

# 12. REGULACION DE LA EXPRESION GENICA EN PROCARIONTES

---

# **ESQUEMA.** Regulación de la expresión génica en procariontes

---

1. Introducción. Importancia de la regulación de la expresión génica
2. Promotores
3. El operon *Lac*
  - Concepto de operon
  - El operon *lac*
4. Represión por catabolito
  - Relación entre la presencia de glucosa y los niveles de cAMP
  - La proteína CAP como ejemplo de proteína de unión al DNA
5. Control positivo y negativo por una misma proteína: el operon *araBAD*
6. Atenuación: el operon *trp*
7. Regulación de la síntesis de rRNA

## **INTRODUCCION. Importancia de la regulación de la expresión génica**

---

No todas las proteínas han de expresarse simultáneamente

- gasto de materia y  $\epsilon$
- interferencia en las funciones entre proteínas

Los organismos han de adaptarse muy rápidamente a cambios ambientales

Determinados programas genéticos necesitan de la expresión ordenada de un conjunto de genes

**→ Síntesis de cada proteína en el momento en que sea necesaria**

**La expresión génica se regula fundamentalmente a nivel transcripcional**

## Importancia de la regulación de la expresión génica (II)

---

### Procariontes

Acoplamiento de la transcripción y la traducción

Los genes suelen ser policistrónicos

Cambios ambientales muy drásticos y repentinos

→ la adaptación ha de ser muy rápida (minutos)

**El control de la transcripción suele ejercerse durante la iniciación**

# Importancia de la regulación de la expresión génica (III)

---

## Eucariontes

- Compartimentación celular**
1. La transcripción tiene lugar en el núcleo
  2. El mRNA es transportado al citoplasma
  3. El mRNA es traducido por los ribosomas

La modificación de la expresión génica no ha de ser ni tan rápida (en horas ó días), ni tan drástica

Excepción: durante el desarrollo y la diferenciación se necesita de la expresión diferencial y ordenada de múltiples genes

### **El control de la expresión génica puede ejercerse sobre**

- la iniciación de la transcripción
- el *splicing*
- el transporte de los mRNAs
- la estabilidad de los mRNAs
- la traducción

# El control transcripcional

---

## Mecanismo de control de la transcripción

Interacciones específicas entre **productos en *trans* = proteínas**  
sobre **secuencias en *cis* =DNA**

- productos en ***trans***: difunden y ejercen su acción sobre elementos alejados de su lugar de síntesis
- secuencias en ***cis***: “sólo” pueden afectar a regiones vecinas del DNA

El control de la expresión génica se suele ejercer sobre el inicio de la transcripción

## Tipos de genes

- **Constitutivos** = housekeeping
- **Inducibles**: aumenta su expresión en respuesta a un cambio ambiental
- **Reprimibles**: inhibición de su expresión en presencia a una señal represora

## Tipos de regulación génica (I)

---

### Regulación negativa La unión de un represor inhibe la transcripción

#### Forma I

1. El represor está unido constitutivamente al promotor → gen reprimido
2. La unión de una molécula señal provoca la disociación del represor del promotor
3. **La transcripción tiene lugar**

#### Forma II

1. El represor no puede unirse *per se* al promotor → gen activado
2. La unión de una molécula señal permite que el represor se una al promotor  
**molécula señal = co-represor + represor = apo-represor**
3. **La transcripción se bloquea**

## Tipos de regulación génica (II)

---

### Regulación positiva La unión de un activador facilita la transcripción

#### Forma I

1. El activador está unido constitutivamente al promotor → gen activado
2. La unión de una molécula señal causa la disociación del activador del promotor
3. **La transcripción se bloquea**

#### Forma II

1. El activador no puede unirse *per se* al promotor → gen reprimido
2. La unión de una molécula señal permite que el activador se una al promotor  
**molécula señal = coactivador + activador = apoactivador**
3. **La transcripción tiene lugar**



## TIPOS DE PROMOTORES (I)

---

### Promotor eficiente ó fuerte

Secuencia muy parecida a la secuencia consenso

Alta tasa de transcripción en condiciones basales

La expresión génica se controla con un **represor**: **Regulación negativa**

**Represión**: disminución de la tasa de síntesis de una enzima en presencia de un determinado metabolito

En **OPERONES REPRIMIBLES**

## Tipos de promotores (II)

---

### Promotor ineficiente ó débil

La secuencia difiere mucho de la secuencia canónica

Baja tasa de transcripción en condiciones basales

La expresión génica se controla con un **inductor** o **activador**

### Regulación positiva

**Inducción:** aumento de la síntesis de un enzima en presencia de un sustrato determinado

En **OPERONES INDUCIBLES**

# EL OPERON (I)

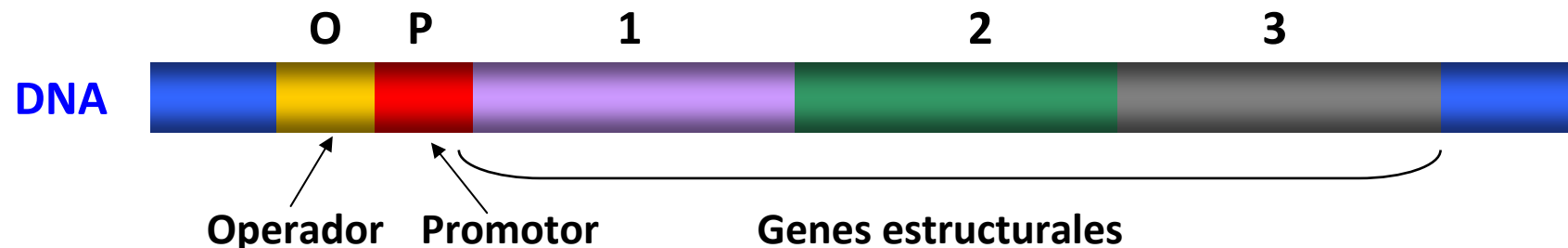
---

## Concepto de operon

Unidad de expresión génica, que permite la transcripción coordinada de varios genes implicados en una misma ruta metabólica

**Estructura de un operon:** Distribución lineal de los componentes

- **centro operador:** cerca del promotor y del inicio de la transcripción  
lugar de reconocimiento para los efectores
- **promotor:** puede solaparse con el operador
- **genes estructurales** = codifican las enzimas de una ruta metabólica  
mRNA policistrónico



## El operon (II)

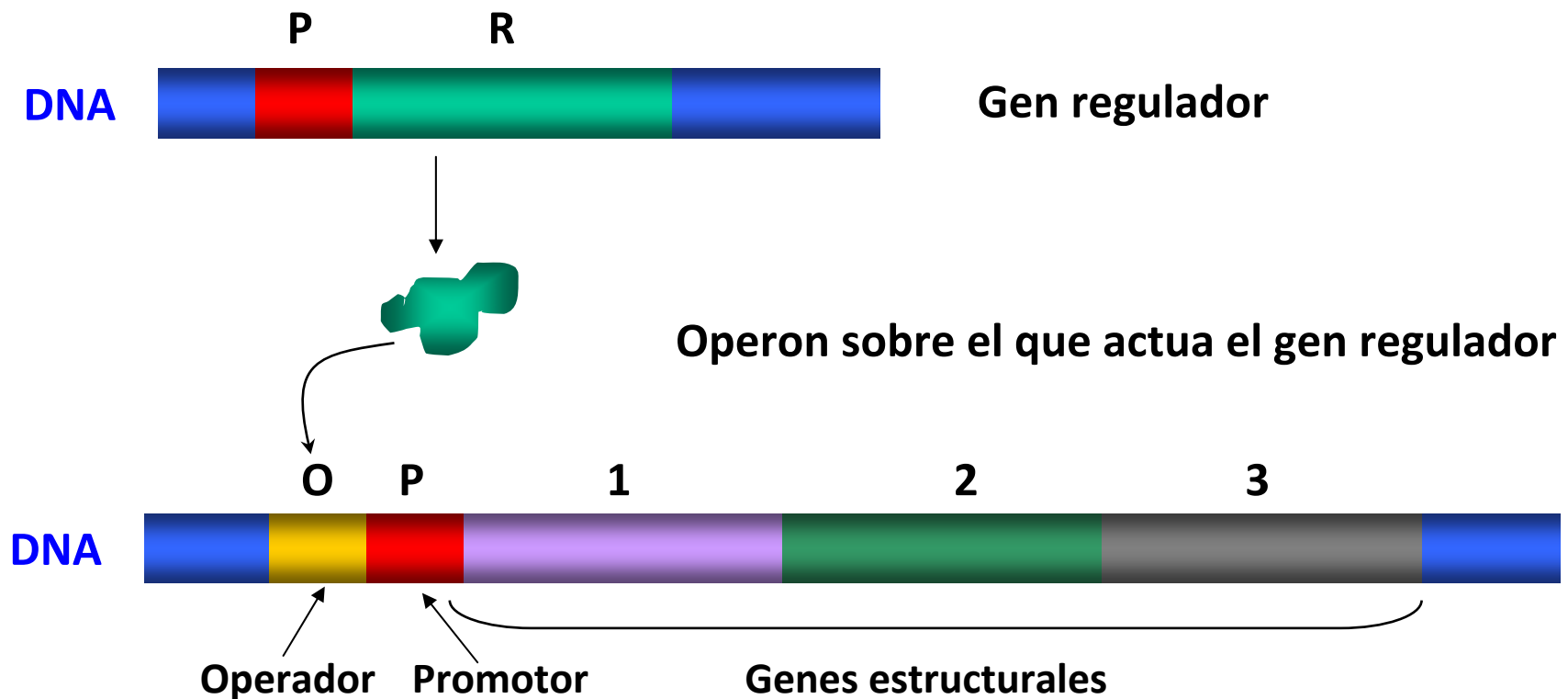
---

### Gen regulador

Codifica un efector que interacciona con el centro operador

Controla la transcripción de los genes estructurales

El efector interacciona generalmente con el DNA y con la RNA polimerasa



## EL OPERON *lac* (I)

---

Codifica las enzimas involucradas en el metabolismo de la lactosa

El operon sólo se activa cuando hay lactosa en el medio

### Estructura del Operon *Lac*

- unión de la proteína CAP
- p = promotor
- o = operador
- 3 genes estructurales: z, y & a
  - z =  $\beta$ -galactosidasa
  - y = galactósido permeasa
  - a = tiogalactósido transacetilasa

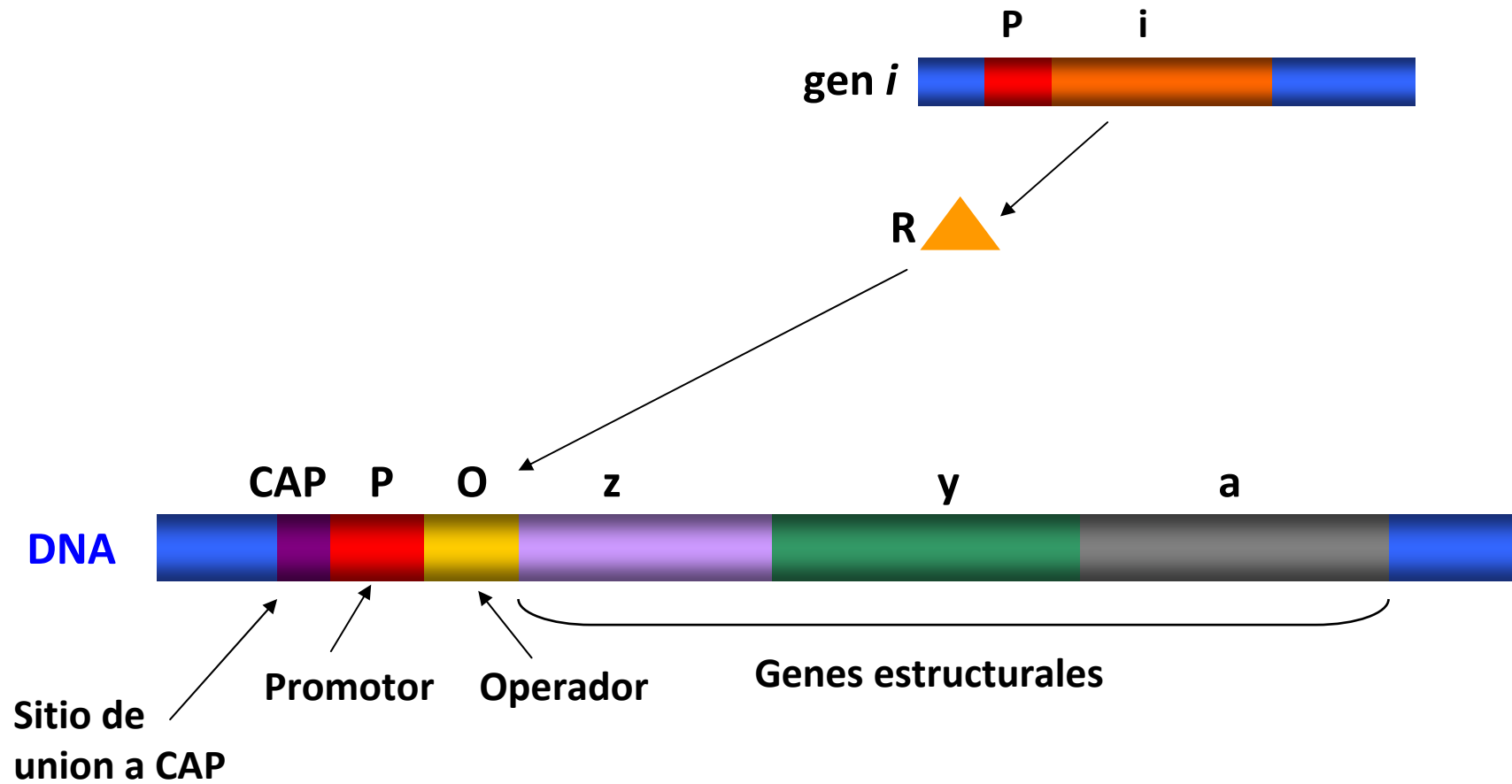
### Fuera del Operon *Lac*: *gen i*

Regulador: determina los niveles de transcripción del operon *lac*

Represor difusible que actúa en *trans*

# El operon *lac* (II)

---



El operon *lac* y su regulación por el represor codificado por el gen *i*

# Estructura del represor Lac

## Tetrámero

con un eje de simetría binario

## Cada subunidad

- 360  $\alpha\alpha$  (37 KDa). cada subunidad
- codificado por el gen *i*
- cada subunidad puede unir una molécula de inductor (IPTG)
- Dominio N-terminal: unión al DNA
- Dominio C-terminal: unión del inductor y oligomerización

**El represor Lac es un regulador negativo**

→ **Bloquea la transcripción**



**Estructura del represor Lac dimérico**

Fuente de la imagen:  
RCSB PDB. N. acceso: 1JWL

# Mecanismo de regulación del operon *Lac* (I)

---

## En ausencia de inductor

El *gen i* se transcribe → el represor se sintetiza

Represor Lac sin inductor

- el represor en forma tetramérica se une al DNA → se desliza a través del DNA hasta que llega al operador *lac*
- unión de alta afinidad represor # operador *lac* → **Bloqueo de la transcripción**

**Mecanismo:** la interacción represor # operador

- estimula la unión de la RNA polimerasa al DNA
- pero impide la iniciación de la transcripción: la RNA polimerasa no puede formar un complejo abierto (aumento de la barrera  $\epsilon$ )

→ **la RNA polimerasa no puede adquirir alta procesividad durante la elongación**



# Mecanismo de regulación del operon *Lac* (II)

---

## En presencia de inductor = lactosa en el medio

Las pocas moléculas de  $\beta$ -galactosidasa catalizan la transformación de **lactosa**  $\rightarrow$  **1,6-alolactosa**

**Inductor fisiológico = 1,6-alolactosa**

(por transglucosilación de la lactosa)

**Inductor no metabolizable = IPTG**

(isopropil-tiogalactósido)

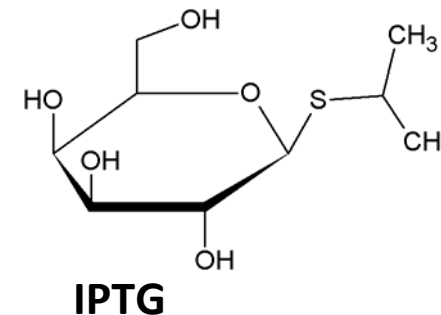
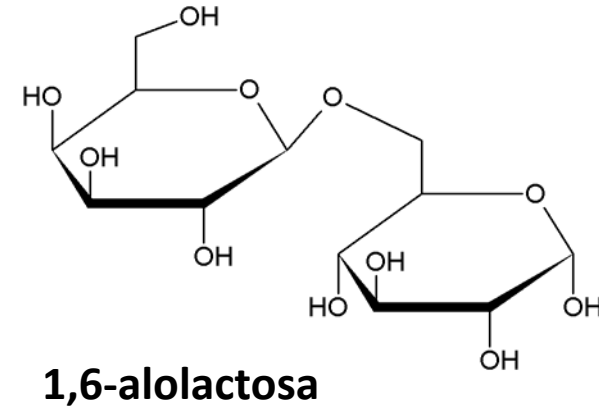
El inductor se une al represor

**La unión IPTG # Represor Lac** disminuye la afinidad del represor por el operador

$\rightarrow$  El represor se separa del DNA

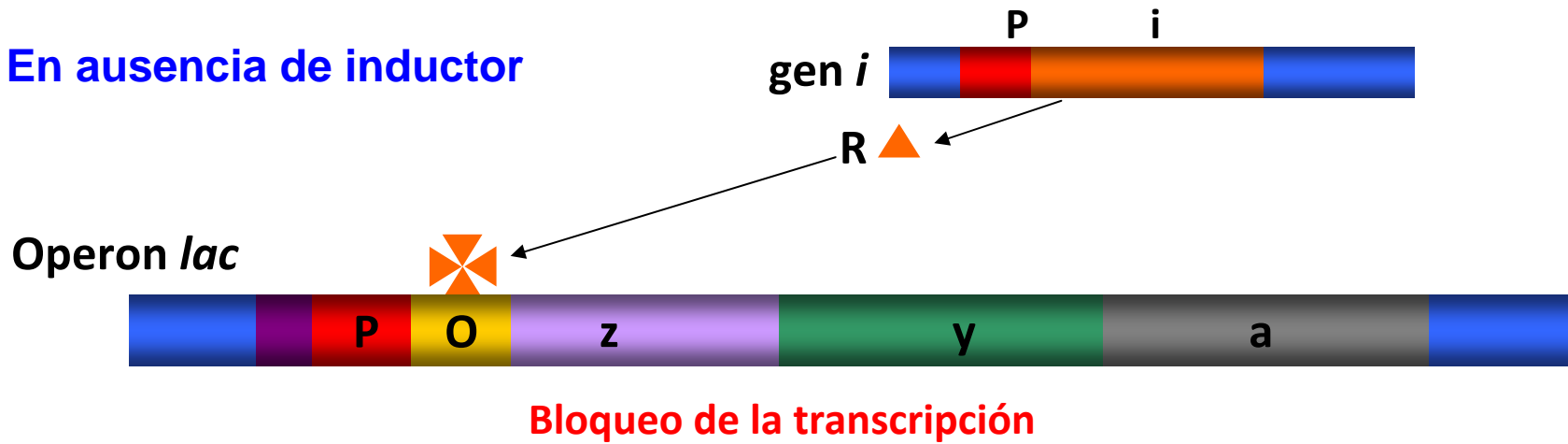
$\rightarrow$   $\uparrow$  **transcripción del operon lac**

- **Implicaciones biotecnológicas del operon *Lac* & técnicas de clonación**

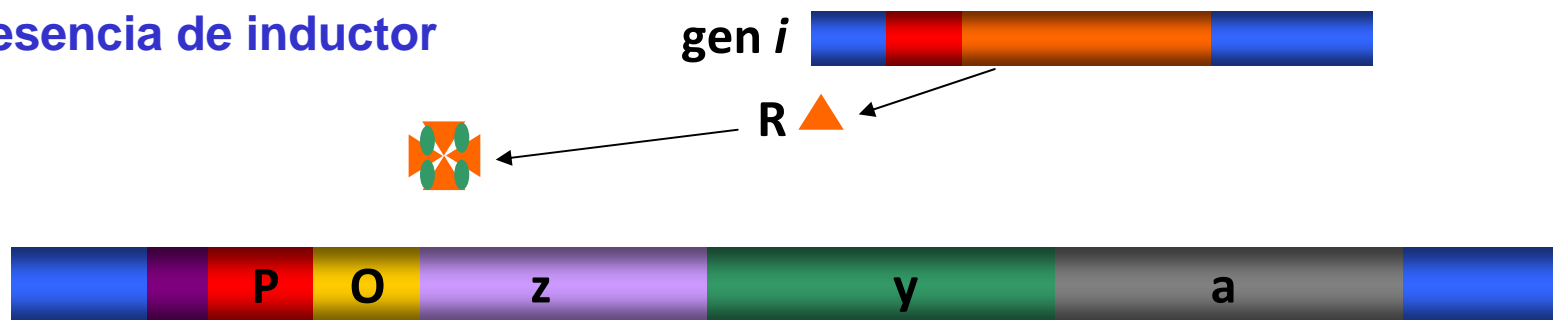


# Mecanismo de regulación del operon *Lac* (III)

En ausencia de inductor



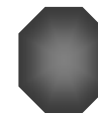
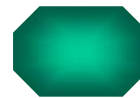
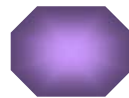
En presencia de inductor



Transcripción



Traducción



## Estructura del operador *Lac* (35bp)

---

**Región palindrómica** de 28 bp

- eje de simetría binario
  - localizada en el lugar de unión de la RNA polimerasa
  - correlación entre el eje de simetría del represor y del operador
- adaptación DNA # proteína

**Operador *lac***

```
TGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCACACA  
ACAACTCACCTTAACACTCGCCTATTGTTAAAGTGTGT
```

### **Operador constitutivo (O<sup>c</sup>)**

Al menos 8 mutaciones que provocan una disminución en la simetría

↓ afinidad del represor por el operador & el represor no se puede unir al DNA

→ **El operon se transcribe de manera constitutiva**

(\* *Aplicaciones biotecnológicas*)

# REPRESION POR CATABOLITO

---

## Efecto inhibidor de la Glc = Represión catabólica

La Glc es el metabolito por excelencia

En presencia de Glc en el medio: no se utiliza otra fuente de  $\varepsilon$

→ se inhibe la expresión de las enzimas del metabolismo de cualquier otra fuente  $\varepsilon$

## Operones regulados por represión por catabolito

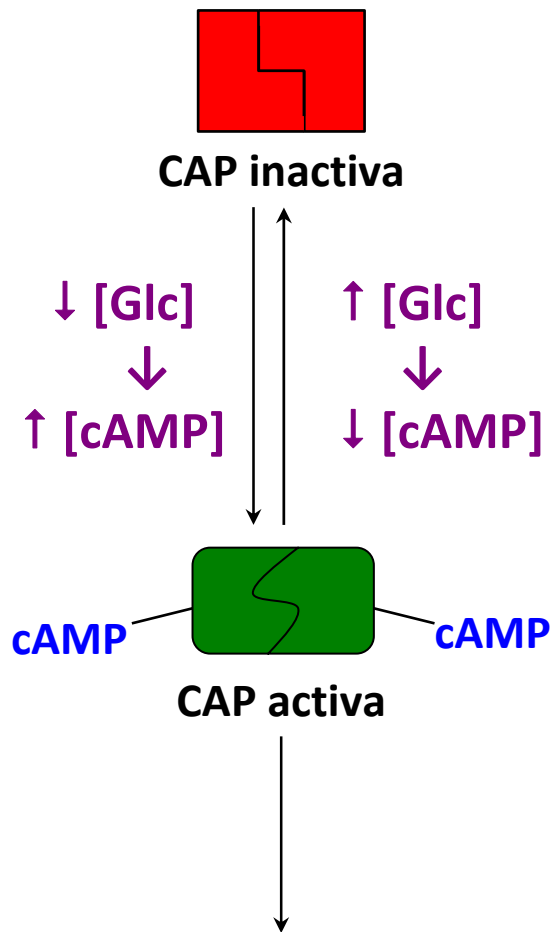
- suelen tener promotores ineficientes ó débiles
- doble control: 1. **cAMP**: señal de ausencia de Glc en el medio
  2. **Inductor propio**: señal de presencia de la fuente  $\varepsilon$  metabolizada por las enzimas codificadas en el operon

## Circuito regulador global

Coordina la expresión génica con el estado fisiológico de la célula

- operones regulados por cAMP
- genes de choque térmico
- genes sos: activados por lesión en el DNA

# Control de la expresión génica por la proteína CAP (I)



Unión a CAP-cAMP # CAP  
*binding site* en los operones

Activación de la transcripción

## Relación inversa entre Glc y [cAMP]

↓ [Glc] → ↑ [cAMP]

### Mecanismo

- fosforilación de una enzima
- la enzima-P activa la adenilato ciclasa

↑ [Glc] → ↓ [cAMP]

### Mecanismo

- transporte de Glc a través de la membrana
- la Glc estimula desfosforilación de la enzima: ↓ enzima-P
- inactivación de la adenilato ciclasa

## Proteína CAP y [cAMP] (I)

---

**CAP: Catabolite Activator Protein = CRP: cAMP Receptor Protein**

Homodímero. Estructura de cada monómero

- dominio N-terminal: unión de cAMP (1 sitio por monómero)
- dominio C-terminal: unión al DNA (HTH)
- un eje de simetría binario, que coincide con su centro de unión al DNA

**CAP *per se* no se une a los promotores, sino CAP-cAMP**

Región del DNA reconocida por CAP

- region palindrómica **CAP binding site**

**La unión CAP-cAMP # DNA produce la activación génica**

**→ CAP es un regulador positivo**

## Proteína CAP y [cAMP] (II)

---

**Interacción CAP-cAMP # DNA** 2 posibilidades no mutuamente excluyentes

**1. CAP # cAMP interacciona directamente con la RNA polimerasa**

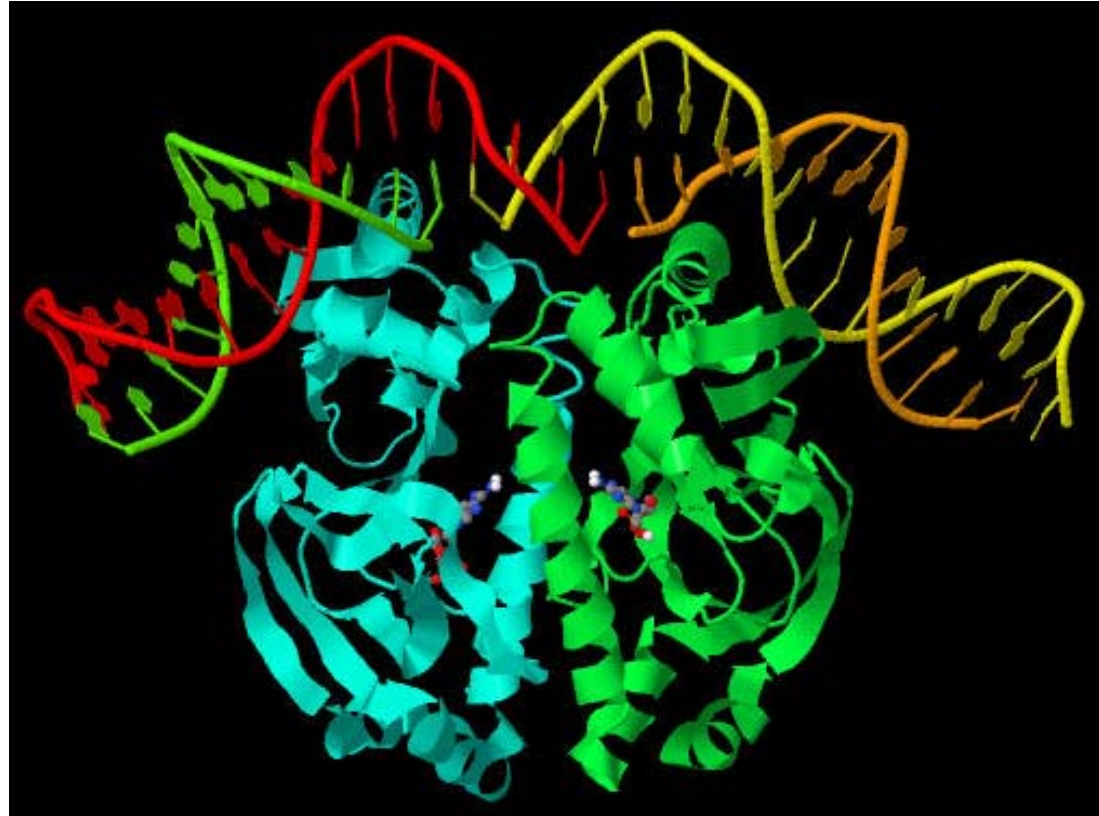
El sitio CAP se solapa con el promotor

**2. CAP # cAMP se une al promotor**

El DNA se dobla 90° sobre su centro de simetría

Se forma un complejo cerrado  
RNA polimerasa # promotor

Se facilita la iniciación de la transcripción



**Estructura de un dímero de CAP-cAMP unido al DNA**

*Fuente de la imagen:  
RCSB PDB. N. acceso: 1CGP*

## Control de la expresión génica por la proteína CAP (II)

---

### Ejemplo. Operon *lac*

#### En presencia de Glc y ausencia de inductor

- [cAMP] bajos → CAP inactiva
- El represor *lac* se une al operador, impidiendo la transcripción

→ **Bloqueo de la transcripción del operon *lac***

#### En ausencia de Glc y presencia de inductor (alolactosa)

- [cAMP] altos → CAP-cAMP activa → se une al CAP *binding site* del operon *lac*
- El represor *lac* # alolactosa se separa del operador

→ **Activación de la transcripción del operon *lac***



## CONTROL POSITIVO Y NEGATIVO POR UNA MISMA PROTEÍNA: EL OPERON *araBAD*

---

### Operon *araBAD*

Codifica las enzimas necesarias para el metabolismo de la arabinosa → xilulosa-5P

**4 sitios de control upstream del inicio de la transcripción** (en sentido upstream)

- ***araO2***: operador 2, situado a -270bp del inicio del operon *araBAD* y también upstream del gene *araC* (se transcribe en dirección opuesta al operon *araBAD*)

- ***araO1***: operador 1 del gen *araC*

- **CAP**

- ***araI***: [I – inductor] 2 secuencias idénticas de 17bp - *araI1* & *araI2* – repeticiones directas separadas por 4bp

*araI2* se solapa con la región -35bp del promotor *araBAD*

## EL OPERON *araBAD* (II)

---

### Genes estructurales del operon *araBAD*

transformación de la arabinosa → xilulosa-5P

- **ara B** = ribulokinasa
- **ara A** = arabinosa isomerasa
- **ara D** = ribulosa-5P epimerasa

### Gen *araC*

Codifica la proteína de unión de L-arabinosa (292  $\alpha\alpha$ )

- dominio N-terminal: unión de L-arabinosa; es el dominio de dimerización
- dominio C-terminal: unión al DNA

**En ausencia de arabinosa se comporta como represor**

**En presencia de arabinosa, *araC* # arabinosa actúa como activador**

## Mecanismo de acción propuesto (I)

---

Operon *araBAD*: regulado por **CAP-cAMP** y por **AraC**

La RNA polimerasa transcribe el gen *araC*

### En presencia de AraC y ausencia de L-arabinosa y de CAP-cAMP

- AraC se une a *araO*<sub>1</sub>, *araO*<sub>2</sub> & *araI*  
bucle en el DNA, que une *araI* & *araO*<sub>2</sub>  
dimerización de la proteína araC
  - Se impide la unión de la RNA polimerasa
- ↓ Transcripción de *araC* y *araBAD*

**CONTROL NEGATIVO** y Autorregulación de la transcripción de *araC*

## Mecanismo de acción propuesto (II)

---

**Cuando AraC, L-arabinosa y cAMP (baja [Glc]) están presentes**

- CAP-cAMP se une a un sitio CAP
- L-ara se une a araC: AraC-arabinosa se separa de  $araO_2$  y aumentando su afinidad por  $araI_2$ : no se forma el bucle en el DNA

→ ↑ Transcripción de *araBAD*

*araC* permanece reprimido (unión de AraC-arabinosa a  $araO_1$ )

**CONTROL POSITIVO**

## Operon araBAD y principios generales de la regulación génica

---

1. Una proteína puede regular su propia síntesis al reprimir la expresión del gen que la codifica
  2. La unión de un efector a una proteína puede alterar su conformación y/o su funcionalidad: cambio de un inhibidor a un activador génico
  3. Los centros reguladores de un gen no tienen por qué localizarse junto al inicio de la transcripción de los genes que regulan  
*La formación de bucles en el DNA es un mecanismo muy extendido para poner en contacto dos regiones de DNA*
  4. Los cambios inducidos por efectores pueden revertirse de manera rápida y sencilla
- El sistema se puede adaptar de forma muy eficiente a cambios ambientales

## ATENUACIÓN: EL OPERON *trp*

---

Mecanismo utilizado para controlar la expresión de operones que codifican **enzimas implicadas en la biosíntesis de aminoácidos**

Operones de Trp, Phe, His, Leu, Thr, *ilv* (Ile, Leu & Val)

La secuencia líder es rica en codones que codifican para los  $\alpha\alpha$  sintetizados por las enzimas del operon

• *gnc4* en levaduras: mecanismo análogo en eucariontes

### Operon *trp*

Codifica 5 polipéptidos que forman 3 enzimas implicadas en la biosíntesis de Trp a partir de corismato

Se expresan de manera coordinada bajo la regulación del represor *trp*

El operon *trp* sólo se induce en ausencia de Trp en el medio

# Estructura del represor Trp

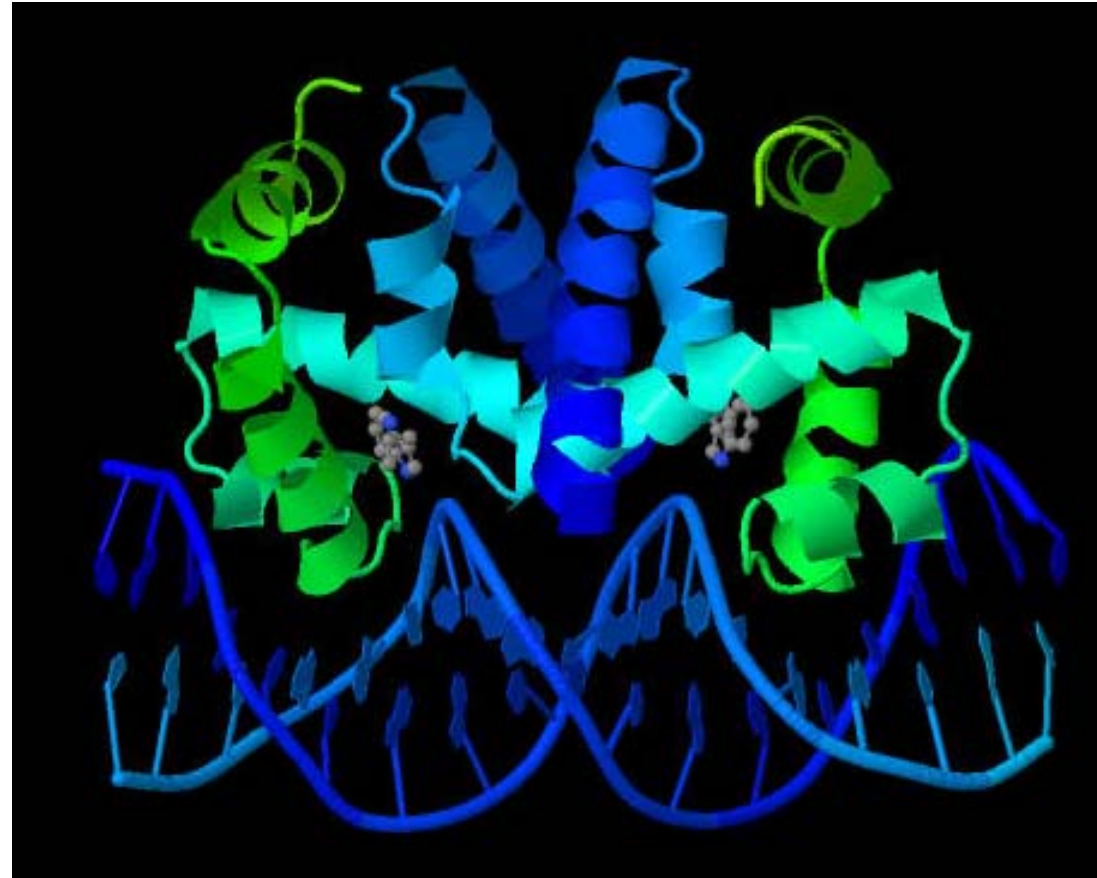
---

## Proteína homodimérica

- 1 monómero = 107  $\alpha\alpha$
- codificado por el gen *trpR* (en un operon distinto)

## Estructura de cada monómero de represor *trp*

- dominio N-terminal = región de “dimerización”
- “*spacer*”
- dominio C-terminal = HTH de interacción con el DNA



Estructura de un dímero del represor TRP#Trp unido al DNA

Fuente de la imagen:  
RCSB PDB. N. acceso: 1TRO

# Mecanismo de acción del represor Trp (I)

---

Represor *per se*: no se puede unir al DNA → transcripción del operon *trp*

## Represor *trp*-Trp

- cambio conformacional: los dos dominios HTH se separan  
cada una de las HTH encaja en un surco mayor del DNA (surcos consecutivos)
- puente de hidrógeno entre el Trp y un grupo fosfato del DNA
- H<sub>2</sub>O: puentes entre el DNA y el represor

→ **Interacción Represor *trp*-Trp # *trpO*: ↓ expresión del operon *trp***

(se impide la unión de la RNA polimerasa al promotor)

## *trpO*

- region palindrómica del DNA con un eje de simetría binario
- se solapa con el promotor



# Mecanismo de acción del represor Trp (II)

---

## Consideraciones

- El Trp actúa como **Co-represor**
- El represor *trp* también controla la expresión de otros dos operones: *trpR* y *aroH* (biosíntesis del corismato)
- El represor *trp* también regula su propio operon *trpR*  
= **Autorregulación ó regulación autógena**

## En ausencia de Trp

- El represor *trp* no puede unirse al DNA  
→ **Activación de la transcripción del operon *trp***

## En presencia de Trp en el medio

- El represor *trp* + Trp se une a *trpO* del DNA  
→ **Bloqueo de la transcripción del operon *trp***

## Atenuación

---

**Niveles de Trp bajos:** se transcribe todo el mRNA policistrónico, incluido *trpL* (7Kb)

**Niveles mayores de Trp:** la mayoría de los mRNAs son de 140 nucleótidos

***El aumento de los niveles de Trp provoca una terminación prematura de la transcripción***

*trpL*

Secuencia guía ó líder de 162bp que contiene el **atenuador ó centro de terminación controlada**

**Met-Lys-Ala-Ile-Phe-Val-Leu-Lys-Gly-Trp-Trp-Arg-Thr-Ser (STOP)**

## Estructura del atenuador (I)

---

4 segmentos que pueden formar horquillas mutuamente excluyentes

### Antiterminador

horquillas 2•3

→ La transcripción continúa de forma normal

### Terminador

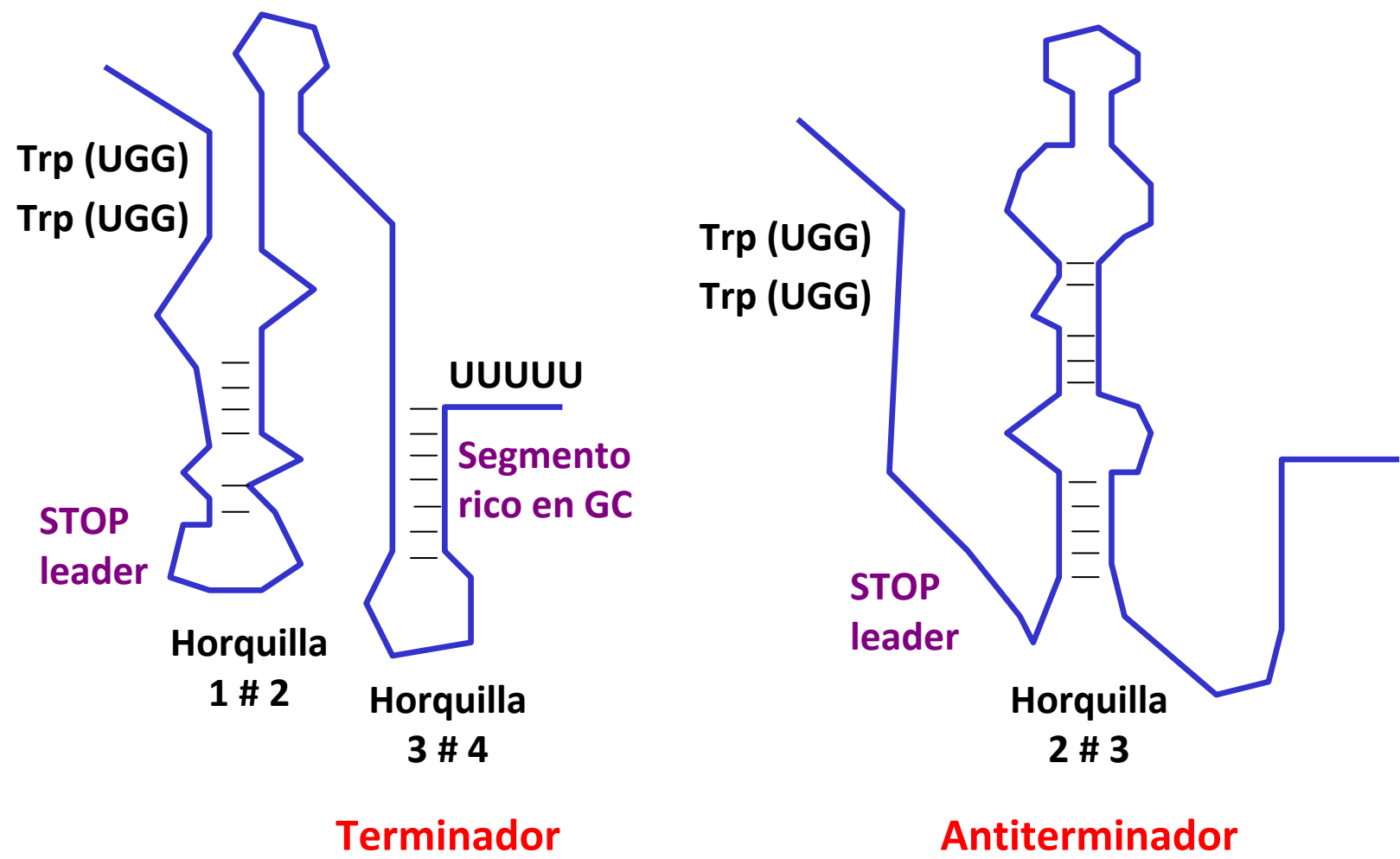
horquillas 1•2 & 3•4

Señal de terminación de la transcripción: secuencia rica en G+C que forma una horquilla, seguida de U's

→ La transcripción se termina

# Estructura del atenuador (II)

---



## Mecanismo de acción del atenuador (I)

---

Basado en la presencia de **dos codones** consecutivos de Trp  
en procariontes, la **transcripción** y la **traducción** están **acopladas**

**Cuando el Trp es escaso = escasez de Trp-tRNA<sup>Trp</sup>** (aminoácido activado)

- el ribosoma comienza a traducir el mRNA, pero se para sobre los codones que codifican para el Trp (ausencia de tRNAs cargados)
- se impide la formación de la horquilla 1•2 en el mRNA
- al continuar la transcripción, se forma la horquilla 2•3

→ Horquilla 2•3 = **Antiterminador**

**Se transcribe un mRNA de 7 Kb**

Síntesis de todas las enzimas implicadas en la biosíntesis de Trp

## Mecanismo de acción del atenuador (II)

---

**Si el Trp es abundante** = abundancia de Trp-tRNA<sup>Trp</sup>

*(Si la RNA polimerasa ha logrado esquivar la inhibición por el represor)*

- se transcribe y el operon *trp*, y los ribosomas comienzan a traducir el mRNA
- el ribosoma impide que se forme la horquilla 2•3 en el mRNA
- se forman las horquillas 1•2 & 3•4

→ Horquilla 3•4 = **terminador de la transcripción**

**Se transcribe un mRNA de 140 nt**

No se sintetizan las enzimas implicadas en la biosíntesis de Trp

## REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE rRNA (I)

---

Coordinación de la biosíntesis de rRNA con las necesidades de síntesis de proteínas

### *The stringent response* ó respuesta restrictiva

La falta de cualquier aminoacil-tRNA, que pueda limitar la biosíntesis de proteínas, produce un reajuste metabólico en la célula

### **La célula se prepara para situaciones de falta de nutrientes**

- reducción (1:10 ó 1:20) en la biosíntesis de rRNAs y tRNAs
- represión de rutas anabólicas, excepto la activación de la biosíntesis de  $\alpha\alpha$

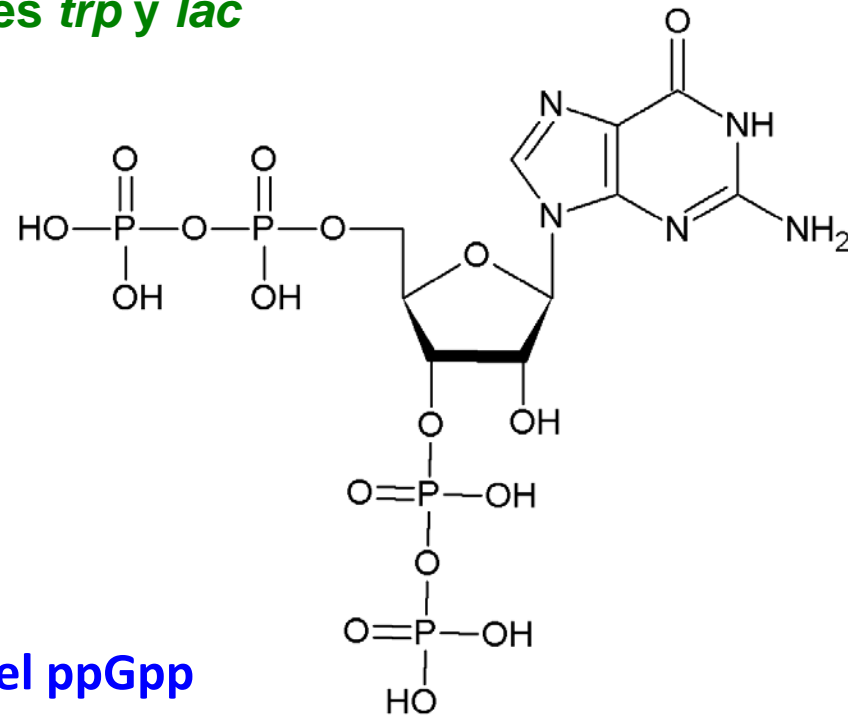
## Regulación de la síntesis de rRNA (II)

---

**ppGpp:** guanosina 5'-difosfato-3'-difosfato

Actúa como **mensajero intracelular**, afectando los niveles de expresión de varios operones

- **Inhibe la transcripción de rRNAs**
- **Estimula la transcripción de operones *trp* y *lac***



**Estructura del ppGpp**



## La respuesta restrictiva y ppGpp

---

**Falta de nutrientes: aumenta la concentración de ppGpp**

### **Gen *relA***

Factor restrictivo (sintetasa). Cataliza la síntesis de ppGpp



Su actividad es máxima cuando el ribosoma está unido a un mRNA y a un tRNA no cargado con  $\alpha\alpha$

La unión de un aminoacil-tRNA disminuye la síntesis de ppGpp

### **Gen *spoT***

Metaboliza ppGpp  $\text{ppGpp} \rightarrow \text{GTP} + \text{PPi}$