, junto con otros grupos, proponemos que la formación inicial de estos tipos de cromatina resultan ser determinantes y necesarios para la expresión regulada de los genes. Por lo que el entender como se posicionan y organizan los cromosomas al interior de un núcleo es de gran relevancia para descifrar la compleja arquitectura nuclear y entender en un contexto más cercano a la realidad como ocurre la regulación génica (18).

La implementación de marcaje fluorescente multicolor ha permitido analizar a todos los cromosomas dentro de un núcleo, sin embargo al momento esto se hace *in situ*, por lo que el abordaje *in vivo* será fundamental para entender más de la organización y dinámica de los cromosomas y así como de otras estructuras nucleares. Asimismo, la continua generación de metodologías que permitan analizar la dinámica tanto de la cromatina como de los diferentes sub-organelos será indispensable para abordar preguntas más complejas sobre como la

cromatina se coordina con las estructuras sub-nucleares y entender más sobre su función.

Agradecimientos

Agradecemos a: Inti de la Rosa Velásquez, Mayra Furlan y Eria Rebollar por sus comentarios y sugerencias. Asimismo, agradecemos el

apoyo a Paulina Martínez para el diseño y creación de la figura 1, así como a Steve Kosak y Mark Groudine del Fred Hutchinson Cancer Research Center por proporcionar las micrografías de la figura 3 y a los revisores de esta revisión por sus atinados comentarios y sugerencias. Este trabajo ha sido apoyado por: Dirección General de Asun-

tos del Personal Académico-UNAM (IN209403 y IN214407), Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT (42653-Q y 58767), Third World Academy of Sciences (TWAS, Grant 01-055 RG/BIO/LA), y la Fundación Miguel Alemán. HRA fue apoyado por CONACyT con una beca de doctorado.

REFERENCIAS

1. Spector DL (2003) The dynamics of chromosome organization and gene regulation. *Ann Rev Biochem* 72: 573-608.
2. Cremer T, Cremer C (2001) Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nat Rev Genet* 2: 292-301.
3. Lanctot C, Cheutin T, Cremer M, Cavalli G, Cremer T (2007) Dynamic genome architecture in the nuclear space: regulation of gene expression in three dimensions. *Nat Rev Genet* 8: 104-115.
4. Kosak ST, Groudine M (2004) Form follows function: the genomic organization of cellular differentiation. *Genes Dev* 18: 1371-1384.
5. Meaburn KJ, Misteli T (2007) Chromosome territories. *Nature* 445: 379-381.
6. Misteli T (2007) Beyond the sequence: cellular organization of genome function. *Cell* 128: 787-800.
7. Brasset E, Vaury C (2005) Insulators are fundamental components of the eukaryotic genomes. *Heredity* 94: 571-576.
8. Capelson M, V.G. Corces VG (2004) Boundary elements and nuclear organization. *Biol Cell* 96: 617-629.
9. Valenzuela L y Kamakaka RT (2006) Chromatin insulators. *Annu Rev Genet* 40: 107-138.
9. Valenzuela L y Kamakaka RT (2006) Chromatin insulators. *Annu Rev Genet* 40: 107-138.
10. Kosak ST, et al. (2002) Subnuclear compartmentalization of immunoglobulin loci during lymphocyte development. *Science* 296: 158-162.
11. Ragozzy T et al. (2003) A genetic analysis of chromosome territory looping: diverse roles for distal regulatory elements. *Chromosome Res* 11: 513-525.
12. Francastel CW, Magis H, Groudine M (2001) Nuclear relocation of a transactivator subunit precedes target gene activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 12120-12125.
13. Chakalova L, Debrand E, Mitchell JA, Osborne CS, Fraser P (1995) Replication and transcription: shaping the landscape of the genome. *Nat Rev Genet* 6: 669-677.
14. Ling JQ, Li T, Hu JF, Vu TH, Chen HL, Qiu XW, Cherry AM, Hoffman AR (2006) CTCF mediates interchromosomal colocalization between Igf2/H19 and Wsb1/Nf1. *Science* 312, 269-272.
15. Reik W, Murrell A, Lewis A, Mitsuya K, Umlauf D, Dean W, Higgins M, Feil R (2004) Chromosome loops, insulators, and histone methylation: new insights into regulation of imprinting in clusters. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 69: 29-37.
16. Fraser P y Bickmore W (2007) Nuclear organization of the genome and the potential for gene regulation. *Nature* 447: 413-417.
17. Splinter E, Heath H, Kooren J, Palstra RJ, Klous P, Grosveld F, Gljart N de Laat W (2006) CTCF mediates long-range chromatin looping and local histone modification in the γ -globin locus. *Genes Dev* 20, 2349-2354.
18. Schneider R, Grosschedl R (2007) Dynamics and interplay of nuclear architecture, genome organization and gene expression. *Genes Dev* 21: 302-304.