
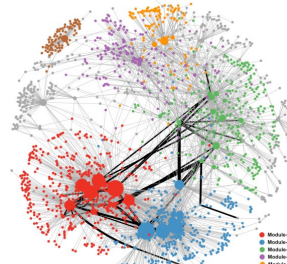


REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS



"Mira hacia las estrellas y no hacia abajo, hacia tus pies...
Intenta entender lo que ves y pregúntate qué hace que el universo exista. **Sé curioso!**" **Stephen Hawking**

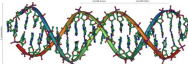



Wilson Terán
Departamento de Biología
Pontificia Universidad
Javeriana

1

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

Del genotipo... al fenotipo


→


Genotipo:
Totalidad de la información genética contenida en los cromosomas de un organismo
= Secuencia de ADN : Genes / regiones reguladoras / espacios intergénicos

Fenotipo: Conjunto de caracteres y rasgos observables en un individuo

2

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

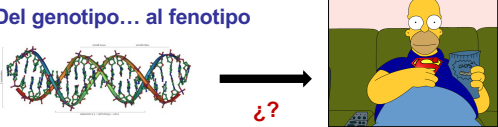




3

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

Del genotipo... al fenotipo



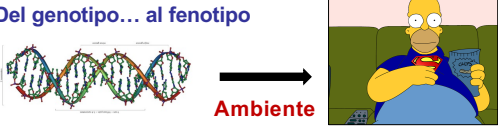
Genotipo:
Totalidad de la información genética contenida en los cromosomas de un organismo
= Secuencia de ADN : Genes / regiones reguladoras / espacios intergénicos

Fenotipo: Conjunto de caracteres y rasgos observables en un individuo

4

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

Del genotipo... al fenotipo



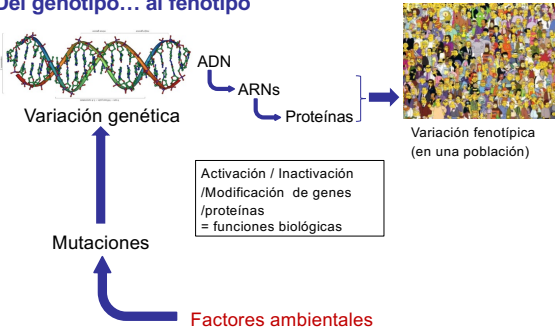
Genotipo:
Totalidad de la información genética contenida en los cromosomas de un organismo
= Secuencia de ADN : Genes / regiones reguladoras / espacios intergénicos

Fenotipo: Conjunto de caracteres y rasgos observables en un individuo

5

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

Del genotipo... al fenotipo



Variación genética

ADN
ARNs
Proteínas

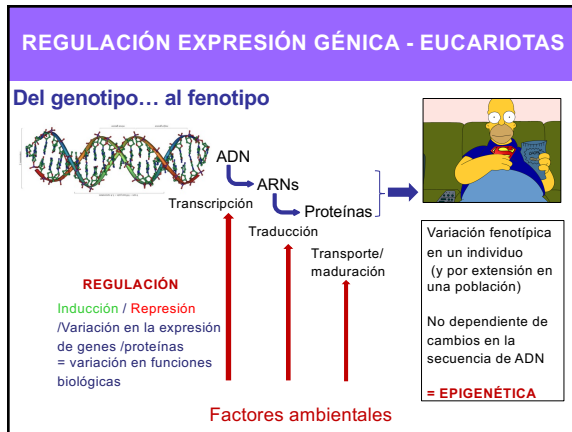
Variación fenotípica (en una población)

Activación / Inactivación / Modificación de genes / proteínas = funciones biológicas

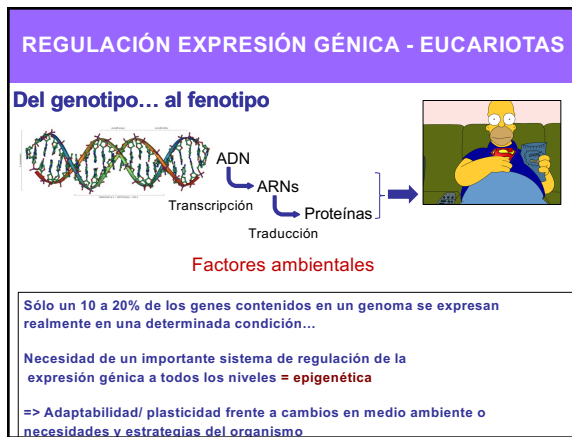
Mutaciones

Factores ambientales

6



7



8



9

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

BASES DE LA REGULACIÓN EPIGENETICA

Nucleoide

Cromatina

ADN no está desnudo dentro de las células:
Importancia de las interacciones proteína / ADN y proteína /proteína en la condensación del ADN genómico

= Garantizar acceso a la información por parte de la maquinaria transcripcional
Mayor complejidad en eucariotas

10

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

Elementos Cis Reguladores

bacteria

regulatory sequence

promoter

yeast

human

Aumento de cajas o elementos reguladores en eucariotas
Mayor distancia de estos elementos respecto al promotor

El N° genes no tiene relación con la complejidad del organismo!
El N° de genes reguladores o regiones reguladoras por gen sí!

Ej: humanos: 20'000 genes...70'000 promotores y 10^6 Elementos cis...

11

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

**REGULACIÓN EPIGENETICA EUCARIOTAS:
4 MECANISMOS BASICOS E INTERCONECTADOS:**

1. METILACIÓN DE ADN
2. MODIFICACIÓN DE HISTONAS)
3. UNION DE PROTEINAS REGULADORAS (FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN)
4. ACCIÓN DE ARNs REGULADORES

lncRNA

chromatin binding protein

transcription factor

miRNA

siRNA

miRNAs

12

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

1. Metilación de ADN y silenciamiento génico

- Modificación directa sobre el ADN: **Metilación de citosinas**

DNA Metil Transferasas (marcadoras)

Preferencialmente en regiones de repeticiones CpG (islotos CpG)

Cytosine → **5' Methyl-cytosine**

Enzymes: **DNMT** (DNA Methyltransferase), **TETs** (Ten-eleven translocation), **Desmetilasas (Borradoras)**

Co-factors: **SAM** (S-adenosylmethionine), **SAH** (S-adenosylhomocysteine)

MBDs (Methyl-binding domains): Proteínas de unión a citosinas metiladas (Lectoras)

Ambrosi et al., 2017, J. Mol. Biol. Vol. 429 (10): 1459-1475

13

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

1. Metilación de ADN y silenciamiento génico

- Efecto resultante de la metilación de ADN

= Silenciamiento génico

Unión de proteínas represoras
Mayor compactación de la cromatina

10% DNA humano está metilado (1.5 % es codificante)
30% genoma de las plantas está metilado

Genes that can be expressed (Unmethylated)
Genes inactivated by DNA methylation (Methylated)

Legend: **M** Methylated, **O** Unmethylated

Ambrosi et al., 2017, J. Mol. Biol. Vol. 429 (10): 1459-1475

14

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

2. Modificación de las histonas:

- Octámeros de histonas forman **NUCLEOSOMA**
- Primera unidad de compactación de la cromatina / **RICAS en cargas (+)** Lys / Arg

Metaphase chromosome, **30-nm chromatin fiber**, **11-nm nucleosomes**, **2-nm DNA molecule**

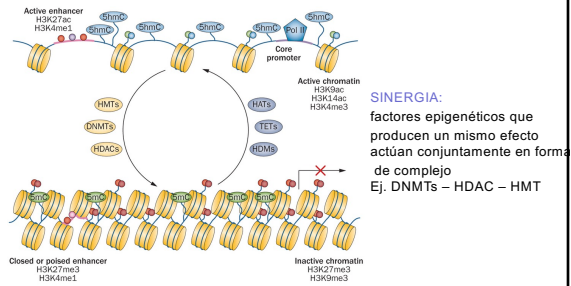
Modificaciones químicas de histonas afectan compactación de nucleosomas: el "código histónico"

Ambrosi et al., 2017, J. Mol. Biol. Vol. 429 (10): 1459-1475

15

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

Acción simultánea de proteínas marcadoras y borradoras determina patrón epigenético dominante:



19

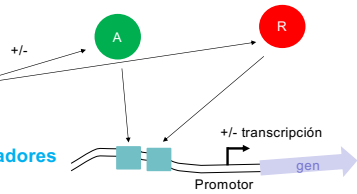
REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

3. Unión de proteínas reguladoras:

Factores de transcripción Activadores / Represores:

Efectores:

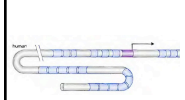
Elementos Cis Reguladores



Modelo de Jacob y Monod se mantiene en eucariotas, pero... algunas particularidades y estrecha articulación con la remodelación de la cromatina...

20

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS



- RNA polimerasas eucarióticas: necesitan muchos factores de transcripción para funcionar
= Gran número de elementos cis reguladores

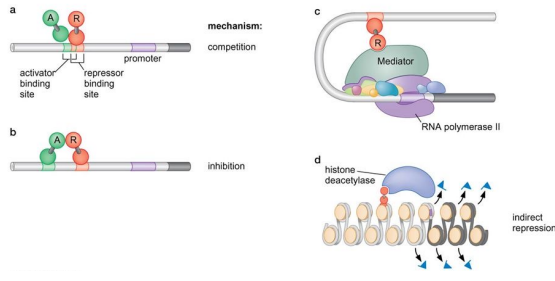


- Activadores y represores pueden ser reclutados a largas distancias del promotor
- Actividad basal de los promotores eucarióticos es muy baja: requieren siempre activadores
= REGULACIÓN POSITIVA OBLIGADA

21

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

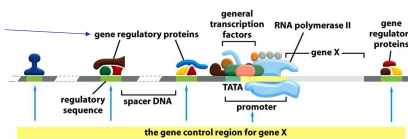
- La **REGULACIÓN NEGATIVA** en eucariotas se hace impidiendo la acción de los activadores o por interacción /reclutamiento de proteínas con efecto (-)
HDAC, HMT o DNMT



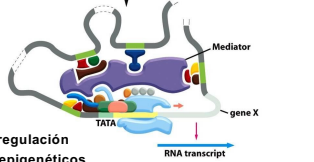
22

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

Los elementos **Cis** reguladores **distales** reclutan las diferentes **proteínas reguladoras**



Proteínas reguladoras entran en contacto directo o indirecto con el complejo de preiniciación (RNAPol + GTFs) a través del **complejo mediador**



INTERACCIONES PROTEÍNA / ADN y **PROTEÍNA /PROTEÍNA** soportan regulación de la transcripción y mecanismos epigenéticos

23

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

Elementos distales: 3 tipos diferentes
= **secuencias cis** = **secuencias blanco de ADN**

- potenciadores o intensificadores (enhancers)**
Secuencia blanco que recluta **activadores** de la transcripción

- silenciadores (silencers):**
Secuencia blanco que recluta **represores** de la transcripción

- aisladores (insulators):**
Secuencia blanco que recluta proteínas para modular la acción de los intensificadores o silenciadores por aislamiento físico de los mismos

24

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

Enhancers, silenciadores y aisladores = elementos *cis* reguladores

Represor (R) reclutado en *silencer*
Activador (A) reclutado en *enhancer*

Los *enhancers* permiten activar genes en forma bidireccional !

Los aisladores (insulators) delimitan el rango de acción de las proteínas reclutadas en enhancers o silenciadores

25

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

Cooperación de todos los mecanismos en forma coordinada y complementaria:
Factores epigenéticos y factores de transcripción se reclutan mutuamente...

TRANSCRIPTION

EPIGENETIC SILENCING

26

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

4. ACCIÓN DE ARNs REGULADORES

Mayoría del ARN transcrito celular no es codificante!

- ARNm : ~ 2%
- ARNr, ARNt : más abundantes = traduccional
- snRNA, snoRNAs y scaRNAs: intervienen en maduración (splicing)
- RNA reguladores: muy diversos y versátiles: pequeños y largos
Remodelación de la cromatina (Metilación ADN/ Histonas)
Interacción Proteína/ADN y Prot/prot
Splicing
Silenciamiento génico postranscripcional /Regulación traduccional
Regulación postraduccional (degradación proteica /transporte)

Transcriptome

Coding ~2%

Noncoding ~98%

Small noncoding RNA

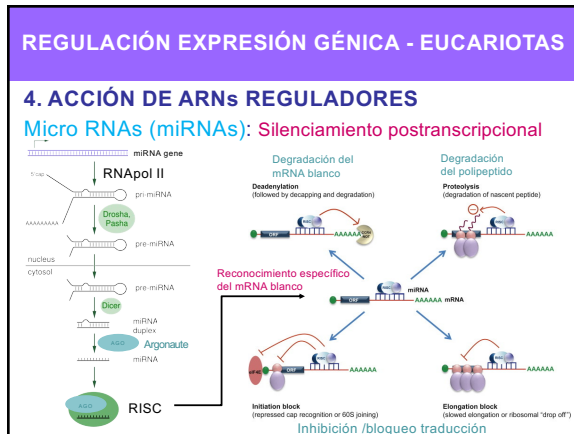
Long noncoding RNA

Protein synthesis

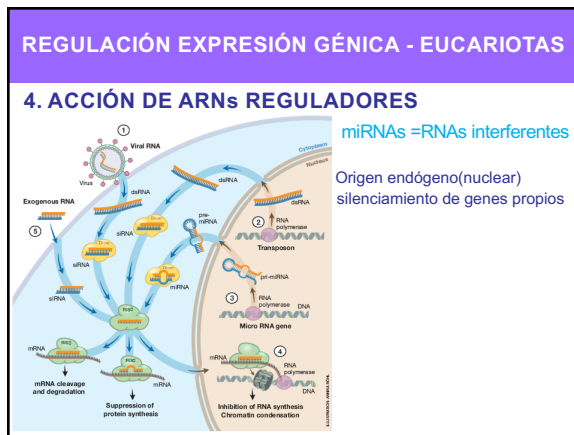
Regulation of gene expression

Legend: Nucleus/cytoplasm, Nucleus only

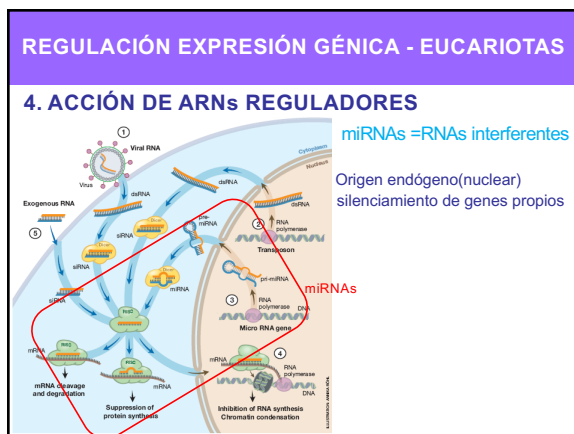
27



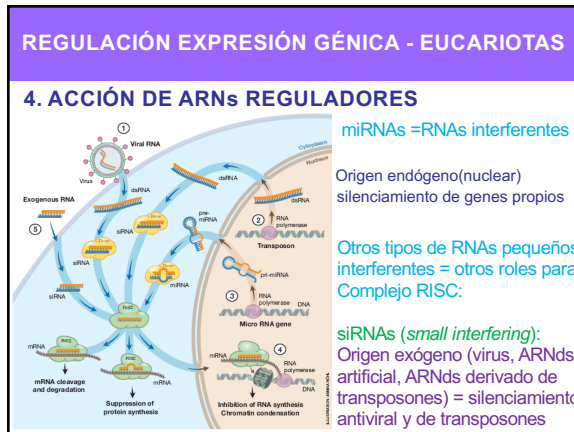
28



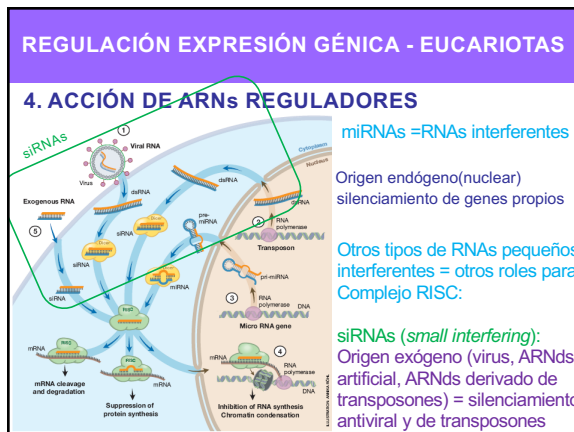
29



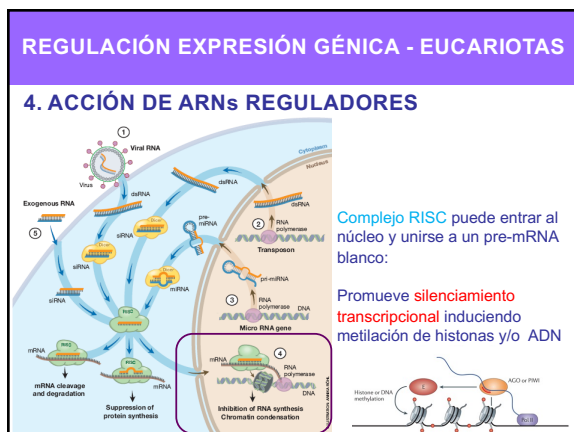
30



31



32



33

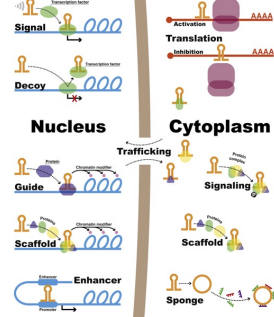
REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

4. ACCIÓN DE ARNs REGULADORES (ncRNAs)

LncRNAs:

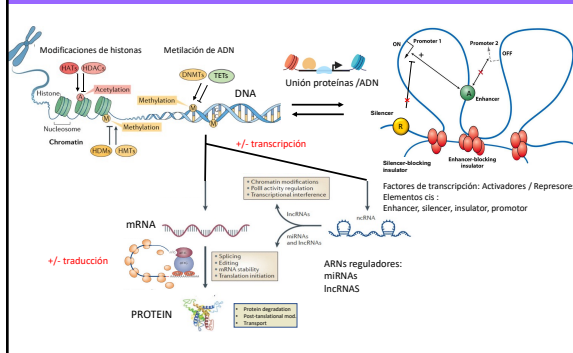
Long NonCoding RNAs

- Largos > 200 nt
- Estructura secundaria
- Muy diversos y versátiles: 10'000 en genoma humano!
- Alta plasticidad funcional
 - Epigenética
 - Postranscripcional
 - Traduccional
 - Postraduccional



34

Para llevarse a casa....



35

Para llevarse a casa....

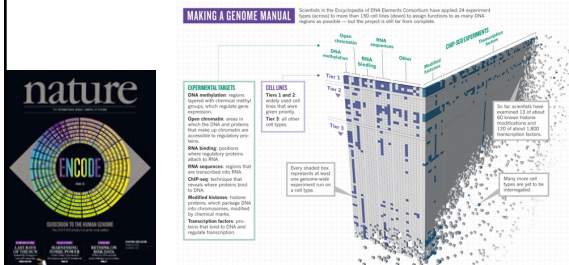
- **MECANISMOS DE REMODELACIÓN DE LA CROMATINA:**
Proteínas marcadoras, borradoras y lectoras de marcas epigenéticas:
 - metilación ADN y silenciamiento (DNMTs / TETs)
 - código histónico y (HAT/HDAC, HMT/HDM, etc...)
 - Complejos remodeladores de la cromatina : acceso a la información genética
- **FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN:** = proteínas con gran diversidad de funciones reguladoras:
 activador, represor, proteína de unión a insulador, coactivador /corepresor, etc...: interacción con proteínas de remodelación de la cromatina
 • **Activadores / Represores eucarióticos**
 • **Elementos distales cis reguladores = LCR:** numerosos y diversos en eucariotas
 enhancers : reclutan activadores
 silencers: reclutan represores
 insulators: reclutan proteínas que delimitan físicamente rango de acción de reguladores
 • Modulación externa e interna de ET por señales
- **INTERVENCIÓN DE RNAs REGULADORES:**
 • miRNAs / siRNAs: silenciamiento postranscripcional / Silenciamiento transcripcional
 • lncRNAs: reguladores universales a todos los niveles

Conclusión: Alta complejidad e integración de señales y mecanismos complementarios.
 Aproximaciones computacionales para modelación matemática y análisis de estas redes de regulación complejas (**Biología de Sistemas**)

36

REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL - EUCARIOTAS

- <https://www.encodeproject.org/>
- [Vinculos a pagina de Nature: Explicaciones y videos sobre el proyecto Encode \(Encyclopedia Of DNA Elements\) y sus expectativas...](#)



37

REGULACIÓN EXPRESIÓN GÉNICA - EUCARIOTAS

RNAs reguladores no son exclusivos de eucariotas...

En procariotas existen dos tipos de ARNs reguladores que pueden regular positiva o negativamente la expresión génica a nivel postranscripcional y traduccional :

- **asRNAs:** RNA largos antisentido con respecto a los mRNAs blanco.
- **sRNAs:** RNAs cortos antisentido, con estructura secundaria / requieren maduración y acoplamiento con proteína chaperona **Hfq**

- Jörg Vogel & Ben F. Luisi
Nature Reviews Microbiology 9 (2011)
 - Kumari Kavita, Francois de Mets & Susan Gottesman
Current Opinion in Microbiology 42, (2018)

38