

Regulación de la síntesis de proteínas

Control negativo

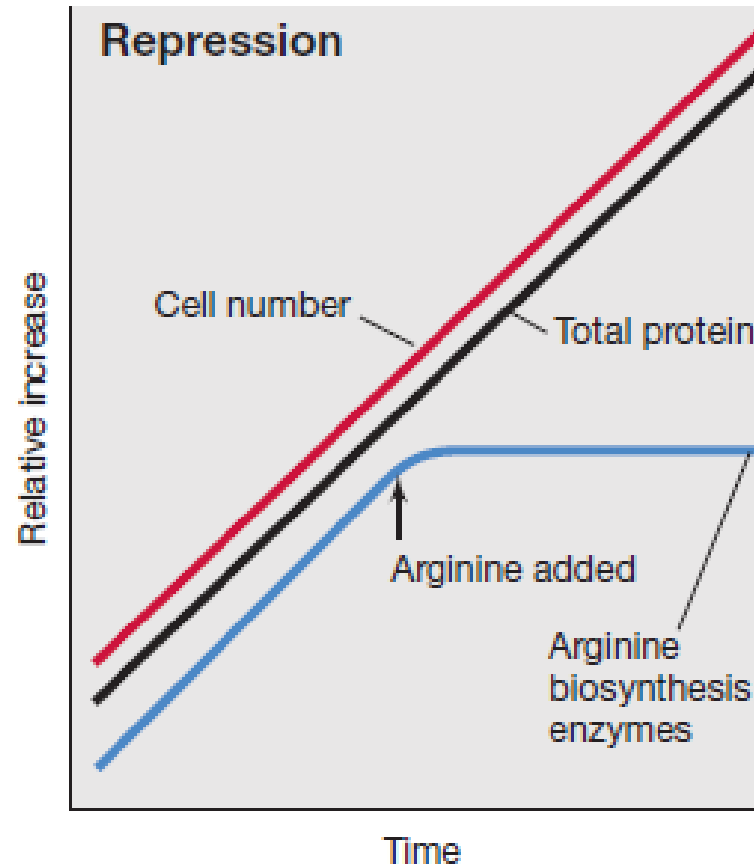
I. Represión enzimática

Asegura que el microorganismo no desperdicie energía sintetizando innecesariamente la enzima

Las enzimas que catalizan la síntesis de un producto específico no se sintetizan si este producto está presente en el medio

Ej.: Enzimas que participan en la formación de aminoácidos arginina sólo se sintetiza cuando no hay arginina en el medio de cultivo

Enzyme Repression

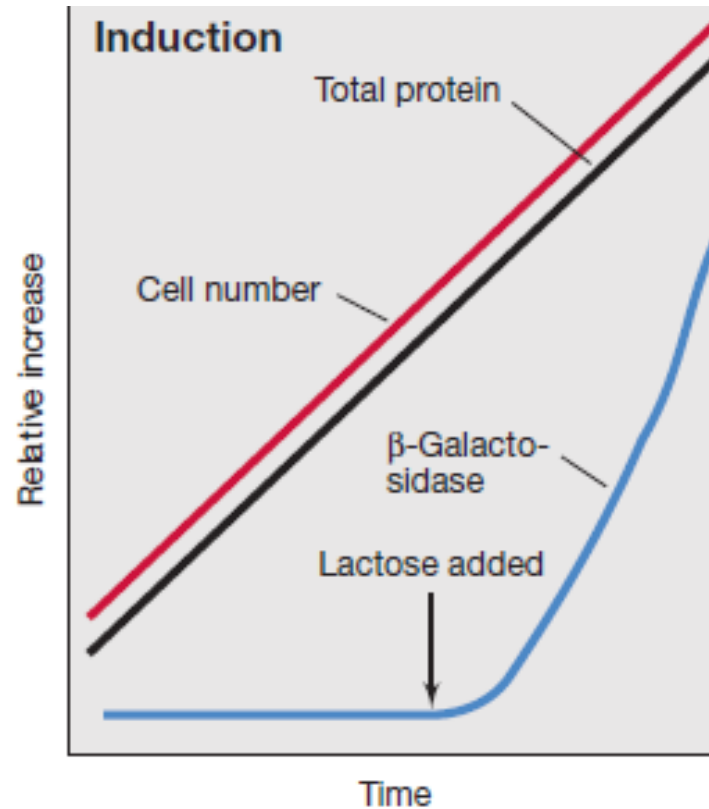


Enzyme repression. In a growing bacterial culture, the addition of arginine to the medium specifically represses production of enzymes needed to make arginine. Net protein synthesis is unaffected.

II. Inducción enzimática

- Síntesis de una enzima sólo cuando está presente un sustrato. Ej. Enzima β -galactosidasa
- Si la lactosa está ausente en el medio, la enzima no se sintetiza; pero empieza a sintetizarse casi inmediatamente si se agrega lactosa
- La sustancia que inicia la inducción enzimática recibe el nombre de inductor y la que reprime la producción de la enzima se denomina corepresor

Enzyme Induction

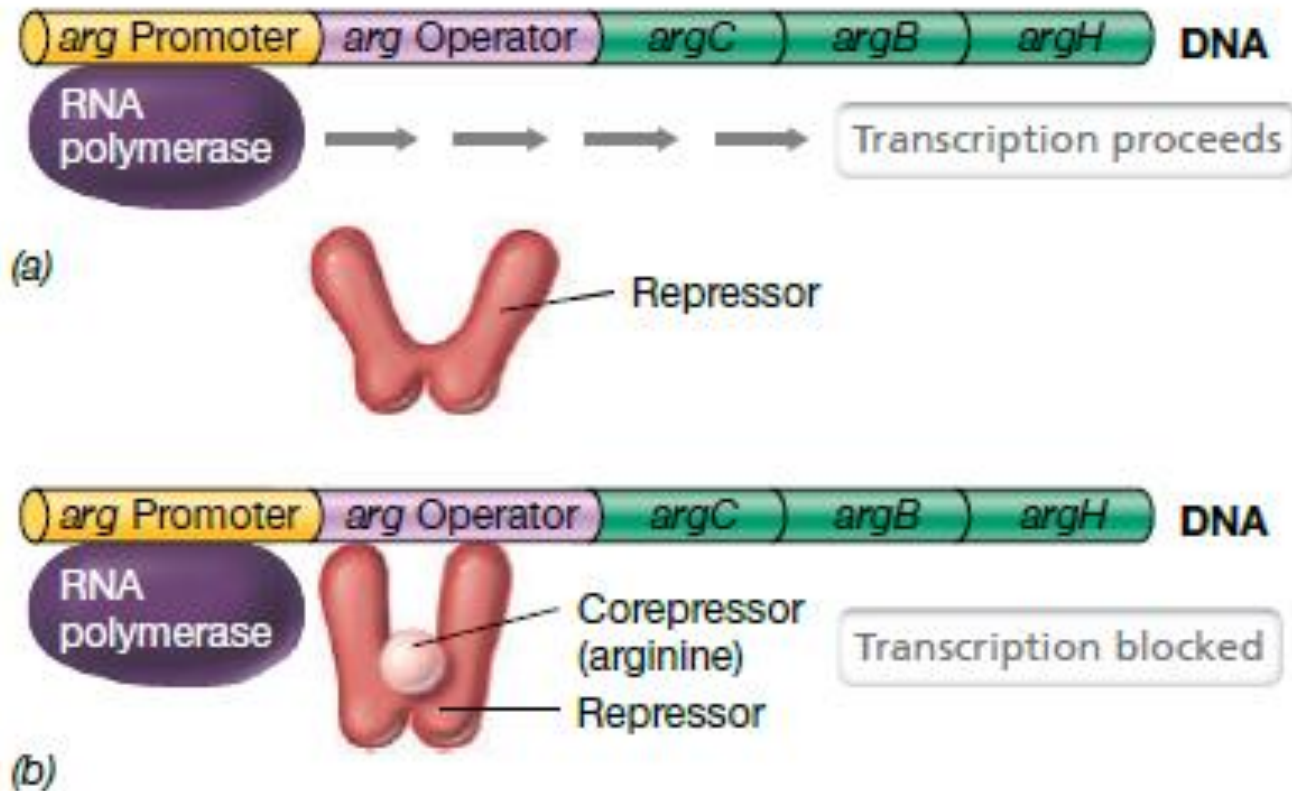


Enzyme induction. In a growing bacterial culture, the addition of lactose to the medium specifically induces synthesis of the enzyme β -galactosidase. Net protein synthesis is unaffected.

Mecanismo de inducción y represión

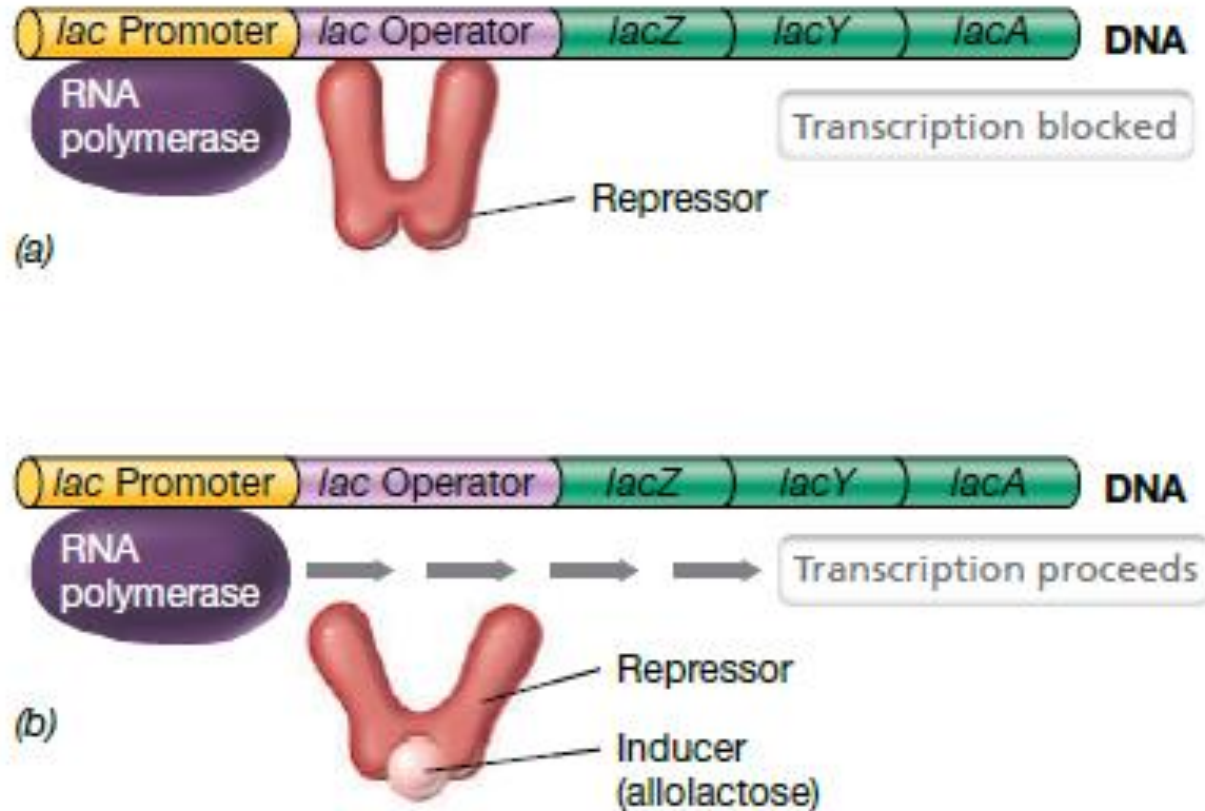
- La represión o la inducción enzimática actúan a nivel de la transcripción; la síntesis de enzimas está controlada por la producción de RNAm
- Cuando se añade una sustancia (correpresor), que causa la represión de la enzima, produce la inhibición de la formación de RNAm.
- Cuando un inductor se añade, se inicia la síntesis de RNAm que codifica para la enzima en particular

Represión



Enzyme repression in the arginine operon. (a) The operon is transcribed because the repressor is unable to bind to the operator. (b) After a corepressor (small molecule) binds to the repressor, the repressor binds to the operator and blocks transcription; mRNA and the proteins it encodes are not made. For the *argCBH* operon, the amino acid arginine is the corepressor that binds to the arginine repressor.

Inducción



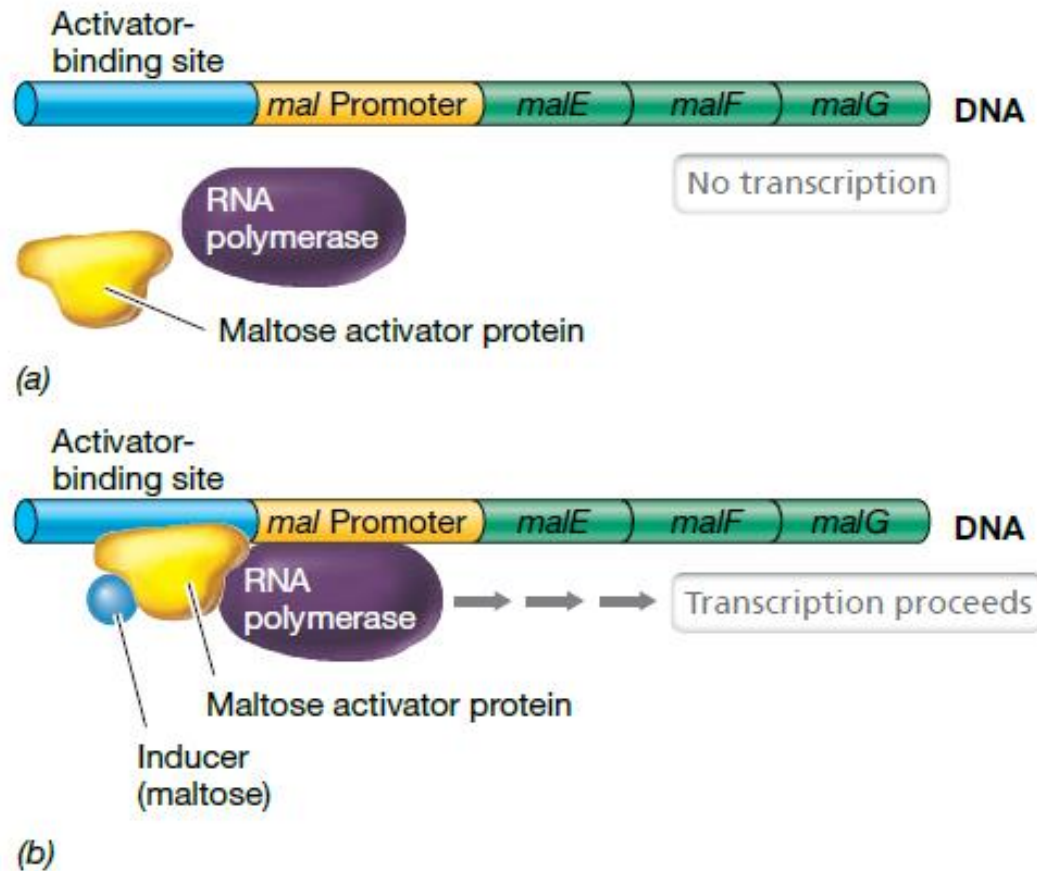
Enzyme induction in the lactose operon. (a) A repressor protein bound to the operator blocks the binding of RNA polymerase. (b) An inducer molecule binds to the repressor and inactivates it so that it no longer can bind to the operator. RNA polymerase then transcribes the DNA and makes an mRNA for that operon. For the *lac* operon, the sugar allolactose is the inducer that binds to the lactose repressor

La inducción y represión tienen el mismo mecanismo: la inhibición de la síntesis de RNAm, mediante la acción de enzimas represoras específicas

Control positivo

- La inducción y la represión constituyen una clase de regulación llamada control negativo. El elemento controlador, la proteína represora, lleva a cabo la represión de la síntesis de RNAm
- En el control positivo, una proteína reguladora promueve la asociación de la RNA polimerasa, actuando así para incrementar la síntesis de RNAm. Un buen ejemplo de regulación positiva es el catabolismo del disacárido maltosa en *E. coli*.

Control positivo de la inducción enzimática en el operón maltosa

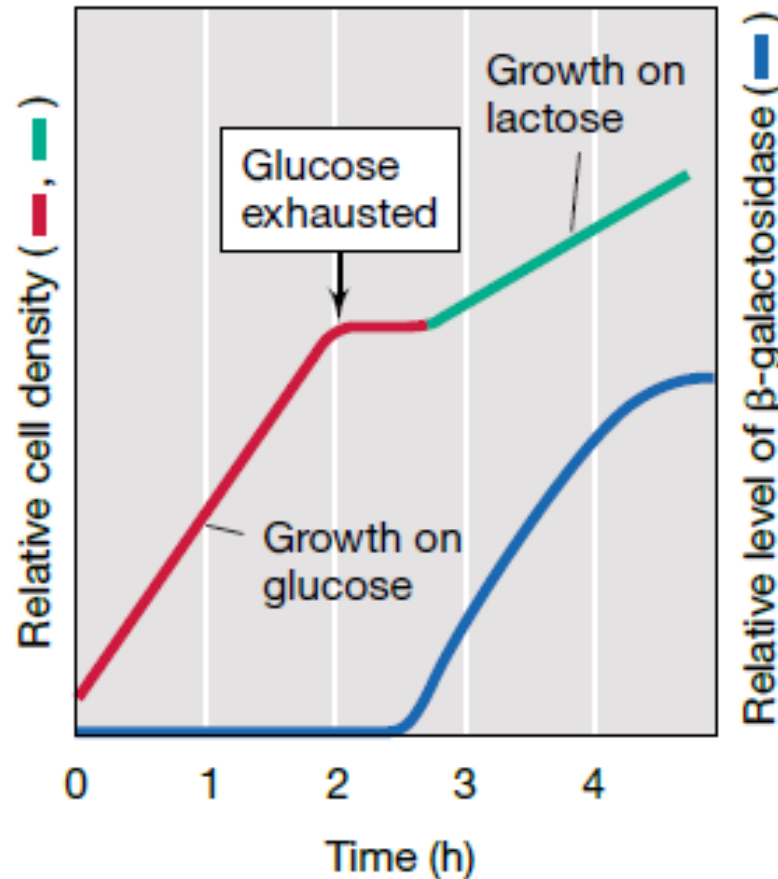


(a) In the absence of an inducer, neither the activator protein nor the RNA polymerase can bind to the DNA. (b) An inducer molecule (for the *malEFG* operon it is the sugar maltose) binds to the activator protein (MalT), which in turn binds to the activator-binding site. This recruits RNA polymerase to bind to the promoter and begin transcription.

Represión por catabolitos

- La represión por el catabolito tiene lugar cuando al organismo se le proporciona una fuente de energía que puede catabolizar más fácilmente.
- Una consecuencia de la represión por catabolito es que da lugar al crecimiento diáuxico, si dos fuentes de energía están presentes en el medio al mismo tiempo, y si la enzima necesaria para la utilización de una de las fuentes de energía es objeto de represión por catabolito.

Crecimiento diáuxico

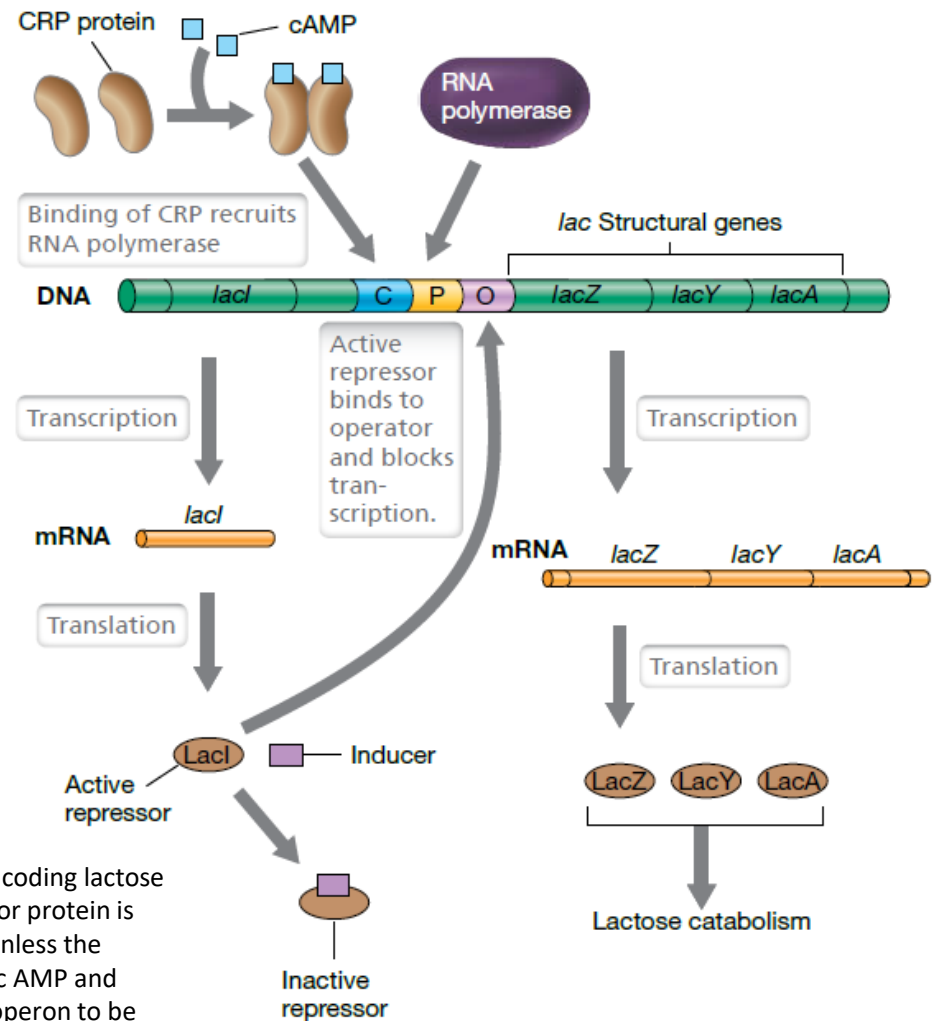


Diauxic growth of *Escherichia coli* on a mixture of glucose and lactose. The presence of glucose represses the synthesis of β -galactosidase, the enzyme that cleaves lactose into glucose and galactose. After glucose is depleted, there is a lag during which β -galactosidase is synthesized. Growth then resumes on lactose but at a slower rate, as indicated by the green line.

Cómo trabaja la represión por catabolito?

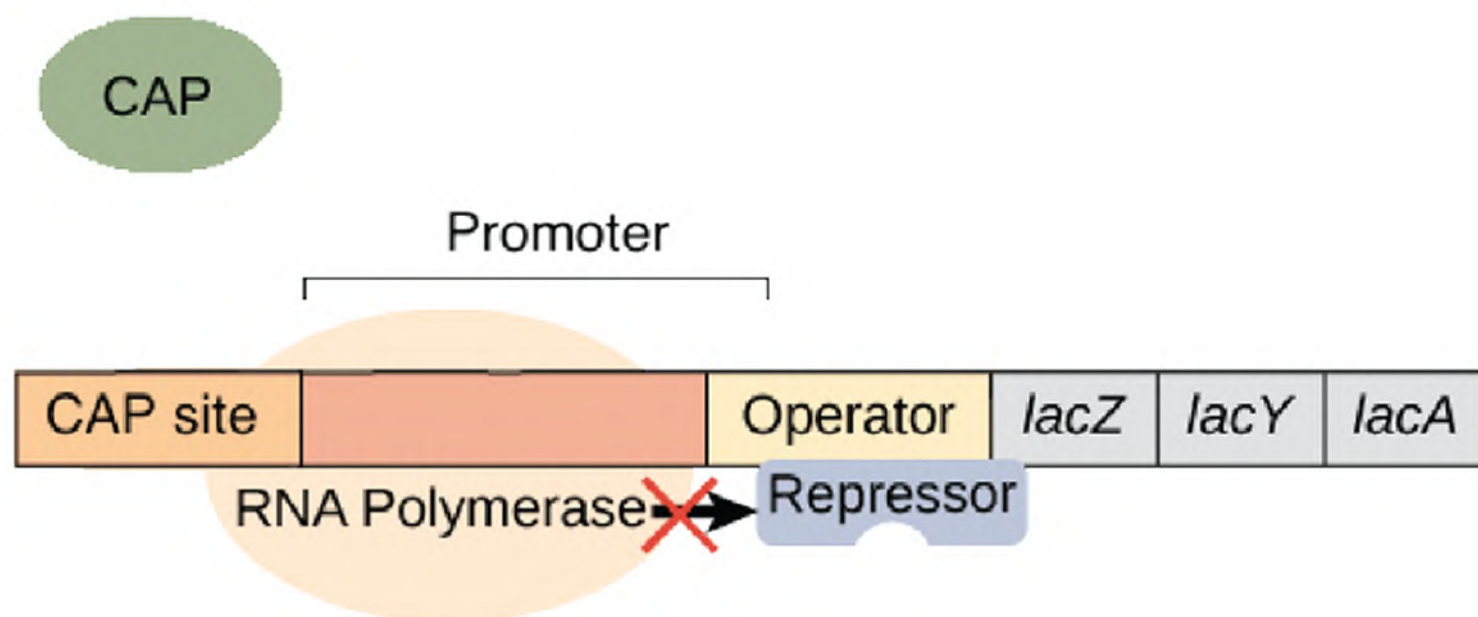
- La represión por catabolitos participa en el control de la transcripción a nivel de la RNA polimerasa
- En las enzimas repressibles por catabolito, la unión de la polimerasa parece que sólo tiene lugar si se ha unido otra proteína llamada proteína activadora por catabolitos (CAP). La proteína alostérica CAP sólo se une si primero hay un enlace con una sustancia de pequeño peso molecular llamada AMP cíclico.

Overall regulation of the lac system

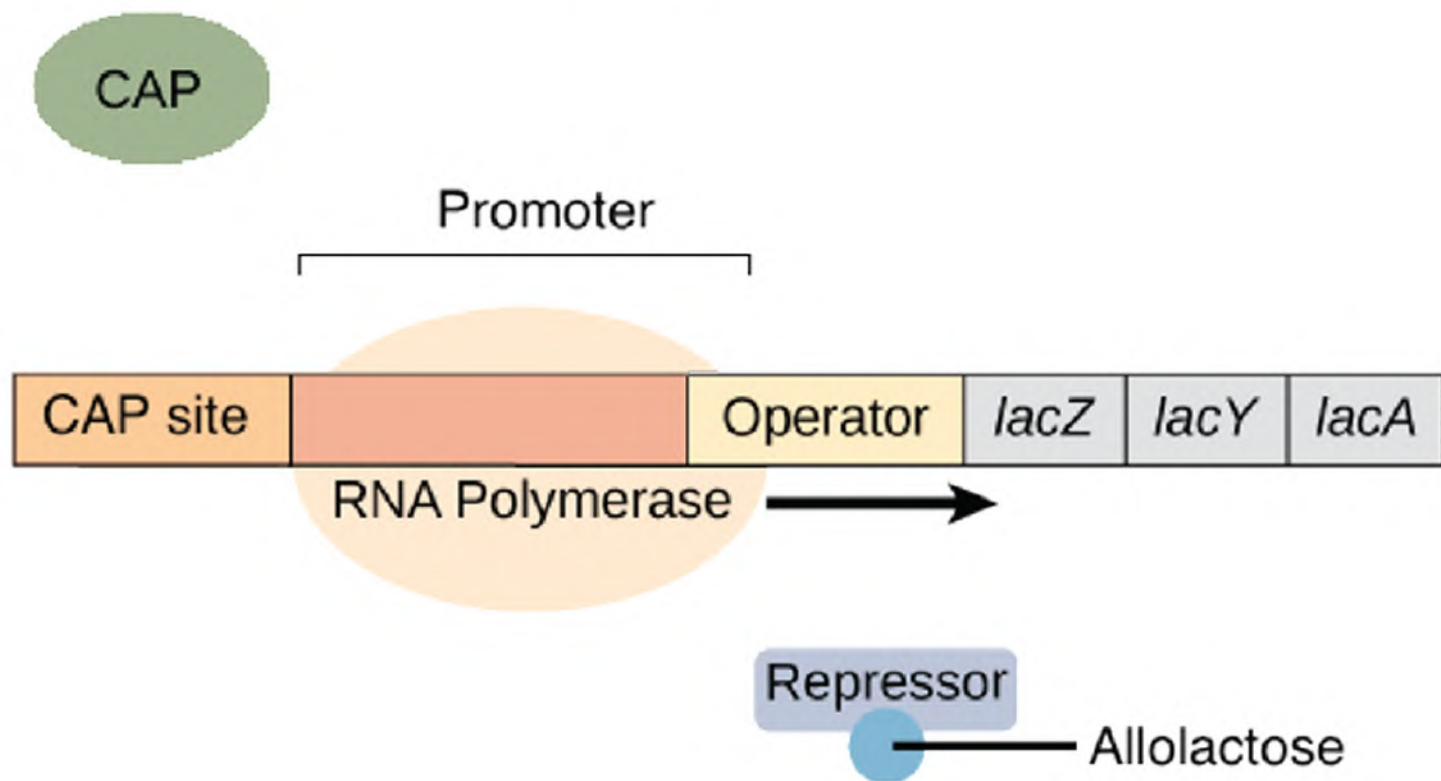


The *lac* operon consists of *lacZ*, encoding β -galactosidase, *lacY*, encoding lactose permease, and *lacA*, encoding lactose acetylase. The LacI repressor protein is encoded by a separate gene, *lacI*. LacI binds to the operator (O) unless the inducer is present. CRP binds to the C site when activated by cyclic AMP and recruits RNA polymerase to bind to the promoter (P). For the *lac* operon to be transcribed by RNA polymerase, the LacI repressor must be absent (that is, inducer must be present) and cyclic AMP levels must be high (due to the absence of glucose), allowing CRP to bind.

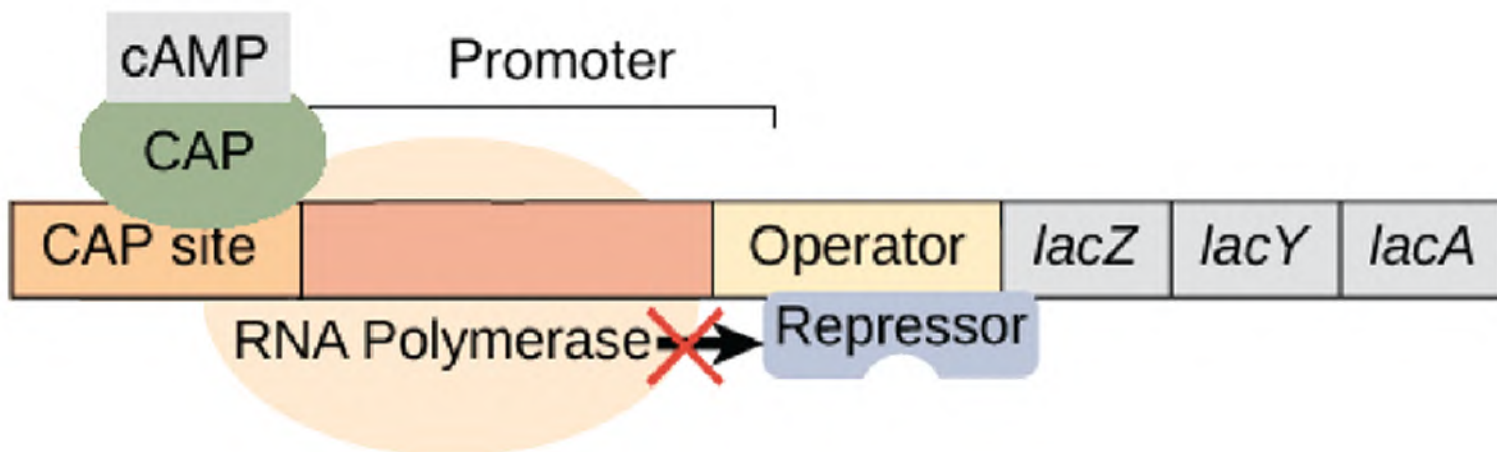
Glucose present, lactose absent:



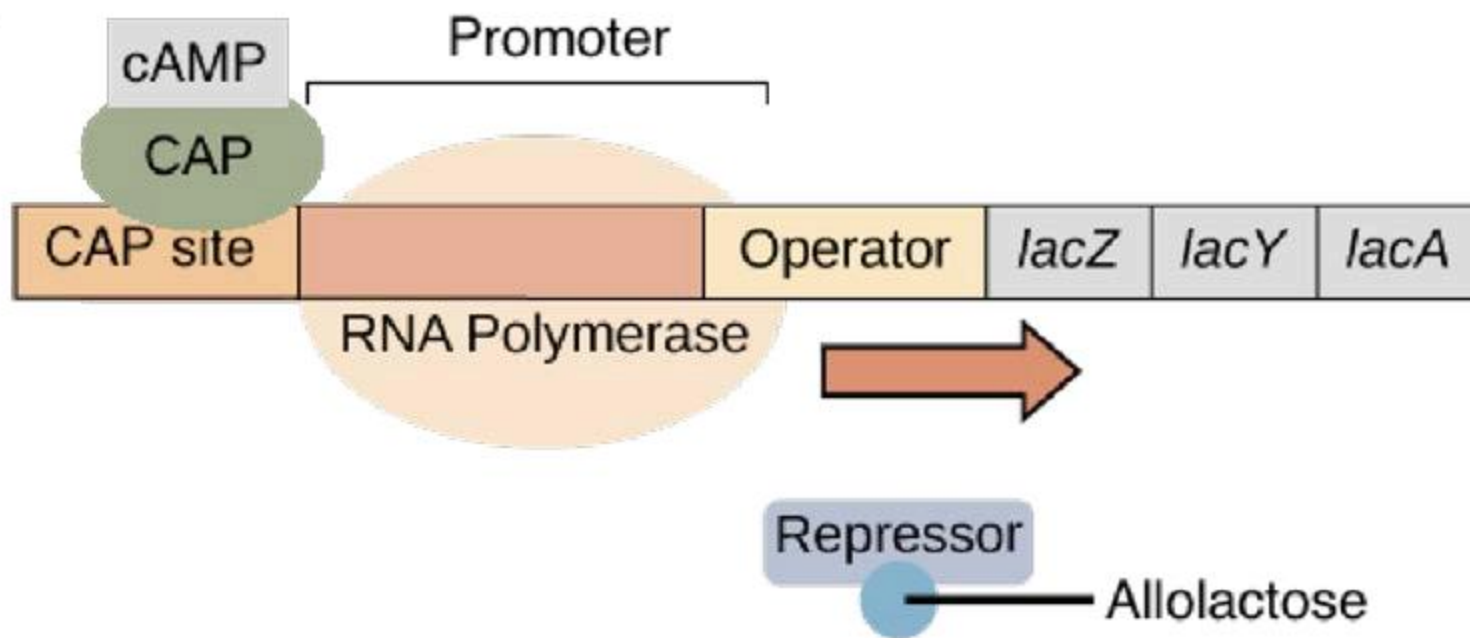
Glucose present, lactose present:



Glucose absent, lactose absent:



Glucose absent, lactose present:



Resumen de las respuestas del operón lac

Glucosa	Lactosa	CAP se une	El represor se une	Nivel de transcripción
+	-	-	+	Sin transcripción
+	+	-	-	Transcripción de bajo nivel
-	-	+	+	Sin transcripción
-	+	+	-	Transcripción fuerte

Catabolite repression

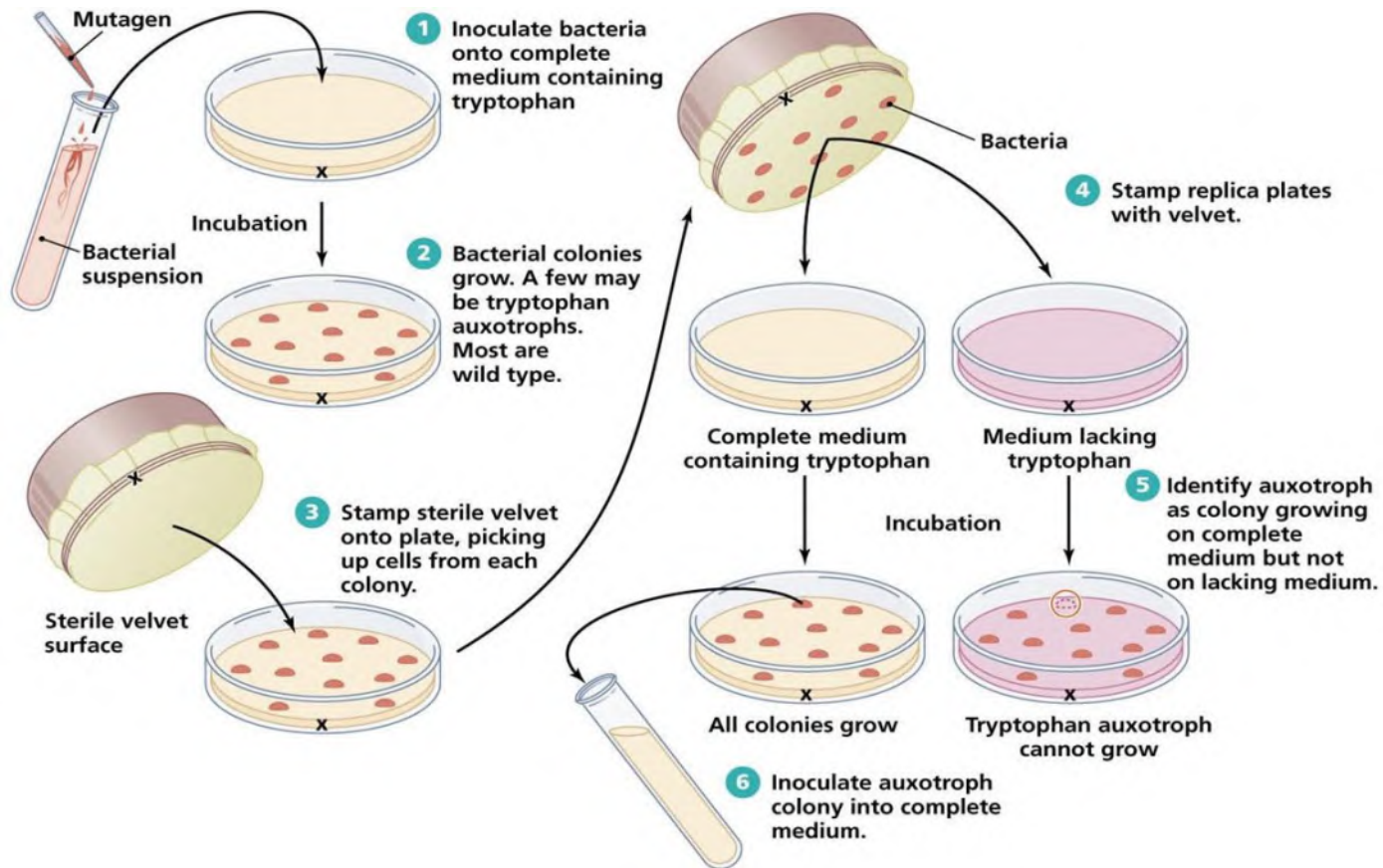
- Catabolite activator protein (CAP), which is also called cyclic AMP receptor protein (CRP).
- Catabolite activator protein (CAP) assists binding of RNA polymerase to promoter
- CAP can bind only when it first binds cAMP
- Adenylate cyclase: $\text{ATP} \rightarrow \text{cAMP} + \text{pyrophosphate}$
- Glucose inhibits adenylate cyclase

Mutación

- Es el cambio en la secuencia de bases de los ácidos nucleicos que constituye el genoma de un individuo
- Una cepa que experimenta una mutación se le conoce como mutante. Un mutante difiere de su progenitor en el genotipo, su fenotipo también se puede alterar
- Cepa salvaje o silvestre.- Cepa aislada en la naturaleza
- Mutations may be neutral, beneficial, or harmful

- Dependiendo de la mutación, un mutante puede o no presentar un fenotipo alterado respecto al de sus progenitores
- Por convención: Gen *hisA* de *E. coli*; sus mutaciones: *hisA1*, *hisA2*, ... → genotipo
- Fenotipo: His⁺, His⁻
- Auxótrofo.- Mutante nutricional que tiene un requerimiento para un factor de crecimiento
- Protótrofo.- Cepa parental del cual se originó el auxótrofo

Detección de mutantes nutricionales



Replica plating

Bases moleculares de la mutación

- Las mutaciones pueden ser espontáneas o inducidas. Las mutaciones espontáneas son aquellas que ocurren sin intervención externa y la mayoría resultan de errores ocasionales durante la replicación del DNA.
- Las mutaciones inducidas, por el contrario, son las causadas por agentes en el medio ambiente e incluyen mutaciones hechas deliberadamente por humanos. Las mutaciones inducidas pueden resultar de la exposición a radiación natural (rayos cósmicos, etc.) que altera la estructura de las bases en el DNA, o de una variedad de productos químicos que modifican químicamente el DNA

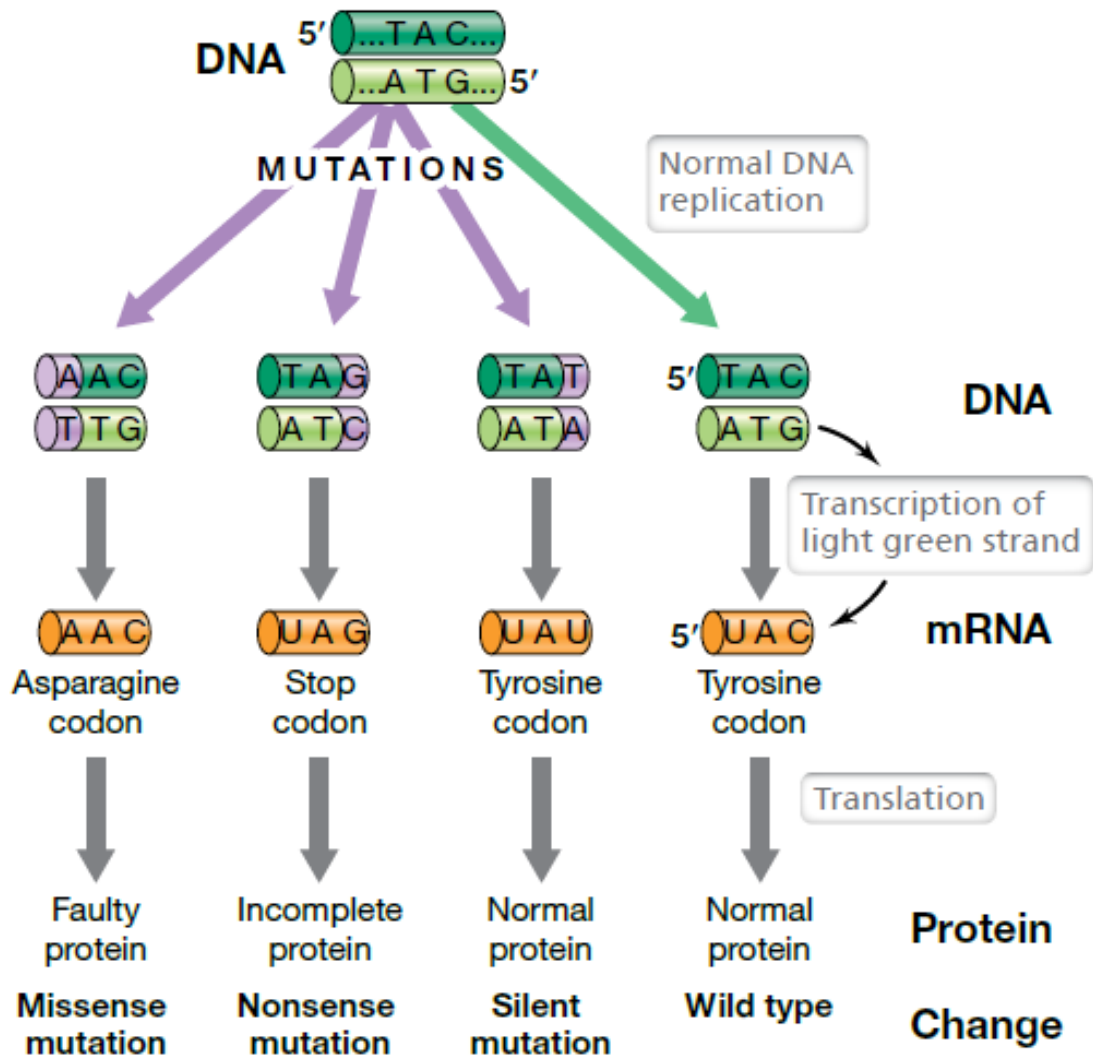
Mutaciones puntuales

- Mutaciones que solo cambian un par de bases
- La mayoría de las mutaciones puntuales realmente no causan ningún cambio fenotípico.

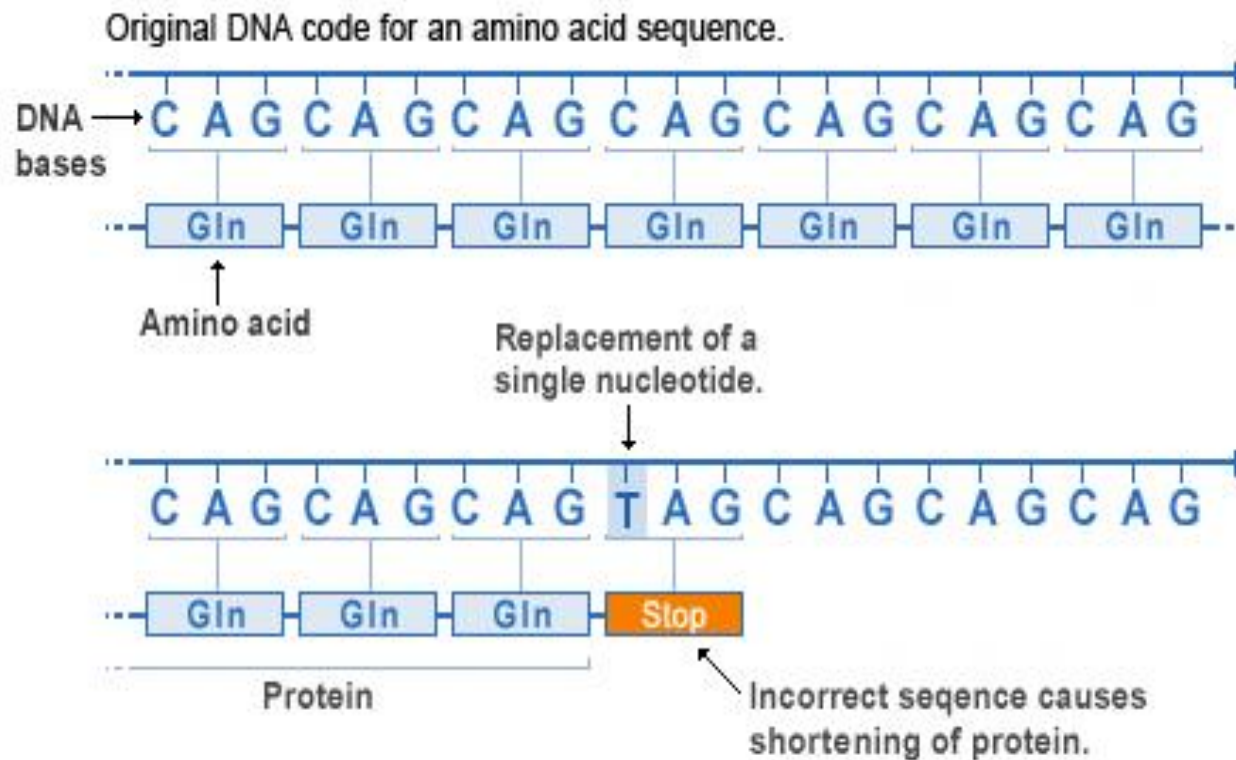
Consecuencias:

- Mutaciones silenciosas
- Mutaciones sin sentido (non sense)
- Mutaciones contrasentido (missense)

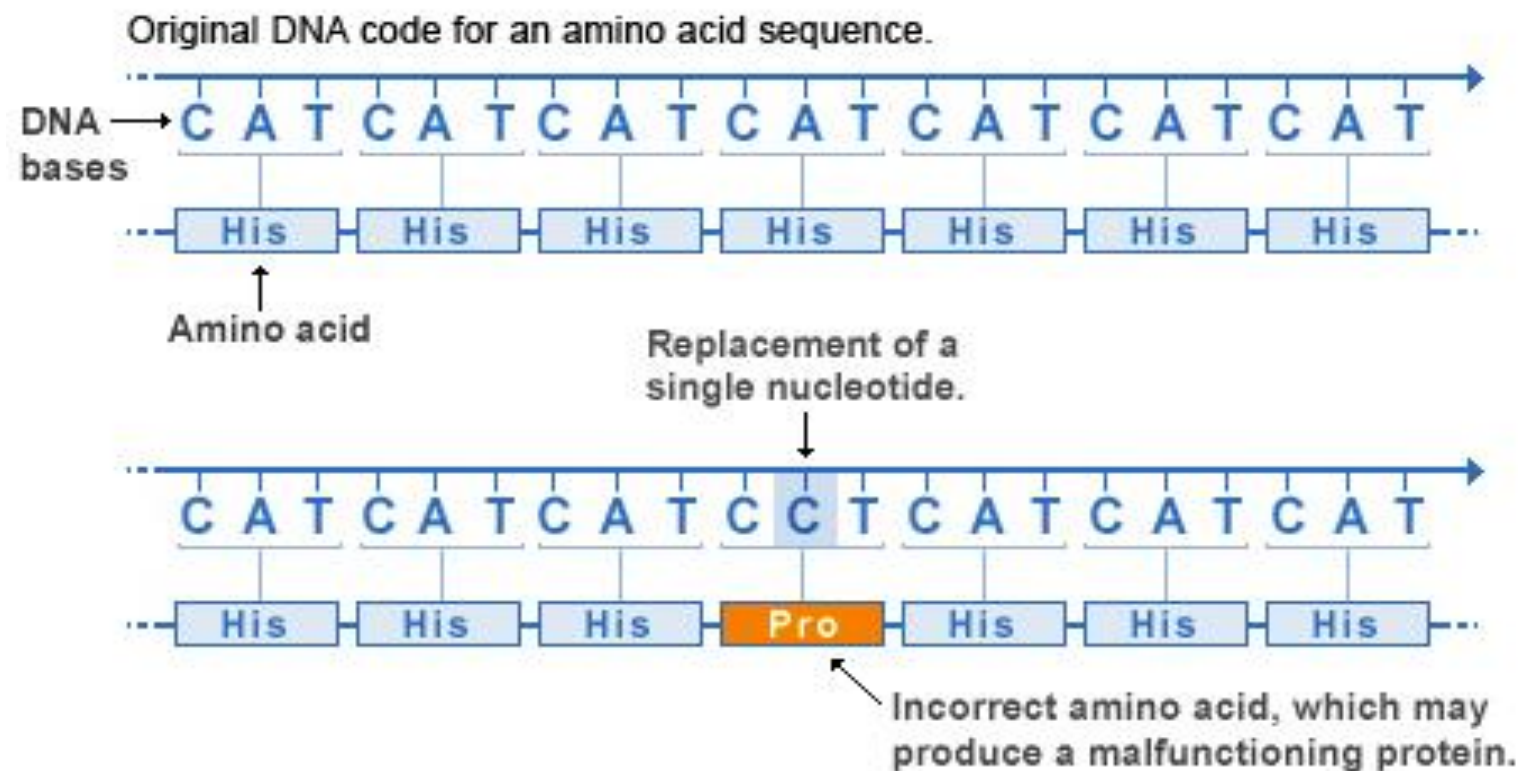
Point mutations



Nonsense mutation



Missense mutation

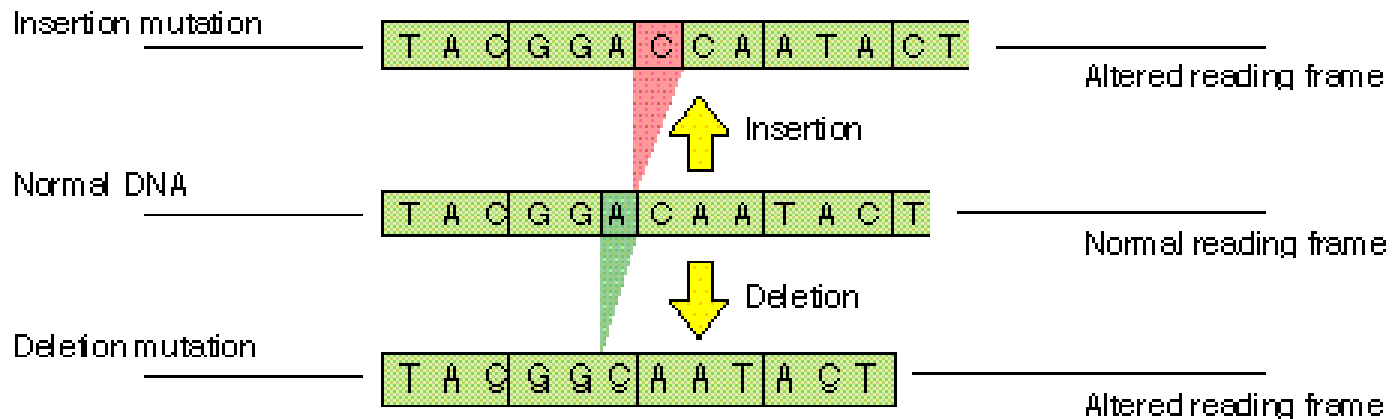


Desplazamiento del marco de lectura: Omisiones e inserciones

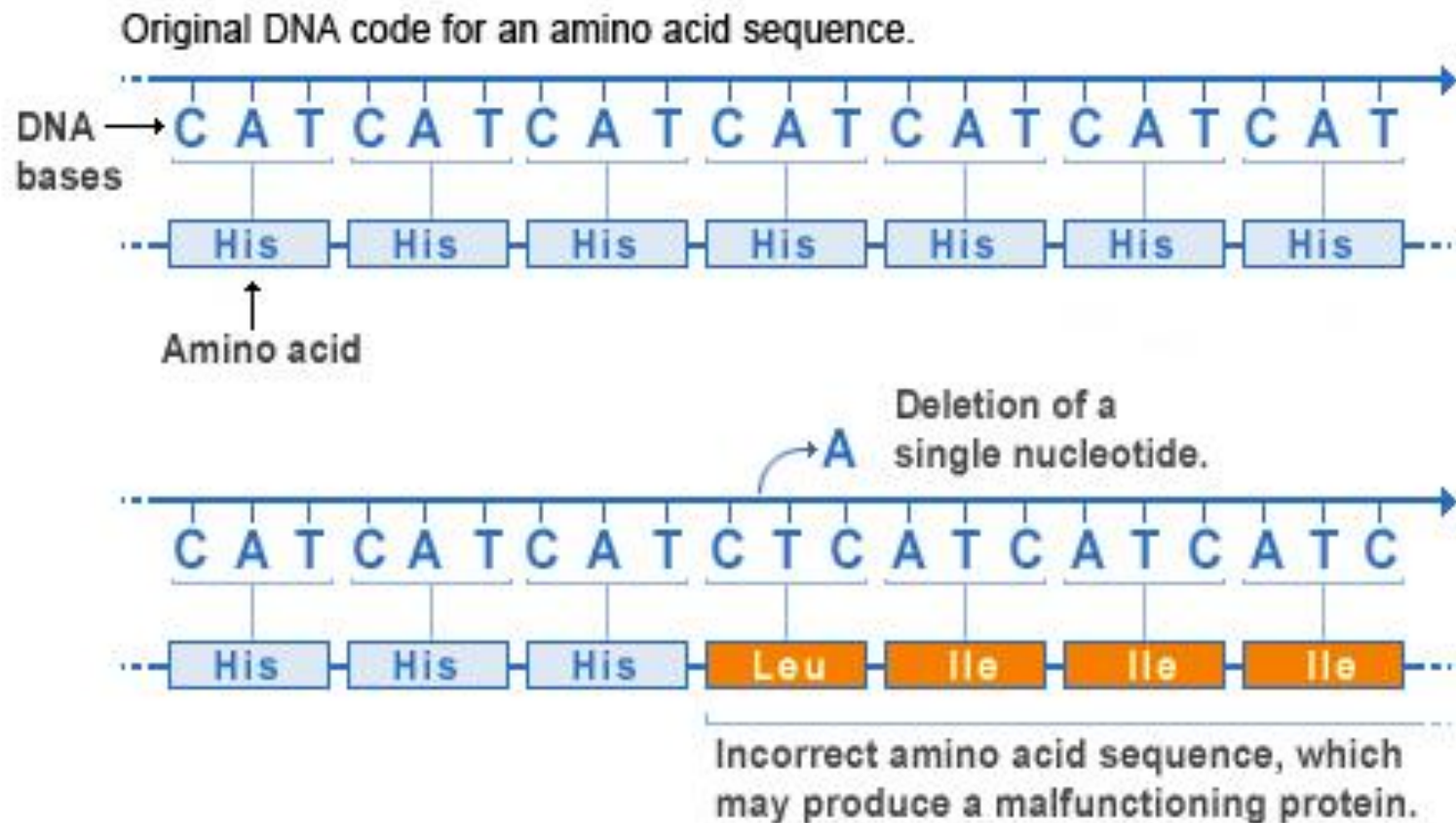
- Cualquier omisión o inserción de una base da como resultado un desplazamiento del marco de lectura y la traducción del gen se trastorna totalmente
- Las omisiones se deben a la eliminación de porciones del DNA de un gen. Una omisión puede ser tan simple como la eliminación de una sola de las bases o puede implicar a cientos de éstos.

- Las inserciones tienen lugar cuando se agregan nuevas bases al DNA del gen. Las inserciones pueden implicar a una sola base o a muchas bases
- Muchas mutaciones de inserción se deben a la inserción de secuencias de DNA identificables específicas de 700 a 1400 bases de longitud llamadas secuencias de inserción o elementos de inserción

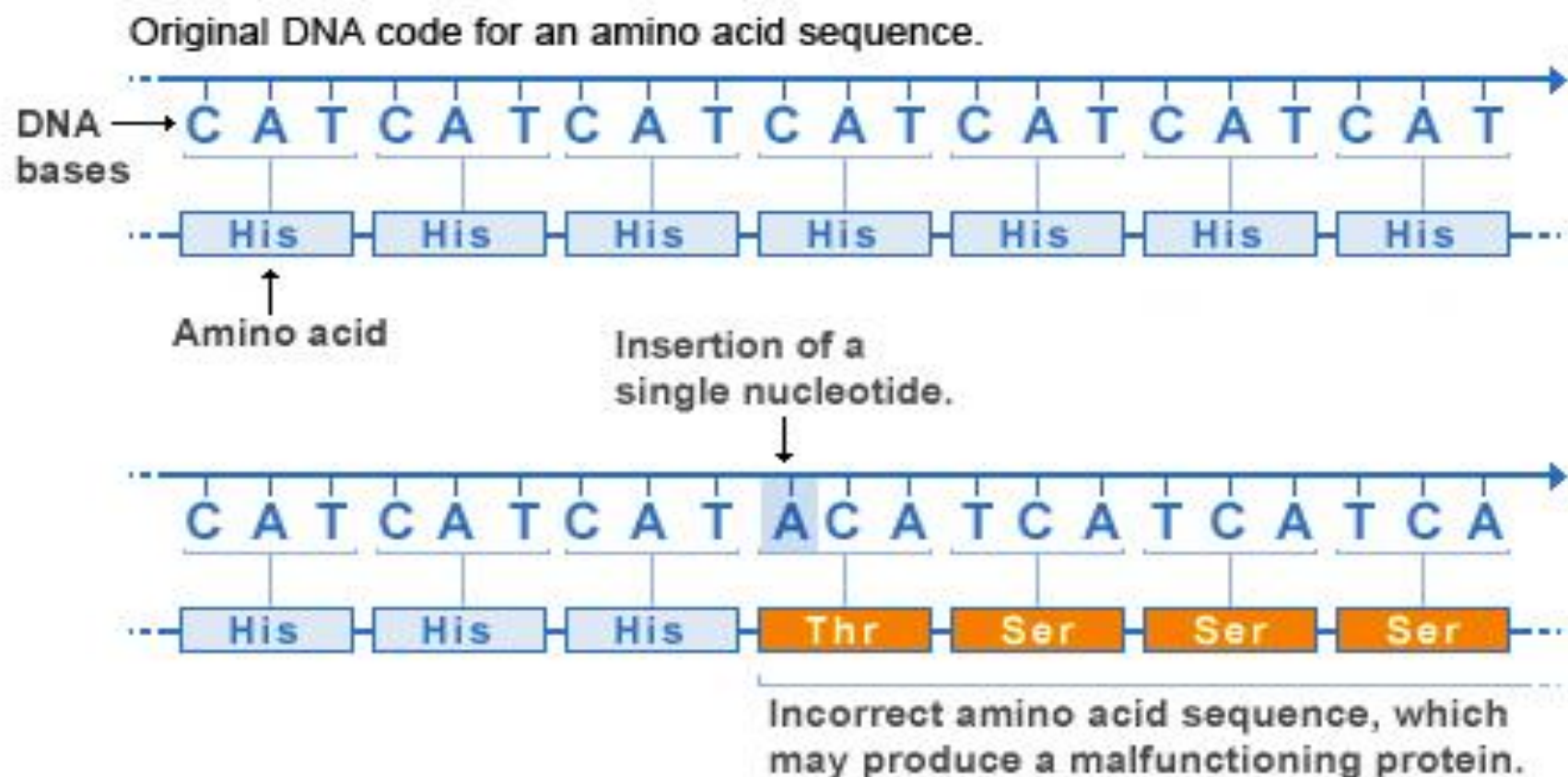
Omisiones e inserciones



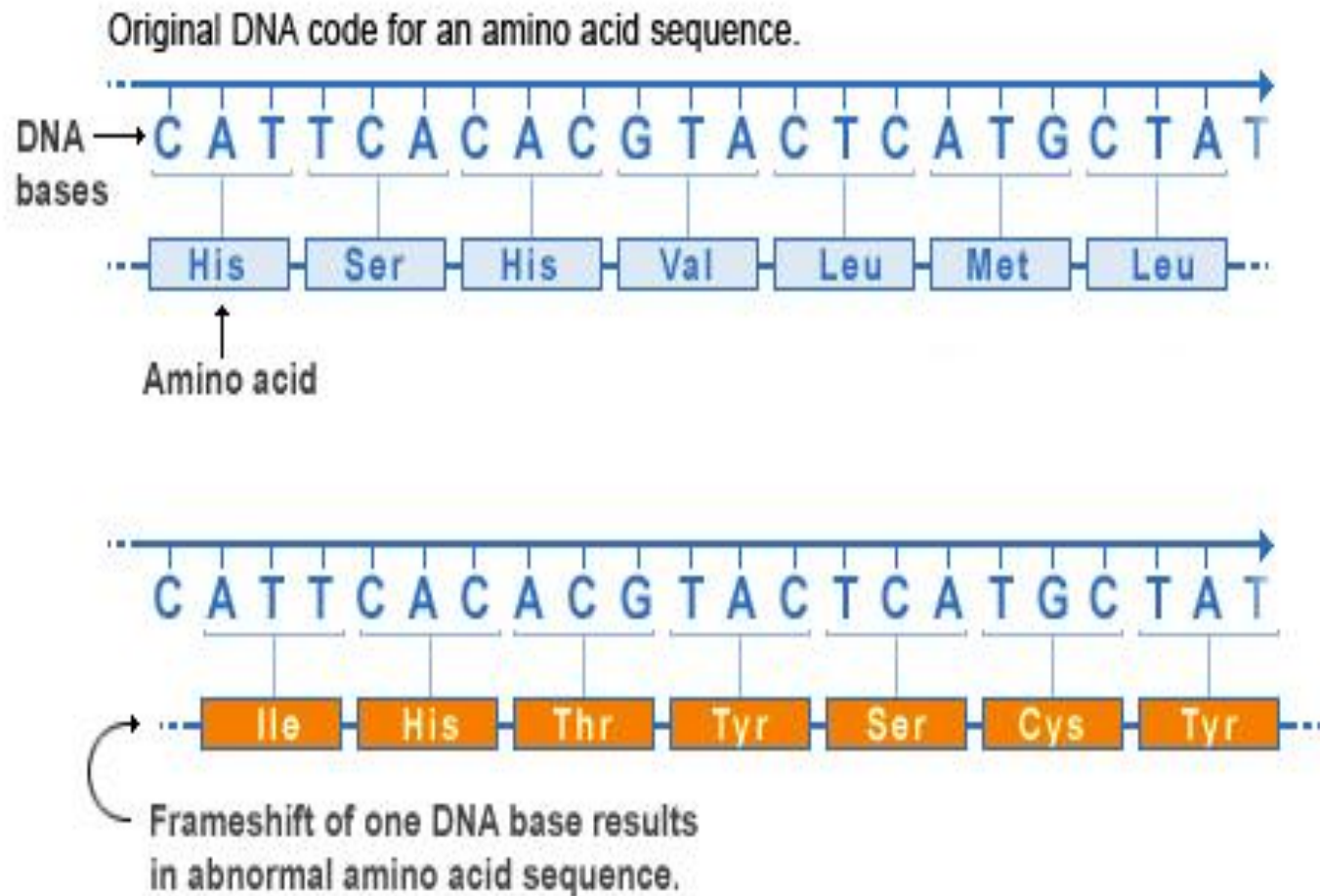
Deletion mutation



Insertion mutation



Frameshift mutation



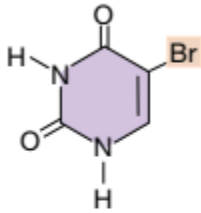
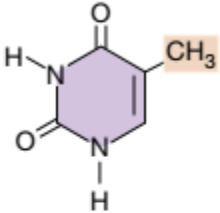
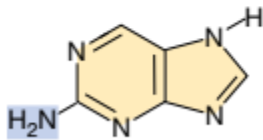
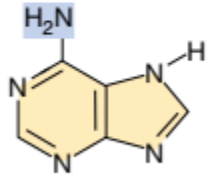
Mutagénesis

- La tasa de mutación espontánea es muy baja, pero una variedad de agentes químicos, físicos y biológicos pueden aumentarla y por tanto, se dice que inducen mutaciones.
- Estos agentes son llamados mutágenos
- Mutagen: Agent that causes mutations
- Spontaneous mutations: Occur in the absence of a mutagen

Chemical and physical mutagens and their modes of action

<i>Agent</i>	<i>Action</i>	<i>Result</i>
<i>Base analogs</i>		
5-Bromouracil	Incorporated like T; occasional faulty pairing with G	AT → GC and occasionally GC → AT
2-Aminopurine	Incorporated like A; faulty pairing with C	AT → GC and occasionally GC → AT
<i>Chemicals reacting with DNA</i>		
Nitrous acid (HNO ₂)	Deaminates A and C	AT → GC and GC → AT
Hydroxylamine (NH ₂ OH)	Reacts with C	GC → AT
<i>Alkylating agents</i>		
Monofunctional (for example, ethyl methanesulfonate)	Puts methyl on G; faulty pairing with T	GC → AT
Bifunctional (for example, mitomycin, nitrogen mustards, nitrosoguanidine)	Cross-links DNA strands; faulty region excised by DNase	Both point mutations and deletions
<i>Intercalating agents</i>		
Acridines, ethidium bromide	Inserts between two base pairs	Microinsertions and microdeletions
<i>Radiation</i>		
Ultraviolet (UV)	Pyrimidine dimer formation	Repair may lead to error or deletion
Ionizing radiation (for example, X-rays)	Free-radical attack on DNA, breaking chain	Repair may lead to error or deletion

Nucleotide base analogs

Analog	Substitutes for
 5-Bromouracil (a)	 Thymine
 2-Aminopurine (b)	 Adenine

Structure of two common nucleotide base analogs used to induce mutations and the normal nucleic acid bases for which they substitute.

(a) 5-Bromouracil can base-pair with guanine, causing AT to GC substitutions. (b) 2-Aminopurine can base-pair with cytosine, causing AT to GC substitutions.

Radiación

Production of a pyrimidine dimer. The energy from UV irradiation can be absorbed by pyrimidine molecules. The excited electrons of carbons 5 and 6 on adjacent pyrimidines can then be shared to form a four-membered cyclobutane ring between adjacent pyrimidines. The pyrimidine dimer blocks replication and transcription.

