

16. REGULACION DE LA EXPRESION GENICA EN EUKARIOTES (IV)

ESQUEMA. Regulación de la expresión génica en eucariontes (IV)

Otros Mecanismos de Control de la Transcripción

1. Amplificación génica

2. miRNAs como reguladores de la expresión génica

3. Sitios alternativos del inicio de la transcripción de un gen

4. Otros mecanismos de regulación no transcripcional

- ***Splicing* alternativo**
- **Control del transporte del mRNA**
- **Control de la traducción del mRNA**
- **Control de la degradación del mRNA**
- **Control de la velocidad del inicio de la traducción**
- **Procesamientos postraduccionales alternativos**
- **Control de la degradación de la proteína**

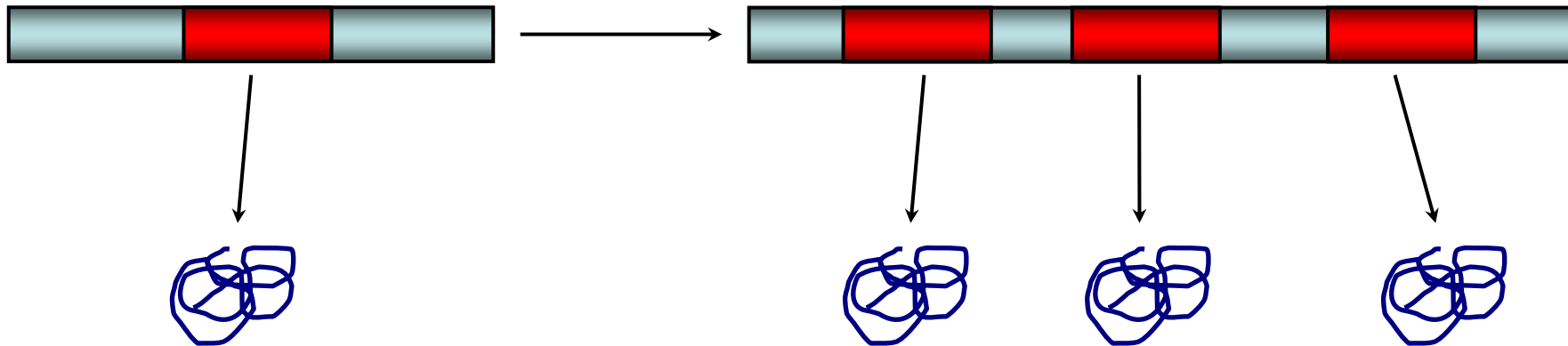
5. Represión génica

AMPLIFICACION GENICA

Aparición de copias múltiples de un gen con alta actividad transcripcional

Ejemplo

Gen de la DHFR (DHF reductasa) – duplicación espontánea cuando las células están sometidas a la inhibición por metotrexato (mecanismo de resistencia)



La amplificación génica produce un aumento en el número de copias de la proteína codificada por dicho gen

miRNAs COMO REGULADORES DE LA EXPRESIÓN GÉNICA (I)

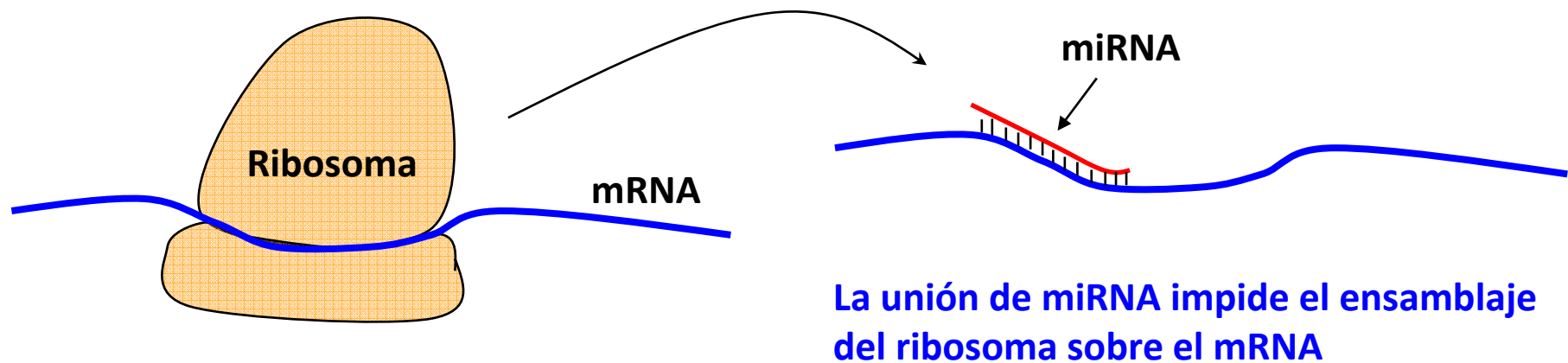
microRNAs

- pequeñas moléculas de **ssRNA** de 22 bp
- total o parcialmente complementarios a su secuencia diana
- forman un **dsRNA** con su diana

Regulación postranscripcional

1. El dsRNA impide la funcionalidad de la diana

= **Secuestro de un sitio específico**: el ribosoma no se puede unir al mRNA (e.g. miRNA complementario a la secuencia de Shine-Dalgarno)

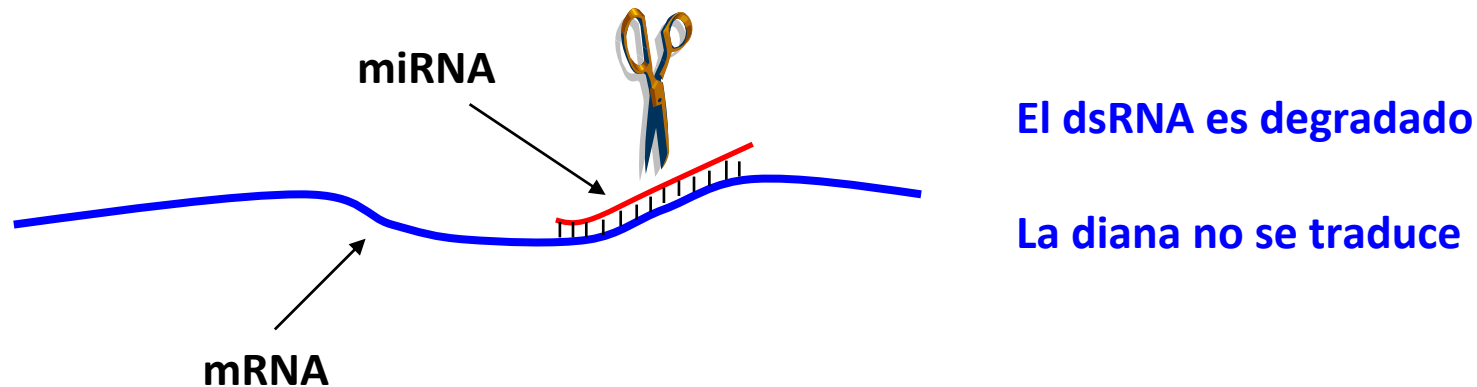


miRNAs como reguladores de la expresión génica (II)

2. Control de la estabilidad del mRNA

El dsRNA es reconocido como foráneo por las endonucleasas y es degradado

Importancia de la region **3'-UTR del mRNA**



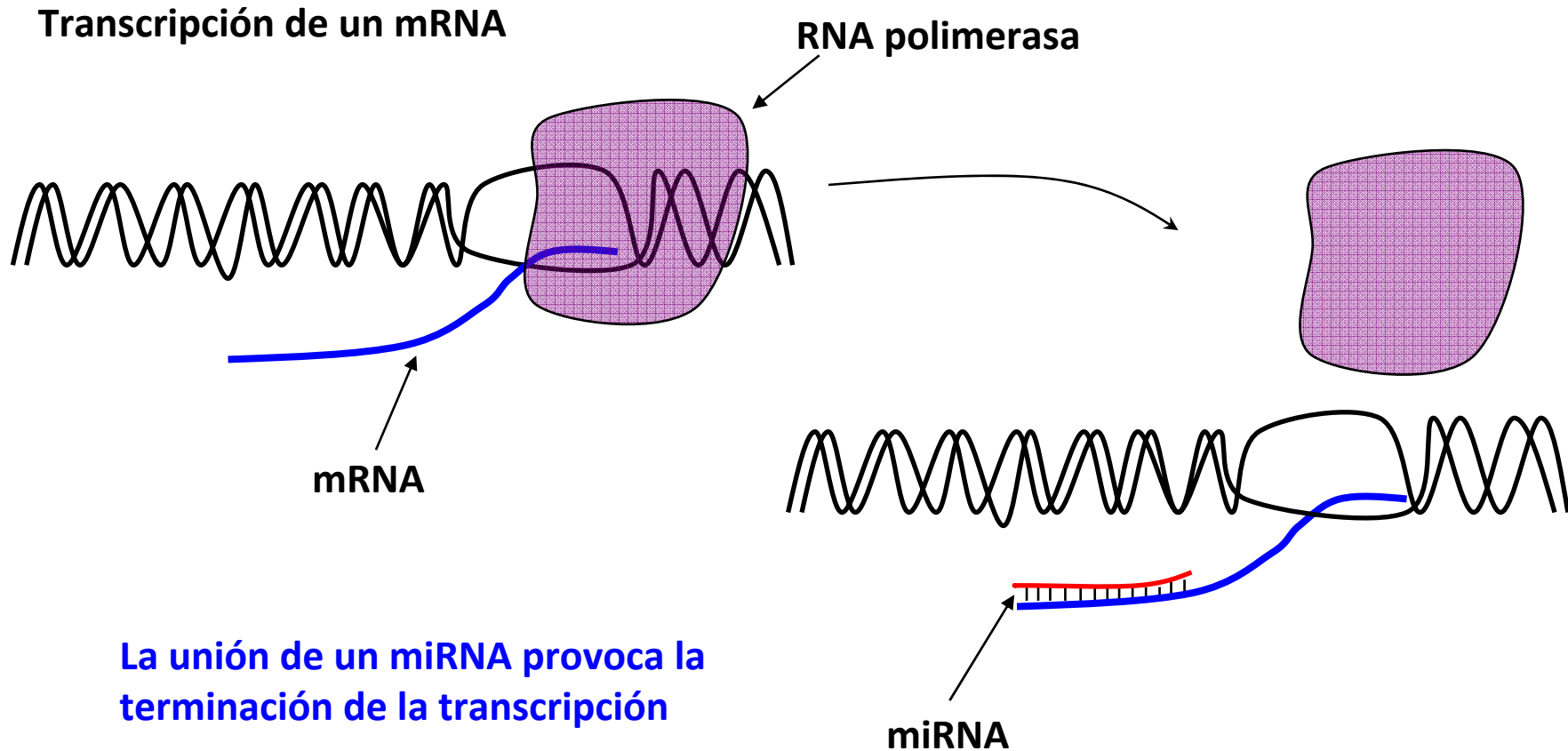
3. Bloqueo del *splicing* y/o del transporte del mRNA al citosol

Proceso específico de eucariontes

miRNAs como reguladores de la expresión génica (III)

4. Alteración de la conformación de la molécula diana

Control de la terminación de la transcripción, ya que el dsRNA mimetiza la estructura del terminador



miRNAs como reguladores de la expresión génica (IV)

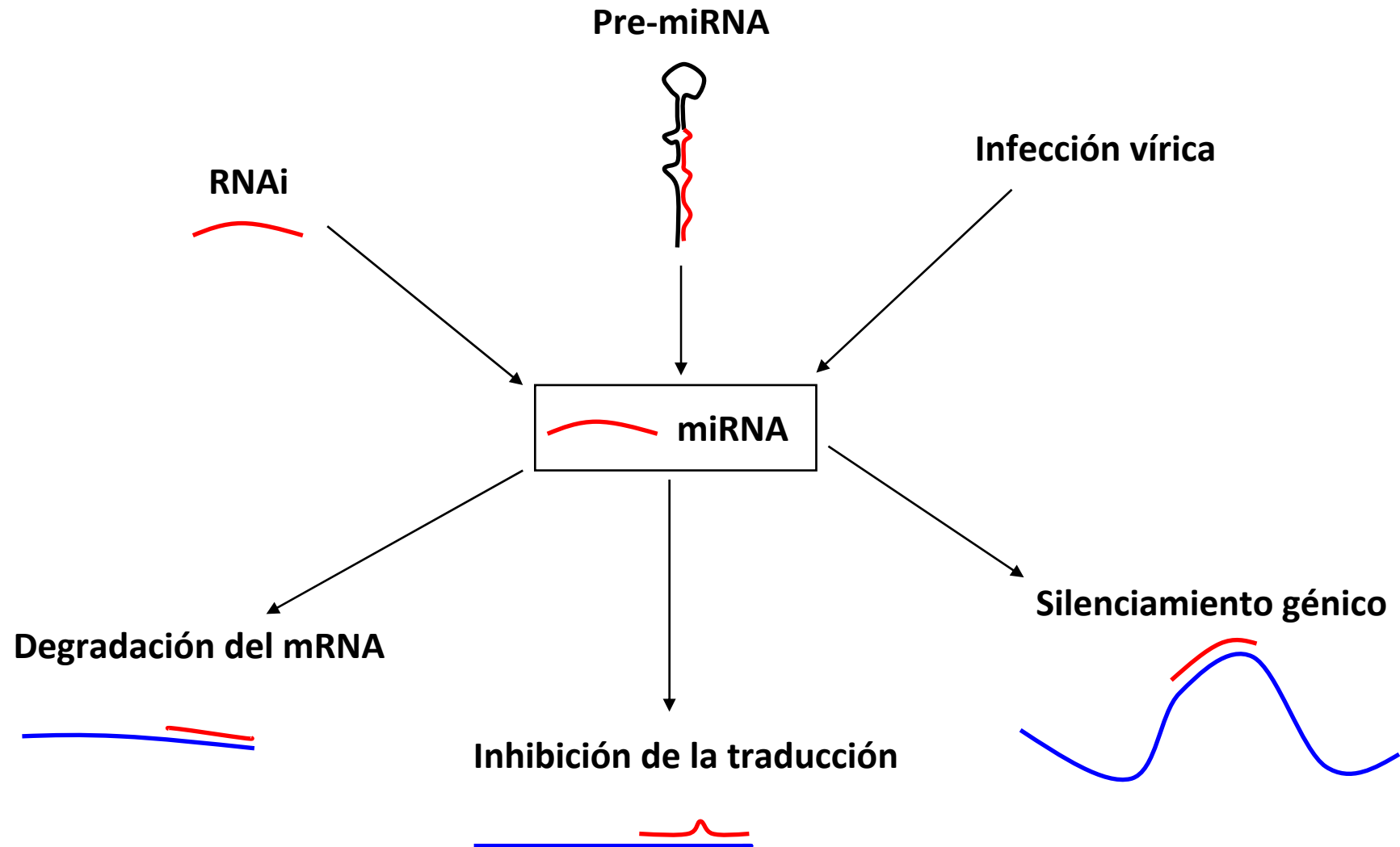
5. Control pretranscripcional

Papel en la **remodelación de la cromatina**: el complejo **miRNA # RISC** migra al núcleo y se une a su secuencia DNA diana, recluta el complejo remodelador de cromatina

→ **los miRNAs pueden activar o reprimir la expresión génica**

estimulando la metilación / desmetilación de histonas y/o del DNA

miRNAs como reguladores de la expresión génica (V)



miRNAs y control de la expresión génica (VI)

Los miRNAs no tienen propiedades alostéricas, ya que no pueden responder a otros pequeños agentes

2 puntos de control en la acción de los miRNAs

Control transcripcional

Activando o reprimiendo la expresión del gen que codifica el precursor del miRNA

Inactivación del miRNA o del dsRNA degradación por RNAsas

Generación de miRNAs (I)

1. Transcripción del gen para un miRNA por la **RNA-polimerasa II**

El **pri-miRNA** presenta una estructura secundaria con dsRNA (*hairpins*)

2. Procesamiento del pri-miRNA por el “**Microprocessor complex**” **Drosha** (Rnasa III)

y **Pasha** → Formación del **pre-miRNA** de 70 nt

3. Transporte al citosol por la **exportina-5**

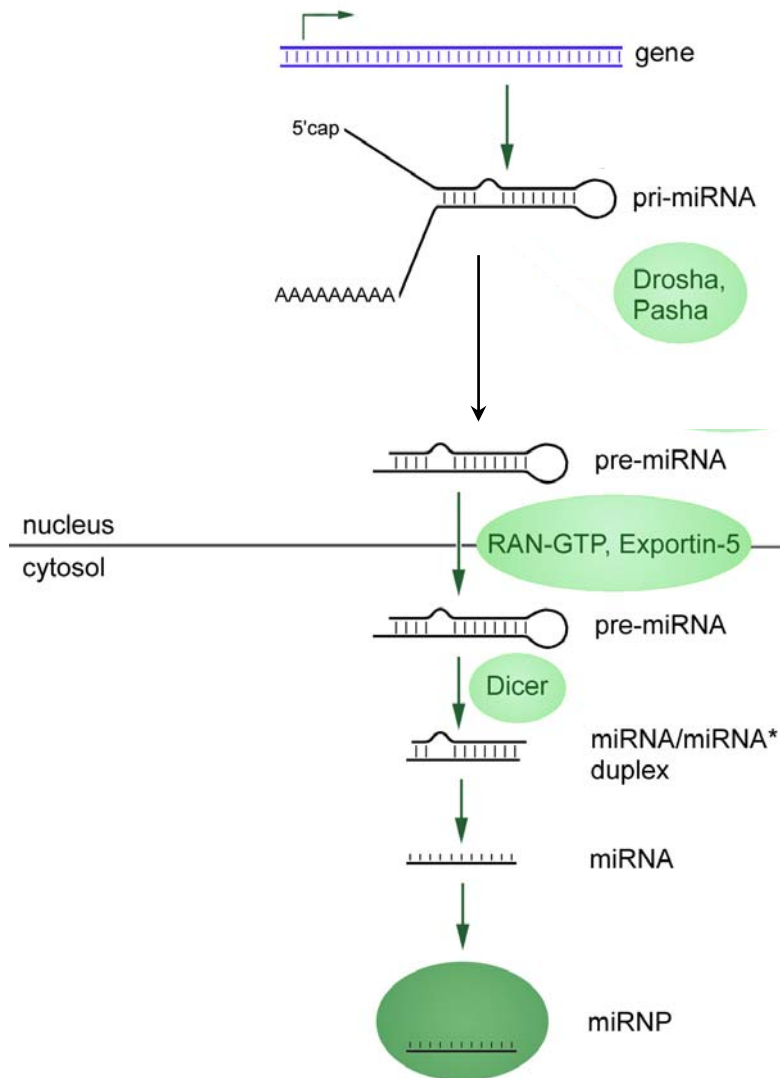
4. **pre-miRNA** (o siRNA) es reconocido por **DICER** = **ribonucleasa** que actúa como dímero

El dsRNA es procesado a **miRNA** (dsRNA de 20–25 nt), con extremos 3' cohesivos

5. El **miRNA** se une a **RISC** = **RNA-Induced Silencing Complex**, que se activa al desenrollar el dsRNA con gasto de ATP

RISC emplea al miRNA (ó siRNA), ya ssRNA, para reconocer a un mRNA diana

Generación de miRNAs (II)



1. **Transcripción** del gen para un miRNA y formación de un **pri-miRNA**

2. **Procesamiento** del pri-miRNA por **Drosha** y **Pasha**. Formación del **pre-miRNA** (70 nt)

3. **Transporte** al citosol por la **exportina-5**

4. **Procesamiento** del **pre-miRNA** por **DICER** y formación de un **miRNA maduro**

5. **Unión** del miRNA a **RISC**

Imagen modificada a partir de:

<http://en.wikipedia.org>

Creative Commons Attribution-Share Alike license

Resumen: control de la expresión genica por miRNAs y RNAi

Control de la expresión génica cuando un miRNA se une a RISC

1. Degradación del mRNA

2. Inhibición de la traducción

3. Remodelación de la cromatina

El complejo **miRNA # RISC** migra al núcleo, se une a su secuencia DNA diana, recluta el **complejo remodelador de cromatina**

→ metilación / desmetilación de histonas y/o DNA

→ acetilación / desacetilación de histonas

- *Aplicación de los RNAs antisentido para la generación del knock-downs (e.g. C. elegans, ZF etc)*

Generación de genes de miRNAs bajo el control de promotores inducibles

OTROS PUNTOS DE CONTROL NO TRANSCRIPCIONAL

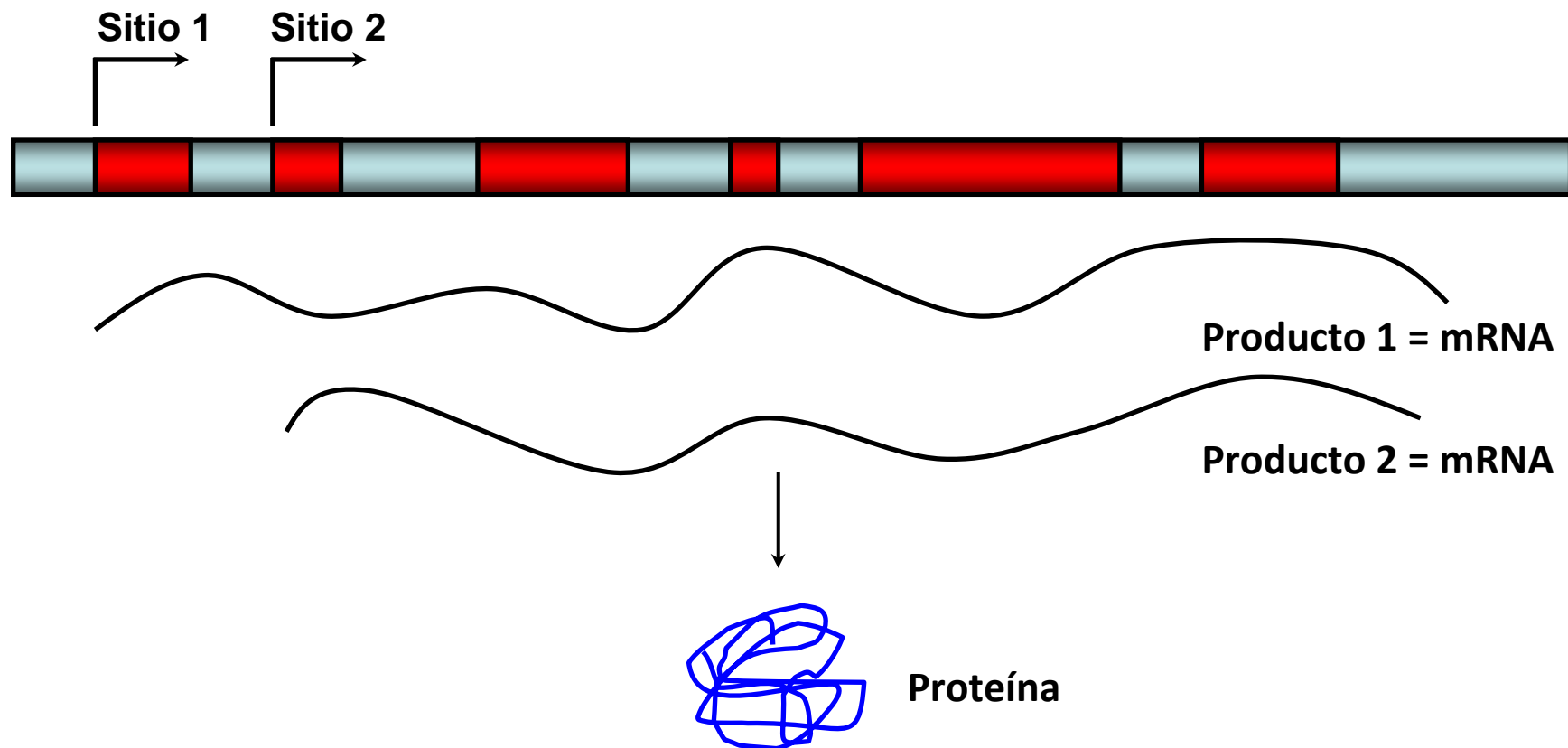
Distintos al control transcripcional

1. Sitios alternativos del inicio de la transcripción
2. Empleo de promotores alternativos (distinta regulación)
3. Control del procesamiento de los mRNAs
4. Control del transporte y de la localización de los mRNAs
5. Control de la degradación del mRNA
6. Control de la traducción del mRNA

SITIOS ALTERNATIVOS DEL INICIO DE LA TRANSCRIPCIÓN

Generalmente se encuentran en distintos exones, y también se suele producir un *splicing* alternativo del mRNA

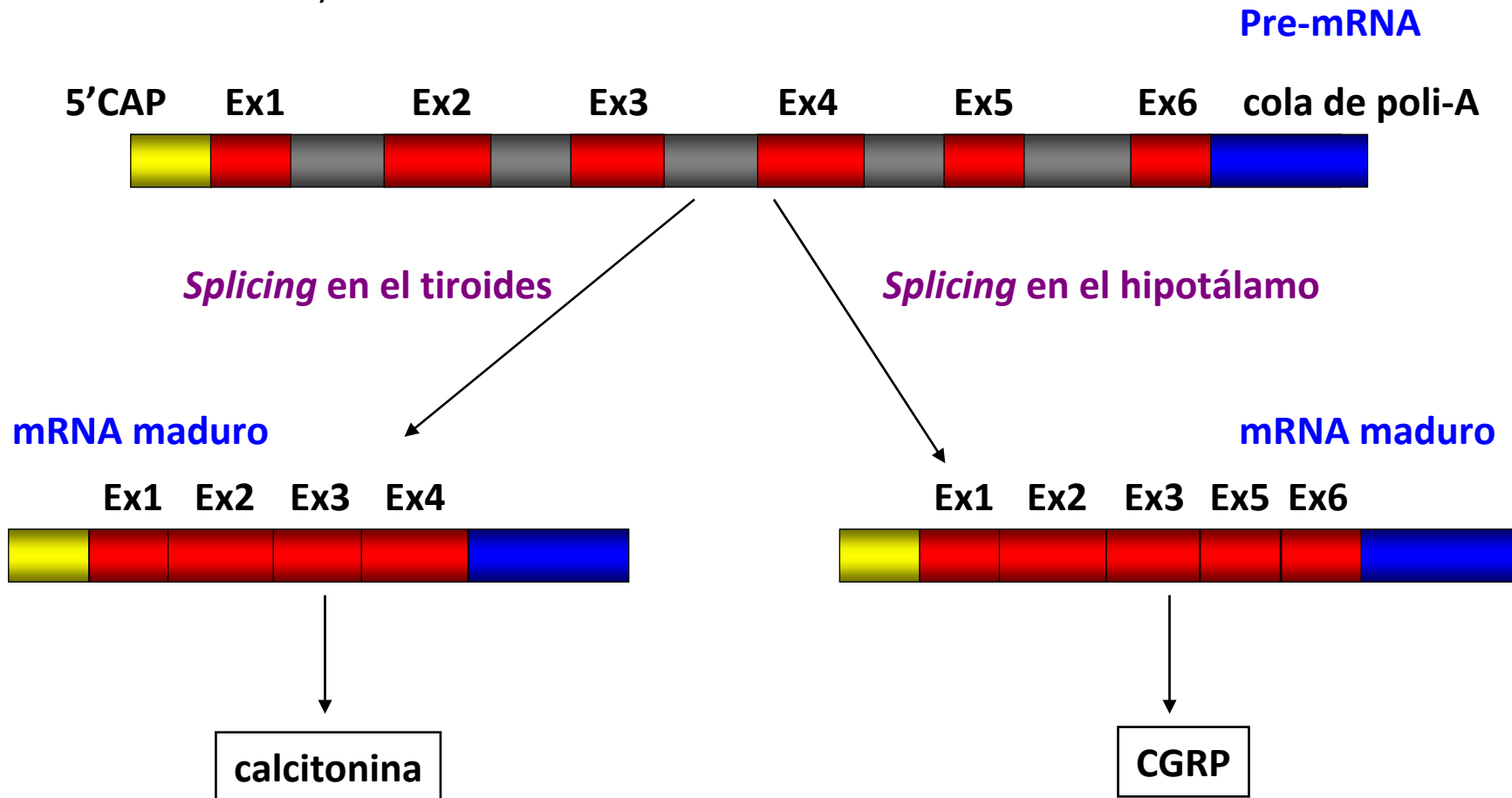
Efectos: diferentes velocidades de iniciación de la transcripción
regulación diferente



SPLICING ALTERNATIVO (I)

A partir de un mismo gen se producen diferentes proteínas con funcionalidad diferente. Ejemplo: **gen de la calcitonina**

- procesamiento en el tiroides → péptido calcitonina
- procesamiento en el hipotálamo → péptido CGRP (péptido relacionado con el gen de la calcitonina)



***Splicing* alternativo (II)**

Antígeno T del SV40

El antígeno largo y el corto provienen de un mismo gen: estas dos proteínas presentan el mismo extremo N-terminal, pero distinto extremo C-terminal

(aparece un cambio en la pauta de lectura = *frameshift* y un codon de STOP prematuro)

α -tropomiosina

Presentan $\alpha\alpha$ comunes a todas las variantes y otros específicos de tejido

Ig y receptores de membrana

ASF-1 = Alternative Splicing Factor 1

Factores celulares que regulan la selección del sitio de *splicing*

Fenómeno de edición del mRNA

Durante el splicing

Específico de tejido

Ejemplo. Apolipoproteína B

CONTROL DEL TRANSPORTE DEL mRNA

Punto clave de control

Aproximadamente el 5% de los mRNAs sintetizados se traslocan desde el núcleo al citoplasma

→ El transporte del mRNA es un punto clave de control

Se ha comprobado que las proteínas asociadas con el mRNA en el núcleo son distintas de las que se asocian con el mRNA en el citoplasma

→ Intercambio del mRNA entre riboproteínas del núcleo y del citoplasma cuando éste se trasloca a través de los complejos de poro nuclear

CONTROL DE LA TRADUCCION DEL mRNA

Los mRNAs se pueden acumular y su traducción sólo se activa ante determinadas señales

Generalmente, los mRNAs almacenados presentan colas de poli-A cortas

La activación de la traducción tiene lugar por la poli-adenilación citosólica de estos mRNAs

Estos procesos están regulados por las proteínas que se asocian con los mRNAs

→ **Las proteínas enmascaran los mRNAs e impiden su traducción**

Ejemplos

Depósitos de mRNAs maternos en los ovocitos, que están enmascarados por proteínas fosforiladas

Tras la fertilización, se produce la desfosforilación de dichas proteínas, se separan de los mRNAs y éstos se traducen

Embrion de *Drosophila*: los mRNAs maternos están depositados en localizaciones muy concretas, y determinan la organización general del embrión

CONTROL DE LA DEGRADACION DEL mRNA

Existen mRNAs de vida muy corta (30 min) y de vida muy larga (h ó días)

Un mismo mRNA puede presentar degradación diferencial en respuesta a cambios, por ejemplo a hormonas (estrógenos y vitelogenina)

Papel de la cola de poli-A

La presencia de la cola de poli-A y de las proteínas que se asocian con ella (**PBP = *Poly-A Binding Protein***) ralentiza la degradación del mRNA

Poli-adenilación alternativa

Adición de la cola de poli-A en sitios alternativos

- una secuencia 3'-UTR distinta puede alterar la interacción del mRNA con miRNAs
- 3'-UTR rica en AU: disminuye la vida media de un mRNA

CONTROL DE LA VELOCIDAD DEL INICIO DE LA TRADUCCIÓN

Control de la síntesis de globina por el grupo hemo

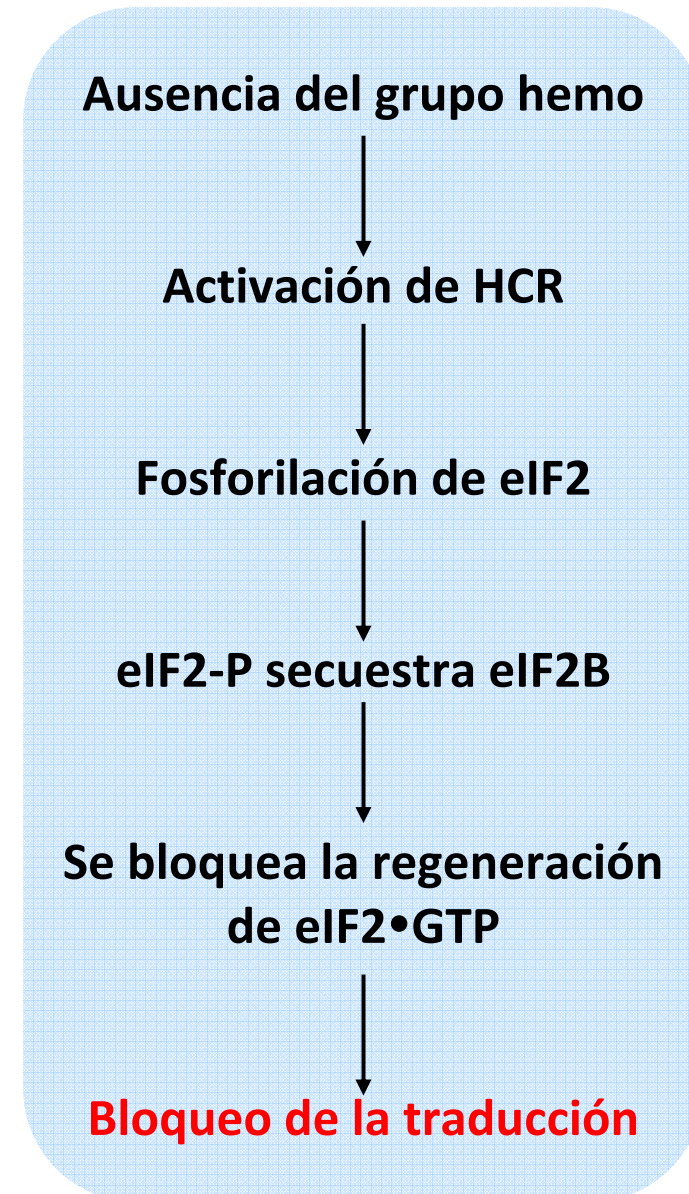
↑ hemo → ↑ síntesis de globina

HCR = *Heme-Controlled Represor*

Mecanismo presente en reticulocitos

- en ausencia del grupo hemo, se activa HCR, que fosforila eIF2
- eIF2-P secuestra eIF2B, bloqueando la regeneración de eIF2•GTP

→ **Bloqueo de la traducción**



Regulación de la traducción por el interferon (I)

dsRNA: induce la síntesis del interferon

Los interferones estimulan

La síntesis de *dsRNA-activated Inhibitor kinase*

- fosforila eIF-2a (\approx HCR) \rightarrow Bloqueo de la traducción

La (2',5')-oligo adenilato sintetasa

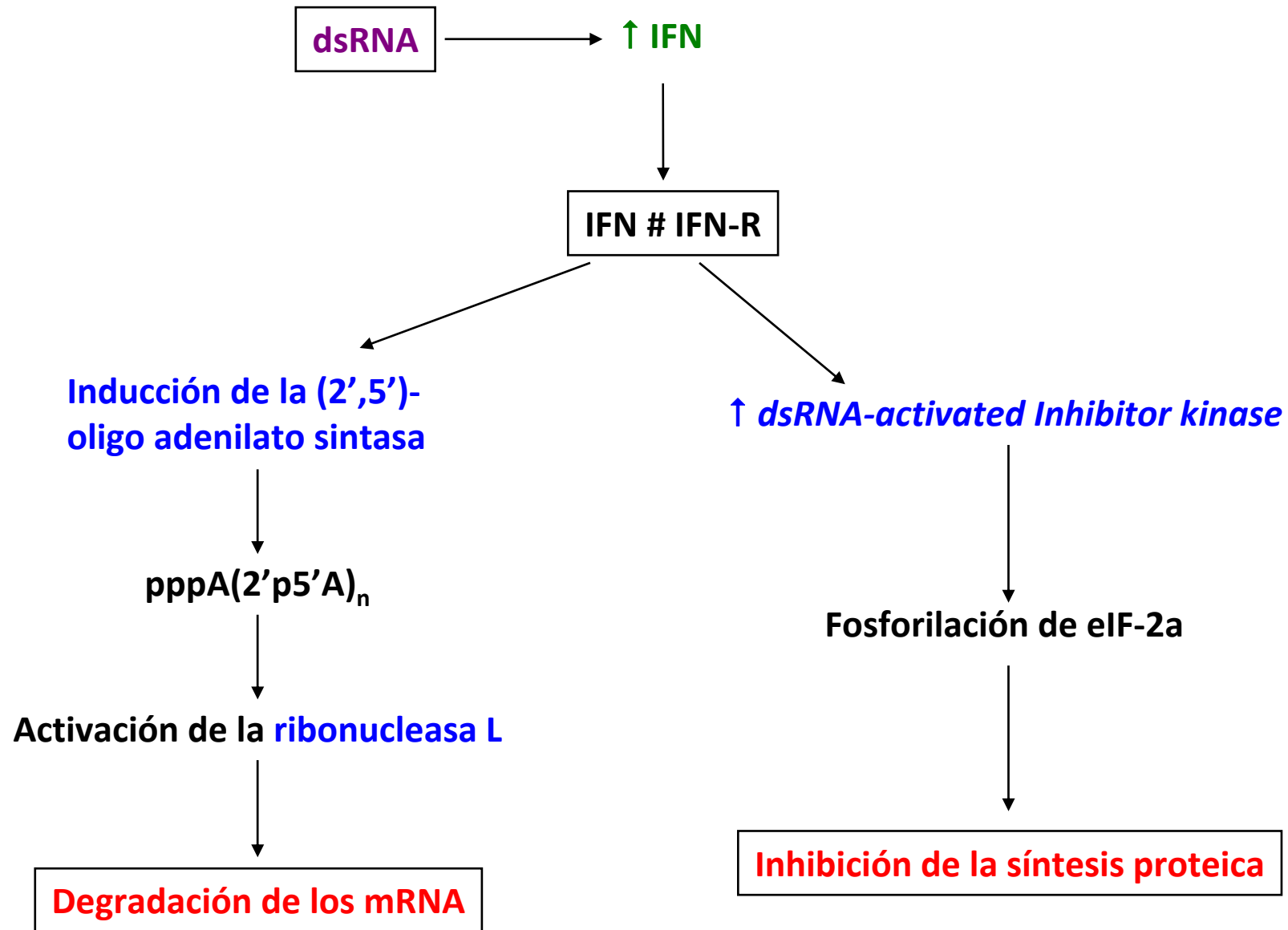
- sintetiza el oligonucleótido $\text{pppA}(2'p5'A)_n$ ($n = 1-10$)

$\text{pppA}(2'p5'A)_n$ activa la **RNasa L**

\rightarrow Degradación de los mRNAs

Consecuencia de la acción del interferon: **inhibición de la síntesis proteica**

Regulación de la traducción por el interferon (II)



PROCESAMIENTOS POSTRADUCCIONALES ALTERNATIVOS (I)

Procesamiento postraduccional

Estudiado anteriormente en la parte de modificaciones postraduccionales de las proteínas

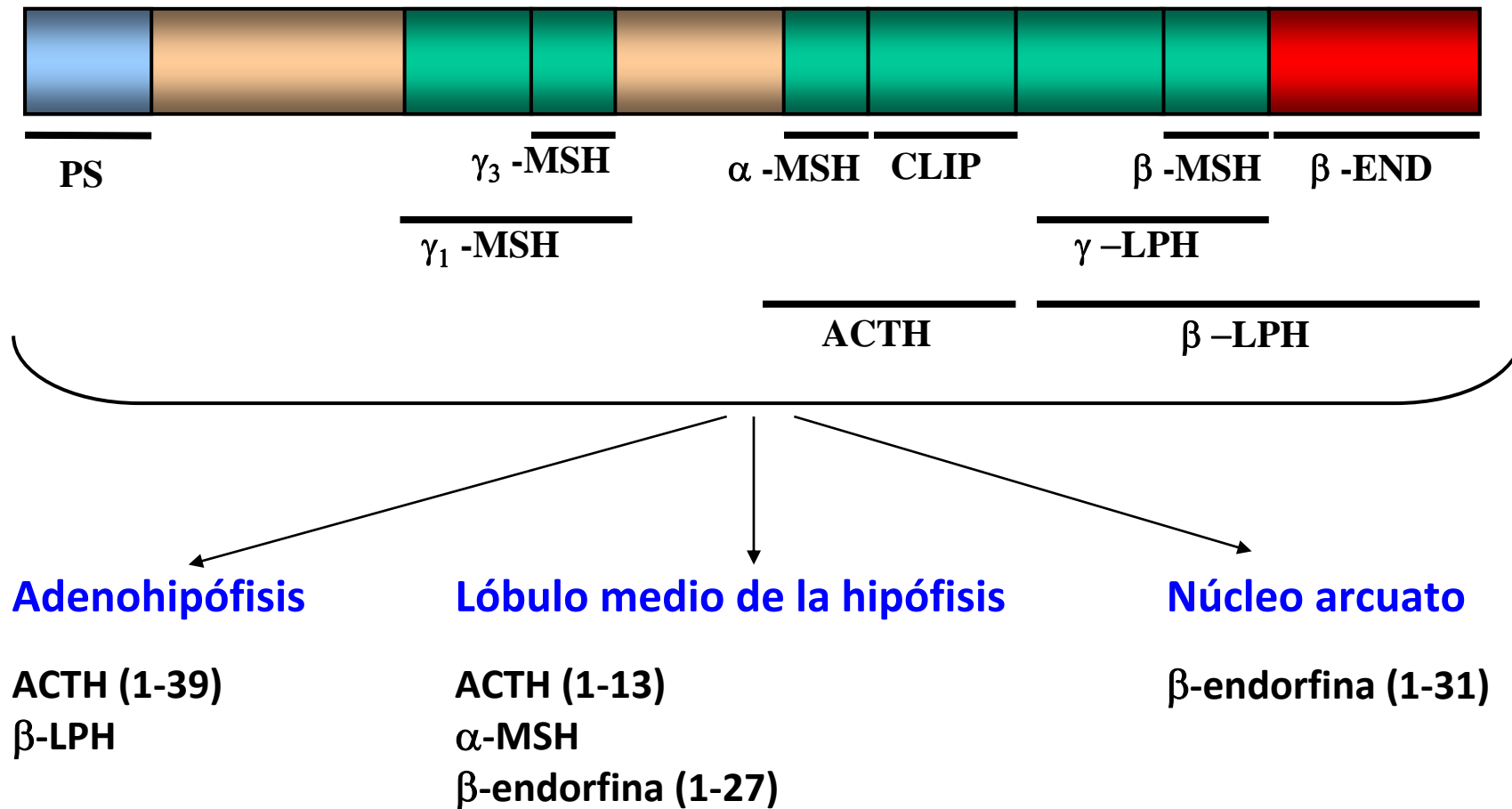
Importancia

Una misma proteína puede sufrir distintos procesamientos postraduccionales, de manera que se obtienen productos con funcionalidad diferente

En el caso de muchos precursores de neuropéptidos y neurohormonas, éstos son procesados por diferentes proteasas en función del tipo celular, obteniéndose diferentes productos finales (= péptidos)

PROCESAMIENTOS POSTRADUCCIONALES ALTERNATIVOS

Ejemplo: POMC se procesa de manera diferencial en distintos tejidos, dando lugar a diversos péptidos con funcionalidad distinta entre sí



CONTROL DE LA DEGRADACION DE LA PROTEINA

Visto anteriormente en la parte de procesamiento postraduccional

Los aminoácidos N-terminales determinan la unión de ubiquitina

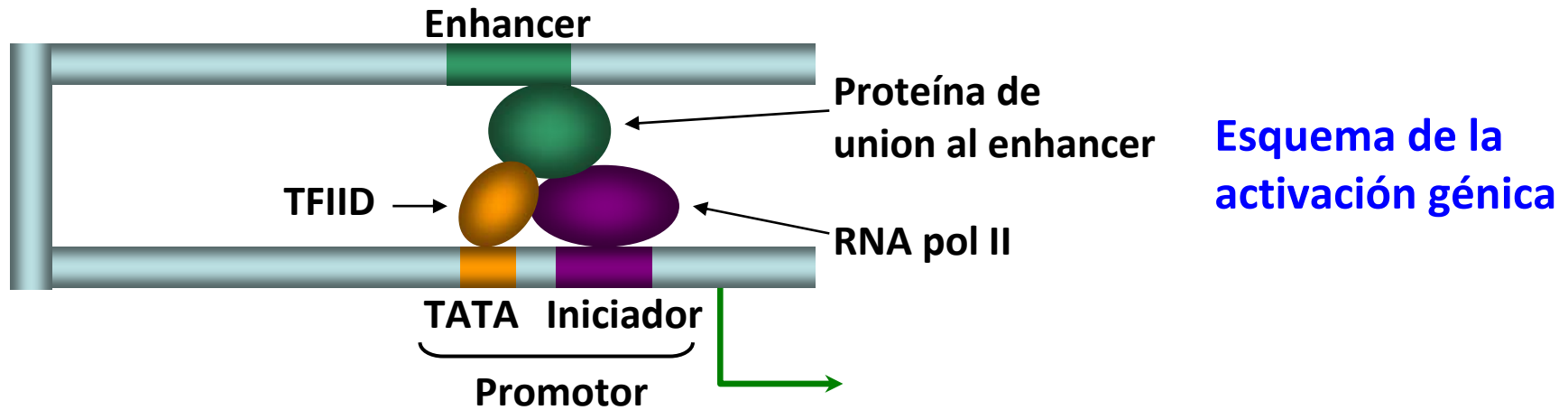
$\alpha\alpha$ estabilizadores (vida media > 20h)

Met, Gly, Ala, Ser, Thr, Val

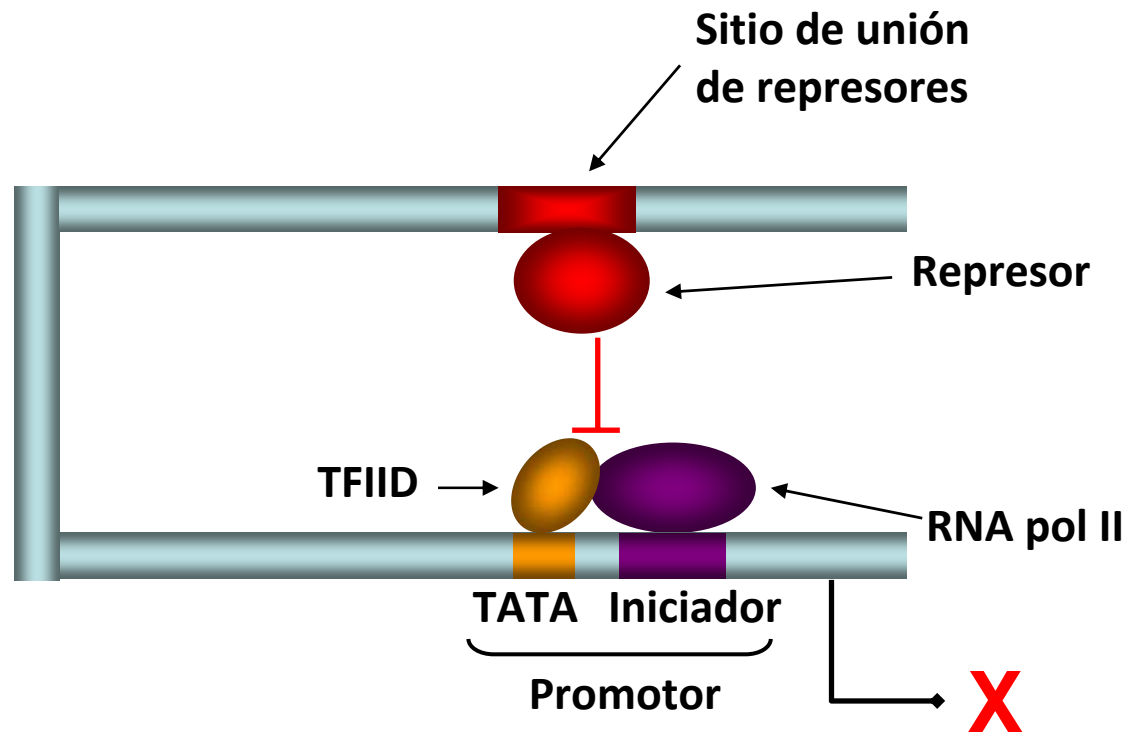
$\alpha\alpha$ desestabilizadores (vida media < 20h)

Ile, Gln, Tyr, Glu, Pro, Leu, Phe, Asp, Lys, Arg

REPRESION GENICA



Esquema de la represión génica



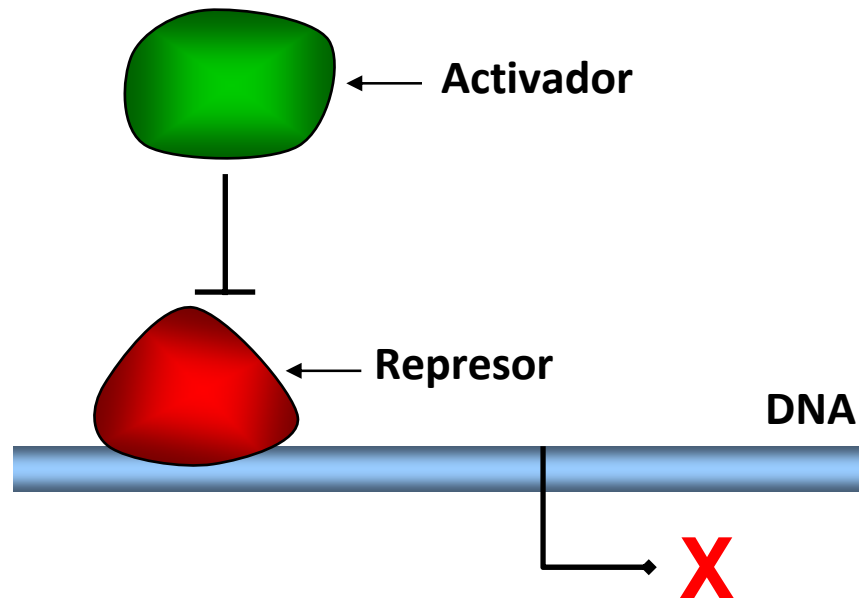
Mecanismos de represión génica (I)

Diversos mecanismos de represión

1. El represor impide la unión de TF activadores al DNA

Ejemplo. **Antígeno T** unido al promotor del SV40

→ Inhibe su propia transcripción



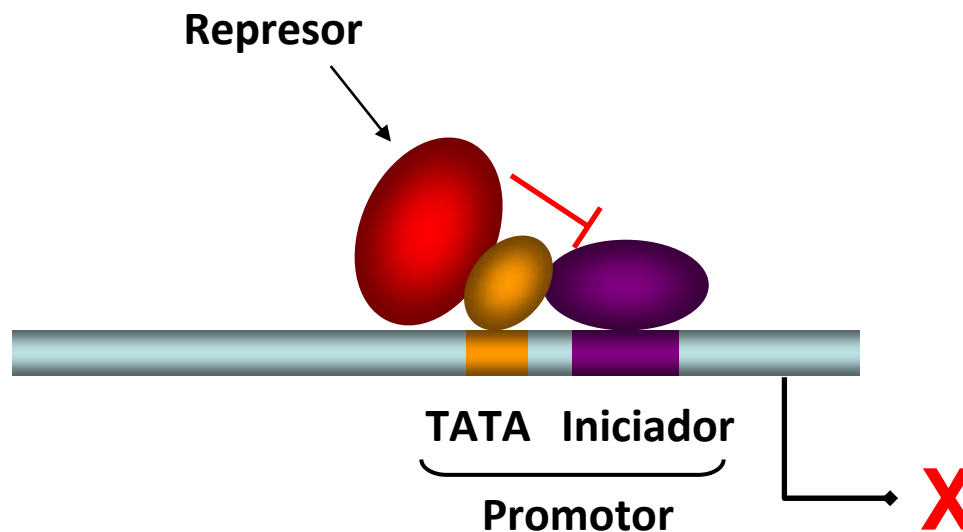
Mecanismos de represión génica (II)

2. Unión de TF represores

→ Inhibición de la transcripción de un gen

Ejemplo. la **globina γ fetal** está reprimida en adultos por la unión de NF-E, que impide la interacción de CP1 # CAAT

Ejemplo. Proteína Gal80p en *Saccharomyces*



Mecanismos de represión génica (III)

3. Formación de heterodímeros activador # represor

El monómero represor secuestra a otro TF, impidiendo su interacción con otro TF distinto y la formación de un heterodímero activador

Ejemplos

c-jun # b-jun, que impide la formación de c-fos # c-jun

c-fos # c-jun → Activación génica

c-jun # b-jun → No hay activación génica

NF- κ B # I- κ B

NF- κ B # I- κ B → No hay activación génica

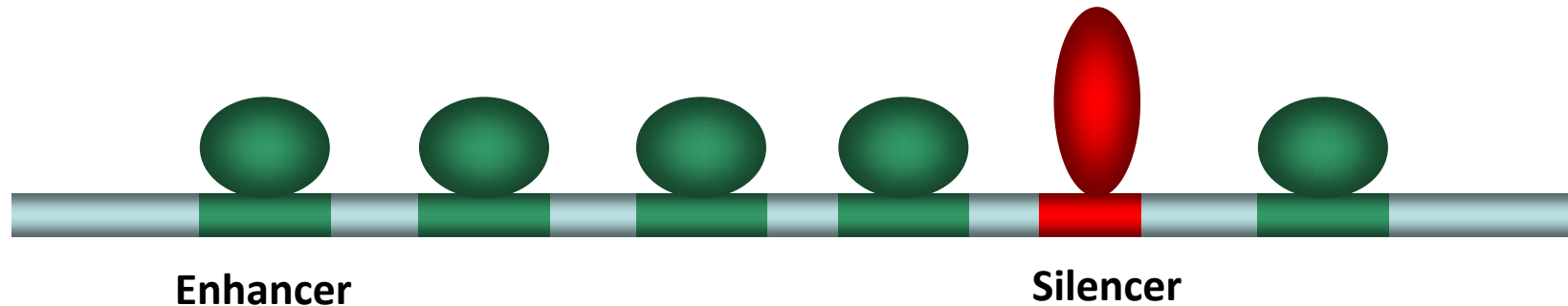
Fosforilación de I- κ B → Separación de NF- κ B

NF- κ B se trasloca al núcleo y produce la activación génica

Mecanismos de represión génica (IV)

4. Unión de TF a silenciadores

→ Los silenciadores trabajan de forma opuesta a los enhancers, inhibiendo la transcripción génica



5. Genes polycomb

Silenciamiento de genes que ya están inactivados

Importancia durante el desarrollo

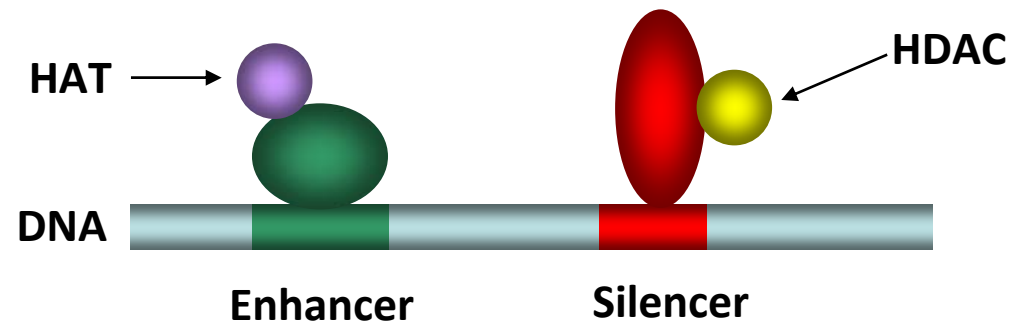
Mecanismos de represión génica (V)

6. Los represores contrarrestan la acción de los activadores

Presentan un **dominio de unión al DNA** y un **dominio represor**

Se unen cerca del enhancer, interaccionando con el activador y bloqueando su acción

El represor recluta a una HDAC, provocando la condensación de la cromatina (proceso de remodelación de la cromatina)



El silenciador se solapa con el enhancer → competición por la unión

