



**INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

---

**SECRETARÍA DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**LA MITOSIS Y SU REGULACIÓN**

**TRABAJO DE FIN DE CURSO**

**(MODALIDAD REVISIÓN DE TEMA)**

**QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DEL  
CURSO AVANZADO EN**

**CITOGENÉTICA**

**P R E S E N T A**

**BIÓL. ALFREDO DE JESÚS RODRÍGUEZ GÓMEZ**

**TUTORA: DRA. SARA FRIAS VAZQUEZ**

**MÉXICO, D.F.**

**DICIEMBRE, 2011**



**INP  
CENTRO DE INFORMACIÓN  
Y DOCUMENTACIÓN**

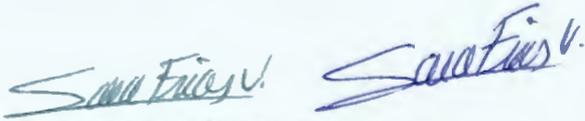
## LA MITOSIS Y SU REGULACIÓN



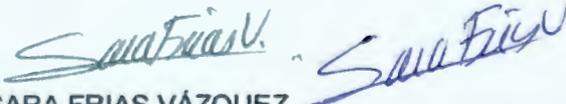
DRA. ROSAURA ROSAS VARGAS  
SUBDIRECTORA DE ENSEÑANZA



DRA. MIRELLA VÁZQUEZ RIVERA  
JEFE DEL DEPTO. DE PRE Y POSGRADO



DRA. SARA FRIAS VÁZQUEZ  
PROFESORA TITULAR DEL CURSO AVAZADO DE  
CITOGENÉTICA



DRA. SARA FRIAS VÁZQUEZ  
TUTORA DE TESIS

**Este trabajo se realizó en el laboratorio de Citogenética, del  
Departamento de Investigación en Genética Humana del Instituto  
Nacional de Pediatría**

**CONTENIDO**

<b>ABSTRACT.....</b>	<b>2</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>2</b>
<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>3</b>
<b>ETAPAS DE LA MITOSIS.....</b>	<b>5</b>
<b>REGULACIÓN MOLECULAR DE LA MITOSIS.....</b>	<b>18</b>
<b>EL CICLO CELULAR SE REGULA GRACIAS A UN PATRÓN DE CICLINAS Y CINASAS DEPENDIENTES DE CICLINAS (CDKS).....</b>	<b>18</b>
<b>EL PUNTO DE MONITOREO DE G2 REGULA LA ENTRADA A MITOSIS.....</b>	<b>19</b>
<b>LA TRANSICIÓN G2/M (ENTRADA A MITOSIS).....</b>	<b>20</b>
<b>EL PUNTO DE MONITOREO DE METAFASE.....</b>	<b>22</b>
<b>MODIFICACIONES COVALENTES DE LAS HISTONAS DURANTE LA MITOSIS.....</b>	<b>24</b>
<b>REGULACIÓN DE LA CITOCINESIS.....</b>	<b>24</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>26</b>

## **RESUMEN**

La división celular por mitosis es esencial para el desarrollo de los organismos y su reproducción, aunado a ello es necesario que cada nueva célula sea genéticamente idéntica a aquella de la cual proviene. En los eucariontes esto se logra gracias a la presencia de mecanismos complejos que aseguran la integridad del material genómico y su segregación apropiada durante la mitosis. La visión tradicional de la mitosis la ha dividido en diferentes etapas que lograron ser caracterizadas gracias a los estudios morfológicos en células en división; los avances en la biología molecular han llevado más allá esta caracterización, de manera que ahora se conocen toda una gama de participantes moleculares. En este artículo se abordarán el proceso de la mitosis, tanto a nivel celular como molecular y una breve síntesis de los actores moleculares que regulan este proceso.

## **ABSTRACT**

Cell division by mitosis, which originates two daughter cells genetically identical to the mother cell, is a process essential for the development and reproduction of organisms. In eukaryotes this process is achieved by the presence of complex mechanisms that ensure the integrity of genomic material and their proper segregation during mitosis. The traditional view of mitosis has been divided into different stages that were characterized by morphological studies in dividing cells; however the advances in molecular biology have further characterized this process and now we have an expanded list of participant molecules. This article will discuss the process of mitosis, both at the cellular and molecular level, as well as the molecular players involved in its accomplishment.

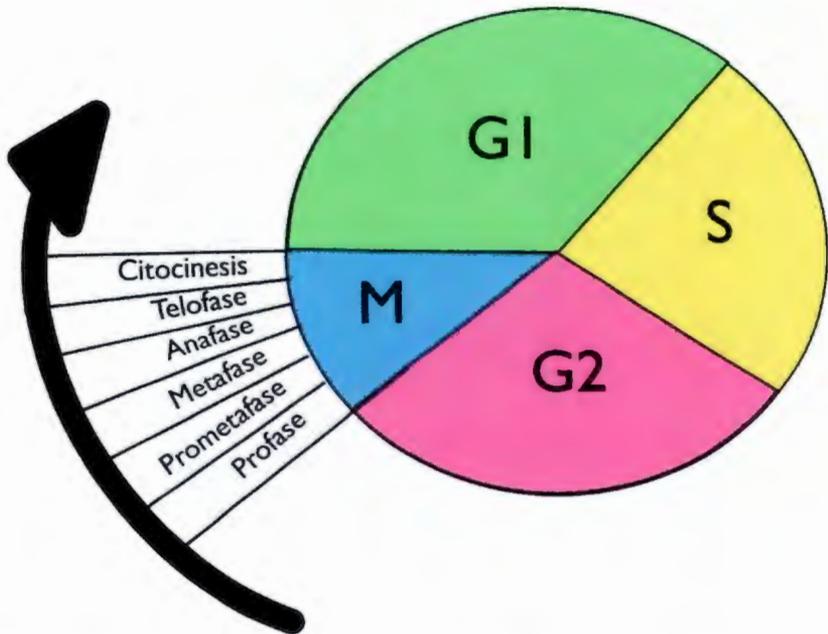
## INTRODUCCION

En los organismos pluricelulares como el humano, que inician su vida con una célula huevo o cigoto, la división celular mitótica es esencial para el desarrollo y mantenimiento de los diversos tejidos, órganos y sistemas que lo forman. Las nuevas células originadas por la mitosis son genéticamente idénticas a la célula madre; esto se logra gracias a la presencia de mecanismos complejos de regulación que aseguran la integridad del material genómico y su segregación apropiada. La serie de eventos que conducen a una célula a dividirse se conoce como ciclo celular y está constituido por dos fases principales: la interfase y la división celular, que puede ser mitosis o meiosis. La mitosis es el proceso nuclear por medio del cual los cromosomas replicados se segregan en dos núcleos hijos, generalmente va acompañada de la citocinesis, que es la división del citoplasma y separación física de las dos células hijas.

El proceso mitótico fué primeramente descrito por Flemming en 1882, su duración es generalmente de menos de una hora, tiempo en el cual la célula es capaz de separar su información genética en dos sets idénticos, que junto con el resto de sus componentes subcelulares serán heredados a las células hijas. Durante la mitosis la célula se ocupa en una actividad principal que es la segregación cromosómica y prácticamente detiene el metabolismo, la transcripción y la traducción.<sup>1</sup>

Previo al proceso de mitosis, durante la fase S del ciclo celular, los cromosomas se replican, de manera que en el momento de iniciar la división celular: en humano cada uno de los 46 cromosomas replicados tendrá dos cromátidas unidas por el centrómero, cada una de las cuales representa un cromosoma funcional. Cada cromátida hermana de un cromosoma segregará a una célula hija, al igual que las otras 45, y juntas integrarán el "set" diploide de 46 cromosomas de la nueva célula. La mitosis se caracteriza por dos eventos importantes que pueden visualizarse bajo el microscopio de luz, la condensación y la segregación cromosómica. El movimiento cromosómico, está mediado por una estructura compuesta primordialmente por microtúbulos (mt): el huso mitótico, que se encarga de alinear a los cromosomas replicados y condensados en el centro de la célula, para así posicionar a las cromátidas hermanas con el cinetocoro de una, apuntando hacia un polo y el de la otra apuntando al polo opuesto, en ese momento, se escinde la

proteína que mantenía unidos los centrómeros y que a su vez mantenía unidas a las cromátidas hermanas. Aquí el huso mitótico mediante sus microtúbulos jala las cromátidas hacia polos opuestos. El último paso es la reinstalación de un núcleo interfásico y la división del citoplasma para formar dos células hijas idénticas. Todos estos eventos, se realizan en cinco etapas nucleares: profase, prometáfase, metafase, anafase, telofase y finalmente se realiza la citocinesis que es la división del citoplasma<sup>2</sup> (Figura 1).



**Figura 1. La mitosis en el contexto de las distintas fases del ciclo celular.** En un ciclo celular mitótico con duración aproximada de 24 horas, la fase M se desarrolla en aproximadamente una hora, de manera que cada una de las cinco etapas nucleares y la citocinesis se desarrollan en minutos.

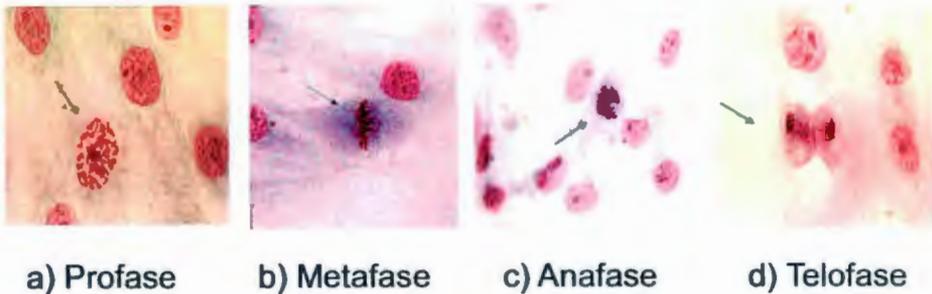
## ETAPAS DE LA MITOSIS

### Profase.

La transición de interfase a mitosis es la profase, en esta etapa ocurren los siguientes eventos: la cromatina se condensa para formar cromosomas, se forma el huso mitótico y desaparece la envoltura nuclear.

#### 1) Condensación cromosómica.

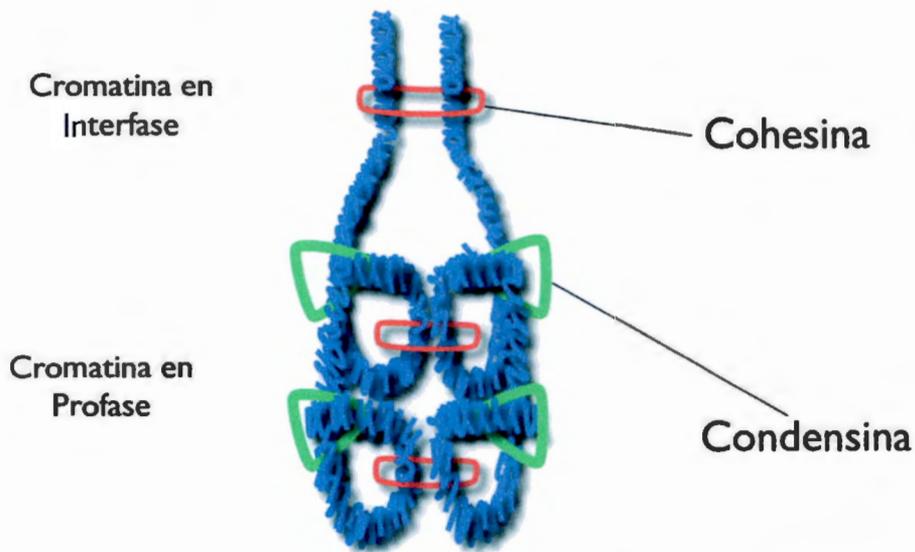
La primera manifestación visible de la división celular es la compactación progresiva de la cromatina nuclear (figura 2), para dar lugar a hebras cromosómicas, en este punto los cromosomas se definen como hebras dobles porque ya están replicados; este empaquetamiento es indispensable para que los cromosomas no sufran alteraciones generadas por el estrés mecánico a que son sometidos debido a los movimientos del huso mitótico durante la segregación cromosómica.<sup>2</sup>



**Figura 2. Las distintas fases de la mitosis.** Cultivo de fibroblastos en los cuales se observan: a) Profase-prometáfase. Los cromosomas se visualizan como hebras en proceso de condensación, la envoltura nuclear se encuentra en proceso de desintegración b) En la metafase ha desaparecido la envoltura nuclear y los cromosomas se encuentran en la placa ecuatorial con una mayor condensación c) La anafase caracterizada por la separación en dos grupos de las cromátidas hermanas, originalmente unidas por el centrómero d) Telofase. Se puede observar la división citoplásmica y la reintegración de las envolturas nucleares para formar dos células hijas. (Fotografía cortesía del Dr. Joaquín Carrillo, Instituto de Hematopatología).

La cromatina que está en fibras de 30 nm en interfase, comienza a condensarse por la intervención de un complejo protéico llamado Condensina, la cual asociada con topoisomerasa II, superenrollan la fibra de 30 nm y forman asas de DNA superenrollado a lo largo de cada cromátida (figura 3a). Para mantener unidas a las cromátidas hermanas del cromosoma replicado y condensado, interviene otro complejo protéico llamado Cohesina, que mantiene unidas a las dos cromátidas desde que terminaron su replicación en fase S hasta la anafase mitótica; la Condensina y la Cohesina son estructuras similares que pueden formar anillos que retienen segmentos distantes de cromatina unidos (figura 3b). La Cohesina se encuentra a lo largo de los brazos cromosómicos manteniendo unidas longitudinalmente a las cromátidas hermanas y dando la apariencia de una sólo hebra al cromosoma mitótico temprano, también se encuentra uniendo fuertemente a las cromátidas por el centrómero; la Cohesina localizada a lo largo de los brazos se separa de la cromatina en profase y la del centrómero se retiene hasta anafase.<sup>3</sup>

La cromatina extendida del núcleo en interfase permite el ingreso de la maquinaria transcripcional, pero durante la mitosis cuando la cromatina tiene la mayor condensación del ciclo celular, la transcripción se inhibe. Debido a esto el nucléolo -estructura formada primordialmente por productos de la transcripción del ADN ribosomal y proteínas- desaparece y en consecuencia también la traducción se detiene.

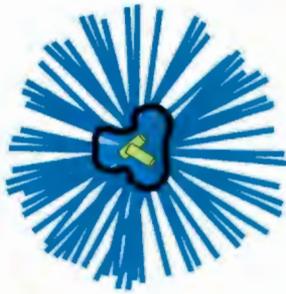


**Figura 3. Complejos de Condensina y Cohesina.** a) Condensina. Formada por cuatro subunidades de proteínas SMC 2/4 y proteínas asociadas que se encargan de cerrar o abrir el anillo que unirá longitudinalmente asas de cromatina para condensar cada una de las cromátidas hermanas. b) Cohesina. Formada por cuatro subunidades de SMC 1/3, al igual que la Condensina su formación en anillo está regulado por proteínas asociadas, identificadas como de la familia SCC; este anillo enlaza la cromatina de las dos cromátidas hermanas y las une para formar un cromosoma mitótico típico, esta unión es mas duradera entre la cromatina del centrómero que entre la cromatina a lo largo de los brazos cromosómicos.

2) Formación del huso mitótico. Los mt del citoesqueleto de interfase se desensamblan debido a modificación de proteínas asociadas a mt o MAPs, los mt se reorganizan para contribuir a la formación del huso mitótico; esta nueva organización de los mt se inicia por la escisión de una estructura duplicada en fase S del ciclo celular llamada centrosoma, cada uno de los dos centrosomas consta de dos centriolos posicionados en ángulo recto uno del otro, rodeados por una matriz proteica. Durante la profase, el primer paso para formar el huso mitótico es la aparición o nucleación de mt alrededor de los centrosomas formando una especie de estrella, integrando así los ásteres, cuyos mt tienen un extremo menos (-) asociado al centrosoma y un extremo mas (+) al cual se adicionan dímeros de tubulina a mayor velocidad. Cada áster migra a posiciones

opuestas dentro de la célula, estableciendo así los polos celulares a partir de donde se formará un huso mitótico bipolar (Figura 4). Los mt de los ásteres continúan creciendo por sus extremos + hasta que algunos de ellos, los llamados mt cinetocóricos, encuentran el cinetocoro de una de las dos cromátidas hermanas de un cromosoma, en donde quedan anclados a proteínas del cinetocoro, específicamente de la corona fibrosa con ayuda de otras proteínas como Ndc80, CENP-E-kinesina y dineína (Figura 5); los mt del polo opuesto harán contacto con la otra cromátida hermana del mismo cromosoma. Los mt que no encontraron un cinetocoro se llaman mt interpolares, continúan creciendo por su extremo + hasta que se encuentran y se superponen con los extremos + de los mt del polo contrario quedando así un huso mitótico funcional, con tres tipos de mt: los mt astrales, los mt cinetocóricos y los mt interpolares<sup>4</sup> (Figura 6).

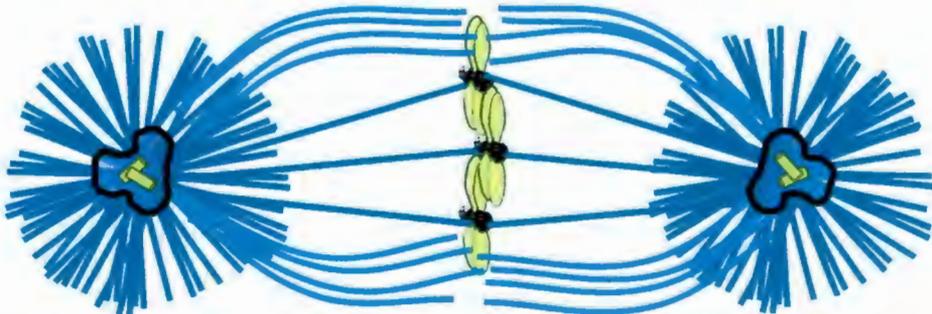
Cabe hacer notar que existen dos tipos de mitosis, las dependientes y las independientes de centrosomas, en las segundas la nucleación de los mt se origina en los cinetocoros y es muy probable que aún en las células con centrosomas funcionales, haya también nucleación de mt desde el cinetocoro de las cromátidas<sup>5</sup>.



Fase G1

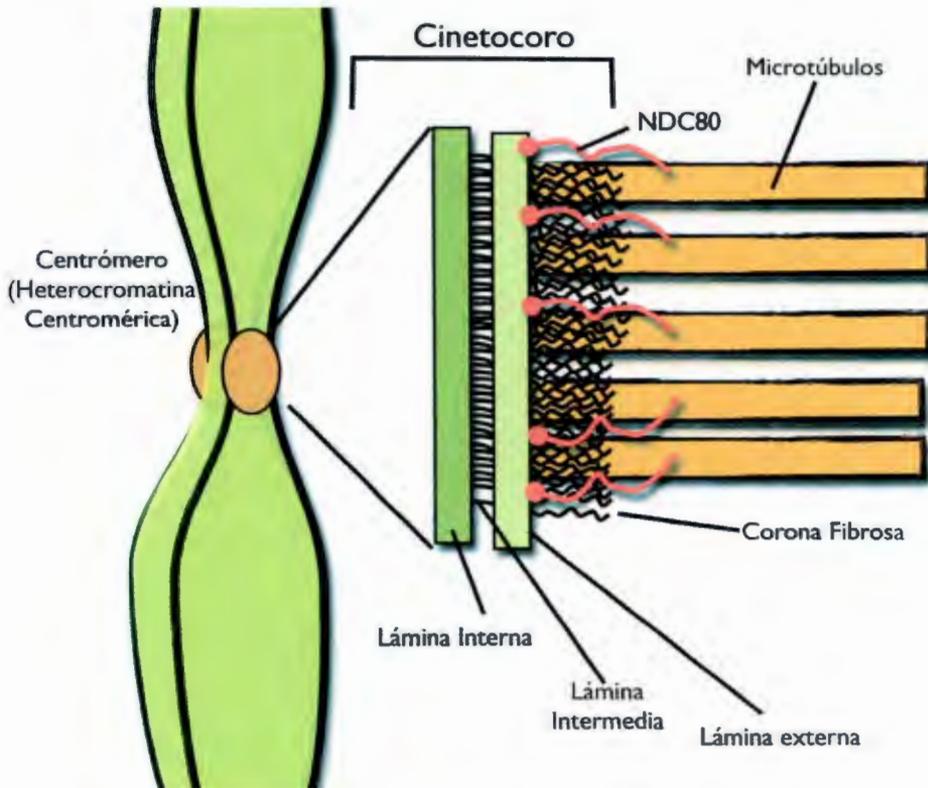


Fase S



Mitosis

**Figura 4. Papel de los centrosomas en la formación del huso mitótico.** Los centríolos que se encuentran en pares, se duplican durante la interfase, en fase S y se integran los centrosomas que durante la mitosis establecerán los polos del huso mitótico.

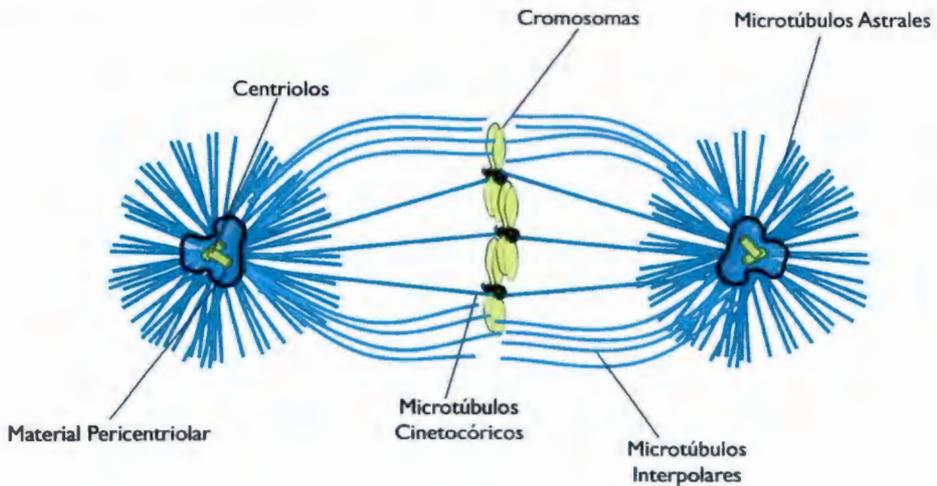


**Figura 5. Estructura del cinetocoro.** Compuesto por tres láminas proteicas, una interna, una media y una externa después de la cual se extienden proteínas fibrosas que integran la corona fibrosa. La proteína Ndc80, se encarga de mantener unidos los mt a la capa externa del cinetocoro mientras se está realizando la despolimerización de tubulina por kinesinas 13.

### 3) Desaparición de la envoltura nuclear y fragmentación del aparato de Golgi.

Para que los mt cinetocóricos interactúen con los cromosomas, la envoltura nuclear debe desaparecer, esto se realiza por fragmentación debido a la interacción del complejo Ciclina B-Cdk1 con elementos de cada uno de los tres componentes de la envoltura: a) las membranas nucleares b) los poros nucleares y c) la lámina nuclear.<sup>6</sup> Es probable que los fragmentos resultantes en forma de vesículas se dispersen a través de la célula mitótica o bien que se integren a fragmentos de retículo endoplásmico. De manera similar, el aparato de Golgi se desintegra en pequeñas vesículas cuyo destino es similar al de la envoltura nuclear, en cualquiera de los dos casos, las

vesículas independientes o bien asociadas a retículo endoplásmico, se segregarán a las células hijas y volverán a integrar sus estructuras originales dentro de ellas. El retículo endoplásmico podría no fragmentarse hasta vesículas y simplemente segregarse fragmentos de éste hacia las dos células hijas. Otros componentes membranosos como las mitocondrias, lisosomas y peroxisomas no se disgregan y simplemente se segregan de manera generalmente simétrica a las células hijas.<sup>7</sup>

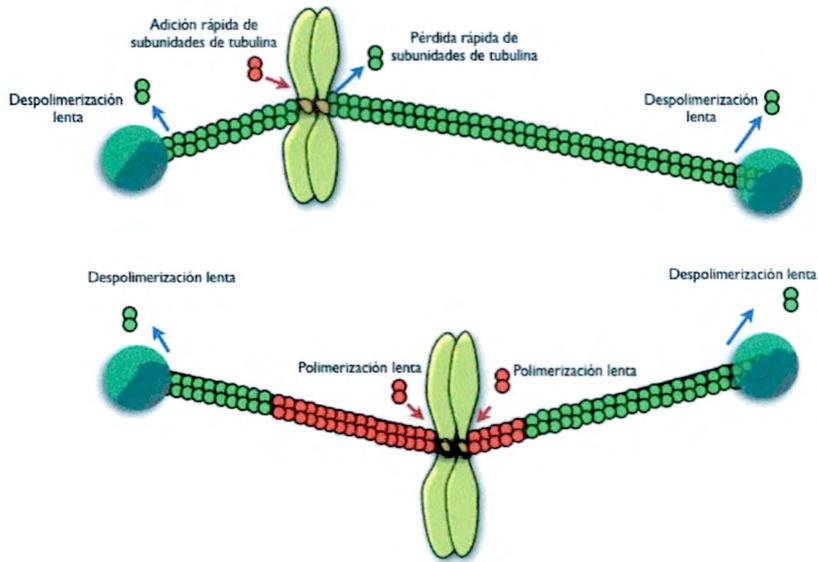


**Figura 6.** Diferentes tipos de microtúbulos en el huso mitótico en metafase. a) astrales, los cuales se encuentran rodeando a los centríolos, tienen su extremo – en la periferia del material pericentriolar y su extremo + es el que irradia hacia todas direcciones b) cinetocóricos, son los microtúbulos que se encuentran asociados por su extremo + a los cinetocoros de las cromátidas hermanas, cada una de ellas tiene un haz de microtúbulos cinetocóricos apuntando a extremos opuestos c) microtúbulos interpolares, sus extremos positivos crecen sin encontrar un cinetocoro hasta que se superponen con otro microtúbulo interpolare.

### Prometafase

Esta segunda fase se caracteriza por un movimiento activo que dirige a los cromosomas al ecuador celular. El inicio de la prometafase se reconoce por la interacción del huso mitótico con los cromosomas duplicados debido a la disolución de la envoltura nuclear, después de lo cual se inician los movimientos cromosómicos.<sup>8</sup>

Los extremos + de los mt de los asteres se mueven mediante polimerización hacia el centro de la célula buscando cromosomas en un movimiento que se piensa que es al azar y cuando hacen contacto con un cinetocoro se estabilizan; eventualmente, el cinetocoro de la otra cromátida hermana del mismo cromosoma se une también a un grupo de mt que provienen del polo opuesto; se ha propuesto también que los cinetocoros no atrapados pueden iniciar por sí mismos una nucleación de mt. De una u otra manera, los cromosomas llegan a tener sus dos cinetocoros conectados cada uno a mt que provienen de polos opuestos, en ese momento los mt jalan y empujan al cromosoma mediante polimerización-despolimerización de tubulina con la ayuda de proteínas motor tipo kinesinas y dineínas. Debido a que los dos polos atraen al mismo cromosoma a través de sus dos cinetocoros -que permanecen unidos por medio de la Cohesina- se inicia un estado en el que se empiezan a equilibrar las fuerzas de tracción de cada polo, polimerizando mas activamente el extremo + de los mt asociados al cinetocoro que se encuentra mas cercano a su polo y acortando los mt asociados al polo mas lejano (Figura 7), el acortamiento o elongación de los mt obedecen a las diferencias en las fuerzas de tensión en los cinetocoros. Con estos movimientos se alcanza la congregación, que es la reunión de todos los cromosomas en el ecuador celular, posicionados ahí por el equilibrio de las fuerzas de tracción de los polos opuestos del huso. La congregación cromosómica marca el fin de la prometafase y el inicio de la metafase.<sup>4,8</sup>



**Figura 7.** Polimerización-despolimerización de mt para formar la placa metafásica. Los cinetocoros de cada una de las dos cromátidas de los cromosomas se asocian a mt que provienen de polos opuestos del huso mitótico, generalmente en un sitio acéntrico, por lo que para llevarlos al centro del huso y formar la placa metafásica los mt mas cortos polimerizan rápidamente hasta el momento en que se alcanza un balance de longitud, cuando esto ocurre los cromosomas se encuentran en el ecuador celular y orientados de tal manera que al escindirse los centrómeros, la fuerza de tracción lleva a un set cromosómico completo hacia un polo y al otro set, al polo opuesto.

### Metafase.

La condensación cromosómica iniciada en la profase continúa, por lo que los cromosomas metafásicos se observan con una cromatina perfectamente empaquetada que le permite al material genético mantener su integridad durante el estrés mecánico de los movimientos de anafase.<sup>2</sup> En esta etapa es en la cual generalmente se realizan los estudios cromosómicos, debido a que su morfología es muy clara.

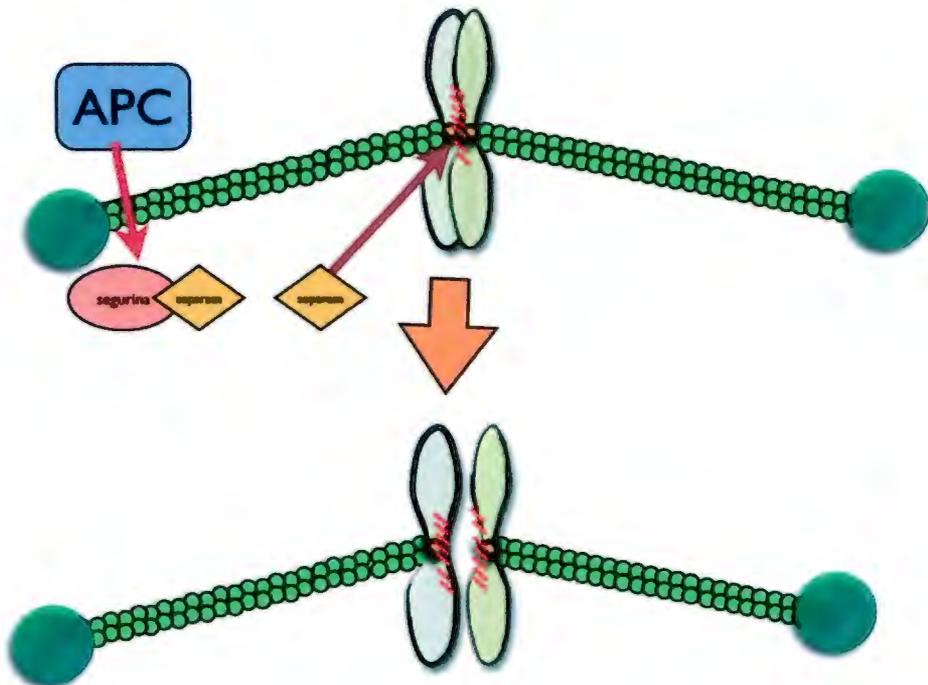
Los cromosomas, movidos por el huso mitótico se colocan en el centro, entre los dos ásteres y forman la llamada placa metafásica (Figura 2b) en la cual los cromosomas se posicionan de tal manera que los cinetocoros de cada cromátida hermana están orientados hacia los polos opuestos.<sup>2</sup> Mantener a los cromosomas en el ecuador celular implica un equilibrio entre las fuerzas de los mt que tienden a mover a los cinetocoros hacia los polos opuestos, de manera que posicionarlos en el centro implica una gran cantidad de energía. La energía de los movimientos cromosómicos proviene de la polimerización-despolimerización de los mt en los que se utiliza la conversión de GTP a GDP y de las proteínas motoras en las que se utiliza la conversión de ATP a ADP.<sup>4</sup>

En cada cinetocoro se pueden anclar entre 20-30 mt que ejercen fuerza de tracción hacia el polo del que provienen, por lo que la placa metafásica se mantiene por el equilibrio entre las fuerzas opuestas de los polos sobre los cromosomas, los cuales mantienen juntas a sus cromátidas hermanas por la Cohesina centromérica, de manera que cuando esta proteína se retira del centrómero, la metafase termina y se inicia la anafase con la migración de las cromátidas hermanas a polos opuestos.<sup>9,10</sup>

#### Anafase.

Una vez que todos los cromosomas se encuentran en el ecuador formando la placa metafásica, los centrómeros, que mantenían unidas a las cromátidas hermanas, se escinden permitiendo que cada cromátida migre hacia el polo que estaba encarando, iniciándose así la anafase que se divide en anafase A y anafase B: Los movimientos de la anafase A corren a cargo principalmente de los mt cinetocóricos que se acortan por despolimerización en ambos extremos de tubulina, con intervención de quinesinas (familia 13), esto permite jalar hacia los polos celulares a los cromosomas sencillos → a los que llamamos cromátidas hermanas cuando se encuentran unidas por el centrómero-, dividiendo el genoma replicado en dos "sets" cromosómicos diploides, con 46 cromosomas sencillos cada uno. En la Anafase B intervienen los mt interpolares que se encargan de alejar los dos sets cromosómicos mediante un incremento en la longitud del huso mitótico.<sup>2</sup>

La anafase A se inicia cuando el complejo promotor de anafase (APC) unido a CDC20 induce la escisión del centrómero, dejando libres a las cromátidas hermanas para que cada una migre hacia polos opuestos. El mecanismo de acción de APC-CDC20 es ubiquitinar una proteína llamada segurina,<sup>12</sup> esto la envía a destrucción por el proteasoma y con la destrucción de la Segurina, queda libre una proteína llamada Separasa que es una proteasa que actúa sobre la Cohesina, el complejo que mantiene unidas a las cromátidas hermanas. En el momento en el que la Cohesina se retira del centrómero, existe un cambio de tensión sobre los cinetocoros, lo cual activa una despolimerización de tubulina en ambos extremos + y - de los mt cinetocóricos, al acortarse jalan a los cromosomas unidos a ellos hacia los centrosomas ubicados en los polos celulares.<sup>12,13</sup> Figura 2c y 8



**Figura 8. Anafase A.** Durante la anafase A, el complejo APC envía para su destrucción a la segurina, que a su vez libera a la proteína Separasa. La Separasa actúa sobre la Cohesina que mantiene unidas las dos cromátidas por el centrómero, en el cromosoma en metafase colocado en el ecuador celular. Liberar a la

Cohesina implica la separación de las cromátidas que ceden a las fuerzas de los mt cinetocóricos los cuales por despolimerización de ambos extremos, jalan a los cromosomas hacia los polos.

Durante la anafase B los dos grupos de cromosomas ya colocados en los polos son alejados uno de otro por la intervención de los mt polares, los cuales despolimerizan dímeros de tubulina en sus extremos - y polimerizan activamente en sus polos positivos dirigidos al centro celular; estos microtubulos crecen tanto que los extremos se cruzan y continúan creciendo en direcciones opuestas. Gracias a la intervención de proteínas motoras, asociadas a mt, los segmentos superpuestos de los mt polares comienzan un proceso de deslizamiento "en reversa" hacia los polos, que hace que el huso mitótico en total se haga muy largo y separe de esta manera a los dos "sets" cromosómicos, que habían arribado a los polos en anafase A.<sup>2,12</sup>

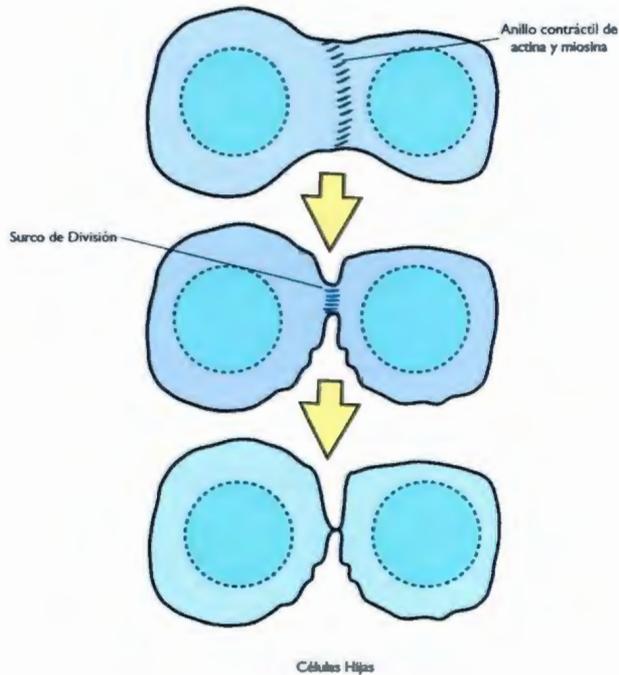
Telofase.

En la telofase, los mt cinetocóricos desaparecen y los cromosomas quedan libres en ambos extremos celulares. En ese momento, los cromosomas comienzan a descondensarse y la envoltura nuclear se reintegra. Durante la telofase tardía los cromosomas empiezan a transcribir y se restablece el nucleolo, marcando el término de la mitosis<sup>2</sup> (Figura 2d).

Citocinesis

Es la última etapa de la división celular, en ella el citoplasma se divide para dar lugar a dos células hijas completamente independientes (Figura 9). Sin embargo, la citocinesis empieza desde la anafase, cuando se forma, inmediatamente por debajo de la membrana plasmática a nivel del ecuador celular, un cinturón de proteínas filamentosas, principalmente actina y miosina que se contraen y dan lugar a un surco de división (Figura 9). El surco de división se va haciendo progresivamente más profundo, hasta que la cintura que se forma llega a tocar los mt que todavía quedan remanentes del huso mitótico; todo este conjunto de proteínas se conoce como cuerpo

medio. Finalmente la célula se estrangula dando lugar a dos células hijas.<sup>14</sup>



**Figura 9. Establecimiento del surco de división con la intervención de las proteínas actina y miosina II.**

La asociación de actina-miosina se inicia inmediatamente por debajo de la membrana plasmática y en dirección perpendicular al centro del huso mitótico

Durante la citocinesis este anillo contráctil va estrangulando la célula que ya contiene dos núcleos hijos, por en medio de éstos hasta que queda sólo un cuerpo medio formado por microtúbulos remanentes del huso mitótico y lo último del anillo de acto-miosina. Finalmente se separan las dos células hijas.

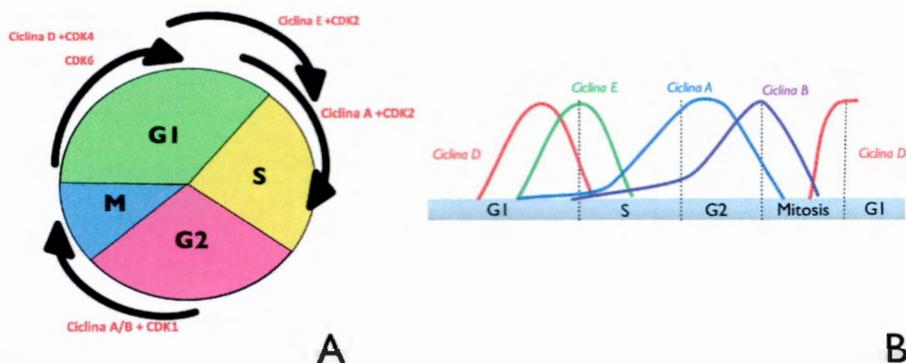
## REGULACIÓN MOLECULAR DE LA MITOSIS

**El ciclo celular se regula gracias a un patrón de Ciclinas y Cinasas dependientes de Ciclinas (CDKs).**

Como ya se mencionó, el ciclo celular puede ser dividido para su estudio en 2 etapas: la interfase, integrada por las fases G1, S y G2, y la fase M, durante la cual se presenta la segregación cromosómica y la citocinesis.

Para que una célula avance a lo largo de las fases del ciclo celular y finalmente pueda segregarse su material genético se requiere de una regulación muy fina que se caracteriza por la actividad de las CDKs (Cinasas dependientes de Ciclina), las cuales actúan como Cinasas de otras proteínas reguladoras del ciclo celular, y marcan de este modo la progresión de una fase del ciclo a otra. Estas Cinasas alcanzan su forma activa en un complejo heterodimérico con una Ciclina reguladora. La expresión de las Ciclinas es un factor limitante para la activación de las CDKs. En general los niveles de Ciclinas están determinados por control transcripcional y su proteólisis a través del sistema de ubiquitina-proteosoma.<sup>15,16</sup>

La expresión de la Ciclina D1 es necesaria durante la fase G1 para estimular la entrada de las células al ciclo celular y sus niveles se mantienen altos mientras haya agentes mitogénicos. La Ciclina E se requiere en fase G1 después de la intervención de la Ciclina D1 y alcanza su pico de expresión en la transición G1/S, lo que la vuelve necesaria para la entrada a la fase de síntesis. La Ciclina A se requiere para el inicio de S y la transición de G2/M, mientras que la Ciclina B regula la entrada y salida de mitosis (Figura 10).<sup>15,16</sup>



**Figura 10.** Patrón de actividad de las CDKS y las Ciclinas a lo largo del ciclo celular.

### El punto de monitoreo de G2 regula la entrada a mitosis.

Después de la síntesis del DNA y para reducir la acumulación de errores genéticos, las células monitorean que el DNA haya sido replicado correctamente, si detecta algún error, el ciclo celular se detiene y si no detecta errores la célula progresará hacia mitosis. A este punto de control se le conoce como el punto de monitoreo de G2 (o G2/M).

Cuando existe daño en el DNA, se activan las Cinasas ATM (Mutado en Ataxia Telangiectasia) y ATR (Relacionado con ATM y Rad3), la primera detecta rompimientos de cadena doble; mientras que la segunda detecta rompimientos de cadena sencilla.<sup>17</sup> Las Cinasas ATM/ATR propagan la señal de alerta, apoyadas por las proteínas mediadoras del punto de monitoreo que incluyen a MDC1 (Mediador 1 del Checkpoint de daño al DNA; también conocido como NFB1), 53BP1 (Proteína 1 de Unión a p53) y BRCA (Proteína de Cáncer de mama); se requiere además de las Cinasas transductoras CHK1 y CHK2.<sup>18,19,20,21</sup> ATM/ATR fosforilan la histona H2AX ( $\gamma$ -H2AX) y esto marca la región de la cromatina que flanquea cada rompimiento,  $\gamma$ -H2AX permite el agrupamiento de las proteínas reparadoras en el sitio del daño; los mediadores 53BP1, MDC1 y BRCA funcionan como un puente molecular entre la histona  $\gamma$ -H2AX y las proteínas del complejo reparador MRN (MRE11, RAD50, NBS1). El complejo MRN, ya en el sitio del daño, lleva a cabo la

reparación del rompimiento de doble cadena de la hebra del DNA mediante recombinación homóloga.<sup>17,18</sup>

Las células evitan que se llegue a la mitosis con daño cromosómico, de manera que mientras se lleva a cabo la reparación del DNA, el punto de monitoreo de G2 bloquea la actividad del factor promotor de la mitosis (MPF), compuesto por la Ciclina B y la CDK1. La actividad del MPF puede ser inhibida por la señalización a través de ATM/ATR, mediante dos actividades principales:

1. Las Cinasas de la familia de p38 pueden inhibir a las fosfatasa CDC25, estas últimas activan al complejo MPF en el límite de las fases G2/M, por lo que al ser inhibidas no se entra a mitosis.
2. Las Cinasas CHK1/CHK2 pueden activar a WEE1, el cual es un regulador negativo del complejo MPF, o bien activar secuencialmente a p53 y a GADD45, un secuestrador de Ciclina B. De este modo se evita que Ciclina B entre al núcleo y no se forma el complejo MPF.<sup>15,22</sup>

### **La transición G2/M (entrada a mitosis)**

La progresión de la fase G2 hacia M se debe a la activación del complejo MPF, cuya actividad se mantiene desde la profase y hasta la metafase. El complejo MPF fosforila aproximadamente 70 sustratos mitóticos, que actúan en la separación de los centrosomas, la fosforilación y activación de enzimas reguladoras de la condensación de la cromatina, fosforilación de la histona H1, ruptura de membrana nuclear, y la reorganización del citoesqueleto de mt y de actina para llevar a cabo la mitosis.<sup>23,24</sup>

La actividad del complejo MPF se regula a dos niveles, el primero es transcripcional por la proteína p53, quien mantiene la transcripción y por lo tanto la presencia de CDK1 estable durante todo el ciclo celular y la de Ciclina B desde finales de fase S. El segundo nivel de regulación de la actividad de MPF es por modificación postraducciona, específicamente por fosforilación tanto inhibitoria como activadora; en fase G2 se realizan fosforilaciones inhibitorias sobre la CDK1 por las Cinasas

MYT y WEE1, y posteriormente la fosfatasa CDC25 libera de la inhibición a CDK1,<sup>15,25</sup> esto junto con una fosforilación activadora sobre la misma CDK1, realizada por CAK (Cinasa activadora de CDK, un heterodímero de Ciclina H y CDK7), conduce a la célula a entrar a mitosis. La actividad promotora de mitosis de CDK1 puede ser directamente inhibida por el gen supresor de tumor p21 (Cip1/Waf1). En relación a la Ciclina B, se requiere de una fosforilación para cambiar su localización subcelular de citoplasma a núcleo en las etapas tempranas de la mitosis. La salida de metafase se caracteriza por la caída crítica de los niveles del complejo MPF debido a su destrucción.<sup>15,22</sup>

Cuando la célula ha pasado el punto de monitoreo de fase G2, sus cromosomas duplicados inician el proceso de condensación gracias a los complejos de Condensina I y II que funcionan empaquetando la cromatina del estado interfásico a cromosoma mitótico, para que pueda ser segregada apropiadamente entre las células hijas.<sup>26,28</sup> En el complejo Condensina I se encuentran proteínas ATPasas SMC (Structural maintenance of chromosome), como SMC2/CAP-E y SMC4/CAP-C, y proteínas no SMC, como CAP-G y CAP-H<sup>30,31</sup> el complejo Condensina II consiste de las subunidades SMC2 y SMC4 y las proteínas hCAP-D3, hCAP- G2 y hCAP-H2.<sup>32,33</sup> Al parecer el complejo I funciona en prometafase y el complejo II en profase temprana.<sup>31</sup> Durante el empaquetamiento las cromátidas hermanas se mantienen unidas gracias a las Cohesinas, que se cargan en los cromosomas en la fases G1 tardía/S temprana y se mantienen hasta que se alcanza la biorientación de las cromátidas en metafase.<sup>29</sup>

El proceso de condensación de los cromosomas y la entrada a mitosis pueden revertirse en presencia de estrés o condiciones no óptimas para la división celular, gracias a la activación de las proteínas del punto de monitoreo de antefase.<sup>32,38</sup> Las proteínas involucradas en dicho proceso comienzan apenas a ser descritas, pero CHFR (Checkpoint with FHA and RING domains) y la Cinasa p38, son ya consideradas parte esencial del proceso. CHFR es una ligasa de ubiquitinas que se acumula en respuesta a microtúbulos dañados y tiene entre sus blancos a proteínas importantes para la progresión mitótica como Aurora A y PLK1, las cuales son marcadas para su destrucción por medio del sistema Ubiquitina-Proteosoma, de este modo se retrasa la progresión mitótica.<sup>35,36</sup> Por otra parte, la Cinasa p38, que se activa en caso de daño por radiación UV o

alteración de la estructura de la cromatina evita la entrada a mitosis. Se ha especulado que el blanco inhibitorio del punto de monitoreo de la Antefase es el complejo de Condensina II.<sup>34,37</sup>

### **El punto de monitoreo de Metafase**

Entre los puntos de monitoreo especializados en arrestar la progresión mitótica, el más estudiado y quizá el principal es el conocido como SAC (Spindle Assembly Checkpoint) o punto de monitoreo mitótico. El SAC se activa en cada ciclo celular inmediatamente después de la entrada a mitosis y funciona retrasando la entrada a anafase hasta que todos los cromosomas están correctamente anclados en la placa metafásica, biorientados y con la adecuada tensión.<sup>43</sup>

Cuando el alineamiento de los cromosomas satisface al SAC se procede a la segregación de los cromosomas. Este proceso inicia cuando el cofactor proteico CDC20 se une y activa al Complejo Promotor de la Anafase/Ciclosoma (APC/C), con función de ligasa de ubiquitinas. Cuando el APC/C se activa transfiere tres ubiquitinas a la Ciclina B1 y a la proteína Segurina, marcándolas de este modo para su degradación vía proteosoma 26S. La Segurina es importante por que se encarga de mantener secuestrada a la proteasa conocida como Separasa; cuando la Separasa es liberada, gracias a la degradación de la Segurina, se lleva a cabo la degradación de la Cohesina que mantiene unidas a la cromátidas hermanas. La degradación de la Cohesina permite la segregación cromosómica, mientras que la degradación de la Ciclina B1 tiene como resultado la inactivación de la CDK1, gracias a esto se consigue salir de mitosis.<sup>38,39</sup>

Cuando el alineamiento de los cromosomas no satisface al SAC, la señal proveniente de cinetocoros no anclados induce el reclutamiento de proteínas del punto de monitoreo tales como MAD2 (Deficiente en el Arresto Mitótico), BUB3 (Gemación no inhibida por Benzimidazol) y BUBR1 (Relacionado con BUB). Esta señal conduce a la formación de dos complejos independientes, uno compuesto por BUB3/BUBR1 y el otro por C-MAD2/CDC20. La unión de estos dos complejos dará lugar al MCC (Complejo del Checkpoint Mitótico), en el cual ya ha quedado secuestrado CDC20, y se inhibe la activación del complejo APC/C. De este modo la Segurina no será marcada para su degradación, la Separasa no se liberará y los cromosomas no segregarán hasta que los

requerimientos del SAC se satisfagan.<sup>39,40,41</sup>

A pesar del grado de especialización del SAC, éste no es capaz de reconocer las uniones erróneas entre el cinetocoro y los microtúbulos, conocidas como uniones merótlicas, sin embargo estas ultima pueden repararse gracias a la actividad del complejo CPC (Chromosome Passenger Complex). El complejo CPC se encuentra formado por las proteínas SUR (Survivina), BOR (Borealina), INCENP (Proteína Centromérica) y AurB (Aurora Cinasa B) y hasta ahora es el mejor candidato a complejo sensor de tensión de las uniones al cinetocoro. La actividad de AurB es primordial porque se cree que detecta y desestabiliza las uniones erróneas entre los mt y los cinetocoros, tales como uniones sintéticas y merótlicas, de este modo genera cinetocoros no anclados que son detectados por el SAC y se conduce al arresto de la mitosis. Al llegar a anafase, la AurB se remueve de la región centromérica. Se sabe que durante la prometafase, CDC20 y todas las proteínas del SAC se concentran en los cinetocoros, gracias al reclutamiento llevado a cabo por las Cinasas BUB1, MPS1 y AurB, pero se activan ante las señales de cinetocoros no anclados.<sup>38,40,41,42</sup>

Varios mecanismos han sido propuestos como mediadores del silenciamiento del SAC. El primero consistiría en retirar por medio de la Dineína a las proteínas del SAC en los mt correctamente anclados; el segundo mecanismo de silenciamiento ocurriría cuando la proteína CENP-E se una a los mt e inhiba la actividad Cinasa de BUBR1; un tercer proceso de silenciamiento seria mediado por la unión inhibitoria de p31-COMET a MAD2-CDC20; e incluso la degradación de los componentes del SAC por el sistema de ubiquitina-proteosoma mediada por el complejo APC/C.<sup>43,44,45,46</sup>

La progresión a través de la mitosis no solo se encuentra regulada por los puntos de monitoreo, sino que también está íntimamente relacionada con la actividad del APC/C, que en la mitosis tardía se asocia con CDH1 y permanece activo a través de la fase G1 siguiente. APC/C-CDC20 degrada a la Ciclina B y a la Cohesina cuando todos los cromosomas han hecho contacto con el huso

bipolar y se mueven a través de la placa metafísica, lo que conduce a la separación de las cromátidas hermanas. Por su parte, el complejo APC/CDH1, marca para degradación a las Cinasas tipo polo 1 (PLK1), Aurora A, Survivina, NEK2, CDC20 y SKP2 durante anafase y durante la fase G1 siguiente. Los niveles de CDH1 permanecen relativamente constantes durante todo el ciclo celular y su actividad es regulada principalmente a través de las fosforilaciones dependientes del ciclo celular. La fosforilación de CDH1 por las CDKs durante S, G2 y M temprana inhibe su unión a APC/C. Mientras que su desfosforilación en la fase M tardía permite su unión a APC/C y la activación del complejo<sup>15</sup> (Ver figura 8).

### **Regulación de la Citocinesis**

La citocinesis no debe ocurrir hasta que la separación de los cromosomas se ha completado. En general se ha considerado que la ejecución apropiada de la citocinesis recae en la organización estructural celular y no en moléculas difusibles, sin embargo, estudios recientes han encontrado que deficiencias en la cinasa CHK1 puede tener como consecuencia errores en la segregación cromosómica, regresión de la citocinesis y binucleación. Asimismo, esta deficiencia correlaciona con una localización errónea de las proteínas AurB y CHK1, las cuales se acumulan en el surco de segmentación para facilitar la producción de dos células hijas. Esto pone de manifiesto que las proteínas que regulan los puntos de monitoreo del ciclo celular también pueden tener funciones importantes durante la segregación cromosómica y la citocinesis.<sup>47</sup>

### **Modificaciones covalentes de las histonas durante la mitosis**

Las histonas son un grupo de proteínas conservadas que tienen un papel crítico en el empaquetamiento del DNA de las células eucariotes. Hay cuatro tipos de histonas nucleosomales, H2A, H2B, H3 y H4, y la histona H1, de unión al DNA espaciador. Las histonas poseen funciones regulatorias, que se llevan a cabo gracias a las modificaciones covalentes que pueden ocurrir en los residuos de aminoácidos de sus colas. Se han descrito muchos tipos de modificaciones en las histonas, las cuales incluyen fosforilación, acetilación, metilación, ubiquitinación y sumoilación. Las diferentes combinaciones de modificaciones histónicas han sido propuestas como un código que

identifica diferentes estados funcionales de la cromatina, estos códigos poseen un papel relevante en la regulación epigenética de la expresión de los genes. Estas modificaciones también son relevantes para el proceso mitótico.<sup>48,49</sup>

La fosforilación de H3S10 (Serina 10 de la Histona 3) y H3S28 (Serina 28 de la Histona 3) se requiere para la condensación de los cromosomas y su segregación. La metilación de H3K9 (Lisina 9 de la Histona 3) promueve la formación de heterocromatina e inhibe la fosforilación de H3S10 y viceversa, lo cual indica una interacción entre estas dos modificaciones. La fosforilación de H3S10 evita la unión de la proteína HP1 (proteína formadora de heterocromatina), la cual se disocia de la cromatina durante la mitosis; cuando ocurre la desfosforilación de H3S10 la proteína HP1 puede unirse a cromatina.<sup>49,50,51</sup>

La ubiquitinación de la histona H2A al parecer inhibe la actividad de la Aurora A en etapas que no sean la mitosis, mientras que su desubiquitinación se requiere para que la H3S10 se fosforile y ocurra la segregación cromosómica. Se ha observado que durante la división celular la acetilación y la metilación de histonas son eventos antagónicos, con disminución de la acetilación e incremento de la metilación durante el proceso.<sup>52</sup>

**REFERENCIAS**

1. Salaün P, Rannou Y y Prigent C. Cdk1, PLKs, Auroras, and NEKs: the mitotic bodyguards. *Adv Exp Med Biol* 2008; 617: 41–56.
2. Walczak CE, Cai S y Khodjakov A. Mechanisms of chromosome behaviour during mitosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11: 91-102.
3. Hirano T. At the heart of the chromosome: SMC proteins in action. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7: 311-322.
4. Sharp DJ, Rogers GC y Scholey JM. Microtubule motors in mitosis. *Nature* 2000; 407: 41-47.
5. Oegema K y Hyman AA Cell division(January19, 2006), WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.72.1,http://www.wormbook.org.
6. Güttinger S, Laurell E y Kutay U. Orchestrating nuclear envelope disassembly and reassembly during mitosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10: 178-191.
7. Pecot MY y Malhotra V. Golgi membranes remain segregated from the endoplasmic reticulum during mitosis in mammalian cells. *Cell* 2004; 116:99–107.
8. Wittmann T, Hyman A y Desai A. The spindle: a dynamic assembly of
9. microtubules and Motors. *Nat Cell Biol* 2001; 3:28-34.
  
10. Lampert F y Westermann S. A blueprint for kinetochores — new insights into the molecular mechanics of cell division *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12:407-412.
  
11. Akiyoshi B, Sarangapani KK, Powers AF, Nelson CR, Reichow SL, Arellano-Santoyo H, Gonen T y cols. Tension directly stabilizes reconstituted kinetochore-microtubule attachments *Nature* 2010; 468: 576-581.
  
12. Acquaviva C y Pines J. The anaphase- promoting complex/cyclosome:
13. APC/C. 2006. *Journal of Cell Science* 2006; 119: 2401-4.
14. Sullivan M y Morgan DO. Finishing mitosis, one step at a time. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 894-903.
15. Pines J. Mitosis: a matter of getting rid of the right protein at the right time. *Trends Cell Biol* 2006; 16: 55-63.
16. Norden C, Mendoza M, Dobbelaere J y cols. The NoCut Pathway Links Completion of Cytokinesis to Spindle Midzone Function to Prevent Chromosome Breakage. 2006 *Cell* 125: 85–98.
17. van den Heuvel, S. Cell-cycle regulation (September 21, 2005), WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.28.1, http://www.wormbook.org.

18. Malumbres M y Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 153- 166.
19. Brnzei D y Foiani M. Regulation of DNA repair throughout the cell cycle *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 3: 297- 308.
20. Reinhardt HC y Yaffe MB. Kinases that control the cell cycle in response to DNA damage: Chk1, Chk2, and MK2. *Curr Opin Cell Biol* 2009; 21:245–255.
21. Kitagawa R, Bakkenist CJ, McKinnon PJ y cols. Phosphorylation of SMC1 is a critical downstream event in the ATM–NBS1–BRCA1 pathway. *Genes Dev* 2004; 18: 1423–38.
22. Shibata A, Barton A, Non AT y cols. Role of ATM and the Damage Response Mediator Proteins 53BP1 and MDC1 in the Maintenance of G2/M Checkpoint Arrest. *Mol Cell Biol* 2010; 30: 3371–83.
23. Stucki M y Jackson SP. MDC1/NFBD1: a key regulator of the DNA damage response in higher eukaryotes. *DNA Repair (Amst)* 2004; 3: 953–7.
24. Kastan MN y Bartek J. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature* 2004; 432:316-23.
25. Nigg EA. Mitotic kinases as regulators of cell división and its checkpoints. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2:21-32.
26. Löbrich M y Jeggo P. The impact of a negligent G2/M checkpoint on genomic instability and cancer induction *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 861- 869.
27. Malumbres, M. et al. Mammalian cyclin-dependent kinases. *Trends Biochem. Sci.*, 2005; 30, 630–41.
28. Belmont AS. Mitotic chromosome structure and condensation. *Curr Opin Cell Biol* 2006; 18:632–8.
29. Hirano T. Condensin: organizing and segregating the genome. *Curr Biol* 2005; 15:265–75.
30. Hirota T, Gerlich D, Koch B y cols. Distinct functions of condensin I and II in mitotic chromosome assembly. *J Cell Sci* 2004;117:6435–45.
31. Chin FC y Yeong MF. Safeguarding entry into Mitosis: the Antephase Checkpoint. *Mol Cell Biol* 2010; 30: 22–32.

32. Hagstrom KA y Meyer BJ. Condensin and cohesin: more than chromosome compactor and glue. *Nat Rev Genet* 2003; 4:520–34.
33. Hirano T. At the heart of the chromosome: SMC proteins in action *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7: 311- 322.
34. Ono T, Fang Y, Spector DL y cols. Spatial and temporal regulation of condensins I and II in mitotic chromosome assembly in human cells. *Mol Biol Cell* 2004;15:3296–308.
35. Yeong FM, Hombauer H, Wendt KS y cols. Identification of a subunit of a novel Kleisin-beta/SMC complex as a potential substrate of protein phosphatase 2A. *Curr Biol* 2003;13: 2058–64.
36. Mikhailov A, Shinohara M y Rieder CL. The p38-mediated stress-activated checkpoint. A rapid response system for delaying progression through antephasis and entry into mitosis. *Cell Cycle* 2005; 4:57–62.
37. Kang D, Chen J, Wong J y cols. The checkpoint protein CHFR is a ligase that ubiquitinates PLK1 and inhibits CDC2 at the G2 to M transition. *J Cell Biol* 2002;156:249–259.
38. Kim JS, Park YY, Park SY and cols. The Auto-ubiquitylation of Chfr at G2 Phase Is Required for Accumulation of Plk1 and Mitotic Entry in Mammalian Cells. *J Biol Chem* 2011; 15: [Epub ahead of print]
39. Mikhailov A, Shinohara M y Rieder CL. Topoisomerase II and histone deacetylase inhibitors delay the G2/M transition by triggering the p38 MAPK checkpoint pathway. *J Cell Biol* 2004;166:517–26.
40. Musacchio A y Salmon ED. The spindle-assembly checkpoint in space and time. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 379-93.
41. Pines J y Rieder CL. Re-staging mitosis: a contemporary view of mitotic progression. *Nat Cell Biol* 2001; 3:3-6.
42. Pérez de Castro I, de Cárcer G y Malumbres M. A census of mitotic cancer genes: new insights into tumor cell biology and cancer therapy. *Carcinogenesis* 2007; 28:899-912.
43. Ditchfield C, Johnson VL, Tighe A y cols. Aurora B couples chromosome alignment with anaphase by targeting BubR1, Mad2, and Cenp-E to kinetochores. *J Cell Biol* 2003;

161:267-80.

44. Kops GJ, Weaver BA y Cleveland DW. On the road to cancer: aneuploidy and the mitotic checkpoint. *Nat Rev Cancer* 2005; 5:773-85.
45. Howell BJ, McEwen BF, Canman JC y cols. Cytoplasmic dynein/ dynactin drives kinetochore protein transport to the spindle poles and has a role in mitotic spindle checkpoint inactivation. *J Cell Biol* 2001; 155: 1159-72.
46. Mao Y, Desai A y Cleveland DW. Microtubule capture by CENP-E silences BubR1-dependent mitotic checkpoint signaling. *J Cell Biol* 2005; 170:873-80.
47. Xia G, Luo X, Habu T y cols. Conformation-specific binding of p31(comet) antagonizes the function of Mad2 in the spindle checkpoint. *EMBO J* 2004; 23: 3133-43.
48. Palframan WJ, Meehl JB, Jaspersen SL y cols. Anaphase inactivation of the spindle checkpoint. *Science* 2006; 313: 680-684.
49. Peddibhotla S y Rosen J. Chking and executing cell division to prevent genomic instability. *Cell Cycle* 2009 8:15, 2339-42.
50. Luger K y Richmond TJ. The histone tails of the nucleosome. *Curr Opin Genet Dev* 1998; 8:140-6.
51. Xu D, Bai J, Duan Q y cols. Covalent modifications of histones during mitosis and meiosis. *Cell Cycle* 2009; 8:3688-94.
52. Eissenberg JC y Elgin SC. The HP1 protein family: getting a grip on chromatin. *Curr Opin Genet Dev* 2000; 10:204-10.
53. Fischle W, Tseng BS, Dormann HL y cols. Regulation of HP1- chromatin binding by histone H3 methylation and phosphorylation. *Nature* 2005; 438:1116-22.
54. Joo HY, Zhai L, Yang C y cols. Regulation of cell cycle progression and gene expression by H2A deubiquitination. *Nature* 2007; 449:1068-72.