

INTRODUCCIÓ

INTRODUCCIÓ

I. Control transcripcional de l'expressió gènica en eucariotes.

Aspectes generals

El control transcripcional dels gens en eucariotes es duu a terme a través d'elements *cis* i *trans*, que es troben en la regió del promotor i *enhancer* de les regions 5'flanquejants a l'inici de transcripció; els elements *cis* són seqüències específiques de DNA anomenades elements de resposta (RE) i els elements *trans* corresponen a proteïnes reguladores que reconeixen aquestes seqüències.

El punt d'inici de la transcripció està constituït per la regió Inr (*Initiator*) que es pot definir com Py₂CAPy₅ (una adenina flanquejada per pirimidines) i està localitzat entre les posicions -3 i +5. La majoria de promotors tenen una seqüència anomenada caixa TATA, generalment localitzada a ~ 25 bp més amunt del punt d'inici de la transcripció i aquest és l'únic element que té una posició relativament fixa. A prop de dita caixa hi poden haver seqüències riques en G•C que poden influenciar-la. La minoria dels promotors que no tenen una caixa TATA s'anomenen promotors sense TATA.

L'inici de la transcripció requereix factors de transcripció que actuen en un ordre definit per construir un complex unit per la RNA polimerasa, que s'incorpora en un estadi tardà. El primer pas en la formació del complex és la unió del factor de transcripció basal TFIID. La caixa TATA és reconeguda per la TATA-binding protein (TBP) que interacciona amb diferents factors associats a TBP (TAFs) i és possible que TFIIDs constituïts per diferents

TAFs reconeixin diferents promotors. Els factors basals de transcripció són suficients per determinar l'activitat de la RNA polimerasa i produir nivells baixos de transcripció, però l'increment o la reducció del nivell basal de transcripció es deu a la participació d'altres factors que interaccionen amb la maquinària basal de transcripció, durant diferents estadis del seu ensamblatge i que poden reconèixer elements de seqüència específica allunyats de l'inici de transcripció (1). No obstant, la complexitat de la regulació de l'expressió gènica augmenta degut a que molts gens són teixit específics i, per tant, és necessària la presència de coreguladors específics de teixit i/o de cèl.lula o, en contraposició, la formació de complexes amb una organització específica que implica que un conjunt de diferents coreguladors ubiqüus confereixi una determinada especificitat. Per tant, els factors de transcripció recluten específicament diferents coactivadors, que a la vegada requereixen activitats acetiltransferases específiques (2). L'acetilació d'histones també sembla intervenir en el mecanisme d'activació transcripcional, encara que no d'una manera universal (3). Cal emfatitzar la naturalesa context específica de l'activació transcripcional, la qual és resultat de la interacció amb el DNA i amb altres proteïnes. D'aquesta manera, Robins *et al* (4), demostren que la unió del receptor d'andrògens (AR) al seu element de resposta en la regió *enhancer* de *Slp* (sex-limited protein), indueix canvis selectius en la conformació del domini d'unió a lligand d'AR, però no del receptor de glucocorticoides (GR) , que també pot unir-se al mateix element en el DNA, i que provoca un increment en la interacció entre AR i Oct-1, factor de transcripció que també interacciona amb el GR. Finalment, el coactivador SRC-1 interacciona més eficientment amb el complex AR/Oct-1 quan ambdós factors de transcripció estan units a DNA. És a dir, l'especificitat de la resposta no només ve determinada per l'existència de proteïnes reguladores específiques, sinó també de la seva unió amb el DNA. Per últim, un gen també pot presentar un patró temporal específic d'expressió, que pot ser controlat per una proteïna reguladora que a la vegada també té un

patró d'expressió semblant i, que al seu torn, aquest també pot venir determinat per diferents factors.

Les proteïnes d'unió a DNA es poden agrupar en diferents famílies segons els motius estructurals de reconeixament del DNA (5) i aquestes són les següents:

- a) Helix-Turn-Helix: Per comparació de seqüència es suggereix que el motiu HTH està present en una gran família de proteïnes d'unió a DNA. Els residus més conservats en el motiu HTH són una glicina en la corba (*turn*) i diferents residus hidrofòbics. Aquests residus ajuden a establir l'organització de les dues hèlixs en la unitat HTH i faciliten l'empacament d'aquest motiu amb la part restant de la proteïna. El motiu HTH és un domini estable i inseparable, que no pot actuar per ell sol sinó que sempre forma part d'un domini d'unió a DNA més gran. El repressor λ és membre d'aquesta família de factors de transcripció (6).
- b) Homeodomini: L'homeodomini és un domini d'unió a DNA que està present en una gran família de proteïnes reguladores eucariotes. Aquest motiu forma una estructura estable i plegada, que pot unir-se al DNA per ell sol amb una especificitat semblant a la de la proteïna intacta, però es creu que dita especificitat d'unió a DNA està modulada per altres regions de la proteïna. Algunes proteïnes homeodomini presenten altres motius de seqüència conservats en subfamílies específiques que flanquegen l'homeodomini. Les interaccions proteïna-proteïna també podrien modular les interaccions homeodomini-DNA. S'ha confirmat que l'homeodomini conté un motiu HTH. La primera estructura d'homeodomini estudiada va ser la de l'homeodomini de *Drosophila Antennapedia* (Antp) (7).

C) Dit de zinc: Les proteïnes amb dits de zinc estan implicades en diferents aspectes de la regulació gènica en eucariotes. Es troben motius de dits de zinc homòlegs en proteïnes induïdes per diferenciació i senyals de creixement, en protooncogenes, factors de transcripció generals, entre altres. Les proteïnes d'aquesta família presenten generalment repeticions en tandem de 30 residus amb el patró de seqüència següent: Cys-X₂₀₋₄-Cys-X₁₂-His-X₃₋₅-His. De les nombroses proteïnes que presenten motius de dit de zinc citem el factor de transcripció IIIA (TFIIIA) perquè va ser la primera proteïna de la família que es va identificar (8).

d) Receptor esteroïdal: Els receptors esteroïdals són també proteïnes amb dits de zinc, però degut a que són una família important de proteïnes reguladores que inclouen els receptors de les hormones esteroïdals, retinoïcs, vitamina D, hormones tiroïdals, i d'altres compostos importants, són generalment tractades a part i seran estudiades en un apartat posterior d'aquest treball.

e) Cremallera de leucines: Les proteïnes amb el motiu de cremallera de leucines tenen un paper important en la diferenciació i en el desenvolupament. Els dominis d'unió a DNA d'aquestes proteïnes està constituït generalment per 60-80 residus i conté dos subdominis diferents que són: la regió de cremallera de leucines que media la dimerització i la regió bàsica que contacta amb el DNA. Les seqüències de cremallera de leucines estan caracteritzades per la repetició de leucines sobre una regió de 30-40 residus. La regió bàsica, que conté 30 residus, és rica en arginines i lisines, però també presenta altres residus que estan conservats al llarg de la família o en subfamílies particulars. Regions bàsiques i de cremallera de leucines de diferents famílies mostren que la regió bàsica és majoritàriament la

responsable per les preferències de seqüència de dites proteïnes. Les proteïnes bzip poden formar heterodímers. La formació d'heterodímers té implicacions en la funció de la proteïna, ja que: els heterodímers poden limitar l'activitat i també poden potenciar l'adquisició de noves especificitats d'unió a DNA i, per tant, ser dirigits a llocs diferents que els homodímers. En altres casos, la formació d'heterodímers pot permetre, degut a la combinació de diferents dominis d'activació o repressió, el canvi de propietats reguladores d'una molècula unida al DNA. Els membres de la família de factors de transcripció CCAAT/Enhancer-binding protein són un exemple de proteïnes amb un motiu de cremallera de leucines (9).

f) Helix-Loop-Helix: Les proteïnes amb motius HLH semblen tenir algunes semblances amb les proteïnes amb cremallera de leucines. Com aquestes últimes, les proteïnes HLH tenen una regió bàsica que s'uneix amb el DNA i una regió veïna que media la dimerització. Per patrons de seqüència, s'ha proposat que la regió de dimerització forma una hèlix α , un llaç i una segona hèlix α . La seqüència de la regió bàsica és semblant a la de les proteïnes amb cremallera de leucines, però es desconeix si tenen la mateixa estructura tridimensional. Les proteïnes HLH també tenen papers importants en la diferenciació i desenvolupament, com és el cas de la proteïna MyoD, que sembla ser el primer senyal per promoure la diferenciació de les cèl·lules musculars (10).

g) Làmina β : Les proteïnes amb motius làmina β són proteïnes que utilitzen una estructura de làmina β antiparalela per unir-se al DNA. Aquest és un grup minoritari de proteïnes del que només es coneix que hi formen part els repressors

procariotics MetJ, Arc i ly (11) i, possiblement, les proteïnes IHF d'*E. Coli* (12).

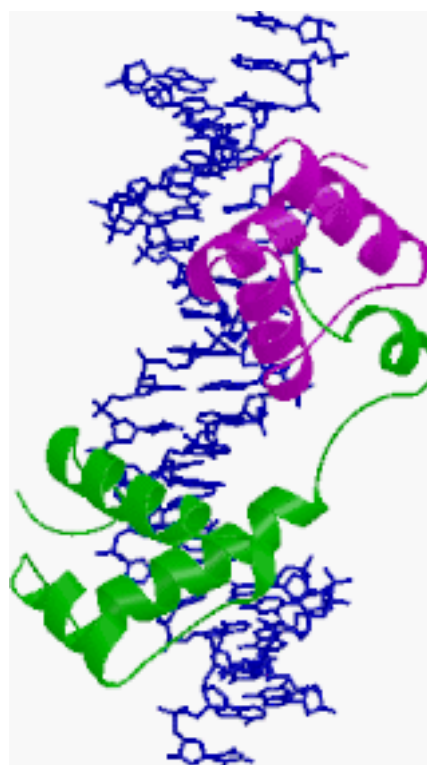
- h)* Altres famílies: Hi ha altres famílies de proteïnes d'unió a DNA que han estat descrites en estudis de factors de transcripció, però de les que no es té informació estructural detallada.

Representació esquemàtica de les diferents famílies de proteïnes d'unió a DNA:

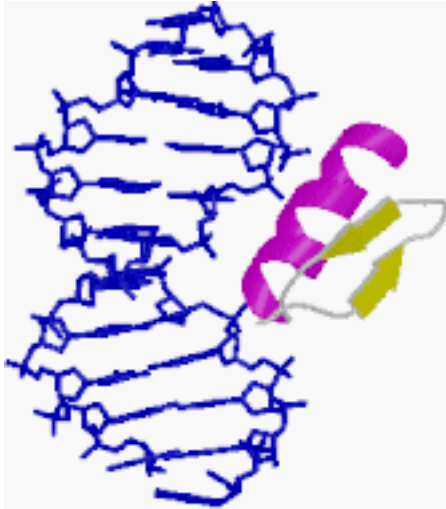
a) Helix-Turn-Helix



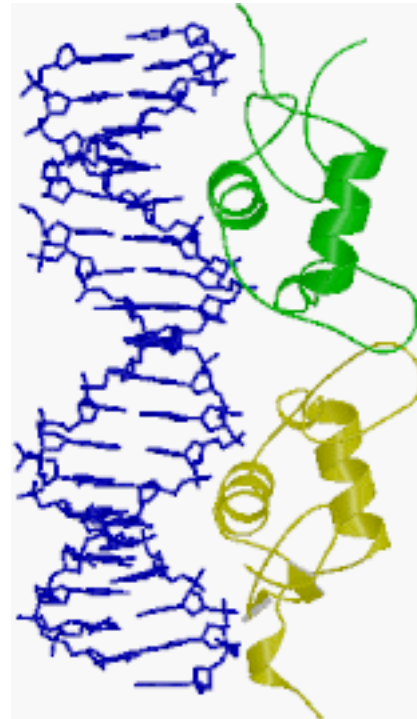
b) Homeodomini



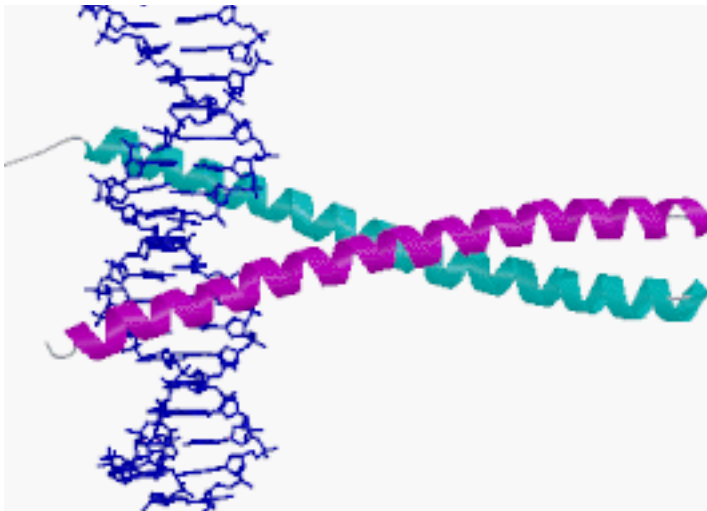
c) Dit de zinc



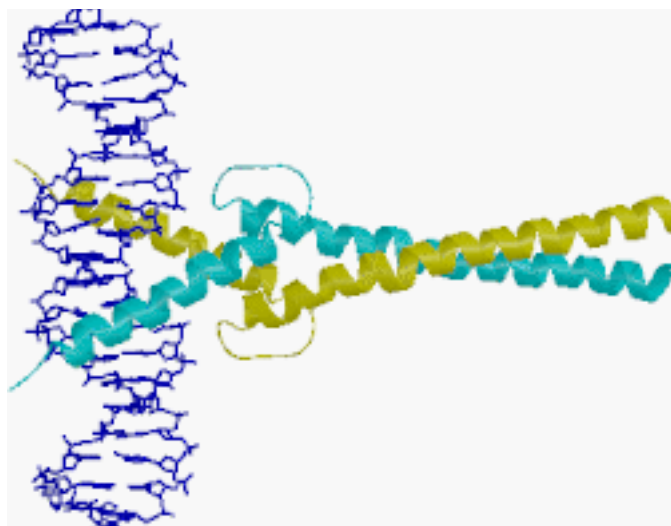
d) Receptor esteroïdal



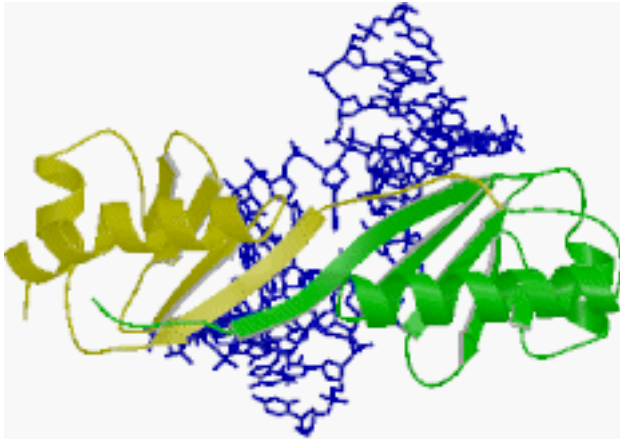
e) Cremallera de leucines



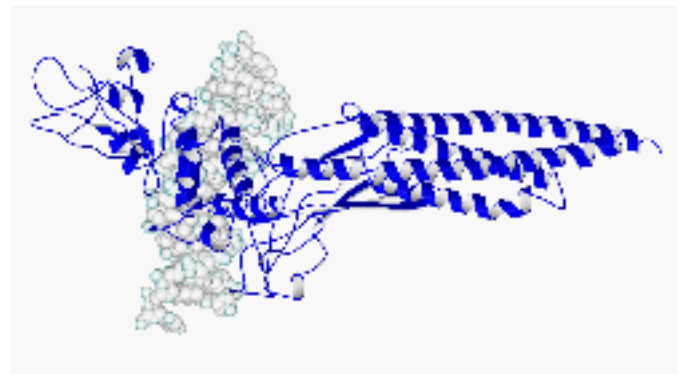
f) Helix-Loop-Helix



g) Làmina β



h) Altres famílies



Ex: *STAT*

Fig1. Representació esquemàtica de les diferents famílies de proteïnes d'unió a DNA: a) Helix-turn-Helix; b) Homeodomini; c) Dit de zinc; d) Receptor esteroïdal; e) Cremallera de leucines; f) Helix-Loop-Helix; g) Làmina β .

A més a més del control transcripcional, existeixen punts de regulació de l'expressió gènica tals com:

- a) Processament del RNA en el nucli
- b) Transport del RNA al citoplasme
- c) Degradació del RNA
- d) Traduccional
- e) Control de l'activitat proteica