

34

CAPÍTULO

Regulación de la expresión genética

Los seres vivos están en constante intercambio de materia, energía e información con el medio, ésta es una característica esencial de la vida, pero este intercambio no se produce de igual manera en todos los organismos.

Las bacterias, por la forma en que viven, están sometidas a cambios pronunciados del medio, del cual extraen sus fuentes de sobrevivencia. Los eucariontes monocelulares, aunque poseen una estructura más compleja, están en iguales condiciones.

En los organismos pluricelulares más desarrollados no todas las células se encuentran expuestas a grandes cambios en la composición del medio; en el hombre, sólo las células del tubo digestivo y el hígado experimentan grandes variaciones en la composición del medio; el resto de las células del organismo se desarrollan en un medio de composición prácticamente constante.

Estas condiciones de vida influyen significativamente en los mecanismos utilizados por cada tipo de organismo, que le permite adaptarse a los cambios ambientales. Los organismos monocelulares deben poseer mecanismos que funcionen de manera rápida, tanto, como cambia el medio; mientras los organismos superiores pueden emplear mecanismos de respuesta más lenta.

La presencia de nutrientes, su tipo y cantidad son algunos de los factores que más influyen en la sobrevivencia de un organismo; si éste no dispone de mecanismos capaces de adaptar su metabolismo, cuando se producen cambios negativos de nutrientes en el medio, perecerá en un tiempo más bien corto.

En este capítulo se estudiarán los mecanismos generales de regulación de expresión de la información genética en los diferentes niveles, que permiten a los organismos adaptarse a las condiciones cambiantes del medio. Se comienza por presentarlos en procariontes, donde han sido mejor estudiados y posteriormente se hacen algunas consideraciones acerca de los conocimientos actuales sobre la situación en los organismos pluricelulares.

Aspectos generales

Los mecanismos de selección natural han ido conservando las formas de vida que presentan mayor eficiencia. Entre los organismos monocelulares, cualesquiera cambios permanente y hereditario que aumenten la eficiencia global del metabolismo celular, hacen que estos tipos crezcan algo más rápido que el tipo silvestre. Si se deja pasar un tiempo prolongado la nueva línea celular, desplazará totalmente al tipo silvestre.

Por ejemplo, si en una población de 10^9 bacterias que duplican su número en 30 minutos, una bacteria es alterada de forma que se duplique cada 29,5 minutos, en aproximadamente 80 días de crecimiento continuo, el 99,9 % de la población será del nuevo tipo; este tiempo es quizás muy largo en términos de trabajo de laboratorio, pero es insignificante en cuanto a tiempo evolutivo se refiere, por lo tanto, sobre esta base es razonable pensar que los sistemas de regulación surgieron y se desarrollaron en el sentido de ganar mayor eficiencia, como consecuencia del proceso de evolución.

Existen algunas características más o menos generales de la regulación intracelular que pueden resumirse en las siguientes:

1. Las moléculas que ocasionalmente se utilizan, son sintetizadas sólo en el momento para ser empleadas.
2. Una actividad enzimática que consume energía de manera inútil en un momento dado, o utiliza una sustancia que es sustrato de otra reacción de mayor prioridad, está frecuentemente inhibida.
3. Cuando existen varias vías posibles de producción de energía, la célula utiliza la que produce mayor cantidad por unidad de tiempo.
4. Una alteración de una vía biosintética, que reduce la producción de moléculas deficientes, resulta eficaz y tiende a conservarse.

La característica esencial de estos mecanismos de regulación es que ellos se conectan y desconectan según la necesidad. No existen ejemplos de mecanismos que estén completamente desconectados y siempre existe un nivel basal de funcionamiento. Por comodidad para hacer referencia a un sistema que funciona a su nivel basal, se dice que está desconectado.

En los sistemas bacterianos, donde varias enzimas actúan de forma sucesiva en una ruta metabólica, es frecuente el hecho de que, todas están presentes o todas están ausentes; este fenómeno recibe el nombre de regulación coordinada.

La regulación de la expresión de la información genética, puede realizarse al nivel pretranscripcional, transcripcional y postranscripcional; el segundo caso es el más frecuente y el más económico.

Regulación transcripcional

Los mecanismos moleculares para cada sistema de regulación pueden variar mucho, pero frecuentemente se clasifican en 2 grandes tipos: positivos y negativos.

En la regulación negativa, la célula presenta un inhibidor, cuya acción determina que la transcripción se encuentre desconectada. En la positiva, hay moléculas que provocan una activación del promotor. Las regulaciones positiva y negativa no son excluyentes, y de hecho existen sistemas que están regulados por las 2 formas.

En estos casos se hace necesaria la existencia de 2 efectores. Para evitar confusiones en lo sucesivo, debe tenerse presente la diferencia fundamental entre las 2 formas mencionadas. En la regulación negativa la unión del efector (que suele ser una proteína) al ADN provoca la inhibición de la transcripción, en tanto, que en la positiva, la unión determina una activación de la transcripción.

A continuación se presenta un estudio más o menos detallado de los principales mecanismos de regulación transcripcional.

Inducción enzimática

Desde principios de este siglo se conoce que la *E. coli* cuando crece, en un medio que contiene glucosa, no utiliza la lactosa que se añade al medio de cultivo. Si se trasladan las células a un medio carente de glucosa, pero que contiene lactosa como

fente de carbono, a los pocos minutos las células utilizan la lactosa de manera eficiente. Si al medio anterior se añade glucosa, a los pocos minutos las células dejan de utilizar la lactosa y continúan utilizando sólo glucosa.

Si se añaden al medio simultáneamente la glucosa y la lactosa, las células utilizan la glucosa y una vez agotada ésta, comienzan a utilizar la lactosa. La primera explicación que se dio a este fenómeno, conocido entonces como adaptación enzimática, fue la existencia en las células de precursores inactivos de las enzimas que utilizaban la lactosa y que ésta activaba.

Para investigar la certeza de esta hipótesis se realizó una experiencia que, por su sencillez y claridad, se expone a modo de ilustración.

Se tomó una colonia de *E. coli*, se puso a crecer en un medio que contenía [³²S]-Metionina, al cual no se añadía lactosa; después de algún tiempo las células fueron lavadas y pasadas a un medio con metionina normal, a los pocos minutos se añadió lactosa; se midió la aparición de las enzimas activas y cuando alcanzaron un valor elevado, se homogeneizó el cultivo y se aislaron las enzimas; se midió la radiactividad y se comprobó que no contenían azufre radiactivo.

Se repite la experiencia pero incorporando la metionina radiactiva junto con la lactosa y después de un procesamiento similar se detecta el azufre radiactivo en las enzimas. Como se deduce de este experimento, las enzimas no existen como precursores inactivos en ausencia de lactosa, sino que son sintetizadas totalmente a partir del momento en que la lactosa es añadida, siempre que el medio no contenga glucosa.

Luego pudo comprobarse que además de la enzima β-galactosidasa, que hidroliza el enlace β-glicosídico de la lactosa produciendo galactosa y glucosa, se producía la inducción de una proteína que llamaron galactopermeasa, pues ésta forma parte del sistema transportador de membrana para los galactósidos. De manera coordinada se regula la síntesis de las proteínas que favorecen el transporte del azúcar hacia el interior de la célula y las que comienzan su degradación.

Hoy se sabe que hay una tercera enzima implicada en la inducción, la denominada galactosa transacetilasa, cuya función en el metabolismo de la galactosa no está totalmente esclarecido.

A este fenómeno mediante el cual la presencia de una sustancia en el medio provoca la síntesis de una determinada enzima, o grupo de enzimas, se le da actualmente el nombre de inducción de la síntesis de enzimas o inducción enzimática (Fig. 34.1).

El estudio de distintos microorganismos con medios selectivos ha puesto de manifiesto que la inducción enzimática no es exclusiva de las enzimas del metabolismo de la lactosa, sino que está presente o relacionada con las enzimas que intervienen en el catabolismo de otros azúcares.

Las sustancias capaces de provocar la inducción reciben el nombre de inductores, éstos son metabolizados por la enzima y sus concentraciones disminuyen con el tiempo. Existen sustancias, relacionadas estructuralmente con los inductores naturales, que tienen un poderoso efecto inductor, pero no son metabolizadas por las enzimas, denominadas inductores gratuitos, cuyo empleo ha contribuido de manera eficaz al esclarecimiento de estos mecanismos. La estructura de la lactosa que es el inductor del operón *lac* y del isopropiltiogalactósido, que es un inductor gratuito son similares (Fig. 34.2).

Modelo del operón

En 1961, después de casi 20 años de trabajo, *Francois Jacob y Jacques Monod* del Instituto Pasteur propusieron un modelo para explicar el mecanismo molecular por el cual se realiza la inducción de la síntesis de proteínas. En las páginas siguientes se ofrece la visión actual del modelo, que lógicamente ha sido enriquecido con nuevos aportes desde el momento en que fue propuesto.

En el ADN bacteriano se distinguen varios sectores desde el punto de vista funcional; aquellos sectores que codifican la síntesis de polipéptidos específicos, reciben el

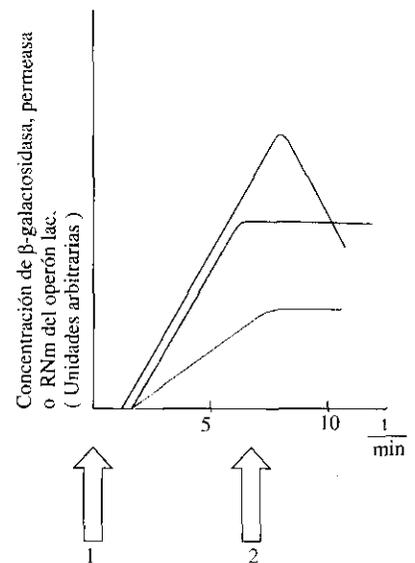


Fig. 34.1. Inducción enzimática. La figura representa los resultados de una experiencia típica de inducción de las enzimas del operón *lac*. Como se observa a los pocos minutos de ser añadida la lactosa (1) comienza la síntesis del RNm y posteriormente de las enzimas correspondientes. Al retirarse la lactosa (2) comenzará el descenso de la concentración del RNm que será seguido por una disminución de la concentración de las enzimas.

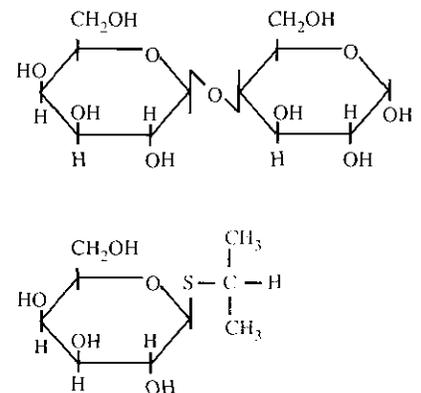


Fig. 34.2. Inductores del operón *lac*. En la parte superior de la figura se muestra la estructura de la lactosa, que es el inductor natural del operón *lac*, y en la parte inferior, la de un inductor gratuito, el isopropiltiogalactósido.

nombre de genes estructurales, además por la forma en que fueron identificados y localizados originalmente, como consecuencia de una experiencia denominada *cis trans*, se les da también el nombre de *cistrones*; de ahí surgen las denominaciones de los ARNm monocistrónicos y policistrónicos (capítulo 27).

Adyacente a los *cistrones* se encuentra otro sector que controla o regula la expresión de los *cistrones* y recibe el nombre de *operador*. Como el *operador* no codifica ningún polipéptido, ni tampoco un ARN, no se trata de un gen, y para referirse a él se dice el *locus* (*sitio*) *operador*. El conjunto de segmentos de ADN compuesto por el *operador* y los *cistrones* que están bajo su control recibe el nombre de *operón*; este término también proviene de la informática y se emplea aquí por ser la unidad de operación, lo cual significa que cuando el *operón* se conecta funcionan todas sus partes como si fueran una sola, igual sucede cuando se desconecta.

Un tercer sector es el *promotor*, al cual se une la ARN polimerasa.

Por último, se distingue un sector que codifica la síntesis de una proteína específica, cuya actividad determina el funcionamiento de los *cistrones*; este sector recibe el nombre de *gen regulador* y la proteína por él codificada se denomina *proteína represora* o *represor*. El *gen regulador* puede encontrarse adyacente a los *cistrones* o alejado de ellos.

El funcionamiento del modelo consiste en: la *proteína represora* es de tipo alostérico y tiene un sitio de elevada afinidad por el ADN del *operador* en una de sus 2 conformaciones (la R), mientras que en la otra conformación (la T) tiene muy poca afinidad. La unión del *represor* al *operador* se produce mediante el reconocimiento de una secuencia específica de bases de este sector, que forma un complejo de elevada estabilidad e impide de esta forma el desenrollamiento del ADN, que es imprescindible para la transcripción. Los *inductores* provocan el desplazamiento del equilibrio conformacional del estado R al T.

Como la unión del *represor* al *operador* determina la inhibición de la transcripción, estamos en presencia de un sistema de regulación negativa (Fig. 34.3).

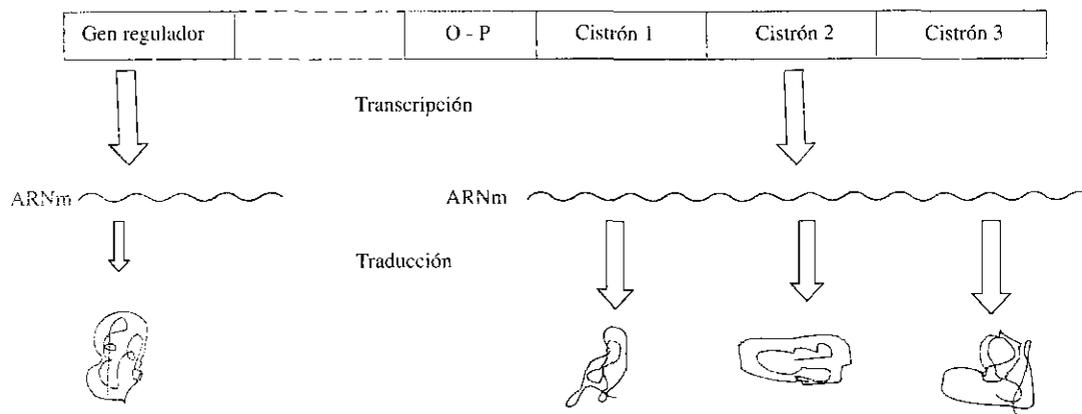


Fig. 34.3. Modelo general del operón. En el ADN se encuentran secuencias con diferentes funciones: el gen regulador que codifica a la proteína represora; la zona del operador-promotor (O-P) donde se une el represor y la ARN polimerasa, así como los genes estructurales o *cistrones* que codifican la síntesis de proteínas específicas (generalmente enzimas). Cada operón posee un número característico de *cistrones*.

Se han estudiado numerosos operones inducibles, casi todos relacionados con la utilización celular de monosacáridos, aunque no exclusivamente. Si bien es cierto que cada uno en sus líneas generales se corresponde con la situación descrita anteriormente, se tiene en cuenta que cada uno tiene sus particularidades. Para los objetivos de este texto se ha seleccionado aquél que, por ser el primero y más estudiado, ofrece una visión más completa de su mecanismo.

Operón *lac*

La estructura y el funcionamiento del operón *lac* han llamado el interés de muchos científicos en los años posteriores a la proposición del modelo del operón. En estos momentos se tiene una visión completa de todo este complejo sistema (Fig. 34.4).

	R	OP	GAL	PER	Ac
Pares de bases	1 111	~70	3 060	800	800
Polipéptido	Represor	—	β galactosidasa	Permeasa	Acetilasa
Peso molecular	38 000		~ 125 000	30 000	30 000
Número de aminoácidos	360		1 021	~275	~275
Forma activa	Tetrámero		Tetrámero	Membrana	Dímero
Y su peso	152 000		500 000	30 000	60 000

Fig. 34.4. Estructura del operón *lac*. Se muestran las principales características estructurales del operón *lac* y de sus productos.

La proteína represora tiene características similares a todos los represores conocidos, se trata de un tetrámero formado por subunidades idénticas que presenta una clara simetría molecular (Fig. 34.5).

```

TGTGTGG AATTGTGAGCGGATAACAATTTCAACA
ACACACCTTAACACTCGCCTATTGTTAAAGTGTGT
    
```

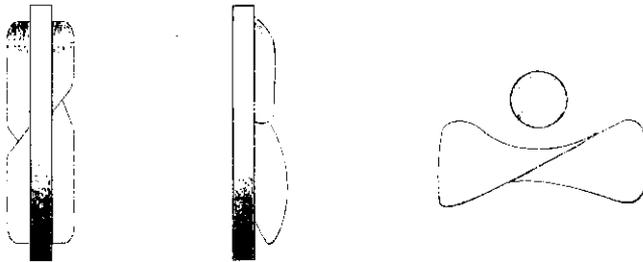


Fig. 34.5. Unión represor operador en el operón *lac*. En la parte superior se muestra la estructura primaria de la zona del operador *lac* con sus zonas de simetría a color. En la parte inferior se observan diferentes vistas del complejo formado entre el operador y el represor del operón *lac*.

En el promotor se encuentran las secuencias estudiadas en -35 y en la zona de -4 a -10. El operador, como era de esperar, presenta una secuencia repetida invertida con un centro de simetría, lo que concuerda con la estructura del represor (Fig. 34.5).

El represor *lac* contiene al menos 2 sitios, uno de ellos le permite la unión al ADN y el otro, tiene como ligandos pequeñas moléculas de galactósidos que actúan como inductores. La unión del inductor al represor provoca un cambio de conformación que se transmite a todas las subunidades, haciendo que todas adopten el estado T, cuya afinidad por el ADN del operador es muy baja. En estas condiciones el represor se disocia del operador, lo que permite la unión de la ARN polimerasa en el locus promotor y da inicio a la transcripción. La traducción del ARNm correspondiente da origen a las enzimas que degradan la lactosa, con lo cual la concentración del disacárido disminuye, provocando la separación del inductor. Esta separación hace que la proteína adquiera de nuevo el estado R y en esta forma se une al operador, lo que impide la unión de la ARN polimerasa (Fig. 34.6).

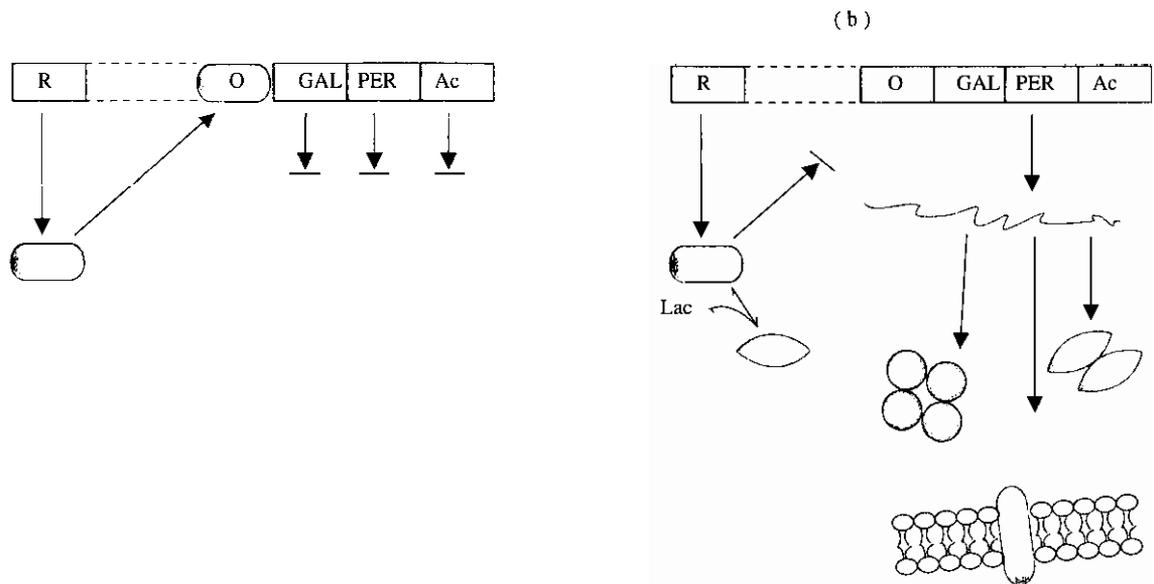


Fig. 34.6. Funcionamiento del operón *lac*. Los 2 estados posibles del operón *lac*. (a) Ausencia de lactosa, el represor posee su conformación activa y se encuentra unido al operador no permitiendo la unión de la ARN polimerasa. (b) Se incorpora la lactosa que se une al represor y lo separa del operador, permitiendo la unión de la polimerasa y desencadenando todo el mecanismo de la síntesis de la β -galactosidasa (GAL), la permeasa (PER) y la acetilasa (AC).

Como la vida media del ARNm en procariontes es muy corta, éstos sólo pueden ser traducidos muy pocas veces, además, con la duplicación de las bacterias, la concentración de las enzimas disminuye rápidamente.

La presencia del inductor es la señal que conecta al sistema y su desaparición, lo desconecta; pero queda una interrogante: ¿Por qué si la glucosa está presente no se produce la utilización de la lactosa? El estudio detallado del funcionamiento del operón *lac* llevó a la conclusión de que no era suficiente retirar el represor del operador para que la síntesis de enzimas comenzara, había un requerimiento adicional; la búsqueda de este requerimiento descubrió que una proteína específica, en su estado activo, se une al ADN en un sitio cercano al promotor y estimula la síntesis del ARNm.

Esta proteína es también del tipo alostérico, con uno de sus sitios con afinidad por el ADN en la conformación R; pero para adquirir esta conformación, es necesario que antes esté unida a una pequeña molécula, por ejemplo, AMPc. La unión del AMPc aumenta la afinidad de la proteína por el ADN, conocida como proteína activada por catabolito (CAP) (*catabolite activator protein*). La unión del complejo AMPc-CAP al ADN estimula la acción de la ARN polimerasa y con ello la transcripción (Fig. 34.7).

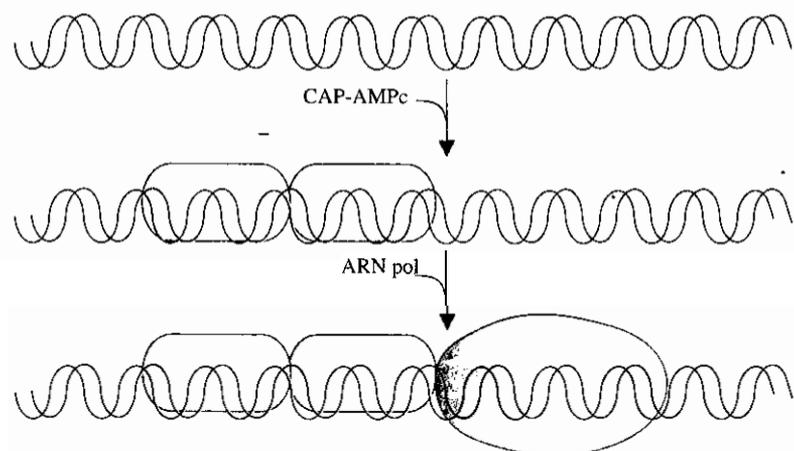


Fig. 34.7. Acción del complejo CAP-AMPc. El complejo formado por CAP (*catabolite activating protein*) y el AMPc se unen al ADN en una zona próxima al promotor y posibilitan la incorporación de la ARN polimerasa en la posición adecuada para comenzar la transcripción, siempre que la zona del operador no esté ocupada por el represor.

El sistema AMPc-CAP sirve como regulador positivo de muchos operones relacionados con la utilización de distintos monosacáridos, cuando falta la glucosa todos estos operones están en condiciones de conectarse, pero sólo lo hará el que tenga su inductor presente, debido a que el sistema de transporte de la glucosa y el productor de AMPc están acoplados de tal manera que, cuando se transporta la glucosa, no puede producirse el AMPc y viceversa. De esta forma los niveles intracelulares del nucleótido cíclico son una señal, que indica la ausencia del transporte de glucosa a través de la membrana y por lo tanto, la célula debe estar preparada para la utilización de otro monosacárido como fuente de energía.

En resumen cuando existe glucosa en el medio, la célula la usa como fuente de energía y de carbono, lo que disminuye los niveles celulares de AMPc; si se añade lactosa (o algún otro monosacárido) no puede utilizarse, pues faltaría el complejo AMPc-CAP, y si se retira la glucosa del medio o se consume toda la existente, los niveles de AMPc aumentan favoreciendo la formación del AMPc-CAP de manera que al añadir la lactosa (u otro azúcar) se inactiva el represor y comienza la transcripción de los cistrones.

Como el represor al unirse al ADN inhibe la transcripción, se trata de un regulador negativo, pero el AMPc-CAP lo que hace es activar la transcripción, luego es un regulador positivo, por lo tanto, en el operón lac (y en otros muchos) existe simultáneamente un sistema de regulación que es al mismo tiempo positivo y negativo.

Represión enzimática

Otro fenómeno relacionado con la regulación de la expresión genética surgió con el estudio de las vías biosintéticas en algunas bacterias, especialmente en la *E. coli*. Esta bacteria contiene un equipo enzimático que le permite la síntesis de todos los aminoácidos, para formar sus proteínas a partir de una fuente de carbono (puede ser la glucosa) y una fuente de nitrógeno (cloruro de amonio).

Las rutas biosintéticas de algunos aminoácidos son complejas y requieren de numerosas enzimas; cuando algunos de estos aminoácidos son añadidos al medio de cultivo se produce un rápido descenso de las concentraciones intracelulares de las enzimas relacionadas con la ruta biosintética correspondiente. Como en el caso anterior, esta disminución afecta a todas las enzimas involucradas en la ruta, luego se trata de una regulación coordinada. Cuando el aminoácido es retirado del medio se produce un incremento de la concentración de las enzimas; igual que en el caso de la inducción, estas variaciones se deben a cambios en la velocidad de síntesis de las enzimas y no de su actividad.

Este fenómeno, en el cual la presencia de una sustancia en el medio es capaz de provocar la inhibición de la síntesis de una enzima o grupos de enzimas, recibe el nombre de represión de la síntesis de enzimas o represión enzimática. (Fig. 34.8). A la sustancia que provoca la represión se le da el nombre de corepresor.

Para explicar el mecanismo de la represión enzimática se utilizará el mismo modelo del operón descrito antes; se tomará como ejemplo el operón que controla la síntesis del triptófano en la *E. coli*, por ser el mejor conocido.

Operón *trp*

La figura 34.9 representa la estructura del operón *trp*.

El gen regulador codifica la síntesis de la proteína represora, que es también una proteína alostérica con sitios específicos de unión al ADN del operador. Su unión determina la inhibición de la transcripción y con ello se suprime la síntesis de enzimas, luego se trata de un sistema de regulación negativa.

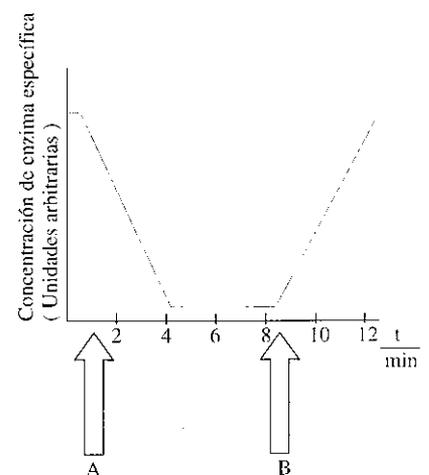


Fig. 34.8. La represión enzimática. La figura muestra los resultados de una experiencia típica de represión enzimática, donde al añadir el corepresor (A) comienza a disminuir la concentración intracelular de la enzima, que sólo vuelve a aumentar al retirar el corepresor. Estos cambios de concentración obedecen a variaciones en la síntesis de la enzima.

	P/O	L	trp E	trp D	trp C	trp B	trp A	t	t
Pares de bases		162	1 560	1 620	1 356	1 191	804	36	250
Polipéptido		Guía	Atranilato sintetasa		Indol-glicerol-P sintetasa	Triptófano sintetasa			
Peso molecular			60 000	60 000	45 000	50 000	29 000		

Fig. 34.9. Estructura del operón *trp*. En la figura se muestran las principales características estructurales del operón *trp* y de sus productos. La zona operador-promotor (P/O) no está bien caracterizada. Los 162 nucleótidos que componen la zona guía (L) contienen la secuencia del atenuador. Los genes E y D codifican las 2 subunidades de la atranilato sintetasa, y los A y B las subunidades de la triptófano sintetasa. Los sitios t son terminadores de los cuales existen 2 al final del operón.

La diferencia con el sistema del operón *lac* estriba en que en este caso el represor se sintetiza en forma inactiva (conformación T), que presenta muy poca afinidad por el ADN.

La unión del correpresor provoca un cambio de conformación que aumenta extraordinariamente la afinidad por el ADN y favorece la unión con el operador; este correpresor resultó ser el propio triptófano.

Cuando la célula no dispone de triptófano exógeno, su concentración intracelular es tan baja que no hay posibilidades de unión con el represor y, por lo tanto, los genes son transcritos de forma continua. La adición de triptófano al medio aumenta bruscamente su concentración intracelular, favoreciendo su unión al represor y con ello la inhibición de la transcripción. La utilización intracelular del triptófano disminuye su concentración, volviéndose a la situación inicial (Fig. 34.10).

Existen varios operones represibles bien estudiados y en líneas generales concuerdan con el presentado en este texto, aunque como era de esperar tienen algunas características específicas.

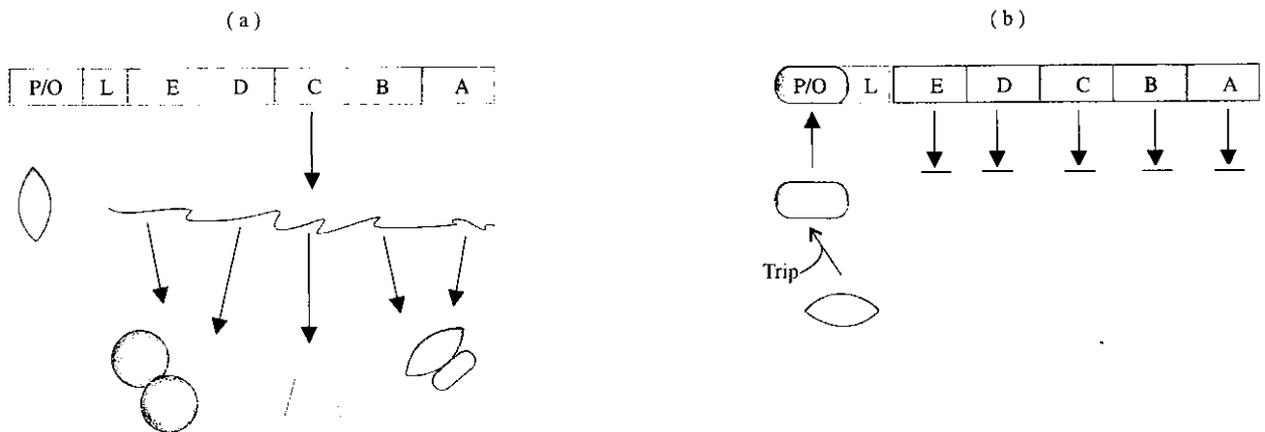


Fig. 34.10. Funcionamiento del operón *trp*. El operón *trp* funciona de acuerdo con la disponibilidad del triptófano. Cuando no existe triptófano en el medio celular (A), el represor es inactivo y no puede unirse al operador, lo cual permite que se realice la transcripción de los genes del operón. La incorporación del triptófano, que actúa como correpresor, cambia la conformación del represor a su forma más activa, que se une al ADN del operador y bloquea la síntesis del ARNm correspondiente.

Mecanismo de atenuación

Las enzimas que sintetizan triptófano están sometidas a un segundo tipo de control, en el cual la traducción desempeña una función fundamental. En la *E. coli* y otras bacterias, la transcripción y la traducción suelen ocurrir simultáneamente.

Como se observa en la figura 34.9, entre el operador y el primer cistron existe una zona designada con la letra L, que corresponde con la zona no traducible del ARNm en su extremo 5' -P; lo sorprendente de este sistema es que, en este caso, esa zona sí se traduce en un péptido de 13 aminoácidos llamado péptido guía.

¿Cuál es la función de este péptido? La respuesta está en su secuencia de aminoácidos incluyendo la metionina iniciadora:

Met-Lys-Ala-Ile-Phe-Val-Leu-Lys-Gly-Trp-Trp-Tyr-Tyr-Ser

Obsérvese la presencia de 2 *trp* consecutivos en la secuencia. La secuencia conductora del ARNm puede formar estructuras alternativas por apareamiento de bases (Fig. 34.11).

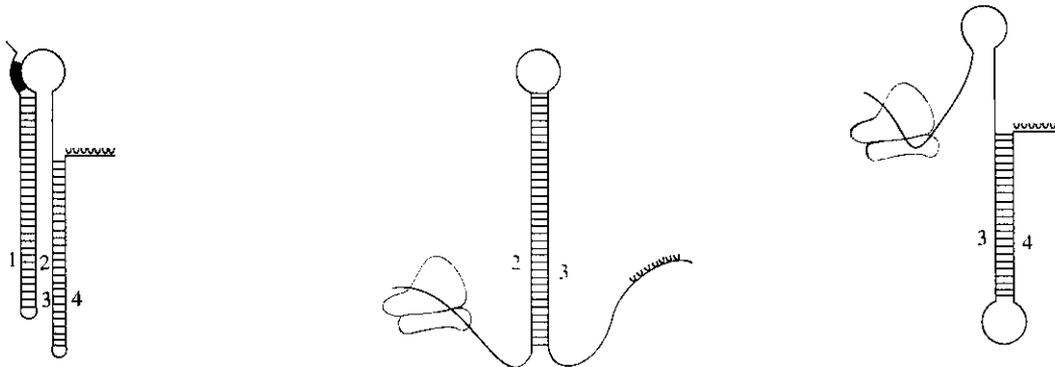


Fig. 34.11. Mecanismo del atenuador. La zona guía del ARNm del operón *trp* puede formar diferentes apareamiento de bases entre las regiones 1 y 2, así como las 3 y 4. Si no hay triptófano disponible, el ribosoma se atasca en la zona 1 y permite el apareamiento 2-3 que permite a su vez que la transcripción continúe; pero si hay triptófano abundante, el ribosoma pasa rápidamente por la zona 1 y se forma el apareamiento 3-4, que constituye una estructura de terminación para la transcripción.

En el primer caso la zona 1 forma pares de bases con la 2, y la zona 3 con la 4. El apareamiento de las zonas 3 y 4 seguidas de un poli U constituye la estructura esencial para la terminación de la transcripción (capítulo 27).

En el segundo caso, sólo se forma apareamiento de bases entre las zonas 2 y 3, por lo que la estructura para la terminación no puede formarse, ambos tipos de estructuras apareadas son excluyentes y sólo la formación del apareamiento 3-4 origina la terminación.

¿Qué hace que se forme un tipo de estructura u otra? Recuérdese que en el péptido guía existen 2 codones consecutivos para el triptófano.

El triptófano es un aminoácido de los menos abundantes en la *E. coli*; de la concentración intracelular de triptófano depende la formación del triptofanil-ARNt correspondiente.

Es conveniente hacer un análisis por separado de cómo funciona el sistema cuando existe elevada concentración de triptófano en la célula, y qué sucede cuando está baja la concentración; para este análisis se debe olvidar por un momento el mecanismo de represión.

El ARNm del operón *trp* comienza a ser leído por el ribosoma, al llegar al péptido guía, como la concentración de triptófano es elevada, estos codones son leídos sin dificultad y el ribosoma avanza a su velocidad normal, sobrepasando las zonas 1 y 2 del ARNm conductor; como la zona 2 no puede formar pares de bases con la 3, ésta forma apareamiento con la zona 4 y se constituye la estructura necesaria para la terminación de la transcripción.

Por lo tanto, a elevadas concentraciones intracelulares de triptófano, en caso de que la transcripción se inicie, ésta termina antes de que comience la transcripción de los cistrones.

A bajas concentraciones intracelulares de triptófano, cuando el ribosoma llega a la síntesis del péptido guía, su movimiento se "atasca", pues no hay *trp*-ARNt disponible. Esta evidente reducción en la velocidad del ribosoma produce un secuestro de la zona 1, pero deja libre la 2 que forma pares de bases con la zona 3. La formación del brazo 2-3 impide la formación del apareamiento 3-4 y, al no producirse esta estructura, la transcripción continúa (Fig. 34.11). A la secuencia de bases que origina la estructura de terminación en la zona conductora se le conoce como secuencia atenuadora y es por ello que el mecanismo en general recibe el nombre de atenuación.

En el caso de estas enzimas hay un doble mecanismo de control, al nivel del represor y al nivel del atenuador; es posible que en determinados momentos uno de ellos no funcione, pero siempre existe la seguridad del funcionamiento del otro. El sistema del atenuador ha resultado ser más general de lo que se pensaba, ya han aparecido varios estudios de secuencias de péptidos guías para diferentes sistemas, incluso, el sistema genético que controla la síntesis de las enzimas relacionadas con la síntesis del aminoácido histidina se controla sólo por el mecanismo de atenuación.

Eficiencia del promotor

Las enzimas que no son inducibles ni reprimibles y por tanto su concentración celular es prácticamente constante, a lo largo de todo el ciclo celular, reciben el nombre de enzimas constitutivas. El hecho de que su concentración intracelular no varíe con el tiempo es un índice de que su síntesis se produce de forma continua; en estos casos, la transcripción es ininterrumpida, pues la vida media de los ARNm es muy corta, es de esperar entonces, que todas las enzimas constitutivas estuviesen a la misma concentración; pero esto no ocurre realmente, lo que se mantiene constante a lo largo del tiempo es la proporción entre las distintas enzimas constitutivas, aunque cada una de ellas presenta su concentración característica.

La clave del problema está en que no todos los promotores funcionan con igual eficiencia. Existen los llamados promotores fuertes, que se transcriben con mayor facilidad un número mayor de veces durante el ciclo celular. Debido a los factores relacionados con su estructura existe una elevada afinidad entre la ARN polimerasa y las secuencias específicas del promotor. La unión de la enzima con el ADN origina rápidamente un promotor abierto de elevada estabilidad, y la transcripción es inmediata. En otros casos los promotores son débiles, se transcriben muy poco. La afinidad de la ARN polimerasa es muy baja por el promotor, y la formación de un promotor abierto estable es un evento poco frecuente, sólo en los casos en que esto ocurre se logra la transcripción.

Por supuesto, pueden darse todas las situaciones intermedias; como cada promotor funciona como promedio un número fijo de veces por unidad de tiempo - característica de cada uno de ellos - la concentración de cada enzima dependerá de ésta, sin embargo la relación de concentraciones se mantiene invariable.

Regulación postranscripcional

Este tipo de regulación, aún cuando es posible, es al parecer mucho menos frecuente. Hay pocos casos esclarecidos donde la regulación se exprese por variaciones en el mecanismo de la traducción, una vez formado el ARNm correspondiente.

El caso más esclarecido es la regulación de la síntesis de las proteínas que forma parte de los ribosomas en los procariontes, que como se vio en el capítulo 29 se encuentran organizados en 7 operones.

Es necesario recordar que estos organismos carecen de envoltura nuclear y por ello la transcripción y la traducción están vinculadas directamente. Para formar los ribosomas son necesarias las síntesis de los ARNr y de las diferentes proteínas, por lo que deben ocurrir la transcripción de los ARNm correspondientes a cada uno de los operones y su posterior traducción.

Como cada tipo de ARNr se une a un grupo específico de proteínas durante el proceso de "autoensamblaje" del ribosoma, debe existir una adecuada proporción entre el número de ambos tipos de moléculas. Cuando se "ensamblan" muchos ribosomas, el número de ARNr empieza a disminuir y puede existir una superproducción de proteínas ribosomales, las proteínas que controlan la expresión de cada uno de los operones se unen al ARNm correspondiente impidiendo la traducción. Sólo si aparecen más moléculas de ARNr, puede continuar la traducción, de lo contrario ésta se mantiene inhibida (Fig. 34.12).

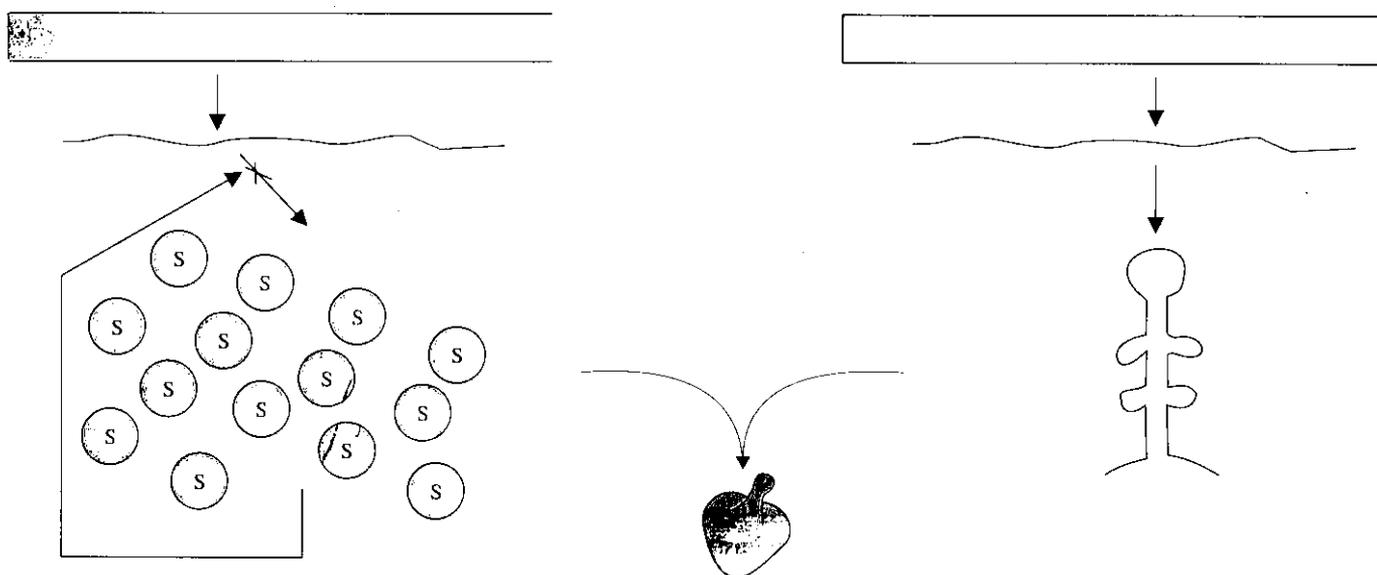


Fig. 34.12. Regulación de la síntesis de proteínas ribosomales. Para la formación de los ribosomas se requiere de la síntesis de los ARNr y las proteínas en la proporción adecuada. Si se produce un exceso de proteínas, éstas se combinan con su propio ARNm e inhiben la traducción.

Regulación en eucariontes

Los sistemas reguladores eucariontes pluricelulares son algo diferentes a los procariontes. La existencia de la membrana nuclear hace al ADN menos sensible a los cambios que se producen en el citoplasma y en el medio. Los requerimientos de las células en organismos pluricelulares son muy diferentes de los procariontes. Las células embrionarias por ejemplo, se multiplican rápidamente, en tanto las células del organismo adulto en ocasiones sólo requieren nutrientes para su mantenimiento, pues se dividen en casos excepcionales o no se dividen en absoluto.

Los estudios en eucariontes se dificultan por no existir técnicas que produzcan y aislen mutantes, separen y manipulen genes, así como extraer y purificar moléculas de ARNm específicas. En estos aspectos se ha avanzado mucho en la última década, gracias a la introducción de los procedimientos de la tecnología del ADN recombinante.

Por otra parte, la dilucidación de algunos mecanismos reguladores de la expresión genética en eucariontes indica que son numerosas las formas en que este fenómeno se realiza.

Las características de la organización del genoma de los eucariontes, la existencia de la cromatina, la elevada proporción de secuencias no codificantes, la existencia de mecanismos que permiten el reordenamiento de los genes eucariontes y la misma estructura del gen contribuyen a aumentar las dificultades en el estudio de sus mecanismos de regulación.

A diferencia de los procariontes, existen varios niveles de regulación en los organismos pluricelulares que se expresan de forma diferente en los distintos tipos de células, y que están relacionados con las distintas etapas del proceso de expresión de la información genética.

Un primer nivel de regulación viene dado por la selección de los genes que deben transcribirse en un momento dado en cada célula. Durante mucho tiempo se pensó que la diferencia entre la eucromatina y la heterocromatina no era sólo un aspecto de apariencia tintorial; hoy se sabe que en la eucromatina están contenidos los genes que se transcriben de forma activa, mientras la heterocromatina presenta los genes que están silenciados. El ejemplo más sobresaliente se da en el par de cromosomas sexuales de la hembra; sólo uno de los cromosomas X es activo, mientras el otro aparece fuertemente "empaquetado" y puede observarse como un corpúsculo que recibe el nombre de cuerpo de Barr, en las células de las hembras.

Regulación pretranscripcional

Los genes que se encuentran en copia única pueden ser suficientes para producir una lenta acumulación de proteínas; por el contrario, una acumulación más rápida de proteínas se logra en el caso de genes de copias múltiples, hecho éste que es habitual en el genoma. Sin embargo, en algunos casos ocurre la amplificación de un gen o conjunto de genes, como sucede en algunas células germinales o en las que desarrollan resistencia a determinados fármacos.

El ejemplo mejor conocido se produce en los ovocitos del *Xenopus laevis*, donde los genes para los ARNr se incrementan unas 4 000 veces. La célula precursora del ovocito contiene aproximadamente 500 genes para los ARNr, que después de la amplificación llegan hasta cerca de un millón, lo cual representa el 75 % del ADN nuclear; esto permite al ovocito sintetizar 10^{12} ribosomas necesarios para la gran cantidad de proteínas que debe formar durante el período inmediato después de la fertilización, en este tiempo de apenas 3 semanas el número de nucléolos se incrementa de uno a varios centenares.

Este ADN aparece como pequeñas estructuras circulares que se replican mediante círculos rodantes, aunque el mecanismo exacto no está totalmente esclarecido; cada círculo puede contener varias copias de los genes de los ARNr.

Una vez que el ovocito ha madurado, el ADN circular es degradado lentamente. Después de la fertilización el ADN cromosómico se replica y ocurre la mitosis repetidamente, mientras el embrión se desarrolla; sin embargo, el ADN extracromosómico no se replica y este factor unido a su lenta degradación hacen que al alcanzarse el número de algunos cientos de células, este ADN amplificado ya no exista.

La amplificación de los genes para los ARNr se ha observado en gran número de organismos entre ellos insectos, anfibios y peces. En los mamíferos este mecanismo está muy asociado con el fenómeno de resistencia a determinadas drogas; éstas actúan habitualmente como inhibidores enzimáticos. Se han reportado cerca de 10 enzimas cuyas concentraciones intracelulares aumentan mucho, debido a la amplificación de sus genes y de esta forma pueden soslayar la inhibición, haciendo que la célula sea resistente a la acción de la droga; un caso típico de esta situación se discute en el capítulo 84. Por último, es interesante señalar que el mecanismo de amplificación

génica parece ser el responsable de la aparición de algunos tumores malignos cuando el gen amplificado es precisamente un oncogén.

Regulación transcripcional

Sin embargo el nivel más estudiado es el transcripcional, especialmente el de la ARN polimerasa II que sintetiza los ARNm. El promotor de estos genes es complejo y presenta una estructura modular con 2 tipos de elementos principales. Cerca del sitio de iniciación de la transcripción se encuentra el elemento central del promotor, que en muchos casos contiene la secuencia consenso TATAAT y es el sitio de unión de los factores generales de transcripción (capítulo 27). Más hacia la izquierda estos promotores contienen varias secuencias denominadas elementos distales del promotor, que también son sitio de unión de proteínas y son diferentes para los distintos genes transcritos por la ARN polimerasa II. La unión a estos sitios de proteínas específicas en unos casos produce un incremento de la transcripción, o sea, se produce el fenómeno de la inducción, mientras que en otros casos hay un decremento de la intensidad del proceso, que implica represión. A diferencia de los procariontes, donde los nutrientes son esenciales en la regulación, en los organismos superiores las sustancias determinantes son mensajeros químicos como las hormonas, que por variados mecanismos favorecen la unión de esos factores de transcripción génico-específicos a sus sitios correspondientes; así, la insulina favorece la unión de una proteína específica en el gen de la glucoquinasa en el hígado y en las células β del páncreas, lo que induce la síntesis de esta enzima.

La complejidad del promotor permite que a éste se unan proteínas que pueden tener efectos contrarios sobre la transcripción, cuando esto sucede una de ellas es dominante sobre la otra; por ejemplo, el gen de la fosfoenolpirúvico carboxiquinasa del hígado contiene 2 sitios de unión para el receptor del cortisol, que actúa como un factor génico específico y estimula la transcripción del gen. Más hacia la izquierda, también presenta un sitio de unión para la proteína activada por la insulina, esta unión inhibe la transcripción. Cuando las 2 proteínas se encuentran unidas se produce la inhibición del proceso, lo cual significa que la acción de la insulina es dominante sobre la del cortisol.

Regulación postranscripcional

También el procesamiento del ARN es un punto de control. El caso mejor conocido se da durante la diferenciación sexual en la *Drosophila melanogaster*, pero por su complejidad no será estudiado en este texto. También se ha señalado que puede ser un punto de regulación el transporte del ARNm del núcleo al citoplasma, pero los mecanismos involucrados en el proceso no están perfectamente esclarecidos.

Una vez en el citoplasma, el ARNm se une a proteínas y se mantiene almacenado hasta el momento de la traducción. Algunos ARNm presentan secuencias específicas a las cuales se unen proteínas reguladoras que estimulan o inhiben la traducción, según sea el caso; el ejemplo más conocido es los ARNm de proteínas que están relacionadas con el metabolismo del hierro. Por otra parte, son numerosos los factores de traducción que sufren ciclos de fosforilación-desfosforilación durante la vida celular y esto puede indicar que están sometidos a mecanismos de regulación.

Por último, existen mecanismos que regulan el destino final de las proteínas sintetizadas. Todos los estudios realizados señalan que las proteínas contienen secuencias específicas de aminoácidos o estructuras tridimensionales típicas que indican su lugar de destino: el citosol, el núcleo, los organitos citoplasmáticos o el espacio extracelular.

Todos estos mecanismos están bajo intensas investigaciones, y es de esperar que en los próximos años se pueda contar con una visión mucho más aproximada de los

mecanismos que regulan la expresión de la información genética en los organismos superiores, especialmente en el hombre.

Resumen

La dependencia manifiesta que existe entre los organismos vivos y el medio donde se desarrollan trae aparejada la necesidad de la existencia de mecanismos de regulación de la expresión de la información genética, que permite la adaptación del complejo metabólico celular a los cambios constantes del medio. Estos mecanismos difieren de acuerdo con el tipo de organismo que se trate, ya que estos pueden estar expuestos a mayores o menores variaciones de las características del medio, sobre todo con respecto a la obtención de nutrientes.

En general estos mecanismos de regulación se caracterizan por la síntesis de una proteína específica, sólo cuando es necesaria, la inhibición de actividades enzimáticas que representan un mayor gasto de energía o una mayor producción de desechos y vías productoras de mayor cantidad de energía metabólica en tiempos menores. Otra característica relevante es la existencia de la regulación coordinada que permite ejercer de manera simultánea el mecanismo sobre varias enzimas que intervienen en la misma secuencia metabólica.

La regulación de la expresión genética puede realizarse en 3 niveles fundamentales: pretranscripcional, transcripcional y postranscripcional. El primero está poco estudiado y su ejemplo más fehaciente es el mecanismo de amplificación génica que tiene lugar en algunas células de organismos superiores.

El nivel transcripcional se refiere a los mecanismos que actúan directamente estimulando (positivo) o inhibiendo (negativo) la síntesis de los ARNm. En procariontes existen 2 variantes: las inducción y represión enzimáticas y la atenuación.

La inducción enzimática se caracteriza porque la presencia de una sustancia (inductor) estimula la síntesis de proteínas específicas; en la represión la presencia de determinada sustancia (correpresor) provoca la inhibición de la síntesis de proteínas también específicas. Estas 2 situaciones recibieron una explicación molecular con la aparición del modelo del operón, según el cual en el ADN celular pueden distinguirse diferentes sectores funcionales: el gen regulador, el promotor, el operador y los genes estructurales (cistrones).

El gen regulador codifica la proteína represora que se une al operador y bloquea la síntesis de los ARNm. La interacción del represor con moléculas pequeñas puede hacer que éste se separe del operador (inducción) y, con ello, se comience la síntesis de ARNm, o por el contrario puede ser necesaria esa interacción para que el represor pueda unirse al operador (represión), con lo cual la síntesis de ARNm se inhibe.

La atenuación se caracteriza por la existencia de una zona del ARNm llamada guía (leader) que contiene varios codones para un aminoácido determinado; si al traducirse esa zona el aminoácido está abundante en la célula, la transcripción se inhibe, en caso contrario continúa.

Muchos operones de inducción requieren además la participación del complejo CAP-AMPC para poder funcionar aún en presencia del inductor.

El ejemplo más sobresaliente en procariontes de regulación postranscripcional es la síntesis de proteínas ribosomales, las cuales actúan como inhibidores de su propia formación.

La regulación de la expresión genética en los eucariontes pluricelulares resulta mucho más compleja que en los unicelulares. La zona de transcripción está relacionada con la eucromatina, la cual se transcribe de forma activa, mientras la heterocromatina apenas lo hace. Los genes transcritos por la ARN polimerasa II presentan promotores complejos que permiten la unión no sólo de los factores

generales de transcripción, sino, además, de factores génicos específicos que unas veces estimulan el proceso y otras veces lo inhiben. De esta forma se realizan en estos organismos los fenómenos de inducción y represión de la síntesis de proteínas. En ocasiones, un mismo gen puede estar bajo el efecto de los 2 tipos de factores (activadores e inhibidores) y en esos casos el efecto de uno de ellos predomina sobre el otro.

También parecen ser puntos de control el procesamiento del ARNm y su transporte hacia el citoplasma. También existen indicios de regulación al nivel de la traducción y del mecanismo por el cual las proteínas sintetizadas alcanzan su destino final. Los estudios que se realizan en estos momentos auguran que en los próximos años se tendrá una información más detallada de los mecanismos de regulación de la expresión genética en los organismos superiores, especialmente en el hombre, tal vez ello pueda contribuir a su bienestar y felicidad.

Ejercicios

1. ¿Qué repercusión podría tener sobre el mecanismo de regulación del operón lac, una mutación en el gen regulador que produjera una modificación en la conformación de la proteína represora? Discuta por lo menos 2 alternativas.
2. ¿Cómo podría afectarse el funcionamiento del operón lac, si ocurriera una mutación en la zona del operador-promotor? Discuta al menos 3 posibilidades.
3. ¿Cómo repercutiría sobre el funcionamiento del operón lac una mutación que diera origen a la aparición de un codón de terminación en la zona central del cistron de la β -galactosidasa?
4. ¿Qué características debe poseer una sustancia para poder actuar como inductor gratuito de un operón determinado?
5. Si en la zona guía del ARNm del operón trp ocurriera una mutación, que diera lugar a la aparición de un tercer codón para el triptófano, ¿influiría esto en la sensibilidad del mecanismo de atenuación a los cambios de concentración del aminoácido en la célula?
6. ¿Cómo puede el mecanismo de amplificación génica regular la síntesis de proteínas específicas?
7. ¿Cree usted que el mecanismo de regulación postranscripcional utilizado en la síntesis de proteínas ribosomales pudiera ser igualmente efectivo en otras proteínas conjugadas?