

11

REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN

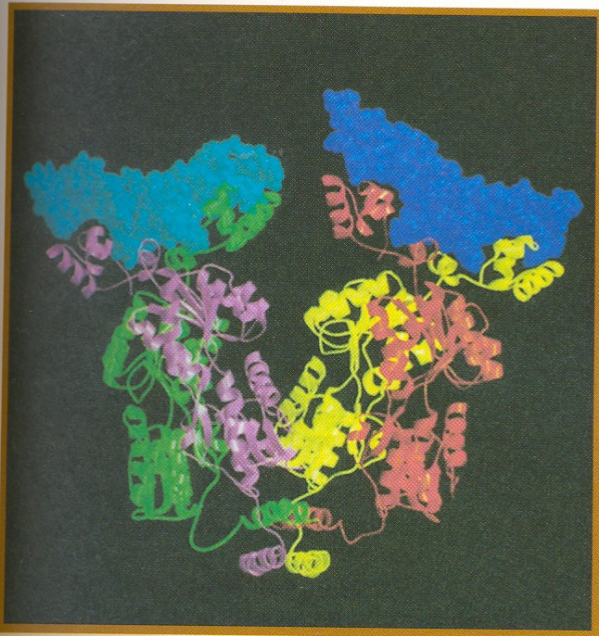


Imagen del complejo represor *lac*-DNA obtenida por estudios de cristalografía de rayos X.

En este caso, el tetrámero del represor está unido a dos operadores. Cada dímero se une a un operador. Los operadores mostrados aquí (azul claro y azul oscuro) tienen una longitud de 21 pares de bases. Los monómeros presentan los colores verde, violeta, rojo y amarillo. Observe cómo el fragmento amino terminal de un monómero (violeta) se cruza con otro monómero (verde) para unirse a la primera parte del operador, mientras que el fragmento terminal del segundo monómero (verde) se cruza y se une a la segunda parte del operador. De esta forma, la hélice de reconocimiento de cada una de las dos subunidades se une a regiones consecutivas del

mismo operador. (Cortesía de M. Lewis, Geoffrey Chang, N. C. Horton, M. A. Kercher, H. C. Pace, M. A. Schumacher, R. G. Brennan y P. Lu, University of Pennsylvania.)

Ideas fundamentales

La regulación génica está mediada frecuentemente por proteínas que reaccionan ante señales ambientales aumentando o disminuyendo las tasas de transcripción de genes específicos.

En procariotas, la coordinación del control génico se consigue agrupando en el cromosoma genes estructurales coordinados, de forma que se transcriben en moléculas de mRNA multigénicas.

Un ejemplo de control negativo se observa en el sistema *lac*, en el que una proteína represora bloquea la transcripción uniéndose al DNA por un sitio denominado operador.

El control positivo se realiza mediante proteínas que activan la transcripción.

Muchas proteínas reguladoras presentan rasgos estructurales comunes.

En el DNA de los eucariotas existen sitios reguladores adicionales, como los intensificadores, que pueden actuar a una considerable distancia del sitio de inicio de la transcripción, modulando la expresión génica mediante interacción con proteínas reguladoras específicas.

En los Capítulos 9 y 10 hemos considerado qué son los genes y cómo la maquinaria celular los transcribe en moléculas de RNA, muchas de las cuales se traducen a proteínas. Pero, ¿cómo regula la célula la síntesis de sus proteínas? El control de la cantidad de proteínas específicas presentes en la célula es crucial para un organismo. En las células de los organismos superiores, determinados tipos celulares se diferencian y alcanzan un alto grado de especialización. Una célula del ojo humano sintetiza proteínas importantes para el color del ojo, pero no produce las enzimas detoxificadoras que se sintetizan en las células del hígado. Cada tipo celular ha conseguido expresar sólo algunas de sus proteínas.

Las bacterias también necesitan regular la síntesis de sus proteínas. Las enzimas implicadas en el metabolismo de los azúcares constituyen un buen ejemplo. El metabolismo de diferentes fuentes de carbono para obtener energía requiere enzimas metabólicas. Sin embargo, existen muchos tipos diferentes de compuestos que las bacterias pueden usar como fuente de carbono. Azúcares como la lactosa, la glucosa, la maltosa, la ramnosa, la galactosa o la xilosa constituyen sólo una fracción de las posibles fuentes de carbono. Existen varias enzimas diferentes que permiten introducir cada uno de estos compuestos al interior de la célula, y que catalizan los diferentes pasos que llevan a su rotura. Si una célula tuviera que sintetizar simultáneamente todas las enzimas que pudiera necesitar, el coste energético sería demasiado elevado. Por ello, es necesario que la síntesis de estas enzimas esté estrictamente regulada.

Los niveles de las proteínas están regulados por mecanismos que operan durante la transcripción o la traducción. En este capítulo trataremos sobre el control de la transcripción, que es el punto de control principal de regulación. Aunque la regulación de la transcripción es normalmente más compleja en células eucarióticas, algunos de sus aspectos son similares a los de procariontes. Consideraremos primero el control de la transcripción en procariontes y describiremos más tarde la regulación transcripcional en eucariotes.

Circuitos básicos de control

Como acabamos de señalar, el problema básico al que se enfrenta la célula es el de diseñar mecanismos para reprimir la transcripción de todos aquellos genes que determinen enzimas que no son necesarias y para activarlos en el momento en que las enzimas correspondientes sean necesarias. Para conseguir esto se han de cumplir dos requisitos:

1. Las células deben ser capaces de conectar y desconectar la transcripción de cada gen o grupo de genes específicos.
2. Las células deben ser capaces de reconocer las condiciones ambientales según las cuales los correspondientes genes deben ser activados o desactivados.

Revisaremos primero el modelo actual de un caso de control transcripcional en procariontes y consideraremos luego su desarrollo. El primer sistema que analizaremos es el metabolismo de la lactosa en *E. coli*. El detallado análisis genético de este sistema que François Jacob y Jacques Monod realizaron en los años cincuenta supuso el primer avance importante en la comprensión del control transcripcional. Sabemos mucho ahora sobre cómo funciona este sistema. La Figura 11-1 presenta un modelo físico del control de las enzimas implicadas en el metabolismo de la lactosa.

El metabolismo de la lactosa requiere dos enzimas: una permeasa para introducir la lactosa en la célula y una β -galactosidasa para romper la molécula de lactosa en glucosa y galactosa. La β -galactosidasa y la permeasa están determinadas por dos genes contiguos, *Z* e *Y*, respectivamente. Un tercer gen, el gen *A*, determina una enzima adicional, denominada *transacetilasa*, que no se requiere para el metabolismo de la lactosa, por lo que no nos centraremos en ella por ahora. Estos tres genes se transcriben en una única molécula multigénica de RNA mensajero (mRNA). Se desprende de ello que, regulando la producción de ese mRNA, puede regularse coordinadamente la síntesis de las tres enzimas. Un cuarto gen, el gen *I*, cercano pero no directamente adyacente a los genes *Z*, *Y* y *A*, determina una proteína **represora**, llamada

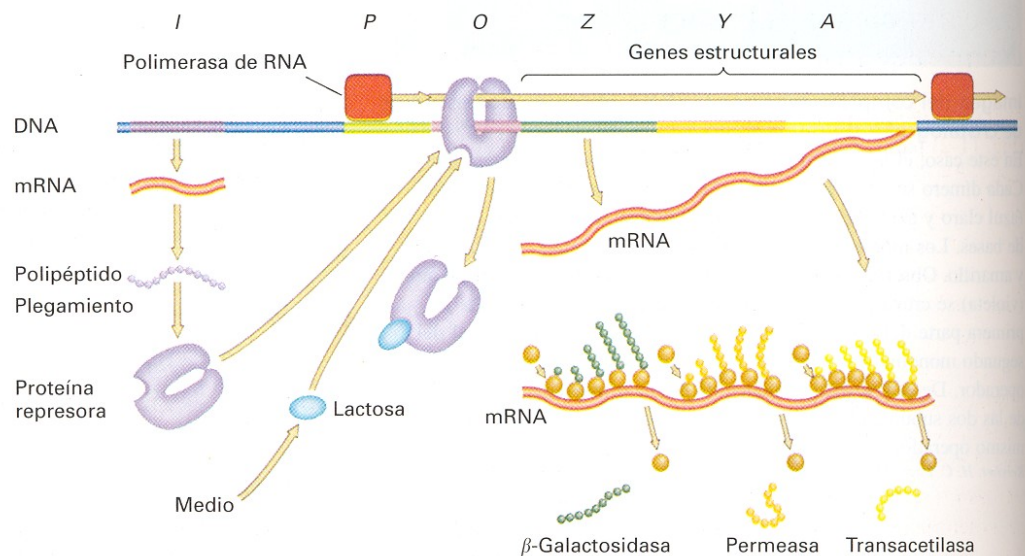


Figura 11-1. Regulación del operón *lac*. El gen *I* produce continuamente represor. El represor se une a la región operadora (*O*), bloqueando a la polimerasa de RNA unida al promotor (*P*), que no puede transcribir los genes estructurales adyacentes. Cuando hay lactosa, ésta se une al represor y cambia su forma, de modo que ya no puede unirse a *O*. La polimerasa de RNA puede entonces transcribir los genes estructurales *Z*, *Y* y *A*, y se producen las tres enzimas.

así porque bloquea la expresión de los genes *Z*, *Y* y *A*. El represor se une a una región del DNA cercana al comienzo del gen *Z* y al sitio donde se inicia la transcripción del mRNA. El sitio del DNA al que se une el represor se denomina **operador**. El represor ha de cumplir la propiedad de ser capaz de reconocer una secuencia de DNA corta y específica, es decir, un operador específico. Esta propiedad garantiza que el represor sólo se una a un sitio del DNA cercano a los genes que controla y no a otros sitios al azar del cromosoma. Al unirse al operador, el represor impide que la polimerasa de RNA inicie la transcripción. Normalmente, la polimerasa de RNA se une a regiones específicas del DNA situadas al comienzo de los genes o grupos de genes llamadas **promotores** (véase Cap. 10), iniciando así la transcripción en los sitios adecuados. El segmento *POZYA* de la Figura 11-1 constituye un **operón**, o unidad genética de expresión coordinada.

El represor *lac* es una molécula con dos sitios de reconocimiento: uno que reconoce la secuencia operadora específica del operón *lac* y otro que reconoce la lactosa y ciertos análogos. Cuando el represor se une a los derivados de la lactosa, sufre un cambio conformacional. Esta ligera alteración de la forma afecta al sitio de unión al operador y ello hace que el represor pierda afinidad por el operador. Así, en respuesta a la unión a los derivados de la lactosa, el represor se suelta del DNA. Se satisface de esta forma el segundo requerimiento de los sistemas de control, la capacidad para detectar las condiciones bajo las cuales merece la pena activar la expresión de los genes *lac*. En sistemas como *lac*, la supresión de la represión se denomina **inducción**; los derivados de la lactosa que inactivan al represor y permiten la expresión de los genes *lac* se llaman **inductores**.

Otros sistemas bacterianos utilizan proteínas *activadoras*, que deben unirse al DNA para activar la transcripción. Existen mecanismos adicionales de control que requieren proteínas que permitan que la transcripción continúe en respuesta a señales intracelulares. Antes de examinar con detalle algunos de estos circuitos reguladores, repasaremos los trabajos clásicos que llevaron inicialmente a describir los sistemas de control bacterianos, ya que constituyen un punto de referencia fundamental del análisis genético.

Descubrimiento del sistema *lac*: control negativo

Jacob y Monod utilizaron el metabolismo de la lactosa en *E. coli* (Fig. 11-2) para abordar el problema de la inducción enzimática (originalmente denominada *adaptación*), es decir, la aparición de una enzima específica sólo en presencia de su sustrato. Este fenómeno era bien conocido en bacterias desde hacía años. ¿Cómo podía una célula «saber» con exactitud qué enzimas debía sintetizar? ¿Cómo un sustrato concreto inducía la aparición de una enzima específica?

En el caso de sistema *lac*, el fenómeno de la inducción puede ilustrarse de la siguiente manera: en presencia de ciertos galactósidos llamados *inductores*, las células producen unas mil veces más β -galactosidasa, enzima encargada de descomponer β -galactósidos, que en ausencia de esos mismos azúcares. ¿Qué papel desempeña el inductor en el fenómeno de la inducción? Podría ser que el inductor simplemente activara un precursor de la

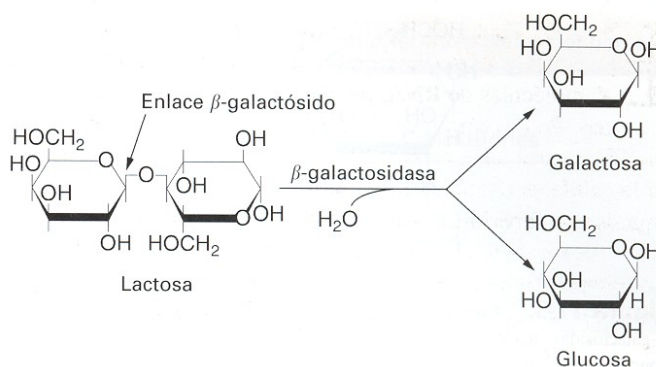


Figura 11-2. Metabolismo de la lactosa. La enzima β -galactosidasa cataliza una reacción en la que se añade agua al enlace β -galactósido para romper la lactosa en galactosa y glucosa. La enzima permeasa de la lactosa es necesaria para el transporte de la lactosa al interior de la célula.

β -galactosidasa, pre- β -galactosidasa, ya presente en la célula. Sin embargo, cuando Jacob y Monod siguieron el destino de ciertos aminoácidos marcados radiativamente que habían sido añadidos a células en crecimiento, antes o después de añadir el inductor, demostraron que la inducción suponía síntesis de nuevas moléculas de enzima. Estudios cinéticos establecieron que esas moléculas podían detectarse tan sólo tres minutos después de la adición del inductor. Además, si se quitaba el inductor, la síntesis de la enzima se detenía inmediatamente. Era evidente que la célula poseía un mecanismo para conectar y desconectar la expresión de los genes en respuesta a señales ambientales.

Genes que se controlan juntos

Cuando Jacob y Monod indujeron la β -galactosidasa, también indujeron la enzima permeasa, necesaria para el transporte de la lactosa al interior de la célula. El análisis de mutantes indicaba que cada enzima estaba determinada por un gen diferente. También se caracterizó la enzima transacetilasa (que es prescindible y cuya función se desconoce todavía) y posteriormente se demostró que estaba determinada por otro gen distinto, aunque también se inducía junto a la β -galactosidasa y la permeasa. Por tanto, Jacob y Monod identificaron tres **genes controlados coordinadamente**: el gen *Z*, que cifra la β -galactosidasa, el gen *Y*, que cifra la permeasa, y el gen *A*, que cifra la transacetilasa. La cartografía genética indicaba que los tres genes (*Z*, *Y* y *A*) estaban estrechamente ligados en el cromosoma. Estudios posteriores sobre éstos, y otros genes controlados coordinadamente, constataron que en muchos casos se produce una sola molécula de mRNA a partir de una serie de genes contiguos. Un inductor sintético que se usa con frecuencia es el isopropil- β -D-tiogalactósido, o IPTG (Fig. 11-3), un β -galactósido que no es descompuesto por la β -galactosidasa, lo cual permite controlar la concentración del inductor dentro de la célula.

El gen *I*

Análisis genéticos posteriores aclararon otros aspectos del circuito de control. Jacob y Monod caracterizaron un nuevo tipo de

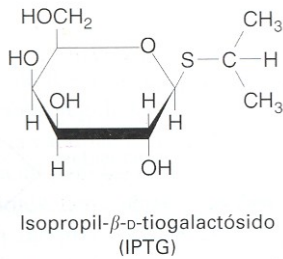


Figura 11-3. Estructura del IPTG, un inductor del operón *lac*. La β-galactosidasa no rompe el enlace β-D-tiogalactósido. Ello permite manipular la concentración intracelular de este inductor.

mutante, que sintetizaba las tres enzimas a sus máximos niveles, incluso en ausencia del inductor. Por primera vez se había detectado un mutante alterado, no en la *actividad* de una enzima, sino en el control de su *producción*. Estos **mutantes constitutivos** (que mostraban expresión continua desregulada) presentaban mutaciones próximas, pero diferentes, a los genes *Z*, *Y* y *A*, y definían el **locus *I*** como la región que controlaba la inducibilidad de las enzimas *lac*. Las células *I*⁺ sintetizan niveles máximos de las enzimas *lac* sólo en presencia del inductor, mientras que las células *I*⁻ lo hacen tanto en presencia como en ausencia del inductor. La Figura 11-4 muestra un esquema de la región *lac* definida por estos experimentos.

El represor

El descubrimiento de factores F' (véase el Cap. 7) portadores de la región *lac* permitió la construcción de diploides parciales estables y facilitó la realización de pruebas de complementación. Las pruebas con los alelos *I*⁺ e *I*⁻ establecieron que *I*⁺ es dominante en *trans* sobre los alelos *I*⁻, lo cual demostró que el pro-

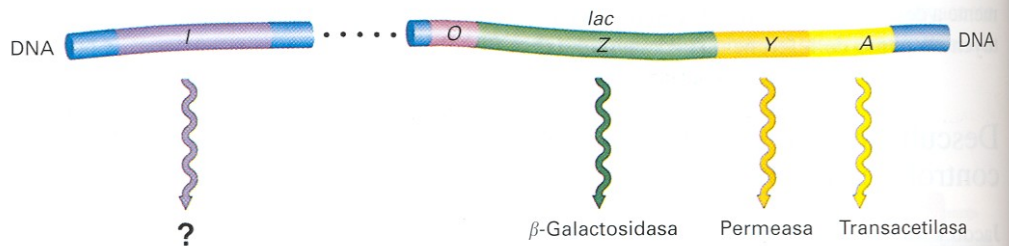


Figura 11-4. El locus *I* controla la inducibilidad de las enzimas *lac*.

ducto del gen *I* actuaba a través del citoplasma como un represor. El Cuadro 11-1 muestra el efecto de varias combinaciones de mutaciones, en los estados inducido y no inducido, sobre la producción de β-galactosidasa y permeasa.

Un apoyo experimental al modelo del represor fue la caracterización de las mutaciones *I*^S. Aunque cartografiaban en el gen *I*, estas mutaciones impedían la inducción de las enzimas *lac* por la lactosa o por el inductor sintético IPTG (véase la Figura 11-3). Es más, eran dominantes sobre los alelos *I*⁺ e *I*⁻ (Tabla 11-2). La mutación *I*^S elimina la respuesta al inductor, presumiblemente porque altera el sitio de unión estereoespecífico e impide la unión al inductor. Por tanto, incluso en presencia de IPTG, estas moléculas pueden bloquear todavía la síntesis de las enzimas *lac*. Ello explicaría también su dominancia, porque el represor *I*^S estaría activo, incluso en presencia del represor silvestre que estaría inactivado por el inductor. Las mutaciones *I*^S apuntaban claramente a una interacción directa entre el producto del gen *I* y el inductor.

COROLARIO

La mutación *I*⁻ afecta a la región de unión al DNA del represor, impidiendo por tanto su unión y permitiendo la transcripción, incluso en ausencia del inductor; la mutación *I*^S afecta a la región de unión al inductor del represor, reprimiendo por tanto la transcripción, incluso en presencia del inductor.

El operador y el operón

La especificidad del represor, que se traduce en el bloqueo de la síntesis de las enzimas *lac*, sugiere la formación de un complejo estereoespecífico con un elemento que Jacob y Monod denominaron *operador*. Se propuso que el operador era una región de

CUADRO 11-1. Síntesis de β-galactosidasa y permeasa en estirpes haploides y diploides heterocigóticas portadoras de alelos *I*⁺ e *I*⁻

Estirpe	Genotipo	β-GALACTOSIDASA (Z)		PERMEASA (Y)		Conclusiones
		No inducida	Inducida	No inducida	Inducida	
1	<i>I</i> ⁺ <i>Z</i> ⁺ <i>Y</i> ⁺	-	+	-	+	<i>I</i> ⁺ es inducible
2	<i>I</i> ⁻ <i>Z</i> ⁺ <i>Y</i> ⁺	+	+	+	+	<i>I</i> ⁻ es constitutiva
3	<i>I</i> ⁺ <i>Z</i> ⁻ <i>Y</i> ⁺ / <i>F'</i> <i>I</i> ⁻ <i>Z</i> ⁺ <i>Y</i> ⁺	-	+	-	+	<i>I</i> ⁺ es dominante sobre <i>I</i> ⁻
4	<i>I</i> ⁻ <i>Z</i> ⁻ <i>Y</i> ⁺ / <i>F'</i> <i>I</i> ⁺ <i>Z</i> ⁺ <i>Y</i> ⁺	-	+	-	+	<i>I</i> ⁻ actúa en <i>trans</i>

Nota: las bacterias se cultivaron en glicerol (sin glucosa) y fueron inducidas con IPTG. La presencia de niveles máximos de la enzima se indica con el signo «+»; su ausencia o niveles muy bajos, con el signo «-». (Todas las estirpes son *O*⁺.)

CUADRO 11-2. Síntesis de β -galactosidasa y permeasa en la estirpe silvestre y en otras estirpes con diferentes alelos del gen *I*

Estirpe	Genotipo	β -GALACTOSIDASA (Z)		PERMEASA (Y)		Conclusiones
		No inducida	Inducida	No inducida	Inducida	
1	$I^+ Z^+ Y^+$	-	+	-	+	I^+ es inducible
2	$I^S Z^+ Y^+$	-	-	-	-	I^S está siempre reprimido
3	$I^S Z^+ Y^+ / F' I^+$	-	-	-	-	I^S es dominante sobre I^+

Nota: las bacterias se cultivaron en glicerol (sin glucosa) con y sin el inductor IPTG. La presencia de la enzima indicada se representa con el signo «+» y su ausencia, o niveles muy bajos, con el signo «-».

DNA próxima al comienzo del grupo de genes que estaban bajo su control. Los investigadores buscaron mutaciones en el operador que permitieran la síntesis de las enzimas *lac* en presencia de un represor activo. Estas mutaciones deberían ejercer su acción sobre los genes adyacentes a ellas en el operón, un efecto que se conoce como **dominancia en cis** (la palabra *cis* significa «adyacente»; el término *trans*, que usaremos a continuación, significa «a través de»). La dominancia normal (*trans*) implica la acción de un producto difusible; la dominancia en *cis* implica la interacción física de un elemento con los genes adyacentes a él. Ningún producto difusible resulta afectado por esta mutación. Seleccionando síntesis constitutiva (no reprimida) en células con dos copias de la región *lac*, para eliminar el efecto de mutaciones sencillas I^- , Jacob y Monod encontraron dichos mutantes, a los que denominaron O^C , de **operador constitutivo**. Como queda indicado en el Cuadro 11-3, las estirpes con este tipo de mutaciones son capaces de sintetizar cantidades máximas de enzima en presencia de IPTG, pero también sintetizan un 10 o un 20% en

ausencia de inductor. Como también se indica en el Cuadro 11-3, las mutaciones O^C son, de hecho, dominantes en *cis*. Los experimentos de cartografía situaron al locus operador entre los genes *I* y *Z*.

Como hemos visto, el segmento *OZYA* constituye una unidad genética de expresión coordinada, que Jacob y Monod llamaron **operón**. La Figura 11-5 muestra un modelo simplificado de operón para el sistema *lac*. Se dice que el operón *lac* está bajo **control negativo** del represor *lac*, ya que éste bloquea normalmente la expresión de los genes *lac* en ausencia de inductor.

Repasemos el modelo de la Figura 11-5, tal como fue propuesto por Jacob y Monod. Los genes *Z* e *Y* cifran las estructuras de dos enzimas necesarias para el metabolismo del azúcar lactosa, la β -galactosidasa y la permeasa, respectivamente. El gen *A* determina la estructura de la enzima transacetilasa. Los tres genes están ligados en el cromosoma. Su transcripción en un (único) mRNA policistrónico proporciona las bases para el control coordinado de la síntesis de mRNA. La síntesis del mRNA poli-

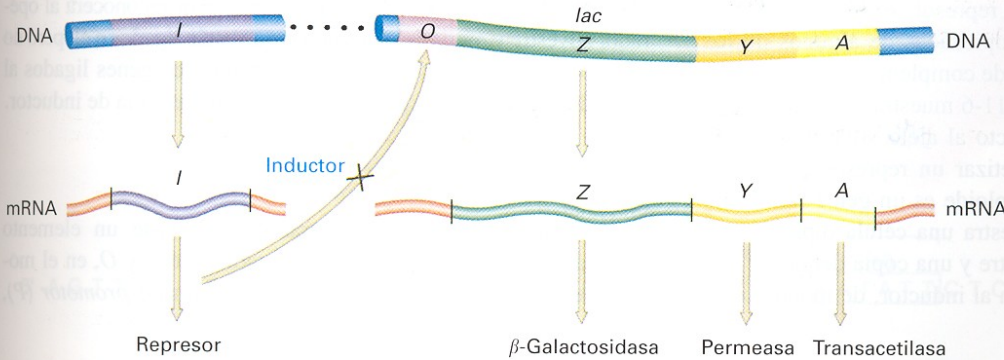


Figura 11-5. Modelo simplificado del operón *lac*. Los tres genes *Z*, *Y* y *A* se expresan coordinadamente. El producto del gen *I*, el represor, bloquea la expresión de los genes *Z*, *Y* y *A* mediante la interacción con el operador (*O*). El inductor inactiva al represor, impidiendo así su interacción con el operador. Cuando esto ocurre, el operón se expresa al máximo nivel.

CUADRO 11-3. Síntesis de β -galactosidasa y permeasa en estirpes mutadas en el operador, haploides y diploides heterocigóticas

Estirpe	Genotipo	β -GALACTOSIDASA (Z)		PERMEASA (Y)		Conclusiones
		No inducida	Inducida	No inducida	Inducida	
1	$O^+ Z^+ Y^+$	-	+	-	+	La condición silvestre es inducible
2	$O^+ Z^+ Y^+ / F' O^+ Z^- Y^+$	-	+	-	+	Z^+ es dominante sobre Z^-
3	$O^c Z^+ Y^+$	+	+	+	+	O^c es constitutivo
4	$O^+ Z^- Y^+ / F' O^c Z^+ Y^-$	+	+	-	+	El operador actúa en <i>cis</i>

Nota: las bacterias se cultivaron en glicerol (sin glucosa) con y sin el inductor IPTG. La presencia o ausencia de la enzima se indica con los signos «+» y «-», respectivamente. Todas las estirpes son I^+ .

Figura 11-6. La naturaleza recesiva de las mutaciones I^- demuestra que el represor actúa en *trans*. Aunque el gen I^- no sintetiza represor activo, el gen silvestre I^+ proporciona un represor funcional que se une a los dos operadores de una célula diploide y bloquea la expresión del operón *lac* (en ausencia de inductor).

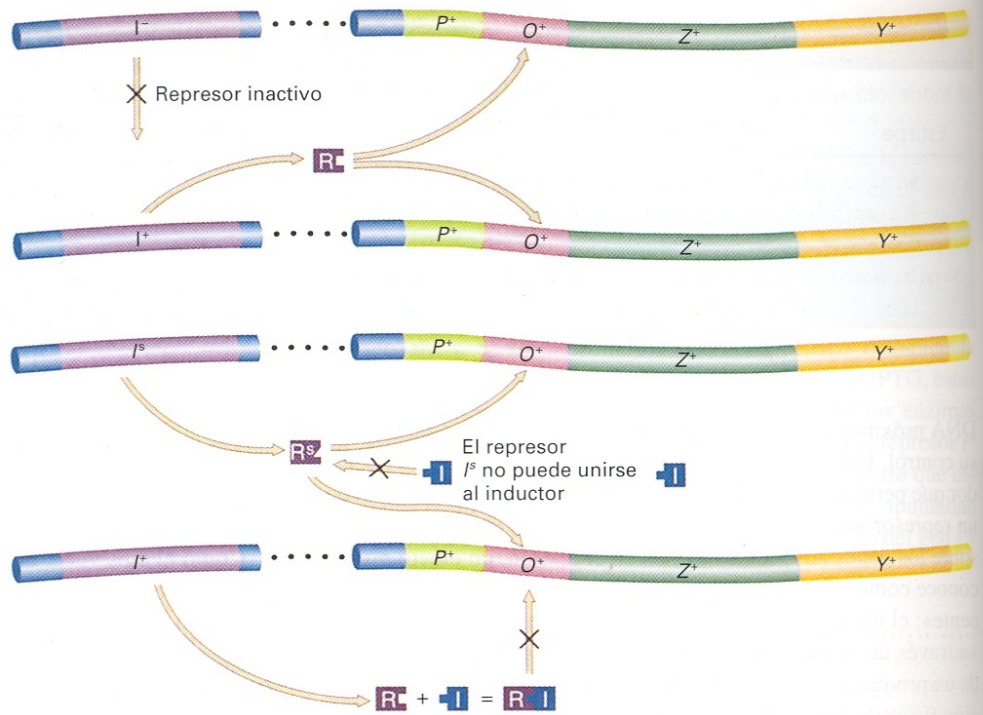


Figura 11-7. La dominancia de las mutaciones I^S se debe a la inactivación del sitio alostérico del represor Lac. En una célula diploide I^S/I^+ , ninguno de los genes estructurales *lac* se transcribe, incluso en presencia del inductor. A diferencia de lo que ocurre con el represor silvestre, el represor I^S carece de un sitio funcional de unión a la lactosa (el sitio alostérico) y, por tanto, no se inactiva en presencia del inductor. Así, incluso en presencia del inductor, el represor I^S se une irreversiblemente a todos los operadores de la célula, bloqueando la transcripción del operón *lac*.

cistrónico *lac* puede bloquearse por la acción de una molécula proteica represora, que se une a una región operadora cercana al sitio de inicio de la transcripción. El represor es el producto del gen *I*. Por tanto, las mutaciones en el gen *I* que impiden la síntesis de un represor funcional provocan la síntesis constitutiva, no reprimida, de las enzimas *lac*. La represión puede suprimirse también por ciertos galactósidos, denominados *inductores*, que inactivan al represor uniéndose a él y alterando su afinidad por el operador. De esta manera, el inductor provoca que el represor se separe del DNA.

Podemos entender ahora las propiedades de algunos de los diploides utilizados en las pruebas de complementación, a la luz del modelo del operón. La Figura 11-6 muestra cómo las mutaciones I^- son recesivas con respecto al alelo silvestre, porque todo lo que se necesita para sintetizar un represor que pueda unirse a los dos operadores del diploide es un gen *I* funcional. Por otro lado, la Figura 11-7 muestra una célula diploide que contiene una copia del gen *I* silvestre y una copia del gen I^S . La mutación I^S altera el sitio de unión al inductor, de modo que el

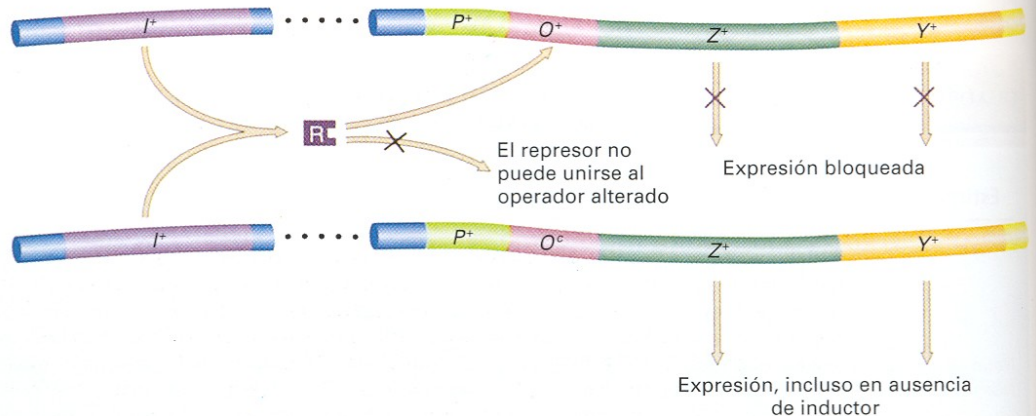
represor no puede unirse al inductor, aunque todavía reconozca al operador. Estas células diploides son Lac^- , porque el represor alterado siempre se unirá al operador, incluso en presencia del inductor, y bloqueará la síntesis de las enzimas *lac*.

Las mutaciones en el operador (O^C) son dominantes en *cis*, porque sólo son dominantes sobre los genes directamente ligados a ellas en el mismo cromosoma, como se esquematiza en la Figura 11-8. Así, si una misma célula contiene un operador silvestre y otro alterado en un segundo cromosoma, el represor reconocerá al operador silvestre y reprimirá a los genes que están ligados a él, pero no reconocerá al operador alterado. Por tanto, los genes ligados al operador alterado se expresarán incluso en ausencia de inductor.

El promotor *lac*

Experimentos genéticos demostraron que existe un elemento esencial para la transcripción *lac*, situado entre *I* y *O*, en el modelo del operón *lac*. Este elemento, denominado *promotor* (*P*),

Figura 11-8. El comportamiento de los heterocigotos O^+/O^c demuestra que los operadores actúan en *cis*. Como el represor no puede unirse a los operadores O^c , los genes estructurales *lac* ligados al operador O^c se expresan incluso en ausencia de inductor. Sin embargo, los genes *lac* adyacentes a un operador O^+ están sujetos a represión.



sirve como sitio de inicio de la transcripción. Las mutaciones en el promotor afectan de igual manera a la expresión de todos los genes del operón. Las mutaciones en el promotor son dominantes en *cis*, como se esperaría de un sitio del DNA que actúa como elemento de reconocimiento para el inicio de la transcripción, ya que los promotores sólo gobiernan la transcripción de los genes adyacentes a él en el operón, en la *misma* molécula de DNA. Como se mencionó en el Capítulo 10, experimentos *in vitro* han demostrado que la polimerasa de RNA se une a la región promotora y que la unión del represor al operador bloquea la unión de la polimerasa de RNA al promotor. Análisis de mutantes, experimentos físicos y comparaciones con otros promotores han identificado en un promotor procariótico típico dos regiones de unión para la polimerasa de RNA. La Figura 11-9 resume toda esta información.

COROLARIO
 El operón *lac* es un conjunto de genes estructurales que determinan enzimas que participan en el metabolismo de la lactosa. Estos genes están controlados por la acción coordinada de un promotor y un operador dominantes en *cis*. La actividad de estas regiones está a su vez determinada por una molécula represora especificada por un gen regulador distinto. La Figura 11-1 reúne toda esta información en un solo esquema.

Caracterización del represor *lac* y del operador *lac*

El experimento decisivo fue realizado por Walter Gilbert y Benno Müller-Hill, quienes en 1966 aislaron y purificaron el represor mediante el análisis del componente que se unía al inductor IPTG marcado radiativamente. Demostraron que el represor es una proteína formada por cuatro subunidades idénticas, cada una de las cuales presentaba un peso molecular aproximado de 38 000. Cada molécula contiene cuatro sitios de unión a IPTG (más adelante en este capítulo se describe el represor con más detalle). *In vitro*, el represor se une al DNA que contiene la secuencia del operador y se despegaba en presencia de IPTG. Gilbert y colaboradores han demostrado que el represor protege ciertas bases específicas del operador contra la acción de reactivos químicos. Estos experimentos proporcionaron pruebas decisivas del mecanismo de acción del represor propuesto por Jacob y Monod.

Gilbert usó la enzima DNasa para degradar el DNA unido al represor. Recuperó fragmentos cortos de DNA que se habían salvado de la actividad enzimática gracias a la protección de la molécula represora, y que presumiblemente constituían la secuencia operadora. Se determinó su secuencia de nucleótidos, y se comprobó que todas las mutaciones definidas como mutaciones en el operador implicaban un cambio en dicha secuencia

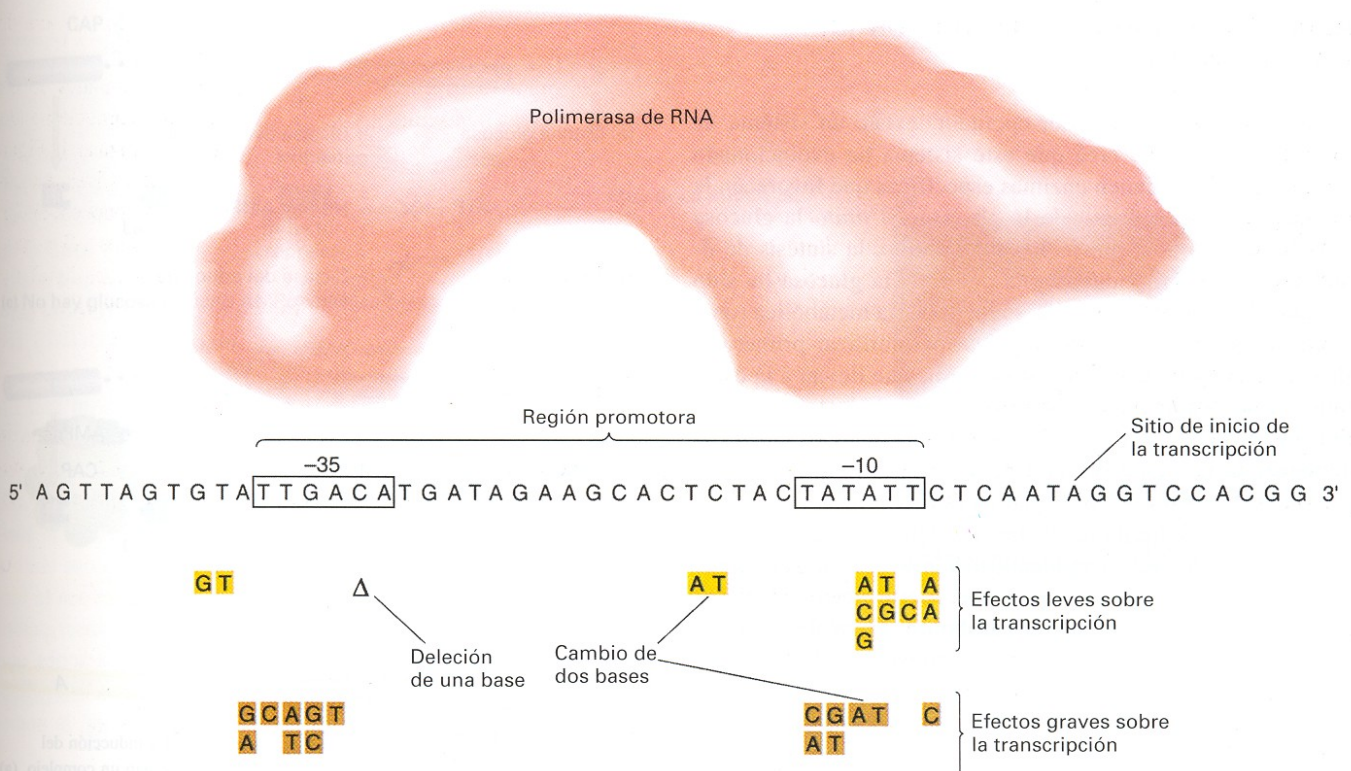


Figura 11-9. Algunas secuencias específicas del DNA son importantes para que la polimerasa de RNA transcriba eficazmente los genes de *E. coli*. Las secuencias encuadradas, situadas aproximadamente 35 y 10 nucleótidos antes del sitio de inicio de la transcripción, están muy conservadas en todos los promotores de *E. coli*, lo que es indicativo de su papel como sitios de contacto en el DNA para la polimerasa de RNA. Mutaciones en esas regiones provocan efectos leves (color dorado) o graves (marrón) sobre la transcripción. Las mutaciones pueden ser cambios de un solo nucleótido o de pares de nucleótidos, o deleciones (Δ). (De J. D. Watson, M. Gilman, J. Witkowski y M. Zoller, *Recombinant DNA*, 2.ª ed. Copyright © 1992 James D. Watson, Michael Gilman, Jan Witkowski y Mark Zoller.)



Figura 11-10. Secuencia de bases del operador de la lactosa, y los cambios de bases asociados con ocho mutaciones O^c . Los recuadros coloreados muestran los sitios de doble simetría rotacional y el punto marca su eje de simetría. (De W. Gilbert, A. Maxam y A. Mirzabekov, en N. O. Kjeldgaard y O. Malløe, eds., *Control of Ribosome Synthesis*. Academic Press, 1976. Utilizada con el permiso de Munksgaard International Publishers, Ltd., Copenhagen.)

(Fig. 11-10). Estos resultados confirman que el locus operador es una secuencia específica de 17 a 25 nucleótidos situada justo antes del gen estructural Z. Muestran también la increíble especificidad del reconocimiento represor-operador, que puede romperse por un simple cambio de base. Cuando se determinó la secuencia de bases del mRNA *lac* (transcrito del operón *lac*), se comprobó que las primeras 21 bases del extremo 5' eran complementarias a la secuencia operadora determinada por Gilbert.

Represión catabólica del operón *lac*: control positivo

Además del sistema represor-operador, existe un sistema de control adicional. Se cree que este sistema ha evolucionado porque las células tienen enzimas específicas que favorecen la entrada y el metabolismo de la glucosa. Si *tanto* la glucosa como la lactosa están presentes en el medio, la síntesis de β -galactosidasa no se induce hasta que toda la glucosa ha sido utilizada. Así, la célula emplea su maquinaria metabólica (que, por ejemplo, induce las enzimas *lac*) para utilizar primero la glucosa disponible antes de dar los pasos que llevan a la creación de nueva maquinaria para metabolizar la lactosa. El modelo del operón descrito anteriormente no tiene en cuenta la supresión de la inducción por la glucosa, por lo que debemos modificarlo.

Los estudios indican que, de hecho, algún producto del catabolismo de la glucosa (cuya identidad aún se desconoce) impide la activación por lactosa del operón *lac*. A este efecto se le llamó originalmente **represión por el catabolito**. El catabolito de la glucosa actúa sobre un importante constituyente celular: el **monofosfato de adenosina cíclico (AMPc)**.

Cuando la glucosa está presente a altas concentraciones, la concentración de AMPc en la célula es baja; cuando la concentración de glucosa disminuye, la concentración de AMPc aumenta de forma correspondiente. Para que el operón *lac* se active es necesario que haya una alta concentración de AMPc. Los mutantes incapaces de convertir ATP en AMPc no pueden ser inducidos a producir β -galactosidasa, porque la concentración de AMPc no es lo suficientemente alta como para activar al operón *lac*. Existen, además, otros mutantes que producen

AMPc y no pueden activar las enzimas *lac*, porque carecen de una proteína, llamada CAP (proteína activadora de los genes catabólicos) determinada por el gen *crp*. La proteína CAP forma un complejo con el AMPc, y este complejo es el que se une al sitio CAP del operón. Unida al DNA, CAP interacciona físicamente con la polimerasa de RNA y, esencialmente, aumenta su afinidad por el promotor *lac*. De esta forma, el sistema de represión por catabolito contribuye a la activación selectiva del operón *lac* (Fig. 11-11).

El control por glucosa se lleva a cabo porque un producto del metabolismo de la glucosa inhibe la formación del complejo CAP-AMPc requerido para que la polimerasa de RNA se una al promotor *lac*. Incluso cuando hay una disminución en el nivel de los catabolitos de la glucosa y se forma el complejo CAP-AMPc, el mecanismo para metabolizar la lactosa sólo se pone en marcha si la lactosa está presente. Este nivel de control se lleva a cabo porque los inductores del operón *lac* deben unirse a la proteína represora para separarla del operador y permitir así la transcripción del operón *lac*. De esta forma, la célula conserva su energía y sus recursos, produciendo las enzimas para metabolizar la lactosa sólo cuando son útiles y necesarias. Estos conceptos se resumen en la Figura 11-12, que también muestra la curvatura del DNA que se produce cuando CAP-AMPc se une al sitio CAP, presumiblemente aumentando de esta forma la afinidad de la polimerasa de RNA por el promotor.

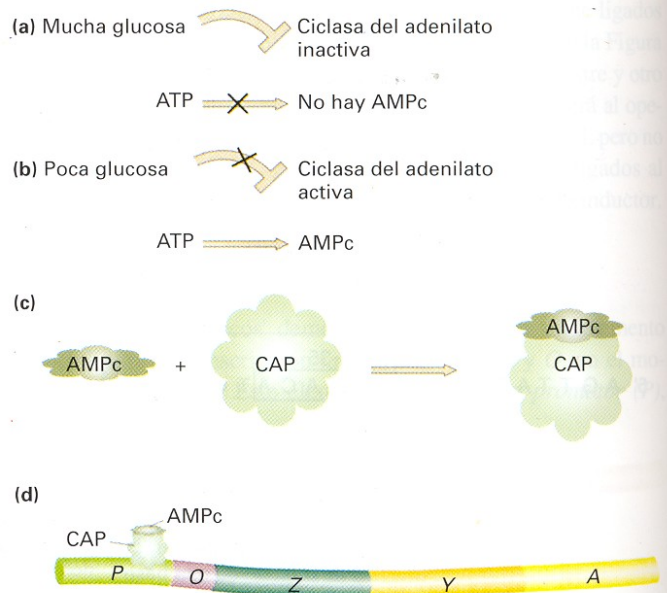


Figura 11-11. Control catabólico del operón *lac*. La inducción del operón por la lactosa es máxima cuando AMPc y CAP forman un complejo. (a) Cuando hay mucha glucosa, uno de sus productos catabólicos inhibe a la enzima ciclase del adenilato, impidiendo la conversión de ATP en AMPc. (b) Cuando hay poca glucosa, no hay producto catabólico, la ciclase del adenilato está activa y se forma AMPc. (c) Cuando hay AMPc, éste actúa como un efector alostérico, formando un complejo con CAP. (d) El complejo AMPc-CAP actúa como un activador de la transcripción del operón *lac*, uniéndose a una región del promotor *lac*. (CAP = proteína activadora de los genes catabólicos; AMPc = monofosfato de adenosina cíclico.)

COROLARIO

El operón *lac* es objeto de un sistema de control adicional que hace que el operón permanezca inactivo en presencia de glucosa, incluso cuando la lactosa está presente. Concentraciones altas de catabolitos de la glucosa dan lugar a bajas concentraciones de AMPc, que debe formar un complejo con CAP para que se produzca la inducción del operón *lac*.

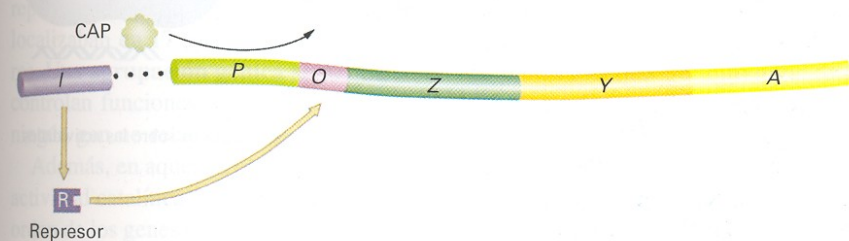
Control positivo y negativo

El control por el represor y el inductor del operón *lac* es un ejemplo de **control negativo**, en el cual la expresión está nor-

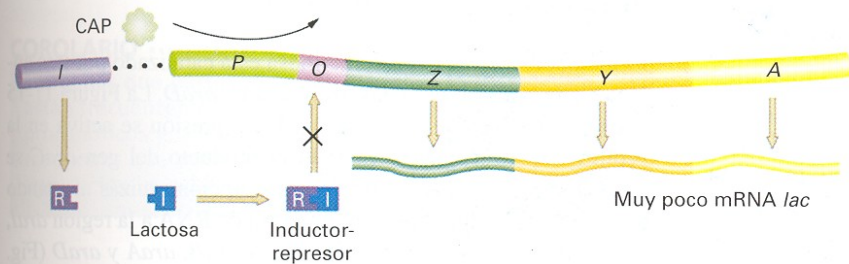
malmente bloqueada. Por el contrario, el sistema CAP-AMPc es un ejemplo de **control positivo**, porque la expresión del operón *lac* requiere la *presencia* de una señal activadora —en este caso, la interacción del complejo CAP-AMPc con su región de unión en el DNA. La Figura 11-13 ilustra las diferencias entre estos tipos básicos de sistemas de control.

Para que las proteínas activadoras o represoras ejerzan su función, cada una debe poder existir en dos estados: uno en que pueda unirse a su diana en el DNA, y otro en que no pueda hacerlo. Este estado debe ser el apropiado a una serie concreta de condiciones ambientales. En el caso de muchas proteínas activadoras o represoras, el modo en que se regula su unión al

(a) Glucosa presente (poco AMPc); no hay lactosa; no hay mRNA *lac*



(b) Glucosa presente (poco AMPc); lactosa presente



(c) No hay glucosa (mucho AMPc); lactosa presente

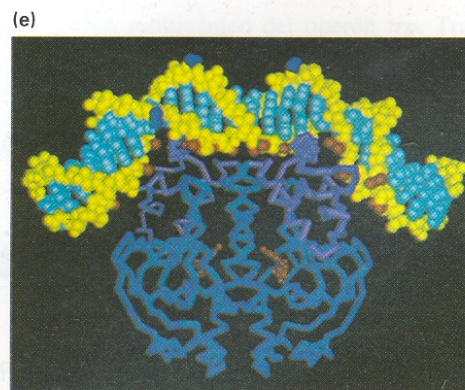
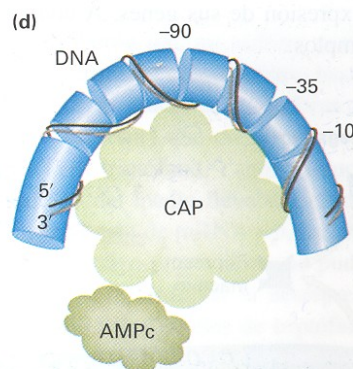
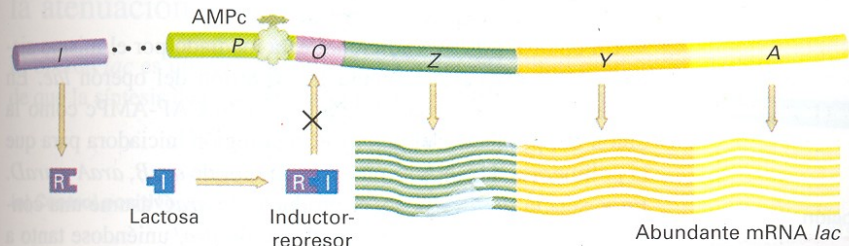


Figura 11-12. Control negativo y positivo del operón *lac* por el represor Lac y la proteína activadora de los genes catabólicos (CAP), respectivamente. (a) En ausencia de lactosa, que sirve como inductor, el represor Lac se une al operador. Independientemente de los niveles de AMPc y de la presencia de CAP, la producción de mRNA está bloqueada. (b) Cuando está presente la lactosa, ésta se une al represor, que ya no puede unirse al operador; sin embargo, sólo se producen pequeñas cantidades de mRNA porque la presencia de glucosa mantiene bajos los niveles de AMPc, y por tanto, no se forma ni se une al promotor el complejo CAP-AMPc. (c) Cuando el represor está inactivado por la lactosa y hay altos niveles de AMPc (debido a la ausencia de glucosa), el AMPc se une a CAP. El complejo AMPc-CAP se une entonces al promotor, el operón *lac* se activa y se producen grandes cantidades de mRNA. (d) Cuando CAP se une al promotor, genera una curvatura de más de 90° en el DNA. Aparentemente, la polimerasa de RNA se une con mayor eficacia cuando el promotor adquiere esta configuración curvada. (e) CAP unido a su sitio de reconocimiento en el DNA. Esta imagen está obtenida mediante el análisis estructural del complejo CAP-DNA. [Partes a-d modificadas de B. Gartenberg, y D. M. Crothers, *Nature* 333, 1988, 824. (Véase H. N. Lie-Johnson et al., *Cell* 47, 1986, 995.) Adaptado de H. Lodish, D. Baltimore, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira y J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, 3.ª ed. Copyright © 1995, Scientific American Books. Parte e de L. Schultz y T. A. Steitz.]

DNA depende de la interacción de dos sitios diferentes en la estructura tridimensional de la proteína. Uno de ellos es el dominio de unión a DNA. El otro, el **sitio alostérico**, actúa como un interruptor que dispone al sitio de unión al DNA en uno de dos posibles estados: funcional o no funcional. El sitio alostérico interactúa con pequeñas moléculas llamadas efectores alostéricos. En el caso del operón *lac*, los inductores *lac* son los efectores alostéricos. Cuando éstos se unen al sitio alostérico, provocan un cambio conformacional en la proteína reguladora que altera la estructura del dominio de unión al DNA. Algunas proteínas represoras o activadoras deben unirse a su efector alostérico para ser capaces de unirse al DNA. Otras sólo pueden unirse al DNA en ausencia de su efector alostérico. La Figura 11-14 ilustra estos conceptos.

Empleando diferentes combinaciones de elementos controladores, las bacterias han desarrollado numerosas estrategias para regular la expresión de sus genes. A continuación se explican algunos ejemplos.

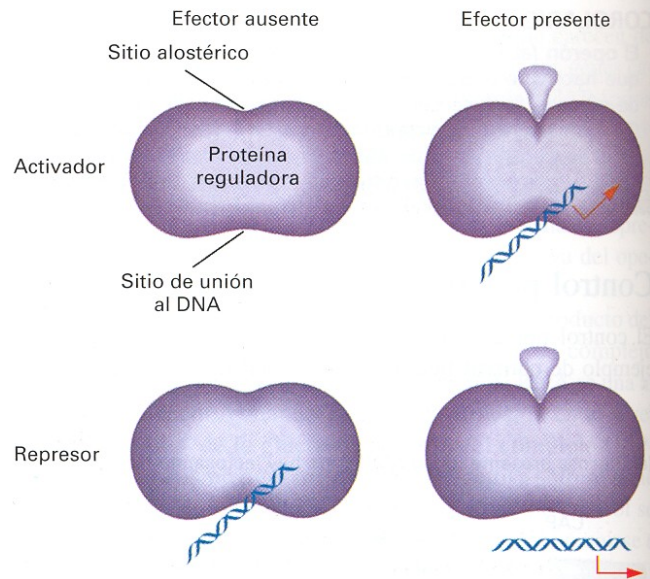


Figura 11-14. Acción de los efectores alostéricos sobre las actividades de unión al DNA de los activadores y represores.

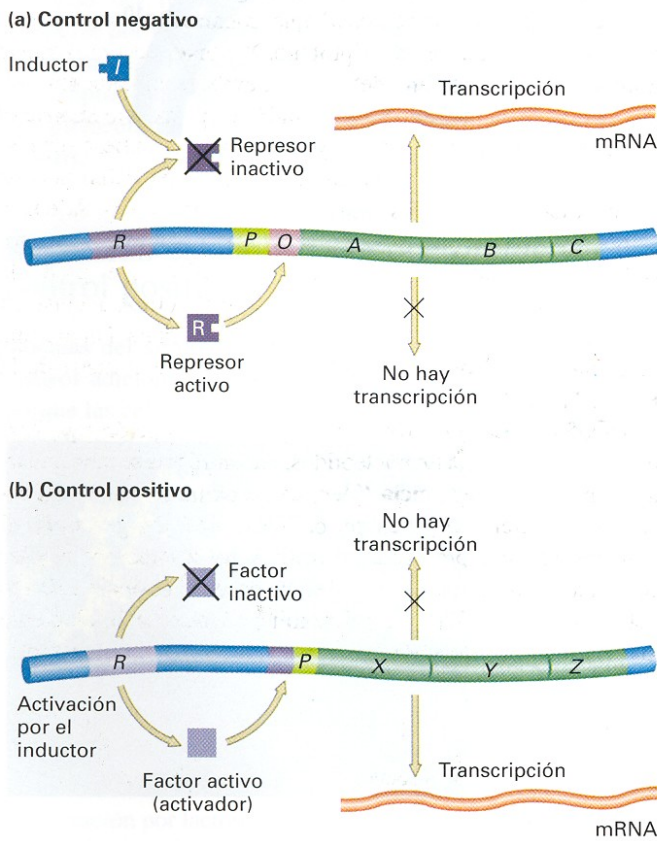


Figura 11-13. Comparación entre control positivo y negativo. Se muestran los aspectos básicos de ambos tipos de control. (a) En el control negativo, un represor activo (cifrado en el gen *R* en este ejemplo) bloquea la expresión de los genes del operón *ABC* uniéndose al sitio operador (*O*). Cuando el represor está inactivo, los genes se expresan. El represor puede ser inactivado por un inductor o por mutación. (b) En el control positivo, se requiere la presencia de un factor activo para que ocurra la expresión génica, como se muestra en el operón *XYZ* de la figura. Pequeñas moléculas pueden convertir un factor inactivo en activo, como es el caso del AMPc y la proteína CAP. Un factor de control positivo inactivo no da lugar a expresión génica. El activador se une a la región controladora del operón, denominada *I* en este caso. (Las posiciones de *O* e *I* respecto al promotor, *P*, están dibujadas de forma arbitraria en los dos ejemplos.)

Doble control positivo y negativo: el operón de la arabinosa

El metabolismo del azúcar arabinosa está catalizado por tres enzimas codificadas por los genes *araB*, *araA* y *araD*. La Figura 11-15 muestra un mapa de este operón. La expresión se activa en la **región iniciadora**, *araI*. Cuando el producto del gen *araC* se une a la arabinosa, se activa la transcripción, quizás afectando directamente la unión de la polimerasa de RNA a la región *araI*, que contiene el promotor de los genes *araB*, *araA* y *araD* (Fig. 11-16a). Esta activación representa un ejemplo de control positivo, porque el producto del gen regulador (*araC*) debe estar activo para que se exprese el operón.

Un control positivo adicional está mediado por el mismo sistema CAP-AMPc que regula la expresión del operón *lac*. En presencia de arabinosa, se requiere tanto CAP-AMPc como la unión del producto del gen *araC* a la región iniciadora para que la polimerasa de RNA se una al promotor de *araB*, *araA* y *araD*. En ausencia de arabinosa, el producto de *araC* asume una conformación diferente y reprime al operón *ara*, uniéndose tanto a *araI* como a una región operadora, *araO*, lo que provoca la formación de un bucle (Fig. 11-16b) que impide la transcripción. Por tanto, la proteína AraC adquiere dos conformaciones que llevan a cabo dos funciones opuestas en dos sitios de unión alternativos. La conformación depende de que el inductor, la arabinosa, esté o no unida a la proteína.

Rutas metabólicas

El control coordinado de los genes es un hecho muy generalizado en las bacterias. A principios de los años sesenta, cuando Milislav Demerec estudiaba la distribución de los loci que afec-

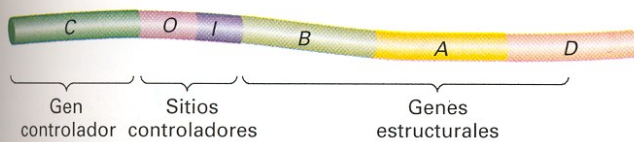


Figura 11-15. Mapa de la región *ara*. Los genes *B*, *A* y *D*, junto con los sitios *I* y *O* forman el operón *ara*.

taban a una ruta biosintética común, encontró que los genes de *Salmonella typhimurium* que controlaban algunas etapas de la síntesis del aminoácido triptófano estaban agrupados en una región reducida del cromosoma. Demerec estudió entonces la distribución de genes cuyos productos participaban en varias rutas metabólicas diferentes. Analizando mutaciones auxotróficas que representaban a 87 genes diferentes, encontró que 63 de ellos se localizaban en 17 agrupaciones génicas funcionalmente similares. Una **agrupación génica** se define como dos o más loci que controlan funciones relacionadas y que no están separados por ningún gen no relacionado con ellos.

Además, en aquellos casos en los que se conoce el orden de la actividad catalítica, se observa una notable congruencia entre el orden de los genes en el cromosoma y el orden en que actúan sus productos en la ruta metabólica. Esta congruencia queda reflejada en la organización de la agrupación del triptófano de *E. coli* (Fig. 11-17), caracterizada por Charles Yanofsky.

COROLARIO
 Los genes que participan en la misma ruta metabólica están frecuentemente agrupados en los cromosomas procarióticos y, a menudo, en el mismo orden que las reacciones que controlan. Además, los genes de una agrupación se expresan a la vez.

Ejemplos adicionales de control: la atenuación

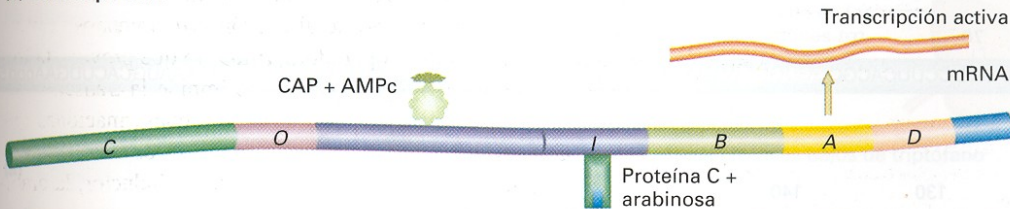
El operón *lac* es un ejemplo de sistema inducible, en el sentido de que la síntesis de una enzima se induce por la presencia de su

sustrato. También existen sistemas reprimibles, en los que un exceso de producto detiene la producción de las enzimas que participan en su síntesis. Se ha identificado un sistema de control de este tipo en una agrupación de genes que controlan la ruta de producción del triptófano. La síntesis del triptófano se interrumpe cuando hay un exceso de triptófano en el medio. Jacob y Monod propusieron que la agrupación de cinco genes *trp* de *E. coli* forma otro operón, que difiere del operón *lac* en que el represor del triptófano sólo se une al operador *trp* cuando *está* unido al triptófano (Fig. 11-17). Recuerde que el represor *lac* se une al operador cuando *no está* unido a la lactosa. Un segundo mecanismo de control modula también la síntesis del triptófano, actuando sobre la actividad enzimática. Es la **re-troinhibición**. En este caso, la primera enzima de la ruta, determinada por los genes *trpE* y *trpD*, es inhibida por el propio triptófano.

Como ocurre con el operón *lac*, un análisis posterior reveló otro nivel de control superpuesto al mecanismo básico represor-operador. Al estudiar estirpes mutantes (portadoras de una mutación en *trpR*, el locus represor) que continuaban produciendo mRNA *trp* en presencia de triptófano, Yanofsky encontró que la eliminación de triptófano del medio llevaba a un aumento casi de diez veces en la producción de mRNA *trp*, incluso aunque el represor Trp estuviera inactivo y, por tanto, no pudiera ser responsable del incremento por medio de la desrepresión normal del operador debida a los bajos niveles de triptófano. Además, Yanofsky identificó la región responsable de este incremento, aislando un mutante totalmente constitutivo que producía mRNA *trp* a ese nivel diez veces superior al normal, incluso en presencia de triptófano, y demostró que dicha mutación era una delección entre el operador y el gen *trpE* (véase el mapa de la Figura 11-17).

Yanofsky aisló el mRNA multigénico del operón *trp*. Tras obtener su secuencia de nucleótidos, encontró una secuencia larga, denominada **secuencia líder**, de aproximadamente 160 bases, en el extremo 5' antes del primer triplete del gen *trpE*. El mutante que siempre producía mRNA *trp* a máximos niveles contenía una delección que se extendía desde la posición 130 a la 160 (Fig. 11-18). Yanofsky denominó **atenuador** al elemento inactivado por la delección, porque su presencia lleva, aparente-

(a) Control positivo



(b) Control negativo



Figura 11-16. Doble control del operón *ara*. (a) En presencia de arabinosa, la proteína AraC se une a la región *araI*, y la proteína CAP, si está unida a AMPc, se une a un sitio adyacente a *araI*. Ello estimula la transcripción de los genes *araB*, *araA* y *araD*. (b) En ausencia de arabinosa, la proteína AraC se une simultáneamente a las regiones *araI* y *araO*, formando un bucle en el DNA. Ello impide la transcripción del operón *ara*.

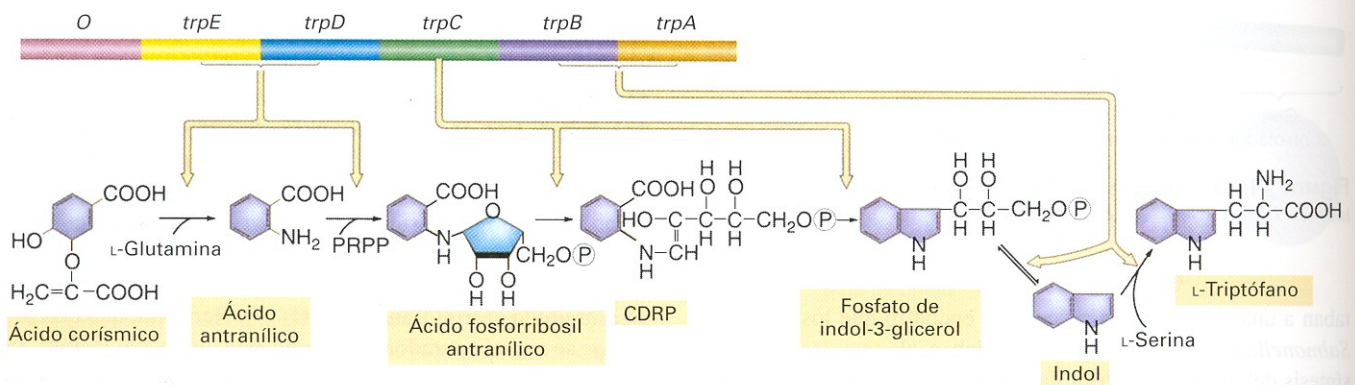


Figura 11-17. Orden en el cromosoma de los genes del operón *trp* de *E. coli* y secuencia de las reacciones catalizadas por los productos enzimáticos de los genes estructurales *trp*. Los productos de los genes *trpD* y *trpE* forman un complejo que cataliza pasos específicos, igual que los productos de los genes *trpB* y *trpA*. La sintetasa del triptófano es una enzima tetramérica formada por los productos de *trpB* y *trpA*, que cataliza un proceso en dos etapas que lleva a la formación del triptófano. (PRPP = pirofosfato de fosforribosilo; CDRP = 1-(*o*-carboxifenilamino)-1-desoxirribulosa 5-fosfato.) (Tomado de S. Tanemura y R. H. Bauerle, *Genetics* 95, 1980, 545.)

mente, a una reducción de la tasa de transcripción cuando está presente el triptófano. La Figura 11-19 muestra la posición de estos elementos en el operón *trp*. Pero, ¿cuál es la función de las posiciones 1 a la 130 de la secuencia líder? Una observación sorprendente aportó la clave para resolver este problema.

Cuando estudiaba los mRNA transcritos por el operón *trp* (utilizando mutantes *trpR⁻*), Yanofsky descubrió que, incluso en presencia de altos niveles de triptófano (que deberían hacer que la región atenuadora redujera en diez veces el nivel de la transcripción), las primeras 141 bases de la secuencia líder se transcribían siempre al máximo nivel, aunque como era de esperar, el mRNA de longitud total sólo aparecía a un nivel diez veces menor. Dicho de otro modo, incluso en presencia de altas concentraciones de triptófano, las primeras 141 bases se transcriben al máximo nivel pero, por algún mecanismo de atenuación que ocurre en esa región, sólo uno de cada diez mRNA se transcribe hasta el final. Ello sugiere que el extremo del atenuador actúa como un terminador de la cadena de mRNA que, en presencia de triptófano, interrumpe la transcripción de nueve de cada diez moléculas de RNA. En ausencia de triptófano, el atenuador se desactiva de algún modo, y todas las moléculas de mRNA se completan (de ahí el aumento de diez veces). En aquellos mutan-

tes *trpR⁻* en los que, además, el atenuador está deletado, no se produce el bloqueo en la extensión del mRNA, de modo que la transcripción continúa en cualquier caso (es decir, se produce mRNA al máximo nivel), independientemente de si el triptófano está presente o no.

¿Cómo se produce la interferencia con la terminación en el atenuador en ausencia de triptófano? La Figura 11-20 presenta un modelo basado en estructuras secundarias formadas por el mRNA en la región líder. El modelo propone que una de las dos conformaciones favorece la terminación de la transcripción y que la otra favorece la elongación. La traducción de parte de la secuencia líder induciría la conformación que favorece la terminación.

Se sabe que, de hecho, una porción de la secuencia líder cercana al comienzo se traduce y produce un péptido corto de 14 aminoácidos. En dicho segmento traducible hay dos codones para el triptófano (Fig. 11-21). Cuando hay un exceso de triptófano, hay un aporte suficiente de tRNA-Trp para conseguir una traducción eficaz del segmento traducible de la secuencia líder. El mRNA pasa a través del ribosoma a suficiente velocidad como para que el segmento 2 de la secuencia líder se introduzca en el ribosoma antes de que pueda formar una estructura en hor-

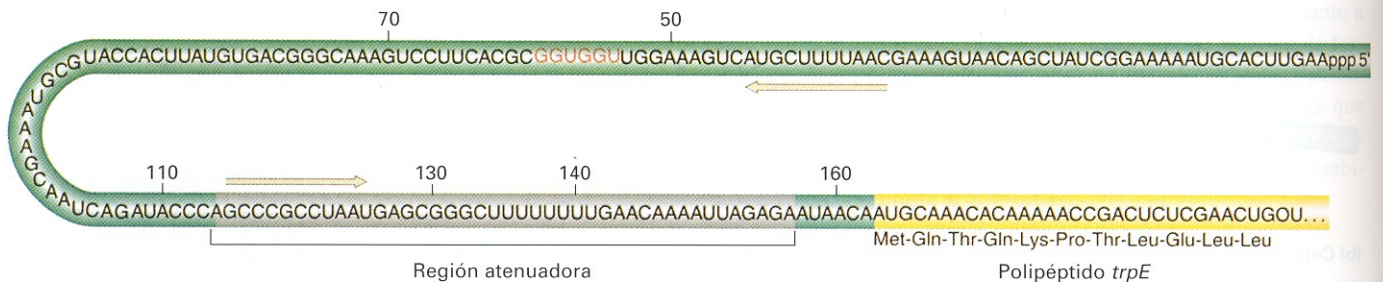


Figura 11-18. Secuencia líder, con el segmento atenuador del operón *trp* y el principio de la secuencia estructural *trpE* (se indica la secuencia de aminoácidos del polipéptido *trpE*). (Modificado de G. S. Stent y R. Calendar, *Molecular Genetics*, 2.ª ed. Copyright © 1978 por W. H. Freeman and Company. Basado en datos no publicados de Charles Yanofsky.)

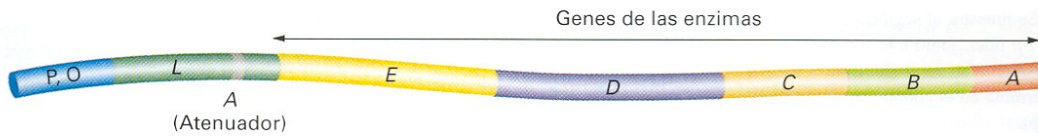


Figura 11-19. Representación del operón *trp* en la que se muestran los diferentes sitios controladores del promotor (P), el operador (O) y el atenuador (A), así como la secuencia líder (L) y los genes de las enzimas de la ruta de síntesis del triptófano (E, D, C, B y A). (Adaptado de L. Stryer, *Biochemistry*, 4.ª ed. Copyright © 1995 por Lubert Stryer.)

quilla con el segmento 3, como se muestra en la Figura 11-20b. De este modo, el segmento 3 puede formar una estructura terminadora de la transcripción con el segmento 4. Sin embargo, cuando hay poco triptófano, la traducción se hace más lenta en el segmento 1 en los codones Trp, por la escasa disponibilidad relativa de tRNA-Trp. Como muestra la Figura 11-20c, esta situación permite la formación de una estructura en horquilla entre los segmentos 2 y 3, impidiéndose la formación de la estructura terminadora entre los segmentos 3 y 4. Como consecuencia, en condiciones en las que hay poco triptófano, la transcripción no

se detiene en el atenuador. De esta forma, se consigue un nivel diez veces superior de enzimas biosintéticas del triptófano de la que se consigue por la interacción represor-operador. El análisis de numerosas mutaciones puntuales en la secuencia líder *trp* que favorecen o desfavorecen las respectivas estructuras secundarias ofrece un apoyo contundente al modelo de atenuación de Yanofsky.

Varios operones de enzimas implicadas en rutas biosintéticas tienen controles de atenuación similares al descrito para el operón del triptófano. Por ejemplo, la región líder del operón *his*,

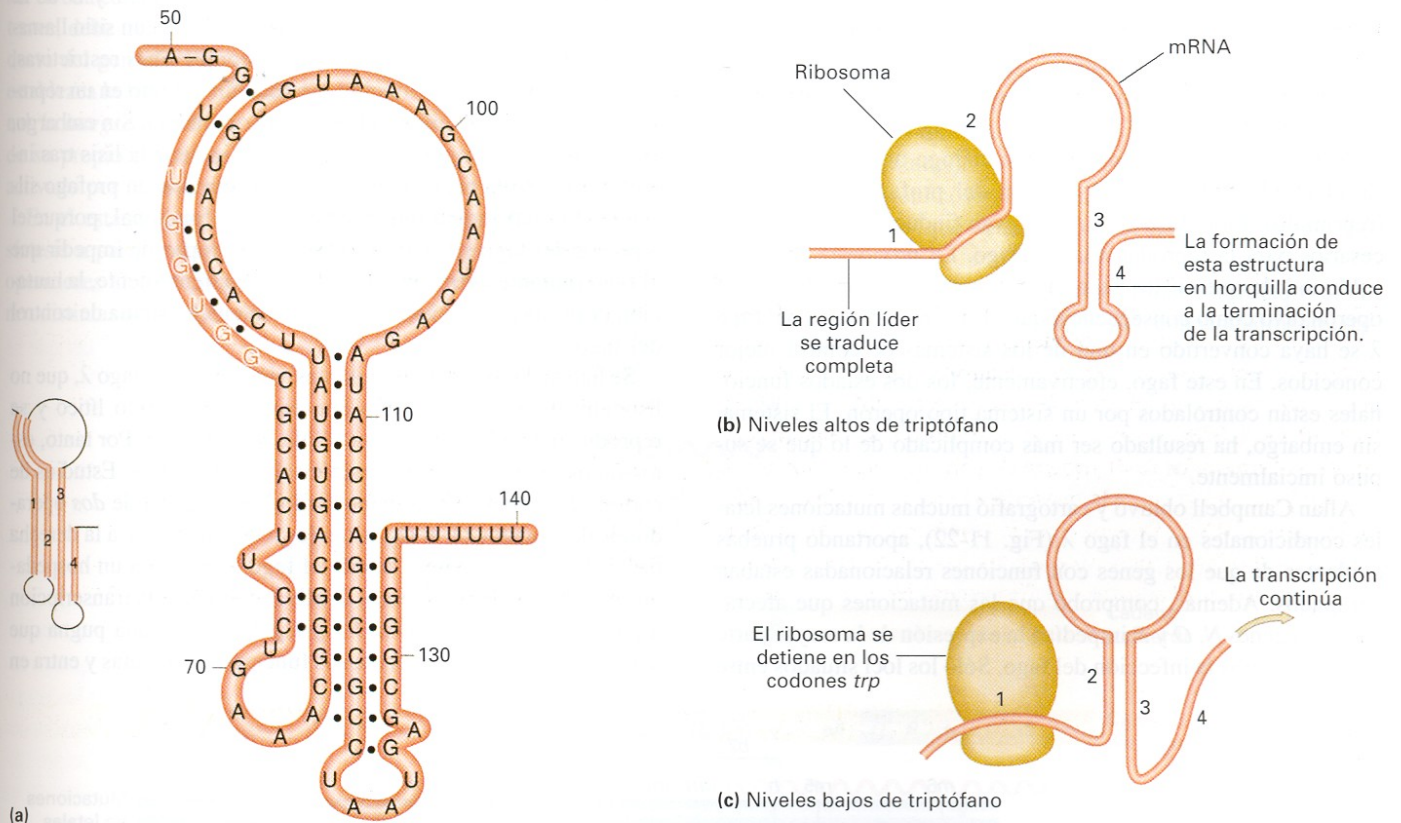
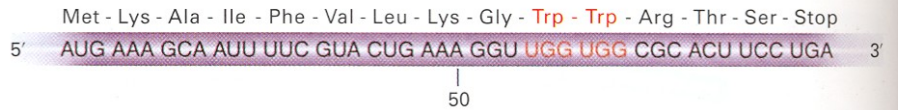


Figura 11-20. Modelo para explicar la atenuación del operón *trp*. (a) Estructuras secundarias propuestas para la región líder *trp* que causa la terminación en *E. coli*. Cuatro regiones pueden establecer emparejamientos de bases para formar estructuras en horquilla. (b) Cuando el triptófano es abundante, el segmento 1 del mRNA *trp* se traduce por completo. El segmento 2 se introduce en el ribosoma (aunque no es traducido), lo cual permite el emparejamiento de los segmentos 3 y 4. Esta región emparejada sirve, de algún modo, como señal para que la polimerasa de RNA detenga la transcripción. Por el contrario, cuando el triptófano es escaso (c), el ribosoma se detiene en los codones del segmento 1. El segmento 2 interacciona con el 3 en lugar de introducirse en el ribosoma, de modo que los segmentos 3 y 4 no pueden emparejar. Como consecuencia, la transcripción continúa. (De D. L. Oxender, G. Zurawski y C. Yanofsky, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76, 1979, 5524.)

Figura 11-21. Se muestra el segmento traducido de la región *trp* líder, junto a la secuencia correspondiente del mRNA líder. La traducción de la secuencia líder termina en el codón de fin de mensaje (stop).



que determina las enzimas de la ruta biosintética de la histidina, contiene una región traducible con siete codones para histidina consecutivos. Mutaciones en otros loci que dan lugar a un descenso en los niveles de tRNA para histidina producen niveles parcialmente constitutivos de las enzimas determinadas en el operón *his*.

COROLARIO
El operón *trp* está regulado por un sistema de control negativo represor-operador que reprime la síntesis de enzimas del triptófano cuando ese aminoácido está presente en el medio. En un segundo nivel de control participa una región atenuadora donde se induce la terminación de la transcripción en presencia de triptófano.

El fago λ: un complejo de operones

Además de proponer el modelo del operón, Jacob y Monod sugirieron que la actividad genética de los fagos atemperados podía estar controlada por un sistema análogo al del operón *lac*. En el estado lisogénico, el genoma del profago está inactivo (reprimido). En la fase lítica, se activan (inducen) los genes necesarios para la reproducción del fago. La propuesta de Jacob y Monod de que en los fagos existía un control similar al del operón tuvo como consecuencia que el sistema genético del fago λ se haya convertido en uno de los sistemas de control mejor conocidos. En este fago, efectivamente, los dos estados funcionales están controlados por un sistema tipo operón. El sistema, sin embargo, ha resultado ser más complicado de lo que se supuso inicialmente.

Allan Campbell obtuvo y cartografió muchas mutaciones letales condicionales en el fago λ (Fig. 11-22), aportando pruebas evidentes de que los genes con funciones relacionadas estaban agrupados. Además, comprobó que las mutaciones que afectaban a los genes *N*, *O* y *P* impedían la expresión de la mayor parte del genoma tras la infección del fago. Sólo los loci situados entre

N y *O* seguían activos. Pronto veremos el significado de esta observación.

Cuando las bacterias normales se infectan con partículas de fagos λ silvestres, pueden ocurrir dos cosas: (1) el fago puede integrarse en el cromosoma bacteriano como un profago inerte (lisogenizando así a la bacteria), o (2) el fago puede producir las proteínas necesarias para que se produzca la maduración del fago y la lisis celular. Cuando se inoculan partículas de fagos silvestres sobre un césped de bacterias sensibles, aparecen halos de lisis en aquellos lugares donde las bacterias han sido infectadas y lisadas, pero estos halos son turbios debido a la presencia de bacterias lisogenizadas (que son resistentes a nuevas infecciones) en dichos halos.

Pueden buscarse fagos incapaces de lisogenizar a las células, seleccionando fagos mutantes que formen halos claros. Estos mutantes *claros* (*c*) son análogos a los mutantes *I* y *O* de *E. coli*. Por ejemplo, los mutantes condicionales en un sitio llamado *cl* son incapaces de lisogenizar en condiciones restrictivas, lo que sugiere que la mutación provoca un defecto en un represor o en un sitio de unión del represor (operador). Sin embargo, estos mutantes tampoco son capaces de inducir la lisis tras infectar una célula previamente lisogenizada con un profago silvestre, lo cual indica que el operador es funcional, porque el represor del fago silvestre es claramente capaz de impedir que el fago mutante entre en la fase lítica. Aparentemente, la mutación *cl* produce un represor defectuoso en el sistema de control del fago.

Se han aislado también mutantes virulentos del fago λ, que no lisogenizan las células, sino que entran en el ciclo lítico y se reproducen tras infectar a una célula lisogenizada. Por tanto, estos fagos mutantes son insensibles al represor de λ. Estudios de cartografía genética han demostrado la existencia de *dos* operadores, designados *O_L* y *O_R*, situados a la izquierda y a la derecha de *cl*, respectivamente. Cuando el fago λ infecta a un hospedador no inmune, la polimerasa de RNA comienza la transcripción a partir de dos promotores, *P_L* y *P_R*. Esto crea una pugna que determinará si el fago expresa sus funciones virulentas y entra en

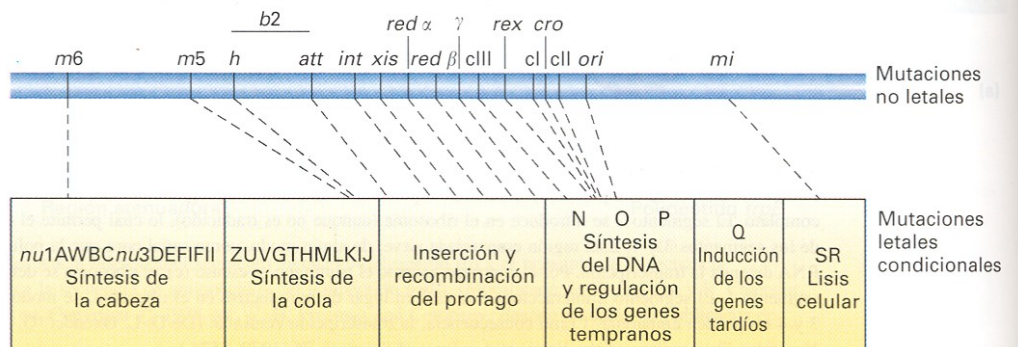


Figura 11-22. Mapa genético del fago λ. Se indican las posiciones de las mutaciones no letales y letales condicionales y las agrupaciones típicas de los genes con funciones relacionadas. (De A. Campbell, *The Episomes*, Harper & Row, 1969.)

el ciclo lítico, o si reprime estas funciones y establece lisogenia. La Figura 11-23 ofrece parte del mapa de λ y muestra la longitud de los distintos transcritos. P_L controla la transcripción hacia la izquierda que da lugar a la proteína antiterminadora N, además de varias funciones líticas. P_R controla la transcripción hacia la derecha, que cubre los genes *cro*, *cII* y *Q*, entre otros. Normalmente, estos transcritos terminan en puntos críticos específicos, antes de que puedan transcribirse los genes clave necesarios para el desarrollo lítico. Sin embargo, si se sintetiza la proteína N, ésta impide la terminación del transcrito (véase la Fig. 11-23) y se expresan las funciones líticas. La transcripción a partir de P_L y P_R puede ser bloqueada por la unión del represor a los operadores O_L y O_R . En el primer caso, se impide la síntesis de la proteína N y, por tanto, también se bloquea la elongación de los transcritos formados a partir de P_L y P_R .

El punto crítico para el establecimiento de la lisogenia es la síntesis del represor de λ , determinado por el gen *cI*, que tiene dos promotores. Uno de ellos, denominado P_E , sirve para establecer la lisogenia. El otro, P_M , sirve para mantenerla. Se requieren proteínas activadoras para que se inicie la transcripción en cada promotor. El activador de P_M es el propio represor determinado por el gen *cI*. Por tanto, para que se sintetice represor en una célula que no contenga moléculas de represor preexistentes, debe utilizarse el promotor P_E , que se activa por el producto del gen *cII*. Por tanto, *cII* debe transcribirse para que se establezca la lisogenia. También se requiere una proteína adicional, la *integrasa*, cifrada en el gen *int*. Éste se transcribe a partir de su propio promotor, P_I (Fig. 11-23), que también debe ser activado por el producto del gen *cII*.

En el estado lisogénico, el represor de λ controla su propia síntesis a partir del promotor P_M , interaccionando con los tres operadores O_R1 , O_R2 y O_R3 (Fig. 11-24). Estos operadores tienen distintas afinidades por el represor de λ , siendo $O_R1 > O_R2 >$

O_R3 . Cuando hay muy poco represor de λ sólo se ocupa el sitio O_R1 , que bloquea la expresión de *cro* (la proteína Cro impide la síntesis del represor de λ uniéndose a O_R3). La unión del represor a O_R1 facilita la unión de una segunda molécula de represor a O_R2 . Cuando el represor de λ se une a O_R2 , activa la transcripción del gen *cI*. Sin embargo, cuando hay demasiado represor, éste se une al operador por el que tiene menos afinidad, O_R3 , y esta unión bloquea la transcripción del gen *cI*.

COROLARIO

La regulación de los estados lítico y lisogénico del fago λ proporciona un modelo de interacciones entre sistemas de control que puede ser útil para interpretar la regulación génica en los eucariotas.

Transcripción: regulación génica en eucariotas. Resumen

Los eucariotas se enfrentan a la misma tarea básica que los procariontes de coordinar la expresión de sus genes, si bien realizan esta coordinación de un modo mucho más complicado. Algunos genes deben responder a cambios en las condiciones fisiológicas, mientras que muchos otros forman parte de circuitos genéticos regulados durante el desarrollo que organizan a las células en tejidos y a éstos en un organismo completo (excepto en los eucariotas unicelulares). En estos casos, las señales que controlan la expresión génica son los productos de genes reguladores del desarrollo, más que señales procedentes del ambiente externo.

La mayoría de los genes eucarióticos están controlados al nivel de transcripción y los mecanismos son, conceptualmente, pa-

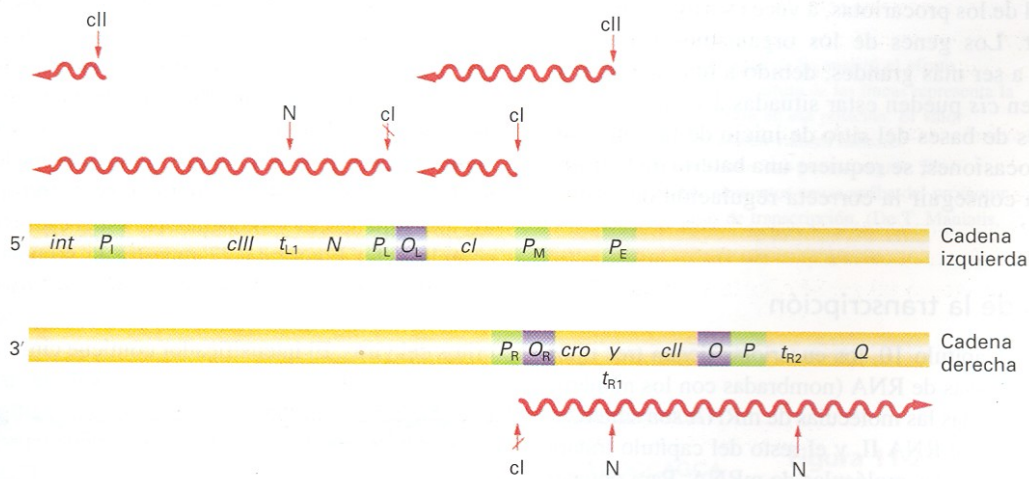


Figura 11-23. Mapa genético parcial del fago λ , con los genes principales y las proteínas reguladoras. Las líneas onduladas representan mRNA, y muestran el inicio, la dirección y la longitud de los transcritos. Una línea vertical al principio de un mRNA marca el sitio donde el producto génico indicado activa a un promotor. Si la flecha está atravesada por una barra inclinada, el producto génico reprime la transcripción. Cuando una flecha señala un sitio dentro de un mRNA, el producto génico indicado impide la terminación de la transcripción en ese sitio. Como indica el esquema, cuando la proteína N no actúa sobre ellos, t_{L1} es un terminador potencial de P_L y t_{R1} es un terminador potencial de P_R . (De D. Wulff y M. Rosenberg, en *Lambda II*, R. W. Hendrix et al., eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1983.)

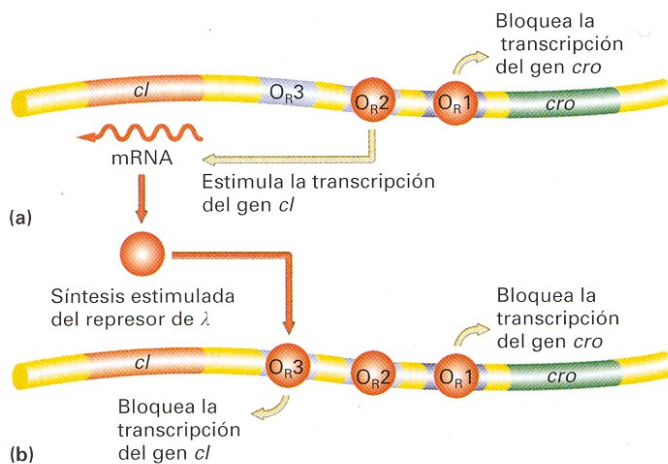


Figura 11-24. Autorregulación de los niveles del represor *cI*. (a) La unión del represor *cI* a O_{R1} reprime la transcripción de *cro* y potencia la unión de una molécula de *cI* a O_{R2} , lo cual, a su vez, estimula la transcripción del represor *cI*. (b) Cuando los niveles del represor *cI* son altos, éste se une a un tercer sitio, O_{R3} . Como O_{R3} solapa con el promotor de *cl*, se bloquea la posterior producción de *cI*, hasta que los niveles bajan, y el sitio O_{R3} queda libre otra vez. (De L. Stryer, *Biochemistry*, 4.^a ed. Copyright © 1995 por Lubert Stryer.)

recidos a los de bacterias: proteínas reguladoras en *trans* que operan uniéndose específicamente a secuencias diana del DNA, que actúan como reguladores de acción *cis*. No obstante, se requiere una regulación mucho más compleja para coordinar la actividad génica a lo largo de la vida de un organismo multicelular, por lo que también hay aspectos considerablemente novedosos. En este capítulo y en los siguientes veremos ejemplos de algunas de estas novedades.

El número de genes de los eucariotas es, típicamente, mucho mayor que el de los procariotas, a veces varios órdenes de magnitud mayor. Los genes de los organismos superiores también tienden a ser más grandes, debido a que las secuencias que actúan en *cis* pueden estar situadas a varias decenas de miles de pares de bases del sitio de inicio de la transcripción y a que, en ocasiones, se requiere una batería de factores reguladores para conseguir la correcta regulación de ciertos genes.

Control en *cis* de la transcripción

Como vimos en el Capítulo 10, los eucariotas tienen tres tipos diferentes de polimerasas de RNA (nombradas con los números romanos I, II y III). Todas las moléculas de mRNA son sintetizadas por la polimerasa de RNA II, y el resto del capítulo tratará sobre la transcripción de las moléculas de mRNA. Para obtener un máximo nivel de transcripción, la polimerasa de RNA II requiere la cooperación de múltiples elementos reguladores en *cis*. Podemos distinguir tres clases de elementos en función de su posición relativa. Cerca del sitio de inicio de la transcripción están el promotor mínimo (el sitio de unión de la polimerasa de RNA II) y las secuencias proximales que actúan en *cis*. Estas interactúan físicamente con proteínas que ayudan a la unión

de la polimerasa de RNA II a su promotor. Otras secuencias en *cis* actúan a una considerable distancia. Estos elementos se denominan intensificadores y silenciadores. A menudo, un intensificador o un silenciador sólo actúa en uno o unos pocos tipos celulares de un eucariota multicelular. Los promotores, los elementos próximos al promotor y los elementos que actúan a distancia son secuencias diana para la unión de diferentes proteínas de unión a DNA que actúan en *trans*.

El promotor mínimo y los elementos próximos al promotor

La Figura 11-25 muestra un esquema del promotor mínimo y de los elementos próximos al promotor. Llamamos **promotor mínimo** a la región comprendida entre el sitio de inicio de la transcripción y la secuencia TATA, que se encuentra aproximadamente 30 pb aguas arriba. Este promotor mínimo es incapaz por sí mismo de mediar una transcripción eficaz y precisa para ello de los **elementos proximales**, situados a unos 100-200 pb del sitio de inicio de la transcripción. La secuencia CCAAT funciona como uno de ellos y un segmento rico en GC puede ser otro. La Figura 11-26 ilustra cómo afectan las mutaciones en estos elementos a la tasa de transcripción.

Elementos que actúan en *cis* independientemente de la distancia

En eucariotas se conocen dos clases de elementos que actúan en *cis* y que pueden hacerlo a una distancia considerable del promotor. Los **intensificadores** son secuencias de acción *cis* que aumentan mucho las tasas de transcripción de promotores que se encuentran en la misma molécula. Actúan por tanto activando la transcripción, es decir, regulándola positivamente. Por el contrario, los **silenciadores** son secuencias de acción *cis* a las que se unen represores, inhibiendo a los activadores y reduciendo el nivel de transcripción. Los intensificadores y los silenciadores se parecen a los elementos proximales en cuanto que a ellos se unen proteínas reguladoras que actúan en *trans*. Se diferencian de ellos, sin embargo, en que son capaces de actuar a distancia, algunas veces a 50 kb o más, y en que pueden operar aguas arriba o aguas abajo del promotor al que controlan. Los elementos intensificadores y silenciadores están estructurados de forma compleja. La Figura 11-27 muestra la secuencia de DNA del intensificador de SV40 (del inglés *Simian Virus 40*), que se requiere para conseguir un nivel elevado de expresión de los transcritos del virus. El intensificador contiene cinco elementos necesarios para alcanzar el máximo nivel de transcripción. Se conocen intensificadores compuestos por múltiples copias de un elemento de unión. Estas diferentes secuencias sirven como sitios de reconocimiento para proteínas específicas reguladoras en *trans*.

Mecanismos de acción a distancia

¿Cómo regulan la transcripción los intensificadores y los silenciadores a muchos miles de pares de bases de distancia? La mayor parte de los modelos que explican estas acciones incluyen

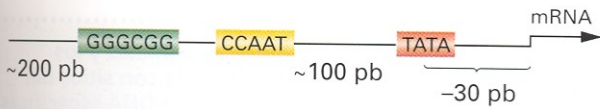


Figura 11-25. Región promotora de los eucariotas superiores. La secuencia TATA se encuentra aproximadamente a 30 pares de bases del sitio de iniciación del mRNA. Normalmente existen dos o más elementos próximos al promotor, situados a 100 y 200 pb aguas arriba del sitio de inicio del mRNA. Se indican la secuencia CCAAT y la secuencia rica en GC. Otros elementos aguas arriba de acción cis son las secuencias GCCACACCC y ATGCAAAT.

algún tipo de bucle en el DNA. La Figura 11-28 detalla un modelo de la activación del complejo de iniciación (véase también la Fig. 11-29). En este modelo, un bucle en el DNA acerca de las proteínas reguladoras unidas a elementos intensificadores lejanos a los complejos proteicos asociados con las secuencias de acción cis próximas al promotor.

COROLARIO

Los intensificadores y los silenciadores eucarióticos pueden actuar a gran distancia.

Control en trans de la transcripción

Actualmente, se han identificado en eucariotas muchas proteínas reguladoras que actúan en trans. Como sus contrapartidas en procariotas, estas proteínas operan uniéndose a secuencias diana específicas en el DNA.

Las proteínas reguladoras que se unen al promotor mínimo y a los elementos proximales ayudan a la polimerasa de RNA II a iniciar la transcripción y, junto a ella, forman el complejo de iniciación, como se ilustra en la Figura 11-29a. Varios complejos de factores de transcripción diferentes (complejos TFII) interactúan con la polimerasa de RNA II. Por ejemplo, el complejo TFIID consta de la proteína de unión a la secuencia TATA (TBP) y más de ocho subunidades adicionales (las TAF). Los

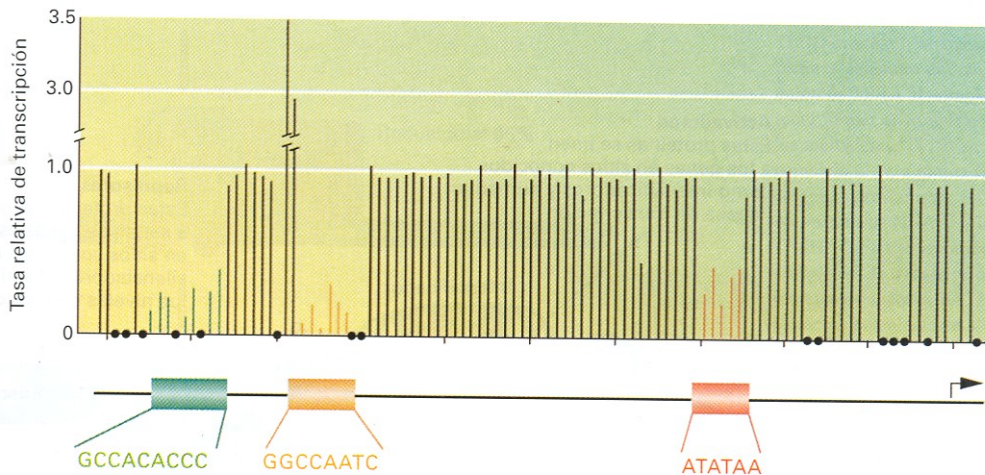


Figura 11-26. Efecto de mutaciones puntuales en el promotor del gen de la globina β. Se analizó el efecto sobre la transcripción de mutaciones puntuales repartidas por toda la región promotora. La altura de las líneas representa la tasa de transcripción, relativa al promotor silvestre, de promotores con un cambio de base en esa posición. El valor 1.0 representa una tasa igual a la del silvestre; las reducciones en la transcripción producen valores menores de 1.0. Se probaron casi todos los nucleótidos de la región promotora, salvo los señalados con puntos negros. El esquema de la parte inferior muestra las posiciones de la secuencia TATA y de dos elementos aguas arriba del promotor. Sólo las sustituciones de bases en esos tres elementos del promotor cambian las tasas de transcripción. (De T. Maniatis, S. Goodbourn y J. A. Fischer, *Science* 236, 1987, 1237.)



Figura 11-27. Organización del intensificador de SV40, un virus que infecta a primates. Sus secuencias reguladoras interactúan con la maquinaria de regulación de la transcripción de la célula eucariótica. Las secuencias sombreadas 1 a 5 indican las secuencias que se requieren para alcanzar los niveles máximos de actividad intensificadora. (De T. Maniatis, S. Goodbourn y J. A. Fischer, *Science* 236, 1987, 1237.)

complejos TFII se conocen como factores de transcripción *basal* o *general*, porque constituyen el requerimiento mínimo para que la polimerasa de RNA II inicie la transcripción (normalmente de forma muy débil) en un promotor. La Figura 11-29b muestra la estructura de la proteína de unión a la secuencia TATA unida al DNA. Las secuencias CCAAT y GC son reconocidas por proteínas de unión a DNA adicionales.

También se han identificado algunas de las proteínas que se unen a elementos independientes de la distancia. La proteína cifrada en el gen de levadura *GCN4* es un ejemplo de proteína que se une a un elemento intensificador. Opera sobre intensificadores llamados secuencias activadoras aguas arriba (UAS; del inglés *Upstream Activating Sequences*). *GCN4* activa la transcripción de muchos genes de levadura cuyos productos participan en rutas de síntesis de aminoácidos. Cuando faltan aminoácidos, aumenta el nivel de la proteína *GCN4* y, como consecuencia, aumentan los niveles de expresión de los genes biosintéticos. Las UAS reconocidas por *GCN4* contienen como elemento principal la secuencia de reconocimiento ATGAC-TCAT.

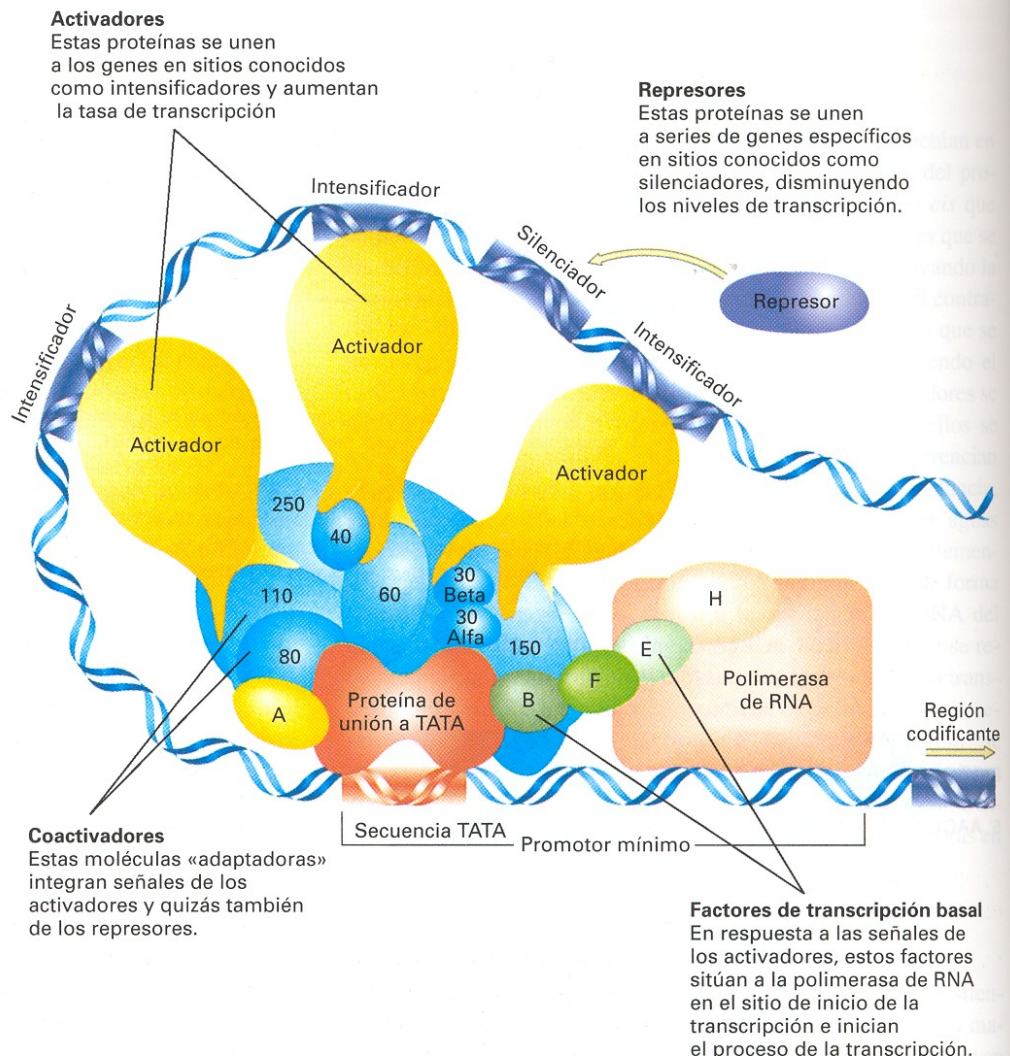
COROLARIO

El promotor mínimo, los elementos proximales y los elementos independientes de la distancia son sitios del DNA reconocidos por proteínas de unión a DNA específicas de secuencia. Es necesario un conjunto adecuado de estas proteínas de acción *trans* para que la polimerasa de RNA II inicie la transcripción y alcance los niveles máximos de transcripción.

Regulación de la transcripción específica de tejido

Muchos elementos intensificadores de los eucariotas superiores activan la transcripción en tejidos específicos, es decir, inducen la expresión de un gen en uno o unos pocos tipos celulares. Por ejemplo, los genes de los anticuerpos están flanqueados por potentes intensificadores que sólo operan en los linfocitos B del sistema inmunitario. Muchos intensificadores son componentes integrales de complicados circuitos genéticos específicos de tejido, en los cuales se basan los complicados acontecimientos que

Figura 11-28. El aparato molecular que controla la transcripción en las células humanas consta de cuatro tipos de componentes. Las proteínas numeradas corresponden a los nombres de las subunidades de la polimerasa de RNA II. Cada subunidad se nombra de acuerdo con su masa molecular en kilodaltons. Los factores de transcripción basal (marcados como A, B, F, E, H) son esenciales para que ocurra la transcripción, pero ellos mismos no pueden aumentar o disminuir la tasa de transcripción. Esta tarea la realizan moléculas reguladoras conocidas como activadores y represores. Los activadores, y posiblemente los represores, se comunican con los factores basales por medio de coactivadores, proteínas que están íntimamente asociadas a la proteína de unión a TATA, el primero de los factores basales que interactúa con el promotor mínimo. (De R. Tjian, «Molecular Machines That Control Genes», Copyright © 1995 Scientific American, Inc. Todos los derechos reservados.)



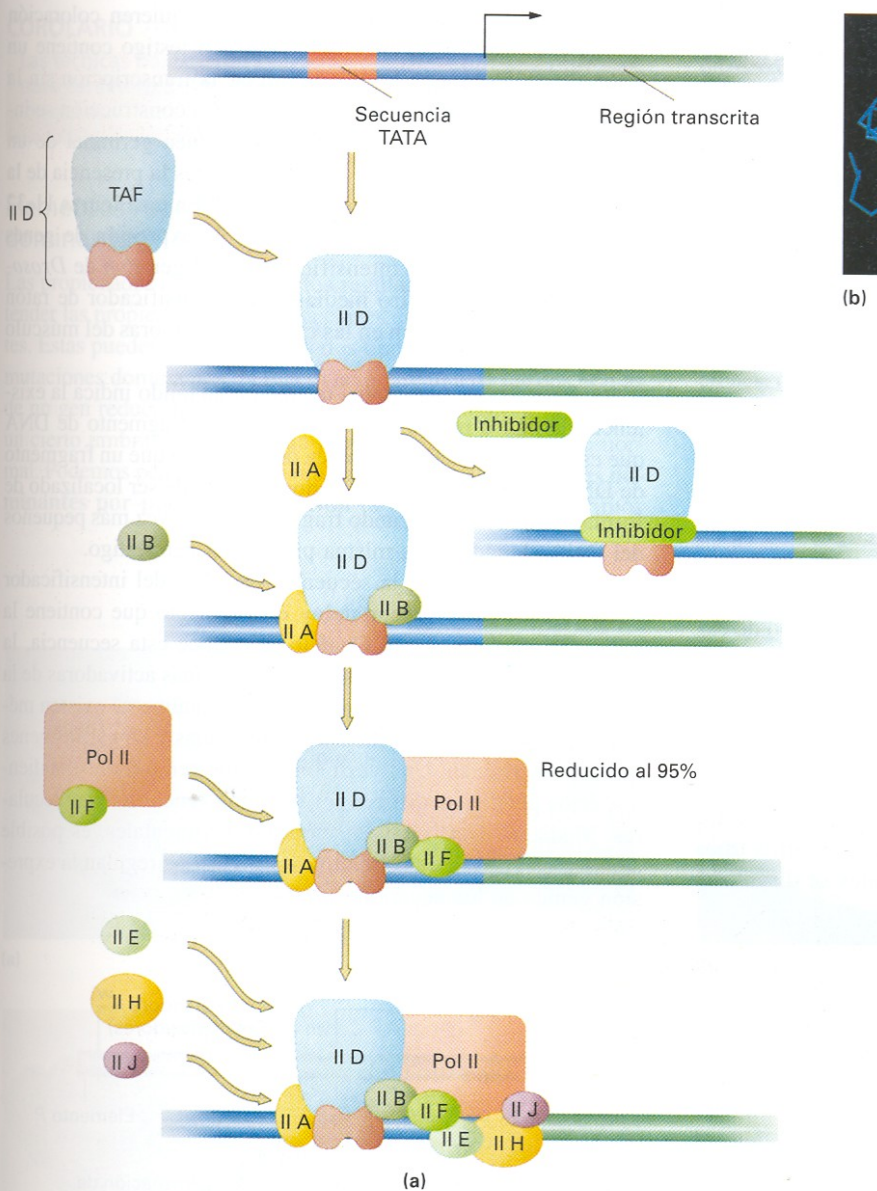


Figura 11-29. (a) La formación del complejo de iniciación de la polimerasa de RNA II comienza con la unión del factor de transcripción TFIID a la secuencia TATA. TFIID está compuesto por una subunidad de unión a la secuencia TATA llamada TBP (marrón) y más de ocho subunidades adicionales (las TAF), representadas por un símbolo grande (azul claro). Los inhibidores pueden unirse al complejo TFIID-promotor, bloqueando la unión de otros factores generales de transcripción. La unión de TFIIA al complejo TFIID-promotor (para formar el complejo D-A) impide la unión de los inhibidores. TFIIB se une entonces al complejo D-A, a lo que sigue la unión de un complejo previamente formado entre TFIIF y la polimerasa de RNA II. Finalmente, TFII E, TFII H y TFII J se incorporan, en ese orden, al complejo y la transcripción puede iniciarse. (b) La proteína de unión a TATA (azul) es una molécula notablemente simétrica, con forma de silla de montar. Su región inferior se sitúa sobre el DNA y parece curvarlo. Esta curvatura facilita de alguna forma el ensamblaje del complejo que inicia la transcripción. (Parte a de H. Lodish, D. Baltimore, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira y J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, 3.ª ed. Copyright © 1995 por Scientific American Books; la parte b es cortesía de J. L. Kim y S. K. Berley, de *Nature* 365, 1993, 520.)

tienen lugar durante el desarrollo de los eucariotas superiores. La especificidad de tejido se confiere mediante una de dos formas posibles. Un intensificador actúa en un tejido específico si el activador que se une a él está presente sólo en algunos tipos celulares. Alternativamente, un represor específico de tejido puede unirse a un silenciador situado muy cerca del elemento intensificador, dejando a este último inaccesible a su factor transcripcional.

Propiedades de los intensificadores específicos de tejido

En algunos casos, la regulación se controla mediante series sencillas de intensificadores. En *Drosophila*, por ejemplo, las vitelogeninas son grandes proteínas de la yema del huevo que se sintetizan en los ovarios y en el cuerpo graso (que, en esencia, es

el hígado de la mosca) de las hembras adultas y que se transportan luego al oocito en desarrollo. Dos intensificadores diferentes situados a unos pocos cientos de pares de bases del promotor regulan el gen de la vitelogenina, uno estimulando su expresión en los ovarios y otro en el cuerpo graso.

El conjunto de intensificadores de un gen puede ser bastante complejo, controlando patrones de expresión génica igualmente complejos. El gen *dpp* (*decapentaplegic*) de *Drosophila*, por ejemplo, determina una proteína que media la señalización intercelular (véase el Cap. 23). Contiene numerosos intensificadores, quizás decenas o cientos, dispersos a lo largo de un segmento de DNA de unas 50 kb. Algunos de ellos están situados 5' (aguas arriba) del sitio de iniciación de la transcripción de *dpp*, otros están situados aguas abajo del promotor, otros en intrones, e incluso algunos están situados aguas abajo del sitio 3' de poliadenilación del gen. Cada uno de estos intensificadores regula la

expresión de *dpp* en una parte distinta del animal en desarrollo. Algunos de los intensificadores mejor caracterizados de *dpp* se muestran en la Figura 11-30.

El requerimiento de múltiples elementos intensificadores para regular la expresión específica de tejido ayuda a explicar el gran tamaño de los genes de los eucariotas superiores. La regulación específica de tejido de un gen puede ser bastante compleja, y precisar la acción de numerosos elementos intensificadores situados a distancia.

Disección de los elementos reguladores eucarióticos

Una parte importante de la Genética moderna tiene que ver con la identificación y caracterización de los elementos reguladores a distancia mediante construcciones transgénicas, en las que moléculas de DNA recombinante se insertan en el genoma de un organismo (véase el Cap. 13). En estas construcciones, se incorporan fragmentos aislados de un gen para determinar qué patrones espaciales y temporales controlan. Mediante este tipo de experimentos podemos localizar elementos reguladores concretos. A su vez, podemos utilizar estos elementos reguladores para desarrollar nuevas formas de identificar genes de interés. Veremos en los siguientes apartados cómo se llevan a cabo tales experimentos, usando como ejemplo los intensificadores transcripcionales. Tenga en cuenta, sin embargo, que las mismas técnicas y la misma lógica se aplican al estudio de otros tipos de elementos reguladores, algunos de los cuales se discutirán en el Capítulo 23.

Utilización de genes testigos para encontrar intensificadores

Normalmente, los intensificadores de un gen ya clonado se identifican usando **genes testigos (chivatos o delatores)**. En este tipo de construcciones, se fusiona un fragmento que contiene el DNA regulador en *cis* (normalmente mediante un sistema de «cortado y pegado» basado en el uso de enzimas de restricción) cerca de una unidad de transcripción que expresa una proteína testigo, es decir, una proteína cuya presencia es fácilmente detectable. Nuestra vieja amiga la enzima β -galactosidasa de *E. coli*, cifrada en el gen *lacZ*, es una proteína testigo utilizada frecuentemente, porque es muy fácil detectar su presencia mediante métodos histoquímicos, añadiendo al medio un sustrato sinté-

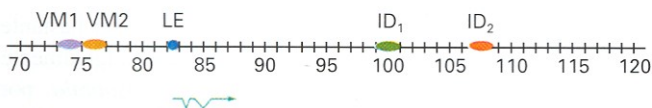


Figura 11-30. Mapa molecular de un gen complejo, el gen *dpp* de *Drosophila*. Las unidades del mapa están en kilobases. La unidad de transcripción básica del gen se muestra debajo de la línea de coordenadas del mapa. Las abreviaturas sobre la línea marcan los sitios de unos pocos de los muchos intensificadores específicos de tejido que regulan la transcripción durante diferentes etapas del desarrollo. Los patrones de expresión específica de tejido que confieren estos intensificadores se muestran en la Figura 11-32, donde también se explican las abreviaturas.

tico, el X-gal, y observando qué tejidos adquieren coloración azul. La unidad transcripcional con el gen testigo contiene un promotor «débil», que no puede iniciar la transcripción sin la ayuda de un intensificador (Fig. 11-31). La construcción se introduce mediante transformación en la línea germinal de un organismo hospedador, y se estudia entonces la presencia de la proteína testigo en las células apropiadas. En las Figuras 11-32 y 11-33 se muestran dos ejemplos de la expresión de genes testigos, uno mediante intensificadores del gen *dpp* de *Drosophila* (Fig. 11-32) y otro mediante un intensificador de ratón que determina expresión en las células precursoras del músculo (Fig. 11-33).

La presencia de la proteína testigo en un tejido indica la existencia de uno o más intensificadores en el fragmento de DNA que estamos estudiando. Una vez determinado que un fragmento de DNA contiene un intensificador, éste puede ser localizado de forma más precisa utilizando fragmentos cada vez más pequeños del DNA clonado en la misma prueba del gen testigo.

En última instancia, la secuencia de DNA del intensificador puede identificarse «recortando» el fragmento que contiene la región reguladora en *cis*. Cuando se conoce esta secuencia, la siguiente pregunta a realizarse es qué proteínas activadoras de la transcripción se unen al intensificador. Actualmente existen métodos que permiten identificar estas proteínas y clonar los genes que las determinan. Una vez clonados los genes correspondientes, éstos pueden analizarse por métodos genéticos y moleculares. Mediante estas aproximaciones experimentales, es posible analizar con detalle los circuitos genéticos que regulan la expresión génica en los eucariotas.

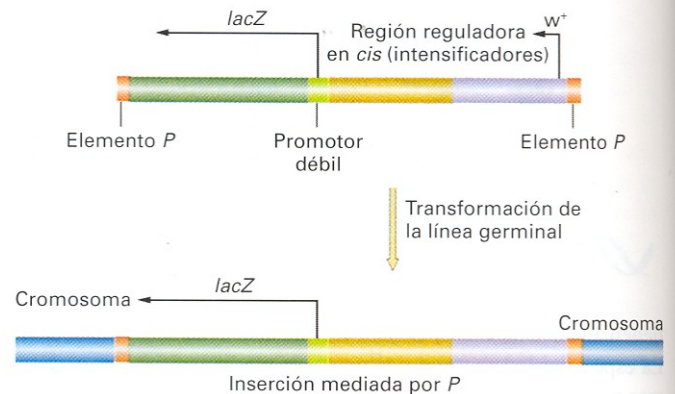


Figura 11-31. Utilización de construcciones con un gen testigo para identificar intensificadores de *Drosophila*. La línea superior representa parte de un plásmido, flanqueada por extremos del elemento *P*, de modo que el material genético situado entre ellos puede insertarse en el genoma por transformación mediada por el elemento *P* (véase el Cap. 20). Una región de DNA de la que se sospecha que contiene uno o más intensificadores se inserta en una posición inmediatamente adyacente a un promotor «débil», es decir, un promotor que no puede iniciar la transcripción por sí mismo. El promotor va unido a su vez al gen estructural *lacZ* de *E. coli* (el gen testigo), que determina la enzima β -galactosidasa. Si en la construcción hay intensificadores, éstos inducirán la expresión específica de tejido del gen *lacZ*. *w⁺* es el alelo silvestre del gen *white* de *Drosophila* que se utiliza para detectar la presencia en la mosca de la construcción con el gen testigo. Los embriones y los discos imaginales que se muestran en las Figuras 11-32 y 11-33 son ejemplos de expresión de construcciones con genes testigos en *Drosophila* y en ratones.

COROLARIO
 Las técnicas basadas en el uso de genes testigos se utilizan para caracterizar los elementos reguladores concretos de los genes.

Elementos reguladores y mutaciones dominantes

Las propiedades de los elementos reguladores nos ayudan a entender las propiedades de ciertas clases de mutaciones dominantes. Éstas pueden clasificarse en dos tipos generales. En algunas mutaciones dominantes, la inactivación de una de las dos copias de un gen reduce la cantidad de producto génico por debajo de un cierto umbral crítico para la producción de un fenotipo normal. Podemos pensar en estas mutaciones como **mutaciones dominantes por pérdida de función** (a las cuales nos referimos

como mutaciones haploinsuficientes en capítulos anteriores). En otros casos, el fenotipo dominante se debe a alguna nueva propiedad del gen mutante, no a una reducción de su actividad normal; esta clase comprende a las **mutaciones dominantes por ganancia de función**.

Muchas mutaciones dominantes por ganancia de función aparecen por la fusión entre sí de fragmentos de dos genes. (Observe, sin embargo, que hay otros mecanismos por el que pueden aparecer mutaciones dominantes por ganancia de función). Este tipo de fusiones pueden aparecer en los puntos de ruptura de reorganizaciones cromosómicas, como inversiones, translocaciones, duplicaciones o deleciones (véase el Cap. 17). Como los intensificadores actúan a gran distancia y pueden activar muchos promotores diferentes, puede ocurrir la desregulación de un gen si una reordenación cromosómica deja intensificadores de un gen adyacentes a la unidad de transcripción de otro gen. En ca-

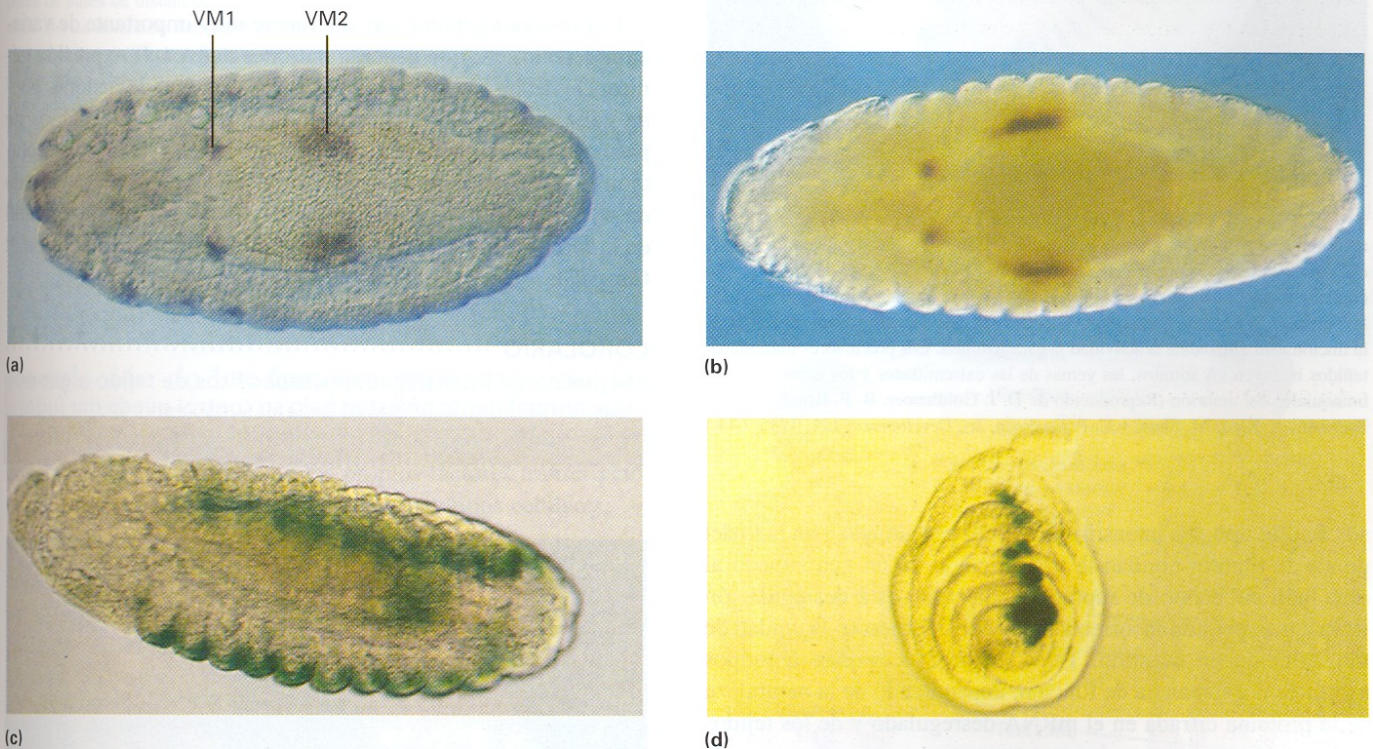


Figura 11-32. Algunos ejemplos de la compleja regulación específica de tejido del gen *dpp*. En las partes a, c y d, la tinción azul se debe a un ensayo histoquímico de la actividad de la enzima β -galactosidasa de *E. coli* (la proteína determinada por el gen testigo *lacZ*). Las posiciones de los intensificadores de *dpp* responsables de los distintos patrones de tinción observados aquí se muestran en la Figura 11-30. (a) Ensayo mediante un gen testigo de la expresión del gen *dpp* de *Drosophila* en dos regiones del mesodermo visceral embrionario, el precursor de la musculatura del intestino. Las dos manchas de la izquierda corresponden al intensificador VM1, que controla la expresión en la parte anterior del mesodermo visceral; las dos manchas de la derecha corresponden al intensificador VM2, que controla la expresión en la parte posterior del mesodermo visceral. (b) Ensayo de hibridación *in situ* de RNA para estudiar la expresión de *dpp* en el mesodermo visceral embrionario. Observe que el patrón de expresión del color azul debido al gen testigo en la parte a es igual al patrón de expresión (marcada en marrón) del mRNA de *dpp* mostrada aquí, lo que confirma la fidelidad del ensayo basado en el gen testigo. (c) Expresión del gen testigo controlada por un intensificador diferente (LE) de *dpp* en el ectodermo lateral de un embrión. (d) Expresión del gen testigo controlada por ID, uno de los muchos intensificadores que determinan la expresión de *dpp* en los discos imaginales (un disco imaginal es un círculo plano de células de la larva que da lugar a uno de los apéndices de la mosca adulta). Se muestra un sector azul que corresponde a la expresión del gen testigo asociado al gen *dpp* en un disco imaginal de pata. (Las partes a y b son cortesía de D. Hursh; la parte c es cortesía de R. W. Padgett; la parte d es cortesía de R. Blackman y M. Sanicola.)



Figura 11-33. Embrión transgénico de 11.5 días que contiene DNA recombinante compuesto por una secuencia de 258 pb fusionada al gen *lacZ* de *E. coli*, que determina la enzima β -galactosidasa. El DNA de ratón de 258 pb contiene todas las secuencias reguladoras en *cis* necesarias para dirigir la expresión del gen *lacZ* en células precursoras del músculo, como revela la tinción azul que indica la actividad β -galactosidasa. Los precursores musculares teñidos incluyen los somitos, las yemas de las extremidades y los arcos branquiales del embrión (Reproducido de D. J. Goldhamer, B. P. Brunk, A. Faerman, A. King, M. Shani y C. P. Emerson, Jr., *Development* 121, 1995, 644.)

sos de este tipo, los intensificadores del gen situado a un lado del punto de ruptura regulan la transcripción de un gen situado al otro lado del punto de ruptura. A menudo, esta desregulación lleva a la expresión incorrecta del mRNA cifrado en la unidad de transcripción en cuestión. Tales fusiones ocasionan fenotipos mutantes por ganancia de función, dependiendo de la naturaleza de la proteína cifrada en el mRNA desregulado y de los tejidos en los cuales se expresa incorrectamente.

La clásica mutación dominante *Bar* de *Drosophila* es un ejemplo de desregulación debida a una fusión génica. En la mutación *Bar*, los elementos reguladores en *cis* que promueven expresión en el ojo en desarrollo se fusionan a un gen que normalmente no se expresa en el ojo. Este último gen determina un factor de transcripción cuya expresión incorrecta en el ojo lleva a la muerte de muchas células, lo que provoca el ojo pequeño típico del fenotipo *Bar*.

En unos cuantos casos, se conoce bien cuál es la causa de la desregulación en este tipo de fusiones génicas. Un ejemplo es la mutación *Tab* (*Transabdominal*) de *Drosophila*, que provoca que una parte del tórax de la mosca adulta se desarrolle como un tejido característico del sexto segmento abdominal (A6) (Fig. 11-34). Se sabe que la mutación *Tab* está relacionada con una

inversión cromosómica. Uno de los puntos de ruptura de la inversión corresponde a una región intensificadora del gen *sr* (*striped*). Los intensificadores del gen *sr* inducen la expresión del gen en ciertas partes del tórax de la mosca. El otro punto de ruptura está cerca de la unidad de transcripción del gen *Abd-B* (*Abdominal-B*). Este gen determina un factor transcripcional que normalmente se expresa sólo en las regiones posteriores del animal y que es responsable del fenotipo abdominal de cualquier tejido en el cual se exprese. (Trataremos acerca de genes tipo *Abd-B* en el Capítulo 23, en el apartado de los genes homeóticos). En la inversión *Tab*, los elementos intensificadores de *sr* que controlan expresión torácica quedan junto a la unidad de transcripción de *Abd-B*, provocando que este gen se active exactamente en aquellas partes del tórax donde normalmente lo haría *sr* (Fig. 11-35). Dada la función del factor transcripcional *Abd-B*, su activación en las células torácicas cambia el destino de éstas al de abdomen posterior. De esta forma, se entiende la base molecular de una mutación dominante.

Las fusiones génicas son una fuente muy importante de variación genética, ya que generan patrones nuevos de expresión génica. De hecho, podemos imaginar que este tipo de fusiones puede haber jugado un papel muy importante en los cambios de patrones de expresión génica durante la divergencia y la evolución de las especies. Además de afectar al desarrollo (tratado en el Cap. 23), tales mutaciones juegan un papel fundamental en la formación y desarrollo de muchos cánceres (tratados en el Cap. 22).

COROLARIO

La fusión de intensificadores específicos de tejido a genes que normalmente no están bajo su control puede dar lugar a fenotipos mutantes dominantes por ganancia de función.



Figura 11-34. Mutación *Tab*. La mosca de la izquierda es un macho silvestre. La mosca de la derecha es un macho mutante heterocigótico *Tab/+*. En la mosca mutante, parte del tórax (el tejido negro) ha cambiado a tejido que normalmente se encuentra en la parte dorsal de uno de los segmentos abdominales posteriores. El resto del tórax es normal. (De S. Celniker y E. B. Lewis, *Genes and Development* 1, 1987, 111.)

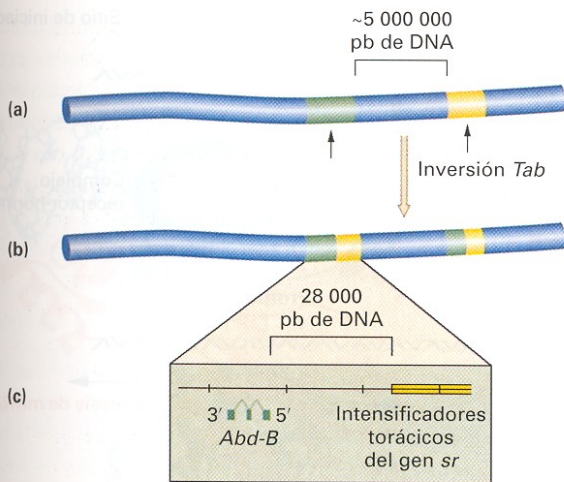


Figura 11-35. La mutación *Tab* se debe a una fusión génica. (a) Se muestran las posiciones de los genes *Abd-B* y *sr* en el mapa de un cromosoma 3 normal. Los dos genes se encuentran, aproximadamente, a 5 millones de pares de bases de distancia, y normalmente hay cientos de genes entre ellos. (b) La inversión *Tab* tiene un punto de ruptura en el gen *Abd-B* y el otro en el gen *sr* (flechas de la parte a). Como resultado, se fusionan fragmentos de los genes *Abd-B* y *sr* en ambos extremos de la inversión. (c) Visión ampliada del punto de ruptura de la inversión más cercano al centrómero. Los puntos de ruptura de la inversión han dado lugar a una molécula de DNA en la cual la región promotora de *Abd-B* está sólo a 28 000 pares de bases de los elementos intensificadores del gen *sr*. Ello provoca que el transcrito *Abd-B* se exprese ectópicamente en algunas partes del tórax de la mosca, donde el gen silvestre *Abd-B* no se transcribe normalmente.

Regulación de los factores transcripcionales

Algunos factores transcripcionales sólo se sintetizan en tejidos concretos. Las actividades de los propios factores transcripcionales están también reguladas en diferentes tipos celulares.

Hormonas esteroides: cómo enlazar la acción de los intensificadores con la fisiología del organismo

De la misma forma que es fundamental en los procariotas ajustar transcripcionalmente la actividad de las proteínas reguladoras con el estado fisiológico de la bacteria, también en los eucariotas es crucial el vínculo entre la regulación transcripcional y la fisiología del organismo. En el Capítulo 23 veremos algunos ejemplos de cómo las rutas de diferenciación y desarrollo de patrones aportan el contexto fisiológico para la activación de factores transcripcionales específicos. Algunas veces, la señal reguladora que activa a los factores transcripcionales eucarióticos proviene de una región muy distante del cuerpo. Por ejemplo, las hormonas liberadas al sistema circulatorio por un órgano que forma parte del sistema endocrino (Fig. 11-36) viajan por la circulación prácticamente a todas las regiones del cuerpo. Así, el sistema endocrino sirve como regulador maestro para coordinar cambios en la transcripción en células de muchos tejidos diferentes. En este mecanismo se basa la determinación del sexo en los mamíferos, que se tratará en el Capítulo 23.

Algunas hormonas son pequeñas moléculas que, debido a sus propiedades de solubilidad en lípidos, atraviesan fácilmente la membrana plasmática. Este es el caso de las hormonas esteroides, como los glucocorticoides, la testosterona y los estrógenos. Una vez dentro de las células, las hormonas esteroides se unen y regulan a factores transcripcionales específicos. En este sentido, podemos pensar en los esteroides como análogos a los efectores alostéricos que regulan algunos operones bacterianos.

Un ejemplo es la hormona femenina estrógeno. La proteína ovoalbúmina de la clara del huevo se sintetiza en los oviductos de las gallinas como respuesta específica al estrógeno, que provoca un aumento en la transcripción del gen de la ovoalbúmina. Ello se consigue mediante la unión del estrógeno a una proteína receptora que primero reconoce a la molécula de estrógeno en el citoplasma y luego la transporta al núcleo. La molécula receptora es un factor transcripcional que se une entonces al DNA en un sitio intensificador denominado HRE (del inglés *hormone-response element*). La Figura 11-37 ilustra el proceso general de activación por el complejo esteroide-receptor.

COROLARIO
Como las procarióticas, las proteínas eucarióticas reguladoras de la transcripción deben poseer dominios que interactúen con señales moleculares del estado fisiológico de la célula.

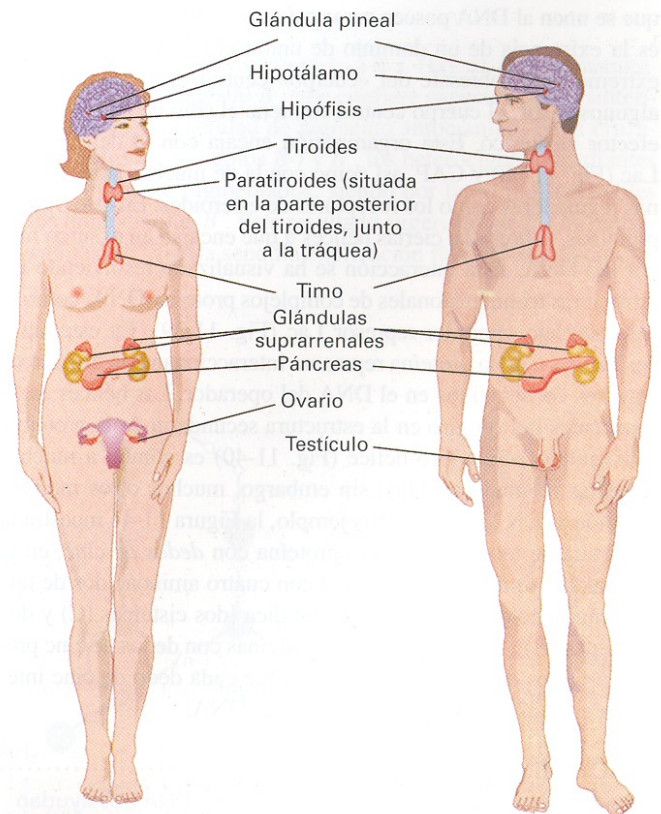


Figura 11-36. Órganos endocrinos humanos. (De W. K. Purves, G. H. Orians y H. C. Heller, *Life: The Science of Biology*, 4.ª ed. Sinauer Associates, Inc. y W. H. Freeman and Company, 1995.)

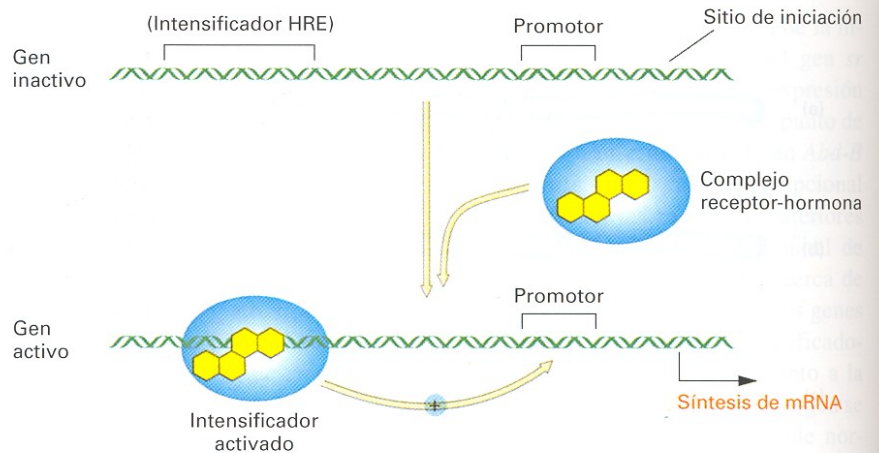


Figura 11-37. Acción de las hormonas esteroides en las secuencias intensificadoras. Una hormona esteroide (azul) se une a una proteína receptora soluble. Este complejo, a su vez, se une a las secuencias intensificadoras y las capacita para estimular la transcripción de los genes de respuesta a hormonas. (De L. Stryer, *Biochemistry*, 4.^a ed. Copyright © 1995 Lubert Stryer.)

Estructura de las proteínas reguladoras

A lo largo de este capítulo, hemos visto que proteínas como el represor Lac, CAP o la proteína de unión a TATA son fundamentales para la regulación génica. Estas proteínas de unión a DNA específicas de secuencia son vitales para la regulación transcripcional de todos los organismos. Debemos, pues, hablar de cómo ocurre la unión a DNA específica de secuencia.

Los análisis de las secuencias de las proteínas y las comparaciones de sus estructuras indican que las proteínas reguladoras que se unen al DNA poseen características comunes. Una de ellas es la existencia de un dominio de unión al DNA, situado en un extremo, que sobresale del «cuerpo» central de la proteína. En algunos casos, el cuerpo central contiene el sitio de unión para el efector alostérico. Esta organización encaja con la del represor Lac (Fig. 11-38) y CAP, así como con la de muchas otras proteínas reguladoras como los receptores de esteroides. En este tipo de proteínas, sobresalen ciertas hélices α que encajan en el surco mayor del DNA. Esta interacción se ha visualizado resolviendo las estructuras tridimensionales de complejos proteína-DNA, como la del complejo operador-represor Lac (Fig. 11-39). En este caso, dos hélices α de la proteína represora interactúan con dos surcos mayores consecutivos en el DNA del operador. Las hélices están conectadas por un giro en la estructura secundaria de la proteína. Este motivo hélice-giro-hélice (Fig. 11-40) es común a muchas proteínas reguladoras. Hay, sin embargo, muchos otros motivos de unión al DNA. Sólo como ejemplo, la Figura 11-41 muestra la estructura de una parte de una proteína con *dedos de cinc*, en la cual un átomo de cinc se conjuga con cuatro aminoácidos de una pequeña parte de la cadena polipeptídica [dos cisteínas (C) y dos histidinas (H)]. Normalmente, las proteínas con dedos de cinc presentan varios de estos dedos. Parece que cada dedo de cinc interactúa con una secuencia específica del DNA.

COROLARIO

Las estructuras de las proteínas de unión a DNA nos ayudan a entender cómo establecen contacto con secuencias específicas del DNA por medio de dominios polipeptídicos que interactúan con el surco mayor de la hélice doble del DNA.

Herencia epigenética

El examen general que hemos realizado respecto a la regulación transcripcional da cuenta de la mayor parte de las observaciones que los genetistas han hecho durante todo este siglo. Sin embargo, todavía quedan fenómenos que requieren explicación. Una serie de este tipo de fenómenos, a los que nos referiremos como *herencia epigenética*, parece ser responsable de alteraciones heredables en las que la propia secuencia de DNA no cambia. Es probable que estos fenómenos constituyan otro nivel, poco entendido, de control génico. Algunos ejemplos de herencia epigenética en los cuales el estado de actividad de un gen depende de su historia genealógica son la paramutación y la impronta parental.

Paramutación

El fenómeno de la *paramutación* se ha descrito en varias especies de plantas, siendo especialmente notable el caso del maíz (Fig. 11-42), donde sólo se observa en unos cuantos genes. En

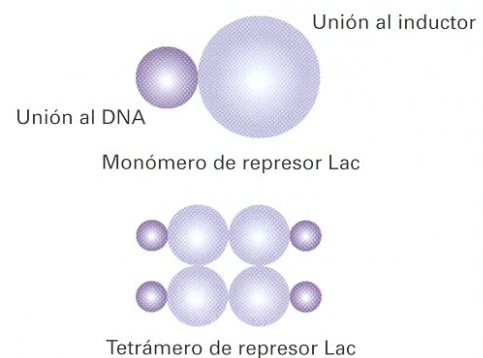


Figura 11-38. Representación esquemática de la organización de los dominios del represor Lac. Todas las mutaciones que afectan a la unión a DNA y al operador alteran el extremo amino terminal de la proteína. Los mutantes afectados en la unión al inductor presentan alteraciones en el resto de la proteína.

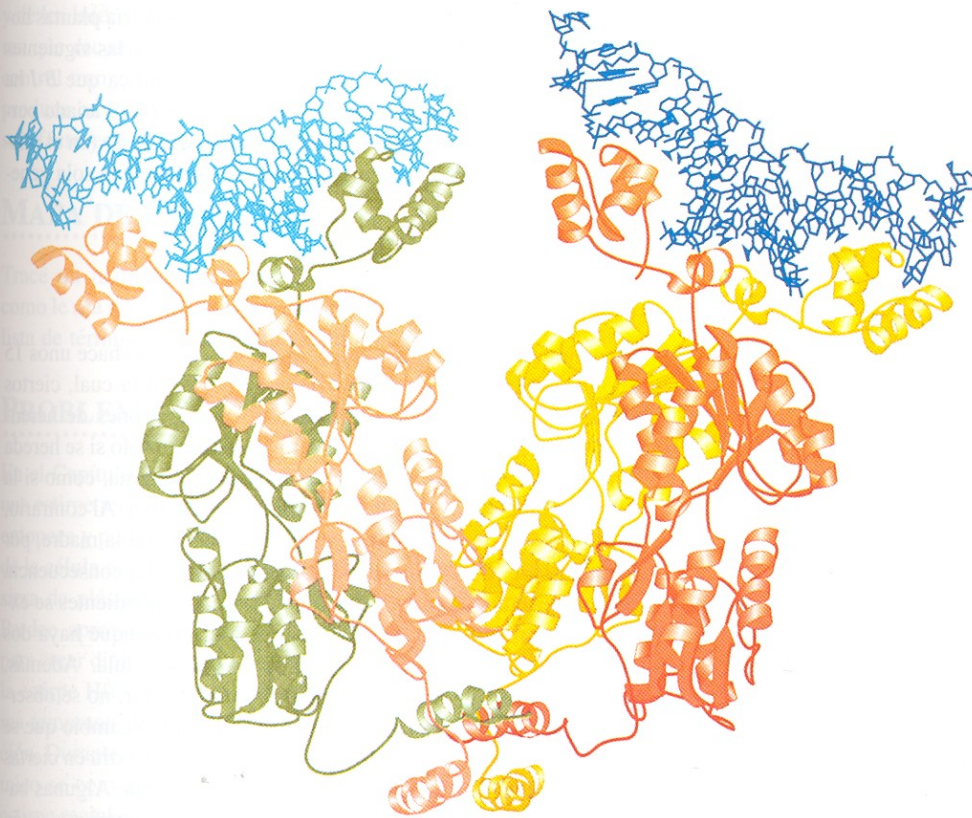


Figura 11-39. Imagen del complejo represor Lac-DNA obtenida por estudios de cristalografía de rayos X. En este caso, el tetrámero del represor está unido a dos operadores. Cada dímero se une a un operador. Los operadores mostrados aquí (azul claro y azul oscuro) tienen una longitud de 21 pares de bases. Los monómeros presentan los colores verde, rosa, rojo y amarillo. Observe cómo el fragmento amino terminal de un monómero (rosa) se cruza con otro monómero (verde) para unirse a la primera parte del operador, mientras que el fragmento terminal del segundo monómero (verde) se cruza y se une a la segunda parte del operador. De esta forma, la hélice de reconocimiento de cada una de las dos subunidades se une a regiones consecutivas del mismo operador. (Cortesía de M. Lewis, Geoffrey Chang, N. C. Horton, M. A. Kercher, H. C. Pace, M. A. Schumacher, R. G. Brennan y P. Lu, University of Pennsylvania).

este fenómeno, algunos alelos especiales, pero aparentemente normales, llamados paramutables, sufren cambios irreversibles tras haber estado presentes en el mismo genoma que otra clase de alelos especiales, llamados paramutagénicos. El gen *B-I* del maíz determina una enzima de la ruta de síntesis de pigmentos tipo antocianina en varios tejidos de la planta. Normalmente, los alelos nulos *b* provocan la ausencia de estos pigmentos, y son

completamente recesivos respecto a *B-I*. Hay un alelo paramutagénico especial, llamado *B'*, que confiere capacidad para sintetizar una pequeña cantidad de pigmento antocianina. En el cruzamiento entre homocigotos *B-I* y *B'*, los heterocigotos resultantes están débilmente pigmentados, siendo por tanto indistinguibles de los homocigotos *B'*. Este resultado sugeriría que *B-I* es recesivo frente a *B'*. Si esta sencilla explicación fuera cierta, la autofe-

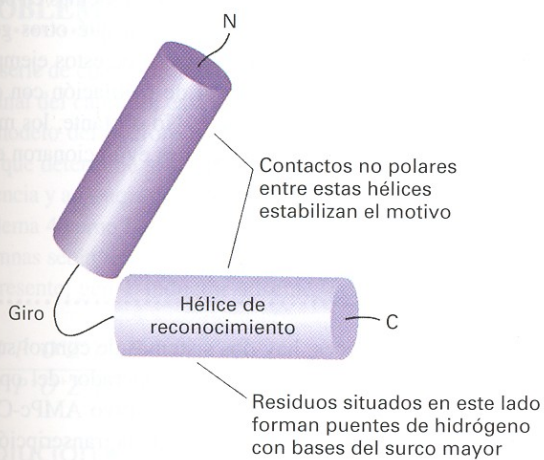


Figura 11-40. Motivo hélice-giro-hélice de las proteínas de unión a DNA. Cada monómero de estas proteínas diméricas contiene un motivo de este tipo. Las dos unidades están separadas por 34 Å, una vuelta de la hélice de DNA. (De L. Stryer, *Biochemistry*, 4.ª ed. Copyright © 1995 Lubert Stryer.)

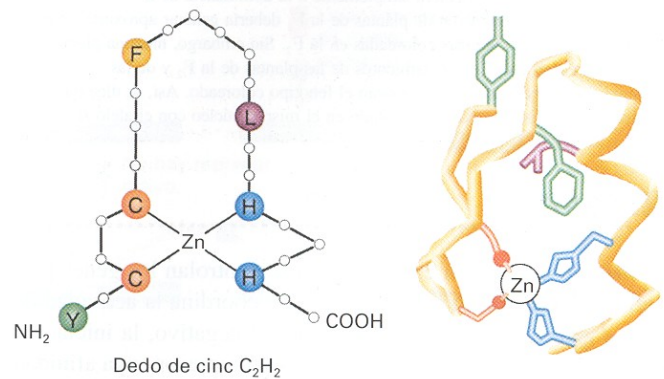


Figura 11-41. Modelo estructural del dominio de unión a DNA conocido como dedo de cinc. (De J. D. Watson, M. Gilman, J. Witkowski y M. Zoller, *Recombinant DNA*, 2.ª ed. Copyright © 1992 James D. Watson, Michael Gilman, Jan Witkowski y Mark Zoller.)

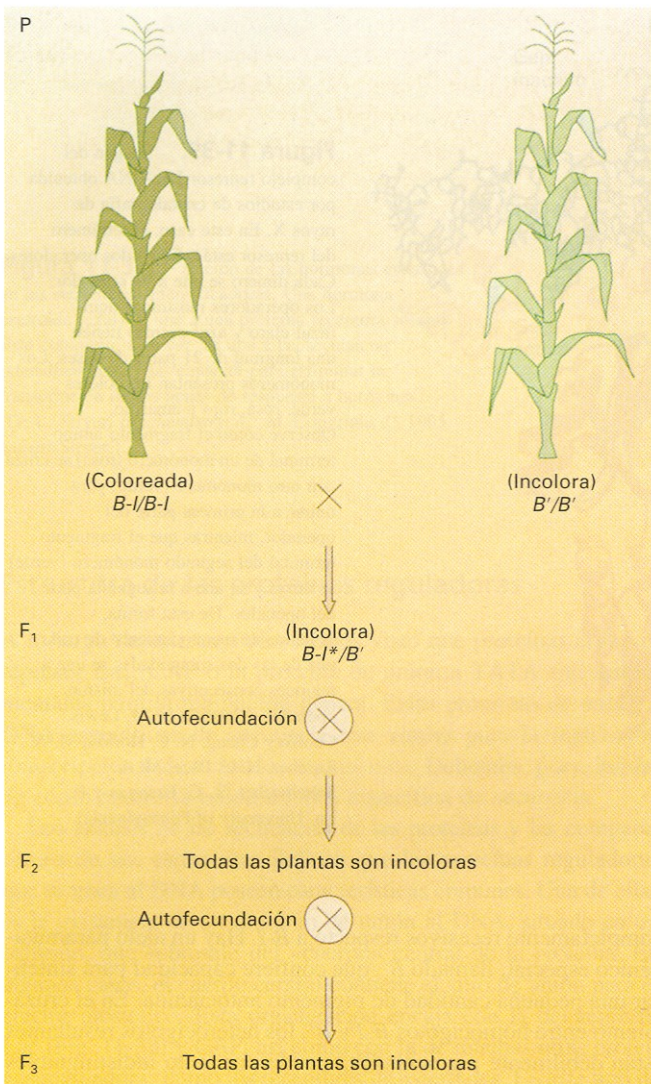


Figura 11-42. Serie de cruzamientos que demuestran la paramutación. La mutación $B-I$ da lugar a plantas pigmentadas, mientras que la mutación B' da lugar a plantas casi sin pigmento. Normalmente, cuando se cruza $B-I$ con plantas recesivas para el alelo b , que no produce color, las plantas resultantes son coloreadas. Sin embargo, cuando se cruzan entre sí plantas $B-I$ y B' , las plantas de la F_1 son prácticamente incoloras, como los homocigotos B' . Por tanto, el alelo $B-I$ ha sido alterado al estar en el mismo genoma que B' , lo que se indica con el símbolo $B-I^*$. Si esto se debiera simplemente a la dominancia de B' sobre $B-I$, la autofecundación de plantas de la F_1 debería generar aproximadamente $1/4$ de plantas homocigóticas coloreadas en la F_2 . Sin embargo, ninguna planta de la F_2 es coloreada. Los cruzamientos de las plantas de la F_2 y de las subsiguientes generaciones no restauran el fenotipo coloreado. Así, se dice que $B-I$ ha sido paramutado por haber estado en el mismo núcleo con el alelo B' .

RESUMEN

El modelo del operón explica cómo se controlan los genes procarionóticos mediante un mecanismo que coordina la actividad de varios genes relacionados. En el control negativo, la iniciación de la transcripción está controlada por un represor cuya afinidad de unión al operador puede ser alterada por moléculas inductoras. Para que se active la transcripción es preciso que se inactive el represor, es decir, el elemento de control negativo. En el control positivo, el inicio de la transcripción requiere la activación

de estas plantas heterocigóticas produciría plantas homocigóticas $B-I$. Sin embargo, en la próxima y en las siguientes generaciones sólo aparecen alelos B' , lo que indica que $B-I$ ha sido paramutado. De alguna forma, el alelo $B-I$ ha variado permanentemente su actividad, al haber estado expuesto (en el mismo genotipo) al alelo paramutagénico B' durante una sola generación.

Impronta parental

Otro ejemplo de herencia epigenética, descubierto hace unos 15 años en mamíferos, es la *impronta parental*, en la cual, ciertos genes autosómicos muestran sorprendentes patrones de herencia. Por ejemplo, el gen *Igf2* de ratón se expresa sólo si se hereda del padre. Se dice de él que sufre impronta materna, como si la copia del gen que deriva de la madre fuera inactiva. Al contrario, el gen *H19* de ratón sólo se expresa si proviene de la madre, por lo que se dice de él que sufre impronta paterna. La consecuencia de la impronta parental es que los genes correspondientes se expresan como si fueran hemicigóticos, incluso aunque haya dos copias de estos genes autosómicos en cada célula. Además, cuando estos genes se examinan a nivel molecular, no se observan cambios en sus secuencias de DNA. El único cambio que se aprecia es la presencia de grupos metilo ($-\text{CH}_3$) extra en ciertas bases del DNA de los genes sometidos a impronta. Algunas bases del DNA de la mayoría de los organismos superiores están metilados (*Drosophila* es una excepción). Estos grupos metilo se añaden y se eliminan enzimáticamente, mediante la acción de ciertas metilasas y demetilatasas. Normalmente, se observa una relación entre el nivel de metilación y la tasa de transcripción de un gen: los genes activos están menos metilados que los inactivos. Se desconoce, sin embargo, si es la alteración en el grado de metilación la que provoca los cambios epigenéticos o si los altos niveles de metilación aparecen como consecuencia de tales cambios.

¿Qué tienen en común estos ejemplos de herencia epigenética? El nexo principal es que, de alguna forma, un fragmento de un cromosoma es marcado como distinto de los demás en base a cuáles han sido sus antepasados o en base a qué otros genes estuvieron en el mismo genoma. En muchos de estos ejemplos, se han asociado diferencias en el nivel de metilación con diferencias en el nivel de expresión génica. No obstante, los mecanismos básicos y las razones por las cuales evolucionaron estos sistemas siguen siendo un misterio.

de un factor. Algunas veces, hay dos sistemas de control superpuestos. Por ejemplo, el sistema represor-operador del operón *lac* está supeditado al sistema de control positivo AMPc-CAP.

Un problema fundamental en el control de la transcripción de los eucariotas es entender cómo se regulan decenas o cientos de miles de promotores para producir los niveles adecuados de mRNA. Se sabe ahora que los promotores están controlados por el número y el tipo de los elementos próximos al promotor

y de los intensificadores, y por la acción de proteínas reguladoras que reconocen dichos elementos. En algunos aspectos, el control transcripcional en los eucariotas es parecido al que se produce en los procariotas, en el sentido de que, en ambos casos, factores que actúan en *trans* reconocen sitios que actúan en

cis. No obstante, por encima de esta semejanza, hay diferencias derivadas de la naturaleza de las formas de vida unicelulares frente a las multicelulares, como pueden ser las relacionadas con la coordinación de las funciones génicas en tejidos diferentes.

MAPA DE CONCEPTOS

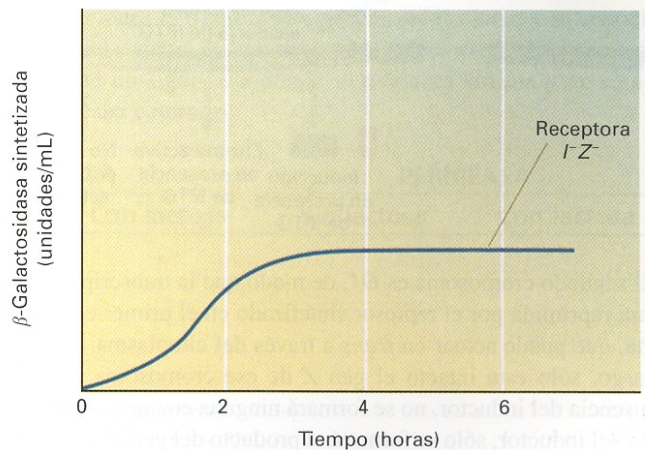
Trace un mapa de conceptos, estableciendo tantas relaciones como le sea posible entre los términos siguientes. Observe que la lista de términos no sigue un orden concreto.

ambiente / promotor / operador / gen / operón /
 polimerasa de RNA / mRNA / intensificador / factores *trans* /
 regulación

PROBLEMA DE INTEGRACIÓN DE CAPÍTULO

En el Capítulo 7 aprendimos cómo una estirpe Hfr transfiere a una estirpe receptora un segmento del cromosoma, que se rompe entonces y permanece durante un cierto tiempo en el citoplasma de la célula como un fragmento de DNA. Antes de que se dispusiera de plásmidos F', Jacob, Monod y su colaborador Arthur Pardee aprovecharon las propiedades de la transferencia Hfr para crear diploides parciales temporales de la región *lac*, ya que la estirpe Hfr con la que trabajaban donaba la región *lac* de forma temprana durante la transferencia resultante de la conjugación. Durante varias horas, la región *lac* del fragmento cromosómico se convertía en una segunda copia de la región *lac* en la estirpe receptora. Estos investigadores utilizaron una estirpe Hfr que transfería una región $I^+ Z^+$ a una estirpe receptora que era $I^- Z^-$, y estudiaron la expresión de β -galactosidasa a lo largo del tiempo. La gráfica muestra el resultado de su experimento. Observaron un aumento rápido de la síntesis de β -galactosidasa seguido de represión. ¿Puede ofrecer una explicación a estos resultados?

β -galactosidasa tiene lugar inicialmente al máximo nivel. Sin embargo, el gen I^+ recién introducido determina la síntesis de represor; tras un cierto tiempo, se obtiene suficiente cantidad de represor en el citoplasma de la célula receptora como para bloquear la síntesis de β -galactosidasa, lo cual explica por qué la curva se estabiliza a las dos horas del comienzo del experimento.



◆ Solución ◆

Cuando los genes $I^+ Z^+$ se introducen en la célula receptora, no hay represor en su citoplasma, de modo que la síntesis de

PROBLEMAS RESUELTOS

Esta serie de cuatro problemas resueltos, similares al problema 4 del final del capítulo, está diseñada para probar su comprensión del modelo del operón. Se le presentan varios diploides y se le pide que determine si los productos génicos *Z* e *Y* se forman en presencia y ausencia del inductor. Utilice una tabla similar a la del problema 4 como base para sus respuestas, pero los títulos de las columnas serán (en orden): gen *Z*-inductor ausente; gen *Z*-inductor presente; gen *Y*-inductor ausente; gen *Y*-inductor presente.

$$1. \frac{I^- P^- O^c Z^+ Y^+}{I^+ P^+ O^+ Z^- Y^-}$$

◆ Solución ◆

Una aproximación a estos problemas es considerar primero cada cromosoma por separado y dibujar entonces un esquema. La siguiente ilustración muestra un esquema del diploide:

