



Flores Herrera O, Riveros Rosas H, Sosa Peinado A, Vázquez Contreras E (eds). **Mensaje Bioquímico, Vol XXVII**. Depto Bioquímica, Fac Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Cd Universitaria, México, DF, MÉXICO. (2003).

(<http://bq.unam.mx/mensajebioquimico>)

(ISSN-0188-137X)

LA MIGRACIÓN DE GENES DE LA MITOCONDRIA AL NÚCLEO Y LA EVOLUCIÓN DE LOS GENOMAS MITOCONDRIALES.

Diego González-Halphen¹, Xochitl Pérez-Martínez², Soledad Funes³, Adrián Reyes-Prieto¹ y José Luis Santillán-Torres^{1,4}.

1. Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. (México)
2. Department of Molecular Biology and Genetics, Cornell University, Ithaca, New York 14853 (EEUU)
3. Institut für Physiologische Chemie, Ludwig-Maximilians-Universität München, Butenandtstrasse 5, Munich 81377 (Alemania)
4. Unidad de Microarreglos, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. (México)

dhalphen@ifc.unam.mx

Introducción

Las mitocondrias son organelos que se encuentran presentes en la gran mayoría de las células eucariotes y que tienen una participación fundamental en el metabolismo celular. Además de producir ATP mediante la fosforilación oxidativa, se relacionan con procesos de muerte celular, de envejecimiento, y con diversos procesos patológicos. En general las mitocondrias presentan una forma ovalada cuyo tamaño, estructura interna, y número por célula varía en los diferentes tipos

ABREVIATURAS: <H> hidrofobicidad local (local hydrophobicity); *mesoH* mesohidrofobicidad (mesohydrophobicity); ADNmt ADN mitocondrial (mtDNA: mitochondrial DNA); *ARNt* *ARN de transferencia*; *FOS-OX* *fosforilación oxidativa*

celulares. Están compuestas por dos membranas, una interna y una externa, que engloban una matriz densa que incluye a múltiples enzimas del metabolismo intermediario. Las mitocondrias también contienen varias copias de un genoma que codifica proteínas de la membrana interna, y algunos elementos necesarios para su traducción como RNAs ribosomales y de transferencia. Los otros cientos de proteínas que requiere la mitocondria para su funcionamiento se encuentran codificadas en el genoma nuclear y son sintetizadas en el citosol.

¿Cuál es la explicación de que las mitocondrias tengan su genoma propio? ¿Qué ha favorecido que en el interior de las mitocondrias se conserve un complejo mecanismo de replicación y transcripción para la producción de unas cuantas proteínas? En esta revisión, se discuten algunas de las teorías que se han propuesto para explicar la presencia y conservación de los genomas mitocondriales, así como las tendencias evolutivas que se han observado en estas moléculas.

EL ORIGEN ENDOSIMBIÓTICO DE LAS MITOCONDRIAS

La explicación más aceptada del origen de las mitocondrias se conoce como la teoría de la endosimbiosis. Sin embargo, no existe aún total acuerdo sobre quienes fueron los protagonistas involucrados en este proceso de endosimbiosis, por lo que se han planteado varias alternativas. Una de las más aceptadas, propone que estos organelos son descendientes de un endosimbionte bacteriano (una α -proteobacteria) que se estableció en el citosol de un protoeucariote en una etapa temprana de la evolución (1). Las secuencias de genes mitocondriales han permitido rastrear los orígenes de las mitocondrias hacia un ancestro de los miembros de la subdivisión de los rickettsiales, a la cual pertenecen parásitos intracelulares obligados de los géneros *Rickettsia*, *Anaplasma* y *Ehrlichia* (2,3). Una hipótesis alternativa, la hipótesis del hidrógeno, sugiere que los eucariontes se originaron por la asociación metabólica entre una α -proteobacteria anaeróbica facultativa que generaba hidrógeno y bióxido de carbono como productos de desecho, y una archaea metanógena anaeróbica estricta y autotrófica cuyo metabolismo dependía del hidrógeno. Esta propuesta explica las posibles presiones evolutivas que favorecieron el establecimiento de la endosimbiosis (4, 5). Esta hipótesis también sugiere que el origen de las mitocondrias y de las células eucariontes ocurrió de manera simultánea. Una tercera hipótesis, la hipótesis de la sintrofía, sugiere que la fusión inicial entre una archaea y una α -proteobacteria dio lugar al primer protoeucariote. Este proceso fue seguido por la endosimbiosis de una α -proteobacteria, la cual dio origen a las mitocondrias (6). Sea cuales fueren los protagonistas involucrados, se piensa que la endosimbiosis que dio origen a las mitocondrias ocurrió en una sola ocasión (7), por lo que se dice que estos organelos tienen un origen monofilético (es decir, derivan de un ancestro común).

La endosimbiosis no es un fenómeno raro en la naturaleza. Existen varias especies de bacterias que coexisten con un hospedero eucariote (8) o bacterias que habitan en el interior de otras bacterias (9). Incluso, el fenómeno de simbiosis intracelular ha sido reproducido en el laboratorio, al introducir ciertas cepas bacterianas en algunas amibas y formar endosimbiontes estables (10).

Actualmente, las mitocondrias conservan varias características similares a células procariontes: se dividen mediante un mecanismo similar a la fisión binaria; los procesos respiratorios que suceden en su interior son muy similares a los que ocurren en las bacterias aeróbicas actuales; y en la matriz mitocondrial es posible encontrar varias copias de un genoma

mitocondrial (11) así como ARNs y ribosomas de tipo bacteriano que participan en la síntesis de proteínas.

Recientemente, Karlberg y col. (12) realizaron un análisis de las más de 400 proteínas que se predice son funcionales en la mitocondria de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, y encontraron que la mayoría de los genes provenientes de la α -proteobacteria que dió origen a la mitocondria se han perdido en el transcurso de la evolución del organelo. Así mismo, resulta interesante que no todas las proteínas mitocondriales tienen su origen en el endosimbionte bacteriano, muchas de ellas provienen del hospedero, tal es el caso del translocador de adenín nucleótidos, por lo tanto el proteoma mitocondrial actual es un mosaico de proteínas de origen eubacteriano y arqueobacteriano. De tal suerte que sólo un grupo pequeño de proteínas se codifica en el genoma mitocondrial y se sintetiza utilizando la maquinaria traduccional del organelo. Sin embargo, la mayor parte de los componentes del proteoma mitocondrial (más del 97%) son sintetizados en el citosol, ya sea en ribosomas que se encuentran libres o en polisomas que se encuentran adyacentes a la membrana externa mitocondrial. Se ha planteado que el reclutamiento de ribosomas por la membrana externa sucede exclusivamente para la síntesis de las proteínas codificadas por los genes provenientes del ancestro premitocondrial (13).

LA DIVERSIDAD DE LOS GENOMAS MITOCONDRIALES

Los genomas mitocondriales actuales son el resultado de una reducción del genoma bacteriano del endosimbionte original, y a pesar de que en principio todos los genomas mitocondriales son derivados de un mismo ancestro común, cada grupo particular de organismos ha evolucionado de manera distinta. Actualmente los genomas mitocondriales presentan una gran diversidad en tamaño, organización, y complejidad génica. Existen genomas mitocondriales circulares o lineales; el tamaño puede variar desde un poco menos de 6 kb en *Plasmodium falciparum* (14) hasta más de 2000 kb en algunas plantas cucurbitáceas (15) (Figura 1). Las diferencias tan notables en los tamaños de las moléculas obedecen fundamentalmente a diferencias en el contenido de regiones intergénicas no codificantes. Por ejemplo, en plantas, sólo entre el 10 y el 20 % del ADN mitocondrial (ADNmt) contiene genes estructurales (2), el resto son regiones intergénicas no codificantes. En contraste, algunos genomas mitocondriales en protozoarios, más del 90% de su ADNmt corresponde a genes estructurales.

A pesar de la enorme diversidad de los genomas mitocondriales, en general todos ellos presentan genes que codifican para ARNs ribosomales (ARNr), ARNs de transferencia (ARNt), un conjunto variable de proteínas involucradas en la síntesis de proteínas, y un conjunto limitado de subunidades polipeptídicas de los complejos membranales translocadores de protones de la fosforilación oxidativa (FOS-OX) (7). Algunos genomas mitocondriales presentan incluso variaciones en el código genético universal. Por ejemplo, las mitocondrias de mamíferos reconocen el codón UGA como codificador del triptófano en lugar de codón de término, y a los codones AGA y AGG como señales de terminación en lugar de codificar una arginina. En las mitocondrias de algunos hongos, de mamíferos, y de *Drosophila*, el codón AUU es reconocido como codificador de metionina en lugar de isoleucina, como sucede en el código genético universal.

Cuando pensamos en la complejidad génica y no en el tamaño (es decir, cuando pensamos en el genoma mitocondrial que contiene el mayor número de genes funcionales), nos encontramos con el ADNmt de 69 kb del protista *Reclinomonas americana* (16). La mitocondria de este flagelado se conoce como “la mitocondria que el tiempo olvidó”, ya que la estructura y organización de su genoma se asemeja mucho al de un genoma bacteriano reducido. El genoma mitocondrial de *R. americana* es el que contiene el mayor número de genes, los cuales codifican 24 proteínas que participan en la FOS-OX, y 38 proteínas involucradas en la transcripción, la traducción, la importación, y la maduración de proteínas. La comparación del genoma mitocondrial de *R. americana* con el genoma completo de *Rickettsia prowazekii* (el genoma bacteriano más parecido a un genoma mitocondrial) (3) muestran semejanzas tanto en las secuencias como en la organización y disposición de sus genes.

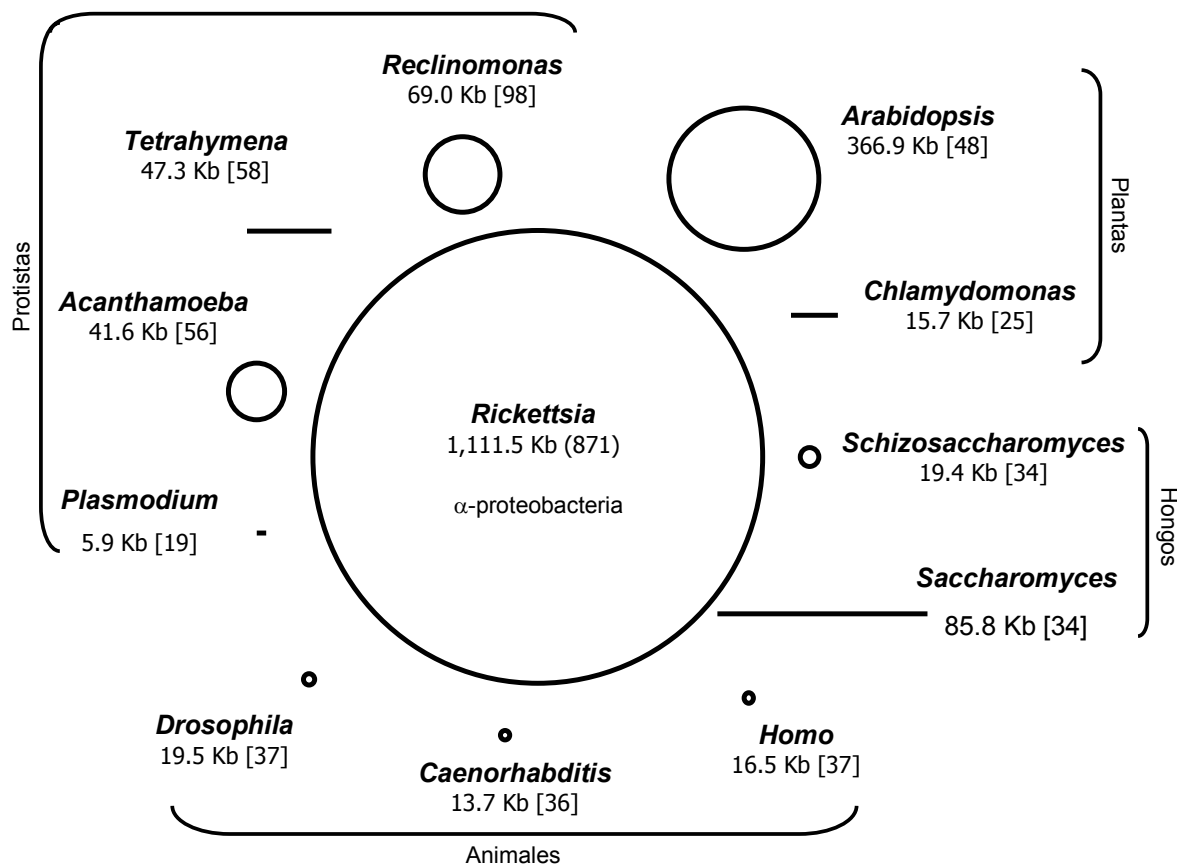


Figura 1. Tamaño relativo de diversos genomas mitocondriales, comparado al de la bacteria *Rickettsia prowazekii*. El tamaño de cada genoma mitocondrial se indica en kilobases (kb), y el número de genes codificados entre paréntesis cuadrados. La línea o el círculo, indican si se trata de un genoma lineal o circular, respectivamente.

En el otro extremo del espectro de complejidad génica se encuentran los genomas mitocondriales extremadamente reducidos de los parásitos apicomplejos *Plasmodium falciparum* y *Theileria parva*; el primero corresponde al agente responsable de la malaria, y el segundo, es el causante de la enfermedad conocida como “fiebre de la Costa del Este” en el ganado vacuno. Estos ADNmt contienen únicamente tres genes que codifican para componentes de la cadena respiratoria *cob*, *cox1*, y *cox3* (14), que codifican al citocromo *b* y a las subunidades I y III de la citocromo *c* oxidasa respectivamente.

Entre los genomas mitocondriales de tamaño medio, encontramos los ADNmt de vertebrados y hongos. En mamíferos encontramos un conjunto casi invariable de 13 genes que codifican para componentes clásicos de la FOS-OX (probablemente los componentes ancestrales, es decir, aquellas subunidades que se encontraban presentes en los complejos de la bacteria endosimbionte): *nad1*, *nad2*, *nad3*, *nad4*, *nad4L*, *nad5*, *nad6* (subunidades del complejo I o NADH:ubiquinona oxidoreductasa), *cob* (el citocromo *b* del complejo III o ubiquinol:citocromo *c* oxidoreductasa), *cox1*, *cox2*, *cox3* (subunidades del complejo IV o citocromo *c* oxidasa), *atp6*, *atp8* y *atp9* (subunidades de la F_1F_0 -ATP sintetasa) (17).

INTERNALIZACIÓN EN LA MITOCONDRIA DE LAS PROTEÍNAS SINTETIZADAS EN EL CITOPLASMA

Aunque la contribución del ADNmt es esencial, la mayor parte de la información para la función y biogénesis mitocondrial se encuentra en el genoma nuclear. Estos genes, que en el caso de la levadura se estima en poco más de 400 (18), son transcritos y eventualmente traducidos en el citosol. Las proteínas resultantes son posteriormente transportadas al compartimento mitocondrial. Uno de los requerimientos para la importación exitosa de la mayoría de proteínas, es la presencia de un péptido señal o presecuencia mitocondrial, es decir, una extensión polipeptídica en el extremo amino terminal de la proteína que dirige a la proteína recién sintetizada hacia la mitocondria. Esta presecuencia es generalmente pequeña (de 20 a 60 residuos de aminoácidos), capaz de formar una alfa-hélice anfifílica, que puede ser reconocida por la maquinaria de importación mitocondrial.

El tránsito de las proteínas desde el citoplasma hasta su destino final en alguno de los compartimentos mitocondriales requiere, además de las presecuencias mitocondriales, a chaperonas citosólicas y de la matriz mitocondrial, receptores localizados en la superficie mitocondrial, proteínas que rodean los canales de paso y proteínas de maduración (19) (Figura 2). La inserción de las presecuencias en la membrana interna requiere además, en la mayoría de los casos, que la mitocondria esté energizada, es decir, que exista un potencial electroquímico ($\Delta\Psi$), probablemente para promover el movimiento electroforético de cargas positivas a través del aparato importador. Finalmente, una proteasa de la matriz mitocondrial cataliza (MPP) la remoción proteolítica de la presecuencia mitocondrial, obteniéndose así, una proteína madura. Las proteínas cuya localización funcional se restringe a la membrana externa mitocondrial, suelen no presentar presecuencia. Al ser reconocidas por los receptores mitocondriales de la membrana externa, son transportadas a su destino final en la membrana externa o en el espacio intermembranal (20).

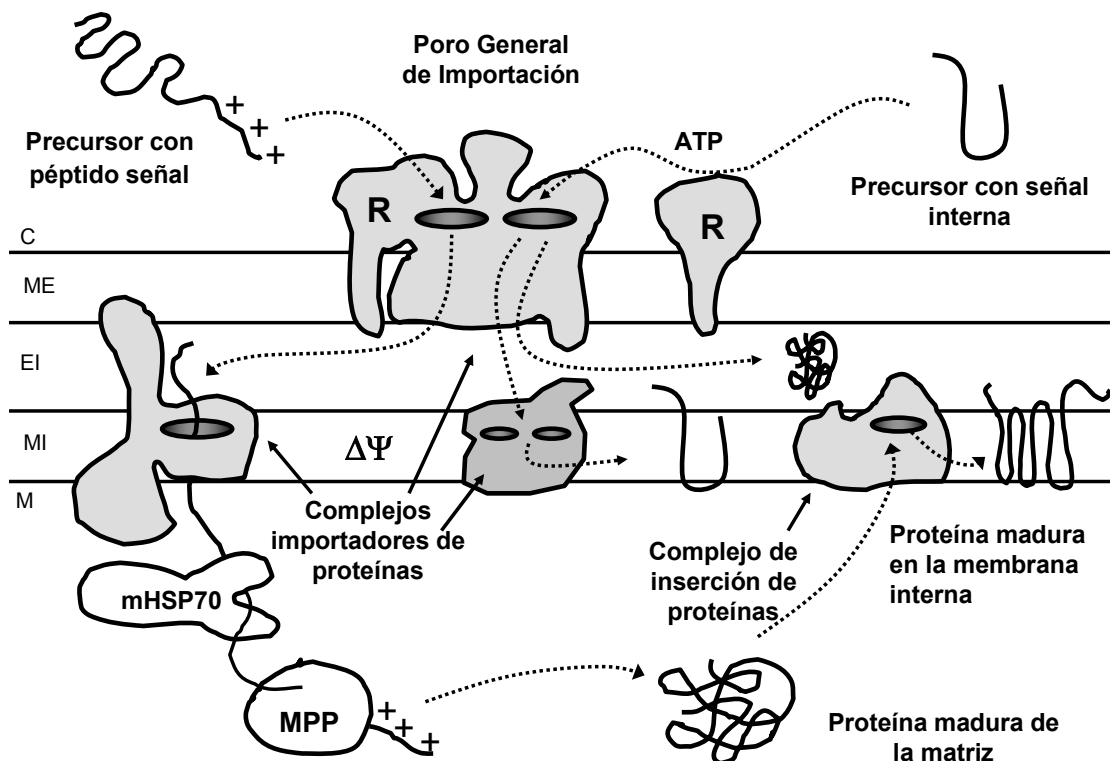


Figura 2. Importación de proteínas al interior de la mitocondria. En el esquema se muestran los diferentes compartimentos mitocondriales: ME, membrana externa (arriba); MI, membrana interna (abajo); C, citosol; EI, espacio intermembranal; M, matriz mitocondrial. Las proteínas que poseen presecuencia o señales, interactúan con la superficie externa mitocondrial a través de receptores (R). Aquellas proteínas que se localizan en la matriz o membrana interna se translocan a través de complejos en la membrana interna. En la matriz mitocondrial, estas proteínas interactúan con la chaperona mitocondrial (heat shock protein mHSP70) y la proteasa (MPP). Esta última corta específicamente a las presecuencias o péptido señal, para generar a las proteínas maduras; que posteriormente entran en contacto con las proteínas involucradas en la inserción de proteínas para su correcta localización en la membrana interna. Aquellas proteínas que carecen de presecuencia, pero que putativamente contienen una secuencia señal interna (una secuencia de la propia proteína madura), ingresan a través de un camino distinto sin llegar a la matriz mitocondrial. La importación de proteínas requiere la presencia de un gradiente electroquímico ($\Delta\Psi$) en la membrana interna mitocondrial.

LA MIGRACIÓN DE GENES Y LA EVOLUCIÓN DE LOS GENOMAS MITOCONDRIALES

A partir del conjunto de 1000 genes o más que debieron encontrarse en el genoma del ancestro premitocondrial, la tendencia general de la naturaleza ha sido la de reducir el contenido génico de las mitocondrias. De esta manera, los genomas mitocondriales actuales representan

solo una fracción de aquellos genes que estaban presentes en el endosimbionte. La mayor parte de esta pérdida de material genético debe haber sucedido durante el establecimiento de la endosimbiosis, y en principio puede ser el resultado de dos fenómenos distintos: *i)* la eliminación de genes no esenciales o redundantes, cuya función pudo ser substituida por los genes nucleares del hospedero, y *ii)* la exportación de material genético desde la protomitocondria hacia el núcleo celular (3,21).

En los últimos años el estudio de genes que han cambiado su localización del genoma mitocondrial al nuclear ha permitido identificar pasos intermedios del fenómeno de migración de genes. Entre ellos, destacan los resultados obtenidos con los genes: *i) cox2*, *ii) rps12*, y *iii) rpl2*:

i) En el grupo de las plantas leguminosas es posible observar la coexistencia de dos copias diferentes del gen *cox2* (el gen que codifica para la subunidad II de la citocromo c oxidasa). Se determinó que al menos en cinco géneros de leguminosas el gen *cox2* se encuentra presente tanto en el genoma mitocondrial como en el nuclear, y que ambas copias son transcritas y editadas (22). También en este grupo de plantas es posible observar pasos intermedios en la evolución de la migración del gen *cox2* al núcleo: en el chícharo, una copia del gen se encuentra en la mitocondria y otra en el núcleo, sin embargo la copia nuclear no es funcional (ya hubo migración, pero no una activación exitosa). En el caso de la soya, la copia mitocondrial se encuentra intacta, sin embargo no es posible detectar ningún transcrito en la mitocondria, por lo que no se trata de un gen activo. En cambio, el gen nuclear si se expresa (migración, integración, y activación exitosas, seguidas del silenciamiento del gen mitocondrial original). En el género *Dumasia*, se observan transcritos tanto del gen *cox2* mitocondrial como de su copia nuclear (coexistencia de dos genes activos provenientes de diferentes compartimentos celulares). Finalmente, en el caso del frijol mungo, la copia mitocondrial ha sido alterada por mutaciones y pérdida de algunos de sus fragmentos, de manera que es inactivo y apenas reconocible, mientras que sólo la copia nuclear es activa (migración exitosa hacia el núcleo con el gen mitocondrial original en vías de extinción).

ii) El gen *rps12* de *Oenothera* (que codifica a la proteína ribosomal mitocondrial S12) migró al genoma nuclear y dos terceras partes del gen mitocondrial original han sido eliminadas (23).

iii) En el grupo de las plantas angiospermas se ha identificado que el gen *rpl2* (que codifica a la proteína ribosomal L12) ha sufrido diversas modificaciones, y actualmente se puede encontrar en cuatro diferentes versiones: *a)* el gen funcional está en el ADNmt; *b)* el gen funcional está en el genoma nuclear; *c)* el gen se encuentra fragmentado en dos, la región 5' se encuentra en la mitocondria y la región 3' se encuentra en el núcleo; o bien *d)* el gen se encuentra fragmentado en dos y ambas regiones se encuentran en el núcleo (24). Estas observaciones indican que la fragmentación de genes en dos genes funcionales, es un factor que contribuye a la migración génica.

La migración de genes desde la mitocondria al núcleo es un proceso que puede dividirse en varios pasos: en primer lugar, el material genético debe atravesar las membranas mitocondriales e ingresar al núcleo a través de los poros de la membrana nuclear. Posteriormente, debe integrarse en el genoma y adquirir elementos de regulación y expresión nucleares. Después de un cierto período durante el cual tanto el gen mitocondrial como la copia nuclear son funcionales, cualquiera de las dos copias puede ser silenciada y eventualmente eliminada (Figura 3). Se han estudiado diversos modelos en los que se observan etapas

intermedias de la relocalización, lo que nos permite conocer algunos de los patrones que rigen este fenómeno.

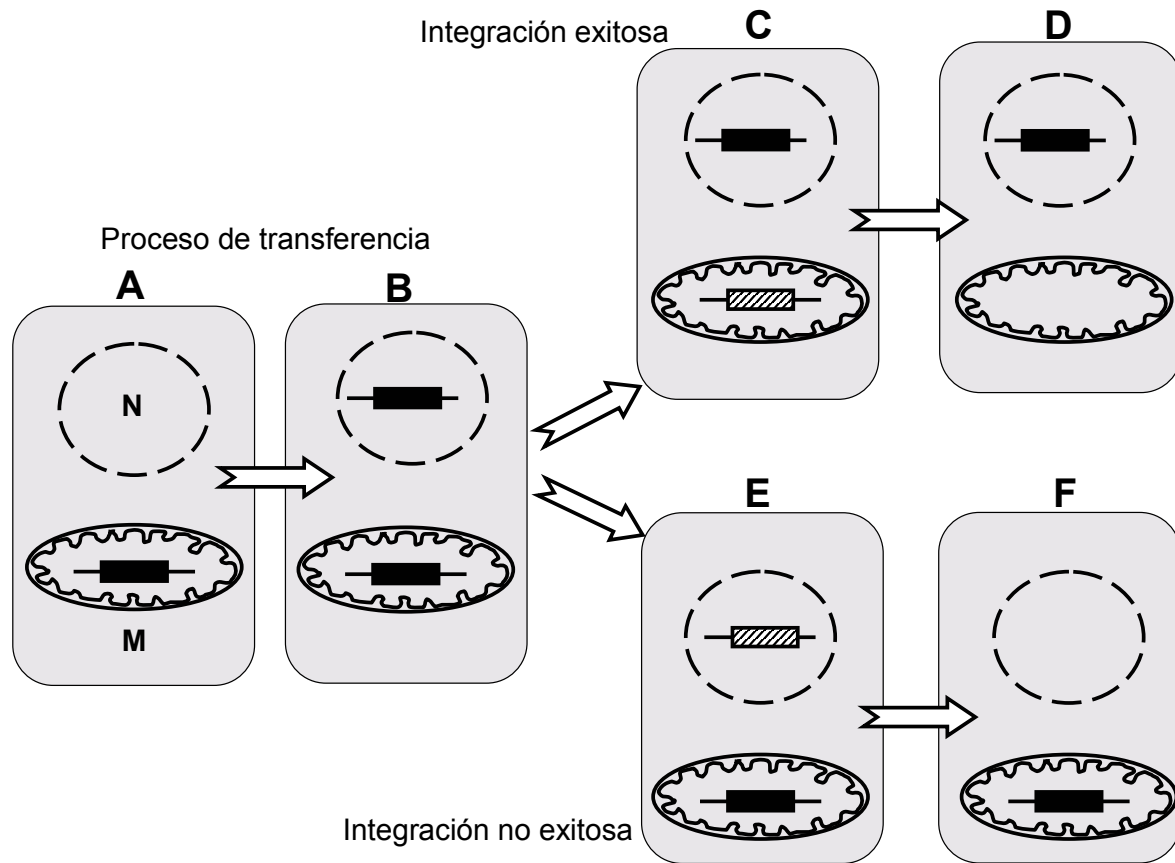


Figura 3. *Migración de genes mitocondriales al núcleo.* La mitocondria (M) y el núcleo (N) se esquematizan. A) Un gen mitocondrial activo. Todavía no existe una copia del mismo en el genoma nuclear. B) Una copia del gen mitocondrial migra al núcleo. Si se integra exitosamente y se activa (adquiriendo una secuencia que codifique una presecuencia mitocondrial), coexistirán por un tiempo ambos genes expresados. C) Si la expresión del gen que migró al núcleo fué exitosa, la copia mitocondrial se inactiva, y puede eventualmente desaparecer (D). E) La integración del gen migrante en el núcleo no es exitosa y permanece como un pseudogen, o eventualmente desaparece (F). En este caso el gen original mitocondrial permanece activo.

a) Salida del material genético mitocondrial

En primer lugar, debe existir una amplia disponibilidad del material genético, ya que en principio los segmentos de ADN transferibles pueden incluir cualquier región del genoma mitocondrial. Esto se resuelve de manera muy sencilla gracias a la redundancia de organelos: en general se localizan varias mitocondrias en cada célula y cada mitocondria a su vez, contiene un número variable de genomas. Estas dos características permiten que exista una fuente continua

de moléculas de ADN disponibles para migrar. Se ha encontrado que el tamaño de los fragmentos mitocondriales transferidos al núcleo en varias especies van desde 31 pares de bases (25) hasta 270 kb (26). Este último valor representa un caso único, en el cual el 75% del genoma mitocondrial en *Arabidopsis thaliana* migró y se integró en el núcleo. La relocalización del material genético también puede suceder a partir de transcritos mitocondriales (ARNm) los cuales deben encontrarse en abundancia. En la migración mediada por ARNm solo se transfiere la información madura, ya que se eliminan los intrones (27). La migración de información genética en forma de ARN requerirá un paso ulterior de transcripción reversa, de tal manera que sea finalmente una molécula de ADN la que se integre en el genoma nuclear.

La migración del material genético implica su salida de la mitocondria, que podría suceder a través de rompimientos temporales de las membranas mitocondriales. El escape del ADNmt también puede suceder a través de la formación de una vacuola que contenga un fragmento de ADN. Algunos estudios citológicos han mostrado que existen asociaciones físicas directas entre las membranas nuclear y mitocondrial (28), las cuales podrían favorecer la migración de genes. También se ha relacionado la transferencia de material genético con factores del medio ambiente que rodea a las células, como cambios en la fuente de carbono disponible o en la temperatura, los cuales pueden modificar la fluidez de las membranas mitocondriales (29).

En *S. cerevisiae* se ha observado que la migración de genes mitocondriales al núcleo puede ocurrir durante el transcurso de la vida de un solo organismo, lo que ha permitido realizar observaciones experimentales directas. En esta levadura, la migración génica es un fenómeno intracelular dependiente del estado del ADNmt y del estado metabólico de la célula, pero no de un intermediario de ARNm. La tasa de escape del ADNmt al núcleo en levadura sucede con una frecuencia de aproximadamente 5×10^{-6} fragmentos por célula por generación; mientras que la tasa de migración inversa, del ADN nuclear hacia la mitocondria, es 100,000 veces menor (29, 30).

Otra forma de migración de fragmentos del ADNmt hacia el núcleo ocurre en el hongo *Podospira anserina*. En este organismo, el envejecimiento celular está relacionado con la migración de genes. Se ha observado que fragmentos discretos de ADNmt son cortados del genoma y permanecen en el interior de las mitocondrias de individuos senescentes formando plásmidos que se replican a una velocidad más acelerada que el resto del genoma mitocondrial. De esta manera, al final de la etapa de envejecimiento estos vectores constituyen la mayor parte del material genético presente. Una fracción de los plásmidos formados migran al núcleo y se integran al genoma nuclear (30).

Otro caso particular de migración de genes al núcleo lo presentan las algas clorofíceas, como *Chlamydomonas reinhardtii* y *Polytomella* sp. En la mayoría de los organismos eucariotes, las tres subunidades más grandes de la citocromo c oxidasa (COXI, COXII, COXIII) se encuentran codificadas en el ADNmt en los genes correspondientes *cox1*, *cox2*, y *cox3*, y son sintetizadas en la matriz mitocondrial. En las algas clorofíceas, las subunidades COXII y COXIII se encuentran codificadas en el genoma nuclear. Además, el gen *cox2* de las algas clorofíceas se escindió en dos genes independientes, denominados *cox2a* y *cox2b* (31). El gen *cox2a* codifica para la subunidad COXIIA, que corresponde al extremo amino terminal y a la región hidrofóbica (transmembranal) de una subunidad COXII ortodoxa. Por su parte, el gen *cox2b* codifica para la proteína COXIIB, equivalente a la porción soluble, que une al centro diatómico de

cobre Cu_A en una subunidad COXII tradicional. Se piensa que ambas subunidades son importadas al interior de la mitocondria y se ensamblan de manera no covalente para formar un heterodímero estructural y funcionalmente equivalente a la subunidad COXII tradicional (31). Este es el primer ejemplo en la literatura de un gen mitocondrial que codifica para un componente de la FOS-OX que fue escindido en dos fragmentos funcionales, los cuales migraron independientemente y se relocalizaron en diferentes sitios del genoma nuclear.

b) Inserción del material genético mitocondrial en el genoma nuclear

Una vez que un fragmento de ADN ha salido de la mitocondria puede entrar al núcleo fácilmente. Los genes migrantes pueden integrarse en el genoma nuclear a través de varios mecanismos, que incluyen fusión en los extremos (25), recombinación homóloga (32) y recombinación no homóloga (33). En estos tres mecanismos se ha propuesto que la integración de los genes migrantes se lleva a cabo en regiones que no interfieren con la actividad de los genes nucleares, como en intrones, en regiones adyacentes, o en regiones teloméricas (25). Sin embargo, como se describe más adelante, hay excepciones: existen genes mitocondriales que migraron y se insertaron en los marcos de lectura abiertos de los genes nucleares, interrumpiéndolos e inactivándolos.

c) Activación del gen relocalizado en el núcleo

Una vez que el gen mitocondrial se ha insertado en el genoma nuclear, debe sufrir ciertas modificaciones para poder expresarse. Estos cambios consisten en la adquisición de secuencias que codifiquen para presecuencias mitocondriales, cambios en el uso de codones, adquisición de promotores, y de señales de poliadenilación. Algunas de estas modificaciones se discuten a continuación:

i) Adquisición de una presecuencia que codifique para un péptido señal que le permita a la proteína ingresar a la mitocondria. La proteína mitocondrial sintetizada en el citosol debe ser dirigida hacia el interior de la mitocondria. Se ha planteado que las presecuencias mitocondriales pueden adquirirse: 1) como resultado de un reordenamiento de ADN que coloca, al azar, presecuencias mitocondriales potenciales en el extremo 5' de algunos marcos abiertos de lectura (34); 2) por la modificación puntual de los extremos amino terminales de algunas proteínas que pueden generar una secuencia importadora funcional (35); ó 3) por un mecanismo de duplicación y recombinación de presecuencias ya existentes (36). Se ha sugerido que cualquier genoma nuclear contiene un número de secuencias latentes que podrían funcionar como presecuencias mitocondriales (37). En otro tipo de experimentos, se hicieron fusiones génicas entre fragmentos al azar del genoma de *Escherichia coli* y genes que codifican a proteínas mitocondriales, y se estudió la importación de las proteínas quiméricas correspondientes. Se encontró que aproximadamente un 2.5% de las clonas de *E. coli* mostraron la capacidad de codificar una presecuencia capaz de dirigir a las proteínas correspondientes hacia la mitocondria (34). Esto denota la extrema versatilidad de las presecuencias mitocondriales, las cuales para poder funcionar, requieren solamente de una estructura secundaria helicoidal, cargada positivamente anfifílica, aún cuando la estructura primaria esté poco conservada. La estructura anfifílica es importante para reconocer y unirse a los receptores localizados en la membrana externa mitocondrial. La carga neta positiva puede ser necesaria para el proceso de importación a través de la membrana interna mitocondrial (38). Un caso extraordinario de adquisición de péptido señal es el ilustrado por el gen *sdh3* de *Arabidopsis* (que codifica una subunidad de la succinato

deshidrogenasa) y que migró de la mitocondria al núcleo, insertándose en una de las dos copias del gen *hsp70* (que codifica para una chaperona mitocondrial). La inserción del gen *sdh3* interrumpió a uno de los dos genes *hsp70*, inactivándolo, pero manteniendo intacta a la región que codifica para la presecuencia de *hsp70*. De esta manera, el gen migrante *sdh3* adquirió una región preexistente que codifica un péptido señal que le permite a la proteína SDH3 ingresar a la mitocondria (39). Otro ejemplo interesante es el del gen mitocondrial migrante *rps14* del arroz, el cual se insertó en un intrón del gen nuclear *sdh2*, y adquirió una región codificante para presecuencia mitocondrial por procesamiento alternativo de los ARNm (40). Así, la misma presecuencia mitocondrial de la proteína RPS14 funciona tanto para la propia RPS14 como para la SDH2.

Las presecuencias identificadas en las proteínas mitocondriales COXIII, COXIIA, ATP6 y NAD4L codificadas en el núcleo del alga *C. reinhardtii* (31, 41, 42) son particularmente largas, de 107, 133, 119 y 143 residuos de aminoácidos respectivamente, y son ricas en alaninas, prolinas, y en residuos cargados positivamente, especialmente argininas. En *S. cerevisiae* se ha observado que la duplicación de las presecuencias mitocondriales favorece la importación *in vivo* e *in vitro* de proteínas hidrofóbicas a la mitocondria (43), tal vez porque mejora de alguna manera la interacción entre el precursor y la maquinaria de importación (44). Una presecuencia larga también podría alterar el plegamiento de la proteína como lo hace una chaperona, aumentando su capacidad de importación (45). En general, las presecuencias mitocondriales tienen dos sitios de edición, y el fenómeno de importación al interior de la mitocondria involucra a tres regiones diferentes de la presecuencia: el primer segmento dirige a la proteína hasta la mitocondria; la segunda sección guía a la proteína hasta la matriz mitocondrial, y el tercer segmento lleva a la proteína hasta la membrana interna mitocondrial (46).

ii) Modificación del uso de codones – Los cambios en el uso de codones que sufrieron los genes migrantes son particularmente evidentes en el caso de *C. reinhardtii*. Esta alga verde utiliza el código genético universal tanto en la mitocondria como en el núcleo, hecho que facilita la migración de genes. Sin embargo, el uso preferencial de codones utilizado en el núcleo es radicalmente distinto al uso de codones mitocondrial. El genoma nuclear tiene un alto contenido de G + C y por lo tanto los codones más utilizados son aquellos que presentan una G o una C en la tercera posición. Todos los genes que migraron de la mitocondria al núcleo de esta alga verde (los genes *cox3*, *cox2a*, *cox2b*, *atp6* y *nad4L*), presentan un uso de codones claramente nuclear, lo que sugiere que una vez integrados en el núcleo, su secuencia original sufrió numerosas modificaciones (31, 41, 42).

Para que una migración sea exitosa, el gen mitocondrial relocado en el genoma nuclear debe activarse y convertirse en un gen funcional. Si por alguna razón no se llevan a cabo las modificaciones necesarias para activarlo, el gen puede desaparecer, o bien permanecer en el genoma nuclear como un pseudogene. En algunos grupos de organismos la migración de genes al núcleo y su activación funcional parece haber cesado en algún momento de la evolución. Tal es el caso de los vertebrados, los cuales muestran un contenido génico prácticamente constante (47). Una de las razones por las cuales la migración de genes mitocondriales al núcleo se ha detenido en los animales y no en las plantas, podría relacionarse con la diferencia que existe entre el código genético de las mitocondrias animales y el código genético universal que se emplea en el núcleo celular, ya que en las plantas no existe tal diferencia (48).

Es interesante hacer notar que existen copias de genes mitocondriales que se localizan actualmente en los genomas nucleares de los vertebrados en la forma de pseudogenes, y que podrían sugerir que han existido migraciones no exitosas, en las cuales los genes se integraron, pero nunca se activaron (o bien se activaron pero sus productos proteicos nunca pudieron importarse correctamente al interior de la mitocondria, por lo que eventualmente se inactivaron) (49). En el genoma nuclear de los primates se localizan pseudogenes de *cob* y en los seres humanos, se han identificado numerosos pseudogenes de *cox1* y *cox2*. Dichas secuencias se consideran “fósiles moleculares” que representan migraciones al núcleo que no fueron exitosas (50). La presencia de estos pseudogenes mitocondriales en el genoma nuclear ilustra una vez más la tendencia de la mitocondria a exportar su material genético hacia el núcleo.

d) Pérdida del gen original

Durante un periodo probablemente corto, el gen mitocondrial y el gen migrante establecido en el núcleo deben expresarse simultáneamente. Dependiendo del azar y de la tasa de mutación de cada genoma, eventualmente algunas de las dos copias del gen se silenciará y se eliminará. La eliminación de un gen es un fenómeno paulatino durante el cual se van perdiendo y editando fragmentos, hasta que llega un momento en que su transcripción desaparece. La inactivación de los genes también puede suceder por la introducción de un codón de término en la secuencia nucleotídica (27,36). En cualquier caso, eventualmente el gen se elimina por completo y desaparece de alguno de los dos genomas (Figura 2).

Como se mencionó la tasa de migración de material genético desde la mitocondria hacia el núcleo es mucho mayor que en el sentido inverso. Sin embargo, aunque es un fenómeno raro, existen algunos ejemplos de la adquisición de genes foráneos por la mitocondria, dos de ellos son los que se describen a continuación (51):

i) En el genoma mitocondrial de *Arabidopsis thaliana* se encuentran 16 secciones que corresponden a fragmentos de ADN del cloroplasto, fragmentos de genes nucleares, retrotransposones y secuencias de origen viral. Algunos de los genes contenidos en estos fragmentos son funcionales, por ejemplo, seis de los genes que codifican a ARNt de origen cloroplastídico, ahora residen en el genoma mitocondrial.

ii) En el genoma mitocondrial de ciertos corales existe un gen que podría codificar una proteína involucrada en el proceso de reparación del ADN (similar a la proteína MutS). Se ha planteado que este gen es de origen mitocondrial y en algún momento se transfirió al núcleo, donde se diversificó y originó una familia de seis genes. Finalmente uno de ellos se reintegró al genoma mitocondrial, donde se localiza actualmente.

Es evidente que la migración de genes desde la mitocondria hasta el núcleo es un proceso complejo que requiere de cambios importantes en los genes migrantes. El proceso nos lleva a postular dos preguntas: *i)* ¿Qué presiones evolutivas favorecen la migración de genes mitocondriales al núcleo? *ii)* ¿Qué ha ocasionado que en los genomas mitocondriales permanezcan ciertos genes? Actualmente, estas dos preguntas no pueden ser contestadas con precisión, pero algunas ideas nos permiten acercarnos a posibles respuestas.

¿QUÉ FAVORECE LA MIGRACIÓN DE GENES MITOCONDRIALES AL NÚCLEO?

Una de las hipótesis planteadas parte del hecho de que en los organelos suceden reacciones de óxido reducción que pueden incrementar la tasa de mutación génica inducida por la presencia de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, por lo que la información genética podría conservarse de mejor manera estando en un ambiente como el nuclear (52). Sin embargo, esto no es necesariamente cierto para los hongos y las plantas, cuyos genes nucleares tienen tasas de mutación más altas que los mitocondriales (53).

Otra explicación toma como base el que las mitocondrias se reproducen exclusivamente de manera asexual. Cuando no existe reproducción sexual en un grupo de organismos (en este caso de organelos), no existe recombinación genética y por lo tanto, la producción de mutaciones letales o de pérdidas en el genoma suceden de manera irreversible. Eventualmente la acumulación de mutaciones llevaría a la extinción de los organelos. Cuando un gen migra al núcleo, se mueve de un ambiente predominantemente asexual hacia un genoma con recombinación sexual. Sin embargo, en organismos como la levadura *S. cerevisiae* el ADNmt presenta una alta tasa de recombinación que puede ser usada como mecanismo de reparación de lesiones del genoma mitocondrial (54).

¿QUÉ FAVORECE QUE CIERTOS GENES PERMANEZCAN EN EL GENOMA MITOCONDRIAL?

La migración de genes de los organelos al núcleo es el resultado de un proceso indispensable para el establecimiento de simbiosis metabólicas estables. Este fenómeno está ampliamente documentado tanto en mitocondrias como en cloroplastos (55). En principio, los mismos procesos que han hecho que la mayor parte de los genes mitocondriales hayan migrado al núcleo deberían estar actuando sobre los genes que aún permanecen en las mitocondrias. Esto nos puede llevar a concluir que todos los genes mitocondriales deberían eventualmente migrar hacia el núcleo. Un ejemplo de esta posible migración total lo representan los hidrogenosomas (56). Se piensa que estos organelos, presentes en algunos protistas amitocondriados, se originaron a partir de las mitocondrias. La mayoría de los hidrogenosomas reportados hasta ahora carecen de material genético, representando un caso extremo de migración total; tal vez porque el proceso de fosforilación oxidativa no existe en estos organelos y por lo tanto los genes que participan en esta vía, y que se encontraban en la mitocondria se perdieron sin ninguna dificultad. Sin embargo, todas las mitocondrias estudiadas a la fecha poseen un genoma, y como se mencionó, el contenido mínimo de genes es más o menos conservado entre las diferentes especies.

Existen varias hipótesis acerca de por qué en los genomas mitocondriales se conserva todavía un conjunto limitado de genes. Una posible explicación ha sido que en las mitocondrias de algunos organismos se utiliza un código genético diferente al código genético que se emplea en el genoma nuclear. Esta heterogeneidad de lenguajes, podría evitar la expresión de los genes mitocondriales relocalizados en el núcleo. Sin embargo, esto no explica por qué cierto grupo de genes permaneció en los genomas mitocondriales durante la migración masiva de genes hacia el núcleo, cuando el fenómeno de endosimbiosis apenas comenzaba y no existían diferencias en los códigos genéticos.

Otro proceso que también podría detener la migración de genes mitocondriales al núcleo, es que algunos genes mitocondriales, especialmente en plantas y en tripanosomátidos, se han establecido patrones complejos de procesamiento, como la edición del ARNm, que haría imposible el procesamiento del gen en un ambiente nuclear. Sin embargo, este problema se solucionaría si el vehículo intermediario entre el genoma mitocondrial y el genoma nuclear fuera la molécula ya editada de ARNm (57).

También se ha planteado que en la mitocondria permanecen aquellos genes cuya expresión se regula por el estado redox de sus productos o de los acarreadores de electrones con los cuales interactúan. Esto permitiría que la célula disponga de una localización adecuada del gen que codifica proteínas cuya función demanda un control regulatorio rápido, directo e independiente de otros compartimentos y procesos celulares (52). En esta hipótesis, se asume que los genomas mitocondriales ya exportaron todos los genes potencialmente exportables.

Otra hipótesis que explica la permanencia de ciertos genes en el ADNmt toma en consideración la hidrofobicidad de los productos proteicos correspondientes. Las proteínas codificadas en los ADNmt son generalmente aquellas que se localizan en la membrana interna mitocondrial y que se caracterizan por ser altamente hidrofóbicas. Se ha propuesto que la síntesis en el citosol de este tipo de proteínas podría ocasionar que no se dirigieran al compartimento celular adecuado (por ejemplo, que se insertaran en las membranas del retículo endoplásmico en lugar de hacerlo en las mitocondrias). Además, al tratarse de polipéptidos hidrofóbicos podría ocurrir que el transporte a través del sistema de membranas mitocondrial resultara imposible, o bien que los productos proteicos se agregaran irreversiblemente (58). Se ha propuesto que las proteínas altamente hidrofóbicas, no pueden ser importadas correctamente a la mitocondria (45); por lo que deben ser sintetizadas en el interior del organelo para ser insertadas a la membrana interna mitocondrial y adquirir la conformación topológica necesaria para su acoplamiento correcto en el complejo respiratorio al que pertenecen. Hay dos ejemplos de proteínas que se han conservado en los genomas mitocondriales de todos los organismos caracterizados hasta la fecha: el gen *cob* que codifica un citocromo tipo b de ocho cruces transmembranales y el gen *cox1* que codifica la subunidad I de la citocromo c oxidasa que tiene doce cruces transmembranales. Aquellos organismos que poseen complejo I (NADH-ubiquinona oxidorreductasa), también contienen varios de los genes *nad* en su genoma mitocondrial (los genes *nad1*, *nad2*, *nad3*, *nad4*, *na4L* y *nad5*), que codifican para proteínas altamente hidrofóbicas con 3 a 16 cruces transmembranales.

En *S. cerevisiae* se han realizado estudios *in vivo* intentando dirigir hacia la mitocondria construcciones citoplásmicas de longitudes variables del citocromo *b*; mostrando que la importabilidad de los polipéptidos no se encuentra forzosamente relacionada al número de cruces transmembranales que posea (45). Estos estudios sugirieron que los parámetros críticos son el promedio máximo de hidrofobicidad de una cadena de entre 60 y 80 residuos de aminoácidos (*mesoH*) y la hidrofobicidad máxima de las regiones transmembranales. Estos valores son indicadores de la facilidad o dificultad con la que una proteína puede ser importada a la mitocondria. De acuerdo a estos parámetros, las proteínas de origen nuclear ATP6, NAD4L, COXIII, COXIIA y COXIIB del alga *C. reinhardtii* tienen una hidrofobicidad reducida que permite su importación a la mitocondria. Los análisis de hidropatía realizados para las subunidades COXIII y ATP6 mostraron que la reducción de la hidrofobicidad sucede preferentemente en aquellos segmentos transmembranales que no están involucrados en la función de la subunidad ni en interacciones importantes subunidad-subunidad (31, 42).

La gran importancia de la disminución de la hidrofobicidad lo ilustra el caso de la subunidad COXII de leguminosas. Todas las leguminosas que exhiben genes *cox2* tanto nucleares como mitocondriales, muestran una hidrofobicidad disminuída en el primer segmento transmembranal de la proteína COXII codificada en el núcleo con respecto a la codificada en la mitocondria (es decir, la proteína mitocondrial es siempre más hidrofóbica que la nuclear). Con técnicas de ingeniería genética, Daley y col. (59) expresaron la COXII mitocondrial con la presecuencia de la COXII nuclear, y observaron que la proteína mitocondrial no ingresaba a la mitocondria. Al mutar dos residuos de la primera región transmembranal de la COXII mitocondrial madura, y sustituirla por los aminoácidos (menos hidrofóbicos) de la COXII nuclear, la proteína ingresó a la mitocondria sin problemas. Por lo tanto, la disminución de la hidrofobicidad en unos cuantos residuos críticos, son suficientes para permitir la importación de una proteína mitocondrial expresada en el núcleo que cuente con una presecuencia.

EXPRESIÓN ALOTÓPICA DE GENES MITOCONDRIALES Y SU POSIBLE APLICACIÓN EN TERAPIAS GÉNICAS MITOCONDRIALES HUMANAS

El genoma mitocondrial humano es una molécula pequeña, circular, de doble cadena que contiene 37 genes. Veinticuatro de estos genes son parte de la maquinaria de traducción mitocondrial (2 ARNr y 22 ARNt) y 13 codifican subunidades de la cadena respiratoria (siete subunidades del complejo I, una subunidad del complejo III, tres subunidades del complejo IV y dos subunidades del complejo V) (17). Las primeras mutaciones patogénicas del genoma mitocondrial humano, fueron descritas en los trabajos de Holt y col. (60) y de Wallace y col. (61). Desde entonces, se han descrito más de cien mutaciones en el genoma humano (62). Desde el punto de vista genético, estas mutaciones del ADNmt pueden caer en tres categorías: *i*) mutaciones en genes que codifican proteínas; *ii*) mutaciones en genes de ARN estructurales como ARNt y ARNr y que por lo tanto afectan todo el proceso de síntesis de proteínas en el organelo; y *iii*) rearrreglos del genoma a gran escala como delecciones o duplicaciones. Estas modificaciones pueden producir diversas condiciones patológicas (63). Es importante mencionar que también se han descrito numerosas enfermedades que se producen por el mal funcionamiento de las mitocondrias pero que involucran genes que se encuentran codificados en el genoma nuclear (64).

Hasta el momento no existe ningún tipo de terapia para los síndromes mitocondriales, solamente existen tratamientos paliativos, como mejoras en la dieta, algunas correcciones quirúrgicas y tratamientos con substituciones de los productos de las vías metabólicas alteradas, que pueden a lo más disminuir los problemas y mejorar la calidad de vida de los pacientes. Una de las razones que dificultan aún más este problema médico ha sido la heterogeneidad de cada uno de los síndromes (64). Se han planteado varias estrategias para desarrollar terapias génicas que puedan corregir las enfermedades mitocondriales (65). Estas estrategias incluyen el introducir genes modificados o productos génicos a la mitocondria a través de la maquinaria de importación proteica (66); o bien por la inhibición del ADNmt alterado por complejos de ácidos nucleicos y proteínas antigenómicas dirigidos a secuencias específicas (67). Otro tipo de terapia génica consiste en colocar en el núcleo una copia “normal” del gen o genes alterados y dirigir los productos que se sintetizan en el citoplasma hacia la mitocondria. Esta activación funcional de un gen en un compartimento celular diferente a su lugar de origen se conoce como expresión alotópica. La expresión alotópica de genes mitocondriales ha sido desarrollada con éxito en *S.*

cerevisiae para reparar defectos en la madurasa de ARN de la matriz mitocondrial b14 (68); para estudiar las funciones de la subunidad ribosomal mitocondrial VARI (69); y para expresar desde el citosol una subunidad ATP8 funcional (70).

En una aproximación hacia una posible terapia génica, Manfredi y col. (71) desarrollaron un modelo de células humanas con mutaciones en el gen mitocondrial *atp6* incapaz de sintetizar ATP. Para poder reparar esta alteración, se rediseñó el gen mitocondrial humano para que utilizara el código genético universal, se le añadieron dos presecuencias mitocondriales diferentes (una de 25 residuos de la subunidad 8 de la citocromo c oxidasa y otra de 61 residuos de una isoforma humana de la subunidad c de la ATPasa) y se insertó la construcción en el genoma nuclear. En este modelo celular se rescató la deficiencia en la síntesis de ATP, sin embargo la eficiencia de importación de la subunidad fué muy baja con cualquiera de las dos MTSs utilizadas. De igual manera, la expresión heteróloga del gen nuclear *atp6* de *C. reinhardtii* ha rescatado la deficiencia en la síntesis de ATP en estas células (72). La expresión alotópica de genes mitocondriales en el núcleo para propósitos de terapia génica debe considerar los cambios apropiados en el uso de codones debido a las diferencias en el código genético entre ambos genomas, así como la adición de una presecuencia mitocondrial capaz de dirigir el producto peptídico sintetizado hacia la mitocondria. Sin embargo, estos dos elementos mostraron no ser suficientes para una expresión alotópica eficiente. Tal vez se facilitaría la importación de proteínas con la disminución en la hidrofobicidad promedio de la proteína sintetizada, principalmente en las regiones transmembranales que no son fundamentales para la función de la proteína. Tomar el ejemplo de *C. reinhardtii* como base para decidir en qué regiones deberían hacerse las modificaciones podría facilitar el trabajo, ya que en este organismo la disminución de hidrofobicidad se ha hecho de manera natural, manteniendo inalterada la función de las proteínas, a pesar de que los genes que las codifican hayan migrado de un compartimento celular a otro. Como puede verse, las expectativas de alcanzar el éxito, parecen cada vez más cercanas. Así, la posibilidad de aplicar terapia génica para el tratamiento de los desordenes mitocondriales podría ser realidad en un futuro cercano.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo técnico de la Q.B.P. Miriam Vázquez-Acevedo para la realización de las investigaciones realizadas en nuestro laboratorio, y el apoyo económico de CONACyT (40696) y DGAPA-UNAM (IN207201).

REFERENCIAS

1. Margulis L (1970) The origin of Eucaryotic cells. Yale University Press. New Haven, USA.
2. Andersson SG, Karlberg O, Canback B, Kurland CG (2003) On the origin of mitochondria: a genomics perspective. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 358:165-179.
3. Lang BF, Gray MW, Burger G (1999) Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. Annu Rev Genet 33:351-397.
4. Martin W, Muller M (1998) The hydrogen hypothesis for the first eukaryote. Nature 392:37-41.
5. Martin W, Russel MJ (2003) On the origins of cells: a hypothesis for the evolutionary transitions from abiotic geochemistry to chemoautotrophic prokaryotes, and from prokaryotes to nucleated cells. Phil Trans R Soc Lond B 358:59-85.

6. Moreira D, López-García P (1998) Symbiosis between methanogenic archaea and δ -proteobacteria as the origin of eukaryotes: the syntrophy hypothesis. *J Mol. Evol.* 47:517-530.
7. Gray MW, Burger G, Lang BF (1999) Mitochondrial evolution. *Science* 283:1476-1481.
8. Springer N, Amann R, Ludwig W, Schleifer KH, Schmidt H (1996) *Polynucleobacter necessarius*, an obligate bacterial endosymbiont of the hypotrichous ciliate *Euplotes aediculatus*, is a member of the beta-subclass of Proteobacteria. *FEMS Microbiol Lett* 135:333-336.
9. von Dohlen CD, Kohler S, Alsop ST, McManus WR (2001) Mealybug beta-proteobacterial endosymbionts contain gamma-proteobacterial symbionts. *Nature* 412:433-436.
10. Pak JW, Jeon KW (1997) A symbiont-produced protein and bacterial symbiosis in *Amoeba proteus*. *J Eukaryot Microbiol* 44:614-619.
11. Nass S, Nass MMK (1963) Ultramitochondrial fibers with DNA characteristics. *J Cell Biol* 19:593-629.
12. Karlberg O, Canbäck B, Kurland CG, Andersson SGE (2000) The dual origin of the yeast mitochondrial proteome. *Yeast* 17:170-187.
13. Marc P, Margeot A, Devaux F, Blugeon C, Corral-Debrinski M, Jacq C (2002) Genome-wide analysis of mRNAs targeted to yeast mitochondria. *EMBO Rep* 3:159-164.
14. Feagin JE (2000) Mitochondrial genome diversity in parasites. *Int J Parasitol* 30:371-390.
15. Stern DB, Newton KJ (1985) Mitochondrial gene expression in Cucurbitaceae: conserved and variable features. *Curr Genet* 9:395-404.
16. Lang B F, Burger G, O'Kelly C J, Cedergren R, Golding G B, Lemieux C, Sankoff D, Turmel M, Gray M W (1997) An ancestral mitochondrial DNA resembling a eubacterial genome in miniature. *Nature* 387:493-497.
17. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich DP, Roe BA, Sanger F, Schreier PH, Smith AJ, Staden R, Young IG (1981) Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290:457-465.
18. Hodges PE, McKee AHZ, Davis BP, Pasyne WEB, Garrels JI 1999, Yeast Protein database (YPD): a model for the organization and presentation of genome-wide functional data. *Nucleic Acids Res* 27:69-73.
19. Herrmann JM (2003) Converting bacteria to organelles: evolution of mitochondrial protein sorting. *Trends Microbiol* 11:74-79.
20. Rehling P, Pfanner N, Meisinger C (2003) Insertion of hydrophobic membrane proteins into the inner mitochondrial membrane--a guided tour. *J Mol Biol* 326:639-667.
21. Kurland CG, Andersson SG (2000) Origin and evolution of the mitochondrial proteome. *Microbiol Mol Biol Rev* 64:786-820.
22. Adams KL, Song K, Roessler PG, Nugent JM, Doyle JL, Doyle JJ and Palmer JD (1999) Intracellular gene transfer in action: dual transcription and multiple silencings of nuclear and mitochondrial *cox2* genes in legumes. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 13863-13868.
23. Grohmann L, Brennicke A, Schuster W (1992) The mitochondrial gene encoding ribosomal protein S12 has been translocated to the nuclear genome in *Oenothera*. *Nucleic Acids Res* 20:5641-5646.
24. Adams KL, Ong HC, Palmer JD (2001) Mitochondrial gene transfer in pieces: fission of the ribosomal protein gene *rp12* and partial or complete gene transfer to the nucleus. *Mol Biol Evol* 18:2289-2297.
25. Blanchard JL, Schmidt GW (1996) Mitochondrial DNA migration events in yeast and humans: integration by a common end-joining mechanism and alternative perspectives on nucleotide substitution patterns [published erratum appears in *Mol Biol Evol* (1996) 13: 893]. *Mol Biol Evol* 13: 537-548.
26. Stupar RM, Lilly JW, Town CD, Cheng Z, Kaul S, Buell CR, Jiang J (2001) Complex mtDNA constitutes an approximate 620-kb insertion on Arabidopsis thaliana chromosome 2: implication of potential sequencing errors caused by large-unit repeats. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:5099-5103.
27. Brennicke A, Grohmann L, Hiesel R, Knoop V, Schuster W (1993) The mitochondrial genome on its way to the nucleus: different stages of gene transfer in higher plants. *FEBS Lett* 325:140-145.
28. Campbell CL, Thorsness PE (1998) Escape of mitochondrial DNA to the nucleus in *yme1* yeast is mediated by vacuolar-dependent turnover of abnormal mitochondrial compartments. *J Cell Sci* 111:2455-2464.
29. Thorsness PE, Fox TD (1990) Escape of DNA from mitochondria to the nucleus in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature* 346:376-379.

30. Wright RM, Cummings DJ (1983) Integration of mitochondrial gene sequences within the nuclear genome during senescence in a fungus. *Nature* 302:86-88.
31. Pérez-Martínez, X., Antaramian, A., Vázquez-Acevedo, M., Funes, S., Tolkunova, E., d'Alayer, J., Claros, M.G., Davidson, E., King, M.P. and González-Halphen, D. (2001) Subunit II of cytochrome c oxidase in *Chlamydomonas* algae is a heterodimer encoded by two independent nuclear genes. *J Biol Chem* 276:11302-11309.
32. Pichersky E, Logsdon JM Jr, McGrath JM, Stasys RA (1991) Fragments of plastid DNA in the nuclear genome of tomato: prevalence, chromosomal location, and possible mechanism of integration. *Mol Gen Genet* 225:453-458.
33. Sun CW, Callis J (1993) Recent stable insertion of mitochondrial DNA into an *Arabidopsis* polyubiquitin gene by nonhomologous recombination. *Plant Cell* 5:97-107.
34. Baker A, Schatz G (1987) Sequences from a prokaryotic genome or the mouse dihydrofolate reductase gene can restore the import of a truncated precursor protein into yeast mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:3117-3121.
35. Vassarotti A, Stroud R, Douglas M (1987) Independent mutations at the amino terminus of a protein act as surrogate signals for mitochondrial import. *Embo J* 6:705-711.
36. Kadowaki K, Kubo N, Ozawa K, Hirai A (1996) Targeting presequence acquisition after mitochondrial gene transfer to the nucleus occurs by duplication of existing targeting signals. *EMBO J* 15:6652-6661.
37. Kobayashi Y, Knoop V, Fukuzawa H, Brennicke A, Ohyama, K (1997) Interorganellar gene transfer in bryophytes: the functional *nad7* gene is nuclear encoded in *Marchantia polymorpha*. *Mol Gen Genet* 256:589-592.
38. Emanuelsson O, von Heijne G (2001) Prediction of organellar targeting signals. *Biochim Biophys Acta* 1541:114-119.
39. Adams KL, Rosenblueth M, Qiu Y-L, Palmer JD (2001) Multiple losses and transfers to the nucleus of two mitochondrial succinate dehydrogenase genes during angiosperm evolution. *Genetics* 158:1289-1300.
40. Kubo N, Harada K, Hirai A, Kadowaki K (1999) A single nuclear transcript encoding mitochondrial RPS14 and SDHB of rice is processed by alternative splicing: common use of the same mitochondrial targeting signal for different proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:9207-9211.
41. Pérez-Martínez X, Vázquez-Acevedo M, Tolkunova E, Funes S, Claros MG, Davidson E, King MP, González-Halphen D (2000) Unusual location of a mitochondrial gene. Subunit III of cytochrome c oxidase is encoded in the nucleus of *Chlamydomonas* algae. *J Biol Chem* 275:30144-30152.
42. Funes S, Davidson E, Claros MG, van Lis R, Pérez-Martínez X, Vázquez-Acevedo M, King MP, González-Halphen D (2002) The typically mtDNA-encoded ATP6 subunit of the mitochondrial F₁F₀-ATPase is encoded by a nuclear gene in *Chlamydomonas reinhardtii*. *J Biol Chem* 277:6051-6058.
43. Galanis M, Devenish RJ, Nagley P (1991) Duplication of leader sequence for protein targeting to mitochondria leads to increased import efficiency. *FEBS Lett* 282:425-430.
44. Claros MG, Perea J, Jacq C (1996) Allotopic expression of yeast mitochondrial maturase to study mitochondrial import of hydrophobic proteins. *Methods Enzymol* 264:389-403.
45. Claros MG, Perea J, Shu Y, Samatey FA, Popot JL, Jacq C (1995) Limitations to in vivo import of hydrophobic proteins into yeast mitochondria. The case of a cytoplasmically synthesized apocytochrome *b*. *Eur J Biochem* 228:762-771.
46. Daley DO, Adams KL, Clifton R, Qualmann S, Millar AH, Palmer JD, Pratje E, Whelan J (2002) Gene transfer from mitochondrion to nucleus: novel mechanisms for gene activation from Cox2. *Plant J* 30:11-21.
47. Boore JL (1999) Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Res* 27:1767-1780.
48. Adams KL, Daley DO, Qiu YL, Whelan J, Palmer JD (2000) Repeated, recent and diverse transfers of a mitochondrial gene to the nucleus in flowering plants. *Nature* 408:354-357.
49. Wallace DC, Stuard C, Murdock D, Schurr T, Brown MD (1997) Ancient mtDNA sequences in the human nuclear genome: a potential source of errors in identifying pathogenic mutations. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:14900-14905.

50. Collura RV, Stewart CB (1995) Insertions and duplications of mtDNA in the nuclear genomes of Old World monkeys and hominoids. *Nature* 378:485-489.
51. Blanchard JL and Lynch M (2000) Organellar genes: why do they end up in the nucleus? *Trends Genet* 16:315-320.
52. Allen JF (2003) Why chloroplasts and mitochondria contain genomes? *Com Func Genom* 4:31-36.
53. Wolfe KH, Li WH, Sharp PM (1987) Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:9054-9058.
54. Ling F, Morioka H, Ohtsuka E, Shibata T (2000) A role for *MHR1*, a gene required for mitochondrial genetic recombination, in the repair of damage spontaneously introduced in yeast mtDNA. *Nuc Acids Res* 28:4956-4963.
55. Huang CY, Ayliffe MA, Timmis JN (2003) Direct measurement of the transfer rate of chloroplast DNA into the nucleus. *Nature* 422:72-76.
56. Dylla SD, Johnson PJ (2000) Origins of hydrogenosomes and mitochondria: evolution and organelle biogenesis. *Curr Opin Microbiol* 3:404-411.
57. Wischmann C, Schuster W (1995) Transfer of *rps10* from the mitochondrion to the nucleus in *Arabidopsis thaliana*: evidence for RNA-mediated transfer and exon shuffling at the integration site. *FEBS Lett* 374:152-156.
58. von Heijne G (1986) Why mitochondria need a genome. *FEBS Lett* 198:1-4.
59. Daley DO, Clifton R, Whelan J (2002) Intracellular gene transfer: reduced hydrophobicity facilitates gene transfer for subunit 2 of cytochrome c oxidase. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:10510-10515.
60. Holt IJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA (1988) Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature* 331:717-719.
61. Wallace DC, Singh G, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza AM, Elsas LJ 2nd, Nikoskelainen EK (1988) Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science* 242:1427-1430.
62. DiMauro S, Andreu AL (2000) Mutations in mtDNA: are we scraping the bottom of the barrel? *Brain Pathol* 10:431-441.
63. DiMauro S, Schon EA (2001) Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Am J Med Genet* 106:18-26.
64. Zeviani M, Klopstock T (2001) Mitochondrial disorders. *Curr Opin Neurol* 14:553-560.
65. DiMauro S, Hirano M, Schon EA (2000) Mitochondrial encephalomyopathies: therapeutic approaches. *Neurol Sci* 2000:S901-8.
66. Kolesnikova, OA, Entelis NS, Mireau H, Fox TD, Martin RP, Tarassov IA (2000) Suppression of mutations in mitochondrial DNA by tRNAs imported from the cytoplasm. *Science* 289:1931-1933.
67. Taylor RW, Wardell TM, Lightowlers RN, Turnbull DM (2000) Molecular basis for treatment of mitochondrial myopathies. *Neurol Sci* 21:S909-S912.
68. Banroques J, Perea J, Jacq C (1987) Efficient splicing of two yeast mitochondrial introns controlled by a nuclear-encoded maturase. *EMBO J* 6:1085-1091.
69. Sanchirico M, Tzellas A, Fox TD, Conrad-Webb H, Periman PS, Mason TL (1995) Relocation of the unusual VAR1 gene from the mitochondrion to the nucleus. *Biochem Cell Biol* 73:987-995.
70. Gray RE, Law RH, Devenish RJ, Nagley P (1996) Allotopic expression of mitochondrial ATP synthase genes in nucleus of *Saccharomyces cerevisiae*. *Methods Enzymol* 264:369-389.
71. Manfredi G, Fu J, Ojaimi J, Sadlock JE, Kwong JQ, Guy J, Schon EA (2002) Rescue of a deficiency in ATP synthesis by transfer of MTATP6, a mitochondrial DNA-encoded gene, to the nucleus. *Nat Genet* 30:394-399.
72. Ojaimi J, Pan J, Santra S, Snell WJ, Schon EA (2002) An Algal Nucleus-encoded Subunit of Mitochondrial ATP Synthase Rescues a Defect in the Analogous Human Mitochondrial-encoded Subunit. *Mol Biol Cell* 13:3836-3844.

Semblanza del Dr. Diego González-Halphen.



Nació en la Ciudad de México el 11 de Enero de 1956, obtuvo el grado de Ingeniero Bioquímico en la escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, Se graduó de Maestría en Ciencias en Especialidad Bioquímica en 1982, Se doctoró en Ciencias especialidad Bioquímica del INVESTAV IPN en 1985. Realizó estudios postdoctorales en la Universidad de Oregon E.U. del 85 al 88. Es Investigador en el Instituto de Fisiología Celular de la UNAM desde el 88, actualmente es el jefe de departamento de Genética Molecular. Es miembro del SNI nivel, 2, Ha dirigido 6 tesis de licenciatura, 4 de maestría y 5 de Doctorado. Cuenta con 29 publicaciones internacionales y mas de 3000 citas a sus trabajos. Recibió la distinción Jóvenes Académicos de la UNAM en el área de Docencia en Ciencias Naturales.