

# 15. REGULACION DE LA EXPRESION GENICA EN EUKARIOTES (III)

---

# **ESQUEMA.** Regulación de la expresión génica en eucariontes (III)

---

## **Regulación de la Iniciación de la Transcripción**

### **Estructura y dominios estructurales de los factores de transcripción**

- 1. Interacciones específicas DNA # proteína**
- 2. Láminas  $\beta$  antiparalelas = *Anti-parallel  $\beta$ -sheet***
- 3. Dedos de Zn = *Zn fingers***
- 4. Cremalleras de Leucina = *Leu zipper***
- 5. Hélice – Giro – Hélice = *Helix – Turn - Helix (HTH)***

# INTERACCIONES ESPECIFICAS DNA # PROTEINA (I)

---

## Generalidades

Las proteínas de unión al DNA no rompen los puentes de hidrógeno entre las dos cadenas del DNA

**Reconocen 4 tipos de pares de bases [A•T, T•A, G•C & C•G], de acuerdo a su disposición en los surcos mayor y menor del DNA**

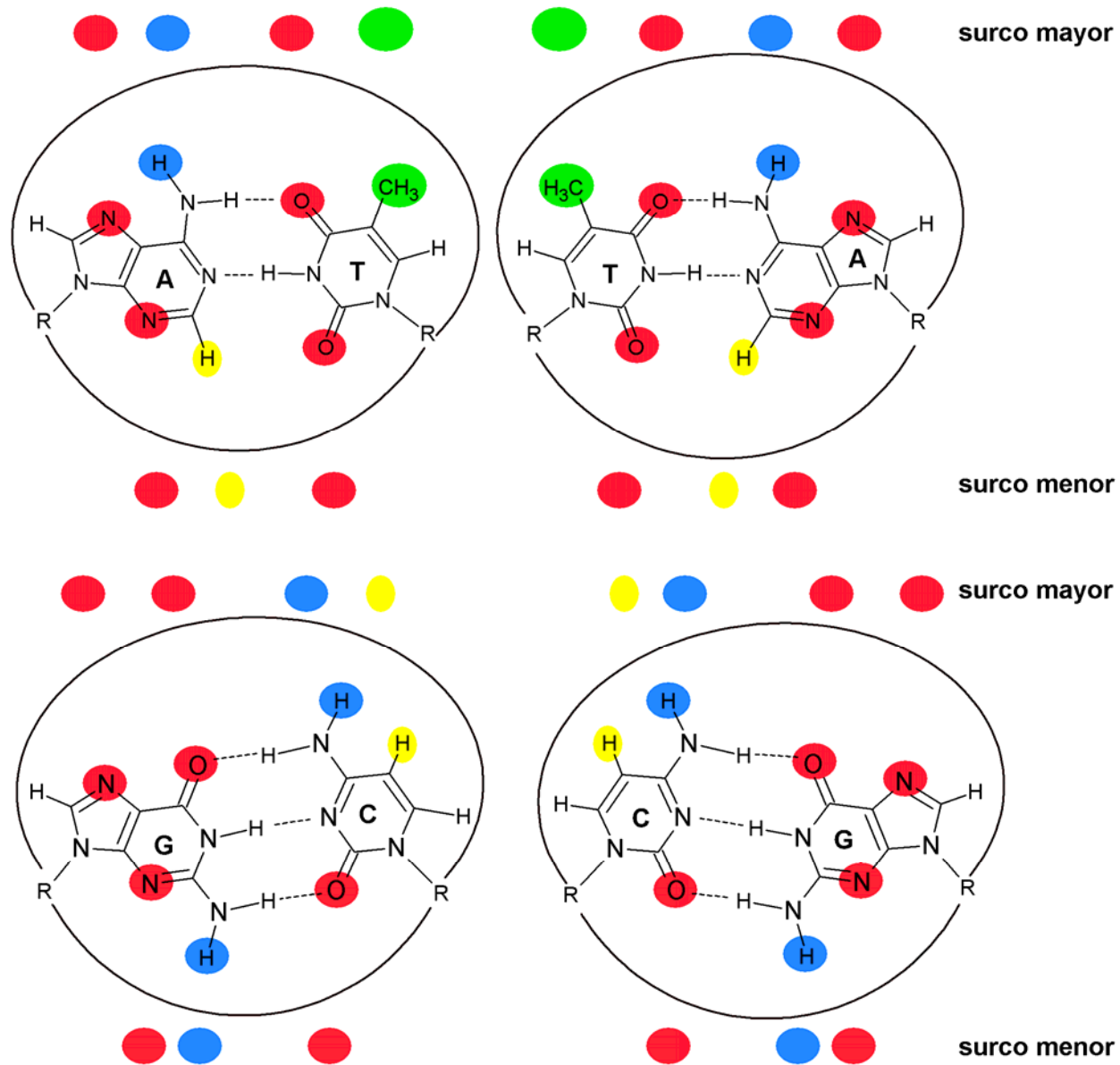
Cada par de bases presenta una conformación única de los grupos que pueden formar puentes de hidrógeno con el H<sub>2</sub>O ó con proteínas

- **surco menor del B-DNA**: demasiado estrecho para acomodar una  $\alpha$ -hélice
- **el surco mayor**: generalmente es el **punto de interacción DNA # proteína**

La mayoría de los motivos estructurales de los TF que interaccionan con el DNA constituyen una plataforma que permite la **introducción de una  $\alpha$ -hélice** en el surco mayor del DNA

**Las proteínas de unión al DNA reconocen las secuencias de bases del surco**

# Interacciones específicas DNA # proteína (II)



## Leyenda

● Aceptor en un puente de hidrógeno

● Donador en un puente de hidrógeno

● Grupo metilo

● Hidrógeno

## Interacciones específicas DNA # proteína (III)

---

### Interacciones DNA # Proteína

#### Interacciones estructurales complejas

- puentes de hidrógeno: grupos donadores vs. aceptores de hidrógeno
- interacciones electrostáticas: puentes salinos
- fuerzas de Van der Waals

Las secuencias de **DNA** son **regiones palindrómicas con simetría binaria**

La mayoría de los **factores de transcripción (TF)** también presentan un **eje de simetría binario**

# **$\beta$ -LAMINAS ANTIPARALELAS = ANTIPARALLEL $\beta$ -SHEET (I)**

---

## **Casos excepcionales**

Eje de simetría binaria: las  $\beta$ -láminas de un monómero se organizan simétricamente con las de otro monómero

Las dos estructuras se unen a dos surcos mayores consecutivos de una región palindrómica del DNA

## **Ejemplos**

### **Represor Met en procariontes**

Unión al DNA cuando tiene SAM unido

Tetrámero con disposición modular dimérica

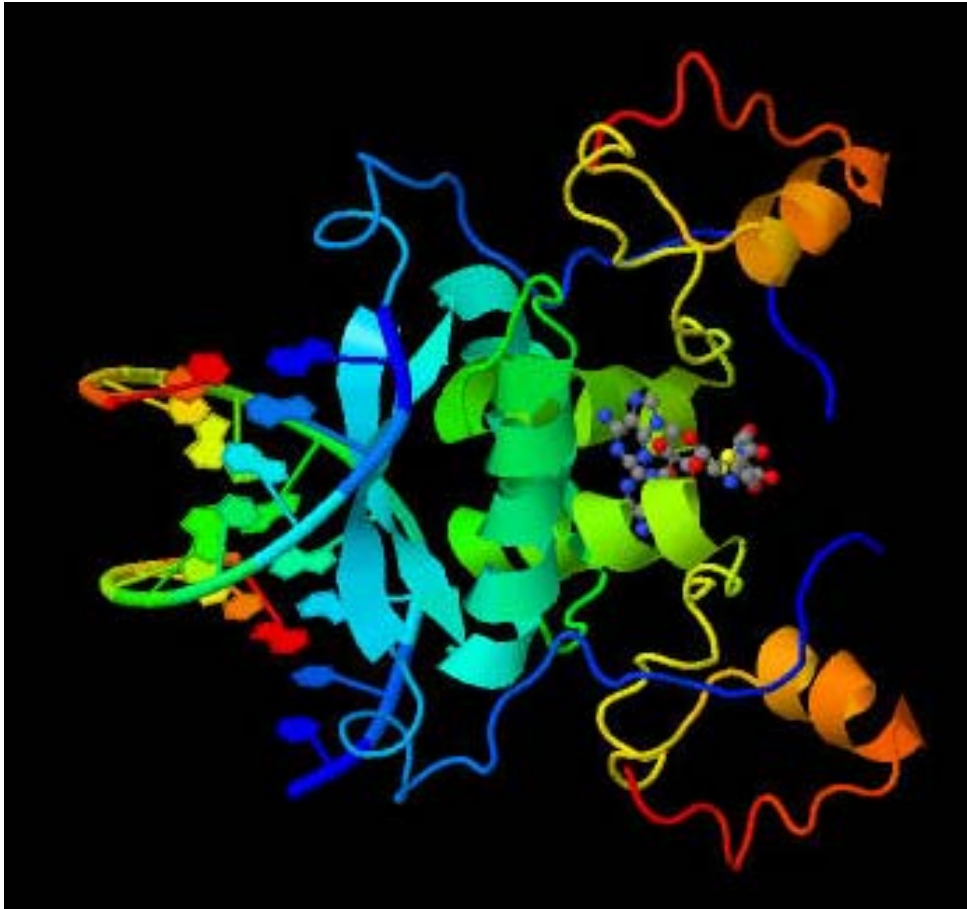
Cada subunidad del dímero dona una  $\beta$ -lámina para formar el motivo de unión

Cada dímero reconoce una mitad de la secuencia palindrómica

**TBP = TATA Box Binding Protein**

## $\beta$ -láminas antiparalelas = *antiparallel $\beta$ -sheet* (II)

---



Vista lateral (paralela al eje de la helice del DNA)

Estructura de un dímero del represor Met



Vista frontal (perpendicular al eje de la hélice del DNA)

## DEDOS DE Zn = Zn FINGERS (I)

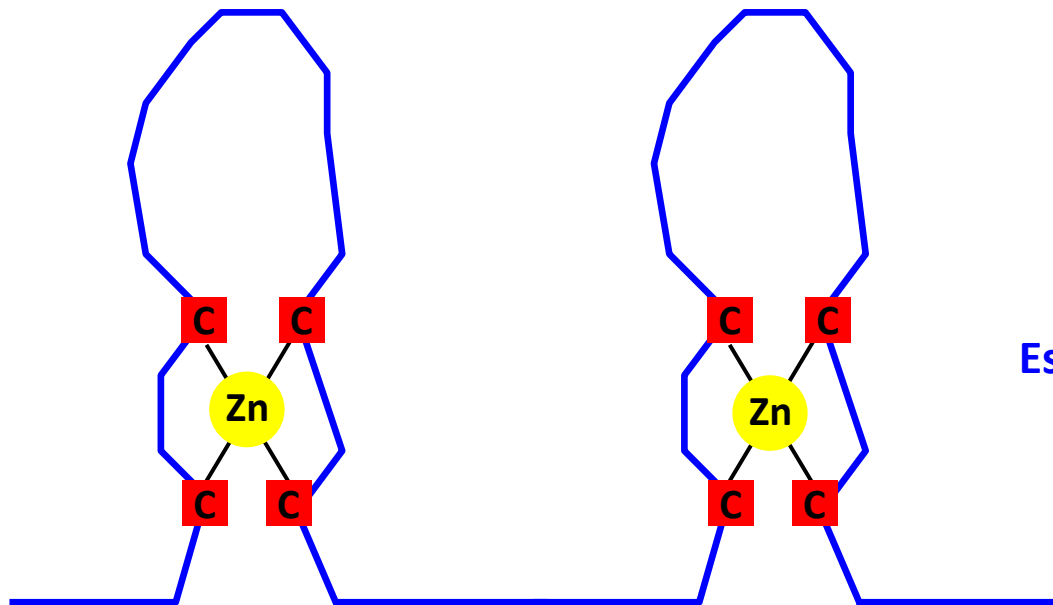
---

Estructura modular: 2 – 37 dedos por TF

Amplia diversidad estructural entre los distintos TF con dedos de Zn

Cada dedo de Zn está formado por aproximadamente 30  $\alpha\alpha$

- **2 Cys invariables**
- **2 His invariables:** en algunos casos las His son sustituidas por Cys
- varios residuos hidrofóbicos conservados
- un ion **Zn<sup>2+</sup> coordinado tetraédricamente** con las 2 Cys y las 2 His



Estructura de un dominio con  
dos dedos de Zn Cys<sub>2</sub>-His<sub>2</sub>



## Dedos de Zn = Zn fingers (II)

---

### Función

Un dedo de Zn une dos estructuras globulares pequeñas

### Mecanismo de interacción

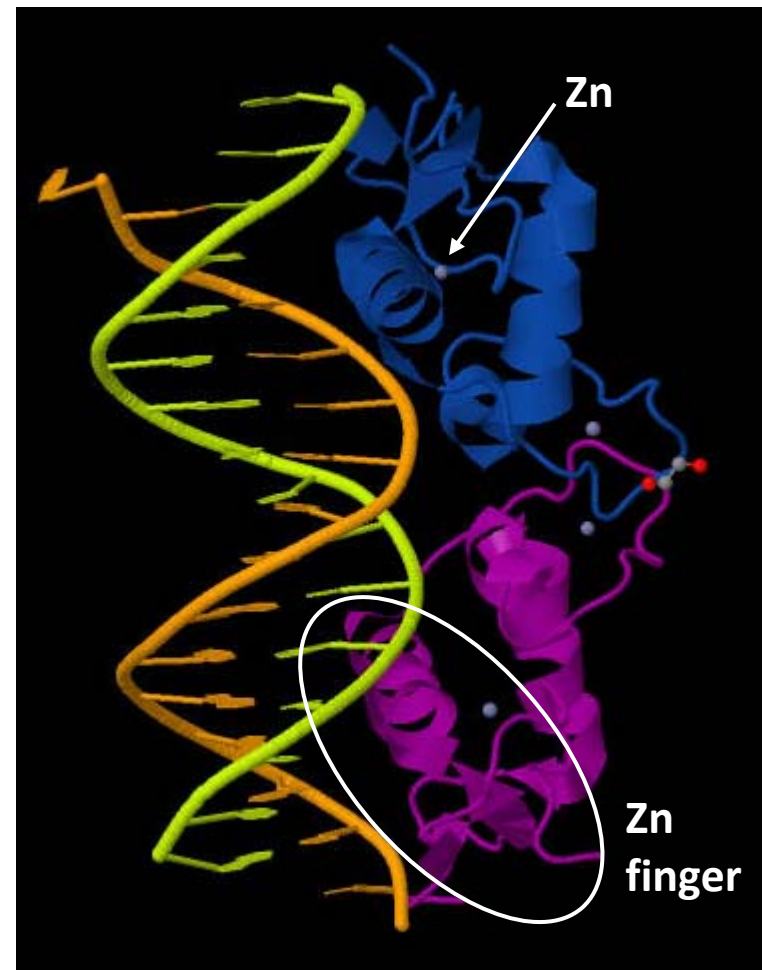
Los dedos de Zn se estructuran en dominios de interacción con el DNA

Encajan en el **surco mayor del DNA**

**Interacción específica** con el DNA por medio de puentes de hidrógeno **Arg # G**

**Interacciones inespecíficas:** grupos fosfato del DNA con Arg e His

Si hay varios dedos de Zn en un mismo TF, éstos reconocen segmentos consecutivos en el DNA



**Dominios de dedos de Zn  
interaccionando con el DNA**

*Imagen modificada a partir de:  
RCSB PDB. N. acceso: 3FYL*

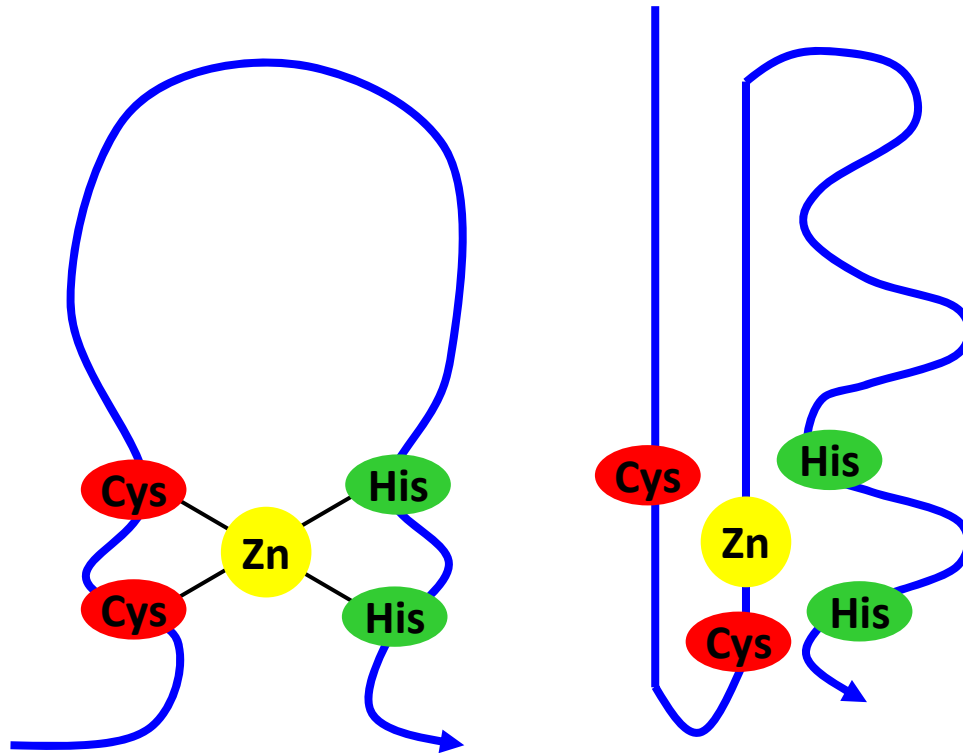
## Dedos de Zn Cys<sub>2</sub>-His<sub>2</sub>

Estructura: aprox. **23** αα - X<sub>3</sub> - Cys - X<sub>2-4</sub> - Cys - X<sub>12</sub> - His - X<sub>3-4</sub> - His - X<sub>4</sub> -

El extremo **N-terminal** se organiza como una β-lámina

El extremo **C-terminal** se organiza como una α-hélice

**Ejemplos:** Sp1, protooncogenes



Estructura de un  
dedo de Zn Cys<sub>2</sub>-His<sub>2</sub>

*Imagen modificada a partir de:  
RCSB PDB. N. acceso: 1VA1*

## Dedos de Zn Cys<sub>2</sub>-Cys<sub>2</sub>

---

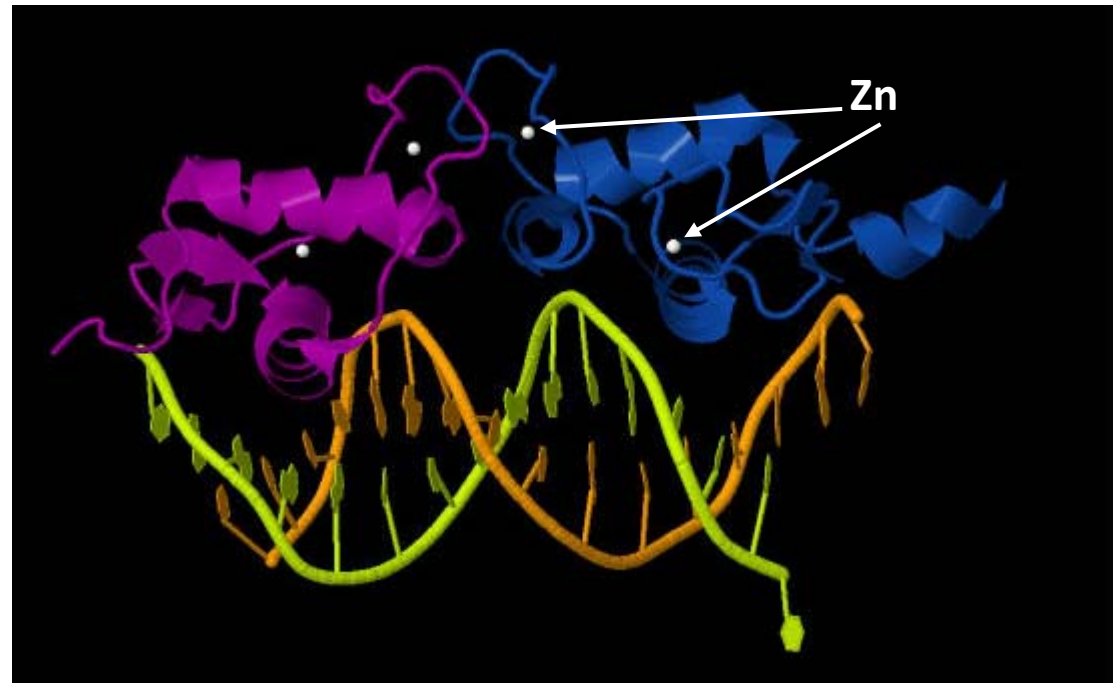
Generalmente, **8 Cys que coordinan 2 Zn<sup>2+</sup>**

Se unen a regiones similares del DNA separadas entre sí por un espaciador de longitud variable

Estos receptores tienden a dimerizar cuando se unen al DNA, permitiendo la entrada de la  **$\alpha$ -hélice N-terminal en el surco mayor**

**Unión cooperativa** de los dos monómeros entre sí y al DNA

En receptores de glucocorticoides y otros receptores nucleares



**Estructura de un dímero del receptor de glucocorticoides con dos dedos de Zn Cys<sub>2</sub>-Cys<sub>2</sub> por monómero**

*Imagen modificada a partir de:  
RCSB PDB. N. acceso:3GU8*

# Dedos de Zn binucleares Cys<sub>6</sub>

---

## Estructura binuclear

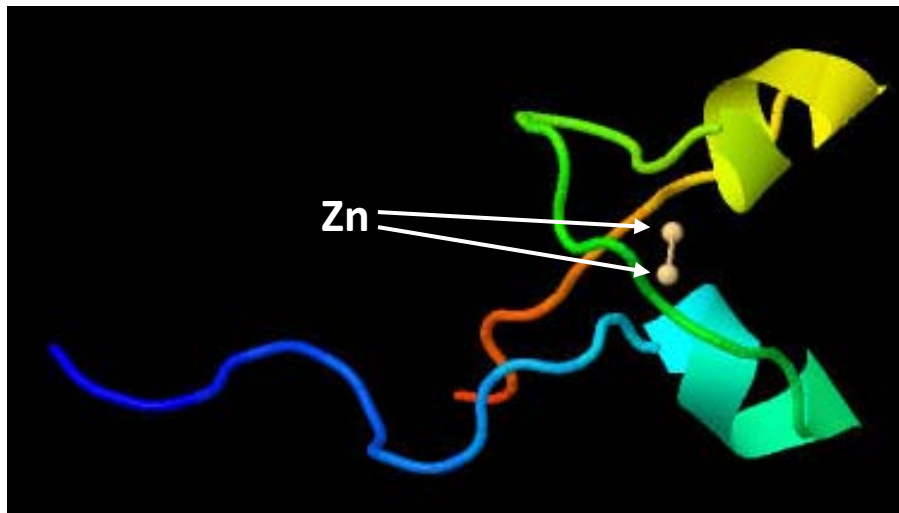
Cada ion Zn<sup>2+</sup> está coordinado tetraédricamente con 4 Cys

Dos de estas Cys interaccionan con los dos átomos de Zn<sup>2+</sup>

El módulo presenta **dos α-hélices cortas conectadas por un lazo**, de forma que la estructura posee **dos pseudoejes de simetría**

**La hélice N-terminal encaja en el surco mayor del DNA**, interaccionando con una secuencia consenso

Ejemplo: GAL4 de levaduras → activador de genes que metabolizan Gal



Estructura de dedo de Zn binuclear Cys<sub>6</sub>

*Imagen modificada a partir de:  
RCSB PDB. N. acceso: 1AW6*

## Gal4 & dedos de Zn binucleares Cys<sub>6</sub> (I)

---

Unión al DNA como homodímero simétrico. Cada monómero presenta:

### Extremo N-terminal (1-65)

- 6 Cys coordinadas con 2 Zn<sup>2+</sup>

Unión a una región palindrómica del elemento de respuesta

- Linker (41 – 49)

- Pequeña hélice de dimerización (50–64)

Asociación formando una superhélice (*coiled coil*), estabilizada por interacciones hidrofóbicas entre 3 Leu y 2 Val

Se localiza sobre el surco menor del DNA, que coincide con el eje de simetría

### Región intermedia (65-94)

Implicada en la dimerización

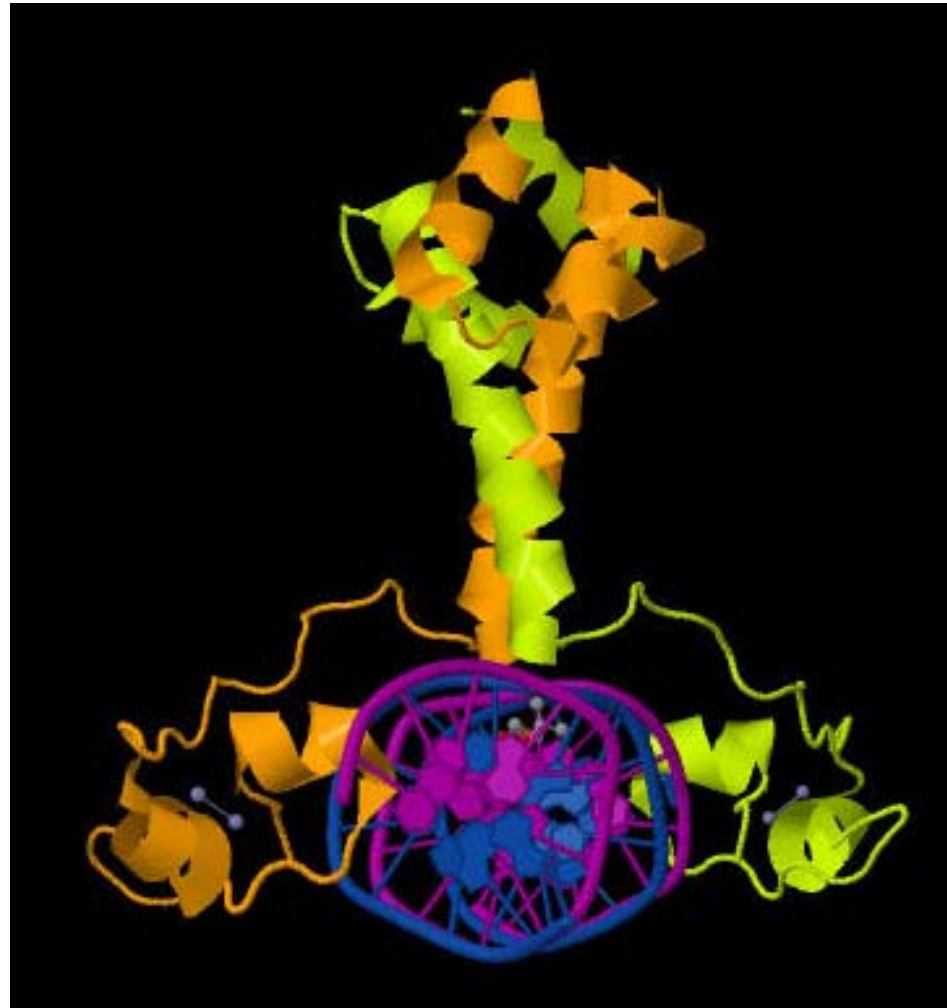
### Región C-terminal (148–196 & 768–881)

Regiones ácidas que actúan como transactivadores

→ La estructura tan abierta que permite la unión simultánea de otro TF al DNA

## Gal4 & dedos de Zn binucleares Cys<sub>6</sub> (II)

---



**Estructura del dominio de unión al  
DNA y de dimerización de GAL4**

*Fuente de la imagen:  
RCSB PDB. N. acceso: 3COQ*

# CREMALLERAS DE LEUCINA = *Leu ZIPPERS* (I)

---

Estructura de unos 35  $\alpha\alpha$  formada por dos  $\alpha$ -hélices

Pseudorepeticiones cada 7  $\alpha\alpha$  = heptadas: (a-g)<sub>n</sub>

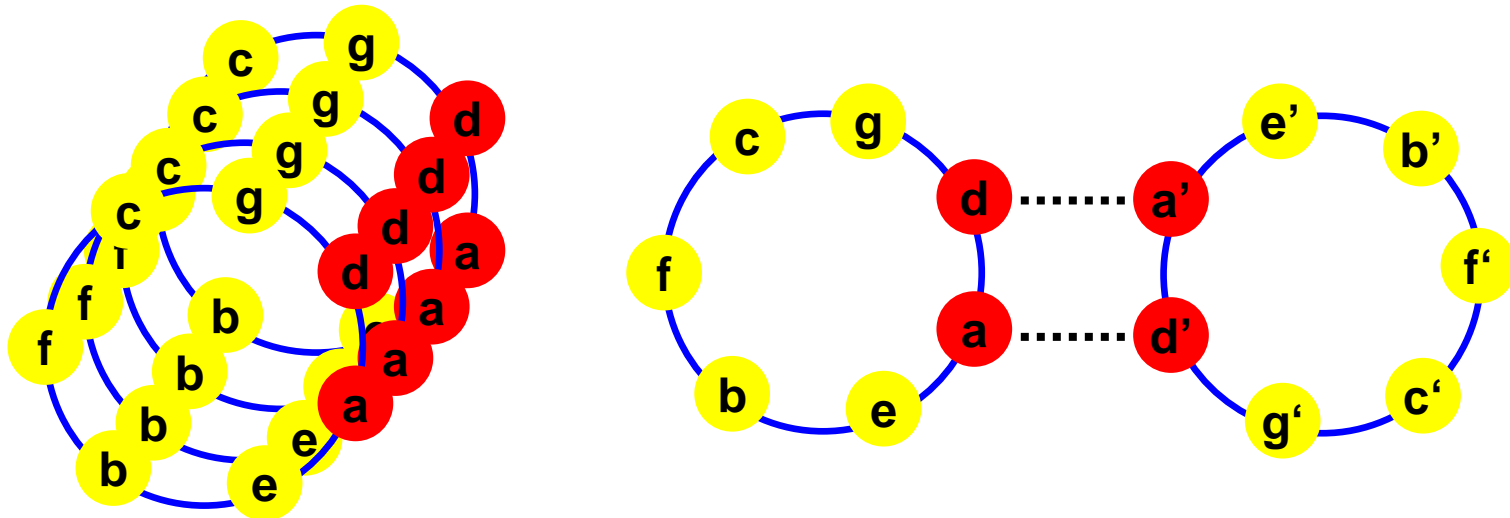
Los aa **a y d son hidrofóbicos** y se sitúan siempre en la misma cara de la  $\alpha$ -hélice

Dos  $\alpha$ -hélices: los  $\alpha\alpha$  **d y d'** son siempre Leu, y los **a y a'**, generalmente Val

El resto de los residuos son polares y se sitúan en las otras caras de las hélices

Las cadenas laterales de las Leu opuestas establecen **contactos hidrofóbicos** entre sí: la estructura se asemeja a una cremallera

→ **Dimerización y formación de una superhélice = *coiled coil domain***



## Cremalleras de leucina = *Leu zippers* (II)

---

### Las *Leu zippers* permiten

- la **dimerización de los TF**: homo- y heterodímeros
- la **asociación cooperativa de varios TF** sobre el DNA

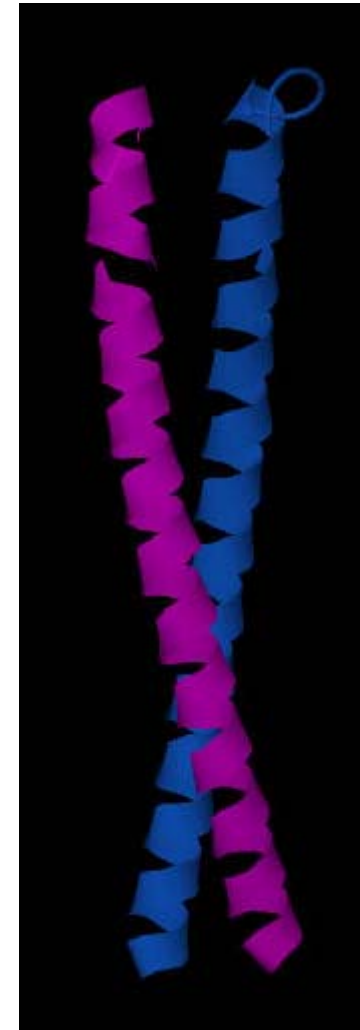
Pero **NO es el motivo de unión al DNA**

(el motivo de unión suele ser una  $\alpha$ -hélice básica)

Las *Leu zippers* acercan una pareja de módulos de unión al DNA para que se unan a secuencias adyacentes

### Ejemplos de TF con *Leu zippers*

- **C/EBP** (CCAAT / *Enhancer Binding Protein*)  
se une a la caja CCAAT
- **GCN4** de levaduras
- protooncogenes. ej. **c-fos / c-jun** = heterodímero AP-1
- **CREB**: *cAMP Response Element (CRE) Binding Protein*



**Estructura de  
una *Leu zipper***

Fuente de la imagen:  
RCSB PDB. N. acceso: 3NMD



## bZIP = *Basic Region Leu Zipper* (I)

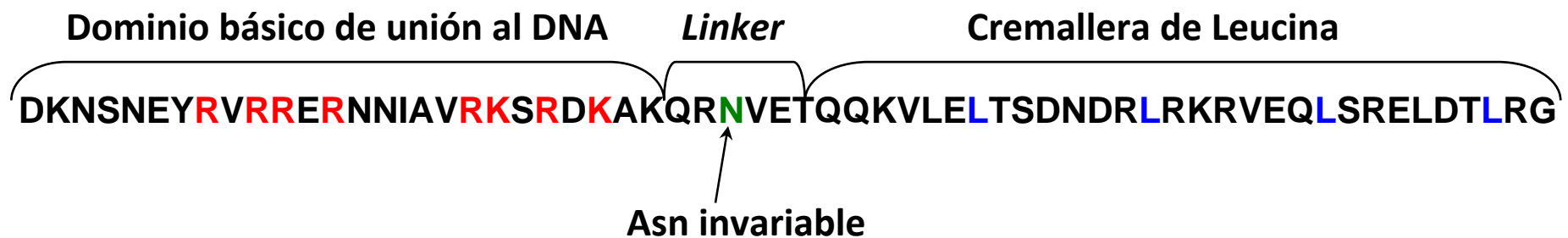
---

### Motivo presente en algunos TF

Región de unión al DNA:  $\alpha$ -hélice de carácter básico – reconocimiento del DNA

- delante de la cremallera de Leu; separación de 7  $\alpha\alpha$
- ausencia total de Gly y Pro ( $\alpha\alpha$  desestabilizadores de las  $\alpha$ -hélices)
- los  $\alpha\alpha$  básicos realizan contactos polares con las bases del DNA y con los grupos fosfato
- Leu zipper: dominio de dimerización

### Estructura bZIP de C/EBP



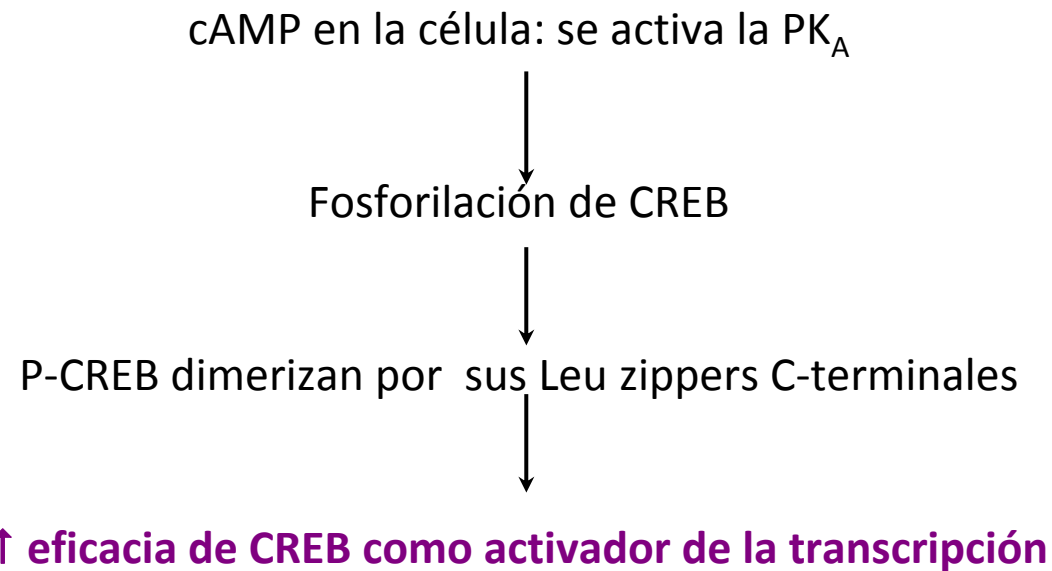
## **bZIP = *Basic Region Leu Zipper* (II)**

---

Los TFs actúan como dímeros: las dos  $\alpha$ -hélices de reconocimiento se unen a dos surcos mayores, como una **estructura en tijera**

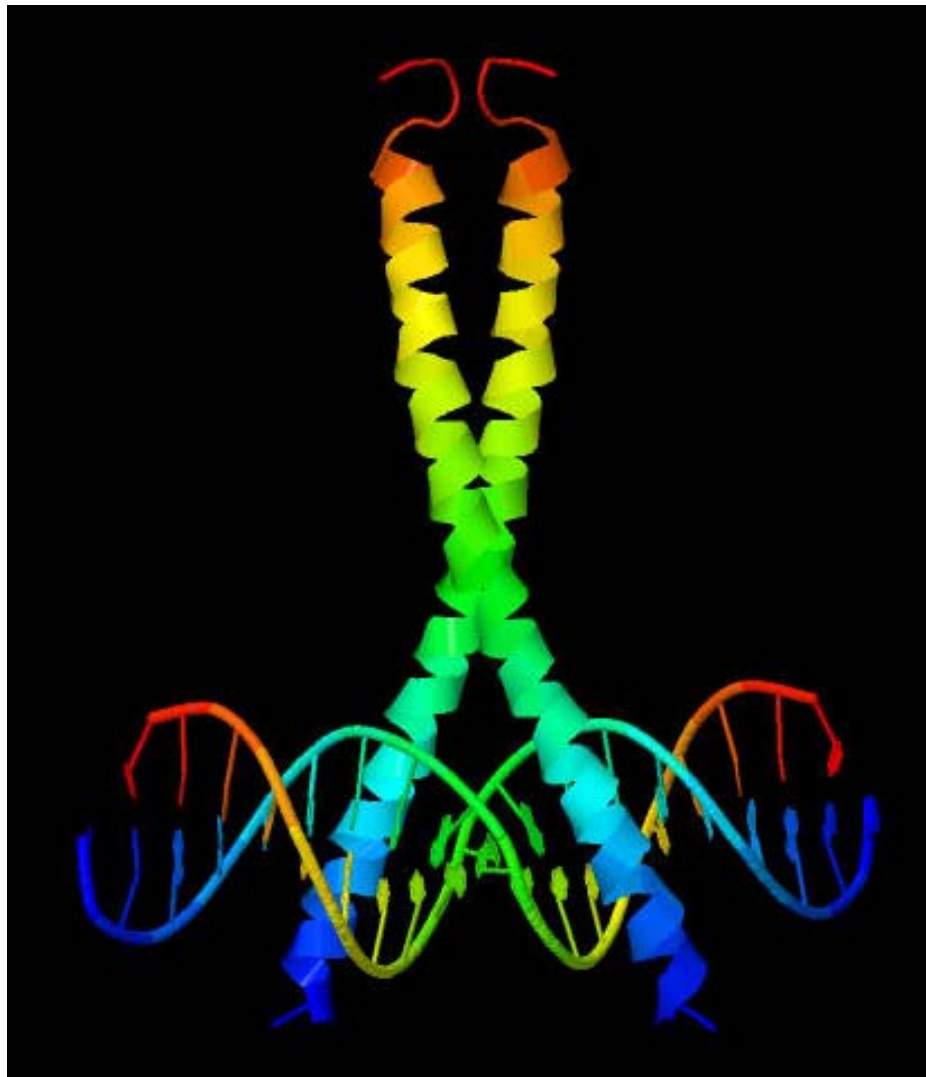
El eje de la proteína es perpendicular al DNA

Ejemplo: **CRE** - región palindrómica de 8bp  
**CREB** - monómeros de 43 kDa



## **bZIP = *Basic Region Leu Zipper* (III)**

---



**Estructura de bZIP unida a la secuencia  
de reconocimiento en el DNA**

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

## HELICE – GIRO – HELICE = *HELIX – TURN - HELIX* -HTH- (I)

---

Estructura supersecundaria formada por dos hélices enlazadas entre sí por un giro ó codo

### 2 motivos distintos

**hélice – bucle – hélice** = helix – loop – helix (HLH)

el bucle tiene una estructura no ordenada y es más largo que el giro

**hélice – giro – hélice** = helix – turn – helix (HTH)

el giro es muy corto, no es un giro en  $\beta$  y el primer  $\alpha\alpha$  es Gly



Estructura de HTH unida a la secuencia de reconocimiento en el DNA

$\alpha$ -hélice

giro

$\alpha$ -hélice de reconocimiento

Fuente de la imagen:  
RCSB PDB. N. acceso: 6CRO

## Estructura Hélice - Giro - Hélice -HTH- (II)

---

**Estructura** con un eje de simetría binario constituida por 20  $\alpha\alpha$

**Primera  $\alpha$ -hélice** (corta):  $\alpha\alpha$  1-7

**Giro:**  $\alpha\alpha$  8-11: ángulo de  $120^\circ$  entre las dos hélices

generalmente, el  $\alpha\alpha$  9 es Gly ("*helix breaker*") para permitir el giro de la hélice

**Segunda  $\alpha$ -hélice** (corta):  $\alpha\alpha$  12-20

Hélice de reconocimiento que interacciona con el DNA

Los residuos de la cara no opuesta a la otra hélice interaccionan con las bases nitrogenadas del surco mayor

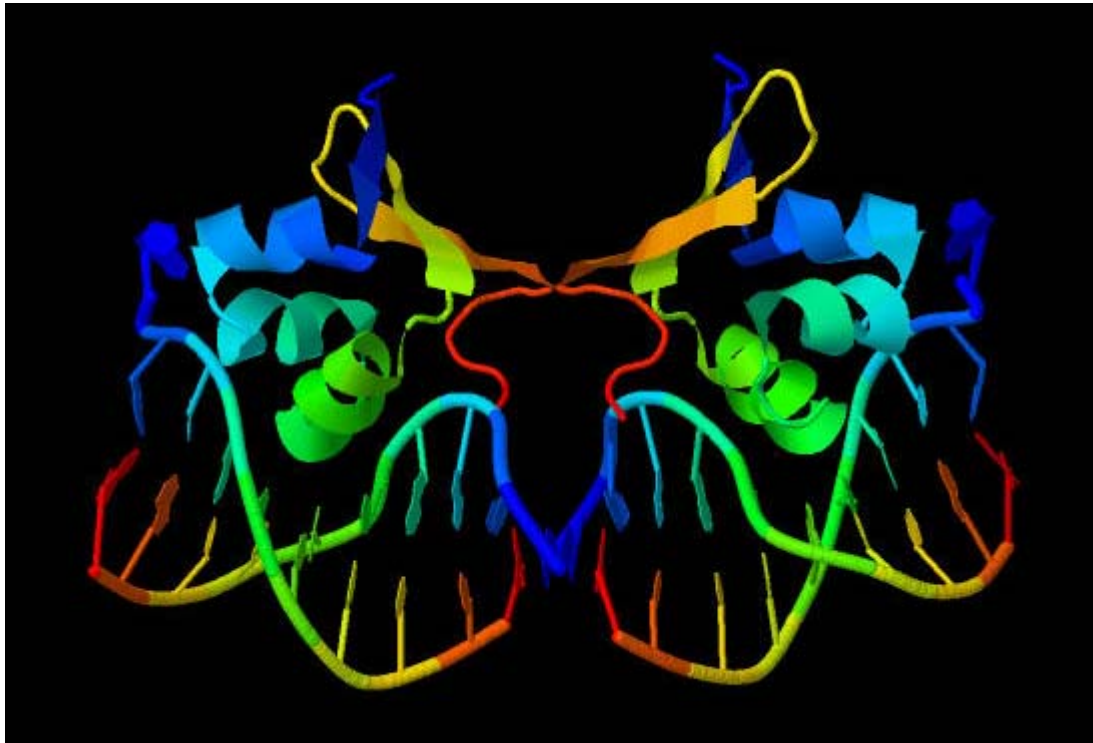
**Las interacciones no polares entre las cadenas laterales enfrentadas de las dos hélices estabilizan la estructura supersecundaria**

## Estructura Hélice - Giro - Hélice -HTH- (III)

---

**Dominios** relacionados evolutivamente

Homología en su secuencia proteica



**Estructura de un dímero con dos motivos HTH unido a la secuencia de reconocimiento en el DNA**

**Ejemplos de proteínas con este motivo**

**En procariontes**

- proteína CAP
- represor *trp*
- proteínas Cro de bacteriófagos

**En eucariontes**

- dominios homeóticos

*Fuente de la imagen:  
RCSB PDB. N. acceso: 6CRO*

## **b/HLH = *basic / Helix – Loop – Helix***

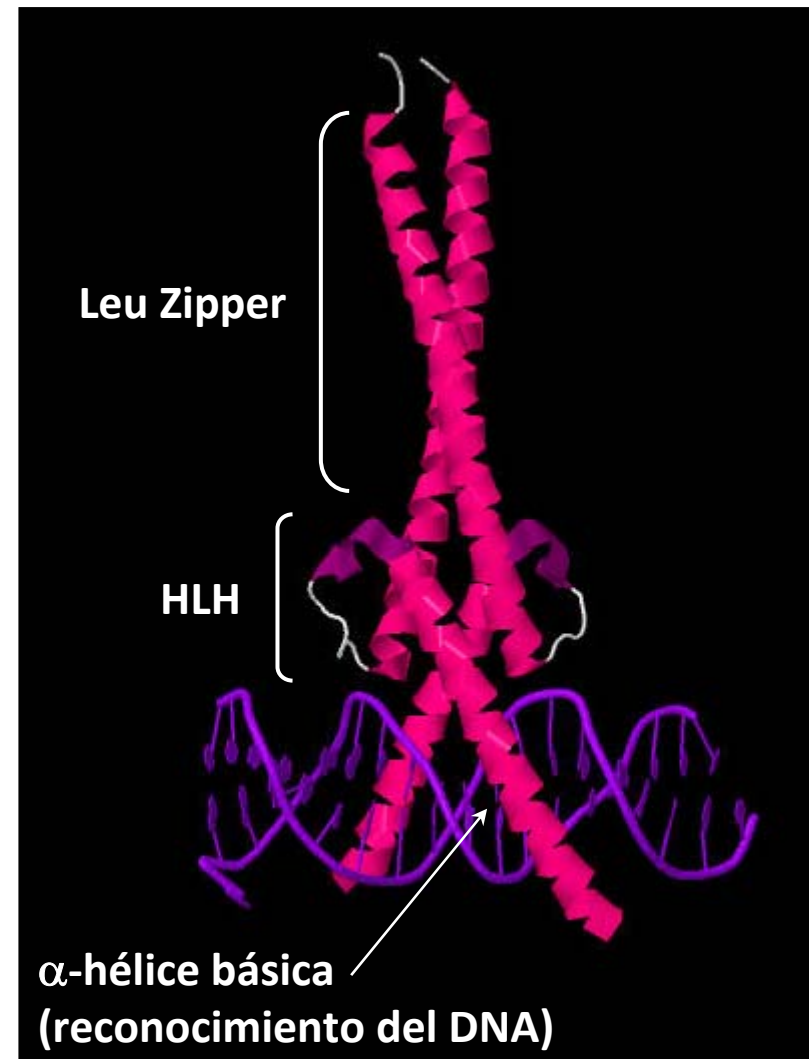
---

### **Estructura más compleja**

- región básica de unión al DNA
- 2  $\alpha$ -hélices anfipáticas conectadas por un giro  
median la dimerización de la proteína
- muchas veces este motivo está  
seguido por una cremallera de Leu  
se potencia la dimerización = **b/HLH/Z**

### **Ejemplo**

proteína Max, que dimeriza con Myc



**Estructura de un dímero Myc-Max con b/HLH/Z  
unido a la secuencia de reconocimiento en el DNA**

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

# Homeodominios ó dominos homeóticos (I)

---

Presentes en **eucariontes**

Controlan la **planificación estructural básica del embrión**

segmentos del tórax, abdomen, localización de las extremidades etc

Una **mutación** en estos genes provoca la transformación de una parte del cuerpo en otra, la duplicación ó la supresión de segmentos enteros

Los dominios homeóticos están **altamente conservados** a lo largo de la evolución

Accion como **monómeros**

**DNA**

La secuencia de reconocimiento de estos dominios es la **secuencia homeo de 180bp**



## Homeodominios ó dominos homeóticos (II)

---

### Dominio homeótico

Dominio proteico de **60**  $\alpha$  rico en **residuos básicos**

Forma una estructura con un **brazo N-terminal** extendido y 3  $\alpha$ -hélices

Las hélices 1 & 2 son antiparalelas entre sí y perpendiculares a la hélice 3

**El brazo N-terminal encaja en el surco menor**

**&**

**La hélice 3 interacciona con el DNA del surco mayor**

## Homeodominios ó dominos homeóticos (III)



$\alpha$ -hélice 3  
(encaja en el surco mayor)

brazo N-terminal  
(encaja en el surco menor)

$\alpha$ -hélices 1 & 2

**Estructura de una proteína homeótica (con dos homeodominios)  
unida a la secuencia de reconocimiento del DNA**

*Fuente de las imágenes:  
RCSB PDB. N. acceso: 1B72*

# Familias de genes homeoticos

---

## *Drosophila*

### **ANT-C: *antennapedia***

Regula la cabeza y los segmentos torácicos anteriores

### **BX-C: *bithorax***

Regula los segmentos torácicos posteriores y los abdominales

**Vertebrados:** genes **HOX** dispuestos en 4 grupos HOXA–HOXD

## **La ordenación de los genes en los clusters**

Se ha conservado a lo largo de la evolución

Se corresponde con su orden de actuación en el eje anteroposterior del embrión