Biotecnología aplicada, Vol. 7, No. 1, 22-31 (1990)

Especificidad celular en la expresión de los interferones alfa y beta

J. DE LA FUENTE

Agrupación de Genética de Células de Mamíferos, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Apartado postal 6162, La Habana 6, Cuba

Recibido en julio de 1989
Aprobado en octubre de 1989

INTRODUCCION

Los interferones humanos (IFNs) representan un grupo único de proteínas celulares inducibles de amplia acción antiviral, antiproliferativa e inmunorregulatoria (Stewart, 1979; Lengyel, 1982).

Estas proteínas han sido clasificadas en tres grupos antigénicamente diferentes, designados IFN-α, IFN-β e IFN-γ. La inducción de muchos tipos celulares por virus, polirribonucleótidos sintéticos o antígenos virales conduce a la secreción de IFNs (Stewart, 1979), aunque existen evidencias de que ocurre expresión de IFNs α y β en condiciones fisiológicas (Lebon *et al.*, 1982; Bocci *et al.*, 1984; Duc-Goiran *et al.*, 1985; Galabru *et al.*, 1985; Tovey *et al.*, 1987) y después de la inducción por factores fisiológicos como el PDGF, IL-1 y CSF-1 (Moore *et al.*, 1984; Van Damme *et al.*, 1985; Hoss *et al.*, 1989).

El IFN-β es producido generalmente por células fibroblásticas y epiteliales, en tanto que las células mieloides y linfoides, y los leucocitos periféricos, producen una mezcla heterogénea de IFN-α e IFN-β. Esta expresión diferencial de los IFNs α y β en diferentes tipos celulares constituye el objeto de este trabajo.

LA ESPECIFICIDAD CELULAR EN LA EXPRESION DE LOS IFNs α y β ES UNA CONSECUENCIA DE LA TRANSCRIPCION GENICA DIFERENCIAL

Aunque en general se señala que las células epiteliales y fibroblásticas producen exclusivamente IFN-β, mientras que las células mieloides, linfoides y leucocitos periféricos secretan una mezcla de IFNs α y β, un análisis más minucioso revela ciertas particularidades de esta generalización.

En la tabla 1 se representa la expresión de IFN α y β endógenos por diferentes líneas celulares en respuesta a la inducción con virus Sendai.

Como puede apreciarse dentro de las células linfoides, las células T producen exclusivamente IFN-β en respuesta a la inducción viral, mientras que las células B producen generalmente ambos IFNs α y β. No obstante, en células B-linfoides como las Daudi, no se observa producción de IFN-α, mientras que otras líneas celulares B-linfoides derivadas de linfomas malignos, leucemias o transformadas con virus de

Copyright © 1990, Sociedad Iberolatinoamericana para Investigaciones sobre Interferón y Biotecnología en Salud. Publicado por el Palacio de las Convenciones, La Habana, Cuba

Tabla 1
PRODUCCION DE IFN ENDOGENO EN DIFERENTES LINEAS CELULARES

Línea Celular	Origen[2]	Producción de IFN[1]	
		IFN-α	IFN-β
Namalwa	B-linfoide (BL)	+	+
NC-37	B-linfoide (BL)	+	+
Daudi	B-linfoide (BL)	–	+
MOLT-4	T-linfoide (ALL)	–	+
1301	T-linfoide (ALL)	–	+
MG63	fibroblástico (OS)	+/–	+
HeLa	epitelial	–	+
293	epitelial (AdK)	–	+
KG-1	mieloide	+	+
U937	mieloide	+	+
Varias	B-linfoblastoide (EBV)	+	+ o –

[1] Mediante inducción con virus Sendai.
[2] Abreviaturas: *BL*, linfoma de Burkitt; *ALL*, leucemia linfoide aguda; *OS*, osteosarcoma; *AdK*, riñón embrionario transformadas con adenovirus; *EBV*, transformadas con virus de Epstein Barr.

Epstein Barr, producen solamente IFN-α (Adolf y Swetly, 1982). Por otra parte, células de origen fibroblástico como las MG63 producen no solo IFN-β, sino también pequeñas cantidades de IFN-α (Xanthoudakis *et al.*, 1987). Todos estos resultados indican que la especificidad celular en la expresión de los IFNs es un fenómeno más general.Los primeros experimentos que indican que la especificidad celular en la expresión de los IFNs α y β, es el resultado de una transcripción génica diferencial, fueron realizados por Hiscott y colaboradores en 1984 (Hiscott *et al.*, 1984).

Posteriormente, introduciendo genes quiméricos conteniendo las regiones reguladoras de los IFNs α1 y β (Xanthoudakis *et al.*, 1987) o IFNs α2 y β en células epiteliales (293) o linfoides respectivamente, se comprobó que los genes exógenos se comportaban de igual forma que sus contrapartes endógenas. Solo las células capaces de expresar IFN-α o IFN-β endógenos permitían la transcripción de las secuencias reguladoras de estos genes contenidas en las construcciones quiméricas. De esta forma se comprobaba que la expresión célula-específica de los IFNs α y β, está gobernada por las secuencias responsables de la transcripción de estos genes.

¿Cuáles son los mecanismos que controlan la transcripción génica diferencial de los IFNs α y β? Para explicar cómo uno de estos genes permanece silente en algunos tipos celulares podría argumentarse la existencia de un represor específico para este gen en el tipo celular dado, la carencia de factores de regulación necesarios para la transcripción de este gen, o ambos. En estudios realizados por

diferentes grupos aparecen resultados que apoyan estas hipótesis.

Las células progenitoras embrionarias (EC) no diferenciadas son incapaces de producir IFNs α y β en respuesta a virus o ARN de doble cadena, característica que comparten los embriones en los primeros estadios de desarrollo (Haggarty *et al.*, 1988).

Una vez ocurrida la diferenciación celular, estas células adquieren la capacidad de producir IFNs. De esta forma, durante la diferenciación celular ocurre una transición de un estado de incompetencia para la producción de IFN, a uno donde responden a la inducción.

Utilizando extractos de células P19 murinas (diferenciadas y no diferenciadas), se analizaron los patrones de interacción de proteínas con la zona regulatoria del IFN-β (Haggarty *et al.*, 1988). Los resultados obtenidos mostraron la existencia de una actividad de unión a ADN que reconoce las regiones -53 – -109 y -112 – -93 (la numeración respecto al sitio de inicio de la transcripción) en el promotor del IFN-β en células no diferenciadas y que está ausente en células EC y no EC diferenciadas (Haggarty *et al.*, 1988). Por otra parte, fusiones celulares entre células EC no diferenciadas y células diferenciadas capaces de producir IFN, se comportan como el parental de células EC, siendo nuevamente inducibles solo si comienzan a diferenciar (Haggarty *et al.*, 1988).

Este factor identificado en células EC no diferenciadas podría ser un represor y ser el responsable de la represión del IFN endógeno previa diferenciación celular (Haggarty *et al.*, 1988).

De los trabajos realizados en células epiteliales y linfoides con las secuencias reguladoras de los IFNs $\alpha1$, $\alpha2$ y β, aparecen las primeras evidencias que apuntan hacia la carencia de factores de regulación específicos necesarios para la transcripción de un IFN determinado en un tipo celular (Xanthoudakis *et al.*, 1987). Estas primeras evidencias se han visto confirmadas por trabajos más recientes.

En fibroblastos murinos L929 inducidos y no inducidos, existe un factor IRF-1 que interactúa con las secuencias reguladoras del IFN-β (Fujita *et al.*, 1988). Utilizando las secuencias responsables de la máxima inducción viral del IFN-$\alpha1$ (VRE, -64 – -109) como competidor en experimentos de hibridación en geles, se observó que este competía parcialmente por el IRF-1. Esto hace pensar que en la regulación del IFN-$\alpha1$ intervienen otros factores distintos del IRF-1 (Fujita *et al.*, 1988). La ausencia de estos factores en otros tipos celulares podría condicionar la no expresión del IFN-α.

El factor NF-kB fue identificado inicialmente como un factor células B-específico requerido para el funcionamiento del *enhancer* de la Igk (Sen y Baltimore, 1986; Atchison y Perry, 1987; Lenardo *et al.*, 1987). Posteriormente se demostró en células pre-B 70 Z/3 la inducción viral de los genes k e IFN-β, indicando el papel que desempeña el factor NF-kB en la inducción viral del IFN-β (Lenardo *et al.*, 1989). Este resultado fue obtenido independientemente con la inducción por ARN de doble cadena en células MG63 (Visvanathan y Goodbourn, 1989) y por inducción viral en células L929, proponiéndose la acción cooperativa de los factores IRF-1 y NF-kB para la máxima inducción del IFN-β (Fujita *et al.*, 1989a).

Estos experimentos demostraron que la expresión del IFN-β es activada en parte por la inducción de NF-kB mientras el IFN-α, que no es activado por ARN de doble cadena, no contiene sitios de unión para NF-kB y no es regulado por la

inducción de este factor (Lenardo *et al.*, 1989; Visvanathan y Goodbourn, 1989; Fujita *et al.*, 1989a). De esta manera se crea la posibilidad de que la participación diferencial del factor NF-kB en la regulación de los IFNs α y β contribuya a la diferente expresión de estos IFNs en células específicas.

Recientemente, se reportó la clonación de un nuevo gen de IFN-α murino (MuIFN-α8), que presenta un comportamiento diferente a los IFNs-α conocidos (Navarro *et al.*, 1989). Este gen, aunque origina una proteína funcional y con actividad antiviral en células COS, no es inducido por NDV o polirribonucleótidos sintéticos en fibroblastos murinos C243. Un análisis de las secuencias 5' de este gen muestra la presencia de todos los elementos responsables de la regulación e inducción viral de los IFNs. Solo es posible suponer que este gen se exprese en otros tipos celulares, evidenciando la existencia de factores celula-específicos para la regulación de la transcripción de los IFNs (Navarro *et al.*, 1989).

Las evidencias presentadas señalan hacia la posibilidad de que la expresión diferencial de los IFNs α y β sea regulada por la existencia de factores represores en algunos tipos celulares o estados fisiológicos, conjuntamente con las diferencias célula-específica en la concentración, estado o tipo de los factores involucrados en la regulación de estos genes.

DIFERENCIAS EN LA FRONTERA 5' DE LA REGION REQUERIDA PARA LA MAXIMA INDUCCION DEL IFN-β

El análisis de las secuencias de ADN requeridas para la inducción del IFN-β revela diferencias célula-específicas.

En células L929, el grupo de Taniguchi reportó que la frontera 5' crítica para la máxima inducción del IFN-β, residía entre los nucleótidos -117 y -105, y que la inducibilidad era sustancialmente reducida cuando la deleción se extendía hasta -93 (Fujita *et al.*, 1985, 1987). De forma similar, el grupo de Dinter reportó que para mantener la inducibilidad se requerían 84 pares de bases de las secuencias 5' (Dinter *et al.*, 1983, 1987).

Por otra parte, Zinn *et al.* (1983) y Goodbourn *et al.* (1985), concluyeron que la frontera 5' requerida para la inducción se encontraba entre los nucleótidos -77 y -73 (-79 y -75 según la numeración de Fujita *et al.*, 1985) en células murinas C127 transformadas con un vector derivado de virus papiloma bovino. Solo en un sistema transiente en células C127, parecían requerirse, para la máxima inducción, secuencias que se extendían hasta -111 (Goodbourn *et al.*, 1985) (figura 1).

Nosotros, independientemente, encontramos diferencias similares a las ya presentadas trabajando en un sistema transiente en células L929. Utilizando construcciones que contenían la región -39 – -79 del IFN-β (IRE, Goodbourn *et al.*, 1986) unido al promotor de la timidina quinasa (TK -105) del Herpes simplex 1, aparecía en el estado no inducido de represión reportada por Goodbourn *et al.* (1986) pero la inducibilidad era muy baja (figura 2).

Trabajos recientes parecen explicar estas diferencias. Como ya habíamos indicado, el factor IRF-1 está involucrado en la regulación de los IFNs α y β (Fujita *et al.*, 1988, 1989). El IRF-1 se acumula en células L929 no inducidas. La inducción además de provocar la síntesis de IRF-1, modifica los factores preexistentes y resulta en la expresión de los IFNs (Miyamoto *et al.*, 1989) (figura 3). El IRF-1 puede existir en diferentes niveles o en diferentes

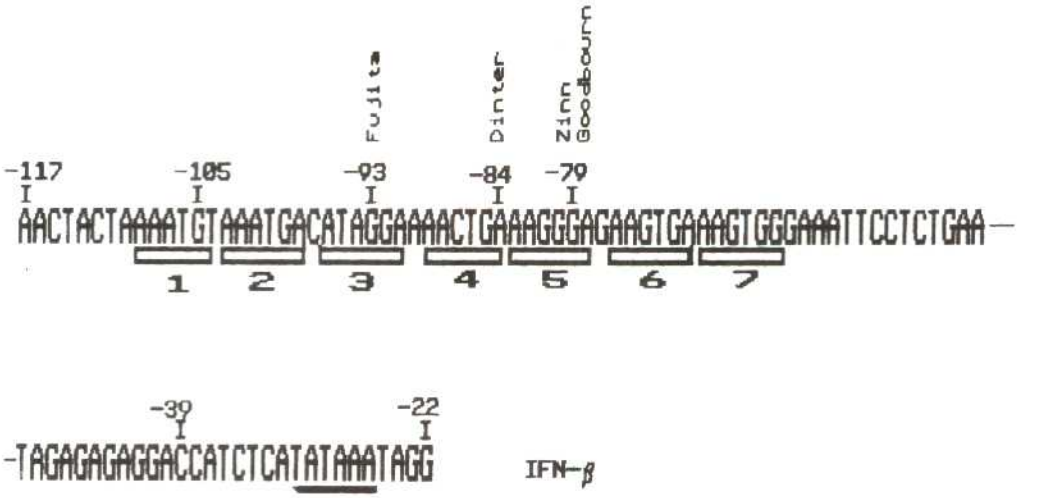

FIG. 1. Análisis de la frontera 5' de la región requerida para la máxima inducción del IFN-β.
Se representa parte de la secuencia de la región 5' del gen del IFN-β humano. La numeración es según Fujita *et al.*, 1985. Las fronteras 5' de la región requerida para la máxima inducción del IFN-β reportadas por varios grupos, están indicadas (Zinn *et al.*, 1983; Goodbourn *et al.*, 1985; Dinter *et al.*, 1983, 1987; Fujita *et al.*, 1987). Los bloques 1-7 corresponden a los hexámeros homólogos presentes en el IFN-β humano (Fujita *et al.*, 1985; 1988).

formas, en función del estado celular. De esta manera, en ciertas circunstancias serían suficientes las secuencias 5' hasta -79 para mantener la inducibilidad, pues estas secuencias contienen la región de mayor afinidad por el IRF-1 (figura 1, bloques 6 y 7). En otras circunstancias, serían necesarias secuencias adicionales para lograr la inducción, posiblemente por la unión cooperativa del IRF-1 (Miyamoto *et al.*, 1988).

El grupo de Maniatis identificó dos elementos virus-inducibles involucrados en la regulación del IFN-β, PRDI y PRDII (Fan y Maniatis, 1989). Haciendo un estudio de los factores que interactúan con estos elementos en los estados inducido y no inducido, propuso un modelo para la regulación del IFN-β en el que está involucrada la modificación de factores positivos preexistentes y la interacción del represor con la región NRDI en el estado no inducido (Goodbourn y Maniatis, 1988; Keller y Maniatis, 1988) (figura 4). Previa inducción, el represor unido a NRDI bloquea la unión de PRDII-BF (sugerido por Miyamoto *et al.* (1988) como similar a IRF-1) a PRDII, evitando la transcripción. Después de la inducción, el represor es removido por su inactivación o aumento en la afinidad de los factores positivos, y la transcripción es activada por la unión de PRDI-BFi y PRDII-BF modificado a sus regiones respectivas (Keller y Maniatis, 1988).

Un estudio individualizado de las regiones PRDI y PRDII, reveló diferencias célula-específicas. Ambos elementos funcionaban esencialmente como constitutivos y poco inducibles por virus en células C127, en tanto que son altamente inducibles en L929. Adicionalmente, PRDII constituye un activador de la transcripción más fuerte que PRDI, mientras este último es el único que posee actividad de silenciador reversible en células L929 (Fan y Maniatis, 1989).

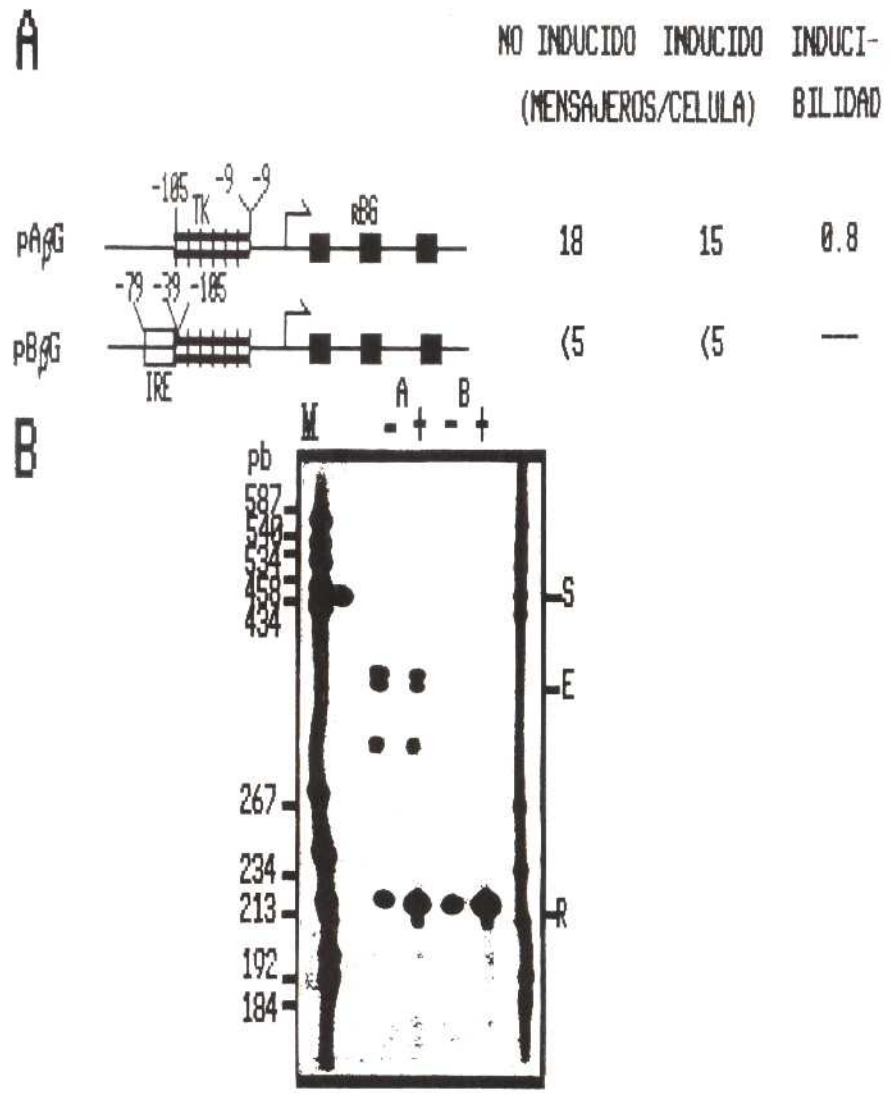

FIG. 2. Secuencias 5' adicionales a -79 son requeridas para alcanzar la máxima inducción del IFN-β en células L929:

A) Células murinas L929 se transfectaron con 20 μg de cada construcción y plasmidio de referencia. Luego de 48 horas post-transfección las células fueron inducidas con virus de la enfermedad de Newcastle (NDV) o no inducidas. Los transcritos correctamente iniciados y procesados fueron analizados por mapeo con nucleasa S1. Los valores están dados en mensajeros por célula. El plasmidio de referencia, la sonda y los métodos experimentales utilizados son los descritos en Kuhl *et al.* (1987). Las construcciones empleadas (pAβG y pBβG) contienen la región -105 – -9 del gen de la timidina quinasa del virus Herpes simplex 1 (TK) unida al -9 del gen de la beta globina de conejo (rBG). El plasmidio pBβG contiene, además, la región -39 – -79 del IFN-β (IRE). Todo en un derivativo de pBR327.

B) Autorradiografía del análisis por mapeo con nucleasa S1 de 40 μg de ARN: "-", no inducidos, "+", inducidos con NDV; *A*,pAβG; *B*,pBβG; *M*,pBR322 digerido con BspI y 32-P-marcado en 5'; *R*,señal del gen de referencia; *S*,sonda no digerida; *E*,señal específica.

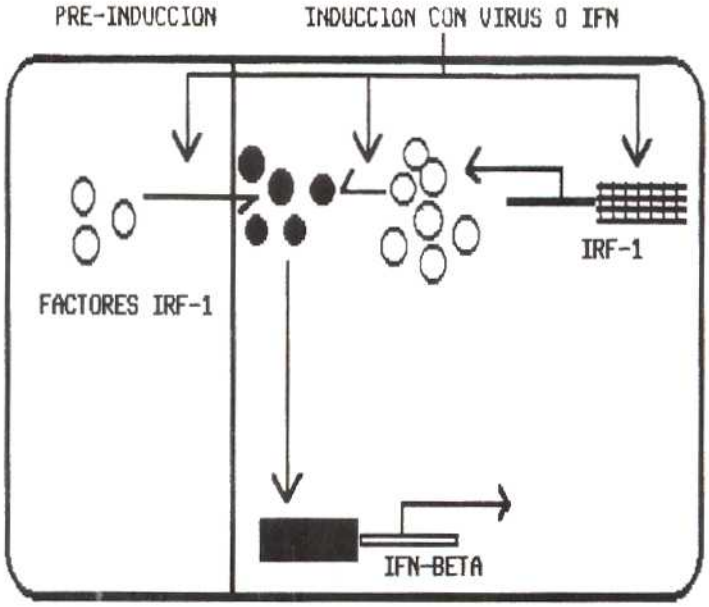

FIG. 3. Papel del factor IRF-1 en la inducción del IFN-β. Después de la inducción con virus o IFN, factores IRF-1 preexistentes son modificados (fosforilados-?). Además de la activación de estos factores preexistentes, la inducción promueve la síntesis de IRF-1 y la consecuente inducción del IFN-β (Fujita *et al.*, 1988, 1989; Miyamoto *et al.*, 1988).

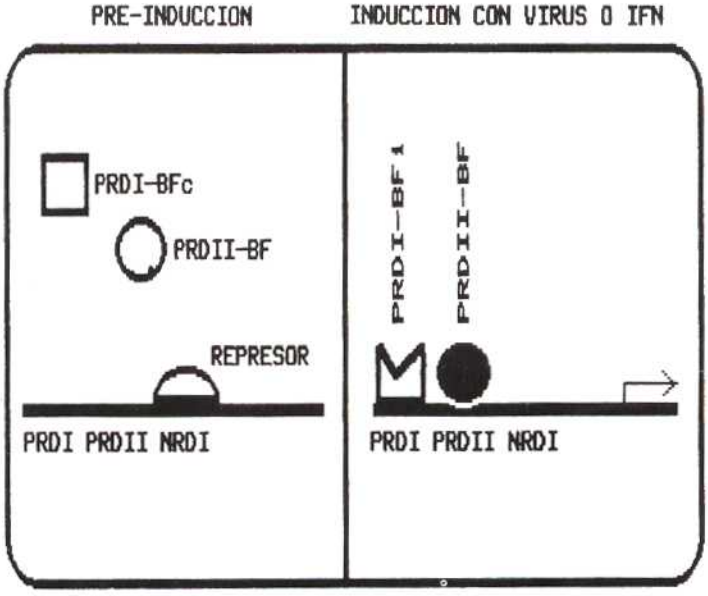

FIG. 4. Interacción de factores de regulación con las regiones de regulación positiva y negativa en el promotor del IFN-β. Previa inducción, el represor unido a la región de regulación negativa (NRDI) evita la unión de PRDII-BF al sitio PRDII y el inicio del proceso de transcripción. Después de la inducción, el represor es removido y la transcripción es activada por la unión de PRDI-BFi y PRDII-BF modificado a los sitios de regulación positiva PRDI y PRDII respectivamente (Keller y Maniatis, 1988; Fan y Maniatis, 1989).

Todas estas evidencias permiten llegar al criterio de que existen diferencias en el tipo, concentración o estado de los factores que interactúan con PRDI y PRDII en los diferentes tipos celulares, condicionando diferencias en las regiones necesarias para alcanzar la inducción.

IFN INDUCE IFN: UNA NUEVA CARACTERISTICA DE LA MAQUINARIA ANTIVIRAL

Como ya hemos analizado, en la regulación de los IFNs α y β intervienen múltiples factores. Algunos de estos factores son comunes para ambos IFNs α y β (Fujita *et al.*, 1988; Xanthoudakis y Hiscott, 1988), mientras otros son más específicos (Fujita *et al.*, 1988, 1989a; Visvanathan y Goodbourn, 1989; Lenardo *et al.*, 1989). El estado, concentración, tipo y actividad de estos factores en un estado o tipo celular determinado, puede condicionar la especificidad celular en la expresión de los IFN α y β.

Por otra parte, la maquinaria celular responsable de la inducción de los IFNs α y β responde no solo a inductores virales, sino también al propio IFN (Enoch *et al.*, 1986; Hug *et al.*, 1988; Fan y Maniatis, 1989; Kessler *et al.*, 1988; Miyamoto *et al.*, 1988).

La importancia que puede tener la presencia de elementos IFN inducidos dentro del promotor del IFN-α o β no se conoce. No obstante, la inducción viral del IFN-β en algunas líneas celulares es aumentada significativamente pretratando las células con IFN-α o β (Stewart, 1979; Enoch *et al.*, 1986). De esta manera, dos señales podrían requerirse para la inducción del IFN en algunos tipos celulares, una que es inducible por IFN y la otra por virus.

La importancia biológica de esta nueva característica de la maquinaria antiviral queda aún por resolver. Sin embargo, es probable que desempeñe también un importante papel en la especificidad celular de la expresión de los IFNs α y β.

AGRADECIMIENTOS

Los resultados reportados como nuestros, fueron obtenidos trabajando en el laboratorio el profesor Ch. Weissmann, en el Instituto de Biología Molecular I de la Universidad de Zurich.

REFERENCIAS

ADOLF, G. y P. SWETLY (1982). *Interferon production in human hematopoietic cell lines: response to chemicals and characterization of interferons.* J. Interferon Res. **2**: 261-270.

ATCHISON, M. y R. PERRY (1987). *The role of the k enhancer and its binding factor NF-kB in the developmental regulation of k gene transcription.* Cell **48**: 121-128.

BOCCI, V.; M. MUSCETTOLA; L. PAULESU y G. GRASSO (1984). *The physiological interferon response. II. Interferon is present in lymph but not in plasma of healthy rabbits.* J. Gen. Virol. **65**: 101-108.

DINTER, H.; H. HAUSER; U. MAYO; R. LAMMERS; W. BRUNS; G. GROSS y J. COLLINS (1983). In: E. De Maeyer y H. Schellekens (eds.). *Biology of the Interferon System 1983.* Elsevier, Amsterdam, pp. 33-34.

DINTER, H. y H. HAUSER (1987). *Cooperative interaction of multiple DNA elements in the human interferon-beta promoter.* Eur. J. Biochem. **166**: 103-109.

DUC-GOIRAN, P.; B. ROBERT-GALLIOT; L. LOPEZ y C. CHANY (1985). *Unusual apparently constitutive interferons and antagonists in human placental blood.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA **82**: 5010-5014.

ENOCH, T.; K. ZINN y T. MANIATIS (1986). *Activation of the human beta interferon gene requieres an interferon-inducible factor.* Mol. Cell. Biol. **6**: 801-810.

FAN, CH-M y T. MANIATIS (1989). *Two different virus-inducible elements are required for human beta-interferon gene regulation.* The EMBO J. **8**: 101-110.

FUJITA, T.; S. OHNO; H. YASUMITSU y T. TANIGUCHI (1985). *Delimination and properties of DNA sequences required for the regulated expression of human interferon-beta gene.* Cell **41**: 489-496.

FUJITA, T.; H. SHIBUYA; H. HOTTA; K. YAMANISHI y T. TANIGUCHI (1987). *Interferon-beta gene regulation: tandemly repeated sequences of a synthetic 6 bp oligomer function as a virus-inducible enhancer.* Cell **49**: 357-367.

FUJITA, T.; J. SAKAKIBARA; Y. SUDO; M. MIYAMOTO; Y. KIMURA y T. TANIGUCHI (1988). *Evidence for a nuclear factor(s), IRF-1, mediating induction and silencing properties to human IFN-beta gene regulatory elements.* The EMBO J. 7: 3397-3405.

FUJITA, T.; Y. KIMURA; M. MIYAMOTO; E. L. BARSOUMIAN y T. TANIGUCHI (1989). *Induction of endogenous IFN-alpha and IFN-beta genes by a regulatory transcription factor, IRF-1.* Nature **337**: 270-272.

FUJITA, T.; M. MIYAMOTO; Y. KIMURA; J. HAMMER y T. TANIGUCHI (1989a). *Involvement of a cis-element that binds an H2TF-1/NFkB like factor(s) in the virus-induced interferon-beta gene expression.* Nucleic Acids Res. **17**: 3335-3346.

GALABRU, J.; N. ROBERT; C. BUFFET-JANVRESSE; Y. RIVIERE y A. G. HOVANESSIAN (1985). *Continuous production of interferon in normal mice: effect of anti-interferon globulin, sex, age, strain and environment on the levels of 2-5A synthetase and p67K kinase.* J. Gen. Virol. **66**: 711-718.

GOODBOURN, S.; K. ZINN y T. MANIATIS (1985). *Human beta-interferon gene expression is regulated by an inducible enhancer element.* Cell **41**: 509-520.

GOODBOURN, S.; H. BURSTEIN y T. MANIATIS (1986). *The human beta-interferon gene enhancer is under negative control.* Cell **45**: 601-610.

GOODBOURN, S. y T. MANIATIS (1988). *Overlapping positive and negative regulatory domains of the human beta-IFN gene.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA **85**: 1447-1451.

HAGGARTY, A.; A. PONTON; G. PATERNO; L. DAIGNEAULT y D. SKUP (1988). *An embryonic DNA-binding protein specific for a region of the human IFN-beta1 promoter.* Nucleic Acids Res. **16**: 10575-10592.

HISCOTT, J.; K. CANTELL y C. WEISSMANN (1984). *Differential expression of human interferon genes.* Nucleic Acids Res. **12**: 3727-3746.

HOSS, A.; E. ZWARTHOFF y R. ZAWATZKY (1989). *Differential expression of interferon alpha and beta induced with Newcastle Disease virus in mouse macrophage cultures.* J. Gen. Virol. **70**: 575-589.

HUG, H.; M. COSTAS; P. STAEHELI, M. AEBI y C. WEISSMANN (1988). *Organization of the murine Mx gene and characterization of its interferon- and virus-inducible promoter.* Mol. Cel. Biol. **8**: 3065-3079.

KELLER, A. D. y T. MANIATIS (1988). *Identification of an inducible factor that binds to a positive regulatory element of the human beta-interferon gene.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA **85**: 3309-3313.

KESSLER, D. S.; D. E. LEVY y J. E. DARNELL, Jr. (1988). *Two interferon-induced nuclear factors bind a single promoter element in interferon-stimulated genes.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA **85**: 8521-8525.

KUHL, D.; J. DE LA FUENTE; M. CHATURVEDI; S. PARIMOO; J. RYALS; F. MEYER y C. WEISSMANN (1987). *Reversible silencing of enhancers by sequences derived from the human IFN-alpha promoter.* Cell **50**: 1057-1069.

LEBON, P.; S. GIRARD; F. THEPOT y C. CHANY (1982). *The presence of alpha-interferon in human amniotic fluid.* J. Gen. Virol. **59**: 393-396.

LENARDO, M.; J. PIERCE y D. BALTIMORE (1987). *Protein-binding motifs in immunoglobulin enhancers determine transcriptional activity and inducibility.* Science **236**: 1573-1577.

LENARDO, M.; C-M. FAN; T. MANIATIS y D. BALTIMORE (1989). *The involvement of NF-kB in beta-interferon gene regulation reveals its role as widely inducible mediator of signal transduction.* Cell **57**: 287-294.

LENGYEL, P. (1982). *Biochemestry of interferon and their actions.* Annu. Rev. Biochem. **51**: 251-282.

MIYAMOTO, M.; T. FUJITA; Y. KIMURA; M. MARUYAMA; H. HARADA; Y. SUDO; T. MIYATA y T. TANIGUCHI (1988). *Regulated expression of a gene encoding a nuclear factor, IRF-1, that specifically binds to IFN-beta gene regulatory elements.* Cell **54**: 903-913.

MOORE, R.; H. LARSEN; D. HOROHOV y B. ROUSE (1984). *Endogenous regulation of macrophage proliferative expansion by colony-stimulating-factor-induced interferon.* Science **223**: 178-181.

NAVARRO, S.; M. DION; G. VODJDANI; F. BERLOT-PICARD y J. DOLY (1989). *Isolation and characterization of a functional murine interferon alpha gene which is not expressed in fibroblasts upon virus induction.* J. Gen. Virol. **70**: 1381-1389.

SEN, R. y D. BALTIMORE (1986). *Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences.* Cell **46**: 705-716.

STEWART, W. E., II (1979). *The interferon system.* Springer-Verlag, New York.

TOVEY, M. G.; M. STREULI; I. GRESSER; J. GUGENHEIM; B. BLANCHARD; J. GUYMARHO y F. VIGNAUX (1987). *Interferon messenger RNA is produced constitutively in the organ of normal individuals.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA **84**: 5038-5041.

VAN DAMME, J.; M. DE LEY; G. OPDENAKKER; A. BILLIAU; P. DE SOMMER y J. VAN BEEUMEN (1985). *Homogeneous interferon-inducing 22K factor is related to endogenous pyrogen and interleukin-1.* Nature **314**: 266-268.

VISVANATHAN, K. y S. GOODBOURN (1989). *Double-stranded RNA activates binding of NF-kB to an inducible element in the human beta-interferon promoter.* The EMBO J. **8**: 1129-1138.

XANTHOUDAKIS, S.; D. ALPER y J. HISCOTT (1987). *Transient expression of the beta interferon promoter in human cells.* Molecular and Cellular Biol. **7**: 3830-3835.

XANTHOUDAKIS, S. y J. HISCOTT (1988). *Modulation of interferon gene transcription by positive and negative cellular factors.* Biochemical and Biophysical Res. Comm. **154**: 1338-1344.

ZINN, K.; D. DIMAIO y T. MANIATIS (1983). *Identification of two distinct regulatory regions adjacent to the human beta-interferon gene.* Cell **34**: 865-879.