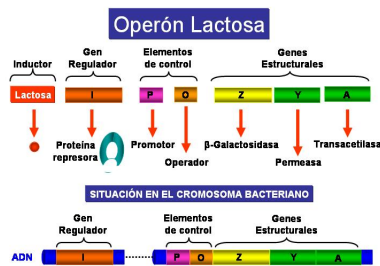


REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN PROCARIONTES



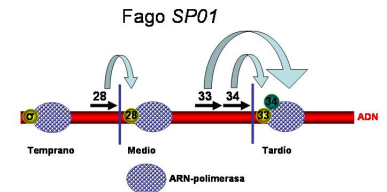
Francois Jacob



Elementos Operón Lactosa



Jacques Monod



Regulación fago SP01

- [Introducción](#)
- [Regulación de la expresión génica en bacterias: el operón](#)
 - [Sistemas constitutivos y sistemas adaptativos](#)
 - [Sistemas inducibles y sistemas represibles](#)
 - [Control positivo y control negativo](#)
 - [Elementos del operón](#)
 - [El operón lactosa: control negativo](#)
 - [El operón lactosa: control positivo](#)
 - [Represión por catabolitos](#)
 - [El operón triptófano](#)
 - [El operón triptófano: regulación por el atenuador.](#)
 - [Interacción entre operones](#)
- [Regulación de la expresión génica en fagos](#)
 - [Regulación del fago T7](#)
 - [Regulación del Fago SP01](#)
 - [Regulación del Fago I](#)
- [Morfogénesis en virus](#)
 - Fago T4
 - Fago Ø29
 - Virus del mosaico del tabaco TMV

INTRODUCCIÓN

En nuestro recorrido por la Genética hemos averiguado que son los genes, cómo se replican y cómo se transmiten. También hemos visto que la información contenida en los genes se transcribe a ARN y que el ARN mensajero se traduce a proteínas. De manera que la información contenida en los genes se convierte en proteínas. Sin embargo, aún no hemos visto de qué manera la célula regula su funcionamiento, es decir, ¿Cómo decide la célula que proteínas necesita producir en cada momento y qué cantidad de proteína es necesario sintetizar?.

En los organismos pluricelulares con diferentes órganos y tejidos está claro que existe un reparto de las funciones, de manera que las células de diferentes tejidos llevan a cabo distintas misiones y para ello necesitan sintetizar diferentes tipos de proteínas. De forma que un hepatocito (célula del hígado) produce una colección de proteínas diferentes a las de un reticulocito. Por consiguiente, en los diferentes tejidos de un individuo pluricelular adulto, se están expresando distintas baterías de genes.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN BACTERIAS

En las bacterias, a pesar de ser organismos unicelulares, también es necesario regular la expresión de los genes adaptándola a las necesidades ambientales. Es un principio de economía celular el que la expresión de los genes este regulada según las circunstancias celulares. Un buen ejemplo de esta situación en bacterias es la regulación de las enzimas implicadas en el metabolismo de los azúcares. Las bacterias pueden emplear para obtener energía distintas fuentes de carbono, como la glucosa, lactosa, galactosa, maltosa, ramnosa y xilosa. Existen enzimas capaces de introducir cada uno de estos azúcares en la bacteria y enzimas capaces de romperlos para obtener energía. Lógicamente, sería un despilfarro energético producir simultáneamente todos los enzimas necesarios para metabolizar los diferentes azúcares mencionados. Por consiguiente, sería mucho más económico para la célula producir solamente las enzimas necesarias en cada momento, es decir, si en el medio en el que vive la bacteria la principal fuente de carbono es la lactosa, solamente se expresarían los genes necesarios para metabolizar la lactosa, mientras que los otros genes no se expresarían. Por tanto, es esencial que exista un mecanismo de regulación de la expresión génica, de manera que los genes se expresen cuando sea necesario.

La regulación de la producción de proteínas (síntesis de proteínas) considerando el proceso en su conjunto, puede llevarse a cabo en tres niveles:

- Replicación
- Transcripción
- Traducción.

De los tres niveles de regulación, uno de los mejor conocidos actualmente es la regulación durante la transcripción. Aunque la regulación de la transcripción en eucariontes es más compleja que en bacterias, muchos de sus aspectos son similares. Por tanto, comenzaremos por el estudio de la regulación de la transcripción en bacterias.

SISTEMAS CONSTITUTIVOS Y SISTEMAS ADAPTATIVOS

Es evidente que existen algunos procesos metabólicos que son necesarios para el funcionamiento normal de casi todas las células, de manera que existen una serie de necesidades básicas para el mantenimiento normal de una célula. Por consiguiente, los genes que codifican para las enzimas necesarias para el metabolismo básico celular se están expresando continuamente, es decir, se expresan de forma constitutiva o continua. Por tal motivo, a este tipo de genes se les denomina, "**genes que guardan la casa**" o **genes constitutivos**. Estos genes que se están expresando continuamente no significa que su actividad no esté regulada, simplemente están sometidos a un tipo de regulación diferente que hace que se estén expresando siempre. Los genes constitutivos codifican para **sistemas enzimáticos constitutivos**, que se necesitan siempre para la actividad normal de la célula.

Frente a los genes constitutivos, nos encontramos con los genes que se expresan solamente en determinadas situaciones y que, por consiguiente, codifican para enzimas que solamente se necesitan en momentos concretos. A este tipo de genes se les llama **genes adaptativos** y a las enzimas codificadas por ellos, **sistemas enzimáticos adaptativos**. Se denominan así

pensando en que se expresan cuando la célula se adapta a una determinada situación ambiental. En algunos libros de texto se denomina a este tipo de genes, **genes regulados**, sin embargo, esta nomenclatura no es demasiado buena, ya que parece que los únicos genes cuya expresión está regulada serían estos.



SISTEMAS INDUCIBLES Y SISTEMAS REPRESIBLES

Sistemas inducibles: cuando el sustrato sobre el que va actuar la enzima provoca la síntesis del enzima. Al efecto del sustrato se le denomina **inducción positiva**. Por ejemplo, en *E. coli* en ausencia de galactósido (sustrato) hay de una diez unidades de galactosidasa (enzima) por miligramo de materia seca, mientras que en presencia de galactósido se detectan hasta 10.000 unidades de galactosidasa por miligramo de materia seca. Al compuesto que desencadena la síntesis del enzima se le denomina **Inductor**.

Sistemas represibles: cuando el producto final de la reacción que cataliza el enzima impide la síntesis de la misma. Este fenómeno recibe el nombre de **inducción negativa**. Al compuesto que impide la síntesis del enzima se le denomina **correpresor**.

Los sistemas inducibles se corresponden a procesos catabólicos de degradación, por ejemplo, el operón lactosa, el operón arabinosa, el operón maltosa. Se trata de sistemas enzimáticos encargados de degradar la lactosa, arabinosa, maltosa, etc.

Los sistemas represibles se corresponden con procesos síntesis o Anabolismo, por ejemplo el operón triptófano y el operón histina. Se trata de las rutas metabólicas que conducen a la síntesis de triptófano y síntesis de histidina.



CONTROL POSITIVO Y CONTROL NEGATIVO

Control positivo: Se dice que un sistema está bajo control positivo cuando el producto del gen regulador activa la expresión de los genes, actúa como un **activador**.

Control negativo: se dice que un sistema está bajo control negativo cuando el producto del gen regulador reprime o impide la expresión de los genes, actúa como un **represor**.



ELEMENTOS DEL OPERÓN

Jacob, Monod y colaboradores analizaron el sistema de la lactosa en *E. coli*, de manera que los resultados de sus estudios permitieron establecer el modelo genético del **Operón** que permite comprender como tiene lugar la regulación de la expresión génica en bacterias. Jacob y Monod recibieron en 1965 el Premio Nobel por estas investigaciones.



Francois Jacob



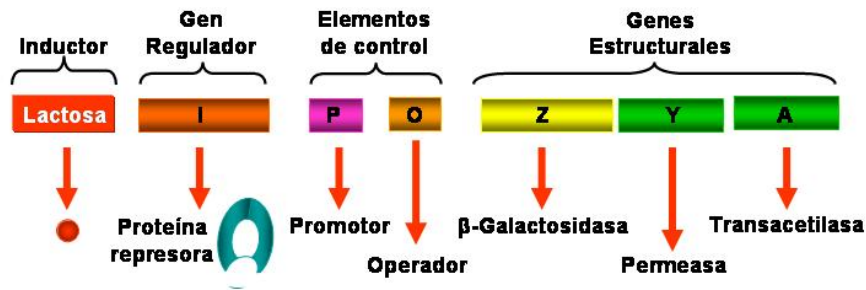
Jacques Monod

Un **Operón** es grupo de genes estructurales cuya expresión está regulada por los mismos elementos de control (promotor y operador) y genes reguladores.

Los principales elementos que constituyen un operón son los siguientes:

- **Los genes estructurales:** llevan información para polipéptidos. Se trata de los genes cuya expresión está regulada. Los operones bacterianos suelen contener varios genes estructurales, son poligénicos o policistrónicos. Hay algunos operones bacterianos que tienen un solo gene estructural. Los operones eucarióticos suelen contener un sólo gen estructural siendo monocistrónicos.
- **El promotor (P):** se trata de un elemento de control que es una región del ADN con una secuencia que es reconocida por la ARN polimerasa para comenzar la transcripción. Se encuentra inmediatamente antes de los genes estructurales. Abreviadamente se le designa por la letra P.
- **El operador (O):** se trata de otro elemento de control que es una región del ADN con una secuencia que es reconocida por la proteína reguladora. El operador se sitúa entre la región promotora y los genes estructurales. Abreviadamente se le designa por la letra O.
- **El gen regulador (i):** secuencia de ADN que codifica para la proteína reguladora que reconoce la secuencia de la región del operador. El gen regulador está cerca de los genes estructurales del operón pero no está inmediatamente al lado. Abreviadamente se le denomina gen i.
- **Proteína reguladora:** proteína codificada por el gen regulador. Esta proteína se une a la región del operador.
- **Inductor:** sustrato o compuesto cuya presencia induce la expresión de los genes.

Operón Lactosa



SITUACIÓN EN EL CROMOSOMA BACTERIANO



Elementos del operón lactosa

Elementos que intervienen en la regulación de la expresión génica en bacterias. Elementos del Operón.	Elementos de control	Promotor
		Operador
	Moléculas difusibles	Proteínas reguladoras
		Efectores
		Inductores
	Genes Estructurales	Codifican para polipéptidos
Gen regulador	Codifica para proteína reguladora	



EL OPERÓN LACTOSA: CONTROL NEGATIVO

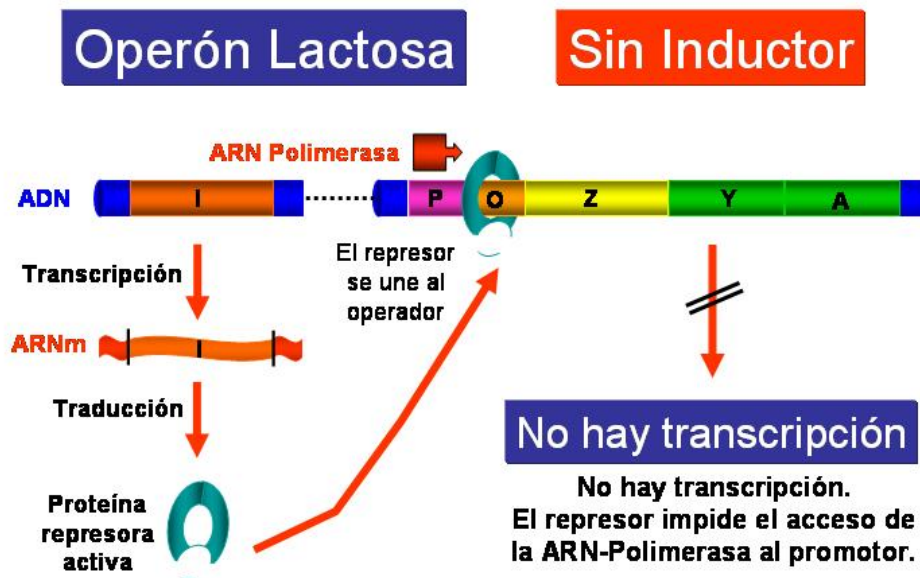
El Operón lactosa, que abreviadamente se denomina **Operón lac**, es un sistema inducible que está bajo control negativo, de manera que la proteína reguladora, producto del **gen regulador i**, es un represor que impide la expresión de los genes estructurales en ausencia del inductor. El inductor del sistema es la lactosa. Como veremos más adelante, el **operón lac** también está bajo control positivo, ya que existe otra proteína que estimula la transcripción de los genes estructurales.

Los genes estructurales del operón lactosa son los siguientes:

- **El gen z+:** codifica para la **b-galactosidasa** que cataliza la hidrólisis de la lactosa en glucosa más galactosa.
- **El gen y+:** codifica para la **galactósido permeasa** que transporta b-galactósidos al interior de la célula bacteriana.
- **El gen a+:** codifica para la **tiogalactósido transacetilasa** que cataliza la transferencia del grupo acetil del acetil Coenzima A al 6-OH de un aceptor tiogalactósido. Este gen no está relacionado con el metabolismo de la lactosa.

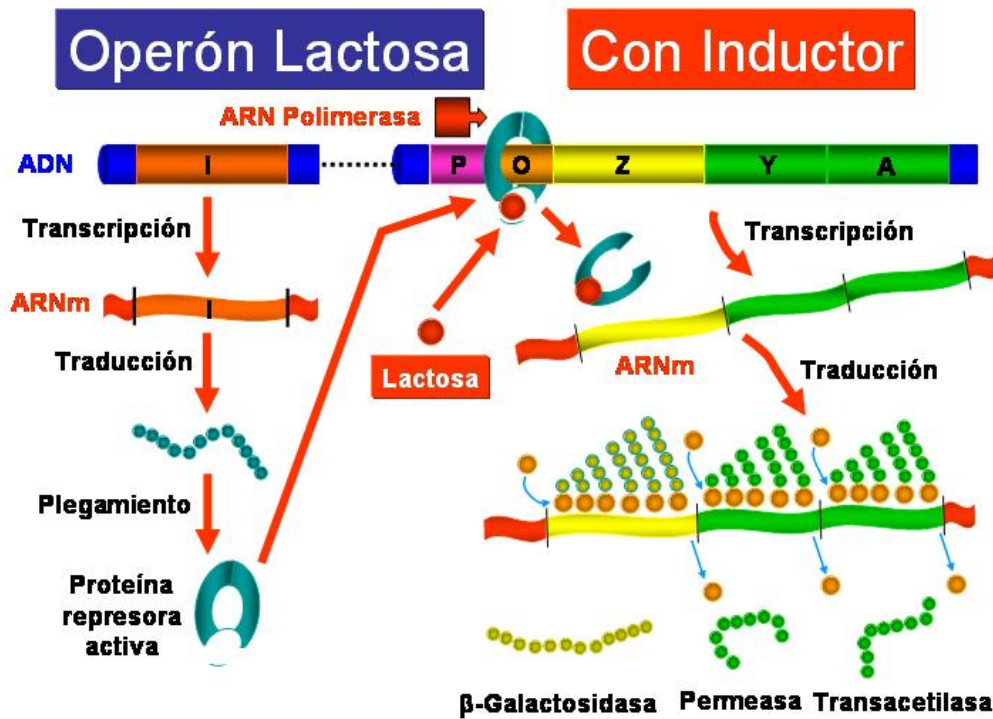
El verdadero inductor del sistema es la **Alolactosa** y no la lactosa de manera que la **β -galactosidasa** transforma la lactosa en **Alolactosa**. En los estudios del operón lactosa se utiliza como inductor un análogo sintético de la lactosa que es el **Isopropil tiogalactósido (IPTG)**. El IPTG no necesita ser transportado por la **galactósido permeasa** para entrar en la bacteria.

Las cepas normales de *E. coli* son inducibles, de manera que en ausencia del inductor (la lactosa), la proteína represora producto del **gen *i*** se encuentra unida a la región operadora e impide la unión de la ARN-polimerasa a la región promotora y, como consecuencia, no se transcriben los genes estructurales.



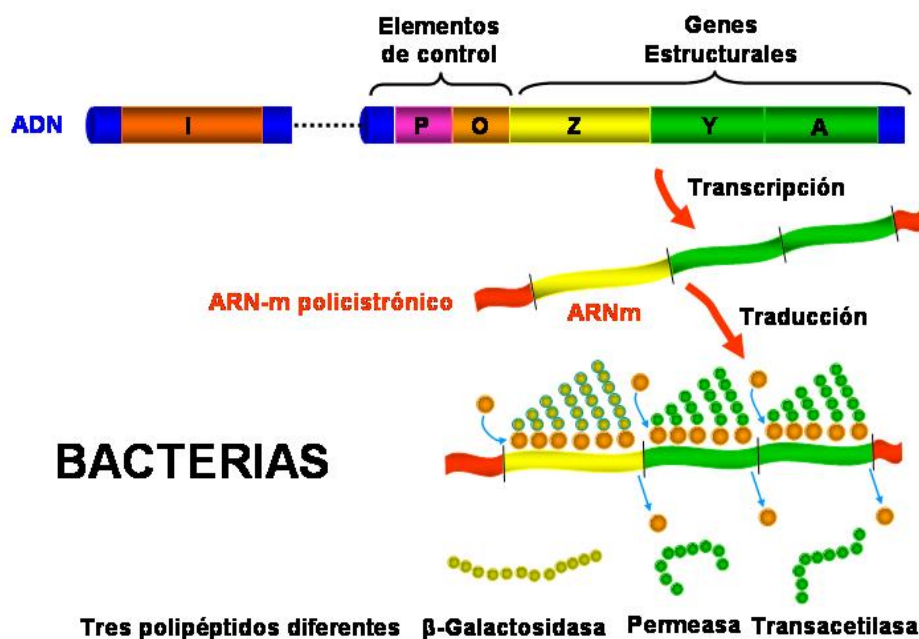
Operón lactosa en ausencia de lactosa

Sin embargo, en presencia del inductor (la lactosa), este se une a la proteína reguladora que cambia su conformación y se suelta de la región operadora dejando acceso libre a la ARN-polimerasa para que se una a la región promotora y se transcriban los genes estructurales. Por consiguiente, la presencia del inductor hace que se expresen los genes estructurales del operón, necesarios para metabolizar la lactosa.



Operón lactosa en presencia de lactosa

También es conveniente recordar que los tres genes estructurales del operón lactosa se transcriben juntos en un mismo ARNm, es decir que los ARN mensajeros de bacterias suelen ser **policistrónicos, poligénicos o multigénicos**. Sin embargo, en eucariontes los mensajeros suelen ser **monocistrónicos o monogénicos**, es decir, corresponden a la transcripción de un solo gen estructural.



Operón lactosa: ARNm multigénico o policistrónico

En la siguiente tabla se muestra la expresión de los genes del operón lactosa en ausencia y en presencia del inductor (lactosa) en una bacteria normal $i^+ p^o z^+y^+a^+$. SI = significa que se expresan, NO = significa que no se expresan.

Bacteria	Expresión de los genes estructurales del Operón lactosa
----------	---

normal	Ausencia de inductor (Sin lactosa)			Presencia de inductor (Con lactosa)		
Genotipo	z ⁺	y ⁺	a ⁺	z ⁺	y ⁺	a ⁺
i ⁺ p o z ⁺ y ⁺ a ⁺	NO	NO	NO	SI	SI	SI

El conocimiento profundo del funcionamiento del operón lactosa se obtuvo gracias a la obtención de mutantes que afectaban a los genes estructurales, a los elementos de control (promotor y operador) y al gen regulador. Además, también fue muy importante el estudio del operón lactosa en bacterias diploides parciales o merocigotos.

Bacteria diploide parcial o merocigoto: bacteria que tiene parte de sus genes en dos dosis. Lo habitual en las bacterias es que los genes estén en una sola dosis, ya que se trata de individuos haploides. Sin embargo, a veces es posible mediante conjugación entre una bacteria donadora F⁺ y una receptora F⁻, obtener bacterias descendientes diploides parciales o merocigotos. Sin embargo, estos diploides parciales son inestables. Por tal motivo, fue muy importante el descubrimiento de bacterias F' que tienen en el factor sexual (plasmidio) parte del cromosoma principal bacteriano. En el caso del estudio del operón lactosa, se consiguieron factores F' que tenían incorporado exclusivamente los genes del operón lactosa. De esta forma, una bacteria con un factor F' de estas características tiene dos veces los genes del operón lactosa, una en el cromosoma principal y otra en el factor F'.

Los primeros mutantes fueron aislados por Lederberg y colaboradores y afectaban a los genes estructurales (z, y, a). Se dedujo que los estos genes estaban juntos y en el orden z-y-a. Los mutantes en estos genes se denominan z⁻, y⁻ e a⁻ y ,dan lugar a alteraciones en la estructura de las enzimas codificadas por estos genes.

Jacob y Monod aislaron bacterias mutantes i⁻ y O^C que afectan al gen regulador (i) que lleva información para la proteína reguladora y a la región operadora (O), respectivamente. Ambos son mutantes de tipo constitutivo.

Mutantes constitutivos: son aquellos en los que siempre se expresan o transcriben los genes del operón lactosa, independientemente de si está o no está presente el inductor.

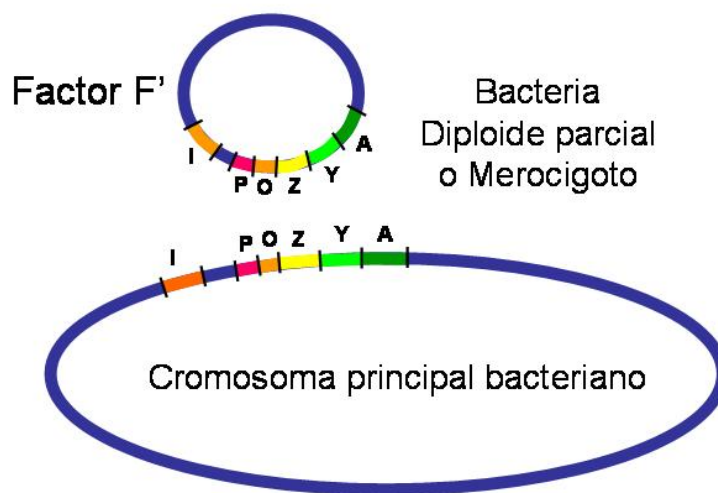
- **La mutación constitutiva i⁻** altera la estructura de la proteína reguladora o proteína represora de manera que ya no es capaz de unirse a la región operadora. Por tanto, esta alteración afecta a la región de la proteína represora encargada de unirse al operador. Al no poder unirse la proteína represora al operador, la región promotora queda asequible para la ARN polimerasa y se produce la transcripción de los genes estructurales en ausencia de inductor (lactosa). La proteína represora es un tetrámero (cuatro cadenas polipeptídicas idénticas).
- **La mutación constitutiva en el operador (O^C),** consiste en una alteración en la secuencia de bases nitrogenadas de la región del Operador que tienen como consecuencia que la proteína reguladora producto del gen i ya no sea capaz de unirse al operador. Al no poder unirse la proteína represora al operador, la región promotora queda asequible para la ARN polimerasa y se produce la transcripción de los genes estructurales en ausencia de inductor (lactosa). El estudio de diferentes mutantes del operador ha permitido determinar que el operador es una región de 17 a 25 nucleótidos situada justo antes del gen z y después del promotor. Esta región muestra una enorme especificidad por la proteína represora.

Es importante destacar que tanto la mutación i⁻ como la O^C actúan simultáneamente sobre los tres genes estructurales del operón lactosa. En la siguiente tabla se indica la expresión de los

genes del operón lactosa en los dos mutantes constitutivos estudiados, en el regulador constitutivo (i^-) y en el operador constitutivo (O^C).

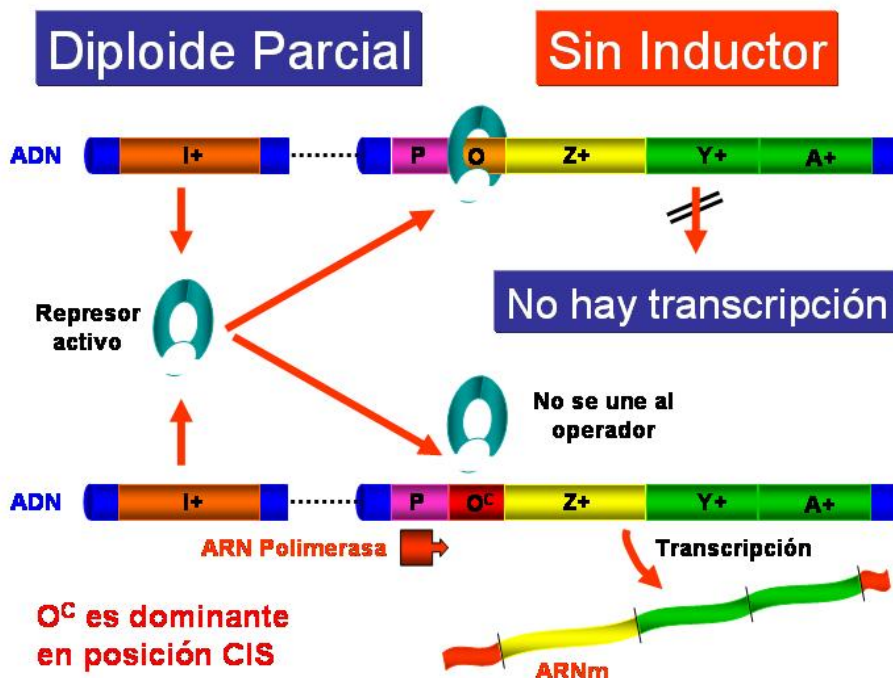
Mutantes constitutivos	Expresión de los genes estructurales del Operón lactosa					
	Ausencia de inductor (Sin lactosa)			Presencia de inductor (Con lactosa)		
Genotipo	z^+	y^+	a^+	z^+	y^+	a^+
$i^- P O^C z^+ y^+ a^+$	SI	SI	SI	SI	SI	SI
$i^+ P O z^+ y^+ a^+$	SI	SI	SI	SI	SI	SI

También es importante conocer lo que sucede en los diploides parciales o merocigotos que contienen una región operadora normal y una región operadora mutante constitutiva, es decir, bacterias diploides parciales O/O^C .



Diploide parcial: operón lactosa

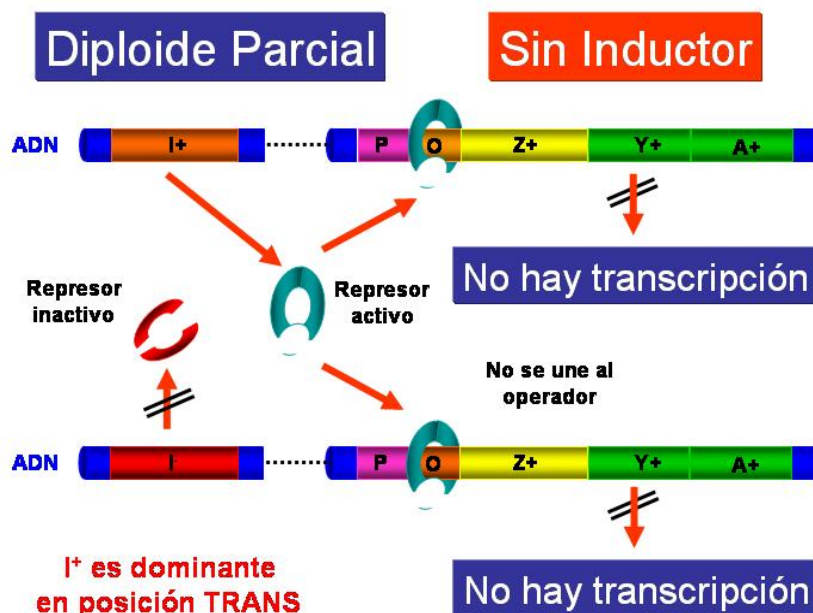
En estos diploides parciales, se ha comprobado que el operador constitutivo es **dominante en posición CIS**, es decir, ejerce su efecto solamente sobre los genes estructurales que están en su misma molécula de ADN que la mutación del operador, pero no actúa sobre los genes estructurales de otra molécula de ADN. Esto significa que el operador es una secuencia de bases en el ADN que no codifica para ninguna molécula difusible. En el siguiente diploide parcial $i^+ P O z^+ y^+ a^+ / i^+ P O^C z^+ y^+ a^+$ tanto en ausencia como en presencia de lactosa se produce la expresión de los tres genes estructurales del operón. Esto se debe a que los genes estructurales que están en la misma molécula de ADN que la mutación constitutiva O^C se van a expresar siempre. En el siguiente esquema se indica lo que sucede en un diploide parcial O/O^C en ausencia de inductor.



Diploide parcial O/O^C: Sin Inductor (lactosa)

En el siguiente esquema se indica lo que sucede en un diploide parcial O/O^C en presencia de inductor.

Sin embargo, en los diploides parciales con un gen regulador normal y un gen regulador mutante constitutivo, es decir, en baterías diploides parciales i^+/i^- , el gen regulador normal i^+ es **dominante en posición TRANS**, es decir, ejerce su efecto sobre los genes estructurales de la misma molécula de ADN en que está la mutación del gen regulador y también sobre los genes estructurales de otra molécula de ADN diferente. Por tanto, el gen regulador codifica para una proteína o producto difusible que puede ejercer su efecto en diferentes moléculas de ADN. En el siguiente diploide parcial $i^+P\ O\ z^+y^+a^+/i^-P\ O\ z^+y^+a^+$ en ausencia de lactosa no hay expresión de los genes estructurales mientras que en presencia de lactosa si se expresan. Esto se debe a que la proteína represora normal producida por el gen i^+ al ser difusible se puede unir a ambas regiones operadoras. En el siguiente esquema se indica lo que sucede en un diploide parcial i^+/i^- en ausencia de inductor de inductor.



Diploide parcial i^+/i^- : Sin Inductor (lactosa)

En la siguiente tabla se indica la expresión de los genes del operón lactosa en los dos diploides parciales, uno con en el regulador constitutivo (i^-) y el otro con en el operador constitutivo (O^C).

Diploides parciales	Expresión de los genes estructurales del Operón lactosa					
	Ausencia de inductor (Sin lactosa)			Presencia de inductor (Con lactosa)		
Genotipo	z^+	y^+	a^+	z^+	y^+	a^+
$i^+ P O z^+ y^+ a^+ / i^+ P O^C z^+ y^+ a^+$	SI	SI	SI	SI	SI	SI
$i^+ P O z^+ y^+ a^+ / i^- P O z^+ y^+ a^+$	NO	NO	NO	SI	SI	SI

Mutantes del Promotor (O^0): estos mutantes presentan una alteración en la secuencia de bases nitrogenadas de la región promotora, como consecuencia la ARN-polimerasa no reconoce la secuencia promotora y, por consiguiente, no se produce la transcripción de los genes estructurales. A estos mutantes se les ha denominado "**Operador cero**" (O^0), pero es necesario recordar que afectan a la región promotora.

Además de los mutantes anteriormente indicados también se han obtenido otros tipos de mutantes que afectan al gen regulador. Entre estos mutantes se encuentran los siguientes:

- **Mutante i^- :** la primera mutación que hemos visto es el mutante i^- que ya hemos dicho que es recesivo con respecto al i^+ en los diploides parciales (i^+/i^-). Da lugar a un represor que es inactivo.
- **Mutante i^Q :** mutación en el promotor del gen regulador que codifica para la proteína represora (i^Q): la consecuencia es que no aparece proteína represora y, por tanto, siempre se están expresando los genes del operón lactosa tanto en ausencia como en presencia del inductor. Se trata, por consiguiente, de un mutante de tipo constitutivo.
- **Mutante i^d :** afecta al gen estructural de la proteína represora en la región que codifica para el extremo amino terminal (NH₂). Esta región es la encargada de reconocer la región operadora. La proteína represora mutante se une al inductor (al IPTG) pero no es capaz de unirse al operador. Esta mutación es dominante sobre la i^+ en los diploides parciales (i^+/i^d). En los diploides parciales la proteína represora mutante no se une a las regiones operadoras y se produce siempre la transcripción de los genes estructurales.
- **Mutante i^S :** afecta al gen estructural de la proteína represora modificando la parte central de la proteína encargada de unirse al inductor (al IPTG). La proteína represora mutante se une al operador pero no es capaz de reconocer al inductor (IPTG). Se trata de un mutante que está siempre reprimido en el que no se expresan los genes del operón lactosa ya que la proteína represora está permanentemente unida a la región operadora y no se suelta a pesar de añadir el inductor. Este mutante es dominante sobre i^+ en los diploides parciales (i^+/i^S). En los diploides parciales el represor mutante se une a ambas regiones operadoras bloqueando la transcripción de los genes estructurales.

El comportamiento de las mutaciones i^d e i^S en los diploides parciales se explica mejor sabiendo que la proteína represora del operón lactosa es un tetrámero (proteína constituida por

cuatro cadenas polipeptídicas idénticas con un peso molecular cada una de 38.000). En el diploide parcial (i^+/i^S), los tetrámeros con polipéptidos mutantes estarían unidos a las regiones operadora acaparándolas de forma permanente e impidiendo la transcripción. En el diploide parcial (i^+/i^d) los polipéptidos normal y mutante se unen al azar para formar tetrámeros, de manera que la mayoría de los tetrámeros tienen al menos un polipéptido mutante (15/16) y solamente una pequeña fracción de los tetrámeros tiene todos los polipéptidos normales (1/16), por tanto, la inmensa mayoría de los tetrámeros no son capaces de unirse a las regiones operadoras y se transcribirían los genes estructurales.



OPERÓN LACTOSA: CONTROL POSITIVO

Como ya he mencionado anteriormente, el operón lactosa también está sujeto a un control de tipo positivo, de manera que existe una proteína que estimula la transcripción de los genes estructurales. En los sistemas de control negativo existe una proteína que impide la transcripción de los genes estructurales, en los sistemas de control positivo existe una proteína activadora que estimula la transcripción de los genes. En principio existen cuatro tipos de sistemas posibles de regulación de la expresión génica:

- Tipo 1: Inducible, control negativo (operón lactosa y operón galactosa)
- Tipo 2: Inducible, control positivo (operón arabinosa y operón maltosa)
- Tipo 3: Represible, control negativo (operón triptófano y operón histidina)
- Tipo 4: Represible, control positivo (no se han descrito)

Por supuesto, un operón puede estar sujeto a más de un tipo de control, como sucede en el caso del operón lactosa que está bajo control negativo ejercido por la **proteína represora** y bajo control positivo ejecutado por **una proteína activadora por catabolitos (CAP)** también llamada **proteína activadora del AMP cíclico (CRP)**. El control positivo del operón lactosa como veremos está estrechamente relacionado con la **Represión catabólica**.



REPRESIÓN POR CATABOLITOS

Cuando la bacteria *E. coli* crece en un medio que contiene glucosa, prefiere este azúcar como fuente de energía y como consecuencia los operones que producen las enzimas necesarias para obtener energía de otros azúcares están bloqueados. Uno de los catabolitos del metabolismo de la glucosa actúa sobre el **AMP cíclico (AMPC)**. El **AMP cíclico (AMPC)** es necesario para la transcripción de todos los operones que son inhibidos por el catabolismo de la glucosa. Es decir, para que se transcriban los genes del operón lactosa se necesitan niveles elevados de AMPC. Esto mismo sucede con los operones de arabinosa, maltosa, galactosa, etc.. Se trata, por tanto, de un sistema general de control positivo que se denomina **represión catabólica**. Cuando *E. coli* crece en un medio con glucosa, los niveles de AMPC son muy bajos y como consecuencia no se transcriben los operones de otros azúcares. Aún no se conoce el motivo por el que los niveles de AMPC son bajos cuando *E. coli* crece en un medio con glucosa como fuente de energía.

Cuando *E. coli* crece en un medio sin glucosa pero con lactosa los niveles de AMPC son altos, el AMPC se une a la **proteína receptora de AMPc (CRP)** activándola y la proteína

activada **CRP-AMPc** a su vez estimula la transcripción de los genes estructurales del operón lactosa y de otros operones de azúcares. La **proteína activadora por catabolitos (CAP)** es un dímero que al unirse al AMPc se activa y estimula la transcripción de los genes del operón lactosa, de manera que la proteína activadora **CAP-AMPc** es necesaria para la unión de la ARN-polimerasa al promotor de los genes del operón lactosa. La proteína activadora CAP-AMPc parece ser que se une a la región promotora cerca del nucleótido que ocupa la posición -60 (60 nucleótidos antes del comienzo del gen z).

Los mutantes que afectan a la **adenilato ciclasa**, enzima que transforma el ATP en AMPc, muestran niveles muy bajos de expresión de los genes del operón lactosa, debido a que los niveles de AMPc son muy bajos en ausencia de glucosa.

Los mutantes que afectan a la proteína CRP o CAP también presentan niveles muy bajos de expresión de los genes del operón lactosa en ausencia de glucosa.



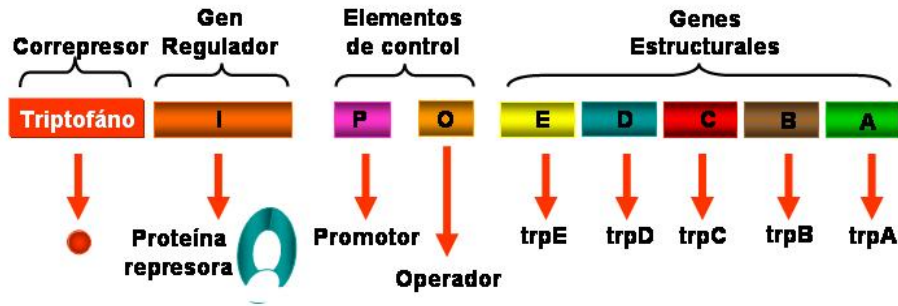
EL OPERÓN TRIPTÓFANO

El operón triptófano (operón trp) es un sistema de tipo represible, ya que el aminoácido triptófano (Correpresor) impide la expresión de los genes necesarios para su propia síntesis cuando hay niveles elevados de triptófano. Sin embargo, en ausencia de triptófano o a niveles muy bajos se transcriben los genes del operón trp. Los elementos del operón trp son en esencia semejantes a los del operón lactosa:

- **Genes estructurales:** existen cinco genes estructurales en el siguiente orden trpE-trpD-trpC-trpB-trpA.
- **Elementos de control:** promotor (P) y operador (O). El promotor y el operador están al lado de los genes estructurales y en el siguiente orden: P O trpE-trpD-trpC-trpB-trpA. Curiosamente, las enzimas codificadas por estos cinco genes estructurales actúan en la ruta metabólica de síntesis del triptófano en el mismo orden en el que se encuentran los genes en el cromosoma.
- **Gen regulador (trpR):** codifica para la proteína reguladora. Este gen se encuentra en otra región del cromosoma bacteriano aunque no muy lejos del operón.
- **Correpresor:** triptófano.

En el siguiente esquema se indican los elementos del Operón Triptófano:

Operón Triptófano

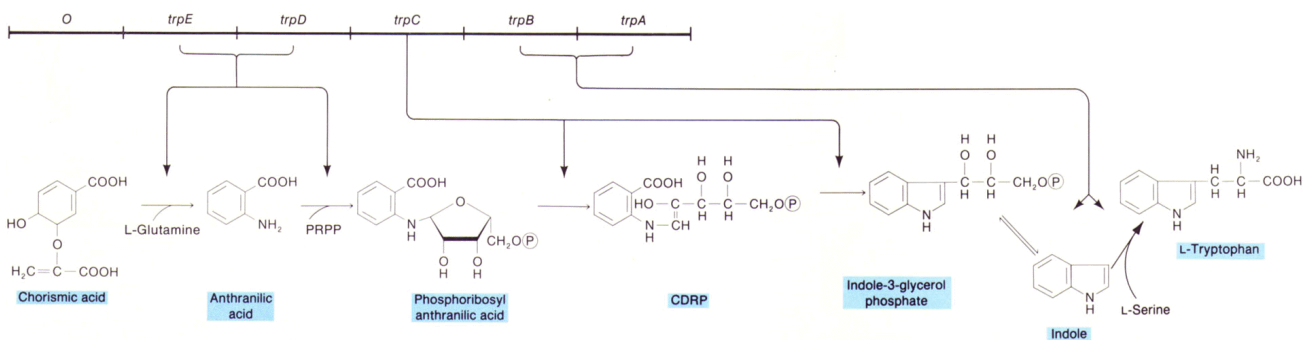


SITUACIÓN EN EL CROMOSOMA BACTERIANO



Elementos del Operón Triptófano

Los genes estructurales del operón triptófano se encuentran en el mismo orden que actúan los productos codificados por ellos en la ruta biosintética del triptófano (ver el siguiente esquema).

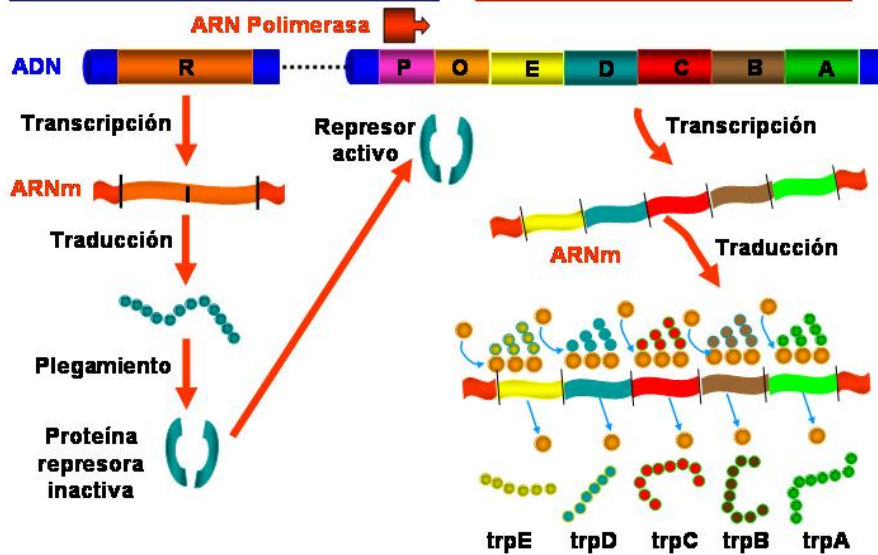


Orden de los genes estructurales del operón triptófano y ruta de síntesis del triptófano

En ausencia de triptófano, o cuando hay muy poco, la proteína reguladora producto del gen **trpR** no es capaz de unirse al operador de forma que la ARN-polimerasa puede unirse a la región promotora y se transcriben los genes del operón triptófano.

Operón Triptófano

Sin Correpresor

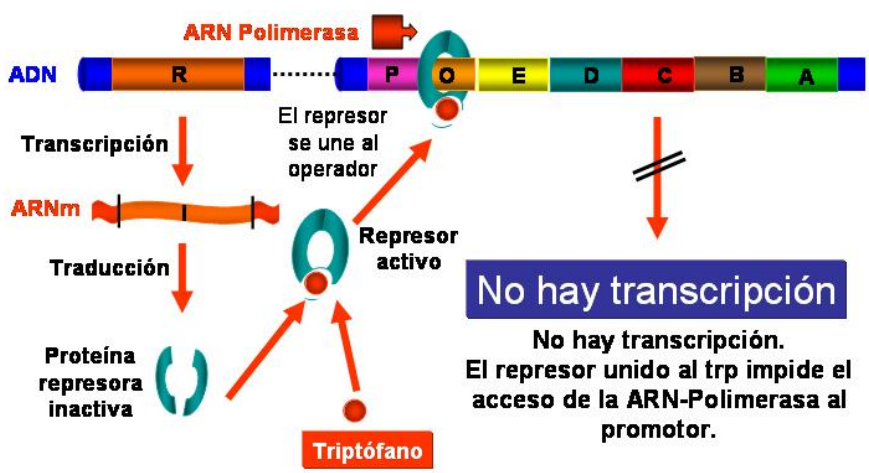


Operón triptófano: en ausencia de triptófano

En presencia de triptófano, el triptófano se une a la proteína reguladora o represora cambiando su conformación, de manera que ahora si puede unirse a la región operadora y como consecuencia la ARN-polimerasa no puede unirse a la región promotora y no se transcriben los genes estructurales del operón trp.

Operón Triptófano

Con Correpresor



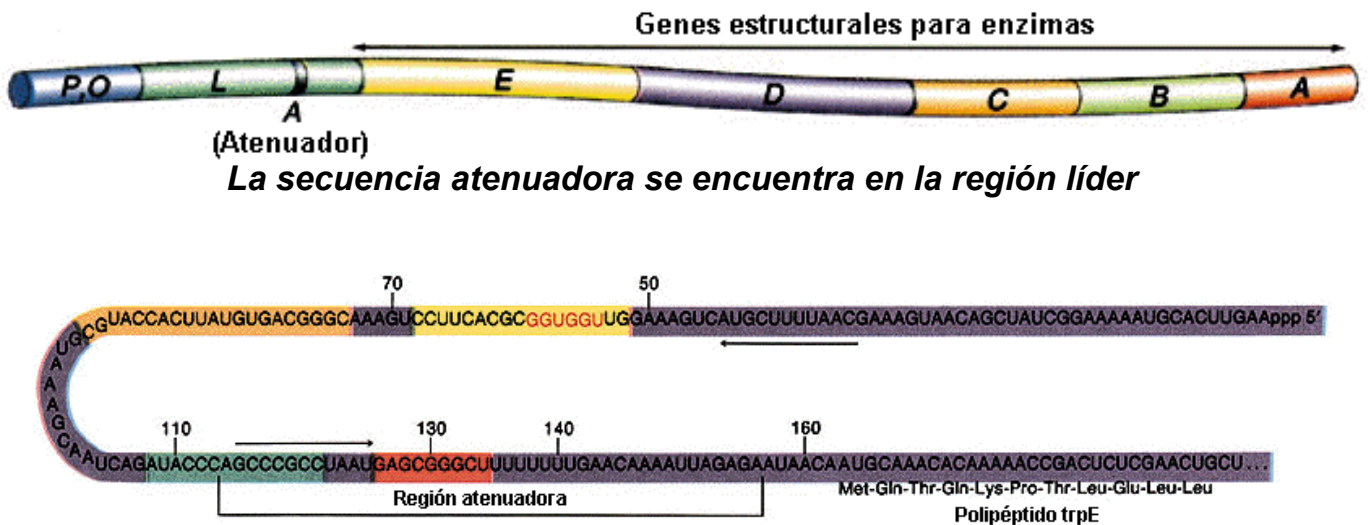
Operón triptófano: en presencia de triptófano

Por tanto, la diferencia esencial entre el operón lac (inducible) y el operón trp (represible), es que en este último el represor del triptófano solamente es capaz de unirse al operador cuando previamente está unido al trp.

Al estudiar más profundamente el operón trp se encontró que además del mecanismo de regulación represor-operador existía otro mecanismo de regulación que se denominó **regulación por atenuación**.

EL OPERÓN TRIPTÓFANO: REGULACIÓN POR ATENUACIÓN

Cuando Yanofsky analizó mutantes que afectaban al *gen trpR* que codifica para la proteína represora y que continuaban produciendo ARNm del operón *trp* aún en presencia de triptófano, observó que la eliminación del triptófano del medio producía un aumento casi de 10 veces en la producción del ARNm del operón *trp*, incluso aunque el represor estuviera inactivo. Yanofsky identificó la región del ADN responsable de este aumento en la producción del ARNm del operón *trp*. Demostró que estos mutantes tenían una deleción entre el operador y el primer gen estructural, el *gen E*.



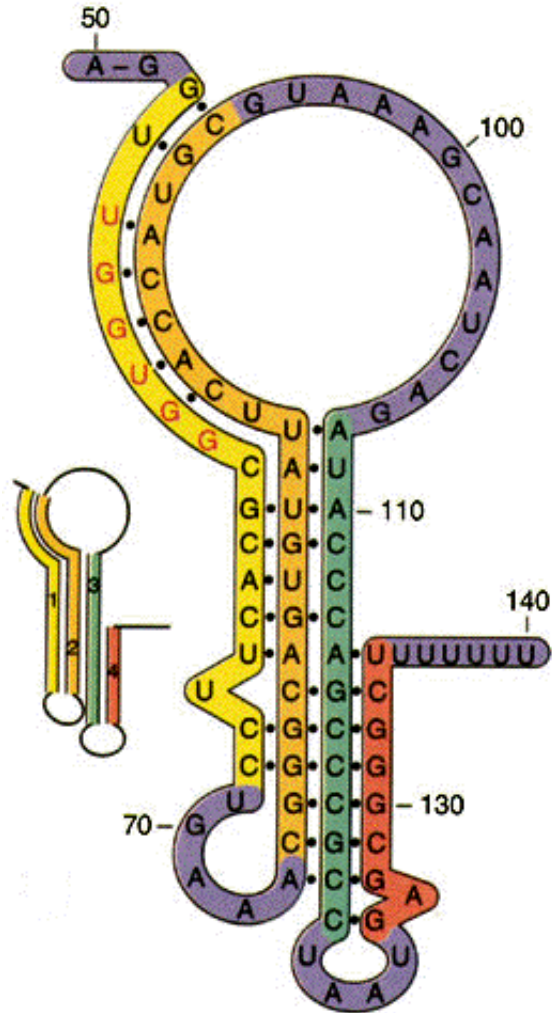
Secuencia de bases de la región atenuadora y comienzo de la secuencia del gen *trpE*

Yanofsky aisló el ARN-m multigénico del operón *trp* y secuenció la región del extremo 5' encontrando una región líder del 160 bases que no se traduce a aminoácidos. Esta secuencia se encuentra antes del primer triplete que se transcribe. Cuando analizó la secuencia correspondiente en el mutante que siempre produce niveles máximos de *trp*, detectó una deleción de una 30 bases que se extendía desde la posición 130 a la 160. Yanofsky llamó **atenuador** a la región del ADN inactivada por la deleción, ya que su presencia conduce aparentemente a disminuir la tasa de transcripción.

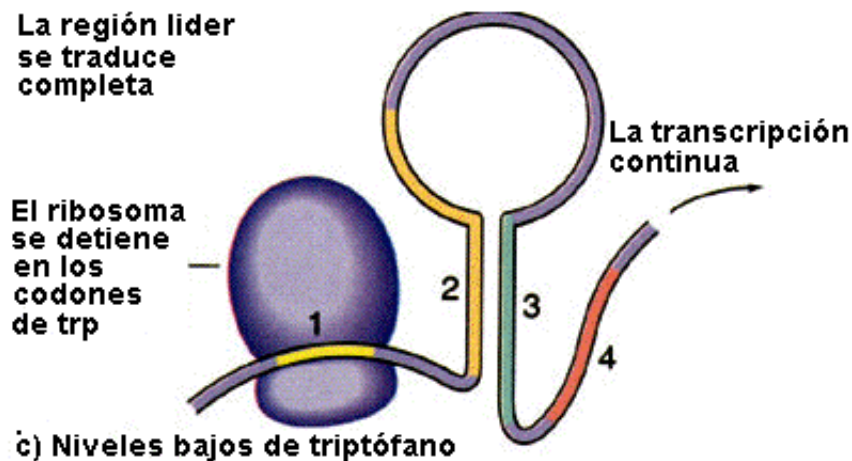
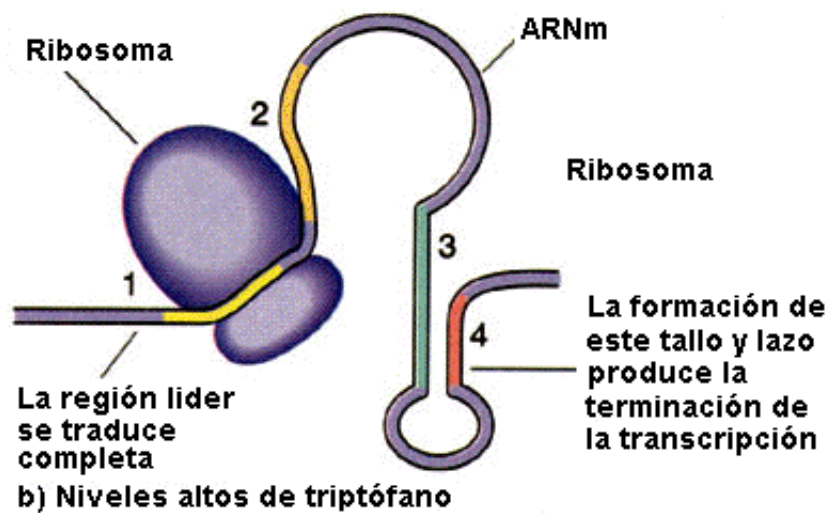
Yanofsky comprobó utilizando mutantes *trpR* que incluso en presencia de altos niveles de *trp*, que deberían hacer que la región atenuadora redujera en 10 veces la tasa de transcripción, se seguían transcribiendo las primeras 141 bases de la región líder del ARN-m del operón *trp*, aunque el ARN-m de longitud normal solo aparecía a un nivel 10 veces menor. De forma, en presencia de altos niveles de *trp* las primeras 141 bases se transcriben al máximo, pero por el mecanismo de atenuación que tiene lugar en esa región, solamente uno de cada 10 ARNm se transcribe hasta el final. Por consiguiente, la región atenuadora actúa como una región terminadora de la transcripción en presencia de triptófano, mientras que en ausencia de triptófano el atenuador se desactiva y todas las moléculas de ARNm se completan.

La región líder del operón triptófico se caracteriza por tener una sede de reconocimiento para los ribosomas y los codones de 14 aminoácidos, entre ellos dos residuos de triptófano. Además, la siguiente región puede formar una estructura secundaria palindrómica en forma de lazo u horquilla. Cuando los niveles de triptófano son altos, la traducción de la primera parte del segmento líder del mensajero impide de alguna manera la transcripción más allá de la estructura secundaria. Cuando los niveles de triptófano son bajos disminuye o cesa la traducción del polipéptido sintetizado por la secuencia líder, permitiendo que la ARN polimerasa transcriba el operón completo. Aunque no se conoce la forma en la que tiene lugar la terminación anticipada, es posible que los ribosomas que traducen la región líder produzcan la desaparición de la estructura secundaria de la segunda parte de la región líder y se produzca el

reconocimiento de esta región por el factor ρ de terminación.

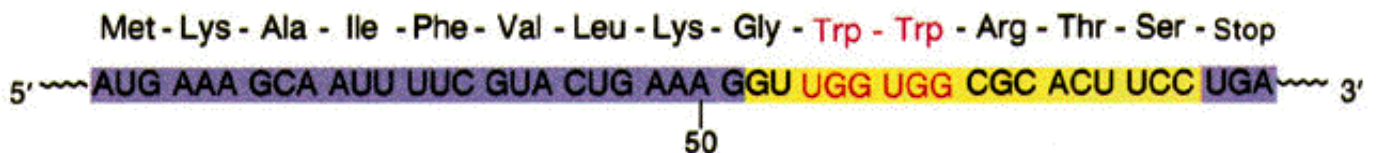


Estructura secundaria de la región líder

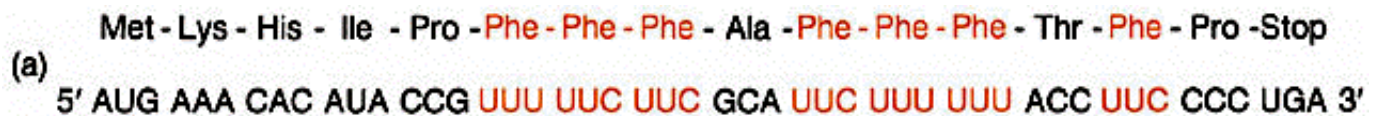


Esquema de lo que sucede con niveles altos (b) y bajos (c) de triptófano

La regulación por atenuación probablemente tiene lugar en otros operones bacterianos relacionados con la síntesis de aminoácidos, ya que en todos los casos el segmento inicial del polipéptido transcrito es rico en el aminoácido que controla dicho operón. Cuando hay poca cantidad del aminoácido correspondiente la traducción del péptido líder se detiene en los codones correspondientes al mismo el tiempo suficiente para que se formen las estructuras secundarias que permiten que la ARN polimerasa pueda continuar con la transcripción.



Porción que se traduce de la región líder del operón triptófano



INTERACCIÓN ENTRE OPERONES

Es obvio que en las células existen muchos genes que están sometidos a diferentes sistemas de regulación. Si nos fijamos en dos sistemas enzimáticos cualesquiera, puede darse los siguientes casos:

- Que ambos sean dependientes: de manera que la presencia de uno de ellos sea necesaria para la presencia del otro.
- Que sean excluyentes: la presencia de uno impide la presencia del otro.
- Que sean alternativos: la presencia de uno no depende de la presencia del otro.

Esta situación puede explicarse suponiendo que los productos finales catalizados por los diferentes enzimas actúen como inductores o correpresores del otro sistema. Por ejemplo, el producto de un enzima induce la expresión de los genes de otro sistema enzimático, o por el contrario, el producto de otra enzima impide la expresión de los genes de otro sistema enzimático.

Por consiguiente, las interacciones entre operones son algo frecuente en los seres vivos y hacen más complejo el entendimiento de la regulación de la expresión génica.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN FAGOS

Los bacteriofagos son virus que infectan a bacterias que han desarrollado a lo largo de la evolución mecanismos cada vez más eficientes para poner a su servicio la maquinaria de las células bacterianas a las que infectan, de forma que ponen a su servicio la síntesis de ADN y la síntesis de proteínas. Por tanto, el conocimiento profundo de los sucesos que tienen lugar durante la infección de una bacteria por un fago, nos indicará que genes del fago se están expresando para llevar a cabo su ataque y en qué momento lo hacen.

Los fagos han desarrollado diferentes sistemas para infectar a las bacterias. Los principales mecanismos utilizados por los fagos para dirigir la síntesis del ADN y de proteínas de la bacteria a la que infectan poniéndola a su servicio son los siguientes:

- [Síntesis de una nueva ARN polimerasa \(Fago T7\)](#)
- [Síntesis de subunidades de nueva formación de la ARN polimerasa \(Fago SP01\)](#)
- [Producción de proteínas activadoras o represoras de los operones del fago \(Fago I\)](#)

Seguidamente vamos a ver unos ejemplos de Regulación temporal o Regulación encascada que tienen lugar durante la infección de los fagos T7, SP01 y fago I.

REGULACIÓN DEL FAGO T7

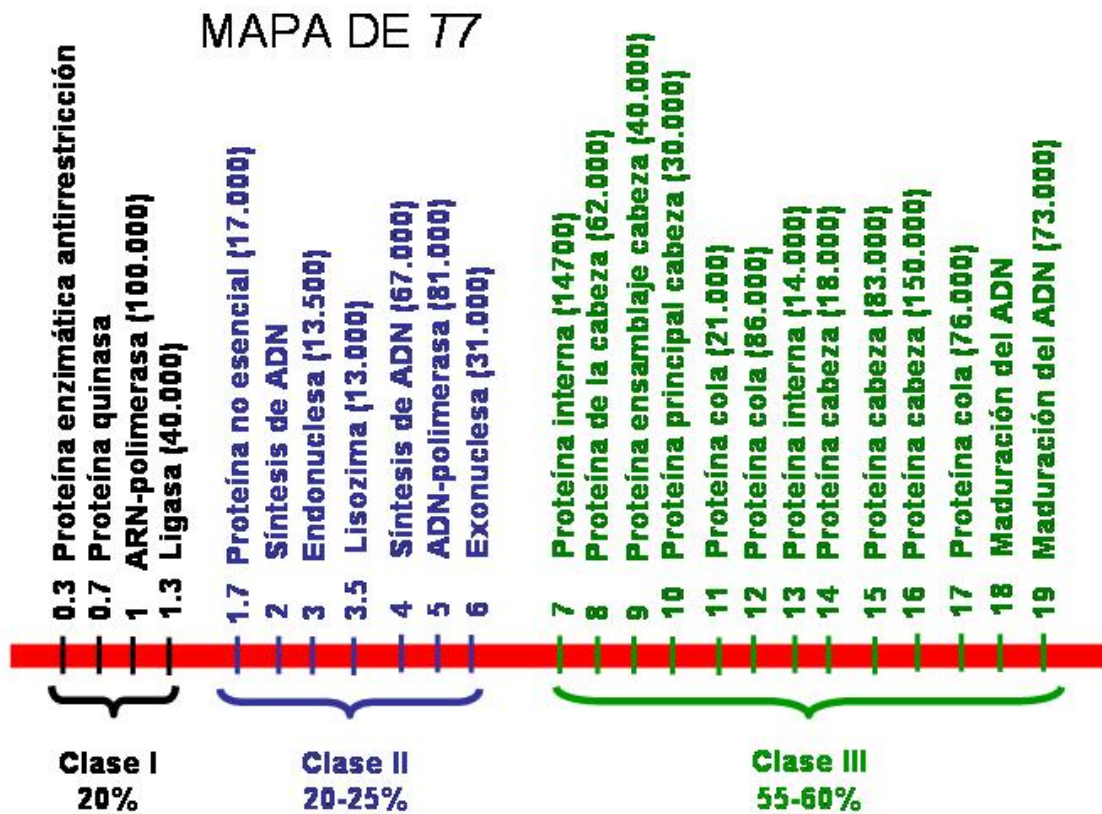
Vamos a comenzar con un ejemplo de regulación de la expresión génica en virus en el que el

mecanismo empleado es la síntesis de una nueva ARN polimerasa a partir del ADN del virus.

El fago *T7* tiene una relación de tipo lítico con la bacteria *E. coli*, su ADN doble hélice lineal de 12 micras de longitud carece de extremos redundantes. Los genes del fago *T7* están organizados en tres tipos o grupos de genes que se denominan:

- **Genes de la clase I:** entre otros los genes 0.3 (Metilasa, vence el sistema restricción de la bacteria), 0.7 (Proteína quinasa), 1 (ARN polimerasa) y 1.3 (ADN ligasa).
- **Genes de la clase II:** entre otros los genes 2 (Síntesis de ADN), 3 (Endonucleasa), 3.5 (Lisozima, 4 (Síntesis de ADN), 5 (ADN polimerasa) y 6 (Exonucleasa).
- **Genes de la clase III:** entre otros los genes 10 (Protéina principal de la cápside), 11, 12 y 17 (Proteínas de la cola), 13 (Proteína interna), 14, 15 y 16 (Proteínas de la cápside), 18 y 19 (Maduración del ADN).

En el siguiente esquema se indica la disposición de estos tres tipos de genes en el ADN lineal del fago *T7*:



Esquema de los genes del Fago T7

Cuando el fago *T7* inyecta su ADN en el interior de *E. coli*, la ARN polimerasa de la bacteria reconoce tres promotores que se encuentran en el extremo del ADN del fago junto a los genes de la clase I. Los genes de la clase I también reciben el nombre de *genes tempranos* por ser los primeros en expresarse. El ARN mensajero policistrónico que se produce contiene los siguientes cinco genes: 0.3, 0.7, 1, 1.1 y 1.3. Entre estos genes es preciso destacar al gen 1, ya que lleva información para una nueva ARN polimerasa de origen viral que reconoce al resto de los promotores de los genes de la clase II y de la clase III. La proteína quinasa producto del gen 0.7 fosforila la ARN polimerasa de la bacteria e impide su funcionamiento, de manera que una vez transcritos los genes de la clase I del fago *T7*, dejan de transcribirse los genes bacterianos.

Posteriormente, la nueva ARN polimerasa transcribe los genes de la clase II, también denominados *genes medios*. Dichos genes están relacionados con la replicación del ADN del virus (2, 4 y 5) y con la degradación del ADN bacteriano (genes 3 y 6) y lisis de la bacteria (gen 3.5).

Por último, la nueva ARN polimerasa transcribe los genes de la Clase III también llamados *genes tardíos*. Dichos genes codifican para proteínas de la cabeza, de la cola, proteínas de maduración del ADN y proteínas necesarias para el ensamblaje final de las partículas virales.

Como se puede observar, los genes del fago *T7* se encuentran situados en el cromosoma en el mismo orden en el que se expresan, produciéndose una *Regulación temporal* o *Regulación en cascada* que implica un orden de expresión de los genes que va de los genes de la clase I (tempranos), pasa a los genes de la clase II (medios) y termina con los genes de la clase III (tardíos).



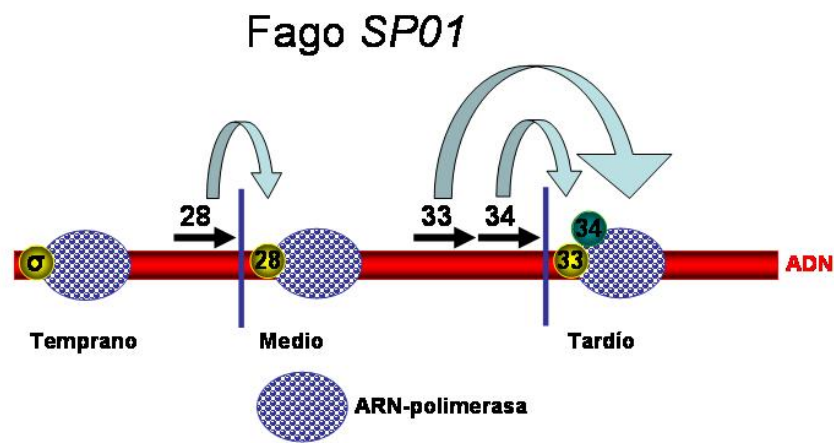
REGULACIÓN DEL FAGO SP01

El siguiente ejemplo que vamos a ver es el de un virus cuya estrategia cuando infecta a las bacterias es producir subunidades nuevas que se unen a la ARN polimerasa de la bacteria y modifican su capacidad para reconocer a los promotores de los genes bacterianos.

Este es el caso del fago *SP01* que infecta a la bacteria *Bacillus subtilis*. En este virus también se distinguen tres tipos de genes en cuanto al orden temporal de expresión:

- **Genes tempranos:** los promotores de dichos genes son reconocidos por la ARN polimerasa de la bacteria *Bacillus subtilis* y entre ellos se encuentra el Polipéptido 28. El polipéptido 28 se une a la ARN polimerasa de la bacteria que ahora es capaz de reconocer a los promotores de los genes medios. Dicha polimerasa al interactuar con el polipéptido 28 deja de reconocer a los promotores de los genes bacterianos.
- **Genes medios:** la ARN polimerasa de la bacteria unida al polipéptido 28 transcribe seguidamente los genes medios entre los que se encuentran los polipéptidos producto de los genes 33 y 34. Los polipéptidos producto de los genes 33 y 34 se unen a la ARN polimerasa de la bacteria y reconocen los promotores de los genes tardíos.
- **Genes tardíos:** son los últimos en expresarse.

En el siguiente esquema se indican los sucesos fundamentales que tienen lugar durante la regulación de la infección del fago *SP01*:



Regulación del Fago SP01

Como se puede observar, de nuevo se ha producido una expresión ordenada en el tiempo de tres tipos de genes, por consiguiente se trata de una *Regulación Temporal* o *Regulación en cascada*.



REGULACIÓN DEL FAGO I

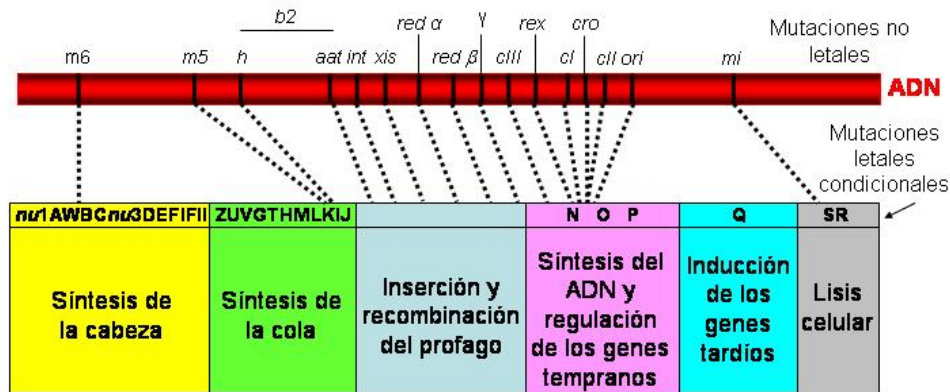
El fago I posee ADN lineal doble hélice con extremos cohesivos. Cuando el fago I infecta a *E. coli* pueden iniciarse dos respuestas diferentes:

- **Respuesta Lítica:** el fago inyecta su ADN en el interior de la bacteria, su ADN se replica, se sintetizan los distintos componentes de la cápside y se lisa la bacteria liberándose nuevas partículas virales.
- **Respuesta Lisogénica:** el fago inyecta su ADN en el interior de la bacteria, El ADN se circulariza y posteriormente se integra en el ADN principal de la bacteria en un punto concreto. Cuando el ADN del fago está integrado se le denomina **profago** y se replica al mismo tiempo que se replica el ADN bacteriano. A veces el **profago** se suelta del ADN bacteriano, fenómeno denominado **inducción**, y después se replica y termina lisando a la bacteria.

Se pueden distinguir varias regiones en ADN lineal del fago I en base al tipo o función de los genes que contiene cada una de ellas: regiones con funciones de regulación, funciones de integración (recombinación) del ADN del fago en el ADN bacteriano, regiones que contienen genes relacionados con la replicación del ADN, la lisis bacteriana, regiones con genes relacionados con la maduración del virus (regiones con genes para las proteínas de la cabeza y de la cola). En el siguiente esquema se indican las posiciones de las mutaciones letales y no letales además de los agrupamientos de genes con funciones relacionadas:

Fago λ

Mapa genético en el que se indican la posiciones de mutaciones no letales y letales condicionales. También están señaladas las regiones que contienen genes con funciones relacionadas.



Mapa del Fago λ

El mecanismo que utiliza el fago para expresar sus genes es la producción de proteínas activadoras o represoras de los operones del fago. Para explicar la regulación de este fago distinguiremos los siguientes aspectos:

- [Regulación durante el ciclo lítico.](#)
- [Regulación durante el ciclo lisogénico](#)
- [Competencia entre lisis y lisogenia.](#)
- [Inducción del profago.](#)



Regulación durante el ciclo lítico

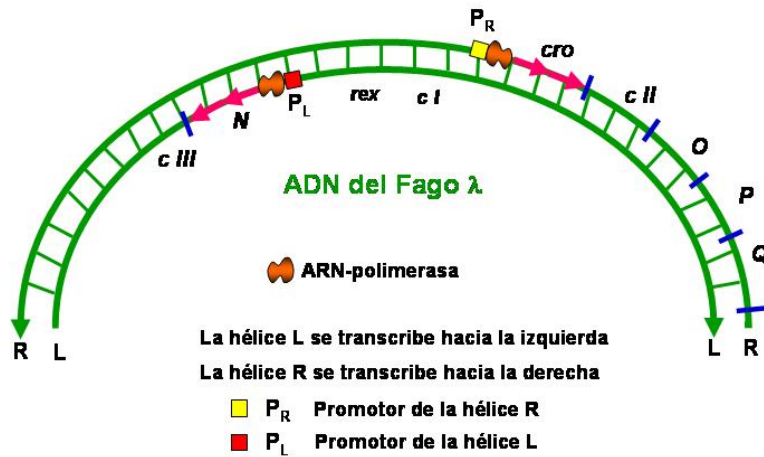
El ciclo lítico consta de tres fases sucesivas que se corresponden con tres rondas de transcripción:

- Transcripción temprano-inmediata
- Transcripción temprano-retrasada
- Transcripción tardía.

En la transcripción temprano-inmediata la ARN polimerasa de *E.coli* se une al promotor de la hélice derecha (P_R) para transcribir hacia la derecha el gen *cro* y al promotor de la hélice izquierda (P_L) para transcribir la proteína N producto del *gen N*.

Regulación de la expresión génica en el Fago λ

Transcripción temprano-inmediata de los genes *N* y *cro*



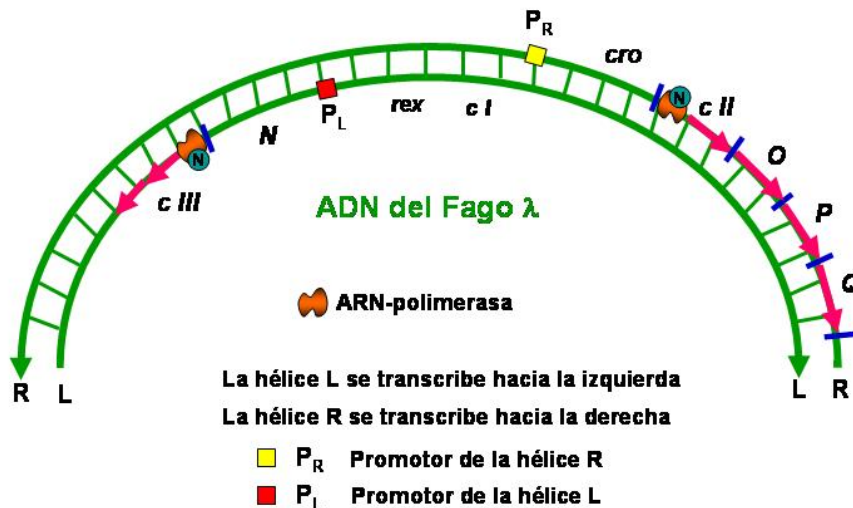
Transcripción temprano-inmediata de los genes *N* y *cro*

El gen *cro* está relacionado con la decisión lisis versus lisogenia, por tanto, hablaremos más tarde de él.

La proteína N actúa como activador de la transcripción de los genes temprano-retrasados que son *cII*, *O*, *P* y *Q* en la hélice R que se transcribe hacia la derecha y del gen *cIII* en la hélice L que se transcribe hacia la izquierda. El producto N impide que termine la transcripción antes del gen Q interaccionando con la ARN polimerasa antes de que se inicie la transcripción cerca de los promotores P_R y P_L .

Regulación de la expresión génica en el Fago λ

Transcripción temprano-retardada estimulada por la proteína N



Transcripción temprano-retrasada

Los genes *cII* y *cIII* están involucrados en la regulación de la lisogenia. Sin embargo, los genes *O* y *P* codifican para productos necesarios para la replicación del ADN. El producto del gen *Q* actúa como activador de la transcripción de los genes tardíos de manera semejante a como el producto del gen *N*. La transcripción de los genes tardíos incluye los genes *S* y *R* que intervienen en la lisis bacteriana, los genes *A*, *W*, *B*, *C*, *nu3*, *D*, *E* *F* *I* y *F* *I* *I* involucrados en la síntesis y el ensamblaje de las proteínas de la cabeza del fago, y los genes *Z*, *U*, *V*, *G*, *T*, *H*, *M*, *L*, *H*, *I* y *J* necesarios para la síntesis y ensamblaje de las proteínas de la cola del virus. De esta manera se completa el ciclo lítico del virus con la liberación de nuevas partículas virales, ya que

se ha llevado a cabo la replicación del ADN, síntesis y ensamblaje de todas las proteínas necesarias (cabeza y cola), la lisis y maduración.

El producto N es muy inestable de manera que su concentración intracelular disminuye rápidamente, de forma que para que se establezca el ciclo lítico se necesita la expresión continua del gen *N*.

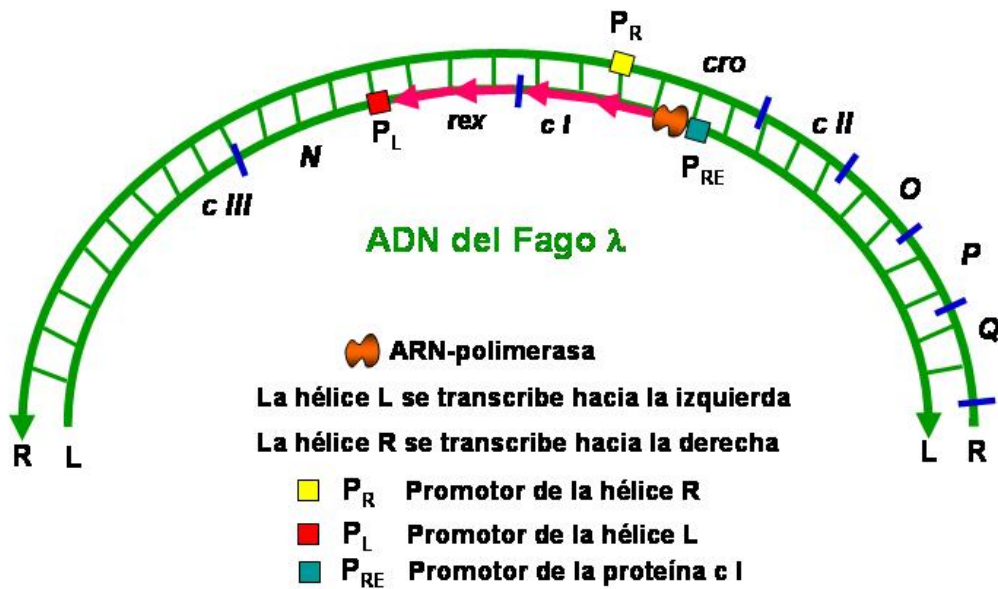


Regulación durante el ciclo lisogénico

Como ya hemos visto en el apartado anterior, una vez que el fago ha inyectado su ADN en el interior de la bacteria se produce la transcripción temprano- inmediata de los genes *N* y *cro*. Posteriormente el producto N estimula la transcripción de los genes *cII* en la hélice derecha (R) y del gen *cIII* en la hélice izquierda (L). Los productos *cII* y *cIII* estimulan la transcripción del gen *cl* y del gen *rex* a partir del promotor P_{RE} (promotor para el establecimiento del represor). El gen *cl* codifica para el **represor I** o **represor del fago I**. El producto *cIII* protege a la proteína *cII* de la proteólisis. La proteína **represora I** bloquea las regiones operadoras O_R y O_L e impide la transcripción de los genes temprano-inmediatos *N* y *cro*, y por tanto, tampoco se expresan los genes *O*, *P* y *Q* (temprano-retrasados) ni los genes tardíos necesarios para el ciclo lítico. De esta forma se establece la lisogenia. Por tanto, el **represor I** impide el ciclo lítico.

Regulación de la expresión génica en el Fago λ

Transcripción de los genes *C I* y *rex* a partir del promotor P_{RE}

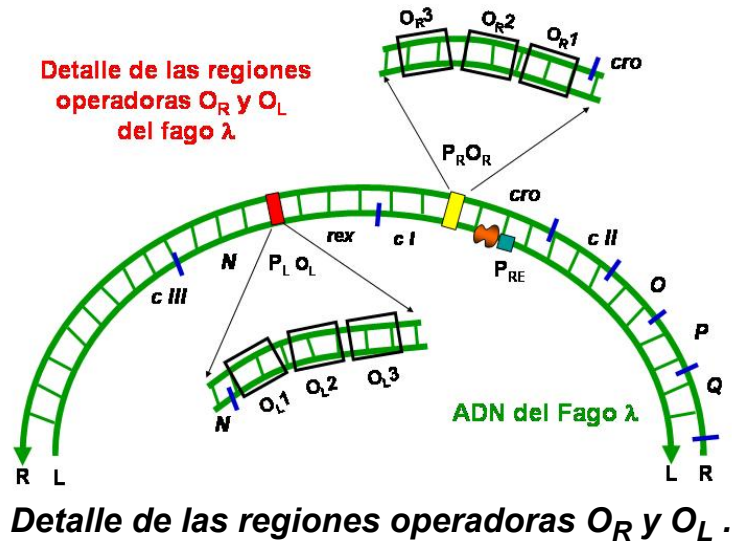


Transcripción de los genes *cl* y *rex* a partir del promotor P_{RE}

Ahora bien, el establecimiento de la lisogenia necesita además que el ADN del fago se integre en el ADN bacteriano. Se ha visto que los productos *cII* y *cIII* estimulan la expresión de los genes necesarios para la integración a partir del promotor P_{INT} situado en la región att-exo.

El análisis de los operadores O_R y O_L revela que están formados por tres regiones semejantes (O_{R1} , O_{R2} , O_{R3} , O_{L1} , O_{L2} y O_{L3}), pero no idénticas, de unas 17 pares de bases capaces de unirse de forma independiente al **represor I**. Dichas regiones están separadas entre si por regiones ricas en pares A-T.

Regulación de la expresión génica en el Fago λ

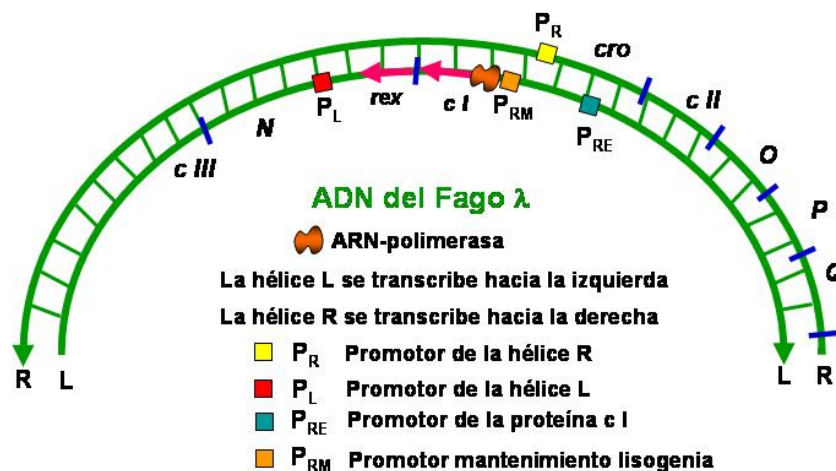


Competencia entre lisis y lisogenia

La producción de la proteína **represora I** se puede llevar a cabo a partir de dos promotores diferentes. Como hemos visto la transcripción del gen *cI* se estimula por los productos *cII* y *cIII* a partir del promotor para el establecimiento del represor, P_{RE} . El gen *cI* también se transcribe estimulado por el propio **represor I** a partir del promotor para el mantenimiento del represor, P_{RM} . En este último caso, se trata de un proceso de *autorregulación o regulación autógena*, en el que una propia proteína (**represor I**) regula su propia expresión.

Regulación de la expresión génica en el Fago λ

Transcripción de los genes *cI* y *rex* a partir del promotor P_{RM} una vez establecida la lisogenia



Transcripción del gen *cI* a partir del promotor P_{RM}

Si recordamos, cuando la lisogenia está establecida, el **represor I** impide la transcripción de los productos *cII* y *cIII* a partir de los promotores P_R y P_L . Por tanto, la transcripción del gen *cI* a partir del promotor P_{RM} mantiene la síntesis del **represor I**. Además, el promotor solapa con la región operadora O_R en la región O_{R3} .

El represor del fago I (**represor I**) y el producto del gen *cro* (antirrepresor) pueden bloquear los operadores O_R y O_L . El **represor I** es indispensable para el mantenimiento de la lisogenia y el producto de *cro* es necesario para la lisis. Para mantener la lisogenia (represión) tienen que dejar de expresarse todos los genes implicados en el desarrollo viral (ciclo lítico) y expresarse los genes del sistema de represión. El represor I consigue realizar esta función mediante su autorregulación y mediante su actividad represora de los promotores P_R y P_L . Esta regulación incluye el uso de las tres regiones O_{R1} , O_{R2} y O_{R3} .

La respuesta lítica depende de la proteína reguladora *cro*, cuya afinidad por las tres regiones operadoras es la siguiente: $O_{R3} > O_{R2} = O_{R1}$. A bajas concentraciones de *cro* se une preferentemente a O_{R3} que impide la transcripción de *cl* a partir del promotor P_{RM} y estimula la transcripción del promotor P_R . Concentraciones altas de *cro* bloquean las regiones O_{R2} y O_{R1} impidiendo su propia transcripción.

La actuación del **represor I** y del producto del gen *cro* (antirrepresor) puede resumirse de la siguiente forma:

- Respuesta lisogénica: los dímeros del represor ocupan las sedes O_{R1} y O_{R2} y dejan libre la O_{R3} , como consecuencia se transcribe el gen *cl* y no se transcribe el gen *cro*.
- Cambio de respuesta lisogénica a lítica (inducción): se inactiva el **represor I** debido a la actividad proteásica de la proteína RecA codificada por el gen *reca* que se activa por daño genético en el ADN (respuesta SOS). Disminuye la concentración de dímeros del represor, quedan libres las sedes O_{R2} y O_{R1} como consecuencia deja de transcribirse el gen *cl* y comienza a transcribirse el gen *cro*.



Inducción del profago

La integración y la escisión del ADN del fago son también procesos clave de la regulación del ciclo del fago I. La integración del ADN circular del fago se produce por recombinación en la región *att* del ADN del virus y conduce a la aparición del profago (ADN integrado del virus). La situación opuesta consiste en la liberación o escisión del ADN del fago que vuelve a ser ADN doble hélice circular libre.

Se ha propuesto que la integración y la escisión se llevarían a cabo a través de una región de 15 pares de bases (región central O) común a las sedes *att* del virus y de la bacteria. La secuencia de estos quince pares de bases de la región O y los puntos de corte es la siguiente: GCTTT⁻TTTATACTAA.

La integración requiere solamente la actuación de la proteína *int*, mientras que la escisión necesita de la actuación de las proteínas *int* y *xis*. Las proteínas *cII* y *cIII* son necesarias para producir altos niveles de la proteína *int* y para realizar una eficiente integración.

Se ha propuesto que la proteína *int* podría actuar como una endonucleasa de restricción que reconocería a la región O y produciría extremos cohesivos en el ADN del fago y de la bacteria.



