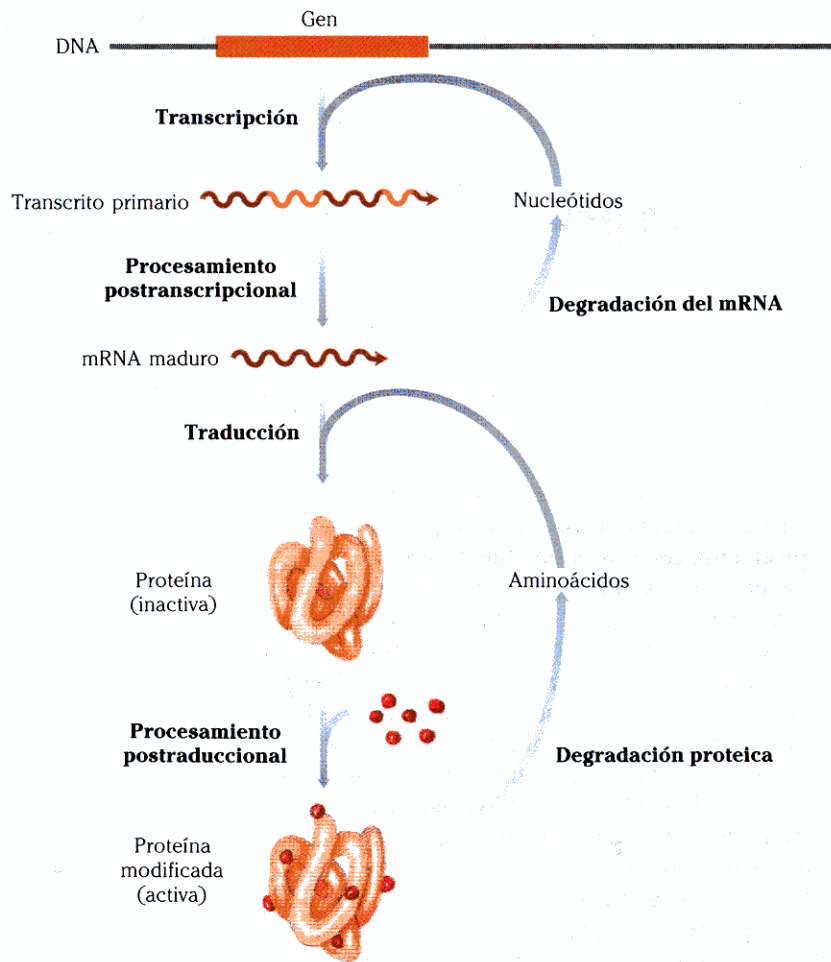


## Regulación de la expresión génica

De los 4.000 genes presentes en el genoma bacteriano, o de los 100.000 estimados para el genoma humano, únicamente se expresa una fracción en un momento dado. Algunos productos génicos 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. Otros productos génicos son necesarios en cantidades mucho menores; por ejemplo, una célula ha de contener sólo unas pocas moléculas de los enzimas que reparan lesiones poco comunes del DNA. La necesidad de un determinado producto génico también cambia en el tiempo. La necesidad de enzimas de ciertas rutas metabólicas aumenta o disminuye en función del cambio o agotamiento de las fuentes de alimentación. Durante el desarrollo de un eucariota multicelular, algunas proteínas que modulan la diferenciación celular están presentes durante tan sólo un breve período de tiempo y en una pequeña fracción de las células del organismo. La especialización de algunas células para realizar determinadas funciones también puede afectar drásticamente su necesidad de sintetizar algunos productos génicos, siendo un ejemplo de ello la alta concentración de hemoglobina observada exclusivamente en eritrocitos.

La regulación de la expresión génica constituye un aspecto fundamental en la regulación global del metabolismo celular y en la dirección y mantenimiento de las diferencias estructurales y funcionales existentes en células en desarrollo. Debido al alto coste energético de la síntesis proteica, la regulación de la expresión génica es esencial para que la célula pueda hacer un uso óptimo de la energía disponible.

Regular la concentración de una proteína celular implica mantener un equilibrio preciso entre muchos procesos. Existen al menos seis puntos potenciales en los que la cantidad de proteína puede ser regulada (Fig. 27-1): síntesis del transcrito primario de RNA, procesamiento post-transcripcional del mRNA, degradación del mRNA, síntesis proteica (traducción), modificación postraducciona de proteínas, y degradación proteica. La concentración de una determinada proteína se controla mediante mecanismos reguladores en algunos o en todos estos puntos. Algunos de estos mecanismos se han examinado en capítulos anteriores. La modificación post-transcripcional de los mRNA mediante procesos como el mecanismo de maduración por corte y empalme ("splicing") diferencial (p. 873) o el procesamiento del RNA (ver Recuadro 26-1) pueden determinar cuáles serán las proteínas producidas a partir de un transcrito de mRNA y en qué cantidad. La velocidad de degradación de un mRNA puede estar afectada por una amplia variedad de secuencias (p. 880). Muchos de los factores que influyen en la velocidad con la que un mRNA es traducido a proteína, así como las modificaciones postraduccionales y la degradación final de esa proteína, se describieron en el Capítulo 26.



**Figura 27-1** Seis procesos que afectan a la concentración de las proteínas. Cada uno de estos procesos es un lugar potencial de regulación.

En este capítulo nos centraremos en la regulación del inicio de la transcripción (aunque también se describirán algunos aspectos de la regulación de la traducción). La regulación a nivel del inicio de la transcripción es, de todos los procesos ilustrados en la Figura 27-1, la mejor conocida y parece ser la más común. Al menos una importante razón para que esto sea así está clara: como en todas las rutas biosintéticas, el lugar más eficiente para la regulación es la primera reacción de la vía. De esta manera, se puede evitar una biosíntesis innecesaria antes de que se haya invertido energía. El inicio de la transcripción también es un punto excelente para coordinar la regulación de múltiples genes cuyos productos muestran actividades interdependientes. Por ejemplo, cuando el DNA ha sufrido lesiones importantes, las células bacterianas necesitan un aumento coordinado de los niveles de muchos enzimas implicados en la reparación del DNA. La forma más sofisticada de coordinación se da posiblemente en los complejos circuitos reguladores que guían el desarrollo de eucariotas multicelulares.

En este capítulo, describiremos primero las interacciones entre proteínas y DNA, que son la clave de la regulación transcripcional. Las proteínas específicas que regulan la expresión de genes específicos se discutirán posteriormente, primero en procariotas y a continuación en eucariotas. A lo largo de esta discusión examinaremos varios mecanismos diferentes mediante los cuales las células regulan la expresión génica y coordinan la expresión de múltiples genes.

## Regulación génica: principios y proteínas

De la misma forma que cambian las necesidades celulares de diferentes proteínas, los mecanismos por los que se regulan sus genes respectivos también varían. El grado y tipo de regulación reflejan de forma natural la función del producto proteico del gen. Algunos productos génicos son siempre necesarios y sus genes se expresan a nivel más o menos constante en prácticamente todas las células de una especie u organismo. Muchos de los genes para enzimas que catalizan pasos en vías metabólicas centrales, como el ciclo del ácido cítrico, pertenecen a esta categoría. Estos genes son generalmente denominados como genes **constitutivos** ("housekeeping"). La expresión constante de un gen, aparentemente no regulada, es conocida como expresión génica **constitutiva**. Las cantidades de otros productos génicos aumentan y disminuyen en respuesta a señales moleculares. Los productos génicos que incrementan su concentración bajo determinadas circunstancias moleculares son conocidos como inducibles, y el proceso que da lugar al incremento de la expresión del gen se denomina **inducción**. La expresión de muchos genes codificantes para enzimas de reparación del DNA, por ejemplo, se ve inducida en respuesta a niveles altos de DNA dañado. Por el contrario, los productos génicos que disminuyen su concentración en respuesta a una señal molecular se conocen como reprimibles, y la disminución en la expresión génica se denomina **represión**. Por ejemplo, la presencia de una fuente abundante del aminoácido triptófano origina la represión de los genes para los enzimas que catalizan la biosíntesis de triptófano en bacterias.

La transcripción está mediada y regulada mediante interacciones proteína-DNA. El componente central es la RNA polimerasa, un enzima descrito con cierto detalle en el Capítulo 25. Aquí comenzaremos con una descripción más avanzada de la RNA polimerasa desde el punto de vista de la regulación, procediendo posteriormente a una descripción general de las proteínas que modulan la actividad de la RNA polimerasa. Discutiremos finalmente las bases moleculares del reconocimiento de secuencias específicas de DNA por las proteínas que se unen al DNA.

### La actividad de la RNA polimerasa está regulada

La RNA polimerasa se une al DNA e inicia la transcripción en sitios específicos del DNA denominados promotores (Capítulo 25). Los promotores se encuentran generalmente muy cerca de la posición del DNA molde donde empieza la síntesis de RNA. La regulación del inicio de la transcripción es, de hecho, la regulación de la interacción entre la RNA polimerasa y su promotor.

Los promotores varían considerablemente en su secuencia nucleotídica, y esto influye en la afinidad de unión de las RNA polimerasas. La afinidad de unión afecta por su parte a la frecuencia del inicio de transcripción. En *E. coli*, algunos genes se transcriben una vez por segundo, mientras que otros lo hacen menos de una vez por generación celular. Muchas de estas variaciones son debidas simplemente a diferencias en las secuencias promotoras. En ausencia de proteínas reguladoras, diferencias en las secuencias de dos promotores pueden afectar a la frecuencia del inicio de transcripción en un factor de 1.000 o más. No hay que olvidar (ver Fig. 25-5) que los promotores de *E. coli* tienen una secuencia consenso (Fig. 27-2, p. 944). Los promotores que encajan perfectamente con la secuencia consenso generalmente muestran la mayor afinidad por la RNA polimerasa y la más alta frecuencia de inicio de la transcripción. Las mutaciones que cambian un par de bases consenso por un par no consenso suelen disminuir la funcionalidad del promotor y las que cambian un par de bases no consenso por un par consenso la suelen aumentar.

**Figura 27-2** Secuencia consenso de muchos promotores de *E. coli*. N indica cualquier nucleótido. La mayoría de las sustituciones en las regiones -10 y -35 tienen un efecto negativo en la función del promotor. [Recuérdese del Capítulo 25 que, por convenio, las secuencias de DNA se muestran tal como se dan en la cadena codificante (la que no actúa como molde).]



Aunque los genes constitutivos se expresan constitutivamente, las proteínas que aquéllos codifican están presentes en cantidades muy variables. En estos genes, la interacción RNA polimerasa-promotor es el único factor que afecta al inicio de la transcripción, y las diferencias en las secuencias promotoras permiten a la célula mantener los niveles requeridos de cada proteína constitutiva.

El inicio de la transcripción en los promotores de muchos genes que no pertenecen a esta categoría está además regulado en respuesta a señales moleculares. Estos promotores muestran un nivel basal de inicio de la transcripción (determinado por la secuencia promotora), al que se superpone la regulación mediada por varios tipos de proteínas reguladoras. Estas proteínas modifican la interacción entre la RNA polimerasa y los promotores.

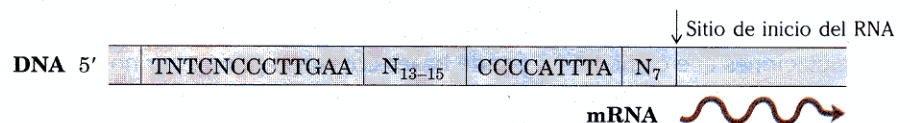
### El inicio de la transcripción se regula mediante proteínas que se unen a los promotores o cerca de ellos

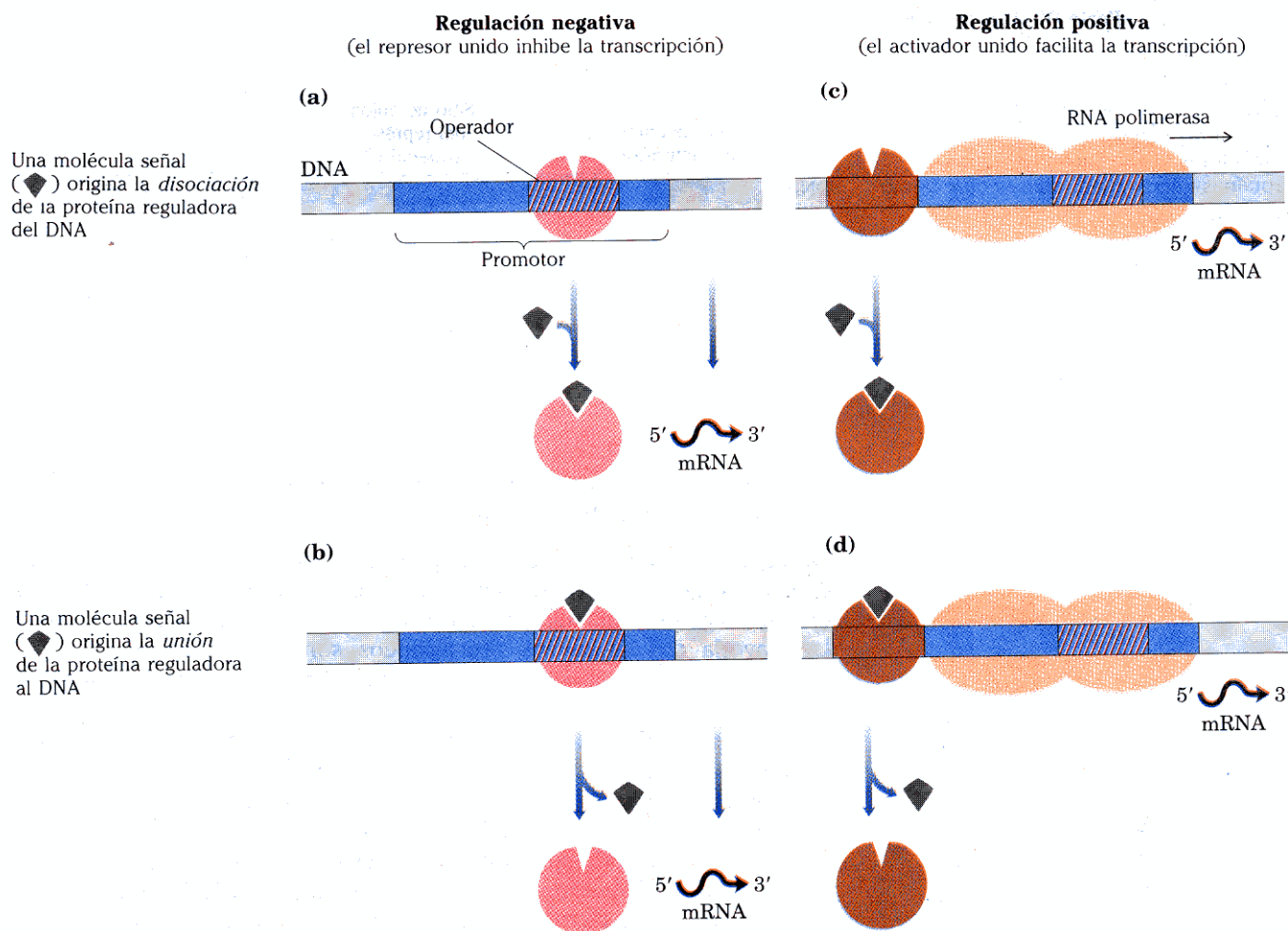
Al menos tres tipos de proteínas regulan el inicio de la transcripción por la RNA polimerasa: (1) **factores de especificidad**, que modifican la especificidad de la RNA polimerasa para un promotor determinado o grupo de promotores, (2) **represores** que, unidos a un promotor, bloquean el acceso de la RNA polimerasa, y (3) **activadores**, que se unen a zonas cercanas al promotor y aumentan la interacción RNA polimerasa-promotor.

Ya hemos hablado de los factores de especificidad procarióticos en el Capítulo 25, aunque no se les denominó así. La subunidad  $\sigma$  ( $M_r$  70.000) llamada  $\sigma^{70}$  del holoenzima de la RNA polimerasa de *E. coli* es un factor de especificidad prototípico que media en el reconocimiento y en la unión específicos del promotor. Bajo determinadas condiciones, especialmente cuando la bacteria está sometida a estrés por calor,  $\sigma^{70}$  es sustituida por otro factor de especificidad ( $M_r$  32.000) llamado  $\sigma^{32}$  (p. 862). Una vez unida a  $\sigma^{32}$ , la RNA polimerasa no se une a los promotores estándar de *E. coli* (Fig. 27-2), sino que se dirige hacia un grupo especializado de promotores cuya estructura secuencial se muestra en la Figura 27-3. Los promotores modulan la expresión de una serie de genes responsables de la respuesta al choque térmico. La modificación de la RNA polimerasa para dirigirla hacia diferentes promotores es uno de los mecanismos por los que una serie de genes relacionados pueden ser regulados coordinadamente. A lo largo de este capítulo se tratarán otros mecanismos de regulación.

Los represores se unen a sitios específicos del DNA. En procariotas los sitios de unión para represores se denominan **operadores**. Los operadores están generalmente situados cerca y a menudo solapados con el promotor de tal modo que la unión de la RNA polimerasa, o su movimiento a lo largo del DNA después de su unión, se bloquean siempre que el represor esté presente. La regulación mediante una proteína represora que se une al DNA

**Figura 27-3** Secuencia consenso de los promotores que regulan la expresión de los genes implicados en la respuesta frente al choque térmico en *E. coli*. Este sistema responde frente al incremento de temperatura, al igual que frente a otras condiciones ambientales, e implica la inducción de la expresión de una serie de proteínas. La unión de la RNA polimerasa a los promotores de este sistema está mediada por una subunidad del enzima especializada,  $\sigma^{32}$ , que reemplaza a la subunidad  $\sigma^{70}$ .



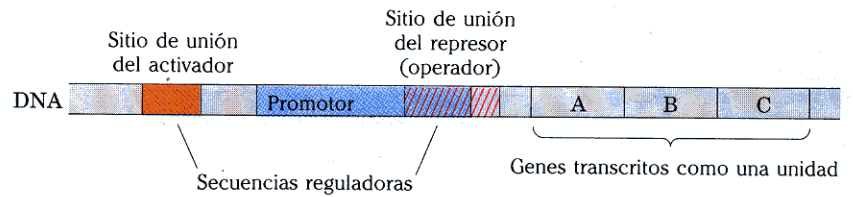


bloqueando la transcripción se denomina **regulación negativa**. La unión del represor está regulada mediante una señal molecular, generalmente una molécula pequeña y específica que se une al represor, induciéndole un cambio conformacional. La interacción entre el represor y la molécula señal puede provocar tanto un aumento como una disminución de la transcripción. En algunos casos el cambio conformacional origina la disociación del represor unido al DNA del operador (Fig. 27-4a). De este modo, el inicio de la transcripción puede proceder libremente. En otros casos, la interacción entre un represor inactivo y la molécula señal provoca la unión del represor al operador (Fig. 27-4b).

Los activadores ofrecen una alternativa molecular a los represores. La regulación mediada por un activador se denomina **regulación positiva**. Los activadores se unen a sitios adyacentes al promotor reforzando tanto la unión como la actividad de la RNA polimerasa en ese promotor. Los sitios de unión para los activadores se encuentran a menudo adyacentes a promotores que normalmente se unen débilmente, o no se unen en absoluto a la RNA polimerasa. Por lo tanto, la transcripción de estos genes es generalmente insignificante en ausencia de activador. Algunas veces, el activador está unido normalmente al DNA y se disocia al unirse a la molécula señal, frecuentemente una pequeña molécula específica u otra proteína (Fig. 27-4c). Cuando está unida al DNA, la proteína activadora facilita la unión de la RNA polimerasa y aumenta la tasa de inicio de la transcripción. En otros casos, el activador no se une al DNA hasta que no se encuentra unido a una señal molecular (Fig. 27-4d). La regulación positiva es particularmente habitual en eucariotas, como veremos más adelante. Ahora nos centraremos en una unidad fundamental de expresión génica, el estudio de la cual originó gran parte de nuestro conocimiento actual sobre la regulación de la expresión génica.

**Figura 27-4** Modelos comunes de regulación del inicio de la transcripción. Se muestran dos tipos de regulación negativa. **(a)** El represor (en rojo) se une al operador en ausencia de la molécula señal; la señal origina la disociación del represor permitiendo la transcripción. **(b)** El represor se une en presencia de la señal; cuando la señal es eliminada, el represor se disocia y tiene lugar la transcripción. La regulación positiva está mediada por activadores génicos. **(c)** El activador génico (en verde) se une en ausencia de la señal molecular y la transcripción procede; cuando se añade la señal, el activador se disocia y la transcripción queda inhibida. **(d)** El activador se une en presencia de la señal; se disocia sólo cuando se elimina ésta. Hay que remarcar que regulación "positiva" y "negativa" están definidas por el tipo de proteína reguladora implicada. En ambos casos, la adición de la señal molecular incrementa o reduce la transcripción, dependiendo del efecto de la señal sobre la proteína reguladora.

**Figura 27-5** Un operón. Los genes A, B y C se transcriben en un mRNA policistrónico. Las secuencias reguladoras típicas incluyen sitios de unión para proteínas que pueden tanto activar como reprimir la transcripción a partir del promotor.



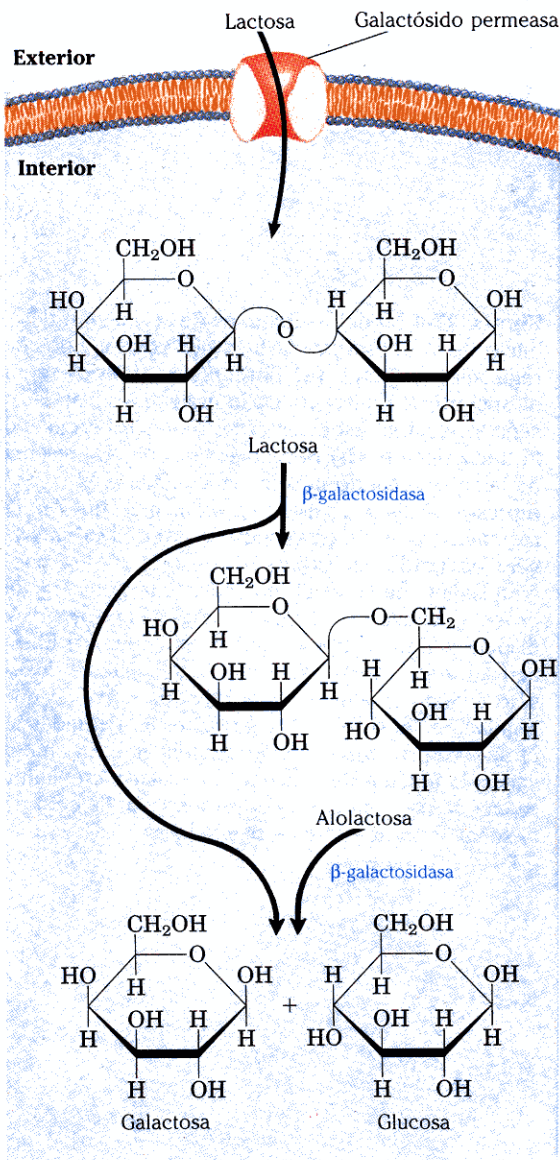
### Muchos genes procarióticos están regulados en unidades llamadas operones

Las bacterias tienen un mecanismo general simple para coordinar la regulación de los genes cuyos productos están implicados en procesos relacionados: estos genes están agrupados en el cromosoma y se transcriben juntos. La mayoría de los mRNA procarióticos son policistrónicos. El único promotor necesario para el inicio de la transcripción del grupo de genes es el punto donde se regula la expresión de todos ellos. El conjunto formado por el grupo de genes, el promotor, y las secuencias adicionales implicadas en la regulación, se denomina **operón** (Fig. 27-5). Son comunes los operones que contienen de 2 a 6 genes y que se transcriben como una unidad; algunos operones contienen 20 o más genes.

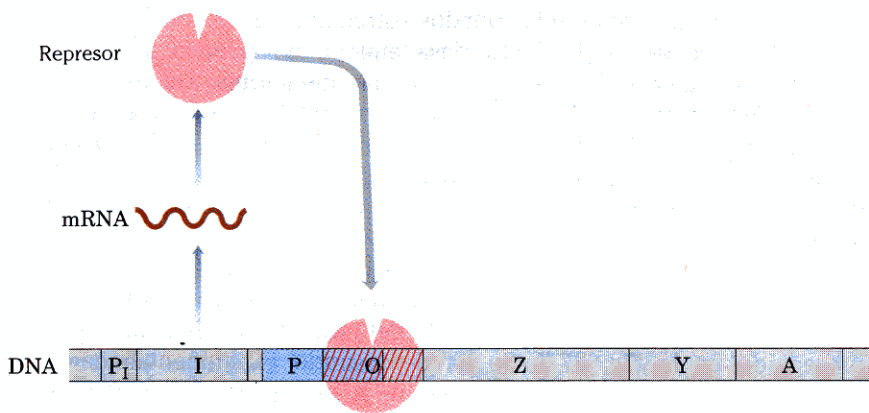
Muchos de los principios que rigen la regulación de la expresión génica en bacterias se dedujeron a partir de los estudios sobre la regulación del metabolismo de la lactosa en *E. coli*. El disacárido lactosa puede usarse como única fuente de carbono para el crecimiento de *E. coli*. En 1960, François Jacob y Jacques Monod publicaron un artículo corto en *Proceedings of the French Academy of Sciences* demostrando que dos genes implicados en el metabolismo de la lactosa estaban regulados coordinadamente mediante un elemento génico adyacente a ellos. Se trataba de los genes de la  $\beta$ -galactosidasa, que hidroliza la lactosa en glucosa y galactosa, y la galactósido permeasa, que transporta la lactosa al interior de la célula (Fig. 27-6). En este artículo se introdujeron por primera vez los términos operón y operador. El modelo de operón que surgió a partir de este estudio y posteriores permitió que los bioquímicos pudieran pensar por vez primera sobre regulación génica en términos moleculares.

### El operón *lac* está sujeto a regulación negativa

En la Figura 27-7, se muestra el modelo para la regulación de la lactosa (*lac*) deducido a partir de estos estudios; esta ilustración sigue las pautas de la Figura 27-4a. Además de los genes de la  $\beta$ -galactosidasa (*Z*) y la galactósido permeasa (*Y*), el operón incluye un gen para la tiogalactósido transacetilasa (*A*), cuya función fisiológica es desconocida. Cada uno de los genes está precedido por señales de traducción (no mostradas en la Fig. 27-7) que dirigen la unión del ribosoma y la síntesis proteica (Capítulo 26). En ausencia del sustrato lactosa, los genes del operón *lac* están



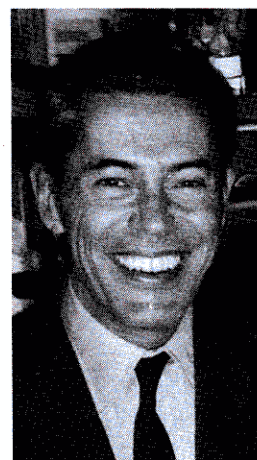
**Figura 27-6** Actividades de la galactósido permeasa y de la  $\beta$ -galactosidasa en el metabolismo de la lactosa en *E. coli*. La conversión de lactosa en alolactosa mediante transglucosilación es una reacción secundaria catalizada por la  $\beta$ -galactosidasa.



**Figura 27-7** El operón *lac* en estado reprimido. El gen I codifica el represor Lac. Los genes *lac* Z, Y y A codifican para la β-galactosidasa, la galactósido permeasa, y la transacetilasa, respectivamente. Los lugares P y O son el promotor y el operador, respectivamente, de los genes *lac*. El lugar P<sub>I</sub> es el promotor del gen I.

reprimidos, y sólo hay unas pocas copias de β-galactosidasa (unas pocas moléculas) por célula. Jacob y Monod observaron que las mutaciones en el operador o en otro gen llamado I originaban la síntesis constitutiva de los productos del operón *lac*. Cuando el gen I era defectivo, era posible restaurar la represión mediante la introducción en la célula de un gen I funcional en otra molécula de DNA. Esto demostraba que el gen I codificaba para una molécula difundible que causaba la represión génica; más tarde se demostró que esta molécula era una proteína, ahora denominada represor Lac. La represión no es absoluta. Incluso en el estado reprimido cada célula contiene unas pocas copias de β-galactosidasa y de galactósido permeasa, presumiblemente sintetizadas en las raras ocasiones en que el represor se disocia momentáneamente de su sitio de unión al DNA (el operador).

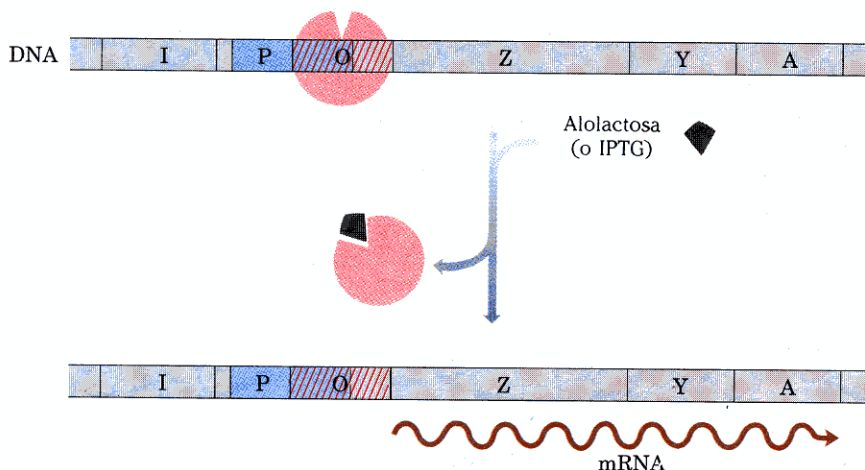
Cuando las células reciben una carga de lactosa, el operón *lac* se induce. Una molécula inductora se une a un sitio específico del represor, originándole un cambio conformacional que provoca su disociación del operador (Fig. 27-8). El inductor de este sistema no es la lactosa propiamente dicha sino un isómero de la misma llamado alolactosa (Fig. 27-6). La lactosa que entra en las células de *E. coli* se convierte en alolactosa en una reacción catalizada por las pocas copias de β-galactosidasa presentes en la célula. Acto seguido, la alolactosa se une al represor Lac. Después de la disociación del represor, los genes del operón *lac* se expresan y la concentración de β-galactosidasa aumenta en un factor de 1.000.



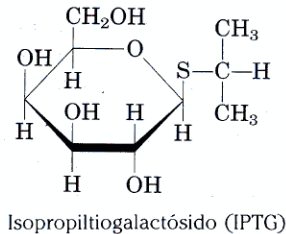
Jacques Monod



François Jacob



**Figura 27-8** Inducción del operón *lac* en respuesta a una señal molecular. El represor Lac sufre un cambio conformacional por la unión de la alolactosa. El represor se disocia del operador, permitiendo que proceda la transcripción. Otros β-galactósidos, como el isopropiltiogalactósido (IPTG), también pueden actuar como inductores.



Varios  $\beta$ -galactósidos relacionados estructuralmente con la alolactosa son inductores de la  $\beta$ -galactosidasa aunque no pueden actuar como sustratos, y algunos son sustratos pero no inductores. Un inductor del operón *lac* particularmente efectivo y no metabolizable que se usa a menudo experimentalmente es el isopropiltiogalactósido (IPTG). Estos inductores no metabolizables permiten la separación de la función fisiológica de la lactosa como fuente de carbono para el crecimiento de su función en la regulación de la expresión génica.

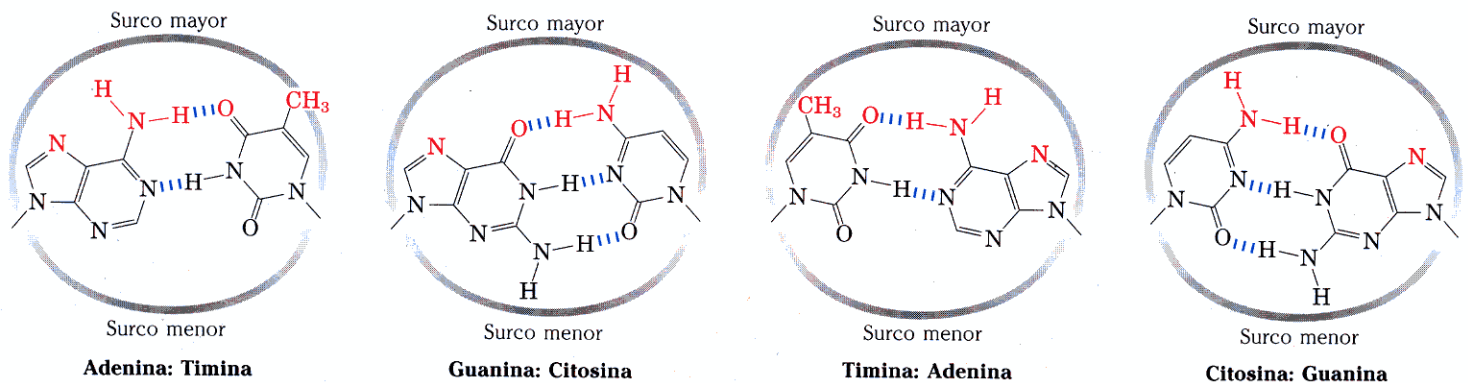
En la actualidad, se conocen muchos operones en bacterias y se han encontrado algunos en eucariotas inferiores. El mecanismo por el cual se regulan puede variar significativamente del modelo simplificado que se ha presentado en la Fig. 27-7. Se ha demostrado experimentalmente que incluso el operón *lac* es más complejo de lo que aquí indicamos, con una proteína activadora que también contribuye al esquema general. La regulación de varios operones bien estudiados, incluyendo el *lac*, se describe detalladamente más tarde. Ahora consideraremos las interacciones moleculares entre las proteínas que se unen al DNA (p. ej., represores y activadores) y las secuencias específicas de DNA a las que se fijan.

### Las proteínas reguladoras tienen dominios discretos de unión al DNA

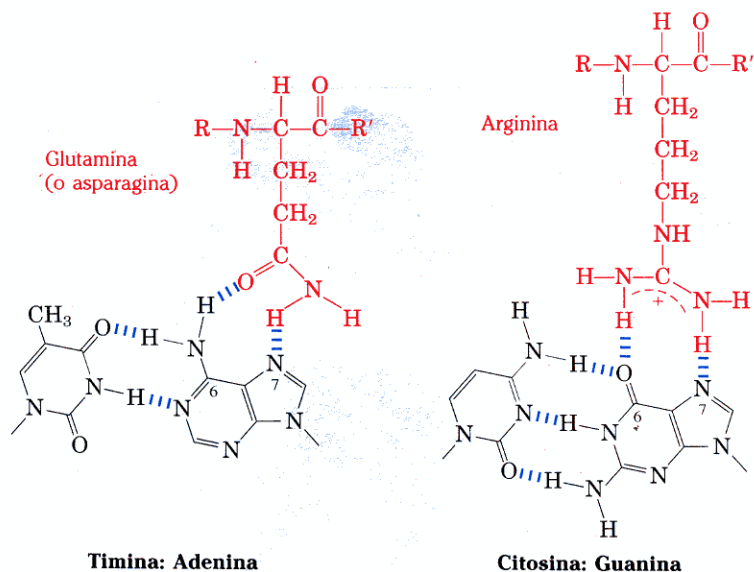
Las proteínas reguladoras se unen generalmente a secuencias de DNA específicas. También se unen al DNA de manera no específica, pero su afinidad por las secuencias diana es de  $10^5$  a  $10^7$  veces mayor. Las bases moleculares de esta discriminación han sido investigadas. Una conclusión general es que las proteínas reguladoras tienen dominios discretos de unión al DNA. Además, las subestructuras de aquellos dominios que realmente entran en contacto con el DNA pertenecen a un grupo bastante pequeño de motivos estructurales reconocibles y característicos.

Antes de examinar estas estructuras proteicas, resulta útil considerar las superficies de reconocimiento del DNA con las cuales las proteínas reguladoras han de interactuar. La mayoría de los grupos que marcan la diferencia entre una base y otra, y que por lo tanto permiten discriminar entre pares de bases, son grupos dadores y aceptores de enlace hidrógeno que se hallan expuestos en el surco mayor del DNA (Fig. 27-9). La mayoría de los contactos proteína-DNA que confieren especificidad son por lo tanto enlaces de hidrógeno. Una excepción destacable es la superficie no polar cercana al C-5 de las pirimidinas donde la timina es fácilmente distinguible de la citosina en virtud del grupo metilo protuberante de la timina (Fig. 27-9). Los contactos proteína-DNA son también posibles en el surco menor del DNA, pero los enlaces de hidrógeno aquí presentes no permiten una fácil discriminación entre diferentes pares de bases.

**Figura 27-9** Grupos funcionales de las bases en el surco mayor del DNA. Los grupos que pueden ser utilizados en el reconocimiento de pares de bases se muestran en rojo para los cuatro pares.





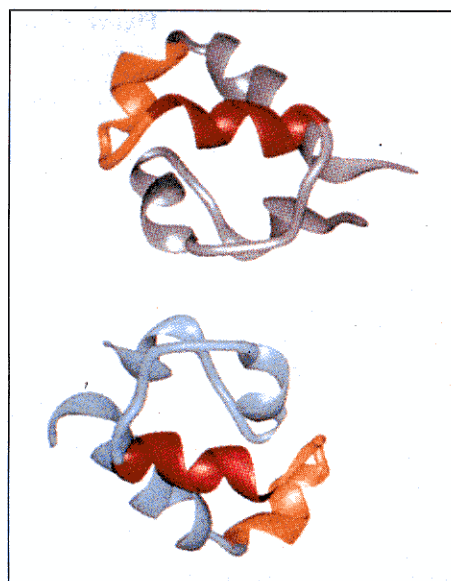


**Figura 27-10** Dos ejemplos de interacciones entre un aminoácido específico y un par de bases, observados en estructuras de proteínas reguladoras que se unen al DNA.

Por lo que respecta a las propias proteínas reguladoras, los residuos aminoácidos cuyas cadenas laterales se encuentran más frecuentemente formando enlaces hidrógeno con las bases del DNA son Asn, Gln, Glu, Lys, y Arg. ¿Existe un “código de reconocimiento” simple según el cual un aminoácido se encuentra siempre apareado con una base determinada? Los dos enlaces hidrógeno que se pueden formar entre Gln o Asn y las posiciones N<sup>6</sup> y N-7 de la adenina (Fig. 27-10) originan un patrón que no se puede dar con ninguna otra base. Un residuo Arg puede, de modo similar, formar dos enlaces hidrógeno con el N-7 y con el O<sup>6</sup> de la guanina (Fig. 27-10). Sin embargo, el examen de la estructura de muchas proteínas que se unen al DNA ha demostrado que existen muchas maneras por las que una proteína puede reconocer una base, y que no hay un código simple. La interacción Gln-adenina reconoce específicamente el par de bases A=T en algunos casos, mientras que otras proteínas reconocen el par de bases A=T mediante un bolsillo de van der Waals en el que encaja el grupo metilo de la timina. Todavía no puede examinarse la estructura de una proteína que se une al DNA y deducir la secuencia de DNA a la que se une.

Los dominios de unión al DNA de las proteínas reguladoras tienden a ser pequeños (de 60 a 90 residuos aminoácidos). Sólo una pequeña parte de los aminoácidos pertenecientes a esos dominios contacta realmente con el DNA, y la estructura de la proteína en la región donde están estos aminoácidos no es al azar. Se han encontrado dos motivos estructurales en numerosas proteínas reguladoras que desempeñan un papel principal en la unión al DNA: el motivo **hélice-giro-hélice** y los **dedos de zinc**. Se ha encontrado otro tipo de dominios de unión al DNA en algunas proteínas, aunque aquí nos centraremos en los citados ejemplos bien estudiados.

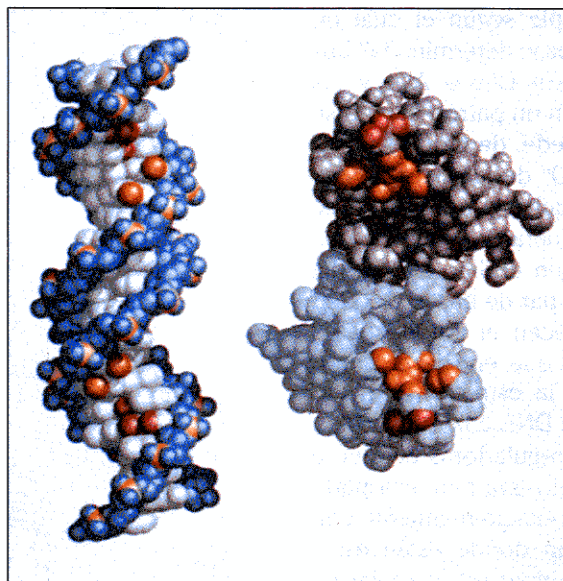
**La hélice-giro-hélice** Este motivo de unión al DNA fue el primero que se estudió en detalle. Constituye la base física de muchas interacciones proteína-DNA en muchas proteínas reguladoras procarióticas. También se han observado motivos de unión al DNA bastante relacionados en algunas proteínas reguladoras eucarióticas. El motivo hélice-giro-hélice está formado por dos segmentos cortos de hélice- $\alpha$  de 7 a 9 residuos de longitud, separados por un giro  $\beta$  (unos 20 aminoácidos en total). Esta estructura no es generalmente estable por sí misma, aunque representa la porción “reactiva” del dominio de unión al DNA. Una de las dos hélices  $\alpha$  es conocida como la hélice de reconocimiento, porque generalmente contiene muchos de los aminoácidos que interactúan con el DNA; esta hélice se sitúa sobre el surco mayor. La proteína represora Cro del bacteriófago 434 (un pariente cercano de bacteriófago  $\lambda$ ) es un buen ejemplo (Fig. 27-11).



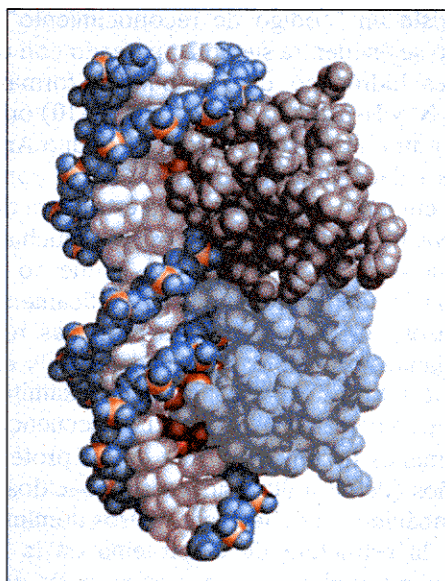
(a)



(b)



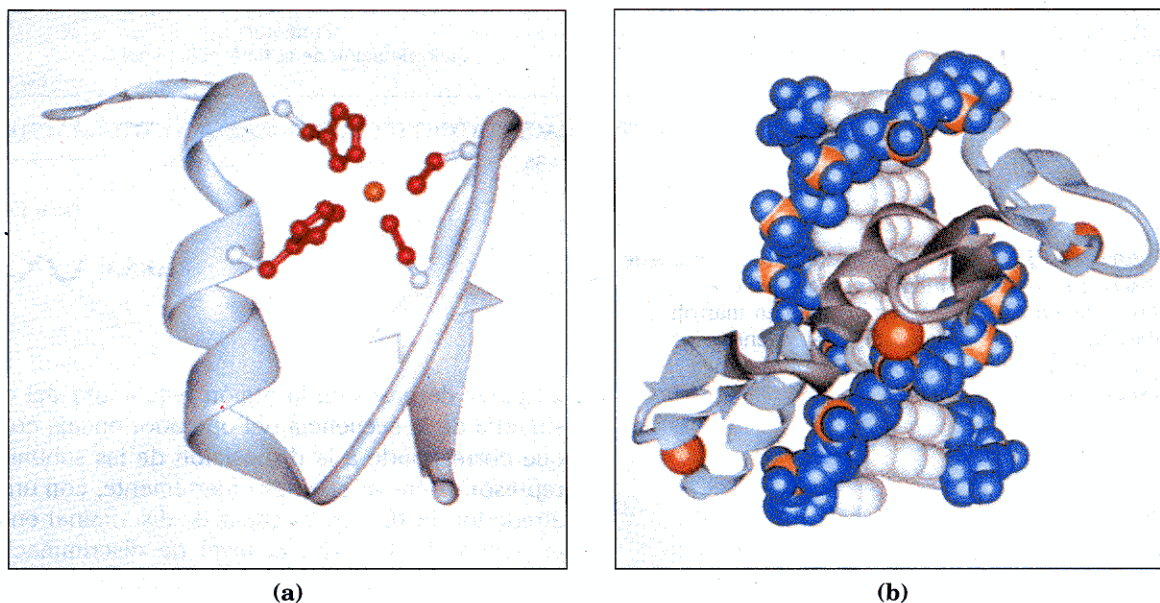
(c)



(d)

**Figura 27-11** Represor Cro del bacteriófago 434 y su interacción con el DNA. Cada subunidad de esta proteína dimérica contiene 71 aminoácidos. En **(a)** y en **(b)** se presenta en diagrama de cintas, solo y formando un complejo con su sitio específico de unión al DNA. Las dos subunidades se muestran en gris y azul celeste, excepto en el motivo hélice-girohélice en el que se muestran en rojo y amarillo. Las hélices rojas son de reconocimiento y se sitúan adyacentes a los surcos mayores del DNA, como se muestra en **(b)**. En **(c)** y en **(d)** se muestran las interacciones entre la proteína y el DNA que permiten a este represor discriminar entre su sitio específico de unión al DNA (aquí mostrado) y otras secuencias de DNA. Las subunidades proteicas se muestran en gris y azul celeste; los grupos químicos, tanto del DNA como de la proteína, que interactúan mediante enlaces de hidrógeno o interacciones de van der Waals (hidrofóbicas), están

en rojo y naranja. La discriminación está mediada por interacciones entre cada subunidad proteica y cuatro bases (el sitio de unión al DNA es un palíndromo, y las interacciones son las mismas para las dos subunidades). Se forman una serie de enlaces de hidrógeno entre el residuo Gln y los N<sup>6</sup> y N-7 de una adenina (ver Fig. 27-10); se forma otro enlace de hidrógeno entre el O<sup>6</sup> de una guanina y otra Gln. Además, bolsillos de van der Waals de cada subunidad se unen a los C-5 de los grupos metilo de dos timinas adyacentes. Los grupos que interactúan complementariamente se pueden observar en **(c)**, y el complejo en **(d)**. También hay muchos contactos inespecíficos (no mostrados) entre las proteínas y el DNA de este complejo. Éstos no contribuyen a discriminar entre secuencias de DNA, pero sí a la afinidad total por el DNA. Cabe destacar que aquí el DNA se encuentra ligeramente curvado cuando está unido (ver Fig. 27-16).



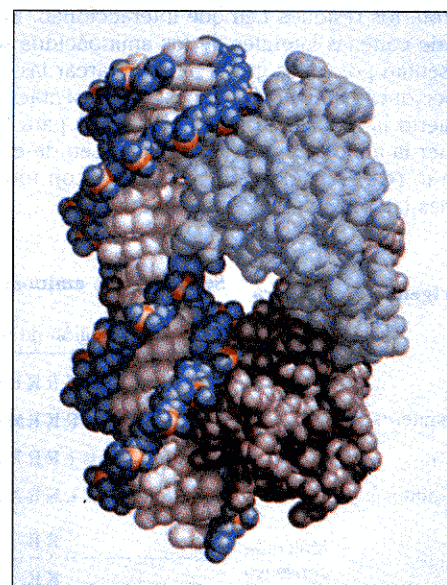
**Figura 27-12** Dedos de zinc. **(a)** Representación en cinta de un único dedo de zinc derivado de la proteína reguladora Zif 268. El átomo de zinc se muestra en naranja y los residuos aminoácidos que lo coordinan (dos His y dos Cys) se muestran en rojo. **(b)** Se muestran tres dedos de zinc de Zif 268 (en azul celeste y en gris) formando complejo con el DNA. De nuevo, se muestran los átomos de zinc en naranja.

**El dedo de zinc** Los dedos de zinc consisten en unos 30 residuos aminoácidos; cuatro de ellos, bien sea cuatro Cys o dos Cys y dos His, coordinan un único átomo de  $Zn^{2+}$  (Fig. 27-12). Este motivo estructural se encuentra en muchas proteínas eucarióticas que se unen al DNA, encontrándose frecuentemente varios en una misma proteína. No hay prácticamente ejemplos conocidos entre proteínas procarióticas. El bacteriófago T4 tiene una proteína, la proteína del gen 32, que une DNA monohebra. Ésta tiene un único átomo de zinc en el interior de una estructura que puede ser similar a la de los dedos de zinc. Una proteína que se une al DNA de la rana *Xenopus* ostenta aparentemente el récord de contener 37 dedos de zinc. La forma exacta por la que las proteínas que contienen dedos de zinc se unen al DNA podría variar de una proteína a otra. En algunos casos estas estructuras contienen los residuos aminoácidos implicados en la discriminación de secuencias; en otros casos, los dedos de zinc parecen unirse al DNA inespecíficamente, y los aminoácidos requeridos para la especificidad se encuentran en otra región de la proteína. En la Figura 27-12b se muestra la interacción de tres dedos de zinc (derivados de una proteína reguladora de ratón llamada Zif 268) con el DNA. Debe comentarse aquí que algunas proteínas reguladoras contienen zinc unido en estructuras que son distintas a las de los dedos de zinc.

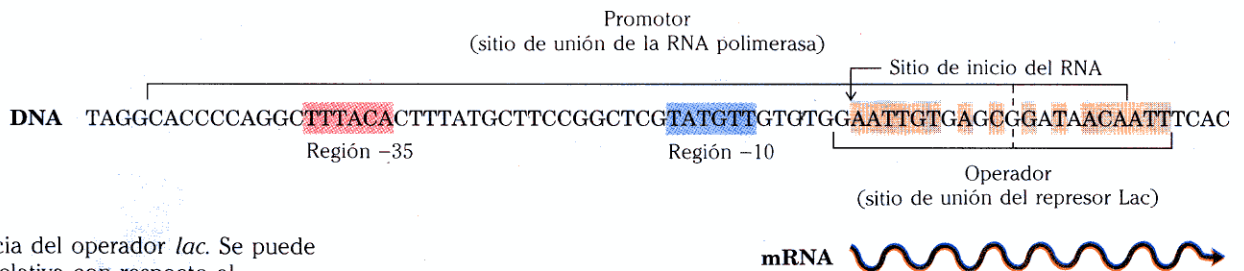
### Las proteínas reguladoras también interactúan con otras proteínas

Las proteínas reguladoras contienen generalmente dominios adicionales que están implicados en la interacción con la RNA polimerasa, otras proteínas reguladoras, o copias adicionales de la misma proteína reguladora (Fig. 27-13). Los sitios de unión de proteínas reguladoras al DNA son generalmente repeticiones invertidas de una secuencia corta de DNA (un palíndromo) a la cual se unen cooperativamente dos o cuatro copias de la proteína reguladora, como se muestra en las Figuras 27-11 y 27-13.

El represor Lac es un tetrámero de unidades idénticas ( $M_r$  37.000). Una célula de *E. coli* de tipo salvaje contiene generalmente unas diez copias del represor Lac. El gen *i* se transcribe a partir de su propio promotor independientemente de los genes del operón *lac* (Fig. 27-7). El represor se une a una secuencia operadora palindrómica que se extiende a lo largo de



**Figura 27-13** Represor del bacteriófago  $\lambda$  unido al DNA. Las dos subunidades idénticas de la proteína dimerica se muestran en gris y en azul celeste.



**Figura 27-14** Secuencia del operador *lac*. Se puede observar su posición relativa con respecto al promotor *lac*. Las bases sombreadas en marrón muestran la doble simetría de plegamiento (palindrómica) en el eje indicado por la línea discontinua.

22 pares de bases en la región reguladora del operón *lac* (Fig. 27-14). La simetría de la secuencia del operador encaja con el eje binario de simetría que corresponde a la disposición de las subunidades del represor Lac. El represor se une al operador fuertemente, con una constante de disociación alrededor de  $10^{-13}$  M. Es capaz de discriminar entre él y otras secuencias en un factor de  $4 \times 10^6$ , el nivel de discriminación requerido para que el represor localice y se una específicamente a esos 22 pares de bases entre los aproximadamente 4,7 millones del cromosoma de *E. coli*. La unión al DNA está mediada por un motivo hélice-giro-hélice del dominio de unión al DNA en cada subunidad del represor.

Muchas otras proteínas reguladoras se unen al DNA en forma de dímeros, incluyendo muchos activadores génicos eucarióticos denominados **factores de transcripción**. Además de los dominios de unión al DNA (los cuales contienen generalmente dedos de zinc), muchos factores de transcripción contienen dominios estructurales dedicados a las interacciones proteína-proteína implicadas en la formación de dímeros (estos dímeros consisten en proteínas idénticas o muy relacionadas, como se describe posteriormente). La formación del dímero es generalmente un requisito previo para la unión al DNA. Al igual que los motivos de unión al DNA, los motivos estructurales implicados en interacciones proteína-proteína tienden a clasificarse en uno de los diversos modelos comunes y reconocibles. Dos motivos estructurales de este tipo que han sido bien caracterizados son la **cremallera de leucina** y el motivo **hélice-lazo-hélice básico**.

**Figura 27-15** Cremalleras de leucina. **(a)** Comparación de las secuencias de aminoácidos (mostradas aquí usando el código de una única letra) de varias proteínas con cremalleras de leucina. Obsérvese que los residuos Leu (L) se dan cada siete residuos en la región de dimerización, y el número de residuos Lys (K) y Arg (R) en el dominio de unión al DNA. **(b)** Una cremallera de leucina de la proteína activadora GCN4 de levadura. Sólo se muestran las hélices  $\alpha$  "en cremallera" (blanco y azul celeste) derivadas de las diferentes subunidades de la proteína dimerica. En rojo y en azul oscuro se muestran los residuos Leu que interactúan. El resto de cadenas laterales de los aminoácidos se representan por bolas grises para remarcar las interacciones Leu-Leu. **(c)** En esta representación se ha abierto la cremallera mostrada en **(b)** para exponer la alineación de los residuos Leu de cada hélice  $\alpha$ . **(d)** Cremallera de Leu de **(b)** con todas las cadenas laterales de los aminoácidos.

**La cremallera de leucina** Este motivo consiste en una hélice  $\alpha$  anfipática con aminoácidos hidrofóbicos concentrados en un lado (Fig. 27-15). La superficie hidrofóbica es el punto de contacto entre dos proteínas que constituyen un dímero. Una característica diferencial de estas hélices  $\alpha$  es la abundancia de residuos Leu; éstos suelen estar situados cada siete aminoácidos, lo que tiene el efecto de ordenarlos en una línea recta en el lado hidrofóbico de la hélice  $\alpha$  (Fig. 27-15). Uno de los primeros modelos

Origen	Proteína reguladora	Secuencia de aminoácidos
		<div style="display: flex; justify-content: space-around; font-size: small;"> <span>Región de unión al DNA</span> <span>Conector de 6 aminoácidos</span> <span>Cremallera de leucina</span> </div>
Mamíferos	C/EBP	DKNSNEYRVRRRERNNI AVRKSRDKAKQRNVETQQKVLELTSDNDRLRKRVEQLSRELDTLRG-
	JUN	SQERIKAEKRMRNRRIAASKCRKRKLERIARLEEKVKTLKAQNSELASTANMLTEQVAQLKQ-
	FOS	EERRRIRRI RRRERNKMAAAKCRNRRELDTLQAETDQLEDKKSALQTEIANLLKEKEKLEF-
Levadura	GCN4	PESSDPAALKRARNTTEAARRSRARKLQRMKQLEDKVEELLSKNYHLENEVARLKKLVGER
	Molécula consenso	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">RR</div> <div style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">R</div> <div style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">N</div> <div style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">R</div> <div style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">R</div> <div style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">RR</div> <div style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">L</div> <div style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">L</div> <div style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">L</div> <div style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">L</div> <div style="border: 1px dashed black; padding: 2px;">L</div> </div>
		Asn invariante

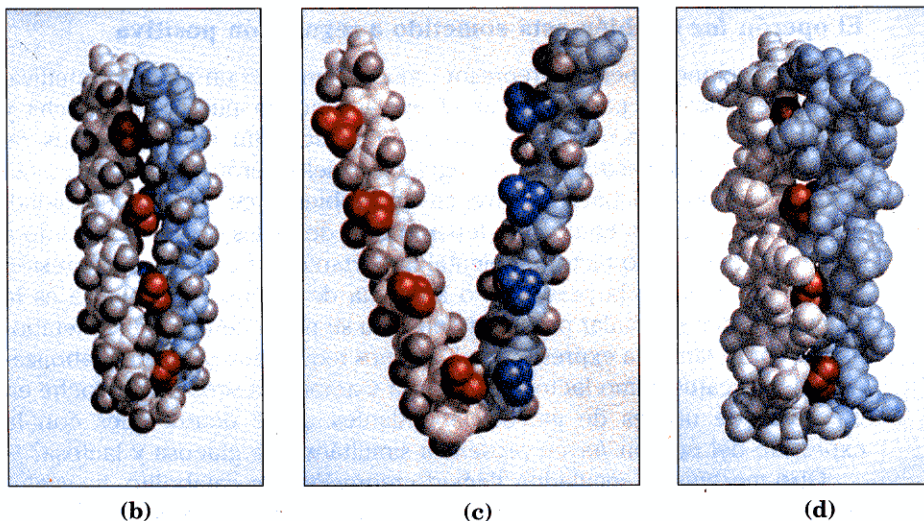
(a)

hipotetizaba que las interacciones proteína-proteína entre estas hélices se originaban por la interdigitación de residuos Leu, de ahí el nombre de "cremallera de leucina". Ahora se sabe que los residuos Leu de las dos proteínas se colocan uno al lado del otro, y que las hélices  $\alpha$  que interactúan se enrollan una sobre otra, como se muestra en la Figura 27-15b. En las proteínas reguladoras que contienen cremalleras de leucina, el dominio de unión al DNA se encuentra generalmente en una extensión de la hélice  $\alpha$  de la cremallera de leucina que contiene una alta concentración de residuos básicos (Arg, Lys). Estos motivos estructurales se encuentran en una amplia variedad de proteínas reguladoras eucarióticas, y también se han descrito unos cuantos ejemplos en proteínas procarióticas.

**El motivo hélice-lazo-hélice básico** Un segundo grupo de proteínas reguladoras eucarióticas, muchas de las cuales están implicadas en el control de la expresión génica que dirige el desarrollo de organismos multicelulares, comparte una región de unos 50 aminoácidos que incluye los determinantes tanto para la unión al DNA como para la dimerización. Esta región puede formar dos cortas hélices  $\alpha$  anfipáticas unidas por un "lazo" de tamaño variable. El motivo hélice-lazo-hélice (diferente del motivo hélice-giro-hélice asociado a la unión al DNA) de una proteína interactúa con su copia en otra proteína para formar dímeros. Otra vez, la unión al DNA está mediada por una corta extensión de aminoácidos, rica en residuos básicos, que se sitúa inmediatamente adyacente al motivo hélice-lazo-hélice.

En estas dos clases de factores de transcripción eucarióticos se han definido varias familias que están estrechamente relacionadas en un sentido estructural. Dentro de las familias, los dímeros se forman entre dos proteínas idénticas (un homodímero) o entre dos miembros diferentes de una misma familia (un heterodímero). Una hipotética familia de cuatro proteínas con cremalleras de leucina debería por lo tanto formar hasta diez especies diméricas diferentes. En muchos casos, las diferentes combinaciones parecen tener diferentes propiedades reguladoras y funcionales.

Además de los dominios estructurales que intervienen en la unión al DNA y en la dimerización (u oligomerización), muchas proteínas reguladoras interactúan con la RNA polimerasa y/o con otras proteínas reguladoras no relacionadas. Se han caracterizado como mínimo tres tipos diferentes de dominios adicionales para la interacción proteína-proteína: (1) ricos en glutamina, (2) ricos en prolina, y (3) dominios ácidos; los nombres hacen referencia a los residuos atípicamente abundantes. El mecanismo por el cual estas tres estructuras median en la interacción proteína-proteína es



poco conocido. Más adelante en este capítulo se ampliará la información sobre los diversos motivos estructurales de unión a DNA y de interacción proteína-proteína con la ayuda de ejemplos específicos.

Ahora nos centraremos en una descripción más detallada de los esquemas reguladores utilizados por varios sistemas genéticos, tanto procarióticos como eucarióticos. Las simples interacciones proteína-DNA se transforman en los complejos circuitos reguladores tan importantes para prácticamente todas las funciones celulares.

## Regulación de la expresión génica en procariontes

Al igual que ocurre en muchas otras áreas, el estudio de la regulación de la expresión génica avanzó antes y con mayor rapidez en bacterias que en otros organismos experimentales. Los ejemplos sobre regulación génica en bacterias que aquí mostramos están escogidos entre una serie de sistemas bien estudiados, debido en parte a su significación histórica, aunque sobre todo porque constituyen un buen ejemplo de la variedad de mecanismos reguladores empleados en bacterias. Se ha demostrado que muchos de los conocimientos deducidos a partir de sistemas bacterianos son también aplicables a la regulación de la expresión génica en eucariotas.

Los operones lactosa, arabinosa y triptófano constituyen un buen ejemplo de un grupo representativo de proteínas reguladoras, aunque sus mecanismos reguladores sean muy distintos. Un breve tratamiento de la respuesta SOS en *E. coli* constituye un importante ejemplo de un sistema en el que muchos genes dispersos por todo el genoma están regulados coordinadamente. En el sistema del bacteriófago  $\lambda$  aparece un nuevo nivel de complejidad. En este sistema, el circuito regulador permite decidir a nivel molecular entre dos destinos biológicos distintos y es un buen modelo de puesta en marcha controlada del desarrollo.

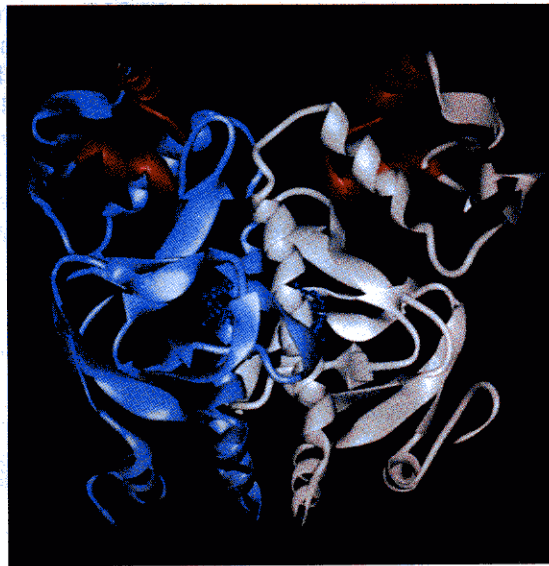
Los dos últimos sistemas que describiremos presentan importantes diferencias con respecto al enfoque mostrado hasta ahora de proteínas reguladoras que se unen al DNA, y nos ayudarán a ilustrar la diversidad de mecanismos de regulación génica. La regulación de la síntesis de proteínas ribosómicas no se centra en la transcripción sino en la traducción; muchas de las proteínas que coordinan la síntesis de proteínas ribosómicas se unen al RNA en lugar de al DNA. La regulación de la variación de fase en *Salmonella* es un ejemplo de otro mecanismo de regulación: el control del inicio de la transcripción por recombinación génica.

Para empezar, volveremos al operón *lac*.

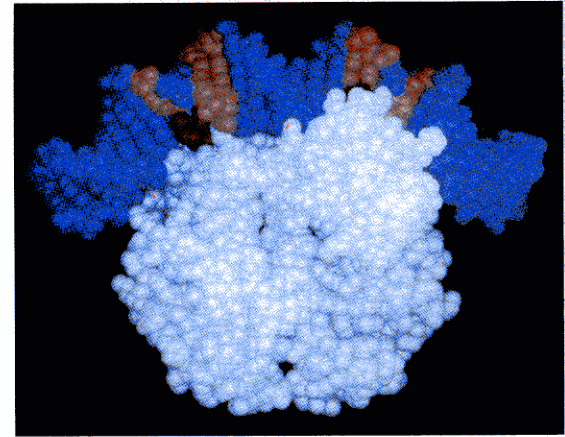
### El operón *lac* también está sometido a regulación positiva

Las interacciones operador-represor-inductor ofrecen un modelo intuitivamente satisfactorio para explicar el mecanismo de puesta en marcha y parada en la regulación de la expresión génica. Sin embargo, años de investigación demuestran que la regulación del operón raramente es tan simple. Incluso una bacteria vive en un ambiente de gran complejidad, demasiado complejo como para tener grupos de genes sensibles tan sólo a una única señal. Otro factor ambiental importante que afecta a la expresión de los genes *lac* es la presencia o ausencia de glucosa. La glucosa es la fuente de energía celular preferida debido a su papel central en el metabolismo. Por lo tanto, la expresión de los genes requeridos para la metabolización de azúcares como lactosa, galactosa y arabinosa sería un derroche en presencia de niveles de glucosa abundantes. ¿Qué ocurre pues con la expresión del operón *lac* en presencia simultánea de glucosa y lactosa?

Otro mecanismo regulador, llamado represión por catabolito, ha evolucionado para mantener reprimidos los genes implicados en el catabolismo



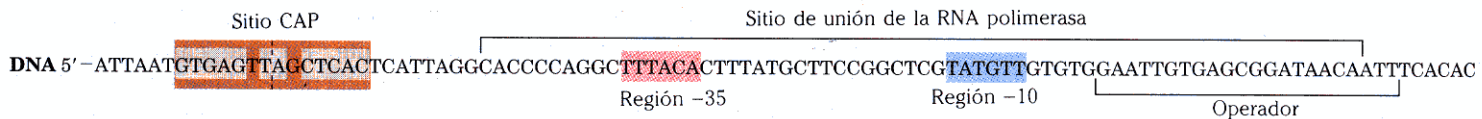
(a)



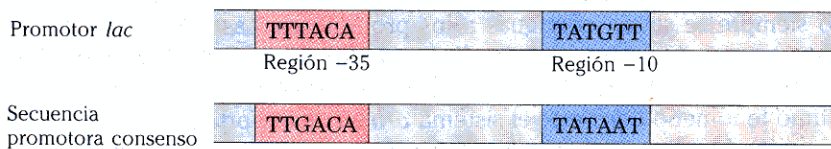
(b)

**Figura 27-16** Estructura tridimensional del homodímero CAP. **(a)** Representación en cinta en la que las subunidades se muestran en blanco y azul celeste. En rojo se muestra el motivo de unión al DNA hélice-giro-hélice. En azul oscuro se muestran las moléculas de cAMP unidas. **(b)** Representación completa de un homodímero CAP unido a DNA. Los pares de bases reconocidos por la proteína se muestran en verde, y las cadenas laterales de los aminoácidos que se unen a estos pares de bases, en rojo. Obsérvese la curvatura del DNA alrededor de la proteína.

de la lactosa, arabinosa y otros azúcares en presencia de glucosa, incluso cuando estos azúcares secundarios también están presentes. El efecto represor de la glucosa está mediado por el cAMP y una proteína llamada **proteína activadora del catabolito**, abreviada **CAP**. La CAP es un homodímero (subunidad de  $M_r$  22.000) con sitios de unión para el DNA y el cAMP. La unión está mediada por un motivo hélice-giro-hélice en el dominio de unión al DNA de la proteína (Fig. 27-16). En ausencia de glucosa, la CAP se une a un lugar específico cercano al promotor *lac* (Fig. 27-17a) incrementando la transcripción del RNA 50 veces. Por lo tanto, la CAP es un elemento de regulación positiva sensible a los niveles de glucosa, mientras que el represor Lac es un elemento de regulación negativa sensible a los niveles de lactosa. Los dos actúan simultáneamente; la CAP tiene poco efecto en el sistema cuando el represor Lac bloquea la transcripción, y la disociación del represor del operador tiene poco efecto si la CAP no está presente para facilitar la transcripción. La estimulación por la CAP es necesaria debido a que el promotor *lac* salvaje es un promotor relativamente débil (Fig. 27-17b); el complejo abierto formado por la RNA polimerasa y el promotor (Fig. 25-6) no se forma a menos que la CAP esté presente.



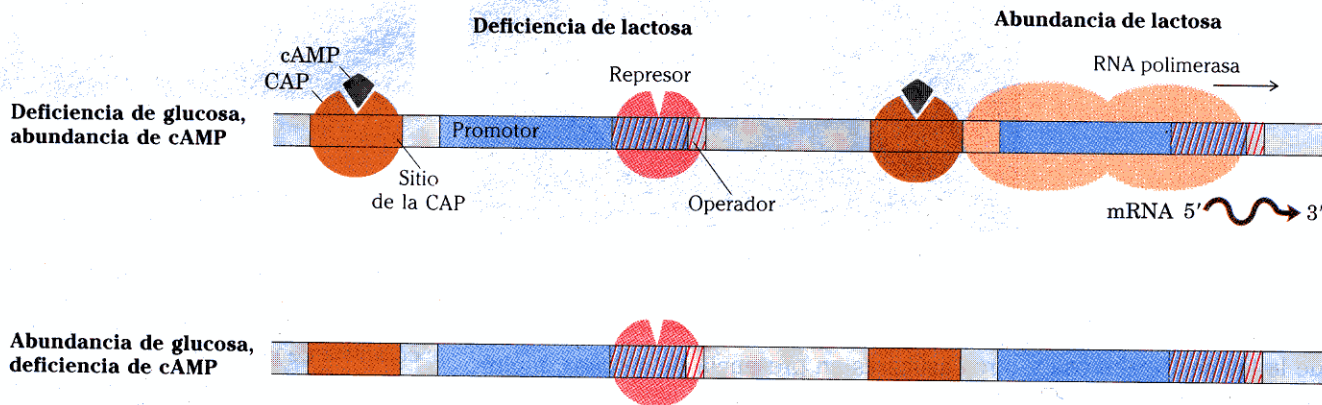
(a)



(b)

**Figura 27-17** Activación de la transcripción del operón *lac* por la CAP. El sitio de unión para la CAP está próximo al promotor **(a)**. Como en el caso del operador *lac*, el sitio para la CAP tiene un eje doble de simetría (bases sombreadas en marrón) en la línea discontinua. **(b)** Secuencia del promotor *lac* comparada con la secuencia consenso de promotores. Las diferencias originan una unión relativamente más débil de la RNA polimerasa al promotor *lac* y la correspondiente necesidad de activación por CAP.

El efecto de la glucosa sobre la CAP está mediado por el cAMP (Fig. 27-18). La unión de la CAP se da cuando las concentraciones de cAMP son altas y el sitio de unión del cAMP está ocupado. En presencia de glucosa, la concentración de cAMP disminuye, impidiendo la unión de la CAP y, por lo tanto, disminuyendo la expresión del operón *lac*. De este modo, para que se dé una fuerte inducción del operón se requieren tanto la presencia de lactosa (para inactivar el represor) como la ausencia o baja concentración de glucosa (para incrementar la concentración de cAMP y facilitar la unión de la CAP).



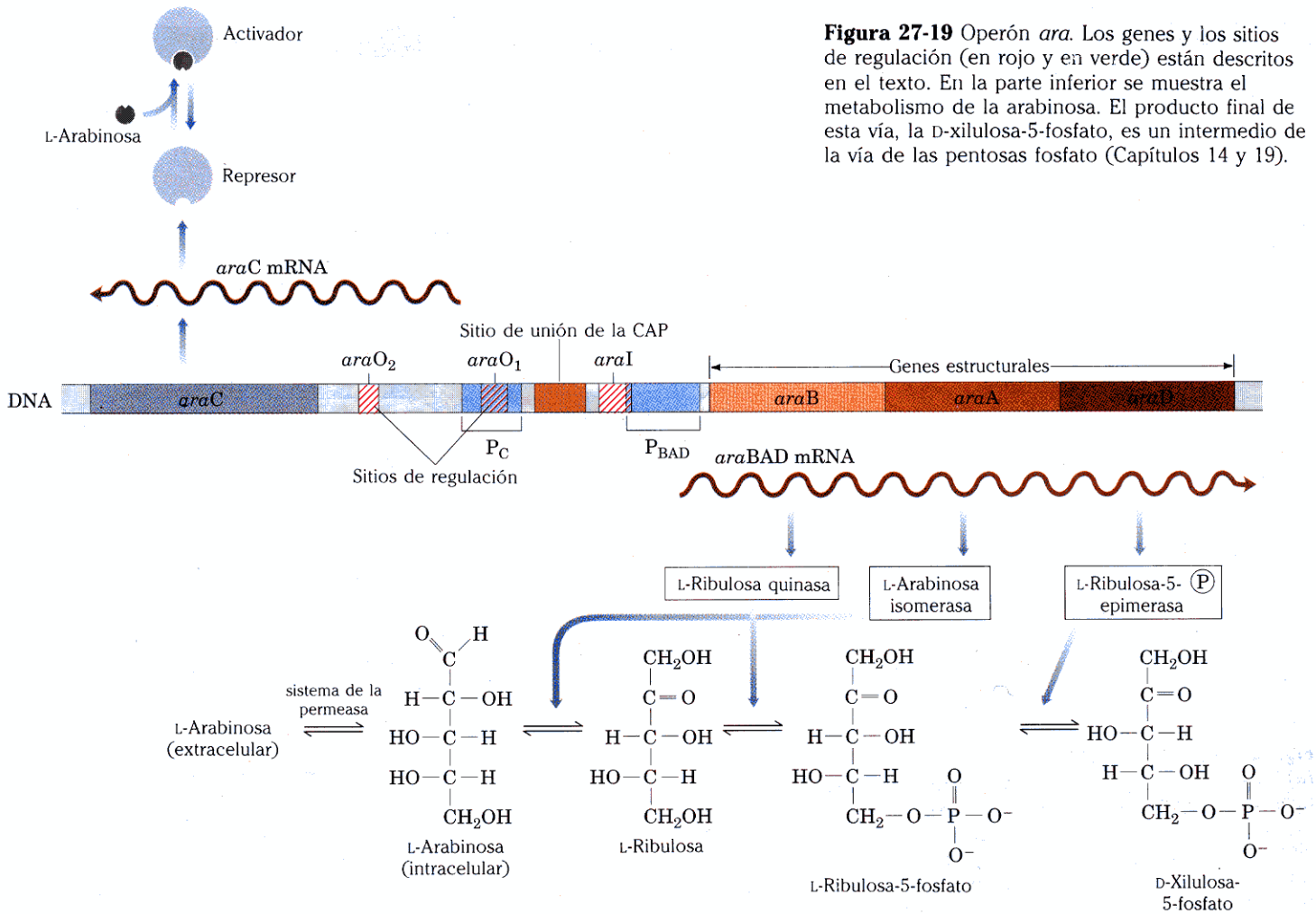
**Figura 27-18** Efectos combinados de la glucosa y la lactosa en la expresión del operón *lac*. Sólo se da una transcripción eficiente cuando la concentración de lactosa es alta y la de glucosa baja.

La CAP y el cAMP están implicados en la regulación coordinada de muchos operones, principalmente de aquellos que codifican para enzimas del metabolismo de otros azúcares secundarios como la galactosa y la arabinosa. Esta red de operones con un regulador común se denomina **regulón**. Los regulones ofrecen un mecanismo para llevar a cabo grandes cambios sincronizados en las funciones celulares en respuesta a cambios ambientales, y pueden controlar la acción de cientos de genes. Otros ejemplos de regulones son el sistema génico de choque térmico, sensible a cambios en la temperatura (p. 944), y los genes que se inducen en *E. coli* como parte de la respuesta SOS frente a los agentes que producen lesiones en el DNA, descritos posteriormente en este capítulo.

### El operón *ara* está sometido tanto a regulación positiva como negativa mediante una única proteína reguladora

Un esquema de regulación más complejo se encuentra en el operón arabinosa (*ara*) de *E. coli*. Este sistema introduce varios mecanismos reguladores adicionales. En primer lugar, una única proteína puede efectuar un control positivo y negativo simultáneamente. En este caso la proteína reguladora es la proteína AraC, y la unión a una molécula señal modifica su conformación, desde una forma represora que se une a una secuencia de DNA reguladora, hasta un activador que se une a una secuencia de DNA diferente. En segundo lugar, la proteína AraC regula su propia síntesis mediante la represión de la transcripción de su gen. Este fenómeno se denomina **autorregulación**. Finalmente, los efectos de algunas secuencias de DNA reguladoras pueden ejercerse a distancia; es decir, estas secuencias no siempre se sitúan contiguas a los promotores. Las secuencias de DNA distantes pueden acercarse mediante la **formación de lazos de DNA**, gracias a interacciones específicas proteína-proteína y proteína-DNA. Este último fenómeno convierte el sistema *ara* en un importante paradigma para la expresión génica en eucariotas, en la que es bastante común la regulación mediante secuencias relativamente distantes en el DNA.

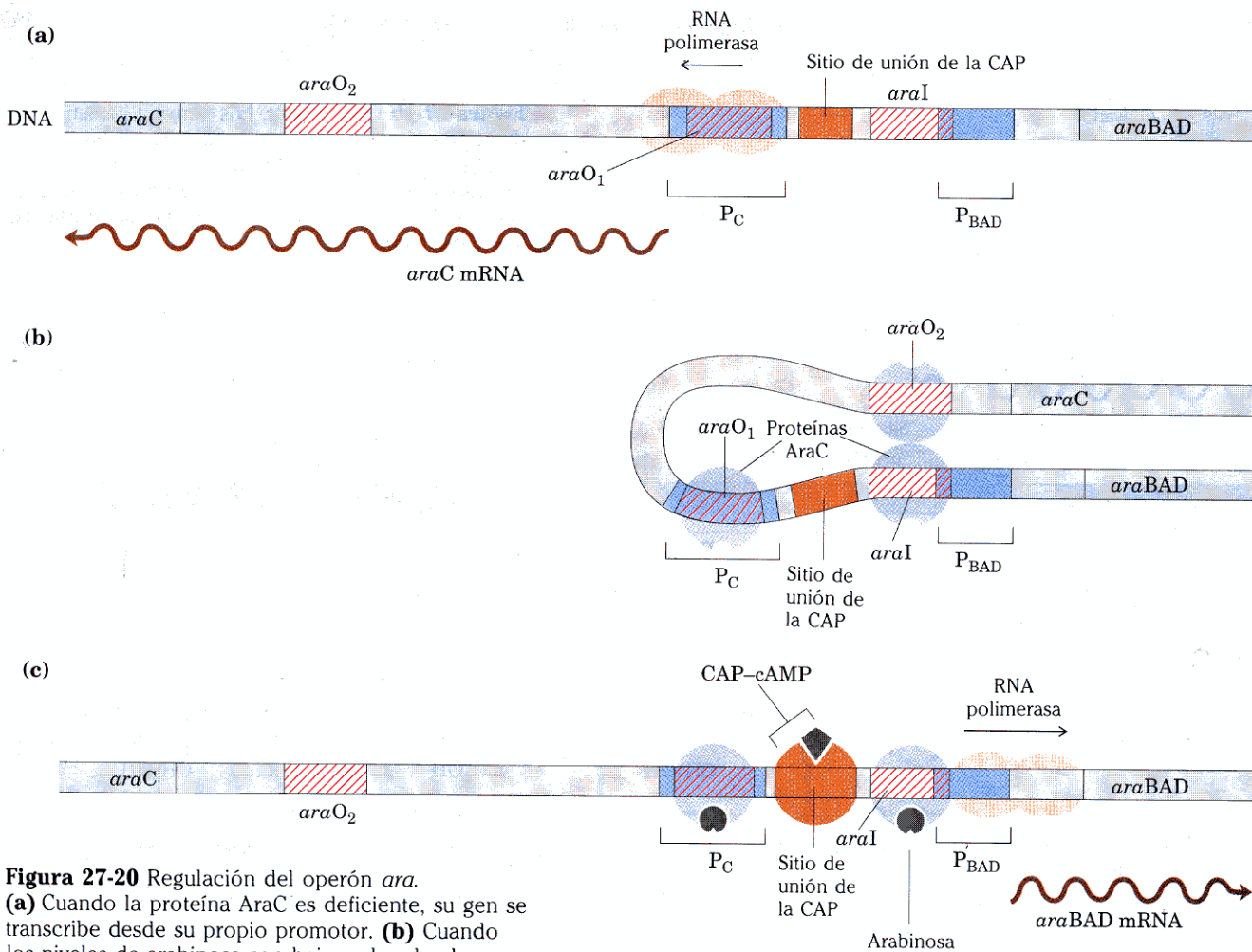




**Figura 27-19** Operón *ara*. Los genes y los sitios de regulación (en rojo y en verde) están descritos en el texto. En la parte inferior se muestra el metabolismo de la arabinosa. El producto final de esta vía, la D-xilulosa-5-fosfato, es un intermedio de la vía de las pentosas fosfato (Capítulos 14 y 19).

*E. coli* puede usar la arabinosa como fuente de carbono mediante su conversión en xilulosa-5-fosfato, un intermedio de la vía de las pentosas fosfato (Capítulos 14 y 19). Para ello se requieren los enzimas arabinosa isomerasa, ribulosa quinasa, y ribulosa-5-fosfato epimerasa (Fig. 27-19) codificados por los genes *araA*, *araB*, y *araD*, respectivamente. El operón *ara* (Fig. 27-19) incluye estos tres genes, un sitio regulador que contiene dos operadores (*araO*<sub>1</sub> y *araO*<sub>2</sub>), otro sitio de unión para la proteína reguladora de AraC llamada *araI* (I de inductor), y un promotor adyacente a *araI*. El gen *araC* se encuentra próximo y se transcribe desde su propio promotor (cercano a *araO*<sub>1</sub>) en dirección opuesta a la de los genes *araB*, A, y D (llamados colectivamente *araBAD*). Adyacente al promotor del operón *ara* se encuentra un sitio de unión para la CAP, y la transcripción está modulada mediante el complejo CAP-cAMP al igual que ocurre en el sistema *lac*. En este punto se acaban todas las similitudes.

El papel de la proteína AraC en la regulación de este sistema es complejo (Fig. 27-20). En primer lugar, regula su propia síntesis, uniéndose a *araO*<sub>1</sub> y reprimiendo la transcripción del gen *araC* cuando su concentración supera las cuarenta copias por célula. En segundo lugar, actúa tanto como regulador positivo y negativo de los genes *araBAD*, uniéndose en este caso a *araO*<sub>2</sub> y *araI*. Esta regulación se puede resumir considerando cuatro situaciones metabólicas: (1) la glucosa es abundante y la arabinosa

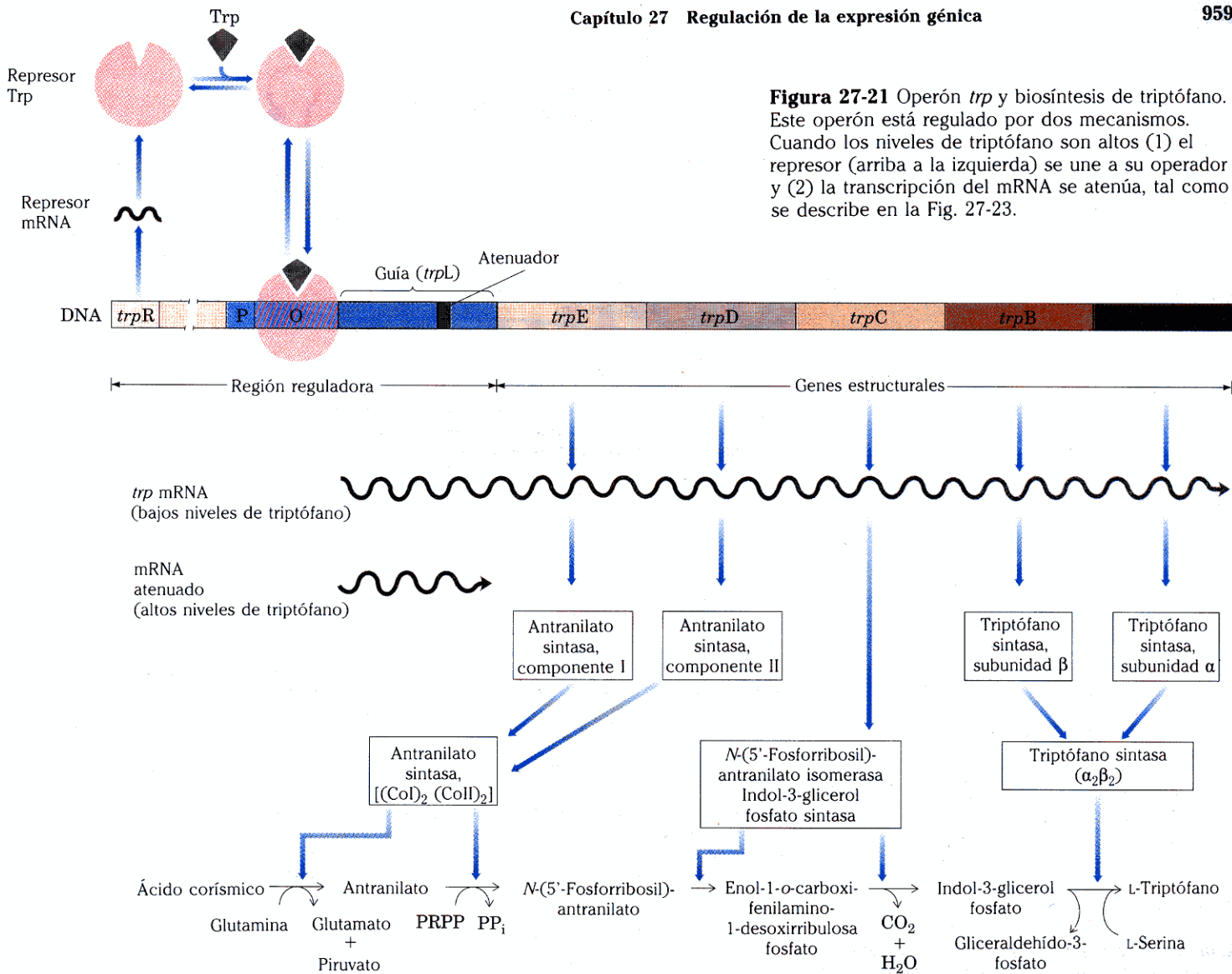


**Figura 27-20** Regulación del operón *ara*.  
**(a)** Cuando la proteína AraC es deficiente, su gen se transcribe desde su propio promotor. **(b)** Cuando los niveles de arabinosa son bajos y los de glucosa altos, la proteína AraC se une tanto a *araI* como a *araO<sub>2</sub>*, acercando estos dos sitios mediante la formación de un lazo de DNA. La figura ilustra el operón en este estado. Esta proteína también se une a *araO<sub>1</sub>*, reprimiendo la síntesis posterior de AraC. **(c)** Cuando hay arabinosa y la concentración de glucosa es baja, la proteína AraC se une a la arabinosa y cambia su conformación para convertirse en un activador. Se abre el lazo de DNA, y la proteína AraC actúa conjuntamente con el complejo CAP-cAMP facilitando la transcripción.

no. En estas condiciones, la proteína AraC unida a *araO<sub>2</sub>* y la unida a *araI*, se unen entre ellas formando un lazo de DNA de unos 210 pares de bases. En esta configuración, el sistema reprime la transcripción de los genes *araBAD* desde el promotor (Fig. 27-20b). (2) No hay glucosa (o la hay a niveles muy bajos) pero hay arabinosa disponible. En estas condiciones, el complejo CAP-cAMP se vuelve abundante y se une a su sitio adyacente a *araI*. La arabinosa también se une a la proteína AraC, alterando su conformación. El lazo de DNA se abre, y la proteína AraC unida a *araI* se convierte en un activador, actuando simultáneamente con el complejo CAP-cAMP para inducir la transcripción de los genes *araBAD* (Fig. 27-20c). (3) La arabinosa y la glucosa son abundantes. (4) La arabinosa y la glucosa están ausentes. En ambos casos, no está totalmente claro el estado del sistema, aunque se sabe que permanece reprimido. El operón *ara* es un sistema regulador complejo que ofrece una respuesta rápida y reversible a cambios en las condiciones ambientales.

### Los genes codificadores de la biosíntesis de aminoácidos están regulados mediante atenuación de la transcripción

Para la síntesis de proteínas se necesitan aminoácidos en grandes cantidades, y *E. coli* tiene los enzimas para sintetizarlos todos. Como era de esperar, los genes de los enzimas requeridos para sintetizar un aminoácido determinado se encuentran generalmente agrupados en un operón. Estos enzimas son necesarios y, por tanto, se expresa el operón correspondiente a un aminoácido siempre que la provisión de este aminoácido sea insuficiente para cubrir las necesidades celulares. Cuando el aminoácido se

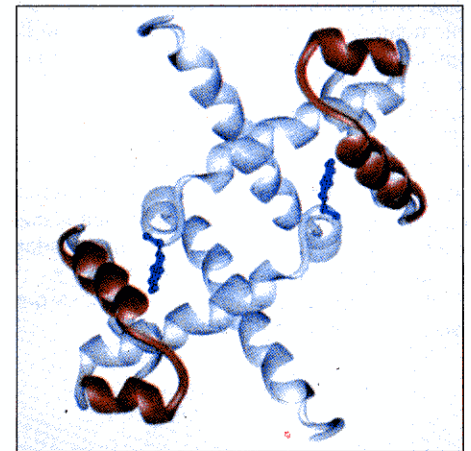


**Figura 27-21** Operón *trp* y biosíntesis de triptófano. Este operón está regulado por dos mecanismos. Cuando los niveles de triptófano son altos (1) el represor (arriba a la izquierda) se une a su operador y (2) la transcripción del mRNA se atenúa, tal como se describe en la Fig. 27-23.

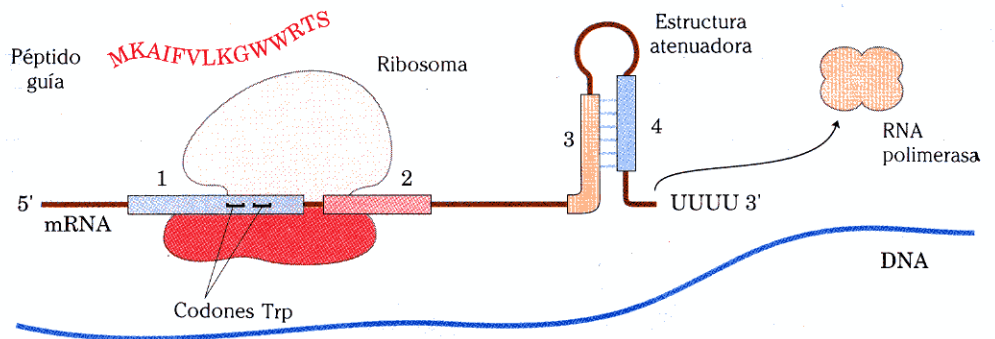
encuentra en grandes cantidades, los enzimas biosintéticos ya no se necesitan y el operón se reprime.

El operón triptófano (*trp*) de *E. coli*, que incluye cinco genes que codifican para los enzimas requeridos en la conversión del ácido corísmico en triptófano (Fig. 27-21), constituye un ejemplo bien estudiado. El mRNA sintetizado a partir de este operón tiene una vida media de sólo 3 min, permitiendo a la célula responder rápidamente frente a las necesidades variables de este aminoácido. El represor Trp es un homodímero en el que cada subunidad contiene 107 residuos aminoácidos (Fig. 27-22). Cuando el triptófano es abundante, se une al represor Trp originando un cambio conformacional que permite al represor unirse a su operador. El sitio del operador *trp* se solapa con el del promotor, y la unión del represor bloquea la unión de la RNA polimerasa.

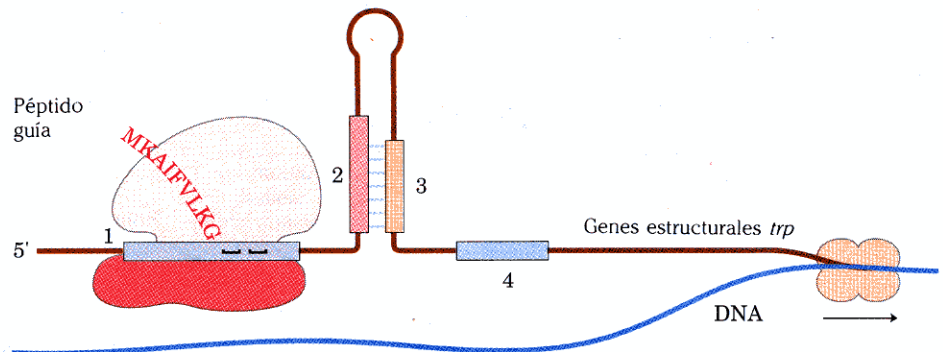
Aquí, como en otros casos, este simple circuito de puesta en marcha/parada mediado por un represor sólo es una parte del sistema regulador. Este sistema responde frente a diferentes concentraciones de triptófano variando la velocidad de síntesis de los enzimas biosintéticos en un margen de unas 700 veces. Cuando el sistema deja de estar reprimido y comienza la transcripción, la velocidad de la transcripción se ajusta mediante un segundo proceso de regulación conocido como atenuación de la transcripción.



**Figura 27-22** Estructura del represor Trp. Esta proteína dimérica se muestra con el motivo de unión al DNA hélice-giro-hélice en rojo y las moléculas unidas de Trp en azul.



Cuando los niveles de triptófano son altos, el ribosoma traduce rápidamente la secuencia 1 (pauta abierta de lectura codificante del péptido guía) y bloquea la secuencia 2 antes de que se transcriba la 3. La transcripción continua permite que se dé atenuación en la estructura antiterminadora formada por las secuencias 3 y 4.

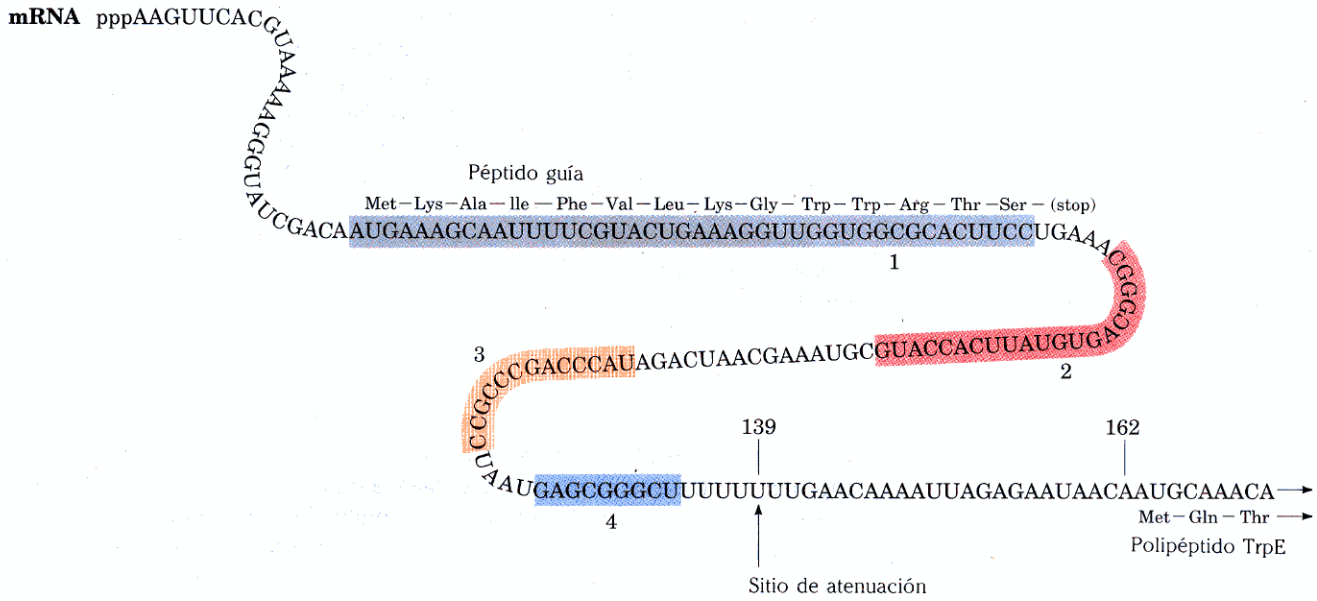


Cuando los niveles de triptófano son bajos, el ribosoma se detiene en los codones Trp de la secuencia 1. La formación de estructuras apareadas entre las secuencias 2 y 3 evita la atenuación, debido a que la secuencia 3 no está disponible para formar la estructura atenuadora con la secuencia 4.

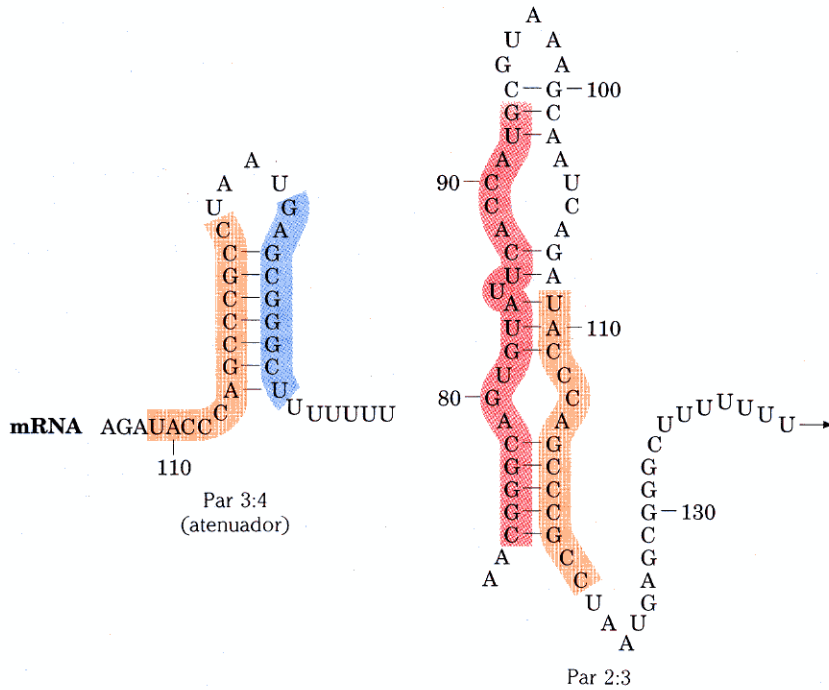
(a)

**Figura 27-23 (a)** En el mecanismo de atenuación del operón *trp* intervienen cuatro cortas secuencias del mRNA guía conocido como *trpL* que tiene un tamaño de 162 nucleótidos y precede al gen *trpE*. La secuencia 1 es una corta pauta abierta de lectura que codifica un pequeño péptido llamado péptido guía, que se traduce inmediatamente después de que se inicie la transcripción. Las secuencias 2 y 3 son complementarias entre sí, al igual que lo son las secuencias 3 y 4. El atenuador formado por las secuencias 3 y 4 tiene una estructura y una función similar a la de los terminadores de la transcripción (ver Fig. 25-8). Obsérvese que el péptido guía no tiene en sí mismo otra función celular. La traducción de esta pauta abierta de lectura tiene una función puramente reguladora que determina qué secuencias complementarias (2:3 o 3:4) están emparejadas. **(b)** Secuencia del guía del *trp* mRNA (*trpL*). **(c)** Pautas de apareamiento en las regiones que interactúan con el mRNA guía *trp*.

Los términos **atenuación de la transcripción** describen un proceso en el que la transcripción se inicia normalmente pero se interrumpe bruscamente *antes* de que se transcriban los genes del operón. La frecuencia con la que se atenúa la transcripción depende de la concentración disponible de triptófano. La base del mecanismo, deducida por Charles Yanofsky, es el acoplamiento inmediato entre transcripción y traducción en bacterias. El mecanismo de atenuación del operón *trp* utiliza señales codificadas en cuatro secuencias localizadas en una región **guía** ("leader") en el extremo 5' del mRNA que precede el codón de inicio del primer gen (Fig. 27-23a,b). En el extremo de la secuencia guía hay una secuencia llamada **atenuador**, constituida por las secuencias 3 y 4. Estas secuencias se complementan para formar una horquilla, rica en G≡C, seguida de una serie de residuos uracilo, una estructura que recuerda a la de un terminador de la transcripción (Fig. 27-23c); la **transcripción** se interrumpirá aquí cuando se forme esta estructura. La formación de la horquilla atenuadora depende de los acontecimientos que se produzcan durante la **traducción** de una corta pauta abierta de lectura del RNA guía que codifica un péptido de 14 residuos (denominado péptido guía porque está codificado en la región guía del mRNA). Este gen corto es otra de las cuatro secuencias reguladoras (secuencia 1 en la Fig. 27-23a,b). La traducción del péptido guía se inicia inmediatamente después de su transcripción, y el ribosoma unido sigue de cerca a la RNA polimerasa conforme la transcripción avanza. La secuencia reguladora 2 se encuentra cercana al extremo de este corto marco abierto de lectura, y las secuencias 3 y 4, como ya se mencionó anteriormente,



(b)



(c)

forman la horquilla atenuadora. La secuencia 2 puede complementarse alternativamente con la secuencia 3. Si las secuencias 2 y 3 se complementan, la estructura atenuadora derivada de la interacción de las secuencias 3 y 4 no se puede formar y la transcripción continúa en los genes biosintéticos *trp* (el lazo formado por las secuencias 2 y 3 no obstruye la transcripción).

La corta pauta abierta de lectura (la secuencia reguladora 1 o péptido guía) es el elemento clave en la detección de las concentraciones de triptófano (Fig. 27-23). Puede considerarse que actúa como un mecanismo de control temporal sensible a la concentración de triptófano que determina si la secuencia 3 se complementa con la 4 (atenuando la transcripción) o con la secuencia 2 (permitiendo que continúe). Esta pauta abierta de lectura incluye dos codones para el triptófano. Cuando las concentraciones de triptófano son altas, la concentración de tRNA cargados para este aminoácido ( $\text{Trp-tRNA}^{\text{Trp}}$ ) también lo es. La traducción seguirá inmediatamente a la transcripción, pasando rápidamente por los codones Trp y hacia la secuencia 2, antes de que la secuencia 3 sea sintetizada por la RNA polimerasa. En este caso la secuencia 2 está tapada por el ribosoma y por tanto inhabilitada para complementarse con la secuencia 3 cuando se sintetiza; se forma la estructura del atenuador (secuencias 3 y 4), interrumpiéndose la transcripción. Sin embargo, cuando las concentraciones de triptófano son bajas, el ribosoma se atasca en los dos codones Trp debido a la ausencia de  $\text{tRNA}^{\text{Trp}}$  cargados. La secuencia 2 se encuentra libre mientras se sintetiza la 3; a continuación estas dos secuencias se pueden complementar y la transcripción procederá (Fig. 27-23). De este modo, la proporción de transcritos que son atenuados aumenta simultáneamente con la cantidad de triptófano.

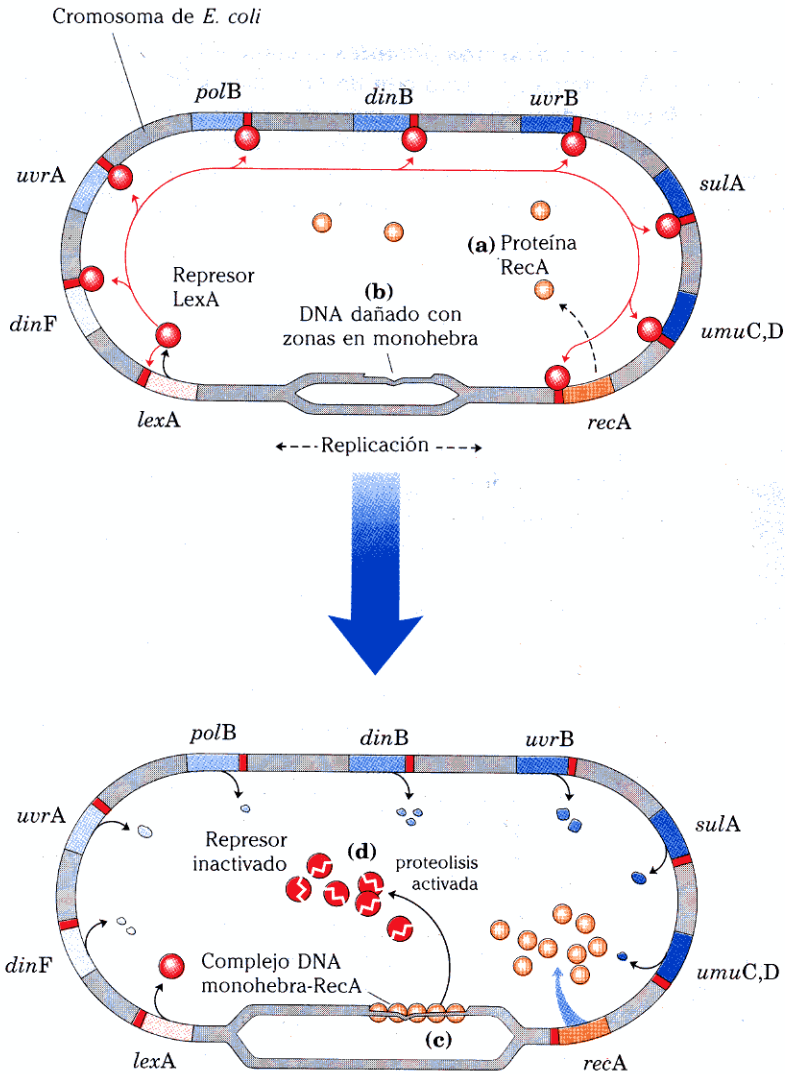
Todos los operones implicados en la biosíntesis de aminoácidos utilizan una estrategia de atenuación similar para adecuar los niveles de enzimas biosintéticos a las necesidades celulares. El péptido guía de 15 aminoácidos producido por el operón *phe* contiene siete residuos Phe. El péptido guía del operón *his* contiene siete residuos His contiguos, e igualmente, el del operón *leu* contiene 4 residuos Leu contiguos. De hecho, en la mayoría de operones para la biosíntesis de aminoácidos (a excepción del *trp*), la atenuación es suficientemente sensible como para ser el único mecanismo regulador.

### **La inducción de la respuesta SOS requiere la destrucción de las proteínas represoras**

La respuesta SOS (p. 838) es un buen ejemplo de la regulación coordinada de muchos genes no agrupados. Los genes del sistema SOS se inducen cuando el cromosoma bacteriano es gravemente dañado; muchos de ellos están implicados en la reparación y en la mutagénesis del DNA (ver Tabla 24-6). Los elementos reguladores clave son un represor, llamado represor LexA, y la proteína RecA (Capítulo 24).

El represor LexA regula la transcripción de todos los genes del sistema SOS (Fig. 27-24). La inducción de la respuesta SOS trae consigo la separación del represor LexA, pero ésta no es una simple disociación del DNA en respuesta a la unión de una pequeña molécula, como en los ejemplos descritos anteriormente. Por el contrario, este represor se inactiva por autólisis en dos fragmentos proteicos. La rotura se da en un enlace peptídico específico Ala-Gly que parte a la proteína ( $M_r$  22.700) en dos fragmentos bastante similares. Por sí mismo, el represor LexA sólo sufre autólisis a elevados pH. A pH neutro, la proteína RecA es necesaria para la reacción de autodigestión, y esta actividad RecA se denomina algunas veces actividad coproteasa.

La proteína RecA es la que actúa como intermedio entre la señal biológica (la lesión en el DNA) y la inducción del sistema SOS. La proteína RecA facilita la rotura del represor LexA sólo cuando RecA se encuentra unido a DNA monohebra (ver Fig. 24-31). Una fuerte lesión en el DNA origina numerosas zonas de DNA monohebra, y estos agujeros son la señal molecular que activa a la proteína RecA, originando la rotura de la proteína represora LexA y la inducción SOS.



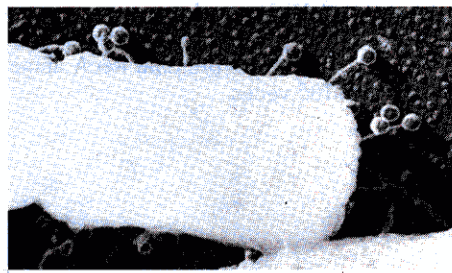
**Figura 27-24** Respuesta SOS en *E. coli*. Para la descripción de las funciones de estos genes ver la Tabla 24-6. La proteína LexA es un represor del sistema SOS. Este sistema tiene un operador (indicado en rojo) cercano a cada gen. (a) El gen *recA* no está totalmente reprimido por el represor LexA, y normalmente se encuentran unos 1.000 monómeros de la proteína RecA en la célula. (b) Cuando el DNA sufre lesiones graves (p. ej., por luz UV), se detiene la replicación del DNA y el número de zonas monohebra aumenta. (c) La proteína RecA se une a DNA monohebra activando su actividad coproteasa. (d) Mientras permanece unida al DNA, la proteína RecA facilita la hidrólisis del represor LexA. Cuando se inactiva el represor, los genes SOS, incluyendo *recA*, se inducen. Los niveles de proteína RecA aumentan entre 50 y 100 veces.

Durante la inducción de la respuesta SOS, la proteína RecA también hidroliza y, por tanto inactiva, al represor que permite al bacteriófago  $\lambda$ , y a otros virus bacterianos relacionados, propagarse en un estado latente (lisogénico) en el huésped. Estos represores parecen haber evolucionado mimetizando al represor LexA y son igualmente hidrolizados en un enlace peptídico específico Ala-Gly. Este fenómeno permite la replicación del virus y la lisis de la célula para liberar nuevas partículas víricas, permitiendo al bacteriófago salir apresuradamente de una célula bacteriana que se encuentra en peligro, como describiremos más adelante.

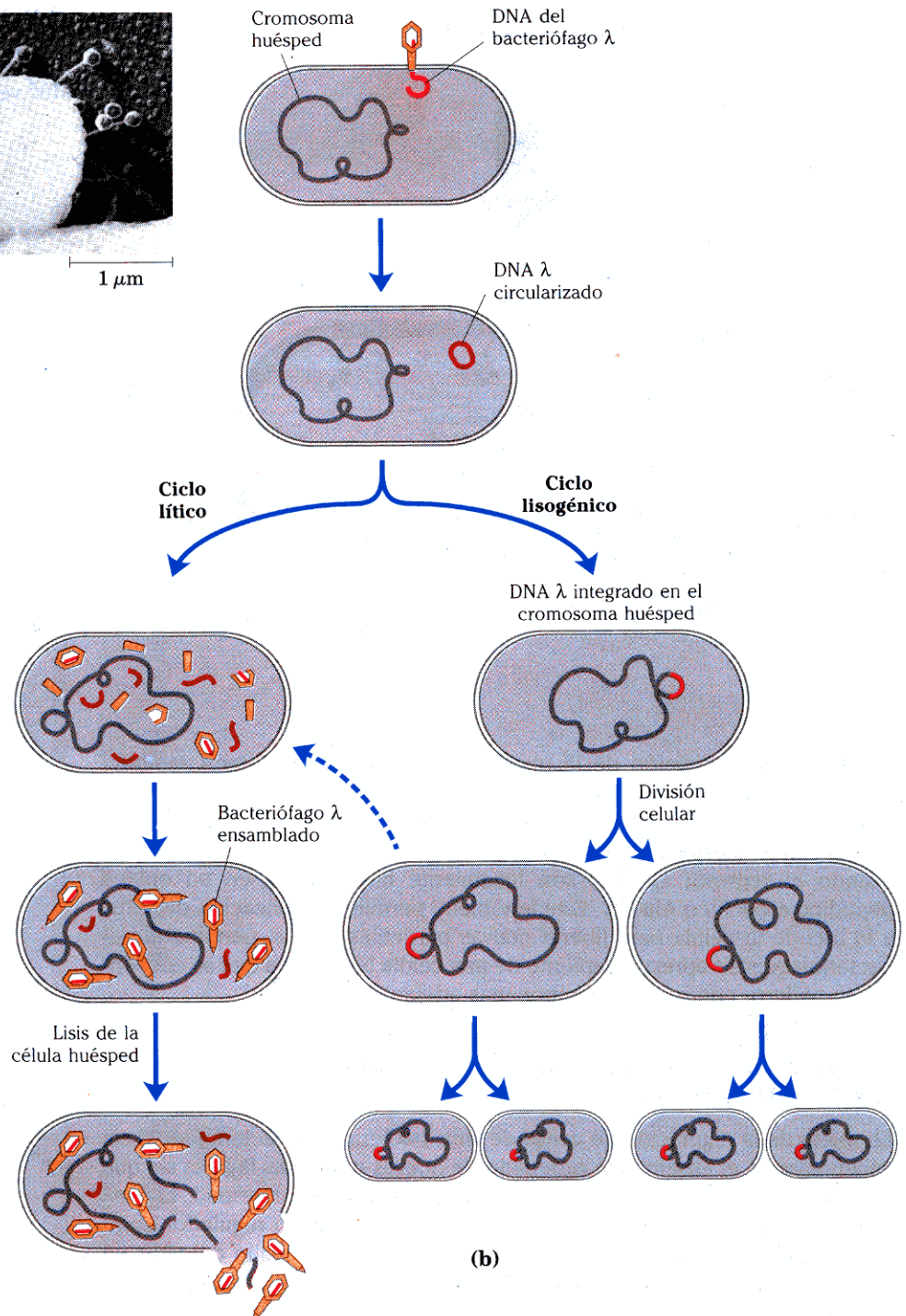
**El bacteriófago  $\lambda$  es un ejemplo de conmutación regulada del desarrollo**

El objeto de la regulación de genes de virus bacterianos (bacteriófagos) es, generalmente, el ensamblaje ordenado de nuevas partículas fágicas sin que se produzca una destrucción muy temprana de la célula huésped. El bien caracterizado bacteriófago  $\lambda$  es un ejemplo de un circuito regulador complejo y de elegante diseño que dirige el destino del desarrollo del virus en una célula bacteriana determinada. A la vez, constituye un paradigma para el complejo problema del desarrollo en organismos multicelulares.

**Figura 27-25** Bacteriófago  $\lambda$ . **(a)** Micrografía electrónica de partículas víricas del bacteriófago  $\lambda$  adheridas a una célula de *E. coli*. **(b)** Dos destinos posibles para una infección del bacteriófago  $\lambda$ : lisis o lisogenia. Bajo ciertas condiciones (p. ej., cuando se induce la respuesta SOS), se interrumpe el estado lisogénico y la célula sufre un ciclo lítico (flecha discontinua).



**(a)** 1  $\mu\text{m}$



**Lisis o lisogenia: dos destinos posibles** El bacteriófago  $\lambda$  (Fig. 27-25) es un fago de DNA de tamaño medio con un cromosoma de 48.502 pares de bases. Es un **fago moderado**, lo que quiere decir que la infección fágica no siempre origina la destrucción de la célula huésped. El DNA del fago invasor tiene dos destinos posibles: la reproducción que genera nuevas partículas víricas y la consecuente lisis de la célula (**ciclo lítico**) o una



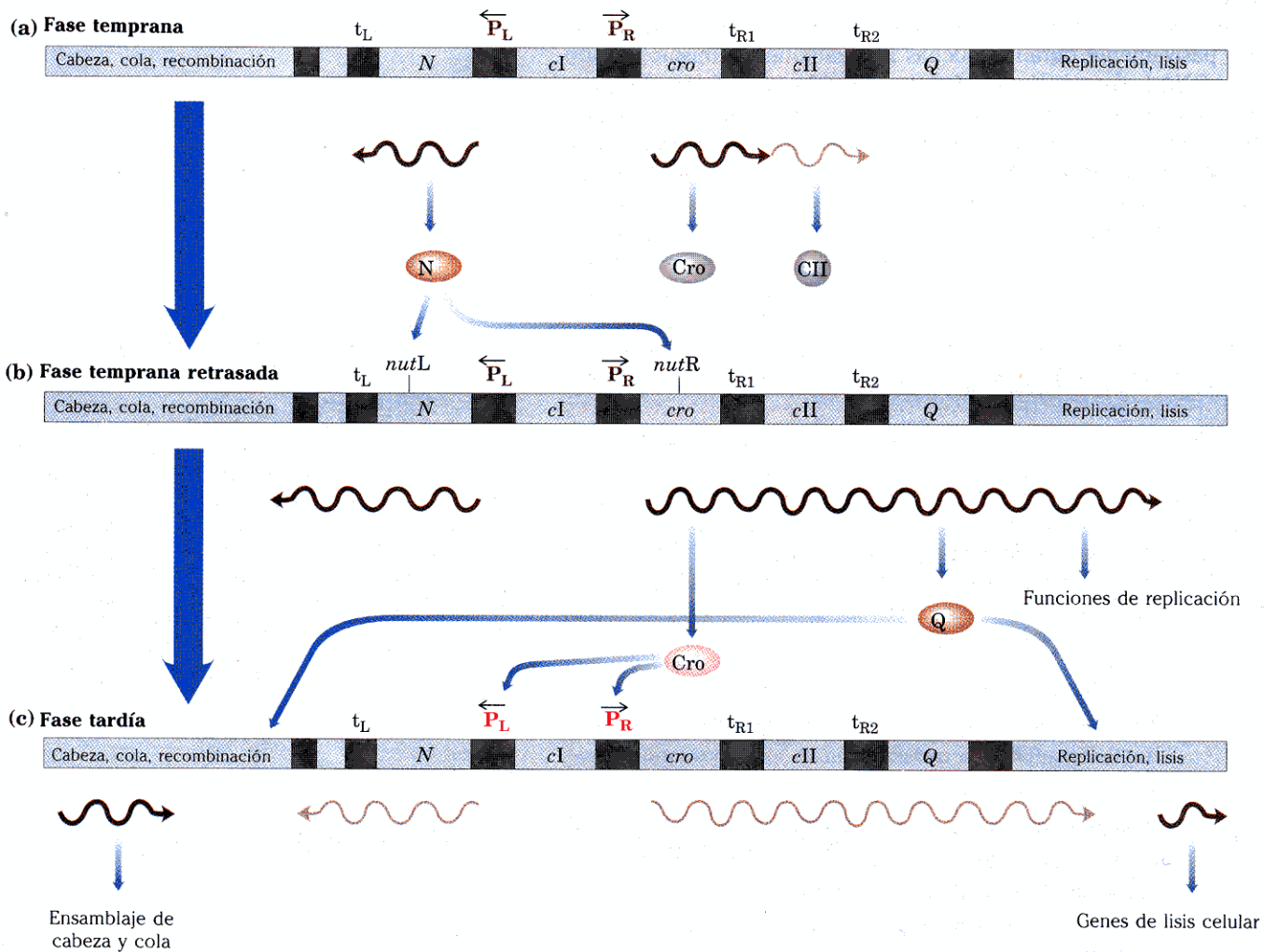
integración, relativamente benigna, en el cromosoma huésped donde puede replicarse pasivamente durante muchas generaciones al mismo tiempo que lo hace el DNA huésped (**lisogenia**). La elección entre lisis o lisogenia está determinada, en gran parte, por la interacción de cinco proteínas reguladoras llamadas CI, CII, Cro, N y Q. Estas proteínas regulan la transcripción de varios promotores en una región reguladora del DNA del fago descrita más adelante. Las funciones de las proteínas y de los promotores se resumen en la tabla 27-1.

**Tabla 27-1 Elementos reguladores del bacteriófago λ**

Elemento regulador	Función
<i>Proteínas</i>	
CI	A bajas concentraciones es un represor de P <sub>R</sub> y P <sub>L</sub> , y activador de P <sub>RM</sub> ; a altas concentraciones también reprime P <sub>RM</sub>
CII	Activador de P <sub>RE</sub> y P <sub>int</sub>
Cro	A bajas concentraciones es un represor de P <sub>RM</sub> ; a altas concentraciones también reprime P <sub>R</sub> y P <sub>L</sub>
N	Terminador en t <sub>L1</sub> , t <sub>R1</sub> , t <sub>R2</sub> y otros terminadores
Q	Antiterminador de la transcripción de los genes tardíos
<i>Promotores</i>	
P <sub>R</sub>	Promotor principal en la zona derecha (R de 'right')
P <sub>L</sub>	Promotor principal en la zona izquierda (L de 'left')
P <sub>RM</sub>	Transcripción para el mantenimiento del represor
P <sub>RE</sub>	Transcripción para la aparición o establecimiento del represor
P <sub>int</sub>	Transcripción de genes para la integración y la escisión

Las proteínas CI, CII y Cro son aproximadamente análogas a las diversas clases de proteínas reguladoras ya descritas. Las proteínas CI y Cro son represores, mientras que la proteína CII es un activador. Las proteínas N y Q interaccionan directamente con la RNA polimerasa de *E. coli* permitiendo la interpretación de ciertas secuencias de terminación de la transcripción en el genoma del fago. Esta actividad mostrada por las proteínas N y Q es conocida como **antiterminación**, y es diferente de los mecanismos reguladores descritos hasta el momento.

**Lisis** En el ciclo lítico (Fig. 27-26), los genes fágicos se encuentran ordenados en tres grupos en función del momento de su expresión. Algunos productos de los genes expresados en la primera fase (temprana) son necesarios para permitir la transcripción de genes de una segunda fase (temprana retrasada). Los productos de algunos genes de la segunda fase son igualmente necesarios para permitir la transcripción en la última fase (genes tardíos). En general, los genes necesarios para la replicación y la recombinación se expresan pronto, y los genes requeridos para ensamblar los péptidos fágicos y la lisis de la célula huésped se expresan tarde. Las proteínas N y Q son la clave de la regulación temporal de la expresión de estos genes.



**Figura 27-26** Regulación de la expresión génica en el ciclo lítico del bacteriófago  $\lambda$ . Se muestra un mapa del bacteriófago  $\lambda$ ; están indicados los genes clave y los sitios reguladores implicados en el ciclo lítico. Hay que tener en cuenta que este mapa no está dibujado a escala; la región reguladora está aumentada desproporcionadamente. La regulación temporal de la expresión génica se da en forma de cascada, en la que un producto génico producido en cada estadio es necesario para estimular la expresión en el siguiente. Los productos génicos clave son la proteína N, producida a partir de un gen temprano **(a)**, y la proteína Q, producida por un gen intermedio **(b)**. La proteína N estimula **(b)** la expresión intermedia y la proteína Q estimula **(c)** la tardía. Los promotores  $P_L$  y  $P_R$  son críticos para las transcripciones temprana e intermedia. Otros sitios de regulación, incluyendo los terminadores de la transcripción ( $t_{R1}$ ,  $t_{R2}$ ,  $t_L$ ), se describen en el texto. **(c)** La estimulación de la expresión tardía por la proteína Q se ve complementada por la represión de los transcritos a partir de  $P_R$  y  $P_L$  gracias a la proteína Cro. En la Fig. 27-27 se describe la acción de la proteína CII. Los componentes implicados en la activación, al igual que los nuevos mRNA sintetizados en cada estado, se muestran en verde, mientras que los componentes implicados en la represión se muestran en rojo.

La cascada reguladora comienza al invadir el DNA del fago la célula. En primer lugar, la RNA polimerasa de *E. coli* inicia la transcripción en dos promotores,  $P_R$  y  $P_L$ . Esta síntesis temprana de mRNA (Fig. 27-26a) está limitada en ambos casos por terminadores de la transcripción; éstos se denominan  $t_{R1}$  y  $t_{R2}$  para los transcritos originados desde  $P_R$ , y  $t_L$  para los originados desde  $P_L$ . El transcrito desde  $P_R$  incluye el gen *cro*, y aproximadamente la mitad de estos transcritos continúa a través de  $t_{R1}$  incluyendo de este modo el gen *cII* (*cro* y *cII* serán considerados más adelante). El transcrito formado a partir de  $P_L$  incluye el gen *N*.

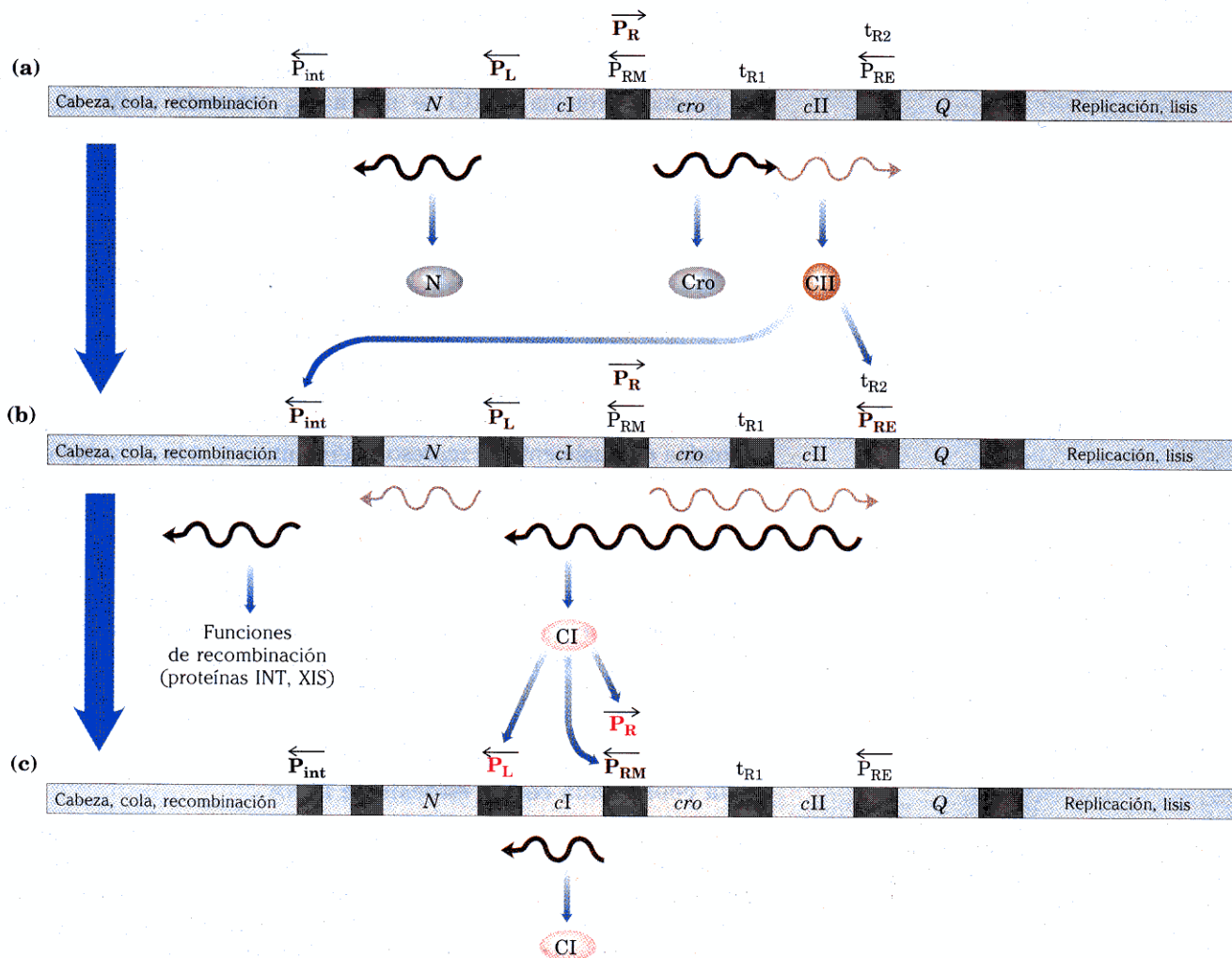
La proteína N dispara la segunda fase de la cascada: la expresión de los genes de la fase temprana retrasada (Fig. 27-26b). Cuando se ha sintetizado suficiente proteína N, ésta interacciona con la RNA polimerasa, modificándola de tal modo que pasa a través de las tres señales terminadoras,  $t_L$ ,  $t_{R1}$  y  $t_{R2}$ . Esto origina la formación de transcritos más largos que incluyen el gen *Q* y los genes de las proteínas necesarias en la replicación vírica.

La tercera y última fase es la expresión de los genes tardíos (Fig. 27-26c), los cuales se transcriben desde distintos promotores únicamente después de que se haya producido la proteína Q. Esta proteína también interacciona con la RNA polimerasa, antagonizando la terminación de la transcripción en otros lugares (no mostrados en la Fig. 27-26). Entre los genes tardíos se incluyen los de las proteínas estructurales necesarias para ensamblar la partícula vírica. Una vez se han ensamblado los nuevos fagos, la célula se lisa liberando las partículas víricas.

Las proteínas N y Q tienen funciones similares, pero su mecanismo de acción es diferente. La proteína N se une a secuencias de DNA específicas (denominadas *nutL* y *nutR*) localizadas en el lado 5' de los terminadores de la transcripción (fig. 27-26b). Cuando la RNA polimerasa alcanza este punto es modificada (mediante un mecanismo desconocido) en una reacción que necesita de la proteína N y de, como mínimo, tres proteínas del huésped. De este modo, la RNA polimerasa adquiere la capacidad de transcribir a través de muchos tipos de terminadores. La proteína Q interacciona con la RNA polimerasa en una secuencia cercana a los promotores tardíos, donde la transcripción se para brevemente después del inicio. La RNA polimerasa se modifica en una reacción que necesita a la proteína Q, aunque quizás también necesite a alguna otra proteína. Los mecanismos de acción de las proteínas N y Q siguen siendo un importante tema de investigación. La antiterminación de la síntesis de RNA es un mecanismo de regulación que también se ha observado en algunos sistemas eucarióticos.

**Lisogenia** Sólo en aproximadamente la mitad de los casos la infección origina la lisis celular. Las células que se escapan de este destino sufren lisogenia. La vía lisogénica está gobernada por otro producto génico temprano, la proteína CII. Esta proteína es un activador que estimula la transcripción desde dos promotores adicionales,  $P_{RE}$  y  $P_{int}$  (Fig. 27-27). El transcrito desde  $P_{RE}$  incluye el gen *cI* codificante para la proteína CI, que es

**Figura 27-27** Regulación de la expresión génica en el ciclo lisogénico del bacteriófago  $\lambda$ . **(a)** Los transcritos de RNA iniciados en  $P_R$  continúan a través de  $t_{R1}$  un 50 % de las veces, originando la síntesis de la proteína CII como producto génico temprano. **(b)** La proteína CII activa la transcripción en  $P_{RE}$  y  $P_{int}$ , originando la proteína CI (un represor) y las proteínas necesarias para la recombinación. **(c)** El represor CI es un antagonista del represor Cro (ver Fig. 27-28), y realmente disminuye la expresión génica del bacteriófago a excepción de la producida a partir de  $P_{RM}$ . La producción temprana de CII y, por lo tanto, la insuficiencia de CI, dirige el sistema hacia la lisogenia. La expresión continuada de *cI* mantiene el genoma de  $\lambda$  en estado latente. (El rojo y el verde se usan igual que en la Fig. 27-26.)



un represor. Si se sintetiza suficientemente temprano, este represor es capaz de suprimir la transcripción de todo el bacteriófago excepto la originada a partir del promotor  $P_{RM}$ . El transcrito desde  $P_{int}$  incluye los genes necesarios para la integración del DNA vírico dentro del cromosoma huésped mediante recombinación en sitios específicos (en la que están implicadas las proteínas INT y XIS; ver Fig. 24-37). Una vez se han integrado, la expresión de los genes del bacteriófago se encuentra reprimida por la proteína CI, y el genoma del fago se replica pasivamente con el cromosoma huésped.

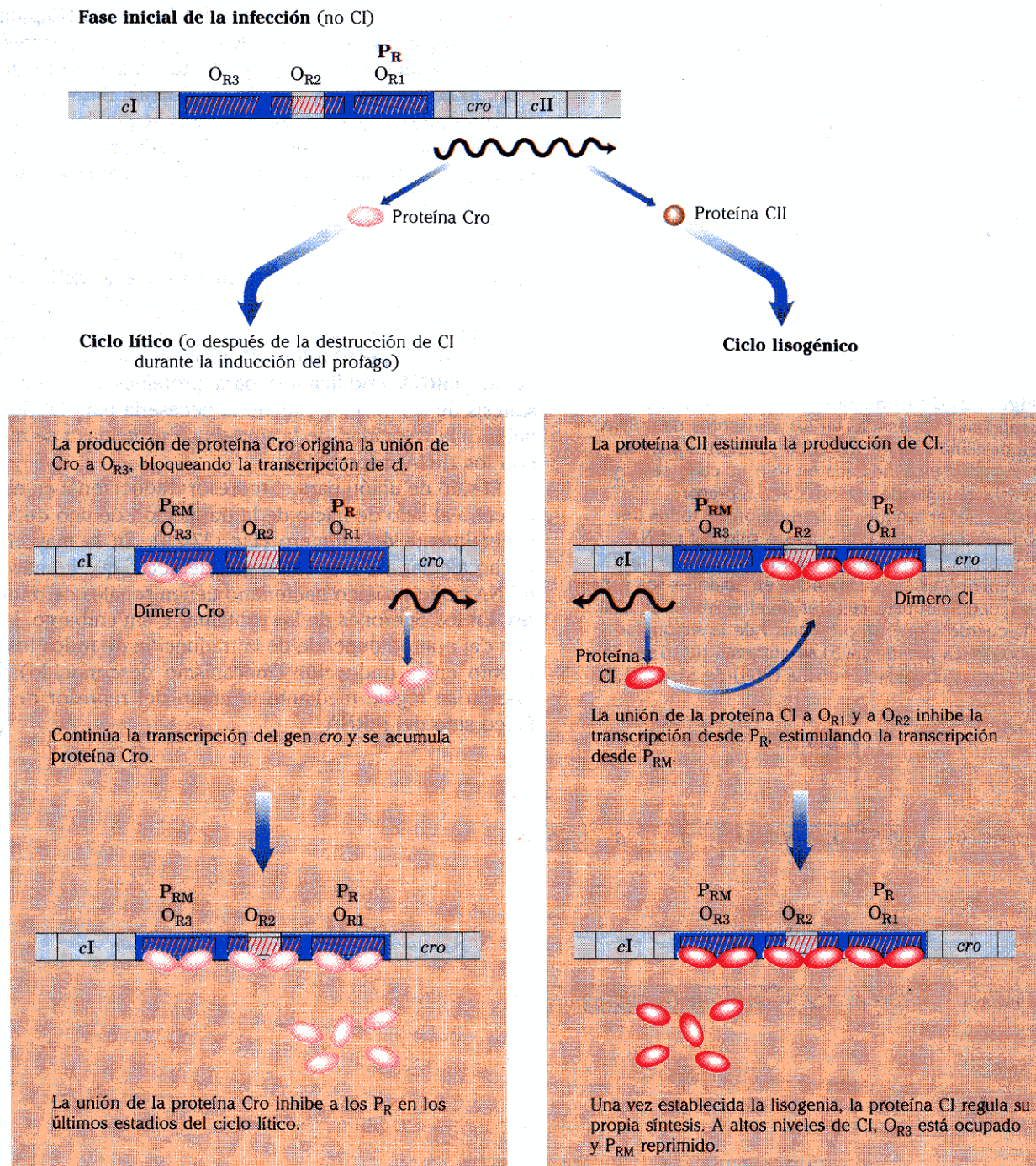
La decisión lisogenia/lisis parece estar determinada en gran parte por el estado nutricional de la célula huésped. La proteína CII es degradada rápidamente por las proteasas de *E. coli*. Las proteasas son más abundantes cuando la célula se encuentra en crecimiento rápido en un medio rico; por lo tanto, bajo estas condiciones, la ausencia de CII (activador) limita la producción de CI (represor) y se da el ciclo lítico. Cuando la célula se encuentra en un medio deficiente, la concentración de proteína CII aumenta y la formación de CI resultante favorece el ciclo lisogénico.

En el estado lisogénico, el fago se denomina **profago**. Para establecer y mantener la lisogenia, la proteína CI se une a seis operadores, llamados  $O_{L(1-3)}$  y  $O_{R(1-3)}$  (Fig. 27-28; sólo se muestran los operadores  $O_R$ ). La secuencia de los seis operadores es diferente, de tal modo que la proteína CI se une más fuertemente a  $O_{R1}$  y a  $O_{L1}$  y más débilmente a  $O_{R3}$ . La unión a  $O_{L1}$  bloquea la transcripción desde  $P_L$ , y la unión a  $O_{R1}$  y  $O_{R2}$  bloquea a  $P_R$  de manera similar. De este modo se bloquea toda la transcripción del bacteriófago excepto la del gen *ci*. La proteína CI autorregula su propia síntesis desde otro promotor,  $P_{RM}$  ( $P_{RE}$  produce la elevada concentración de CI necesaria para establecer la lisogenia mientras que  $P_{RM}$  produce CI a la menor concentración necesaria para su mantenimiento).  $O_{R3}$  dirige la transcripción desde  $P_{RM}$ . A bajas concentraciones de CI,  $O_{R3}$  se encuentra libre y se produce proteína CI (CI se une a  $O_{R2}$  actuando como un activador y estimulando la acción de la RNA polimerasa en  $P_{RM}$ ). La producción de la proteína CI cesa cuando su concentración es suficiente como para ocupar  $O_{R3}$ . La proteína CI también se conoce simplemente como el represor  $\lambda$ .

El estado lisogénico puede continuar durante incontables generaciones celulares siempre que no sea interrumpido por un suceso como el tratamiento de la célula huésped con un agente que lesione el DNA e induzca la respuesta SOS. La señal que permite al profago salir del estado lisogénico es la repentina reducción de la concentración de la proteína CI como resultado de la autohidrólisis facilitada por la proteína RecA, como se describió anteriormente para el represor LexA. La eliminación de CI permite un cierto nivel de transcripción en  $P_R$  produciéndose la proteína Cro. Esta proteína es igualmente un represor, pero antagoniza la actividad de CI (Fig. 27-28). La proteína Cro se une a los mismos operadores que CI, pero con un orden de afinidad inverso. Mediante la fuerte unión a  $O_{R3}$ , la proteína Cro bloquea la posterior síntesis proteica de CI y da origen a una serie de acontecimientos que permiten la escisión del DNA vírico del cromosoma bacteriano y el ciclo lítico. El sistema permite al bacteriófago  $\lambda$  realizar una rápida salida del huésped bacteriano en condiciones de estrés. La interacción de las proteínas con sus sitios de unión muestra un extraordinario grado de sofisticación y sensibilidad.

### La síntesis de las proteínas ribosómicas está coordinada con la síntesis de rRNA

En las bacterias, los cambios en la demanda celular de síntesis proteica se pueden atender mediante el aumento del número de ribosomas en lugar de mediante la alteración de la actividad de los ribosomas individuales. En general, el número de ribosomas aumenta simultáneamente con la tasa de crecimiento celular. A altas tasas de crecimiento, los ribosomas constituyen



**Figura 27-28** Actividades antagónicas de los represores CI y Cro en  $O_R$  del bacteriófago  $\lambda$ . No se dibujan a escala ni los genes ni las secuencias reguladoras, y únicamente se muestra la región cercana a  $O_{R(1-3)}$ . El represor CI se une a los tres operadores  $O_R$  con el orden  $O_{R1} > O_{R2} > O_{R3}$ . El represor Cro se une igualmente a estos operadores, pero lo hace con afinidad inversa. El represor CI se une cooperativamente de tal modo que  $O_{R1}$  y  $O_{R2}$  están ocupados a bajas concentraciones de CI.

aproximadamente el 45 % del peso celular seco. Debido a que la fracción de energía celular y materia utilizada para producir ribosomas es tan alta, y a que la función ribosómica es tan importante, es esencial para la célula coordinar la síntesis de proteínas ribosómicas y rRNA. Esta regulación difiere de los mecanismos descritos anteriormente porque se da básicamente a nivel de la *traducción*.

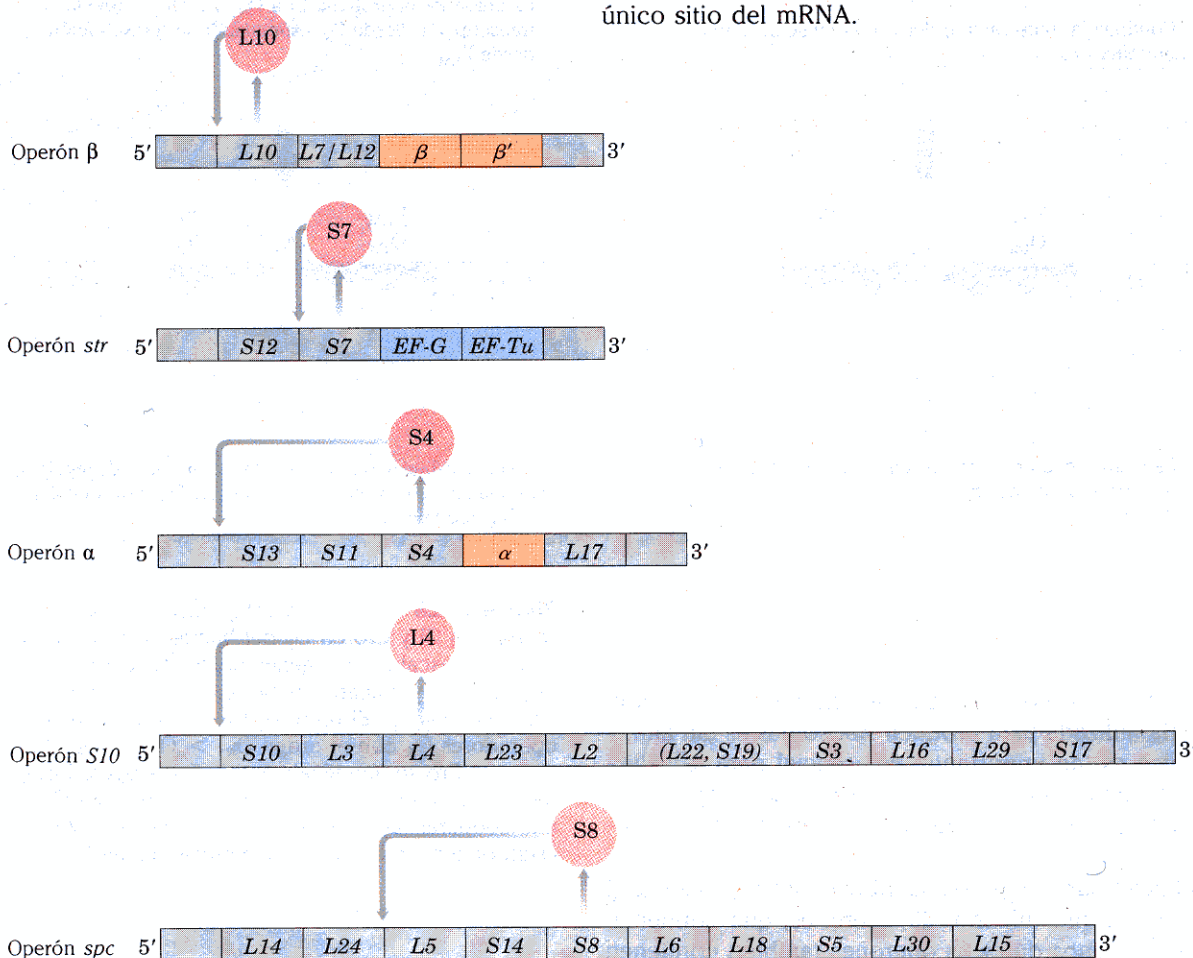
Los 52 genes que codifican para las proteínas ribosómicas (proteínas r) se encuentran repartidos en, como mínimo, 20 operones, que contienen cada uno de 1 a 11 genes. Algunos de estos operones también contienen

genes para las subunidades de la DNA primasa (Capítulo 24), RNA polimerasa (Capítulo 25), y factores de elongación de la síntesis proteica (Capítulo 26), lo que indica el alto grado de acoplamiento existente entre la replicación, la transcripción y la síntesis proteica durante el crecimiento celular.

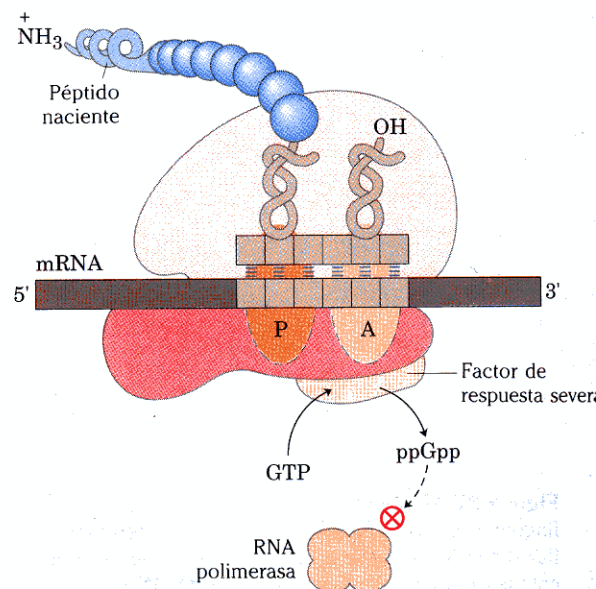
Los operones de proteínas r están regulados en primer lugar mediante un mecanismo de retroalimentación traduccional. Una de las proteínas r de cada operón actúa doblemente como un **represor de la traducción**, que se une al mRNA transcrito desde ese operón y bloquea la traducción (Fig. 27-29). En general, la proteína r que desempeña el papel de represor también se une directamente a un rRNA. Cada una de las proteínas r que actúa como represor traduccional se une al rRNA apropiado con mayor afinidad que a su mRNA, por lo que el mRNA se unirá y la traducción se reprimirá sólo en aquellos casos en los que la proteína se encuentre en exceso con respecto a los rRNA disponibles. De este modo, la traducción de los mRNA codificantes para proteínas r se reprime sólo cuando la síntesis de las mismas excede la necesaria para fabricar ribosomas funcionales, y la velocidad de la síntesis de proteínas r se mantiene en equilibrio con los rRNA disponibles.

El sitio de unión para el represor traduccional en el mRNA se encuentra cercano al sitio de inicio de la traducción de uno de los genes del operón, generalmente del primero (Fig. 27-29). En la mayoría de operones, este hecho afectaría a este único gen debido a que la mayoría de los genes del mRNA policistrónico bacteriano tienen señales de traducción independientes. En los operones de las proteínas r, sin embargo, la traducción de cada gen del operón depende de la traducción de todos los demás. Este acoplamiento en la traducción (mecanismo desconocido) permite que todo el operón se regule mediante la unión del represor de la traducción en un único sitio del mRNA.

**Figura 27-29** Estructura de algunos operones de proteínas ribosómicas en los transcritos de mRNA. La proteína r que actúa como un represor de la traducción está indicada en rojo en cada caso, y se señala su lugar de acción. Cada represor traduccional bloquea la traducción de todos los genes mediante la unión a este sitio del mRNA. Los genes que codifican las subunidades de la RNA polimerasa están sombreados en amarillo; los genes que codifican para factores de elongación en azul. (Recuérdese que las proteínas r de la subunidad ribosómica grande (50S) se numeran de L1 a L34 y los de la subunidad pequeña (30S) de S1 a S21.)



**Figura 27-30** En *E. coli*, la respuesta severa frente a una deficiencia en aminoácidos se dispara por la unión de un tRNA descargado al lugar A del ribosoma. Una proteína llamada factor de respuesta severa se une al ribosoma y cataliza la síntesis de ppGpp. La señal ppGpp inhibe a la RNA polimerasa mediante un mecanismo desconocido, reduciendo la síntesis de rRNA.



Los operones de las proteínas r también están aparentemente regulados a nivel de inicio de la transcripción, debido a que la transcripción aumenta simultáneamente a la tasa de crecimiento celular. No se conocen en este sistema ninguno de los mecanismos de regulación de la transcripción ni tampoco la detallada relación entre las regulaciones transcripcional y traduccional del sistema.

Evidentemente, la síntesis de las proteínas r está coordinada con la disponibilidad de rRNA. La regulación de la producción de ribosomas debe por lo tanto reflejar, en último término, una regulación en la síntesis de rRNA. En *E. coli*, la síntesis de rRNA a partir de sus 7 operones responde a la tasa de crecimiento celular y a los cambios en la disponibilidad de nutrientes esenciales, en particular de aminoácidos.

La regulación coordinada con la concentración de aminoácidos se denomina **respuesta severa** ("stringent response") (Fig. 27-30). Cuando la concentración de aminoácidos es baja, la síntesis de rRNA se detiene. La deficiencia de aminoácidos origina la unión de tRNA descargados en el lugar A de los ribosomas. Esto dispara una secuencia de acontecimientos que comienza con la unión de una proteína enzimática, denominada **factor de respuesta severa**, al ribosoma. El factor de respuesta severa cataliza la formación de un nucleótido no habitual, guanosina tetrafosfato (ppGpp; ver p. 355), adicionando un pirofosfato en la posición 3' del GDP mediante la siguiente reacción.

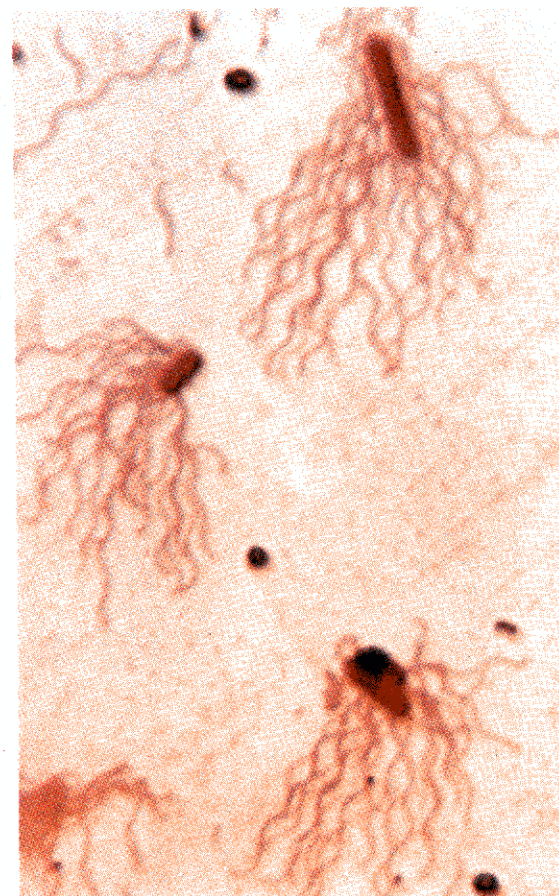


El brusco aumento de los niveles de ppGpp en respuesta a la deficiencia de aminoácidos origina una gran reducción en la síntesis de rRNA. No está claro si el ppGpp se une a la RNA polimerasa o si actúa mediante una proteína represora o activadora no identificada.

El nucleótido ppGpp, junto al cAMP, pertenecen a una pequeña, pero creciente clase de nucleótidos modificados que actúan como segundos mensajeros celulares (p. 355). En *E. coli*, estos dos nucleótidos funcionan como señales frente a deficiencias, produciendo grandes cambios en el metabolismo celular mediante el aumento o la disminución de la transcripción de cientos de genes. La coordinación del metabolismo celular con el crecimiento es muy compleja, y muchos mecanismos reguladores permanecen desconocidos.

### Algunos genes se regulan mediante recombinación génica

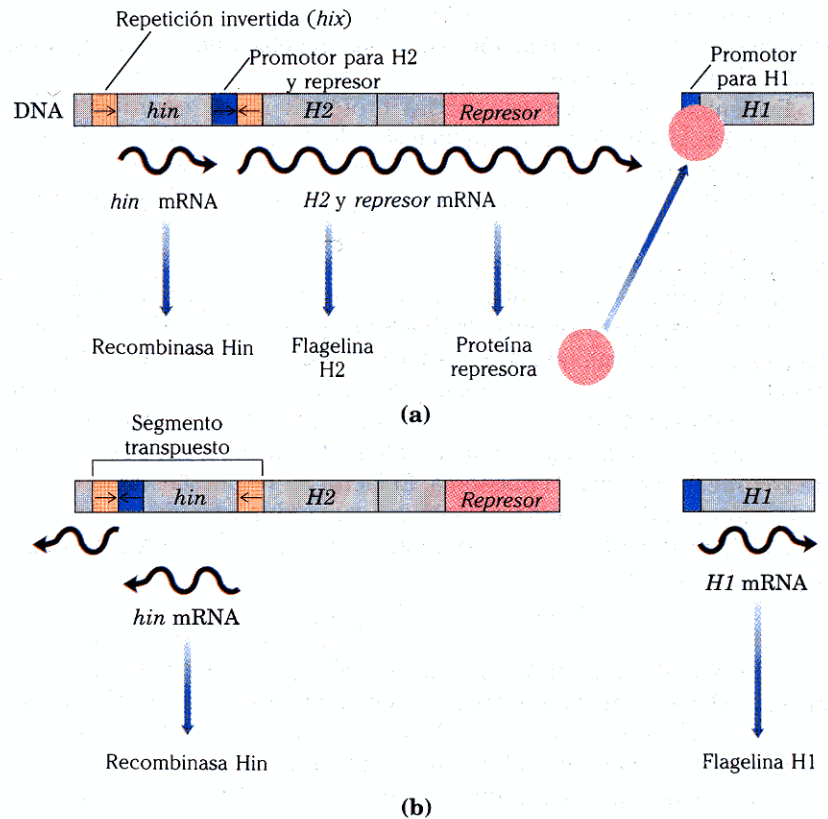
La bacteria *Salmonella* vive en los intestinos de los mamíferos y se mueve mediante un flagelo rotatorio que emerge de la superficie celular (Fig. 27-31). Las abundantes copias de la proteína flagelina ( $M_r$  53.000), que forma el flagelo, son dianas para la acción de los sistemas inmunitarios de mamíferos. Para evadir al sistema inmunitario, *Salmonella* es capaz de intercambiar dos proteínas distintas de flagelina cada 1.000 generaciones celulares en un proceso conocido como **variación de fase**.



**Figura 27-31** Bacteria *Salmonella typhimurium*, en la que pueden verse claramente los flagelos.

El cambio se consigue mediante la inversión periódica de un segmento de DNA localizado en el promotor del gen de la flagelina. La inversión es una reacción de recombinación en un lugar específico (p. 845) mediada por una recombinasa llamada *Hin* en unas secuencias específicas de 14 pb (secuencias *hix*) localizadas en ambos extremos del DNA (Fig. 27-32). Cuando el segmento de DNA se encuentra en una orientación, el gen para la flagelina *H2* y otro gen que codifica para un represor se expresan. El represor anula la expresión del gen para la flagelina *H1*. Cuando el segmento de DNA se encuentra invertido, los genes *H2* y represor no son transcritos, y el gen *H1* se induce a medida que desaparece el represor. La recombinasa *Hin* está codificada en el gen *hin* contenido en el fragmento de DNA que se invierte. La recombinación también necesita las proteínas HU y FIS.

**Figura 27-32** Regulación de los genes de la flagelina en *Salmonella*. *H1* y *H2* son diferentes flagelinas. El gen *hin* codifica la recombinasa que cataliza la inversión del segmento de DNA que incluye el promotor *H2* y el gen *hin*. El sitio de recombinación (repeticiones invertidas) se llama *hix* (mostrado en amarillo). En una orientación se expresa *H2* (a); en la orientación opuesta, se expresa *H1* (b). La interconversión entre estos dos estados se denomina variación de fase.



Este mecanismo regulador muestra la ventaja de que es absoluto. Incluso un bajo nivel de fondo de la expresión génica es imposible si el gen se encuentra físicamente separado de su promotor. El cambio absoluto es crucial en este sistema, debido a que un flagelo con una única copia de la proteína flagelar incorrecta sería vulnerable a la acción de los anticuerpos dirigidos contra esa proteína. Este sistema de funcionamiento de *Salmonella* no es el único con estas características. Se han encontrado sistemas reguladores bastante relacionados en un número de especies bacterianas y bacteriófagos, y se han encontrado sistemas de recombinación con funciones similares en eucariotas (Tabla 27-2). La regulación génica mediante reordenaciones del DNA que mueven genes y/o promotores es un mecanismo frecuentemente usado por patógenos para cambiar el tipo de huéspedes o las proteínas de superficie como defensa contra el sistema inmunitario del huésped.



**Tabla 27-2 Ejemplos de regulación génica mediante recombinación**

Sistema	Recombinasa/ sitio de recombinación	Tipo de recombinación	Función
Variación de fase ( <i>Salmonella</i> )	Hin/ <i>hix</i>	Específica de sitio	Expresión alternativa de dos genes de flagelina; elude el sistema inmunitario del huésped
Rango de huésped (bacteriófago Mu)	Gin/ <i>gix</i>	Específica de sitio	Expresión alternativa de dos series de genes de una fibra de la cola; afecta a la gama de huéspedes posible
Cambio de tipo de apareamiento (levadura)	Endonucleasa HO, proteína RAD52, otras proteínas <i>MAT</i>	Conversión génica no recíproca*	Expresión alternativa de tipos de factores de apareamiento de levadura, $\alpha$ y $\alpha$ ; las células de diferentes tipos de apareamiento se pueden aparear y entrar en meiosis
Variación antigénica (tripanosomas)	Varios	Conversión génica no recíproca*	Expresión sucesiva de diferentes genes codificantes para las glucoproteínas de superficie variables (VSG). La membrana externa del tripanosoma está constituida por múltiples copias de una única VSG, principal antígeno de superficie. Mediante la expresión de un nuevo gen VSG de forma correlativa, el tripanosoma altera su cubierta glucoproteica y elude el sistema inmunitario del huésped.†

\* La conversión génica no recíproca es un tipo de proceso de recombinación no comentado en el Capítulo 24. La información genética se mueve desde una parte del genoma (donde es silenciosa) hasta otra (donde se expresa), en una reacción similar a la transposición replicativa.

† El tripanosoma causa la enfermedad del sueño africana y otras enfermedades (ver recuadro 21-1). Una célula puede 'cambiar la cubierta' más de 100 veces, imposibilitando una defensa efectiva por parte del sistema inmunitario del huésped. Los tripanosomas infecciosos son crónicos y si no se tratan originan la muerte.

## Regulación de la expresión génica en eucariotas

En eucariotas, al igual que en los procariotas, el inicio de la transcripción es el principal punto de regulación de la expresión génica. Procariotas y eucariotas usan algunos mecanismos reguladores comunes. Sin embargo, tres características generales encontradas en la regulación génica eucariótica la diferencian de la procariótica descrita anteriormente. En primer lugar, la activación de la transcripción está asociada con múltiples cambios en la estructura de la cromatina en la región a transcribir. En segundo lugar, aunque se encuentren elementos tanto de regulación positiva como negativa, en los sistemas caracterizados hasta la fecha predominan los elementos de regulación positiva. La tercera gran diferencia es la separación física entre transcripción, la cual se da en el núcleo, y traducción, que se da en el citoplasma.

La complejidad de muchos circuitos reguladores en las células eucarióticas es extraordinaria. Terminaremos tratando la elaborada cascada de regulación que controla el desarrollo de las moscas de la fruta.

### La cromatina transcripcionalmente activa es distinguible estructuralmente

Los efectos de la estructura del cromosoma en la regulación génica en eucariotas no tienen paralelismo en procariotas. En las regiones del cromosoma que han sido activadas para transcribirse, se puede observar una gran variedad de cambios estructurales. El más obvio es una sensibilidad incrementada del DNA a la degradación mediada por nucleasas. Cuando se

adicionan nucleasas como la DNasa a disoluciones de cromatina purificada cuidadosamente, tienden a romper el DNA contenido en la cromatina en fragmentos que tienen tamaños predecibles en múltiplos de unos 200 pb, lo que refleja la presencia de una estructura repetida regularmente (el nucleosoma, ver Fig 27-24). Sin embargo, en las regiones que transcriben activamente, los fragmentos son más pequeños y más heterogéneos en tamaño. Dentro de estas regiones se encuentran secuencias especialmente sensibles a la DNasa I, conocidas como **sitios hipersensibles**. Tienen un tamaño generalmente no superior a los 100 o 200 pb y se encuentran frecuentemente en los 1.000 pb que flanquean los extremos 5' de los genes transcritos (en algunos genes, los sitios hipersensibles se encuentran lejos del extremo 5', cercanos al extremo 3', e incluso en el interior del propio gen). Muchos de los sitios hipersensibles corresponden a sitios de unión de proteínas reguladoras conocidas. La ausencia relativa de nucleosomas en estas regiones puede facilitar la unión de proteínas reguladoras.

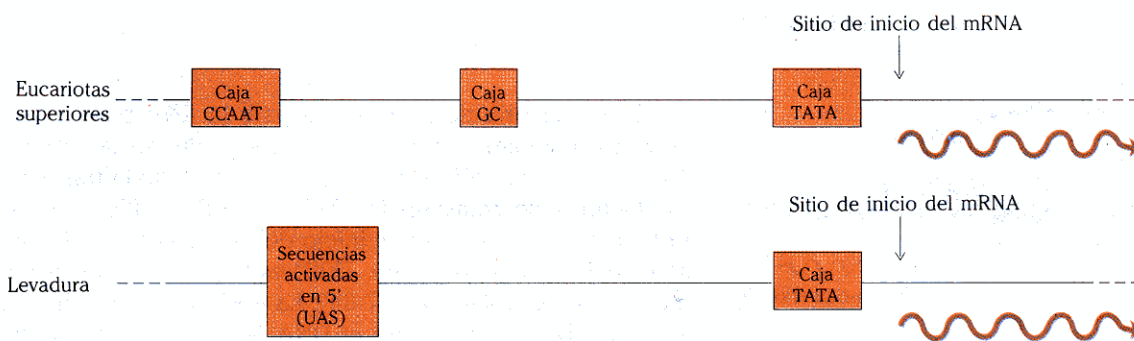
El DNA de la cromatina transcripcionalmente activa también suele estar poco metilado. En las secuencias CpG de DNA eucariótico (p. 347) es frecuente la metilación de los residuos citosina en posición 5'. Los sitios CpG cercanos a muchos genes se encuentran generalmente poco metilados en los tejidos en que son expresados con respecto a los mismos genes en los tejidos donde no lo son.

El último cambio significativamente importante observado durante la transcripción se da en las histonas y proteínas relacionadas. La cromatina transcripcionalmente activa suele ser deficiente en histona H1, y las proteínas del núcleo del nucleosoma muestran una gran tendencia a ser modificadas por acetilación o por unión de ubiquitina (p. 936). En algunos casos, los nucleosomas están ausentes de las regiones transcripcionalmente muy activas, como los genes para el rRNA de muchas células eucarióticas. La pauta general sugiere que la cromatina activa se prepara para la transcripción mediante la eliminación de potenciales barreras estructurales, pero siguen sin comprenderse las funciones moleculares de todos los cambios o los mecanismos por los que se dan.

### **La mayoría de promotores eucarióticos están regulados positivamente**

En general, las RNA polimerasas eucarióticas tienen poca o ninguna afinidad por sus promotores. El inicio de la transcripción es casi siempre dependiente de la acción de una o, más frecuentemente, varias proteínas reguladoras. El extenso uso de mecanismos de regulación positiva es, probablemente, una consecuencia del gran tamaño del genoma eucariótico. Los elementos de regulación negativa parecen ser menos comunes, aunque bajo algunas circunstancias, muchas proteínas reguladoras eucarióticas pueden actuar como activadores y como represores.

Existen como mínimo dos razones posibles para los muchos ejemplos de regulación positiva. En primer lugar, la unión no específica al DNA de proteínas reguladoras se convierte en un problema mucho más importante en los genomas mucho mayores de eucariotas superiores. La posibilidad de que una secuencia de unión específica se una al azar en un lugar inapropiado también aumenta con el tamaño del genoma. Una manera de mejorar la especificidad es usar múltiples proteínas reguladoras. La probabilidad de la existencia al azar de sitios de unión apropiados para varias proteínas diferentes en yuxtaposición funcional correcta es insignificante. En general, el uso de varios elementos de regulación *negativa* no mejora la especificidad, debido a que la unión de uno es suficiente para bloquear la acción de la RNA polimerasa. Sin embargo, la especificidad se puede mejorar si varios elementos de regulación positiva han de unirse específicamente a secuencias de DNA formando de este modo un complejo que active la transcrip-

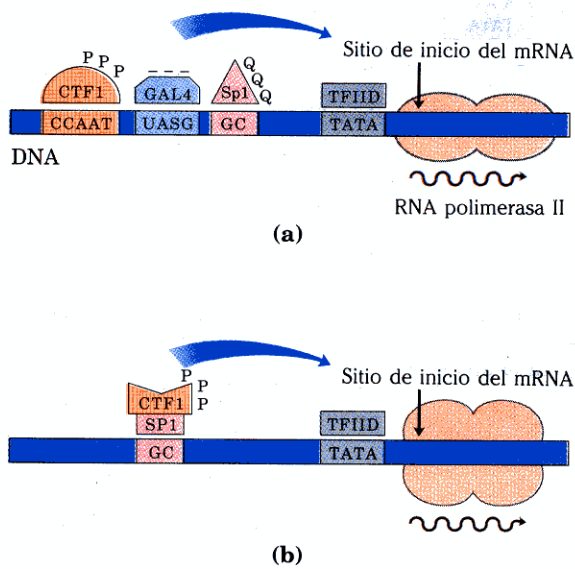


ción. El número medio de sitios reguladores específicos para un gen en un organismo multicelular es probablemente como mínimo de cinco. La segunda razón para el uso de la regulación positiva en un genoma grande es, simplemente, que es más eficiente. Si los 100.000 genes presentes en el genoma humano estuvieran regulados negativamente, cada célula debería fabricar 100.000 represores diferentes en concentración suficiente como para permitir la unión específica de cada uno. En la regulación positiva, la mayoría de los genes están normalmente inactivos (p. ej. las RNA polimerasas no se unen a los promotores) y la célula sólo ha de sintetizar el grupo seleccionado de proteínas reguladoras necesarias para activar la transcripción del pequeño grupo de genes requeridos en esa célula.

Las células eucarióticas tienen tres polimerasas (I, II, y III, p. 863) que son específicas (en una primera aproximación) para diferentes clases de RNA. Los RNA mensajeros se transcriben generalmente por acción de la RNA polimerasa II. Se pueden generalizar dos tipos de promotores eucarióticos para esta polimerasa en función de sus regiones reguladoras, como se muestra en la Figura 27-33, donde se resumen algunos elementos secuenciales reguladores importantes. El primero de estos elementos es la caja TATA (secuencia consenso TATAAAA; ver Fig. 25-7). Las cajas TATA se localizan entre 25 y 30 pb antes del sitio de inicio del mRNA en eucariotas superiores, aunque esta distancia es mucho más variable en levaduras. Estas secuencias parecen corresponderse con sitios de unión para un factor de transcripción denominado TFIID ("TF-dos-D") requerido para la unión de la RNA polimerasa. Aunque las cajas TATA son bastante comunes, se han encontrado muchos genes que se expresan sin ellas. A unos pocos cientos de pares de bases antes del sitio de inicio de la transcripción de un determinado promotor se encuentran, generalmente, algunos elementos adicionales de secuencia corta que intervienen en la regulación del promotor. Dos ejemplos comunes a muchos genes son las cajas GC (secuencia consenso GGGCGG) y las CCAAT (secuencia consenso GCCAAT). Existen elementos reguladores adicionales con estructuras secuenciales más complejas, que se denominan **secuencias activadoras en el lado 5'** ("upstream activator sequences", UAS) en levadura, mientras que en eucariotas superiores son referidas como **potenciadores** ("enhancers"). Para los potenciadores (y las UAS), tanto su localización como su orientación relativa al sitio de inicio de la transcripción son poco importantes; ejercen sus efectos reguladores incluso cuando se desplazan artificialmente mediante experimentos *in vitro*, por lo que podrían encontrarse de manera natural a miles de pares de bases del gen que están regulando.

Cada uno de estos elementos secuenciales es reconocido por una o más proteínas reguladoras que se unen específicamente (factores de transcripción). La regulación comporta interacciones proteína-proteína entre diferentes proteínas reguladoras unidas a diferentes sitios y/o entre las proteínas reguladoras y la RNA polimerasa. Debido a que los sitios de unión al DNA de estas proteínas se encuentran a menudo a cientos, e incluso a miles de pares de bases de distancia entre ellos o del sitio de inicio de la transcripción, estos contactos proteína-proteína suelen implicar la formación de lazos del DNA, al igual que ocurre en el operón *ara* de bacterias (Fig. 27-20), como ya hemos visto.

**Figura 27-33** Esquema general de los promotores eucarióticos, mostrando algunos de los sitios típicos para la unión de proteínas.



**Figura 27-34 (a)** Activadores de la transcripción eucarióticos típicos que afectan a la RNA polimerasa II. TFIID es un factor de transcripción general. CTF1, GAL4 y Sp1 son activadores transcripcionales que se unen a sitios específicos del DNA. La naturaleza del dominio de activación se indica mediante símbolos: PPP, rico en prolina; —, ácido; QQQ, rico en glutamina. Algunas de estas proteínas, o quizá todas ellas, pueden activar la transcripción mediante proteínas intermediarias denominadas coactivadores (no mostradas). Es importante remarcar que los sitios de unión que aquí se muestran no se encuentran generalmente juntos cerca de un gen único. **(b)** Proteína quimérica, formada por el dominio de unión al DNA de Sp1 y el dominio de activación de CTF1, que activa la transcripción si hay una caja GC.

En la mayoría de promotores para la RNA polimerasa II se necesitan factores generales de transcripción que se unen a la RNA polimerasa II para reconocer la caja TATA y proceder al inicio de la transcripción. Éstos son los factores de transcripción TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, y TFIIF. Las dos proteínas que se unen en el inicio del proceso son TFIIA y TFIID. Como ya se mencionó anteriormente, TFIID es la proteína que reconoce específicamente la caja TATA (Fig. 27-34). La RNA polimerasa II se une al complejo TFIIA-TFIID formado sobre el DNA, y es entonces cuando se unen otros factores de transcripción para completar el complejo. A excepción de TFIID, poco se conoce sobre las funciones moleculares detalladas de cada uno de estos factores de transcripción.

El resto de secuencias reguladoras se une generalmente a proteínas activadoras de la transcripción. Estas proteínas muestran típicamente un dominio estructural diferencial para la unión del DNA y uno o más dominios adicionales necesarios para la activación o interacción con otras proteínas reguladoras. La dimerización de proteínas reguladoras está mediada generalmente por dominios que contienen cremalleras de leucina o motivos estructurales hélice-lazo-hélice, descritos anteriormente en este capítulo. Para ilustrar los dominios de activación, hemos elegido ejemplos de tres tipos de dominios estructurales usados para la activación por esta amplia clase de proteínas (Fig. 27-34).

En primer lugar, el factor que se une a la caja GC en vertebrados es una proteína llamada Sp1 ( $M_r$  80.000). El dominio de unión al DNA de Sp1 se encuentra cerca del extremo carboxilo y contiene tres dedos de zinc. Otros dos dominios de esta proteína participan en la activación. Su mecanismo de acción no está claro, aunque estos dominios muestran la característica de que el 25 % de sus residuos aminoácidos son Gln. Una amplia variedad de otras proteínas activadoras conocidas también poseen **dominios ricos en glutamina**.

En segundo lugar, la caja CCAAT se une a una clase específica de proteínas, una de las cuales se conoce como CTF1 ( $M_r$  55.000). El dominio de unión de esta proteína contiene muchos residuos aminoácidos básicos, y la región de unión se encuentra probablemente estructurada en hélice  $\alpha$ . Aparentemente, esta proteína no muestra motivos estructurales hélice-giro-hélice o dedos de zinc, y su mecanismo de unión al DNA permanece desconocido. El dominio de activación es **rico en prolina**, con un número de residuos Pro superior al 20 % del total de los residuos aminoácidos. Otra proteína que se une a la caja CCAAT, conocida como C/EBP, tiene dos dominios de activación; uno es rico en prolina y el otro no pertenece a las categorías aquí descritas. La C/EBP se une al DNA en forma de dímero, y fue la primera proteína en la que se describió la dimerización mediada por cremallera de leucina.

Un ejemplo final es la proteína GAL4, que se une a una secuencia activadora del extremo 5' llamada UAS<sub>G</sub> cercana a los genes para los enzimas del metabolismo de la galactosa en levadura. Esta proteína contiene varios dedos de zinc en su dominio de unión al DNA, localizado cerca del extremo carboxilo. El dominio de activación se diferencia por que contiene numerosos residuos ácidos. Los experimentos de sustitución del **dominio de activación ácido** de GAL4 por una gran variedad de secuencias peptídicas sugieren que la naturaleza ácida de este dominio es crítica, aunque su secuencia de aminoácidos concreta puede variar considerablemente. GAL4 se une al DNA como un dímero, aunque la dimerización está mediada por un motivo estructural diferente a una cremallera de leucina o a un dominio hélice-lazo-hélice.

En general, los distintos dominios de activación y de unión al DNA de estas proteínas reguladoras actúan de modo totalmente independiente. La función de determinados dominios de las proteínas activadoras de la transcripción se elucida frecuentemente gracias a un tipo de experimento

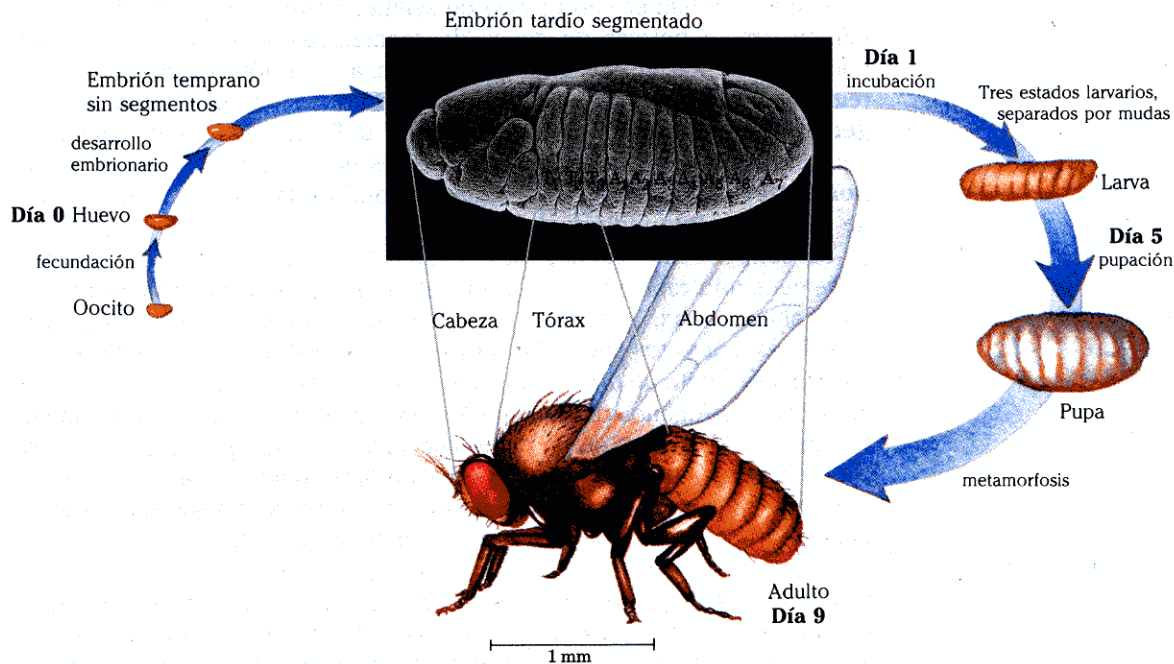
llamado “intercambio de dominios”. Por ejemplo, el dominio de activación rico en prolina de CTF1 puede fusionarse (por ingeniería genética; Capítulo 28) con el dominio de unión al DNA de Sp1 para crear una proteína que se une a las cajas GC manteniendo su capacidad de activación de la transcripción (Fig. 27-34b). De manera similar, se ha reemplazado el dominio de unión al DNA de GAL4 por el dominio de unión al DNA del represor procariótico LexA. Esta proteína quimérica no se une a UAS<sub>G</sub> y no activa los genes *gal* de levadura, aunque activa la transcripción en levaduras de modo normal cuando la secuencia UAS<sub>G</sub> en el DNA se reemplaza por el sitio de reconocimiento de LexA. Experimentos similares han ayudado a mapear los dominios requeridos para la unión al DNA y para la activación en muchas proteínas activadoras.

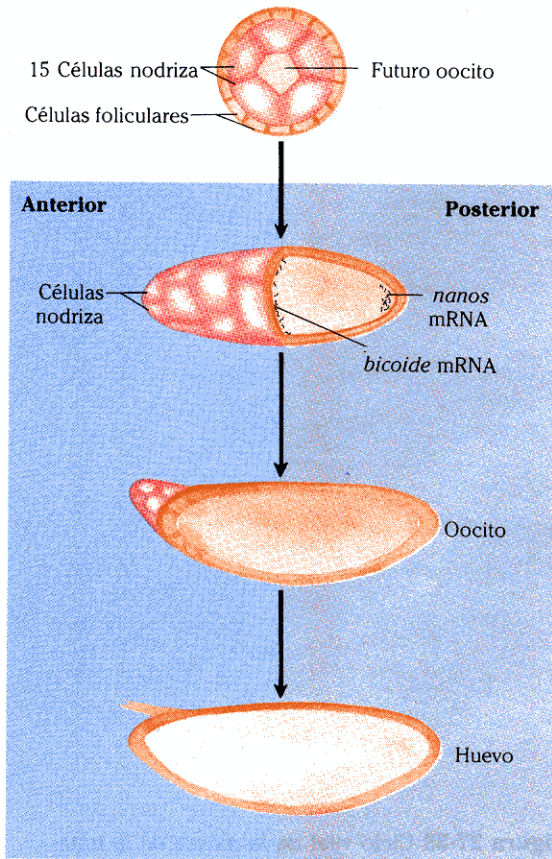
Los mecanismos por los que estos activadores afectan a la transcripción no están todavía claros. Proteínas como GAL4, con dominios de activación ácidos, pueden interactuar directamente con la RNA polimerasa II o con TFIID. Los activadores Sp1 y CTF1 podrían actuar a través de proteínas puente adicionales denominadas coactivadores. La complejidad de estas interacciones, el número de proteínas implicadas, y el papel central de estos procesos reguladores en la vida de cada eucariota, aseguran que ésta seguirá siendo un área de vigorosa investigación.

**Una cascada de proteínas reguladoras controla el desarrollo**

Las transiciones en la morfología y en la composición proteica, observadas durante el desarrollo de un cigoto para dar lugar a un animal o planta multicelular, con variedad de tejidos y tipos celulares, comportan grandes cambios coordinados en la expresión del genoma del organismo. Durante el desarrollo temprano se expresan muchos más genes que en cualquier otra fase del ciclo de vida. A modo de ejemplo, en el oocito del erizo de mar hay unos 18.500 mRNA *diferentes*, aunque en las células de sus tejidos diferenciados sólo se encuentran unos 6.000. Los mRNA presentes en el oocito dan lugar a una cascada de sucesos que no sólo regulan la expresión de muchos genes sino que también determinan dónde y cuándo aparecerán los productos génicos en el organismo en desarrollo.

**Figura 27-35** Ciclo vital de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*. Una vez completada la metamorfosis, el insecto adulto es radicalmente diferente en su morfología respecto a sus estados inmaduros; este proceso necesita un importante “remodelaje” del desarrollo. En el último estadio embrionario, se han formado los segmentos a partir de los cuales se originarán diversas estructuras cuando se desarrolle la mosca adulta.





**Figura 27-36** Desarrollo de un huevo de *Drosophila*. Se depositan mRNA maternos (incluyendo los transcritos de los genes *bicoide* y *nanos*, discutidos en el texto), y proteínas, en el oocito en desarrollo, gracias a la acción de las células nodriza y foliculares.

Existen varios organismos que pueden ser considerados como buenos modelos para el estudio del desarrollo. Entre ellos encontramos levaduras, nemátodos, moscas de la fruta, erizos de mar, ranas, pollos y ratones. Nos centraremos en el desarrollo de las moscas de la fruta. En estos insectos, los conocimientos sobre los acontecimientos moleculares que se dan durante el desarrollo están muy avanzados, por lo que pueden ser usados para ilustrar modelos y principios de importancia general.

La mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, tiene un complejo ciclo vital que incluye una metamorfosis completa en su progresión desde el embrión hasta el adulto (Fig. 27-35, p. 977). Entre las características más importantes del embrión encontramos su **polaridad** (las partes del animal anterior y posterior, dorsal y ventral, están claramente diferenciadas) y su **metamerismo** (el cuerpo del embrión está formado por una serie de segmentos repetidos, cada uno de los cuales muestra un patrón estructural característico). La mosca adulta también está segmentada, y la agrupación de estos segmentos origina la cabeza, el tórax y el abdomen (Fig. 27-35). Cada segmento del tórax del adulto tiene una serie distinta de apéndices. Todos estos patrones estructurales se encuentran bajo control genético. Se han descubierto una gran variedad de genes reguladores del patrón estructural que afectan significativamente la organización del cuerpo, y su análisis ha ofrecido importantes claves de cómo se regula el desarrollo.

El huevo se forma a partir de un oocito rodeado de 15 células nodriza y una capa de células foliculares (Fig. 27-36). Conforme se va formando la célula huevo, antes de la fertilización, se le van depositando mRNA y proteínas originadas en las células nodriza y foliculares, que tendrán un importante papel en el desarrollo.

Tres modelos principales de regulación génica especifican las características básicas de la función y el cuerpo del embrión de *Drosophila* y en los sucesivos estadios del desarrollo. (1) Los **genes maternos** se expresan en el huevo antes de la fertilización (oocito), y los **mRNA maternos** resultantes se mantienen en forma latente hasta la misma. Éstos son la fuente de la mayoría de proteínas necesarias en el desarrollo muy temprano. Algunas de las proteínas codificadas por estos mRNA dirigen la organización espacial del embrión en desarrollo en los estadios iniciales, estableciendo su polaridad. (2) Los **genes de segmentación** se transcriben a partir del genoma celular después de la fertilización y dirigen la formación del número apropiado de segmentos del cuerpo. Existen como mínimo tres subclases de genes de segmentación que actúan en fases consecutivas: los **genes gap** que dividen al embrión en cuatro amplias regiones, los **genes de la regla par** que definen las siete bandas, y los **genes de polaridad segmentaria** que definen las 14 bandas que se convertirán en los 14 segmentos presentes en el embrión. (3) Los **genes homeóticos** se expresan más tarde afectando a las características únicas de cada segmento individual del cuerpo.

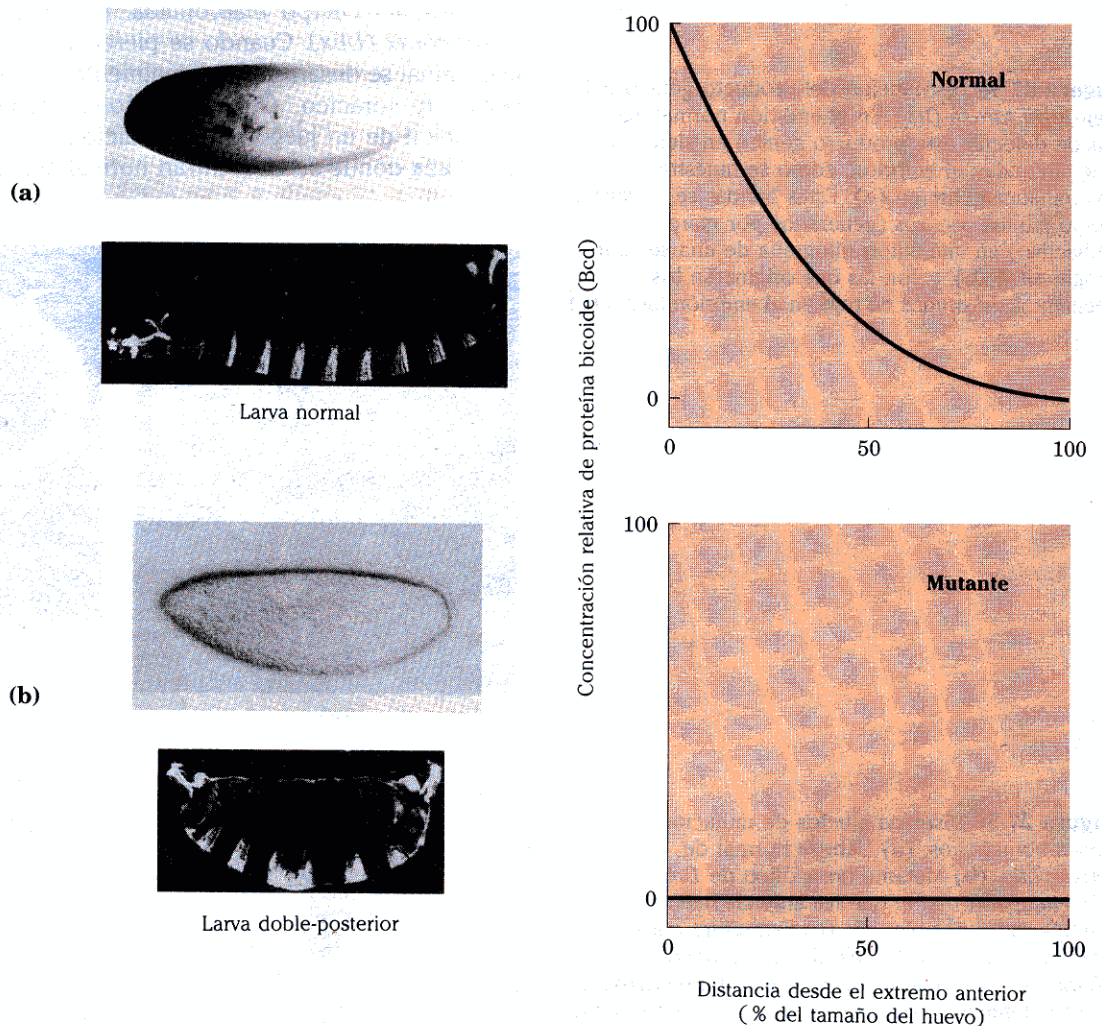
Se conocen más de 40 genes de estas tres clases, y su número se está incrementando rápidamente. Dirigen el desarrollo hacia una mosca adulta con cabeza, tórax, abdomen, el número de segmentos adecuados, y los apéndices correctos en cada segmento. Aunque la embriogénesis dura aproximadamente un día, todos estos genes se han activado en las primeras cuatro horas. Algunos de los mRNA y proteínas están presentes únicamente entre 6 y 8 minutos en un punto específico durante este período. Como era de esperar, muchos de estos genes codifican para factores de transcripción que afectan a la expresión de los genes que se expresarán sucesivamente en una especie de cascada que originará el desarrollo.

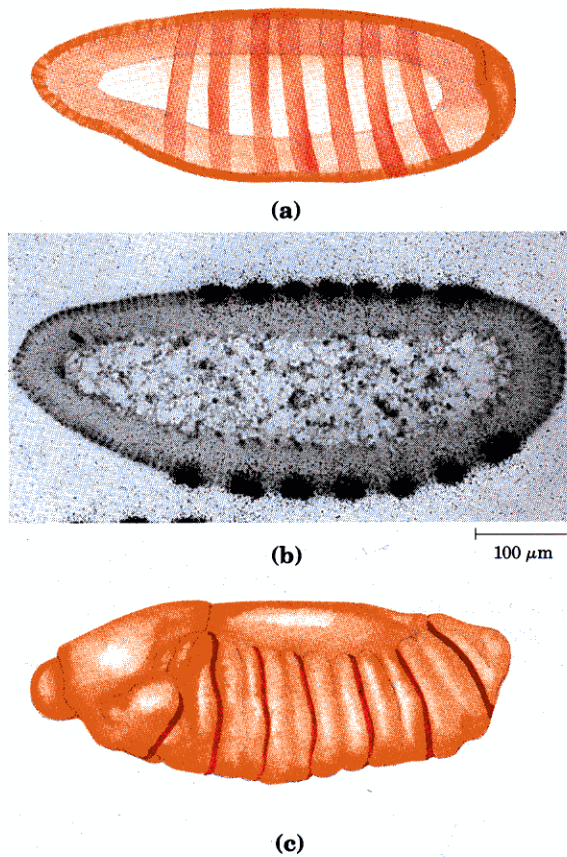
**Genes maternos** Los productos génicos maternos en el huevo de *Drosophila* establecen dos ejes: el antero-posterior y el dorso-ventral. Antes de la fertilización, estos genes han definido las regiones en la simetría radial del

huevo que se desarrollarán en cabeza/abdomen y parte dorsal/parte ventral de la mosca adulta. Una característica clave de algunos mRNA maternos es su distribución asimétrica en el huevo. Al darse la primera división celular, las células hijas heredan diferentes cantidades de estos mRNA maternos como resultado de su asimetría, y esto origina nuevas células en diferentes vías de desarrollo. Los productos de estos mRNA maternos regulan la expresión de otros genes reguladores, originando una cascada de genes que se expresan. Los patrones específicos de expresión y la secuencia en la que los genes se expresan, difieren de una línea celular a la siguiente y dirigen el desarrollo de cada estructura del adulto.

Un ejemplo bien estudiado es el producto génico *bicoide* (*bcd*) ("bicoide") de *Drosophila*. El mRNA de este gen es sintetizado por las células nodriza, y se deposita en el huevo antes de la fertilización, cerca del polo anterior. Durante el desarrollo temprano, este mRNA es traducido, y la proteína bicoide resultante se difunde por la célula, creando un gradiente de concentración a partir del polo anterior (Fig. 27-37). La proteína bicoide es un factor de transcripción que afecta a la expresión de varios genes de segmentación. Las cantidades de esta proteína presentes en varias partes del embrión en desarrollo determinan cuáles son las células en las que se expresarán otros genes a continuación. Los cambios en el perfil del gradiente de la proteína bicoide tienen fuertes efectos sobre el patrón corporal del individuo resultante. La pérdida de esta proteína origina el desarrollo de

**Figura 27-37 (a)** Micrografía de un huevo de *Drosophila* teñido inmunológicamente, mostrando la distribución del producto del gen *bicoide* (*bcd*). La gráfica mide la intensidad de tinción. Esta distribución es esencial para el desarrollo normal de las estructuras anteriores del animal. Si no se expresa el gen *bcd*, el embrión resultante tiene dos partes posteriores, como se muestra en **(b)**.



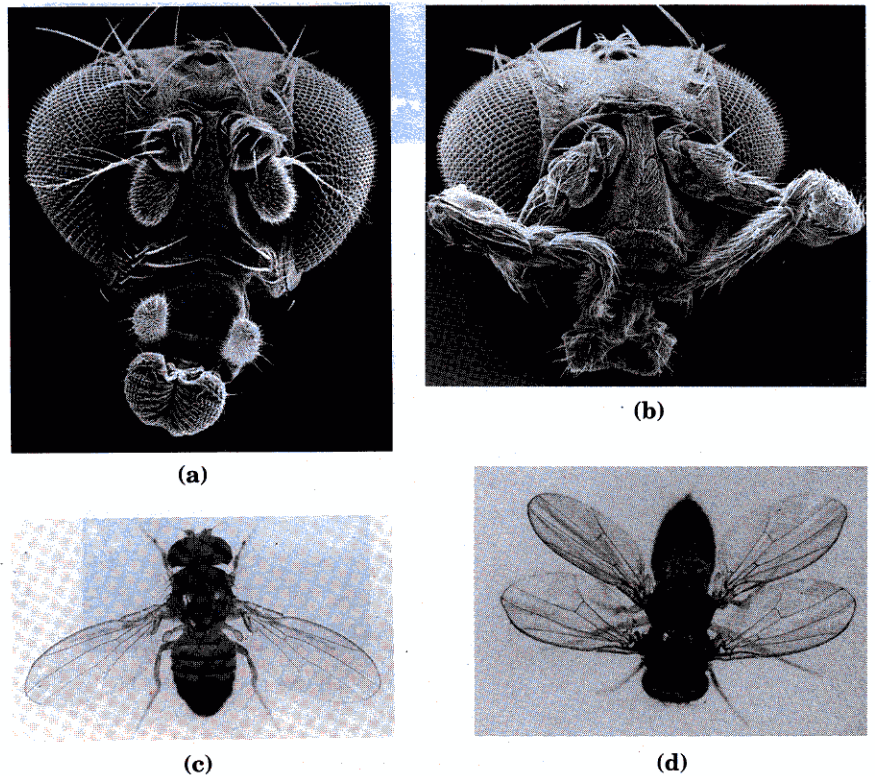


**Figura 27-38** Distribución del producto génico del gen *fushi tarazu* (*ftz*). En el embrión normal, se puede detectar este producto génico en siete bandas que circundan al embrión, como se muestra esquemáticamente en (a). Estas bandas se visualizan como puntos oscuros (generados por marcaje radiactivo) en una autorradiografía de una sección longitudinal (b), y son las que originarán los segmentos mostrados en rojo en el embrión tardío (c).

un embrión sin cabeza ni tórax y con dos abdómenes. Otro mRNA materno, transcrito a partir de un gen llamado *nanos*, juega un papel similar pero se localiza en el polo posterior del huevo. El eje dorso-ventral en el huevo se establece gracias a la acción combinada de un mínimo de 12 genes.

**Genes de segmentación** La expresión de los genes *gap* se halla generalmente regulada por los productos de uno o más genes maternos. Por ejemplo, la proteína bicoide parece ser la activadora de la expresión de un gen *gap* llamado *toroba* ("hunchback"). Como mínimo algunos de los genes *gap* son factores de transcripción que afectan a la expresión de otros genes homeóticos y de segmentación. Un gen de segmentación muy bien caracterizado es el *fushi tarazu* (*ftz*), que pertenece a la subclase de los genes de "regla par". Cuando se pierde este gen, el embrión desarrolla siete segmentos de doble anchura, en lugar de los 14 normales. Los mRNA y las proteínas derivadas del gen *ftz* normal se acumulan en un llamativo patrón de siete bandas que abarcan los dos tercios posteriores del embrión (Fig. 27-38). Las bandas se corresponden con las posiciones de los segmentos que se desarrollarán más tarde, y que son eliminados si desaparece el gen *ftz*. La expresión de los genes reguladores de patrón estructural como el *ftz* (y *bcd*, expresado más tempranamente en el desarrollo) establece una especie de anteproyecto químico que precede a la formación final de la estructura corporal.

**Genes homeóticos** La pérdida de genes homeóticos, mediante delección o mutación, origina la aparición de apéndices o estructuras corporales en una posición del cuerpo inapropiada. Un ejemplo importante es el del gen *ultrabitórax* (*Ubx*). Cuando se pierde la función *Ubx*, el primer segmento abdominal se desarrolla anormalmente, tomando la estructura de un tercer segmento torácico. Otras mutaciones homeóticas conocidas causan la formación de un juego de alas adicional, o dos piernas en la posición de la cabeza donde se encuentran normalmente las antenas (Fig. 27-39).



**Figura 27-39** Diversos efectos de mutaciones en genes homeóticos. (a) Cabeza normal de *Drosophila*. (b) Mutante homeótico de *Drosophila* (*Antennapedia*) en el que las antenas han sido reemplazadas por piernas. (c) Estructura corporal normal de *Drosophila*. (d) Mutante homeótico (*Bithorax*) en el que un segmento se ha desarrollado incorrectamente produciendo un juego de alas extra.



Los genes homeóticos ocupan largas regiones del DNA. El gen *Ubx*, por ejemplo, tiene 77.000 pares de bases de tamaño y contiene intrones que son hasta de 50.000 pares de bases. La transcripción de este gen dura cerca de una hora. Se piensa que este retraso impuesto sobre la expresión del gen *Ubx* es un mecanismo implicado en la regulación temporal de los siguientes pasos del desarrollo.

La naturaleza exacta de muchos de los acontecimientos dirigidos por estas proteínas, y en muchos casos la función bioquímica de las mismas proteínas, es desconocida. Sin embargo, un dominio similar a los que se unen al DNA ha sido identificado en varias de estas proteínas, lo cual sugiere que son proteínas reguladoras. Este dominio contiene 60 aminoácidos y se denomina **homeodominio** porque se encontró en primer lugar en genes homeóticos. La secuencia de DNA que codifica para este dominio se denomina **caja homeo** ("homeobox"). Está altamente conservada y se ha identificado en proteínas de una gran variedad de organismos. El segmento del dominio que se une al DNA es del tipo hélice-giro-hélice.

La correlación de los determinantes estructurales con funciones moleculares identificables es el primer paso en la comprensión de los acontecimientos moleculares que marcan el desarrollo. Cuantos más genes y productos génicos se descubran, antes se conocerán las características bioquímicas de este complicado rompecabezas.

---

## Resumen

---

La expresión génica está regulada mediante varios procesos que afectan a la proporción con la que se sintetizan y degradan los productos génicos. La mayor parte de esta regulación se da a nivel del inicio de la transcripción y está mediada por proteínas reguladoras que reprimen o activan la transcripción de promotores específicos. La regulación mediante activadores y represores se denomina regulación negativa y positiva, respectivamente.

En procariontes, los genes cuyas funciones son interdependientes se encuentran generalmente agrupados en una única unidad de transcripción llamada operón. La transcripción de los genes del operón se encuentra normalmente bloqueada por la unión de una proteína represora específica en un sitio del DNA denominado operador. Una pequeña molécula, llamada inductor, media la disociación del represor del operador. Estos principios se dedujeron por primera vez del estudio del operón lactosa (*lac*). Cuando el represor Lac se une al inductor biológico, la alolactosa, se disocia del operador *lac*.

Las proteínas reguladoras son proteínas que se unen al DNA mediante el reconocimiento de secuencias específicas. La mayoría de estas proteínas poseen dominios característicos de unión al DNA. Entre estos dominios, los motivos estructurales habitualmente implicados en la unión al DNA son la hélice-giro-hélice y los dedos de zinc. Las proteínas reguladoras también contienen dominios para la interacción proteína-proteína, entre los que encontramos los motivos hélice-lazo-hélice y las cremalleras de leucina, implicados en la dimerización, y varias clases de dominios que participan en la activación de la transcripción.

El operón lactosa de *E. coli* también está sometido a regulación positiva por la proteína activadora del catabolito (CAP). Cuando la concentración de cAMP es alta (la concentración de glucosa es baja), la CAP se une a un lugar específico del DNA, estimulando la transcripción del operón *lac* y produciendo los enzimas del metabolismo de la lactosa. La presencia de glucosa disminuye las concentraciones de cAMP, restringiendo la expresión de los genes *lac* (y de otros) y suprimiendo el uso de azúcares secundarios. El conjunto de varios operones regulados coordinadamente, como por ejemplo mediante CAP y cAMP, forman un regulón.

En procariontes también se observan otros mecanismos de regulación. En el operón arabinosa (*ara*), la proteína AraC actúa como activador y como represor. Algunos represores, como en el operón *ara* y en el sistema del bacteriófago  $\lambda$ , regulan su propia síntesis (autorregulación). Algunas proteínas reguladoras del sistema *ara* se unen a sitios muy distantes entre sí e interactúan por el mecanismo de formación de lazos de DNA. Los operones codificantes para los enzimas implicados en la biosíntesis de aminoácidos muestran un sistema regulador, llamado atenuación, que utiliza un sitio de terminación de la transcripción (el atenuador) modulando su formación en el mRNA mediante un mecanismo que acopla la transcripción

con la traducción y que responde a pequeños cambios en las concentraciones de aminoácidos. En el sistema SOS, un único tipo de proteína reprime múltiples genes no relacionados; éstos son inducidos simultáneamente cuando una agresión al DNA dispara la proteólisis del represor mediante la acción de la proteína RecA. El bacteriófago  $\lambda$  muestra un circuito regulador complejo que elige entre lisis y lisogenia. Dos proteínas de  $\lambda$ , N y Q, actúan como antiterminadores, modificando a la RNA polimerasa del huésped de tal modo que pueda ignorar los sitios de terminación de la transcripción. Por último, algunos genes procarióticos son regulados mediante procesos de recombinación génica que trasladan físicamente los promotores con respecto a los genes a los que están regulando. Estos diversos mecanismos permiten respuestas celulares muy sensibles frente a cambios en las condiciones ambientales.

También existe regulación a nivel de la traducción. En bacterias, la síntesis de proteínas ribosómicas está regida por una estrategia en la que una proteína de cada operón actúa como un represor de la traducción. El mRNA se une al represor y la traducción se bloquea sólo cuando la proteína ribosómica está presente en exceso con respecto al rRNA disponible.

Los eucariotas también emplean muchos de estos esquemas reguladores, aunque la regulación positiva parece ser más común y la transcripción comporta grandes cambios en la estructura de la cromatina.

Las proteínas activadoras de la transcripción eucariótica son generalmente necesarias para que la RNA polimerasa se una al DNA y sea activa. Algunos factores de transcripción tienen funciones generales; por ejemplo, los factores TFII asociados con la RNA polimerasa II son necesarios para casi todos los promotores de esta polimerasa. Otros activadores transcripcionales, únicos para un gen o para una serie de genes, muestran distintos dominios para la unión al DNA y para su activación, y sus sitios de unión al DNA se encuentra generalmente a cientos de pares de bases del sitio donde comienza la síntesis del RNA.

El desarrollo de un animal multicelular es quizás el problema de regulación más complejo. En este caso, una serie de genes reguladores actúan en una sucesión temporal y espacial, convirtiendo un área determinada de una célula huevo en una estructura predecible en el animal adulto. La investigación de las bases moleculares de este proceso altamente coordinado continúa.

## Bibliografía

### General

**Ingraham, J.L., Magasanik, B., Low, K.B., Schaechter, M., & Umberger, H.E.** (eds) (1987) *Escherichia coli and Salmonella typhimurium, Cellular and Molecular Biology*, Vol. 2, American Society for Microbiology, Washington, DC.

*Excelente fuente de referencia para revisiones sobre muchos operones bacterianos.*

**Pabo, C.O. & Sauer, R.T.** (1992) Transcription factors: structural factors and principles of DNA recognition. *Annu. Rev. Biochem.* **61**, 1053-1095.

**Schleif, R.** (1986) *Genetics and Molecular Biology*, Addison-Wesley Publishing Co., Inc., Reading, MA.

*Los Capítulos 12, 13 y 14 contienen excelentes exposiciones sobre las bases experimentales de los conceptos principales de regulación génica en procariotas.*

**Schleif, R.** (1992) DNA looping. *Annu. Rev. Biochem.* **61**, 199-223.

**Struhl, K.** (1989) Helix-turn-helix, zinc-finger, and leucine-zipper motifs for eukaryotic transcription regulatory proteins. *Trends Biochem. Sci.* **14**, 137-140.

**Watson, J.D., Hopkins, N.H., Roberts, J.W., Steitz, J.A., & Weiner, A.M.** (1987) *Molecular Biology of the Gene*, 4.<sup>a</sup> ed, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Menlo Park, CA.

### Regulación de la expresión génica en procariotas

**Gottesman, S.** (1984) Bacterial regulation: global regulatory networks. *Annu. Rev. Genet.* **18**, 415-441.

**Jacob, F. & Monod, J.** (1961) Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.* **3**, 318-356.

*En este histórico artículo se proponen el modelo del operón y el concepto de mRNA.*

**Nomura, M., Gourse, R., & Baughman, G.** (1984) Regulation of the synthesis of ribosomes and ribosomal components. *Annu. Rev. Biochem.* **53**, 75-117.

**Ptashne, M., Johnson, A.D., & Pabo, C.O.** (1982) A genetic switch in a bacterial virus. *Sci. Am.* **247** (noviembre), 128-140.

**Stephens, J.C., Artz, S.W., & Ames, B.N.** (1975) Guanosine 5'-diphosphate 3'-diphosphate (ppGpp): positive effector for histidine operon transcription and general signal for amino acid deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**, 4389-4393.

**Yanofsky, C.** (1981) Attenuation in the control of expression of bacterial operons. *Nature* **289**, 751-758.

**Zieg, J., Silverman, M., Hilmen, M., & Simon, M.** (1977) Recombination switch for gene expression. *Science* **196**, 170-172.

**Regulación de la expresión génica en eucariotas**

**Beardsley, T.** (1991) Smart genes. *Sci. Am.* **265** (agosto), 86-95.

*Revisión de la regulación génica durante el desarrollo.*

**DeRobertis, E.M., Oliver, G., & Wright, C.V.E.** (1990) Homeobox genes and the vertebrate body plan. *Sci. Am.* **263** (julio), 46-52.

**Guarente, L.** (1988) UASs and enhancers: common mechanism of transcriptional activation in yeast and mammals. *Cell* **52**, 303-305.

**Kornberg, R.D. & Lorch, Y.** (1991) Irresistible force meets immovable object: transcription and the nucleosome. *Cell* **67**, 833-836.

**McKnight, S.L.** (1991) Molecular zippers in gene regulation. *Sci. Am.* **264** (abril), 54-64.

*Una buena descripción de las cremalleras de leucina.*

**Melton, D.A.** (1991) Pattern formation during animal development. *Science* **252**, 234-241.

**Ptashne, M.** (1989) How gene activators work. *Sci. Am.* **260** (enero), 40-47.

**Pugh, B.F. & Tjian, R.** (1992) Diverse transcriptional functions of the multisubunit eukaryotic TFIID complex. *J. Biol. Chem.* **267**, 679-682.

**Struhl, K.** (1987) Promoters, activator proteins, and the mechanism of transcriptional initiation in yeast. *Cell* **49**, 295-297.

**Thummel, C.S.** (1992) Mechanisms of transcriptional timing in *Drosophila*. *Science* **255**, 39-40.

**Zlatonova, J.** (1990) Histone H1 and the regulation of transcription of eukaryotic genes. *Trends Biochem. Sci.* **15**, 273-276.

---

## Problemas

---

**1. Regulación negativa** Para el operón *lac*, describa los posibles efectos sobre la expresión génica de:

- Mutaciones en el operador *lac*
- Mutaciones en el gen *lacI*
- Mutaciones en el promotor

**2. Efecto en la estabilidad de los mRNA y de las proteínas** Una célula de *E. coli* está creciendo en una disolución con glucosa como fuente de C. Se añade triptófano. Las células crecen y se dividen cada 30 minutos. Describa (cualitativamente) cómo cambiará en las células la actividad triptófano sintasa si:

- El *trp* mRNA es estable (se degrada lentamente durante varias horas).
- El *trp* mRNA se degrada rápidamente, pero la triptófano sintasa es estable.
- El *trp* mRNA y la triptófano sintasa se degradan rápidamente.

**3. Dominios funcionales de las proteínas reguladoras** Un bioquímico reemplaza el dominio de unión de DNA de la proteína de levadura GAL4 por el dominio de unión a DNA del represor  $\lambda$  (CI) y encuentra que la proteína recombinante ya no actúa como un activador de la transcripción (ya no regula la transcripción de los genes *gal* en levadura). ¿Qué se debería hacer al sitio de unión del DNA de la proteína GAL4 para hacer que la proteína recombinante sea funcional en la activación de la transcripción del operón *gal*?

**4. Bacteriófago  $\lambda$**  Una bacteria que se vuelve lisogénica para el bacteriófago  $\lambda$  es inmune a infecciones líticas posteriores por  $\lambda$ . ¿Por qué?

**5. Regulación mediante recombinación** En el sistema de variación de fase de *Salmonella*, ¿qué le ocurriría a

la célula si la recombinasa Hin se volviera más activa y promoviera la recombinación varias veces en cada generación celular?

**6. Atenuación de la transcripción** ¿Cuál sería el efecto sobre la región guía del *trp* mRNA al:

- ¿Aumentar la distancia (número de bases) entre el gen del péptido guía y la secuencia 2?
- ¿Aumentar la distancia entre las secuencias 2 y 3?
- ¿Eliminar la secuencia 4?

**7. Unión específica al DNA por proteínas reguladoras** Un represor procariótico típico discrimina entre su secuencia específica de unión (operador) y las no específicas en un factor de  $10^5$  a  $10^6$ . Para asegurar un alto grado de represión son suficientes unas 10 moléculas por célula. Imagínese que en una célula humana existiera un represor muy similar y que tuviera una afinidad parecida para su sitio de unión. ¿Cuántas copias del represor se necesitarían por célula para conseguir un nivel de represión similar al de la célula procariótica? (Sugerencia: el genoma de *Escherichia coli* contiene aproximadamente 4,7 millones de pares de bases y el genoma humano unos 2.400 millones.)

**8. Regulación positiva** Se descubre una nueva actividad RNA polimerasa en un extracto crudo de células derivado de un hongo exótico. Esta RNA polimerasa inicia la transcripción únicamente a partir de un único promotor altamente especializado. A medida que se purifica la polimerasa su actividad va disminuyendo. El enzima puro resulta totalmente inactivo a no ser que se le añada extracto crudo a la mezcla de reacción. Sugiera una explicación para estas observaciones.