

EXPRESIÓN GÉNICA Y SU REGULACIÓN

- Transcripción del ADN



TRANSCRIPCIÓN

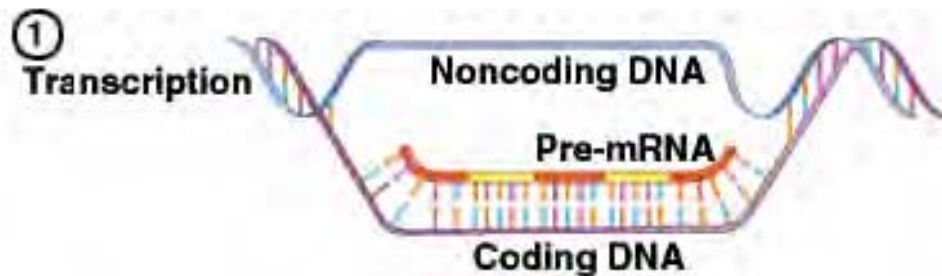
- ¿Qué es?

Es la copia del RNA a partir del DNA (se *transcribe*)

- ¿Cómo se realiza?

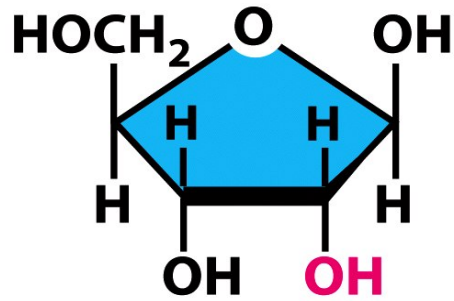
A través de polimerasas de RNA, cuyas funciones son:

- Decidir dónde unirse al DNA
- Abrir la doble hebra de DNA
- Copiar las bases de una de las hebras del DNA a una molécula de pre-mRNA
- Cerrar la doble hebra del DNA



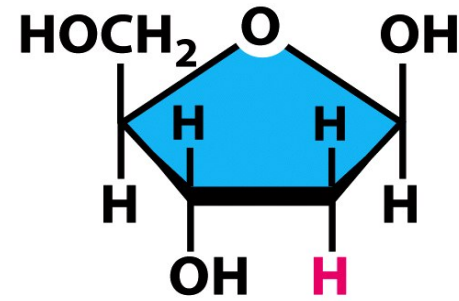
RNA

- Una cadena
- Más pequeño que el DNA
 - ARNt (tRNA) tienen 70 - 90 bases
 - ARNm (mRNA) sobre 10,000 bases
 - ADN por sobre 1000 millones de pares de bases
- Ribosa en vez de desoxirribosa
- Uracilo en lugar de Timina como base nitrogenada
- Funciones:
 - interpretar el código del DNA
 - Dirigir la síntesis de proteínas



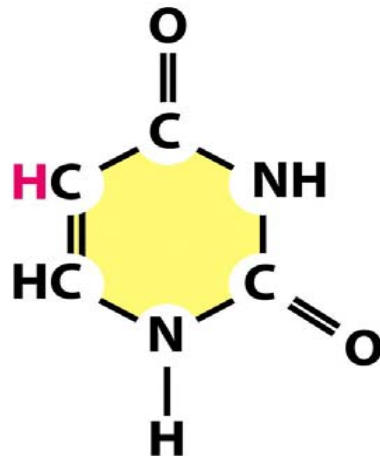
ribose

**used in ribonucleic
acid (RNA)**



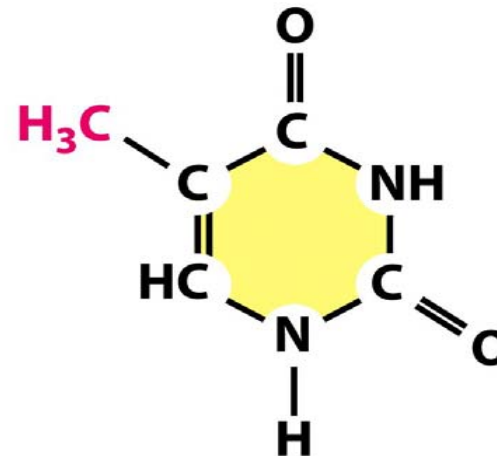
deoxyribose

**used in deoxyribonucleic
acid (DNA)**



uracil

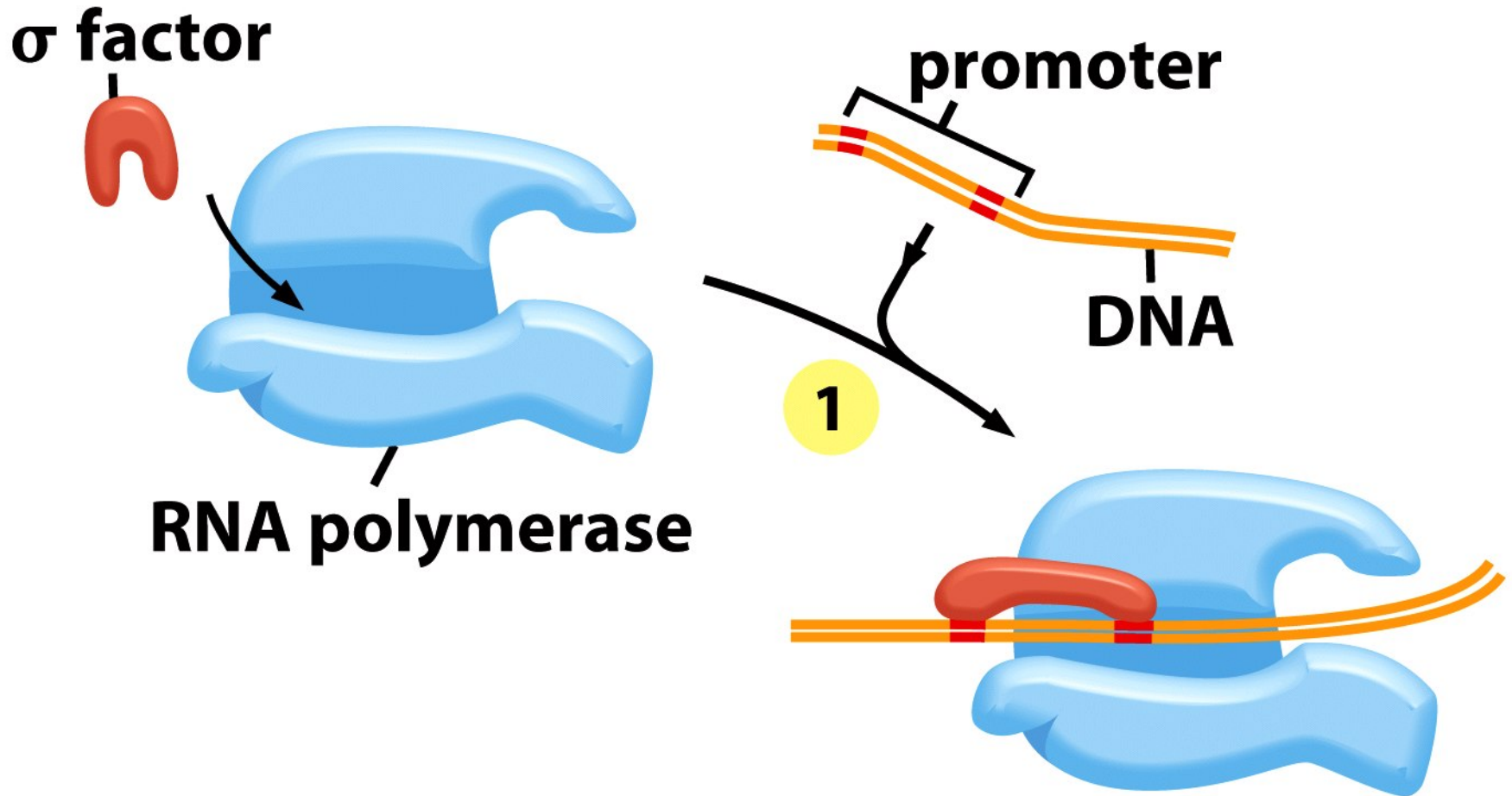
used in RNA



thymine

used in DNA

TRANSCRIPTION START IN PROCARYOTES



TRANSCRIPCIÓN EN EUCARIONTES

- Requiere la participación de 3 Ez.:
 - RNA pol I: genes rRNA.
 - RNA pol II: genes para todas las proteínas.
 - RNA pol III: genes tRNA, genes rRNA, genes RNA pequeños.
- RNA pol II es similar a la RNA pol de procariontes, pero necesita de la participación de otras proteínas que en conjunto se denominan Factores Transcripcionales generales (TFII).

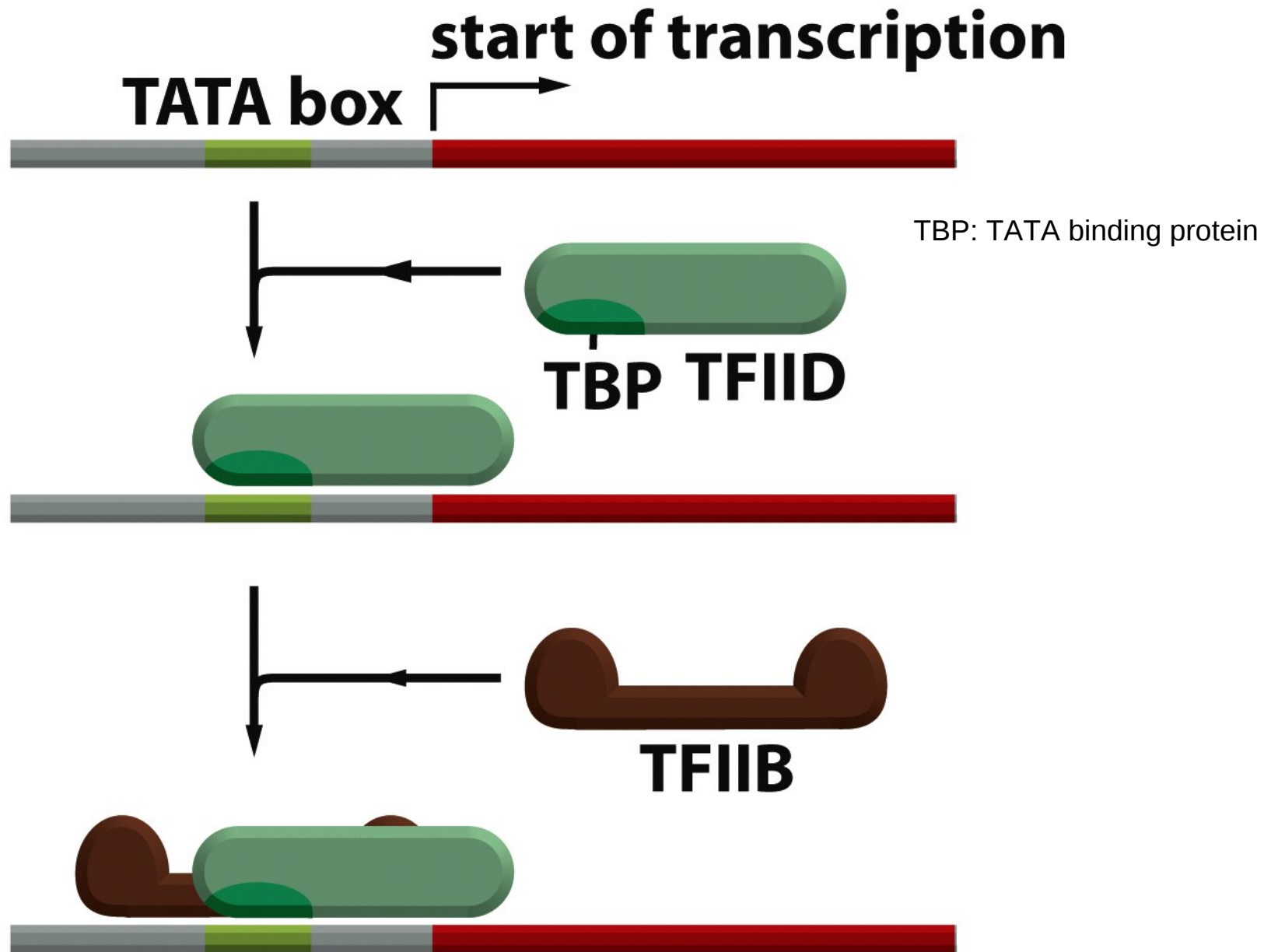
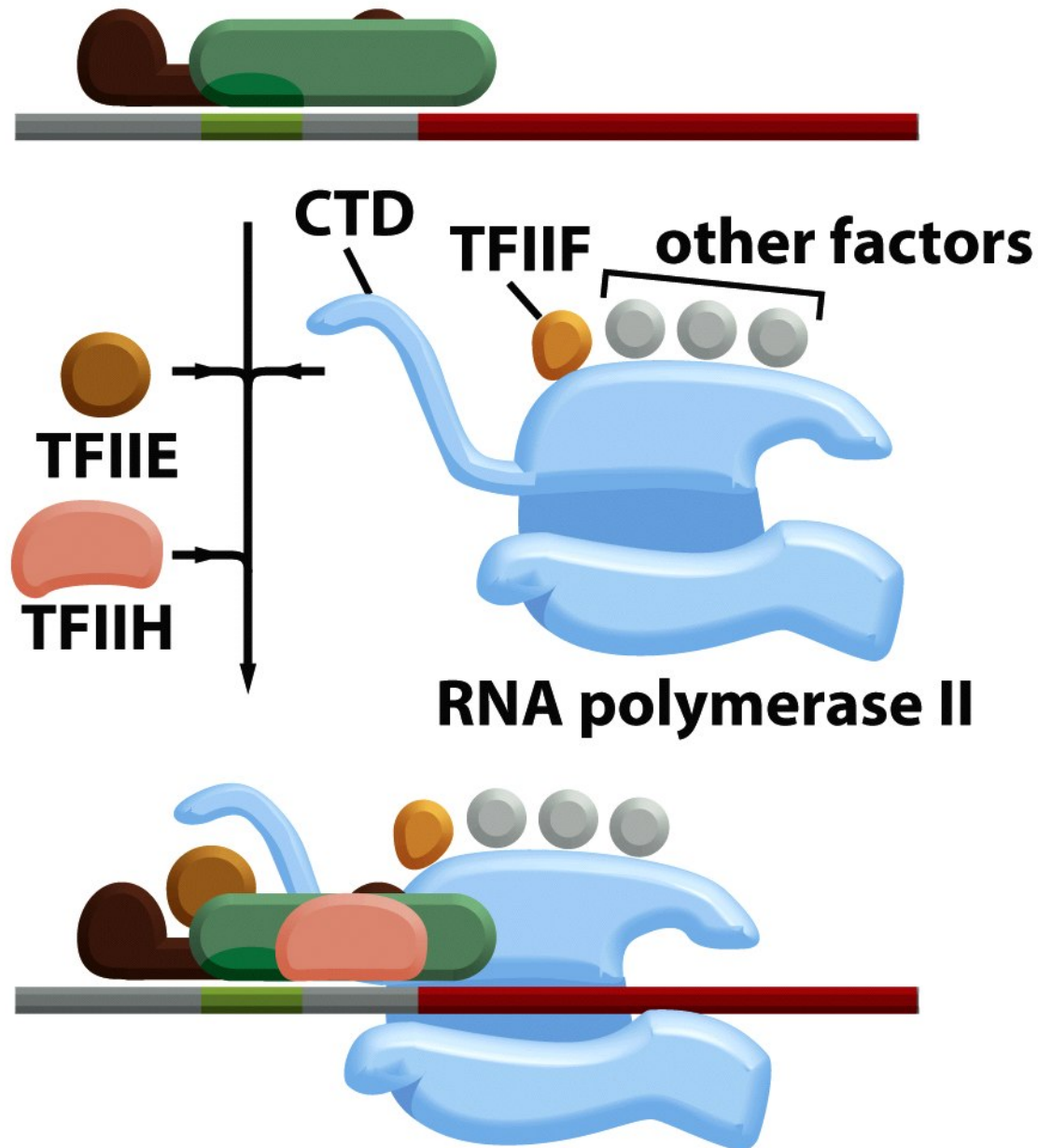


Figure 6-16 (part 1 of 3) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)



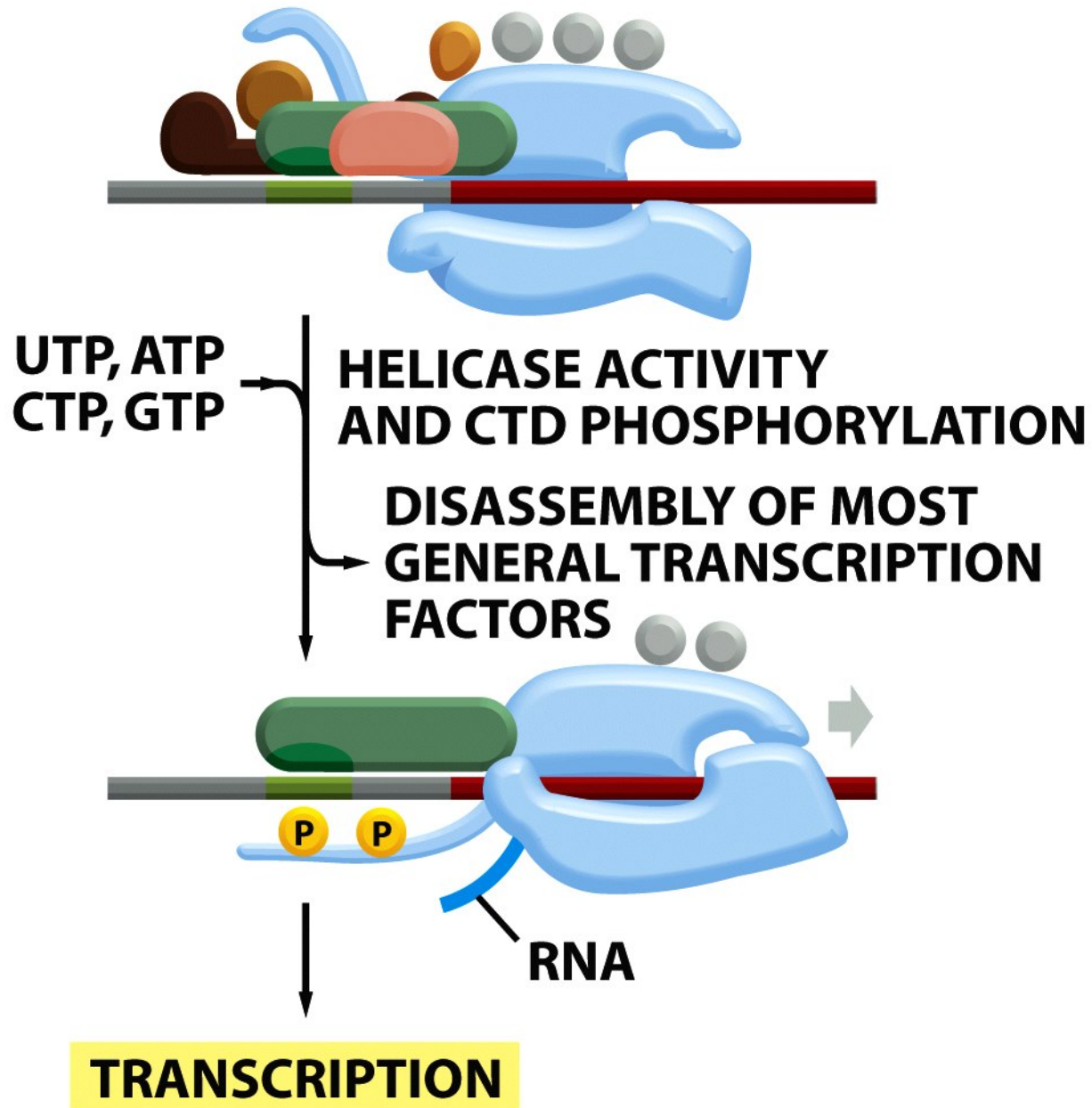


Figure 6-16 (part 3 of 3) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

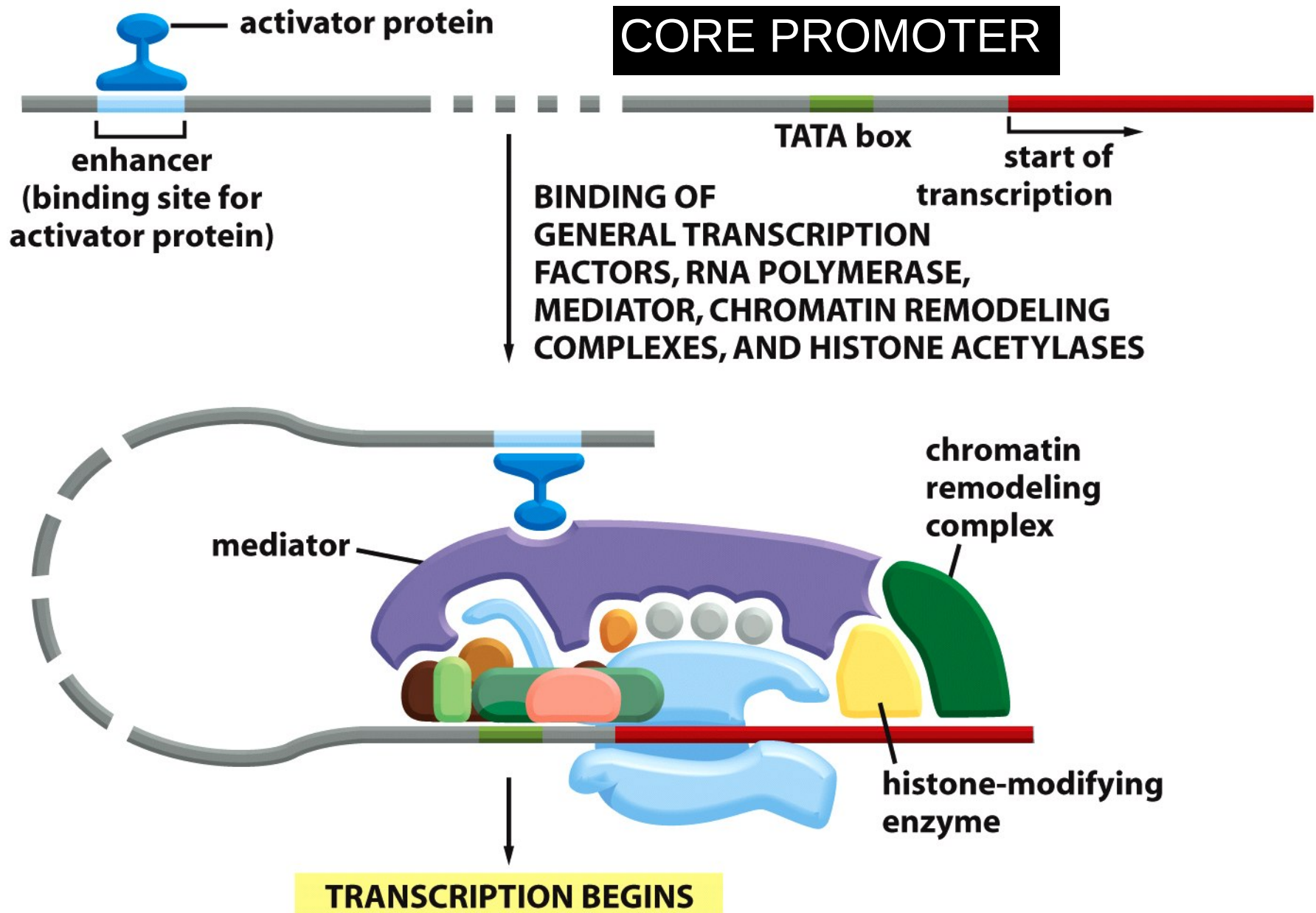


Figure 6-19 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

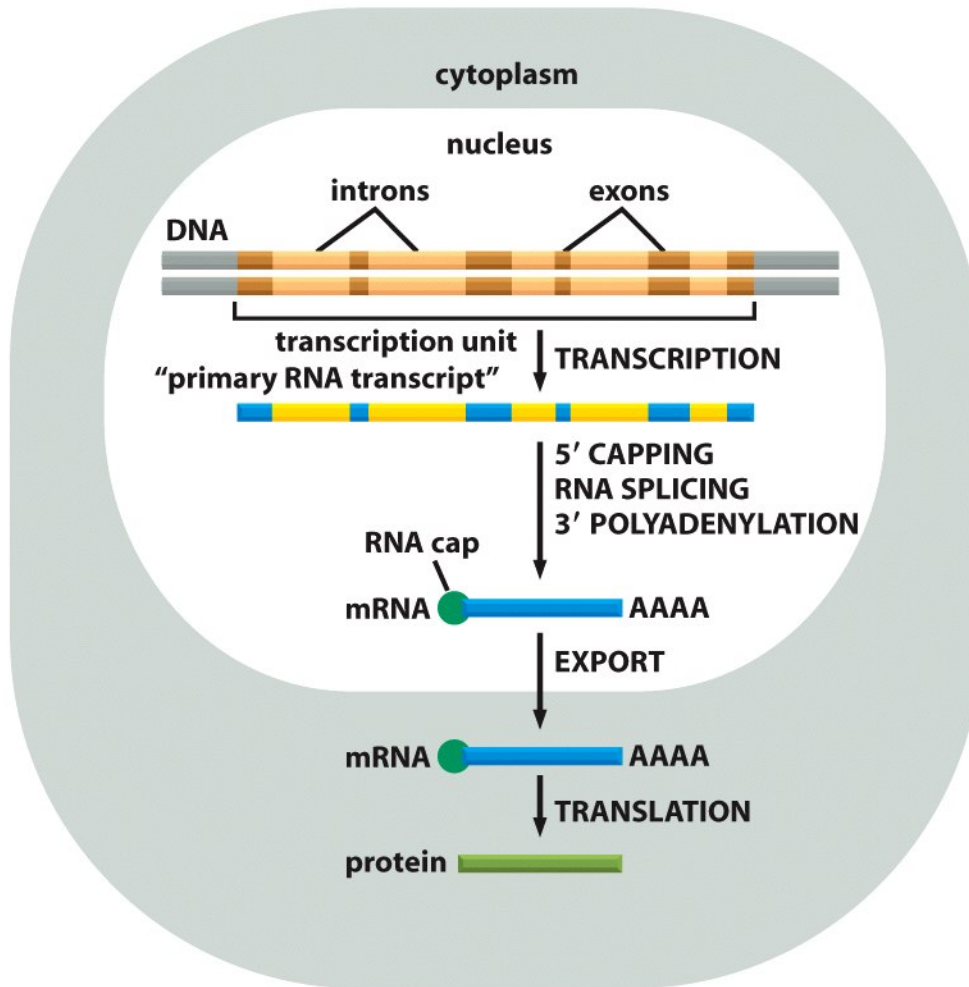
Video 2

http://www.youtube.com/watch?v=41_Ne5mS2ls

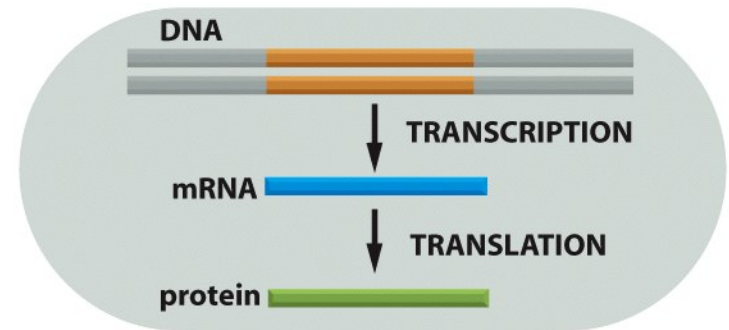


- Factores que se asocian al principio del gen (secuencia lineal de instrucciones en ADN).
- Notese la alta concentración de nucleótidos

(A)

EUCARYOTES

(B)

PROCARYOTES

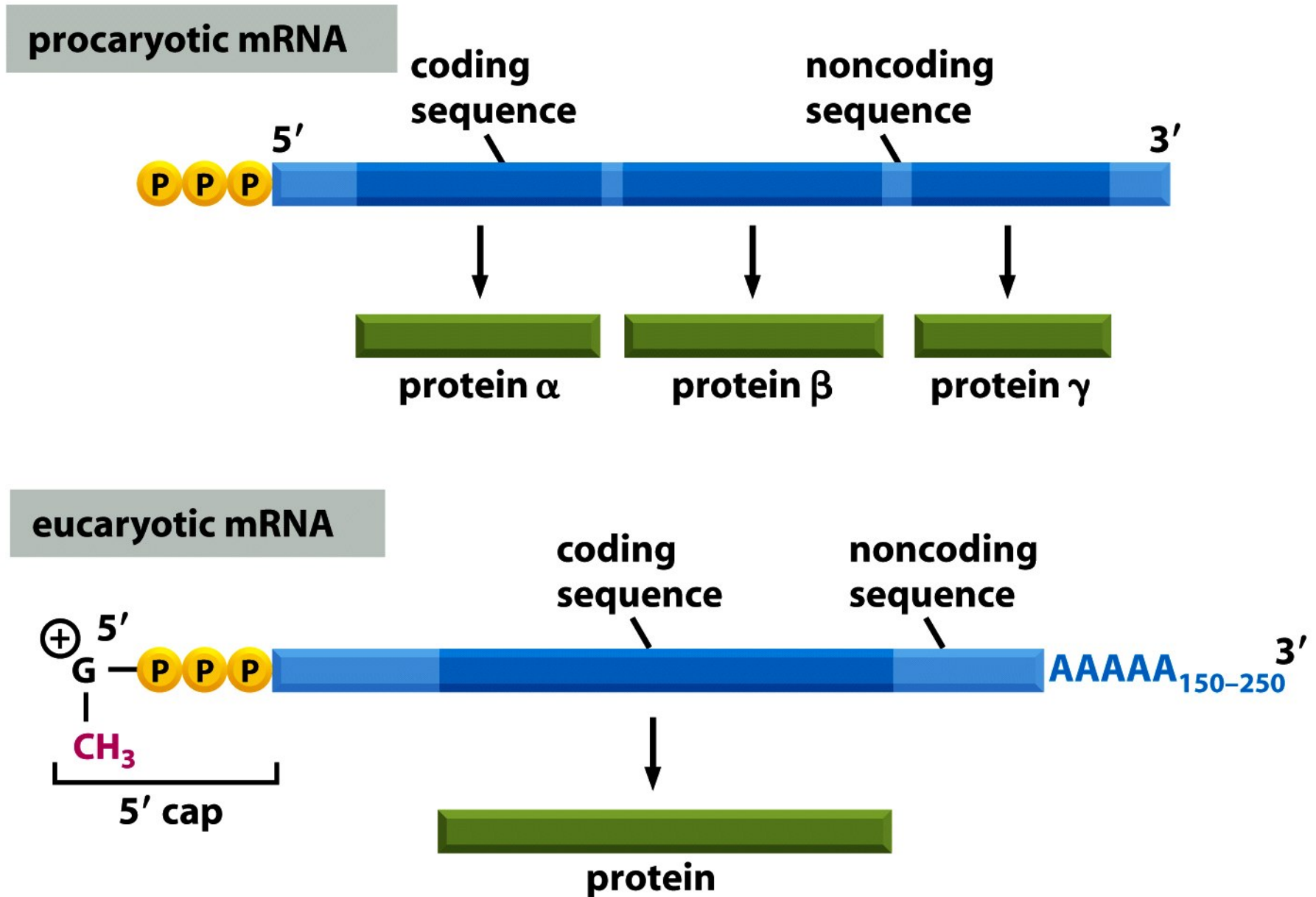
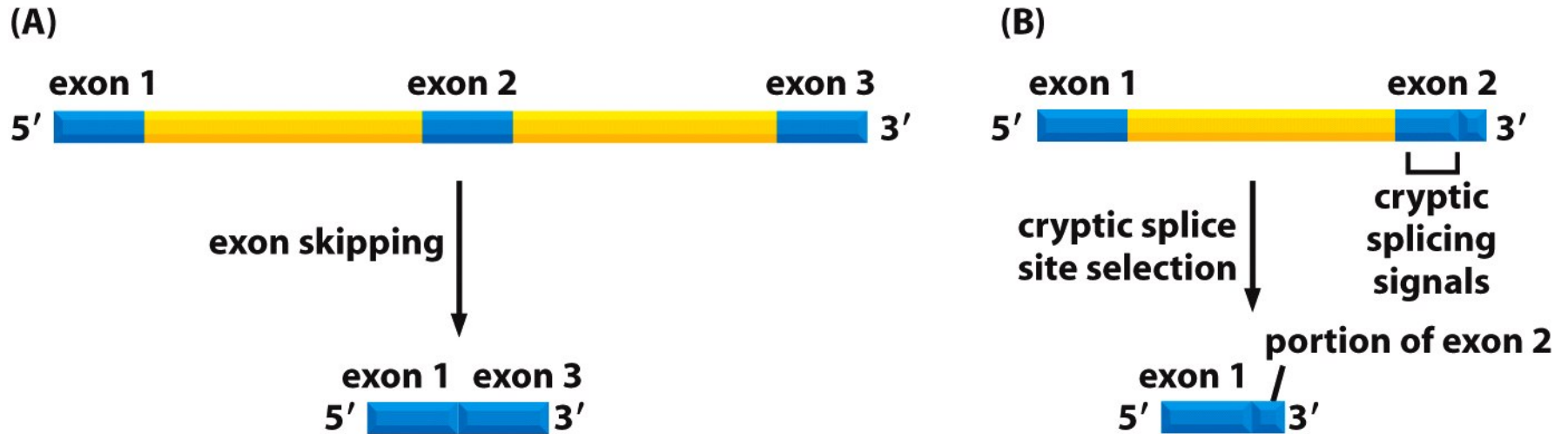
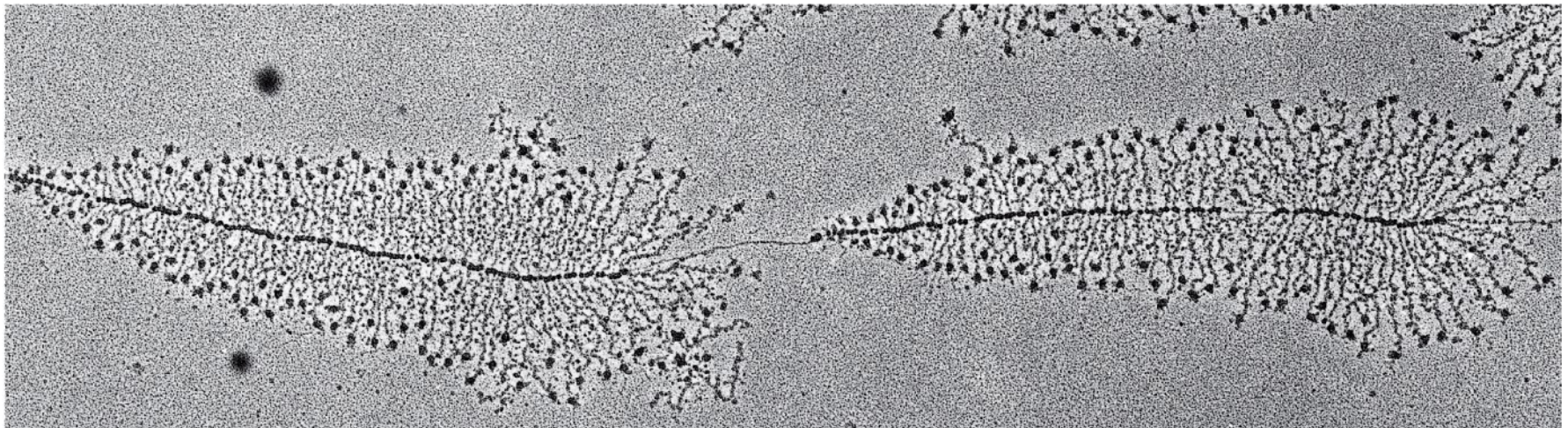
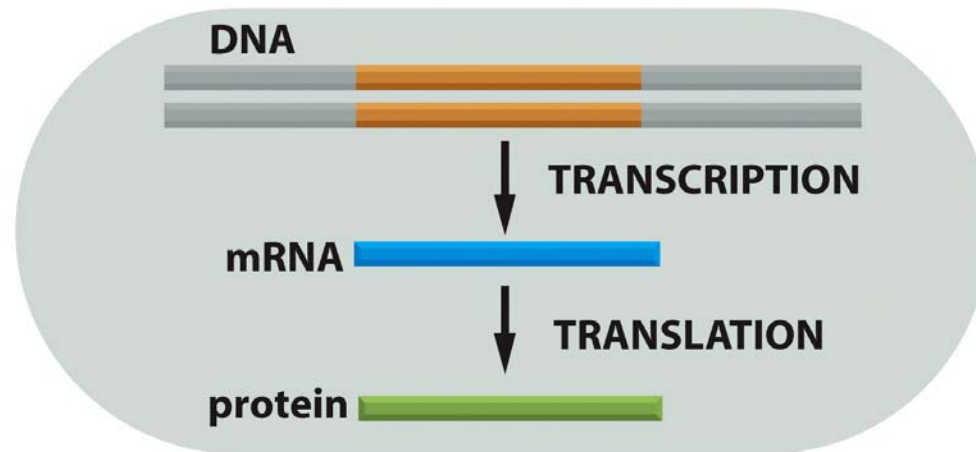


Figure 6-22a Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

ALTERNATIVE SPLICING



PROCARYOTES



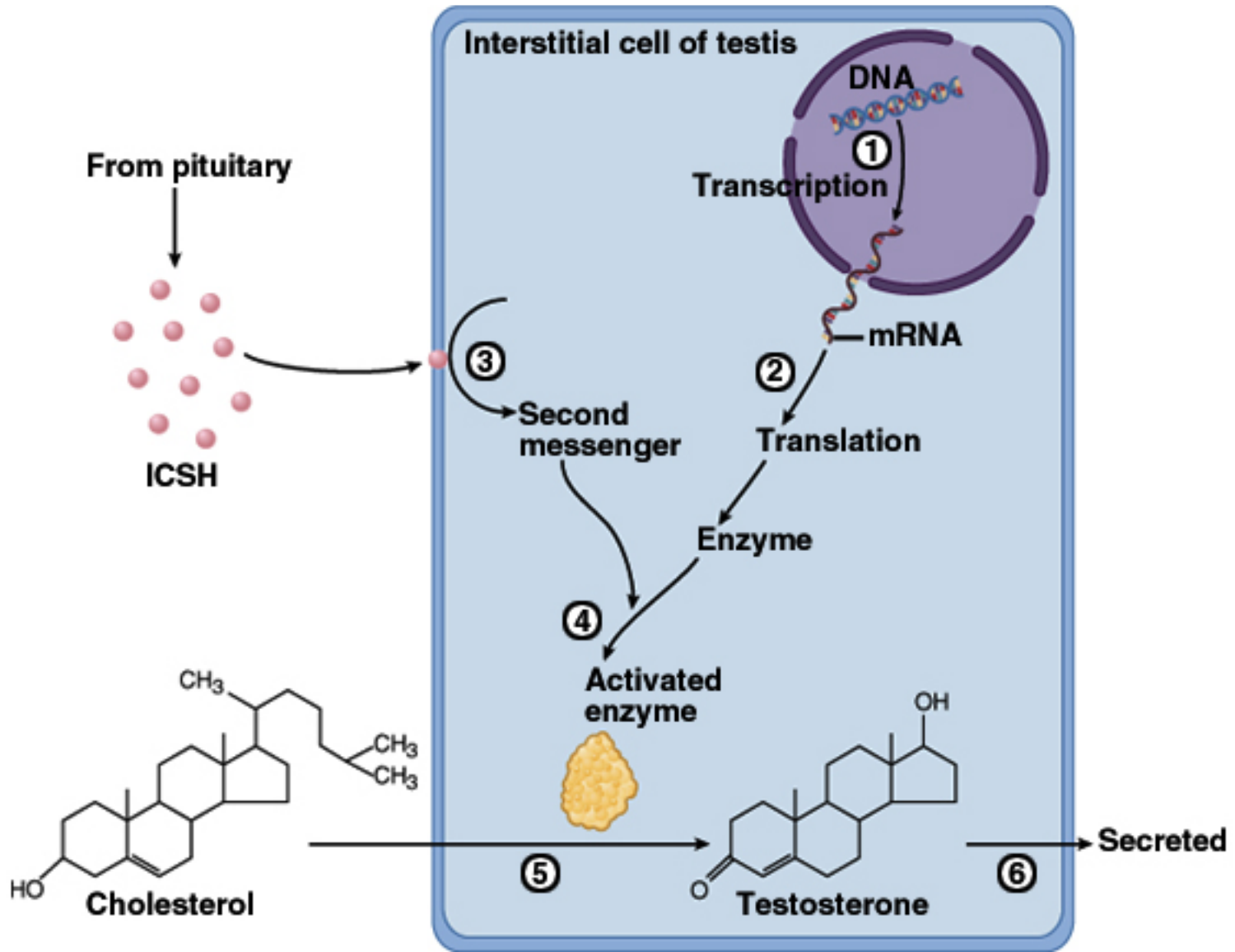
1 μm

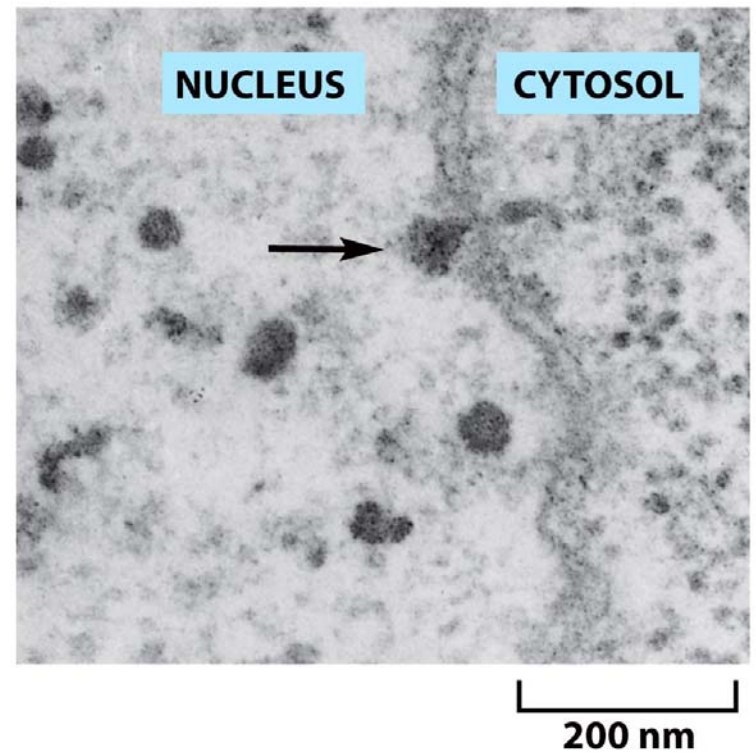
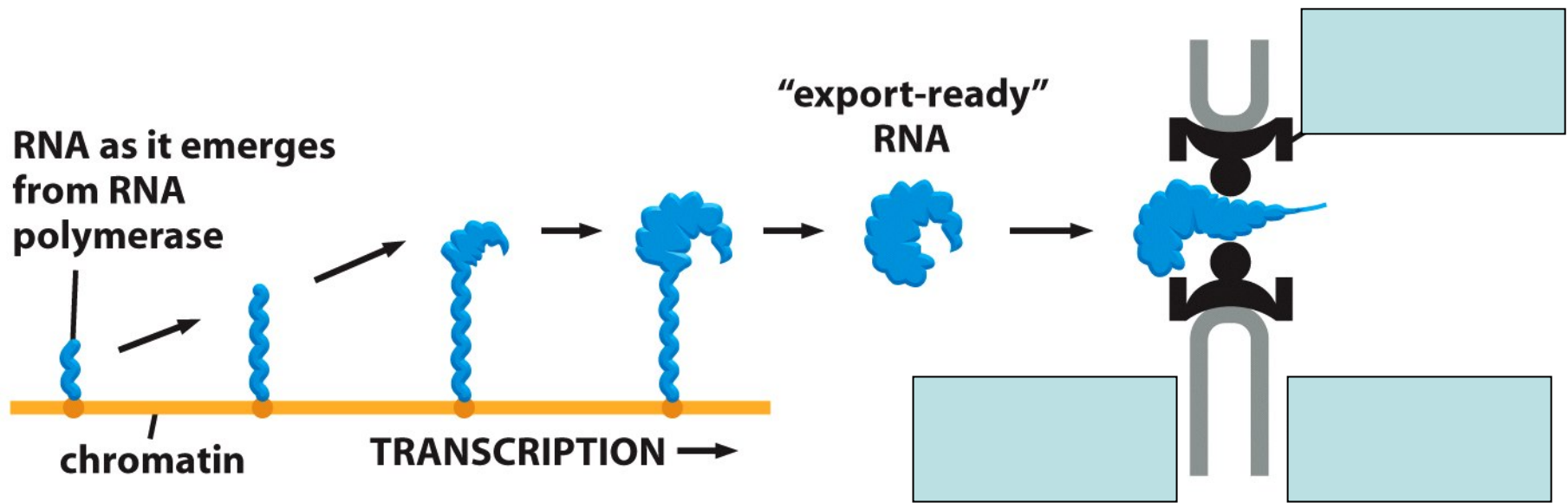
Table 6–2 The Three RNA Polymerases in Eucaryotic Cells

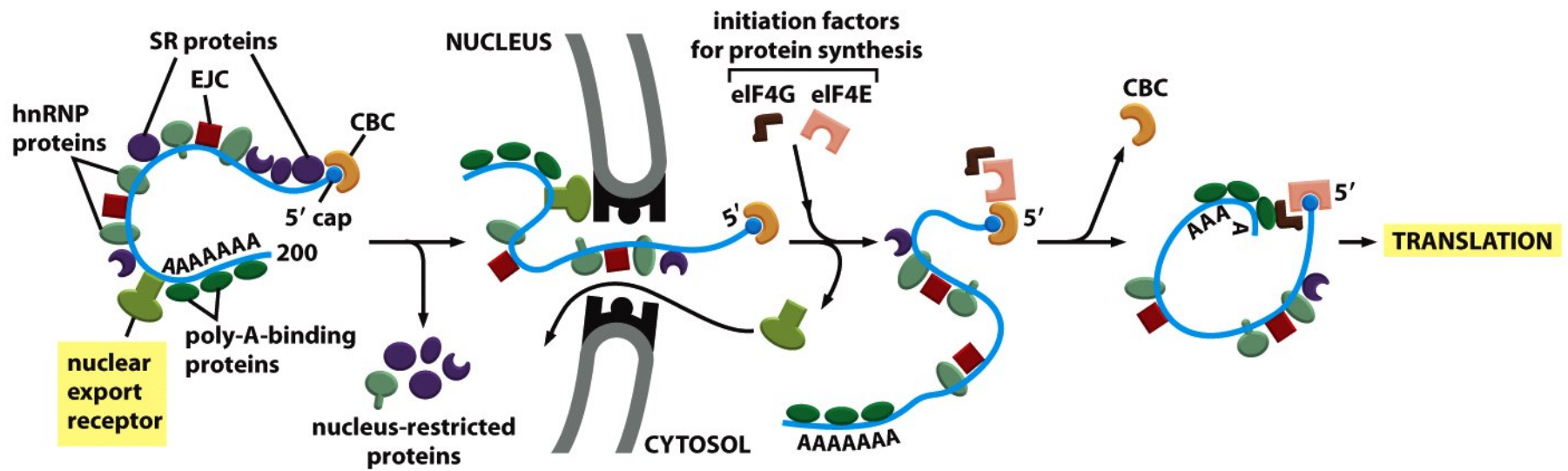
TYPE OF POLYMERASE	GENES TRANSCRIBED
RNA polymerase I	5.8S, 18S, and 28S rRNA genes
RNA polymerase II	all protein-coding genes, plus snoRNA genes, miRNA genes, siRNA genes, and most snRNA genes
RNA polymerase III	tRNA genes, 5S rRNA genes, some snRNA genes and genes for other small RNAs

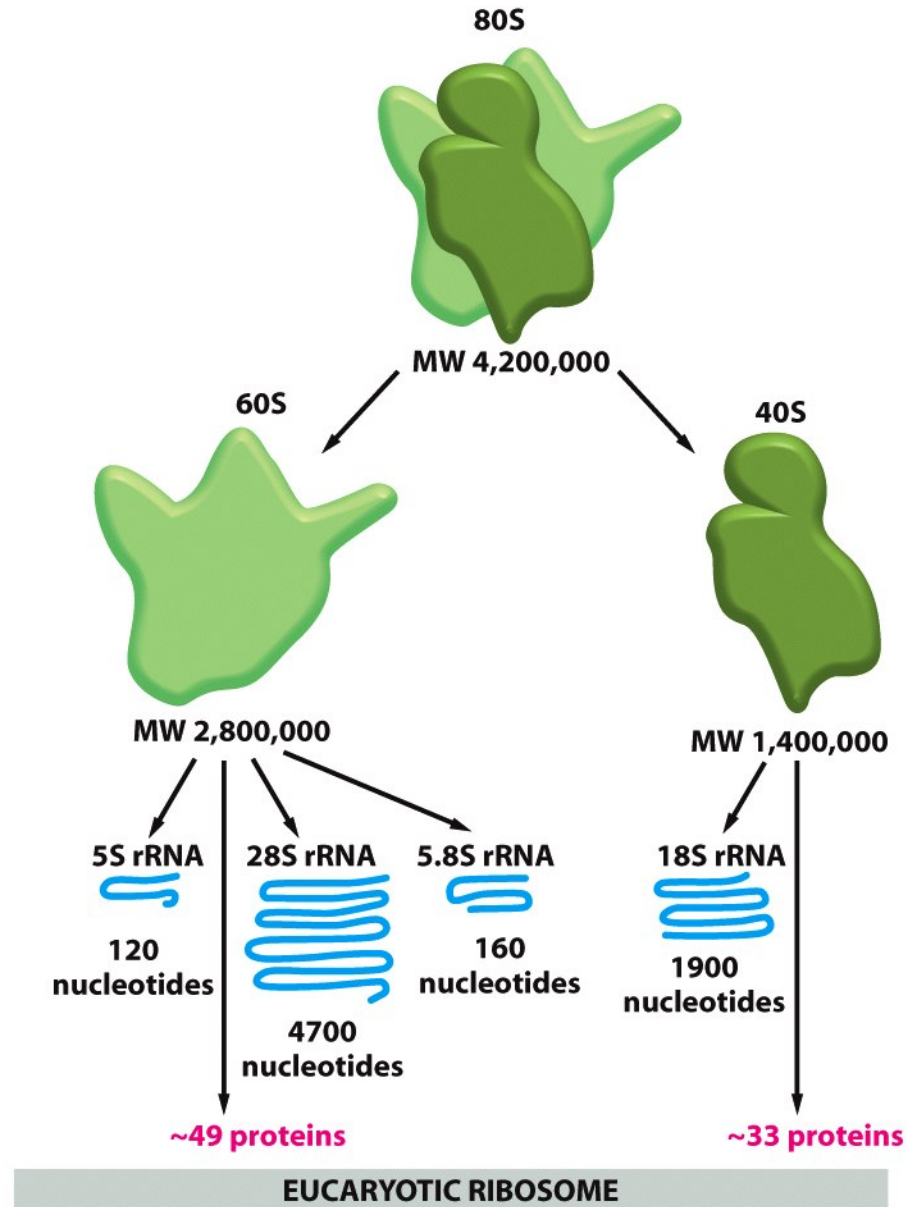
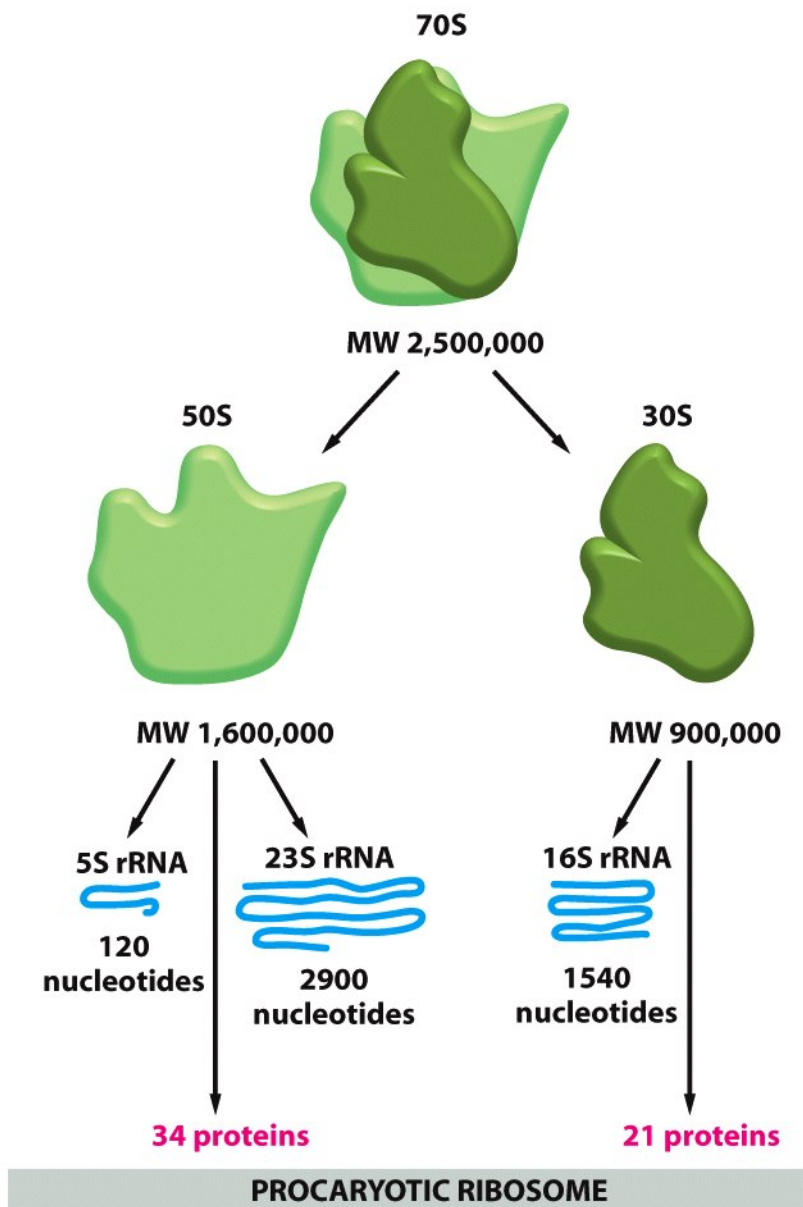
The rRNAs are named according to their “S” values, which refer to their rate of sedimentation in an ultracentrifuge. The larger the S value, the larger the rRNA.

Indirect Control of Nonprotein Synthesis by DNA



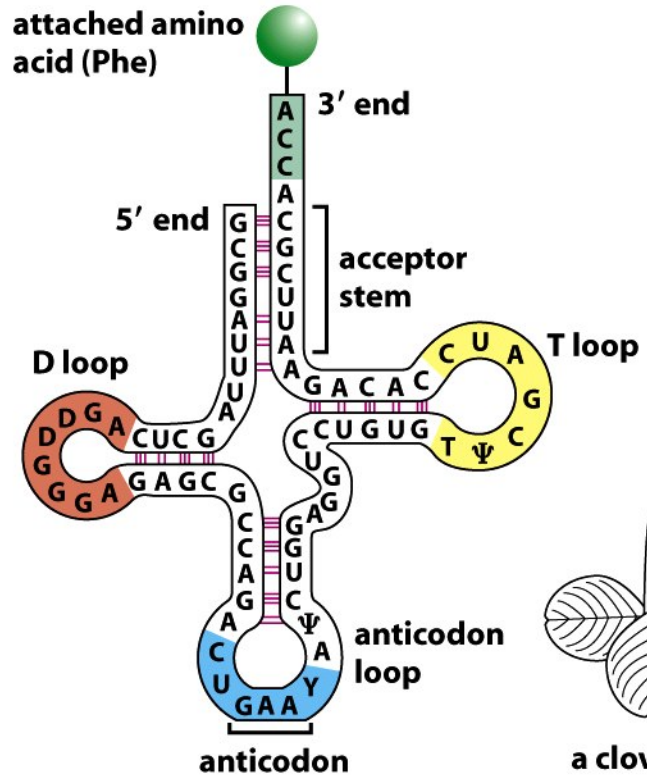




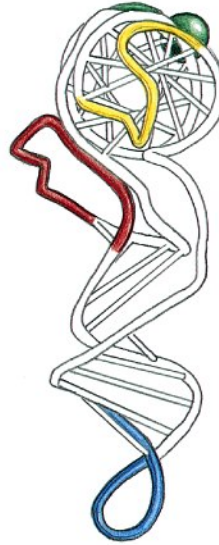


GCA GCC GCG GCU	AGA AGG CGA CGC CGG CGU	GAC GAU	AAC AAU	UGC UGU	GAA GAG	CAA CAG	GGA GGC GGG GGU	CAC CAU	AUA AUC AUU	UUA UUG CUA CUC CUG CUU	AAA AAG	AUG	UUC UUU	CCA CCC CCG CCU	AGC AGU UCA UCC UCG UCU	ACA ACC ACG ACU	UGG	UAC UAU	GUA GUC GUG GUU	UAA UAG UGA
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	stop
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V	

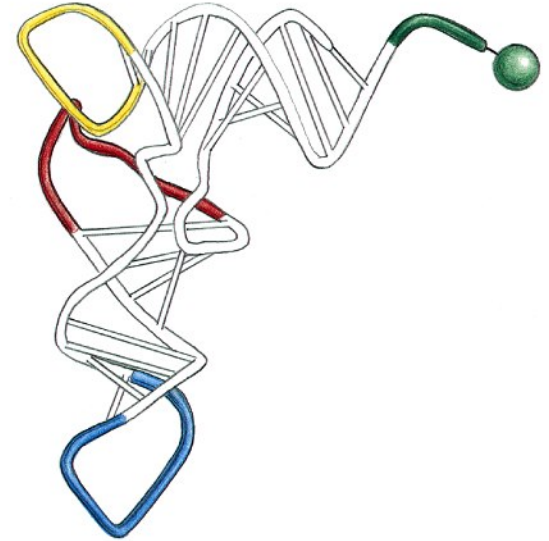
Molécula tRNA



(A)



(B)



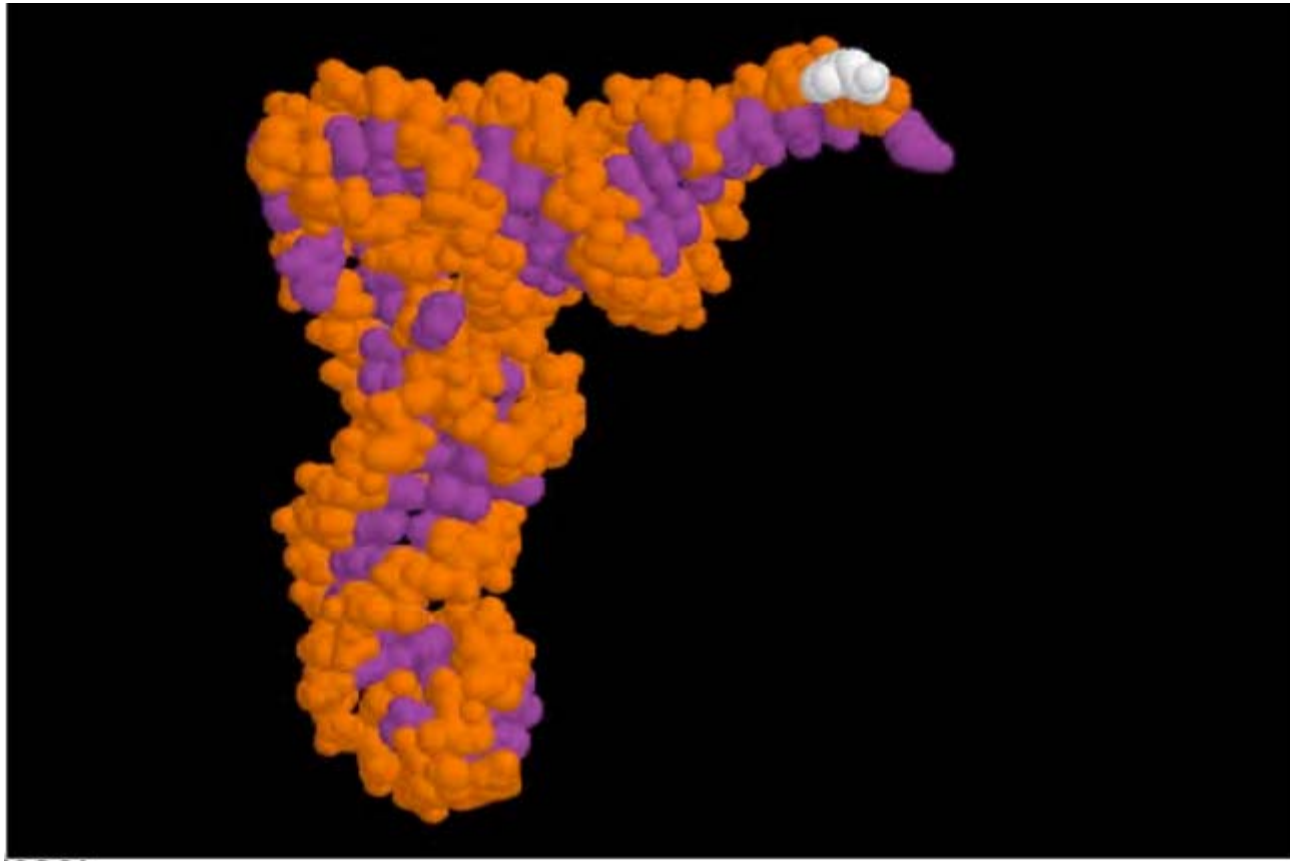
(C)

5' GCGGAUUUAGCUCAGDDGGGAGAGCGCCAGACUGAAYAΨCUGGAGGUCCUGUGTΨCGAUCCACAGAAUUCGCACCA 3'

anticodon

(D)

Video 3



Nótese:

1. Sitio de asociación a aa.
2. Posición del anticodón y su exposición

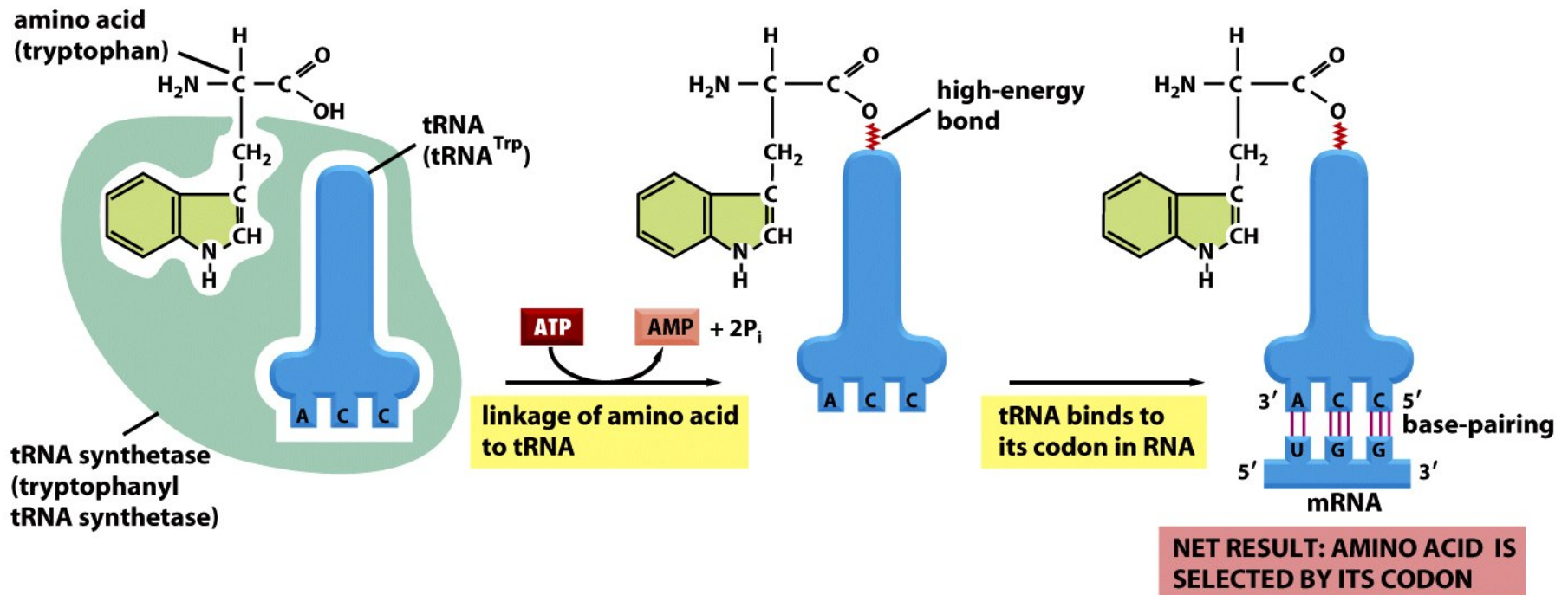
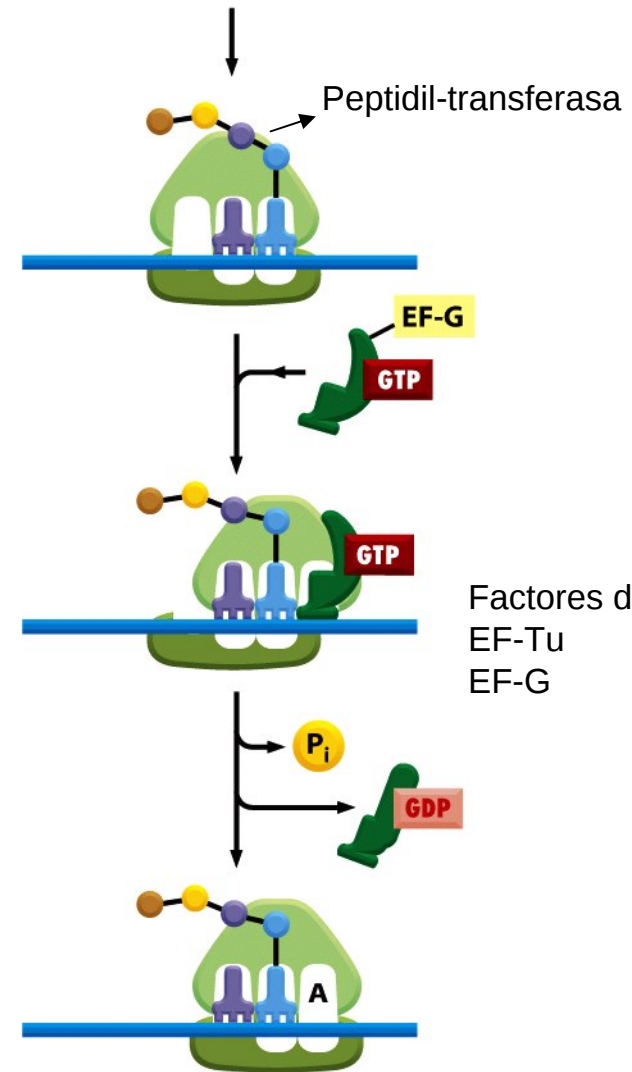
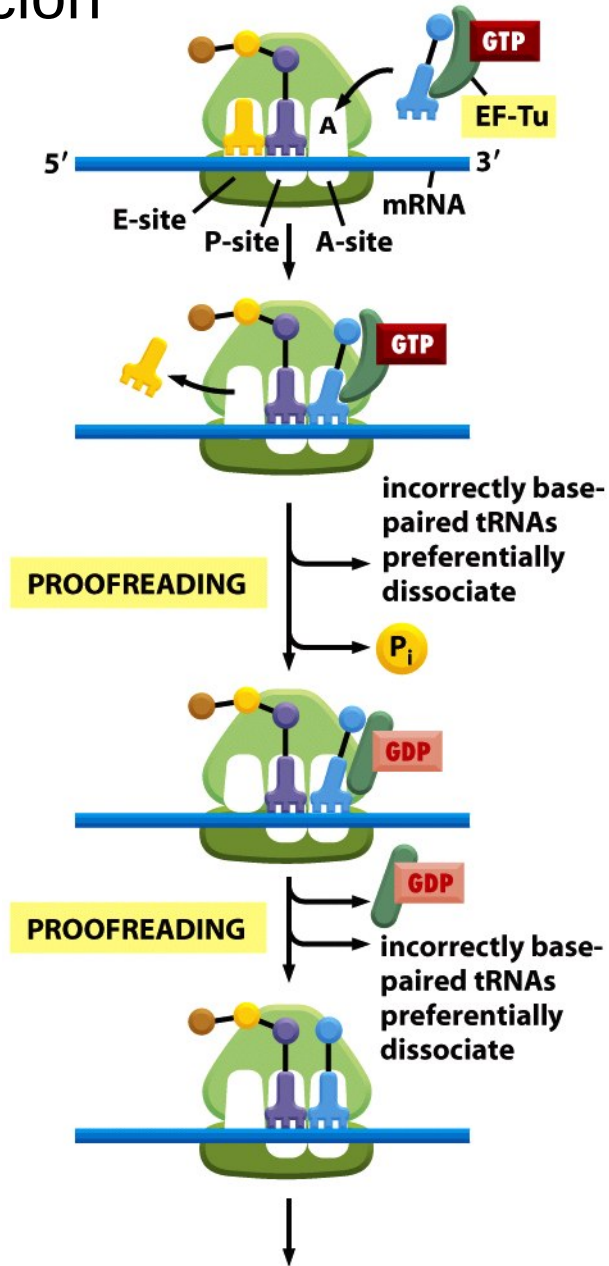


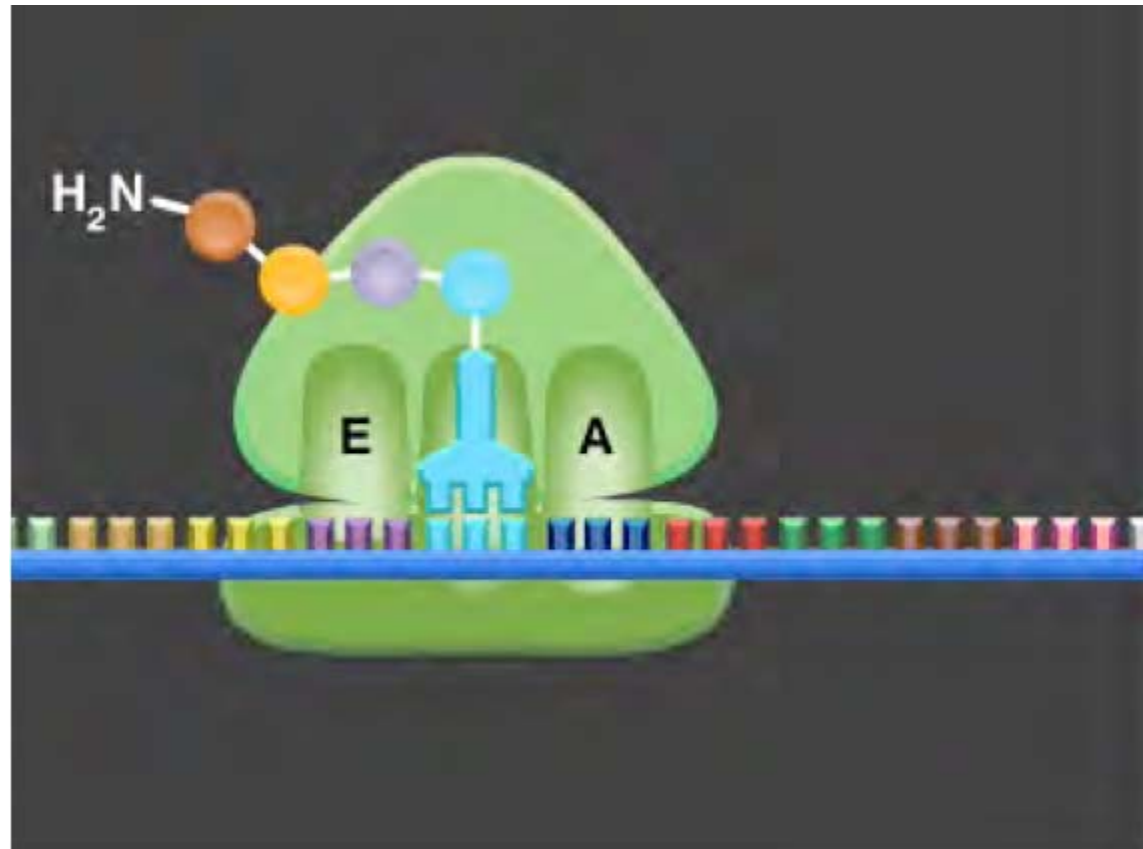
Figure 6-58 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

Traducción

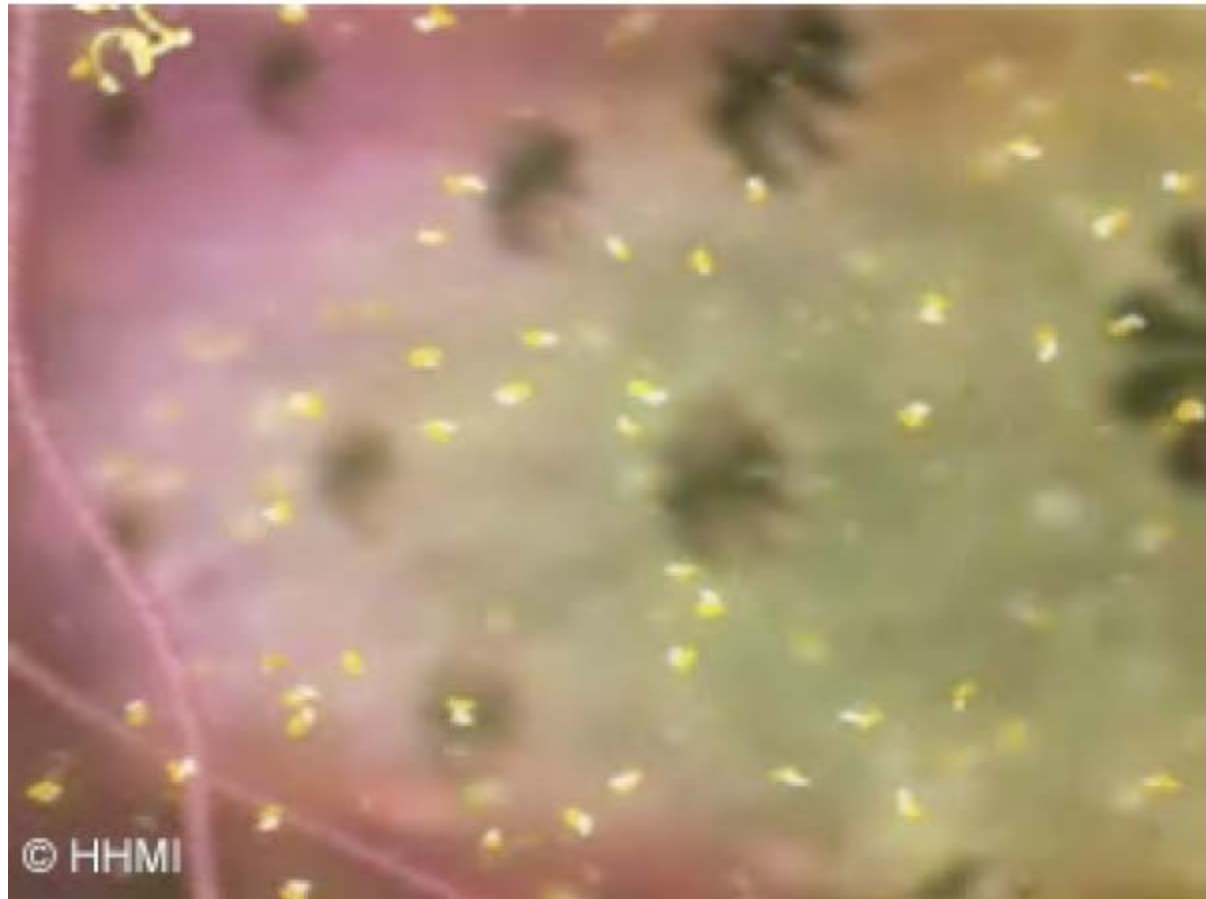


Factores de elongación:
EF-Tu
EF-G

Video 4



Video 5



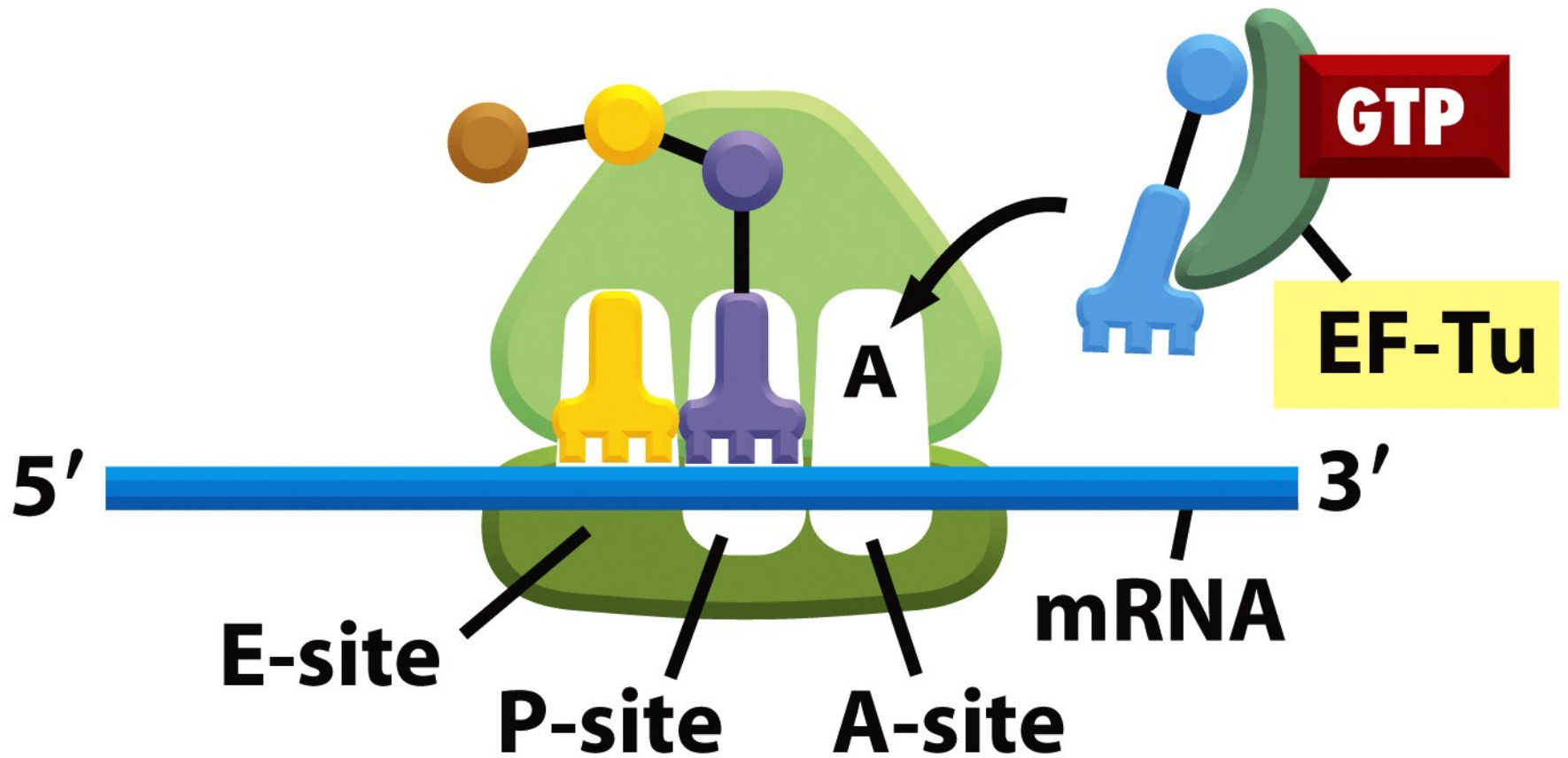


Figure 6-67 (part 1 of 7) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

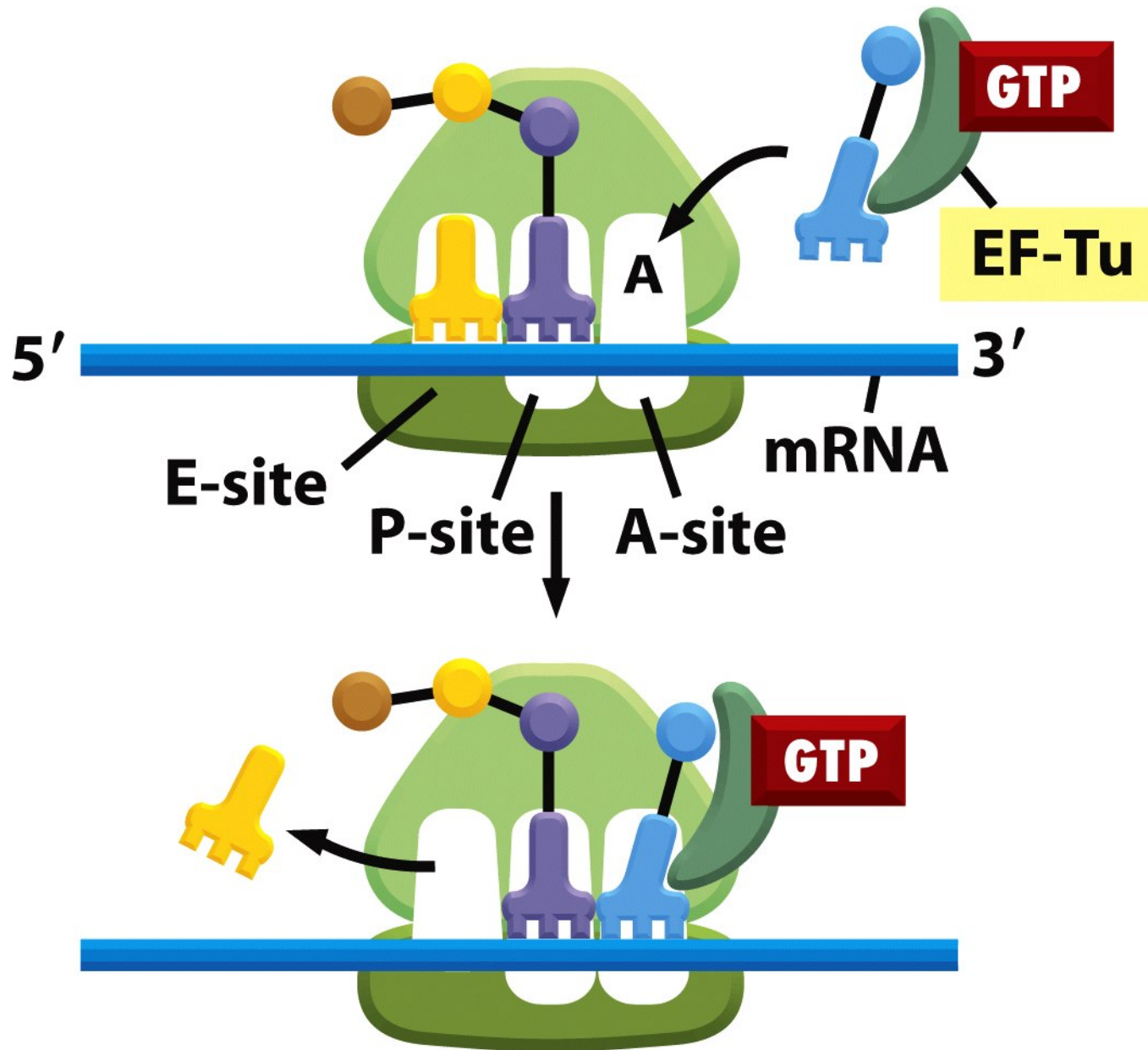


Figure 6-67 (part 2 of 7) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

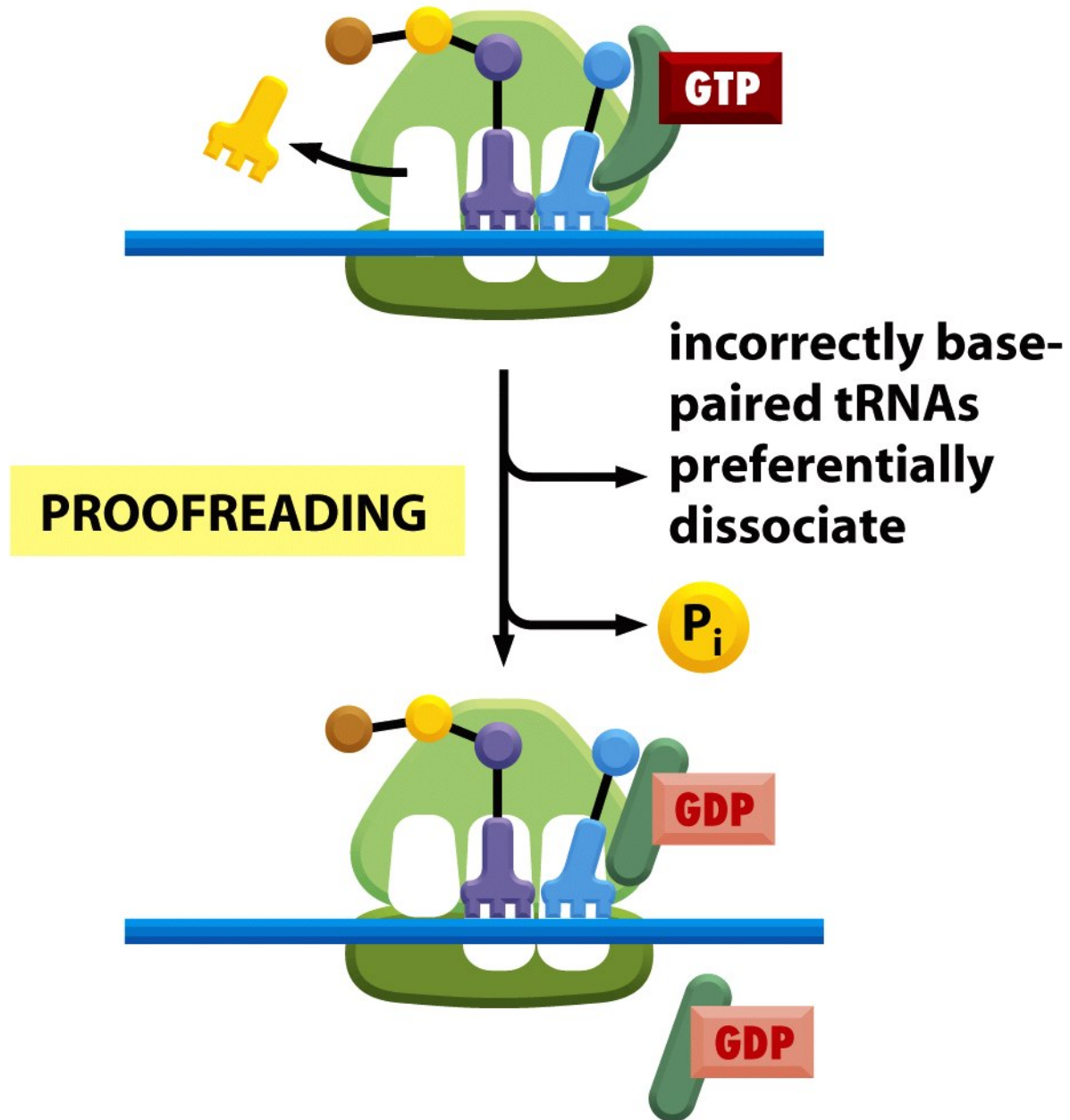
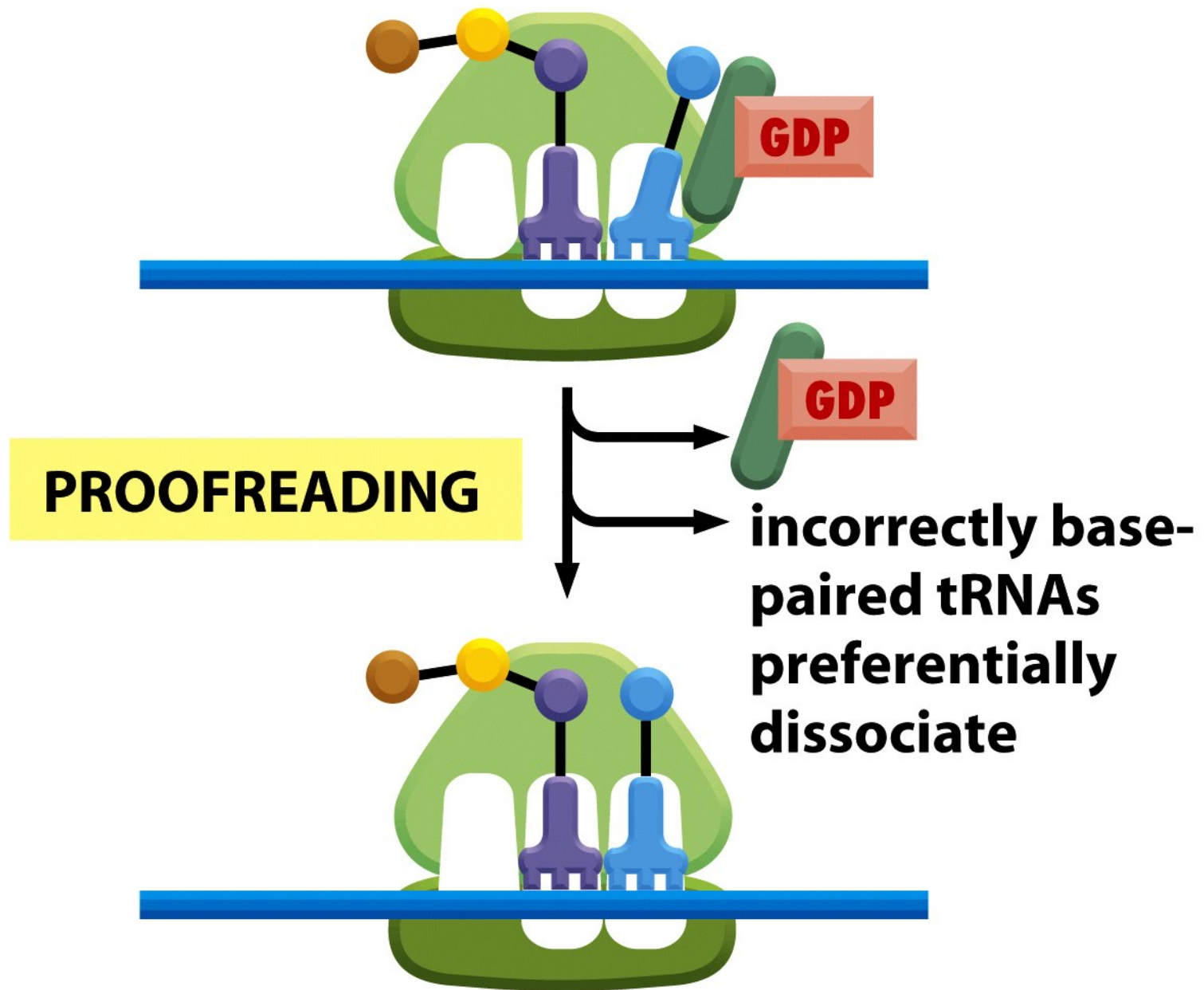


Figure 6-67 (part 3 of 7) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)



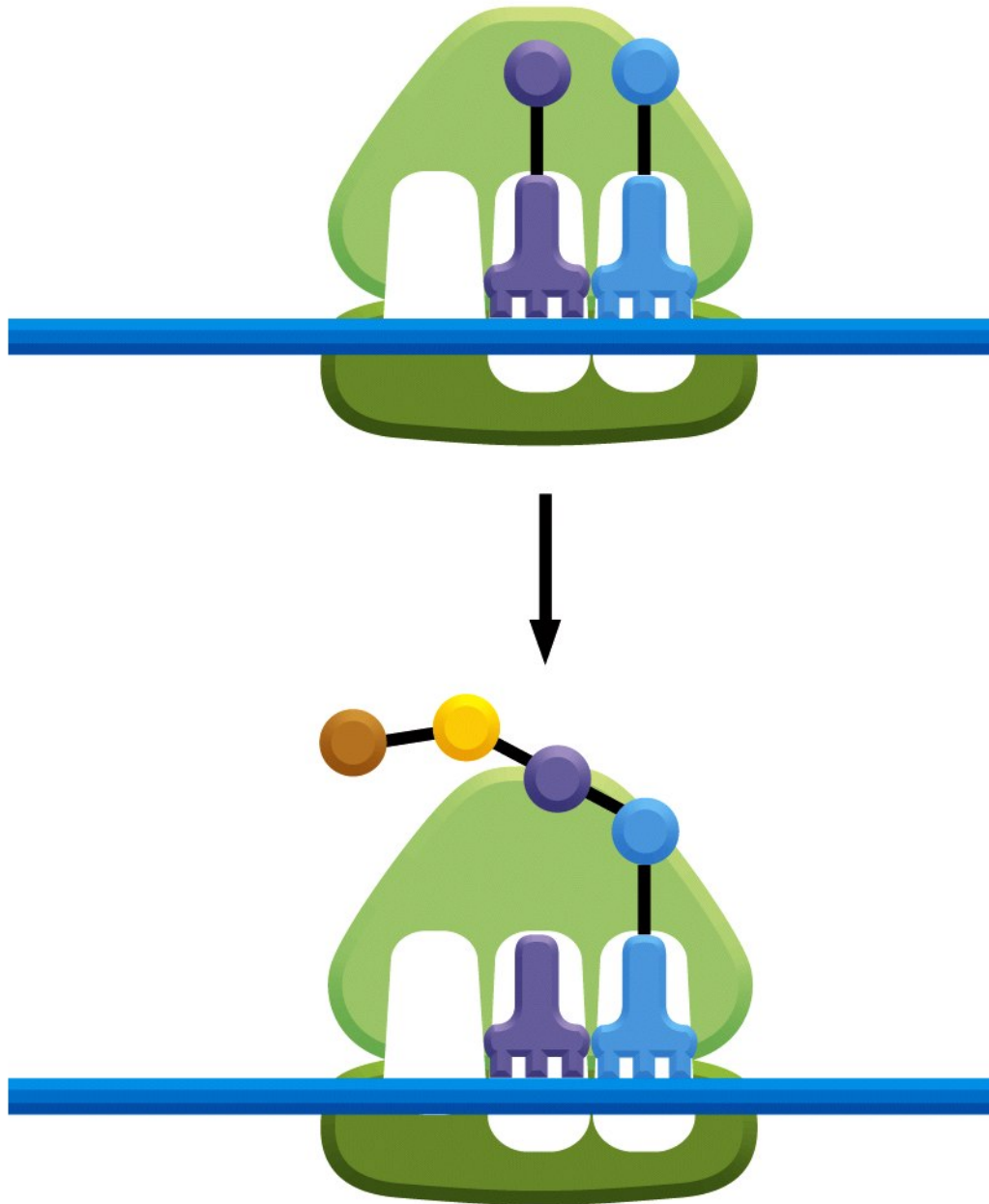


Figure 6-67 (part 5 of 7) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

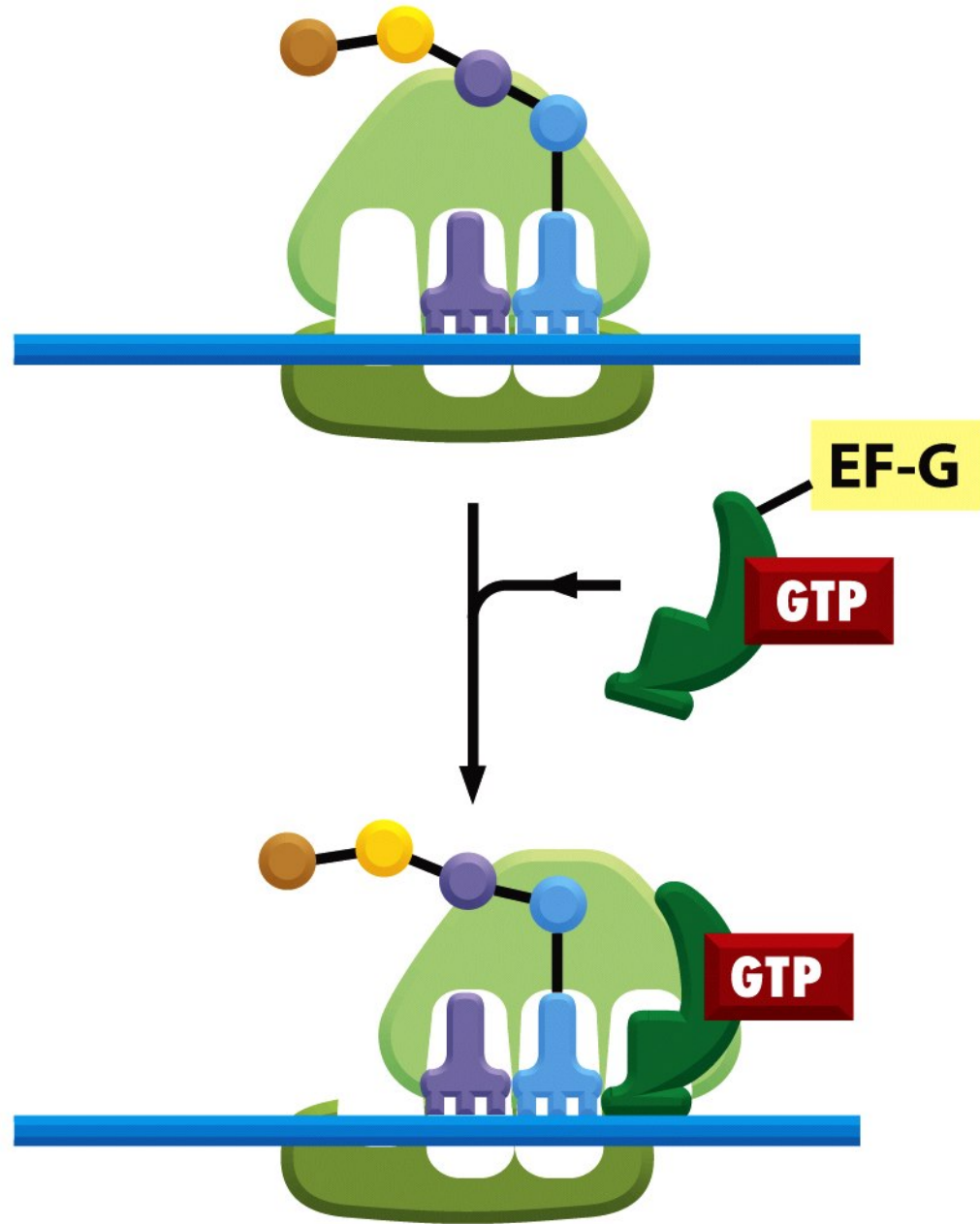


Figure 6-67 (part 6 of 7) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

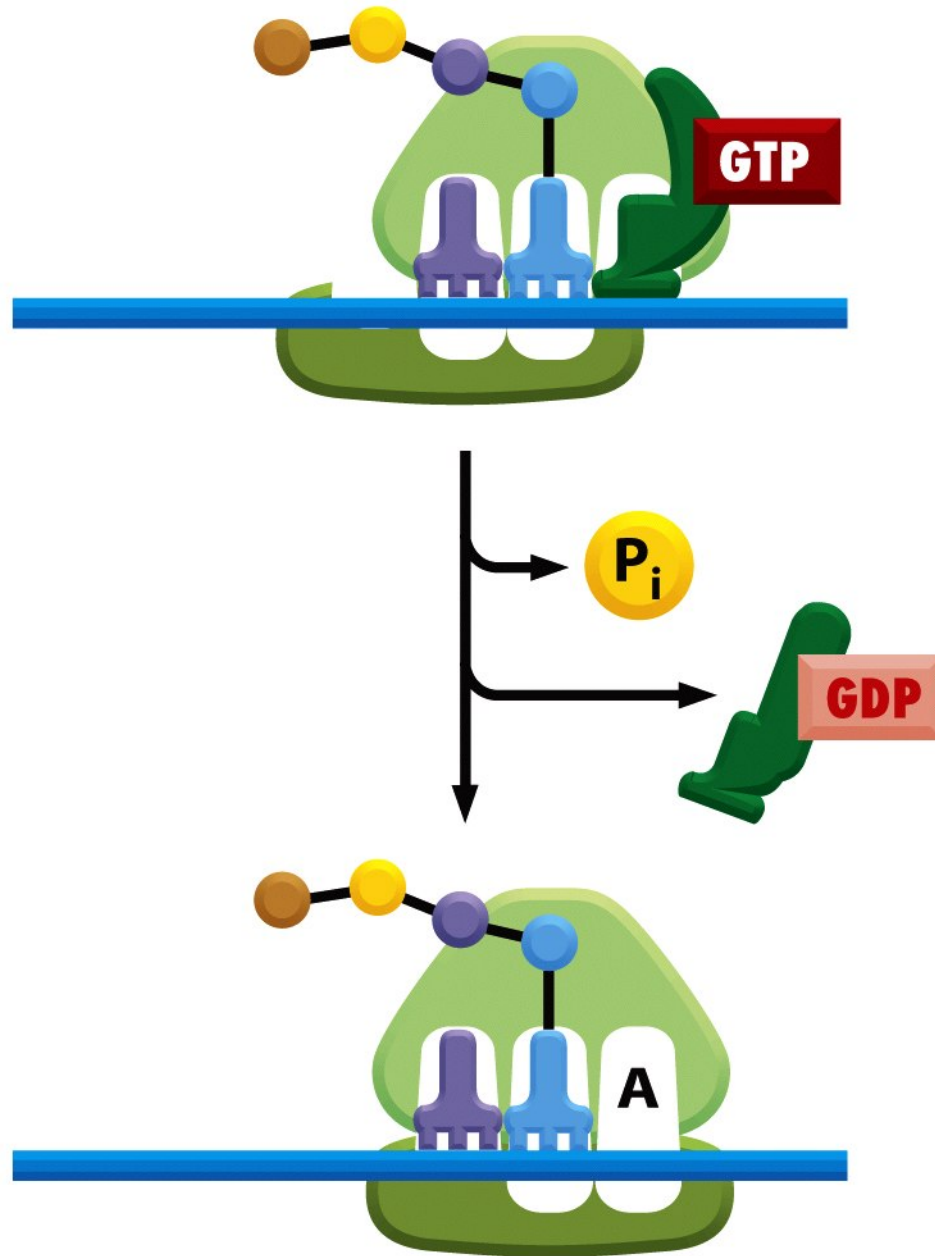
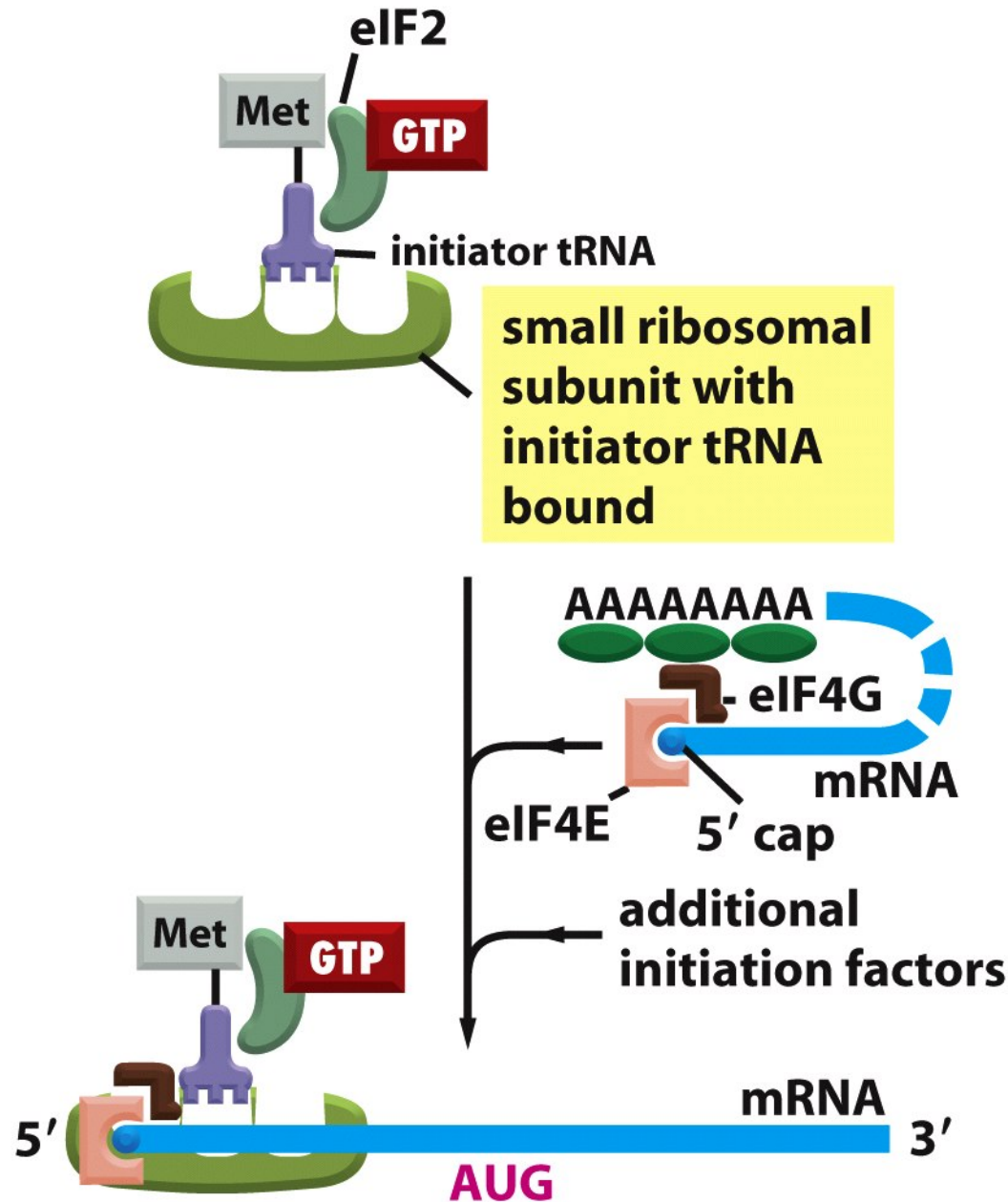


Figure 6-67 (part 7 of 7) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

Reconocimiento Inicial



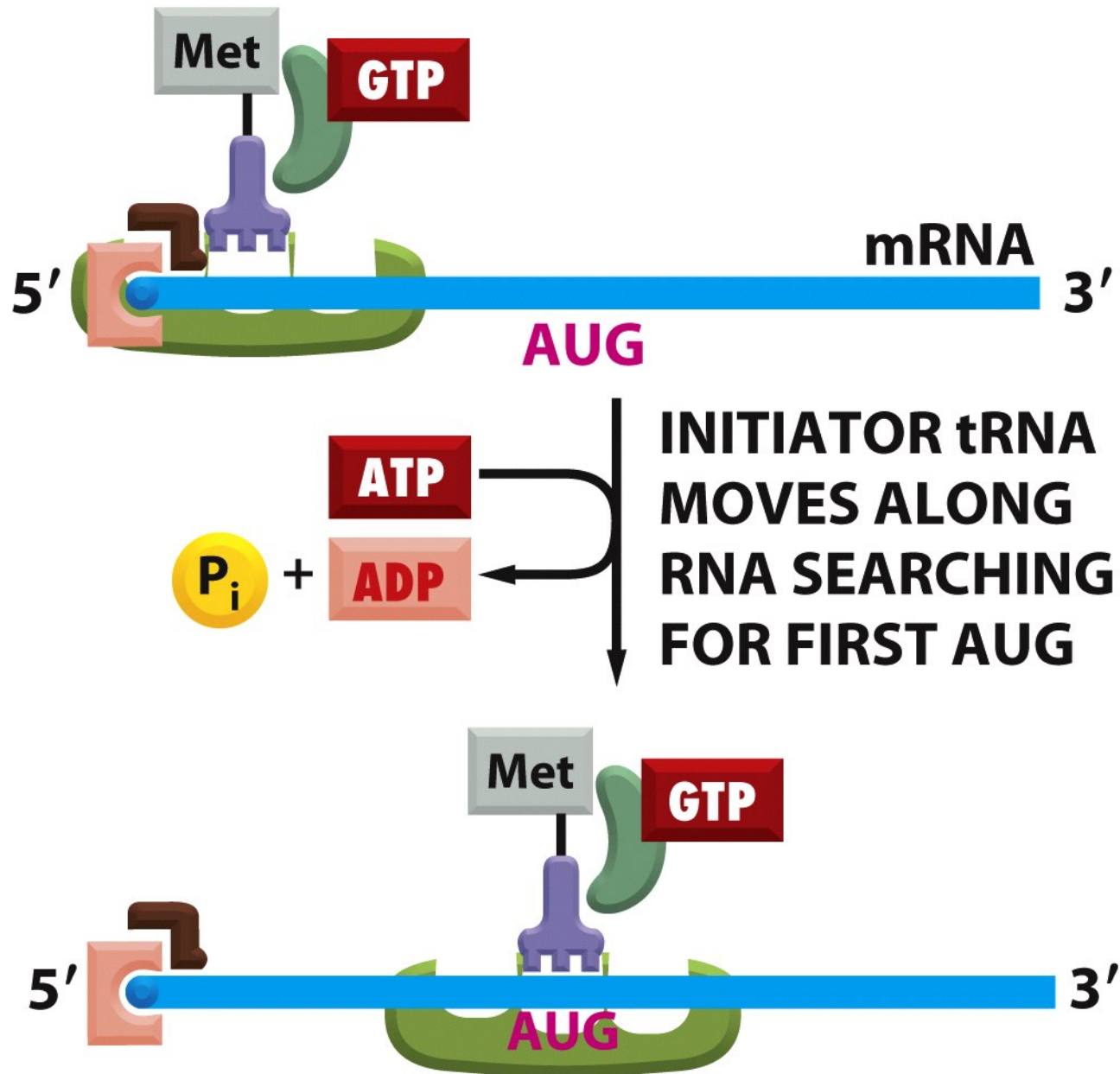


Figure 6-72 (part 2 of 5) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

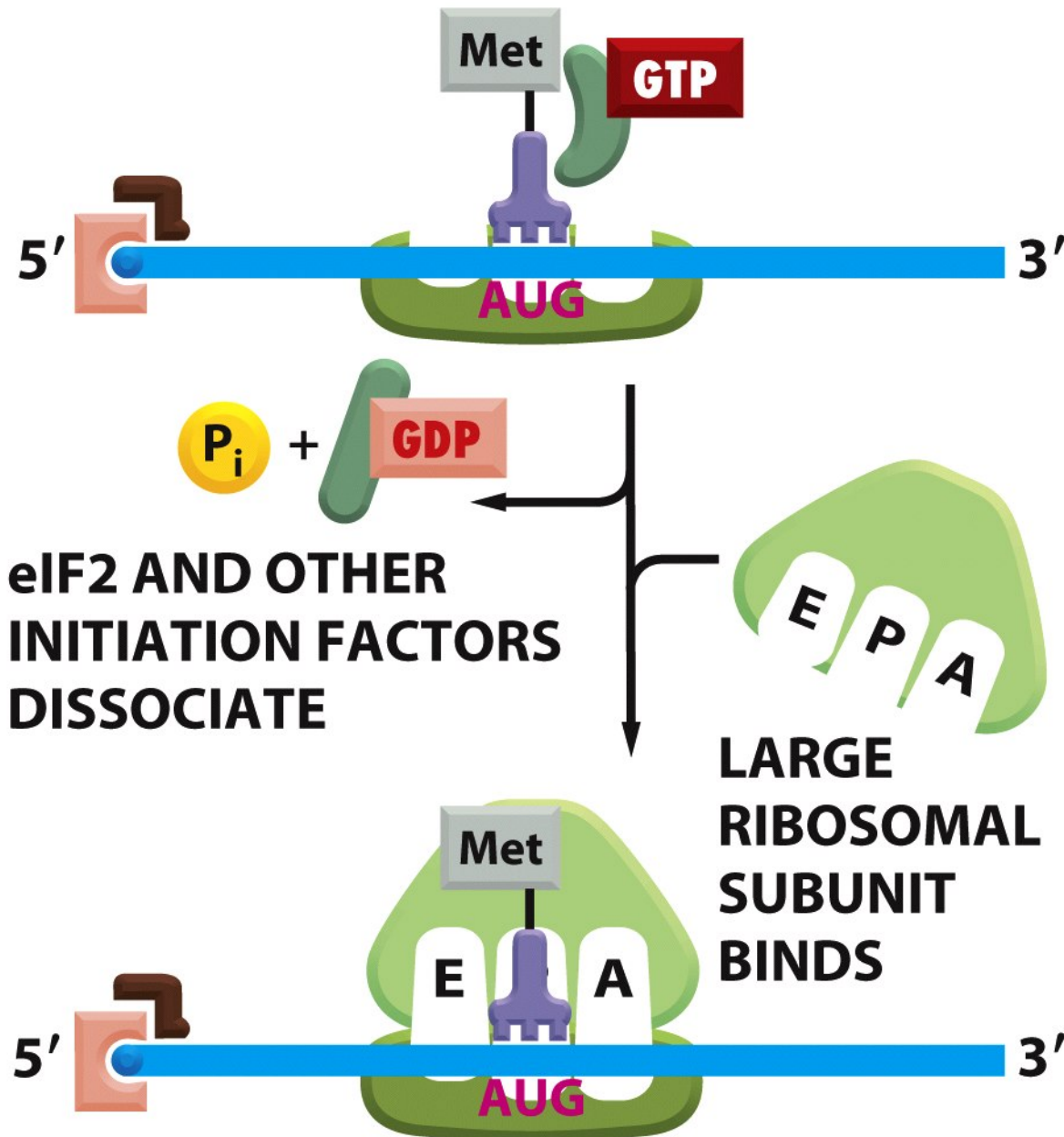
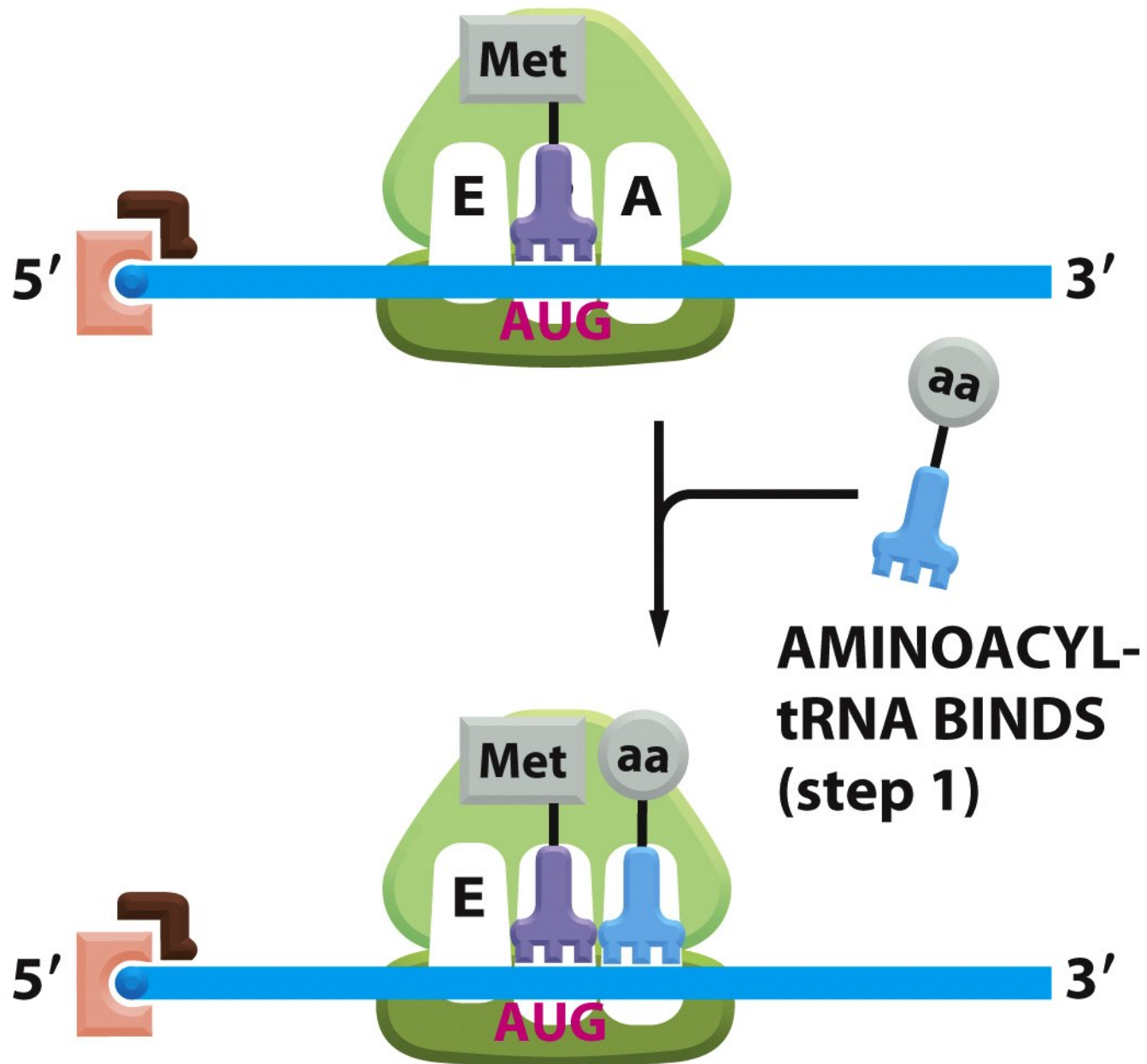
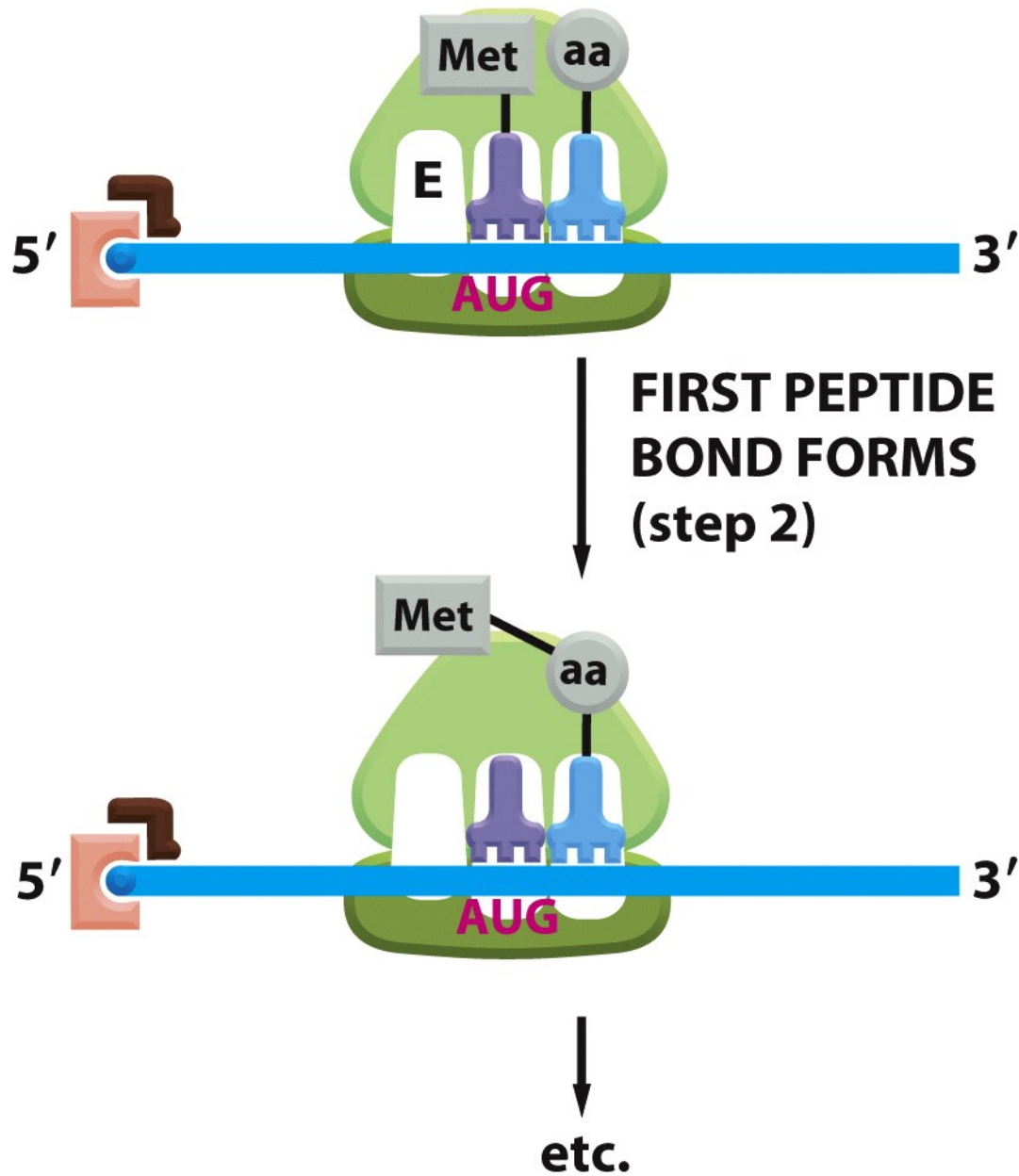
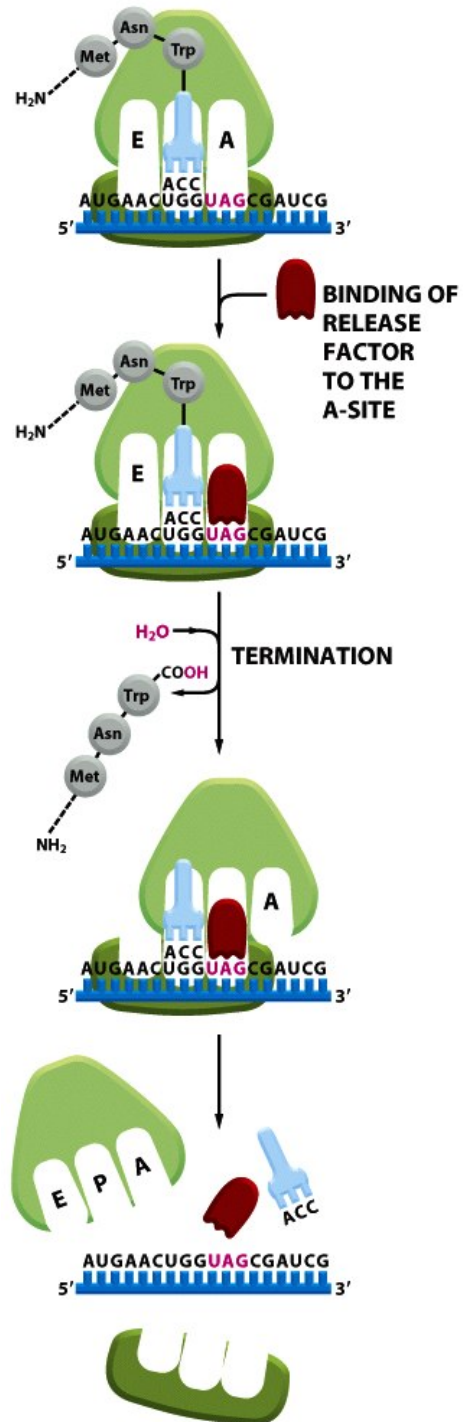


Figure 6-72 (part 3 of 5) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)





Terminación



nascent polypeptide chain



**folding and
cofactor binding
(non-covalent
interactions)**



**covalent modification
by glycosylation,
phosphorylation,
acetylation etc.**



**binding to other
protein subunits**



mature functional protein

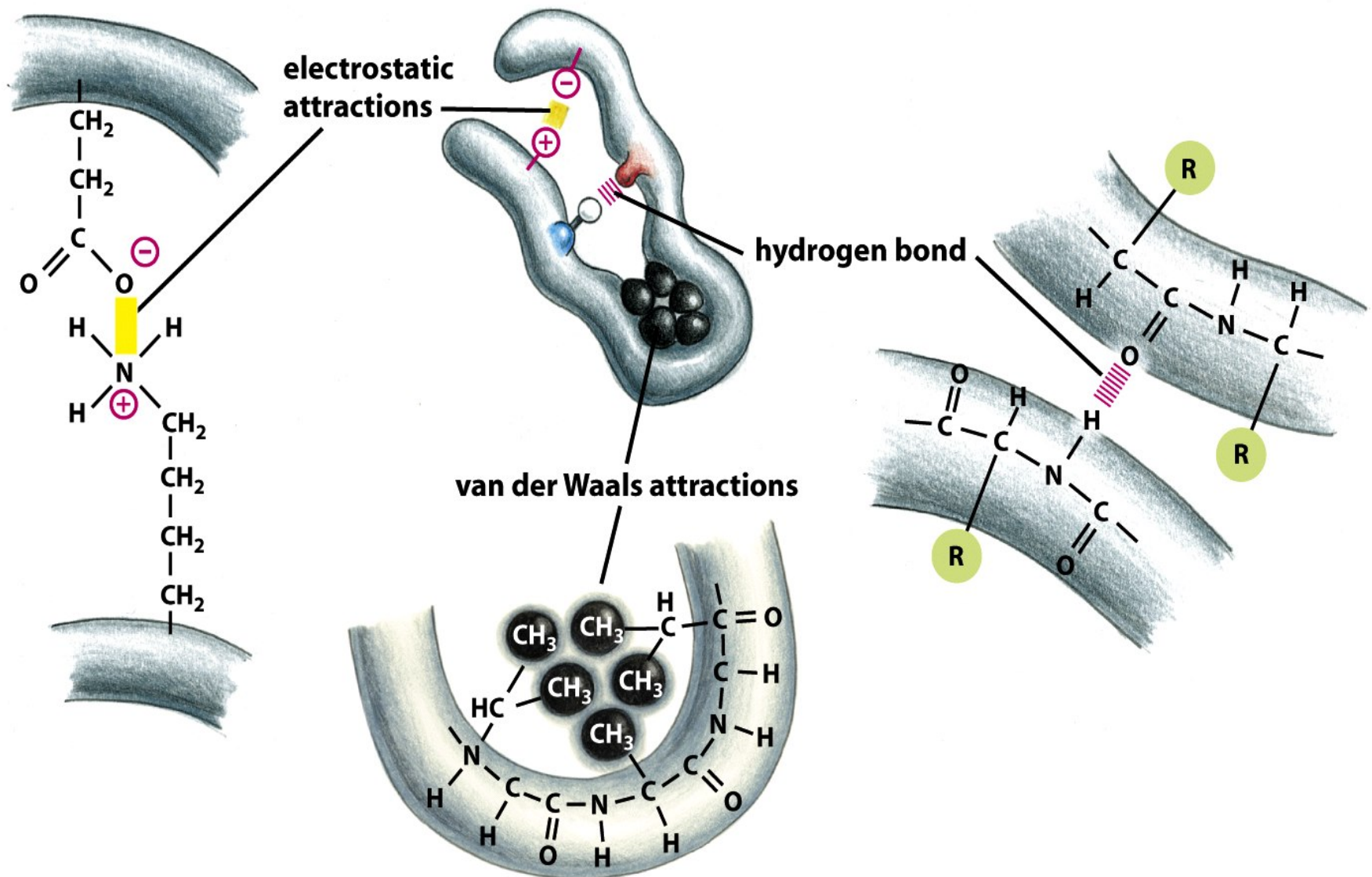


Figure 3-4 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

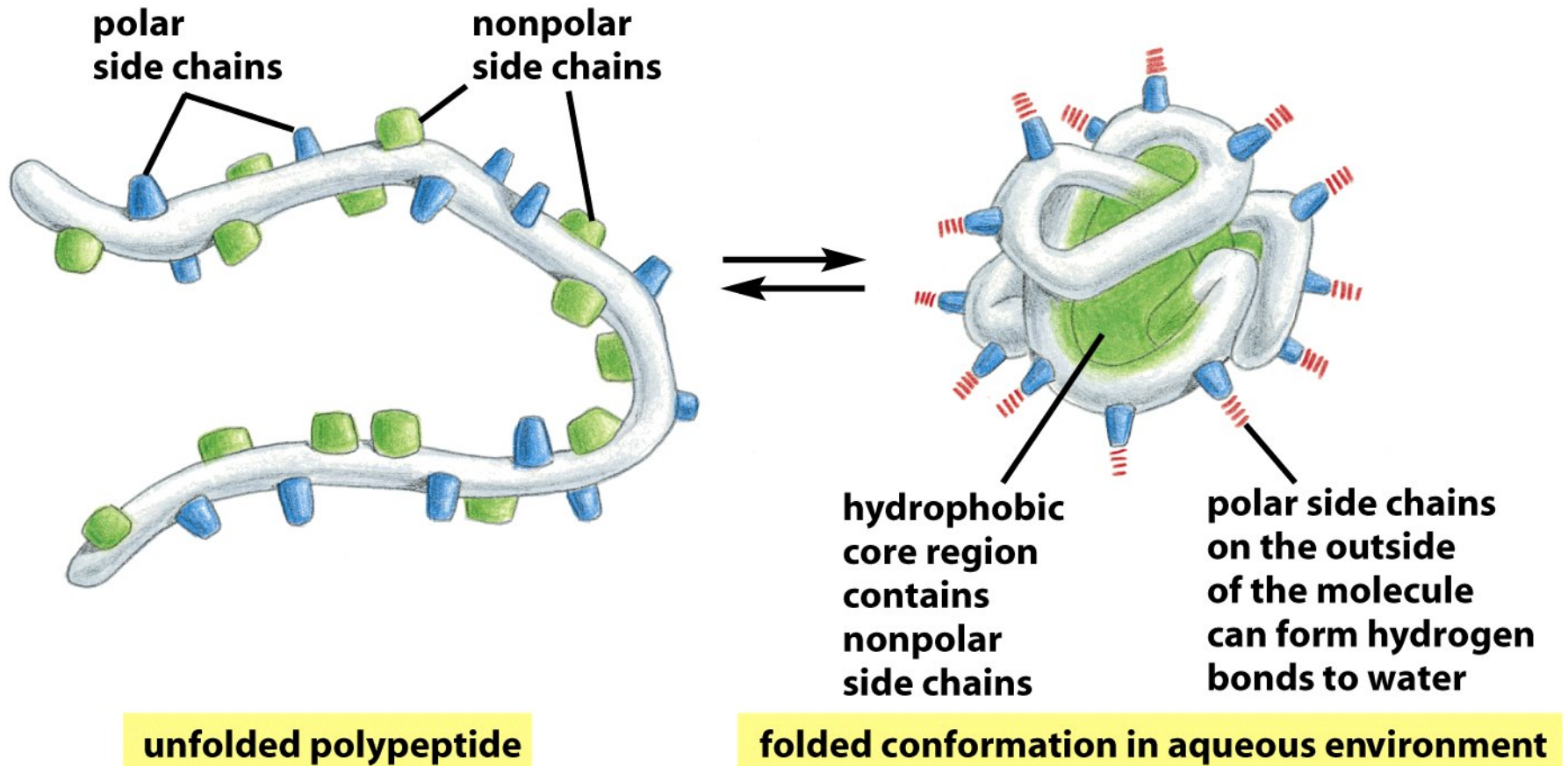
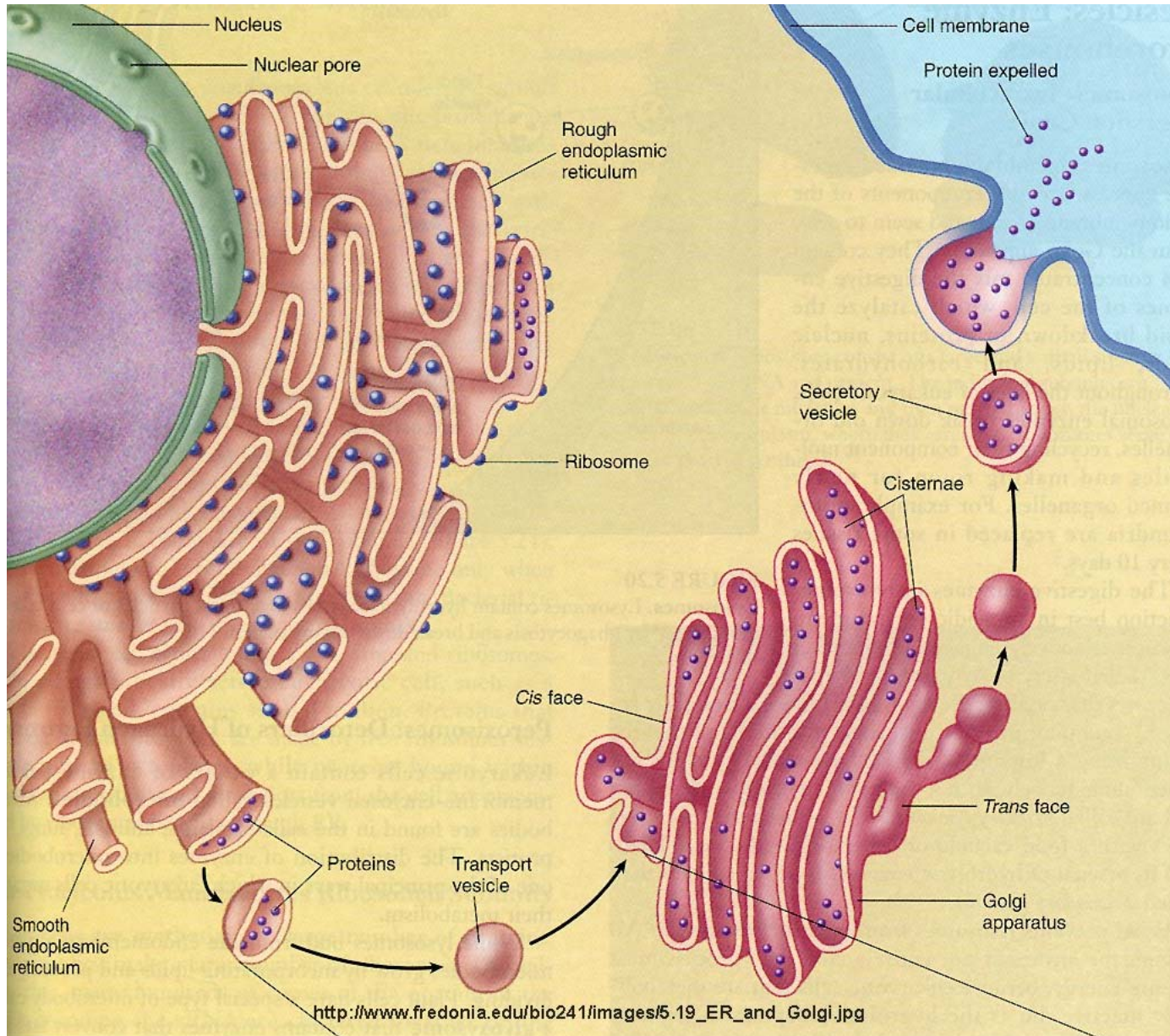
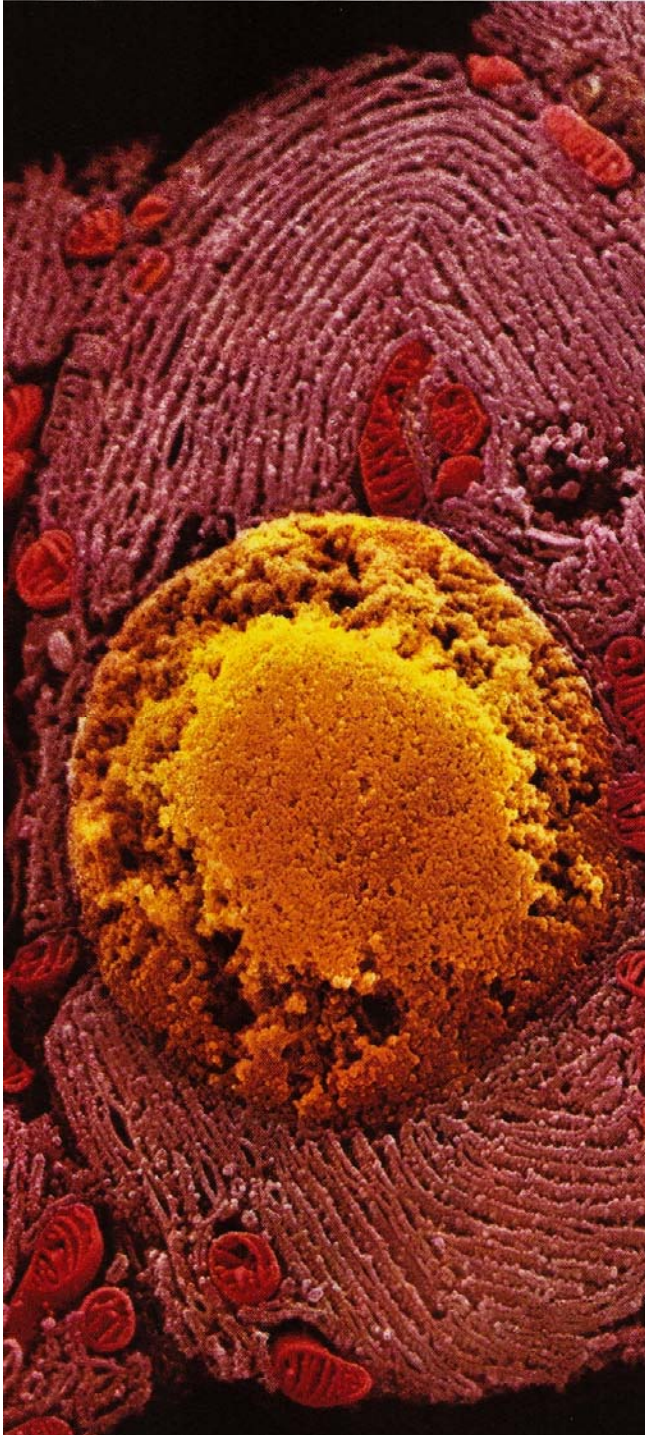


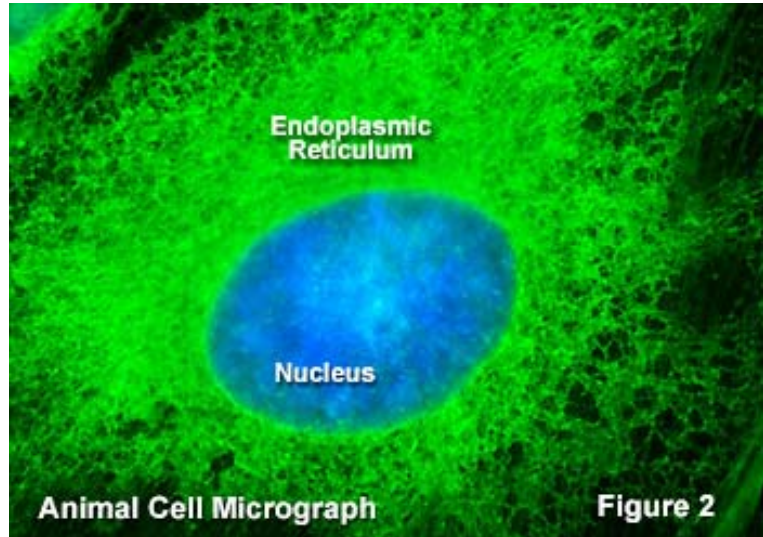
Figure 3-5 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Síntesis de Proteínas: Retículo Endoplásmico





- Existe una continuidad entre en la membrana del retículo endoplásmico y la membrana externa nuclear.
- Secreción al lumen equivale a sacar de la célula!

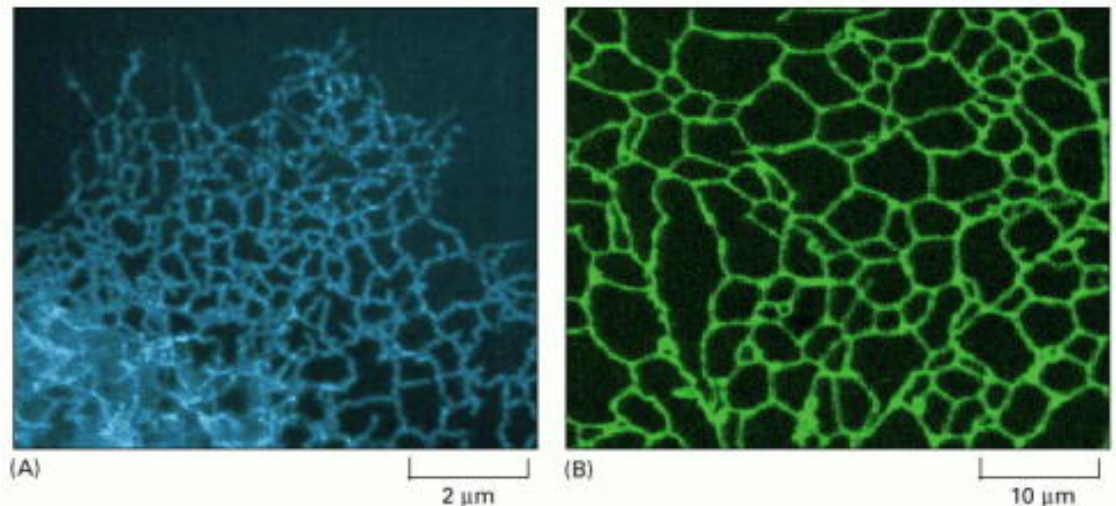
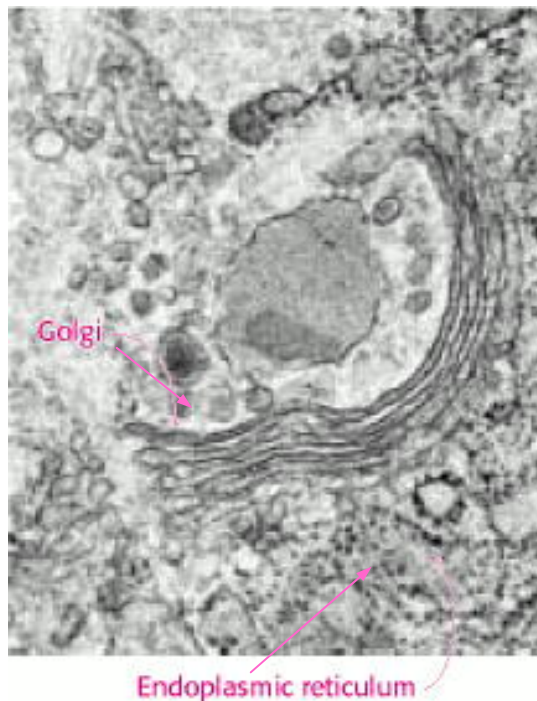


Video 3.5

El Retículo Endoplásmico

El RE es un organelo típico de las células eucarióticas y en células animales está organizado en un red de tubos ramificados y sacos aplanados e interconectados que se extiende a través de citoplasma. Constituye más de la mitad de la membrana total y representa alrededor del 10% de volumen celular.

La membrana del RE separa su lumen del citosol y media el transporte selectivo de una serie de compuestos entre ambos compartimentos.

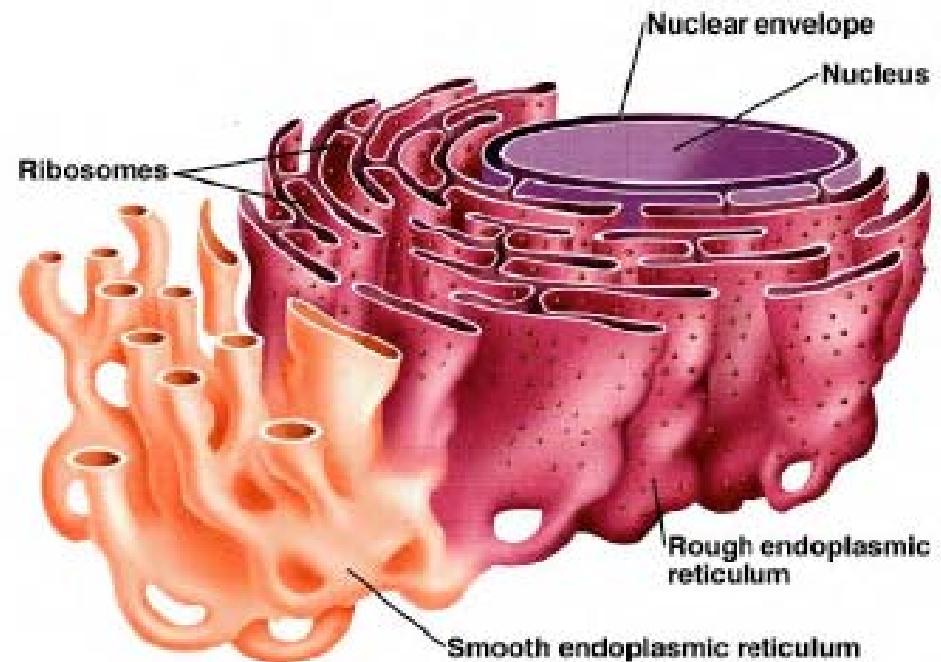
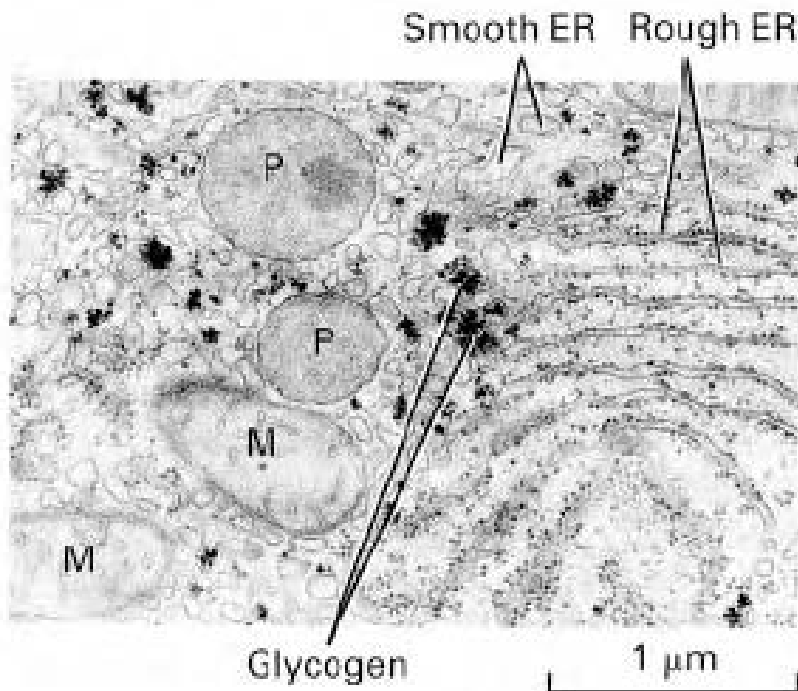


Microfotografías de fluorescencia del RE en una célula animal (A) y una vegetal (B)

El Retículo Endoplásmico

El RE tiene un rol importante en una serie de funciones celulares, particularmente en la síntesis de numerosos lípidos y proteínas secretadas y de membrana. También es un **reservorio de Ca^{2+}** (ppal% retículo sarcoplásmico de los músculos).

Se distinguen dos zonas en el organelo : el **RE liso** y el **RE rugoso**

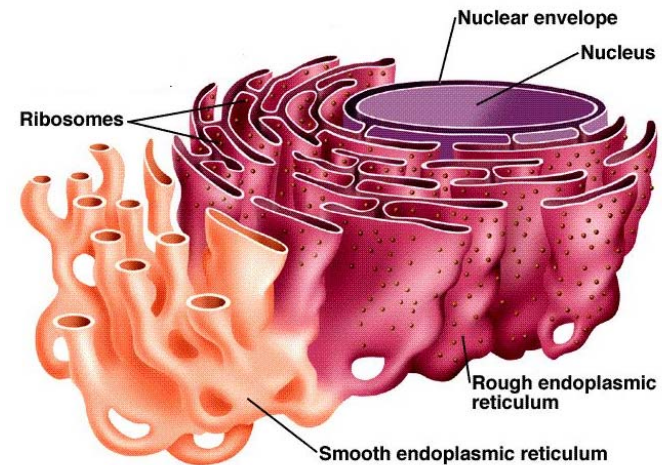
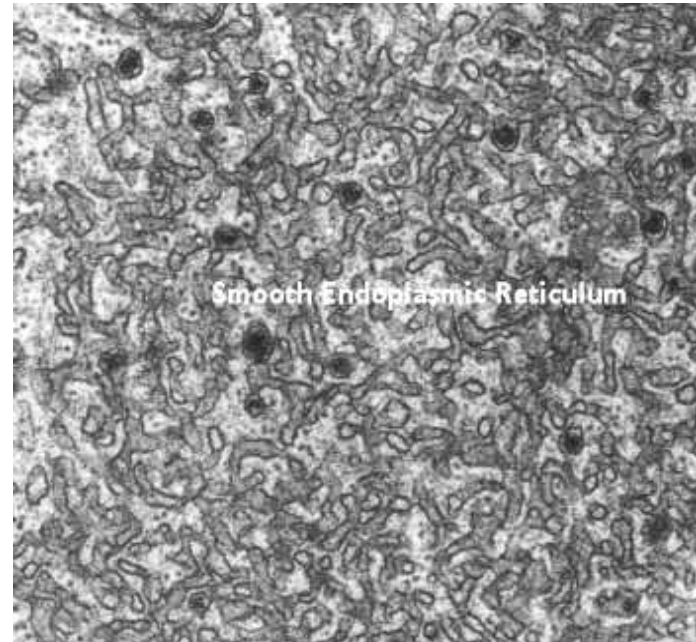


Retículo endoplásmico liso

En esta región ocurre la síntesis de triglicéridos y fosfolípidos.

Es particularmente abundante en hepatocitos: enzimas del RE liso modifican o detoxifican compuestos hidrofóbicos como pesticidas, drogas y carcinógenos, convirtiéndolos en productos conjugados más hidrosolubles que pueden ser excretados (complejos de citocromos P450).

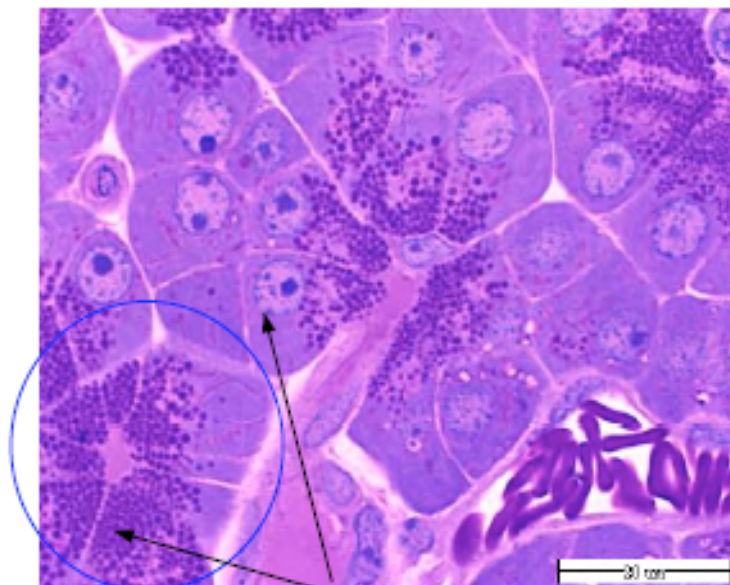
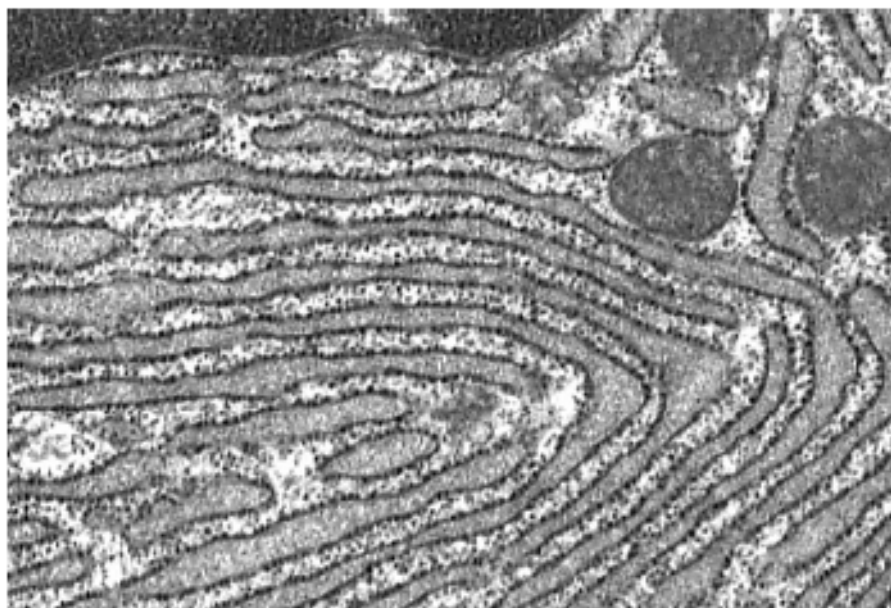
De ciertas regiones del RE liso yeman vesículas de transporte destinadas al aparato de Golgi.



Retículo endoplásmico rugoso

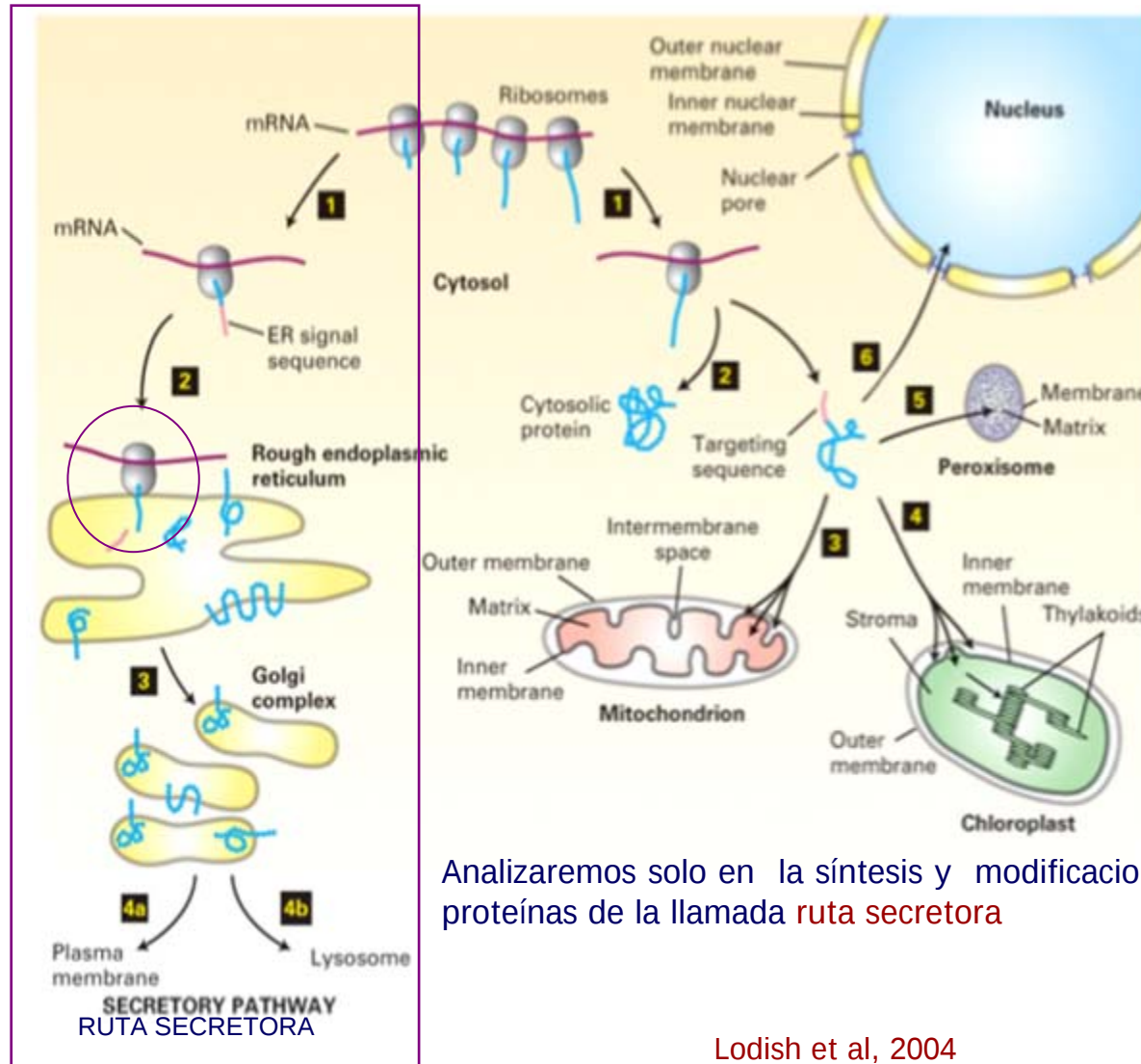
Denominado así por su aspecto debido a que **presenta regiones tapizadas de ribosomas**, donde se sintetizan proteínas de membrana (de organelos y de la MP) y proteínas solubles a ser secretadas por la célula y las destinadas al lumen del RE, del A. de Golgi y de lisosomas.

El RE rugoso es particularmente abundante en células secretoras de proteínas como linfocitos que secretan anticuerpos o células de los acinos pancreáticos que secretan enzimas digestivas.



células acinares de páncreas

Síntesis de proteínas en la célula

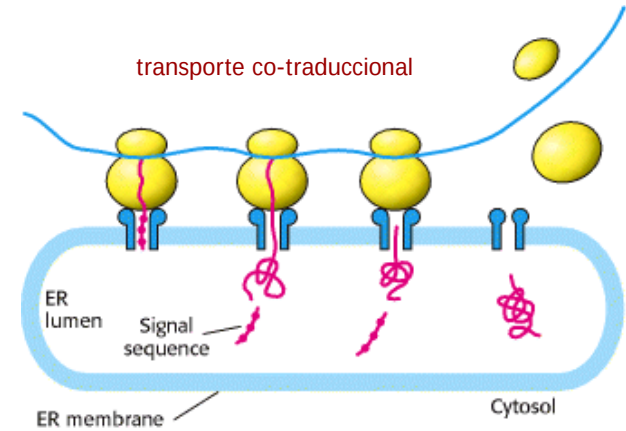


¿cómo se incorporan proteínas a estos organelos?

Analizaremos solo en la síntesis y modificaciones de las proteínas de la llamada **ruta secretora**

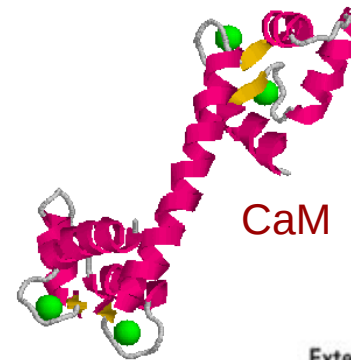
Síntesis de proteínas en el RE

El RE internaliza selectivamente las proteínas a medida que éstas son sintetizadas (**transporte co-traducciona**) en los ribosomas asociados al RE rugoso mediante la cadena polipeptídica nascente. Una vez en el RE las proteínas son transportadas sin reentrar al citosol



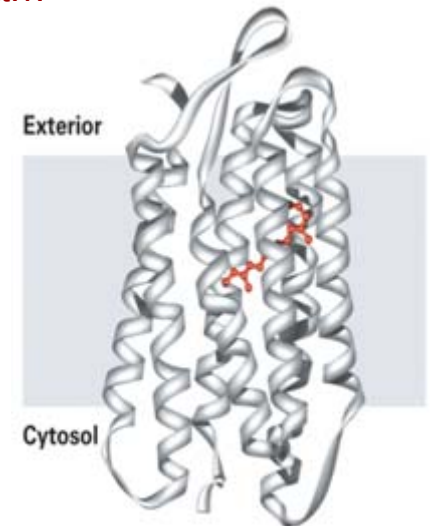
Proteínas solubles

Son totalmente transportadas y almacenadas en el lumen del RE antes de ser destinadas al lumen del organelo de destino (RE, A. de Golgi o lisosomas) o para secreción.



Proteínas de transmembrana

Son parcialmente translocadas y quedan embebidas en su membrana. Algunas de estas proteínas tienen funciones en el RE y otras en la membrana de otros organelos o en la MP.

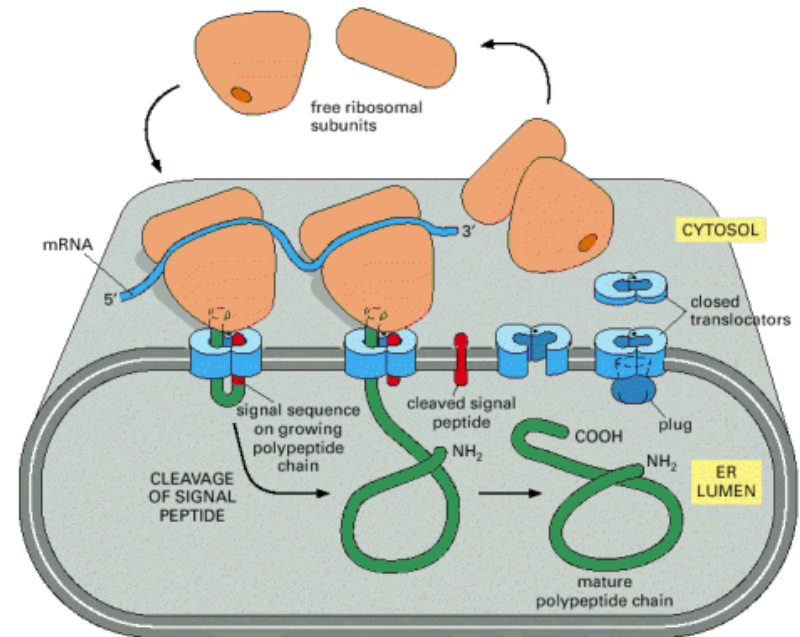


Síntesis de proteínas en el RE

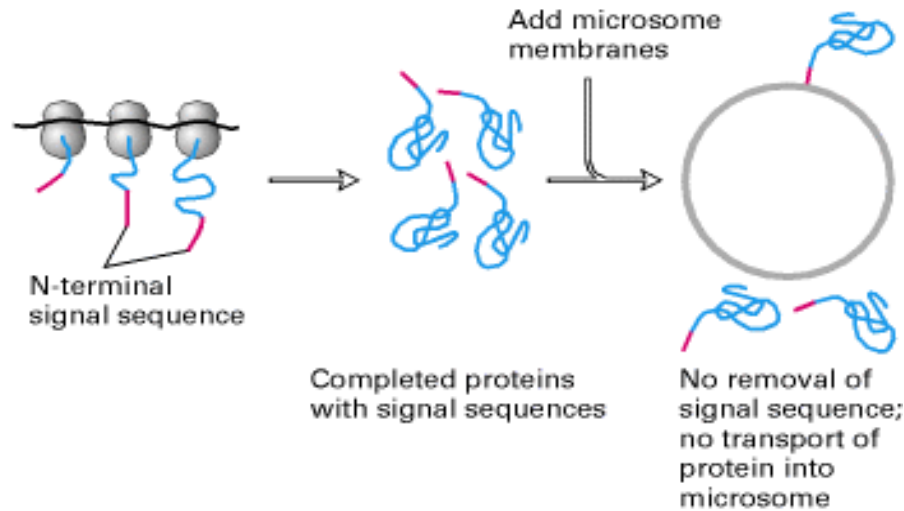
A medida que las proteínas solubles o de membrana son sintetizadas en el ribosoma, una **secuencia señal** hidrofóbica específica ubicada en el extremo N-terminal (16-30 AA's) de la cadena nascente lo dirige a la membrana del RE.

Mientras el polipéptido creciente emerge del ribosoma, atraviesa la membrana del RE vía proteínas específicas.

Las **secuencias señal** al RE fueron descubiertas a comienzo de los 1970's en proteínas secretadas que son internalizadas en el RE antes de ser descargadas fuera de la célula.



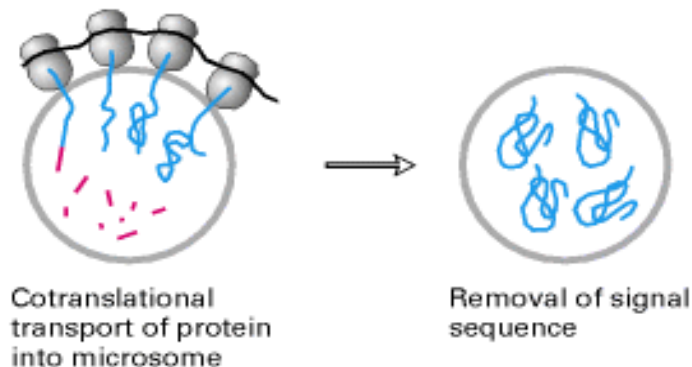
(a) Cell-free protein synthesis; no microsomes present



Experimentos con microsomas de RE que demuestran la presencia de las secuencias señal en el polipéptido sintetizado.

- La síntesis se hace en un medio que contiene ribosomas, tRNA, ATP, GTP y enzimas citosólicas y al cual se le agrega posteriormente microsomas. No se demuestra internalización del péptido en las vesículas.

(b) Cell-free protein synthesis; microsomes present



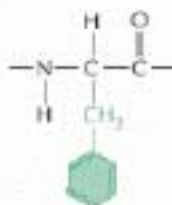
- b) La síntesis del polipéptido se hace en presencia de ribosomas adheridos a los microsomas, se demuestra la presencia de un péptido, y la secuencia señal en las vesículas del RE.

Table 17-4. Amino Acid Sequences of ER Signal Peptides in Three Eukaryotic Proteins

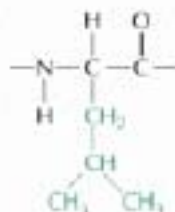
Protein	Amino Acid Sequence*
Preproalbumin	Met-Lys-Trp-Val-Thr- Phe-Leu-Leu-Leu-Leu-Phe-Ile-Ser-Gly-Ser-Ala-Phe-Ser
Pre-IgG light chain	Met-Asp-Met-Arg-Ala-Pro-Ala-Gln- Ile-Phe-Gly-Phe-Leu-Leu-Leu-Phe -Pro-Gly-Thr-Arg-Cys ↓ Asp...
Prelysozyme	Met-Arg-Ser- Leu-Leu-Ile-Leu-Val-Leu-Cys-Phe-Leu -Pro-Leu-Ala-Ala-Leu-Gly ↓ Lys...



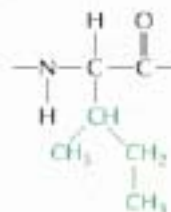
phenylalanine
(Phe, or F)



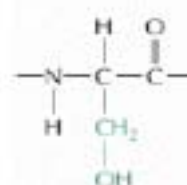
leucine
(Leu, or L)



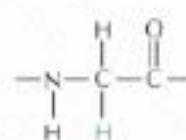
isoleucine
(Ile, or I)



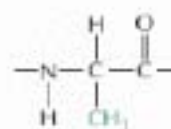
serine
(Ser, or S)



glycine
(Gly, or G)



alanine
(Ala, or A)

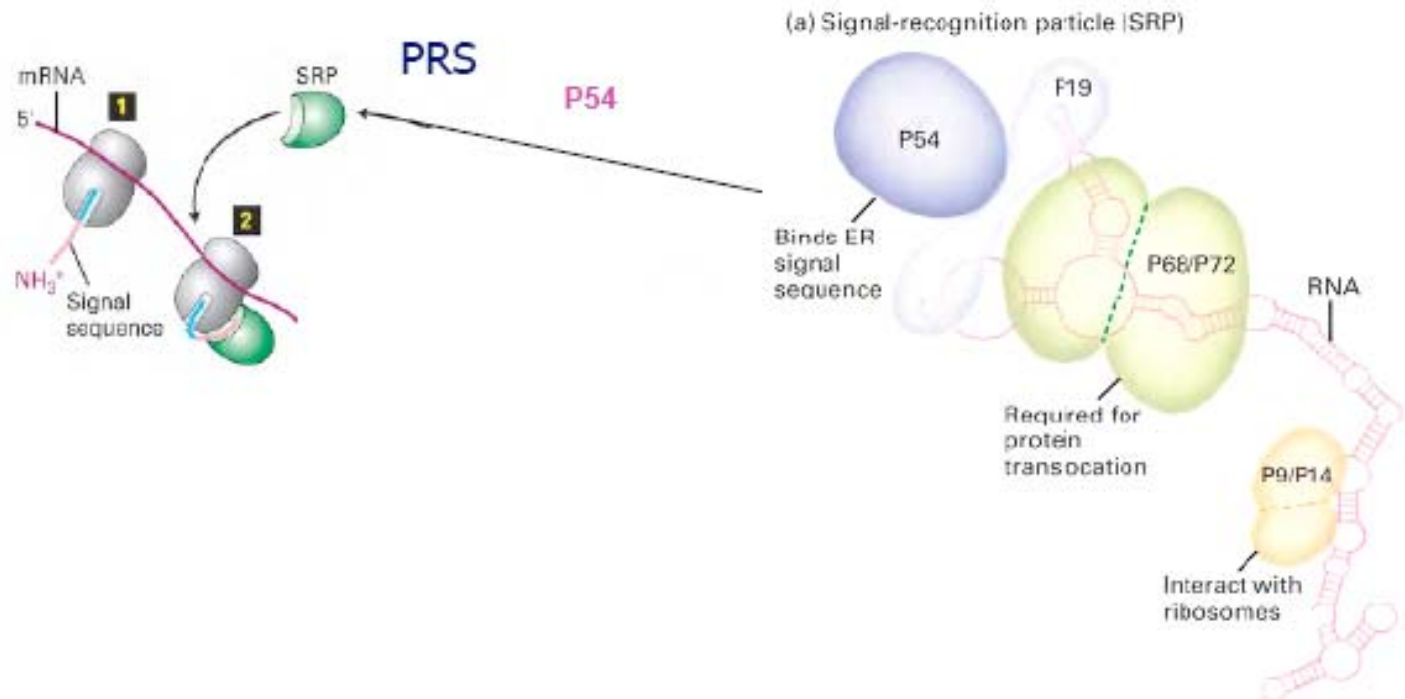


Las secuencias señal contienen uno o más AAs(+) (Arg, Lys) seguidos de 6 a 12 residuos hidrofóbicos.

Síntesis de proteínas solubles en el RE

La **secuencia señal** del RE (**1**) es guiada a la membrana del organelo mediante la **partícula de reconocimiento de señal** (PRS o SRP), que se liga a ella en el complejo cadena nascente/ribosoma.

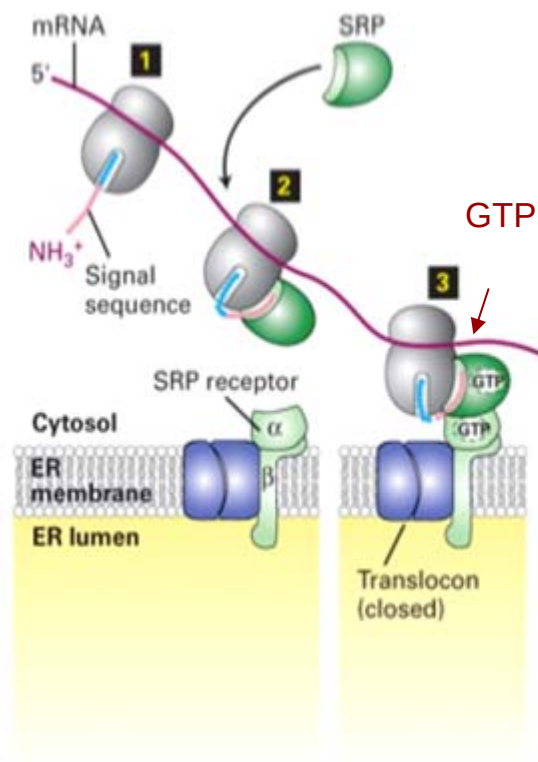
La PRS está compuesta de 6 diferentes cadenas polipeptídicas, unidas a una pequeña molécula de RNA.



Síntesis de proteínas solubles en el RE

Tan pronto como la secuencia señal del RE comienza a emerger del ribosoma se une a la PRS, produciéndose una pausa en la síntesis (2).

La PRS dirige al complejo cadena naciente/ribosoma un receptor de PRS (RPRS) ubicado en la membrana del RE. Esta interacción es inducida por la unión de GTP a la subunidad P54 de PRS y a la subunidad α del receptor de PRS (3).

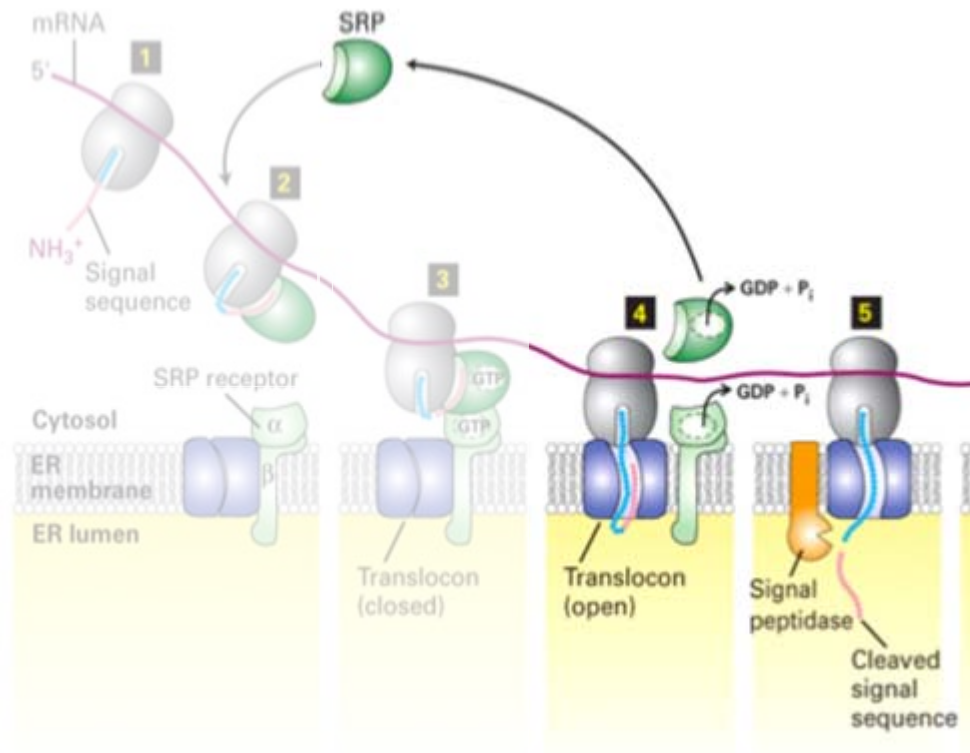


Síntesis de proteínas solubles en el RE

El complejo se transfiere a una proteína-canal, el **translocador** (o **translocón**), asociado al RPRS, que se abre produciéndose la inserción de la secuencia señal y del segmento adyacente del polipéptido en el poro.

El receptor de PRS y la PRS se separan del translocador, hidrolizan sus GTPs y quedan listos para iniciar otro ciclo de inserción (4).

A medida que la cadena polipeptídica se elonga, pasa al lumen del RE donde la secuencia señal es cortada por una peptidasa y degradada (5).

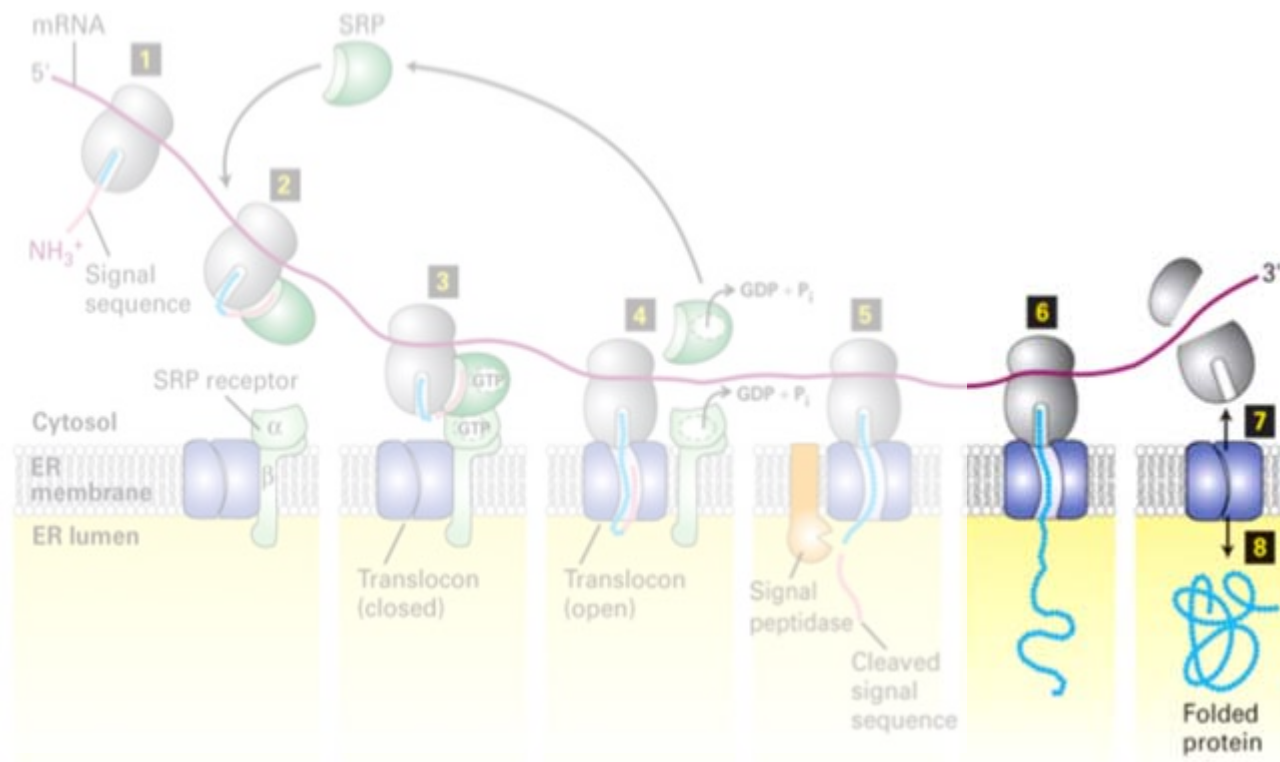


Síntesis de proteínas solubles en el RE

El péptido termina de sintetizarse mientras el ribosoma permanece unido al poro (6).

Al terminar la síntesis se libera el ribosoma y el translocador se cierra (7).

La proteína pasa al lumen donde asume su conformación plegada (8).

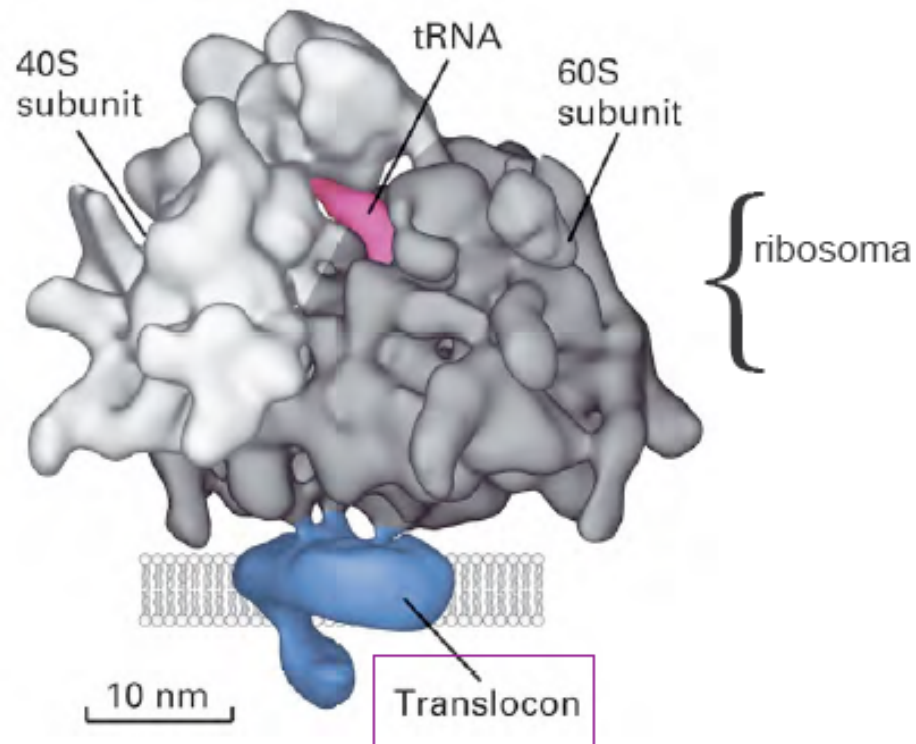


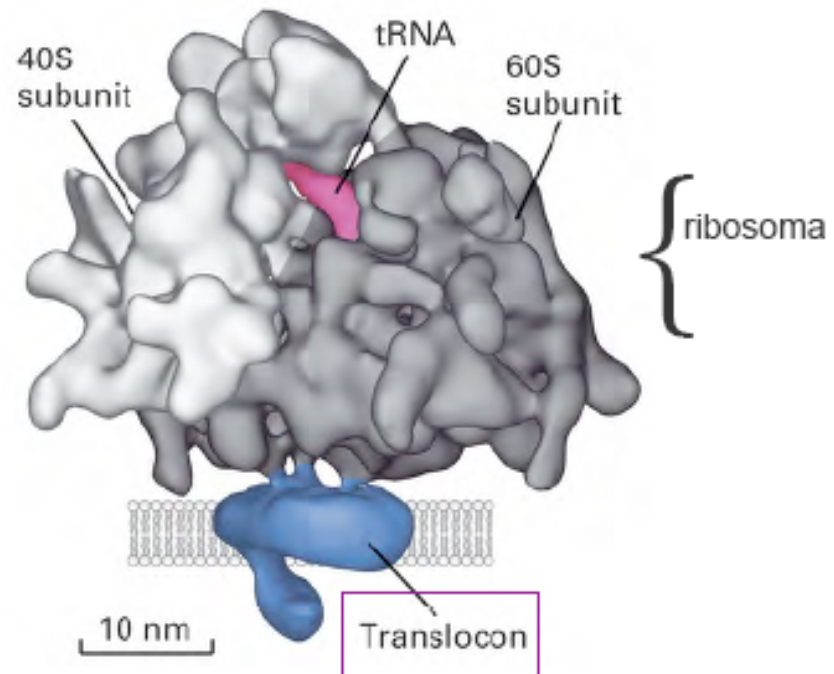
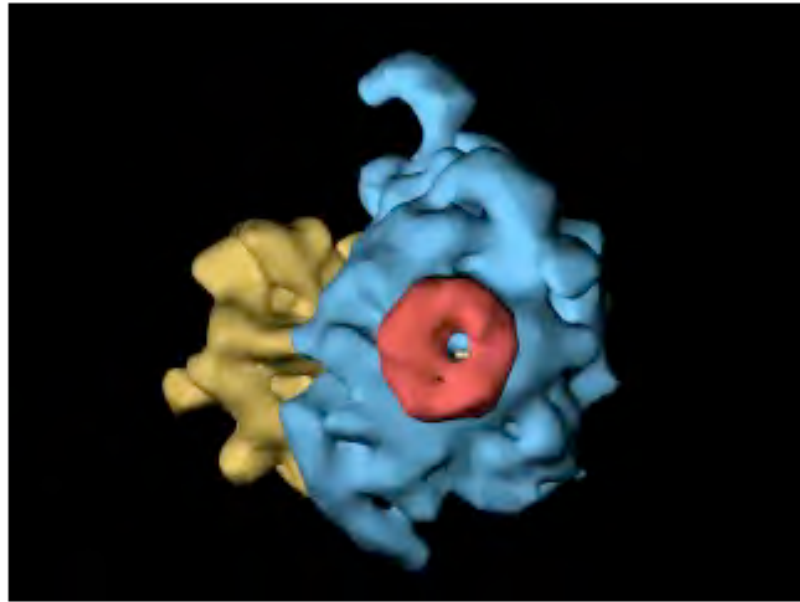
Translocador o translocón

La cadena polipeptídica cruza la membrana del RE a través del **translocador** o **translocón**, una proteína de membrana, que forma un poro acuoso.

El translocador o complejo **Sec61** está formado por cuatro complejos, c/u formado de tres proteínas de transmembrana que se ensamblan formando una estructura de picarón.

Se postula que la secuencia señal en la cadena polipeptídica creciente gatilla la apertura del este poro.





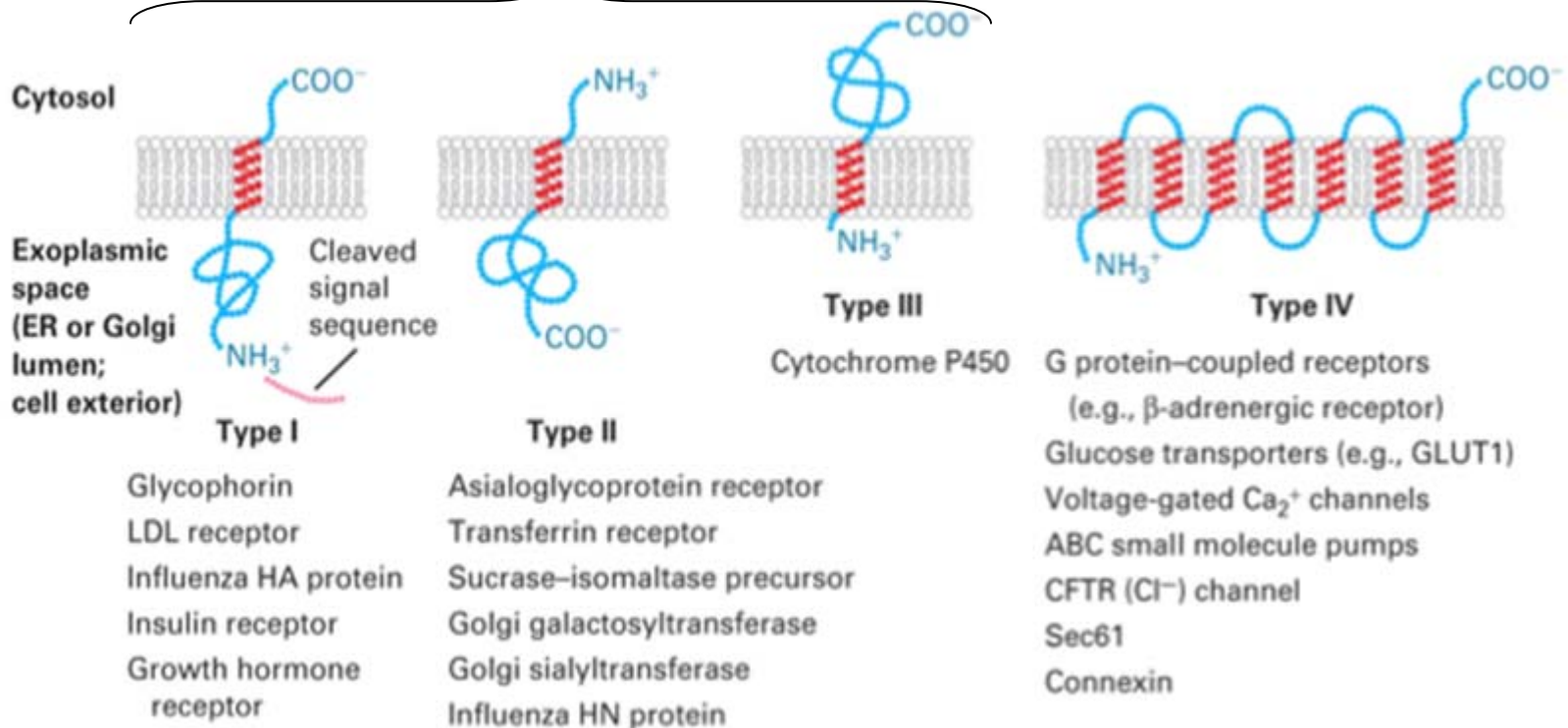
Síntesis e inserción de proteínas de membrana en el RE

Las proteínas de membrana presentes en la MP, Golgi, o lisosomas tienen una particular orientación o topología respecto de la bicapa lipídica.

Estas proteínas son sintetizadas en el RE y permanecen embebidas en la membrana a medida que se mueven a sus destinos finales a lo largo de la ruta secretora.

Clase 1

Clase 2

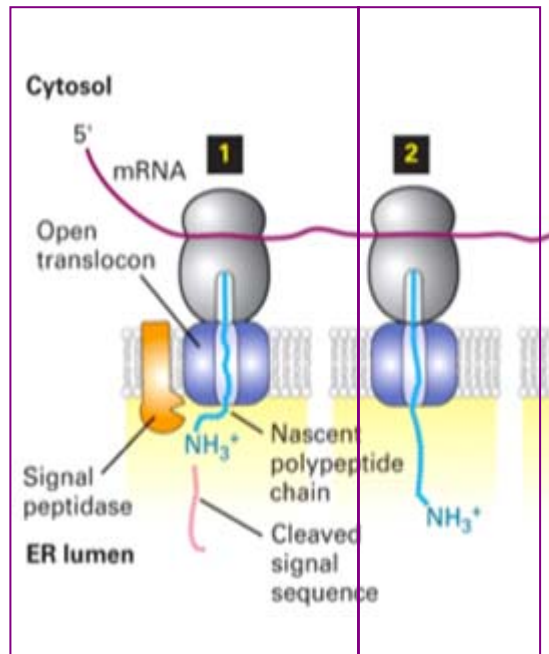


Síntesis e inserción en la membrana del RE de proteínas con un segmento α -hélice de transmembrana.

Las proteínas Tipo I poseen una **secuencia señal** y una **secuencia hidrofóbica interna** que constituirá el segmento hélice α de transmembrana.

Al igual que en las proteínas solubles la translocación co-traducciona se inicia a través de la actividad de la PRS y del receptor de PRS.

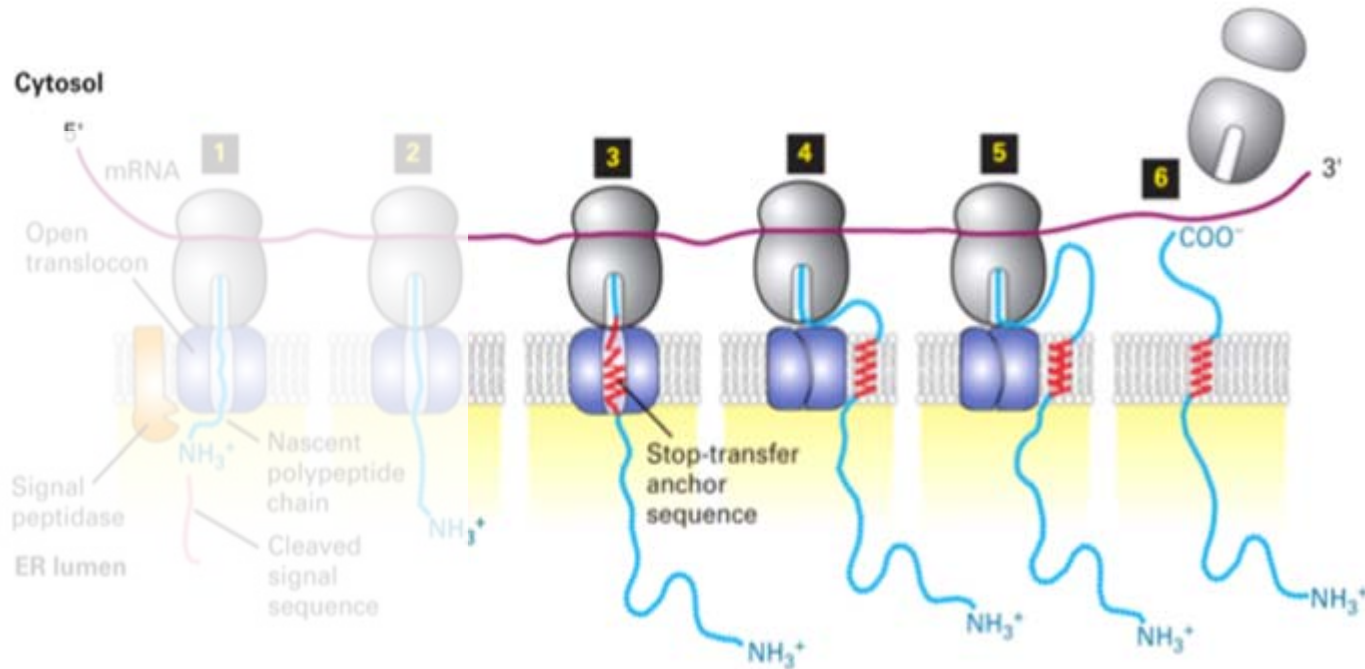
Una vez que el extremo N-terminal entra al lumen la secuencia señal es cortada por una peptidasa (1), mientras la cadena sigue creciendo (2).



Síntesis e inserción en la membrana del RE de proteínas con un segmento hélice α de transmembrana

Cuando se sintetiza una secuencia de aprox. ~22 AA's hidrofóbicos (**secuencia de detención de transferencia y anclaje**) se detiene la translocación (**3**).

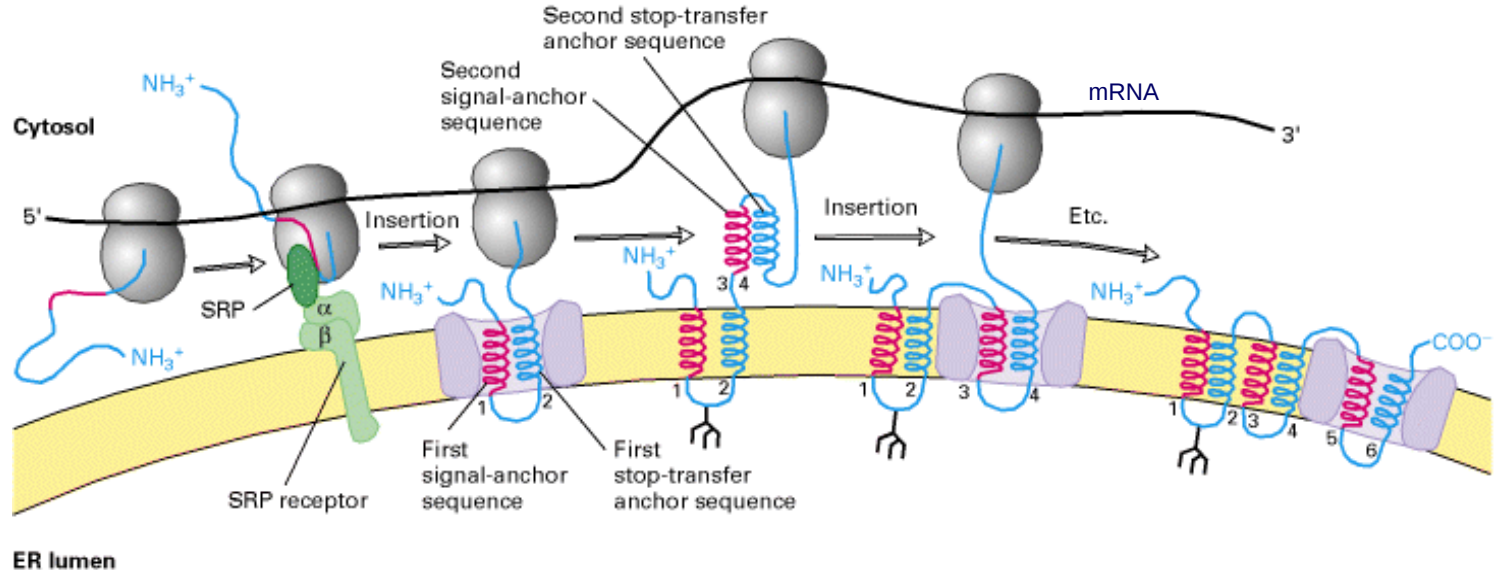
La secuencia hidrofóbica se mueve lateralmente entre las subunidades del translocador y se ancla en la membrana (**4**). La traducción continúa hasta el que el extremo C terminal se desliza fuera del ribosoma todavía anclado al translocador cerrado (**5**). Al terminar la síntesis se



Síntesis e inserción en la membrana del RE de proteínas con múltiples segmentos hélices α de transmembrana

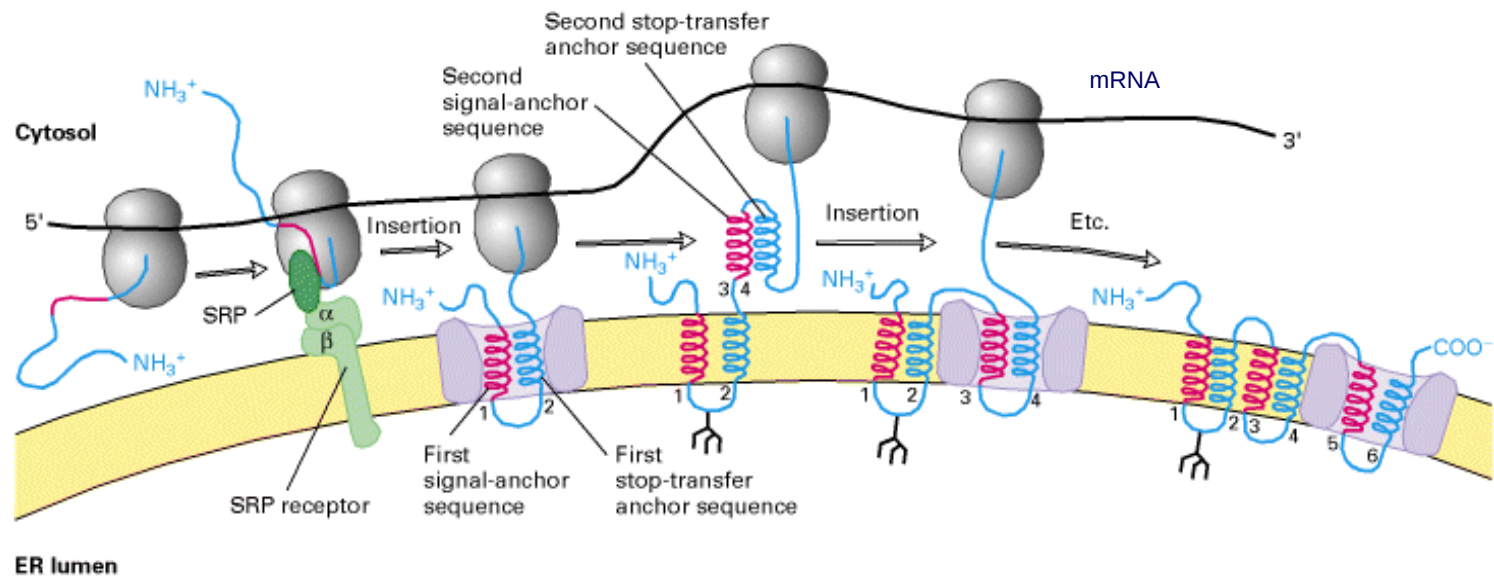
En las proteínas de transmembrana de múltiples hélices α el segmento N-terminal funciona como secuencia señal de anclaje que dirige la unión de la cadena polipeptídica nascente a través del poro del translocador. El plegamiento en hélice α aparentemente se realiza en el poro.

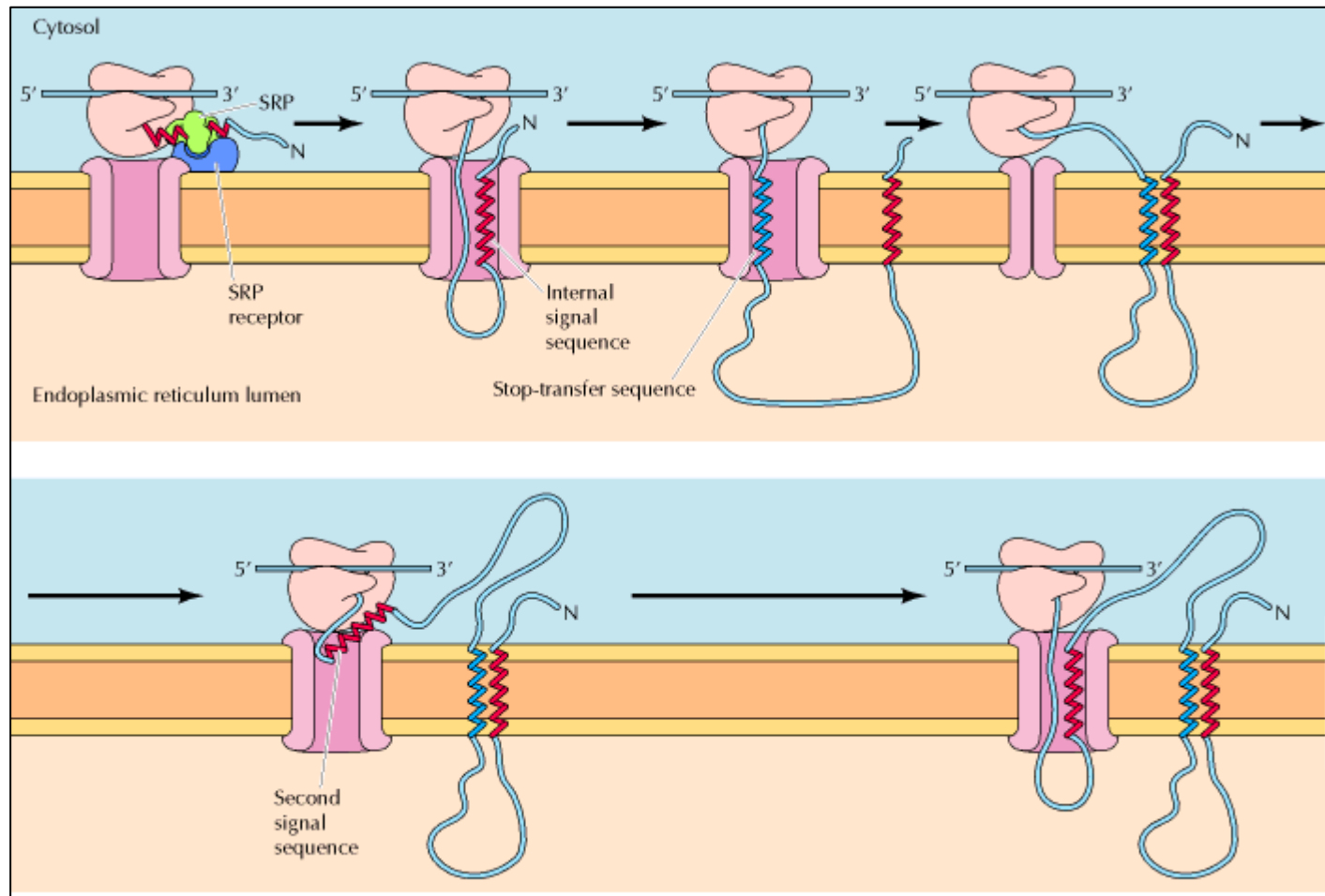
A medida que la cadena nascente que sigue al primer hélice α se elonga, se transporta a través del translocador hasta que se forma el segundo hélice α . Esta hélice actúa como una secuencia de detención de transferencia, previniendo mayor extrusión de la cadena a través del poro al lumen del RE.



Síntesis e inserción en la membrana del RE de proteínas con múltiples segmentos hélices α de transmembrana

Al sintetizarse el segundo hélice α cesa la extrusión de la cadena a través del translocon al lumen del RE. Las dos cadenas salen del translocon lateralmente hacia la membrana anclándose como una horquilla hélice α . El C-terminal de la cadena naciente continúa creciendo en el citosol. Las horquillas hélice α posteriores (3 y 4) se insertan de manera similar, sin la participación de SRP ni del receptor SRP.



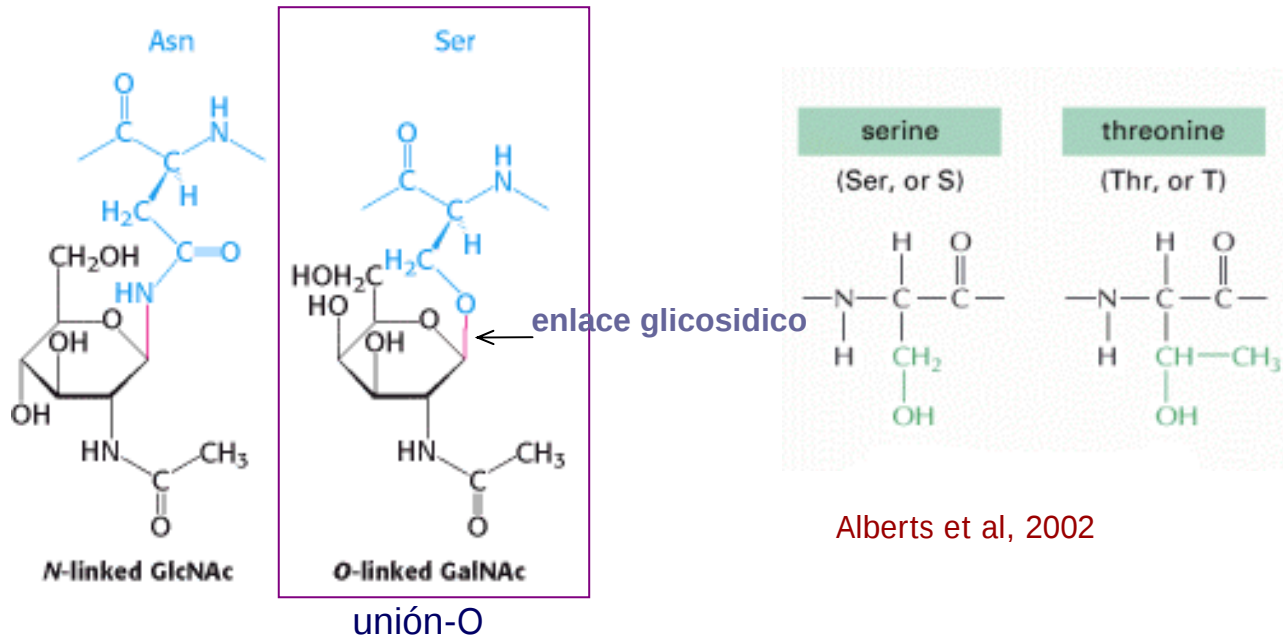


Glicosilación de unión-O

Las proteínas también pueden ser modificadas por adición de azúcares a las cadenas laterales de residuos **serina** o **treonina** dentro de secuencias específicas de AAs. A esto se le llama glicosilación de unión-O.

Generalmente serina y treonina unen directamente **N-acetilgalactosamina** a la que se pueden agregar otros azúcares, de uno a la vez, y son catalizada por diferentes glicosiltransferasas. El proceso comienza en el Golgi cis y finaliza en el trans.

Los oligosacáridos de unión-O son generalmente cortos (1 a 4 residuos de azúcares).



Alberts et al, 2002