

## Transcriptómica Procariota: mecanismos de expresión y su regulación

Julio Ricardo Moreno<sup>1,3</sup>. Marta Fabiana Gorriti<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas de Lagunas Andinas (LIMLA). Planta Piloto de procesos Industriales Microbiológicos. PROIMI-CONICET. Av. Belgrano y Pje. Caseros 4000. San Miguel de Tucumán. Argentina.

<sup>2</sup>Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán. Batalla de Ayacucho 471-4000. San Miguel de Tucumán. Argentina.

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Naturales e IML, Universidad Nacional de Tucumán. Miguel Lillo 205-4000. San Miguel de Tucumán. Argentina.

[julio\\_m@live.com.ar](mailto:julio_m@live.com.ar) [marta\\_gorriti@hotmail.com](mailto:marta_gorriti@hotmail.com)

**Resumen:** se estudiarán los mecanismos de transcripción enumerando sus etapas e importancia. Serán tenidos en cuenta los factores ambientales que influyen sobre los distintos mecanismos de regulación, y los demás factores externos influyentes como los vectores virales.

**Palabras clave:** Operón. Transcripción. Bacteriófago Lambda.  $\beta$ -galactosidasa. ARNm. Ribosoma.

### INTRODUCCION

El concepto de operón se fue desarrollando entre los años 1958 y 1960. Aunque el concepto tuvo su origen en los estudios fisiológicos de Monod, fue el genetista Francois Jacob el que proveyó la percepción esencial. Jacob estuvo desarrollando ideas acerca de la regulación del bacteriófago lambda. Lo realizado en lambda y lo realizado en el experimento PaJaMo (Pardee, Jacob, Monod) sobre la regulación de la  $\beta$ -galactosidasa tuvo un importante paralelismo que los llevó a la idea del operón. Jacob pensó que en ambos casos un grupo de genes normalmente silenciosos podrían ser gatillados y volverse a expresar, debido a un único gen: *i* en el sistema *lac*, y *ci* en fago  $\lambda$ .

Basándose en esto, Jacob desarrolló la idea de que en ambos sistemas, la regulación estaba basada en un sistema de represión que operaba por un mecanismo que involucraba solo dos estados, "on" y "off". Además, los genes no existían simplemente como entidades independientes, sino que existían en un orden más elevado, "unidades de actividad" que contenían varios genes sujetos a una expresión única. En fago lambda, este sería grupo de genes involucrados en la producción viral; en el sistema *lac*, serían los genes  $\beta$ -galactosidasa y permeasa. La idea de regulación coordinada en lambda llevó al descubrimiento de que la síntesis de  $\beta$ -galactosidasa y

permeasa (y tiogalactósido transacetilasa cuando ésta fue descubierta) ocurre en una misma "tasa" después de la adición del inductor, y que en las mutantes  $\bar{i}$  ocurría la síntesis constitutiva coordinada de todas las proteínas del sistema Lac.

Con estas ideas y observaciones, Jacob y Monod desarrollaron el concepto de dos tipos de genes; el estructural, el cual codifica para la síntesis de una proteína; y el regulatorio, el cual controla la expresión del primero. Los genes regulatorios fueron postulados para gobernar la expresión de proteínas a través de represores intermediarios. Jacob y Monod postularon que hay una única estructura genética, sensible a la acción del represor, que está asociado al grupo de genes estructurales bajo el control de un único regulador. Esta estructura genética fue llamada "operador".

En 1960, fue publicada la primera proposición del concepto operón (JACOB, PERRIN y SÁNCHEZ, 1960). En este modelo, el operón fue definido como "unidades de transcripción coordinados por un elemento genético u operador" y "cada operón estaría, por intermedio de un operador, sometido a la acción de un represor". El término "expresión coordinada", fue usado para describir la función regulatoria del operador. Se postuló que el represor, cuya naturaleza química era desconocida, actuaba sobre el operador.

La historia del ARN mensajero (ARNm) y su papel central en la síntesis de proteínas ha sido relatado muchas veces. Hacia 1960, el modelo aceptado de la síntesis de proteína involucraba dos tipos de ARN, soluble (de transferencia) y ribosomal. La demostración del papel del ribosoma en la síntesis de proteína, y la presencia de ARN en el ribosoma, hizo pensar que el molde fuera solo el ARN ribosomal, y que el ADN estaba involucrado en su fabricación. Aunque este modelo tenía un considerable soporte experimental, evidenciaba varias dificultades. Este modelo fue refutado por BRENNER (1961) poco después. La evidencia directa de la existencia de un ARNm fue obtenida por Brenner y Jacob usando el fago T4, y por Spiegelman en relación al fago T2. Así el término operón fue adquiriendo un significado diferente. Hoy, un operón es definido simplemente como un conjunto de genes transcritos en una única molécula de ARNm, sin ninguna explicación respecto al gen operador.

El término promotor fue usado por primera vez en 1964 (Jacob, Ullmann, y Monod) para explicar la conducta de un grupo de mutantes. La evidencia del promotor se basó en el aislamiento de ciertas mutantes que tenían una región eliminada, y aunque estas mutantes, a su vez, no tenían operador, el operón entero no fue expresado, esto implicaba que había otro elemento que era indispensable, el promotor, el cual era necesario para la expresión (BECKWITH, 1996). Pribnow en 1975 aisló regiones de ADN que quedaban protegidas con la ARN polimerasa después de un tratamiento con DNasa pancreática, de esta manera secuenciaron los primeros promotores de fagos como el T7,  $\lambda$  y del operón lactosa. En la mayoría de los fragmentos había una secuencia que se conservaba a unos 10 pares de bases antes del sitio de inicio de la transcripción a la que Pribnow llamó "caja de Pribnow" (TATAAT) (MADIGAN *et al.*, 1997).

## ARN POLIMERASA EN PROCARIOTAS

La ARN polimerasa (ARNP) de *Escherichia coli* es una enzima multimérica (Fig. 1) que cataliza la formación de enlaces fosfodiéster entre ribonucleótidos para sintetizar ARN a partir de un molde de ADN en un proceso denominado transcripción. Esta enzima se halla en dos estados, uno conocido como núcleo de la ARNP, y otro como holoenzima ARNP.



Figura 1. Estructura de la holoenzima ARN polimerasa. El color de las subunidades son:  $\beta$ , amarillo claro;  $\beta'$ , blanca;  $\alpha$ , naranja y azul;  $\omega$ , roja y  $\sigma$ , magenta (VASSYLYEV *et al.*, 2002).

El núcleo de la ARNP está formado por las subunidades polipeptídicas  $\beta$ ,  $\beta'$ ,  $\alpha$  y  $\omega$ , estando  $\alpha$  presente 2 veces (Tabla 1). La mayoría de las ARNPs bacterianas tienen la misma composición. Las subunidades interactúan dando a la enzima una forma característica de pinza de cangrejo con un canal profundo que separa las mordazas de la pinza. En el interior de este canal se aloja el ión catalítico  $Mg^{++}$  y se acomoda la doble cadena de ADN templado. La ARNP cubre una región de 70 a 80 bp desde la posición -55 a la +20 con respecto al sitio de inicio de la transcripción. Una de las mordazas está compuesta por la subunidad  $\beta'$ ; mientras que la segunda mordaza está formada por la subunidad  $\beta$ . Las subunidades  $\alpha$  están localizadas sobre la pinza, manteniendo las subunidades  $\beta$  y  $\beta'$  juntas (las subunidades  $\alpha$  reconocen la secuencia "UP" del ADN como se verá más adelante). La subunidad  $\omega$  envuelve el extremo carboxilo (C) de  $\beta'$  (BORUKHOV *et al.*, 2002; HUERTA, 2004).

El núcleo de la ARNP puede unirse por sí solo de manera inespecífica a la molécula de ADN sin poder iniciar la transcripción. La unión del núcleo a uno de los diversos factores  $\sigma$  origina lo que se conoce como holoenzima ARNP la cual si tiene la capacidad de iniciar la transcripción. La unión de  $\sigma$  es débil y se disocia fácilmente (Borukhov *et al.*, 2002).

Subunidades	Tamaño (aa)	Tamaño (kDa)	gen	Función
$\alpha$	329	36511	rpoA	Requerida para mantener la unión entre $\beta$ y $\beta'$ . Interacciona con algunas proteínas regulatorias. También está involucrada en la catálisis.
$\beta$	1342	150616	rpoB	Involucrada en la catálisis: Inicio y elongación de la cadena de ARN.
$\beta'$	1407	155159	rpoC	Involucrada en la unión al ADN molde.
$\omega$	91	10237	rpoZ	Requerida para estabilizar la asociación de $\beta'$ con $\alpha_2\beta$ .
$\sigma$	613	70263	rpoD	Requerido para dirigir la enzima al promotor; separar las cadenas de ADN. Involucrado en el control temprano de la transcripción.

Tabla 1. Principales característica de las subunidades que forman la ARNP de *E. coli*.

## MECANISMO DE LA TRANSCRIPCIÓN

La transcripción se divide en tres etapas: iniciación, elongación y terminación:

Para **iniciar** la cadena de ARN la holoenzima ARNP debe unirse a regiones específicas del ADN. Estas regiones se denominan promotores. Sólo una de las cadenas de ADN será transcrita (cadena codificante). Es la orientación de los promotores la que determina que cadena será la codificante (MADIGAN *et al.*, 1997).

El inicio de la transcripción puede ser dividido a su vez en: formación del complejo promotor, iniciación abortiva, y escape del promotor (BORUKHOV *et al.*, 2002).

Cuando la ARNP se une al promotor se forma lo que se conoce como complejo cerrado. Para continuar con el proceso de transcripción la doble hélice de la secuencia promotora es separada por la ARNP. La apertura del ADN desnaturalizado donde empieza a sintetizarse el ARN se denomina complejo abierto. Una vez que se forma una pequeña porción de ARN el factor sigma se disocia (Fig. 2) (MADIGAN *et al.*, 1997).

La frecuencia en el inicio de la transcripción depende de la afinidad de la ARNP por el promotor; se sabe que esta frecuencia puede incrementarse hasta unas 100 veces dependiendo de las pares de bases que conforman el promotor (HUERTA., 2004).

La **elongación** de la cadena de ARN es realizada por el núcleo enzimático por sí mismo (Fig. 2). La ARNP se aleja del promotor produciendo pequeños desenrollamientos que se cierran tan pronto como pasa la enzima.

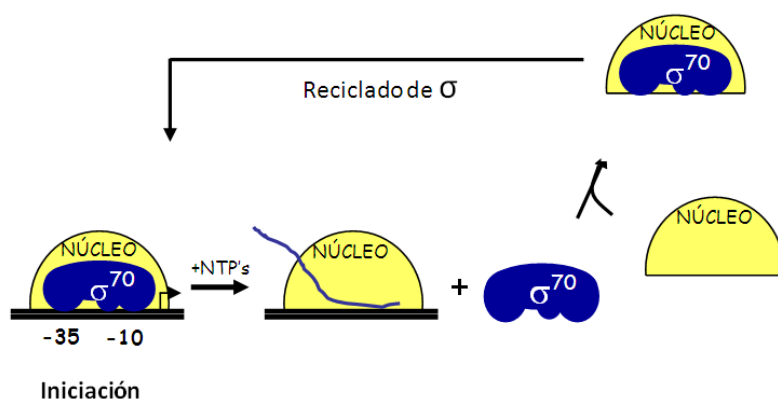


Figura 2. Ciclo del factor  $\sigma$  en la transcripción (Adaptación de BONOCORA, 2007).

En la **terminación** de la transcripción el ARN sintetizado se libera del ADN molde y de la polimerasa. La síntesis de ARN se detiene en secuencias específicas del ADN. Una secuencia común de terminación depende de un factor (rho) y otras secuencias son independientes de éste factor. En *E. coli*, un tipo de terminador de la transcripción requiere una proteína llamada Rho que se une al ARN naciente y se mueve hacia el complejo ARNP-ADN. Cuando la ARNP se detiene en el sitio de terminación dependiente de Rho, ésta proteína puede hacer que el ARN y la polimerasa se separen del ADN, terminando así la transcripción.

Las secuencias que no requieren de un factor de terminación, tienen una repetición invertida con un segmento central no repetido (secuencia palindrómica, de "tallo y bucle"). Al transcribirse tal secuencia, el ARN puede formar un asa bicatenaria, por emparejamiento de bases, que desestabiliza el complejo ARN-ADN, obligando a la ARNP a separarse. Cuando tales estructuras van seguidas de secuencias de uridina (poli U), son terminadores efectivos de la transcripción (MADIGAN *et al.*, 1997).

Mientras que el mecanismo catalítico de la ARNP es conservado entre las ARNPs de eucariotas, procariotas y arqueas, el mecanismo de inicio de la transcripción no lo es. Tanto eucariotas como arqueas cuentan con proteínas y complejos de proteínas no relacionados a los factores sigma bacterianos para reclutar el núcleo de la ARNP al promotor (BORUKHOV *et al.*, 2002). Los mecanismos que regulan la expresión genética en organismos bacterianos les permite adaptarse fácilmente a los cambios de su medio ambiente (HUERTA, 2004).

## REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN

En bacterias se conocen diferentes mecanismos de regulación de la transcripción y todos ellos se ven afectados por el medio ambiente en el que el microorganismo está creciendo. A continuación se describen: control negativo de la transcripción, control

positivo, atenuación y control global de la transcripción.

En el mecanismo llamado **control negativo**, la acción de represores inhibe la síntesis de ARN mensajero (ARNm). Dentro de este mecanismo puede haber una inducción o represión enzimática.

Si el producto de la catálisis de una enzima está presente en el medio y la enzima no es sintetizada se habla de **represión enzimática**. Es el caso de las enzimas implicadas en la síntesis de aminoácidos (aa), purinas y pirimidinas. Por ejemplo, en la síntesis de arginina, la enzima única a su propia síntesis no es sintetizada en presencia de arginina. Esto es un efecto específico, ya que el resto de las enzimas celulares no se ven afectadas por la arginina.

El fenómeno de **inducción enzimática** es aquel en el cual la síntesis de una enzima sólo tiene lugar cuando su sustrato está presente. Por ejemplo, la enzima  $\beta$ -galactosidasa, implicada en la utilización de lactosa, no se sintetiza si la lactosa está ausente. Las enzimas implicadas en el catabolismo de fuentes de carbono y energía son a menudo inducibles.

La molécula que inicia la inducción de la síntesis de una enzima se llama inductor, y una molécula que reprime la síntesis se llama correpresor. No todos los inductores y correpresores son sustratos o productos finales. Por ejemplo, el isopropiltiogalactósido (IPTG) es un inductor de la  $\beta$ -galactosidasa aún cuando no es hidrolizado por la enzima.

El represor de la síntesis de ARNm es una proteína alostérica. Una proteína alostérica tiene un sitio de unión al sustrato (en este caso ADN), y un sitio donde se une el efector reversiblemente. La unión del efector cambia la conformación de la proteína represora, impidiendo que se una al ADN (cuando el efector es un inductor) o permitiendo la unión al ADN (cuando es un correpresor).

En el caso de una enzima reprimible, la transcripción tiene lugar hasta que el correpresor se une al represor. Éste represor alterado puede combinarse así con una región específica del ADN, cerca del promotor, denominada **operador** bloqueando la síntesis de ARNm.

La inducción enzimática también es controlada por un represor. En este caso el represor es activo en ausencia del inductor. Cuando el represor se combina con el inductor se inactiva, no puede unirse al operador y la síntesis de ARNm tiene lugar.

Estos mecanismos de represión e inducción enzimática garantizan que el microorganismo no gaste energía para la síntesis de enzimas innecesarias.

En el mecanismo llamado **control positivo**, una proteína reguladora promueve la unión de la ARNP, lo que incrementa la síntesis de ARNm. Por ejemplo, la síntesis de las enzimas para la utilización de la maltosa se controla a nivel de la transcripción por una

proteína activadora (o enhancer). Este activador no puede unirse al ADN a menos que primero se una a la maltosa.

En estos casos, incluso con el factor sigma, la ARNP tiene dificultades para reconocer el promotor. La proteína activadora cuando está unida al ADN, permite a la ARNP contactar apropiadamente con el ADN, ya sea, causando un cambio en la estructura del mismo, quizás curvándolo o también puede interactuar directamente con la ARNP cuando el sitio activador está cerca del promotor o cientos de bp más lejos (MADIGAN *et al.*, 1997).

Otro tipo de control llamado **antiterminación** o **atenuación** de la transcripción implica una interacción entre el ARNm y un ARN de transferencia (ARNt) específico para estabilizar la conformación de antiterminación del nascente ARNm transcripto y permitir que la transcripción continúe. Este mecanismo se ha encontrado (o hipotetizado), gobernando la regulación de varios operones de biosíntesis de aminoácidos y de genes codificantes de aminoacil-ARNt-sintetasa en varias bacterias Gram positivas. El transcripto líder no traducido de esos genes u operones adopta estructuras secundarias notablemente similares entre sí, en las que un codón específico ocupa una crucial posición conservada. Éste codón corresponde al aminoácido del cual el operón es responsable de la biosíntesis, o en el caso de genes codificantes de aminoacil-ARNt-sintetasa, para el aminoácido que es acoplado al ARNt por esa sintetasa, y está propenso a unirse al correspondiente ARNt en una interacción codón-anticodón. Una segunda posición conservada en la estructura secundaria está reservada para un anti-aceptor que está situado en el terminador y es complementario a los cuatro nucleótidos terminales 3' del brazo aceptor del ARNt. Un ARNt no cargado puede unirse al transcripto líder por interacción con la secuencia anti-aceptor, estabilizar la conformación del antiterminador y así promover la expresión del operón o gen. Un ARNt cargado con el aminoácido (involucrado con el operón o gen que está siendo regulado) en el brazo aceptor, no puede unirse al anti-aceptor y estabilizar el antiterminador en el transcripto líder. El terminador luego adopta la conformación energéticamente más favorable y reprime la expresión del operón o gen (RAYA, 1998).

Hay mecanismos que operan sobre bases celulares muy amplias conocidos como **sistemas de control global** y pueden incluir uno o varios regulones (un regulón es un conjunto de operones regulados por una misma proteína, ej.: regulón maltosa). Se emplea el término estímulo o modulón para cada uno de éstos grupos de genes.

En uno de estos procesos globales llamado **represión catabólica**, está inhibida la síntesis de una gran diversidad de enzimas no relacionadas (principalmente catabólicas) cuando la célula crece en un medio de cultivo donde están presentes simultáneamente dos fuentes de energía, una más fácilmente utilizable que la otra, tal como la glucosa. Esto conduce a un **crecimiento diáuxico**, donde el microorganismo crece primero utilizando una fuente de energía, seguido de un periodo de latencia, para continuar creciendo sobre la segunda fuente de energía. La enzima  $\beta$ -galactosidasa es inducible

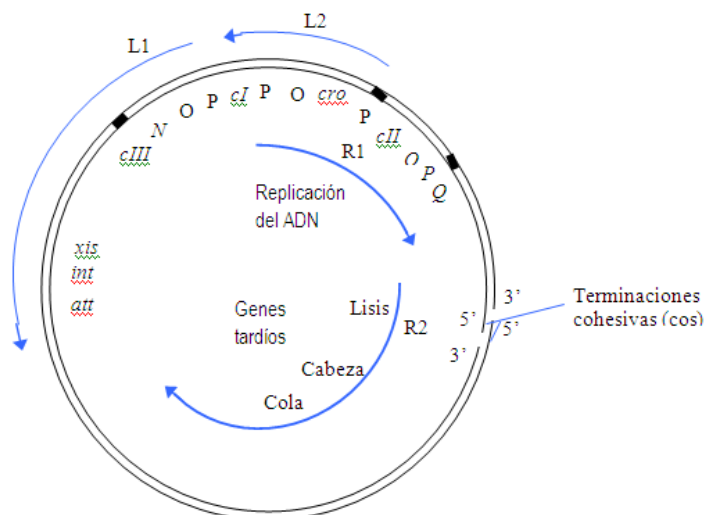
pero está sujeta a represión catabólica, por eso, si existe glucosa en el medio, no se sintetizará.

En la represión catabólica está implicada una proteína activadora alostérica, llamada proteína activada por catabolito (CAP). La unión de la ARNP solo tiene lugar si la CAP se ha unido primero. A su vez, CAP, solamente se unirá al ADN si su inductor, adenosín monofosfato cíclico (AMPC) se ha unido a ella previamente. El AMPC es sintetizado a partir de ATP por la enzima adenilato ciclasa. En presencia de glucosa, el nivel de AMPC baja y no tiene lugar la unión de la ARNP al promotor (MADIGAN *et al.*, 1997).

### OTROS MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN

Muchos virus bacterianos, aunque capaces de realizar un ciclo lítico, con frecuencia pueden entrar en un estado llamado lisogenia, en el que la mayor parte de los genes víricos no se expresa y el genoma viral se replica en sincronía con el cromosoma celular. A tales virus se los llama temperados.

Uno de los mejores estudiados es el fago lambda, que infecta a *E. coli*. El ADN del fago se circulariza ni bien ingresa a la célula. La síntesis de ARN, usando la ARNP celular, se inicia en los promotores P<sub>L</sub> (promotor de la izquierda: del inglés "left") y P<sub>R</sub> (promotor de la derecha: del inglés "right") (Fig. 3).

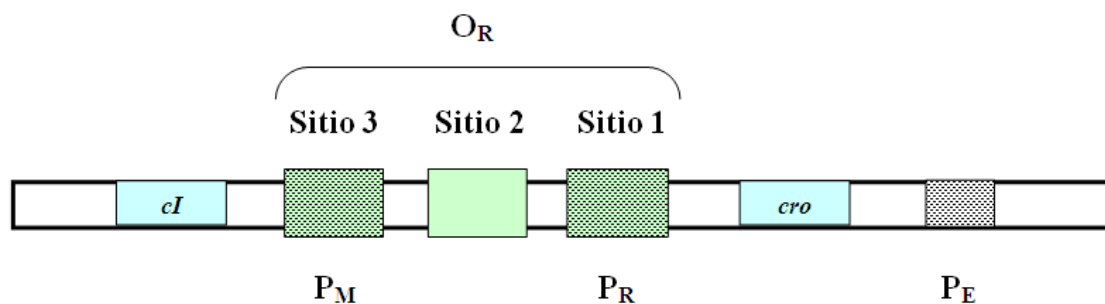


**Figura 3. Mapa genético de lambda.** *att*: sitio de fijación al cromosoma del hospedador. Genes de especial interés: *cl*, gen para una proteína represora; *O<sub>R</sub>*, operador derecho; *P<sub>R</sub>*, promotor derecho; *O<sub>L</sub>*, operador izquierdo; *P<sub>L</sub>*, promotor izquierdo; *cro*, un segundo represor; *N*, antiterminador. El transcripto principal hacia la izquierda se denomina L1 y hacia la derecha R1. Marcas negras: terminadores de la transcripción relacionados con N. R2: transcripto tardío que comienza en un promotor cerca de Q. L2: transcripto a partir de *P<sub>E</sub>*, codifica la proteína represora. *O* y *P* codifican para proteínas relacionadas con la replicación del ADN de Lambda. *int*: codifica para una integrasa. y *xis* una escisionasa (Adaptación de MADIGAN *et al.*, 1997).



Estos producen ARNms cortos que son traducidos en las proteínas N y Cro. La proteína N es un antiterminador que permite que la ARNP transcriba sin tener en cuenta secuencias de terminación específicas. De esta manera los transcritos a partir de  $P_L$  y  $P_R$  son más largos y se traducen en más proteínas, que incluyen productos de los genes *O*, *P*, *cII* y *cIII*. El antiterminador N no es completamente efectivo respecto a la secuencia de terminación que precede al gen *Q*, de modo que sólo se forma una pequeña cantidad de la proteína Q, que también es un antiterminador. Cuando Q está en suficiente cantidad permite la transcripción de un promotor próximo para sintetizar el transcripto que traduce proteínas tardías necesarias para construir el virus y producir la lisis. Al mismo tiempo la proteína Cro alcanza niveles que le permiten bloquear la transcripción a partir de  $P_L$  y  $P_R$  mediante unión con  $O_L$  y  $O_R$  (operador izquierdo y derecho respectivamente) por lo que no se pueden sintetizar más proteínas *cII* o *cIII*.

Estas proteínas son necesarias para que el fago entre en lisogenia y, por lo tanto, cuando Cro se sintetiza en grandes cantidades el fago se dirige irrevocablemente al ciclo lítico. En los operadores donde se une Cro hay tres sitios similares pero no idénticos. Cro primero se une al sitio 3, luego al sitio 2, y cuando los dos sitios están ocupados se une al sitio 1 y se bloquea el promotor (Fig. 4).



**Figura 4. Operador derecho ( $O_R$ ) del genoma lambda. La proteína Cro (producto del gen *cro*) se une a los tres sitios en el orden: sitio3, sitio2, sitio1. El represor de lambda (producto del gen *cI*) se une a estos sitios pero en orden inverso. El promotor  $P_R$  se transcribe inmediatamente después del ingreso del fago en la célula. La transcripción hacia la izquierda a partir de los promotores  $P_E$  y  $P_M$  resulta necesaria para sintetizar el represor Lambda (Adaptación MADIGAN *et al.*, 1997).**

Para que se establezca la lisogenia no se deben sintetizar las proteínas tardías. El producto del gen *cI* es un represor de lambda capaz de reprimir la síntesis de todas las otras proteínas codificadas por lambda y establecer la lisogenia. El promotor que permite la producción de ARNm de este gen, se denomina  $P_E$  y se encuentra ligeramente a la derecha del gen *cro* pero en dirección opuesta a  $P_R$ . A diferencia de los otros promotores  $P_E$  debe ser activado. El gen *cII* codifica para una proteína activadora de este promotor y a otro que se requiere para la producción de una integrasa. La proteína *cII* es una proteína temprana, normalmente es inestable en *E. coli* porque resulta degradado por proteasas celulares. Si *cII* se degrada, no hay posibilidad de que el fago siga el ciclo lisogénico. Sin embargo, ésta proteína puede ser estabilizada por *cIII* del fago si no hay un exceso de

proteasa del hospedador (o si hay un exceso de cII). De este modo, cII estabilizado activará P<sub>E</sub> y producirá la proteína represora lambda.

El represor lambda se une a los operadores O<sub>L</sub> y O<sub>R</sub>, como lo hace la proteína Cro pero en orden opuesto. Es decir, primero al sitio 1, anulando a P<sub>L</sub> y P<sub>R</sub>. Cuando esto ocurre, la síntesis del resto de las proteínas de lambda cesa. Sin la proteína Q, las proteínas tardías no pueden expresarse y lambda no puede desarrollar el ciclo lítico. Sin embargo, cII tampoco se sintetiza en ese caso, por lo que para mantener el estado lisogénico el gen cl se transcribe a partir del promotor P<sub>M</sub>. Este promotor se activa cuando el represor de lambda se une al sitio 1 y se reprime cuando el represor se une a los tres sitios. Por lo tanto cl es un represor que también regula su propia síntesis.

Otro mecanismo de transcripción se observa en el fago T4. El control de la síntesis de ARNm del T4 esta dado por la producción de proteínas tempranas que modifican secuencialmente la ARNP del huésped a fin de que reconozca diferentes promotores del fago. Algunas proteínas especificadas por el fago, sintetizadas a partir de estos genes tempranos, modifican covalentemente las subunidades de la ARNP y otras se unen también a la polimerasa, cambiando su especificidad (MADIGAN *et al.*, 1997).

La proteína temprana AsiA se une al factor  $\sigma^{70}$  del huésped ocasionándole una modificación en su estructura. La holoenzima así resultante se une a la secuencia -10 del promotor del ADN. Otra proteína temprana, MotA, se une al extremo C terminal de la región 4 del factor  $\sigma$  y a la secuencia -30 del promotor. Esta apropiación del factor  $\sigma$  le permite al fago sintetizar las proteínas necesarias para continuar la transcripción de sus genes. La transcripción de los genes tardíos requiere de proteínas, codificadas por T4, que actúan como factor sigma, tales como gp33, gp45 y gp55 (BONOCORA, 2007).

### ACTIVIDADES

- Empleando como ejemplo un microorganismo procariota a su elección, enuncie los mecanismos genéticos eficientes que este utilizaría para responder a condiciones ambientales de oligotrofia y desecación.
- Describa esquemáticamente el proceso de atenuación del operón *trp* de *E. coli* y mencione su importancia.

### BIBLIOGRAFIA

Beckwith, J. y Zipsers, D. 1996. *Escherichia coli and Salmonella*. Celular and Molecular Biology. 78, pp. American Society for Microbiology. 1227-1228.

- Bonocora, R. P.; Decker, P. K.; Glass, S.; Knipling, L. Y Hinton, D. M. 2013. Architecture of the Bacteriophage T4 Activator MotA/Promoter DNA Interaction during Sigma Appropriation. *J. Biol. Chem.*, 288: 27607-27618.
- Borukhov, S Y Severinov, K. 2002. Role of the RNA polymerase sigma subunit in transcription initiation. *Microbiol.*, 153: 557–562.
- Brenner, S., Jacob, F., Y Meselson, M. 1961. An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature*, 4776: 576-581.
- Huerta, A. 2004. *Análisis y predicción de secuencias de promotores bacterianos dependiendo de sigma y alpha y de otros factores reguladores diferentes a la RNAP*. Tesis doctoral.
- Jacob, F.; Perrin, D.; Sánchez, C.; Monod, J. Y Edelstein, S. 1960. The operon: a group of genes with expression coordinated by an operator. *C.R.Acad. Sci. Paris* 250 (1960) 1727-1729. *Comptes rendus biologies*, 328 (6): 514–20.
- Jacob, F. Y Monod, J. 1961. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins (Free full text). *Journal of molecular biology*, 3: 318–56.
- Jacob, F.; Ullman, A. y Monod, J. 1964. The Promotor, A Genetic Element Necessary to the Expression of an Operon. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences*, 258: 3125–8.
- Madigan, M; Martinko, J y Parker, J. 1997. *Brock. Biología de los Microorganismos*. 8, pp. 273-277; 7, 232-240. Prentice Hall Iberia, Ltd. Ed.
- Vassilyev, D. G; Sekine, S; Laptenko, O; Lee, J; Vassilyeva, M; Borukhov, S y Yokoyama, S. 2002. Crystal structure of a bacterial RNA polymerase holoenzyme at 2.6Å resolution. *Nature*. 417: 712-719.

#### BIBLIOGRAFIA DE CONSULTA

- Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. y Watson, J.D. 1994. *Molecular Biology of the Cell*. 3rd ed. New York and London: Garland Publishing.
- Ausubel, F. M.; Brent, R.; Kingston, R. E.; Moore, D. D.; Seidman, J. G.; Smith, J.A. y Struhl, K. 1999. *Short Protocols in Molecular Biology*. 1, pp. 1.27-1.28. John Wiley and Sons, Inc. Eds.
- Bertani, G. 1951. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 62: 293-300.

- Birnboim, H y Doly, J. 1979. *A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. Nucleic Acids Res*, 7:1513-1523.
- Borukhov, S y Severinov, K. 2002. Role of the RNA polymerase sigma subunit in transcription initiation. *Microbiol.* 153: 557–562.
- Brown, T. A. 2002. *Genomes 2<sup>nd</sup>* ed. Oxford, UK, BIOS Scientific Publishes Ltd.
- Buck, M.; Gallegos, M.; Studholme, D.; Guo, Y y Gralla, J., 2000. The bacterial enhancer-dependent  $\sigma^{54}$  ( $\sigma^N$ ) transcription factor. *J. Bacteriol.* 182: 4129–4136.
- Gerhardt, P.; Murray, R. G. E.; Costilow, R. N.; Nester, E. W.; Wood, W. A.; Krieg, N. R. y Phillips, G. R. 1981. *Manual of Methods for General Bacteriology*. American Society for Microbiology, Washington, DC.
- Griffiths, A. J. F.; Gelbart, W. M.; Miller, J. H. y Lewontin, R. C. 1999. *Modern Genetic Analysis*. New York, W.H. Freeman & Co.
- Hengge-Aronis, R. 1996. *Escherichia coli and Salmonella*. Celular and Molecular Biology. 93, pp. American Society for Microbiology, Ed. 1497-1551.
- Israelsen, H.; Madsen, S.; Vrang, A.; Hansen, E y Johansen, E. 1995. Cloning and partial characterization of regulated promoters from *Lactococcus lactis* Tn917-lacZ integrants with the new promoter probe vector, pAK80. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 2540-2547.
- Langella, P.; Le Loir, Y.; Ehrlich, S. D. y Gruss, A. 1993. Efficient plasmid mobilization by pIP501 in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. *J. Bacteriol.* 175: 5806-5813.
- Lapierre, L.; Mollet, B y Germondy J. E. 2002. Regulation and adaptive evolution of lactose operon expression in *Lactobacillus delbrueckii*. *J. Bacteriol.* 184: 928–935.
- Lodish, H.; Berk, A.; Zipursky, S. L.; Matsudaira, P.; Baltimore, D. y Darnell, J. E. 1999. *Molecular Cell Biology 4<sup>th</sup>* ed. New York. W.H. Freeman & Co.
- Madigan, M. T.; Martinko, J. M. y Parker J. 1999. Brock: *Biología de los Microorganismos*. 8° Edición. Ed. Prentice Hall Iberia. Madrid. 1064 p.
- Madigan, M. T.; Martinko, J. M. y Parker J. 2004. Brock: *Biología de los Microorganismos*. 10° Edición. Ed. Pearson Educación., Madrid. 1011 p.
- Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Dunlap, P. V. y Clark, D. P. 2009. Brock: *Biología de los Microorganismos*. 12° Edición. Ed. Pearson Educación., Madrid. 1296 p.

- Miller J. H. 1992. *A Short Course in Bacterial Genetics*. A laboratory manual and handbook for *Escherichia coli* and related bacteria. 17, pp. Cold Spring Harbor Laboratory Press. N. Y. 17.2-17.7.
- Moreno, J. R.; Gorriti, M. F.; Flores, M. R. y Albarracín, V. H. 2012. Microbiología ambiental y ecología microbiana en el estudio de microorganismos en ambientes extremos. *Reduca(Biología) Serie Microbiología*, 5(5): 94-109.
- Muriana, P y Kleanhammer, T. 1991. Cloning, phenotypic expression, and DNA sequence of the gene for lactacin F, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus* spp. *J. Bacteriol.* 173: 1779-1788.
- Ordoñez, O. F.; Flores, M. R.; Dib, J. R.; Paz, A. y Farías, M. E. 2009. Extremophile culture collection from andean lakes: Extreme pristine environments that host a wide diversity of microorganisms with tolerance to UV radiation. *Microbial Ecology*, 58(3): 461-73.
- Pospiech, A y Neumann, B. 1995. A versatile quick prep of genomic DNA from Gram positive bacteria. *Trends Genet*, 11:217-218.
- Prescott, L.; Harley, J. y Klein, D. 2002. *Microbiology*. 5<sup>th</sup> Edn. McGraw-Hill. London. 950 pp.
- Raya, R.; Bardowski, J.; Anderson, P. S.; Ehrlich, S. D. y Chopin, A. 1998. Multiple transcriptional control of the *Lactococcus lactis* trp operon. *J. Bacteriol.*, 180: 3174-3180.
- Sambrook, J.; Fritsch, E. F. y Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2nd. Ed. Cold Spring Harbor. N.Y.
- Tortora, G. J.; Funke, B. R. y Case, C. L. 2007. *Introducción a la Microbiología*. 9° Edición. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. 988 p.
- Udekwi, K y Wagner, G. H. 2007. Sigma E controls biogénesis of the antisense RNA MicA. *Nucleic Acids Res.* 35: 1279-1288.

### RECURSOS ELECTRONICOS

*In Silico* Simulation of Molecular Biology Experiments  
<http://insilico.ehu.es/>

Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas de Lagunas Andinas, LIMLA-CONICET  
<http://www.limla.com.ar>

National Center for Biotechnology Information, NCBI  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Sequence Tool at the Biology Workbench  
<http://seqtool.sdsc.edu>

Recibido: 9 enero 2013.  
Aceptado: 17 diciembre 2014.