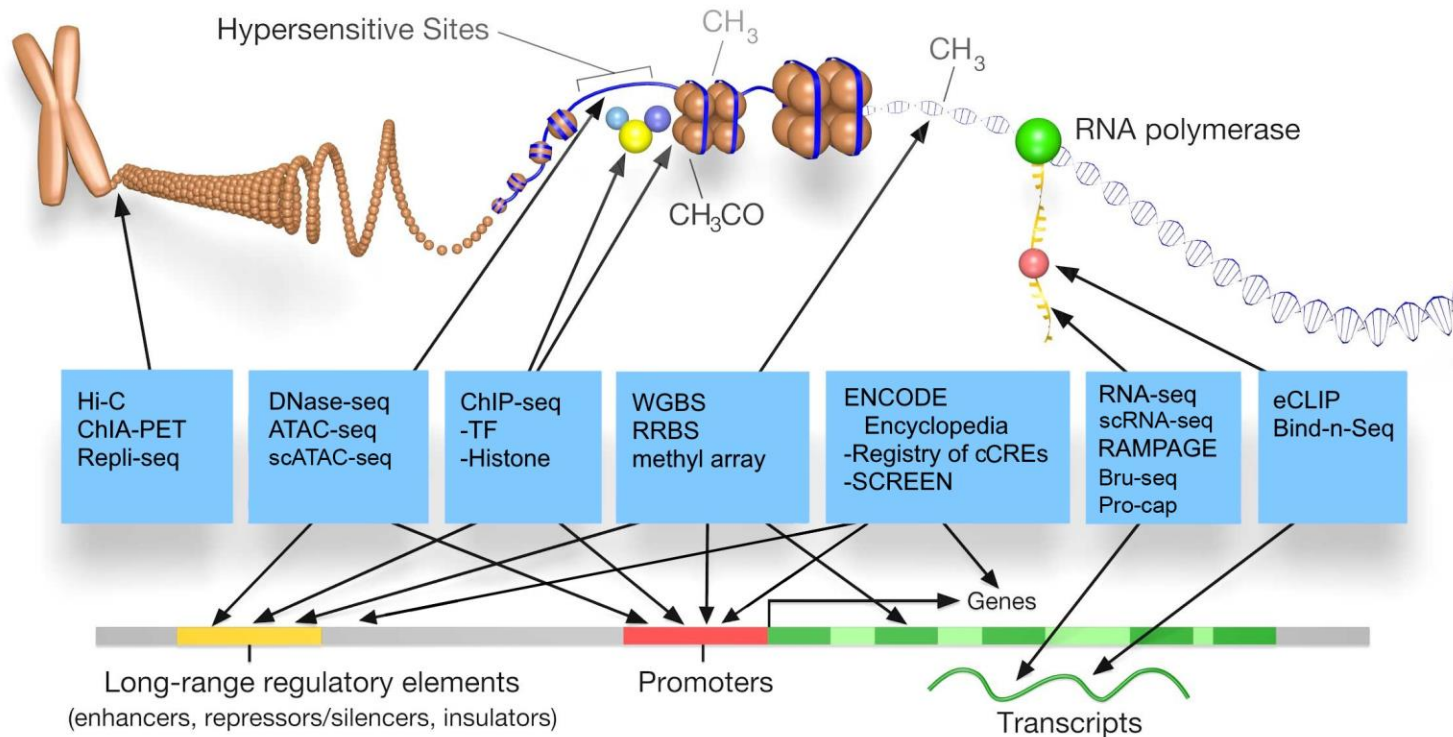


Regulación Génica 1

Guillermo Barturen Briñas
(gbarturen@ugr.es)

Elementos reguladores de la expresión génica



- Sitios de unión a factores de transcripción
- Modificaciones del ADN
- Modificaciones de histonas
- ARN no codificante



Based on an image by Darryl Leja (NHGRI), Ian Dunham (EBI), Michael Pazin (NHGRI)

Sitios de unión a factores de transcripción

- Factor de transcripción (TF), proteína con dominios de unión al ADN
- Los dominios de ADN en los que se unen se denominan sitios de unión a factores de transcripción (TFBS), generalmente 5-20 pbs
- Los TFBSs pueden clasificarse en 3 tipos según su función:

Promotores

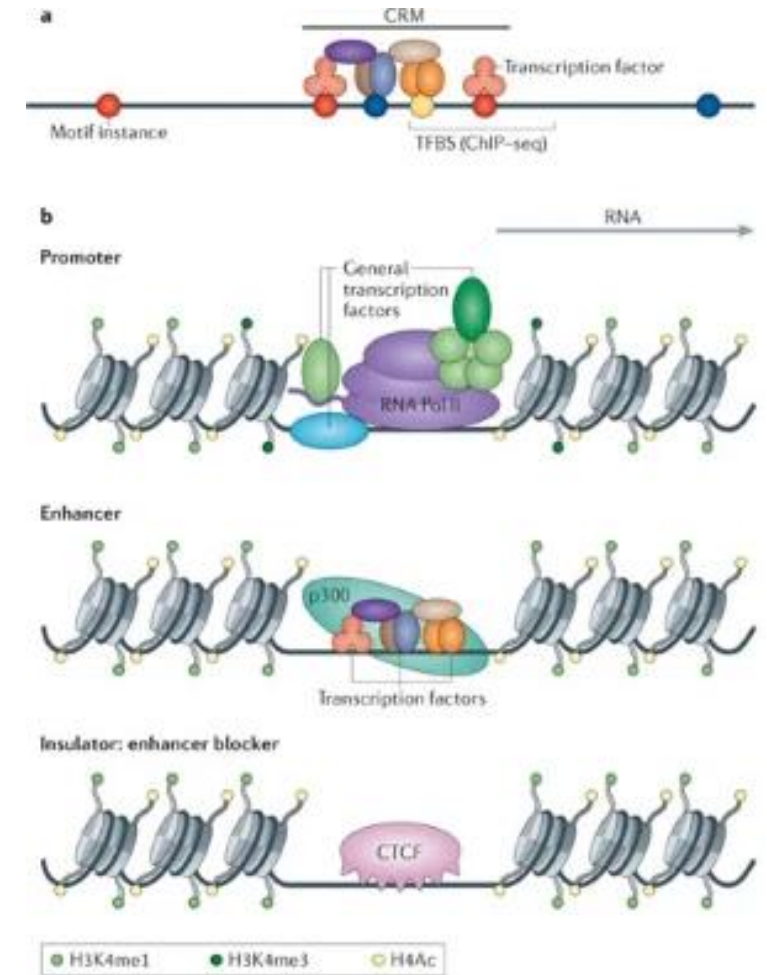
Median el inicio de la transcripción de la secuencia de ADN aguas abajo

Potenciadores (Enhancers)

Intensifican los niveles de expresión tanto de genes cercanos (cis) como lejanos (trans)

Aisladores (Insulators)

Bloquean el efecto de los intensificadores y/o actúan de barrera, aislando y protegiendo una región eucromática ante la expansión de regiones heterocromáticas circundantes.

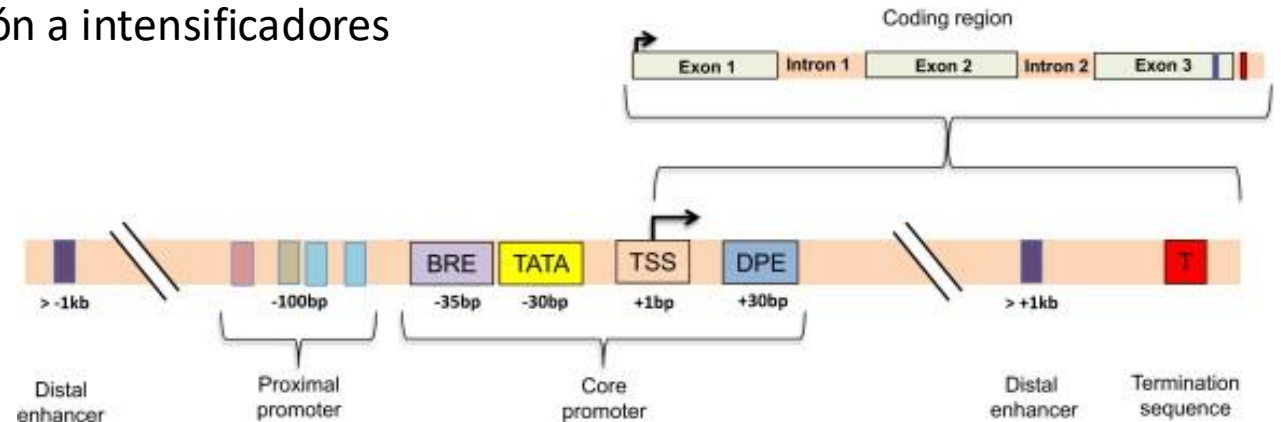


Promotores

- Secuencias cortas de ADN (100-1000pbs) necesarias para activar la transcripción de la secuencia de ADN aguas abajo (a partir del sitio de inicio de la transcripción, TSS)

En eucariotas:

- La región promotora de un gen puede dividirse en: promotor mínimo, promotor proximal y elementos distales
- El promotor mínimo se suele componer de las secuencias necesarias para la unión de la ARN polimerasa y los factores de transcripción necesarios para el inicio de la transcripción:
 - Caja TATA (5'-TATAAA-3')
 - BRE, elemento reconocido por el factor de inicio de la transcripción TFIIB
 - DPE, elemento aguas abajo del TSS reconocido por el TFIID
 - Inr, elemento iniciador que es el único capaz de iniciar la transcripción en ausencia de una caja TATA
- El promotor proximal lo forman otros sitios de unión a factores de transcripción que regulan de manera específica los niveles de transcripción del gen
- El promotor distal suele contener sitios de unión a intensificadores

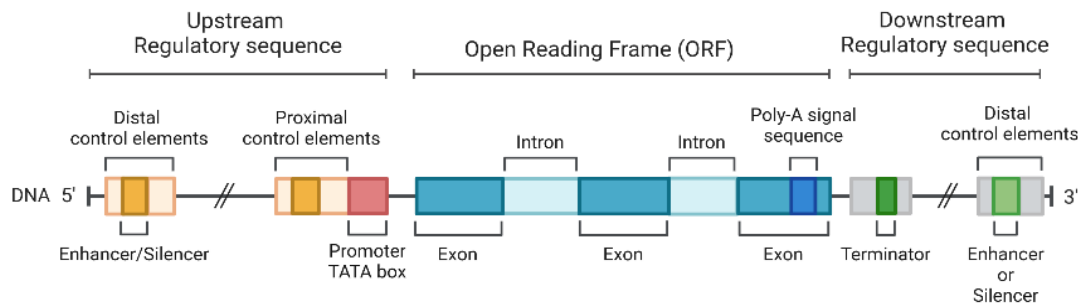


Promotores

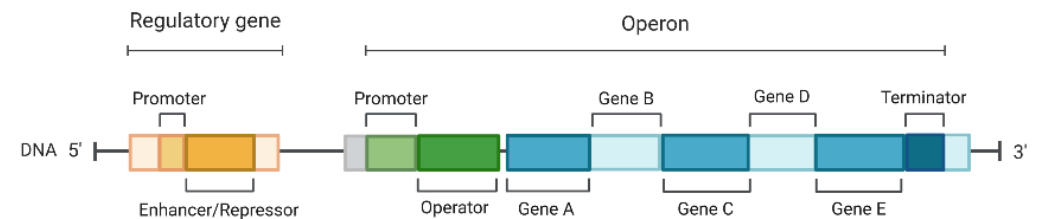
En procariontas:

- Los elementos que regulan la expresión de los genes suelen encontrarse en la proximidad de los mismos
- Sus promotores contienen dos elementos básicos:
 - Caja Pribnow (5'-TATAAT-3') equivalente a la caja TATA de eucariotas y se sitúa a -10 pbs del inicio de la transcripción
 - El elemento -35 (5'-TTGACA-3') que controla el nivel de expresión y se sitúa a -35 pbs del inicio de la transcripción
- El gen a regular y los elementos que lo regulan reciben el nombre de operón y a diferencia de los eucariotas los mARNs que se transcriben suelen ser policistrónicos, es decir codifican para varias cadenas polipeptídicas

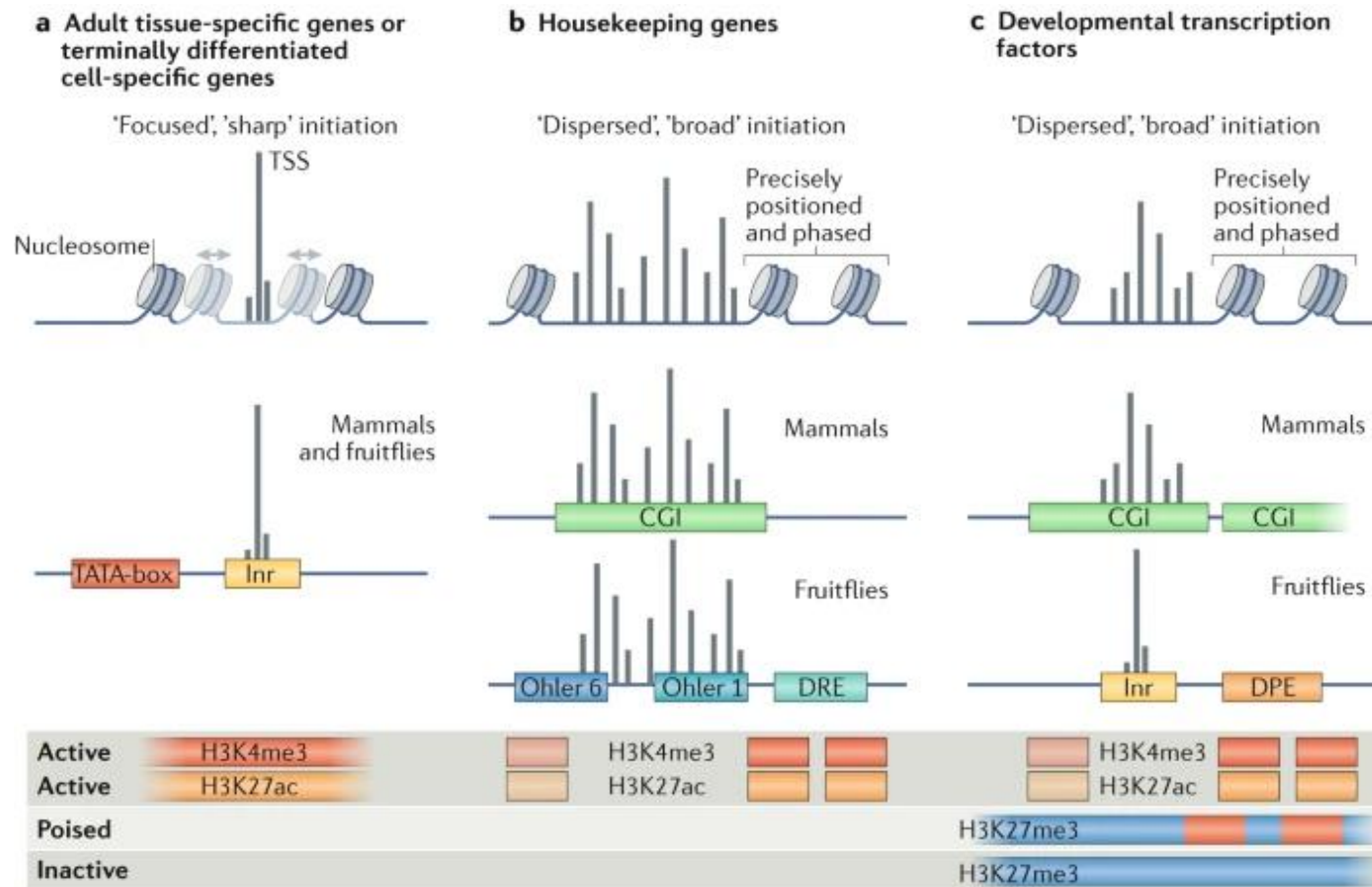
Eukaryotic Gene Structure



Prokaryotic Gene Structure



Tipos de promotores en metazoos



a. Promotores de genes tejido-específicos

- TATA + Inr
- Marcas activas de transcripción
- Posición imprecisa de nucleosomas
- TSS único definido

b. Promotores de genes constitutivos

- Islas CpGs (Mamíferos)
- Marcas activas de transcripción
- Posición fija de nucleosomas
- Región libre de nucleosomas ancha
- TSS múltiples y frecuentes

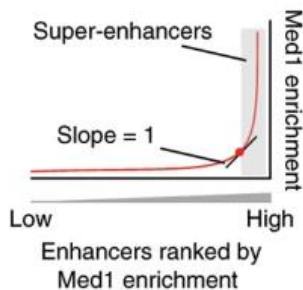
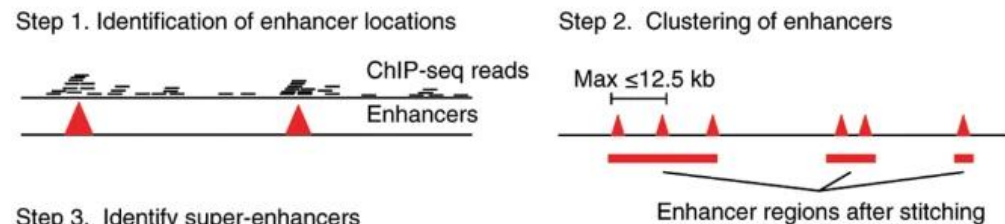
c. Promotores de genes del desarrollo

- Islas CpGs (Mamíferos)
- Promotores bivalentes
- Posición fija de nucleosomas
- TSS múltiples y frecuentes

Potenciadores (Enhancers)

- Sitos de unión al ADN que tras la unión de sus factores de transcripción aumentan la expresión de genes específicos, sólo regulan los niveles de expresión de genes activos y no son suficientes para activar la expresión de un gen.
- Pueden encontrarse a miles de pbs del gen que regulan, tanto aguas abajo como aguas arriba.
- Determinados factores de transcripción como la proteína p300 y modificaciones específicas de las colas de las histonas como H3K4me1 y H3K27ac.
- *Super-potenciadores (Super-enhancers)*, regiones con una tasa inusualmente elevada de unión de coactivadores de la expresión de genes. A diferencia de los potenciadores (de 10000 a 15000 por tipo celular) sólo se encuentran unos pocos cientos en un tipo celular concreto y regulan la mayoría de los patrones tipo celular específicos.

a



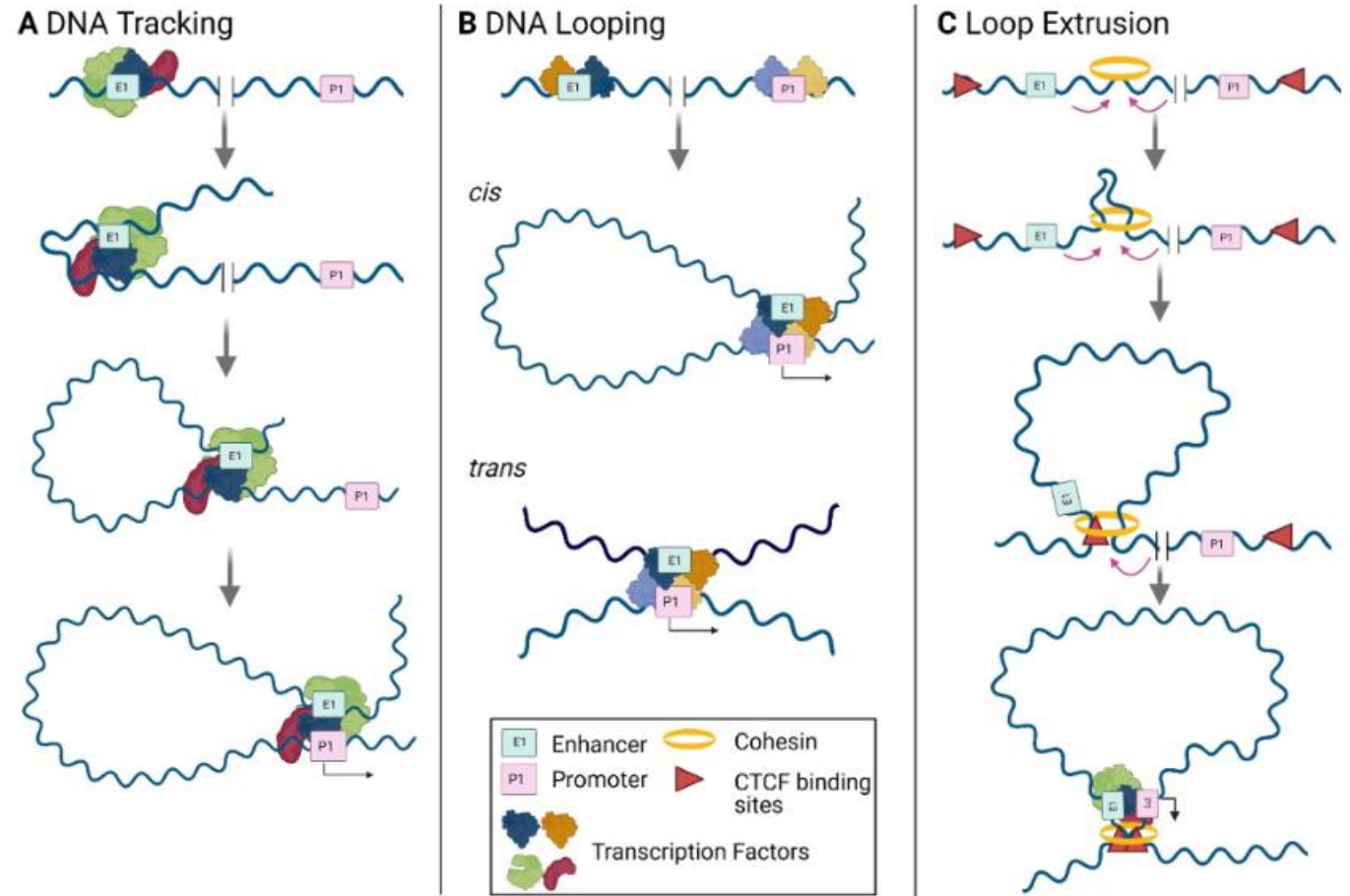
b

Factor used for step 1	Factor used for step 3	Reference
Oct4 + Sox2 + Nanog, Pu.1	Med1	Whyte <i>et al.</i>
MyoD, T-bet, C/EBP α	MyoD, T-bet, C/EBP α	Whyte <i>et al.</i>
H3K27ac	H3K27ac	Hnisz <i>et al.</i>
Med1	Med1	Loven <i>et al.</i>

Definición de superpotenciadores

1. Identificar picos de unión de factores de transcripción tipo celular específicos
2. Agrupamiento de picos a distancias menores de 12.5kb
3. Enriquecimiento del factor de transcripción Med1
(esta definición puede variar según la publicación)

Mecanismos de acción de los potenciadores



A. DNA Tracking

Una vez unido el TF se desplaza por la hebra de ADN hasta interactuar con el promotor

B. DNA looping

La estructura de la cromatina mediante el plegamiento de la hélice facilita la interacción

C. Loop extrusion

La cohesina pliega la hélice hasta dos sitios de unión CTCF que se encuentran cercanos y delimitando los sitios reguladores

Fig. 1. Schematic illustrating DNA tracking, DNA looping, and loop extrusion models. **A.** DNA tracking: TFs bind to the enhancer and track along the DNA in a unidirectional manner until reaching the promoter. **B.** DNA looping: TFs dynamically bind to each other, directly connecting the enhancer and the promoter. Both *cis* and *trans* interactions are pictured. **C.** Loop extrusion: the cohesin complex extrudes DNA, creating a loop configuration. Extrusion halts at CTCF binding sites which are located close to transcriptional regulatory elements or insulators. (Figure created using Biorender.com.).

Aisladores (Insulators)

- Sitos de unión al ADN que tras la unión de sus factores de transcripción protegen a los genes de señales inadecuadas procedentes de su entorno genómico, creando dominios de expresión funcionalmente independientes.
- Son regiones de entre 300 y 2000 pbs que contienen sitios de unión agrupados para un factor de transcripción concreto (principalmente CTCF en vertebrados).

El locus de la β -globina de pollo

- Este locus se encuentra delimitado por dos sitios aisladores (5'HS4 y 3'HS).
- 5'HS4, actúa como *barrera (barrier insulator)* ante la expansión de la región heterocromática aguas arriba del locus permitiendo que los genes de la β -globina sigan expresándose.
- 5'HS4 y 3'HS, actúan ambos como *bloqueadores del potenciador (enhancer-blocking insulators)* del locus de la β -globina, impidiendo que genes fuera de este locus se activen inapropiadamente.

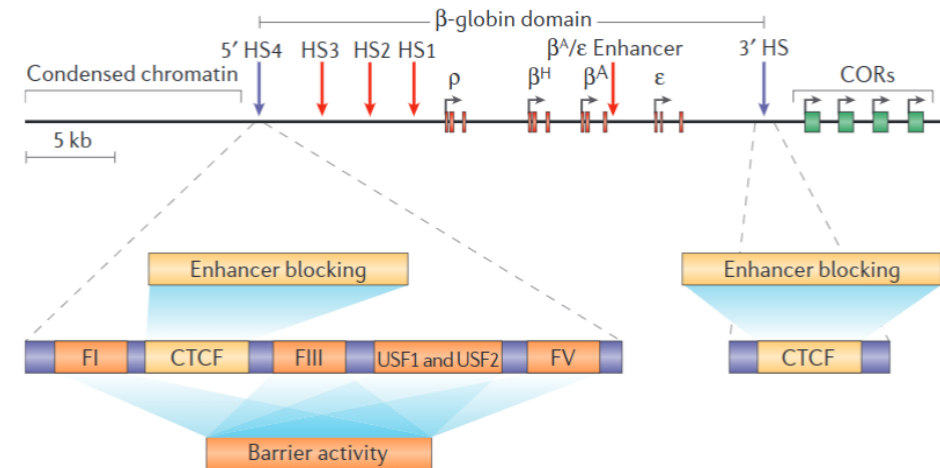


Figure 3 | **The chicken β -globin locus.** In chicken (*Gallus gallus*), the 5' HS4 and 3' HS insulator elements define the limits of a chromatin domain that encompasses the developmentally regulated β -globin gene cluster and its locus-control region (LCR), which is comprised of the HS1–3 and $\beta^{A/\epsilon}$ enhancers. This domain is flanked by a region of condensed chromatin and a cluster of chicken olfactory receptor genes (CORs) at its 5' and 3' ends, respectively. The HS4 element possesses both enhancer-blocking and barrier activity, presumably to prevent the LCR from inappropriately activating genes outside the domain and at the same time protecting the globin cluster against silencing that emanates from the flanking condensed-chromatin region. Enhancer blocking is mediated by CTCF, whereas barrier activity results from the combined effect of USF1 and USF2 and the as yet uncharacterized FI-, FIII- and FV-binding proteins. 3' HS binds CTCF and functions only as an enhancer-blocking insulator.