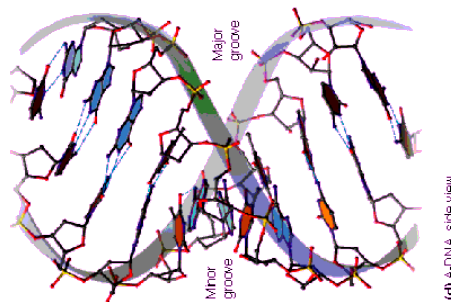
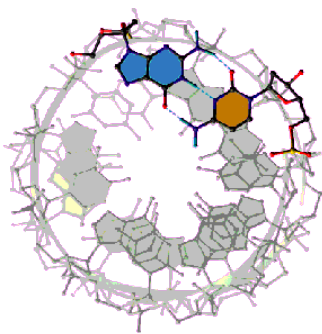
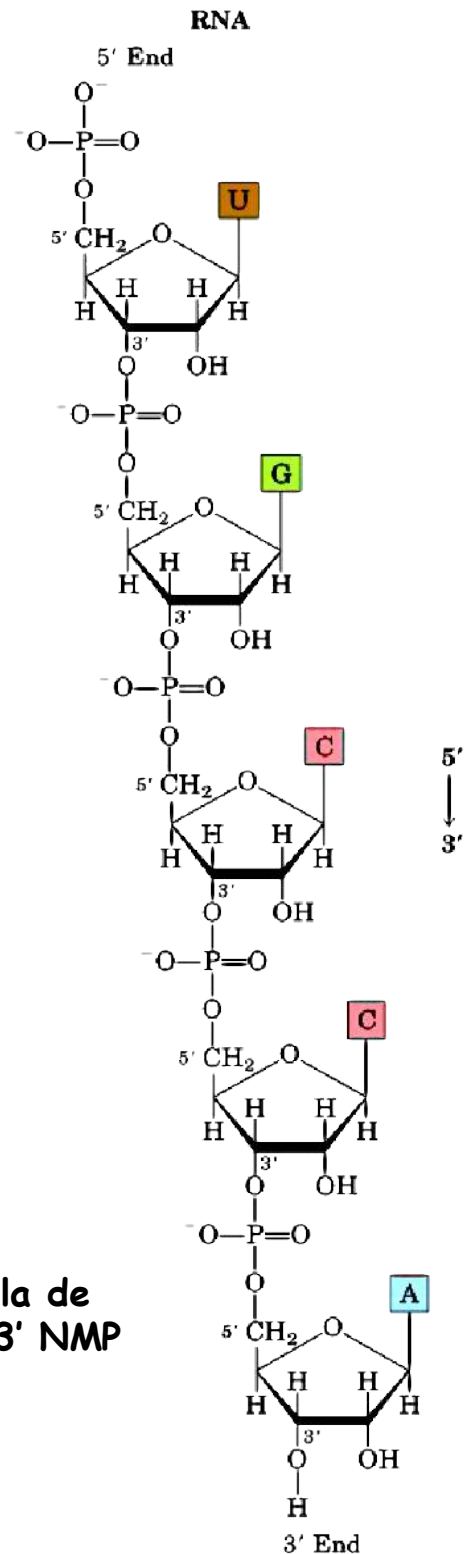


RNA: Química y estabilidad

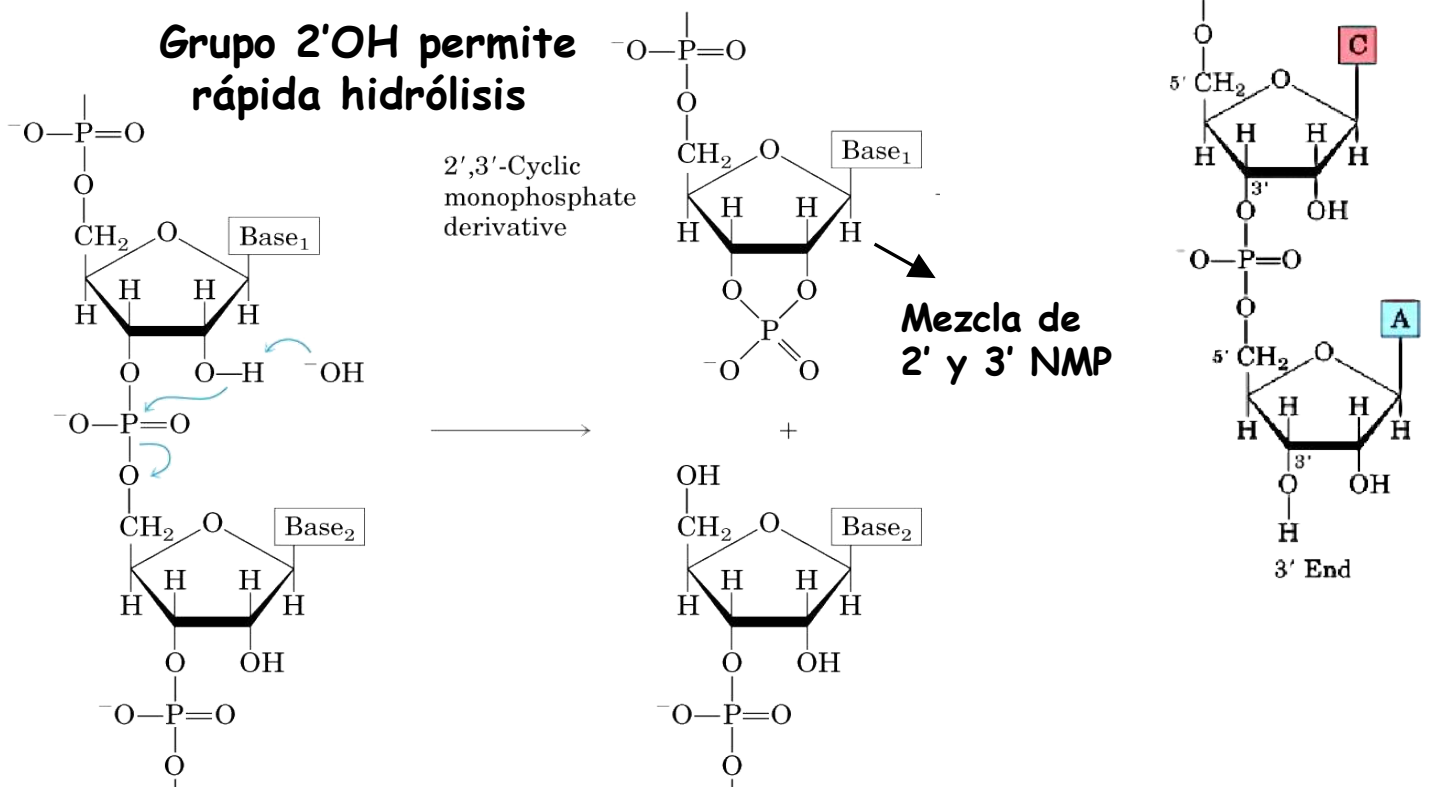
- Ribosa: 2' OH
 - Conformación en hélice A
 - Inestable a la hidrólisis
- Direccional: extremos 5' y 3'
- Bases modificadas
- Estructura secundaria



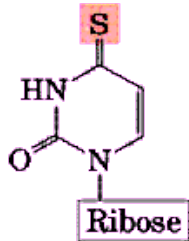
Hélice exclusivamente en conformación A



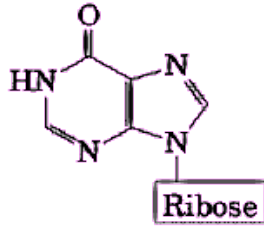
Grupo 2'OH permite rápida hidrólisis



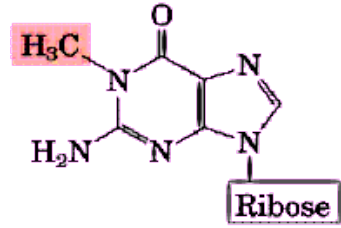
Nucleótidos exóticos en RNAs



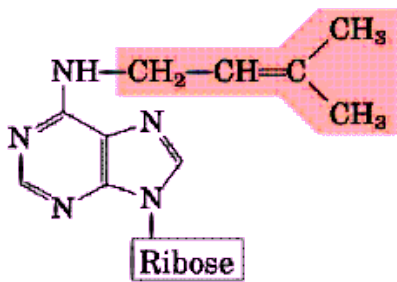
4-Thiouridine (S⁴U)



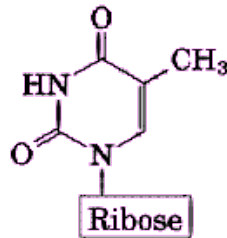
Inosine (I)



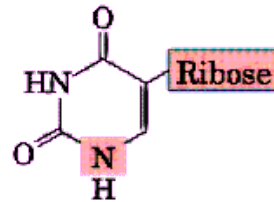
1-Methylguanosine (m¹G)



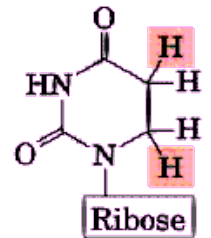
N⁶-Isopentenyladenosine (i⁶A)



Ribothymidine (T)



Pseudouridine (ψ)



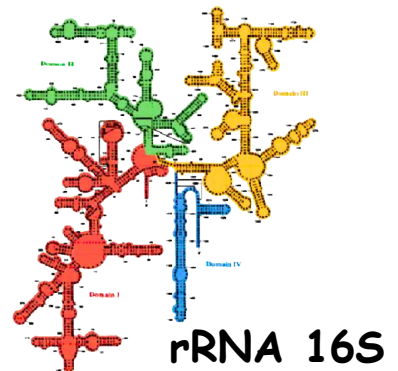
Dihydrouridine (D)

RNA: estructura y tipos

➤ RNA ribosómico (rRNA)

- Cadena simple
- Alta estructura secundaria (hélice en bucles intracatenarios)
- Estructural (ribosoma)
- Catalítico

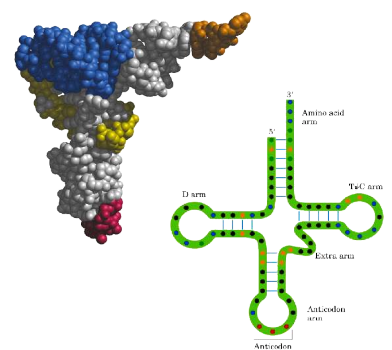
120 nts (5S)
1542 (16S)
2904 (23S)
80 % RNA total



➤ RNA de transferencia (tRNA)

- Cadena simple
- Estructura secundaria media (hélice en bucles intracatenarios)
- Abundancia de bases modificadas
- Adaptador del código genético

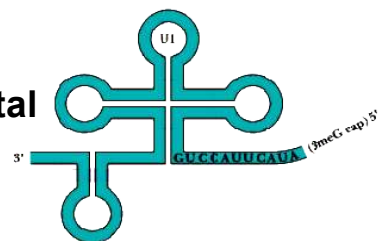
73-90 nts
15 % RNA total



➤ RNA pequeño nuclear (snRNA)

- Cadena simple
- Alta estructura secundaria (hélice en bucles intracatenarios)
- Ricos en U
- Estructural (partículas snRNP, espliceosoma)
- Catalítico (eliminación de intrones)

<300 nts
3 % ? RNA total



➤ RNA heterogéneo nuclear (hnRNA)

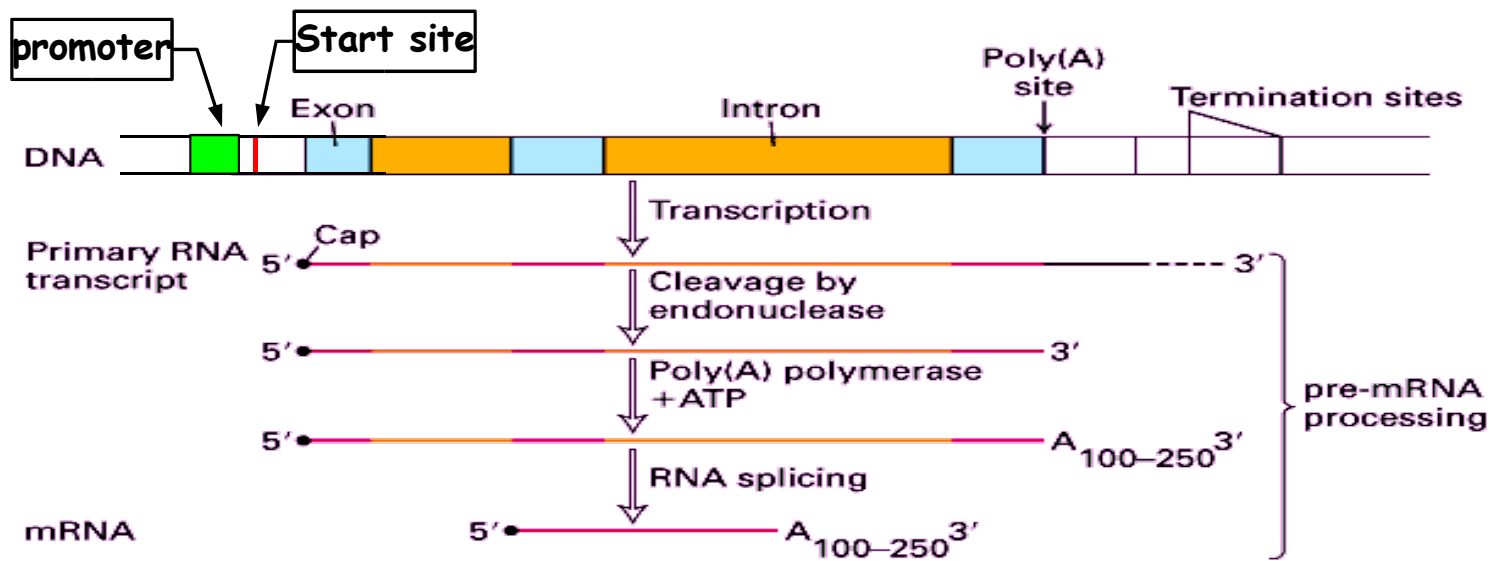
- Cadena simple
- Baja estructura secundaria
- Informativo: transcritos primarios de genes

➤ RNA mensajero (mRNA)

- Cadena simple
- Baja estructura secundaria
- Informativo: codificación de proteínas (madurado a partir de hnRNA)

75-3000 nts
2 % RNA total

Transcripción: proceso general



➤ Transcripción: polimerización de RNA

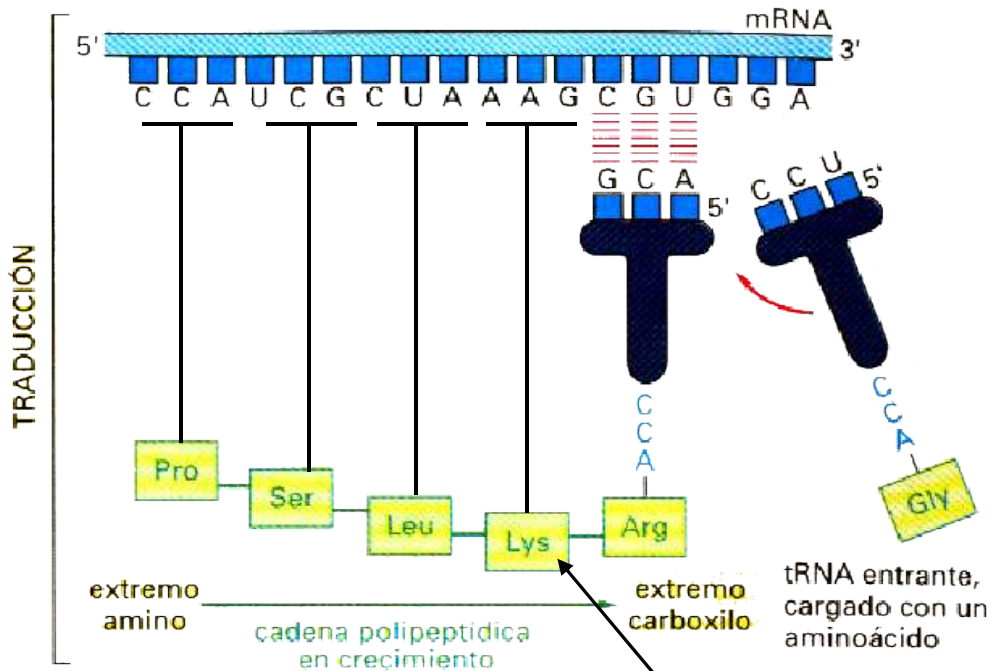
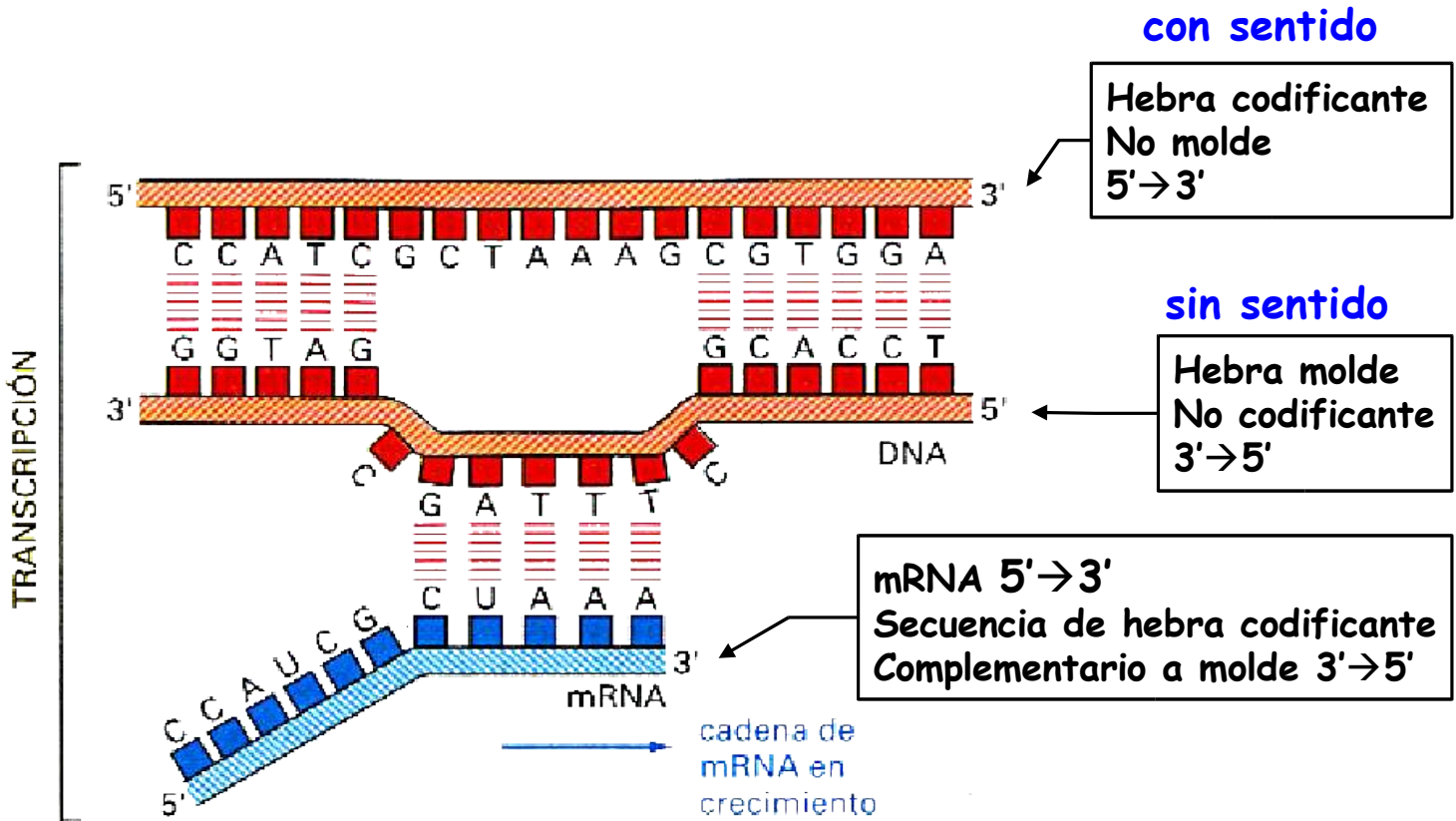
- Estructura de las RNAPol
- Estructura de los promotores
- Mecanismo de la transcripción
 - Ensamblaje
 - Iniciación
 - Elongación
 - Terminación

➤ Procesamiento del transcrito primario (pre-mRNA)

- Caperuza 5'
- Corte y poliadenilación 3'
- Eliminación de intrones (splicing)
- Edición

➤ Transporte nucleo-citoplasmático

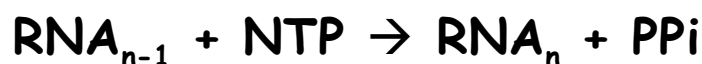
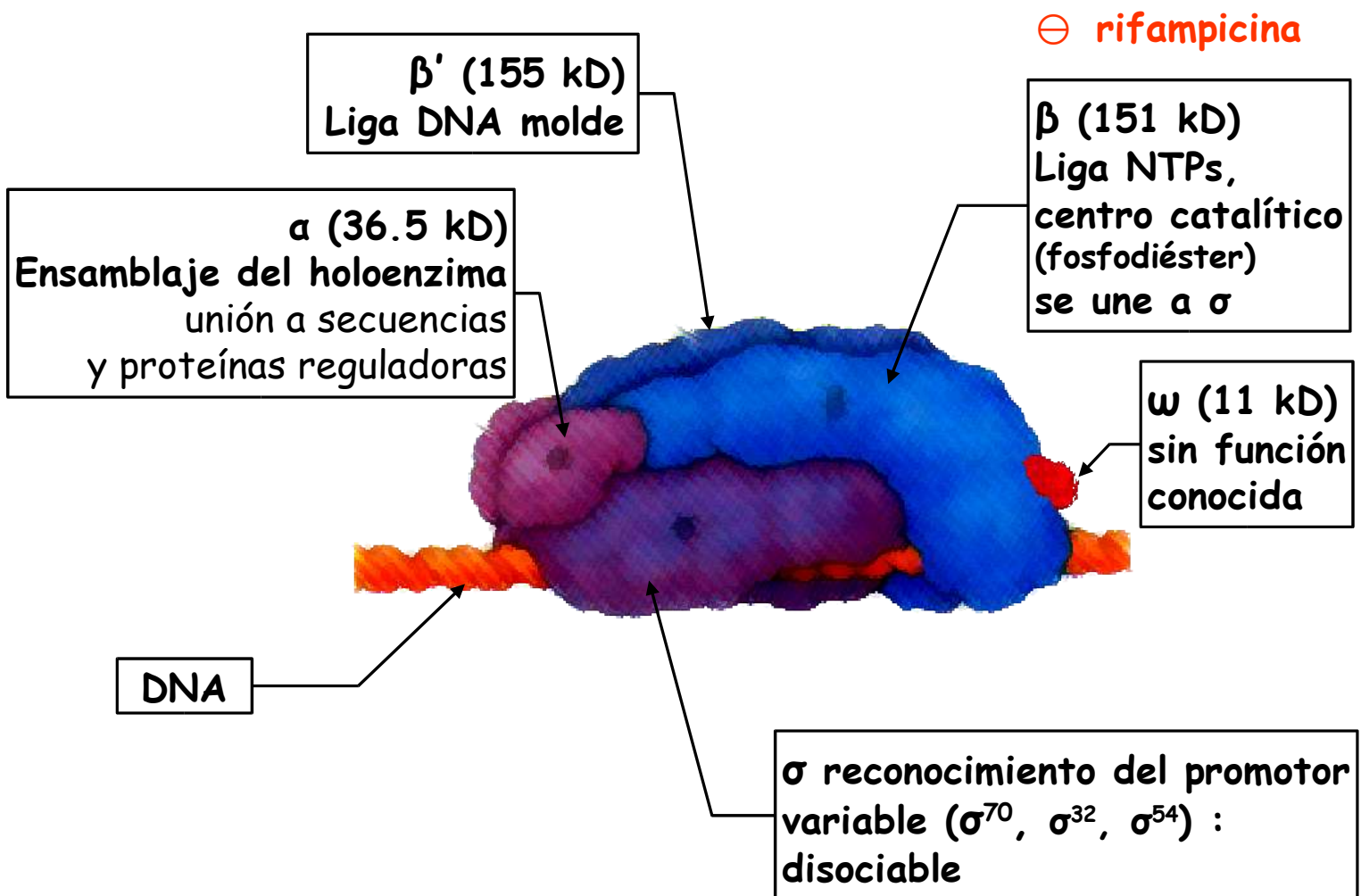
Convenios y nomenclatura en el sentido de transcripción y traducción



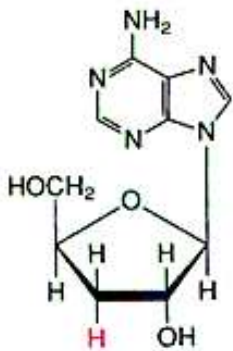
RNA polimerasa bacteriana

➤ RNA pol de E. coli

- Hexámero de 465 kD ($\alpha_2\beta\beta'\omega\sigma$)
- Requiere molde de DNA
- Utiliza NTP, libera PPi
- No necesita cebador
- Carece de 3' exonucleasa (corrección)
- Transcribe todos los tipos de RNA

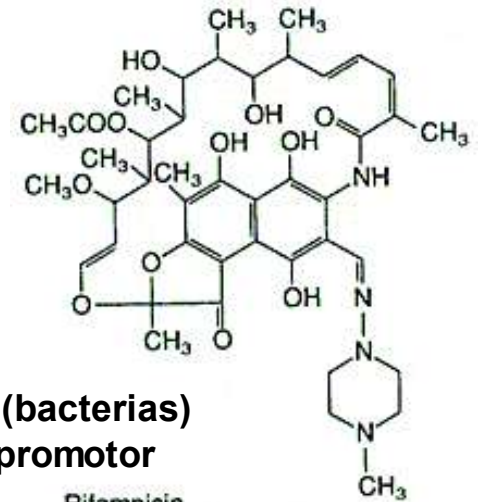


Inhibidores de RNA polimerasas



Cordycepin (3'-deoxyadenosine)

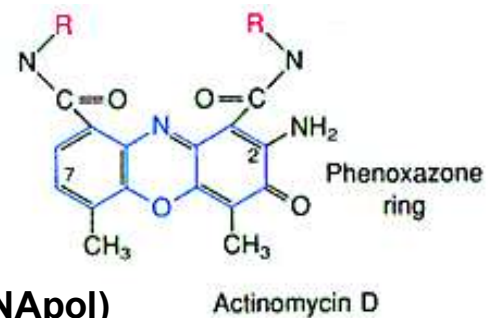
**Carece de 3'OH
impide crecimiento
(pro/eucariotas)**



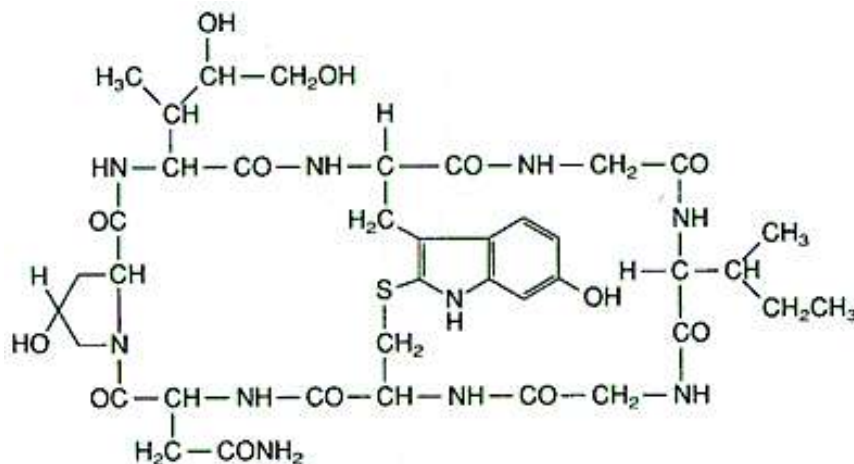
**Rifampicina:
se une a RNAPol β (bacterias)
impide desalojo el promotor**

Rifampicin

**Actinomicina D:
intercala entre GC adyacentes
distorsiona dúplex
impide progreso de la burbuja (RNAPol)
(pro/eucariotas)**



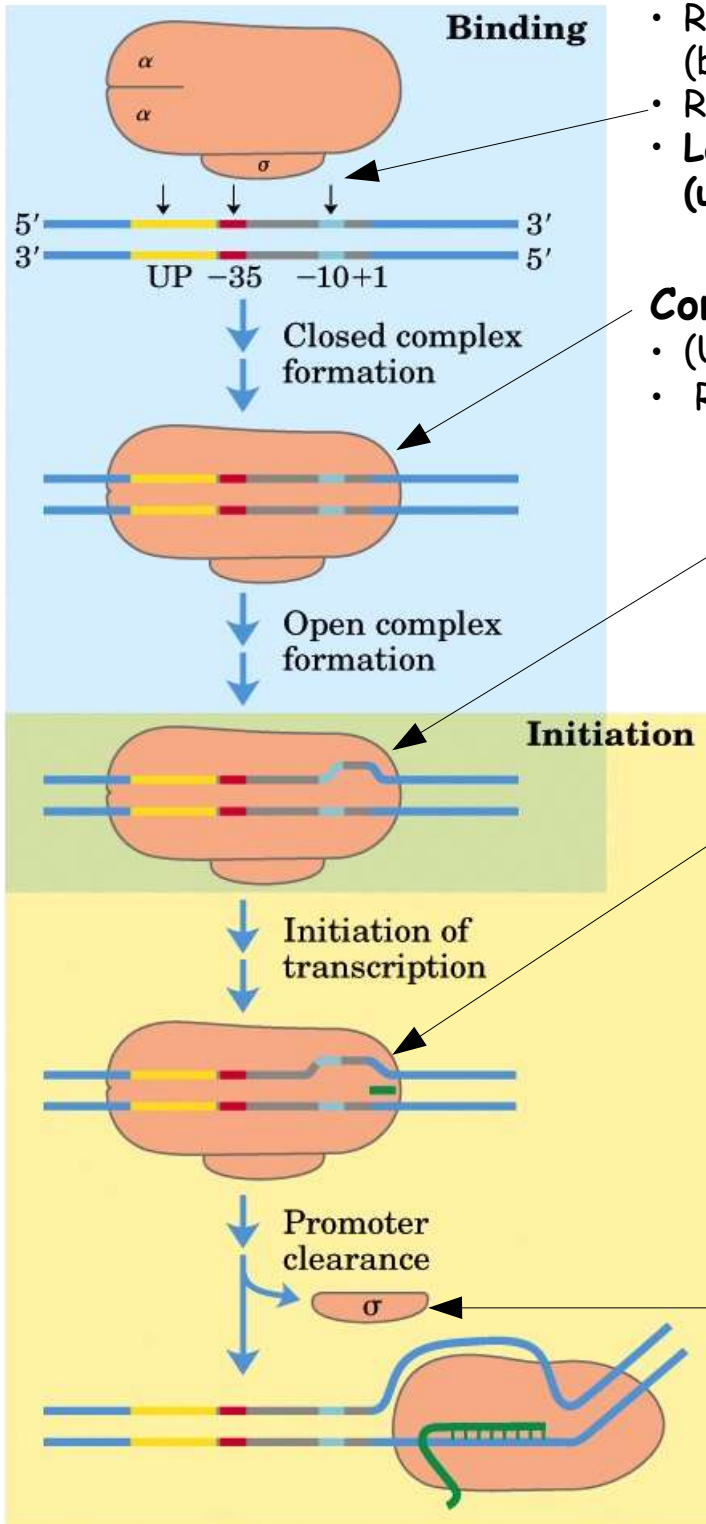
Actinomycin D



α-Amanitin

**α-amanitina:
bloquea RNAPol II>RNAPol III
(eucariotas)**

Transcripción en procariontes: ensamblaje de RNAPol e iniciación



Reconocimiento del promotor por σ

- RNAPol se une inespecíficamente al DNA (baja afinidad)
- Recorre el dúplex buscando el promotor
- La subunidad σ reconoce el promotor (unión a caja -35, alta afinidad)

Complejo promotor cerrado

- (Unión RNAPol/DNA enrollado, $K_d = 10^{-6}$ - 10^{-9} M)
- RNAPol se desplaza hacia la caja Pribnow.

Complejo promotor abierto

- La actividad helicasa de σ desenrolla ≈ 12 - 15 pb hasta $+2$.
- burbuja de transcripción. Unión de muy alta afinidad, $K_d = 10^{-14}$ M

Iniciación

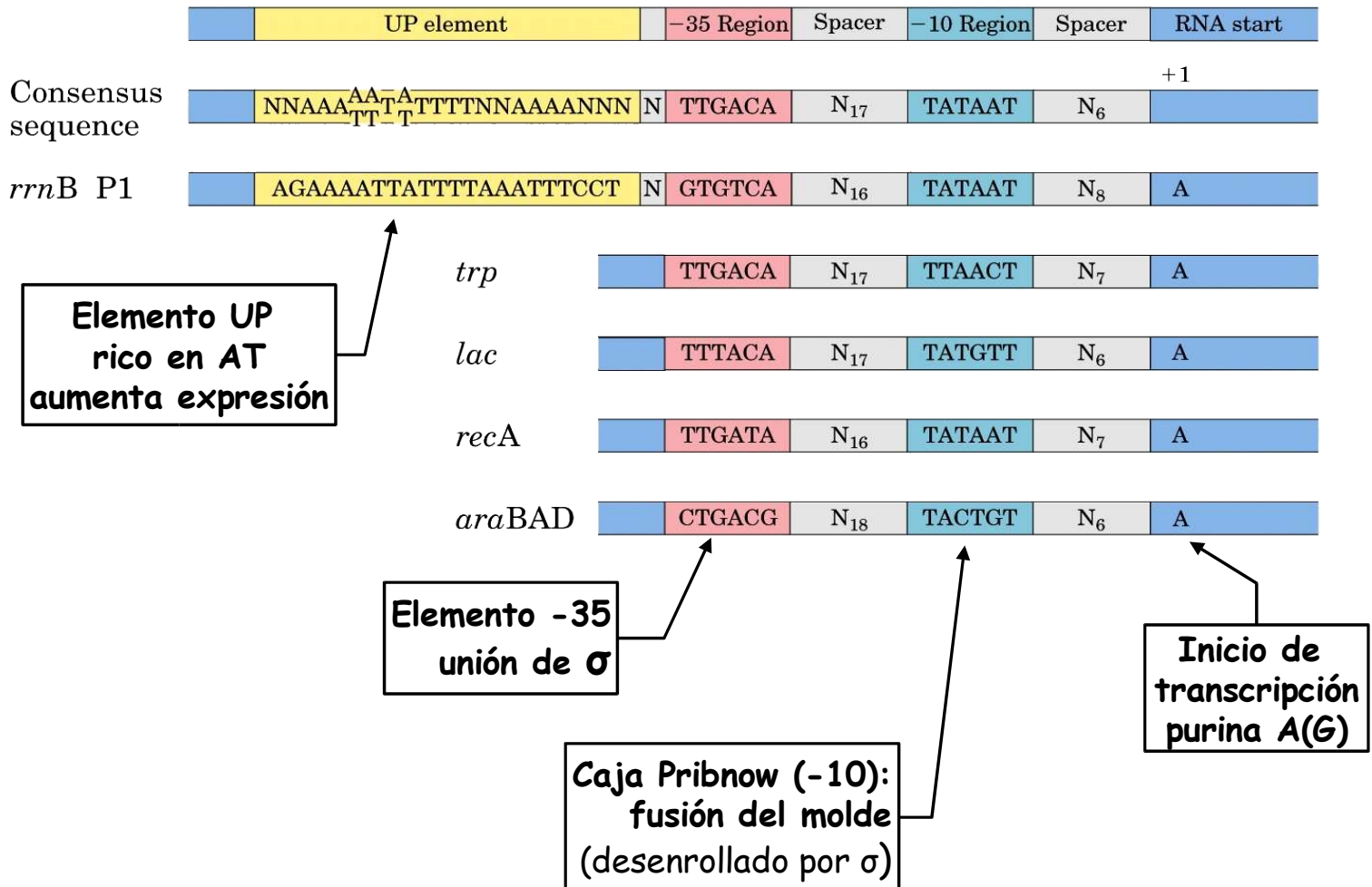
- 2 sitios de unión de NTPs en la RNAPol
Sitio de iniciación: preferentemente A,G
Sitio de elongación: segundo nucleótido
- El 3'-OH del nucleótido en el lugar de iniciación ataca y se une al α -P del NTP en el otro sitio
- La RNAPol transloca 1 pb y repite ciclo, alargando la cadena nascente de RNA

Desalojo del promotor

- Cuando el transcrito tiene 6-10 nucleótidos la subunidad σ se disocia

Promotores procarióticos

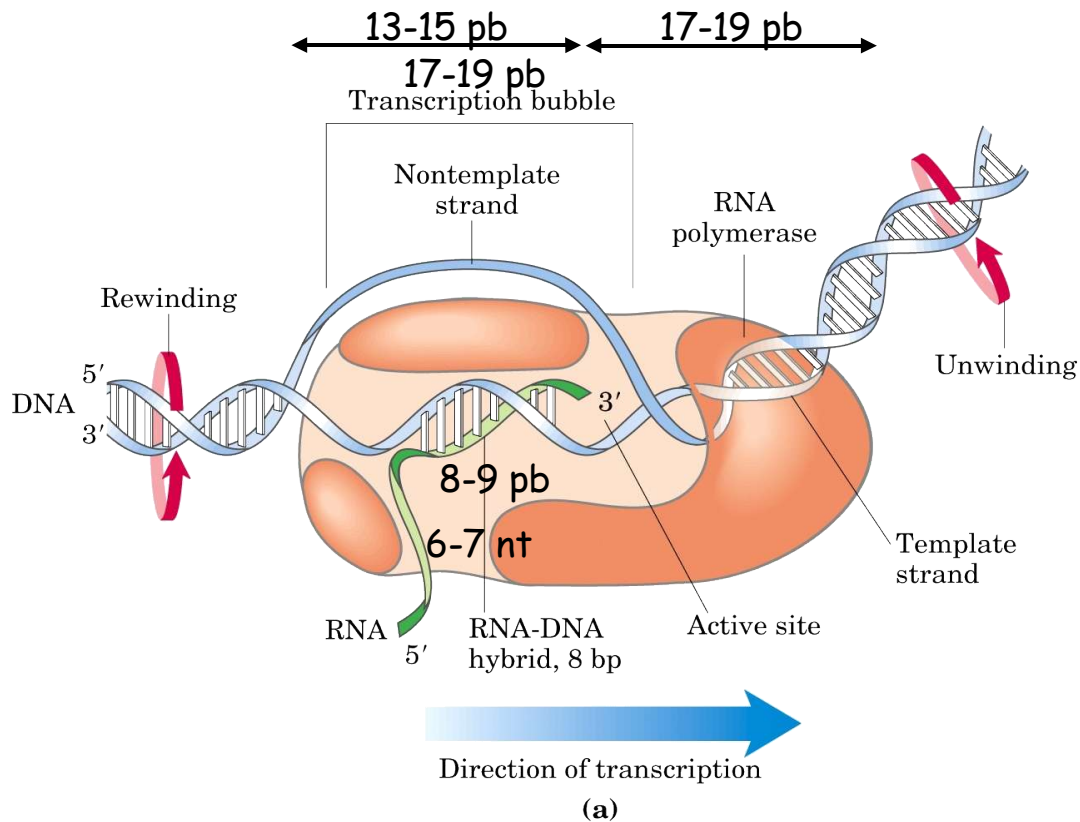
- Región de ≈40 pb 5' respecto al inicio
- 2 elementos conservados
- Un elemento opcional más hacia 5' (UP element)



Subunidades σ específicas reconocen promotores diferentes

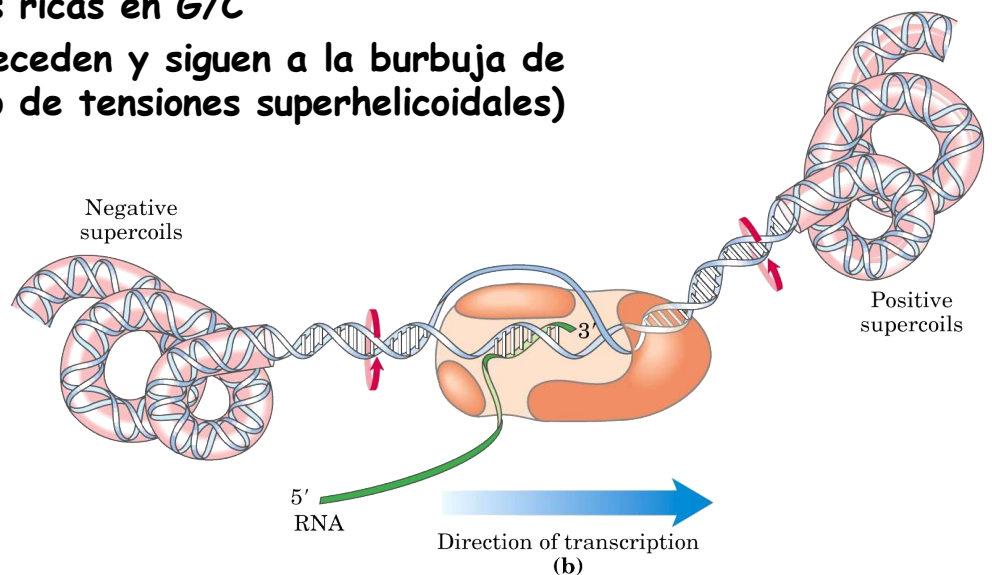
| | <u>Caja -35</u> | <u>Caja -10</u> | <u>función</u> |
|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------------|
| σ^{70} : | TTGACAT | TATAAT | general |
| σ^{32} : | TTCNCCCTTGAA | CCCATNTA | choque térmico (HSP) |
| σ^{28} : | CTAA | CCGATAT | movilidad y quimiotaxis |

Mecanismo de la transcripción: elongación



➤ Núcleo de RNA polimerasa (sin σ)

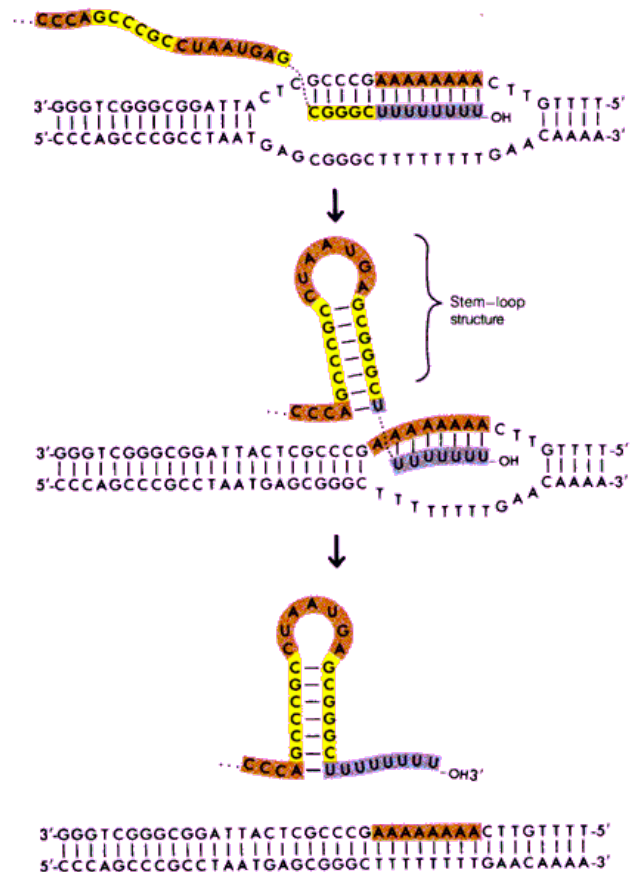
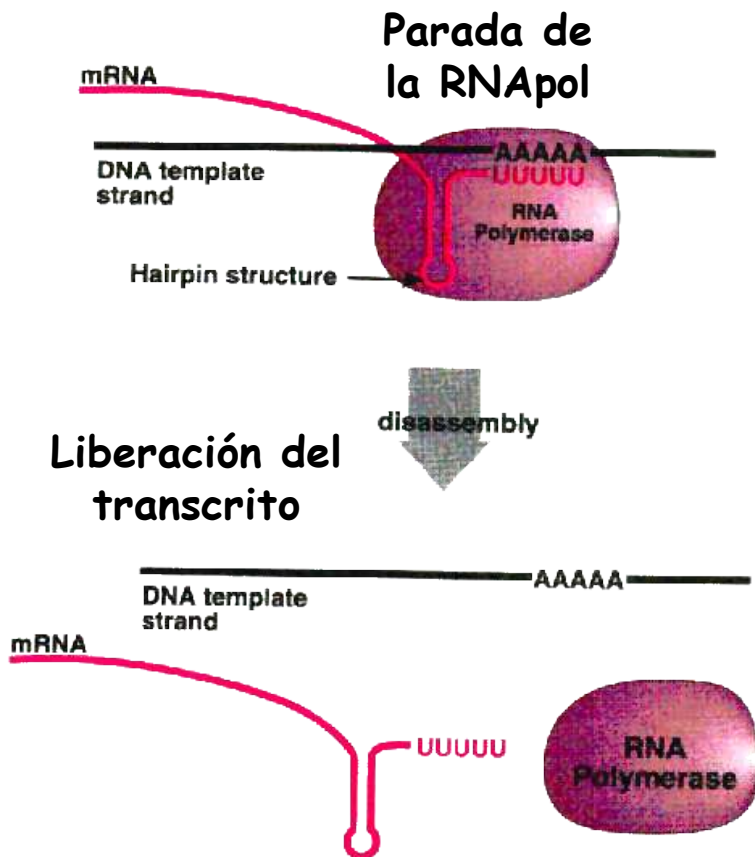
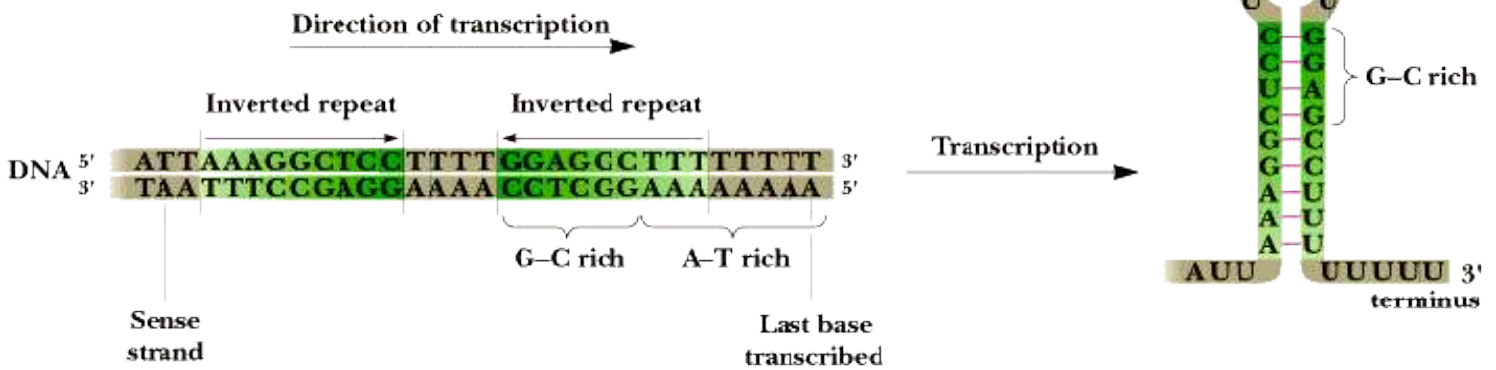
- RNA pol es procesiva
- Fidelidad media (10^{-4} errores)
(adecuado para transcritos de <10000 nt)
- Velocidad 20-50 bases/segundo.
Más lento en zonas ricas en G/C
- Topoisomerasas preceden y siguen a la burbuja de transcripción (alivio de tensiones superhelicoidales)



Transcripción en procariontes: terminación independiente de ρ

- **Secuencia señal de terminación:**
 - Palíndromo rico en GC: horquilla
 - Secuencia rica en T (U)

Mecanismo más frecuente

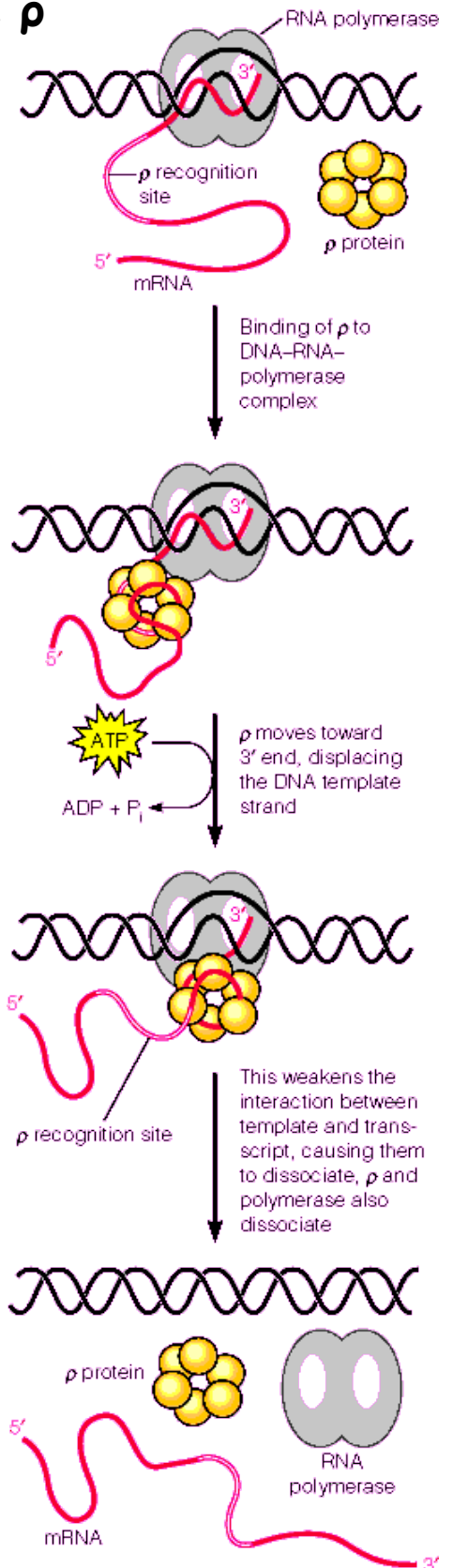
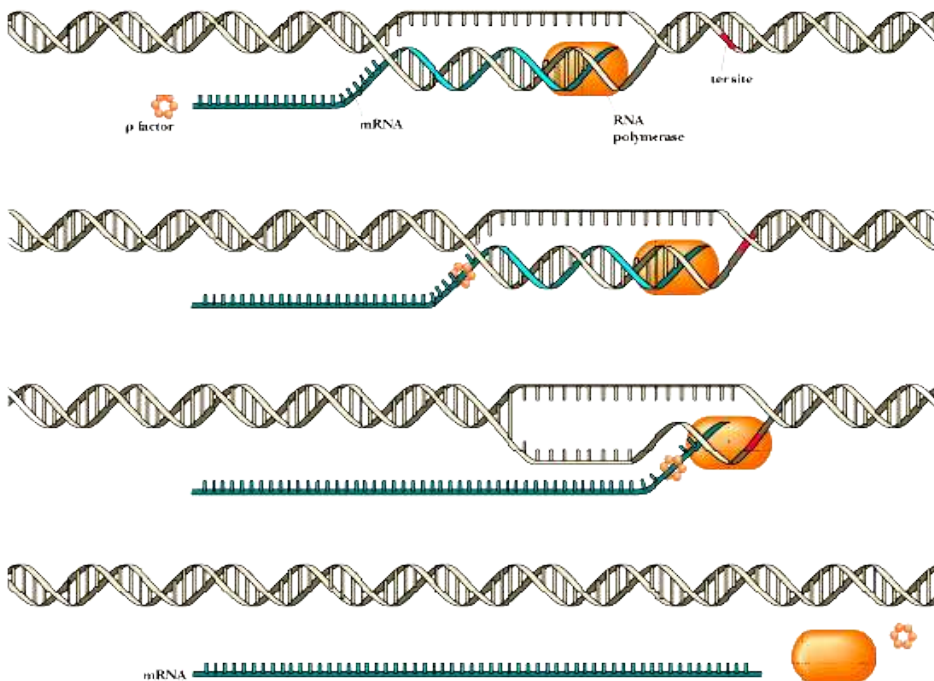


Transcripción en procariotas: terminación dependiente de ρ

➤ Señales de terminación dependientes de ρ

- sin secuencia definida
- ρ se une a secuencias específicas en el transcrito
- Migra 5'→3' hasta la burbuja transcripcional
- Actividad DNA/RNA helicasa (ATP-dependiente)

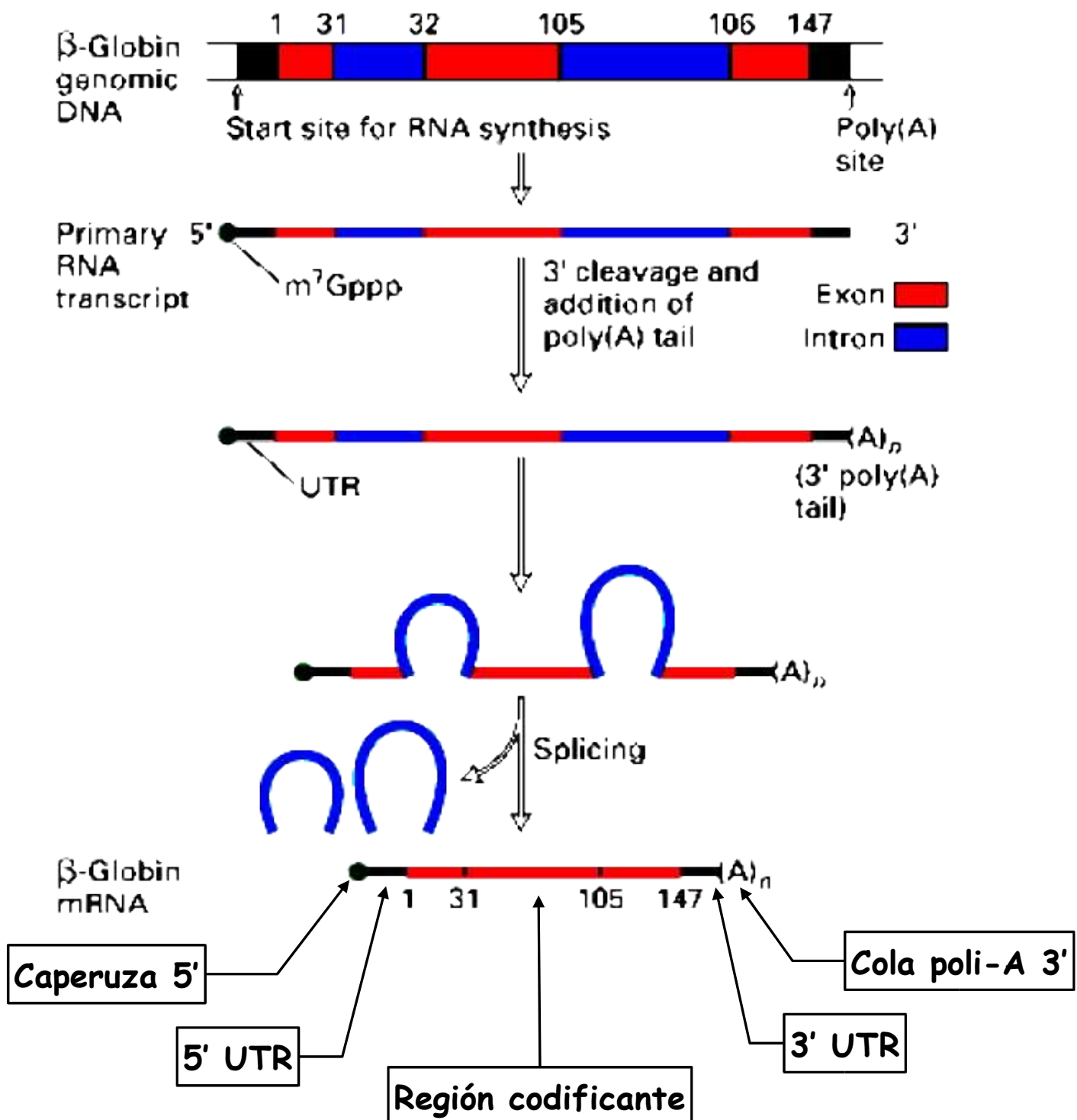
Mecanismo menos frecuente



Transcripción en eucariotas

➤ Estructura del mRNA eucariótico:

- Caperuza 5' (estabilización)
- 5' UTR (regulación)
- Región codificante
- 3'UTR (regulación)
- Cola de poli-A 3' (estabilización)



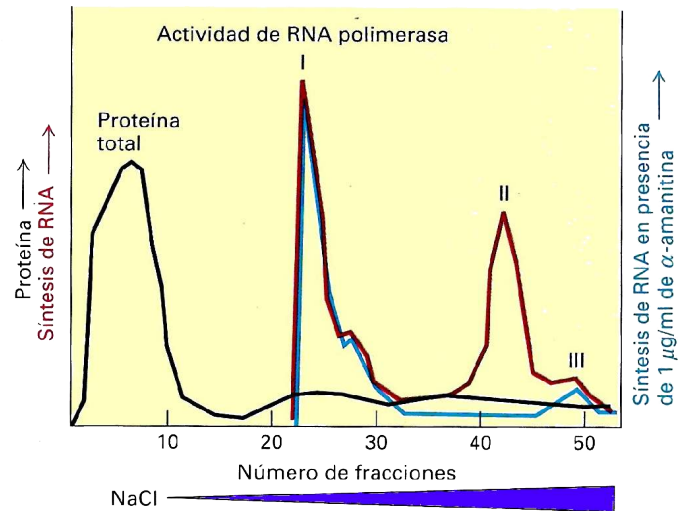
RNA polimerasas eucarióticas

➤ Tres polimerasas diferentes

- RNAPol I: pre-rRNA (nucleolo)
- RNAPol II: general (mRNA)
- RNAPol III: genes RNA (tRNA, snRNA etc)

➤ Sensibilidad a α -amanitina

Pol II > polIII >> polI, RNAPol bact
 10 μ M 100 μ M



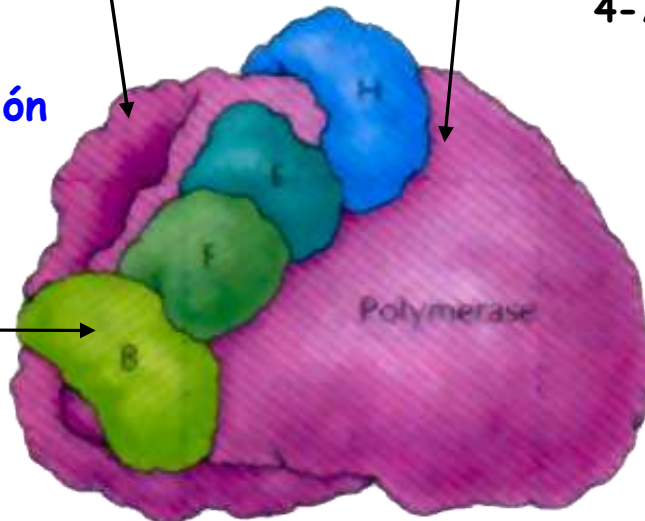
2 subunidades grandes
 RPB1, RPB2 (130-220KD)
 homólogas a β, β' de E. coli

Proteínas grandes multiméricas
 \approx 12 subunidades (500-700 kD)

Estructura y función
 conservadas

5 comunes
 4-7 específicas

2 subunidades
 homólogas a la α
 de E. coli
 RPB3 (20-40 kD)



➤ Interacción con promotores

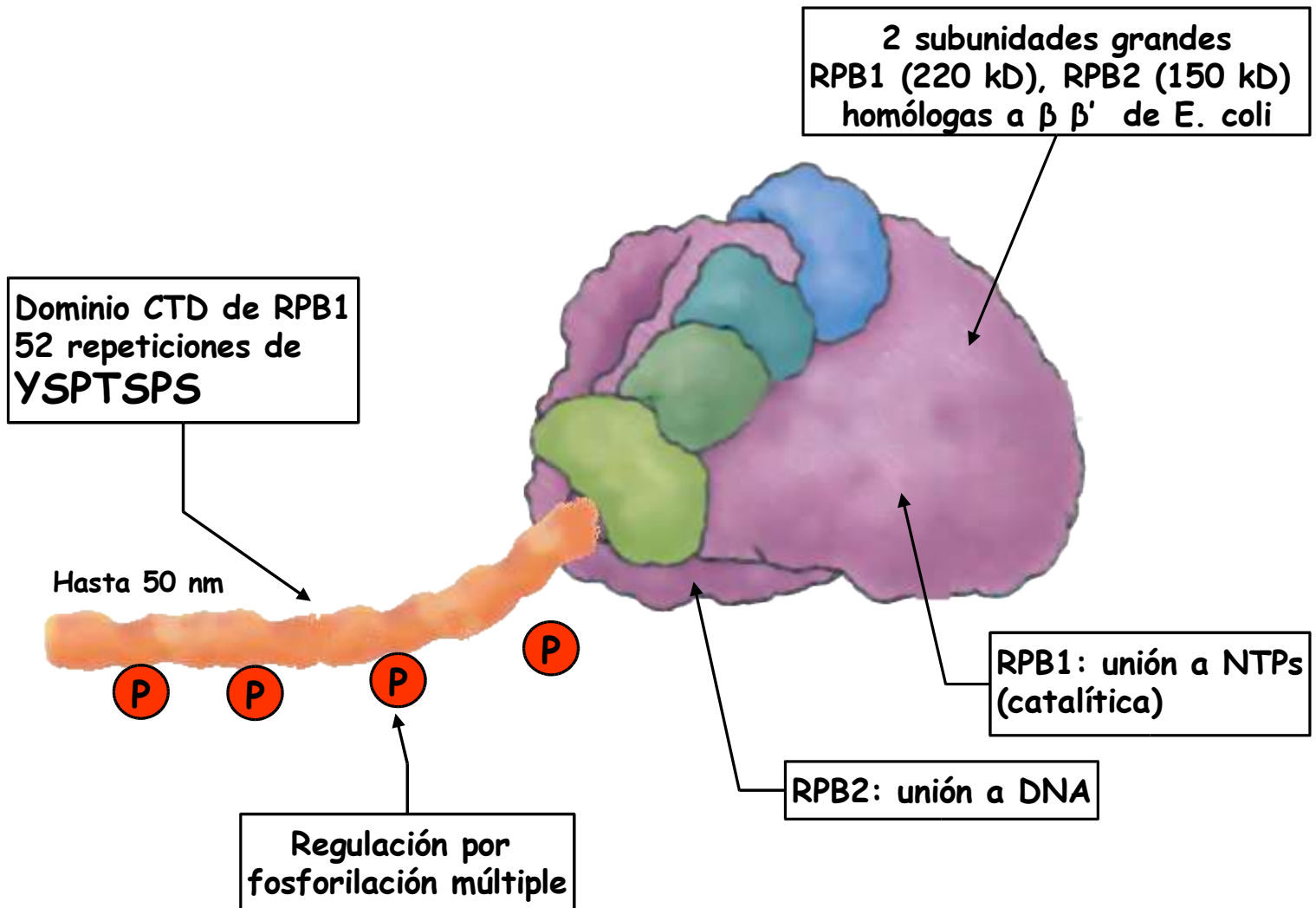
- A través de RPB4
- Requiere factores adicionales
- específicos de promotor
- RNAPol III reconoce señales 3'

Factores de
 Transcripción

RNA polimerasa II

➤ Transcripción de genes de proteínas

- Reconoce variedad de promotores
- Ampliamente regulable
- Requiere al menos 7 factores de transcripción generales
- Dominio carboxi-terminal (CTD) fosforilable



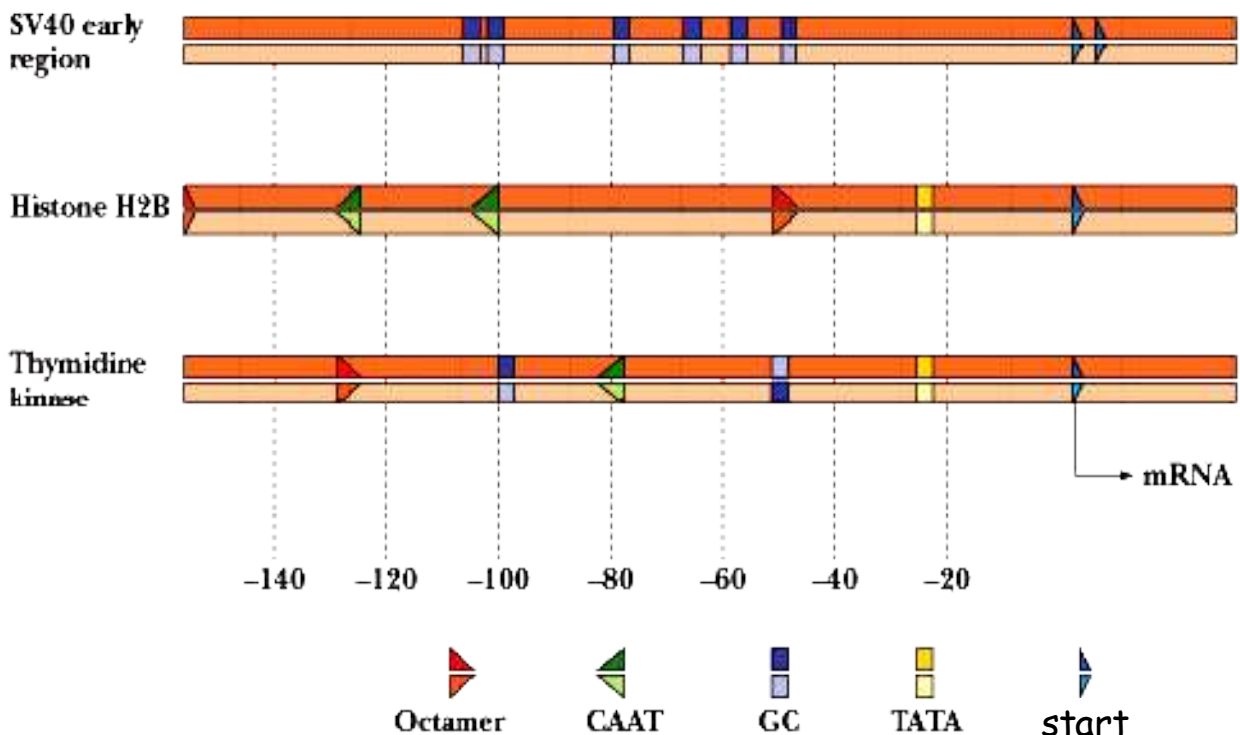
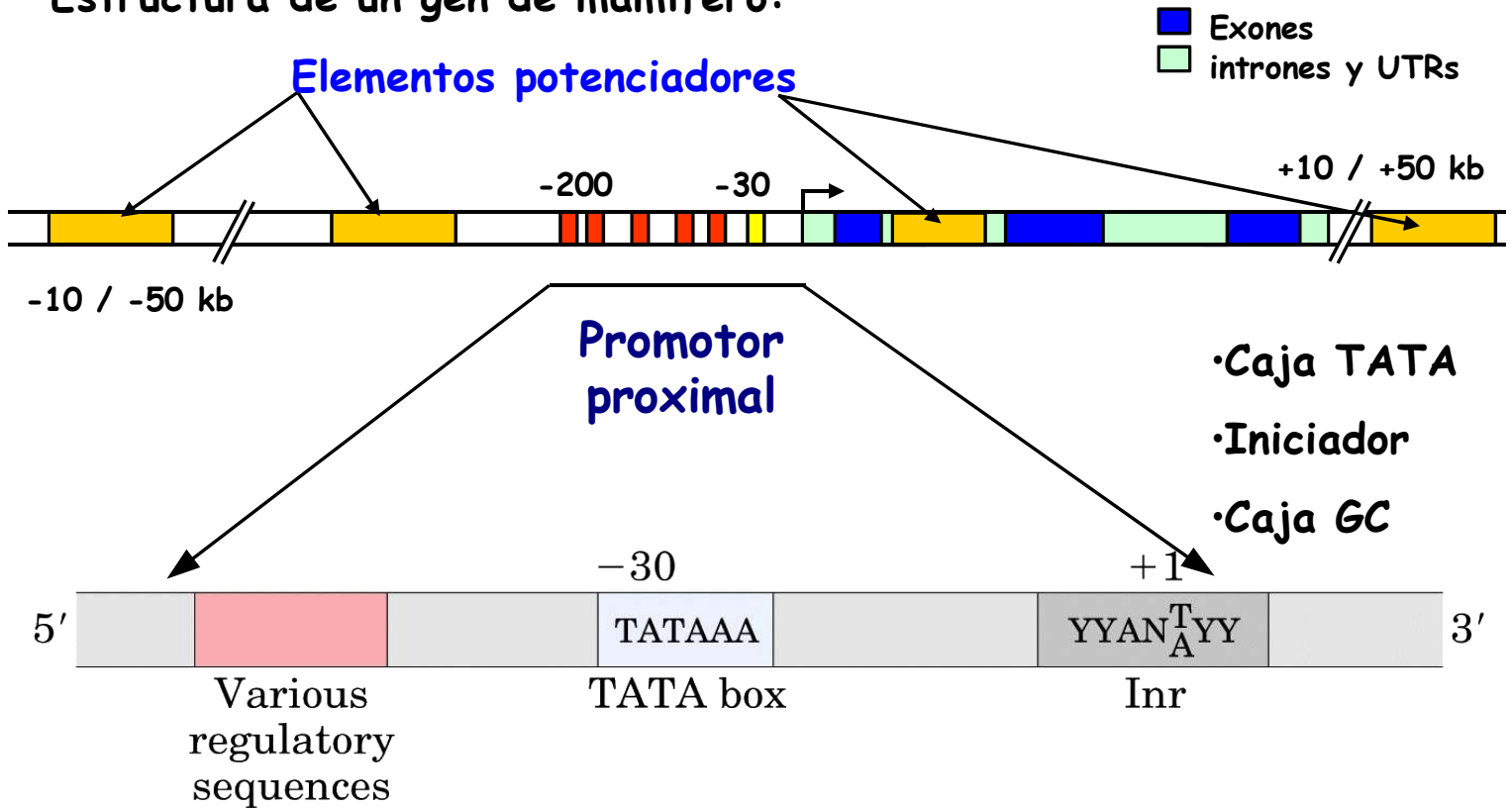
Funciones de CTD: Regulación

- Unión al promotor: desfosforilado
- Iniciación: fosforilado
- Unión de proteínas accesorias

Procesamiento
del pre-mRNA

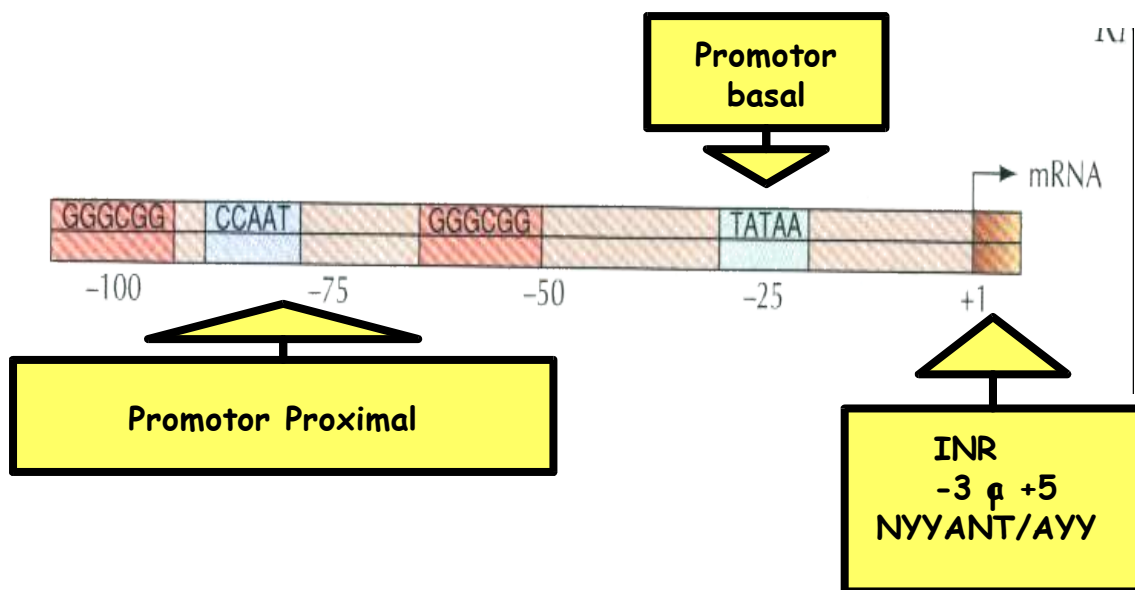
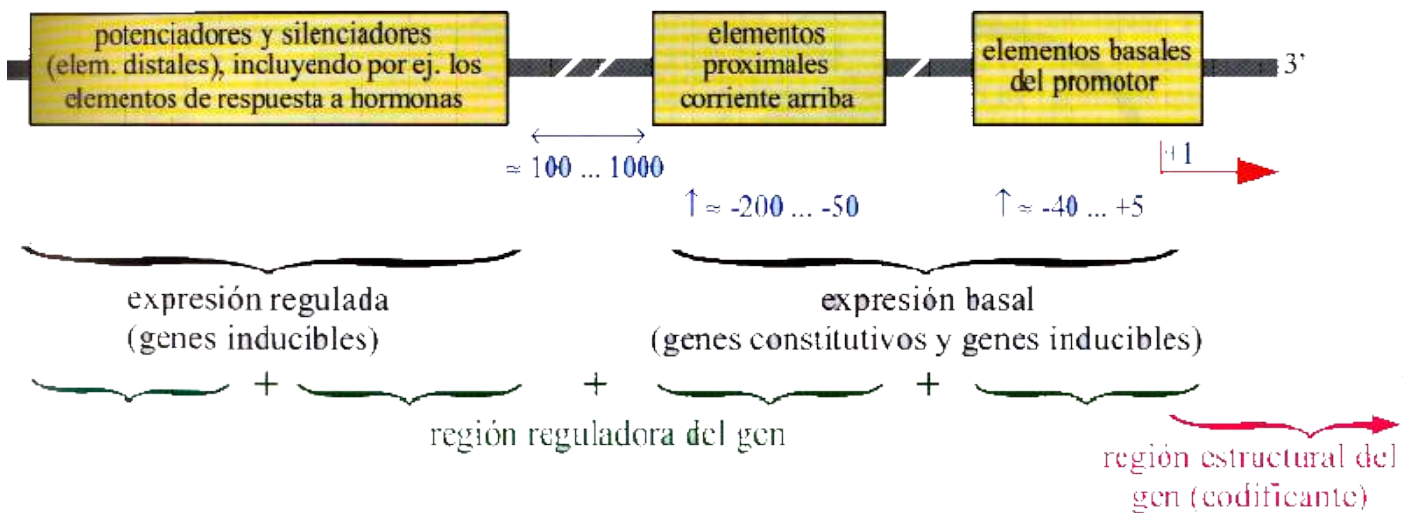
Promotores eucarióticos: promotor proximal (core promoter)

Estructura de un gen de mamífero:



Elementos reguladores Cis (secuencias promotoras) y Elementos reguladores trans (factores de transcripción)

Tanto los elementos reguladores Cis (basales, proximales y distales), como los elementos reguladores trans (factores de transcripción) se caracterizaron usando una combinación de técnicas de DNA-footprinting y Cromatografía de afinidad.



Factores de transcripción asociados a RNAPol II

table 26–1

Proteins Required for Transcription at the RNA Polymerase II Promoters of Eukaryotes

| Transcription factor | Number of subunits | Subunit M_r | Functions |
|----------------------------|--------------------|-------------------------|---|
| Initiation | | | |
| RNA polymerase II | 12 | 10,000–220,000 | Catalyzes RNA synthesis |
| TBP (TATA-binding protein) | 1 | 38,000 | Specifically recognizes the TATA box |
| TFIIA | 3 | 12,000, 19,000, 35,000 | Stabilizes binding of TFIIIB and TBP to the promoter |
| TFIIIB | 1 | 35,000 | Binds to TBP; recruits RNA polymerase–TFIIF complex |
| TFIID | 12 | 15,000–250,000 | Interacts with positive and negative regulatory proteins |
| TFIIE | 2 | 34,000, 57,000 | Recruits TFIIH; ATPase and helicase activities |
| TFIIF | 2 | 30,000, 74,000 | Binds tightly to RNA polymerase II; binds to TFIIIB and prevents binding of RNA polymerase to nonspecific DNA sequences |
| TFIIH | 12 | 35,000–89,000 | Unwinds DNA at promoter; phosphorylates RNA polymerase; recruits nucleotide-excision repair complex |
| Elongation* | | | |
| ELL [†] | 1 | 80,000 | |
| P-TEFb | 2 | 43,000, 124,000 | |
| SII (TFIIS) | 1 | 38,000 | |
| Elongin (SIII) | 3 | 15,000, 18,000, 110,000 | |

*All elongation factors suppress the pausing or arrest of transcription by the RNA polymerase II – TFIIF complex.

[†]The name is derived from the term *eleven-nineteen lysine-rich leukemia*. The gene for the factor ELL is the site of chromosomal recombination events frequently associated with the cancerous condition known as acute myeloid leukemia.

Pasos clave en la transcripción del DNA por RNAPol II

➤ Ensamblaje:

Construcción secuencial y ordenada del complejo de iniciación

- Reconocimiento del promotor
- Unión de RNAPolII (CTD desfosforilado)

Hasta el complejo de preiniciación

➤ Iniciación:

Desenrollado del molde y activación de la polimerización

- Apertura del complejo
- Activación de la RNAPol
- Fosforilación del CTD

Actividad de TFIIH

Hasta el desalojo del promotor

➤ Elongación:

Crecimiento del transcrito por polimerización de NTPs sobre el molde

- Disociación de factores generales
- Reclutamiento de factores de elongación
- Reclutamiento por CTD de RNPs para procesamiento (capping, splicing)

Mientras no termine

➤ Terminación:

Acoplamiento de corte y poliadenilación con terminación

- Reclutamiento del complejo de poliadenilación (reconocimiento de la señal AUAAA)
- Corte y liberación del transcrito: desactivación de RNAPol
- Poliadenilación 3'

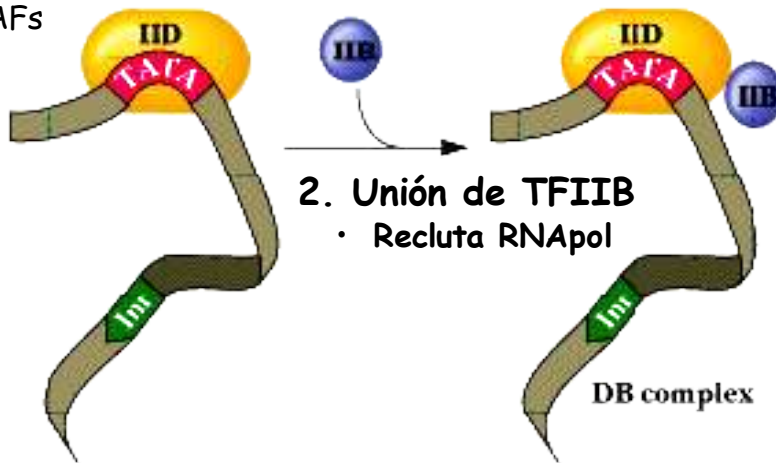
Ensamblaje de RNAPol II sobre el promotor

1. Reconocimiento de promotor

- unión de TBP
- unión de TFIID (y/o TFIIA)

TFIID=

- TBP o similar
- 11 TAFs



2. Unión de TFIIB

- Recluta RNAPol

3. Reclutamiento de RNAPol II

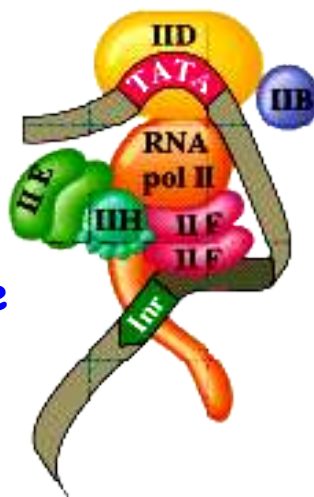
- unida a TFIIF
- CTD desfosforilado



TFIIF inhibe la unión no específica a sitios no promotores

9 subunidades
Se une a TFIIB

Complejo de iniciación cerrado



4. Formación del complejo cerrado

- unión de TFIIE
- unión de TFIIH



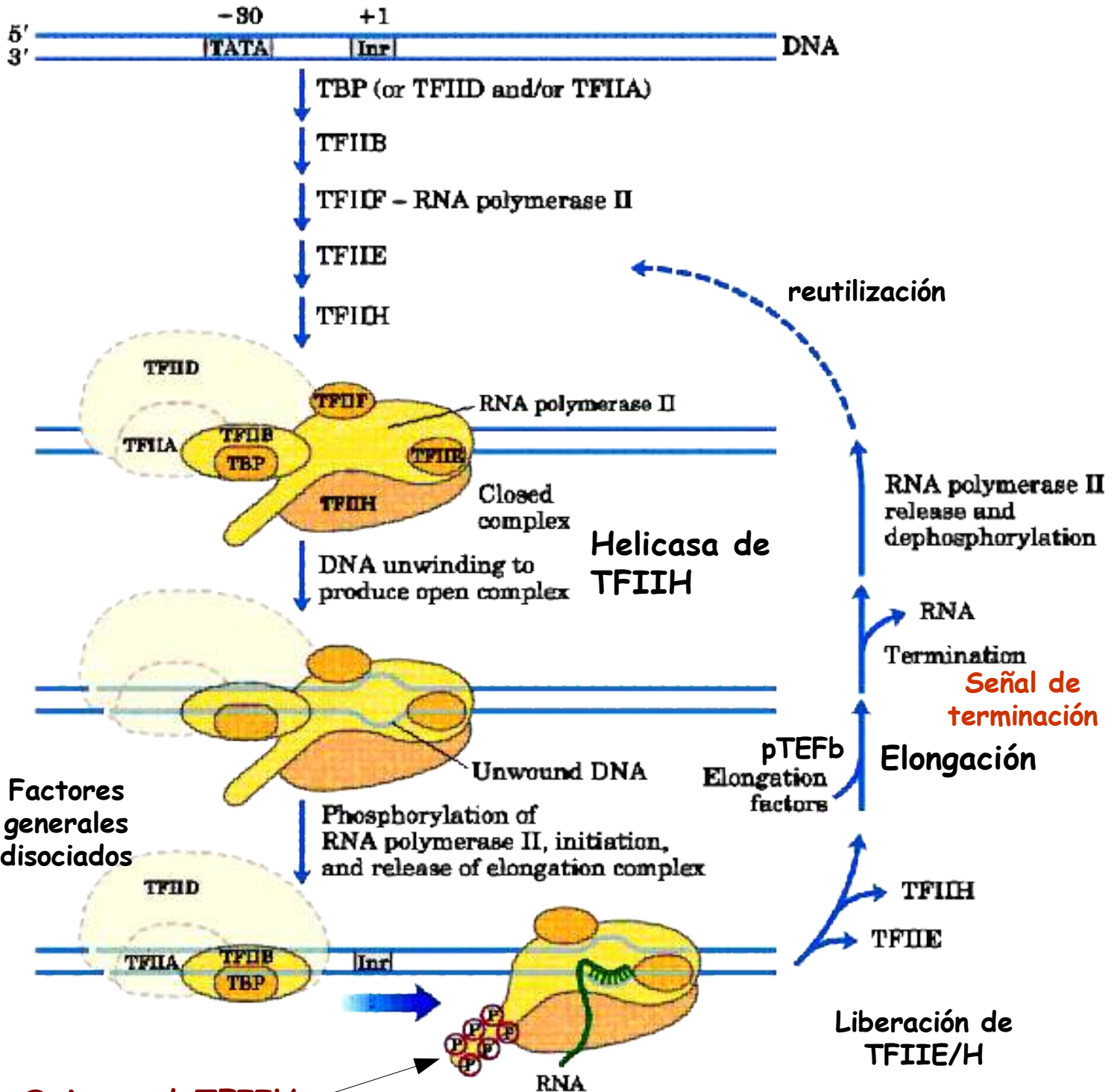
Complejo de pre-iniciación (PIC)

5. Apertura

- Actividad helicasa de TFIIE y TFIIH

Complejo de iniciación abierto

Inicio de la transcripción por RNAPol II



Quinasa de TFIIH:

- Fosforilación múltiple en CTD
- Activación de RNAPol II
- Disociación de TFIID/TBP-TFIIIB

Procesamiento del mRNA eucariótico

- Simultáneo a la elongación
- Factores reclutados por P-CTD

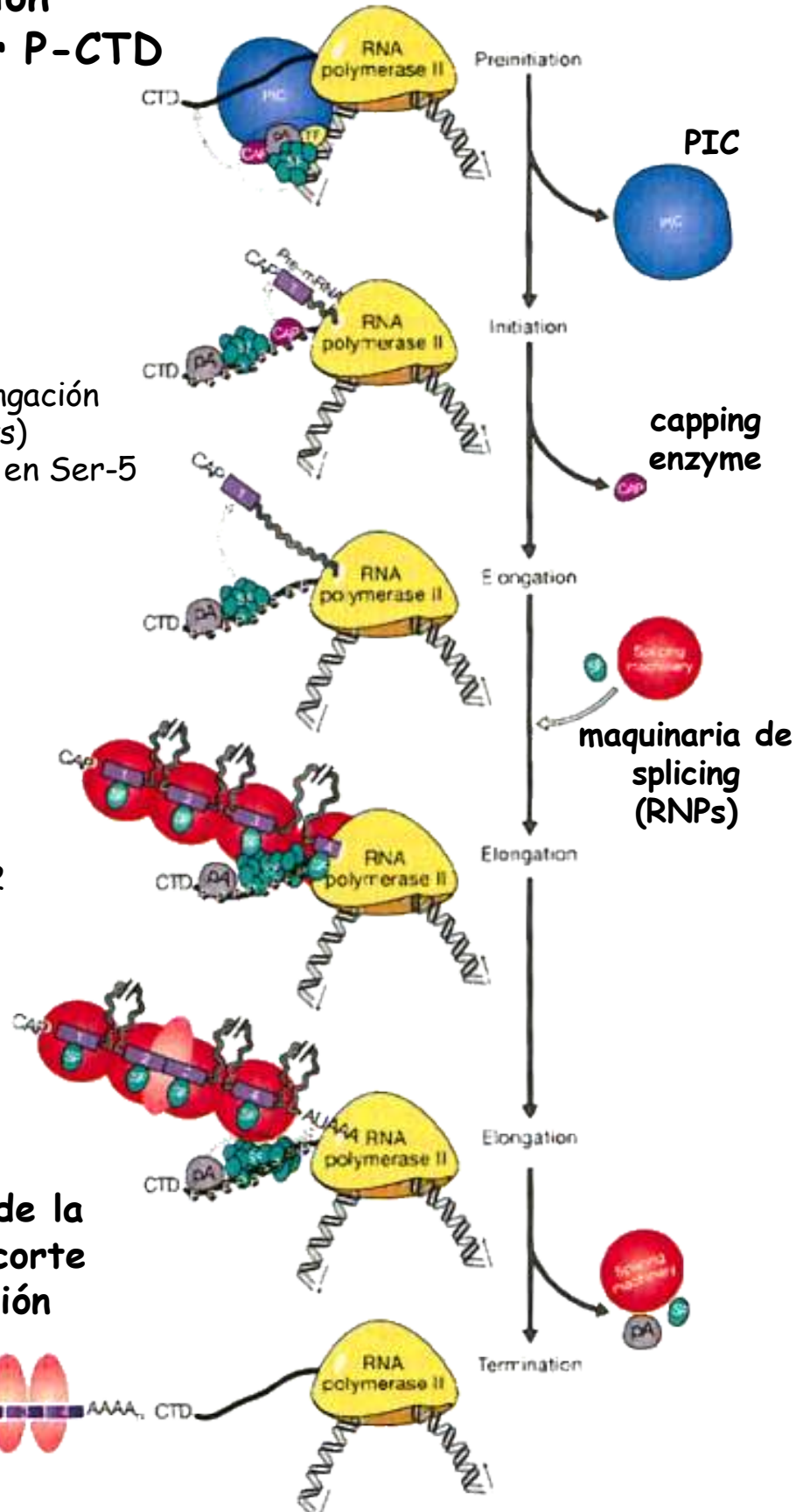
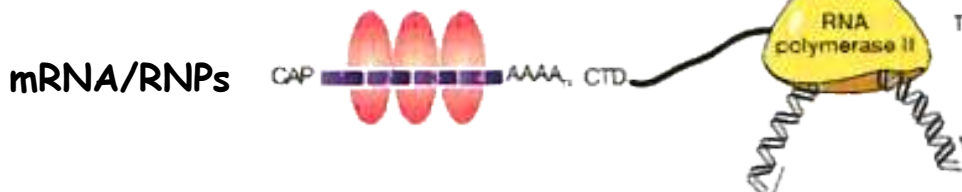
Reclutamiento de la capping enzyme

Caperuza formada en la transición iniciación-elongación (mRNA naciente 20-40 Nts)
Requiere desfosforilación en Ser-5

Reclutamiento de la maquinaria de splicing (RNPs)

Requiere fosforilación en Ser-2 por pTEF2b(quinasa)

Reclutamiento de la maquinaria de corte y poliadenilación



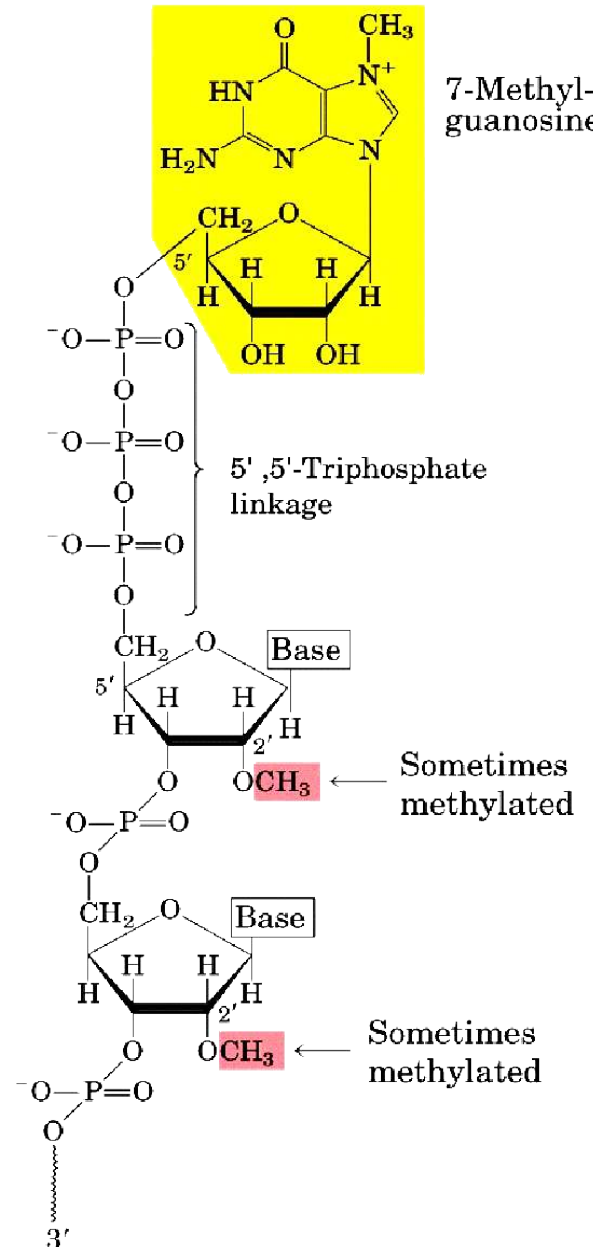
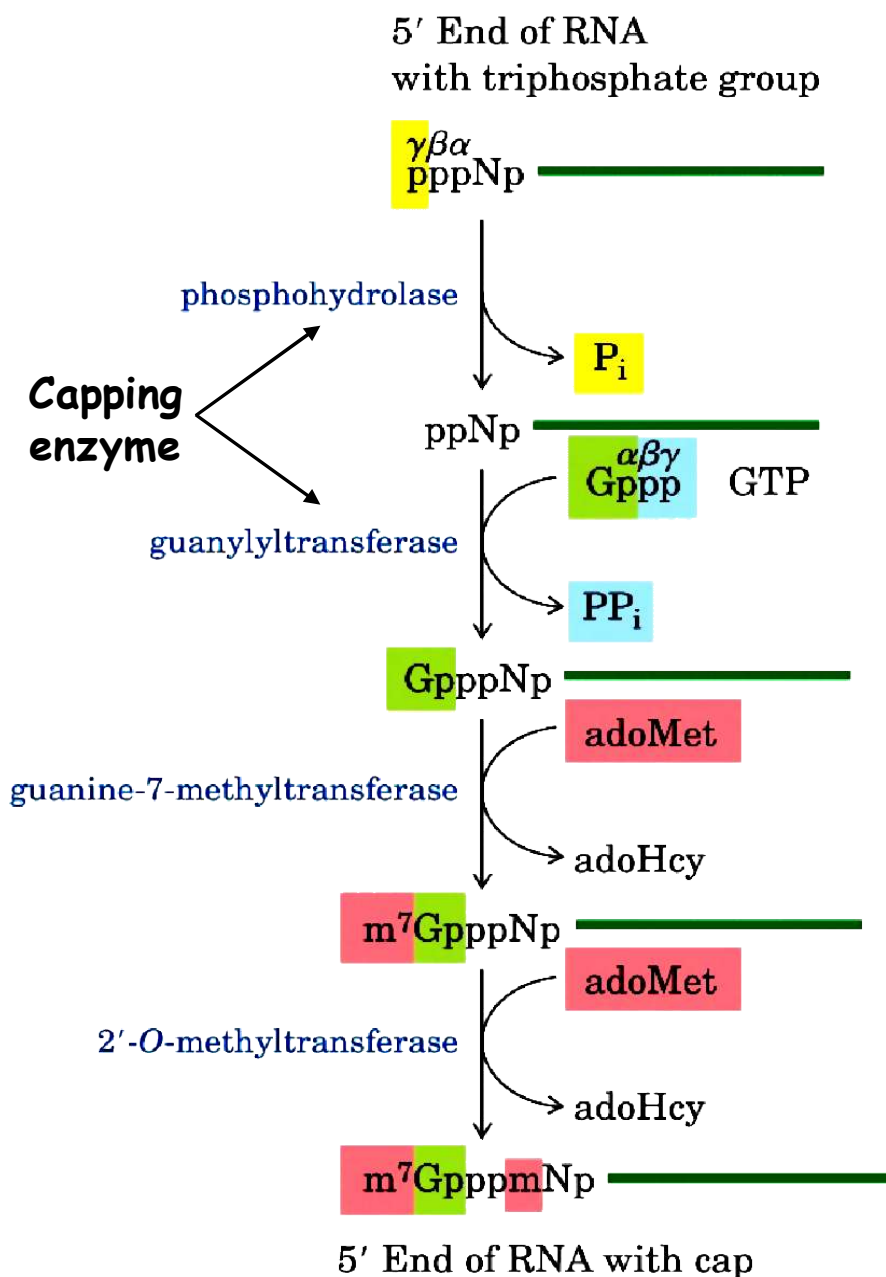
Procesamiento del mRNA: Formación de la caperuza 5'

Funciones de la caperuza:

- Protección de 5'exonucleasas
- Exportación del núcleo
- Reconocimiento por ribosomas

Síntesis:

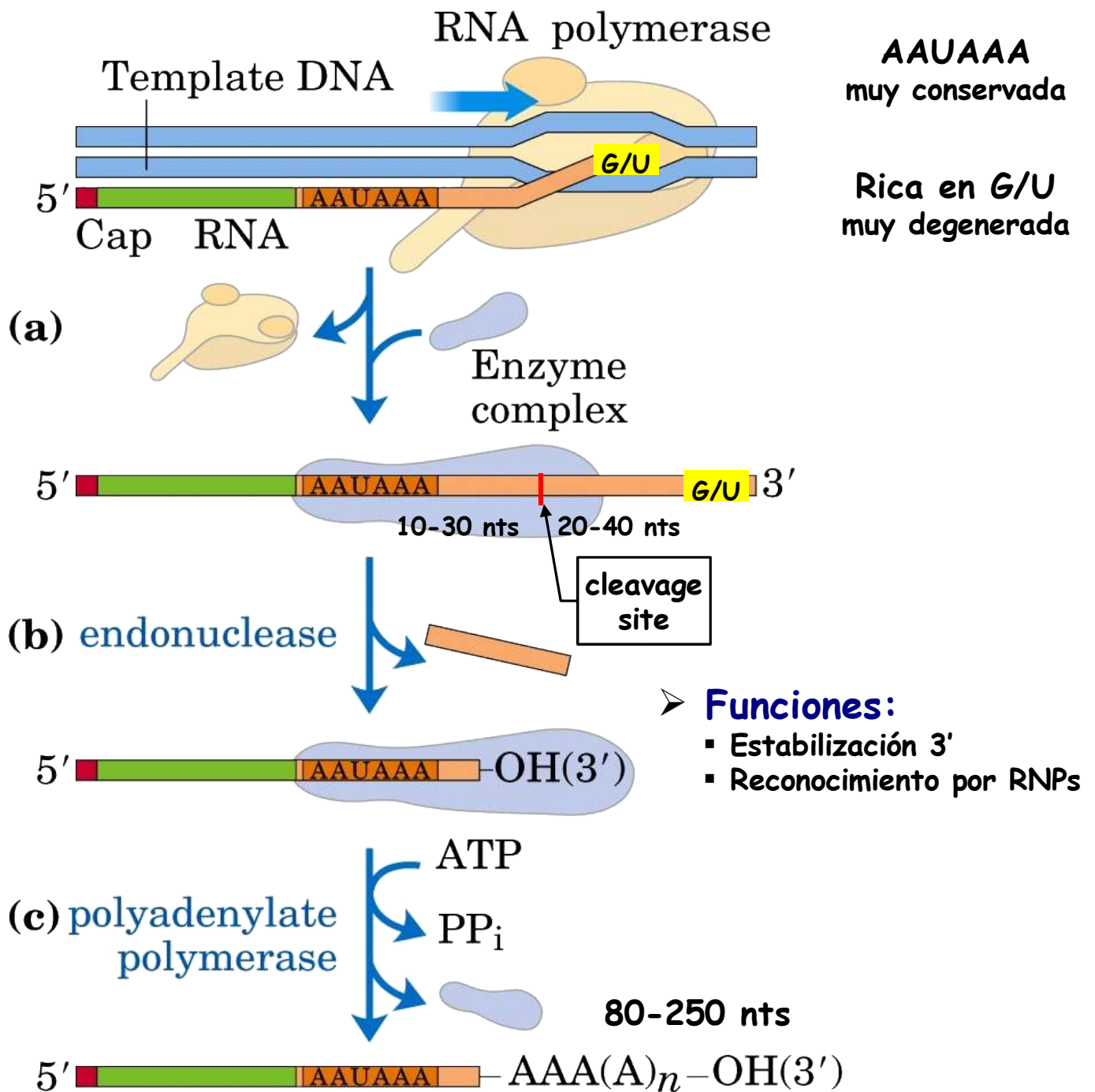
- Durante iniciación-elongación (25-30 nts)
- Enzima ligada a CTD-P de RNAPol II



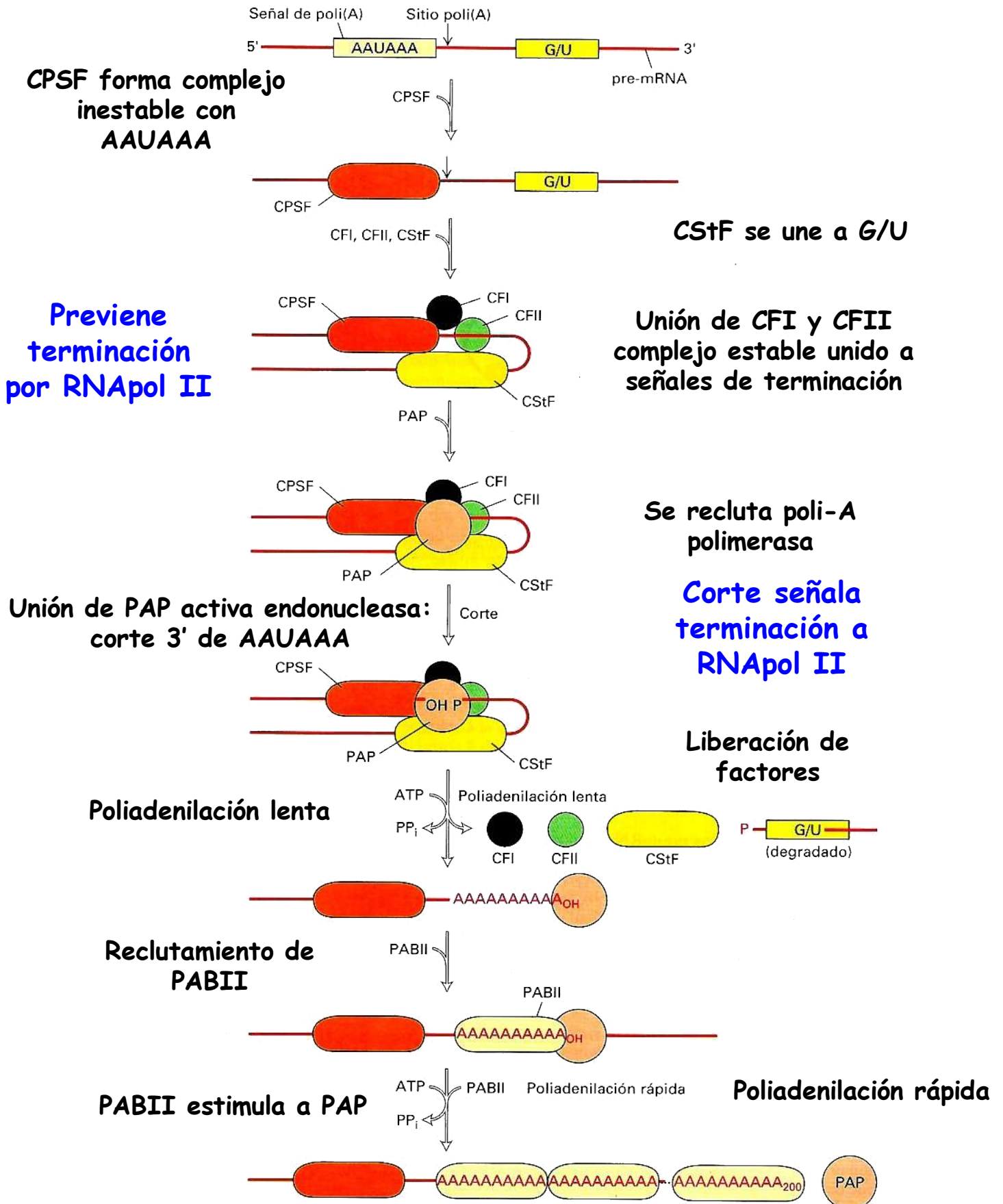
Procesamiento del mRNA: poliadenilación 3'

➤ Señal de terminación en DNA/transcrito:

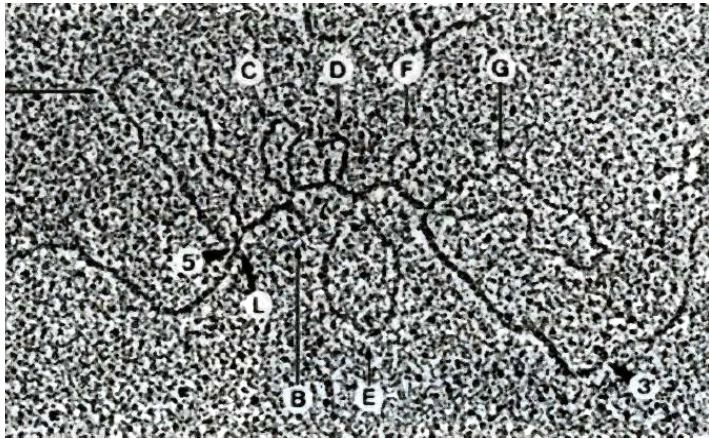
- Reclutamiento de endonucleasa
- Corte del transcrito termina la acción de RNAPolII
- Catalizado por componentes RNP



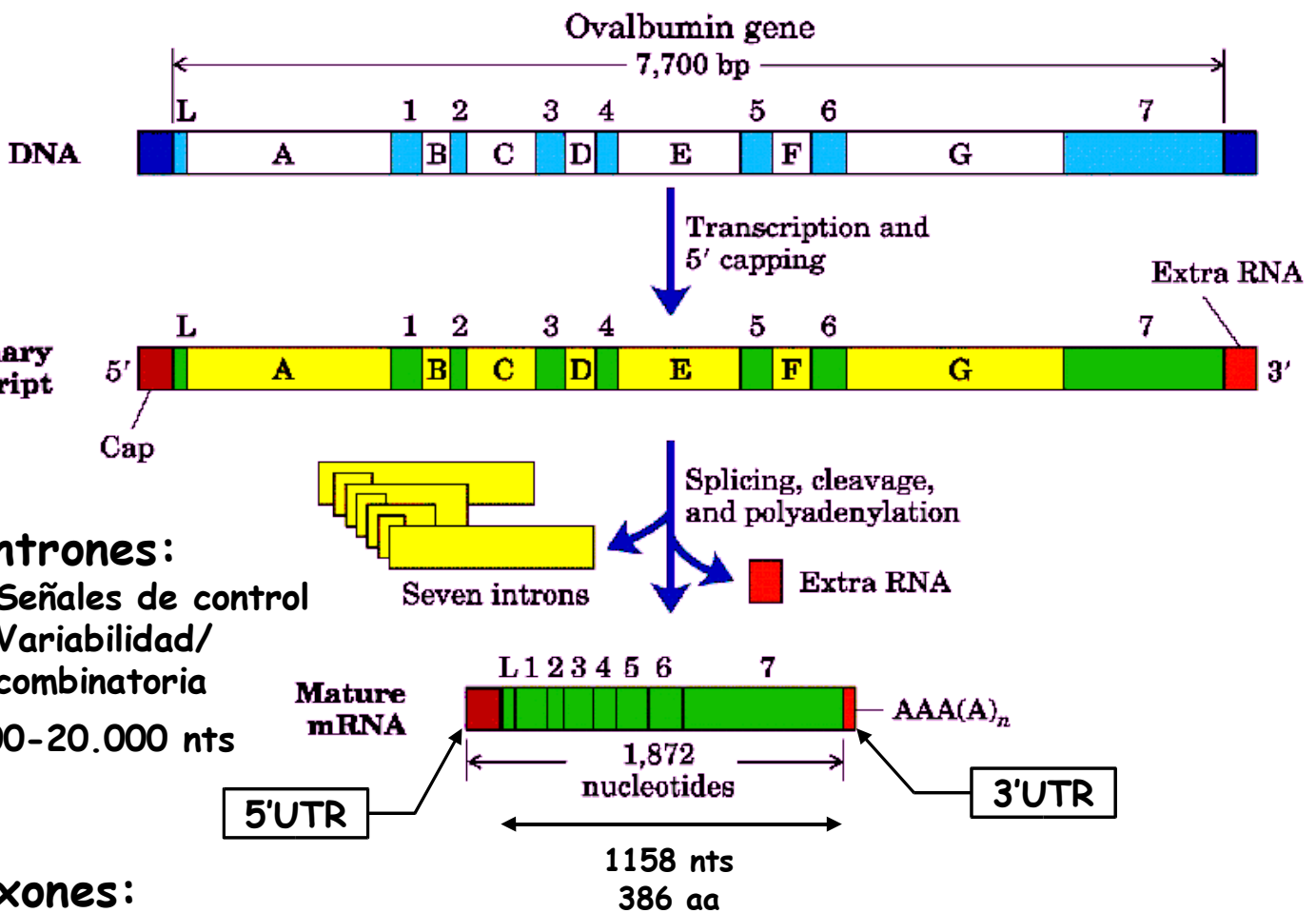
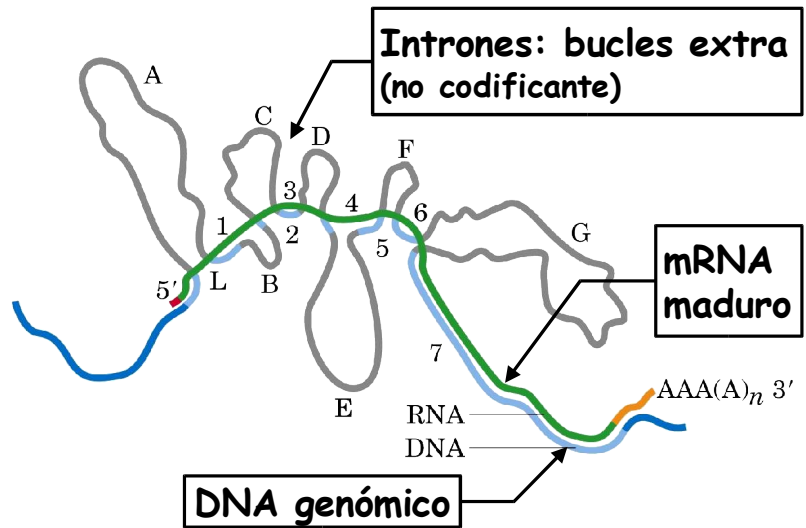
Procesamiento del mRNA: poliadenilación 3'



Intrones eucarióticos: gen y mRNA de la ovoalbúmina de pollo



DNA genómico del gen de ovoalbúmina hibridado a su mRNA



➤ Intrones:

- Señales de control
- Variabilidad/combinatoria

100-20.000 nts

➤ Exones:

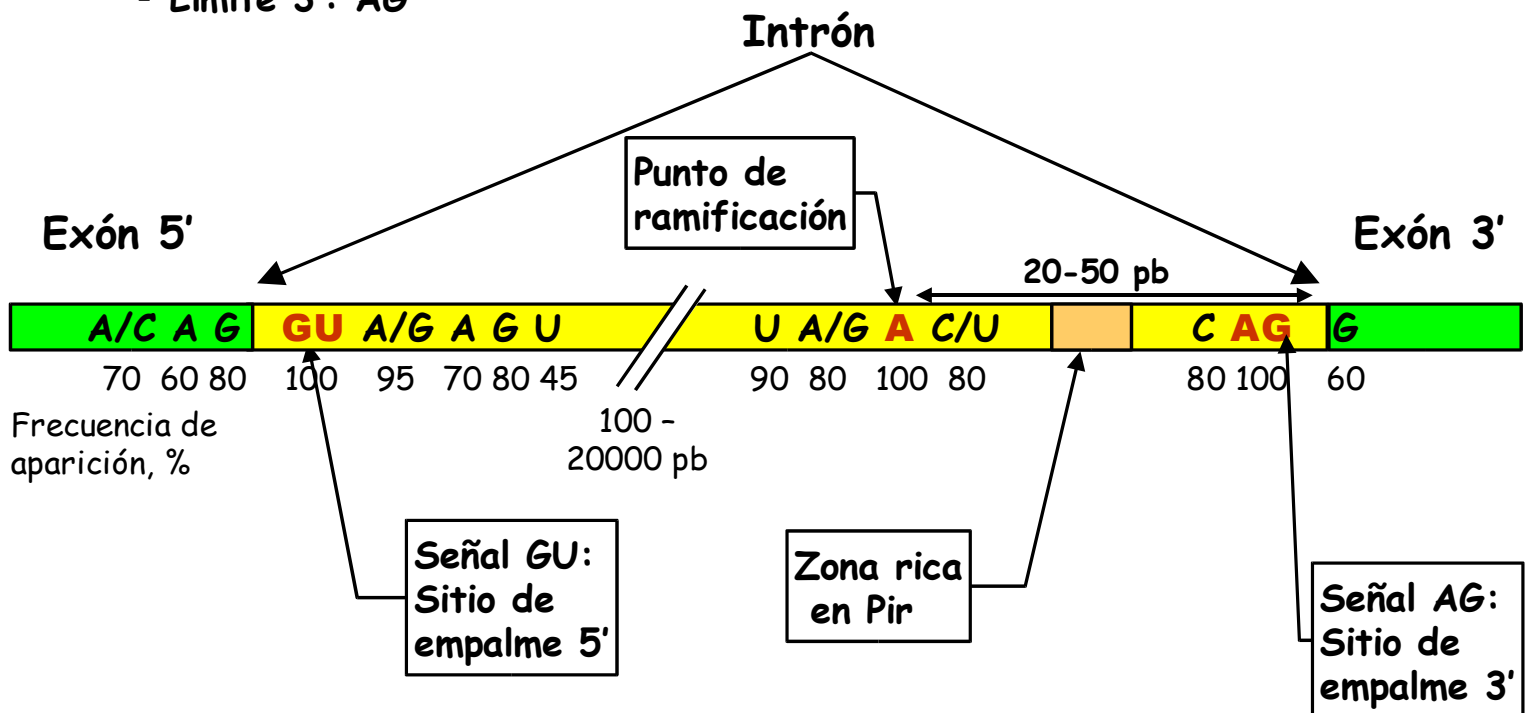
- Elemento funcional
- Dominio estructural
- Variabilidad/combinatoria

30-100 aa

Estructura de los intrones

➤ Señales identificadoras

- Límite 5': GU
- Punto de ramificación (A), a 20-50 pb de 3'
- Región rica en pirimidinas (≈15 pb)
- Límite 3': AG

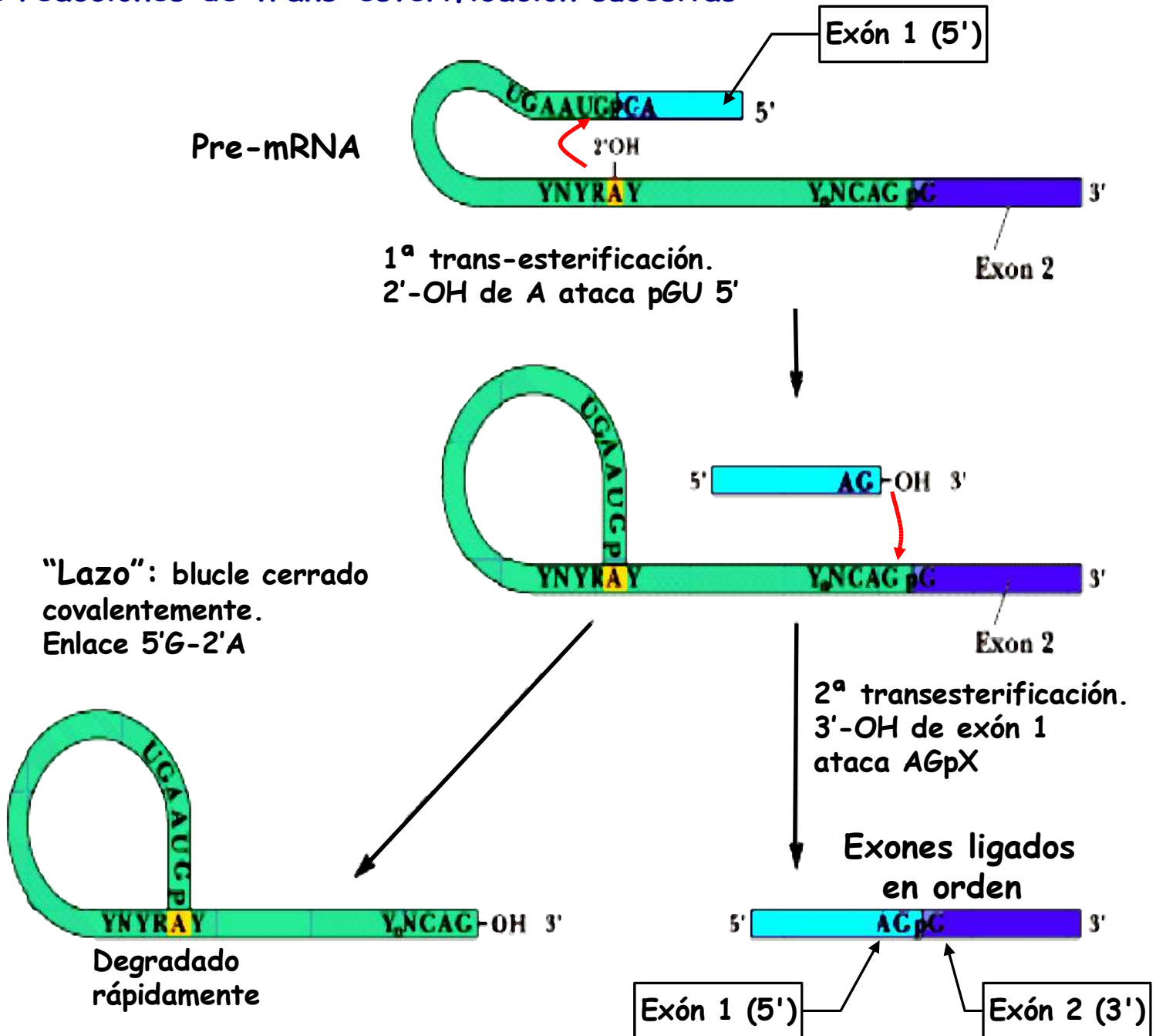


➤ Corte y empalme:

- A partir de bordes 5'GU y AG3'
- Punto de ramificación es esencial
- Exclusivamente en el núcleo
- El sustrato de splicing es transcrito+caperuza+poli-A
- Catalizado por partículas snRNP (espliceosoma)
- snRNAP reclutadas por CTD-P de RNAPol II

Splicing: Corte y empalme de intrones

2 reacciones de trans-esterificación sucesivas



Autocorte:

- Tipo I algunos rRNA, rRNA
- Tipo II (plantas, hongos)

No autocorte:

- Genes estructurales
- tRNAs

Requieren catalizador: snRNP

Procesamiento de intrones; estructura y función de snRNPs

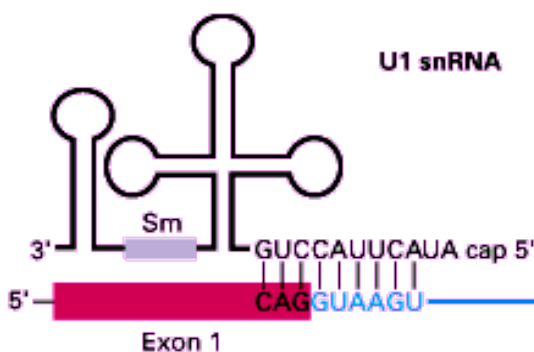
➤ Partículas snRNP

- Catalizan splicing
- ≈ 5 snRNAs
- ≈ 50 proteínas
- Ensamblaje requiere ATP
- Reclutados por CTD-P de RNAPol II

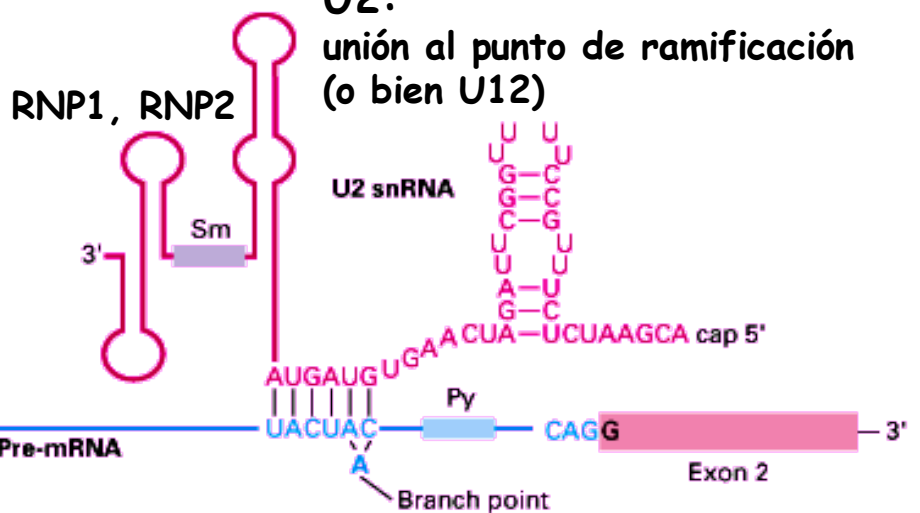
U1, U2, U4, U5, U6 (U11, U12)
100-200 nts. muy conservados

RNPn
generales y específicas
Motivos de unión a RNA
(RBD, RGG, KH)

U1:
reconocimiento de 5'GU
(o bien U11)



U2:
unión al punto de ramificación
(o bien U12)



➤ Funciones de Un snRNA

- Hibridación: reconocimiento de señales
- Forman el lazo al reunir los extremos 5' y 3'
- Catálisis de transesterificación: ribozimas

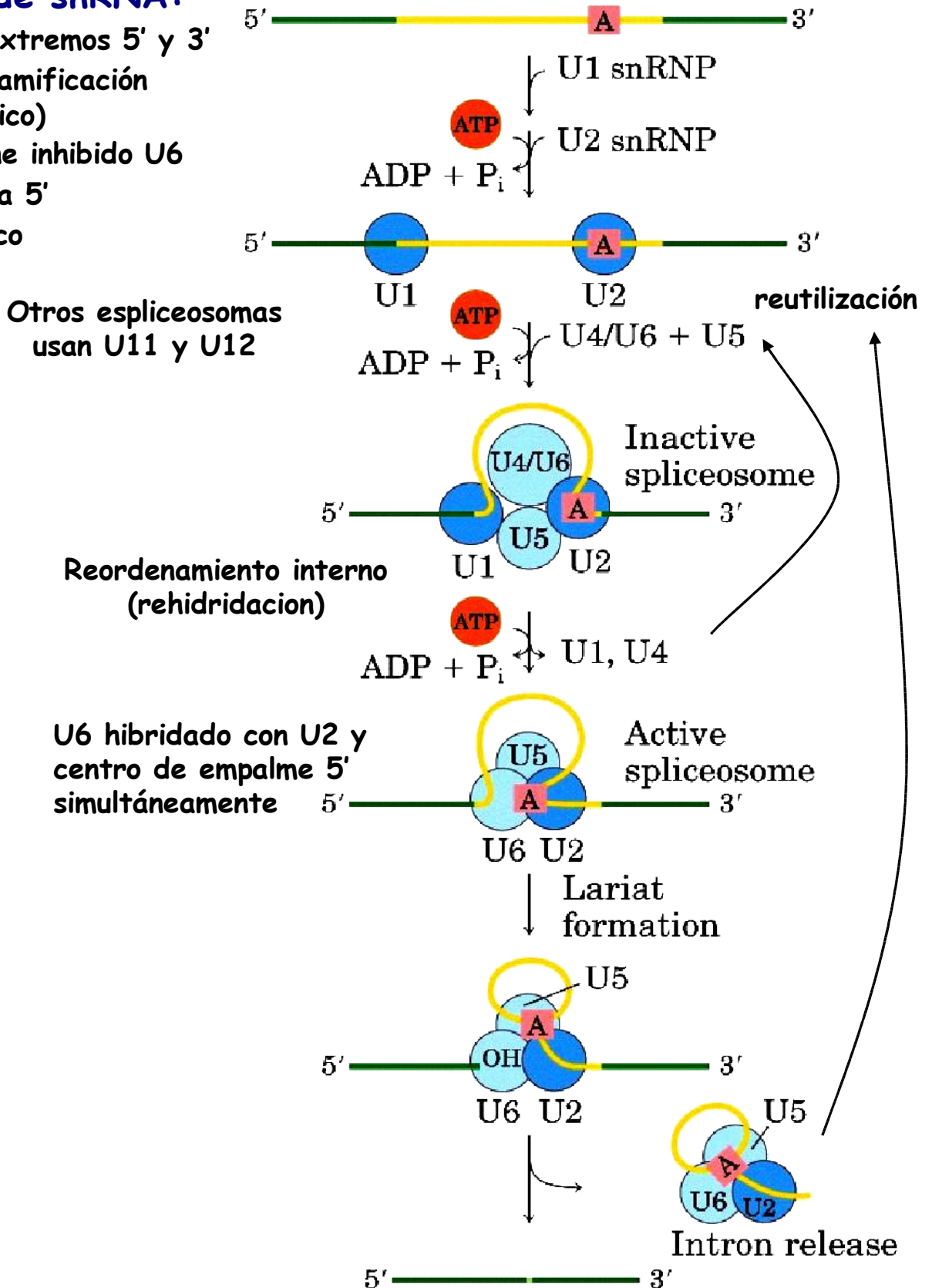
➤ Funciones de RNPs

- Previene degradación snRNA
- Previene plegamientos secundarios de RNA
- Reconoce secuencias señales
- Recluta otras proteínas
- Transporte nucleocitoplasmático

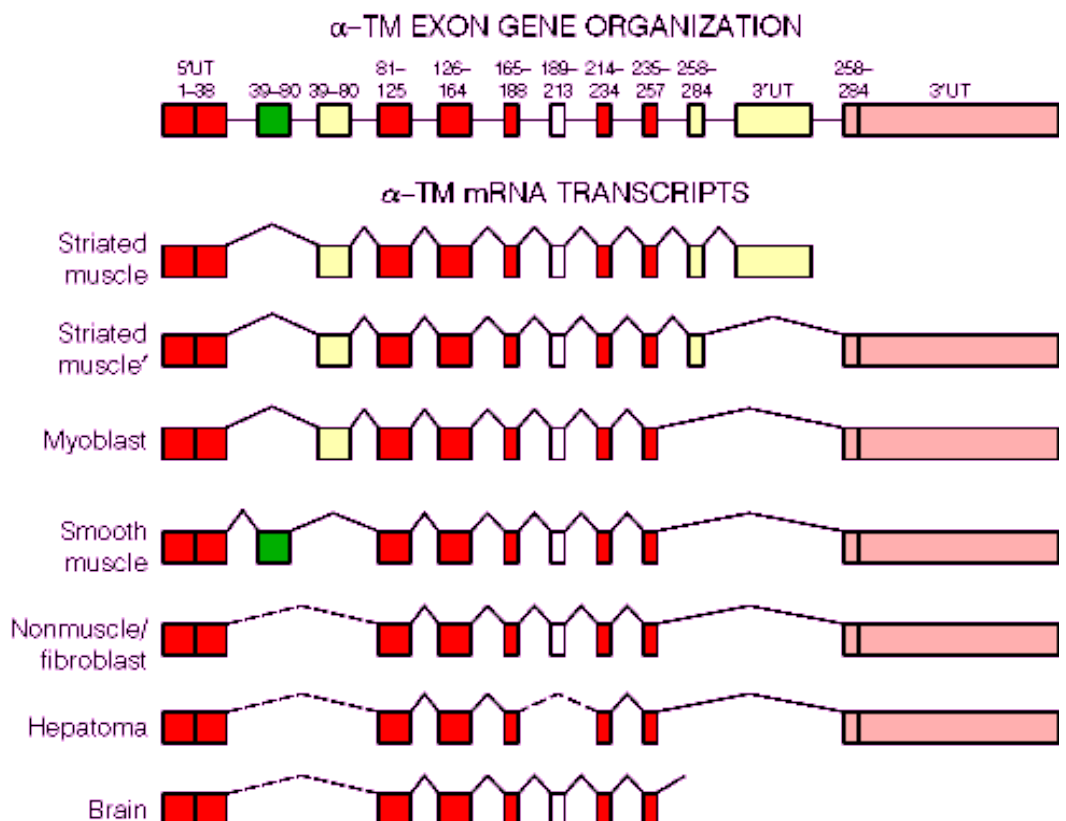
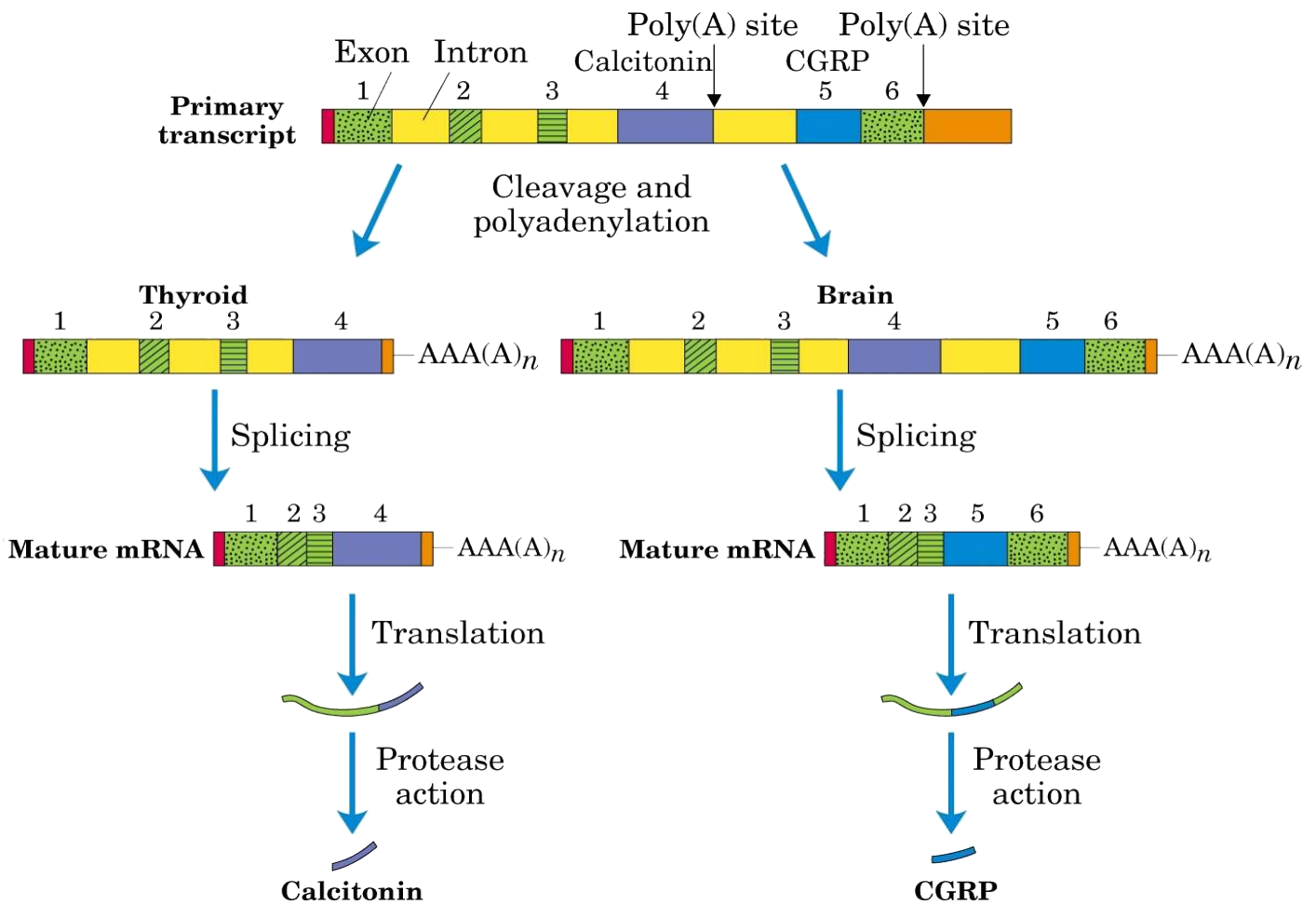
Corte y empalme en el espliceosoma

Funciones de snRNA:

- U1: une a extremos 5' y 3'
- U2: une a ramificación (catalítico)
- U4: mantiene inhibido U6
- U5: se une a 5'
- U6: catalítico



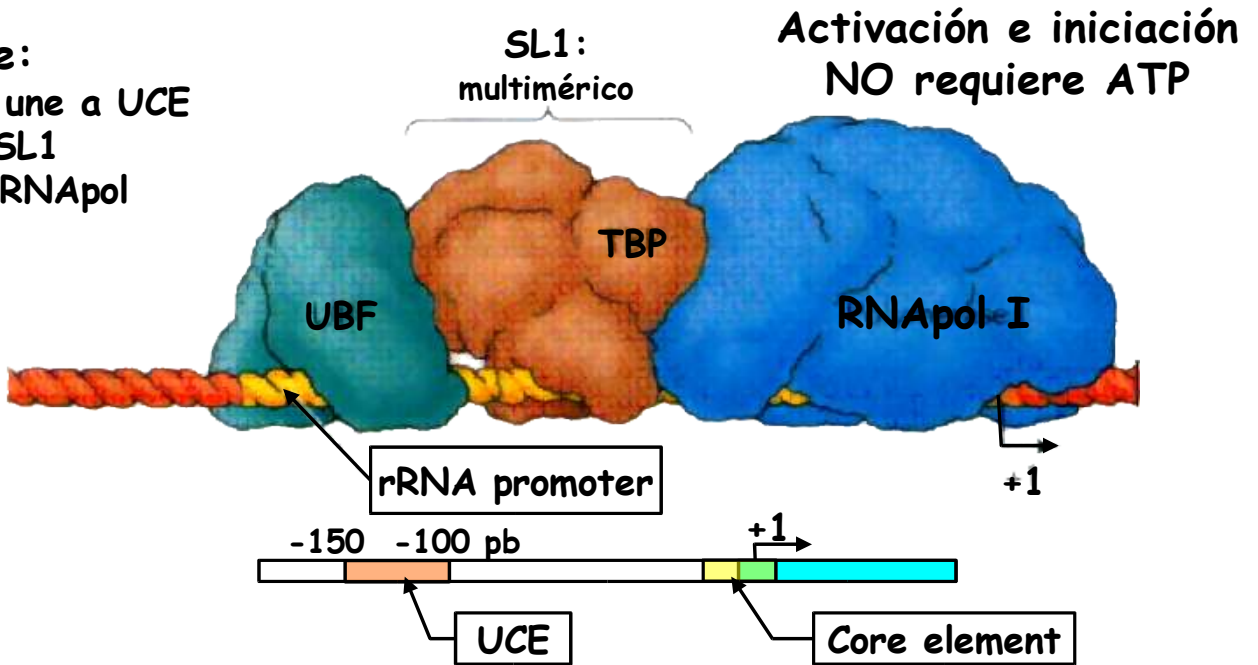
Procesamiento alternativo de intrones



Transcripción y procesamiento de pre-rRNA en eucariotas: RNAPol I

Ensamblaje:

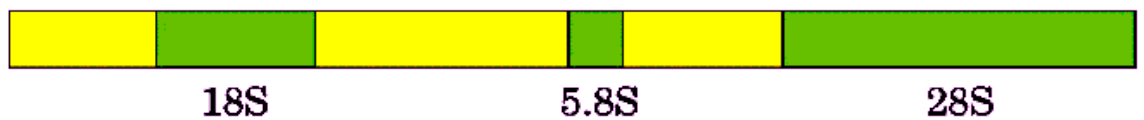
- UBF se une a UCE
- se une SL1
- Se une RNAPol



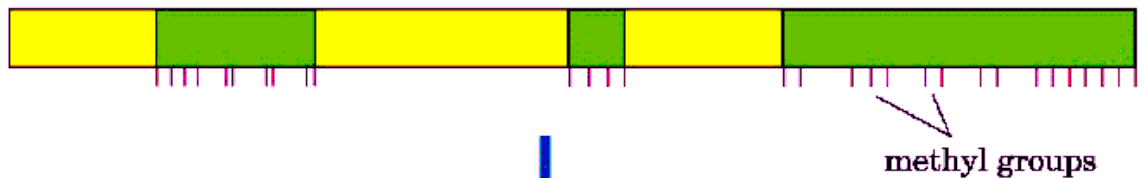
Exclusivamente en el nucleolo

Terminación por factor específico unido en 3'

Pre-rRNA transcript (45S)



Methylation 2'OH ribose, 100 nucleotides



snoRNAs: from genes & introns

snoRNPs (snoRNAs)

Cleavage

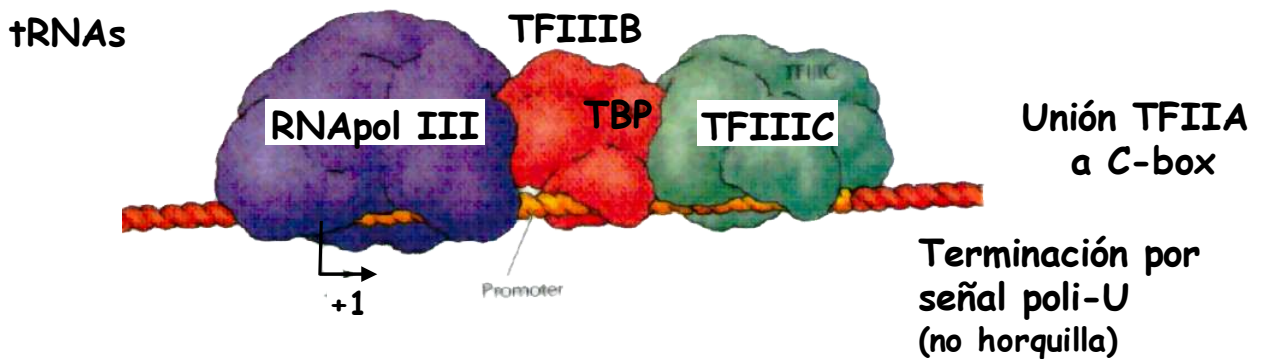
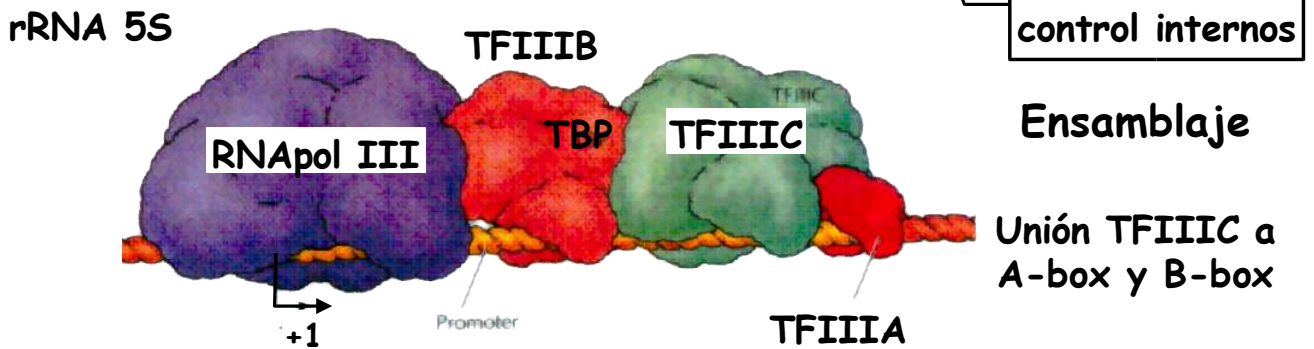
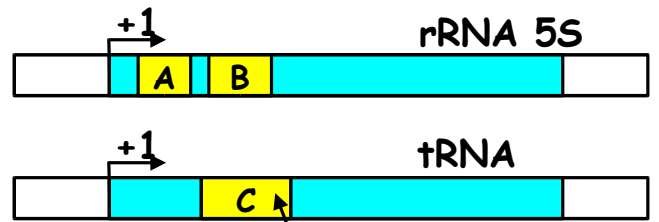
Mature rRNAs



Transcripción por RNAPolIII

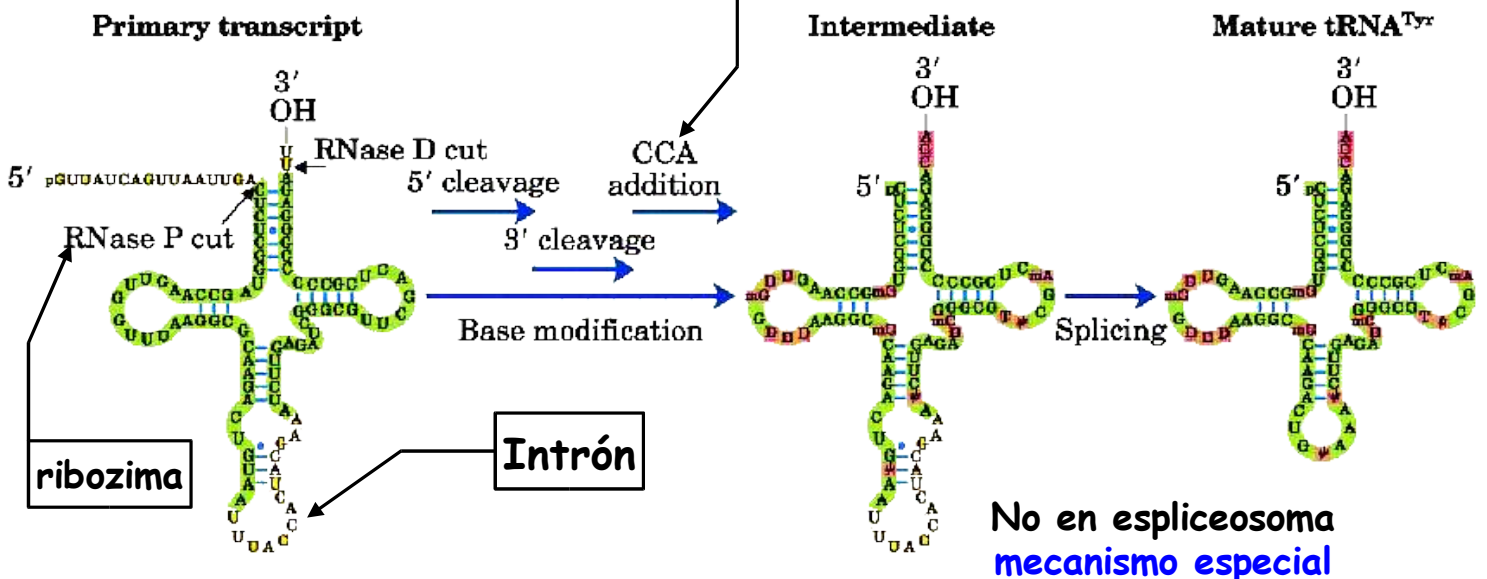
Transcripción de:

- tRNAs
- rRNA 5S
- RNAs pequeños (snRNAs, snoRNAs)



Procesamiento: (en nucleoplasma)

tRNA-nucleotidil transferasa.
molde interno: 3 sitios de unión



Exportación de mRNAs al citosol

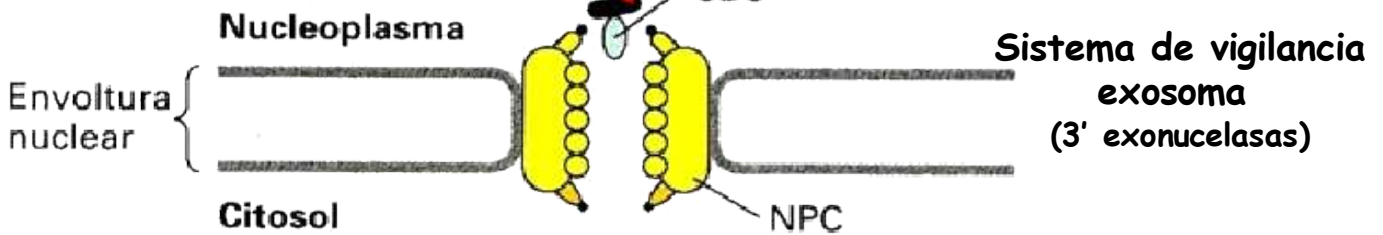
mRNP:

- mRNA maduro
- proteínas RNP
- proteínas CBC

sin intrones
desligado del espliceosoma

(snRNPs no se exportan)

No exportado = degradado
(talasemias)



Las proteínas
son exportadas.
mRNA va ligado

Proteínas de hnRNP
restringidas al núcleo

Exportación:

- Secuencias NES
- Unión a exportina
- Requiere energía

NPC
transporta
activamente

hnRNP A1
(NLS hidrófoba)

Proteínas de
hnRNP
transbordadoras
(shuttle proteins)
que retornan
al núcleo

Señales
NES y NLS

Unión al
ribosoma



Ran GAP

Intercambio de
hnRNP y proteínas
de mRNP
citoplasmáticas

A A A A

PABP

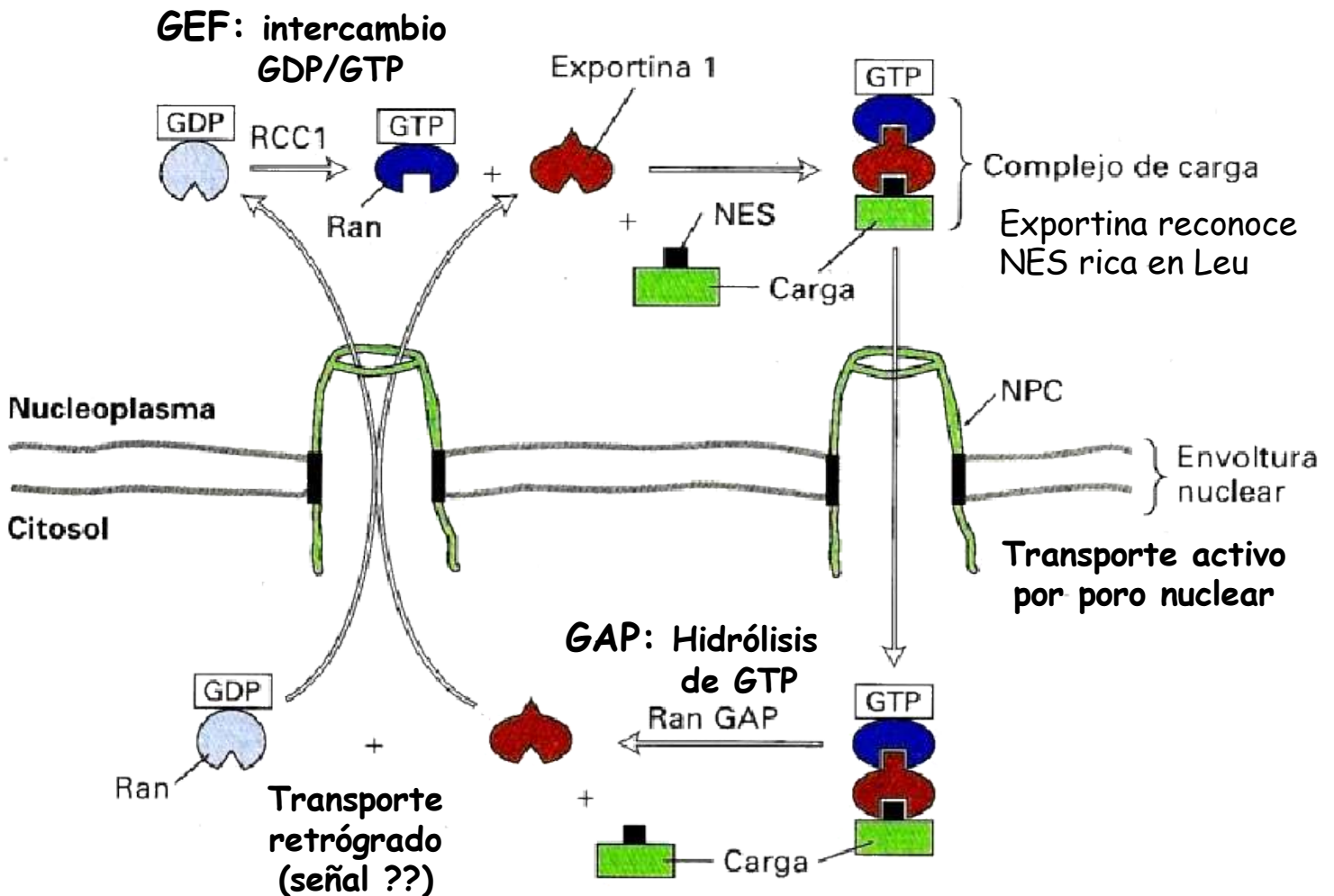
Proteínas
de mRNP

Transporte núcleo-citoplasma: proteínas G pequeñas (ran)

- NES reconocida por transportador
- Transportador = exportina
- Unión a proteína G ran

3 NES
conocidas

Unidireccional
acoplado a hidrólisis de GTP



- Transporte unidireccional:
 - Unión sólo a GTP-ran
 - Distribución asimétrica de GAP/GEF

Transporte citoplasma-núcleo: y proteínas G pequeñas (ran)

➤ NLS reconocida por transportador

2 NLS conocidas
(básica, hidrofóbica)

➤ Transportador=importina (NLS básica)
transportina (NLS hidrofoba)

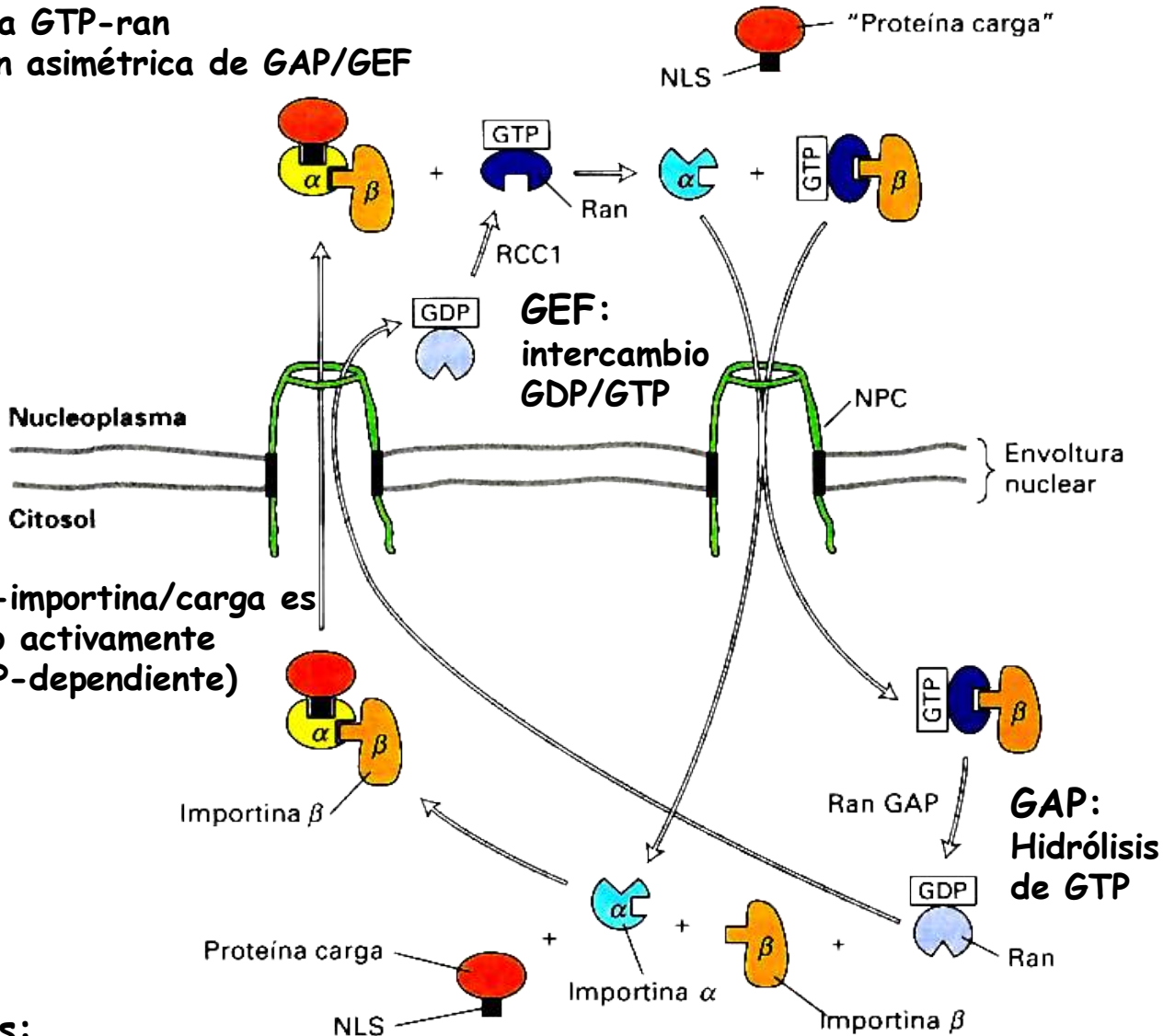
hnRNP A1
(NLS hidrofoba)

➤ Unión a proteína G ran

Unidireccional
acoplado a hidrólisis de GTP

➤ Transporte unidireccional:

- Unión sólo a GTP-ran
- Distribución asimétrica de GAP/GEF



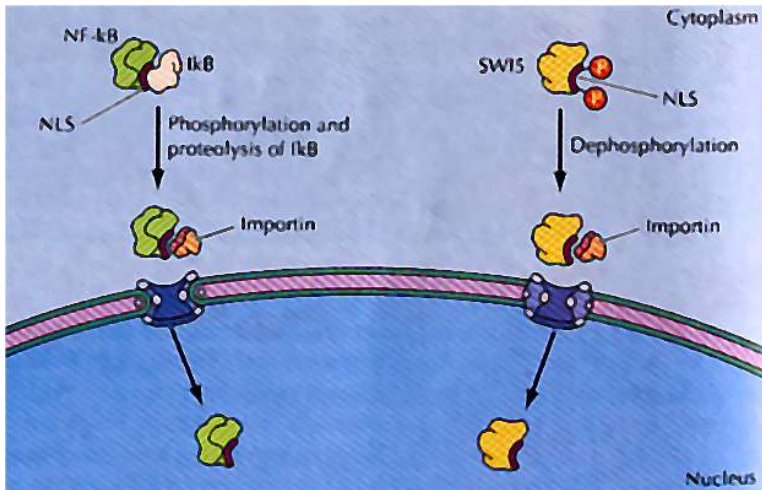
Complejo $\alpha\beta$ -importina/carga es transportado activamente (β -NPC, ATP-dependiente)

➤ Diferencias:

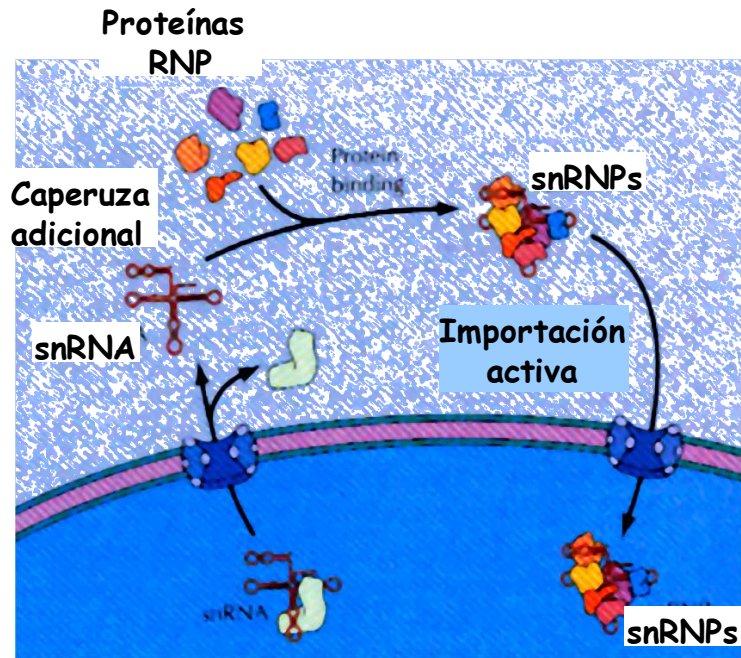
- Ran-GTP une transportador vacío
- Importación es activa
- Requiere factores adicionales (NTF2)

transporte núcleo-citoplasma

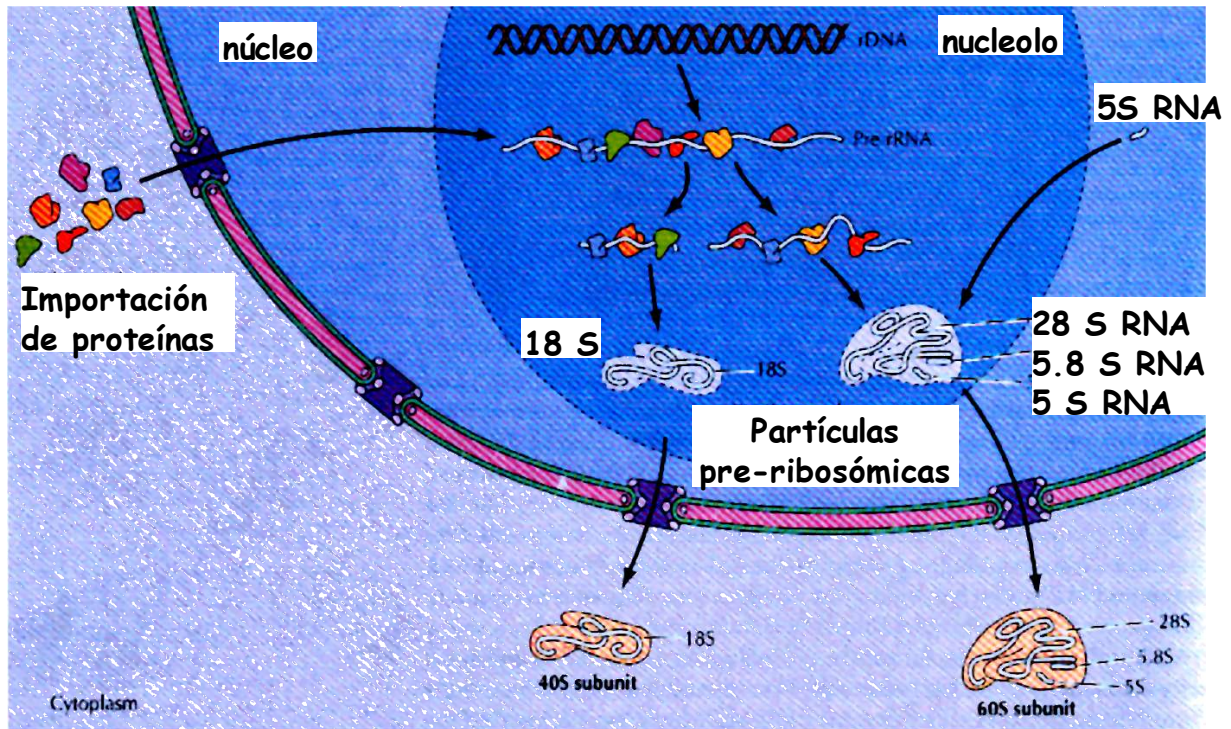
Importación de factores citoplásricos



Importación de proteínas RNPs

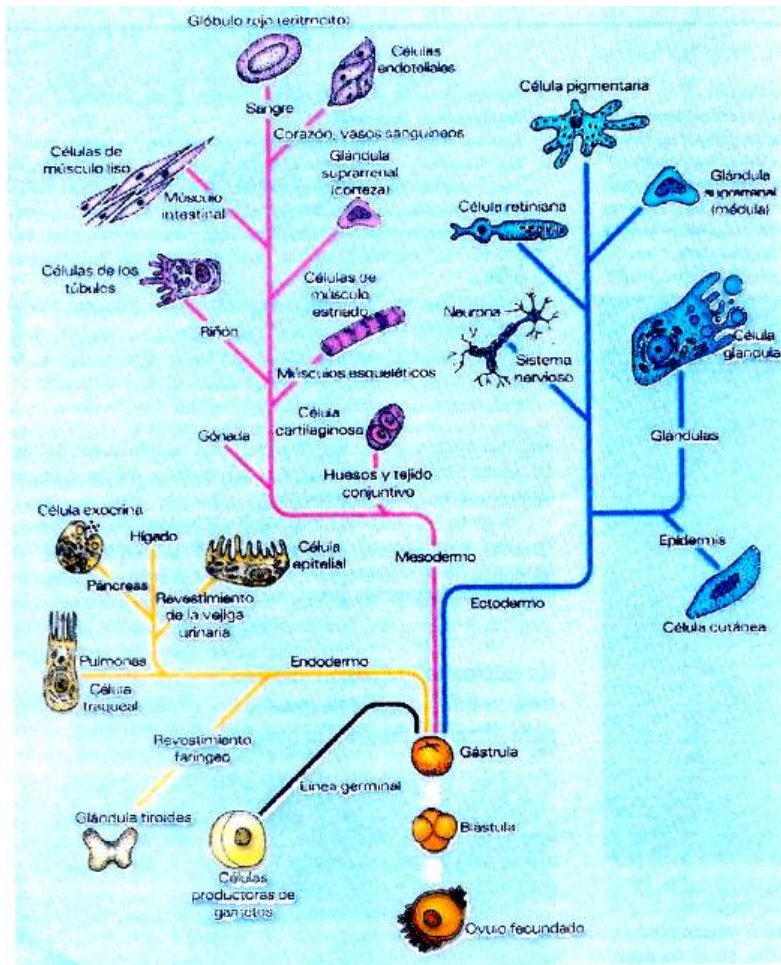


Exportación de partículas pre-ribosómicas



Subunidades ribosómicas

Regulación de la expresión génica: genoma y proteoma



Esquema de diferenciación tisular

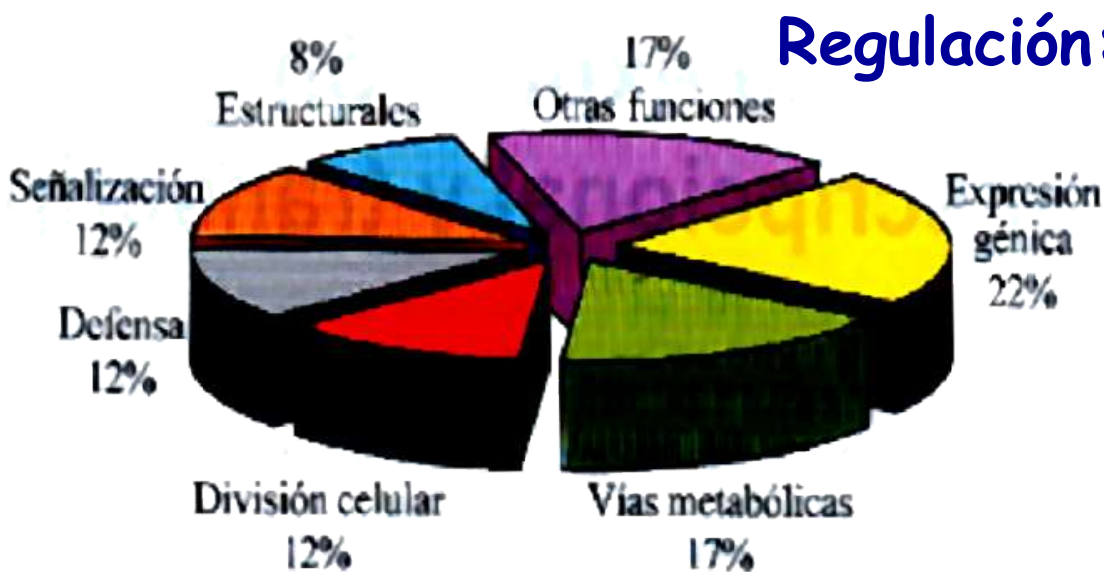
Tipos de genes:

- Constitutivos
- Inducibles
- Represibles

Control génico:

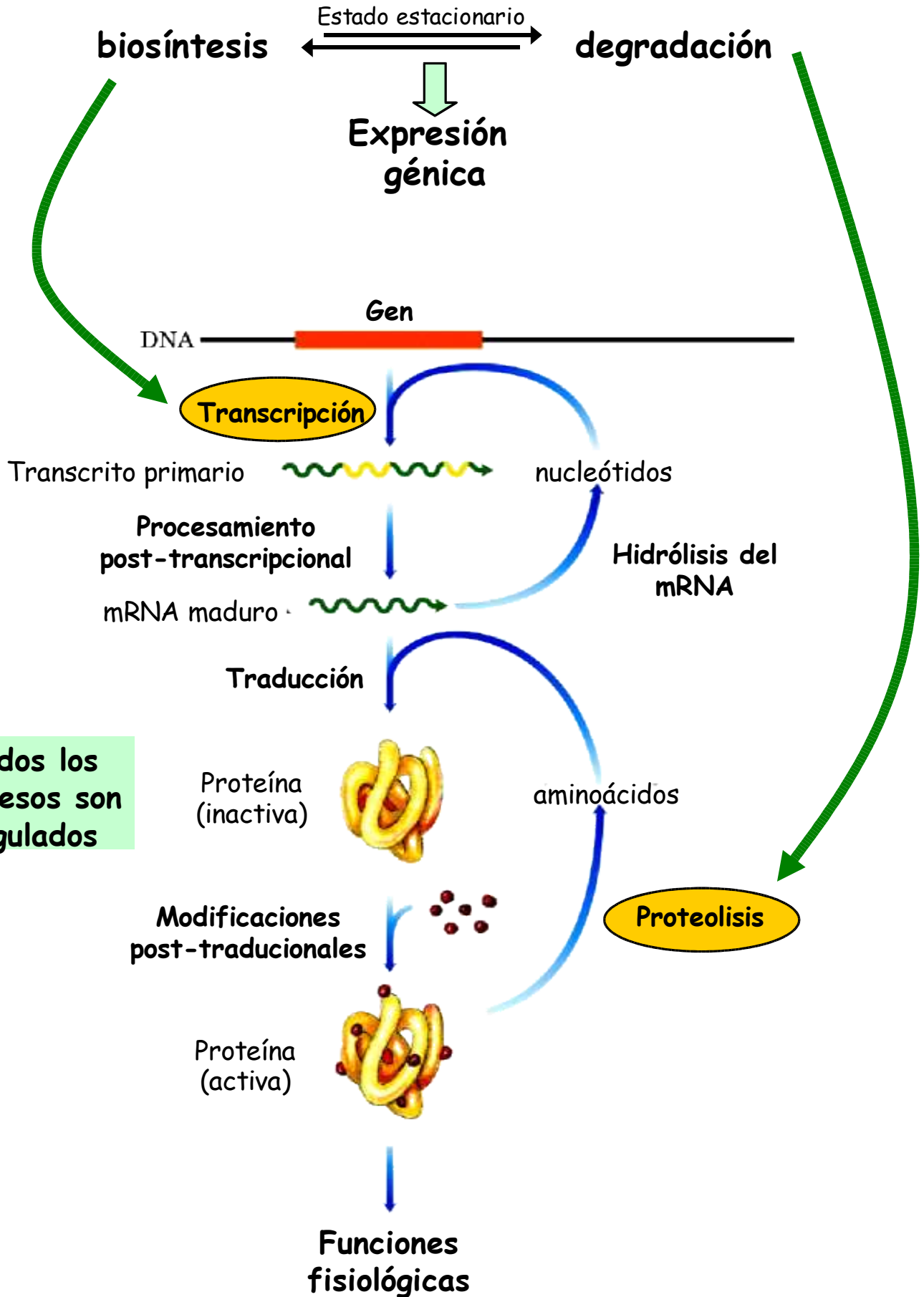
- Qué genes se expresan
- En qué momento
- Con qué pauta temporal

Programas de diferenciación celular



Funciones codificadas por genes humanos

Regulación de la expresión génica



Control de la expresión génica en procariontes: operones bacterianos

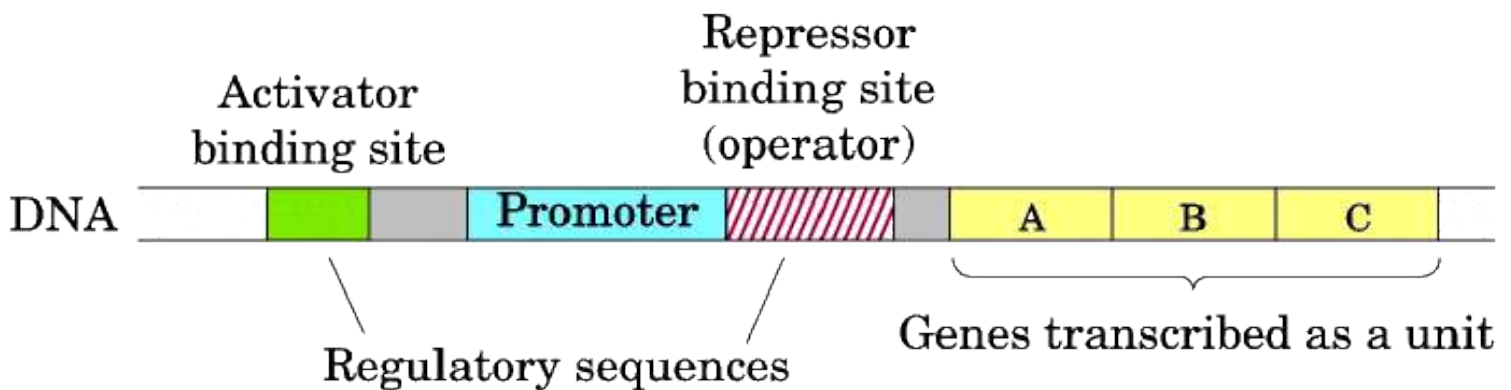
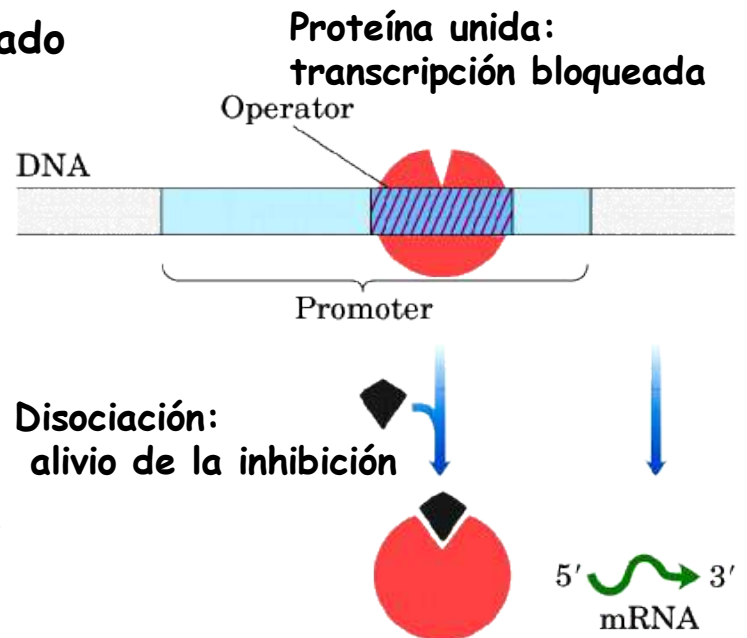
➤ Nivel basal de transcripción elevado

➤ Regulación por represión

- Proteínas de control simples

➤ Organización génica en operones:

- Unidad de transcripción policistrónica
- Secuencias de control únicas
- Control conjunto por represor



➤ Acoplamiento Transcripción/Traducción:

- Regulación conjunta

Control génico en eucariotas: características generales

➤ Nivel basal de transcripción nulo

- Cromatina muy condensada
- Acceso al promotor restringido

➤ Regulación por activación

- Organización jerárquica

Mecanismo principal:
control de la estimulación
de la iniciación

➤ Organización génica dispersa

- unidades de transcripción monocistrónicas
- Control individualizado de genes
- Señales de control múltiples
- Proteínas reguladoras complejas

Integración
Control combinatorio
Control alternativo

➤ Procesamiento del transcrito

- Variabilidad en splicing

proteoma >> genoma

➤ Desacoplamiento transcripción/traducción

- Transporte al citosol regulado
- Regulación de la traducción

➤ Mecanismos de regulación

- Dosis génica
- Metilación del DNA
- Condensación de la cromatina
- Control de la iniciación
- Regulación de la elongación/terminación
- Splicing alternativo
- Edición del mRNA
- Transporte nucleocitoplasmático
- Estabilidad del mRNA
- Regulación de la síntesis de proteínas

Histonas
rRNA

Transcripción
(núcleo)

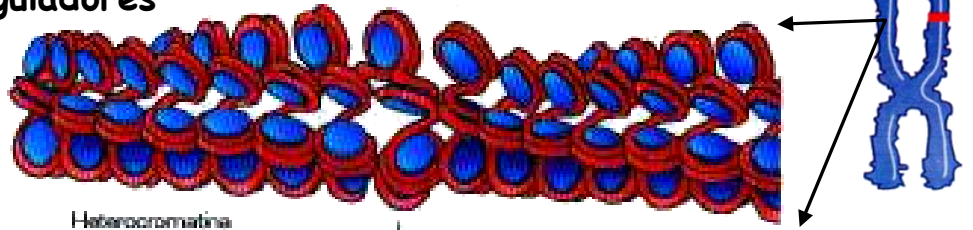
citoplasma

Silenciamiento génico
(epigenético)

Estructura de la cromatina y control de la transcripción

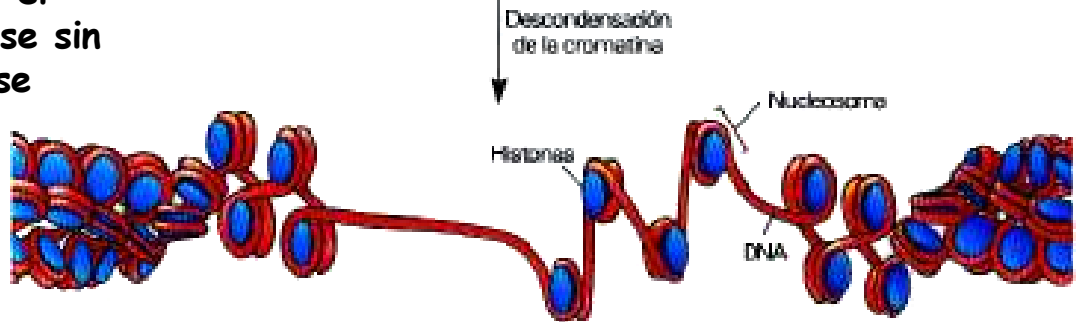
Empaquetamiento DNA/Histonas:
 promotores inaccesibles a factores
 TAF, RNAPol elementos reguladores

El empaquetamiento de los
 cromosomas metafásicos
 bloquea todo acceso al DNA



Heterocromatina

Para la transcripción, el
 DNA debe remodelarse sin
 llegar a desorganizarse

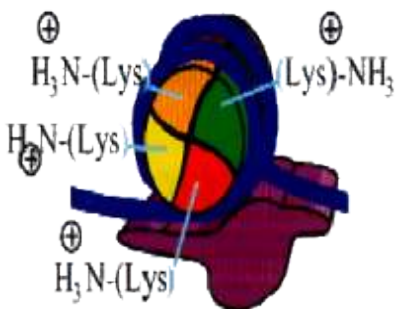


Sensibilidad a la DNasa I
 (promotor: sitios hipersensibles)

➤ Cromatina activa:

- Pobre en H1
- Poco metilada (CpG)
- Rica en HMGs
- Histonas acetiladas

Histonas no acetiladas



Cromatina condensada
 No hay transcripción

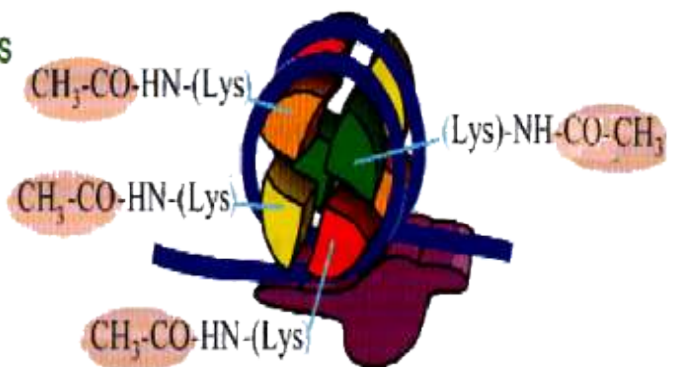
HAT
 histona acetiltransferasas



histona desacetilasas
HDAC

HDAC

Histonas acetiladas



Cromatina relajada
 Si hay transcripción

Complejos reorganizadores de la cromatina

Actividades enzimáticas

- Reorganización del nucleosoma
- Acetilación de histonas

Cambio conformacional
ATP-dependiente

HATs
HDACs

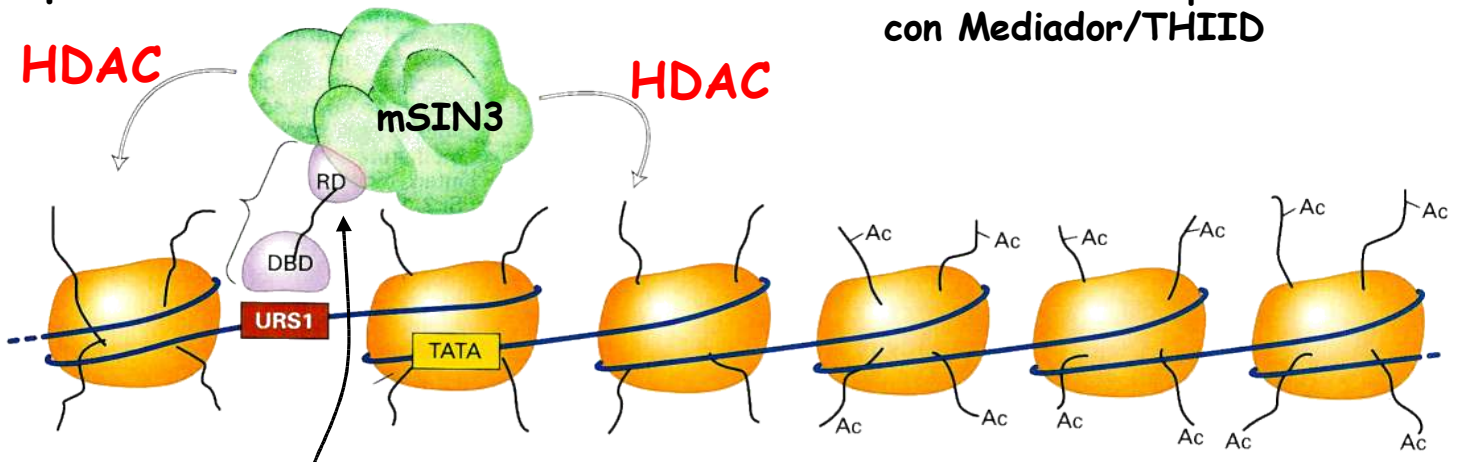
Reclutados por

- Trans-moduladores
- Co-moduladores★
- Mediador

| | actividad | oligómero |
|-----------|------------|-----------|
| pCAF/SAGA | HAT | >20 |
| mSIN3 | HDAC | >10 |
| SWI/SNF | Remodelado | >11 |

Represión: Desacetilación

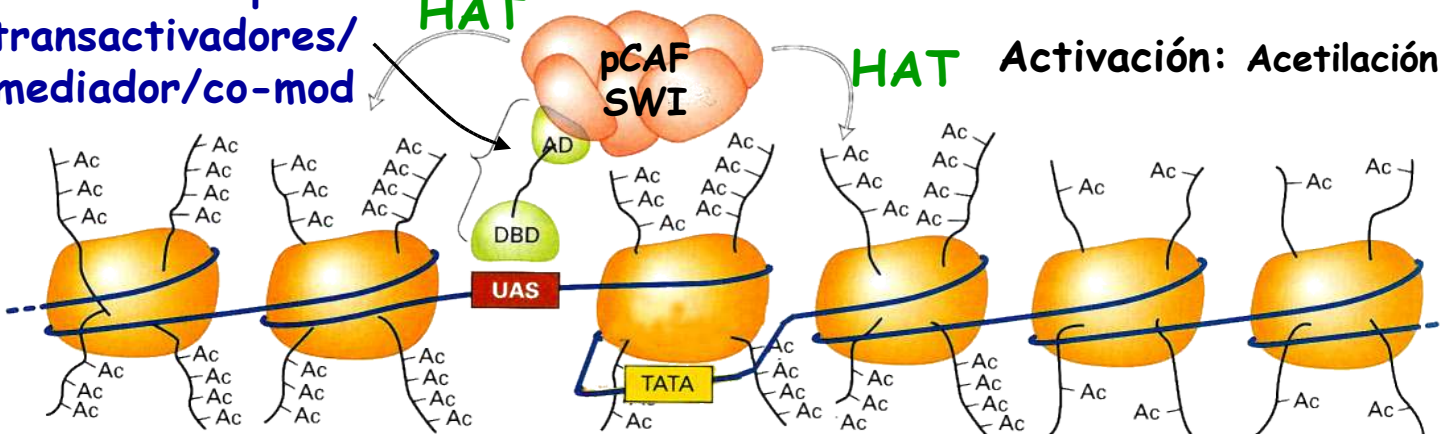
Subunidades compartidas
con Mediador/THIID



Reclutado por
transactivadores/
mediador/co-mod

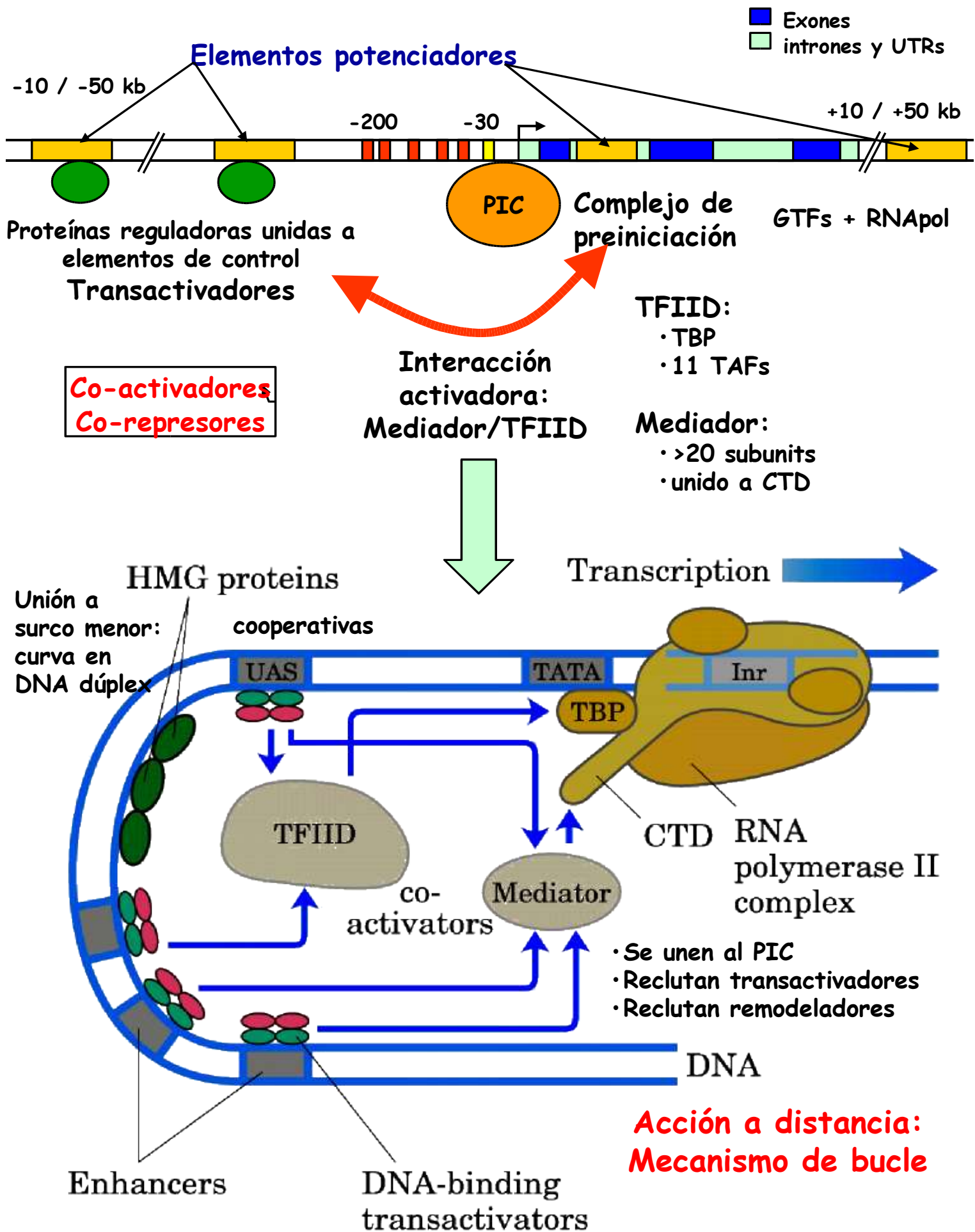
HAT

Activación: Acetilación

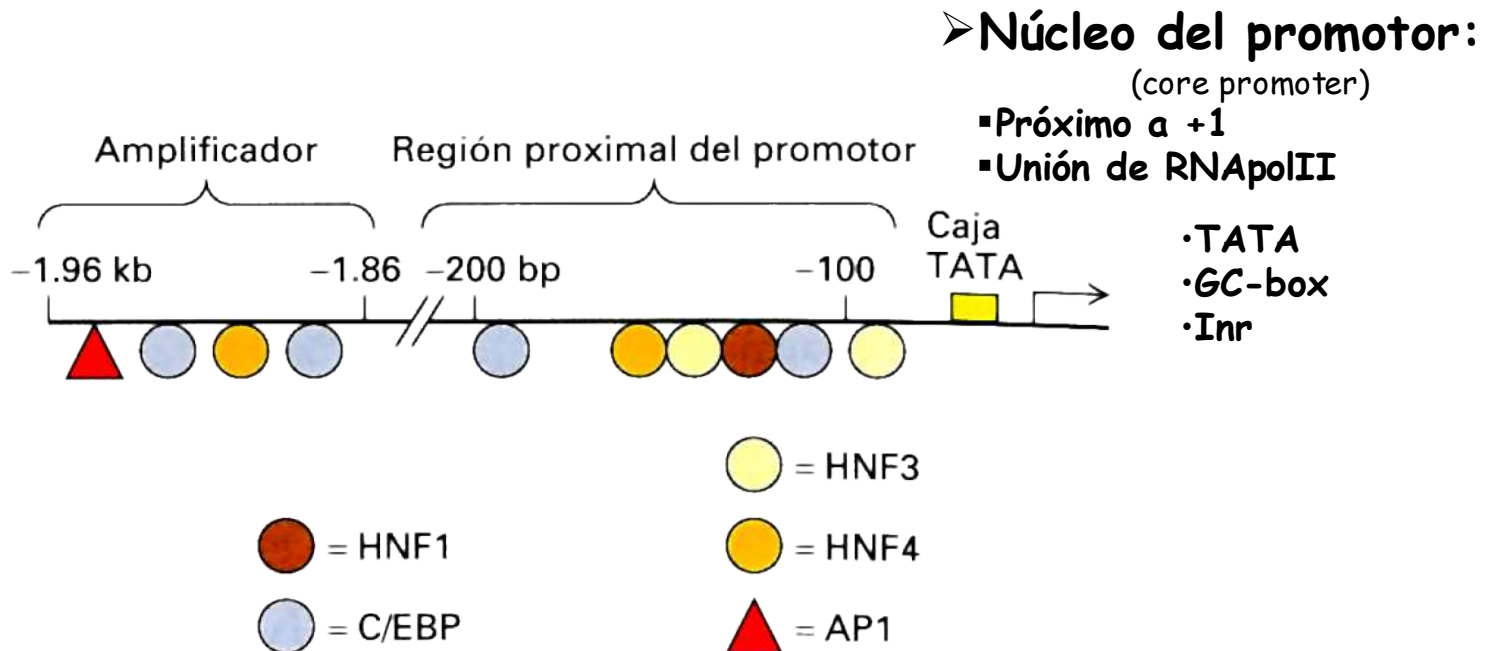


Ensamblaje: HATs B
CAF1 (H3/H4)
NAP1 (H2A/H2B)

Amplificadores: Trans-activación



Amplificadores eucarióticos: elementos cis



- **Elementos proximales:**
- Posición cercana (hasta -200 pb)
 - Siempre 5'
 - Orientación fija
 - Afectan al promotor inmediato

| elemento | s. consenso | factor |
|----------|-------------|-------------|
| CAAT box | GGCCAATCT | C/EBP, CTF1 |
| GC box | GGGCGG | SP1 |
| Octámero | ATTTGCAT | Oct-1 |
| κB | GGGACTTTCC | NF-κB |
| ATF | GTGACGT | ATF |

- **Amplificadores:**
- Elementos distales (0.1-50 kb)
 - 5', 3' y en intrones
 - Orientación bidireccional
 - Controlan grupos de genes

- Todos los anteriores +
- Elementos de respuesta
 - ✓ a hormonas
 - ✓ choque térmico (HSTF)

| HRE | sec. consenso | factor |
|------|-----------------------------|---------|
| CRE | | CREB |
| TRE | | AP-1 |
| SRF | | SRF |
| GRE | AGAACAN ₃ TGTTCT | GR |
| RARE | AGGTCAN ₅ AGGTCA | RAR/RXR |

Elementos trans: Factores de Transcripción

➤ Función:

- Unión a elementos de control cis (DNA)
- Regular iniciación

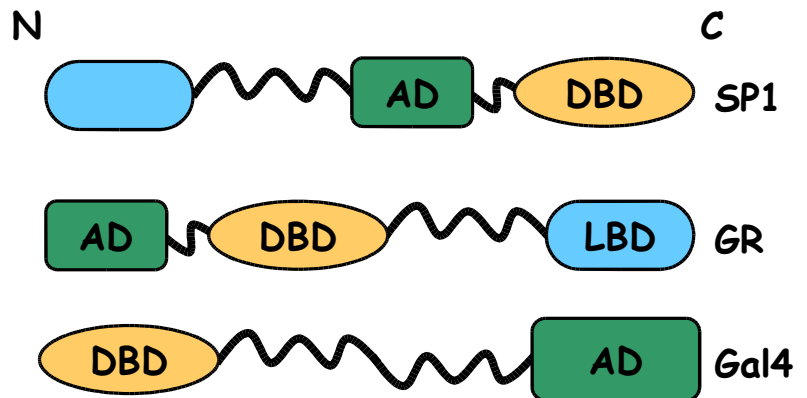
reclutamiento
activación
represión

➤ Estructura:

- Modulares
 - D. unión a DNA (DBD)
 - D. de activación (AD)
 - Interacción proteína-proteína

- Diméricos

Integración
combinatoria



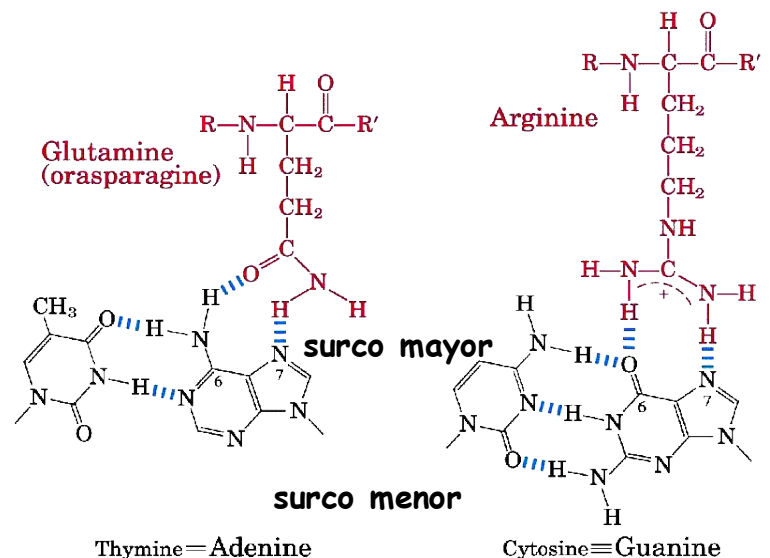
Dominios de unión a DNA (DBDs):

- α -hélice protrusiva
- Contactos con surco mayor
- Unión a secuencias específicas
- Sin desaparecer bases (sin desenrollar)

α -hélice ≈ 1.2 nm \varnothing
Surco $1.2 \times 0.6-0.8$ nm

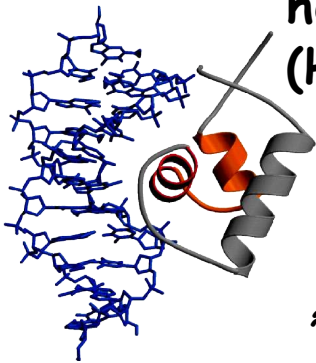
- Muy conservados
80% en tres categorías
 - HTH
 - Dedos de Zn
 - bZIP

No existe un código constante
Imposible predecir secuencias



Estructuras de dominios DBD

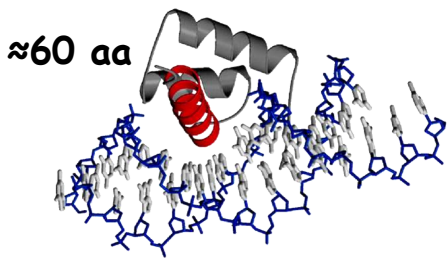
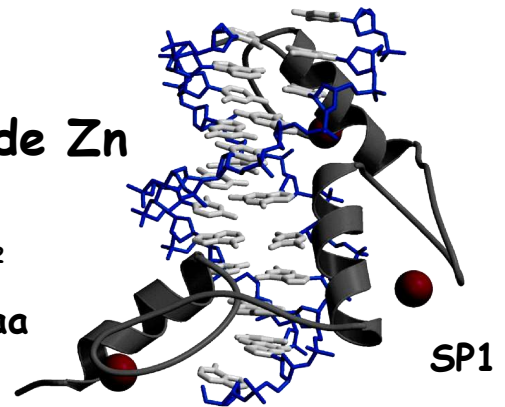
hélice-giro-hélice
(HTH)



≈20 aa

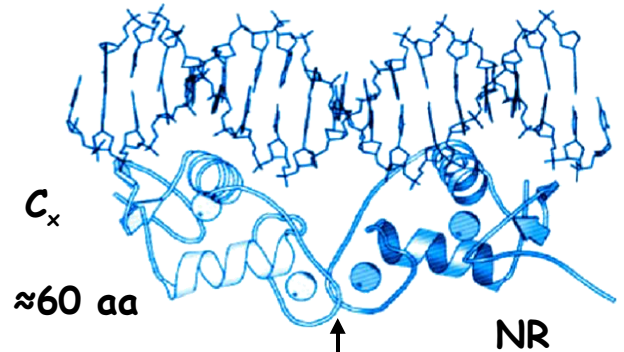
Dedos de Zn

C_2H_2
≈30 aa



≈60 aa

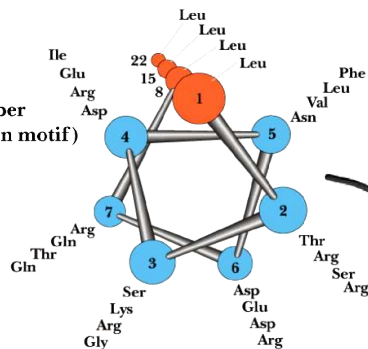
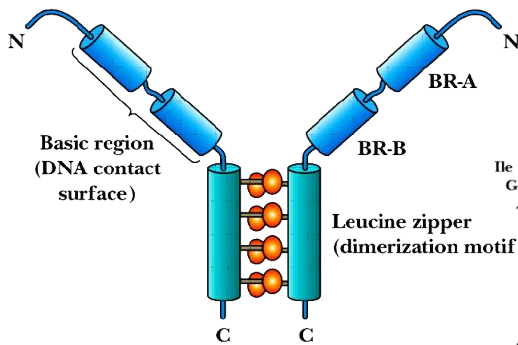
Homeodominio



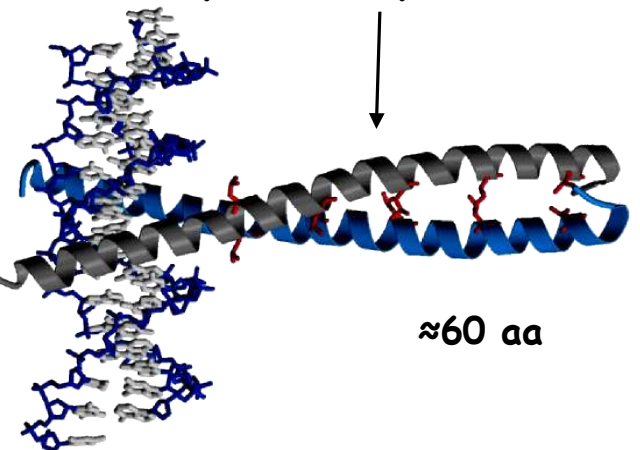
≈60 aa

NR

bZIP:
Cremalleras de leucina básicas



Interacción
proteína-proteína



≈60 aa

| Source | Regulatory protein | Amino acid sequence |
|--------|--------------------|---|
| | | DNA-binding region 6-Amino acid connector Leucine zipper |
| Mammal | C/EBP | DKNSNEYRVR RRER NNIAVR KS RD KA KQRNVETQ Q KVLE EL TS DN DR LR KR VE Q LS RELD TI RG- |
| | Jun | SQ ER IK AER K K MR NR IA AS K CR K R K L ER IAR LE E K V K T L KA Q NS EL AS T AN ML TE Q V A Q L K Q- |
| | Fos | E ERR IR RI IR RR EN K MA AA K CR NR RR REL TD TL QA ET DQ LE DK S AL Q TE IA N LL KE KE K LE F - |
| Yeast | GCN4 | P ES SD PA AL KR AR NT EA ARR S R AR KL Q RM K Q LE DK VE EL LS K NY HL ENE V AR L K KL V GER |
| | Consensus molecule | ----- RR ----- R ----- N ----- R ----- R ----- RR ----- L ----- L ----- L ----- L ----- L ----- |
| | | ----- KK ----- K ----- K ----- K ----- KK ----- L ----- L ----- L ----- L ----- L ----- |

Invariant Asn

Dominios de transactivación: módulos independientes

➤ Dominios de transactivación:

- Diversidad estructural
- Cambio conformacional por unión a DNA
- Interacción con co-activadores (reclutamiento)

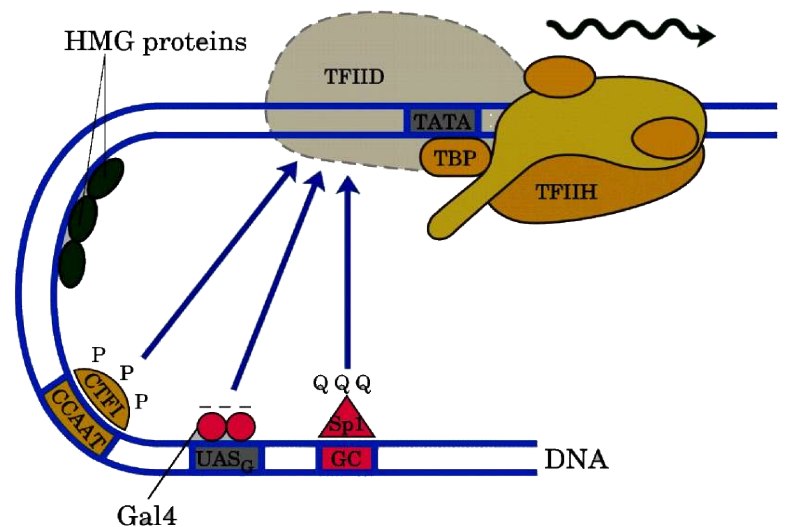
Ovillo → α -hélice anfipática

➤ Tipos de dominios

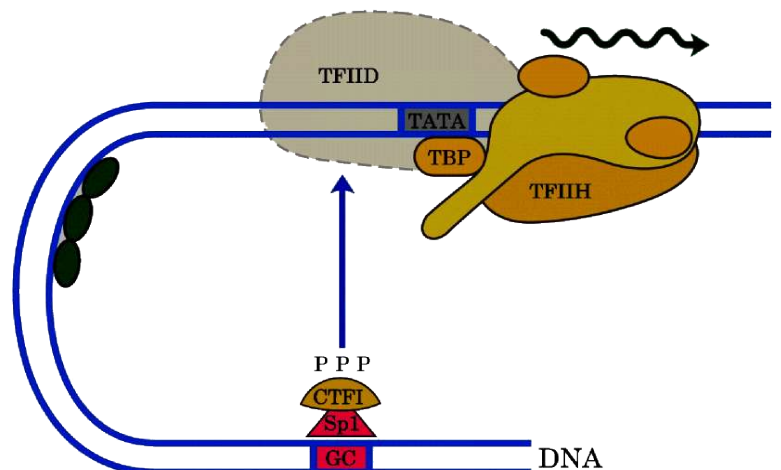
- **Acídico**
- Rico en Q
- Rico en P
- Rico en S y T

muy potente
promiscuo (todo tipo de genes)

- Hidrofóbicos
 - Básicos
- } **Represión**



Se pueden intercambiar
módulos en proteínas
quiméricas



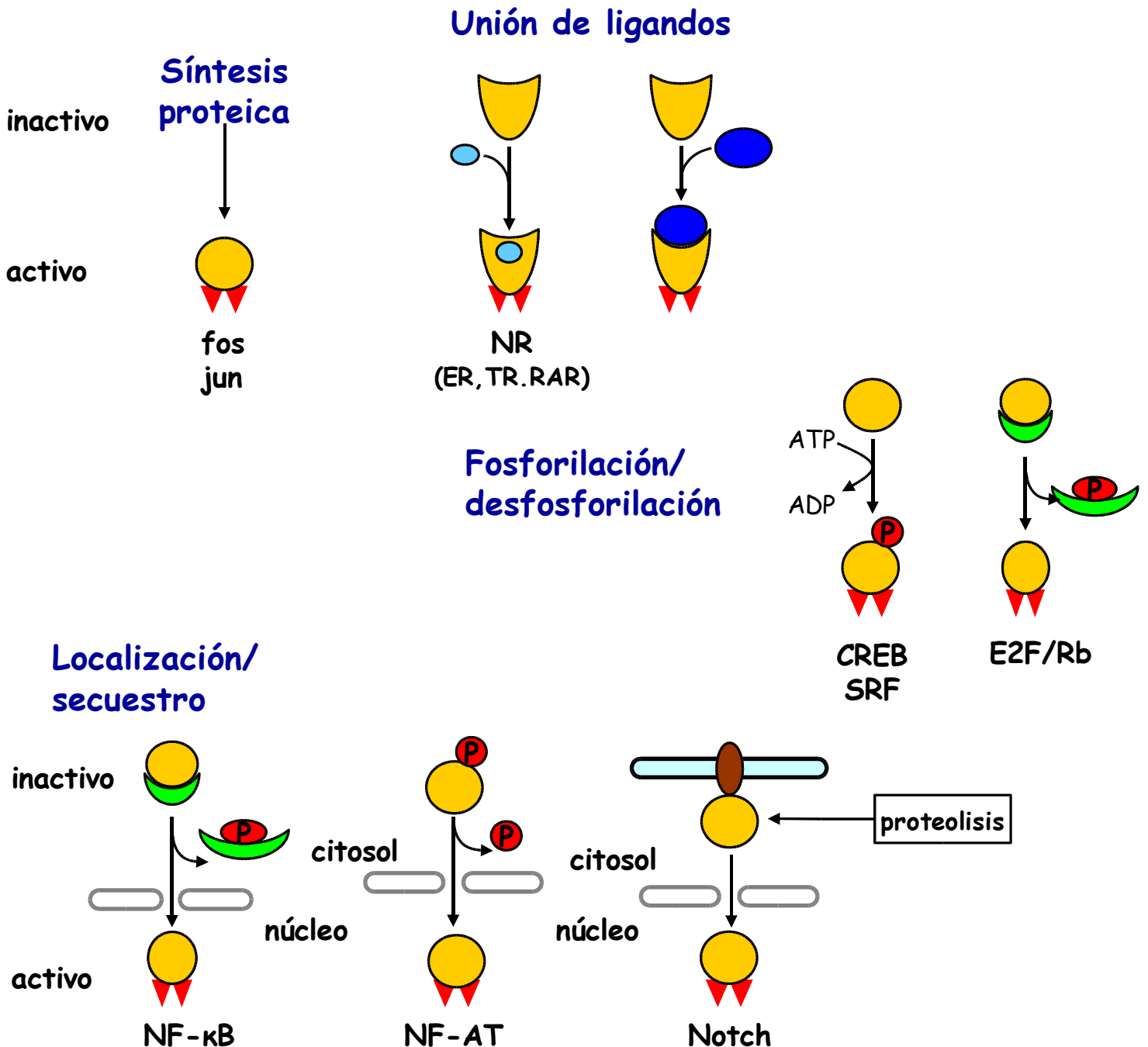
Un dominio AD rico en P
transactiva
desde un elemento GC

Regulación de los factores de transcripción

➤ Regulación de la unión al DNA por:

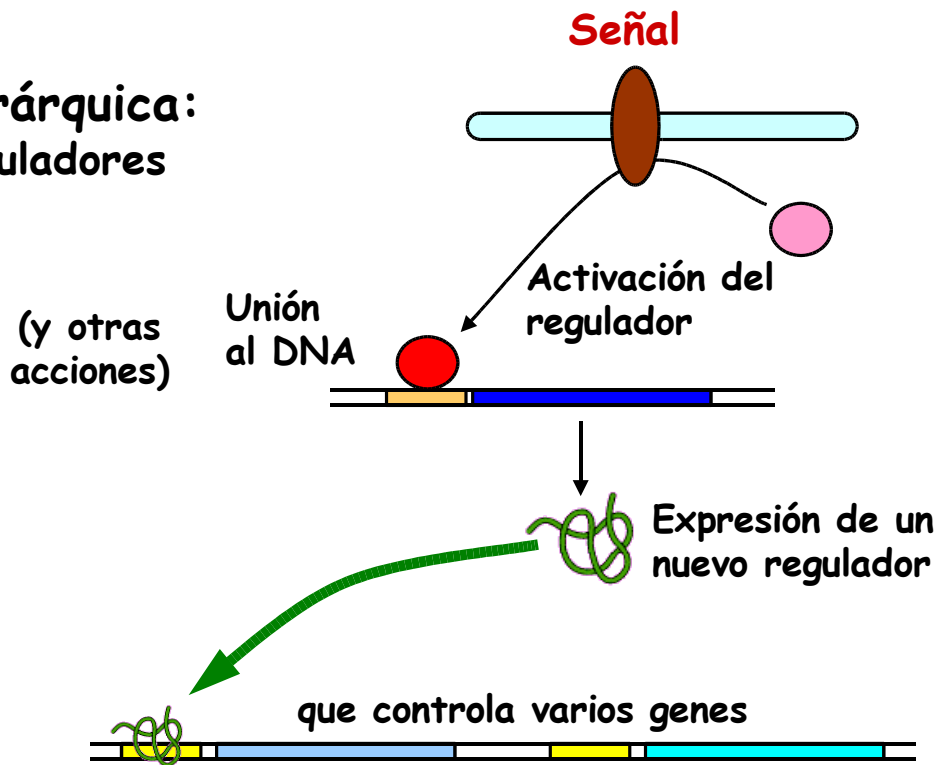
- Expresión diferencial (inducción)
- Fosforilación/desfosforilación
- Unión de ligandos
- Localización/secuestro

La expresión génica es controlada por señales celulares

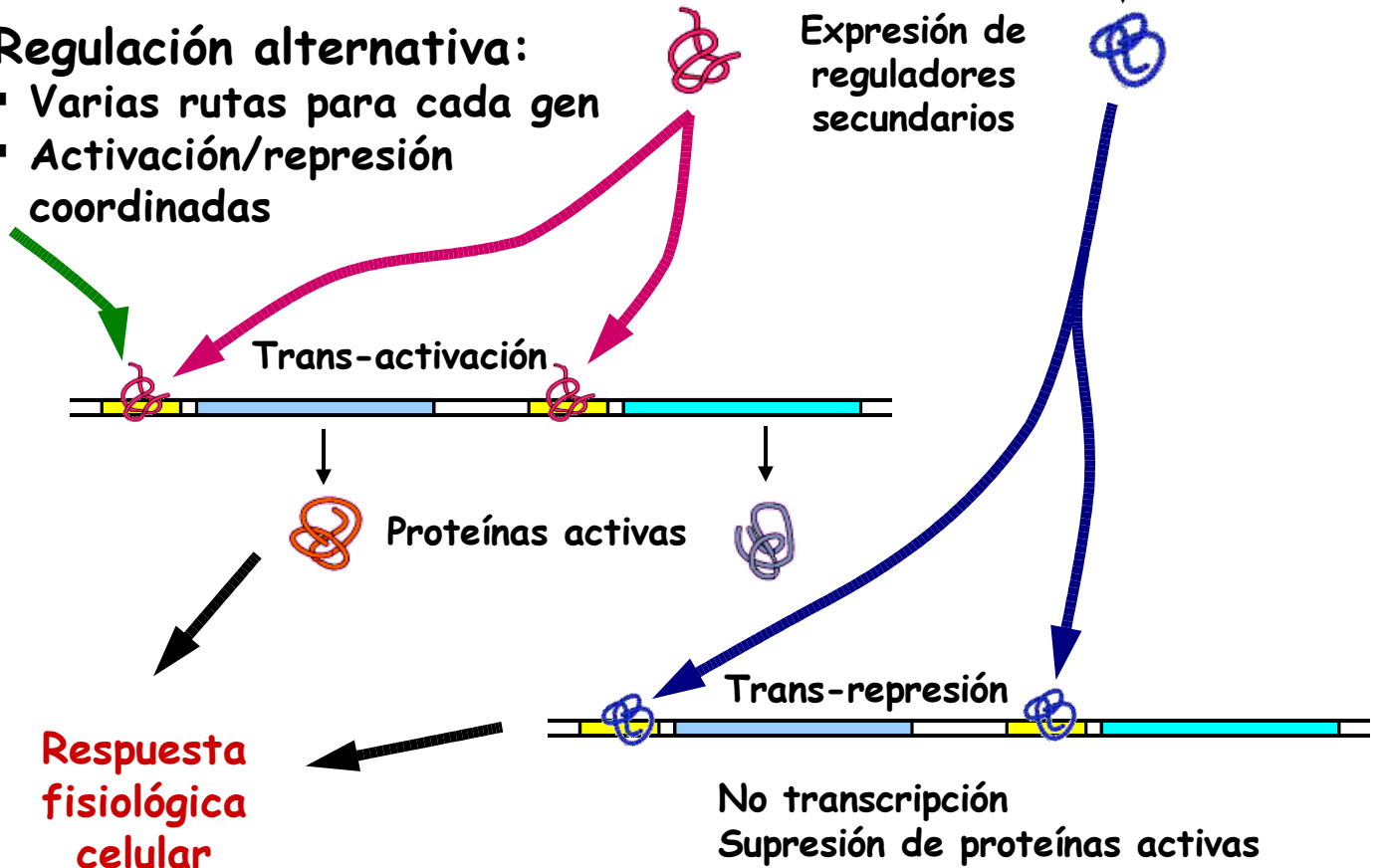


Regulación génica: organización jerárquica

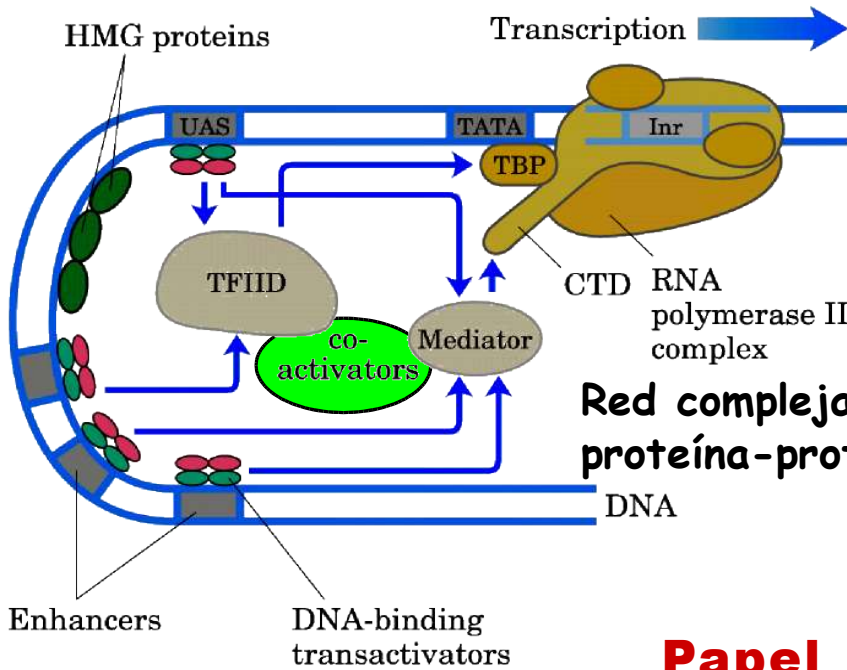
- Organización jerárquica:
 - Cascadas de reguladores



- Regulación alternativa:
 - Varias rutas para cada gen
 - Activación/represión coordinadas



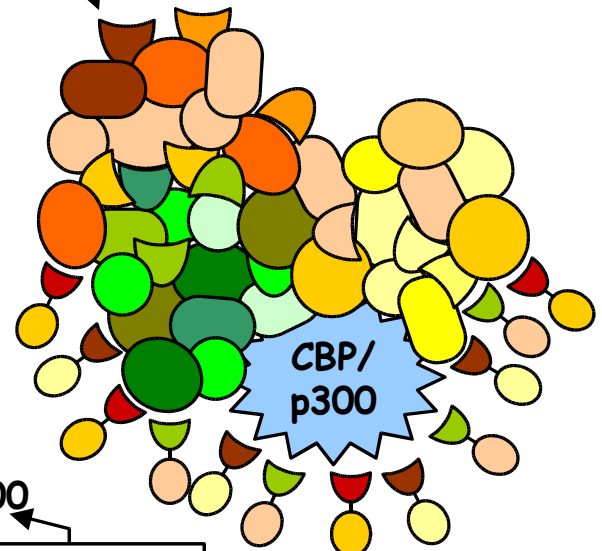
Mediadores del Mediador: co-activadores y co-represores



Los transactivadores NO se unen a PIC: Proteínas de intermediación

Red compleja de interacciones proteína-proteína

Papel Central



➤ Co-moduladores:

- Centros de interacción (construcción del complejo proteico)
- Reclutamiento de otros factores (Remodelamiento/HAT)

Co-activadores: N-CoA, CBP/p300
Co-represores: N-CoR

Remodelación?

➤ TFIID/TAFs:

- Similar a histonas
- Bromodominios
- Interacciones proteína-proteína
- Reconocimiento de promotor
- Construcción de PIC

Unión a Histona-Ac (cromatina activa)

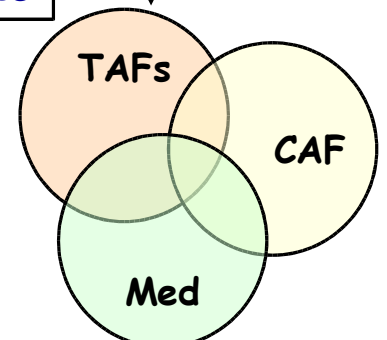
Estabilización
Reclutamiento
Unión a trans-moduladores

Unión a Inr etc promotores sin TATA

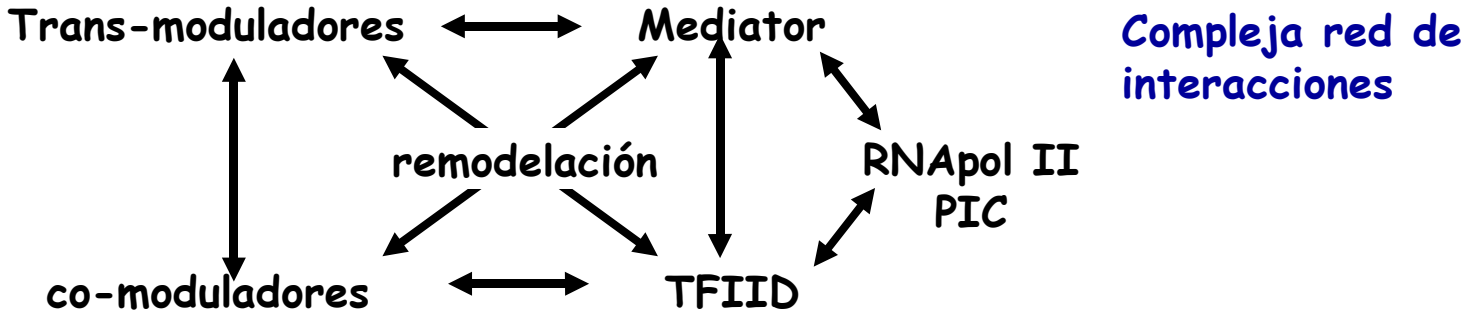
Subunidades compartidas entre complejos TFIID/ Mediator/ pCAF (SAGA) etc

➤ Mediador:

- Multimérico (20 p)
- Interacciones proteína-proteína
- Reclutado sobre PIC-CTD

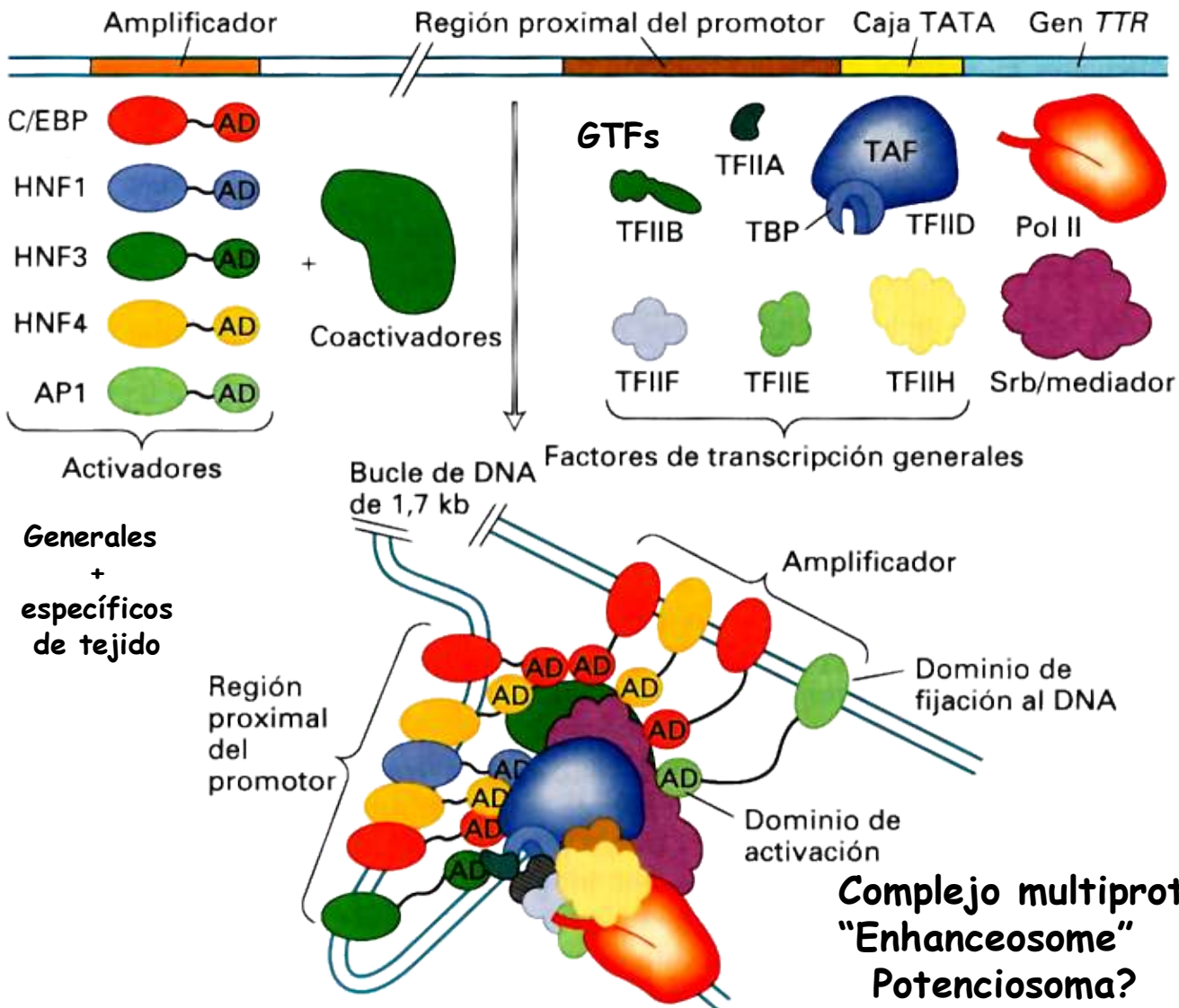


Regulación génica: Integración cooperativa de señales



- Puntos de inicio alternativos
- Construcción por reclutamiento
- Construcción cooperativa

Regulación del gen de la transtiretina en hepatocitos



Integración combinatoria de señales

➤ Aumento factorial de las opciones de regulación

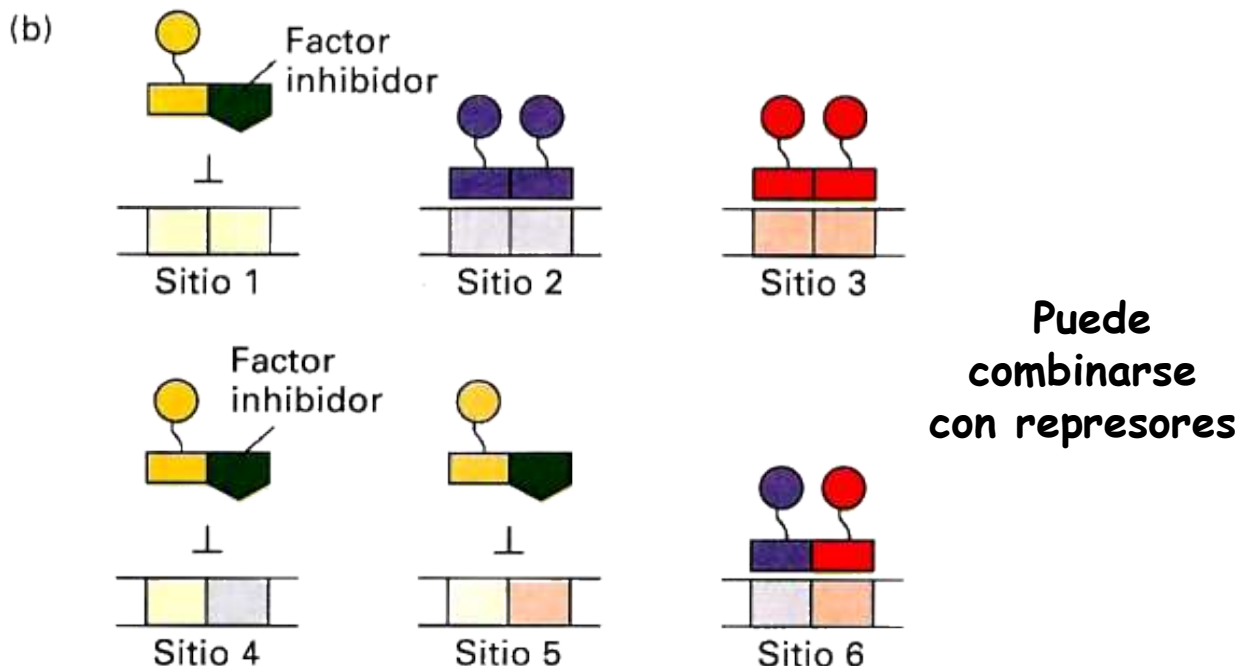
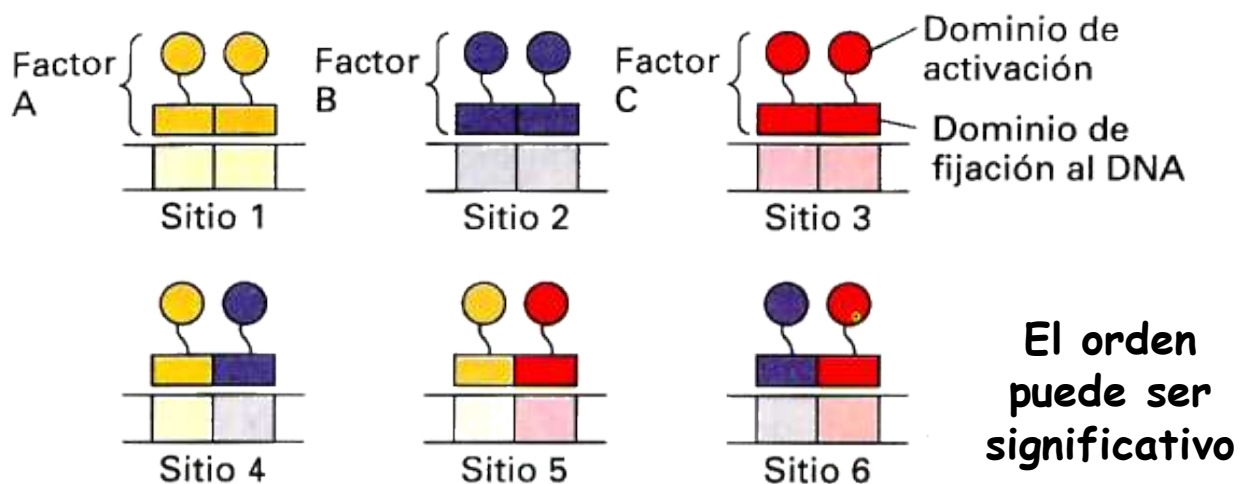
▪ Homo/Heterodimerización

AP-1: combinaciones de fos/jun/otros

▪ Reconocimiento de señales cis

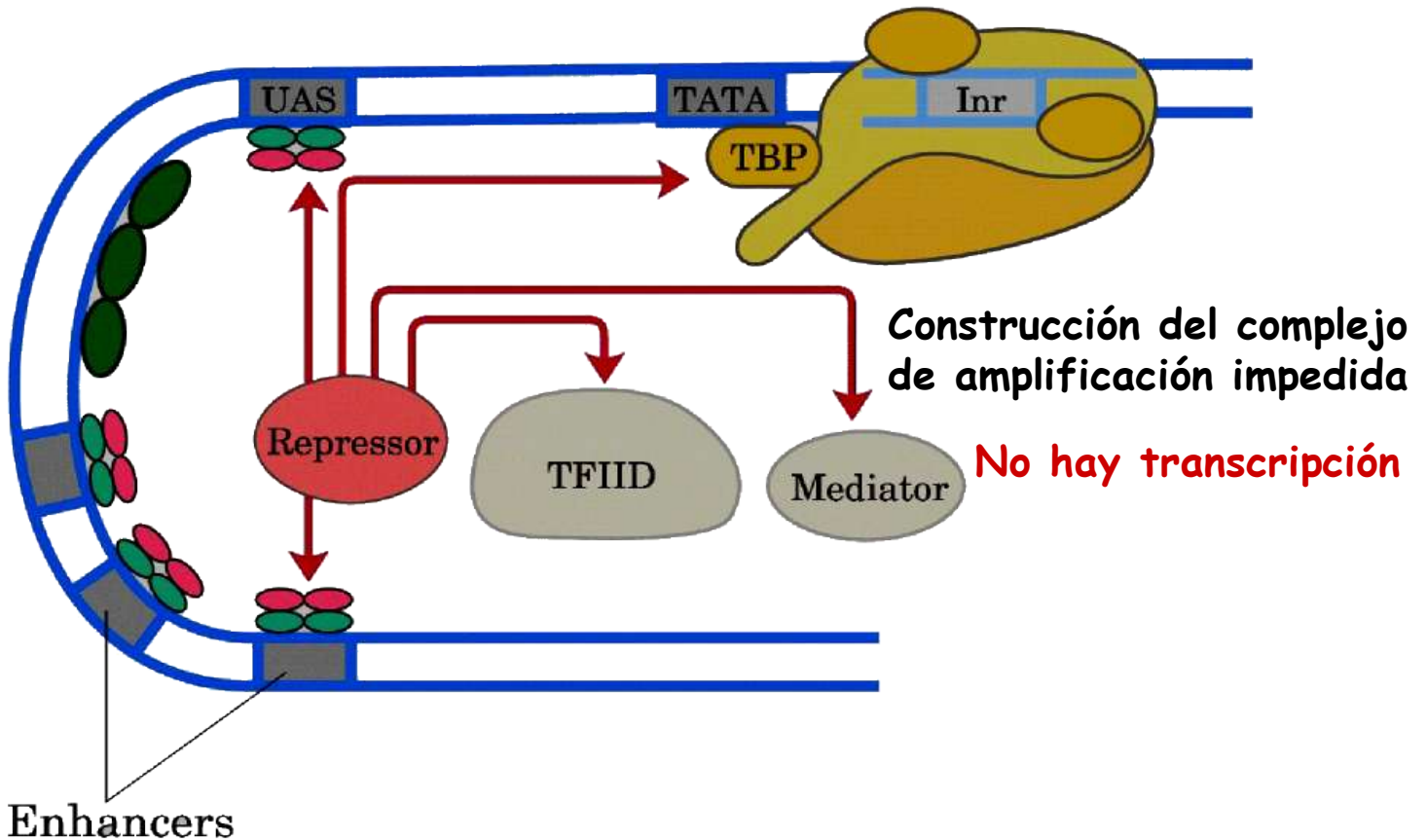
repeticiones simetría

▪ Interacciones proteína-proteína



Trans-represión

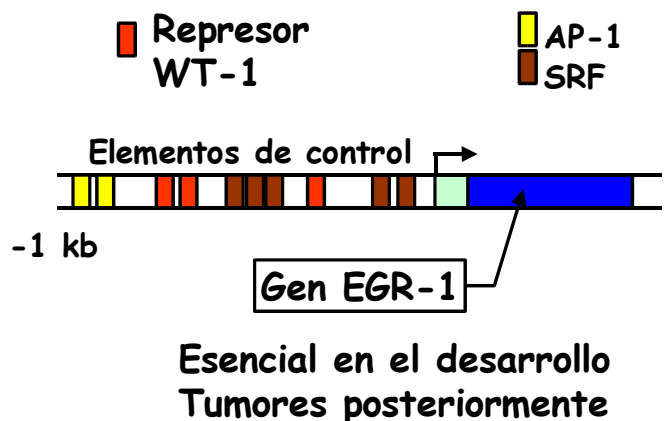
- Inverso funcional de la trans-activación
- Esencial para una red de control



➤ Mecanismos de represión:

- Competición por unión al DNA
- Bloqueo de dominios AD
- Bloqueo del reclutamiento de
 - Co-activadores
 - TFIID/Mediador
 - GTFs
- Reclutamiento de remodeladores compactación/desacetilación

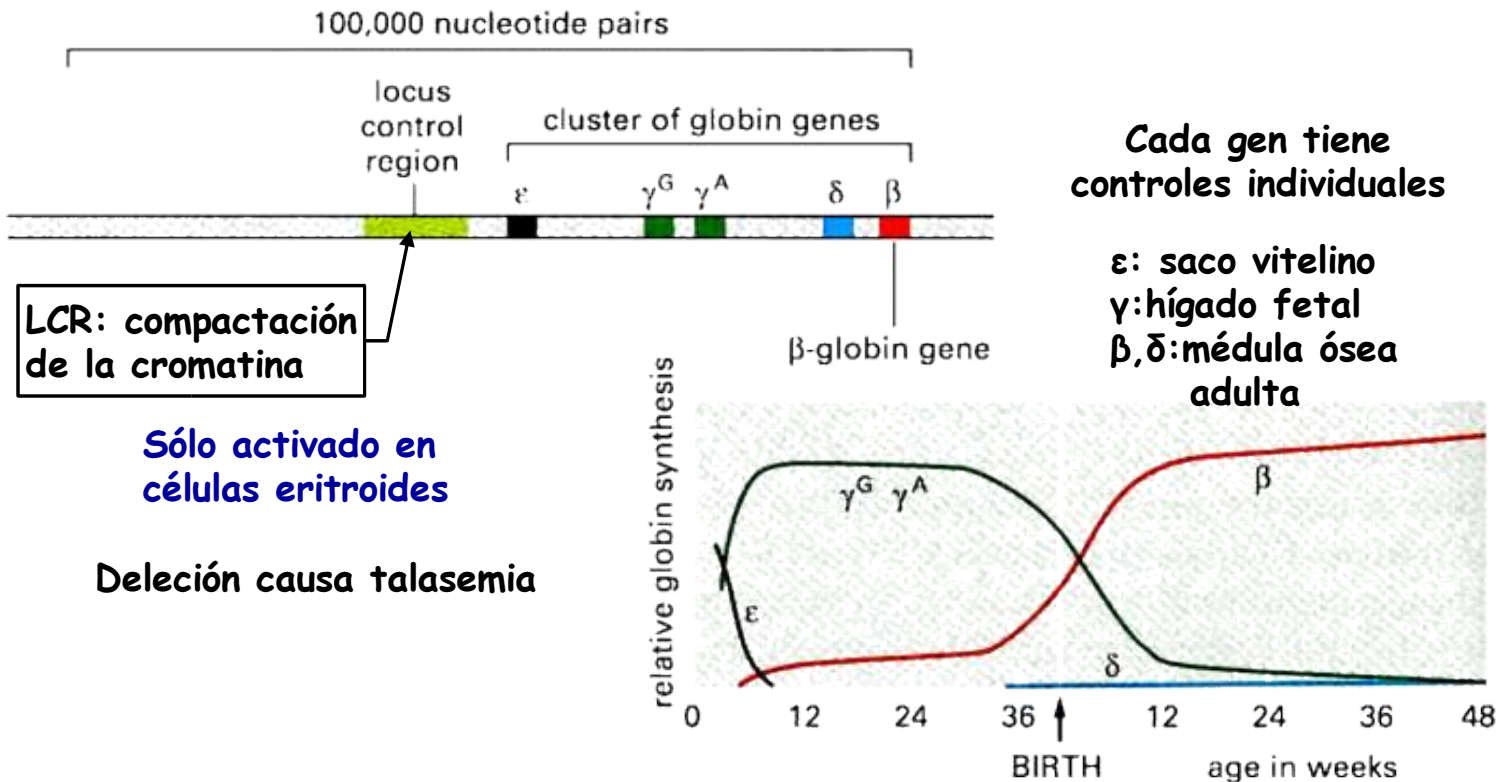
Ejemplo: tumores de Wilms



Controles de largo alcance

➤ Controles de grupos génicos

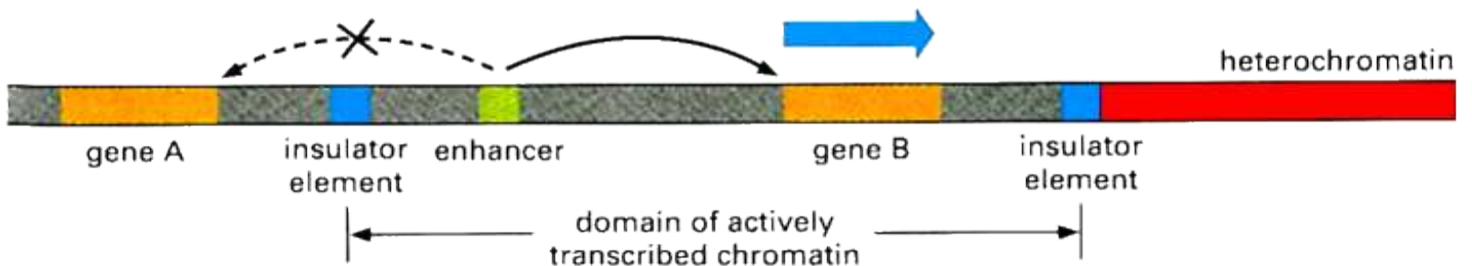
- Afectan a grupos de genes coordinados
- Remodelado de la cromatina



➤ Aisladores (elementos frontera)

- Limitan acción de amplificadores
- Previenen efecto de posición

Actúan por unión de proteínas



Regulación de la expresión génica: Edición del mRNA maduro

➤ Edición:

- Cambiar la secuencia del mRNA maduro
- Muy frecuente en mitocondrias y cloroplastos

➤ Mecanismo de edición:

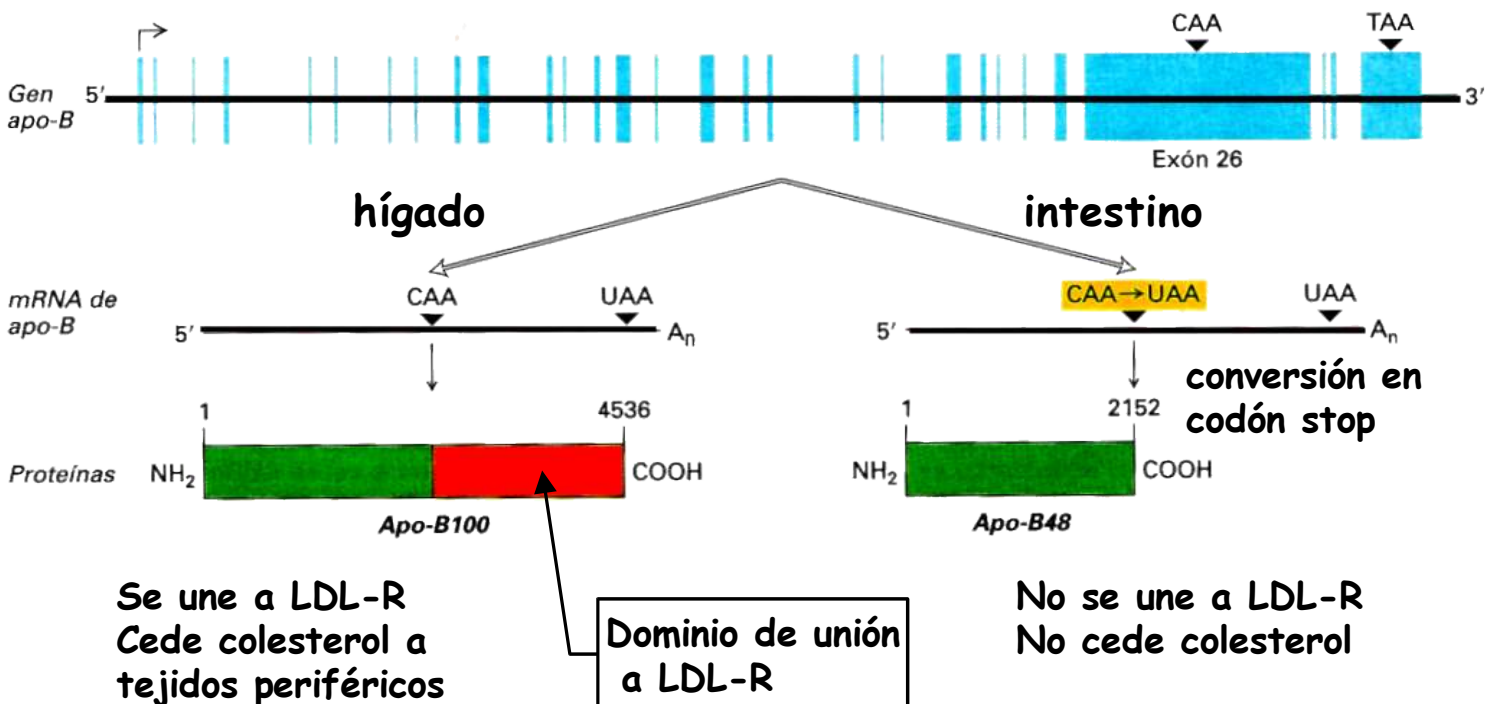
- Modificación de bases in situ
- Reconocimiento de secuencia por RNA

Desaminación:

C → U
A → I

Apolipoproteína B

Apo-B100 (500 kD): hepatocitos
Apo-B48 (240 kD): intestino



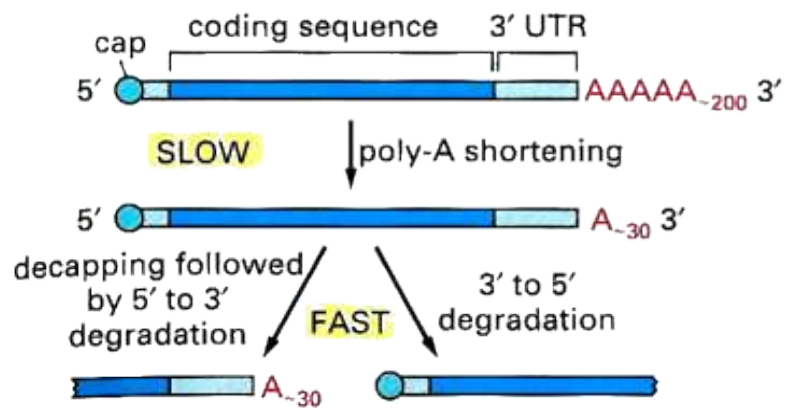
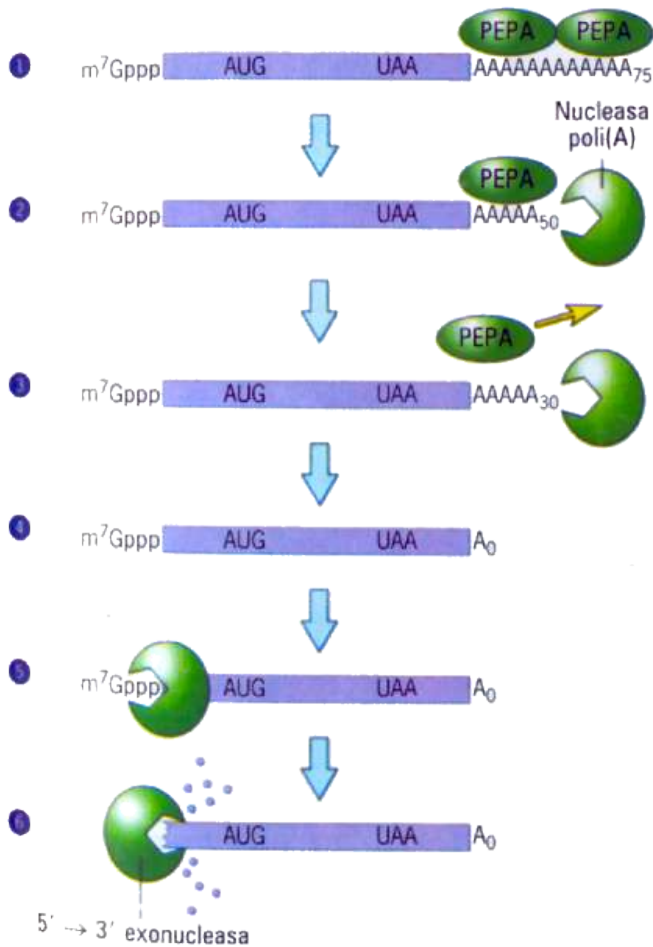
Receptores de glutamato tipo AMPA:

Permeabilidad al Ca^{2+}
(plasticidad sináptica: memoria)

Metabolismo citosólico del mRNA

➤ Recambio: via principal

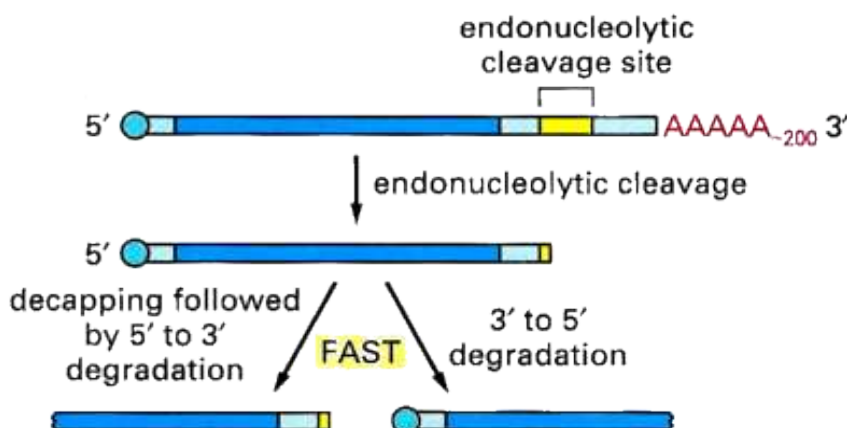
Degradación lenta progresiva de cola poli-A



Acelerada por señales de AUUUA en 3'UTR

➤ Recambio: via adicional

Reclutamiento de endonucleasa específica



Señales codificadas en 5'UTR y 3'UTR

Estabilidad del mRNA: opciones de regulación

➤ Recambio constitutivo:

- mRNAs son muy estables en eucariotas
- Degradación por sistema enzimático específico



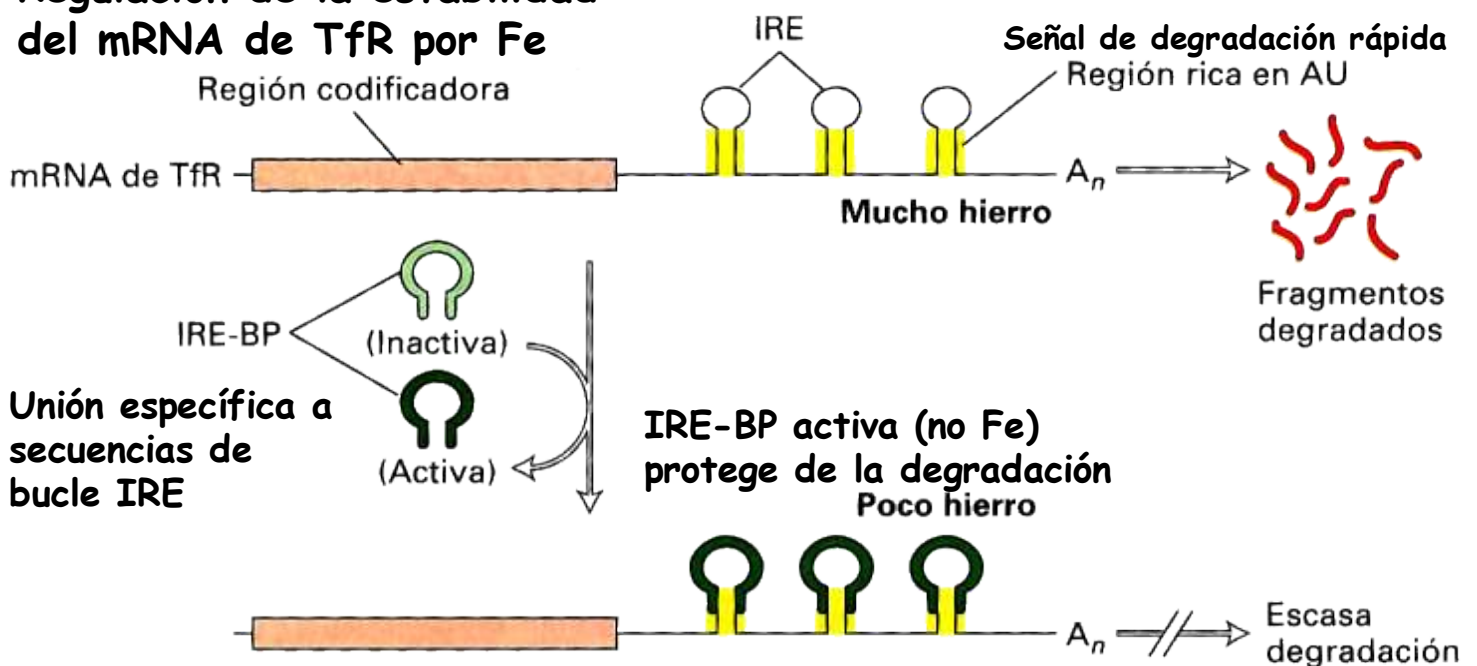
Secuencias AUUUA
repetidas en 3'UTR
Reconocimiento por nucleasas

➤ Degradación regulada:

- Aumento de degradación: señal 3'UTR
- Aumento de estabilidad
 - sistema caseína/prolactina
 - sistema TfR/Hierro (IREs)

Citoquinas
genes inmediatos tempranos

Regulación de la estabilidad del mRNA de TfR por Fe



Los elementos IRE también regulan la traducción del mRNA

