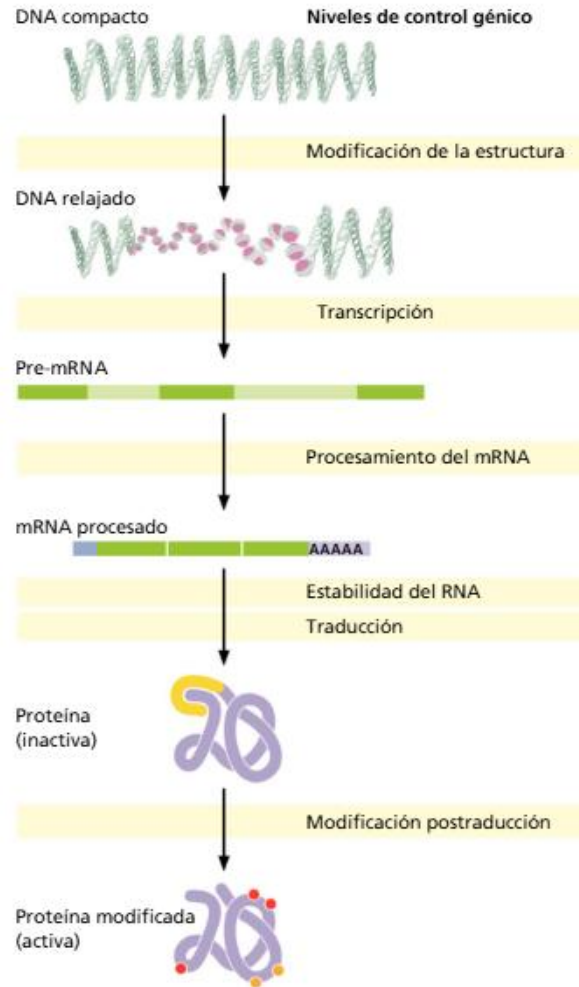


Regulación Génica 2

Guillermo Barturen Briñas
(gbarturen@ugr.es)

Niveles de Regulación Génica



Conformación del ADN, mediante la modificación de la estructura del ADN.

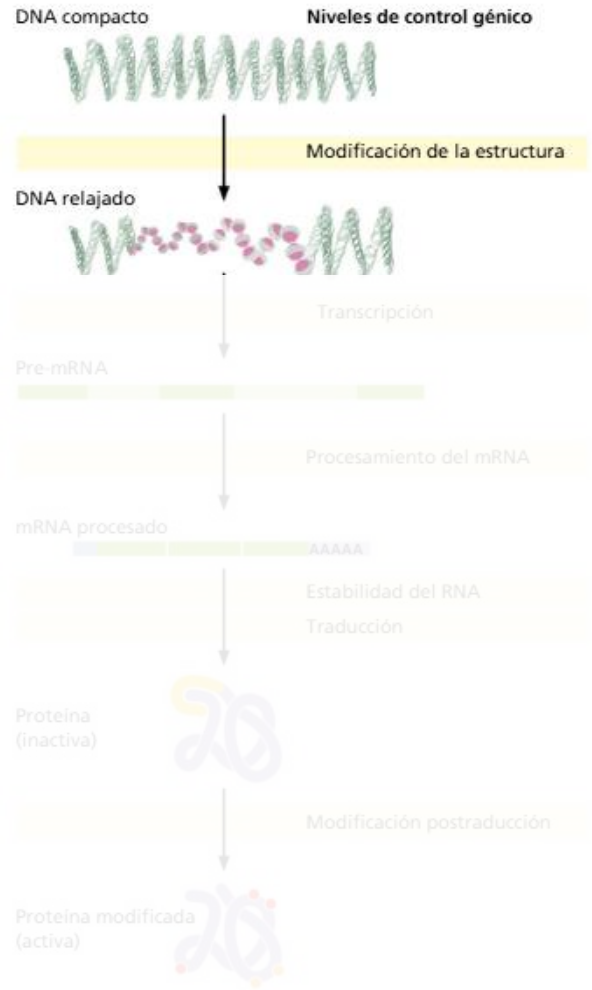
Durante la transcripción, regulando la síntesis del ARNm.

Postranscripcionalmente, durante el procesamiento del ARNm y su estabilización.

Durante la traducción, modulando la síntesis de proteínas a partir del ARNm.

Postraduccionalmente, mediante modificaciones del polipéptido, como el recorte de aminoácidos específicos o alteraciones químicas que afectan a su actividad, estabilidad o localización.

Regulación de la Cromatina



Conformación del ADN, mediante la modificación de la estructura del ADN.

Durante la transcripción, regulando la síntesis del ARNm.

Postranscripcionalmente, durante el procesamiento del ARNm y su estabilización.

Durante la traducción, modulando la síntesis de proteínas a partir del ARNm.

Postraduccionalmente, mediante modificaciones del polipéptido, como el recorte de aminoácidos específicos o alteraciones químicas que afectan a su actividad, estabilidad o localización.

Regulación de la Cromatina

La necesidad de compactación del ADN provoca la existencia en eucariotas de un nivel superior (*EPI*-genética) de regulación no existente en procariotas

Cromatina: forma en la que el ADN eucariótico se organiza en el núcleo celular

Eucromatina

ADN poco compacto (abierto)
Reguladores con acceso
Transcripcionalmente activa

Heterocromatina

ADN compacto (cerrado)
Reguladores sin acceso
Transcripcionalmente inactiva

- Constitutiva: siempre compacta (centrómeros)
- Facultativa: dinámica (cromosoma X de mujeres)

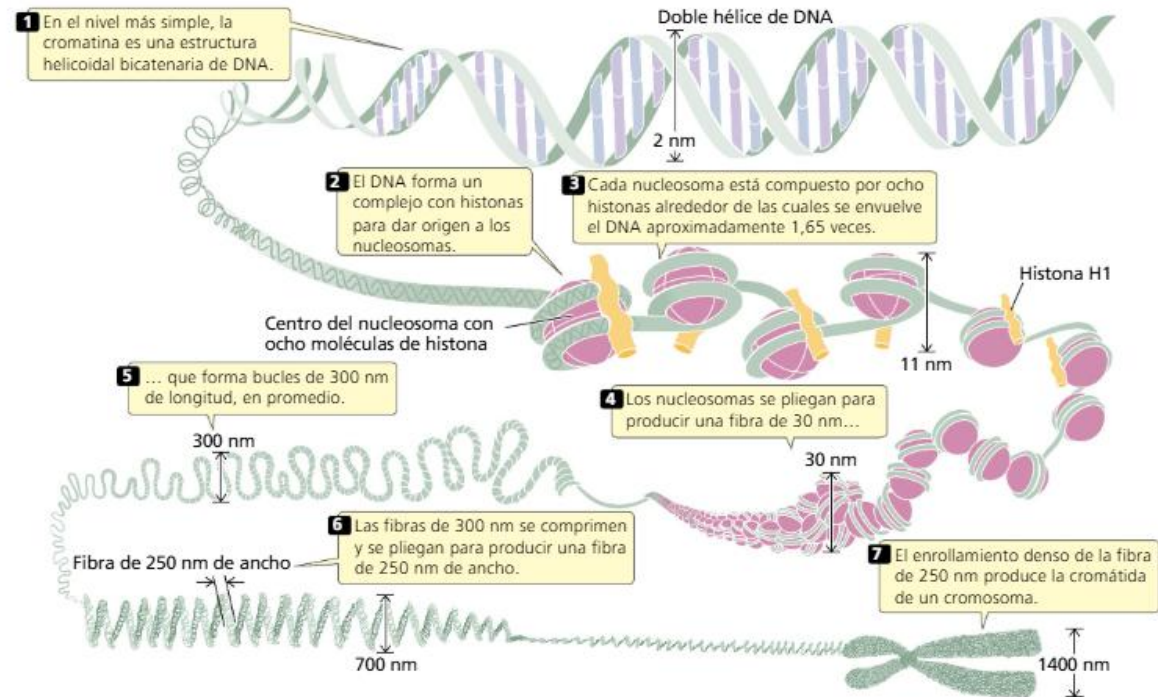


Figura 11.4 tomada de Pierce, Genética: Un enfoque conceptual 5ª edición

Regulación de la Cromatina

Es un proceso dinámico y reversible

Sus mecanismos de regulación se encuentran íntimamente relacionados entre si

Remodelación de la cromatina

Modificaciones químicas de las “colas” de las histonas

Metilación del ADN

Remodelación de la Cromatina

El “collar de cuentas” es una estructura altamente dinámica

Los nucleosomas que lo forman pueden reposicionar o eliminarse

Los **complejos remodeladores** (e.g. SWI/SNF) que median en esta dinámica consumen energía (hidrólisis de ATP)

Estos complejos pueden ser reclutados por activadores o represores de la transcripción

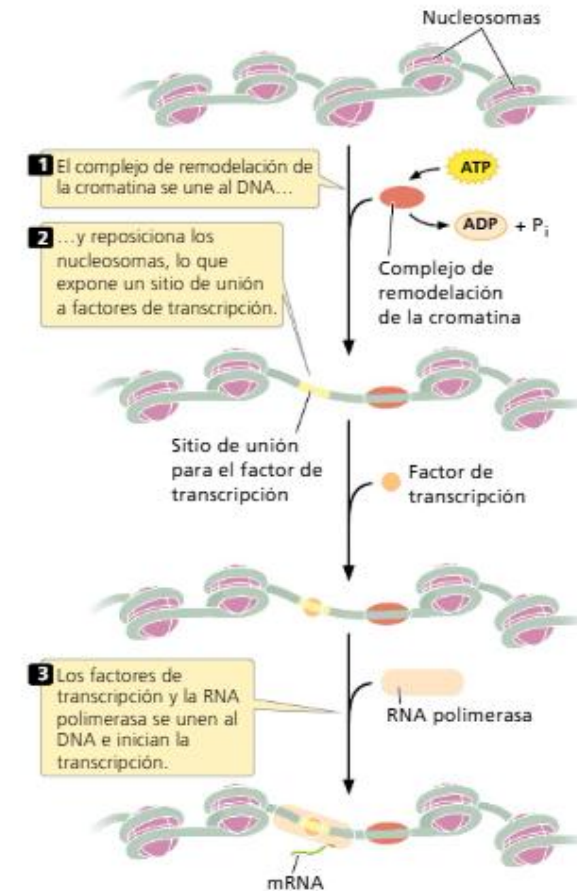


Figura 17.1 tomada de Pierce, Genética: Un enfoque conceptual 5ª edición

Modificaciones de las Histonas

Las histonas son las proteínas que forman parte del núcleo de los nucleosomas, cargadas positivamente para atraer y compactar al ADN cargado negativamente

Presentan “colas” en su region N-terminal que pueden ser modificadas covalentemente y de manera reversible

Adición o eliminación de grupos fosfato, metilo, acetilo y/o ubiquitinas

Fosforilación

Adiciona cargas negativas (Serinas, Treoninas y Tirosinas)

Relajación de la cromatina

Metilación – H3K4me3 activación / H3K9me1/2 y K3K27me3 represión

No cambia la carga (Lisinas y Argininas)

Modifican la superficie de interacción y reclutan complejos reguladores

Acetilación

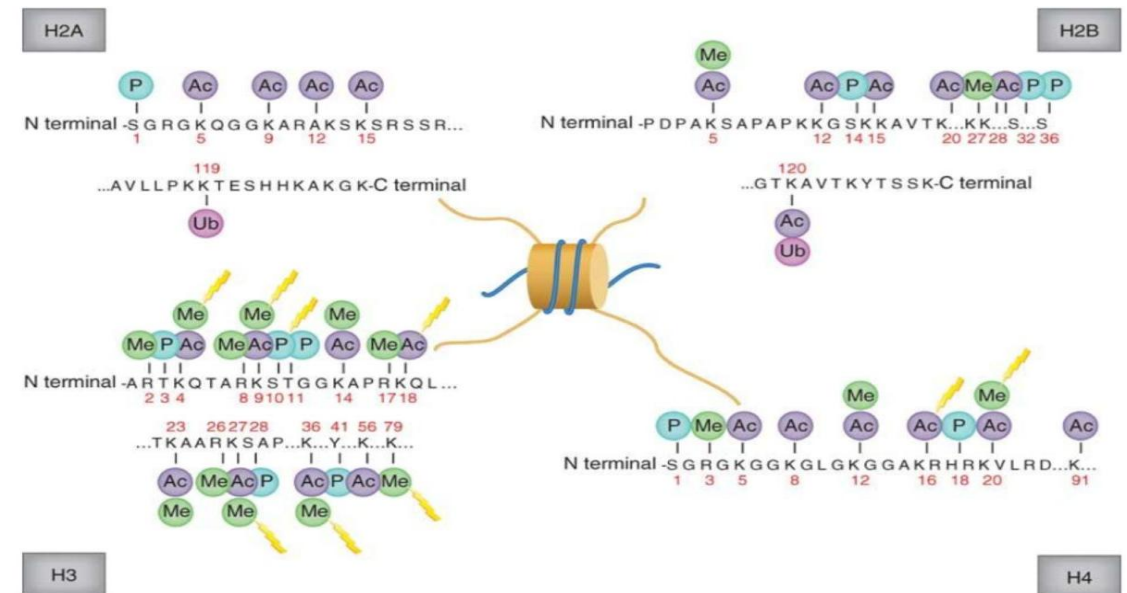
Neutraliza la carga positiva (Lisinas)

Relajación de la cromatina

Ubiquitinización – H2Bub activación y alargamiento / H2Aub represión

No cambia la carga (Lisinas)

CÓDIGO DE LAS HISTONAS



Modificaciones de las Histonas

Regulación de la floración en *Arabidopsis Thaliana*

Fundamental para maximizar la polinización y la generación de semillas

Regulado por acetilasas y deacetilasas de histonas

FLC (Flowering Locus C)

Reprime la floración ante condiciones desfavorables

FLD (Flowering Locus D)

Enzima deacetilasa que se expresa ante condiciones favorables

Cuando se expresa elimina grupos acetilo en el locus FLC restaurando la carga positiva de las histonas y compactando el ADN

Reprimiendo la expresión de FLC → Floración

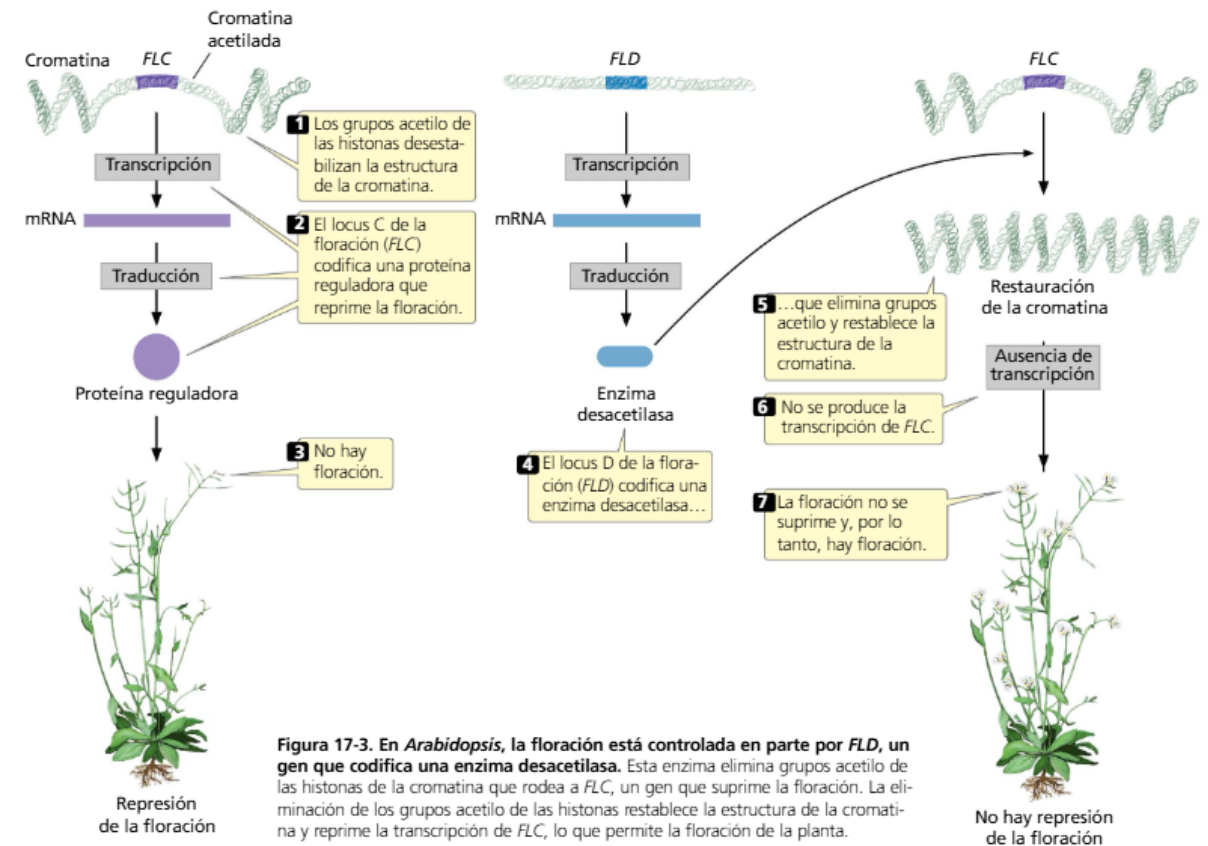


Figura 17-3. En *Arabidopsis*, la floración está controlada en parte por FLD, un gen que codifica una enzima desacetilasa. Esta enzima elimina grupos acetilo de las histonas de la cromatina que rodea a FLC, un gen que suprime la floración. La eliminación de los grupos acetilo de las histonas restablece la estructura de la cromatina y reprime la transcripción de FLC, lo que permite la floración de la planta.

Metilación del ADN

Adición de un grupo metilo, principalmente al C5 de las citosinas

Casi exclusivamente en los dinucleótidos CpG

Bloquea la interacción con factores de transcripción

Recluta complejos remodeladores y deacetilasas

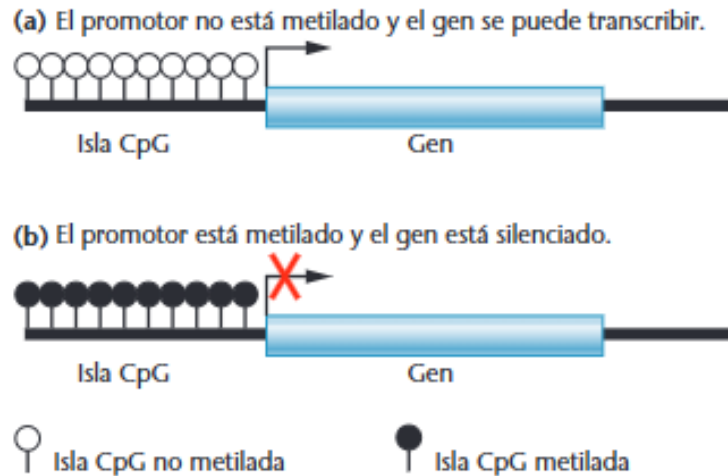
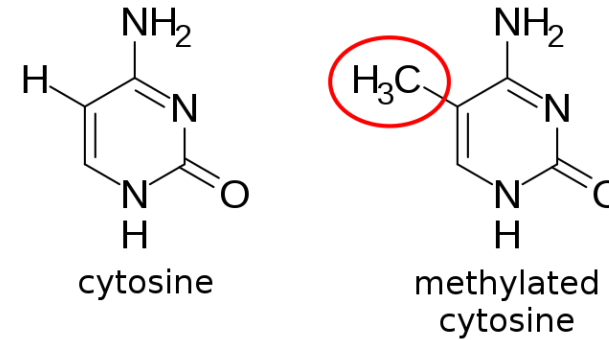


Figura CE3.2 tomada de Klug, Conceptos de Genética 10ª edición

Los genomas de vertebrados altamente metilados en las citosinas de CpGs

5-metilcitosina es químicamente inestable y las C pueden cambiar a T

Islas CpGs

Zonas metiladas → Pérdida de CpGs

Zonas no-metiladas → Conservación de CpGs

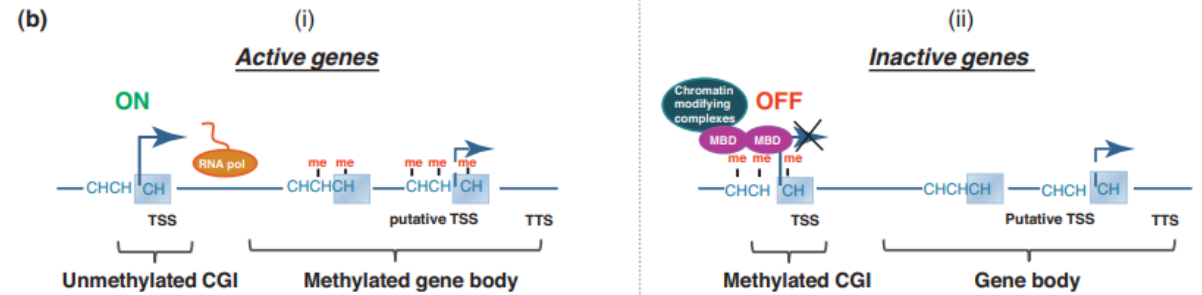
Regulación de promotores con Islas CpGs

No metilado → Cromatina abierta → Transcripción activa

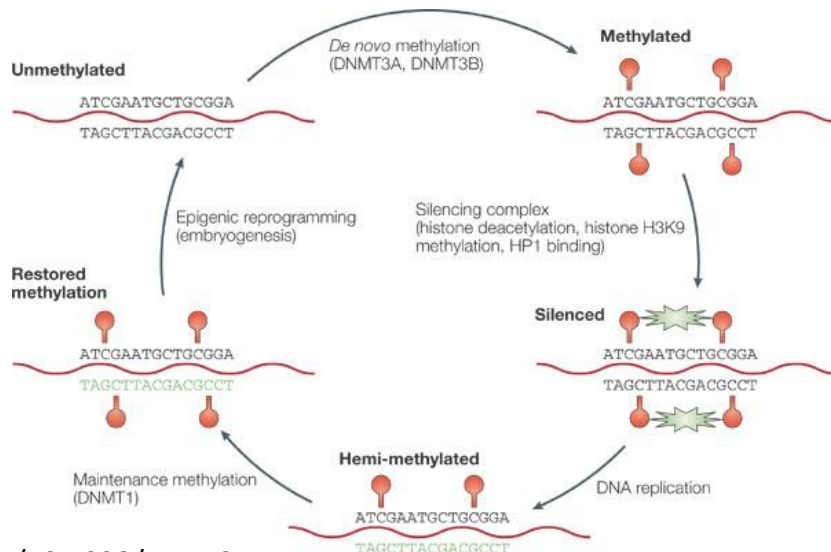
Metilado → Cromatina cerrada → Transcripción inactiva

Metilación del ADN

- La presencia de la metilación se relaciona con la ausencia de interacción de otras moléculas (por ejemplo, TFs) con el ADN, existen proteínas específicas que reconocen la metilación (MBD) e inducen la represión de la expresión de genes cercanos mediante modificaciones en las colas de las histonas
- La *metilación en el cuerpo génico* contribuye a la estabilidad del proceso y por lo tanto favorece la transcripción del gen
- La presencia de *metilación en el promotor* de los genes recluta MBDs que contribuyen a inhibir la transcripción de dicho gen



<https://doi.org/10.1016/j.tibs.2011.03.002>



- La metilación es heredable y perpetuable mediante dos complejos formados por metiltransferasas específicas, uno que define los **patrones de novo** (DNMT3A, DNMT3B) y otro de **mantenimiento** (DNMT1) que reconoce patrones de metilación hemi-metilados.

Metilación del ADN

Determinación de castas de abejas (Apis mellifera)

Los patrones de metilación se definen mediante metiltransferasas *de novo* (DNMT3s) y se mantienen por metiltransferasas de mantenimiento (DNMT1)

Todas Las larvas hembra de abejas son genéticamente idénticas

Reinas → Se alimentan de jalea real → Inhibición de Dnmt3

Obreras → Se alimentan de mezcla de polen y néctar

Reinas → No metilación → Ovarios funcionales

Obreras → Metilación

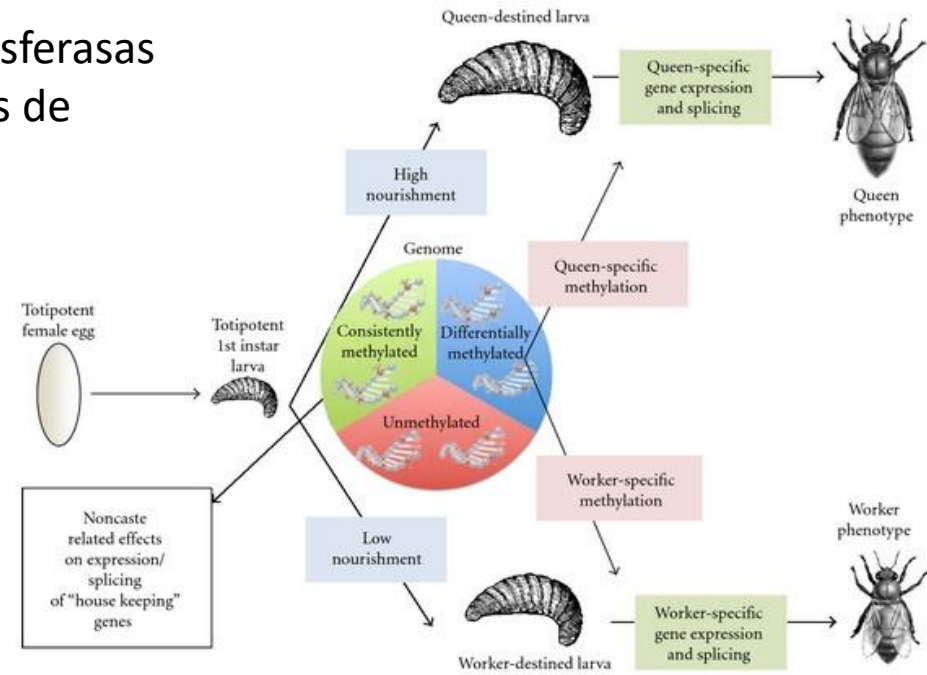


Figura tomada de doi.org/10.1155/2012/609810

Metilación del ADN

- Es un proceso reversible, incluso se han identificado enzimas específicas responsables de este proceso (TETs)
- 3 mecanismos de desmetilación en mamíferos:

A. Desmetilación pasiva

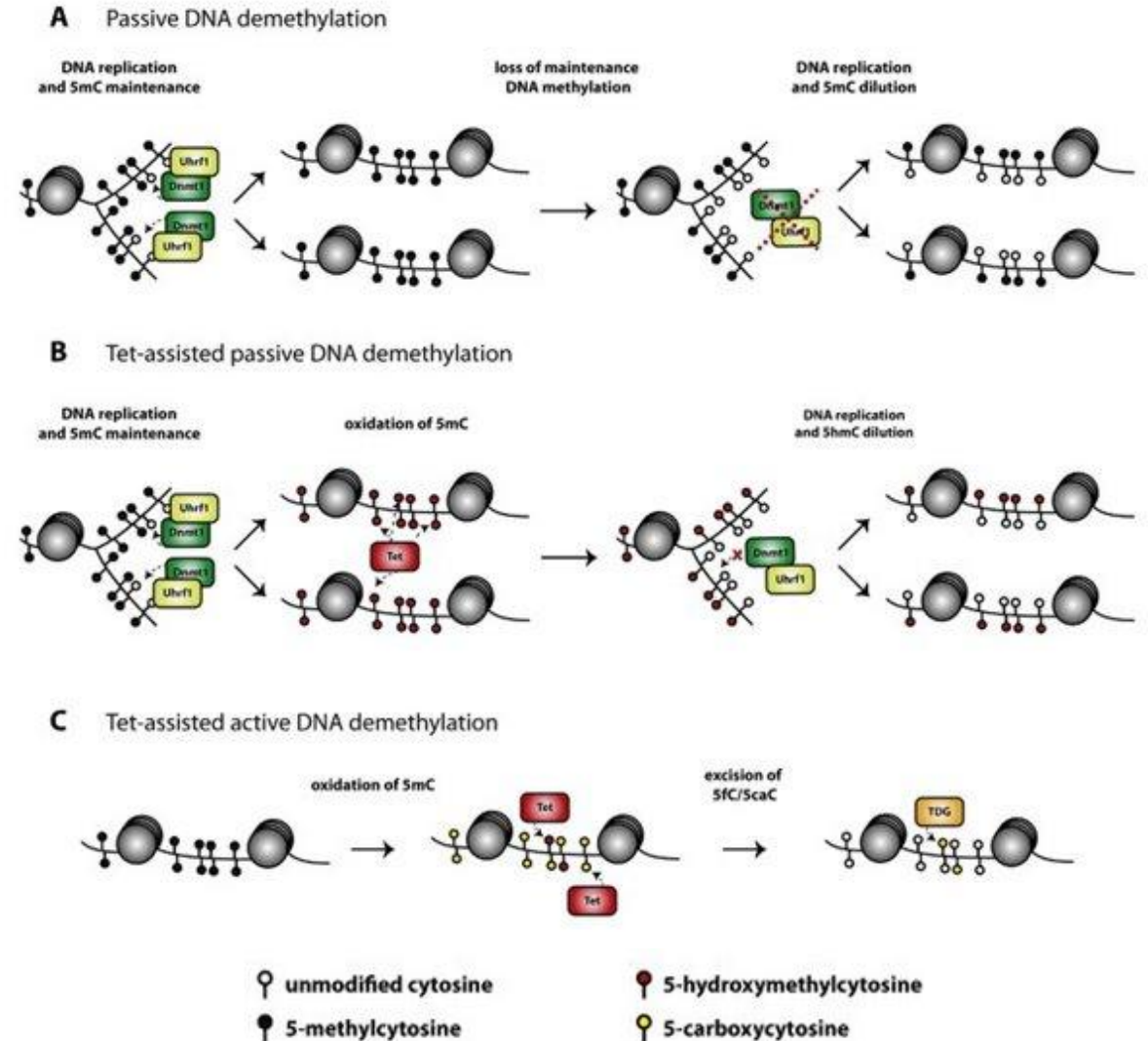
La ausencia de mantenimiento por la DNMT1 puede provocar paulatinamente la pérdida de la metilación en sucesivas replications

B. Desmetilación pasiva asistida por TETs

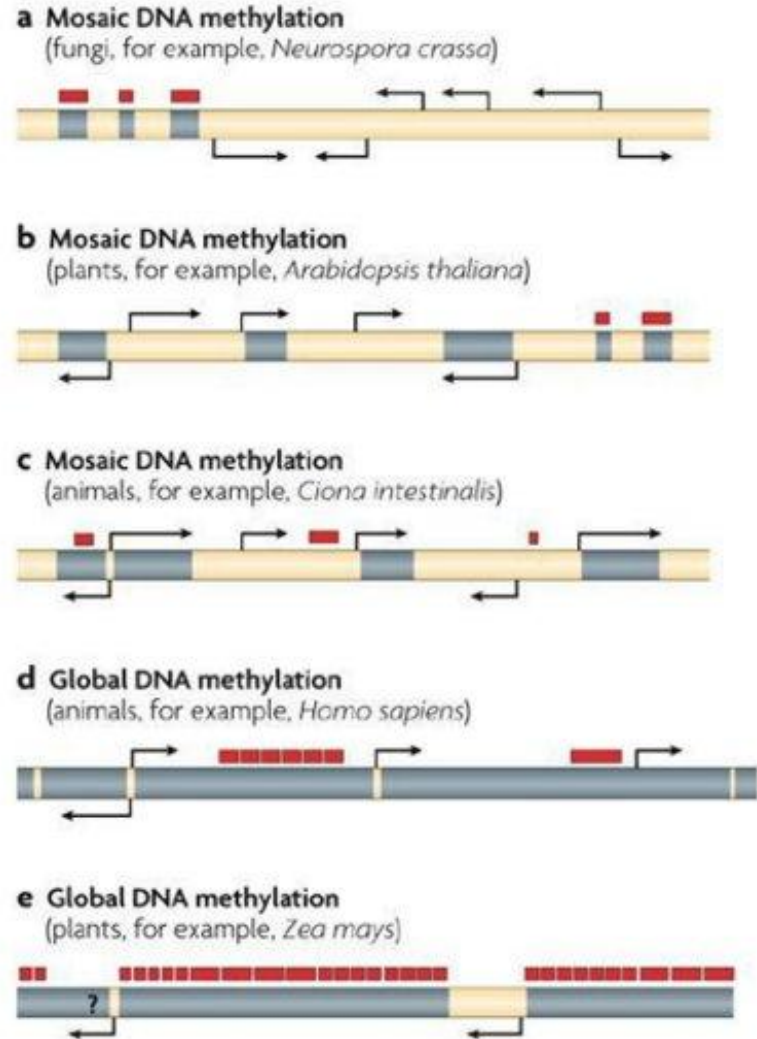
La oxidación activa por TETs de las metilcitosinas las convierte en hidroximetilcitosinas que no son reconocidas por el mecanismo de mantenimiento

C. Desmetilación activa asistida por TETs

Las hidroximetilcitosinas pueden ser de nuevo oxidadas por otras TETs produciendo formilcitosina y/o carboxilcitosina. Estas bases son reconocidos por mecanismos de reparación sustituyendo la citosina oxidada por una nueva citosina no metilada.

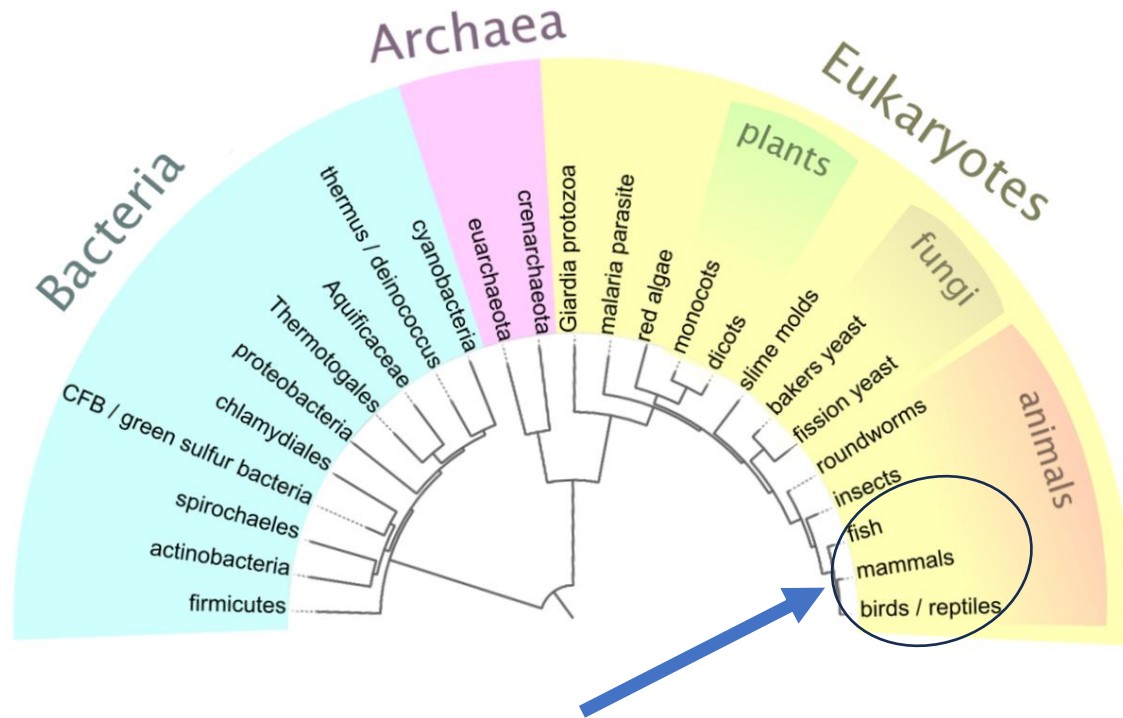


Metilación del ADN



- **Patrón mosaico de metilación:** es el patrón mayoritario donde sólo ciertos elementos genómicos se metilan.
- **Patrón global de metilación:** es el patrón observado en vertebrados y plantas con genomas grandes. En este patrón la mayoría del genoma se encuentra metilado y sólo algunas regiones como los promotores de los genes y TFBSs no presentan metilación.
 - En plantas de genomas grandes este patrón ocurre debido a que la mayoría de su genoma se compone de retrotransposones.
 - ¿Y en vertebrados?

Metilación del ADN



En vertebrados encontramos genomas altamente metilados

¿Cuál es la función de la metilación del ADN en bacterias?

¿Qué pudo provocar el cambio en el patrón de metilación?

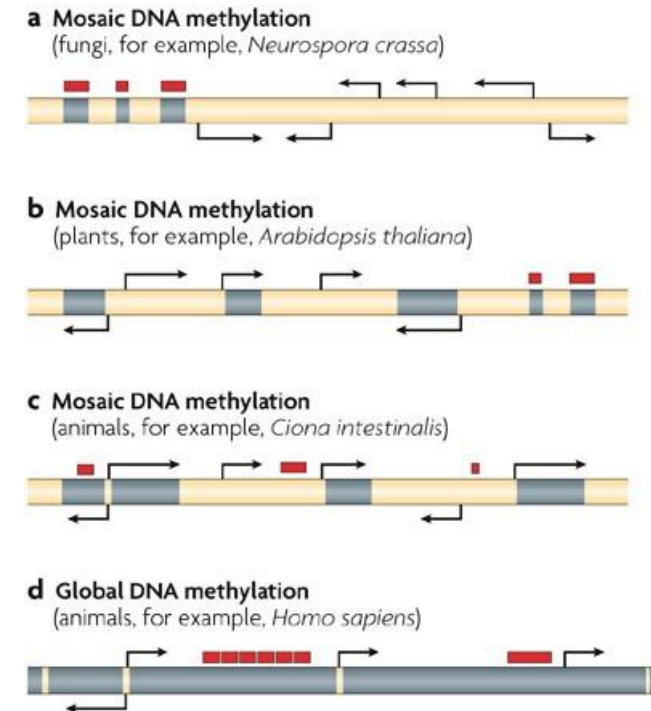


Figura tomada de <https://doi.org/10.1038/nrg2341>

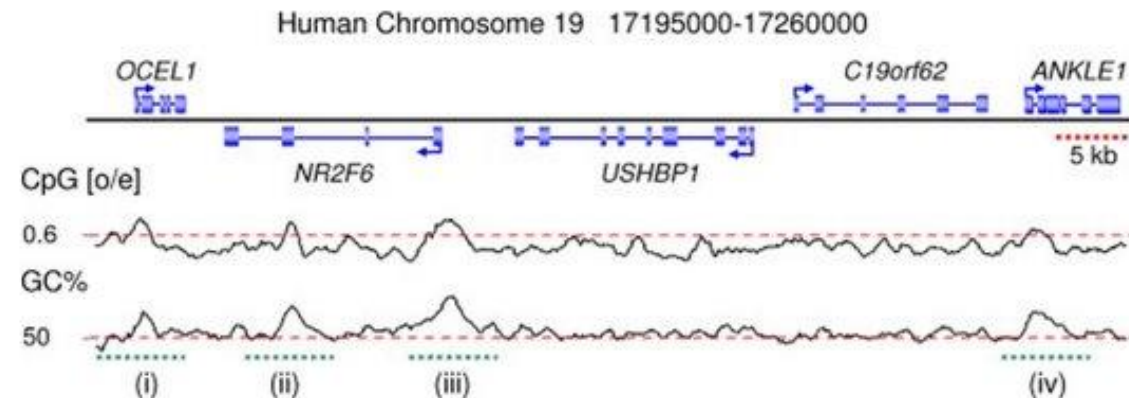
Islas CpG

- No provoca cambios en la secuencia. Sin embargo, en vertebrados la mayoría del genoma se encuentra metilado provocando un sesgo en la distribución de CpGs a lo largo del genoma a nivel evolutivo.

	Frecuencia nucleotídica observada	Frecuencia de CpGs esperada	Frecuencia de CpGs observada
Citosinas	0.2	0.2×0.2	0.008
Guaninas	0.2	0.04	

- La frecuencia observada de CpGs en el genoma es 5 veces menor que la esperada por azar

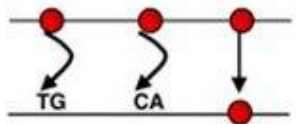
- Localizaciones concretas del genoma (principalmente promotores, no metilados) presentan enriquecimientos en dinucleótidos CpGs (Islas CpG)



Islas CpG

- Diferentes regímenes evolutivos mantienen los sesgos de distribución de CpGs en el genoma

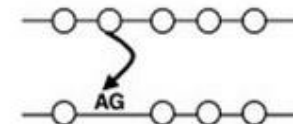
A 5mCpG-Genomic background



Rapid deamination
Low CpG content

- La metilación global de citosinas aumenta la probabilidad de desaminación en la mayoría del genoma, eliminando los dinucleótidos CpGs por TpGs

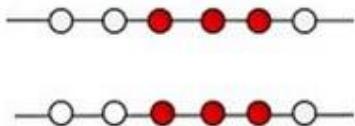
B Bird's hypodeaminated regime



Low deamination
High CpG content

- Zonas hipometiladas como promotores no presentan esta tendencia elevada de desaminación, favoreciendo la conservación de CpGs

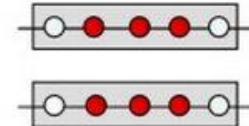
C CpG selection



Low CpG loss rate
High CpG content

- Existen regiones donde a pesar de la metilación los CpGs, estos son conservados

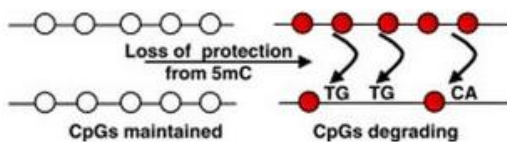
D Exon or general selection



Selection on non CpG + CpGs
High G+C, CpG content

- Regiones donde se selecciona positivamente una elevada composición de GC y por lo tanto existe mayor probabilidad de formar CpGs

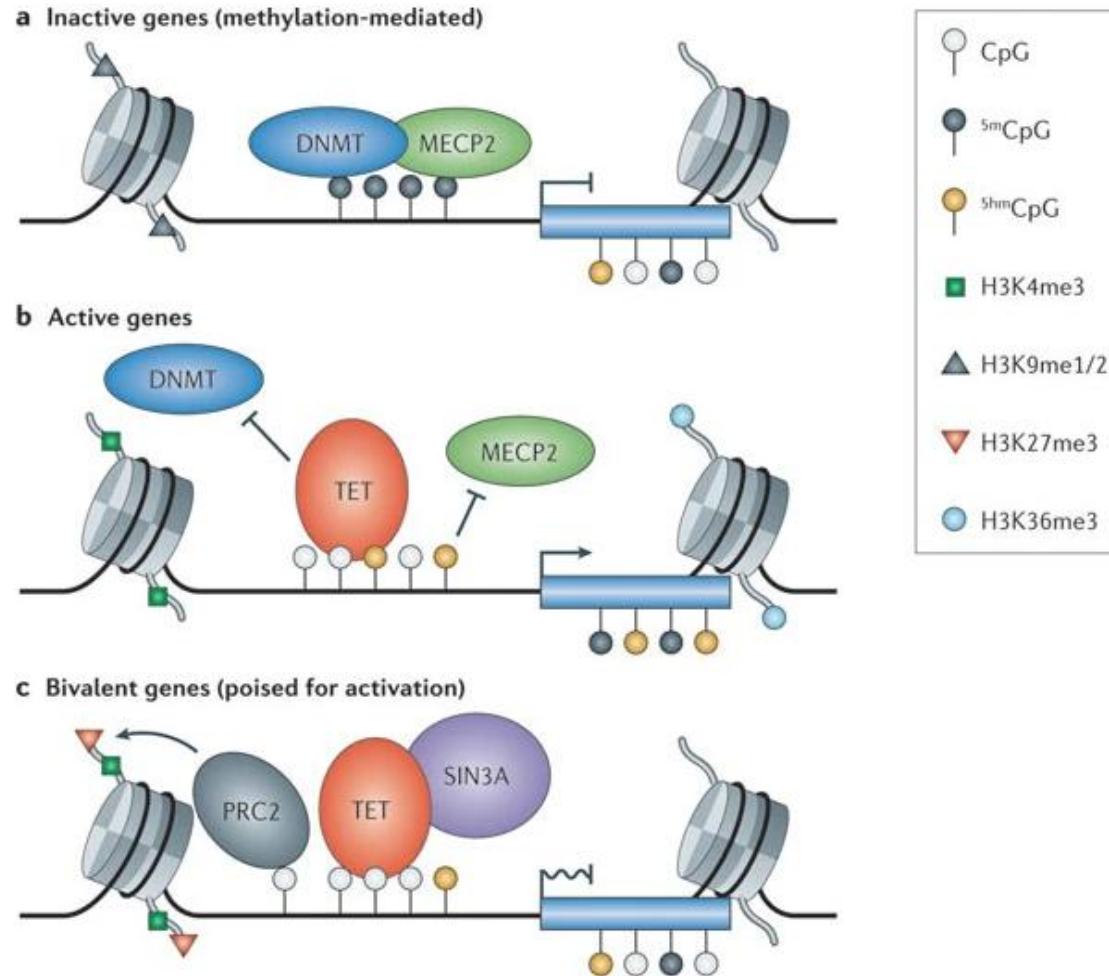
E CpG decay



Recent increase in deamination rate
CpG content is decreasing

- Hay islas CpG recientemente metiladas en ciertas especies que acaban de iniciar su proceso de desaparición (desaminación)

Relación Histonas – Metilación



Genes inactivos:

Promotor metilado

Cuerpo génico no-metilado

H3K9me1/2

Genes activos:

Promotor no-metilado

Cuerpo génico metilado

H3K4me1/3 + H3K36me3

Genes bivalentes:

Promotor no-metilado

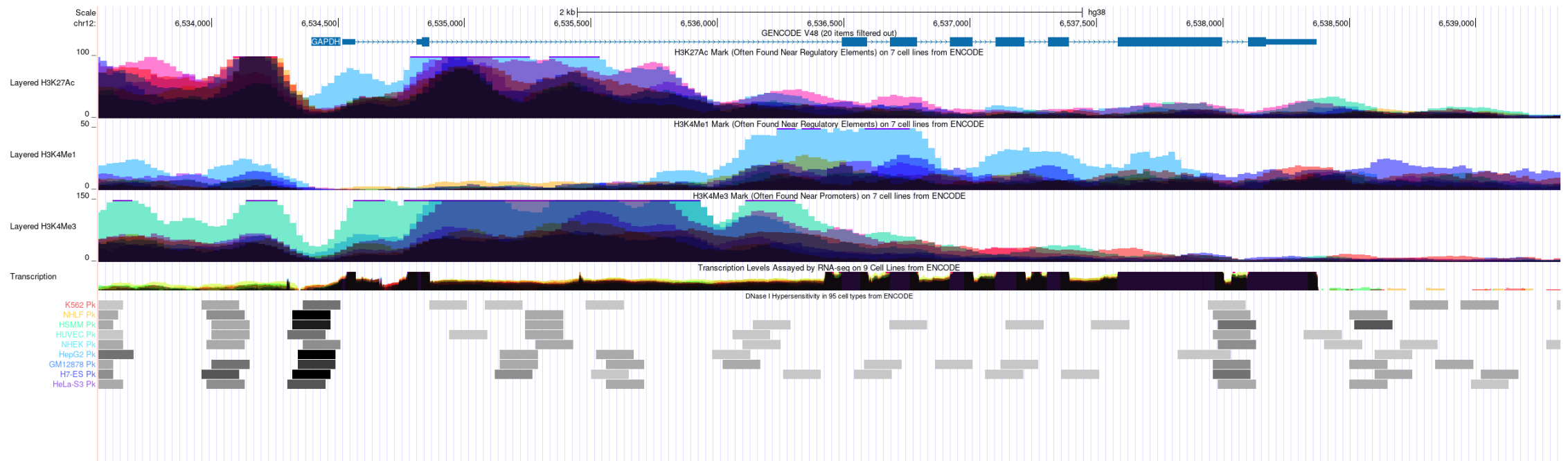
Cuerpo génico no-metilado

H3K4me3 + K3K27me3

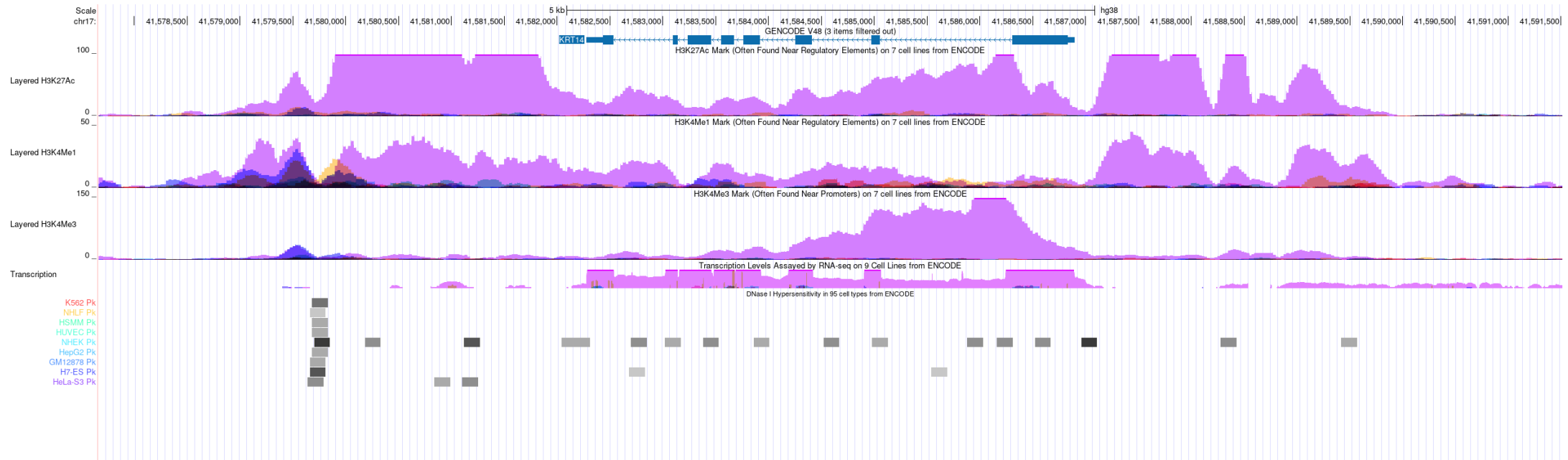
Actividad UCSC

Busca los genes GAPDH y KRT14 (Proteína estructural del citoesqueleto, importante en la formación de queratina en células epiteliales) en el ensamblado GRCh38 de humanos, observa la relación entre las marcas químicas de las histonas y la expresión de los genes.

Representaremos las pistas de ENCODE REGULATION: Transcription, H3K4me1, H3K4me3, H3K27Ac y DNase HS.



Actividad UCSC



¿Qué diferencia observas entre los perfiles de los genes? ¿Por qué?

Busca qué significa la pista DNase HS