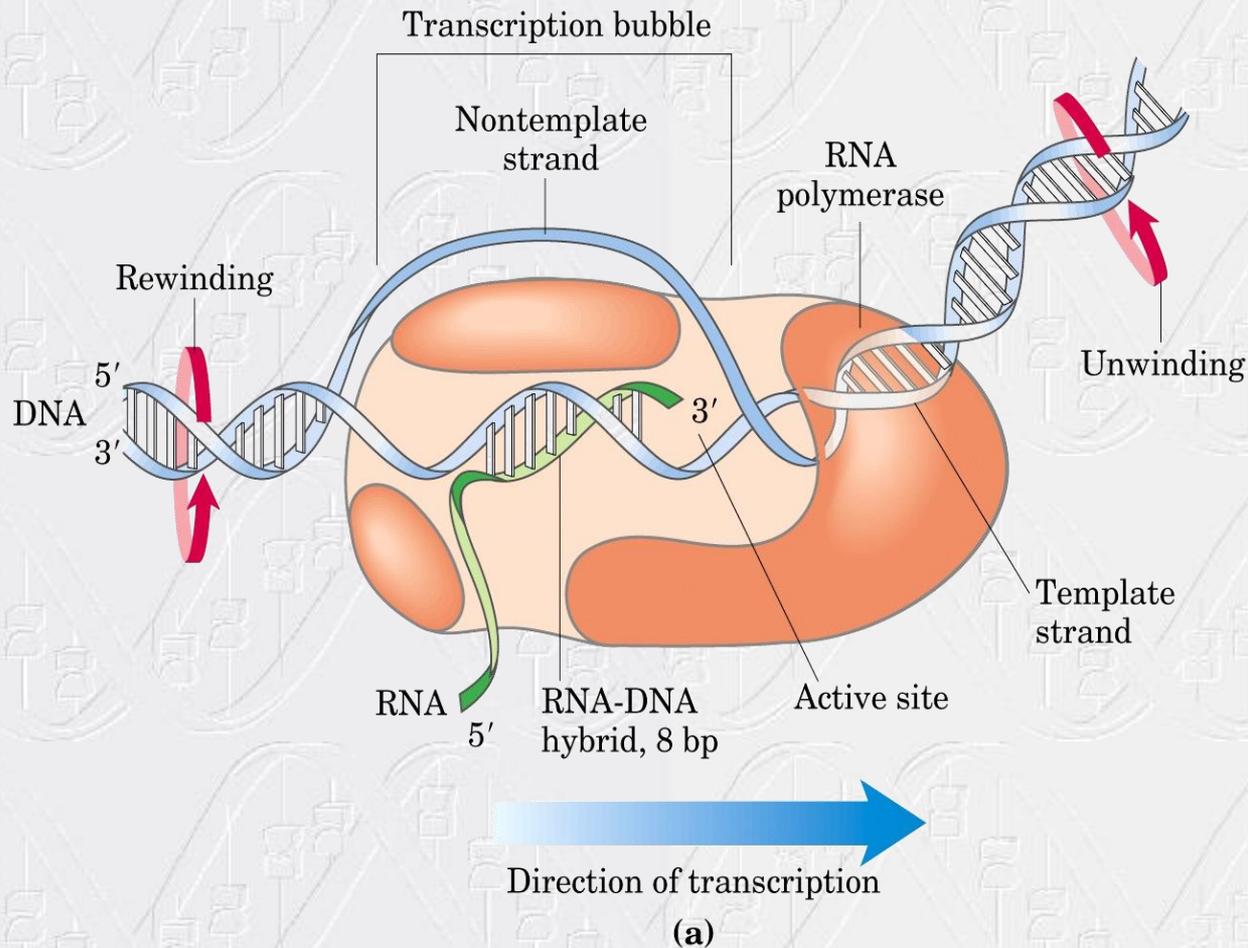


Expresión génica: transcripción

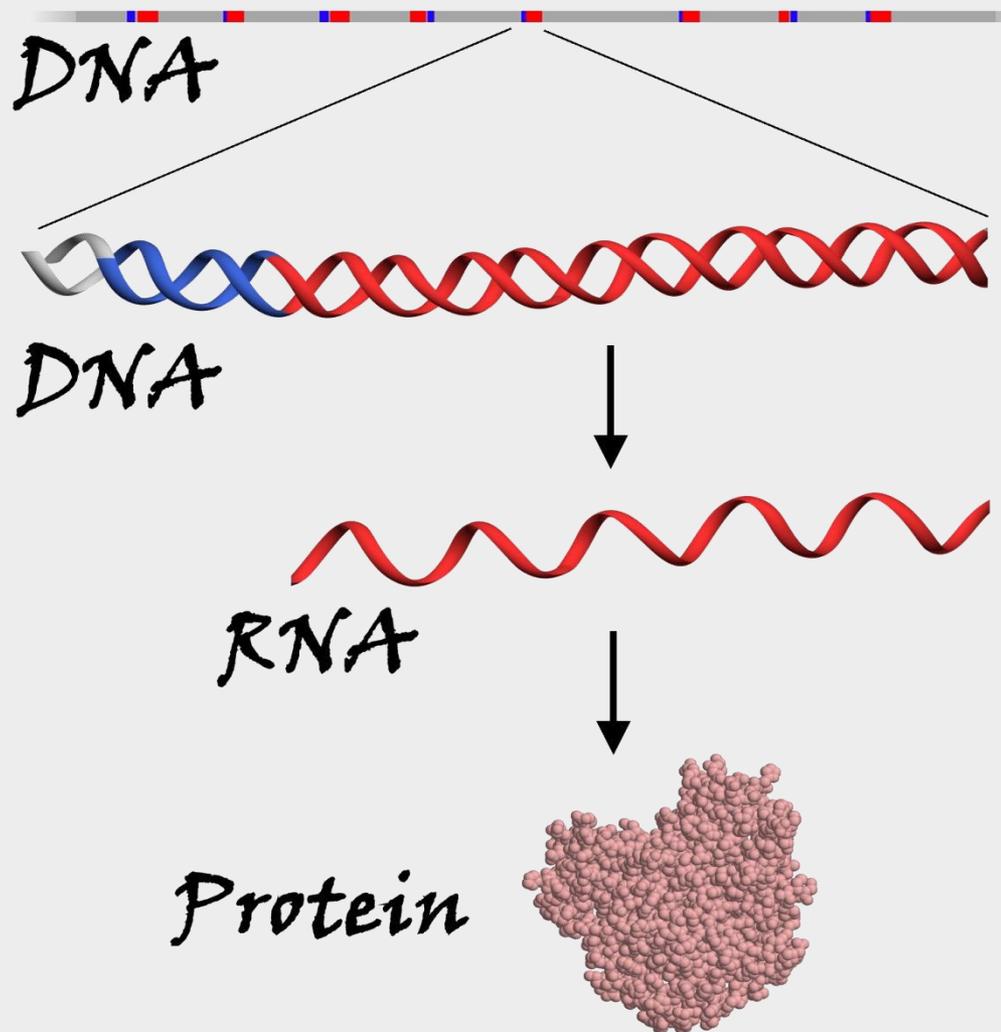


Expresión génica: transcripción

Deberán quedar bien claros los siguientes puntos:

- El "dogma" central del flujo de la información genética -> el RNA como intermediario
- Propiedades del RNA
- Clases de RNA
- El mRNA, el mensajero
- La transcripción: iniciación, elongación y terminación
- La transcripción en eucariotas: modificaciones (procesamiento) transcripcionales, intensificadores
- Transcripción inversa y todas las posibles direcciones del transferencia de información genética
- Actividad enzimática del RNA
- RNA de interferencia (RNAi)

El "dogma" central del flujo de la información genética

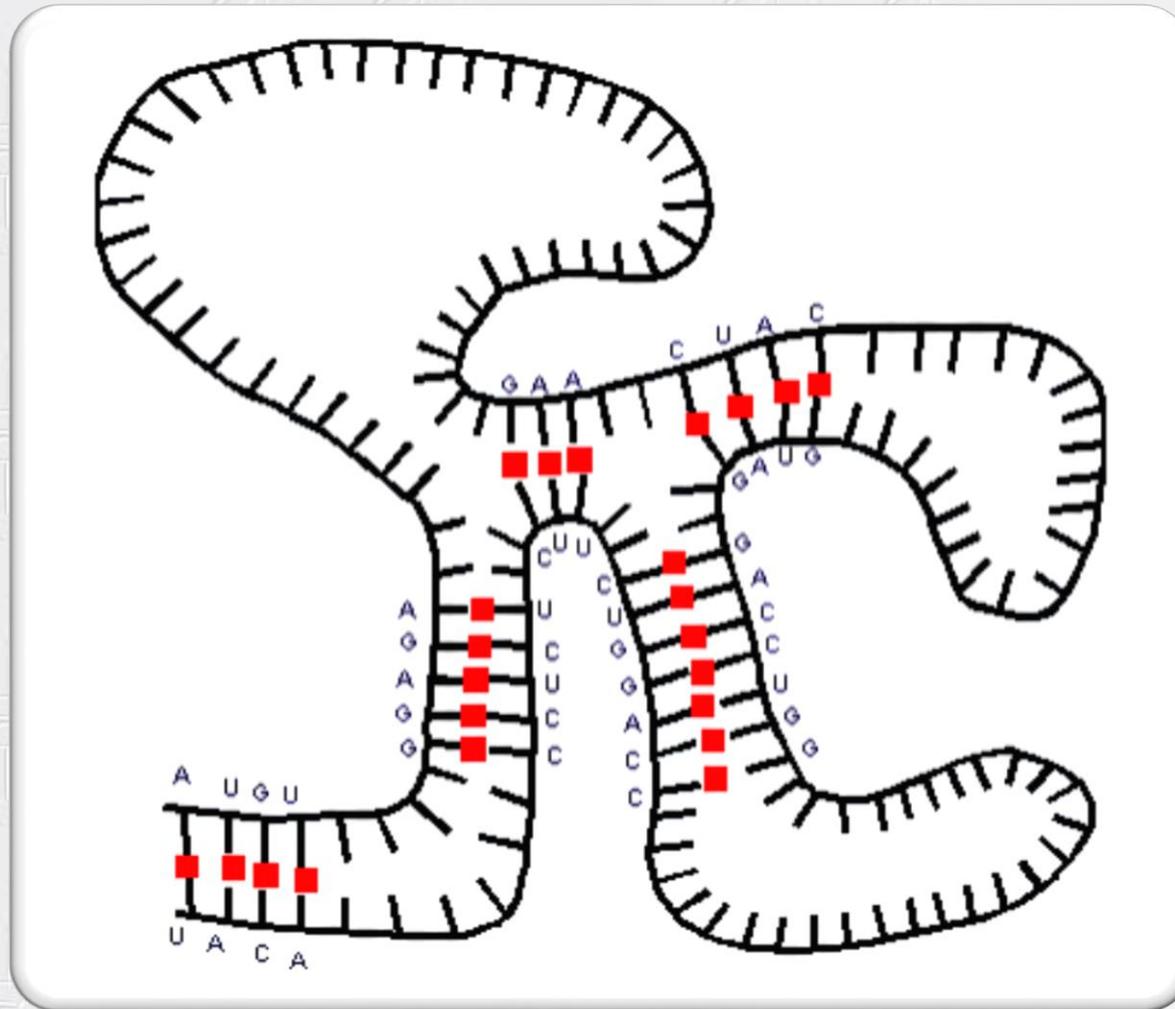


Propiedades del RNA

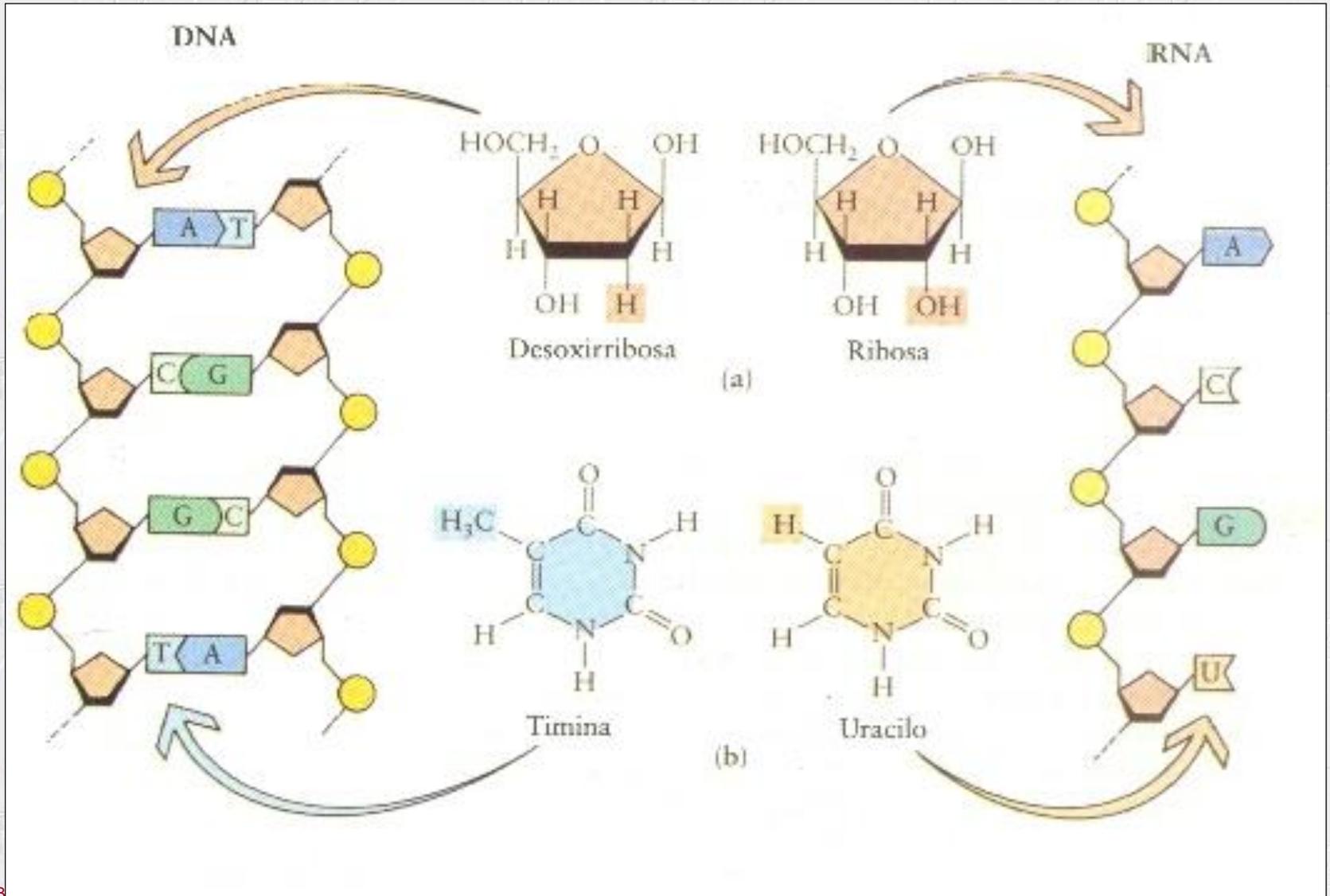
- Una cadena, no doble hélice.
Apareamiento intramolecular -> RNA contorsionista molecular
- Azúcar ribosa (OH en el carbono 2')
- Esqueleto azúcar-fosfato en posiciones 5'-3' del azúcar como DNA
- Uracilo en vez de Timina, se empareja con Adenina, y también con Guanina cuando se pliega (no en la transcripción).
- Catalizador biológico -> Ribozima

RNA: contorsionista molecular

El emparejamiento intramolecular de nucleótidos produce un plegamiento de la molécula de RNA



RNA vs DNA



Tipos de RNA

- RNA mensajero (mRNA)
- RNA funcional
 - RNA de transferencia (tRNA)
 - RNA ribosómico (rRNA)
 - RNA nuclear pequeño (snRNA)
 - MicroRNA (miRNA)
 - RNA de interferencia pequeño (siRNA)

TRANSCRIPCIÓN

Función: la formación del transcrito de RNA mediante la catálisis de la unión de nucleótidos libres a la cadena molde del DNA formando una monohebra de RNA.

Propiedades que hacen posible la síntesis del transcrito de RNA

1. COMPLEMENTARIEDAD ENTRE BASES

A-U, C-G, G-C, T-A

2. UNIÓN DE PROTEÍNAS ESPECÍFICAS AL DNA (RNA Polimerasa y otras proteínas que actúan como factores de transcripción).

Orientación y nomenclatura de las cadenas en relación a la transcripción

(5') CGCTATAGCG (3') → cadena codificadora del DNA

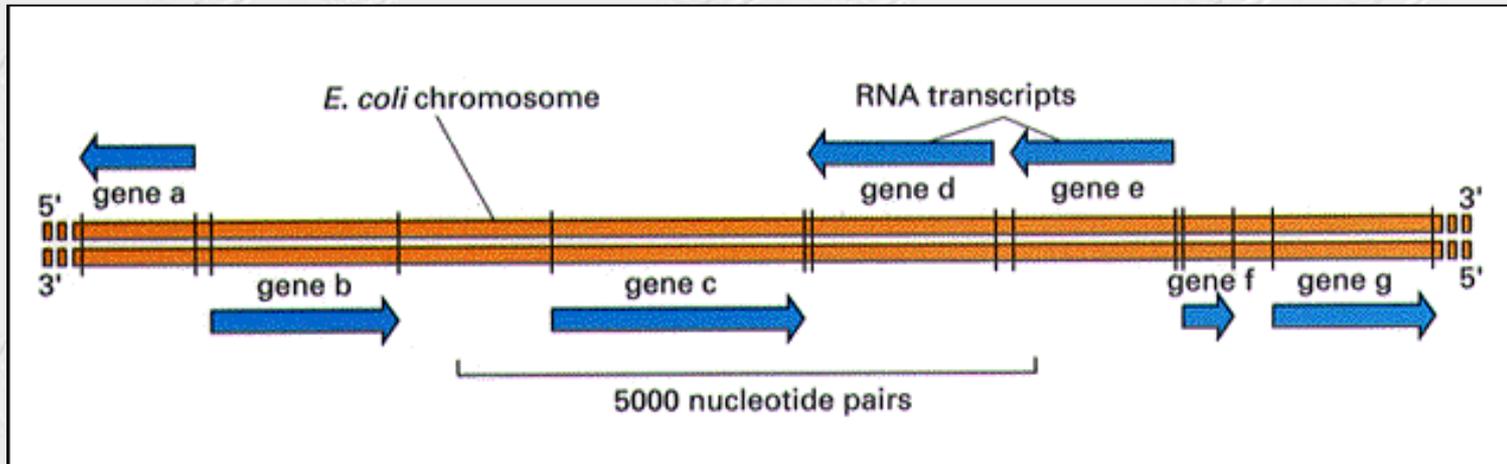
(3') GCGATATCGC (5') → cadena molde del DNA

(5') CGCUAUAGCG (3') → transcrito de RNA

¿Qué cadena de la doble hélice es la codificadora?

Depende de cada gen, no es un propiedad del cromosoma.

Orientación de la transcripción



Orientación de la transcripción

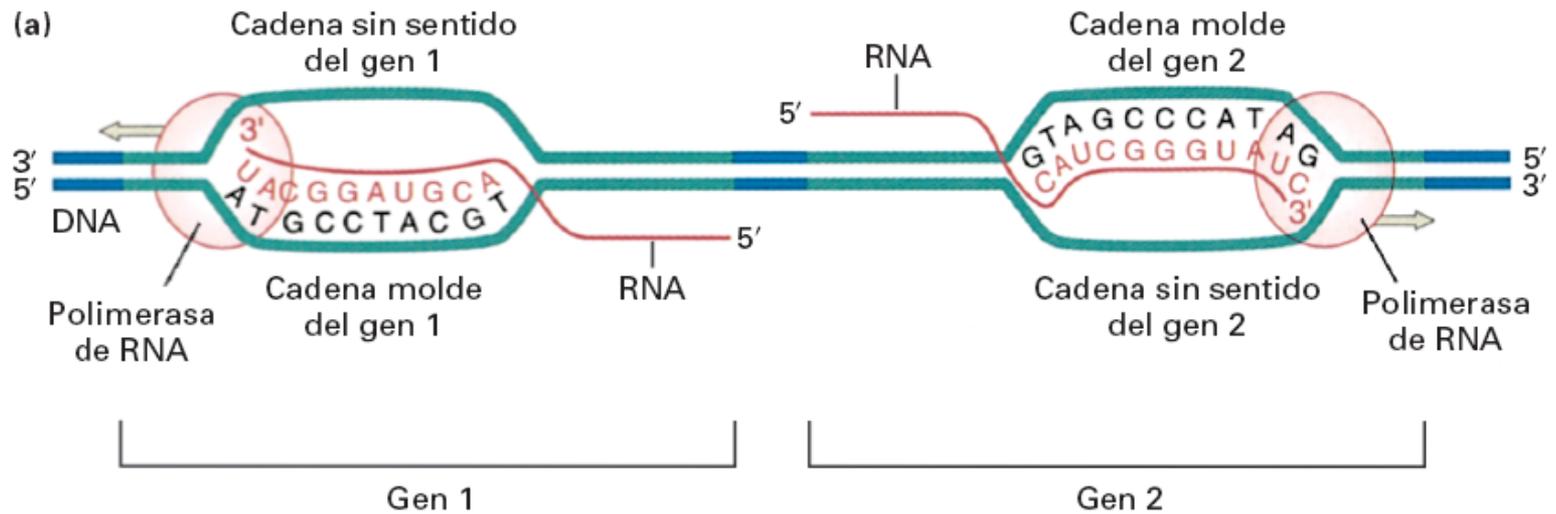


Figura 10-6a. Transcripción de dos genes.

RNA polimerasa

- Enzima compleja, no requiere primer (cebador), no funciona la corrección de errores

- Procariotas: sólo un tipo. Con múltiples subunidades.

E. Coli :

factor sigma iniciación + CORE
(holoenzima)

Eucariotas: 3 tipos

I -> rRNA

II -> mRNA

III -> tRNA, snRNA, rRNA 5S

RNA polimerasa

PROCARIOTAS

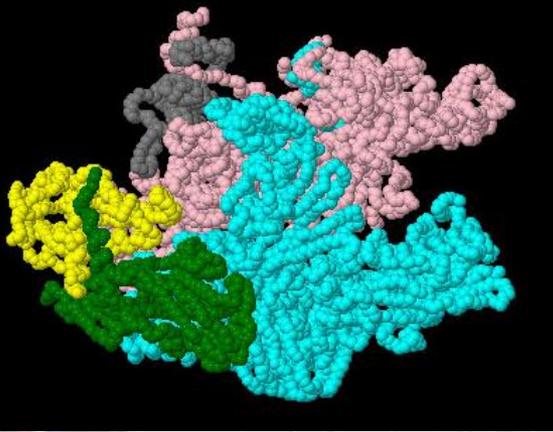
- En procariotas una sola polimerasa (RNA Polimerasa) se encarga de transcribir el DNA en las diferentes clases de RNA

ESTRUCTURA (*E. coli*)

- Se compone de 5 subunidades: 2 subunidades α idénticas, β , β' , ω , más el cofactor σ .
- El cofactor σ tiene la propiedad de disociarse del resto de subunidades durante el proceso dejando el núcleo central de la enzima al descubierto.
- HOLOENZIMA = 5 subunidades (con cofactor σ)
→ ACTIVA
- APOENZIMA = 4 subunidades (el cofactor σ disociado) → INACTIVA

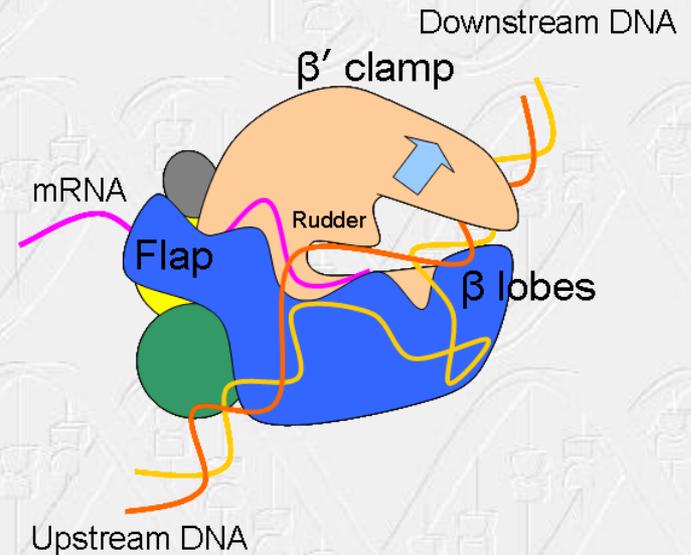
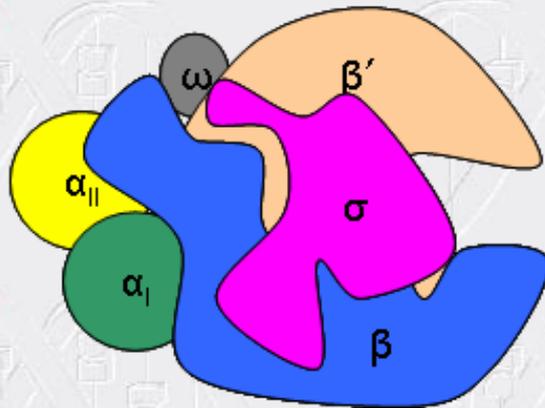
RNA polimerasa

PROCARIOTAS



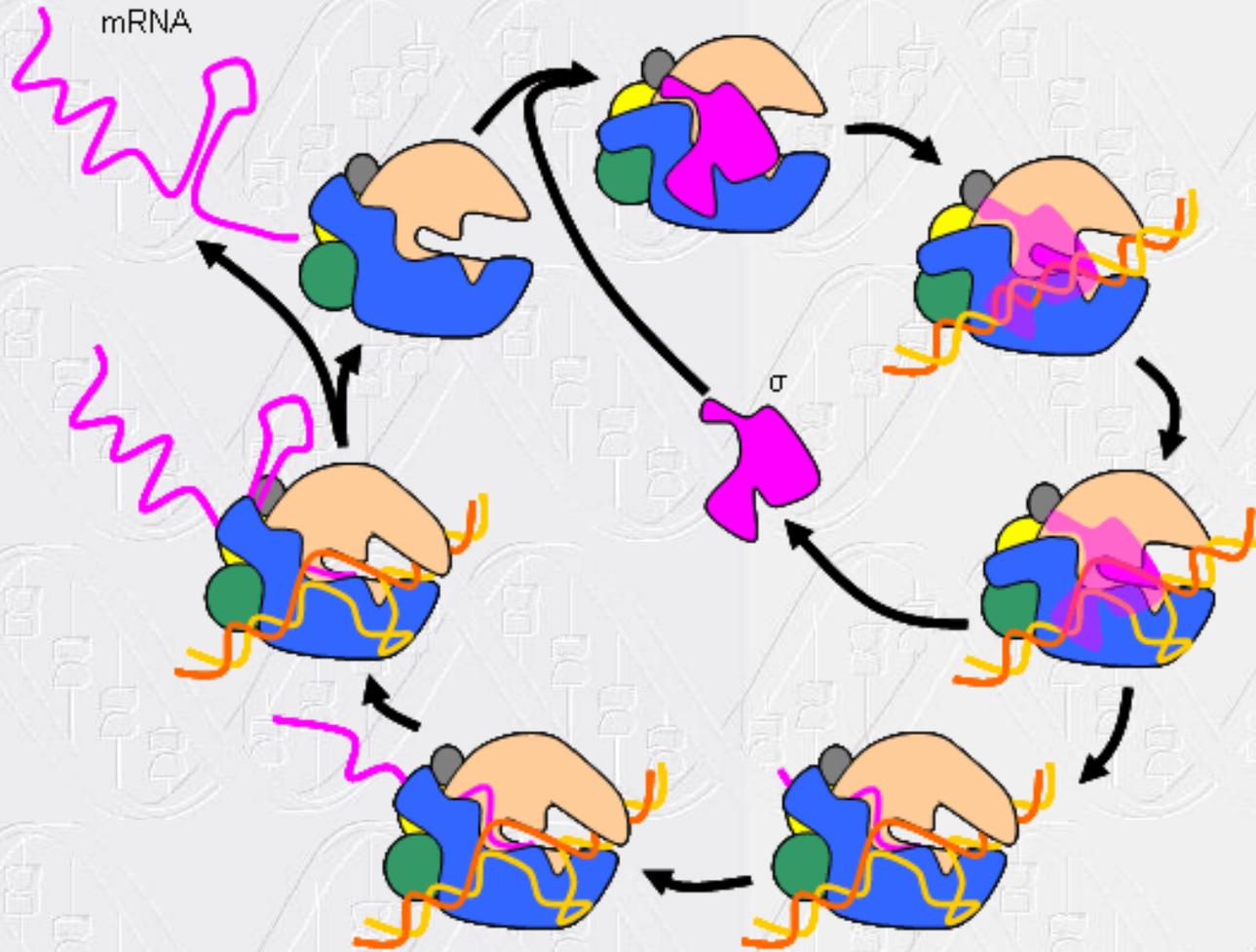
APOENZIMA = 4 subunidades

- 2 subunidades α = ensamblan el enzima y promueven interacciones
- β = actividad catalítica
- β' = se une al DNA
- ω = ensamblaje y regulación expresión
- σ = Se une a las regiones promotoras y posicional a la holoenzima en el sitio de inicio



RNA polimerasa

Ciclo de la RNA pol bacteriana



Etapas de la transcripción

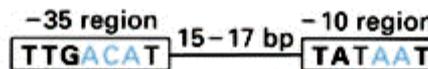
• Iniciación:

- Secuencias promotoras (se une la RNA polimerasa)
- Procariotas: Secuencias consenso Pribnow (-10 pb aguas arriba) y región -35 pb

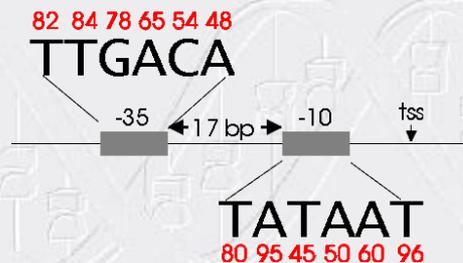
Secuencias de diferentes promotores de *E. coli*

tyr tRNA	TCTCAACGTAACAC TTTACAGCGGCG • • CGTCATTTGATAT GATGC • GCCCCGCTTCCCGATAAGGG
rrn D1	GATCAAAAAAATAC TTGTGCAAAAAA • • TTGGGATCCCTATAATGCGCCTCCGTTGAGACGACAACG
rrn X1	ATGCATTTTTCCGC TTGTCTTCTGA • • GCCGACTCCCTATAATGCGCCTCCATCGACACGGCGGAT
rrn (DXE) ₂	CCTGAAATTCAGGG TTGACTCTGAAA • • GAGGAAAGCGTAATATAC • GCCACCTCGCGACAGTGAGC
rrn E1	CTGCAATTTTTCTA TTGCGGCCTGCG • • GAGAACTCCCTATAATGCGCCTCCATCGACACGGCGGAT
rrn A1	TTTTAAATTTCTC TTGTCAAGGCCGG • • AATAACTCCCTATAATGCGCCACCACTGACACGGGAACAA
rrn A2	GCAAAAATAAATGC TTGACTCTGTAG • • CGGGAAGGCGTATTATGC • ACACCCCGCGCCGCTGAGAA
λ PR	TAACACCGTGCGT TTGACTATTTA • CCTCTGGCGGTGATAATGG • • TTGCATGTACTAAGGAGGT
λ PL	TATCTCTGGCGGT TTGACATAAATA • CCACTGGCGGTGACTACTGA • • GCACATCAGCAGGACGCAC
T7 A3	GTGAAACAAAACGG TTGACAACATGA • AGTAAACACGGTACGATGT • ACCACATGAAACGACAGTGA
T7 A1	TATCAAAAAGAGT TTGACTTAAAGT • CTAACCTATAGGACTTA • CAGCCATCGAGAGGGACACG
T7 A2	ACGAAAAACAGGT TTGACAACATGA AGTAAACATGCAGTAAGATAAC • AAATCGCTAGGTAACACTAG
fd VIII	GATACAAATCTCCG TTGTACTTTGTT • • TCGCGCTTGGTATAATCG • CTGGGGGTCAAAGATGAGTG

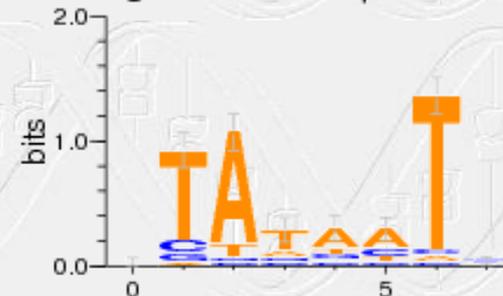
Secuencia consenso de los promotores



Typical Bacterial Promoter



-10 region of *E. coli* promoters

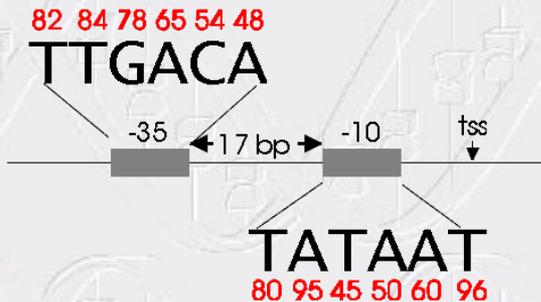


Etapas de la transcripción

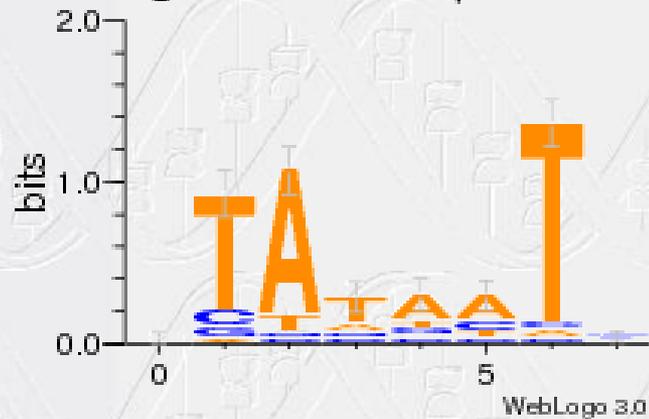
•Iniciación:

- Secuencias promotoras (se une la RNA polimerasa)
- Procariotas: Secuencias consenso Pribnow (-10 pb aguas arriba) y región -35 pb

Typical Bacterial Promoter



-10 region of E. coli promoters



- Eucariotas: Caja TATA (-25 pb) y CAAT (-70 pb)

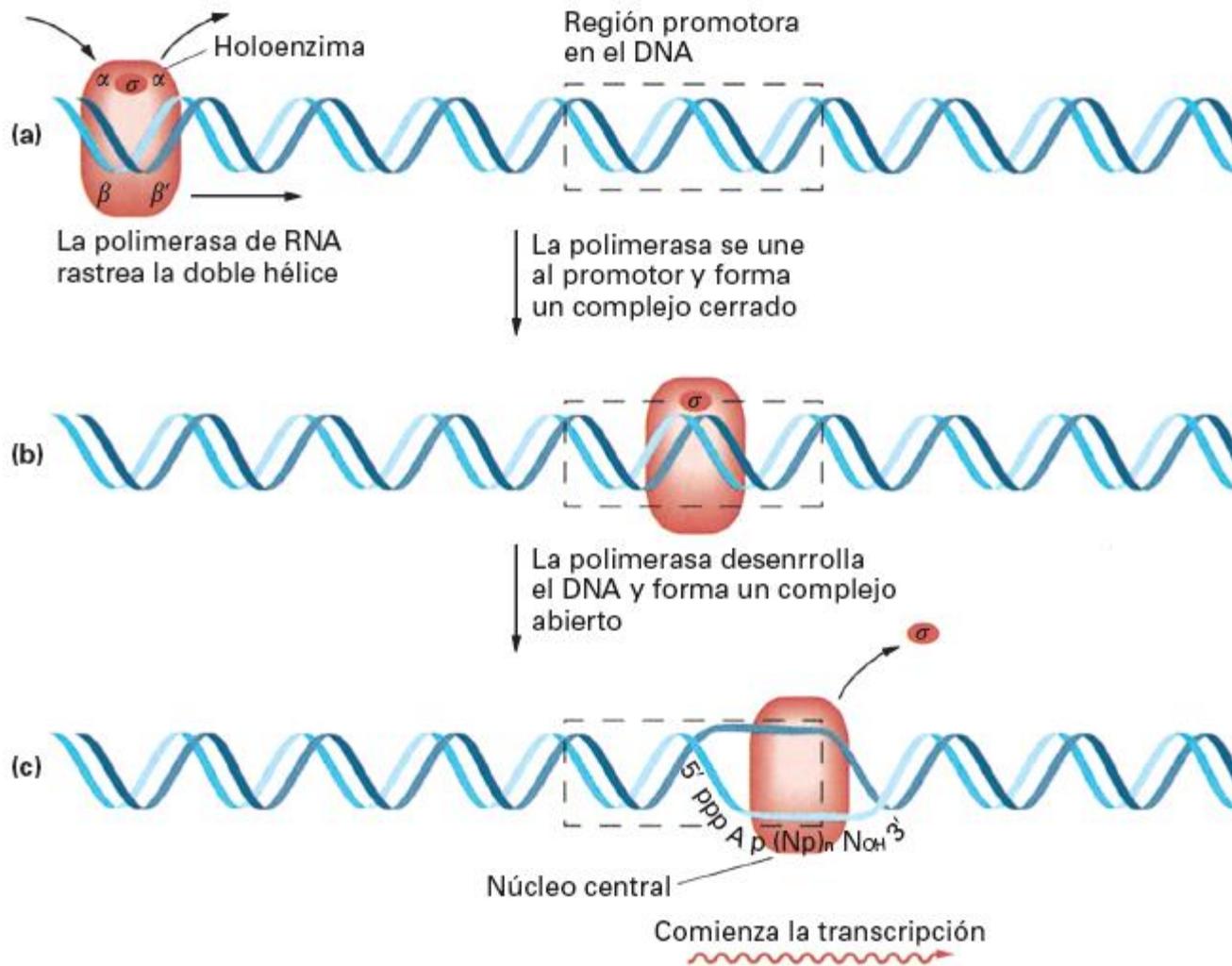


Figura 10-9. Iniciación de la transcripción.

Etapas de la transcripción

•Iniciación:

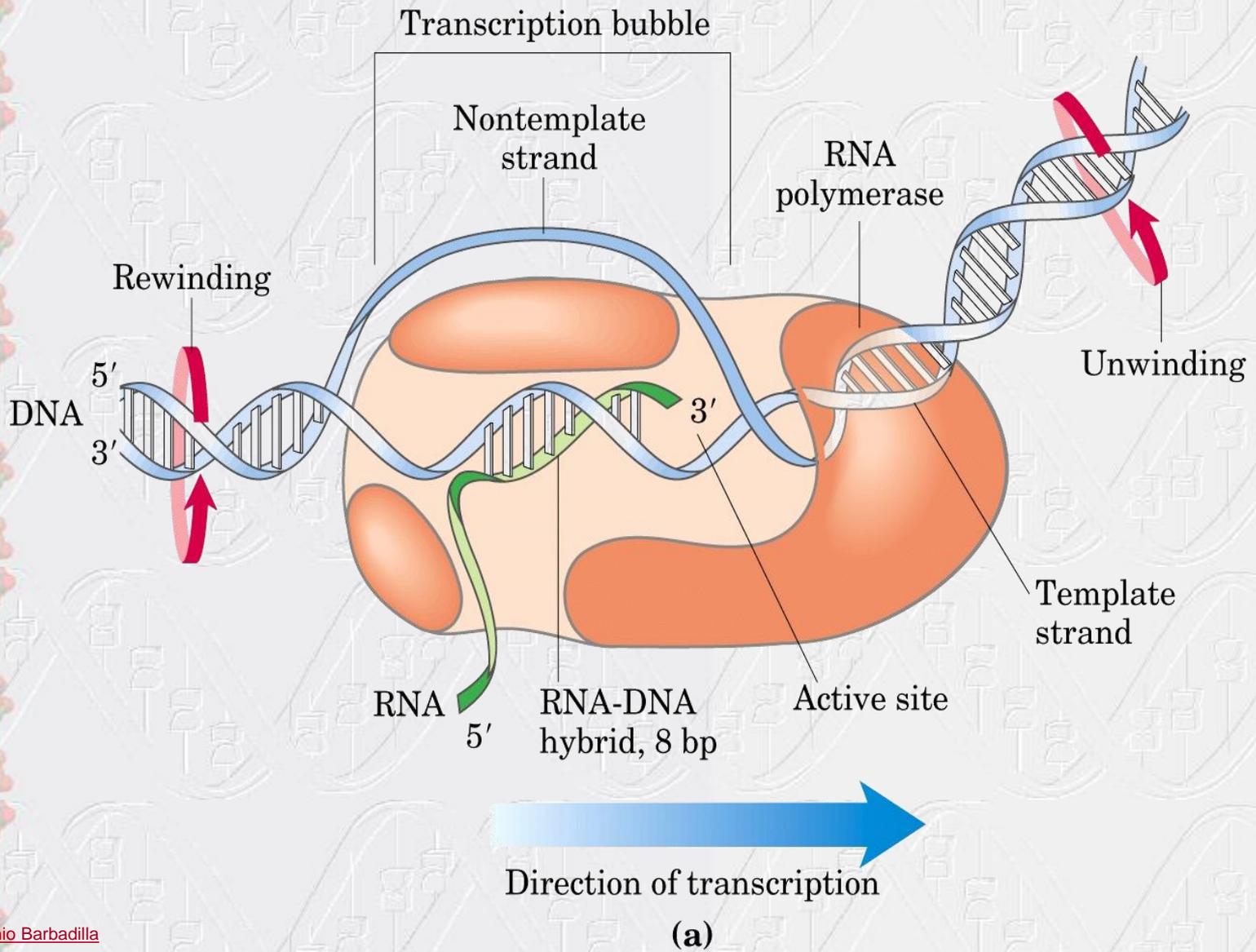
- Secuencias promotoras (se une la RNA polimerasa)
 - Procariotas: Secuencias consenso Pribnow (-10 pb) y región -35 pb
 - Eucariotas: Caja TATA (-25 pb) y CAAT (-70 pb)

•Elongación:

- 5'→3'
- Enrollamiento aguas arriba (5') y desenrollamiento aguas abajo (3') del DNA

•Terminación:

- Dependiente del factor Rho
- Independiente de Rho



Etapas de la transcripción

• Iniciación:

- Secuencias promotoras (se une la RNA polimerasa)
 - Procariotas: Secuencias consenso Pribnow (-10 pb) y región -35 pb
 - Eucariotas: Caja TATA (-25 pb) y CAAT (-70 pb)

• Elongación:

- 5' → 3'
- Enrollamiento aguas arriba (5') y desenrollamiento aguas abajo (3') del DNA

• Terminación:

- Dependiente del factor Rho
- Independiente de Rho

Terminación: DNA Palíndrome estructura secundaria

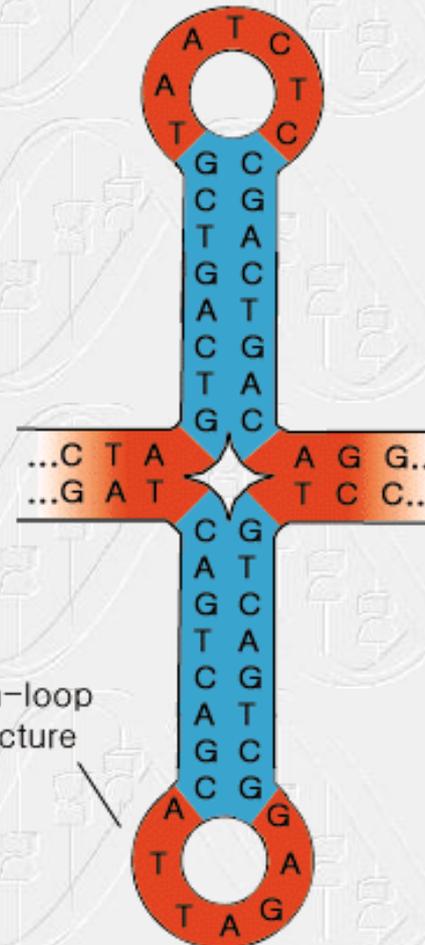


Inverted repeats

Palíndrome:

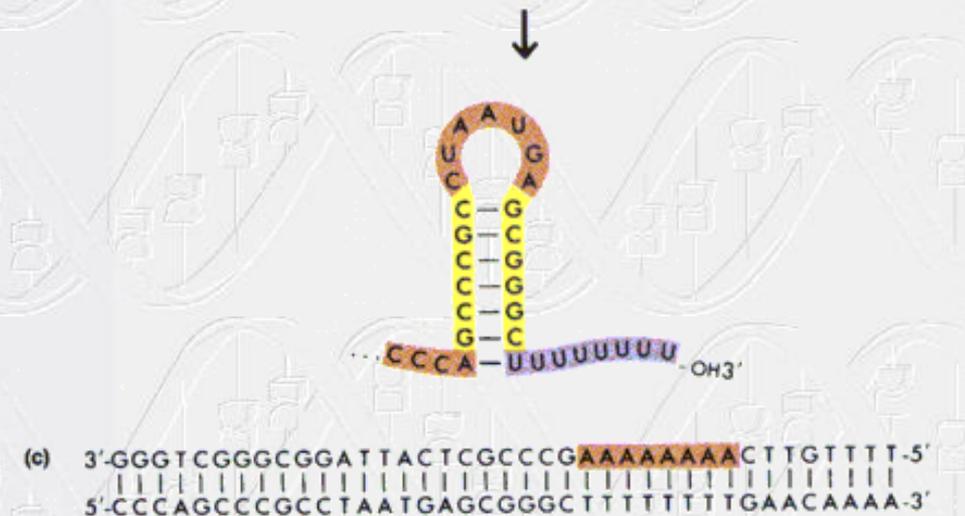
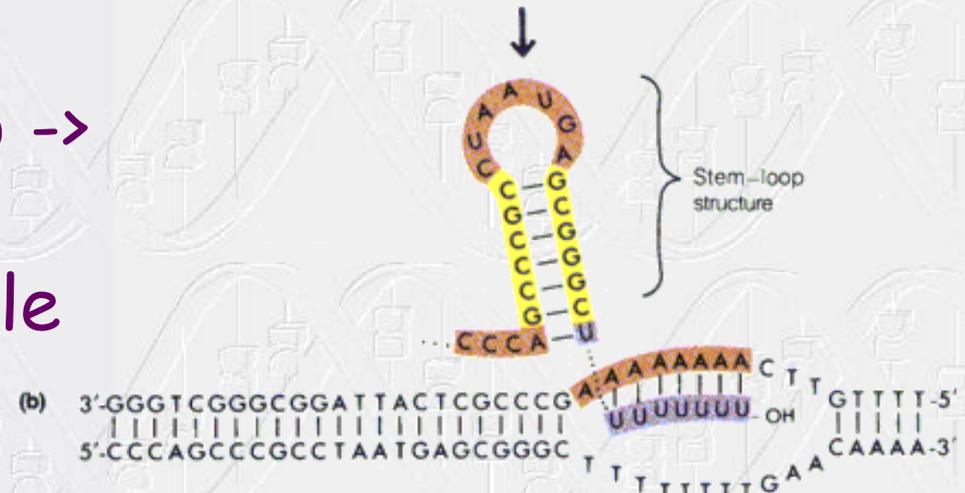
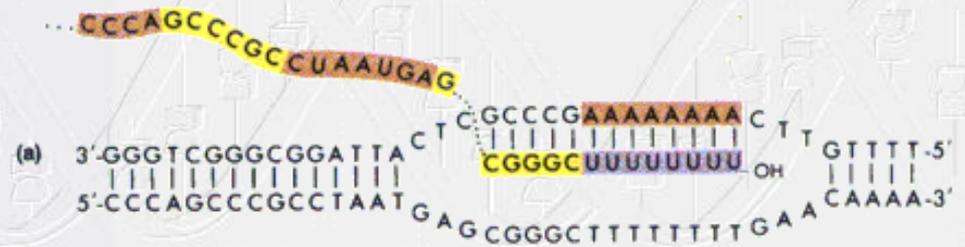
“dabale arroz a la zorra el abad”

Stem-loop structure



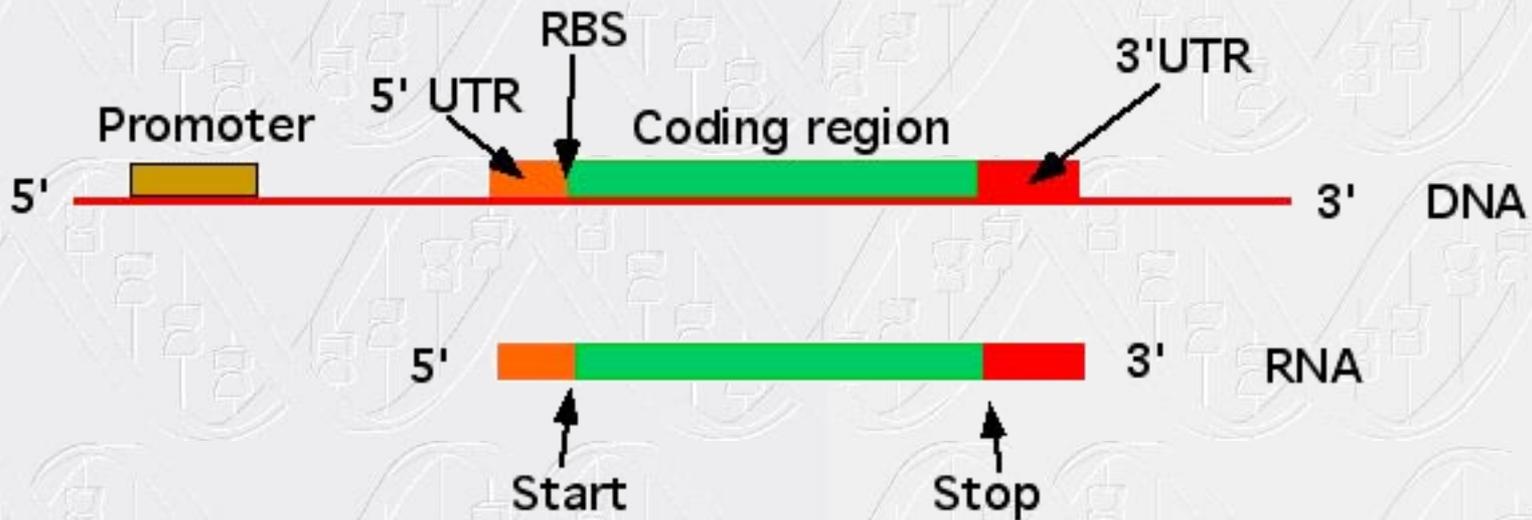


Terminación: mecanismo intrínseco → DNA Palíndromo, estructura tallo-bucle



Región 3' no traducida de ~ 40 bases (3'UTR)

Estructura del gen y el mensajero procarionota



Transcripción Eucariotas

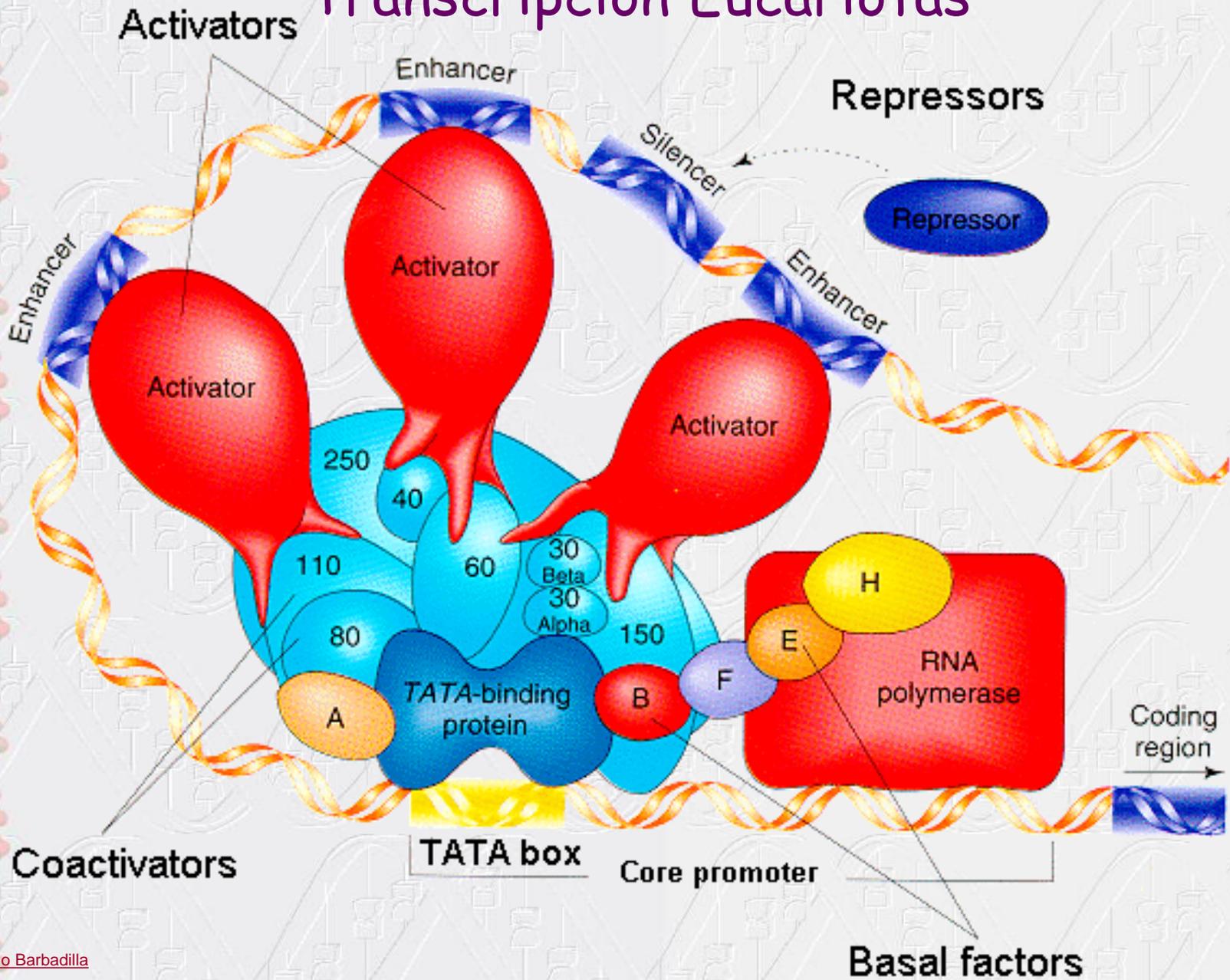
RNAs Polimerasa en Eucariotas

- 1- Existen tres tipos de RNA polimerasa

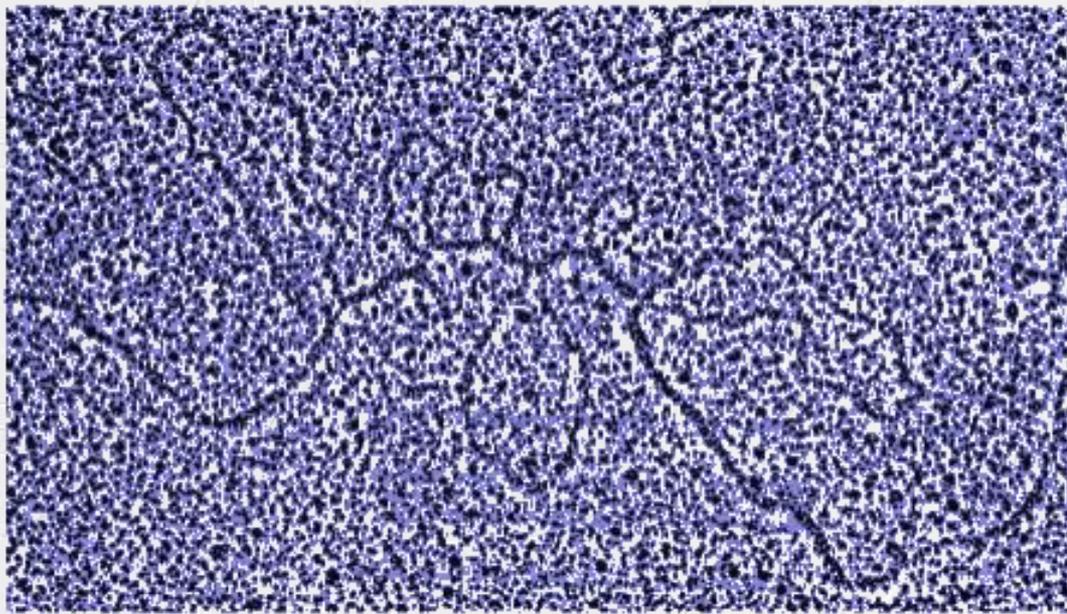
La I, la II y la III

- **RNA polimerasa I**, 13 subunidades. Se localiza en el núcleo y en el nucleolo. -> Síntesis de rARN 45S.
- **RNA polimerasa II**, 12 subunidades. Se localiza en el nucleoplasma. -> Síntesis de los hnRNA (transcrito primario), los precursores de los mRNA.
- **RNA polimerasa III**, 17 subunidades. Se localiza en el nucleoplasma. -> Síntesis rRNA 5S y tRNA.

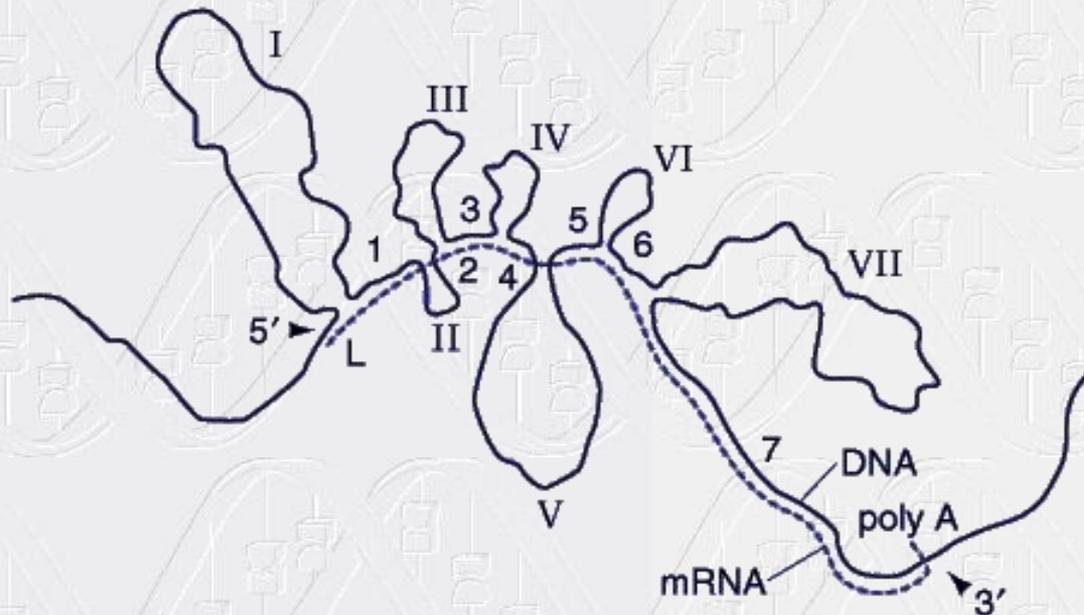
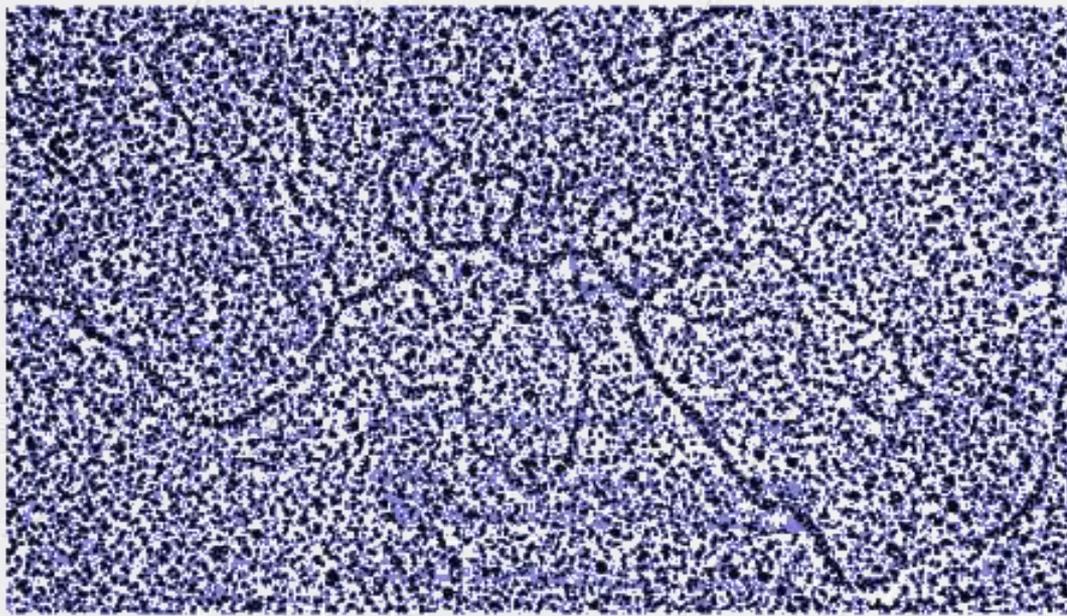
Transcripción Eucariotas



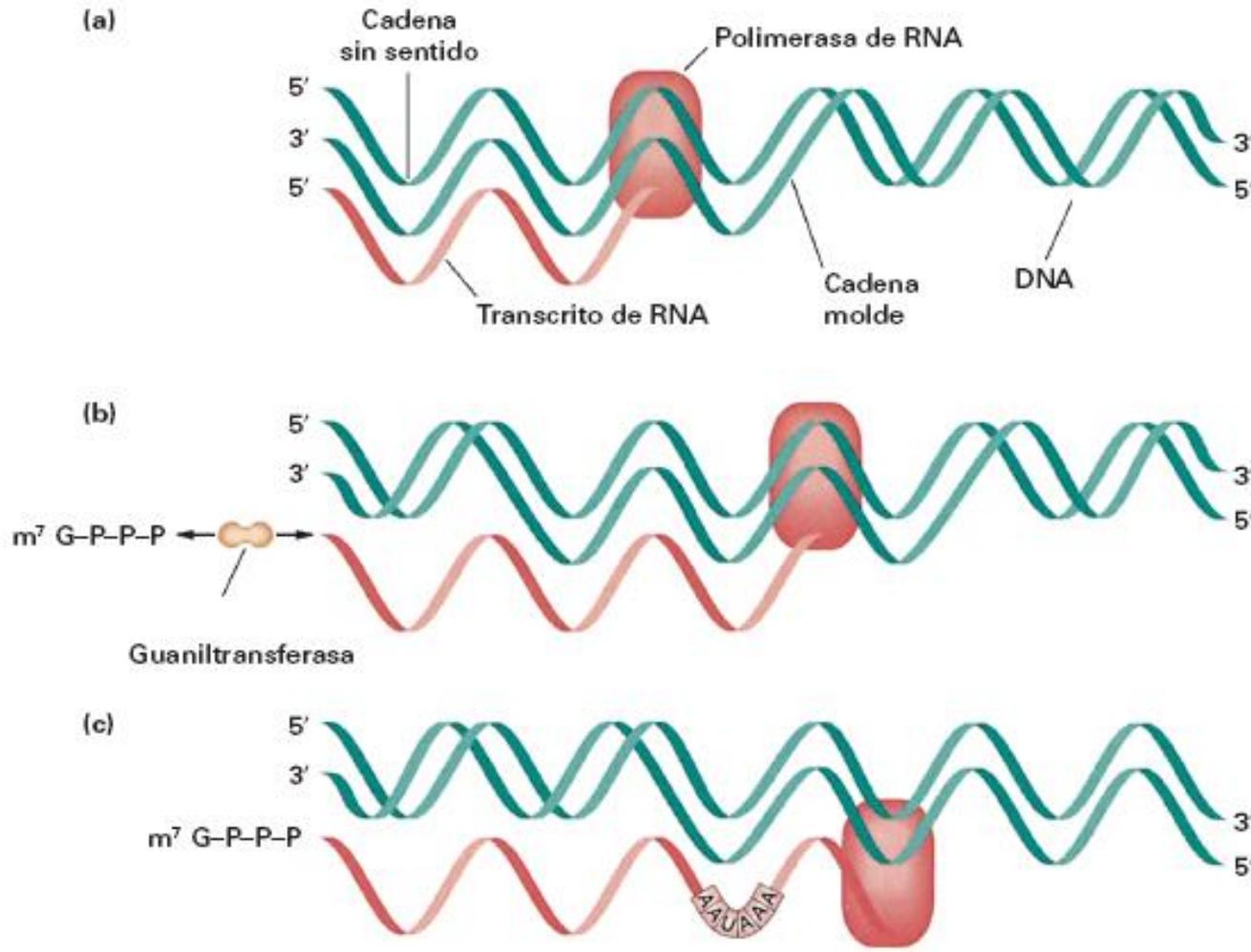
Transcripción Eucariotas



Transcripción Eucariotas



Transcripción Eucariotas



Transcripción Eucariotas

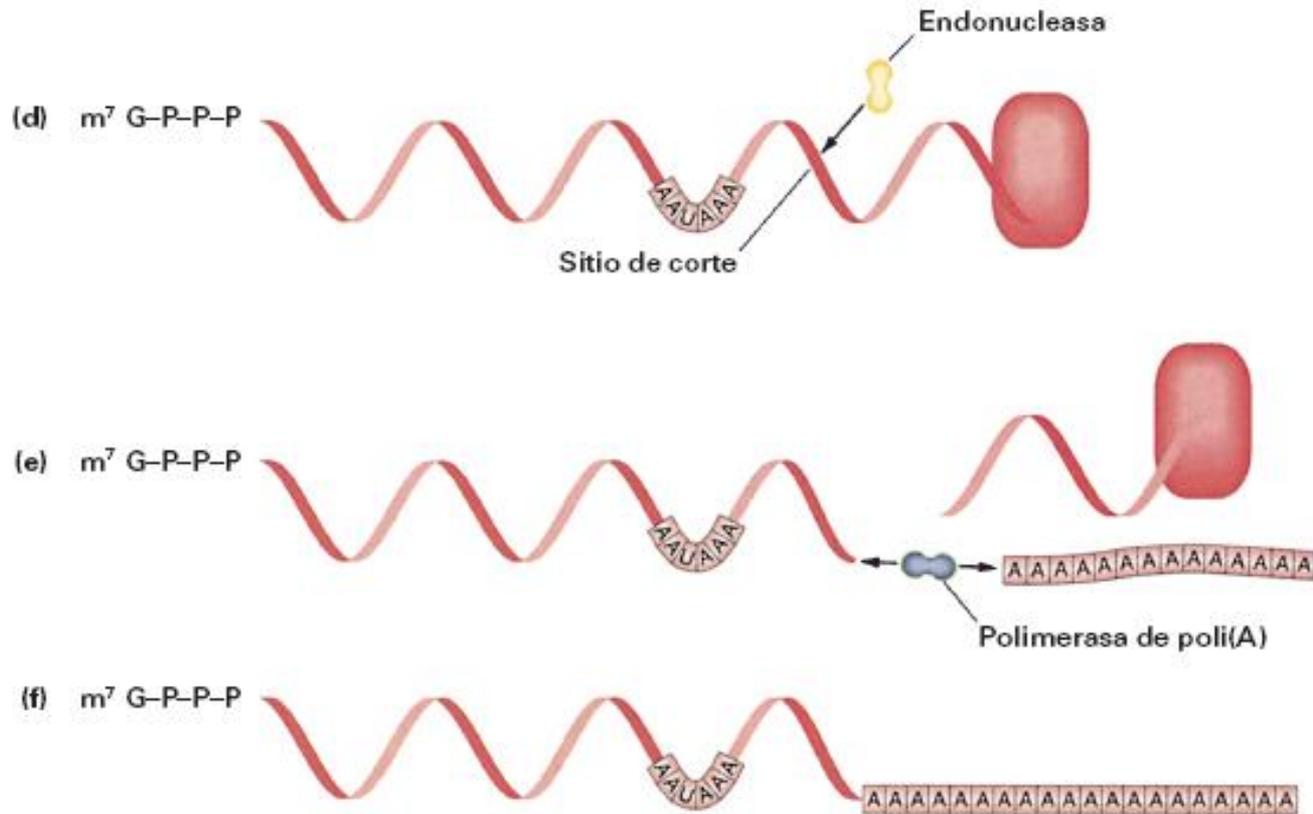
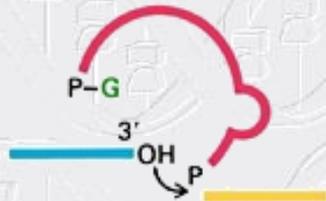
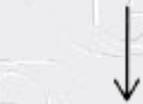
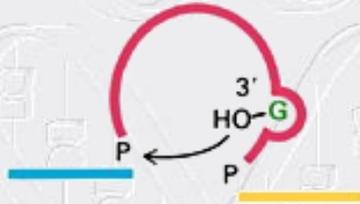


Figura 10-15. Procesamiento de un transcrito primario.

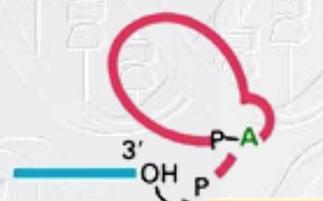
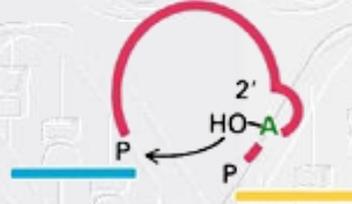
Eliminación de intrones por corte y empalme (splicing)

Self-splicing introns

Group I

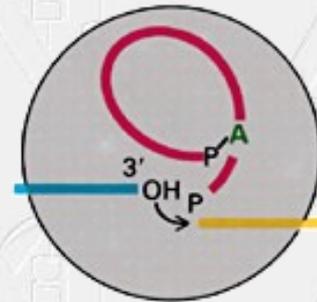
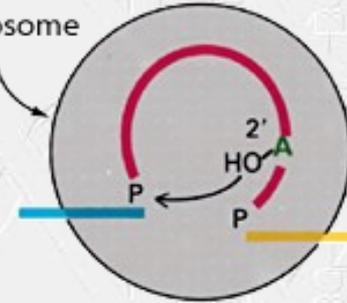


Group II



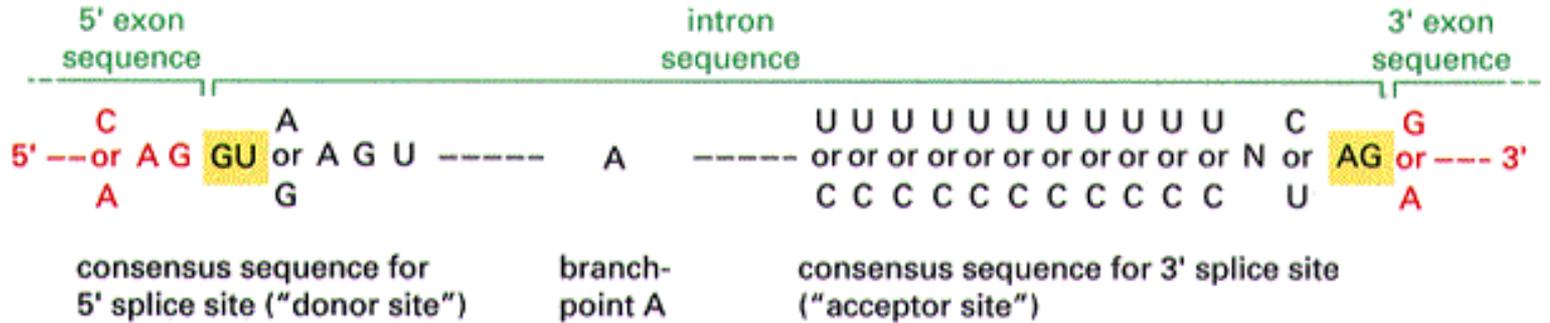
Spliceosome-catalyzed splicing of nuclear mRNA

Spliceosome



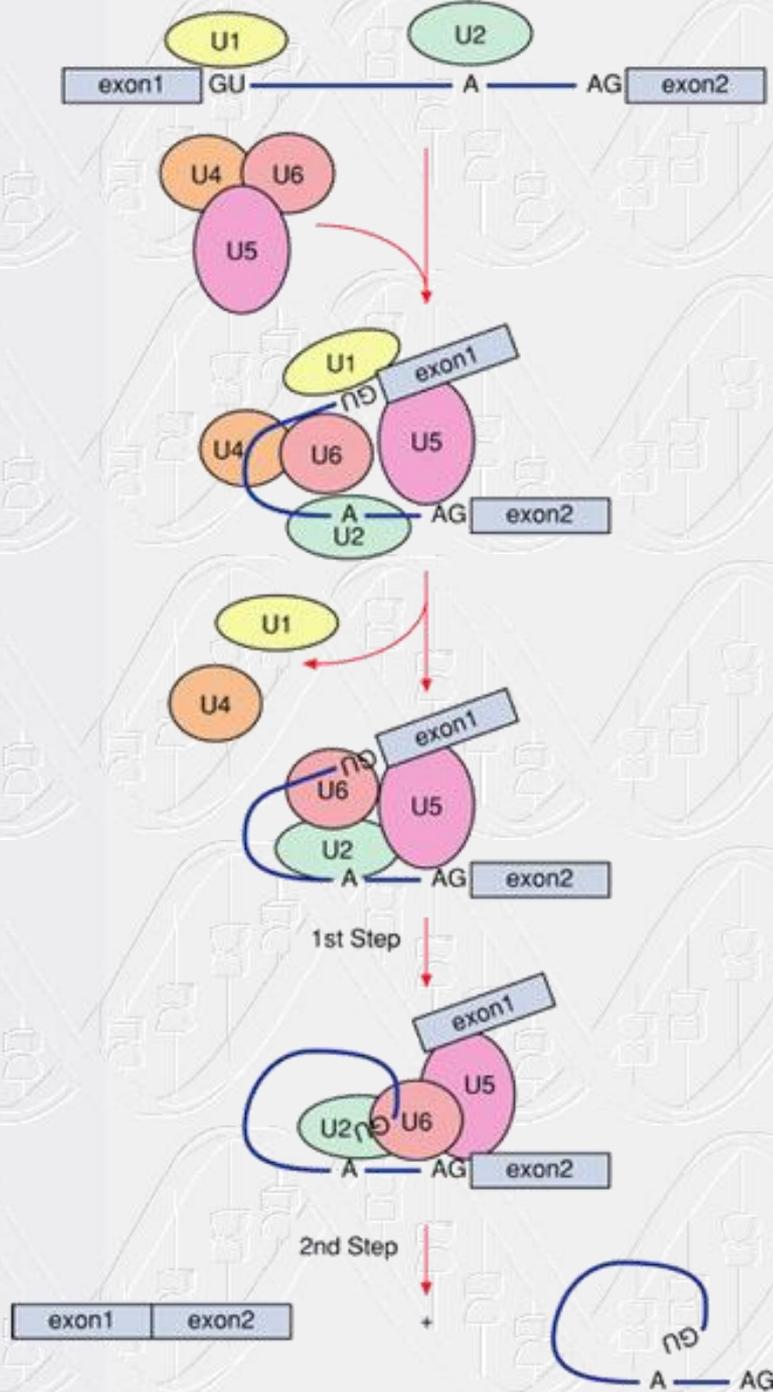
Reacción transesterificación

Regla GU-AG



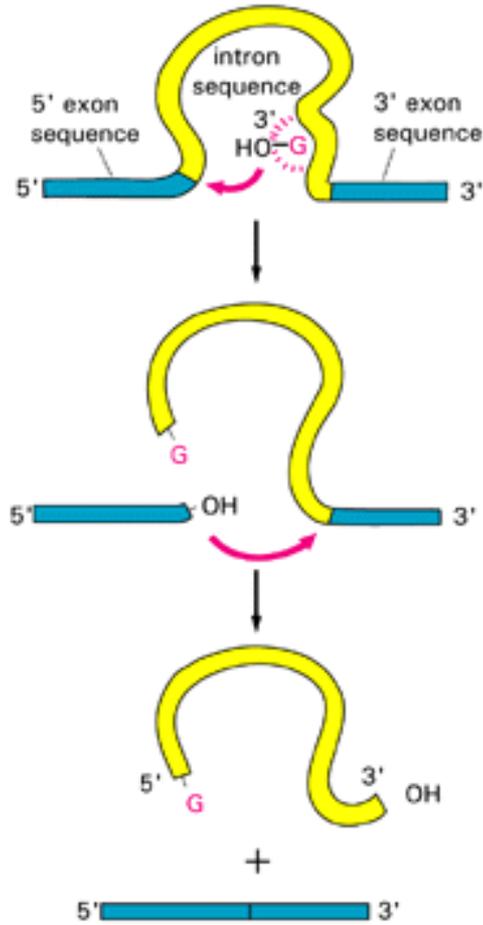
From The Art of MBoC³ © 1995 Garland Publishing, Inc.

Empalmosoma (Spliceosome)

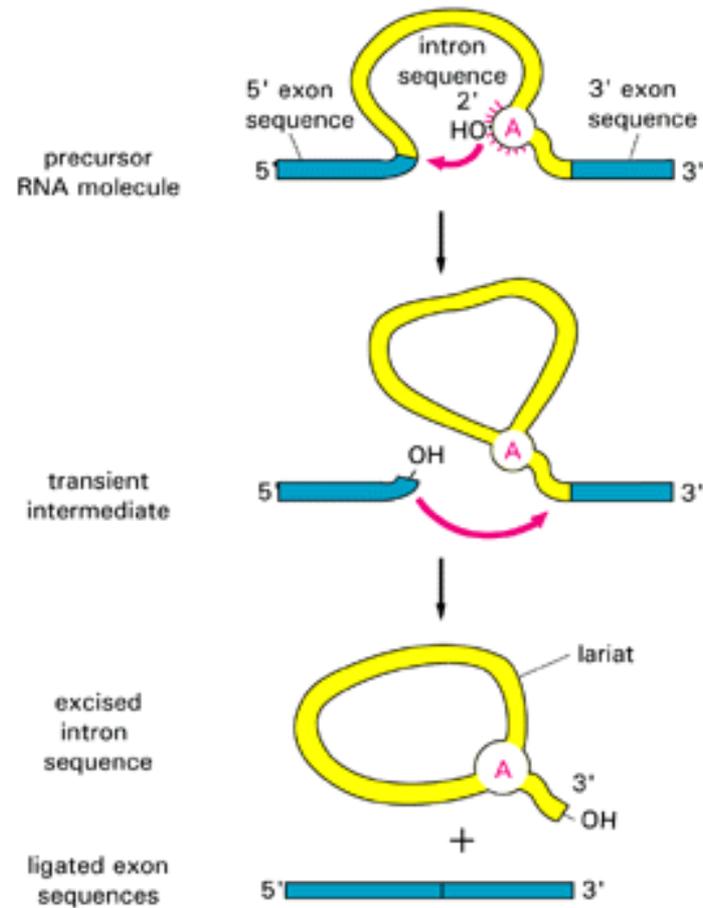


Autosplicing en Tetrahymena (Tom Cech 1981)

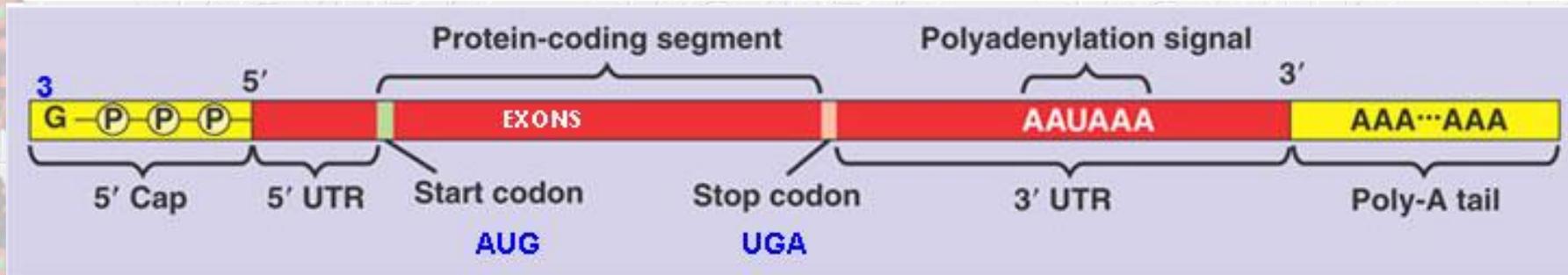
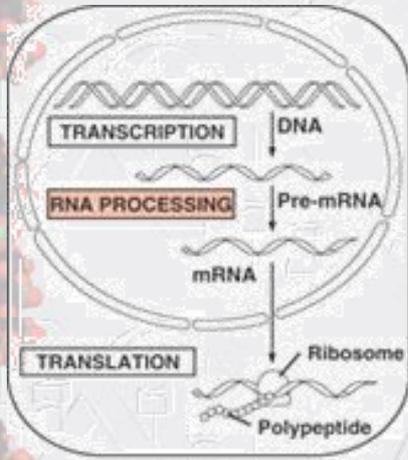
Group I self-splicing intron sequences



Group II self-splicing intron sequences



Estructura mensajero eucariota



Flujo de la información en eucariotas

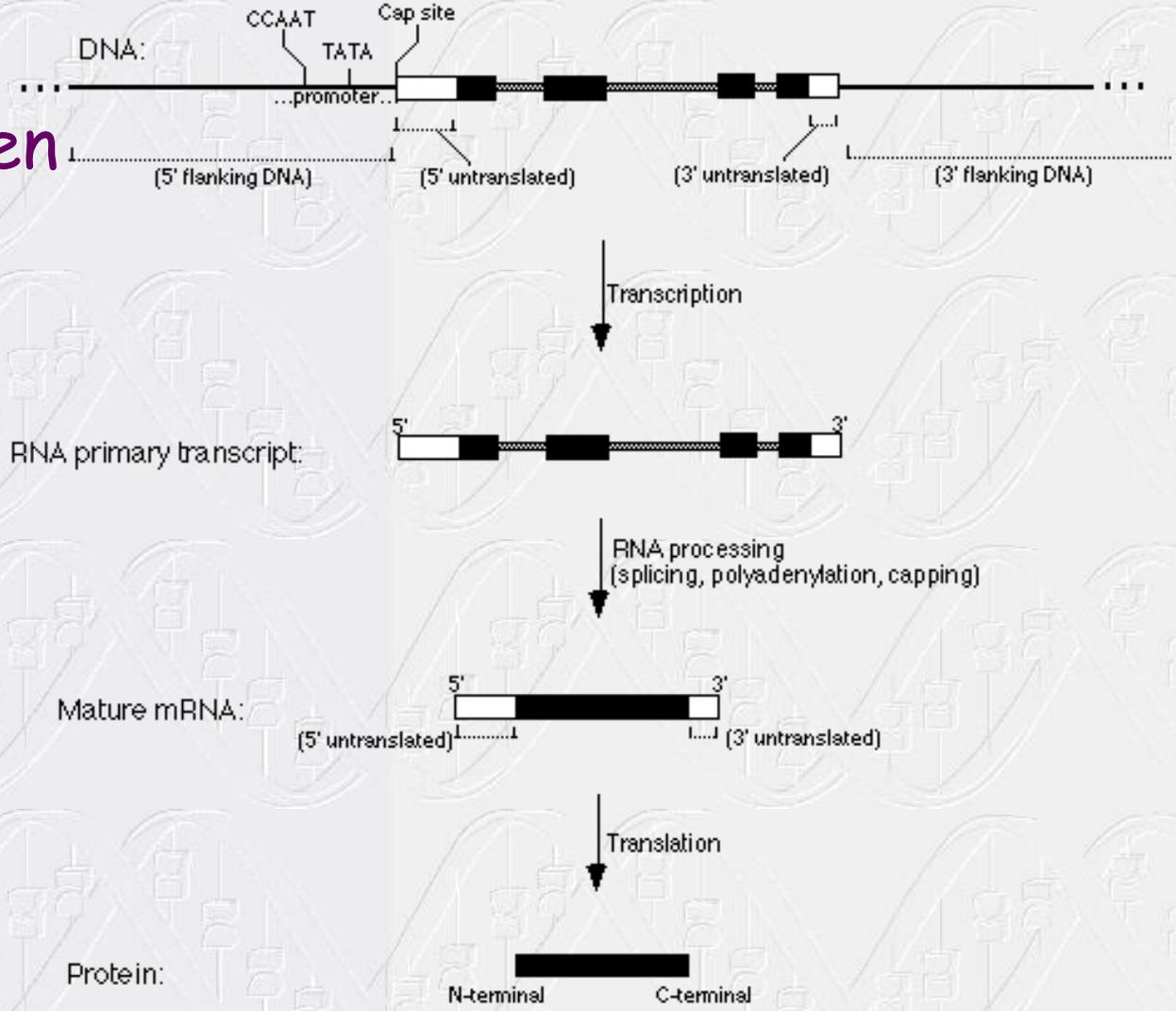
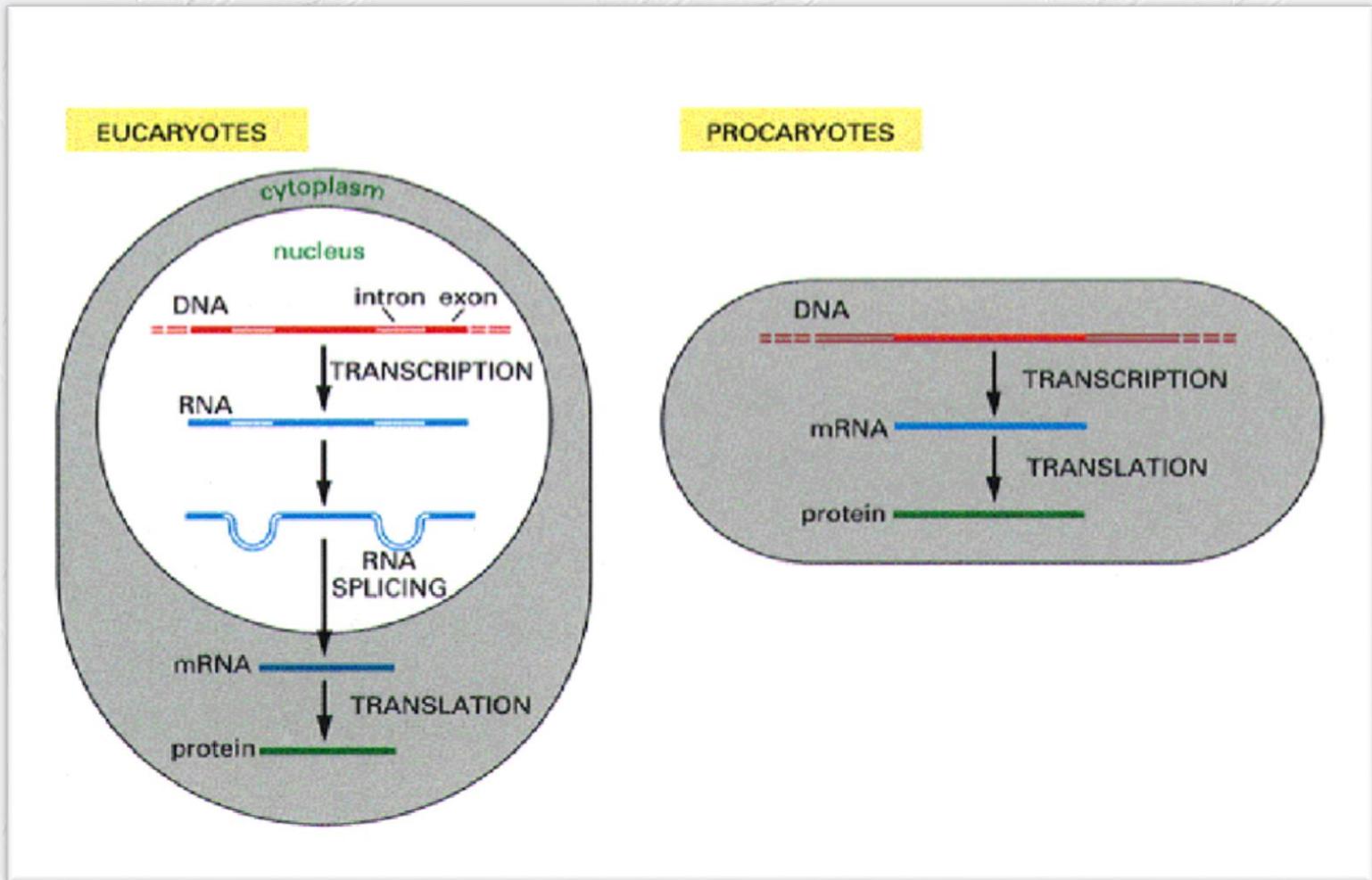


FIGURE LEGEND:

Exons:	Coding regions:
Introns:	Untranslated regions:
	flanking DNA:

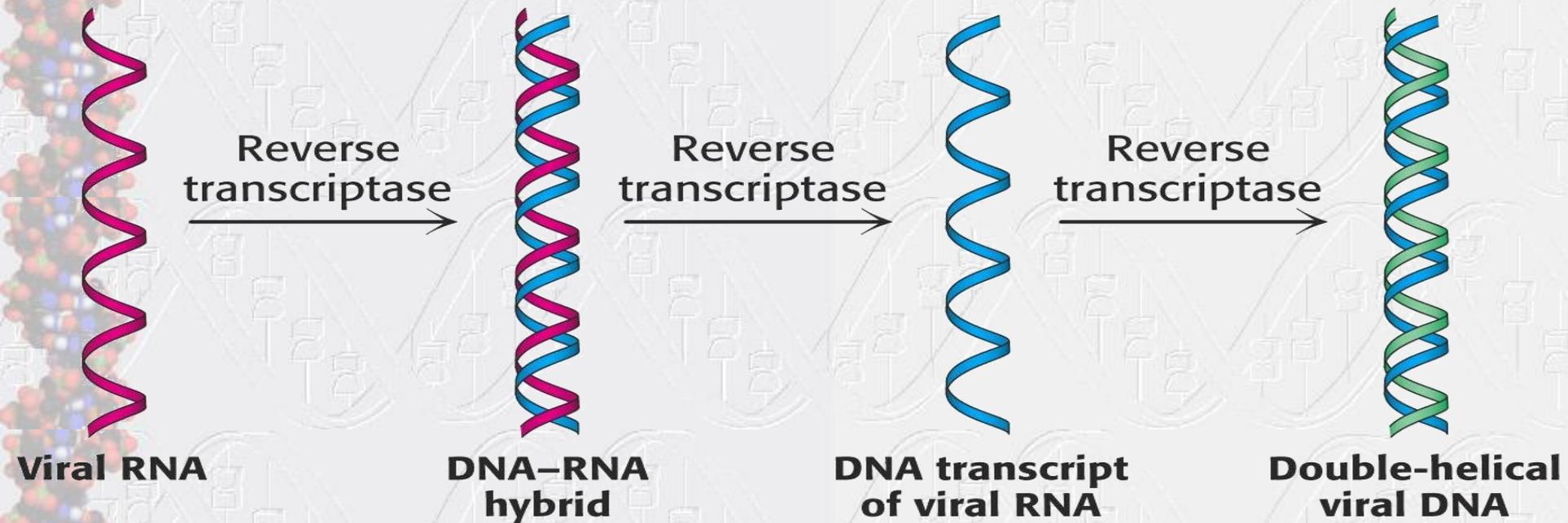
Diferencias eucariotas - procariotas



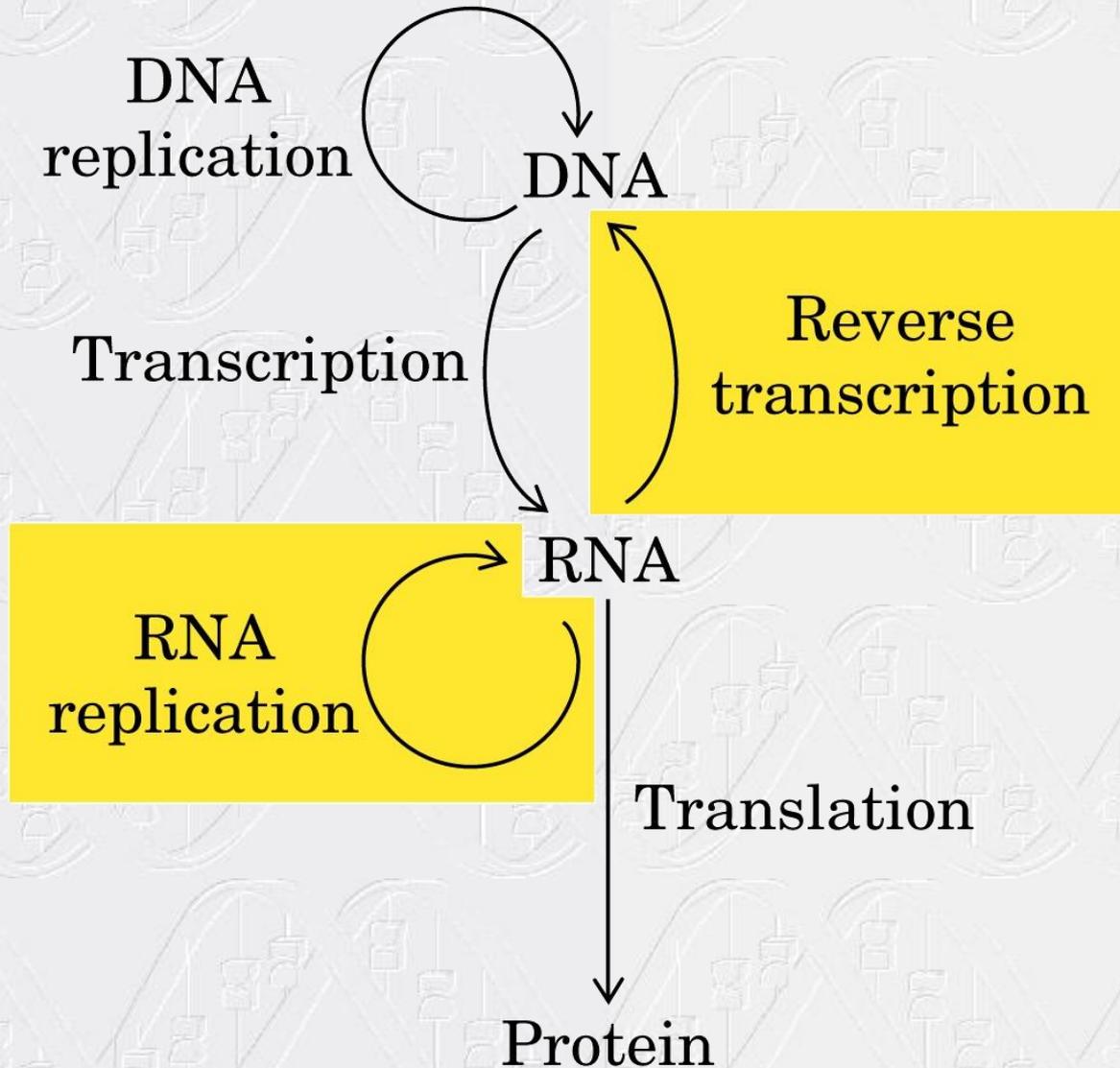
Diferencias eucariotas - procariotas

<u>Característica</u>	<u>Procariota</u>	<u>Eucariota</u>
<u>Promotor</u>	Cajas y zona operadora	Solo cajas
<u>Cistrón</u>	Policistrones	Monocistrones
<u>RNA polimerasa</u>	una sola, con 5 subunidades distintas	3 RNA polimerasas.
<u>Estabilización</u>	El RNA recién transcrito, no tiene.	Contiene, al comienzo de la cadena, 7-metil-guanosina o CAP, y al final de la cadena, una secuencia poli A.
<u>Comienzo</u>	RNA pol, se autoacopla al promotor	RNA pol, necesita la presencia de proteínas de iniciación, que se unan antes que ella al ADN.
<u>Intrones</u>	No tiene	Tiene y se eliminan mediante splicing (corte y empalme).
<u>Lugar de acción</u>	Inmediatamente, al ser creado	En el citoplasma.

Transcripción inversa

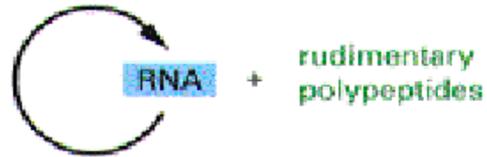


El "dogma" central revisado



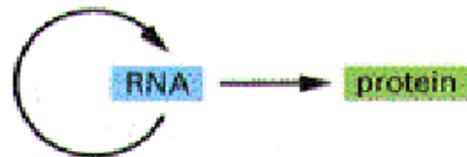
RNA World

RNA-based systems



EVOLUTION OF
ADAPTOR RNAs

RNA and protein-based systems



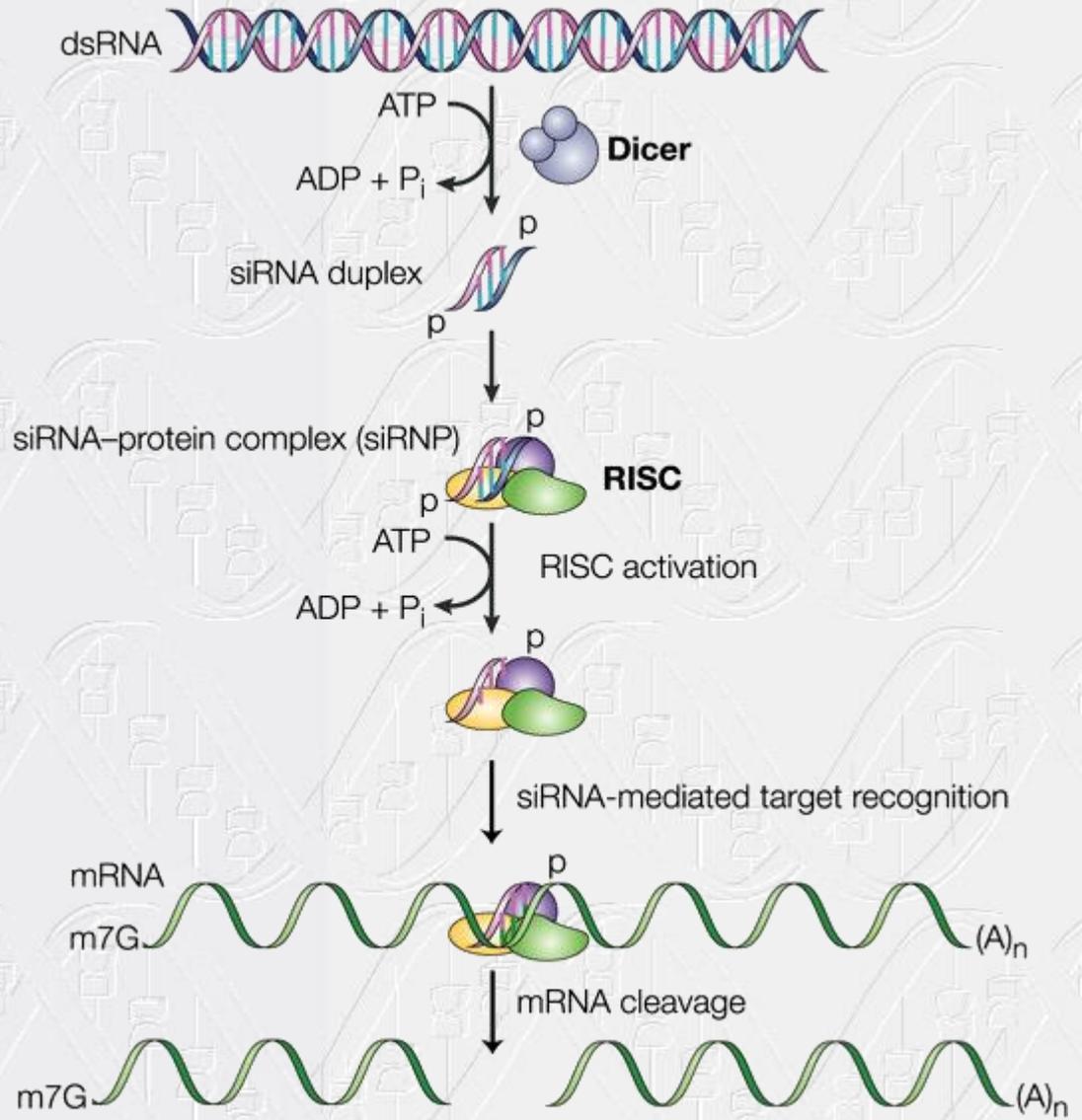
EVOLUTION OF NEW ENZYMES
THAT CREATE DNA AND MAKE
RNA COPIES FROM IT

present-day cells



RNA de interferencia

RNA interference



MicroRNAs



21-23 nt miRNA



Inhibit translation