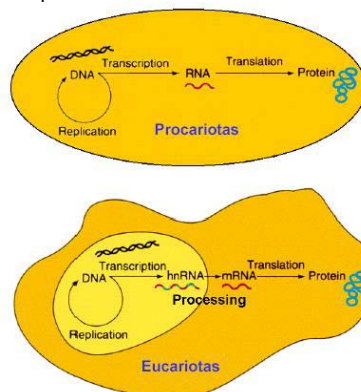


## Introducción

- ⇒ La **secuencia genética** siempre es **la misma** en todas las células y siempre está presente en organismos unicelulares, pero **no se expresa igual** en cada célula y en cada momento.
- ⇒ Expresión génica
  - ⇒ Conjunto de todos los pasos desde el gen hasta la obtención de la proteína final.
  - ⇒ Seis pasos
    - ⇒ Transcripción
    - ⇒ Procesado del ARN<sub>m</sub>
    - ⇒ Traducción
    - ⇒ Procesado de la proteína
    - ⇒ Traslación y colocación del coenzima a la proteína.

## Expresión génica

- ⇒ El **control más importante** de la expresión génica se da en la **transcripción**.
- ⇒ La actividad transcripcional se controla a través de interacciones entre proteínas y ADN
  - ⇒ El ADN puede unirse a proteínas específicamente o inespecíficamente
    - ⇒ La mayoría se une específicamente a una secuencia de ADN ya que encontrar una secuencia de 20 bases igual a otra es muy improbable.
    - ⇒ Las histonas son más inespecíficas, ya que se unen por interacciones con las cargas de los fosfatos.
- ⇒ También existen mecanismos de regulación post-transcripcionales
  - ⇒ Procesado del ARN<sub>hn</sub> a ARN<sub>m</sub>
  - ⇒ Traducción
  - ⇒ Procesado del polipéptido a proteína final...



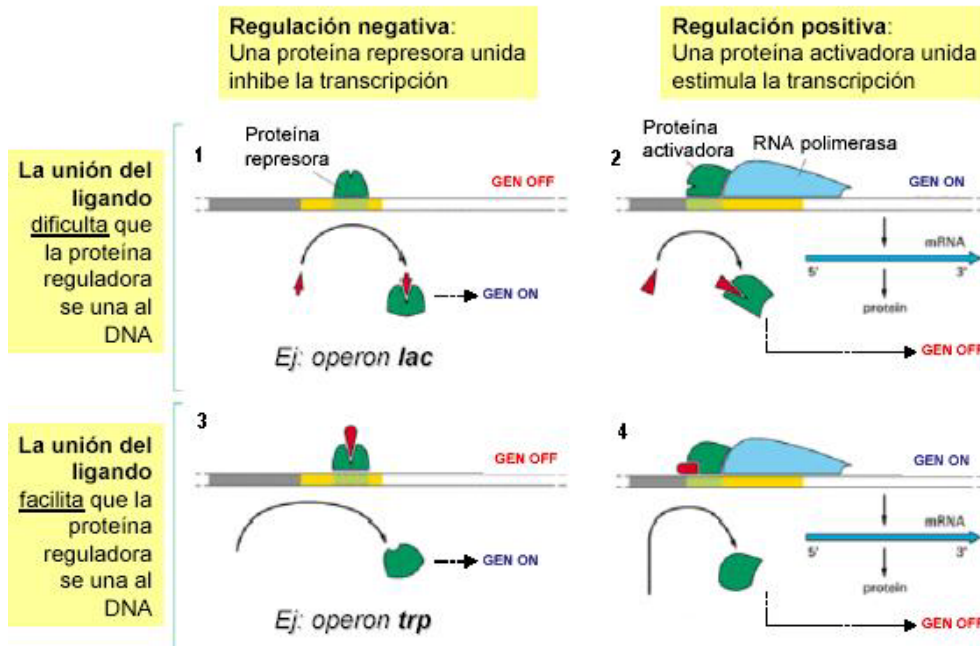
## Regulación de la expresión génica en procariontes

- ⇒ En procariontes, los genes para los enzimas de una misma ruta metabólica están agrupados formando operones.
  - ⇒ **RUTA METABÓLICA**: serie de pasos desde una molécula inicial a una final.
- ⇒ Los **operones** permiten una **expresión coordinada**.
- ⇒ Un operón está formado por un **gen regulador**, un **centro de control** (operador + promotor) y un conjunto de genes **estructurales**.
- ⇒ El gen regulador codifica una proteína (**represor** o **activador**) que interaccionan con el operador del centro de control para inhibir o para estimular la transcripción.



- ⇒ **GEN**: toda la secuencia de ADN necesaria para la producción de una proteína o ARN funcional (exones, intrones, zonas reguladoras, etc.)
- ⇒ **PROMOTOR**: secuencia de ADN que determina el sitio de inicio de transcripción para la ARN polimerasa.
- ⇒ **OPERADOR**: secuencia de ADN al que se une una proteína reguladora para reprimir o activar la transcripción de unos genes estructurales determinados.

## Tipos de regulación sobre el centro de control del operón



⇒ En la imagen 1 y 3 la secuencia reconocida por la proteína reguladora está integrada en la que reconoce la ARN polimerasa.

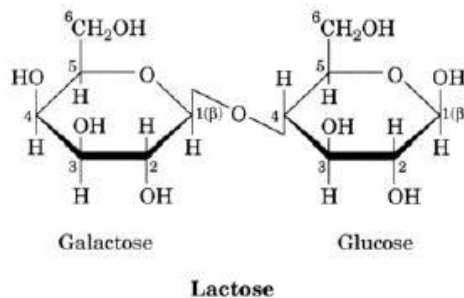
⇒ En la imagen:

- 1) Cuando hay ligando la proteína se disocia y el operón se transcribe. Cuando no hay ligando la proteína no se disocia.
- 2) Si hay ligando y el activador no está en el centro de control la ARN polimerasa no puede transcribir. Si no hay ligando el activador se asocia al ADN y la ARN polimerasa comienza la transcripción.
- 3) Cuando hay ligando, el represor se une al operón. Cuando no hay ligando, el represor se disocia.
- 4) Si no hay ligando, el activador no se une al ADN. Si hay ligando, éste se une al activador y el activador a su vez se une al ADN, favoreciendo la unión de la ARN polimerasa y la transcripción.

## El operón de la lactosa

⇒ Regulación negativa y desinhibición por ligando:

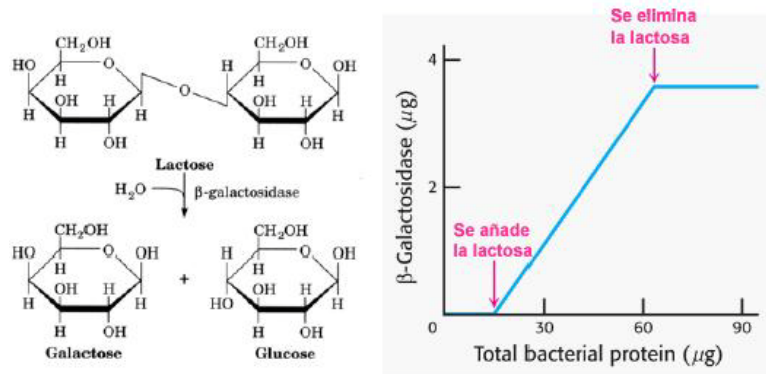
⇒ El metabolismo de la lactosa en *E. Coli*



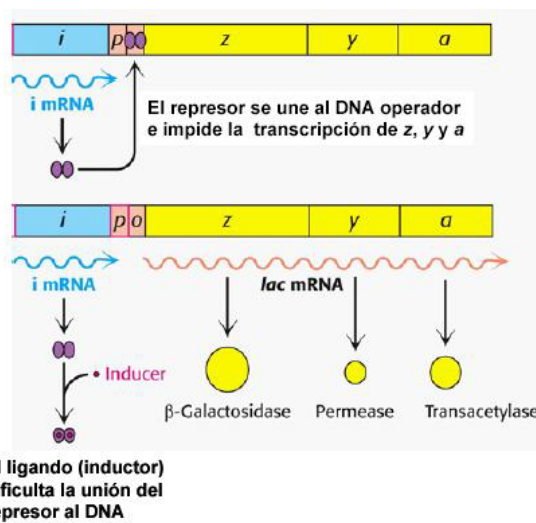
⇒ Las bacterias como *E. Coli* dependen de la glucosa como medio de obtención de energía. Pero cuando esta escasea pueden adaptarse a otra fuente de carbono y energía como la lactosa.

⇒ Para usar lactosa como fuente de energía, las células deben de expresar el enzima **β-galactosidasa** y dos proteínas adicionales codificadas en el operón de la lactosa. Por esta razón el operón posee tres genes estructurales para sintetizar los tres enzimas.

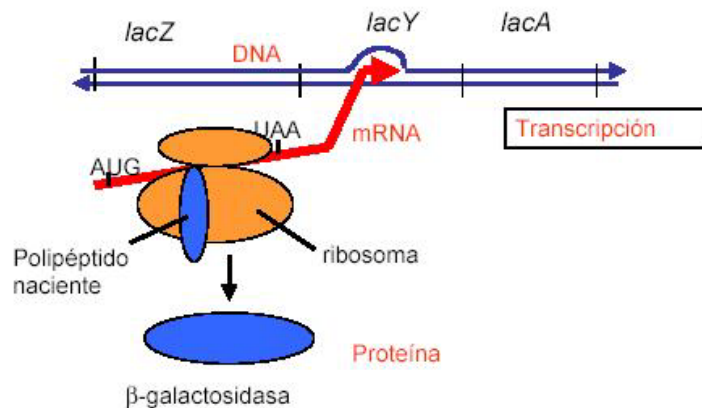
⇒ Estos enzimas se inducen rápidamente (unas 1000 veces) cuando las células pasan de crecer en presencia de glucosa a crecer en presencia de lactosa.



La  **$\beta$ -galactosidasa** rompe el enlace O-glicosídico y libera glucosa y galactosa



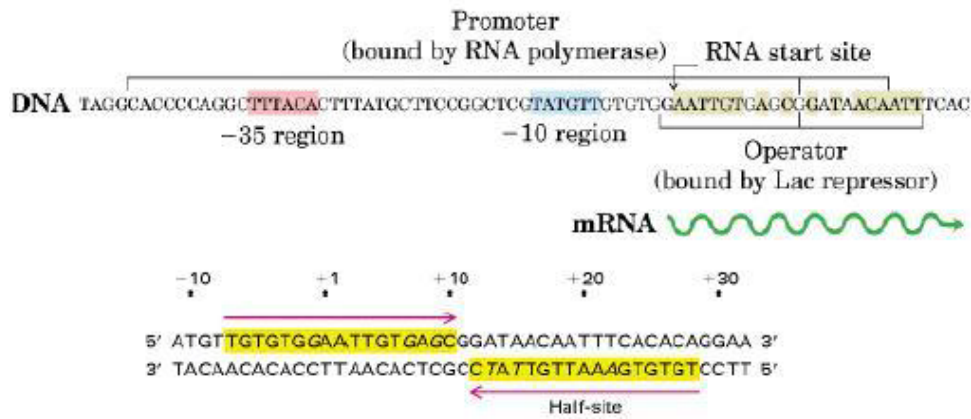
- ⇒ En ausencia de lactosa, la proteína **represor lac** se une al operador del ADN y bloquea la transcripción.
- ⇒ En presencia de lactosa se genera el inductor **alolactosa** (un derivado de la lactosa muy similar a la misma) que se une al **represor lac**, lo cambia de conformación y hace que se separe del operador.
- ⇒ Entonces la ARN polimerasa se puede desplazar a lo largo del operador y transcribir el operón lac.
- ⇒ En bacterias la síntesis de proteínas ocurre simultáneamente a la transcripción



- ⇒ **TRANSCRIPCIÓN POLIGÉNICA**: transcripción a la vez de varios genes.

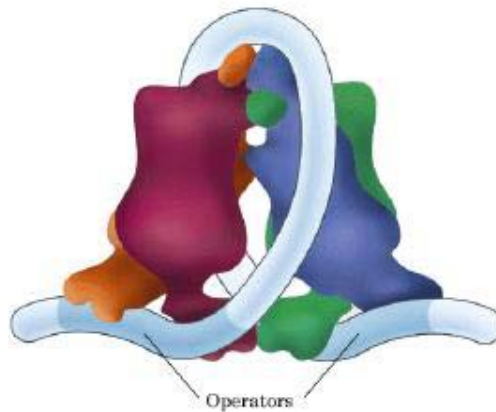
### Secuencia del ADN del operador lac

- ⇒ La secuencia de ADN del operador lac es una repetición invertida casi idéntica que se centra alrededor de la G en la posición +11.

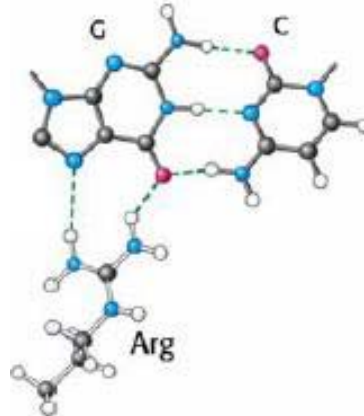


## Estructura del represor lac

- ⇒ Formado por cuatro subunidades (tetrámero). Esto es así por las dos secuencias similares del operador lac citadas anteriormente. Dos subunidades se unen a una parte de la secuencia y las otras dos a la otra parte.
- ⇒ Cada monómero está formado por un pequeño dominio N-t que se une al ADN y por un dominio más grande, donde se une el inductor, y que también interviene en la formación del tetrámero.



- ⇒ El dominio N-t del **represor lac** inserta una  $\alpha$ -hélice en el surco mayor del ADN del operador. Se establecen así múltiples interacciones débiles como la que se muestra entre un residuo de arginina y una guanina.



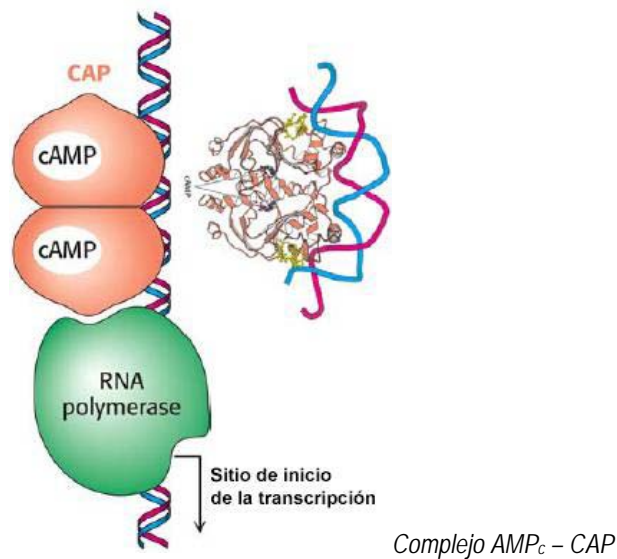
- ⇒ El **represor lac** se une al ADN mediante enlaces débiles entre aminoácidos y bases nitrogenadas.
- ⇒ Cuando el **represor lac** se encuentra unido al inductor **alolactosa**, la afinidad del represor por el ADN disminuye enormemente. Esto es debido a que la unión del inductor provoca **cambios conformacionales** (cambios de unos pocos Å) que afectan a los dominios N-t de unión al ADN, con lo que las interacciones se reducen y la estructura no es estable.

## La transcripción del operón también se puede estimular mediante proteínas que interaccionan con la ARN polimerasa.

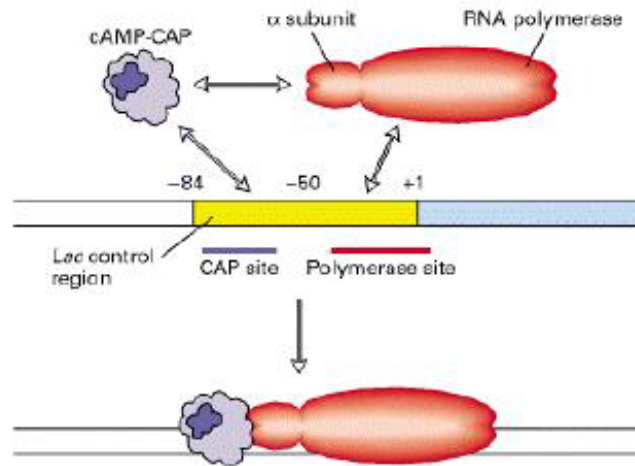
- ⇒ Algunas proteínas activan la transcripción mediante el establecimiento de contactos con la ARN polimerasa (mayor atracción por el ADN junto con la proteína).
- ⇒ El AMP<sub>c</sub>, una señal de "hambre", estimula la transcripción de muchos operones catabólicos mediante su unión a la **proteína activadora de catabolitos (CAP)**.
- ⇒ La unión del **complejo AMP<sub>c</sub> – CAP** a un lugar específico de la región del promotor de un operador catabólico inducible aumenta el grado de unión de la ARN polimerasa y la actividad transcripcional.
  - ⇒ La secuencia del promotor no está próxima a la secuencia consenso y se necesita proteínas.

## Control del operón lac por AMP<sub>c</sub>

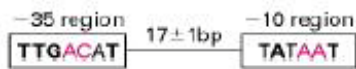
- ⇒ Si la glucosa abunda la enzima **adenilato ciclasa** no convierte ATP en AMP<sub>c</sub>.
- ⇒ Si la glucosa es escasa la **adenilato ciclasa** se activa y forma AMP<sub>c</sub>.
- ⇒ Cuando el AMP<sub>c</sub> está presente, actúa como un efector alostérico al unirse con la proteína CAP.
- ⇒ El **complejo AMP<sub>c</sub> – CAP** se une al promotor lac y activa la transcripción del operón lac.



## Unión cooperativa del complejo AMP<sub>c</sub> – CAP y de la ARN polimerasa en el promotor del operón lac



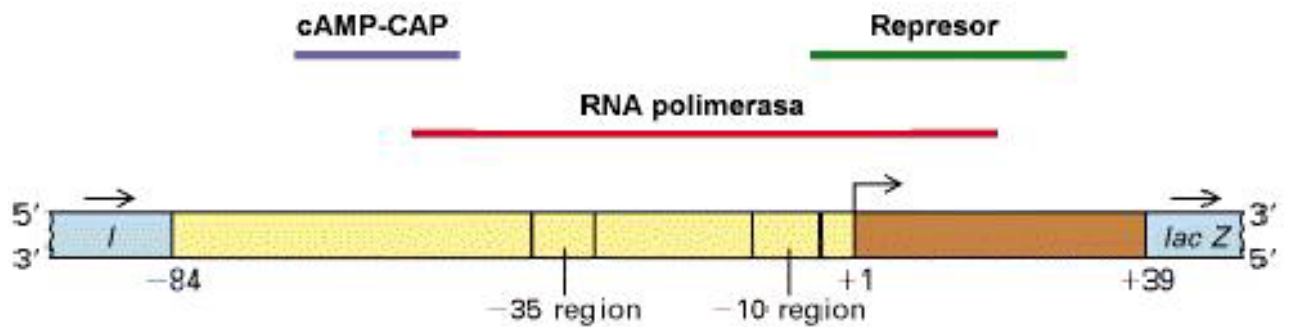
Secuencia consenso de los promotores procariontas



Secuencia del promotor lac

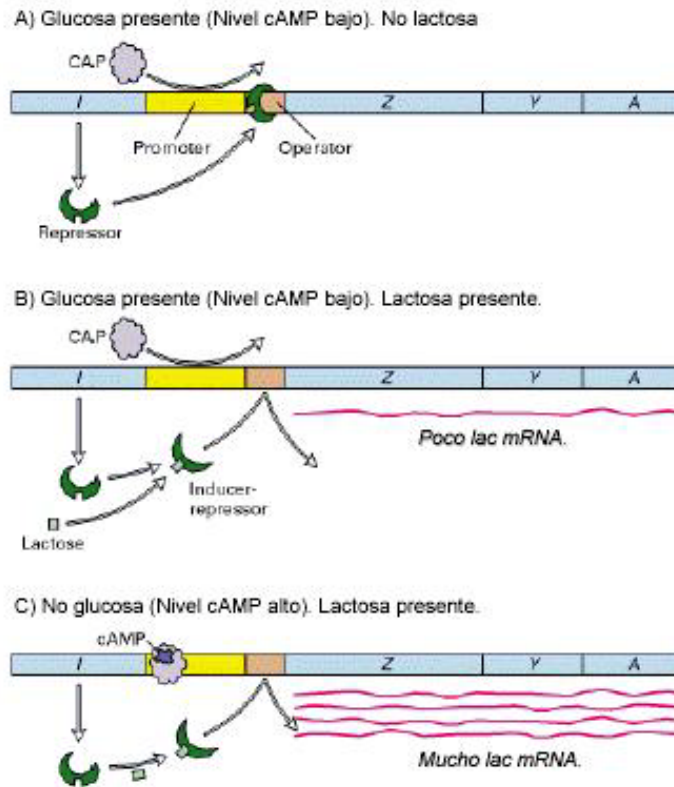


## Diagrama del centro de control del operón lac



- ⇒ La proteína CAP solo está unida cuando tiene unido el AMP<sub>c</sub>.
- ⇒ La represor lac está unida cuando NO tiene ligando, si tiene alolactosa se disocia.

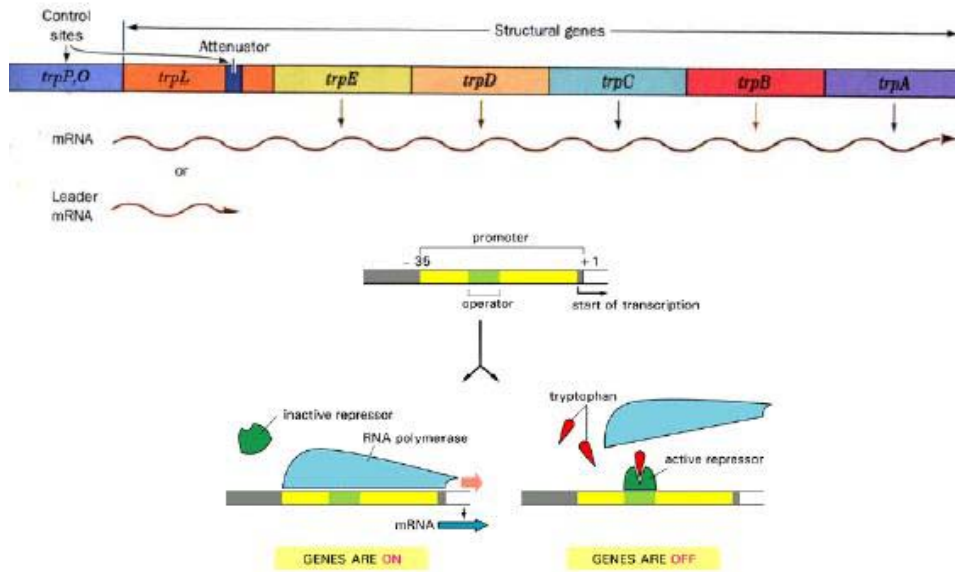
## Regulación coordinada del operón lac por el represor y el activador CAP



- A) No se activa y no se transcribe el gen
- B) No hay ninguna proteína unida, la ARN polimerasa, de vez en cuando, entra en el promotor y transcribe un poco de ARN<sub>m</sub> con la información para la β-galactosidasa, permeasa y transacetilasa.
- C) Se genera mucho AMP<sub>c</sub> y la AMP<sub>c</sub> - CAP se une al promotor e induce la transcripción del gen con la consecución de muchas enzimas.

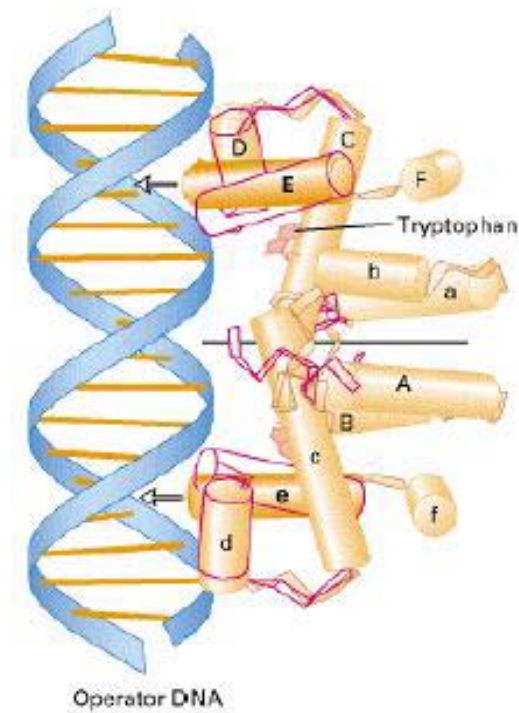
## El operón *Trp*: un operón represible

- ⇒ No es un operón catabólico, sino anabólicos.
- ⇒ Este operón tiene cinco genes estructurales que codifican varios enzimas encargados de convertir el precursor (corismato) en triptófano.
- ⇒ Este operón también incluye un pequeño gen que codifica un péptido corto (**trpL**) que controla el fenómeno de *atenuación*.
- ⇒ La expresión es regulada por el represor **TrpR** que está codificado en el gen *TrpR*, en el cual, en este caso, no está adyacente al operón.
- ⇒ Mientras el nivel de triptófano sea bajo, la proteína represora **TrpR** no se puede unir al operador. Si el nivel de triptófano aumenta más de lo requerido, este se unirá al represor **TrpR** y bloqueará la transcripción del operón, causando un descenso en los niveles de los enzimas que sintetizan triptófano.
- ⇒ Presenta regulación negativa (con un represor). *Inhibición por ligando*.



## Cambios conformacionales en el TrpR por la unión del Trp

⇒ Las  $\alpha$ -hélices se presentan como cilindros y se identifican con mayúsculas en un monómero y minúsculas en el otro.



- ⇒ En ausencia de Trp, las  $\alpha$ -hélices de reconocimiento (E y e) no están en la orientación adecuada para encajar en el surco mayor del ADN del operador (color rojo transparente)
- ⇒ Tras la unión de Trp, los extremos N-t de las  $\alpha$ -hélices de reconocimiento (E y e) se separan unos 8 Å, y como resultado, encajan con exactitud en el ADN del operador (color naranja).