

## Introducción

- ⇒ El genoma eucariota es mucho más complejo que el procariota y requiere mecanismos de regulación más complejos
- ⇒ Diferencias entre genoma eucariota y procariota

PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
Un solo cromosoma	Múltiples cromosomas
Genes organizados en operones	Genes desperdigados por el genoma
Transcripción y traducción acopladas	Transcripción y traducción separadas
ADN desnudo	ADN asociado a proteínas (cromatina)
Un solo tipo celular	Múltiples tipos celulares

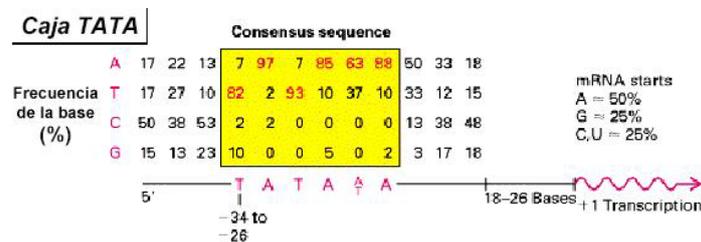
- ⇒ La diversidad de células especializadas en la mayoría de los organismos hace más compleja la regulación de la expresión génica.
  - ⇒ En algunos tipos celulares se expresarán genes que no se expresan o se expresan de forma más reducida en otros tipos celulares.
- ⇒ Dos células con el mismo genoma poseen perfiles de expresión diferentes, esto es lo que hace posible la diferenciación celular. Un tipo celular expresa unos genes y no otros.

## Elementos de control de la expresión génica en ADN eucariota: el promotor.

- ⇒ **ELEMENTOS DE CONTROL:** fragmentos de ADN que controlarán la transcripción.
- ⇒ La expresión de los genes eucariotas codificadores de proteínas suele estar regulada por medio de múltiples regiones *cis* de control de la transcripción.
  - ⇒ **REGIÓN CIS:** referido al ADN
  - ⇒ **REGIÓN TRANS:** referido a las proteínas
- ⇒ Los **promotores** determinan el sitio de iniciación de la transcripción y dirigen la unión de la ARN polimerasa.
- ⇒ En el ADN eucariota se han identificado **tres tipos de secuencias para el inicio de la transcripción.**
  - ⇒ La **caja TATA** (más común)
  - ⇒ El **elemento iniciador** (menos frecuente)
  - ⇒ Las **islas CpG**, segmentos de 20 – 50 bp ricos en CG a no más de 200 bp 5'.

## Elementos iniciadores de la transcripción (promotores) en el ADN eucariota

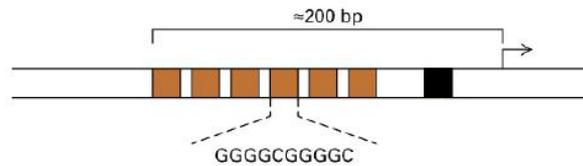
- ⇒ Caja TATA



- ⇒ Elemento iniciador



⇒ Islas CpG

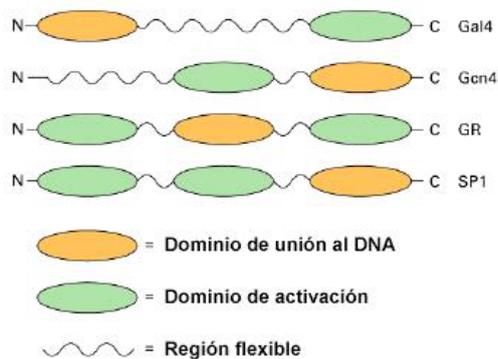


## Elementos reguladores proximales y amplificadores distales

- ⇒ Algunos elementos de control están ubicados cerca del sitio de inicio (**elementos reguladores del promotor**), mientras que otros se encuentran más distantes (**amplificadores o enhancer**).
- ⇒ Los **elementos reguladores** (~20 bp) aparecen a no más de 200 bp del sitio de inicio. Varios de estos elementos contribuyen a regular un gen particular.
- ⇒ Los **amplificadores** (100 – 200 bp), contienen múltiples elementos de control (de 8 a 20 bp). Pueden estar ubicados desde 200 bp hasta 50 kbp hacia 5' o 3', en un intrón o hacia 3' del exón final de un gen.

## Factores de transcripción en eucariotas

- ⇒ En el ADN eucariota los factores de transcripción, activadores o inhibidores, se unen a elementos proximales del promotor y a amplificadores.
- ⇒ Los factores de transcripción suelen ser proteínas modulares que contienen un solo **dominio de unión al ADN** y uno o más **dominios de activación o represión**; los diferentes dominios con frecuencia están vinculados a través de regiones polipeptídicas flexibles.



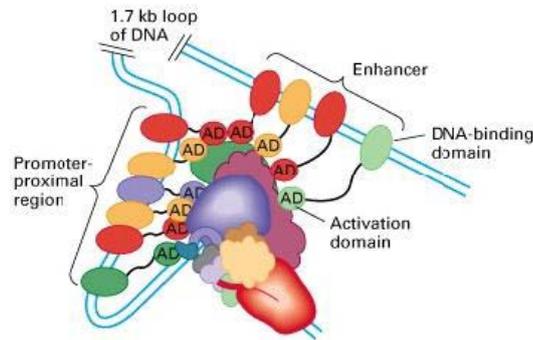
- ⇒ Esto permite la interacción de dominios de activación de diferentes activadores, incluso cuando sus dominios de unión al ADN están muy separados.

## Interacción de los factores de transcripción con las regiones reguladoras.

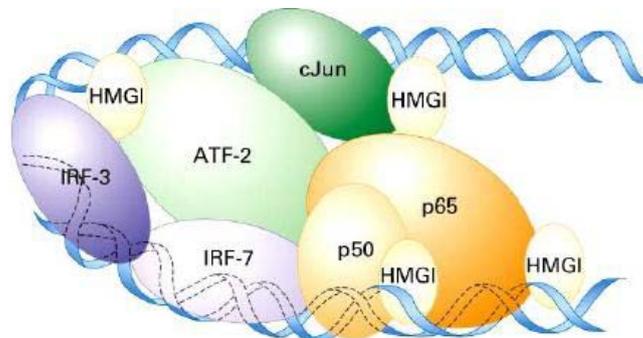
- ⇒ Los elementos reguladores del promotor y los amplificadores suelen contener **múltiples sitios de fijación** acumulados para factores de transcripción.
- ⇒ Los factores de transcripción **aumentan o disminuyen la velocidad** de la transcripción.
- ⇒ Existen
  - ⇒ **Factores de transcripción generales**: proteínas que se requieren para todas las transcripciones del organismo.
  - ⇒ **Factores ubicuos**: comunes para algunos tejidos
  - ⇒ **Factores específicos**: únicos para cada tejido o tipo celular.

## Interacción de los factores de transcripción con las regiones reguladoras

- ⇒ La unión cooperativa de múltiples activadores a sitios cercanos forma un complejo multiproteico denominado **amplificosoma**.
- ⇒ Las regiones distales, separadas linealmente, están cerca espacialmente debido a pliegues en el ADN.



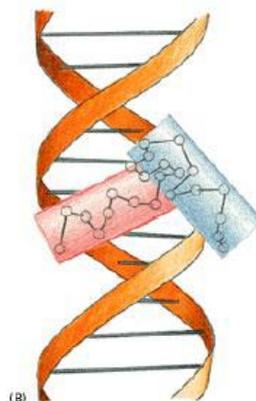
- ⇒ Se necesita doblar el ADN en un punto concreto para facilitar la formación del amplificosoma.
  - ⇒ **Proteínas arquitecturales:** curvadoras del ADN (**HMG1**).
    - ⇒ Permiten interacciones entre factores de transcripción, forman el amplificosoma.
    - ⇒ Se unen al **surco menor** del ADN.



- ⇒ El armado de los **amplificosomas** suele requerir proteínas pequeñas, que se unen al surco menor del ADN y curvan mucho la doble hélice para que las proteínas a ambos lados de la curvatura interactúen con más facilidad.

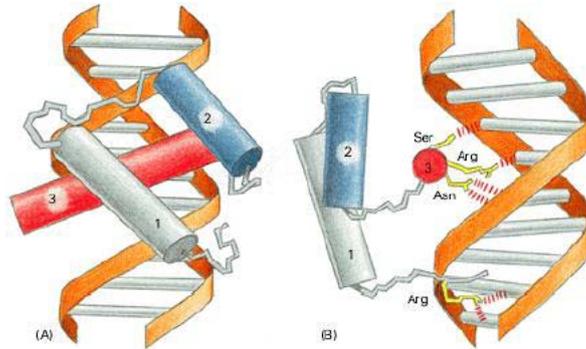
### Motivos estructurales comunes de factores de transcripción

- ⇒ Las proteínas detectan secuencias concretas en el ADN
- ⇒ Una interfase proteína-ADN consiste en 10 – 20 contactos entre diferentes aminoácidos y una secuencia de nucleótidos del ADN. Cada interacción débil contribuye a la energía de unión total, dando una gran estabilidad.
- ⇒ Los dominios de unión al ADN presentan estructuras características
  - ⇒ El **motivo hélice-bucle-hélice (HLH)**

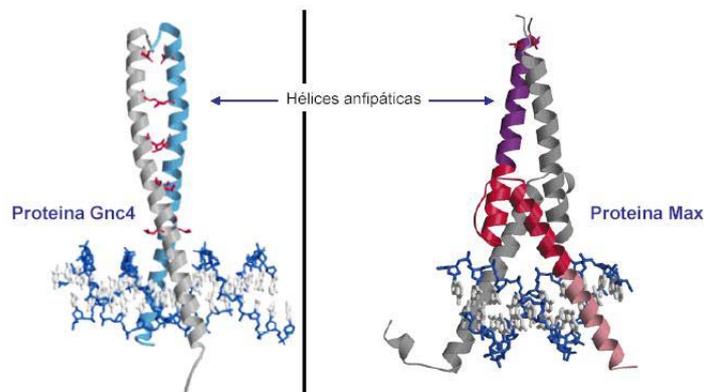


- ⇒ La **hélice roja** "lee" y **reconoce** las secuencias del ADN. Entra en el surco mayor y reconoce una secuencia a la que se une.

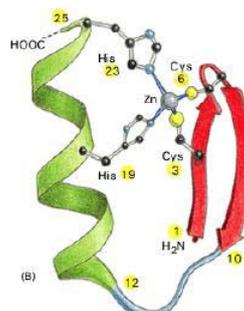
- ⇒ La **hélice azul estabiliza** la estructura que se forma interactuando con la hélice roja mediante interacciones hidrofóbicas.
- ⇒ Siempre actúan como **dimeros, aumentando la fuerza de unión**.
  - ⇒ Los dos monómeros también están unidos por interacciones débiles.
- ⇒ **El homeodominio**



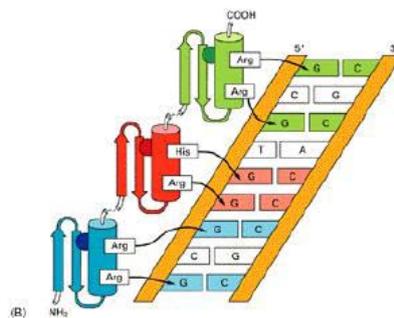
- ⇒ El homeodominio se pliega en tres  $\alpha$ -hélices que se empaquetan estrechamente mediante **interacciones hidrofóbicas**.
- ⇒ La parte que incluye las hélices 2 y 3 es similar al motivo hélice-bucle-hélice, con la hélice 3 (roja) interactuando con el ADN a través del **surco mayor**.
- ⇒ Las hélices 1 y 2 se colocan perpendicularmente a la hélice 3.
- ⇒ La hélice 1 también puede establecer interacciones con las bases nitrogenadas mediante los aminoácidos de su cola.
- ⇒ Más fuerza de unión al ADN que el motivo HLH.
- ⇒ **El dominio básico + cremallera hidrofóbica de leucina**
- ⇒ Proteínas con estructura en  $\alpha$ -hélice y dos partes diferenciadas
  - ⇒ Dominio C-t con aminoácidos hidrofóbicos (Leu) cada siete posiciones (dimerización)
  - ⇒ Dominio N-t con aminoácidos básicos que interactúan con el ADN.
- ⇒ Estas proteínas dimerizan formando dos  $\alpha$ -hélices extendidas que se fijan al ADN en dos surcos mayores adyacentes como si fuera una pinza.



- ⇒ **El dedo de zinc**



- ⇒ Estas proteínas contienen **dominios de unión al ADN** en el que las cadenas polipeptídicas se pliegan en torno a iones de  $Zn^{+2}$ .
- ⇒ Puede haber varias clases:
  - ⇒ **C2H2**: fijan un átomo de zinc con dos cadenas laterales de Cys y dos de His. Son monoméricas.
  - ⇒ **C4**: fijan un átomo de zinc con cuatro cadenas laterales de Cys (superfamilia de receptores nucleares o receptores de esteroides). Diméricas.
  - ⇒ **C6**: fijan dos átomos de zinc con seis Cys. Son monoméricas.
- ⇒ Factores de transcripción con dedos de zinc
  - ⇒ Unión de una proteína C2H2 al ADN mediante el uso de tres dedos de zinc consecutivos con una secuencia de aminoácidos similar (los átomos de zinc se representan como pequeñas esferas)



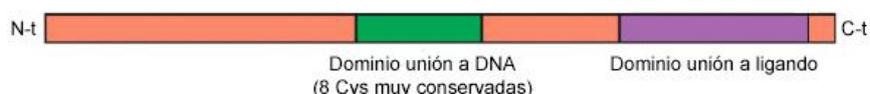
- ⇒ La hélice alada
- ⇒ Los dominios de activación presentan una gran diversidad estructural
  - ⇒ Dominios de activación ácidos (**aspartato y glutamato**) (**GR**) → iones
  - ⇒ Dominios de activación ricos en **glutamina** (**SP1**) → puentes de hidrógeno
  - ⇒ Dominios de activación en **prolina** (**C-Jun**)
  - ⇒ Dominios de activación ricos en **serina y treonina** (-OH) → puentes de hidrógeno
  - ⇒ Dominios de activación dependientes de ligando

## Estrategias de regulación

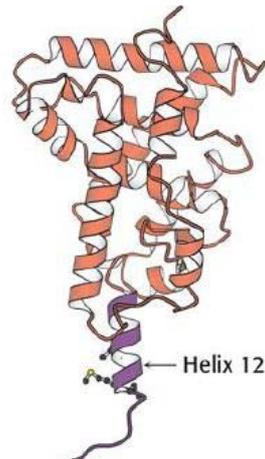
- ⇒ Los patrones de expresión génica pueden variar en respuesta a señales
- ⇒ Hormonas lipofílicas que se unen a proteínas de la superfamilia de factores de transcripción receptores nucleares.
  - ⇒ El **cortisol** es una hormona que se une al receptor de **glucocorticoides** (**GR**). Al igual que otras hormonas esteroides se sintetiza a partir del colesterol.
  - ⇒ El **ácido retinoico** es un derivado metabólico de la vitamina A que tiene efectos potentes en el desarrollo embrionario y en la regeneración de la piel en adultos. Es un ligando del **receptor de ácido retinoico** (**RAR**)
  - ⇒ La **hormona tiroxina** (**T4**) u hormona tiroidea es producida por la glándula tiroides. Deriva de la tirosina y activa notablemente el metabolismo. Es un ligando para el **receptor de hormona tiroidea** (**TR**)

## Receptores nucleares. Dominios proteicos

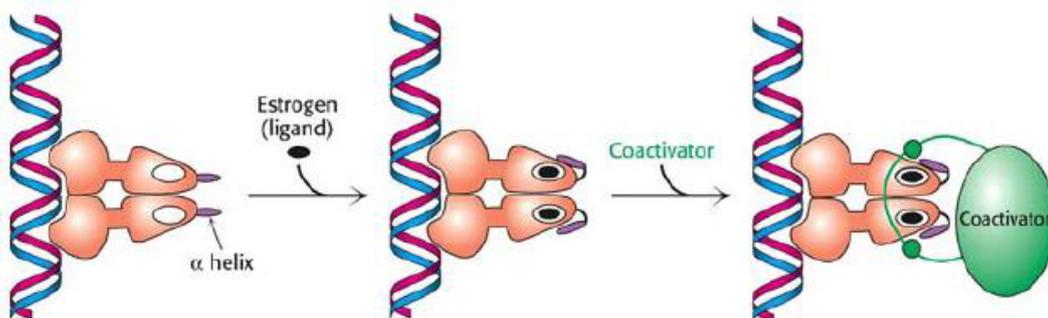
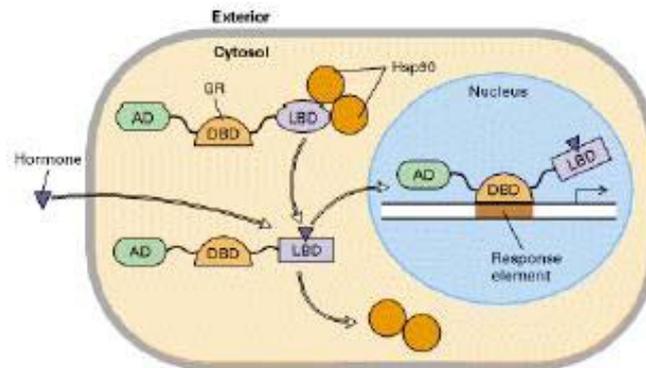
- ⇒ Los receptores hormonales nucleares contienen dos dominios fundamentales muy conservados:
  - ⇒ Dominio de unión al ligando cerca del extremo carboxilo
  - ⇒ Dominio de unión al ADN en la parte central de la secuencia.



## Receptores nucleares: dominios proteicos. Translocación nuclear y activación.



- ⇒ Estos receptores son diméricos.
- ⇒ En **ausencia** del ligando, la **hélice morada**, se proyecta hacia el **exterior** del receptor.
- ⇒ Cuando se **une el ligando** la  $\alpha$ -hélice se **pliega** para formar un surco poco profundo de uno de los costados del receptor.
- ⇒ La **proteína cambia de forma** y se transporta al núcleo.
- ⇒ La **proteína** se une al **ADN**
- ⇒ Los **coactivadores** se **unen** a una región hidrofóbica situada sobre la superficie de los dominios de unión al ligando del receptor nuclear.
- ⇒ El lugar de **unión al coactivador** sólo se forma **por completo en presencia de ligando unido**, puesto que es adyacente a la hélice 12.
- ⇒ La **unión del ligando al receptor** provoca un cambio conformacional que permite la unión del coactivador.



### Coactivadores:

- SRC-1 (coactivador del receptor de esteroides-1)
- GRIP-1 (proteína que interacciona con el receptor de glucocorticoides-1)
- NCOA-1 (coactivador de los receptores hormonales nucleares-1)

