

AVANCES RECIENTES EN EL ESTUDIO DEL CICLO CELULAR EN PLANTAS*

Sara Margarita Garza Aguilar¹, Víctor Allan Sánchez Camargo¹,
Silvia Karina Godínez Palma¹ y Aurora Lara Núñez²

¹Departamento de Bioquímica ²Departamento de Bioquímica de plantas.
Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito de la Investigación. Edificio E, Facultad de
Química. Ciudad Universitaria. Col. Copilco el Alto. C.P. 04510. México D.F. México. Correo E: auroraln@unam.mx

RESUMEN

El ciclo celular, cuyo fin es la generación de células genéticamente idénticas, comprende 4 fases: G1, S, G2 y M. Durante este proceso se presentan tres puntos principales de control que se llevan a cabo en las transiciones G1/S, G2/M y en la mitosis (metafase/anafase). En estos puntos cruciales participan un conjunto de proteínas que controlan la progresión correcta del ciclo celular. Entre ellas, se encuentran varios tipos de reguladores, por ejemplo en plantas las ciclinas tipo D (CYCD) que son las que perciben las condiciones externas e internas de la célula y son muy sensibles a fitohormonas y nutrientes. También existen las cinasas dependientes de ciclinas (CDKs) y sus respectivos inhibidores como, las proteínas KRPs. Otro tipo de proteínas son los factores transcripcionales E2F, la familia de las RBRs y la proteína PCNA, entre otras. Las plantas se distinguen por codificar en su genoma un mayor número de integrantes de cada una de estas familias de proteínas, en comparación con los mamíferos.

ABSTRACT

The cell cycle consists of four phases: G1, S, G2 and M, and has the purpose of generating genetically identical daughter cells. There are three major control points during the cell cycle, between G1/S, G2/M and in mitosis (metaphase/anaphase). On these checkpoints, protein families participate controlling the correct cell cycle progression. These include cyclins (CYC) of various types, being CYCDs the sensors of environmental and internal conditions of the cell (i.e., phytohormones and nutrient status), cyclin-dependent kinases (CDKs) and their inhibitors like KRP proteins, the E2F transcription factor group, the RBR family of proteins and PCNA, among others. Plant genomes encode larger cell cycle protein families than those found in mammals.

INTRODUCCIÓN

El ciclo celular es una serie de eventos moleculares secuenciales y unidireccionales cuya función es la duplicación del ácido desoxirribonucleico (ADN) para generar dos células hijas, cada una con una copia idéntica de material genético. Los pasos secuenciales que comprende el ciclo celular son cuatro: una fase en la que la célula se asegura de que existen las condiciones idóneas para poder dividirse, denominada Gap1 (G1); una fase de repli-

cación de ADN nuclear, Fase S (S); otra fase donde se verifica que la duplicación de ADN se realizó de manera completa y sin errores, denominada Gap2 (G2); y finalmente, una fase de segregación de las cromátidas (Fase M o mitosis) (Fig. 1). La mitosis, a su vez, se lleva a cabo en cuatro fases: profase, metafase, anafase y telofase/citocinesis. Durante la profase ocurre la ruptura de la membrana nuclear y la condensación de cromatina para formar los cromosomas (cromátidas hermanas unidas por el centrómero). En la metafase, los cromosomas se

PALABRAS

CLAVE:

Ciclo celular,
Ciclinas, CDK,
E2F, RBR,
Fitohormonas.

KEY WORDS:

Cell cycle,
Cyclins, CDK,
E2F, RBR,
Phytohormones.

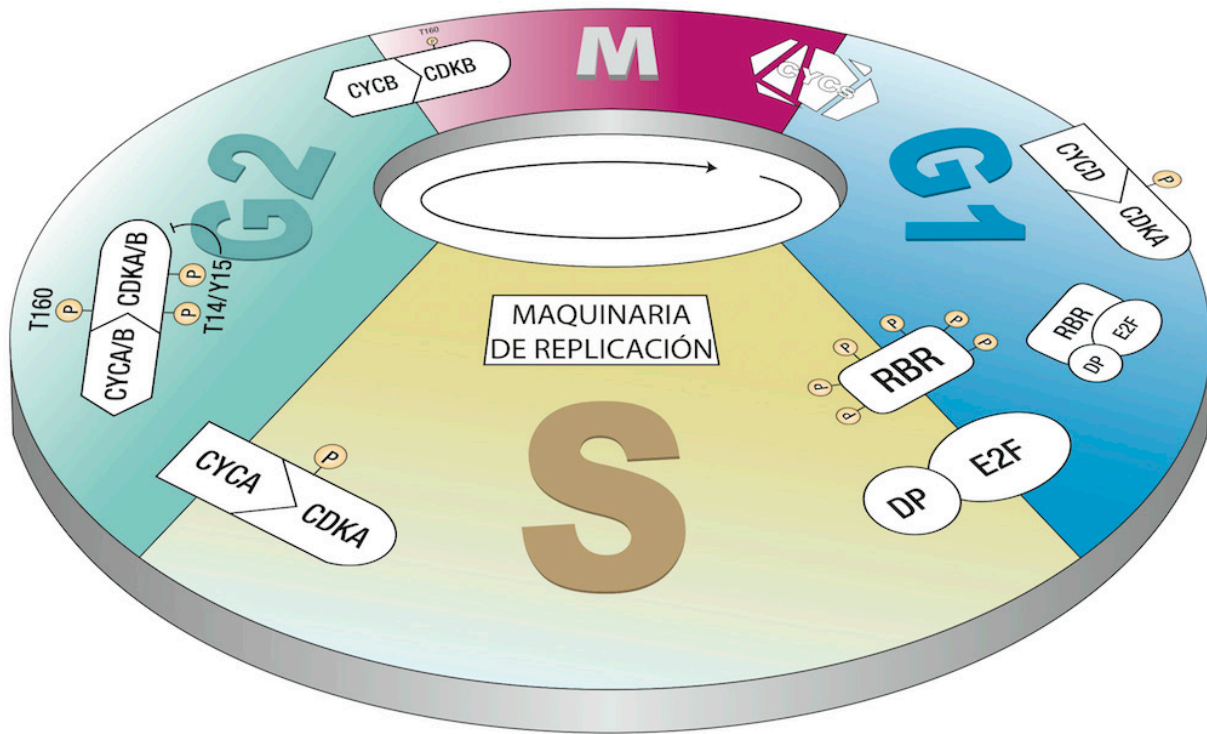


Figura 1. Esquema general de las fases del ciclo celular y principales componentes que participan en cada una de ellas. Los complejos CYCD/CDKA fosforilan a la proteína RBR en la transición G1/S, liberando al factor transcripcional E2F/DP, lo que a su vez permite la transcripción de un conjunto de actores encargados de conducir la progresión del ciclo celular. En S así como en G2 se establecen diversos complejos de CYCA/B con CDKA/B, mientras que en M sólo se han observado complejos CYCB/CDKB. Para que el ciclo funcione correctamente las ciclinas son degradadas y sintetizadas de novo al iniciar un nuevo ciclo.

localizan en el plano ecuatorial de la célula mediante el huso mitótico. En la anafase las cromátidas hermanas se separan y migran hacia los polos opuestos de la célula. Finalmente, en la telofase, las dos nuevas envolturas nucleares rodean a cada juego de los cromosomas separados, éstos se descondensan y expanden en el nuevo núcleo generando dos células hijas mediante un proceso denominado citocinesis.

A lo largo del ciclo celular existen diversos puntos de control, los principales se presentan en las transiciones G1/S, G2/M y en la metafase/anafase de la mitosis. Durante la fase G1 la célula percibe las condiciones externas e internas (fitohormonas y nutrientes) activando mecanismos de señalización. Éstos desencadenan respuestas bioquímicas que marcan el inicio del ciclo celular. En la fase G2, la célula se asegura de que la replicación de ADN ha sido correcta, activándose la reparación de ser necesario, para poder continuar con la mitosis. Durante la mitosis, en la transición de metafase a anafase, la célula verifica que todos los cromosomas estén unidos correctamente a los microtúbulos del huso mitótico y estén alineados en el plano ecuatorial de la célula, para que posteriormente se lleve a

cabo la separación de las cromátidas hermanas y la formación de dos células genéticamente idénticas (1).

Entre eucariontes se conservan, de forma general, los mismos mecanismos moleculares de regulación del ciclo celular, incluyendo a las plantas, esto sugiere que su origen sucedió desde antes de la separación de estos taxones. Sin embargo, los genomas vegetales codifican para un mayor número de genes, lo que origina una mayor cantidad de proteínas del ciclo celular. Esto genera una alta complejidad, tanto en asociaciones como en mecanismos de regulación. Algunos de estos genes y proteínas son únicos en plantas, reflejando así la alta plasticidad que las especies vegetales requieren para enfrentarse a un estilo de vida sésil (Tabla 1).

Desde un punto de vista holístico, la maquinaria básica encargada del progreso y regulación del ciclo celular está conformada por proteínas cinasas dependientes de ciclinas (CDKs) que, junto con diferentes ciclinas (CYC), forman complejos heterodiméricos CYC/CDK encargados de fosforilar una gran variedad de proteínas blanco en los puntos de control G1/S, G2/M y en mitosis (1).

TABLA I

Número de genes relacionados con el ciclo celular que pertenecen a cada familia génica en diferentes organismos.

| Genes | <i>Schizosaccharomyces pombe</i> (levadura) | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levadura) | Mamíferos | <i>Arabidopsis thaliana</i> | <i>Oryza sativa</i> (Arroz) | <i>Zea mays</i> (Maíz) | Descripción |
|------------------|---|--|--|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|--|
| <i>Cdc2/CdkA</i> | 1 (<i>cdc2^Φ</i>) | 1 (<i>cdc28^Φ</i>) | 2 (<i>cdk1</i> y <i>cdk2</i>) | 1 | 3 | 3 | Cinasas de serina y treonina caracterizadas por la secuencia PSTAIRE en el motivo de unión a ciclina. |
| <i>CdkB</i> | NH | NH | NH | 4 | 2 | 3 | Cinasas de serina y treonina, únicas de plantas, caracterizadas por la secuencia PPTALRE/PPTTLRE. |
| <i>CycA</i> | NH | 2 | 2 | 10 | 7 | 11 | Ciclinas que forman complejos con CDKs durante fase S y en la transición G2/M. |
| <i>CycB</i> | 1 | 4 | 3 | 11 | 7 | 10 | Ciclinas que forman complejos con CDKs durante las transiciones G2/M e intramitóticas. |
| <i>CycD</i> | 2 | 3 | 3 | 10 | 14 | 17 | Ciclinas de G1 cuya transcripción es activada por señales extracelulares. |
| <i>RB/RBR</i> | NH | NH | 3 | 1 | 2 | 4 | Proteína que actúa como represor transcripcional de E2F durante la transición G1/S. |
| <i>E2F</i> | NH | NH | 8 | 3 | 5 | 1* | Factores de transcripción que activan genes de ciclo celular durante la transición G1/S, principalmente. |
| <i>DP</i> | NH | NH | 3 | 2 | 3 | 1* | Socio de dimerización de E2F. |
| <i>ICK/KRP</i> | 1 | 3 | 7 (4 <i>INK^Φ</i> y 3 <i>ICK^Φ</i>) | 7 | 6 | 2* | Familia de proteínas inhibidoras de complejos CYC/CDK. |
| <i>PCNA</i> | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | Proteína de unión a ADN que se asocia a complejos CYCD/CDK. |

*Resultados no publicados sugieren la presencia de más genes en estas familias; Φ, Nombre del homólogo en la especie; NH, no existen homólogos.

CDKs Y CICLINAS

El avance del ciclo celular es orquestado por la actividad de los complejos CYC/CDKs, los cuales pueden ser regulados a diferentes niveles como: la expresión de sus genes, síntesis y degradación proteica, modificaciones post-traduccionales, localización de los complejos, así como la interacción con otras proteínas (Fig 2).

Las CDKs son proteínas cinasas de serina y treonina que en plantas, se clasifican en 8 grupos de acuerdo al motivo de unión a la ciclina: de CDKA a CDKG y CDKL. El papel de las CDKs tipo A y B es el más estudiado en el ciclo celular de las especies vegetales. El grupo de CDKAs se caracteriza por presentar un motivo canónico de unión a ciclina, altamente conservado de 7 aminoácidos; este motivo se conoce como PSTAIRE, y estructuralmente, es homólogo a las proteínas cinasas *cdk/p34cdc2* de mamíferos y levaduras, respectivamente (2). En estudios del ciclo celular de distintas especies vegetales, los niveles de CDKAs tanto de transcrito y proteína son constantes en todas las fases del ciclo celular, sugiriendo una función dual de la proteína: tanto en la progresión de la fase S como en el paso a la mitosis, lo que indica que las CDKAs tienen un papel preponderante en la proliferación celular durante el desarrollo de la planta (2).

Las CDKs tipo B son el segundo grupo de CDKs con más representantes en el reino vegetal, carecen de homólogos en levaduras y mamíferos, y poseen un motivo de unión a ciclinas divergente, PPTALRE para CDKB1 o PPTTLRE para CDKB2. Durante el ciclo celular de distintas especies vegetales, los transcritos de *CDKB* muestran un pico de expresión en G2/M. Estas proteínas cinasas son capaces de unirse a las ciclinas tipo A o B (2). No obstante, también se ha documentado la interacción de ciclinas tipo D con CDKB. Por ejemplo, en *Arabidopsis thaliana*, la CDKB interacciona con la Ciclina D4;1 y en *Nicotiana tabacum*, la CDKB1;1 interacciona con Ciclina D3;1 (3).

En general, el estado de fosforilación de las CDKs es fundamental para la funcionalidad del complejo. Su activación está determinada por la fosforilación de un residuo de treonina conservado en la zona central de la proteína (canónicamente treonina 160), mientras que la inhibición se da por la fosforilación de un residuo de treonina o de un residuo de tirosina en la región amino terminal (canónicamente la treonina 14 y la tirosina 15).

La reciente secuenciación de genomas de algunas especies vegetales, como los de *Arabidopsis*, arroz y maíz, entre otros, ha facilitado el estudio de los genes involucrados en el ciclo celular. Se ha encontrado un mayor número de genes relaciona-

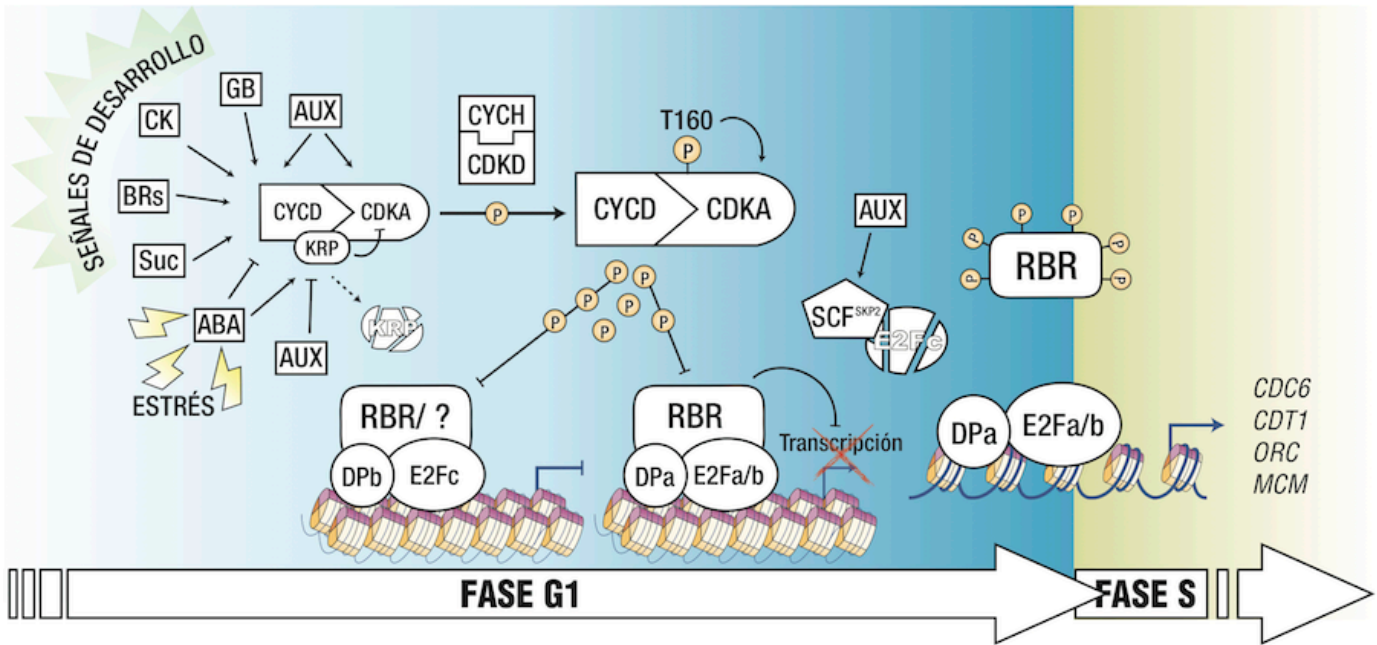


Figura 2. Regulación de la transición G1/S del ciclo celular en plantas. Los transcritos y proteínas de ciclinas y CDKs se acumulan durante G1 en respuesta a fitohormonas y nutrientes así como a la velocidad de crecimiento o el tamaño celular. Conforme avanza esta fase se forman los complejos CYCD/CDKA y son activados. En G1 tardía, RBR, la cual se encuentra reprimiendo al factor transcripcional E2F, es hiperfosforilada por CYCD/CDKA, ocasionando la pérdida de afinidad por el factor transcripcional E2F, se disocia de este, y permite la activación de genes necesarios para el establecimiento y avance de la fase S.

dos a este proceso en especies vegetales que en levaduras y mamíferos (Tabla 1), lo que sugiere una mayor complejidad en la regulación del ciclo celular. Así, en plantas se han identificado más de 100 genes de ciclinas diferentes. Por ejemplo, en *Arabidopsis* se encontraron 50 posibles ciclinas de diferentes tipos, que se pueden agrupar en 12 clases, de las cuales 6 no cuentan con representantes homólogos en otros eucariontes. En general, se han identificado en plantas cinco clases de ciclinas de acuerdo con su similitud con las de mamíferos: A, B, C, H y L, y siete clases exclusivas de plantas: CYL, SDS, D, Q, T, P y F. Las más estudiadas en relación al ciclo celular son las tipo A, B y D.

Si se elimina la expresión de una sola ciclina no ocasiona cambios en el fenotipo. Es necesaria la disminución en la expresión de varias ciclinas del mismo tipo para que un cambio sea evidente, lo que apoya que algunas puedan presentar funciones redundantes.

Las ciclinas son proteínas típicamente inestables, con un alto número de recambio y vida media corta, ya que algunas poseen una caja de destrucción, y un motivo denominado PEST, que las marca para ser degradadas por el proteasoma 26S (complejo multiproteico nuclear y citoplásmico cuya función es la degradación específica de proteínas marcadas)

y por lo tanto les confiere inestabilidad.

El avance del ciclo celular continuo e irreversible, está regido por la síntesis y destrucción regulada de las ciclinas (2). Dado que las ciclinas son las unidades reguladoras de las CDKs, son las que determinan la especificidad por el blanco del complejo, fluctuando a lo largo del ciclo celular.

Las ciclinas tipo A y B comparten un alto porcentaje de identidad, incluyendo una secuencia central característica, llamada caja de ciclina, requerida para la unión con CDKs y una secuencia denominada caja de destrucción, similar a la reportada en mamíferos (Fig. 3). Se ha propuesto que la función de estas proteínas es predominante durante las fases S y G2/M. Su degradación durante la mitosis en mamíferos es esencial para un final exitoso del ciclo celular (2).

Las ciclinas tipo A pueden interaccionar con CDKA y CDKB, actuando en la fase S y en la transición G2/M; las ciclinas tipo B controlan la progresión del ciclo celular durante la mitosis, y se asocian con CDKBs (Tabla 1) (4).

Las ciclinas tipo D de plantas, así como las de mamíferos y levaduras son fundamentales en el inicio o re-inicio del ciclo celular por su respuesta a señales externas tales como fitohormonas, tipo y concentración de azúcares, y a señales internas

como puede ser la velocidad de crecimiento o el tamaño de la célula (Fig. 2). Estructuralmente las ciclinas D contienen una región conservada de 250 aminoácidos denominada caja de ciclina que consiste de dos dominios: el N-terminal que comprende una región de unos 100 residuos de aminoácidos conservados (caja de ciclina), y el C-terminal, menos conservado y a veces ausente en algunas ciclinas. Además, casi todas presentan el motivo conservado LxCxE (donde x representa cualquier residuo de aminoácido) cercano al extremo amino terminal. Este motivo es importante para la interacción de las ciclinas con la proteína RBR (en plantas).

En plantas, las ciclinas tipo D median el primer punto de control del ciclo celular en la transición G1/S al regular la fosforilación de la proteína RBR en complejos con CDKAs. Sin embargo, poco se sabe de los complejos CYCD/CDK y su función en el ciclo celular (1).

INTERACTOMAS

Para el estudio de las interacciones proteicas que se presentan en distintos momentos del ciclo celular, se han empleado principalmente tres estrategias: sistemas de doble híbrido, complementación bimolecular de la fluorescencia y purificación por afinidad en tándem.

La información generada con estas metodologías

ha permitido que en las últimas dos décadas se haya dilucidado la composición de los complejos CYC/CDKs, así como algunos aspectos de su regulación. Evidencias experimentales indican que estos complejos son parte clave en el control del ciclo celular, al menos en Arabidopsis, especie vegetal en la que más se ha estudiado este proceso. Entre los mecanismos de control predomina la asociación con inhibidores de CDKs, cinasas de CDKs y fosfatasa, la proteólisis dependiente de proteasoma 26S y el tráfico intracelular (5).

Por ejemplo, se demostró la interacción de CDKA con ciclinas tipo D durante la transición G1/S, y la interacción de CDKA con ciclinas tipo A3 en la progresión de la fase S. Así mismo, ha sido posible establecer interacciones del complejo CYCD/CDKA con inhibidores de CDK (KRPs), y la interacción de este complejo con diferentes miembros de la ruta E2F/DP/RBR. También se ha descrito que las ciclinas tipo B y tipo A2 de Arabidopsis presentan un pico de expresión en la transición G2/M (4,6) y forman complejos con CDKBs, regulando así la entrada a la fase M y la progresión de ésta.

PROTEÍNAS DE CICLO CELULAR EN MAÍZ

Se sabe que los eventos relacionados al ciclo celular en Arabidopsis marcan la pauta para extrapolar y comprender cómo se lleva a cabo el control del ciclo celular en otras plantas, sin embargo, también

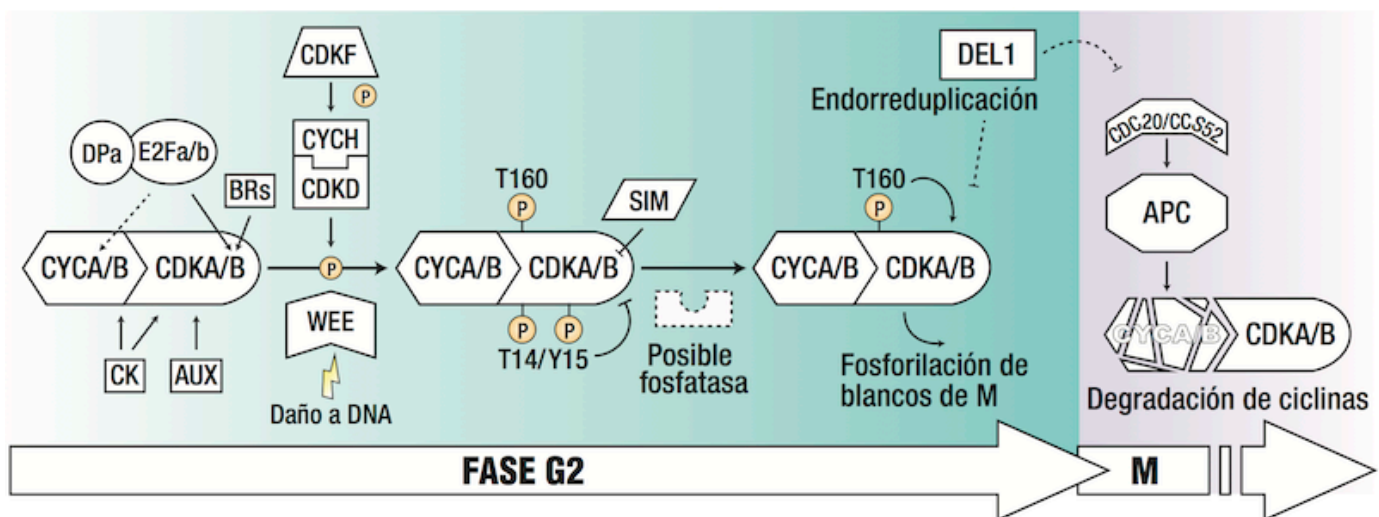


Figura 3. Principales reguladores de la transición G2/M y M. Durante la fase G2 los complejos CYC/CDK son regulados negativamente por asociación de las proteínas SIAMESE y por fosforilaciones. Como respuesta a algunos tipos de estrés, como daño al ADN o errores ocurridos durante la replicación, la cinasa WEE inactiva a CDK fosforilándola en las posiciones T14/Y15. Una vez reparados dichos errores, las fosforilaciones inhibidoras son removidas y la CDK es activada por cinasas activadoras de CDKs, mediante fosforilación en el residuo T160. Los complejos CYCB/CDKB activos fosforilan a sus blancos para el avance hacia mitosis. Durante metafase, las proteínas CDC20 y CCS52 activan al complejo promotor de anáfase (APC), el cual forma parte del proteasoma 26S y dirige la degradación de ciclinas, permitiendo así la salida de mitosis.

se han realizado ensayos en arroz, tabaco y otras especies que indican que cada especie vegetal puede tener sus particularidades. El estudio del ciclo celular, en el caso particular del maíz, se facilitó considerablemente desde el año 2009, cuando se reportó la secuencia del genoma completo de esta especie. El análisis bioinformático en busca de genes homólogos relacionados filogenéticamente con ciclinas de *Arabidopsis* y arroz, en el genoma de maíz, arrojó al menos once posibles genes que codifican para ciclinas tipo A, diez para ciclinas tipo B y al menos diecisiete que codifican para ciclinas tipo D (Tabla 1). El estudio de la expresión de estos últimos durante la germinación de maíz y en tejidos de plántula (raíz, hoja y mesocotilo) mostró que 15 de ellos se expresan diferencialmente. En la zona meristemática de la raíz (grupo de células toti-potenciales y en división activa), las ciclinas D presentan niveles altos de expresión, con excepción de *CYCD3;1a*, lo que sugiere que esta ciclina podría presentar funciones específicas diferentes a las de otras ciclinas y, probablemente, estaría participando en procesos de desarrollo como diferenciación o endorreduplicación (tipo de ciclo celular alterno que evita el paso por mitosis y por lo tanto la célula aumenta su ploidía) (7). En maíz, también se han identificado tres genes que codifican para proteínas CDKA y tres para CDKB. La proteína CDKA presenta un patrón constante durante las primeras 24 horas de germinación, lo que indica su participación en diferentes puntos del control del ciclo celular.

OTRAS PROTEÍNAS REGULADORAS EN EL CICLO CELULAR

PCNA

El antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) es una proteína que inicialmente se identificó en sueros de pacientes con lupus eritematoso, una enfermedad autoinmune; después fue descrita como una proteína esencial durante la replicación del ADN. Actualmente, se sabe que la replicación no es su única función en el ciclo celular, ya que juega un papel importante en otros procesos del metabolismo del ADN, como en reparación y remodelación de la cromatina. El análisis de PCNAs de diferentes especies (mamíferos, insectos y plantas) mostró que es una proteína altamente conservada a nivel de secuencia, estructura y función (8), que interacciona con proteínas clave del ciclo celular como son las ciclinas D y CDKs.

En maíz, durante las primeras horas de germinación, PCNA se acumula, presentando una abundancia proteica basal en semilla seca y una acumulación entre las 18 y 20 horas, lo que coincide

con el tiempo en que tiene lugar la replicación de ADN en células meristemáticas (9), lo cual sugiere que estas células se encuentran principalmente en fase S.

RBR

La proteína retinoblastoma o RB (pRB) fue descubierta por la identificación de mutaciones en diferentes posiciones de ambos alelos de un gen en tumores de retina, esto dio nombre a su producto. Posteriormente, la proteína fue descrita como una proteína supresora de tumores al regular los procesos de proliferación. En plantas la vía E2F/RB se encuentra conservada, y el homólogo de pRB es conocido como proteína relacionada a RB (RBR). Esta proteína reprime la actividad de los factores de transcripción E2F/DP durante G1 y es fosforilada por los complejos CYC/CDKs para permitir el avance hacia fase S. Además de participar en el ciclo celular de plantas, así como en el de mamíferos, también tiene una función reguladora en los procesos de diferenciación y desarrollo (10).

De acuerdo con estudios filogenéticos, funcionales y de expresión de genes, la familia de genes *RBR* de cereales es más compleja que la de otras plantas. En gramíneas existen al menos dos clases de genes *RBR*: *RBR1* y *RBR3*. En el genoma de maíz se han identificado otros dos parálogos (genes producto de duplicaciones genómicas en la misma especie) de *RBR1* y *RBR3*, más parecidos a *RBR2* y *RBR4*, respectivamente. El estudio de los dos tipos de proteínas RBR de maíz muestra que éstas se acumulan en distintas etapas de desarrollo. Por ejemplo, la proteína RBR3 participa en proliferación celular y la proteína RBR1 en procesos de diferenciación y endorreduplicación (11). Lo anterior podría sugerir que existe división de funciones, donde RBR3 participa en el control del ciclo celular y RBR1 en el control del desarrollo.

INHIBIDORES DE COMPLEJOS CYC/CDKs

Las proteínas relacionadas a KIP/CIP o KRPs, son inhibidores de la actividad de los complejos CYC/CDKs en plantas, pero también participan en el importe nuclear de otras proteínas del ciclo celular. Esta familia de proteínas ha sido aislada en especies de plantas tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas. La sobreexpresión de miembros de KRP en *Arabidopsis* muestra fenotipos característicos de represión del ciclo celular como la reducción del tamaño de las plantas, disminución del número de células y células alargadas, indicando que las KRPs inhiben el ciclo celular, probablemente, tanto a nivel de las transiciones G1/S como de las G2/M (12).

En *Arabidopsis* se han descrito 7 genes que codifican para KRPs y en estudios del interactoma se reportó que estas proteínas co-purifican específicamente con ciclinas tipo D y CDKA1;1, sugiriendo que sólo inhiben a este tipo de complejos. En maíz, se observó que inhiben también la actividad de cinasa de complejos de CDKA con ciclinas tipo A y D. Otra familia de inhibidores menos caracterizados, específicos de plantas, son las proteínas *SIAMESE* (SIM) y las relacionadas a *SIAMESE* (SMR), que se han identificado en arroz, maíz, tomate y *Arabidopsis*, entre otras. Recientemente en el interactoma de *Arabidopsis* se observó que se unen a complejos de CDKA y CDKB; sugiriendo que pueden inhibir la actividad de ambas cinasas.

FAMILIA E2F/DP

Las proteínas E2F y sus socios de dimerización, las proteínas DP conforman heterodímeros que funcionan como factores transcripcionales. Los primeros estudios de la familia E2F/DP se enfocaron en entender su influencia sobre la expresión de múltiples genes requeridos para la entrada y progresión de la fase S del ciclo celular. Entre estos genes se encontraron los involucrados con la maquinaria de replicación y del metabolismo de ADN. También están involucrados en la regulación de la expresión de genes que participan en procesos biológicos como mitosis, respuesta al daño y reparación del ADN, diferenciación, desarrollo y muerte celular programada. La actividad transcripcional de E2F se modula a través de distintos mecanismos en células de mamíferos, el más conocido es a través de la interacción con pRB y otros miembros de su familia, como son p107 y p130. Al unirse pRB al heterodímero E2F/DP se reduce por impedimento estérico la interacción con proteínas co-activadoras de sus genes blanco. Tanto en animales como en plantas, la familia de E2F/DP está compuesta por tres grupos de proteínas: E2F, DEL (del inglés DP/E2F-Like protein) y DP, clasificadas por el tipo y número de dominios de unión a ADN. Las proteínas E2F y DP necesitan heterodimerizar entre ellas para unirse con alta afinidad al ADN, mientras que los miembros del grupo DEL se unen como monómero.

Las proteínas de la familia E2F/DP pueden presentar propiedades tanto de activación transcripcional como de represión. Así, en *Arabidopsis* la sobreexpresión simultánea de los activadores E2Fa y DPa en tejidos diferenciados con índices mitóticos muy bajos o nulos, promueve la reentrada al ciclo celular, y la consecuente proliferación celular mediante la activación de genes de fase S. Por otro lado, la sobreexpresión del represor E2Fc reduce la tasa de división celular y aumenta la endorre-

uplicación. Finalmente, se ha sugerido que los miembros tipo DEL funcionan como represores por competencia, ya que son capaces de reconocer la misma secuencia en el ADN que el heterodímero E2F/DP, pudiendo así, competir por ocupar los mismos promotores (12).

MECANISMOS DE REGULACIÓN DEL CICLO CELULAR DE PLANTAS

Los mecanismos moleculares que regulan el ciclo celular en especies vegetales no se han caracterizado completamente, además de que cada especie presenta características específicas, sin embargo, con los conocimientos adquiridos se pueden inferir algunos de estos.

El ciclo celular comienza cuando las señales extracelulares activan la transcripción de genes de ciclinas D durante la fase G1 temprana y al acumularse la proteína se forman complejos CYCD/CDK; estos complejos proteicos son regulados negativamente por las proteínas inhibidoras KRPs. Una vez que son liberados de esta represión, se activan por fosforilación de la treonina 160 de la CDK. Dicha fosforilación es catalizada por cinasas activadoras de CDKs (CAK), como CDKDo CDKF (Fig 2).

En la fase G1 tardía, el complejo activo CYCD/CDK fosforila a la proteína RBR, que reprime la actividad de la familia de factores transcripcionales E2F/DP. Una vez fosforilada RBR en múltiples sitios, pierde afinidad y se disocia del complejo E2F-DP permitiendo la transcripción de sus genes blanco, necesarios para el establecimiento y progresión de la fase S, como son los genes de establecimiento de origen (*ORCs*, *MCMs*, *CDT1*), de la maquinaria de replicación (*PCNA*, *DNAPol*, entre otros) y de la progresión del ciclo celular (*Ciclina A*) (1, 2 y 12).

Durante la transición G2/M (Fig 3) se lleva a cabo la transcripción de los genes de *CYCA* y *CYCB* dependiente de E2F, en respuesta a una señalización provocada por hormonas. Los complejos *CYCA/B* con *CDKA/B* son regulados negativamente por proteínas inhibidoras del tipo *SIAMESE* (SIM) o KRPs y por fosforilaciones inhibidoras en la CDK (catalizadas por la cinasa *WEE*). Una vez reparados los posibles errores ocurridos durante la replicación, las fosforilaciones inhibitorias T14/Y15 son removidas por una fosfatasa putativa aún desconocida en plantas, pero ya identificada y estudiada en otros organismos. Similar a lo que ya se describió anteriormente, los complejos *CYC/CDK* se activan por la fosforilación en T160 de CDK (catalizada por la CAK, *CDKD/CDKF*) permitiéndole así, la fosforilación de sus proteínas blanco para entrar a la fase M. Durante la mitosis, en la

metafase, las proteínas CDC20 y CCS52 activan y dan especificidad al complejo promotor de anafase (APC), dirigiendo la degradación de ciclinas por la vía del proteasoma 26S y la consecuente salida de mitosis (Fig 3)(1, 2 y 12).

REGULACIÓN POR FITOHORMONAS Y AZÚCARES

Entre las fitohormonas u hormonas vegetales que participan en la regulación de la expresión de genes del ciclo celular y su progresión se encuentran las auxinas y las citocininas. Otras fitohormonas también tienen alguna influencia en el ciclo celular, sin embargo, han sido menos caracterizadas. Tal es el caso del ácido abscísico (ABA), el etileno, el ácido jasmónico y los brasinoesteroides (13) (Fig 2). Se ha sugerido que estas últimas fitohormonas juegan un papel en la adaptación de la actividad meristemática a las condiciones externas y al programa morfogénico vegetal.

Las auxinas juegan un papel importante en casi cualquier aspecto del desarrollo vegetal (14). Estas fitohormonas promueven la actividad del ciclo celular y, al mismo tiempo que aumentan la expresión de genes involucrados en la transición G1/S y G2/M, estimulan la degradación de proteínas inhibitoras (15). Un ejemplo de ello, es la sobreexpresión de la CYCA2;2 de alfalfa, en presencia de auxinas. La función de esta ciclina está involucrada en ciclos mitóticos meristemáticos durante el desarrollo post-embrionario.

Similar a las auxinas, las citocininas también juegan un papel esencial en el crecimiento de las plantas y su desarrollo. Estas fitohormonas retrasan la senescencia, influyen en la formación de tallo, aumentan la capacidad de atraer recursos a los tejidos vegetales y promueven proliferación al participar en el control de las transiciones G1/S y G2/M. Se ha observado que la presencia de citocininas incrementa la expresión de una CYCD3 en *Arabidopsis*, regulador clave de la transición G1/S. Adicionalmente, se ha sugerido que la expresión de ciclinas tipo B o mitóticas también puede ser regulada por la acción de esta fitohormona.

Uno de los principales puntos de control de las citocininas en el ciclo celular es, probablemente, la estimulación de la de-fosforilación de la tirosina 15 y la subsecuente activación de la CDK. Además, durante la formación de la hoja, éstas son necesarias para la celularización y desarrollo adecuado del tejido.

Las fitohormonas pueden presentar interacciones sinérgicas para generar señales que controlan la expresión génica y modulan, post-traduccionalmente, a sus proteínas blanco. Por ejemplo, las señales

generadas por auxinas y citocininas interaccionan para controlar la expresión de una CDKA y su subunidad reguladora, la CYCD3, en tallos de tabaco (15).

El ABA es otra hormona de particular importancia para el ciclo celular. Es considerada como una hormona que inhibe el crecimiento, ya que afecta a algunas enzimas específicas durante este proceso. En la mayoría de los casos, la respuesta a ABA es lenta y requiere cambios en la expresión génica. En diferentes tejidos vegetales se ha descrito que ABA es un inhibidor de ciclo celular y de la síntesis de ADN, y también se ha demostrado que su presencia induce la expresión del gen que codifica para una proteína inhibitora, KRP1, la cual se une e inhibe la actividad del complejo CYCD/CDKA. En consecuencia, las células se detienen en la transición G1/S (Fig 2).

Los azúcares son la fuente de carbono más importante para la planta, indispensables para la división celular. Las células de tejidos meristemáticos importan hexosas, mientras que los tejidos diferenciados prefieren la sacarosa. Debido a que la sacarosa es la molécula principal de transporte de carbono en plantas, los meristemas requieren invertasas extracelulares que hidrolicen al disacárido. Los azúcares presentan un efecto regulador sobre el ciclo celular, sin embargo, no es claro si dicho efecto se debe a una simple disponibilidad de energía y esqueletos de carbono, o si la concentración del azúcar per se es traducida como una señal. Por ejemplo, se ha observado una correlación positiva entre los niveles de expresión de varias ciclinas (CYCD2;1, D3;2, A3;2 y B2;1) y los niveles de monosacáridos endógenos en células en suspensión de tabaco. En dichas células la duración de la fase S y G2 puede ser modificada al variar los niveles endógenos de monosacáridos (15).

La interacción de las señales orquestadas por los azúcares y algunas fitohormonas se ha demostrado en *Arabidopsis* y tabaco. Por ejemplo, las auxinas inducen la sobreexpresión de ciclinas tipo D, pero esta expresión dependiente de auxinas es afectada de manera diferencial si también se encuentran presentes azúcares o citocininas.

Finalmente, se ha reportado que algunas proteínas importantes para el ciclo celular (RBR y E2F) son degradadas vía proteasoma 26S en *Arabidopsis* cuando la planta es sometida a deficiencia de sacarosa, provocando que se detenga el ciclo celular en la fase G2.

PERSPECTIVAS

En los últimos años se han hecho contribuciones importantes para entender los mecanismos de

regulación del ciclo celular y su relación con el desarrollo de las plantas. Se sabe, por ejemplo, que no basta solamente la presencia de cierta ciclina para desencadenar eventos dentro del ciclo celular, sino que, también son importantes las asociaciones que en ciertos momentos ésta pueda establecer con otras proteínas relevantes del ciclo celular. En este sentido, recientemente se han desarrollado

estrategias para revelar los mapas de interactomas, particularmente en *Arabidopsis*. Sin embargo, se requiere de nuevas investigaciones para entender con más profundidad el control del ciclo celular a través de las modificaciones post-traduccionales de las proteínas reguladoras del ciclo celular, así como de la fina regulación por su localización subcelular, expresión génica, síntesis *de novo* y degradación.



REFERENCIAS

- Vázquez-Ramos JM, Sánchez MP (2003) The cell cycle and seed germination. *Seed Sci Res* 13:113-130.
- Dirk Inze (Eds.) (2007) Cell cycle and plant development. Wiley-Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK. p 364.
- Kawamura K, Murray JA, Shinmyo A, Sekine M (2006) Cell cycle regulated D3-type cyclins form active complexes with plant-specific B-type cyclin-dependent kinase *in vitro*. *Plant Mol Biol* 61:311-327.
- Van Leene J, Hollunder J, Eeckhout D, Persiau G, Van De Slijke E, Stals H, Van Isterdael A, Neiryck S, Bukkel Y, De Bodt S, Maere S, Laukens K, Pharazyn A, Ferreira PC, Eloy N, Renne C, Meyer C, Faure JD, Steinbrenner J, Beynon J, Larkin JC, Van de Peer Y, Hilson P, Kuiper M, De Veylder L, Van Onckelen H, Inzé D, Wutters E, De Jaeger G (2010) Targeted interactomics reveals a complex core cell cycle machinery in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Sys Biol* 6:397
- Van Leene J, Boruc J, De Jaeger GD, Russinova E, De Veylder L (2011) A kaleidoscopic view of the *Arabidopsis* core cell cycle interactome. *Trends in Plant Sci* 16:141-150.
- Menges M, de Jager SM, Gruissem W, Murray JAH (2005) Global analysis of the cell cycle regulators of *Arabidopsis* identifies novel genes, reveals multiple and highly specific profiles of expression and provides a coherent model for plant cell cycle control. *Plant J* 41:546-566.
- Buendía-Monreal M, Rentería-Canett I, Guerrero-Andrade O, Bravo-Alberto CE, Martínez-Castilla LP, García E, Vázquez-Ramos JM (2011) The family of maize D-type cyclins: genomic organization, phylogeny and expression patterns. *Physiol Plantarum* 143:297-308.
- Strzalka W, Ziemienowicz A (2011) Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a key factor in DNA replication and cell cycle regulation. *Ann Bot* 107:1127-1140.
- Baíza AM, Vázquez-Ramos JM, Sánchez de Jiménez E (1989) DNA synthesis and cell division in embryonic maize tissues during germination. *J Plant Physiol* 135:416-421.
- Sabelli PA, Liu Y, Dante RA, Lizarraga LE, Nguyen HN, Brown SW, Klingler JP, Yu, J, LaBrant E, Layton TM, Feldman M, Larkins BA (2013) Control of cell proliferation, cell size, and cell death by the retinoblastoma-related pathway in maize endosperm. *Proc Natl Acad Sci* doi: 10.1073/pnas.1304903110.
- Sabelli PA, Dante RA, Leiva-Neto JT, Jung R, Gordon-Kamm WJ, Larkins BA (2005) RBR3, a member of the retinoblastoma-related family from maize, is regulated by the RBR1/E2F pathway. *Proc Natl Acad Sci* 102:13005-13012.
- Dirk Inzé and Lieven De Veylder (2006) Cell Cycle Regulation in Plant Development. *Ann. Rev. Genet* 40:77-105.
- Del Pozo JC, Lopez-Matas MA, Ramírez-Parra E, Gutiérrez C (2005) Hormonal control of the plant cell cycle. *Physiol Plant* 123:173-183.
- De Veylder L, Beeckman T, Inzé D (2007) The ins and outs of the plant cell cycle. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:655-665.
- Hartig K, Beck E (2006) Crosstalk between auxin, cytokinins and sugars in the plant cell cycle. *Plant Biol* 8:389-396.