

LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA.

En procariotas y eucariotas.

Enero 2018

La genética molecular o química de la herencia. Identificación del ADN como portador de la información genética. Concepto de gen.

Genética molecular.

Replicación del ADN. Mecanismos de la replicación del DNA, corrección de errores.

Las características e importancia del código genético y las pruebas experimentales en que se apoya. Transcripción y traducción genéticas en procariotas y eucariotas.

Genes enzimas y caracteres. Teoría un gen-una enzima.

Del gen a la proteína; El flujo de la información genética.

La expresión de los genes, introducción.

La transcripción en procariotas y eucariotas: iniciación, elongación, terminación.

Maduración postranscripcional: adición de la caperuza de metil-guanosina trifosfato, adición de una cola poli A corte de intrones y pegado de exones y edición o corrección del pre ARN-m.

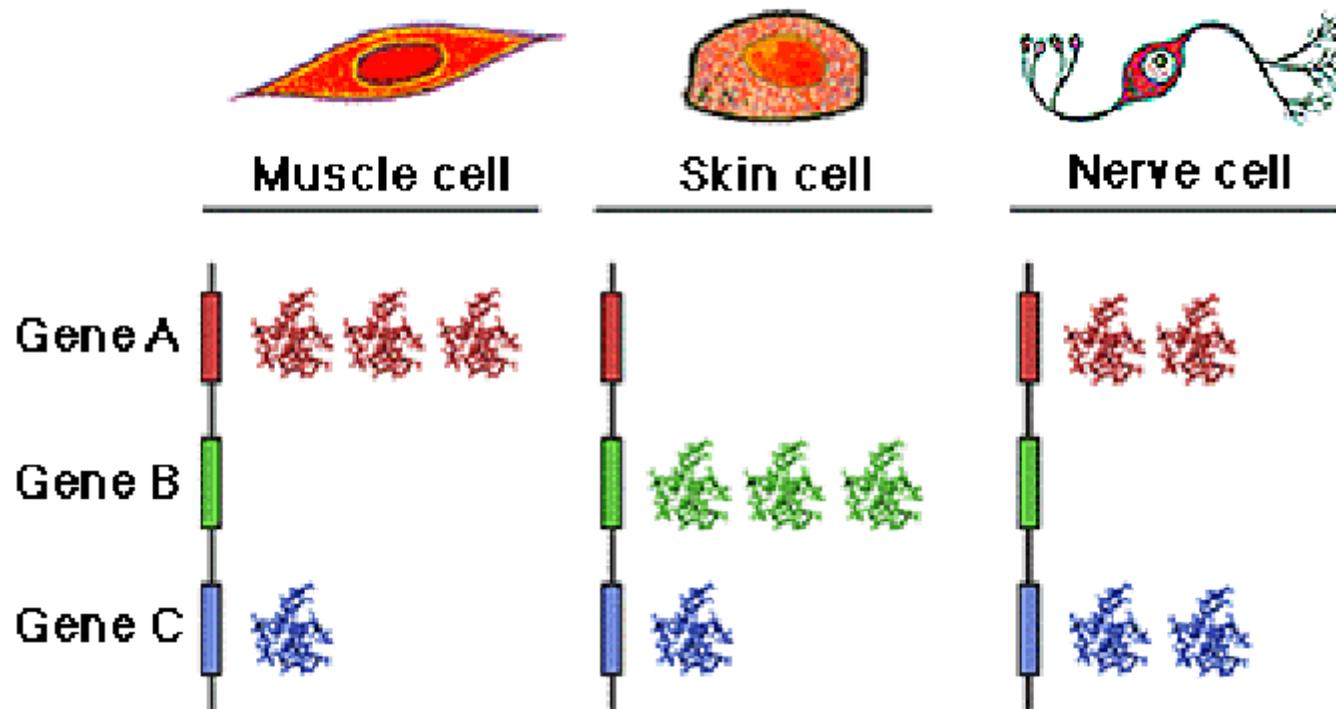
Traducción: descodificación del ARN. El código o la clave genética.

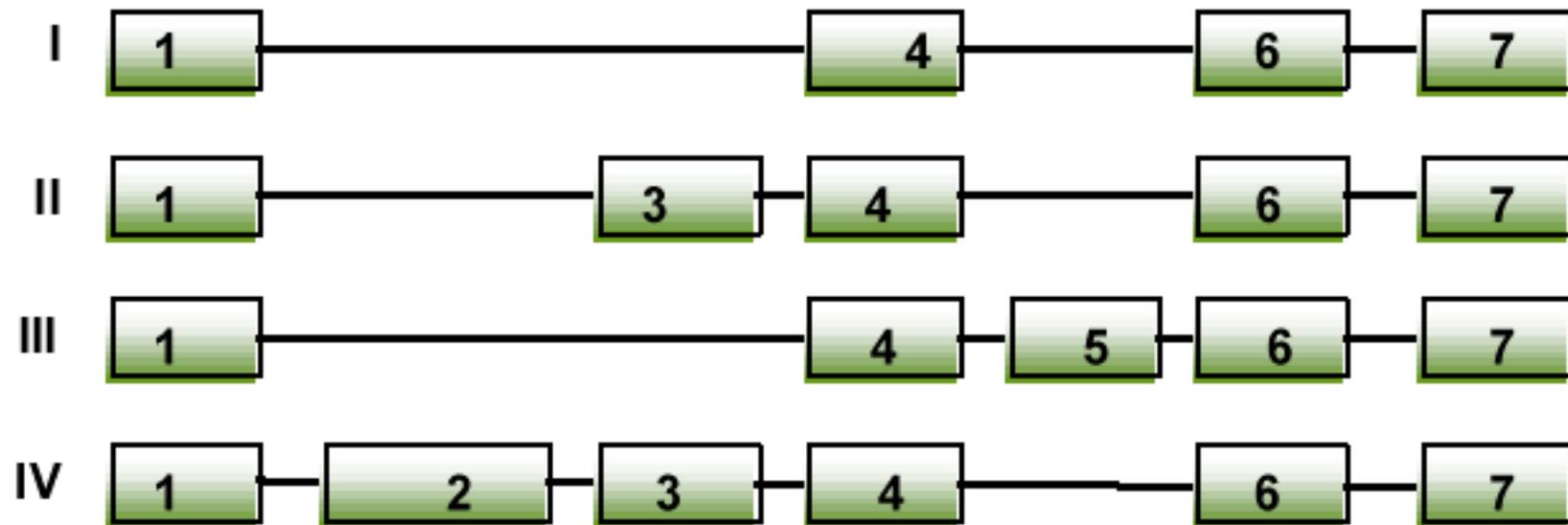
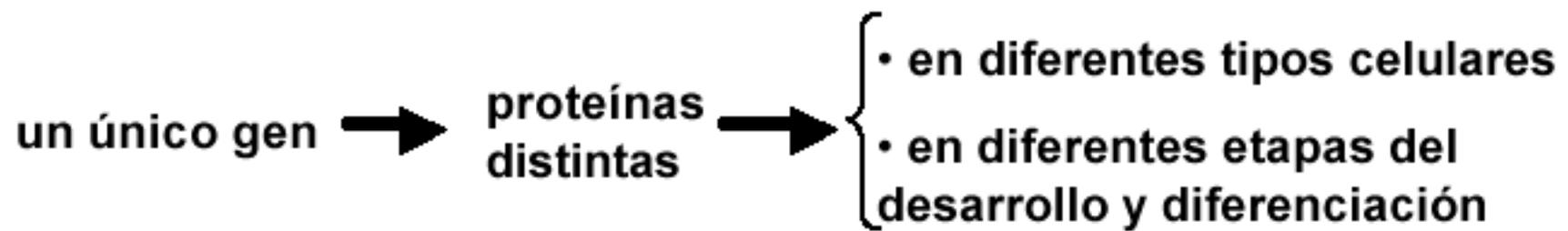
Traducción. Activación de los aminoácidos. Traducción: iniciación, elongación y finalización de la síntesis. Asociación de varias cadenas polipeptídicas para constituir proteínas.

La regulación de la expresión génica, concepto.

¿POR QUÉ ES NECESARIO REGULAR LA EXPRESIÓN DE LOS GENES?

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA





RECUERDO DE LOS TIPOS DE GENES.

- Un **gen** es la unidad fundamental de información en los seres vivos. Desde el punto de vista bioquímico es **un segmento de DNA** (o de RNA en algunos casos * de virus) **que codifica la información necesaria para producir un producto biológico funcional**. Este producto suele ser una **proteína**, aunque también puede ser una de las diversas clases de **RNA**.
Los genes (junto con material intergénico) **se alinean en cromosomas**, que a su vez constituyen el genoma celular.

Como hemos visto al explicar la transcripción, existen tres tipos de genes:

Genes tipo I: codifican el **rRNA**. Interviene una **RNA polimerasa tipo I (pol I)**, responsable de la síntesis de un sólo tipo de RNA prerribosómico que al madurar originará rRNA de 18 S, 5'8 S y 28 S.

Estos genes se repiten en el genoma y se transcriben simultáneamente, suelen estar en los **organizadores nucleolares o regiones NOR** (en los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos: 13, 14, 15, 21 y 22). Cuando las células están en reposo se encuentran en la zona del **nucleolo**.

Genes tipo II: son los que codifican el **mRNA** que se traduce a **proteínas** estructurales o enzimáticas (también codifican algún RNA de función especial). Interviene una **RNA polimerasa tipo II (pol II)**, que ha de reconocer miles de promotores, puesto que estos genes están repartidos por todos los cromosomas. Algunas secuencias de nucleótidos son comunes a todos los promotores de eucariotas y sirven para que se fijen a ellas unas proteínas, denominadas **factores de transcripción**, que modulan la fijación de la RNA polimerasa al promotor.

Muchos genes de este tipo en eucariotas tienen una estructura característica y sorprendente: además de poseer secuencias de nucleótidos que codifican la secuencia de a.a. del producto polipeptídico, contienen uno o varios segmentos intercalados que no codifican. Los segmentos de DNA que no se traducen se denominan **secuencias intercaladas o intrones** (aparecen en el RNA inmaduro, pero son eliminadas y no están en el RNA maduro), mientras que los segmentos codificantes se denominan **exones**. La función de los intrones no está clara en muchos casos,

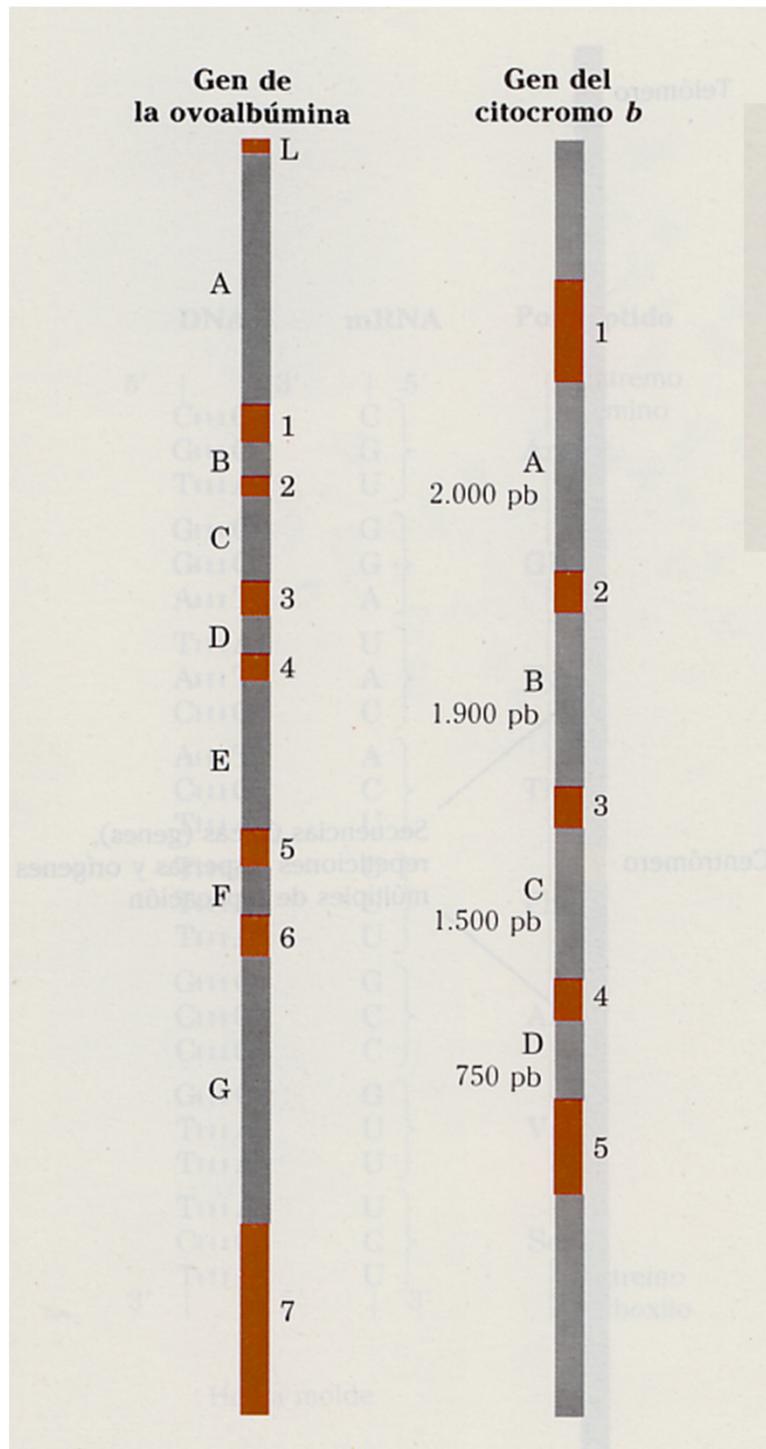


Figura 23-8 Secuencias intercaladas o intrones en dos genes eucarióticos. El gen de la ovoalbúmina tiene siete intrones (de A a G), que dividen las secuencias codificantes en ocho exones (L, del 1 al 7). El gen del citocromo *b* tiene cuatro intrones y cinco exones. En ambos casos, se dedica más DNA a los intrones que a los exones. Se muestra el número de pares de bases (pb) de los intrones del gen del citocromo *b*.

Ejemplos. Gen de la ovoalbúmina (proteína del huevo): 7 intrones (85 % del gen)

Gen de la albúmina sérica: 6 intrones.

Gen del colágeno: 50 intrones

Genes de las histonas: sin intrones.

Gen de la distrofia muscular, el gen más grande conocido: 75 exones

Genes procarióticos: tan sólo unos pocos contienen intrones.

Genes tipo III: codifican el **rRNA 5S** y los **tRNA**. Interviene una **RNA polimerasa tipo III (pol III)** que reconoce a un promotor perfectamente caracterizado.

Como ejemplo, en la especie humana, el gen para el rRNA 5S se encuentra repetido 2000 veces en el cromosoma 1. Los genes para los tRNA se encuentran en otros cromosomas.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

En el **genoma bacteriano** (**procariotas**) están presentes unos 4000 genes, mientras que en el **genoma humano** (**eucariotas**) se estima que son 25.000-30.000.

Las células no están continuamente sintetizando todos los tipos de proteínas para las cuales tienen información. Algunas de ellas tienen funciones que requieren su presencia en grandes cantidades (por ejemplo, los factores de elongación requeridos para la síntesis proteica se encuentran entre las proteínas más abundantes en bacterias), otras son necesarias en cantidades mucho menores (por ej. una células posee pocos enzimas que reparan lesiones poco comunes del DNA).

También **la necesidad de determinadas proteínas cambia con el tiempo** (los enzimas de ciertas rutas metabólicas aumentan o disminuyen en función del cambio o agotamiento de las fuentes de alimentación) o **con los tipos celulares** (las células musculares contienen gran cantidad de **actina** y **miosina** y los glóbulos rojos de **hemoglobina**).

Por lo tanto debe existir un **sistema de regulación** génica, esencial para que la célula pueda hacer un uso óptimo de la energía disponible.

Como la cantidad de proteínas que sintetiza una célula depende directamente de la cantidad de RNA m presente en el citoplasma y como la vida media de éste es muy corta (minutos) **la regulación de la síntesis proteica viene dada sobre todo por la regulación de la transcripción**, aunque también se da regulación a nivel de la **traducción**.

Regulación de la expresión génica en procariontes

Regulación del inicio de la transcripción. En 1960, Jacques Monod y François Jacob propusieron un modelo denominado **operón**, para explicar el funcionamiento de los genes procarióticos (el artículo fue publicado en *Proceedings of the French Academy of Sciences*).

Las bacterias tienen un **mecanismo simple** para coordinar la regulación de los genes cuyos productos están implicados en procesos relacionados: **esos genes están agrupados en el cromosoma y se transcriben juntos**. La mayoría de los mRNA procarióticos son **policistrónicos**, por lo tanto existe **un sólo promotor** para el inicio de la transcripción de un grupo de genes.

Se denomina **operón** al conjunto formado por el **grupo de genes *que codifican las proteínas**, el **promotor** y **las secuencias adicionales implicadas en la regulación**. Son muy frecuentes los operones de **2 a 6 genes**, pero muchos contienen **20 o más genes**.

OPERON LAC DE
Escherichia coli

El primer operón descrito por estos autores, llamado **operón lac**, estaba implicado en la regulación del metabolismo de la **lactosa** en *E. coli*. Estaba formado por los siguientes componentes:

Un gen regulador (Gen I), continuamente activo que codifica una proteína, el **represor Lac**.

Un promotor, **secuencia de DNA** a la que se une la **RNA polimerasa** para iniciar la transcripción de los genes estructurales.

Un operador, **secuencia de DNA** a la que se une el represor **impidiendo** el paso a la **RNA polimerasa**.

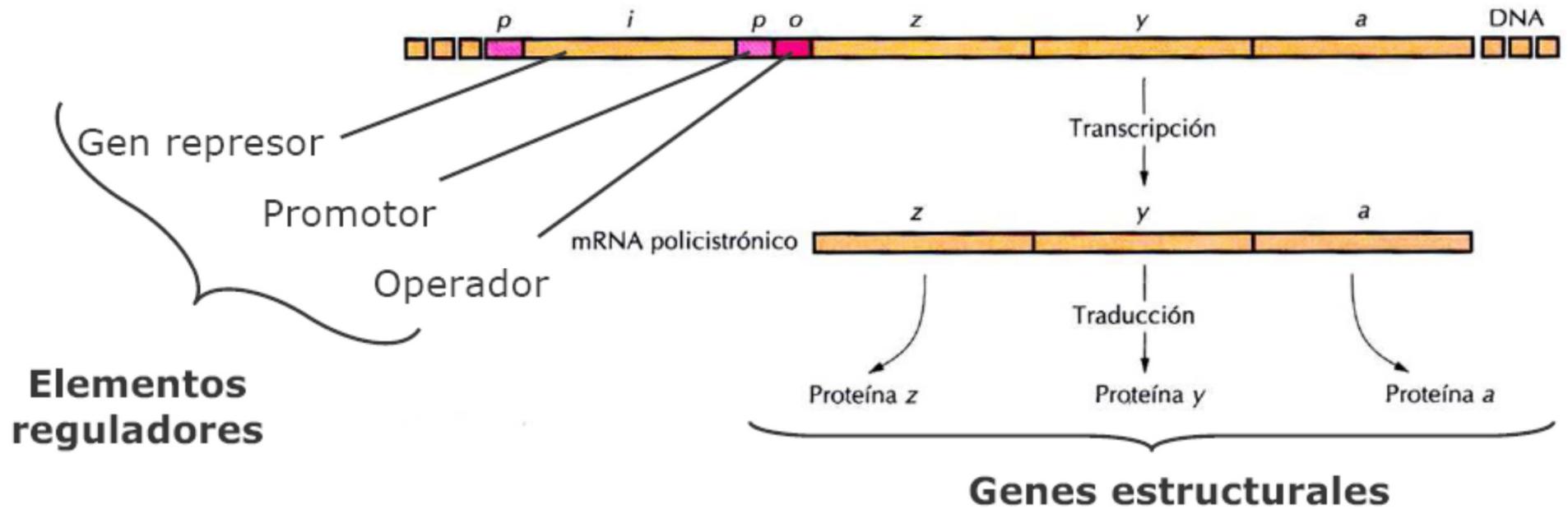
Tres genes estructurales: - gen del la **β galactosidasa**, que hidroliza la lactosa en galactosa y glucosa (Z).

- gen de la **galactósido permeasa**, que transporta la lactosa al interior de la célula (Y).

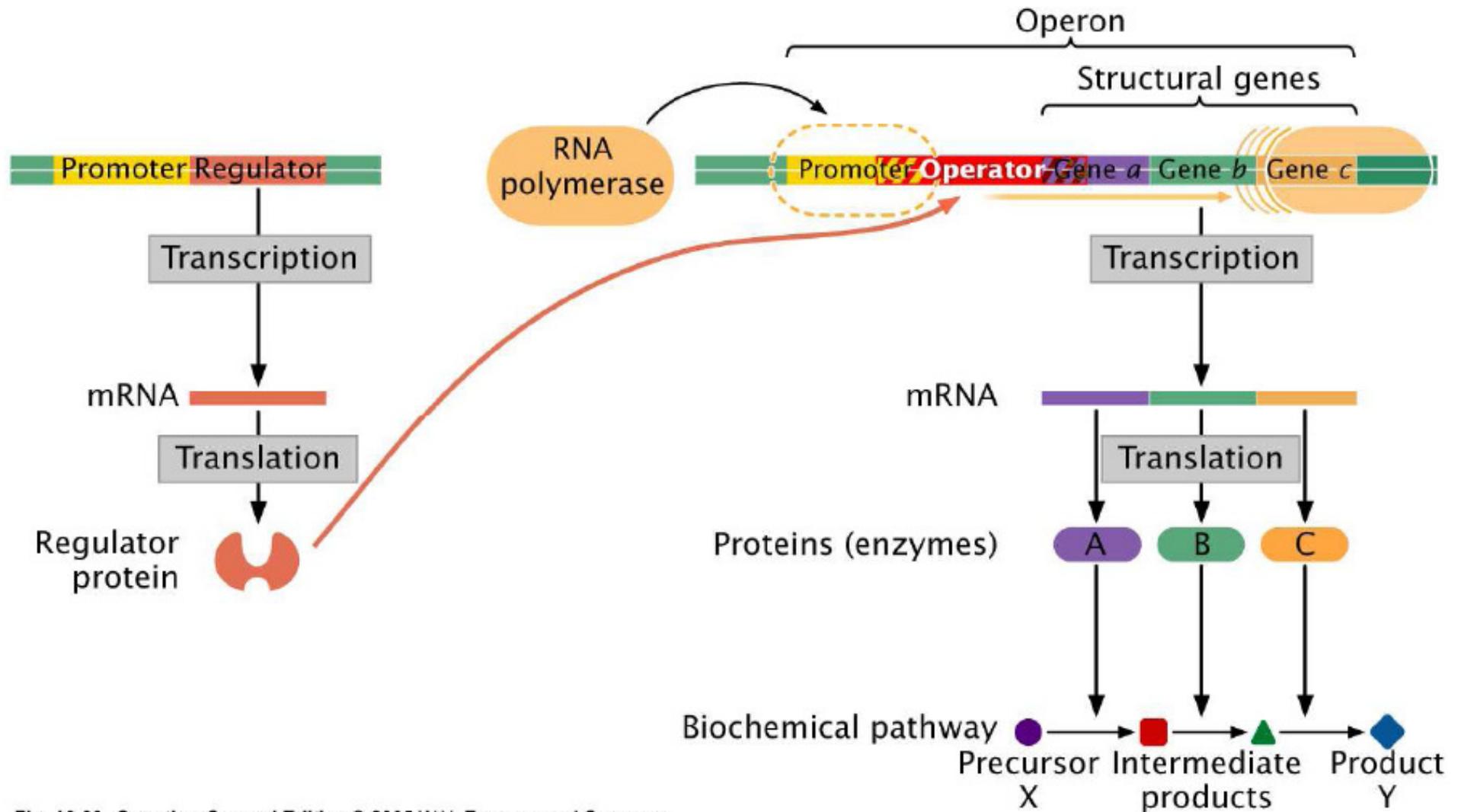
- gen para la **tiogalactósido transcetilasa**, de función fisiológica desconocida (A).

Estos genes producen el mRNA según la información recibida de los genes reguladores.

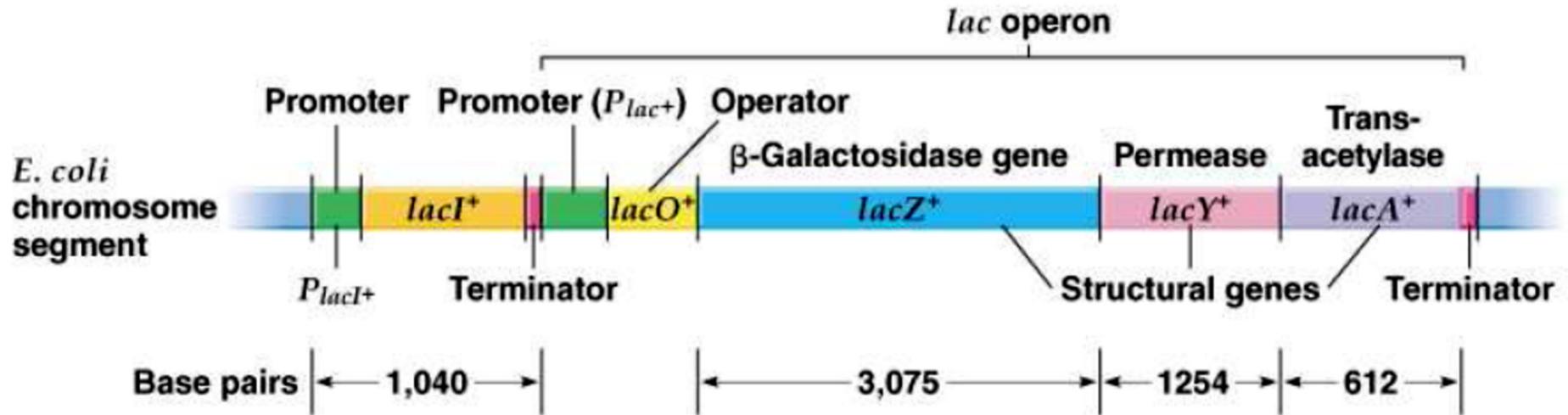
Operón



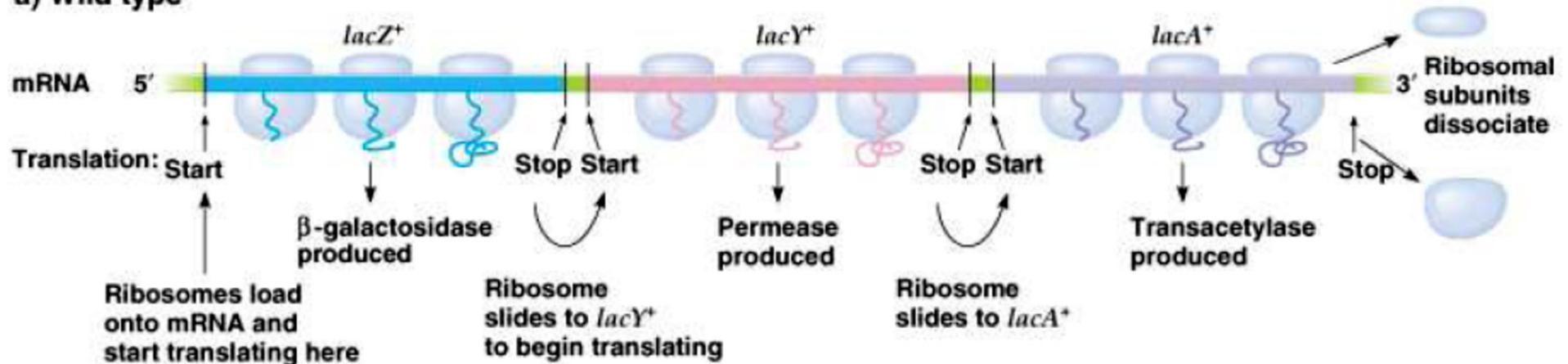
Operón



Fig_16-03 *Genetics, Second Edition* © 2005 W.H. Freeman and Company



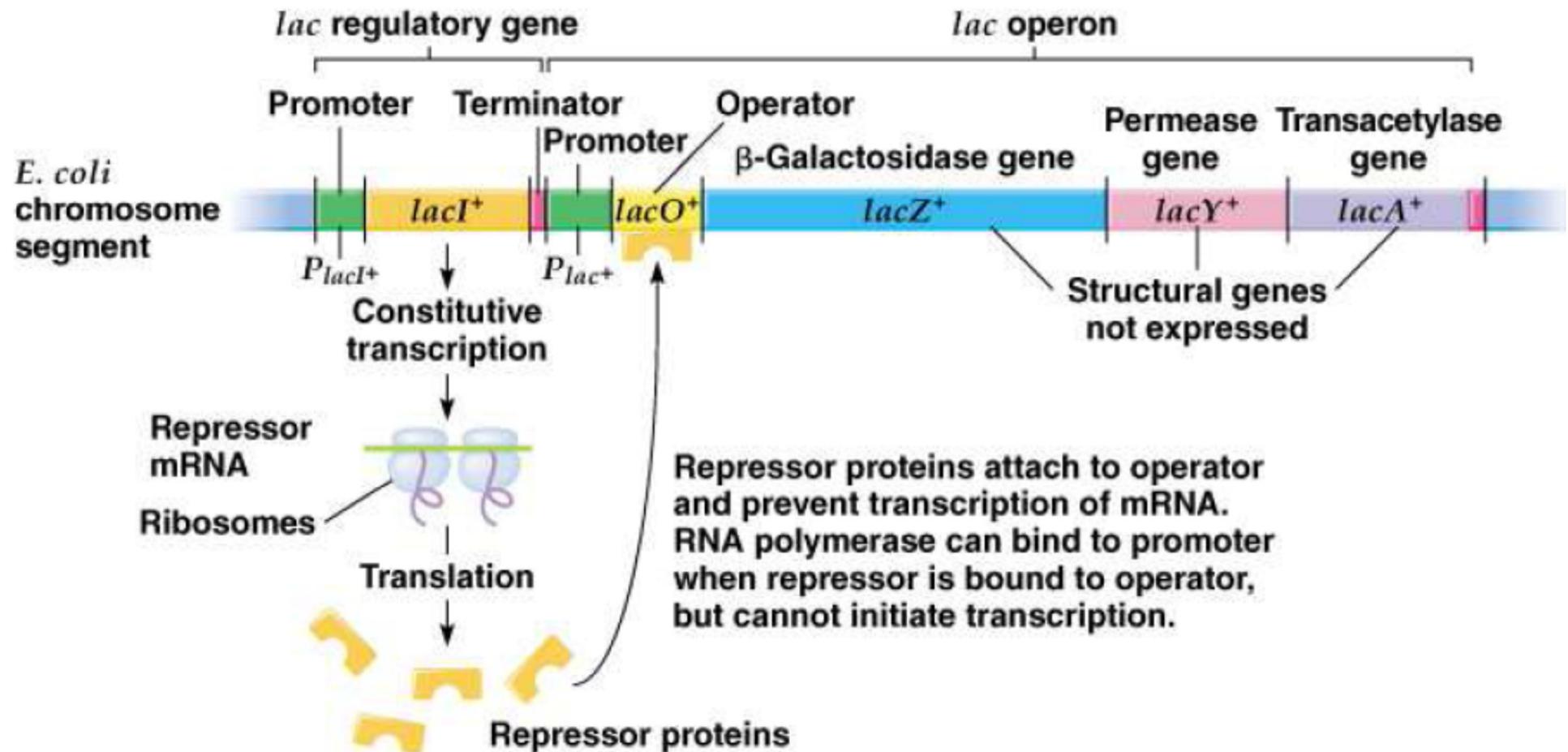
a) Wild type



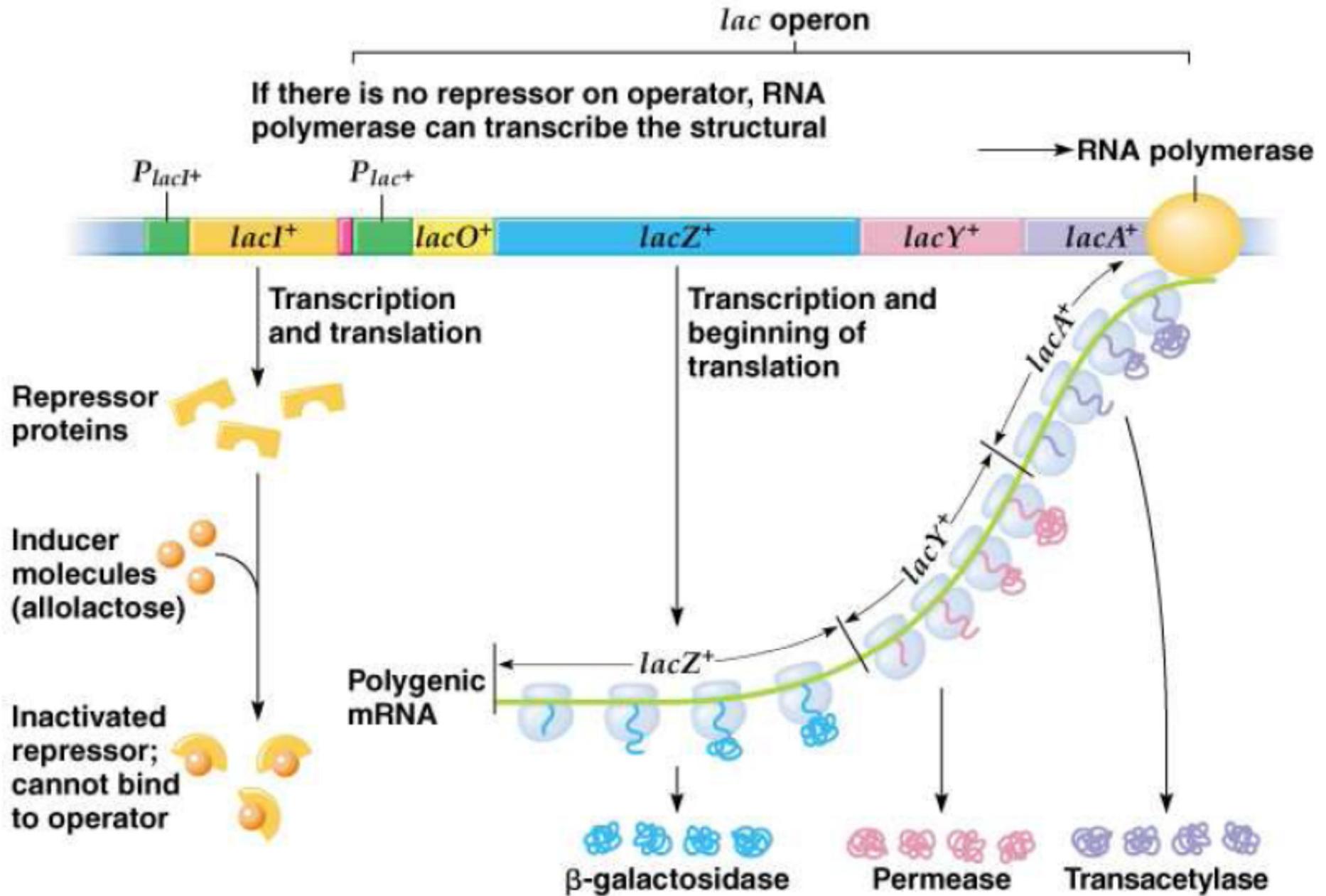
Este operón funciona mediante **inducción enzimática**: cuando las moléculas reciben una carga de **lactosa**, un isómero de ésta (la **alolactosa**, en la que se convierte la **lactosa** al penetrar en *E. coli*) **se une al represor** y le provoca un cambio conformacional que provoca su **disociación del operador**.

Después la **RNA polimerasa** **inicia la transcripción** de los genes estructurales **aumentando la concentración de los enzimas implicados en el catabolismo de la lactosa**.

En **ausencia** de lactosa



En presencia de lactosa

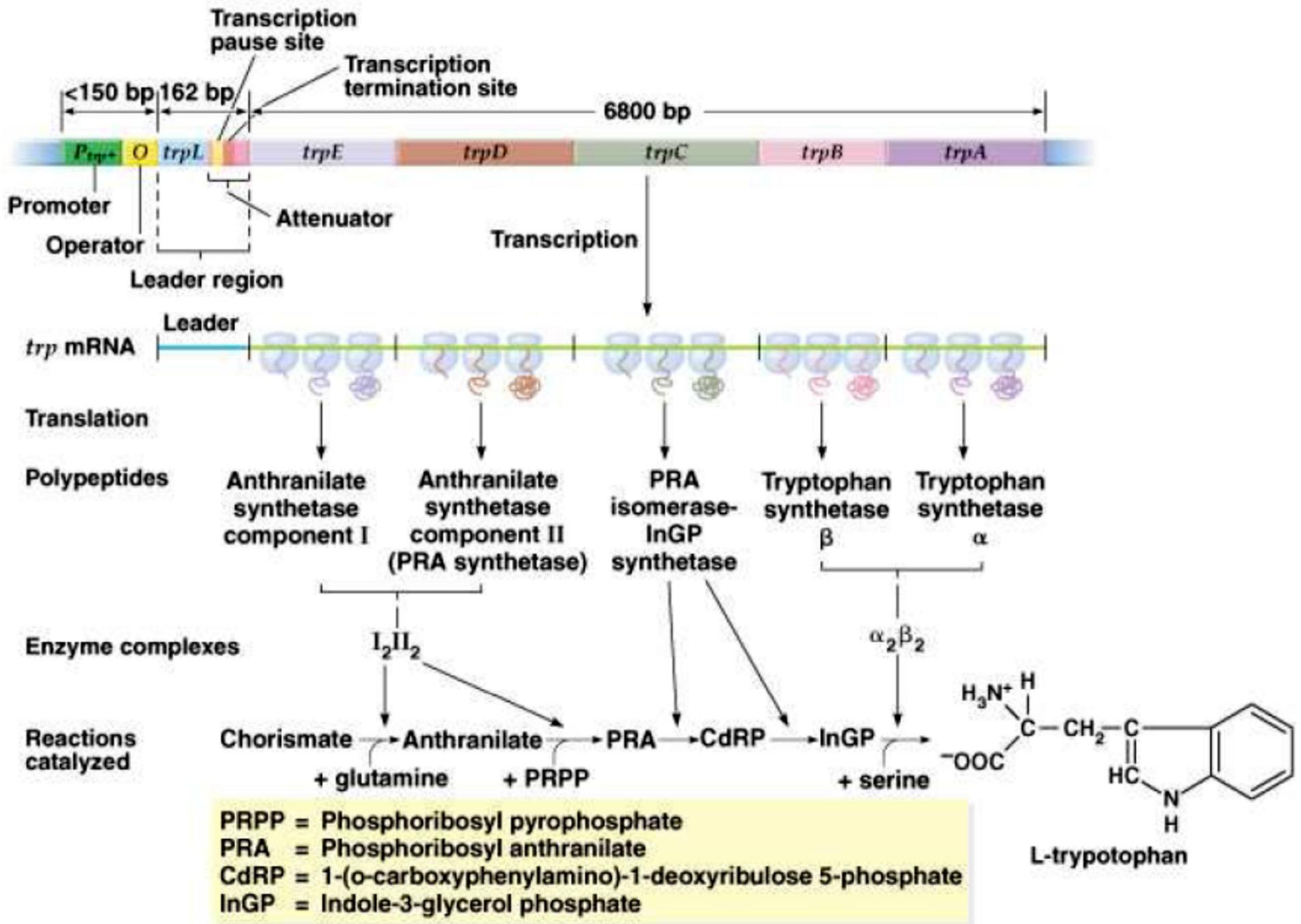


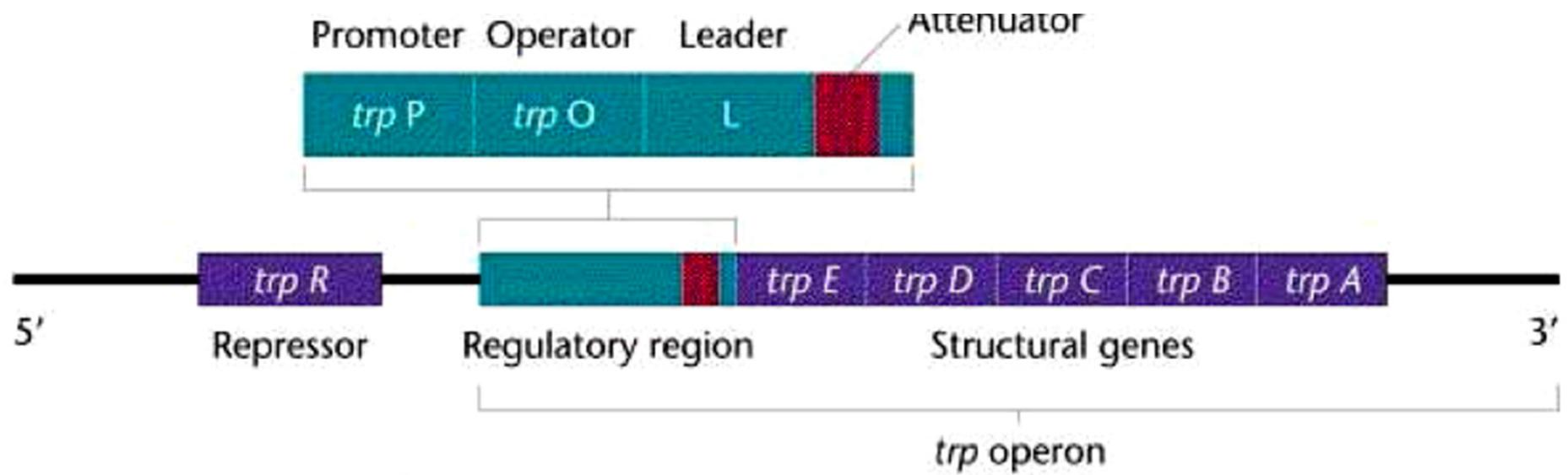
OPERON TRP

Escherichia coli

Otros operones se regulan por **represión enzimática por el producto final**. En este caso es el **producto final el que inhibe la síntesis de las proteínas enzimáticas que regulan su síntesis**. En este caso **la sustancia represora es inactiva** y permite la **transcripción normal**, pero ante **ciertas sustancias correpressoras se vuelve activa** y se fija a la zona del operador, impidiendo el paso de la **RNA polimerasa** que no puede transcribir los genes estructurales.

Como ejemplo tenemos el **operón del triptófano**, conjunto de 5 genes cuya finalidad es producir 5 cadenas polipeptídicas que forman tres enzimas que intervienen en la síntesis del triptófano. Si no hay triptófano el represor no se puede unir al gen operador, pero si hay triptófano esta molécula funciona como un **correpresor**, que unido al **represor** bloquean al gen operador e impiden el paso de la **RNA polimerasa** y por lo tanto la transcripción.

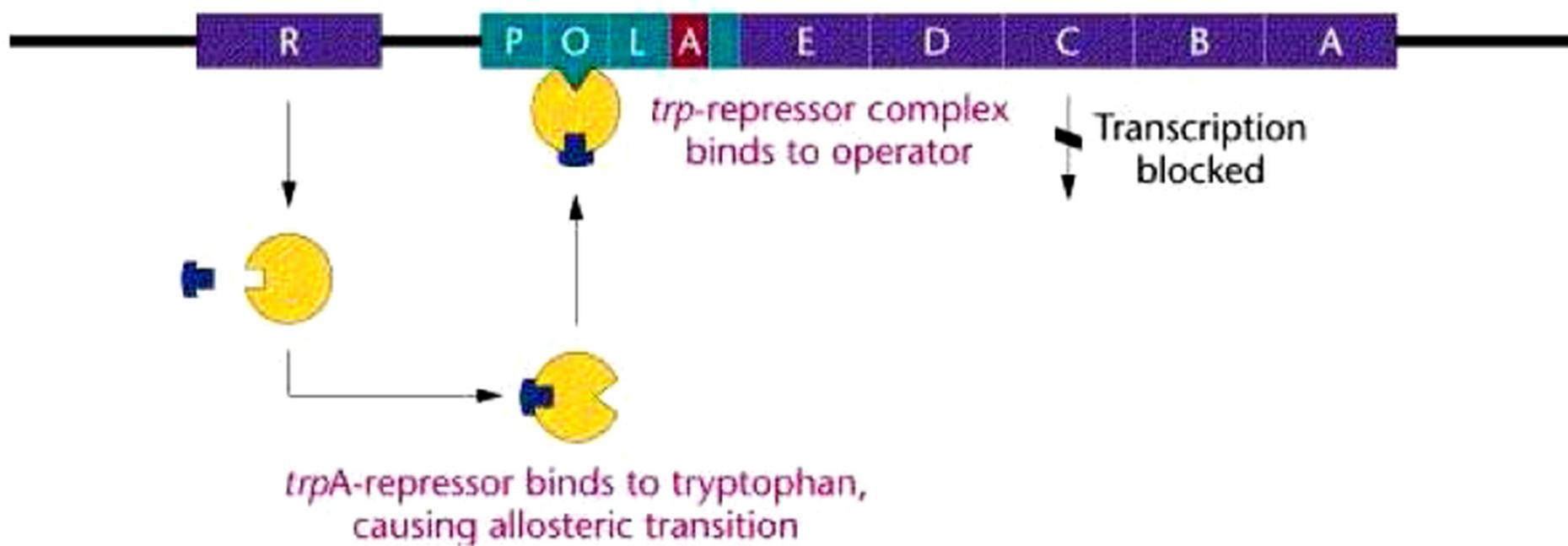




(b) Tryptophan absent



(c) Tryptophan present



Regulación de la expresión génica en eucariotas

Existen al menos 6 niveles de regulación de la expresión génica en eucariotas:

1. Regulación hormonal

Se conocen cada día más los mecanismos por los cuales las hormonas modifican el metabolismo de las células diana. Todavía existen puntos oscuros, pero se dan sobre todo 2 procesos principales de actuación de las hormonas.

- **Hormonas que actúan a nivel de membrana.** Numerosas hormonas interaccionan con proteínas específicas (receptores) en la membrana plasmática de las células blanco y modifican algunas propiedades de la membrana, como permeabilidad, activación de algún enzima intrínseco etc.

El sistema de actuación presenta los siguientes componentes:

a) Un **receptor específico para la hormona**, que es generalmente de naturaleza proteica.

b) Otra proteína intrínseca llamada **proteína G**, que se activa al unirse al **GTP** (guanosintrifosfato, trifosfato de guanosina) cuando está presente la hormona.

c) La **adenilato ciclasa** que es el enzima que cataliza la conversión de ATP en **cAMP** (AMP cíclico).

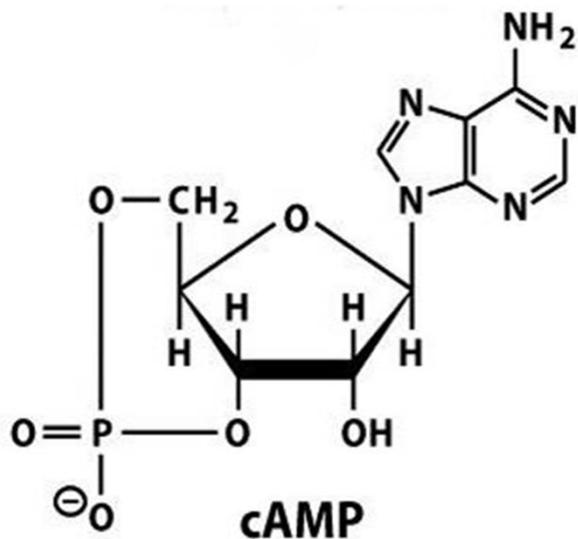
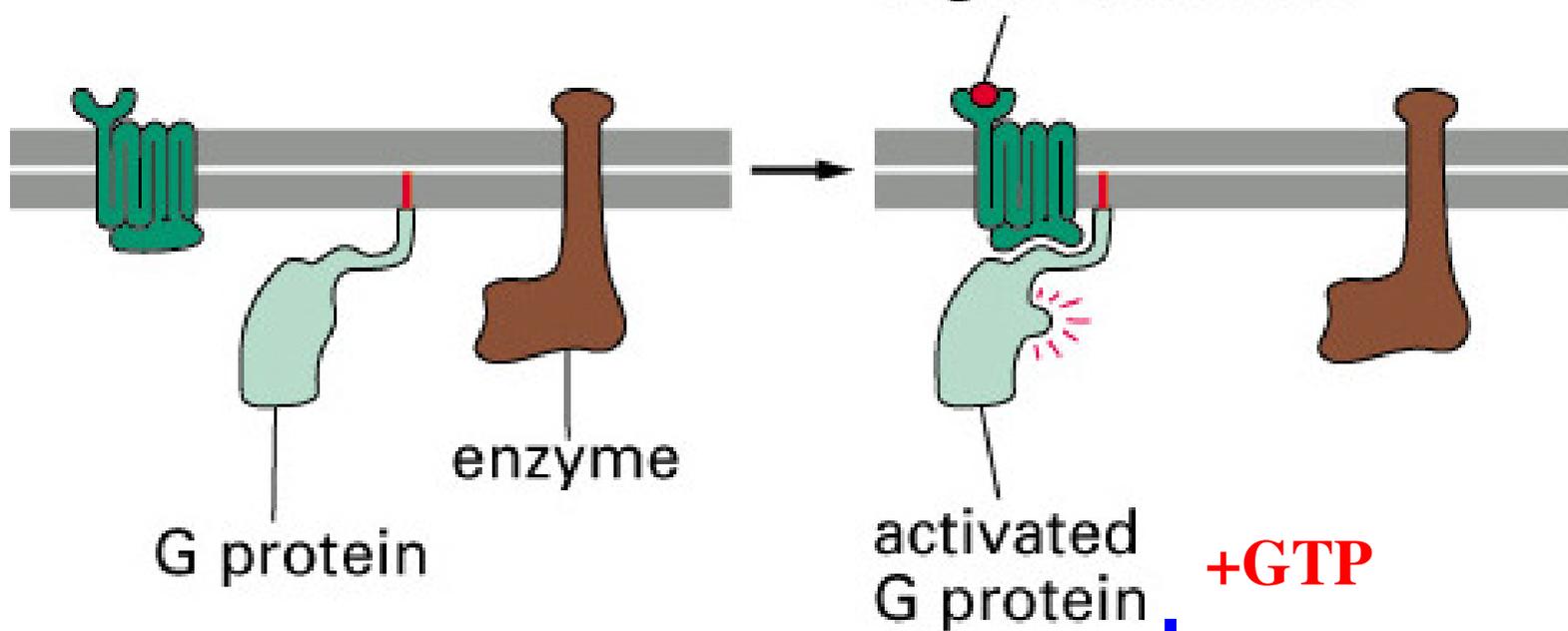
La hormona, **casi siempre de naturaleza peptídica**, no penetra en la célula diana sino que **se une al receptor de la membrana**.

Se forma un **complejo hormona-receptor** que activa a la proteína G que se une a su vez al **GTP**.

El **complejo proteína G-GTP** es un **modulador** más de la **adenilato ciclasa**, que resulta de esta manera activada, por acción de la cual se produce un **aumento de la concentración intracelular del cAMP**.

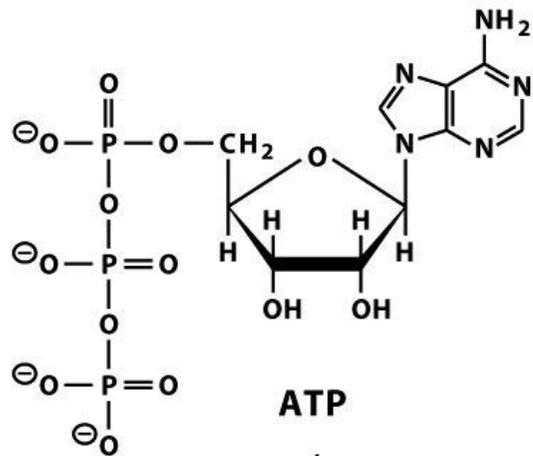
Este nucleótido relativamente pequeño difunde fácilmente y transmite la señal de la hormona. Se dice que **la hormona es el primer mensajero** y que el **cAMP es el segundo mensajero**. Se conocen otros segundos mensajeros como el cGMP y el ión calcio.

Receptor ligado a proteínas G:

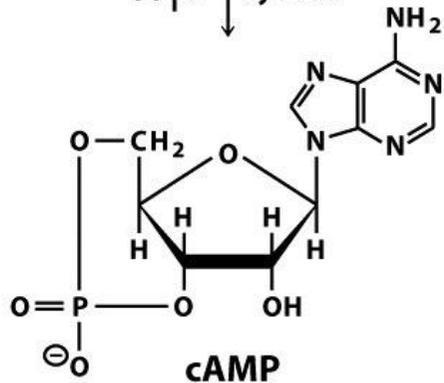
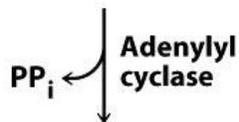


Adenilato ciclasa

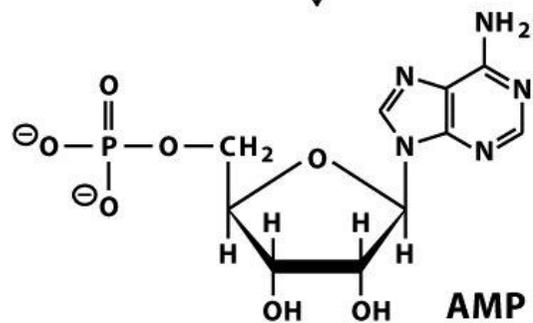
↑ de la concentración intracelular del **cAMP**



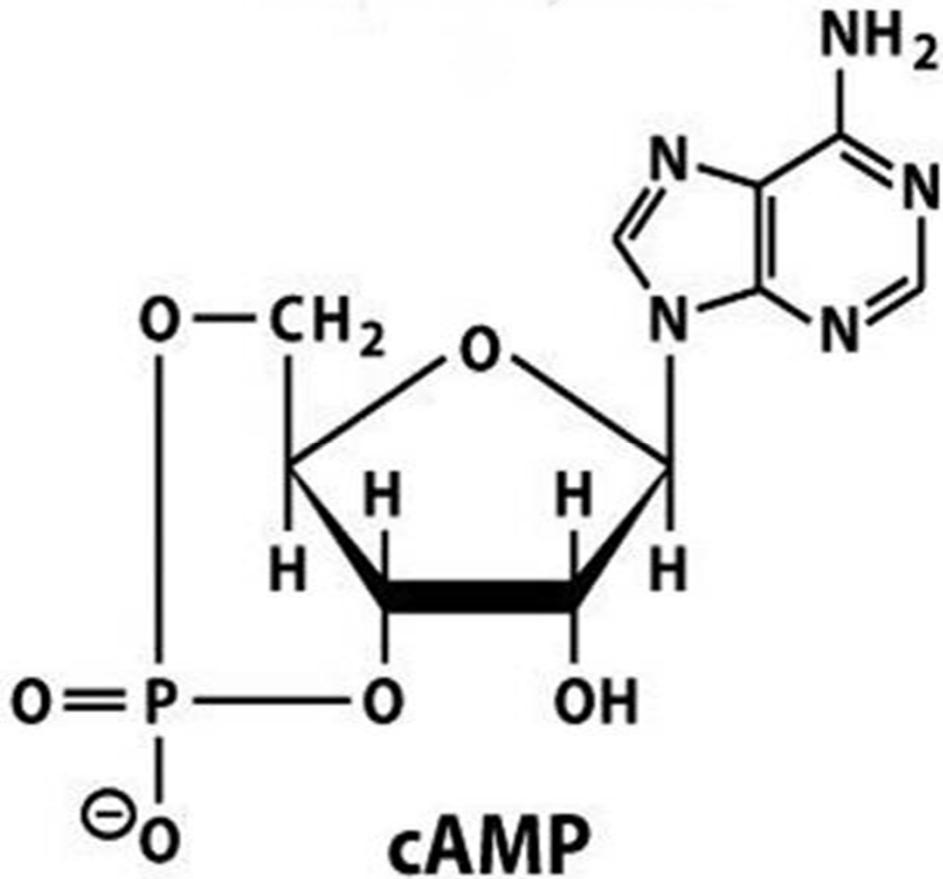
ATP



cAMP



AMP



cAMP

El **cAMP** actúa activando otro tipo de proteínas, llamadas **proteínquinasas**, que se unen al nucleótido a través de ciertas unidades de su molécula que reciben el nombre de subunidades reguladoras. Las unidades catalíticas de estos enzimas pueden **fosforilar** a diversas proteínas que intervendrán en los procesos metabólicos. En general, cuando se fosforila un enzima encargado de la **degradación** de ciertos compuestos se **activa** (**lipasa** del tejido adiposo), **mientras** que si se fosforila un enzima encargado de procesos de **biosíntesis** (**glucógeno sintetasa**), se **inactiva**.

En resumen, la hormona **-primer mensajero-**, actúa en las células blanco, a través de su **segundo mensajero**, activando o inhibiendo, por fosforilación, a enzimas preexistentes.

Al cesar la acción hormonal, **la adenilato ciclasa** debe **inactivarse** y el cAMP destruirse. La **adenilato ciclasa** se **inactiva** porque la proteína G tiene actividad GTPasa e hidroliza al GTP que lleva unido, dando lugar a un complejo proteína G-GDP incapaz de mantener activada a la **adenilato ciclasa**. Solo en presencia de la hormona vuelve la proteína G a unirse al GTP. A su vez, el **cAMP** se hidroliza por una **fosfodiesterasa específica**.

Ejemplo:

El **cólera** es una enfermedad muy grave, causada por la bacteria ***Vibrio cholerae***. Se manifiesta por una diarrea continua que puede ocasionar la muerte en pocas horas por deshidratación y shock.

La sustancia responsable del síndrome diarreico es una proteína-la **toxina colérica**- que actúa a nivel de la **adenilato ciclasa** de las células del epitelio intestinal.

La toxina **activa**, de forma **permanente**, a la proteína G, que a su vez activa a la **adenilato ciclasa** de la membrana, y ésta convierte al ATP en **cAMP**, de forma continuada.

La función del cAMP en las células del epitelio intestinal consiste en el transporte **activo de Na⁺ a la luz del intestino**. Este ión arrastra agua y se produce la intensa diarrea.

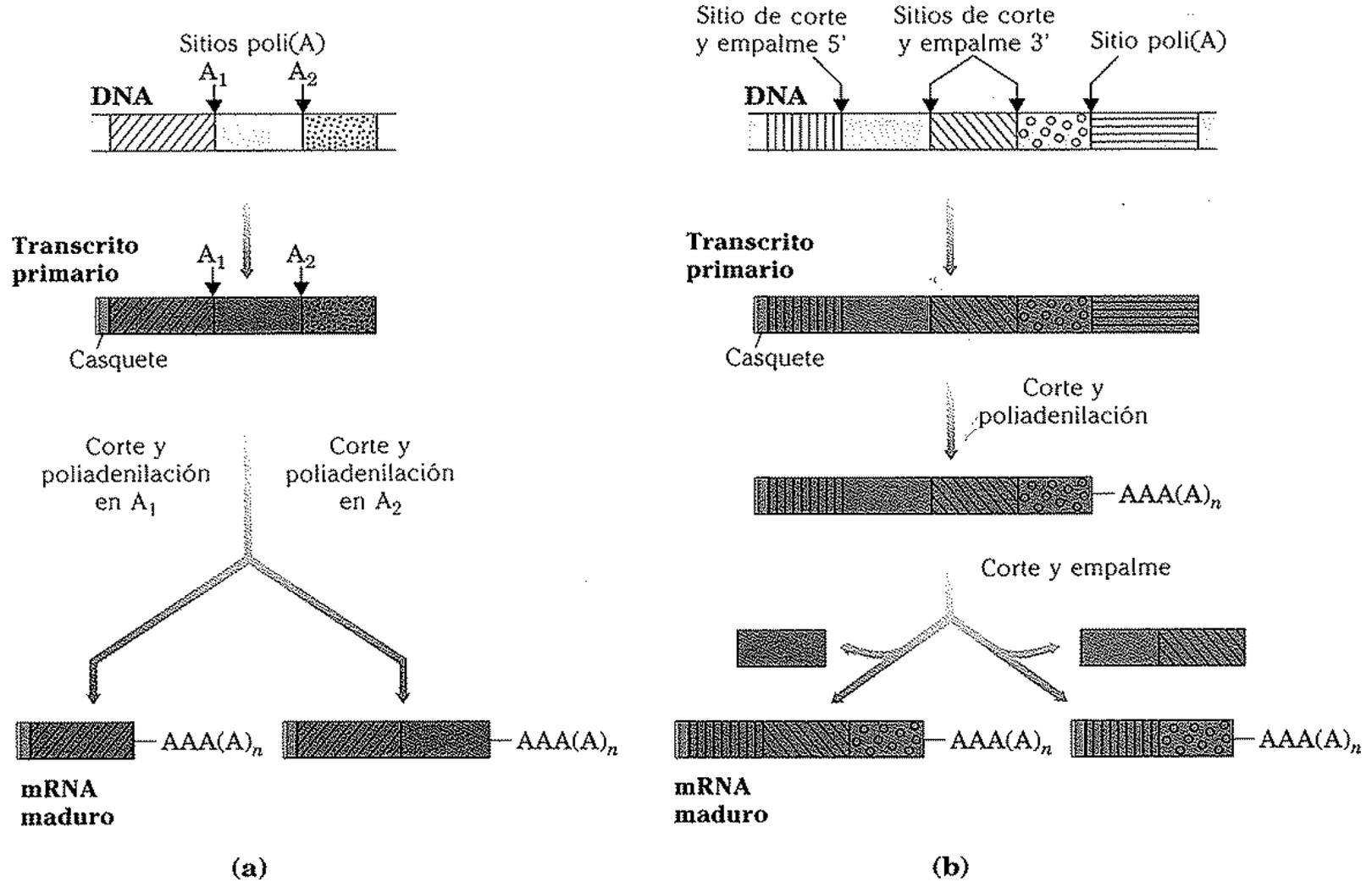
- **Hormonas que actúan a nivel nuclear.** Existen otras hormonas de naturaleza apolar (no solubles en agua, **lipófilas o lipídicas**) que son capaces de atravesar la membrana plasmática y unirse en el citoplasma a proteínas receptoras específicas.

Se forma un **complejo hormona-proteína receptora** capaz de penetrar en el núcleo de la célula y **activar** (rara vez inhibe) **determinados genes** que intervienen en determinados procesos metabólicos. En este caso, la propia hormona, unida a una proteína receptora modifica el metabolismo de la célula, a través de la activación directa de determinados genes.

Por lo tanto, las hormonas son señales para que se modifique la actividad metabólica de las células diana o blanco, pero son éstas las que poseen los receptores y, sobre todo, los sistemas enzimáticos necesarios para que se den esos cambios metabólicos.

2. **Aumento del número de copias de un gen**, es el caso del gen que codifica el rRNA 5S, pero también ocurre en determinados momentos para otro tipo de genes, por ejemplo en oocitos. Se supone que también se da en **oncogenes**.
3. **Reordenaciones en el DNA y en el mRNA inmaduro**. Los mRNA inmaduros se dividen en dos categorías: los **simples**, que producen un sólo tipo de mRNA maduro y los **complejos**, que producen dos o más mRNA maduros y polipéptidos diferentes. Éstos últimos, aunque siguen siendo monocistrónicos (es decir, se forma al final un único mRNA maduro y un sólo tipo de polipéptido), **pueden madurar de dos o más formas diferentes** y originar según la combinación y el número final de exones **una proteína u otra**. Así se sintetizan las distintas **Inmunoglobulinas** a partir de un sólo gen. También se sintetizan de esta manera tres formas diferentes *de **miosina** en las diversas fases de desarrollo de las moscas del vinagre (*Drosophila melanogaster*).

Figura 25-20 Dos mecanismos para la maduración diferencial de transcritos complejos en eucariotas: **(a)** múltiples sitios de corte y poliadenilación (aquí se muestran dos sitios poli(A), A_1 y A_2) y **(b)** patrones de corte y empalme alternativos (se muestran dos sitios de corte y empalme 3' diferentes).

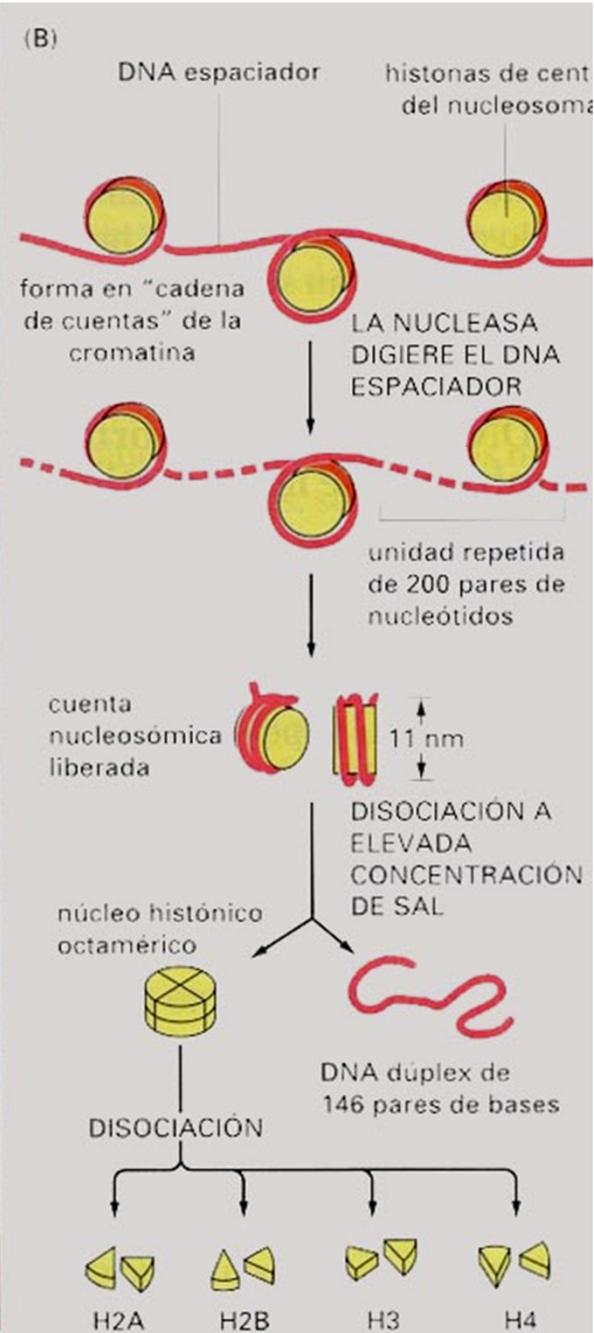
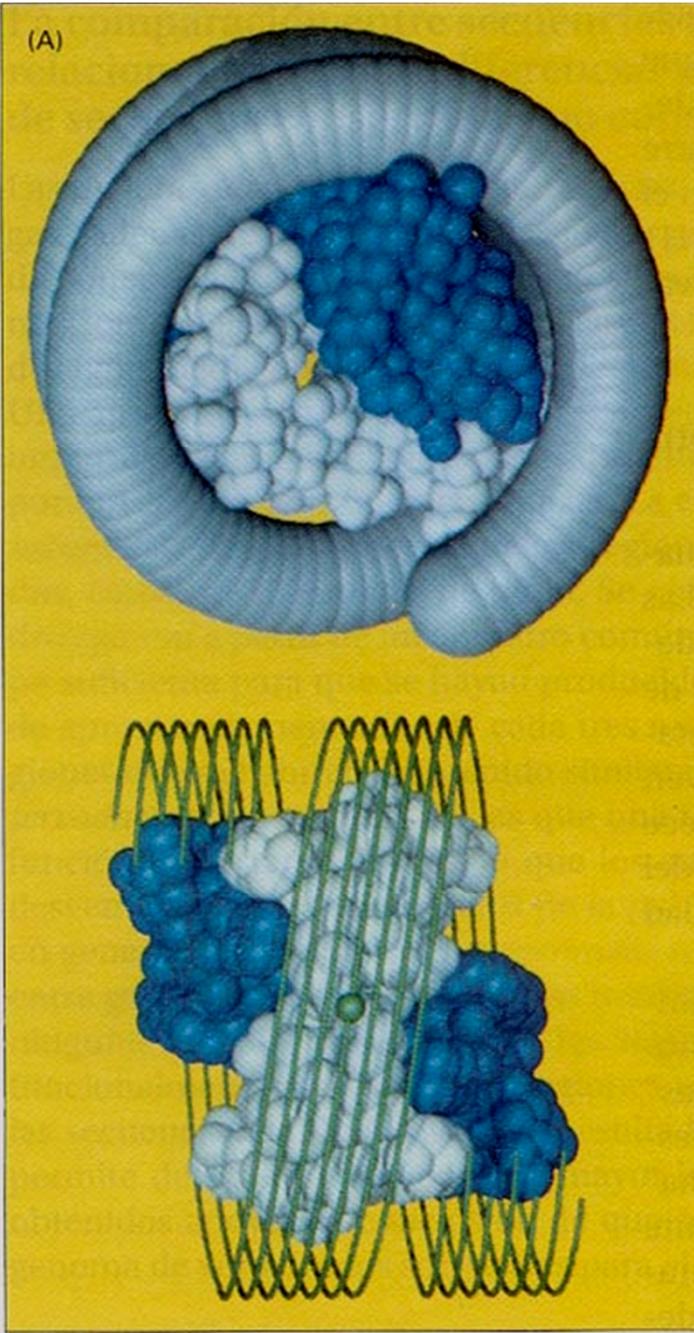


4. Modificación química del DNA por **metilación**. Se produce por enzimas que actúan sobre todo durante la replicación del DNA, metilando* citosinas. **La metilación es un impedimento para la transcripción**. El DNA de la cromatina transcripcionalmente activa suele estar poco metilado.

5. **Fosforilación de las histonas H1 y H3** que inducen un **mayor nivel de transcripción**.

6. **Acetilación de las histonas H1 y H4** (a nivel de lisinas). Parece que la acetilación da una estructura más laxa, lo que **favorece la transcripción**. Además, la cromatina transcripcionalmente activa suele ser **deficiente en histona H1**. En algunos casos **los nucleosomas están ausentes** de las regiones transcripcionalmente muy activas, como los genes para el rRNA de muchas células eucarióticas.

RECUERDO DE LA ESTRUCTURA DE LA CROMATINA Y DE LA POSICIÓN DE LAS HISTONAS Y DNA



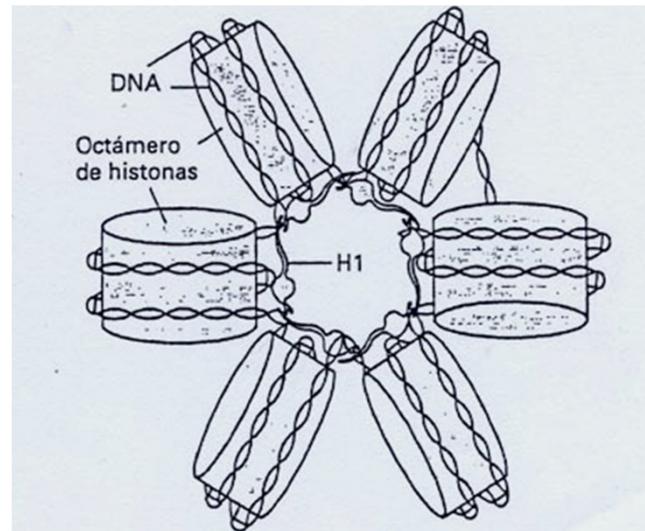
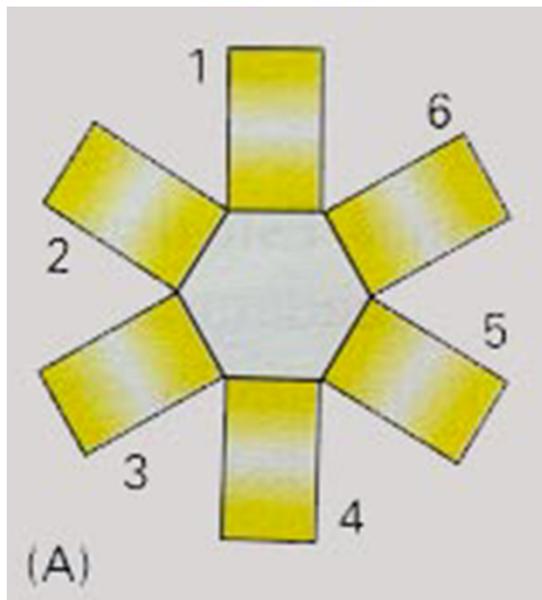
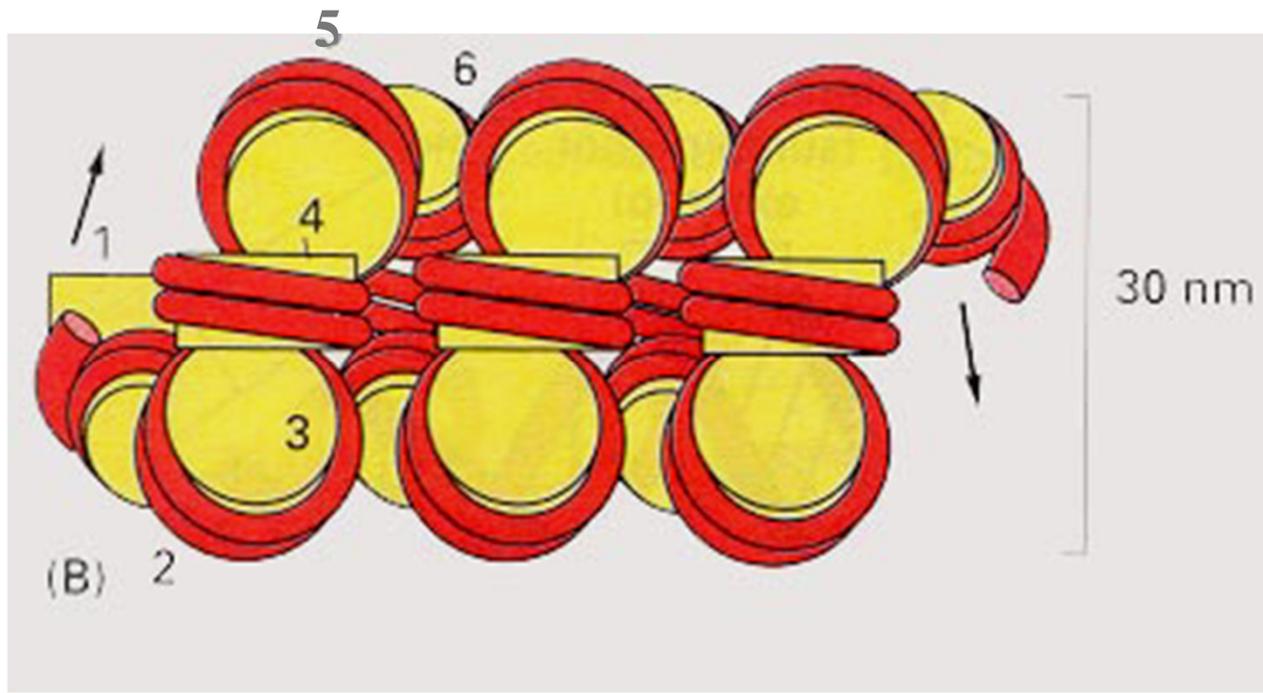
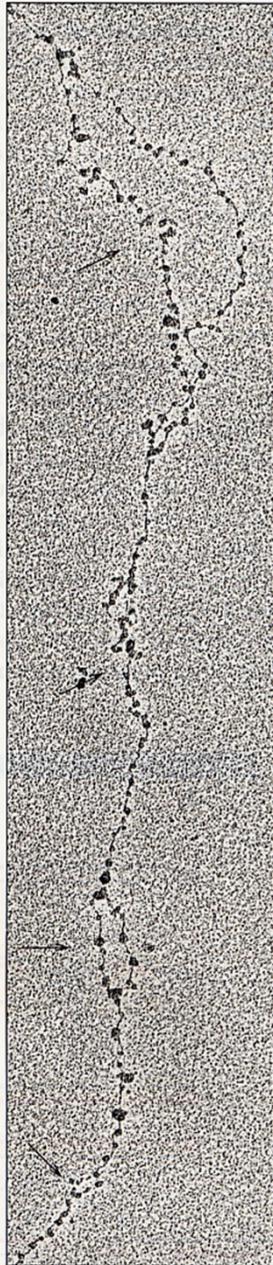


Fig. 3.11. Vista transversal de la fibra de cromatina de 25 nm mostrando la disposición atribuida a las histonas H1

Burbujas de replicación

Figura 8-38 En núcleos embrionarios en división rápida actúan un gran número de orígenes de replicación. En estas electronmicrografías de cromatina descondensada de un embrión temprano de *Drosophila*, se observa que las burbujas de replicación (*flechas*) están muy próximas. En este embrión los períodos entre algunas divisiones nucleares sucesivas son de unos 10 minutos. Debido a que los orígenes de replicación utilizados son muy próximos (distan sólo unos cuantos miles de nucleótidos), sólo se requiere alrededor de un minuto para replicar el DNA existente entre ellos. (Por cortesía de Victoria Foe.)



Diferencias en la regulación entre procariontas y eucariotas

En **eucariotas**, al igual que en los **procariontas**, **el inicio de la transcripción** es el **principal punto de regulación** de la expresión génica. Ambos tienen mecanismos reguladores comunes, pero existen **tres diferencias fundamentales**:

1. La activación de la transcripción en **eucariotas** está asociada a múltiples **cambios en la estructura de la cromatina** en la región a transcribir. Hemos visto antes los distintos mecanismos que favorecen o impiden la transcripción.

2. Predomina la regulación positiva (estimulación en lugar de represión). Las células eucarióticas utilizan una gran cantidad de mecanismos de regulación positiva, probablemente por el gran tamaño del genoma eucariótico. En general las **RNA polimerasas eucarióticas** tienen **poca afinidad por sus promotores**, por ello se requiere una o varias **proteínas reguladoras** para iniciar la transcripción, llamadas **factores de transcripción**. Aunque las formas negativas de regulación parecen ser menos comunes, muchas **proteínas reguladoras** eucarióticas pueden actuar como **activadores y represores**.

Las tres **polimerasas** antes citadas se fijan a secuencias específicas o **promotores** para iniciar la transcripción, situados poco antes del gen a transcribir. Estos promotores tienen **regiones reguladoras** generalmente **próximas** al sitio del **inicio del mRNA** (por ej. existen dos tipos de secuencias o promotores para la **polimerasa II**, que transcribe RNA mensajeros, en función de sus regiones reguladoras, como las secuencias **TATA** o las secuencias **CG** o **CCAAT**).

Existen, además, otros elementos reguladores más complejos que en **levaduras** reciben el nombre **secuencias activadoras en el lado 5'** (“upstream activator sequences UAS) y en **eucariotas superiores** reciben el nombre de **potenciadores** (“enhancers”), parece ser que su localización es poco importante y que **podrían encontrarse a miles de pares de bases veces del gen que se está regulando**. Tanto **promotores** como **potenciadores** son reconocidos por una o más de las **proteínas reguladoras** (**factores de transcripción activadores**) que se unen a ellos específicamente y facilitan la unión de la **RNA polimerasa**.

3. Por último, en **eucariotas** existe una separación física entre la **transcripción**, que ocurre en el **núcleo** y la **traducción** que ocurre en el **citoplasma**.