

Regulación de la expresión génica

Propósitos:

En bacterias, permite el ajuste a cambios ambientales para optimizar el crecimiento y la división celular.

En organismos multicelulares:

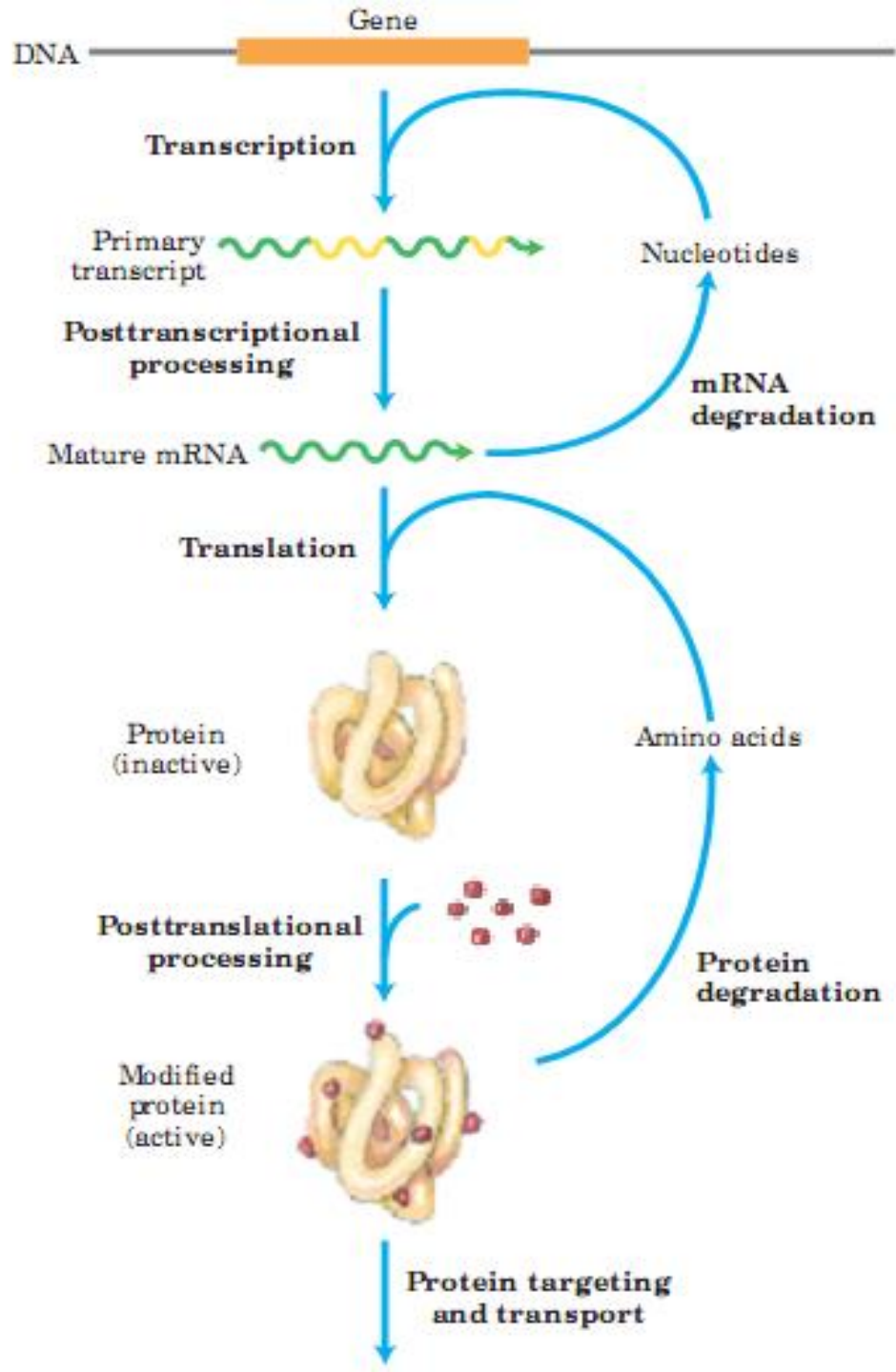
1. Ajuste a cambios ambientales
2. Ejecución del programa genético vinculado al desarrollo embriológico

Niveles de control de la expresión génica

Puede afectar:

- Actividad de una proteína preexistente (respuesta rápida)

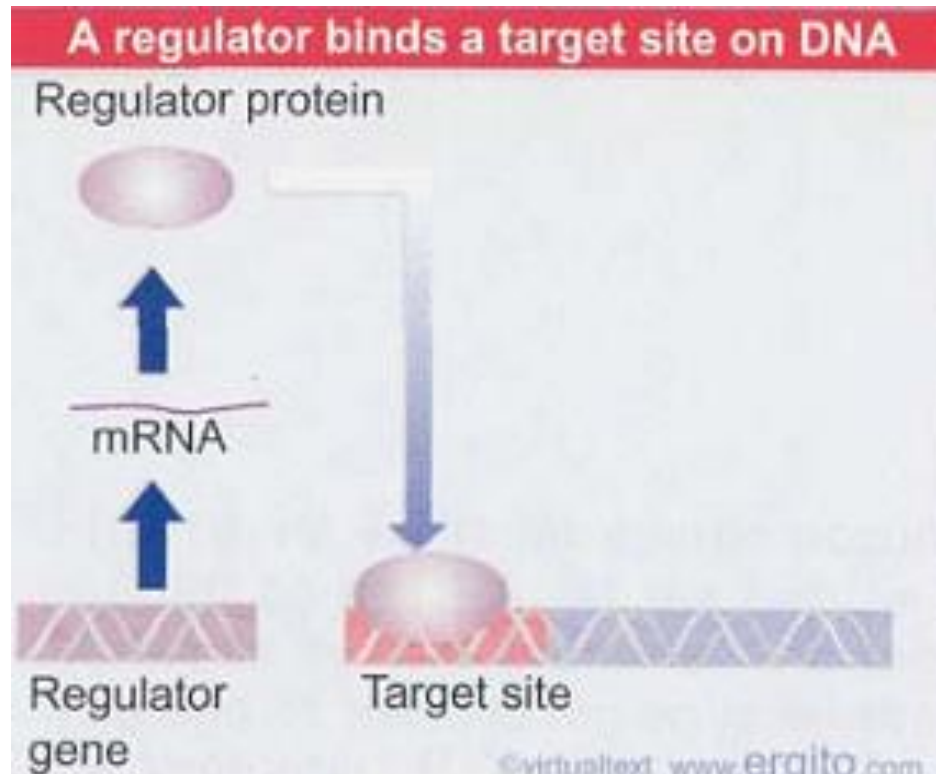
- Cantidad de una proteína (respuesta lenta)



Control de la Transcripción

Es el paso de **control más frecuente** en procariontes y eucariontes. **Generalmente al inicio.**

La expresión génica está regulada por interacciones específicas de **productos *trans-acting*** (**reguladores**) y **secuencias *cis-acting*** (generalmente sitios en el ADN).



El regulador aumenta la velocidad de transcripción: **Activador**

El regulador inhibe la transcripción: **Represor**

La regulación génica puede ser **positiva** o **negativa**

Control negativo

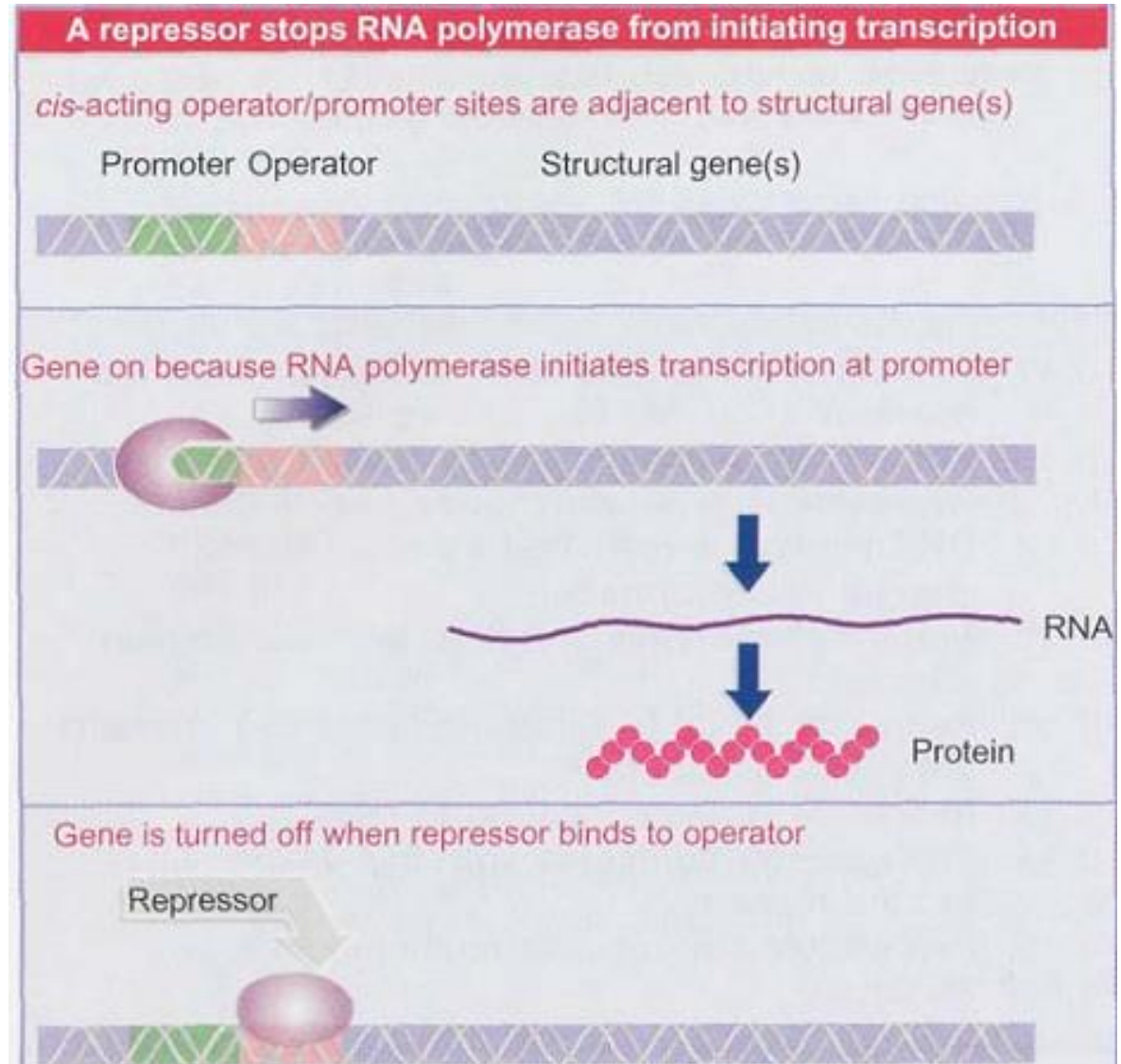
La proteína reguladora es un **represor**.

El represor se une al **sitio blanco (operador)** e impide la transcripción.

Muy usado en bacterias.

Una mutación en el represor da **expresión constitutiva** del gen.

Expresión constitutiva: expresión continua de un gen que no responde a regulación

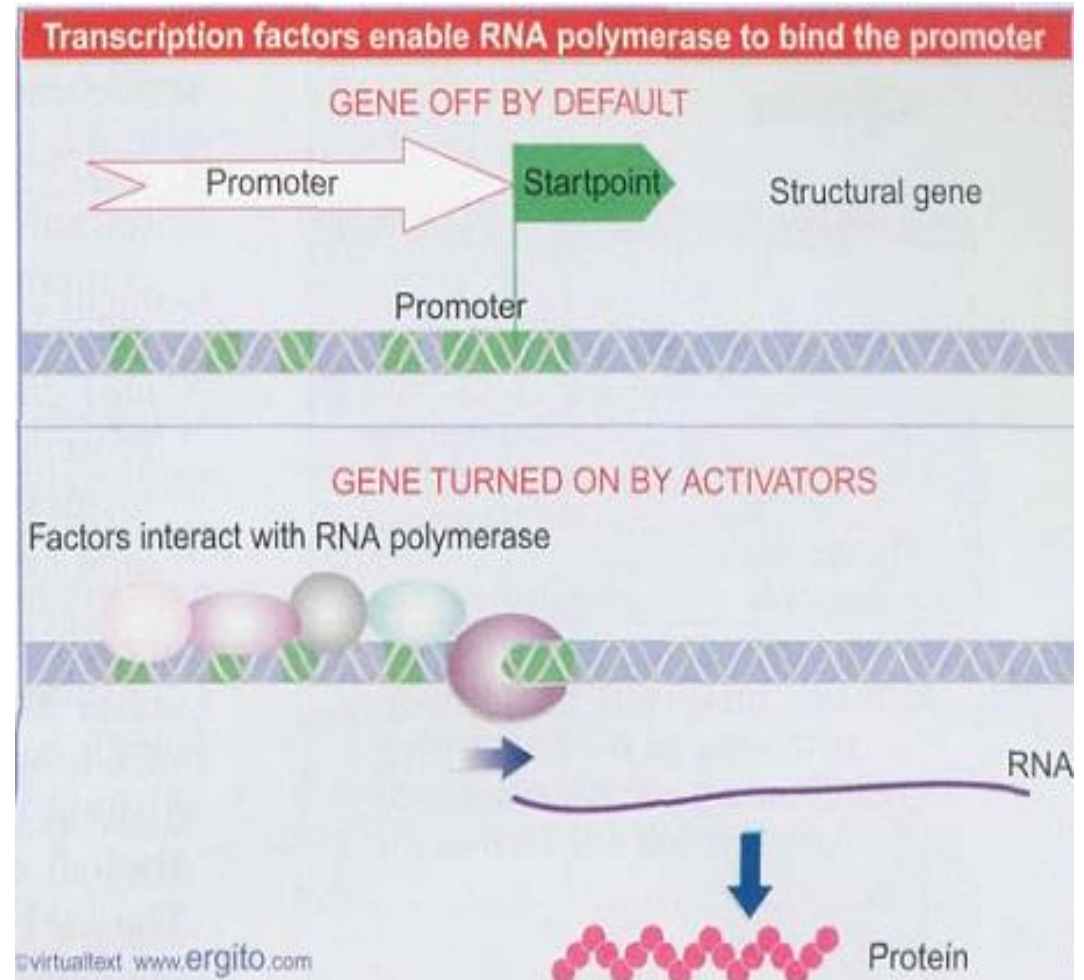


Control positivo

La proteína reguladora es un activador.

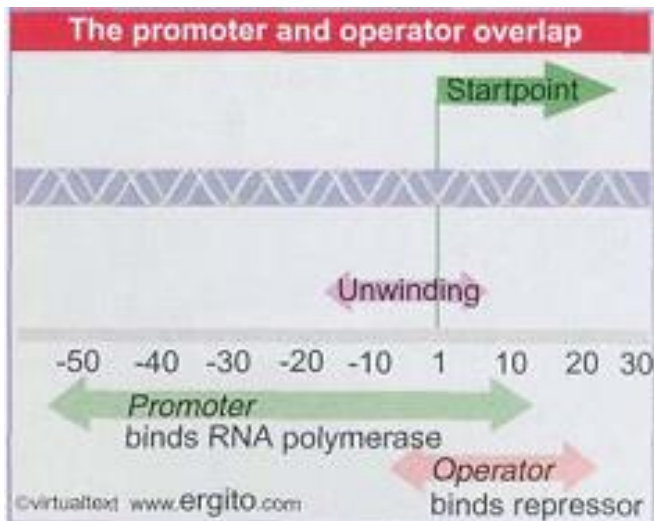
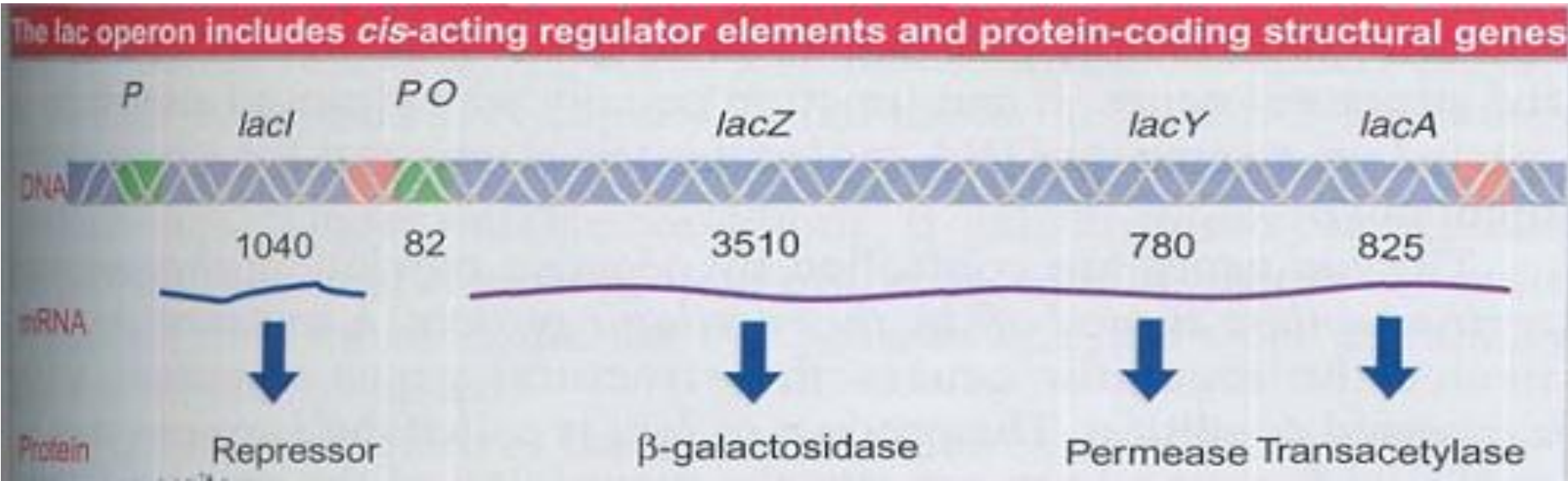
El activador se une al sitio específico y facilita la transcripción por ARN polimerasa.

Una mutación en el activador da **expresión no inducible** (disminuida) del gen.



Jacob y Monod (1961). Aportaron conceptos básicos sobre el control de la transcripción en las bacterias mediante el estudio de los genes del catabolismo de lactosa.

En las **bacterias** los **genes que codifican proteínas funcionalmente relacionadas** se organizan en **operones** y presentan expresión coordinada



Operón *lac*

P: promotor

O: sitio operador

El represor y la ARN pol se unen a sitios que se superponen alrededor del sitio de inicio de la transcripción del operón *lac*

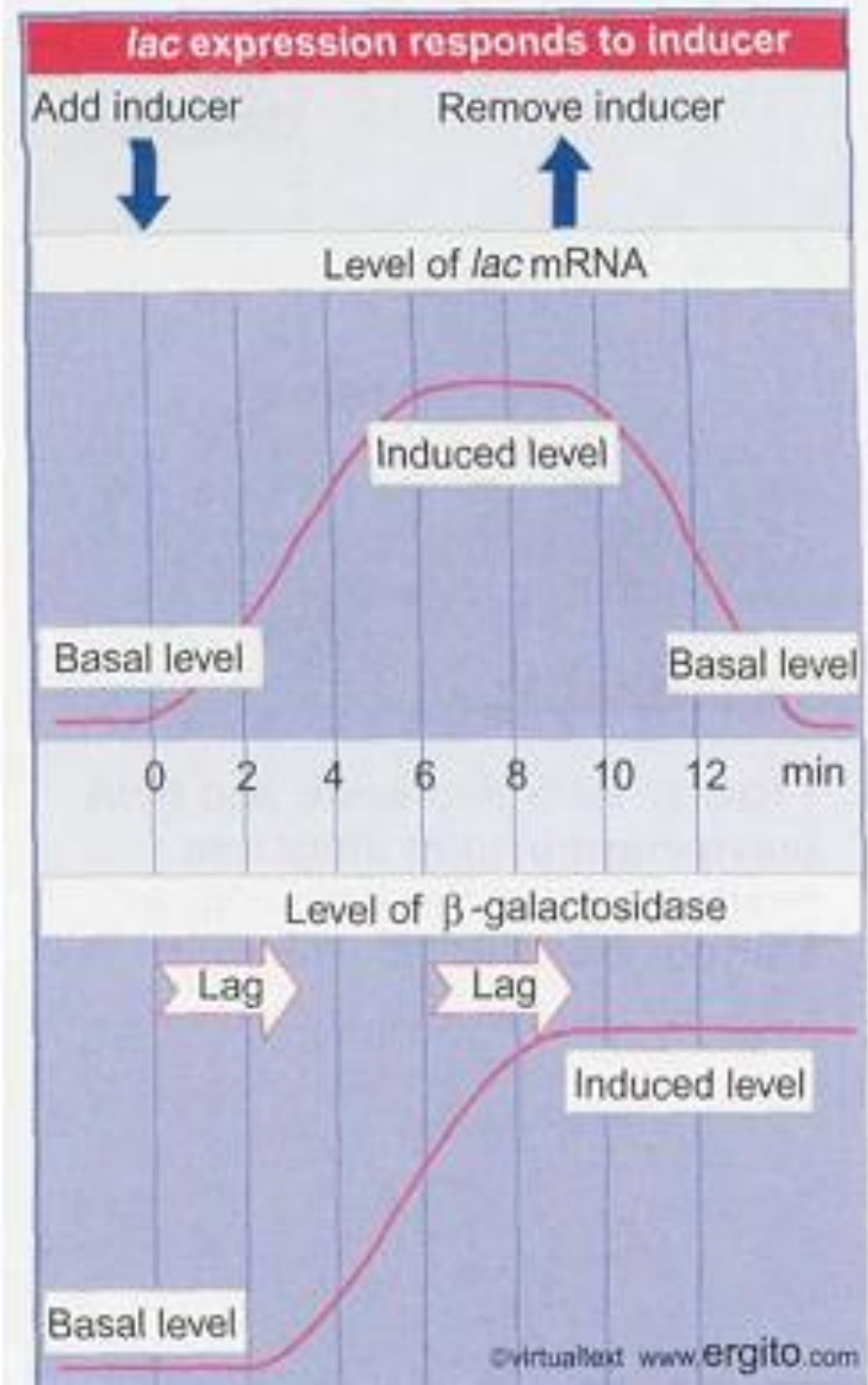
Inducción del operón *lac* en presencia de lactosa

Inducción: síntesis de enzimas en respuesta a la presencia del sustrato específico. Ej. rutas catabólicas (operón *lac*).

Inductor: compuesto específico que estimula la expresión de un gen (lactosa, sustrato de la ruta metabólica)

Represión: inhibición de la síntesis de enzimas en presencia del producto. Ej. rutas biosintéticas de AA.

Co-represor: compuesto específico que inhibe la expresión de un gen (trp, producto de la ruta anabólica)

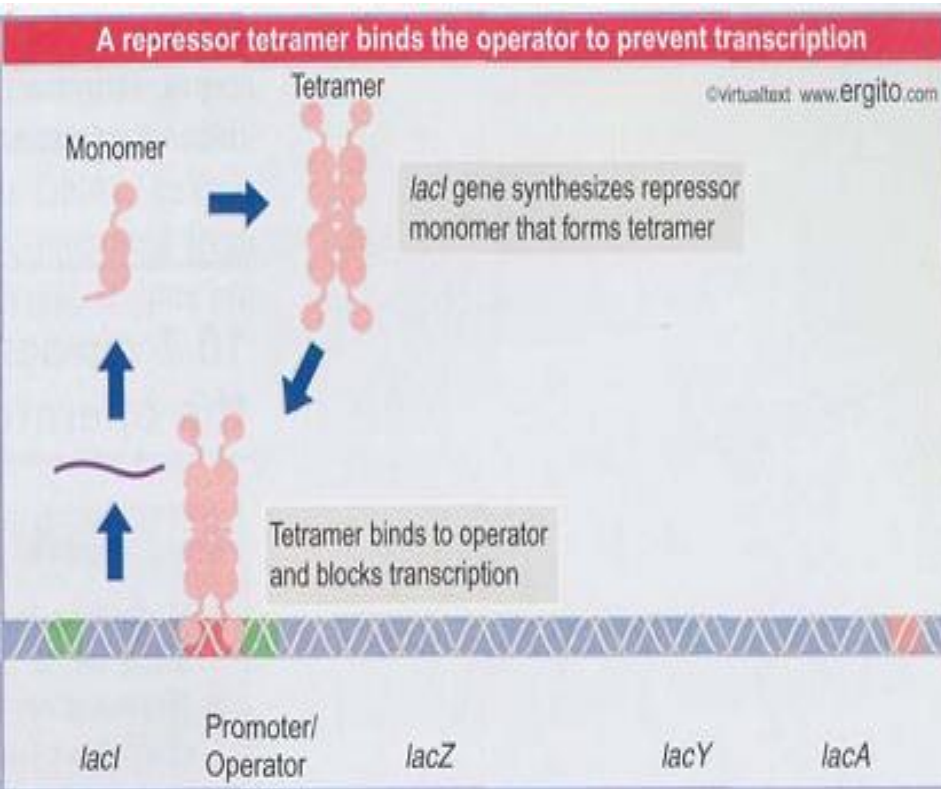


Cómo funciona el inductor del operón *lac*?

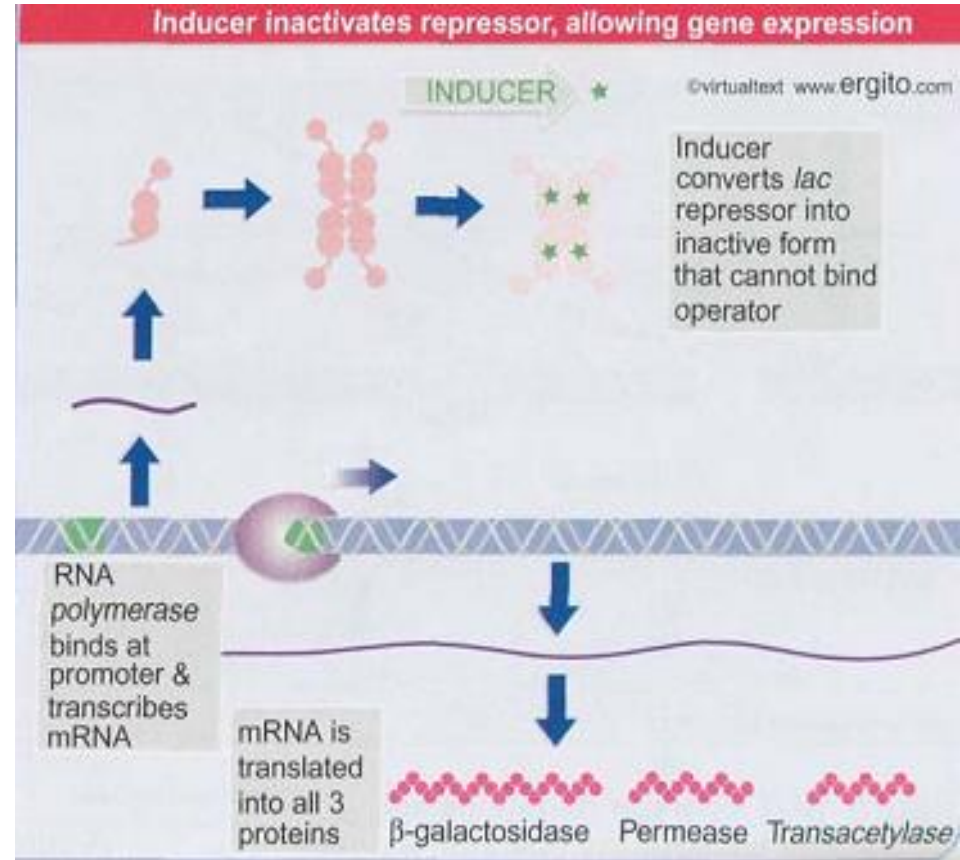
El represor es un tetrámero, cada subunidad posee 2 sitios de unión: uno al operador y otro al inductor.

El **represor** es inactivado por **interacción alostérica con el inductor** (lactosa), modificando su capacidad de pegado al sitio operador (disminuye afinidad).

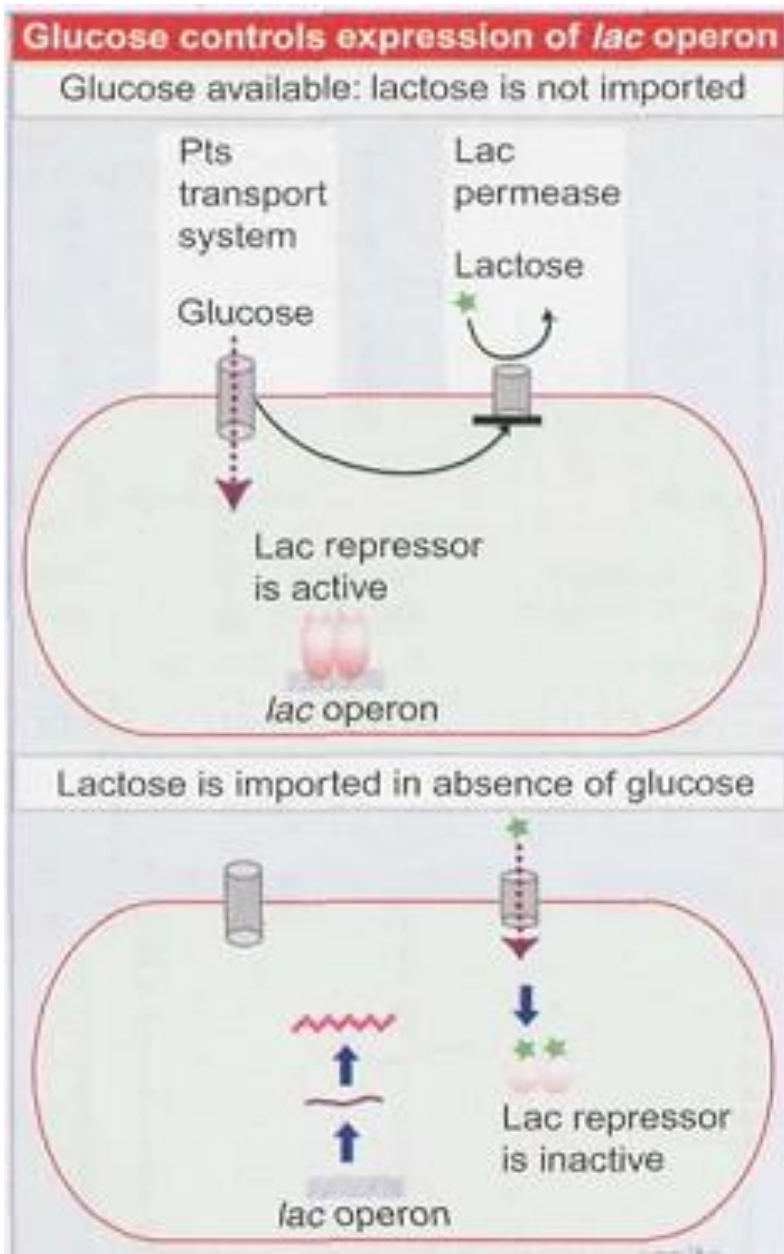
Sin lactosa



Con lactosa



La glucosa controla el uso de fuentes de carbono alternativas en *E. coli*: Represión catabólica de C

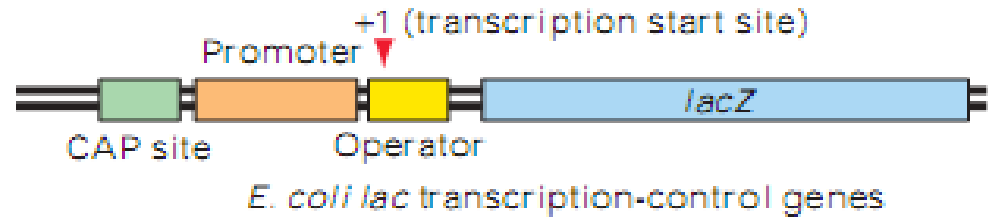


En muchas bacterias la glucosa es la fuente de C y E preferencial.

Mientras hay glucosa, la exclusión de fuentes alternativas de C (ej lactosa) inhibe la expresión de los operones que codifican las enzimas que las metabolizan (ej. op *lac*).

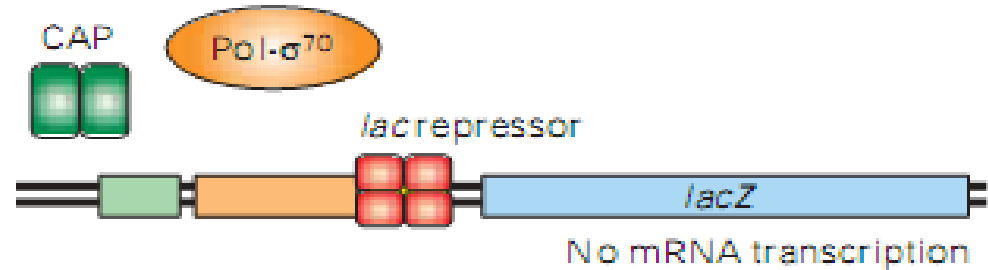
El operón *lac* es regulado por el represor *lac* y por la proteína activadora CAP

CRP (o CAP) es una proteína dimérica activadora que se une a una secuencia específica en el promotor *lac*. Es activada por cAMP cuando los niveles de glucosa son muy bajos.



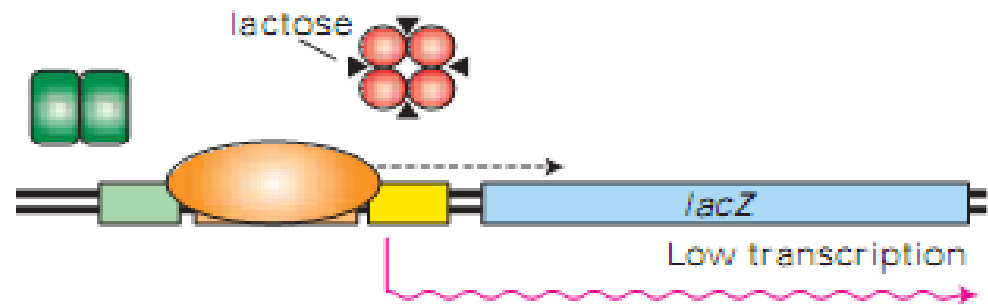
(a)

- lactose
+ glucose
(low cAMP)



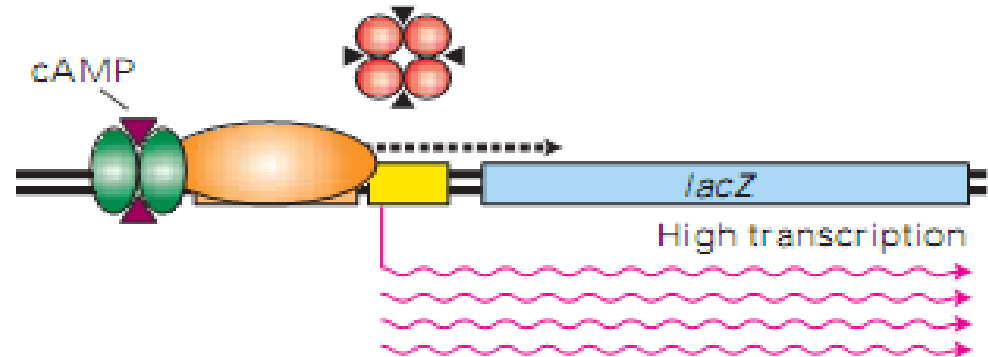
(b)

+ lactose
+ glucose
(low cAMP)

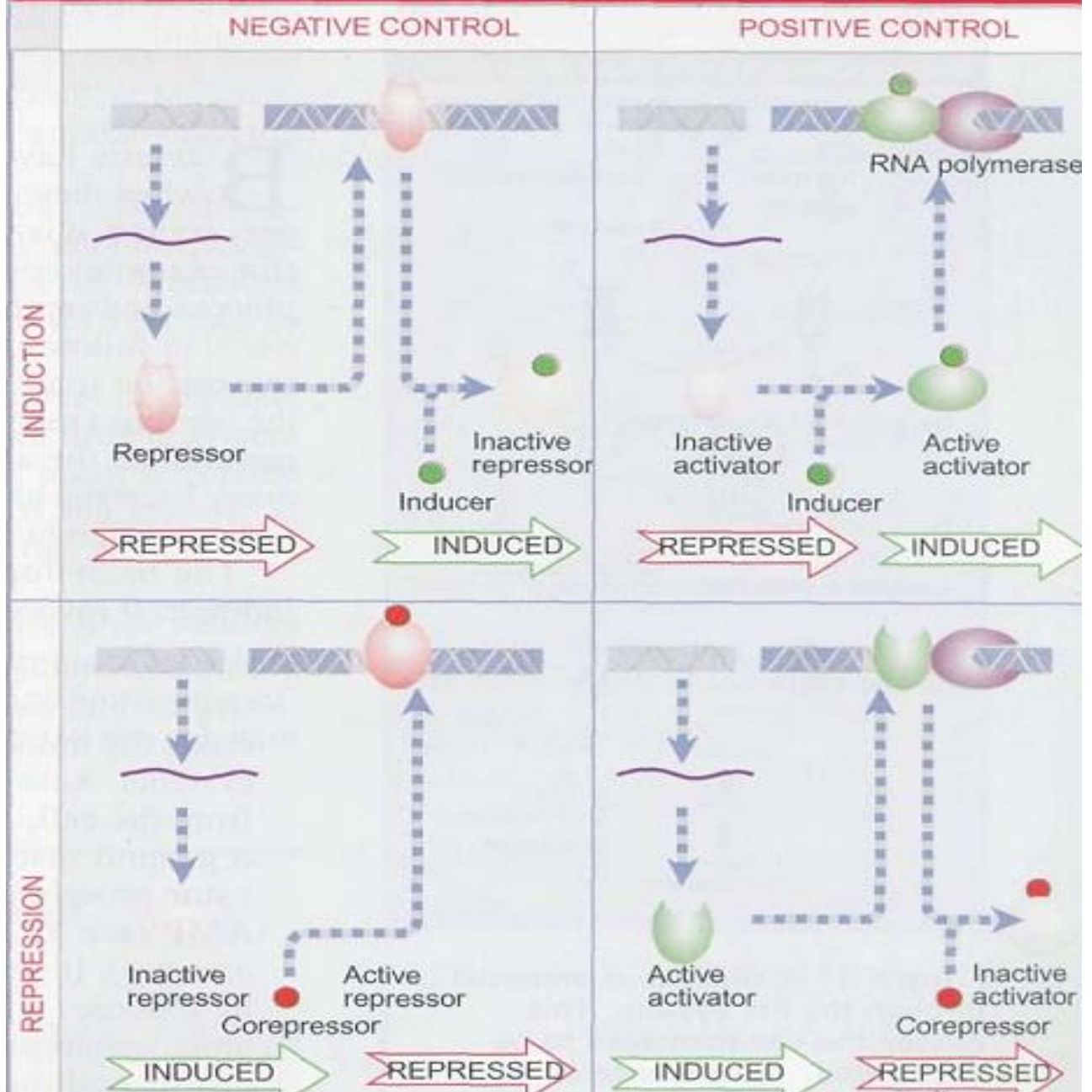


(c)

+ lactose
- glucose
(high cAMP)



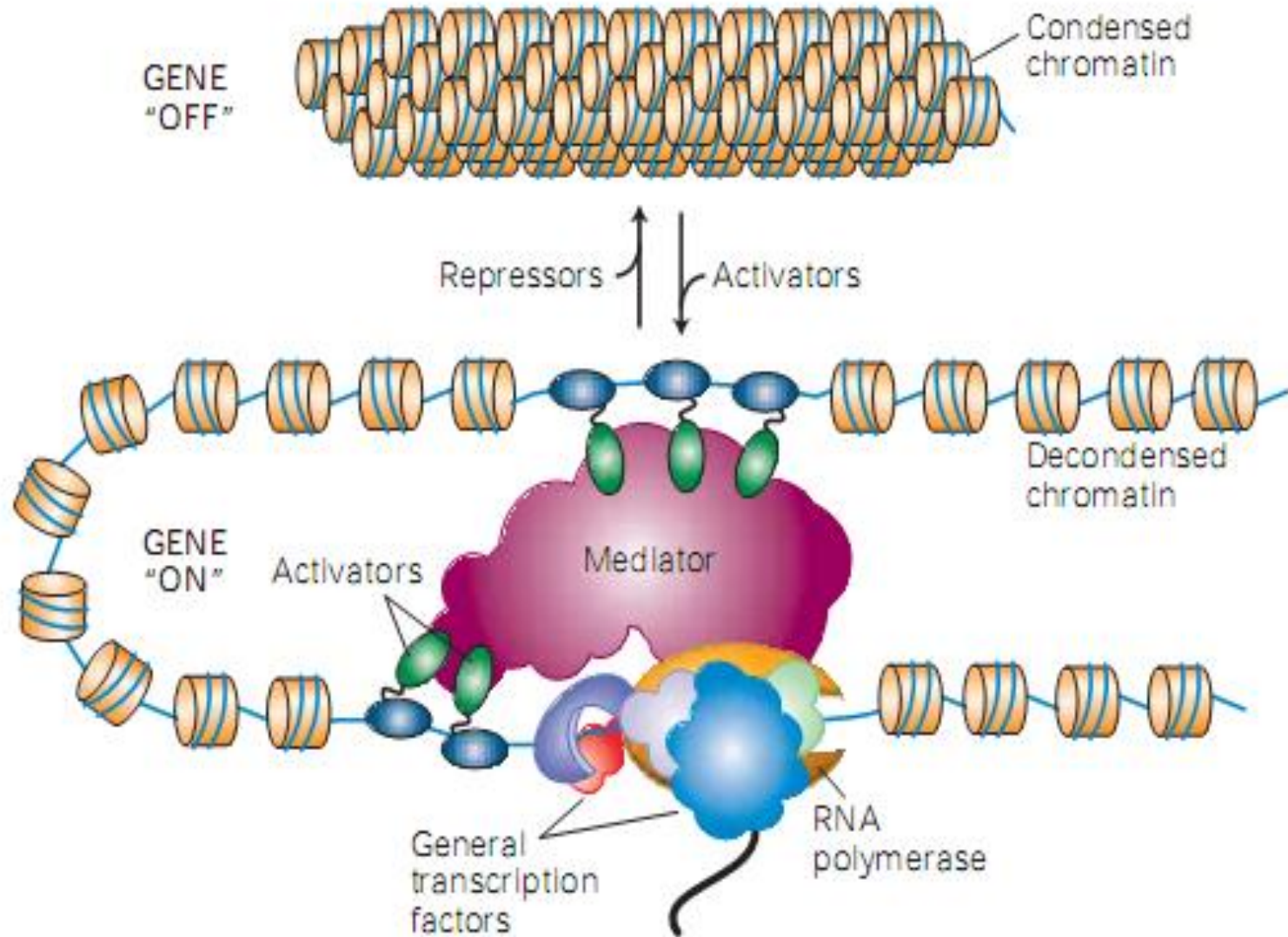
Induction and repression can be under positive or negative control



Los circuitos de control son versátiles.

La inducción o represión puede lograrse por control positivo o negativo

Panorama general del control de la transcripción en eucariontes multicelulares



Elementos de control que regulan la expresión génica en eucariotas multicelulares y levaduras

Secuencias amplificadoras (*Enhancers*):

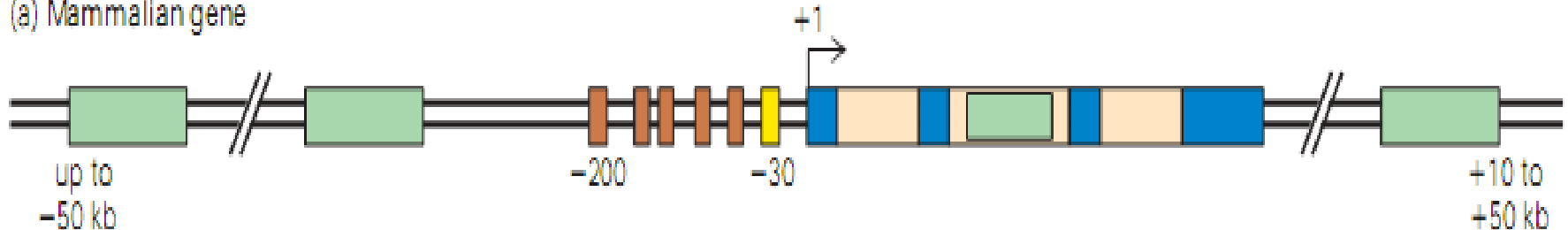
Elementos modulares que estimulan el inicio de la transcripción, están localizados a distancia del sitio de inicio de la transcripción (50 kpb), río arriba o río abajo del promotor.

~100 pb de largo, formados por varios módulos de 10-20 pb. Participan en la regulación temporal/espacial de genes.

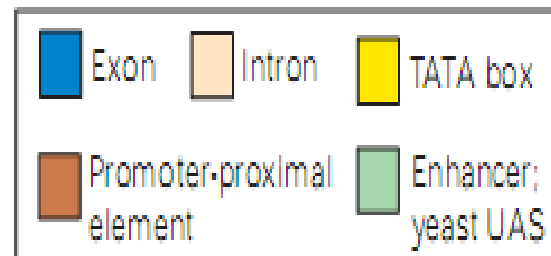
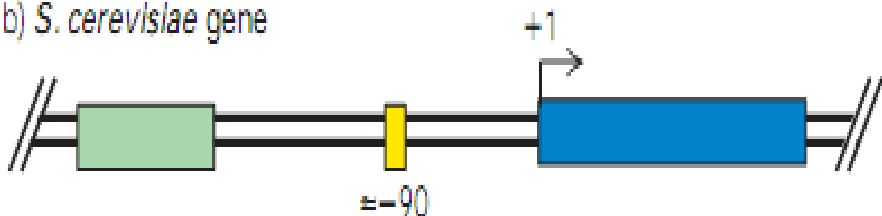
UAS (*upstream activator sequences*) de levaduras. Similar a *enhancers*, se localizan río arriba del promotor mínimo.

Los diversos elementos de control son sitios de unión de proteínas reguladoras

(a) Mammalian gene



(b) *S. cerevisiae* gene



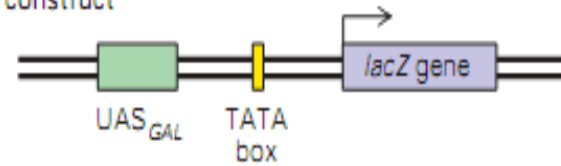
Proteínas reguladoras de la transcripción en eucariontes

Gal 4 activador transcripcional de levaduras que se une a UAS_{Gal}.

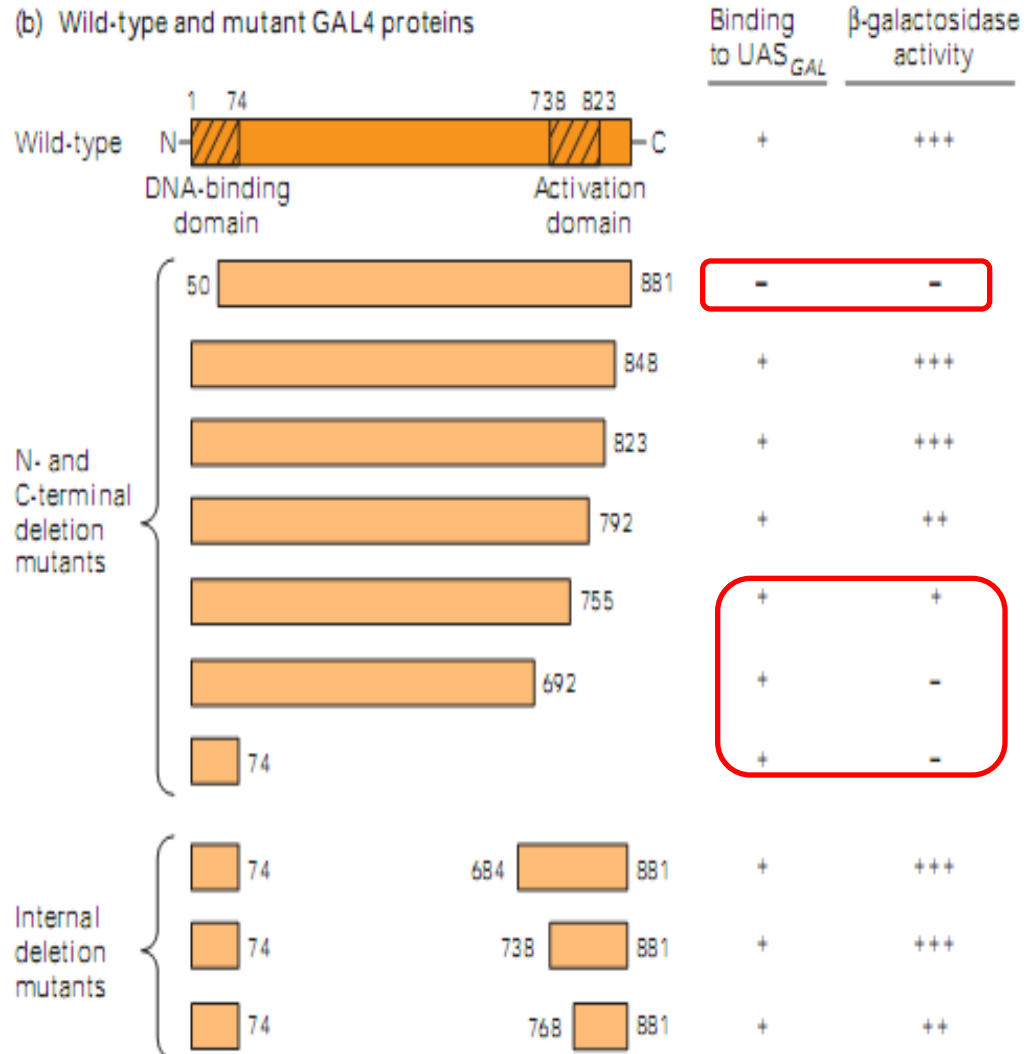
Regula metabolismo de galactosa.

Aporta los primeros conocimientos sobre la **estructura modular de los FT.**

(a) Reporter-gene construct



(b) Wild-type and mutant GAL4 proteins



Las proteínas reguladoras poseen una **estructura modular** separable:

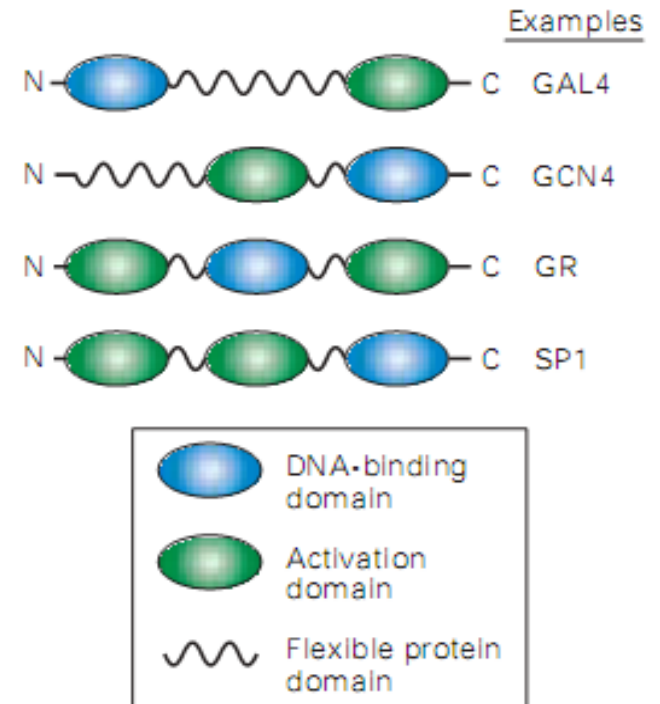
- **Dominio de unión al ADN**

Se une a regiones del ADN específicas.

- **Dominio de activación (o represión) de la transcripción (1 o más)**

Interacciona con otras proteínas y/o RNA pol.

- Dominio flexible



Los FT que estimulan o reprimen la transcripción se unen a elementos proximales del promotor o a secuencias amplificadoras

Dominios de unión al ADN de los FT

Motivos estructurales proteicos que unen secuencias de ADN específicas.

La capacidad de unión al ADN depende, entre otras cosas, de la interacción no covalente entre hélice α del dominio de unión al ADN de la proteína y los átomos de las bases en el ADN.

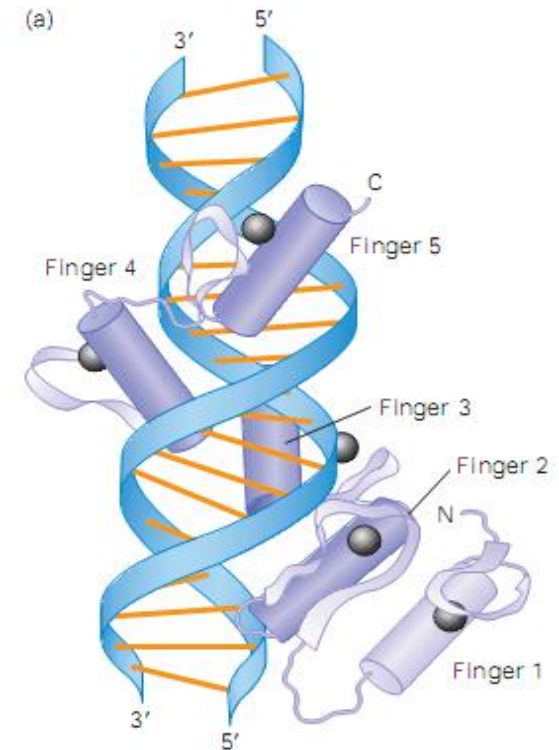
Los FTs se suelen clasificar en familias en base al tipo de dominios de unión al ADN

Hélice-giro-hélice (HTH). Poseen 2 hélices, una interacciona con ADN.
Ej. Represores bacterianos

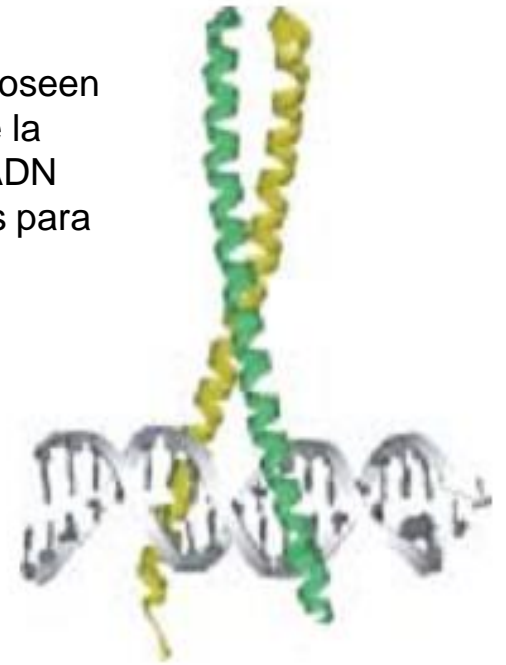


Proteínas con dedos de Zn
Regiones que se pliegan alrededor de un ión Zn^{2+} central, produce un dominio compacto a partir de un segmento corto del polipéptido.

Ej. Receptores de hormonas esteroideas.



Proteínas con cierres de leucinas. Poseen aa leu en cada séptima posición de la secuencia del dominio. Se unen al ADN como dímeros. Las leu son necesarias para la dimerización. FT GCN4



Proteínas con homeodominio.

Poseen ~60 aa conservados, similar HTH.

FTs que participan durante el desarrollo en *Drosophila* y vertebrados.

Las regiones de control (región promotora) en muchos genes eucariotas poseen sitios de unión para múltiples FTs

La transcripción génica varía según el repertorio particular de FTs que se expresan y activan en una célula dada en un momento particular.

Los **dominios de activación y represión en los TF** presentan variedad de secuencias aa y estructuras tridimensionales (ej. Gal 4 residuos acídicos). **Interactúan con co-activadores o co-represores.**

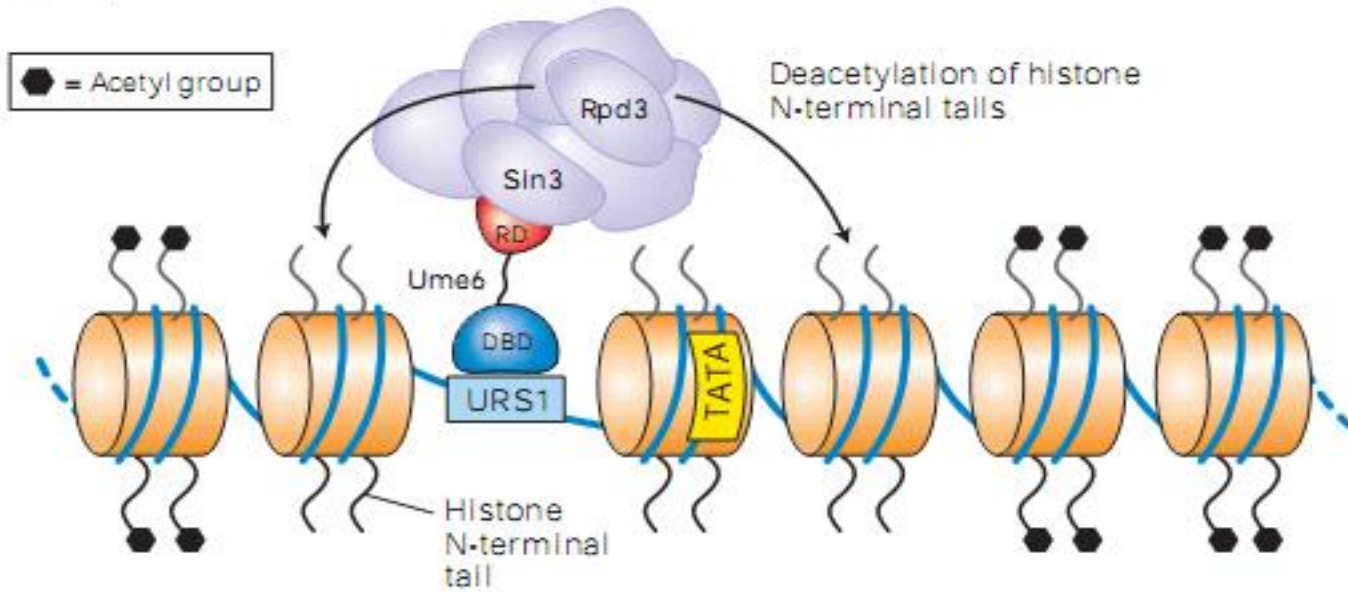
Muchos FTs se unen en forma cooperativa para activar la transcripción.

Las proteínas reguladoras de genes eucariotas actúan mediante dos mecanismos:

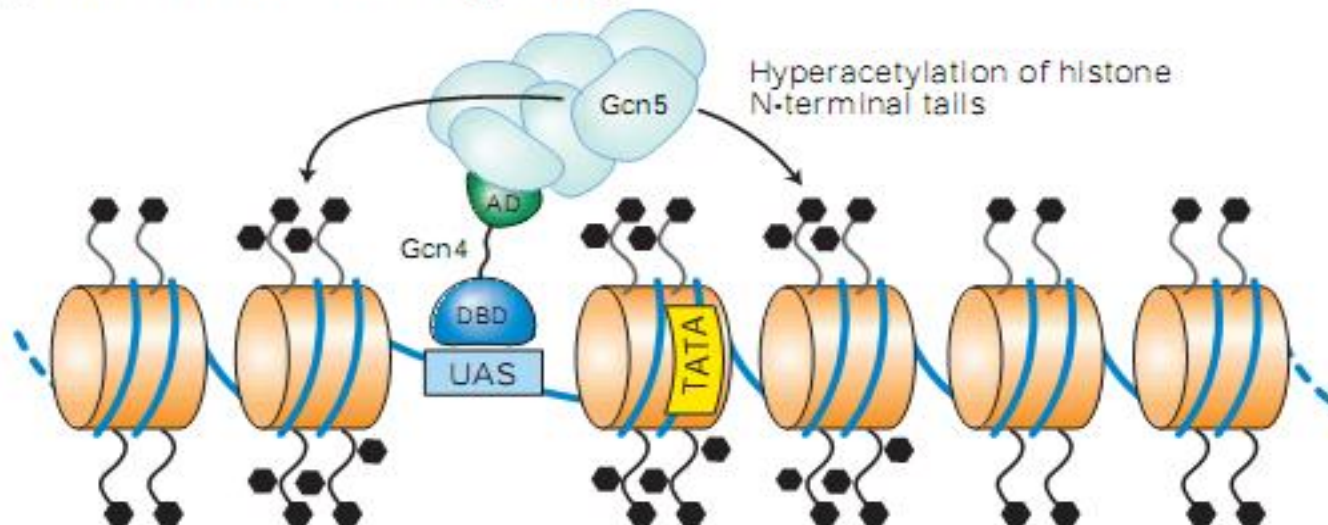
1. Interaccionan con proteínas que remodelan la cromatina afectando la capacidad de los FT generales y la ARN pol II de unirse a los promotores e iniciar la transcripción.
2. Interactúan con un complejo multiproteico llamado **mediador del complejo de transcripción** que se une a la RNA pol II y regula el ensamblaje del complejo de pre-iniciación.

Mecanismo de desacetilación/hiperacetilación de las histonas en el control de la transcripción en levaduras

(a) Repressor-directed histone deacetylation



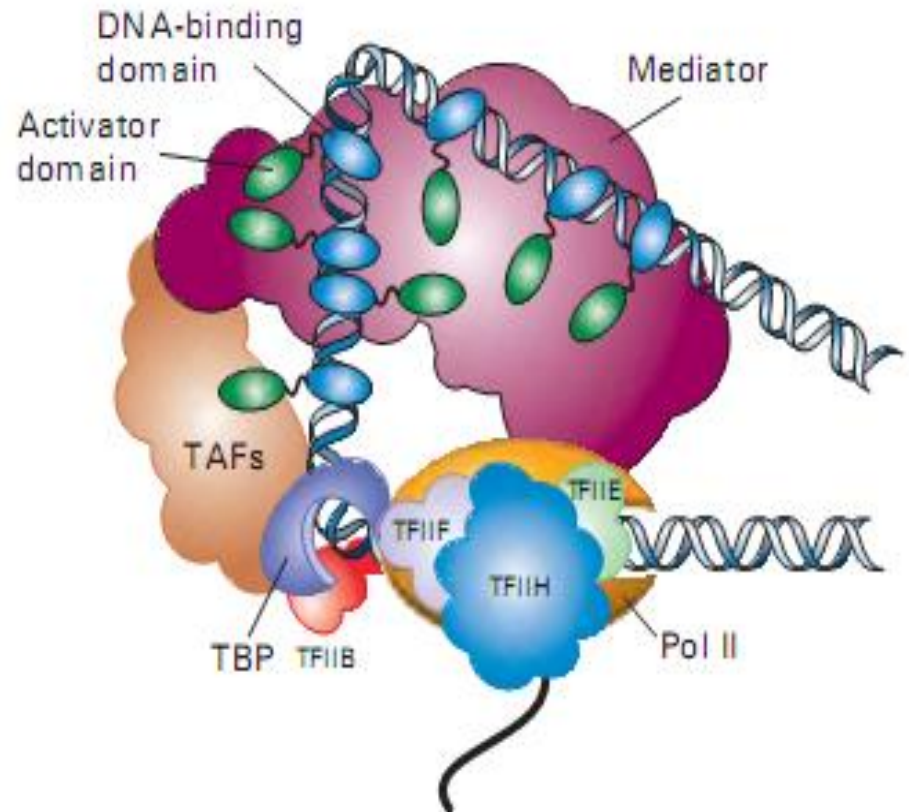
(b) Activator-directed histone hyperacetylation



El **complejo mediador** es un **co-activador transcripcional**. Forma un complejo multiproteico y actúa como un puente que conecta la RNA pol II y el dominio de activación de proteínas activadoras. Permite **integrar señales de varios activadores en un único promotor**.

Una de la subunidades del mediador posee actividad histona-acetilasa, mantiene la región promotora hiperacetilada.

Los activadores unidos a secuencias amplificadoras o elementos proximales del promotor pueden interactuar con un mediador asociado a un promotor debido a que el ADN es flexible y puede formar un bucle acercando regiones reguladoras y el promotor.



Regulación de la actividad de los FT

La **expresión de un gen** depende de la **concentración y actividad de los FTs** en la célula.

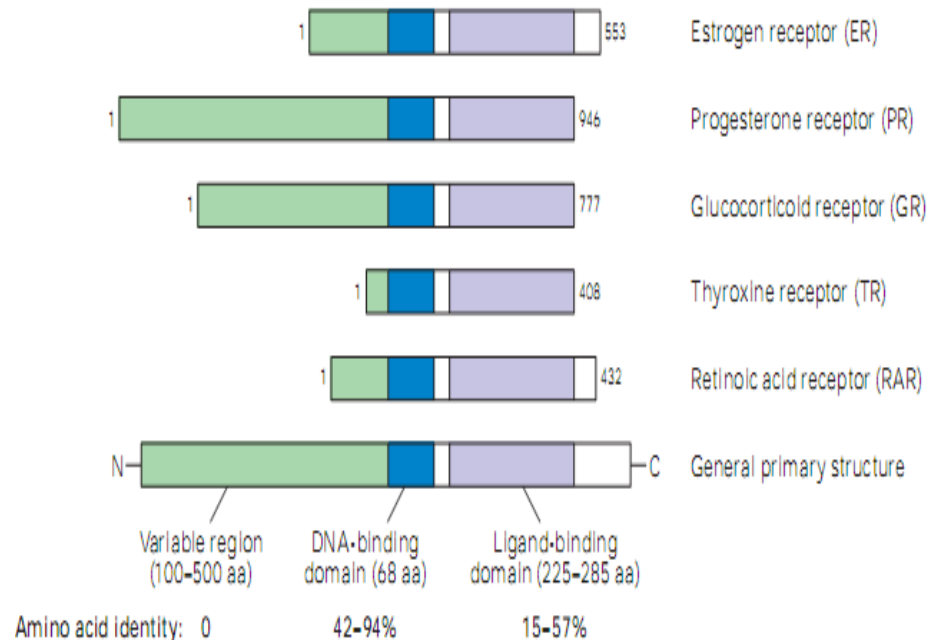
La expresión de los FT está finamente regulada y depende de múltiples interacciones reguladoras.

Los organismos multicelulares reciben señales externas mediante:

a. Moléculas con receptores en superficie celular (péptidos/proteínas), desencadenan mecanismos de transducción de señales

b. Hormonas liposolubles (h. esteroides, h. tiroidea), difunden por la membrana e interactúan con FTs: **familia de receptores nucleares**

Diseño general de los FT familia de receptores nucleares

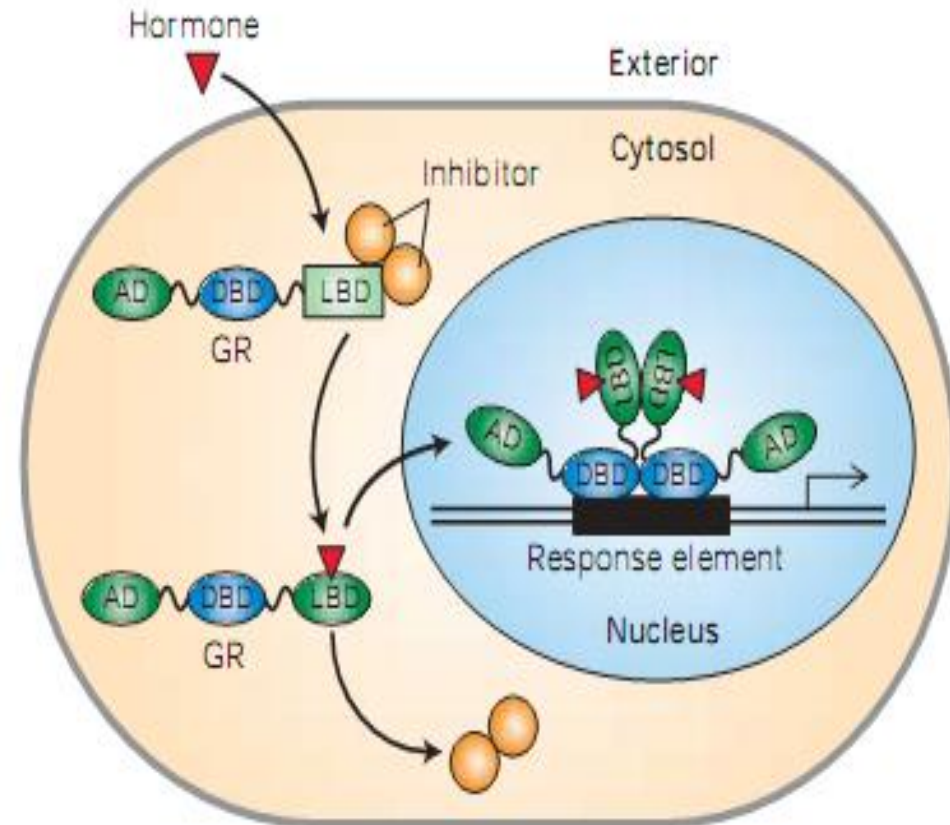


Activación génica hormona-dependiente por un receptor dimérico nuclear

Los receptores de hormonas liposolubles se unen a sitios específicos en el ADN: **elementos de respuesta (ER)**.

Estos receptores modifican su actividad por interacción con el ligando y activan la transcripción.

Algunos receptores se localizan en el núcleo (receptor h. tiroidea) y otros en citoplasma y se translocan al núcleo después de interaccionar con el ligando.



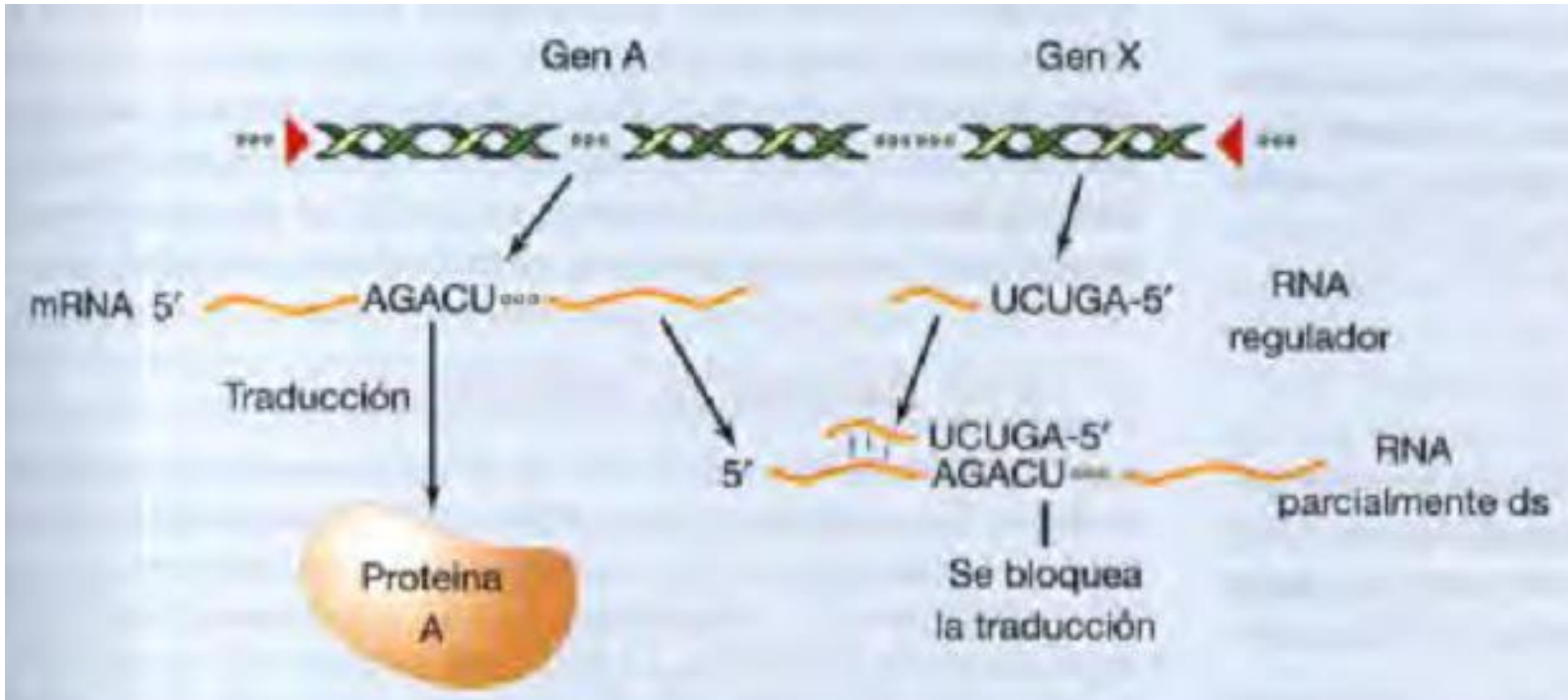
AD, dominio de activación de la transcripción

DBD, dominio unión al ADN

LBD, dominio unión al ligando

Control de la traducción: Regulación por ARN

Control *antisense* por ARNs no codificantes pequeños (ncRNA)



Son RNAs pequeños simple cadena que se aparean a regiones complementarias de un ARNm, bloqueando su expresión (procesamiento, traducción).

Existen casos en procariontes y eucariontes.

La estrategia del ARN antisentido se usa para apagar la expresión de genes a conveniencia para investigar la función de dicho gen

Regulación dependiente de hierro de la traducción y degradación del ARNm

Una proteína con afinidad por ARN y sensible al hierro (IRE-BP) regula la traducción y degradación de dos mRNAs uniéndose a elementos de respuesta al hierro (IRE)

Control de las concentraciones intracelulares de hierro por la proteína de unión a los (IRE-BP).

Ferritina, proteína intracelular fijadora de hierro.

Transferrina, proteína sérica que une hierro y lo introduce a las células mediante su **receptor (TfR)**

