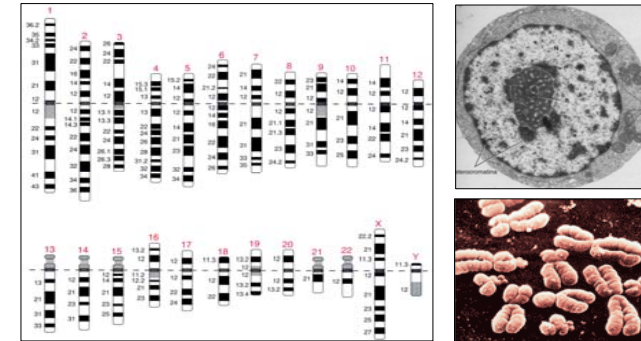


Regulación de expresión génica en eucariontes.

Luisa Herrera C.
Programa de Genética Humana

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Books>

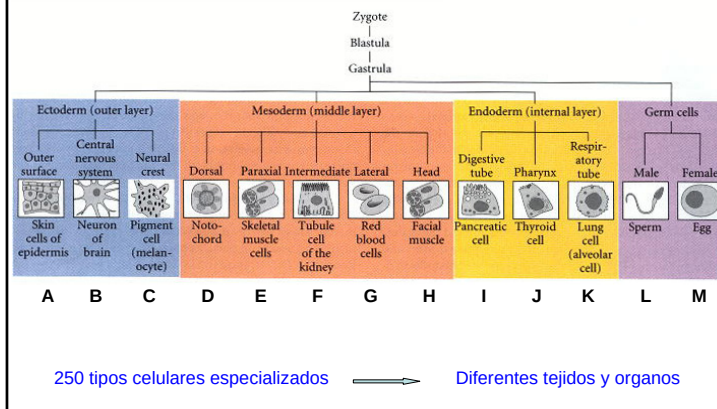
El cariotipo humano



El genoma humano está dividido en cromosomas.

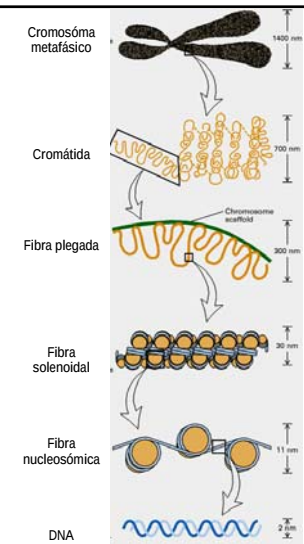
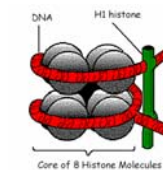
Además existe el genoma mitocondrial que apenas contiene 37 genes.

La enorme diversidad de tipos celulares contiene el mismo genoma

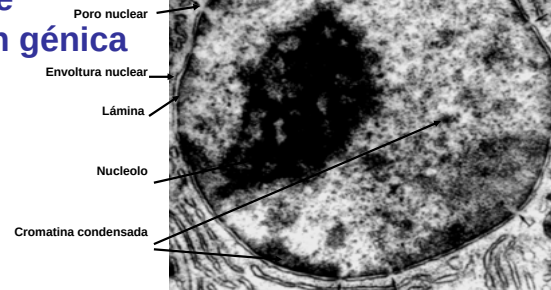


Estructura de la cromatina

Jerarquía de plegamientos desde la doble hélice del DNA hasta el nivel cromosómico

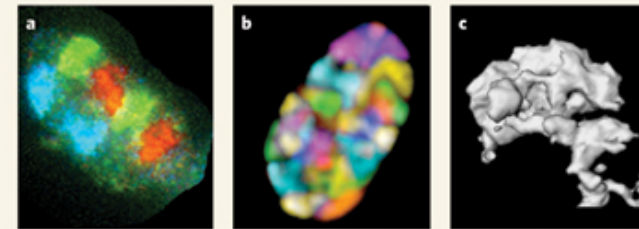


El núcleo y el control de expresión génica



- Organización de la cromatina y estructuras cromosómicas de orden superior: heterocromatina, eucromatina, formación de nucleolo.

Territorios cromosómicos. Compartimentación

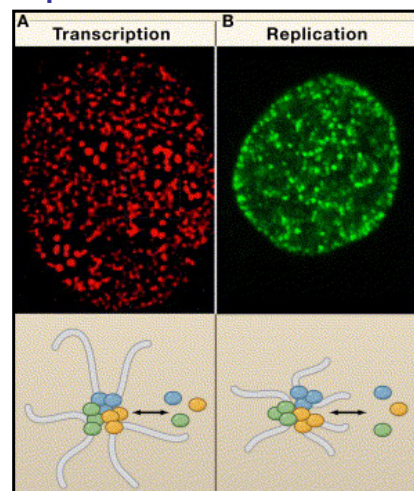


Hígado de Ratón:
Cromosoma 12 (rojo)
Cromosoma 14 (verde)
Cromosoma 15 (azul)

Fibroblastos humanos:

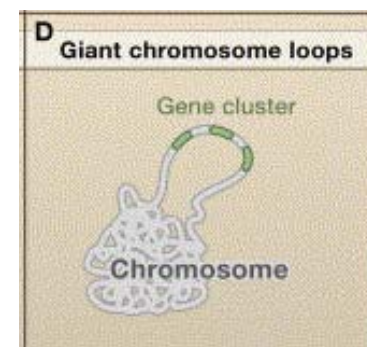
Meaburn y Misteli, Nature 445, 379 (2007)

Funciones compartimentadas. Factorías



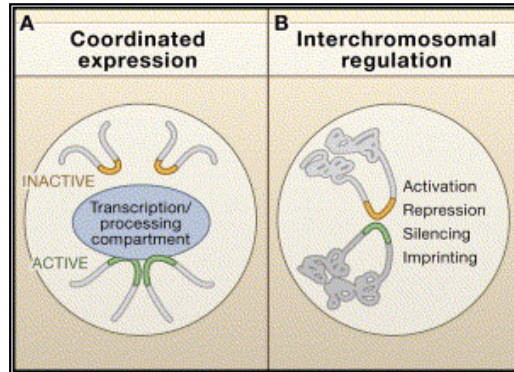
Cell 128, 787–800, 2007

Formación de loops de cromatina



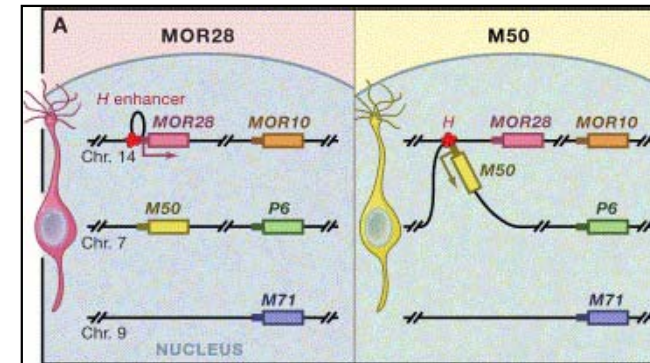
major histocompatibility complex II
epidermal differentiation complex
mouse Hox cluster

Consecuencias funcionales de la organización de la cromatina



genes de α - y β - globina localizados en los cromosomas 16 y 11

Gene kissing. Interacción entre distintos loci



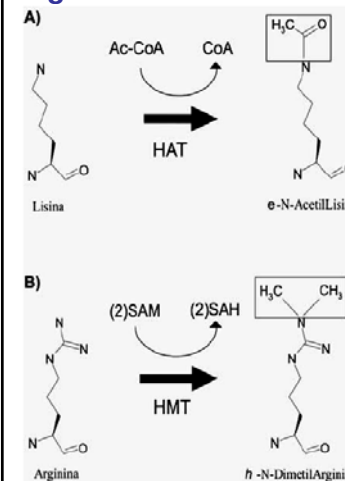
Savarese F, Grosschedl R. Cell. 2006 28;126:248-50.

Factores epigenéticos.

Factores que regulan la expresión génica, que pueden ser heredables, y que no alteran la secuencia del DNA,

Mecanismos: Modificaciones covalentes del DNA (Metilación del DNA) y de histonas (metilación, acetilación, fosforilación, ubiquitinación, ADP ribosilación etc.)

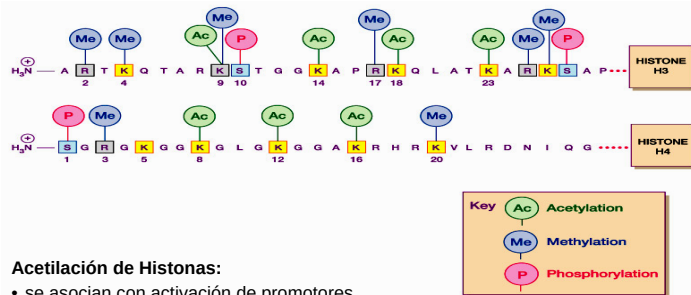
Algunas modificaciones covalentes de histonas



La **acetilación** de histonas se realiza sobre residuos de lisina.
Ac-CoA: Acetilcoenzima A (Donador del grupo acetilo).
HAT: Histona-Acetil transferasa.
Acetilación: 13 lisinas de las 4 histonas.

Ejemplo de **dimetilación** sobre una arginina.
SAM: S-Adenosilmetionina (Donador del grupo metilo). SAH: S-AdenosilHomocisteína.
HMT: Histona-metiltransferasa.
Metilación: 6 lisina y 3 arginina en H3 y H4.

Algunas modificaciones covalentes de histonas



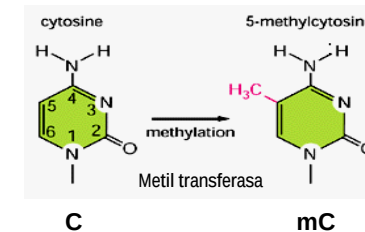
Acetilación de Histonas:

- se asocian con activación de promotores
- neutralizan las cargas básicas (+) de arginina y lisina, relaja los nucleosomas
- permite la unión de proteínas activadoras a los promotores unidos a histonas.

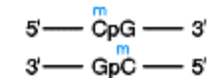
Metilación Histonas

- se asocian con inactivación de promotores

Regulación de la actividad transcripcional. Metilación del DNA. DNA Metil transferasas (DNMT)



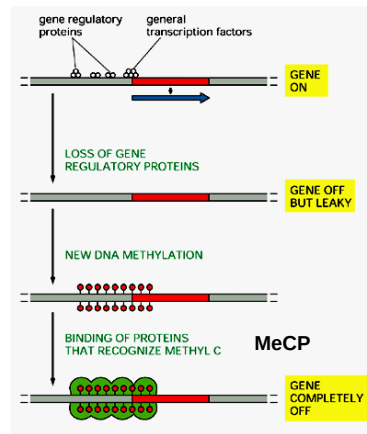
- Islas CpG no metiladas



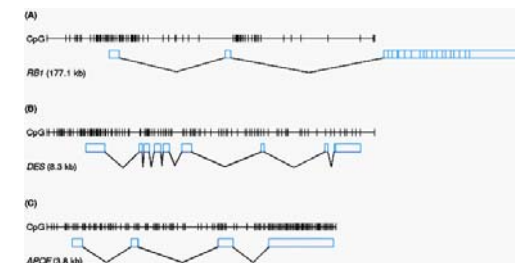
Metilación bloquea los sitios de unión para TF

MeCP:

- Bloquea los sitios de unión para factores de transcripción
- Actuarían como sitios de reconocimiento para histonas desacetilasas (HDAC) o de complejos de remodelamiento de cromatina.

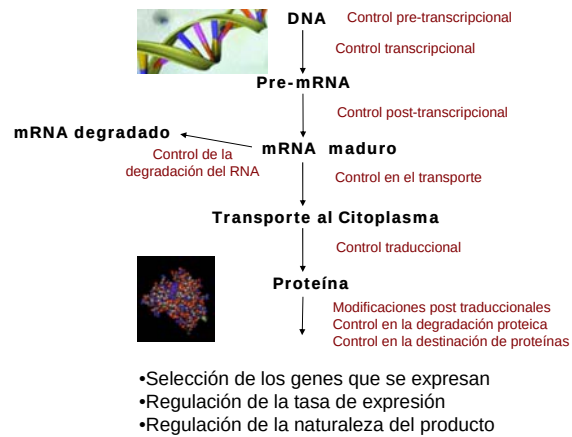


Metilación del DNA. Islas CpG



- Islas CpG: segmentos de DNA de 200-500bp con alta concentración de dinucleótidos CpG.
- 56% de los genes humanos tienen islas CpG cercanas al extremo 5'.
- La mayoría de los genes housekeeping poseen islas CpG, las que permanecen no metiladas.
- los genes tejido específicos que contienen islas CpG, pueden estar o no metiladas, dependiendo de donde y cuando se expresen.

Niveles de control de la expresión génica

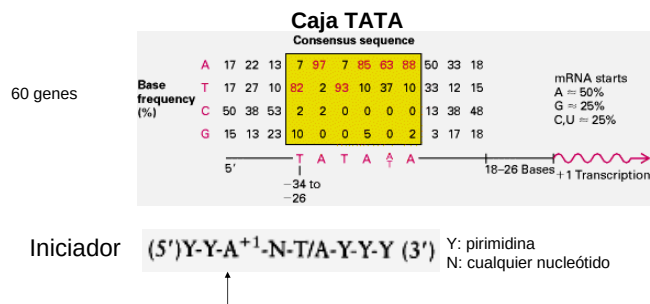


Las células expresan aprox 30 - 40% de sus genes en cualquier momento.

Regulación a nivel transcripcional.

1. Selección del gen que transcribe
2. Regulación de la tasa de expresión.
3. Uso de promotores alternativos (naturaleza del producto).

Estructura básica de un promotor eucarionte

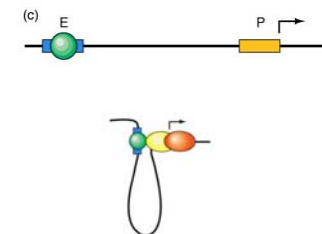


Selección del gen que transcribe

Basales o Generales. inicio de la transcripcion

Activadores. se unen a DNA en secuencias reguladoras secuencias río arriba, secuencias potenciadores (enhancer)

Coactivadores. comunican a los activadores con la RNA polimerasa II.



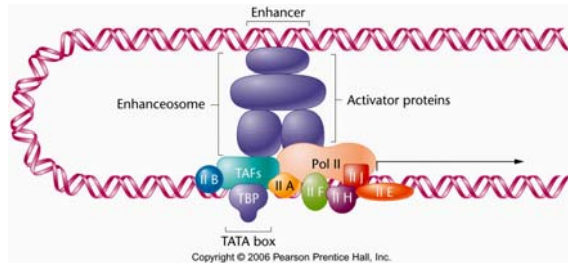
Factores de Trascricpción

Basales o Generales. inicio de la transcripcion

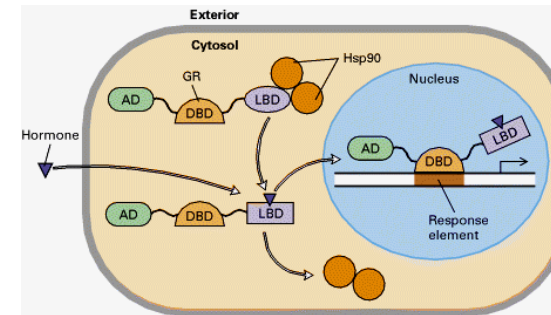
Activadores. se unen a DNA en secuencias reguladoras secuencias río arriba, secuencias potenciadores (enhancer).

Silenciadores o represores.

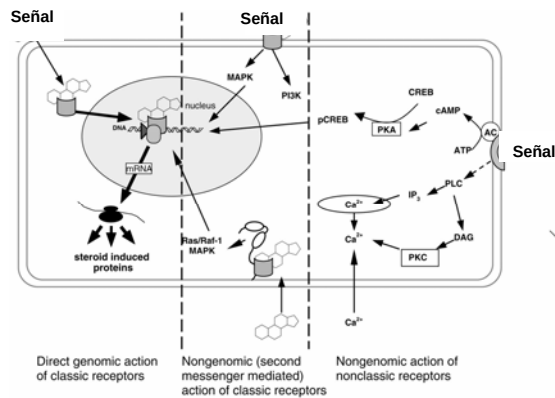
Coactivadores. comunican a los activadores con la RNA polimerasa II.



Control de expresión en respuesta a señales

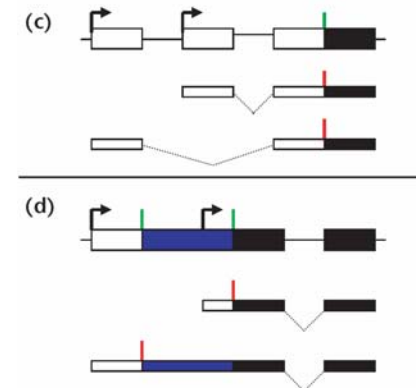


Control de expresión en respuesta a señales



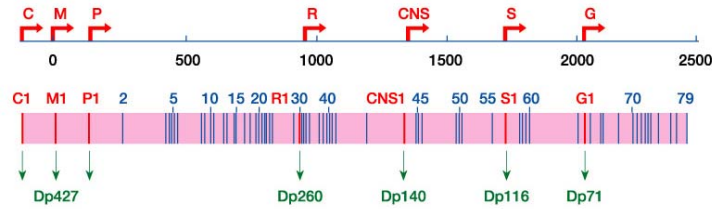
LÓSEL y cols., 2003 Physiol. Rev. 83: 965

Promotores alternativos



- Mas del 50% de los genes codificados en el genoma humano usan promotores alternativos (53%-2008)
- Permite regulación diferencial en distintos tejidos
- General productos proteicos diferentes

Uso de promotores alternativos.



Gen Distrofina (Xp21)
79 exones y 2,4 Mb

L, lymphocyte
C, cortical
M, muscle
P, Purkinje
R, retinal
CNS, central nervous system
S, Schwann cell
G, general

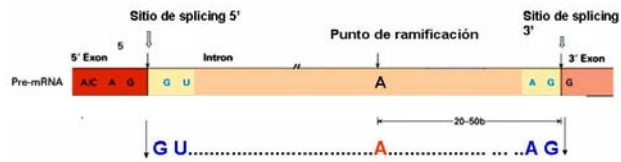
- Distintos promotores tienen sitios para unión de distintos factores de transcripción.

Regulación a nivel post transcripcional.

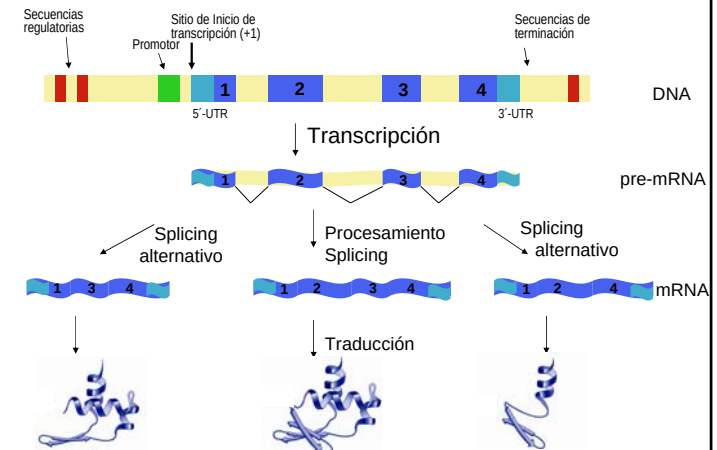
Procesamiento del RNA.

1. Modificación del extremo 5': Adición de CAP (7-metilguanosina)
2. Modificación del extremo 3': Poliadenilación y uso de secuencias de término alternativas
3. Remoción de intrones: splicing alternativo
4. Edición del RNA

Señales de Splicing



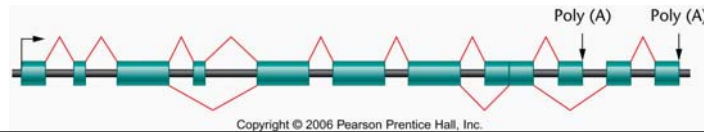
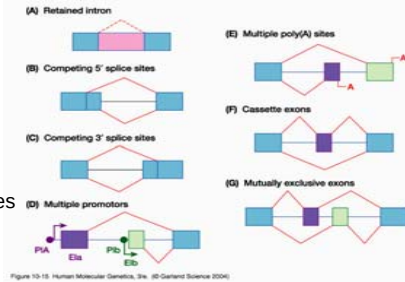
Regulación y variedad de productos por splicing



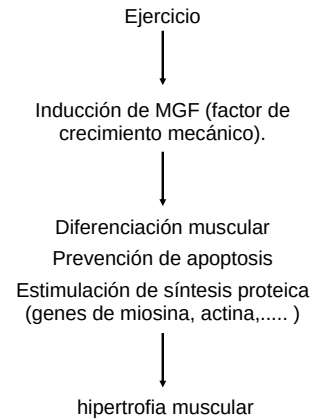
Splicing alternativo posibles (59% de los genes)

Gen promedio:

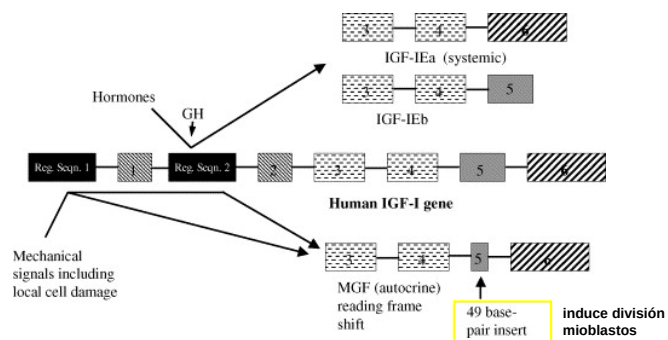
- 8 exones
- 145 nt/exon
- Intrones al menos diez veces mas grandes



Control de expresión en respuesta a señales mecánicas



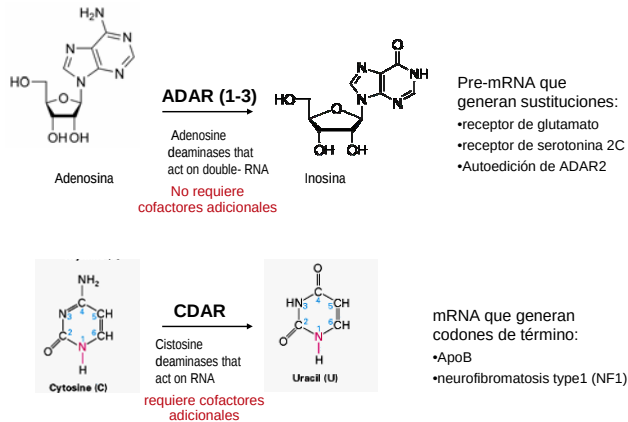
Splicing alternativo de IGF1 con Inducción de MGF (factor de crecimiento mecánico) por ejercicio.



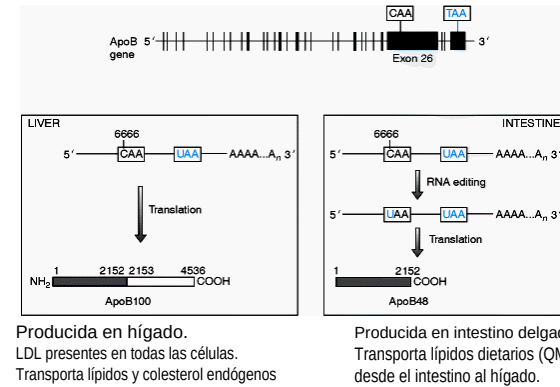
Edición del RNA

- Modificación de la secuencia del RNA.
- La edición del RNA puede ocurrir a través de: Inserción, Deleción o por **modificación nucleotídica**
- Formación de inosina: Forma más común de Edición de RNAs en mamíferos. Desaminación de adenosina (**edición A-->I**).
- Formación de Uridina: Forma menos frecuente en mamíferos. Desaminación de citidina (**edición C-->U**).
- Inserción de secuencias de poli U extensas y deleción de segmentos usando RNAs guías. Edición de RNA en Tripanosomatídeos. Se ha descubierto un gRNA ó RNA guía que actúa de templado en esta edición.

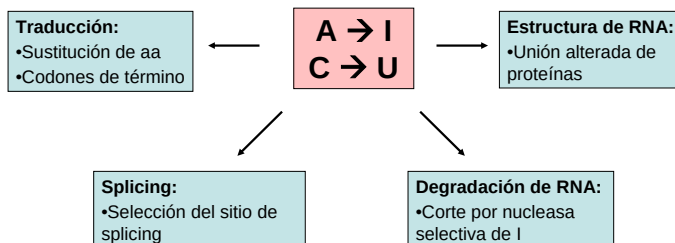
Edición del RNA



Regulación post transcripcional. Edición de C → U



Edición del RNA



Receptores de glutamato

I. 15 genes --> 3 familias funcionales

--Difieren en especificidades de reconocimiento de ligandos

II. Splicing Alternativo --> 34 isoformas

-- Difieren en características cinéticas (repolarización).

III. Edición del RNA --> 70 isoformas

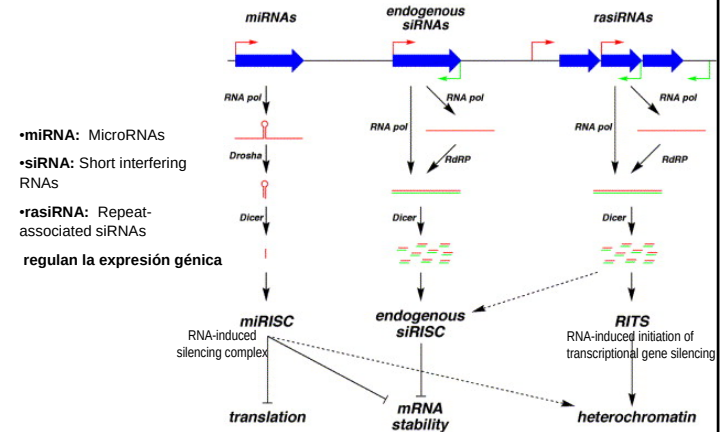
Deaminación de adenosina : Q/R, R/G, I/Y, V/Y, V/C, I/C cambian codones

-- Difieren en especificidades de ion y velocidad de flujo.

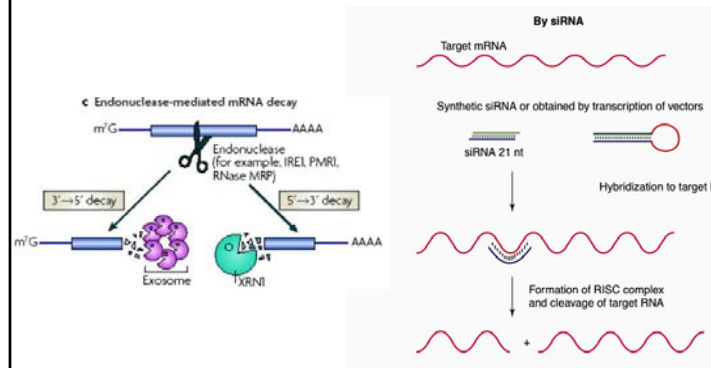
Regulación traduccional y post traduccional

- Estabilidad y transporte de los mRNA
- Velocidad de Síntesis de proteínas: principalmente a nivel de eIF-4E
- Velocidad de Degradación de proteínas
- Modificaciones post-traduccionales
- Destinación diferencial
- Etc, etc....

RNAs pequeños.



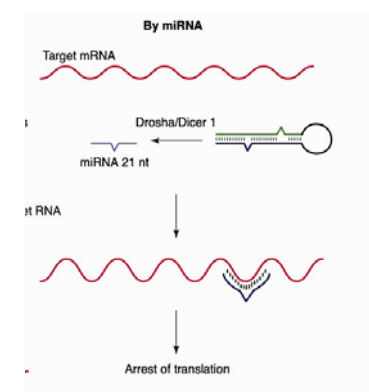
Regulación post-transcripcional



TRENDS in Biochemical Sciences Vol.30 No.8 August 2005

Regulación traduccional

mRNA-processing (**P**) bodies facilitan la represión de la traducción y/o degradación por deadenilación de mRNAs



TRENDS in Biochemical Sciences Vol.30 No.8 August 2005

Modelo actual de expresión génica

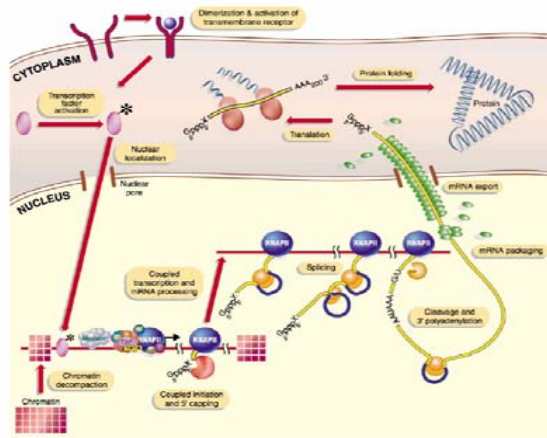


Figure 2. A Contemporary View of Gene Expression

Mecanismo de Splicing

