

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÉTICA

INTRODUCCIÓN

La transmisión de la información genética (transcripción), posibilita la formación de proteínas, cuyas funciones van a caracterizar la actividad y morfología de las células; pero la regulación de los tipos y cantidades de proteínas presentes en cada momento constituye un tema de tanta relevancia como el propio hecho de la síntesis. Las células son estructuras muy organizadas cuyas moléculas se ordenan de forma rigurosa.

En un organismo no se necesitan todos los productos génicos de forma simultánea, ni a los mismos niveles, con lo cual el sistema de regulación va a servir para ajustar el uso del depósito de información de los ácidos nucleicos a los requerimientos de cada célula o de cada organismo. A la regulación de la síntesis de las macromoléculas se la denomina **regulación de la expresión genética o génica**.

En un organismo procariota, muy dependiente de las condiciones de su entorno, la regulación debe permitirle responder rápidamente a las modificaciones medioambientales con el objeto de garantizar su supervivencia. La utilización de una parte u otra de su dotación genética le facilitará adaptarse adecuadamente a su entorno. En una célula de *Escherichia coli* se pueden medir niveles diferentes de concentraciones proteicas; hay proteínas muy escasas, que se encuentran en número de una decena; y hay proteínas muy abundantes, de las que pueden medirse miles de copias. En una célula de mamífero pueden existir 10^{10} moléculas de proteínas pertenecientes a unos 10.000 a 20.000 tipos diferentes. Esta enorme variación entre el número y tipo de moléculas presentes es posible por los cambios controlados en la producción y en la degradación de los productos génicos.

La diferenciación celular que existe en los organismos pluricelulares, se fundamenta en que aunque todas las células disponen del mismo ADN, se distinguen unas de otras porque sintetizan distintos tipos de moléculas de ARN y de proteínas. Si se compara un eritrocito y una neurona las diferencias son tan amplias que resulta difícil pensar que ambas comparten la misma dotación génica. Y si, además, se observa que la diferenciación es un proceso irreversible, aún se hace más indispensable el proceso de regulación de la expresión de diferentes genes.

Esta regulación puede llevarse a cabo en cualquier etapa de la síntesis o de la maduración de las macromoléculas, y atendiendo a muchas variables se desarrollará en el punto más adecuado. La vía que conduce desde el ADN hasta las proteínas está formada por múltiples etapas, y existen pruebas de que todas ellas se pueden controlar. Uno de los puntos de regulación más importantes se realiza a nivel de la transcripción, ya que al ser ésta la etapa inicial de trasvase de información genética se consigue el control en el inicio, lo que supone la mejor pauta de actuación, ya que se consigue el máximo ahorro energético.

Existen una serie de genes que se expresan constantemente, denominándoseles genes constitutivos, el producto de su expresión son moléculas necesarias de forma continua en todos los momentos de existencia de la célula o del organismo. Por otro lado, existen otros genes, deno-

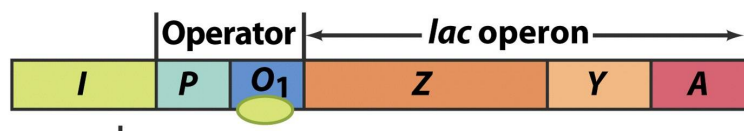
minados regulables, cuya expresión estará ajustada por las necesidades variables de la célula, aumentando o disminuyendo la expresión génica según se necesite aumentar o disminuir la concentración del producto génico.

CONTROL DE LA EXPRESIÓN GENÉTICA NIVEL DE LA TRANSCRIPCIÓN

El control de los genes regulables se realiza mediante proteínas que van a desarrollar un control activador o inhibidor sobre el mecanismo de la transcripción. Las células contienen un conjunto de proteínas que al unirse a secuencias específicas del ADN activan o desactivan los genes. Cada una de estas proteínas reguladoras de genes se encuentra en un número pequeño de copias y reconoce una secuencia de ocho a quince nucleótidos de la cadena del ADN. La unión puede facilitar (regulación positiva) o inhibir (regulación negativa) la transcripción de un gen adyacente.

En el caso de células procariotas, la mayoría de los ARNm son policistrónicos y pueden llevar transcritos de 2 a 6 genes. Los genes regulables que codifican proteínas de una ruta metabólica concreta no se encuentran dispersos en el genoma, sino que están normalmente adyacentes, agrupados en unidades de funcionamiento u operación denominadas **operones**, y su transcripción está bajo el control de proteínas activadoras y represoras. La región del ADN donde se unen estas proteínas recibe el nombre de operador y está muy próxima, si no solapada, con la región del promotor.

El ADN de *Escherichia coli* consta de un único cromosoma circular que contiene información para unas 4000 proteínas distintas; sin embargo, en un momento dado sólo se sintetizan algunas de ellas. Al ser un organismo procariota, regula la expresión de muchos de sus genes en función de los niveles intracelulares de metabolitos específicos, que varían según el medio ambiente que rodea a la célula. Los estudios genéticos sobre la utilización de lactosa como fuente alimenticia permitieron describir un modelo de regulación de expresión génica, el operón lactosa (*lac*), que es uno de los ejemplos mejor caracterizados de regulación a nivel de la transcripción.



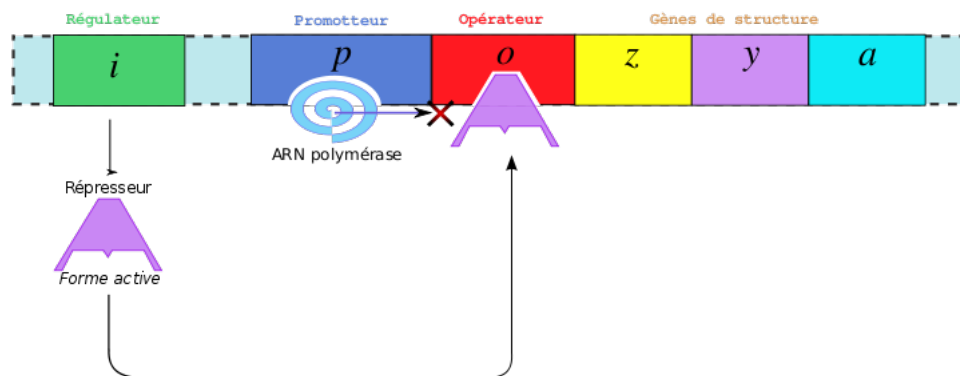
El operón lactosa está formado por una serie de **genes estructurales**, "z", "y", "a", que codifican tres enzimas, β -galactosidasa, (z), galactósido permeasa (y) y tiogalactósido transacetilasa (a); cuando este sustrato está accesible, la célula utiliza la lactosa como combustible mediante la acción catalítica de las tres enzimas mencionadas. Una secuencia previa de ADN a los genes

estructurales es la secuencia promotora, o **promotor**, o secuencia de inicio, dónde la ARN polimerasa se une al ADN para iniciar la transcripción. Entre el promotor y los genes estructurales se sitúa el **operador**, secuencia de ADN dónde se une la proteína reguladora, localizado cerca y a menudo solapado con el promotor, de forma tal que dependiendo del estado del operador la ARN polimerasa podrá realizar la transcripción o no. El conjunto formado por los tres genes estructurales, el promotor y el operador constituye estructuralmente el operón lac.

El mecanismo más simple de funcionamiento sería como sigue:

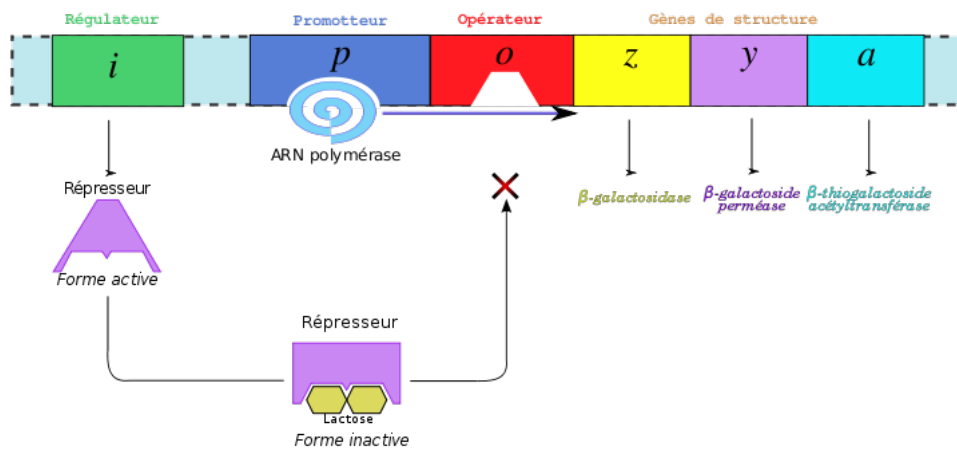
a) En ausencia de lactosa.

En este estado no se necesita la presencia de las enzimas que intervienen en su degradación, y por lo tanto sería un despilfarro energético realizar la síntesis de las mismas.



El sistema funciona permitiendo la expresión del gen regulador, que sintetiza una proteína que se une al operador. Esta unión incapacita a la ARN polimerasa, situada sobre el promotor, para realizar la lectura del ADN y llevar a cabo la transcripción de los genes estructurales. Se dice que hay una **represión a nivel transcripcional** y a la proteína codificada por el gen regulador se la denomina **proteína represora** o **represor**.

b) En presencia de lactosa.



La presencia de lactosa significa la necesidad de disponer de las enzimas que permitan su utilización como combustible metabólico. La molécula de lactosa, funciona como una molécula señal, ya que se une al represor incapacitándole para unirse al operador. En esta situación la ARN polimerasa no tiene ningún obstáculo y es capaz de transcribir los genes estructurales. Se produce una **inducción a nivel transcripcional** y las enzimas encargadas de degradar la lactosa aumentan en una proporción de unas 1000 veces.

Además de la lactosa, el operón lac está regulado por otro tipo de señales. Incluso un organismo tan simple como una bacteria habita un medio ambiente extraordinariamente complejo y variable, si sus genes sólo respondieran a una única señal, su comportamiento sería demasiado simple y su capacidad de supervivencia muy limitada. La presencia o ausencia de otro sustrato combustible como es la glucosa, es capaz de reprimir o activar respectivamente la transcripción de los genes estructurales del operón lac.

La glucosa es el combustible por excelencia por su versatilidad metabólica, cuando se encuentra presente resulta poco económico fabricar las enzimas de catabolización de otros sustratos glucídicos. Para evitar esta situación, existe un mecanismo regulador denominado **represión por catabolito**; en este sistema, la presencia de un catabolito preferente provoca la represión de los genes que codifican enzimas catabólicas de otros sustratos secundarios, incluso aunque estos sustratos secundarios estén presentes también.

El efecto represor de la glucosa se efectúa a través de una proteína llamada proteína activadora del catabolito (CAP) y del AMPc. La CAP es un dímero con puntos de unión para el AMPc y el ADN. En ausencia de glucosa, la CAP se une a una secuencia específica del ADN próxima al promotor lac, provocando un aumento de la transcripción de unas 50 veces. Tiene por sí misma un efecto de regulación positiva, mientras que el represor lac tiene un efecto de regulación negativa. Los dos sistemas de regulación funcionan conjuntamente y no son excluyentes, más bien lo contrario, la CAP tiene poco efecto cuando el represor lac inhibe la transcripción, y la separación del represor tiene consecuencias poco visibles si la CAP no se encuentra en su punto de unión.

The *lac* Operon and its Control Elements

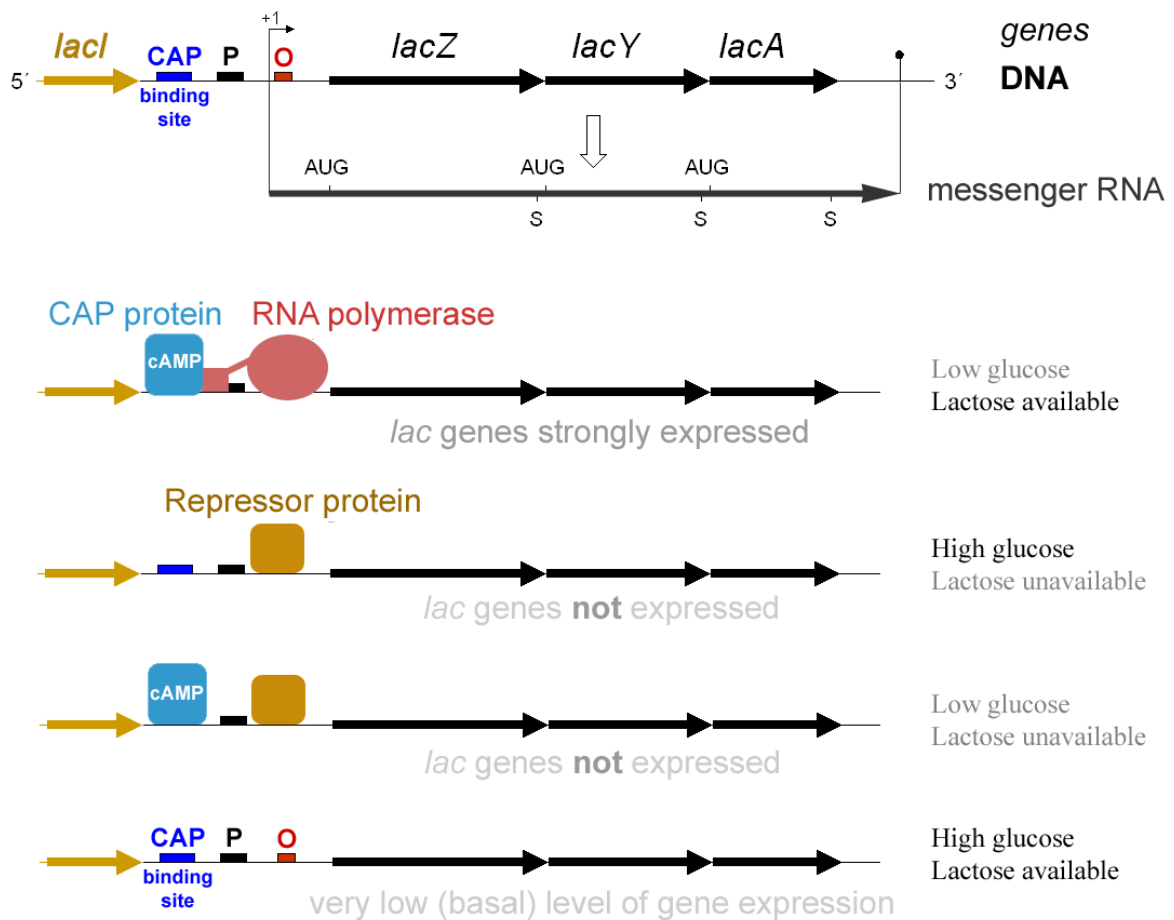


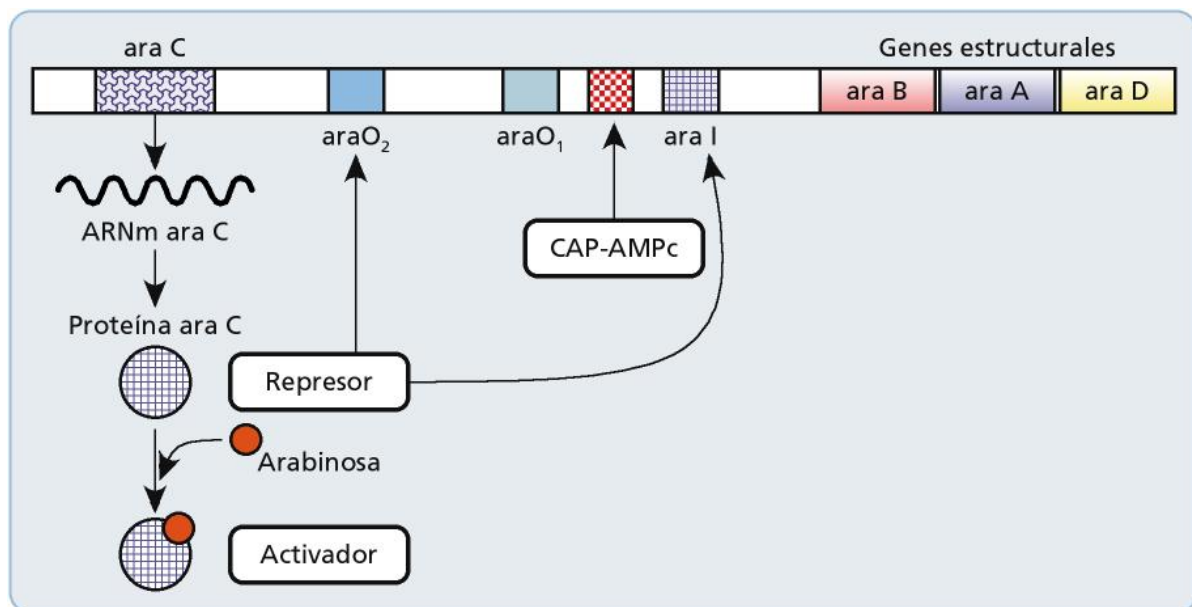
Diagram of the Lac Operon (© Tereseik).

La acción de la glucosa sobre la CAP se realiza mediante un intermediario, el AMPc; cuando éste se encuentra en concentraciones altas, se une a la CAP haciendo que ésta aumente su afinidad por el ADN, y su ausencia disminuye dicha afinidad. Si la glucosa se encuentra en altas concentraciones el AMPc disminuye, su unión a la CAP disminuye y ésta no se une al ADN, disminuyendo consecuentemente la expresión del operón *lac*. Si la glucosa se encuentra en bajas concentraciones, el desarrollo de acontecimientos es el inverso. Así puede comprobarse que la expresión del operón *lac* no sólo viene determinada por la presencia o ausencia de lactosa como de manera simplificada se ha analizado en primer término, sino que también depende de la presencia de glucosa en el medio.

REGULACIÓN POSITIVA Y NEGATIVA DE UN OPERÓN A TRAVÉS DE UNA ÚNICA PROTEÍNA REGULADORA

El operón arabinosa (*ara*) de *Escherichia coli* es un sistema más complejo que el descrito de la lactosa. La arabinosa, una pentosa, puede ser usada como sustrato metabólico a través de la vía de las pentosas-fosfato; las enzimas necesarias para su metabolización son: arabinosa isomerasa, ribulosa quinasa y ribulosa-5-fosfato epimerasa que están codificadas por los genes estructurales *araA*, *araB* y *araD*. El operón *ara* incluye además de los tres genes estructurales:

a) una región reguladora que a su vez tiene dos operadores *araO*₁ y *araO*₂, **b)** un sitio de unión para la proteína reguladora (*araC*) denominado *araI* (I=inductor), **c)** un promotor adyacente a *araI* y en la proximidad del promotor se encuentra, **d)** un sitio de unión para la CAP-AMPc.



La proteína *araC* está codificada por un gen *araC* próximo que se transcribe desde su propio promotor (próximo a *araO*₁) en dirección opuesta a los genes estructurales. El papel de la proteína es complejo, ya que es capaz de regular su propia síntesis uniéndose a *araO*₁ y cuando su concentración supera las cuarenta copias por célula reprime su síntesis. Respecto a los genes estructurales, actúa también como un regulador positivo y negativo, uniéndose a *araO*₂ y a *araI*, lo cual permite una acción distinta dependiendo de las siguientes condiciones metabólicas:

- Si la glucosa es abundante y la arabinosa es escasa: la proteína reguladora *araC* se une en dos puntos, a *araO*₂ y *araI* formándose un lazo de ADN que no permite la transcripción de los genes estructurales.
- Si la glucosa es escasa y la arabinosa es abundante: el complejo CAP-AMPc es abundante y se une a su sitio del ADN, adyacente a *araI*. La arabinosa funciona como un activador, al unirse a la proteína *araC* altera su conformación, y al unirse ésta a *araI* se combina con CAP-AMPc y aumenta la transcripción.
- Si ambos son escasos o ambos son abundantes, el sistema de regulación no está claro aunque se sabe que hay represión.

REGULACIÓN DEL OPERÓN MEDIANTE ATENUACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN

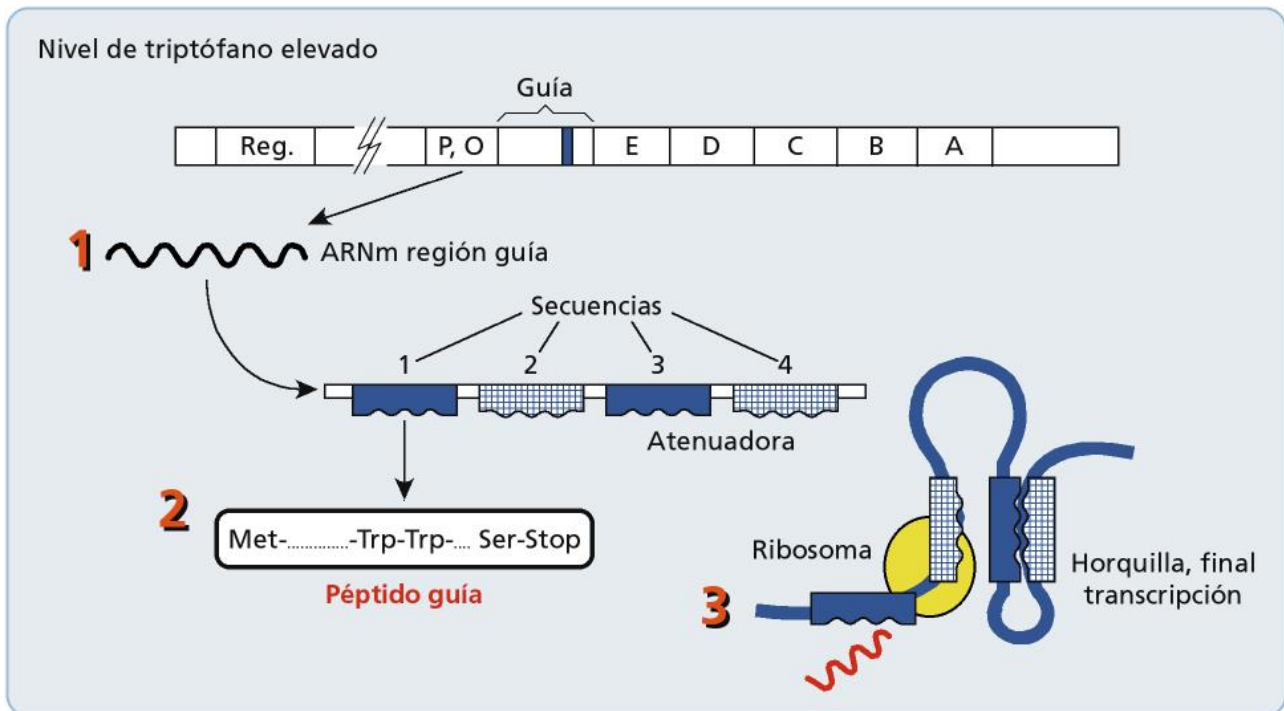
En *Escherichia coli* existe un acoplamiento entre transcripción y traducción, de tal manera que cuando el extremo 5' del ARNm está disponible, comienza a ser traducido sin esperar a que finalice la síntesis íntegra del ARNm. Este acoplamiento permite el desarrollo de un mecanismo de regulación conocido como **atenuación**, y cuyo ejemplo más característico es el operón trp u operón de síntesis del triptófano.

La síntesis proteica necesita como sustrato aminoácidos, y *Escherichia coli* posee las enzimas para la síntesis de todos los aminoácidos. Los genes que codifican las enzimas implicados en la ruta sintética de cada aminoácido se encuentran agrupados en una unidad de operación u operón.

El operón triptófano (trp) agrupa cinco genes estructurales que codifican las enzimas necesarias para sintetizar triptófano a partir de su precursor. El ARNm poligénico de este operón tiene una vida media corta de unos 3 minutos permitiendo a la célula respuestas muy rápidas frente a las necesidades de este aminoácido. El represor trp es una proteína dimérica; cuando el triptófano es abundante, el aminoácido se une al represor, provocando en éste un cambio conformacional que le capacita para unirse al operador. Al estar prácticamente solapados operador y promotor la unión del represor impide la incorporación de la ARN polimerasa y la formación de las enzimas.

Hasta aquí sería un sencillo sistema de regulación negativo por represor, sin embargo, cuando se modifica la concentración de triptófano el sistema es capaz de graduar su respuesta permitiendo que la velocidad de síntesis de las enzimas pueda variar en un margen estimado de unas 700 veces. La velocidad de transcripción se ajusta mediante un sistema de regulación denominado atenuación de la transcripción. Este término significa que la transcripción se inicia pero no se completa, y esta detención depende de la concentración disponible de triptófano. La explicación de este sistema incluye no sólo el mecanismo de transcripción, sino también la traducción, ya que para poder desarrollarse se requiere que ambos procesos sean consecutivos e inmediatos. Según se va produciendo la transcripción, el ARNm va siendo traducido por un ribosoma.

El ARNm en su extremo 5' tiene cuatro secuencias localizadas en una región denominada guía, situada antes de los codones de los genes estructurales. Las secuencias 3 y 4 de la región guía forman la **secuencia atenuadora**, debido a que el contenido en bases que presentan da lugar a la formación de una horquilla que impide la continuación de la traducción.



La acción de la secuencia atenuadora viene marcada por la presencia o no de triptófano en el medio. Si la concentración de triptófano es alta, el péptido guía se sintetiza en su totalidad y mientras el ribosoma va traduciendo la secuencia 2, se transcribe la secuencia atenuadora y se forma la horquilla entre las secuencias 3 y 4, esta horquilla impide la acción de la ARN polimerasa, interrumpiendo el proceso de transcripción y deteniendo la expresión de las enzimas sintéticas de un aminoácido que se encuentra en exceso.

Si la concentración es baja el péptido guía (codificado por la secuencia 1 de la región guía) no puede formarse porque dos de sus aminoácidos constituyentes son triptófano, por lo tanto el ribosoma al llegar a estos codones se detiene, dejando la secuencia 2 libre el tiempo suficiente para que se transcriba la secuencia 3 y entre ambas formen una horquilla que a diferencia de la formada por la secuencia 3 y 4 no impide la unión de la ARN polimerasa permitiendo la expresión de los genes estructurales.

La mayor parte de los aminoácidos tienen operones para su biosíntesis que utilizan un sistema de regulación por atenuación muy parecido al comentado, con el objeto de sintetizar únicamente aquellos aminoácidos que son necesarios. Los péptidos guía son moléculas de pequeño tamaño; el del triptófano tiene 14 aminoácidos siendo dos de ellos triptófano; o el de la fenilalanina que tiene 15 aminoácidos de los que siete son fenilalanina. Así, sin necesidad de consumir una gran cantidad de energía, el péptido guía actúa como un sensible medidor de la concentración del aminoácido.