

Regulación Génica 4

Guillermo Barturen Briñas
(gbarturen@ugr.es)

Regulación Postranscripcional

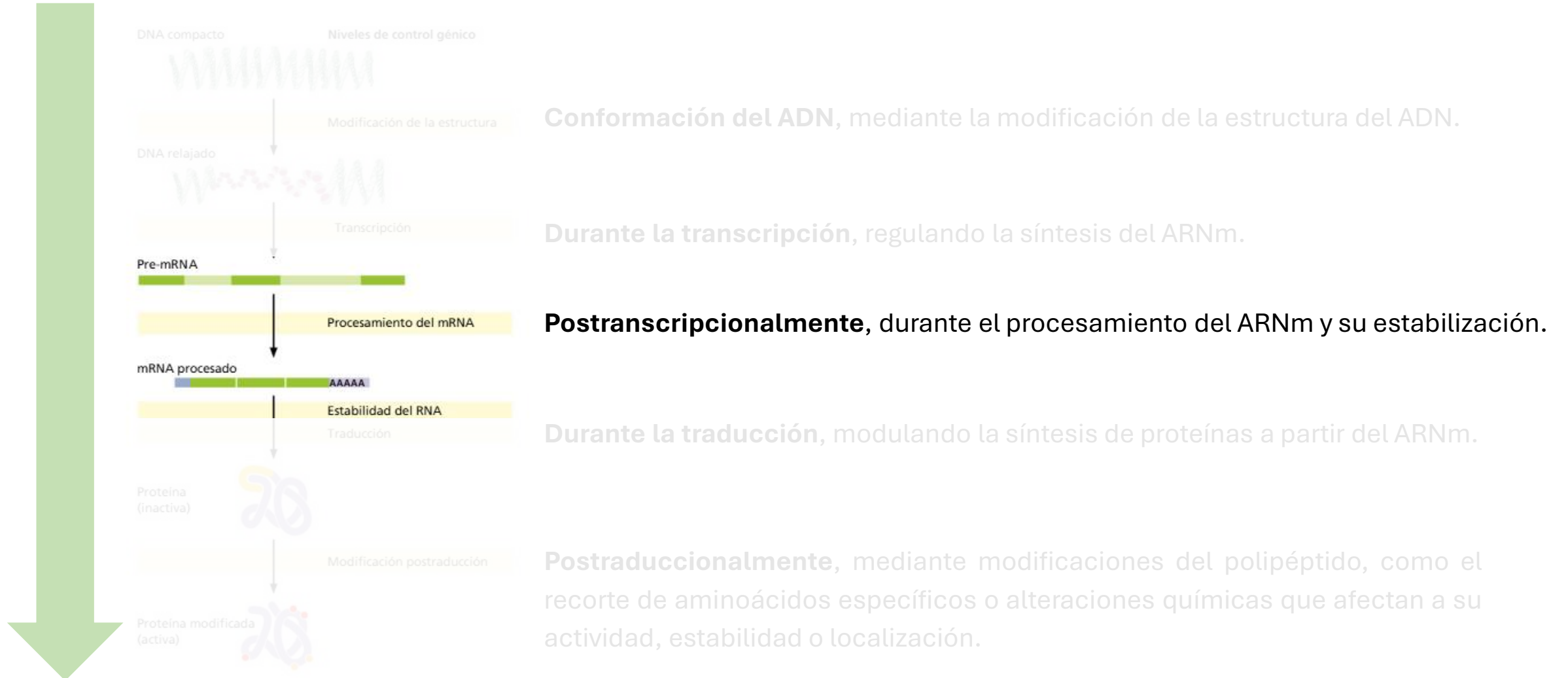


Figura 16.1 tomada de Pierce, Genética: Un enfoque conceptual 5ª edición

Regulación Postranscripcional

En eucariotas, este es un nivel crucial en el control de la expresión génica

Mecanismos de control postranscripcional

Corte y empalme alternativo

Estabilidad del ARNm

Silenciamiento mediado por ARNs no codificantes

Corte y Empalme Alternativo

Es la selección de los exones que formarán parte del ARNm

pre-ARNm → múltiples ARNm (isoformas) → múltiples proteínas a partir del mismo ADN

95% de los genes humanos presentan múltiples exones

3 isoformas por gen de media en humanos

Diferentes funciones, receptores de membrana, localización celular, niveles de actividad...

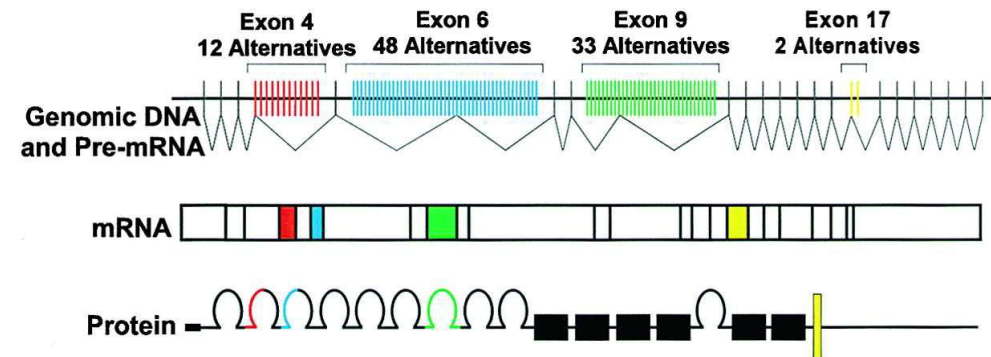
Control tejido específico y en diferentes momentos del desarrollo

Gen Dscam (*D. melanogaster*)

Codifica una proteína guía para el crecimiento de axones

Teóricamente 38.016 isoformas

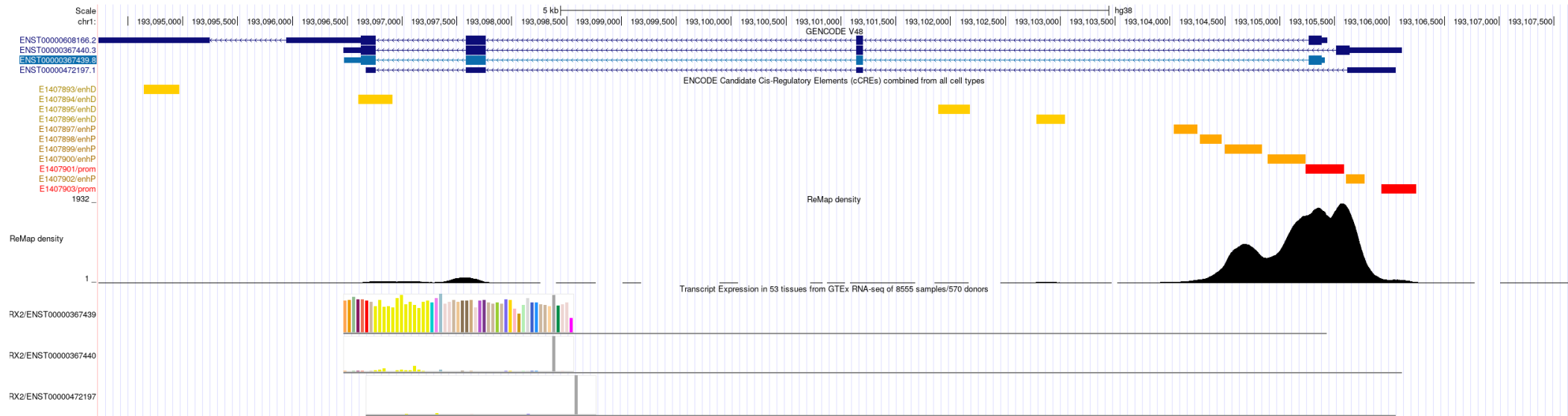
Cada neurona expresa un subconjunto de isoformas que actúa como “tarjeta de identidad” para guiar sus conexiones



Actividad UCSC

Busca el gen de la proteína GLRX2 (Enzima oxidorreductasa mitocondrial involucrada en la homeostasis redox, que protege a las células contra el estrés oxidativo) en el ensamblado GRCh38 de humanos, observa la expresión diferencial entre sus dos principales isoformas (ENST00000367439 y ENST00000367440) y la regulación diferencial de sus promotores alternativos con la densidad de factores de transcripción.

Representaremos las pistas de GENCODEV48, GTEx Transcript, ENCODE cCREs y ReMap ChIP-Seq.



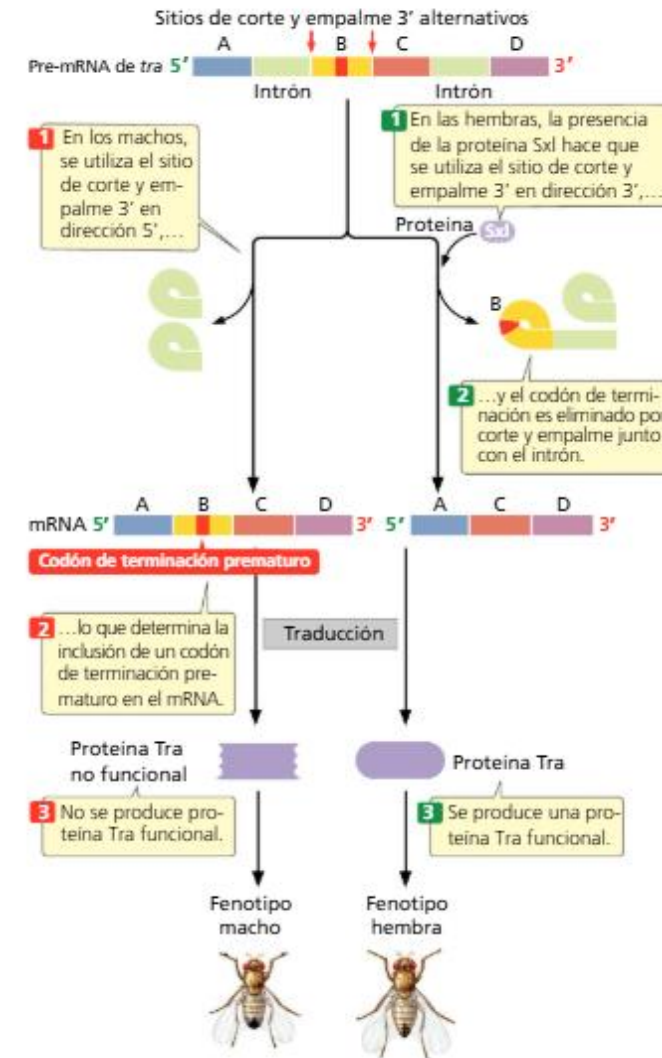
¿Qué diferencia cada isoforma? ¿En qué tejidos se expresa cada isoforma? ¿Qué elemento regulador determina la expresión de cada isoforma? ¿Qué relación existe con la densidad de factores de transcripción?

Corte y Empalme Alternativo

Determinación del sexo en *D. melanogaster*

♀ → Gen Sxl → Codón de terminación eliminado → Proteína Tra

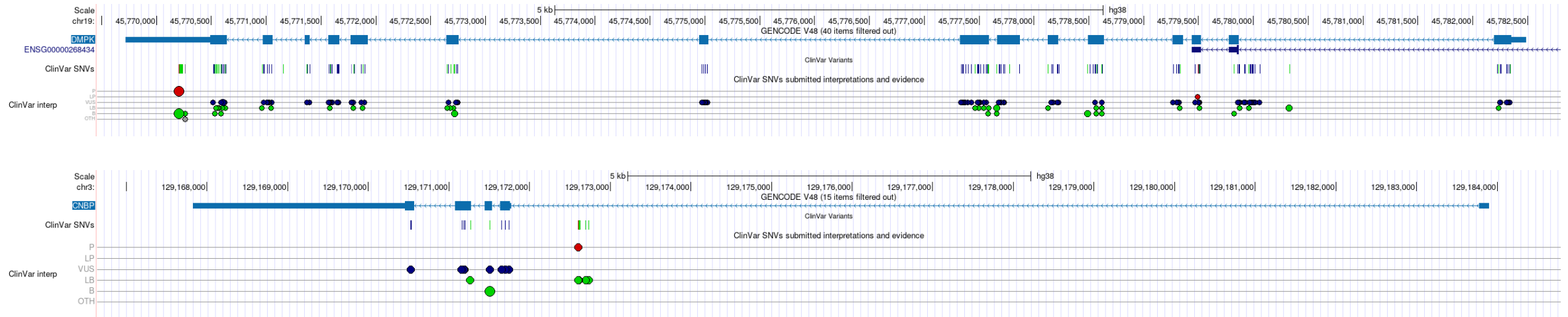
♂ → ~~Gen Sxl~~ → Codón de terminación → ~~Proteína Tra~~



Actividad UCSC

Busca los genes causantes de ambas distrofias miotónicas (DMPK – DM1 y CNBP – DM2), identifica cuáles son las variantes clínicas causales de ambas afecciones.

Representaremos las pistas de GENCODEV48 y ClinVar Variants (dense).



¿Cómo se recogen estas variantes patogénicas en la base de datos? ¿Qué significa B y P en la pista de anotación de las variantes? ¿Existe alguna otra variante patogénica en estos genes? ¿Qué enfermedad causa?

Estabilidad del ARN mensajero

La cantidad de ARNm disponible para su traducción está determinada por la velocidad de transcripción y de degradación (por ribonucleasas)

El tiempo de vida media en eucariotas es muy superior al de procariotas

Mecanismos que controlan la estabilidad del ARNm

Adición de la cola poli-A en 3'

Colas > 200 nts → proteínas de unión a poli-A (PABPC) que protegen y estabilizan

Colas < 30 nts → no protegidas y susceptibles a degradación por exonucleasas

Adición de caperuza 5'

Protege de la degradación por exonucleasas 5'-3'

Una cola poli-A larga protege la caperuza de enzimas de “decapitación”

Cola poli-A corta → Pierde PABPC → LSM1-7 → Recluta “decapitación”

Elementos de secuencia específicos

Elemento rico en adenina-uracilo (ARE) → Regiones 3'-UTR

Genes de respuesta rápida y vida media corta (crecimiento celular)

Inducen el acortamiento de la cola poli-A

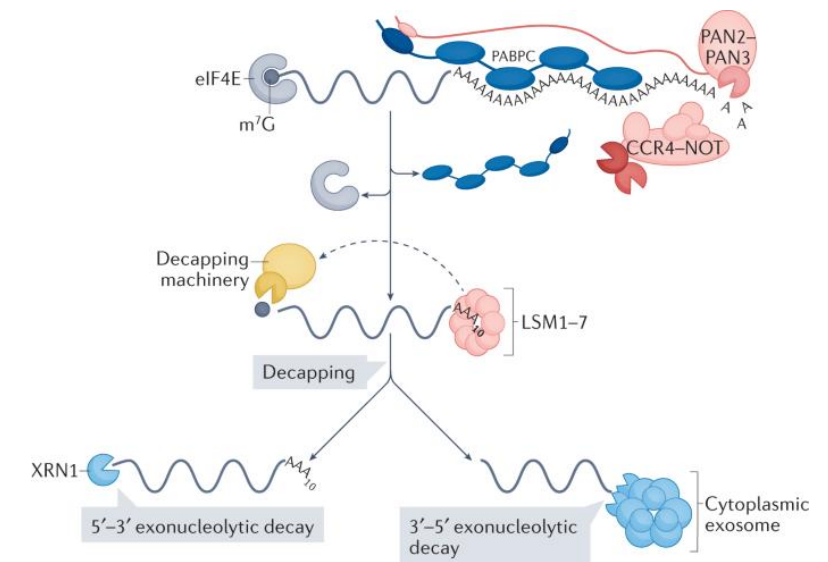


Figura tomada de doi.org/10.1038/s41580-021-00417-y

ARN no codificante

Ejercen un control “*fino*” y rápido en la expresión de genes postranscripcionalmente

Mecanismos de acción

Regulando la estabilidad del ARNm

Limitando su capacidad de ser traducido

Influyendo en la estructura de la cromatina mediante el complejo de silenciamiento de la iniciación de la transcripción inducido por ARN (RITS, mecanismo epigenético)

Tipos de ARNs no codificantes

ARNs cortos no codificantes: ARNsi, ARNmi o ARNpi

ARNs largos no codificantes

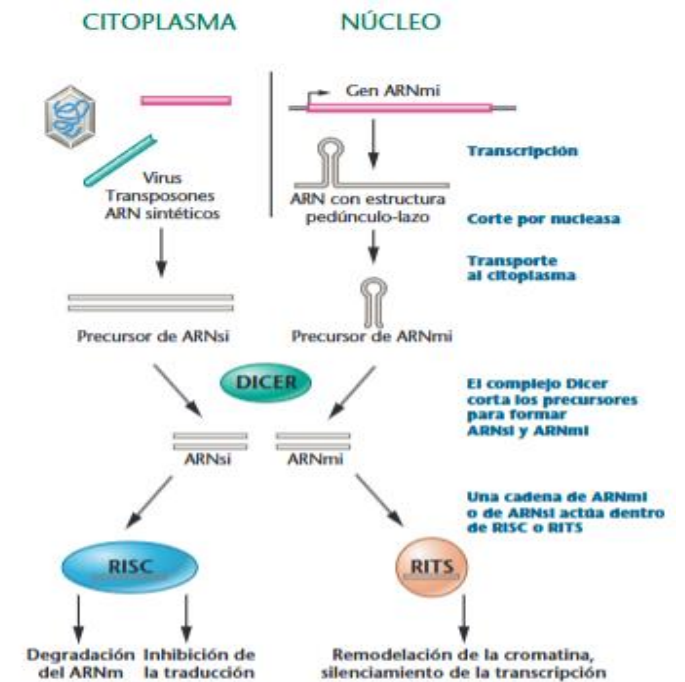


Figura 17.16 tomada de Klug, Conceptos de Genética 10ª edición

ARNs Cortos No-codificantes

ARNmi y ARNsi

	ARNmi	ARNsi
Origen	Endógeno	Exógeno
Tamaño	~19-25 nts	~21-23nts
Estructura	Tipo horquilla	ARNds
Procesamiento	Drosha + Dicer	Dicer
Complementariedad	Parcial "semilla"	Total
Mecanismo	Inhibir traducción Degradación ARNm Epigenético	Degradación ARNm Epigenético
Función	Regulación fina de la expresión endógena	Defensa antiviral

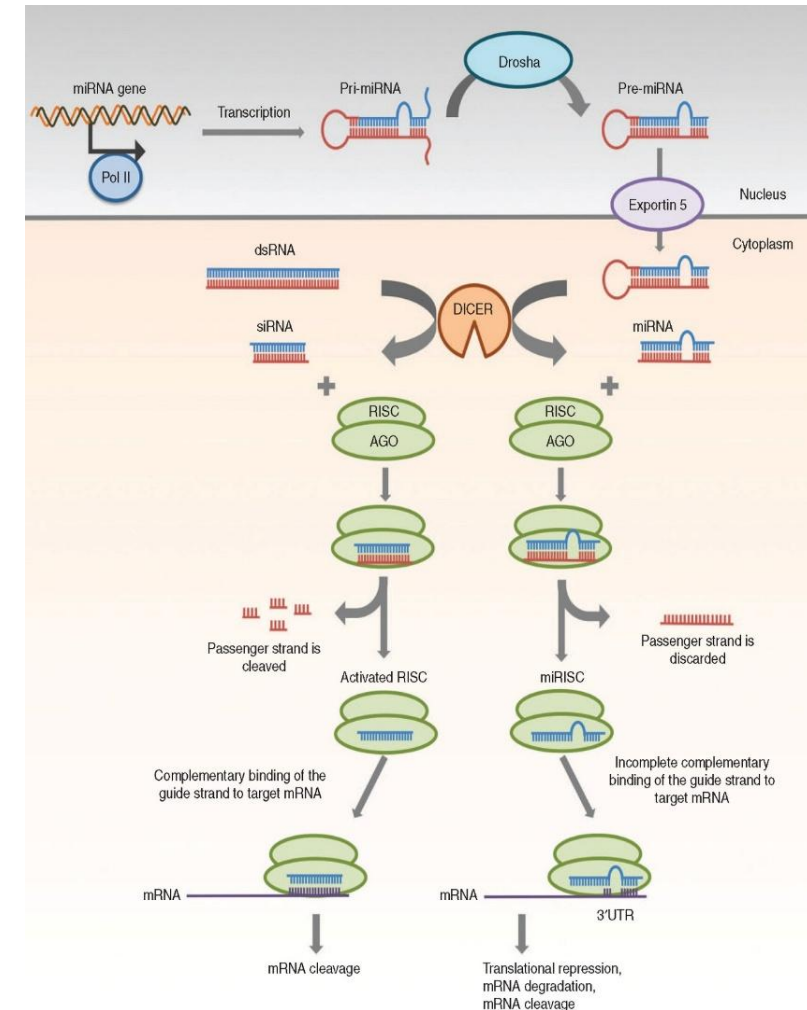


Figura tomada de doi.org/10.1038/mtna.2015.23

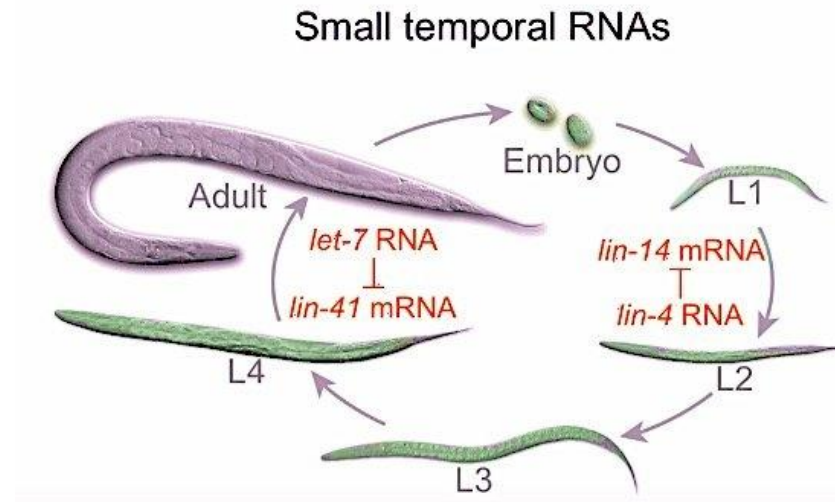
ARNs Cortos No-codificantes

Lin-4 el primer ARNmi descubierto

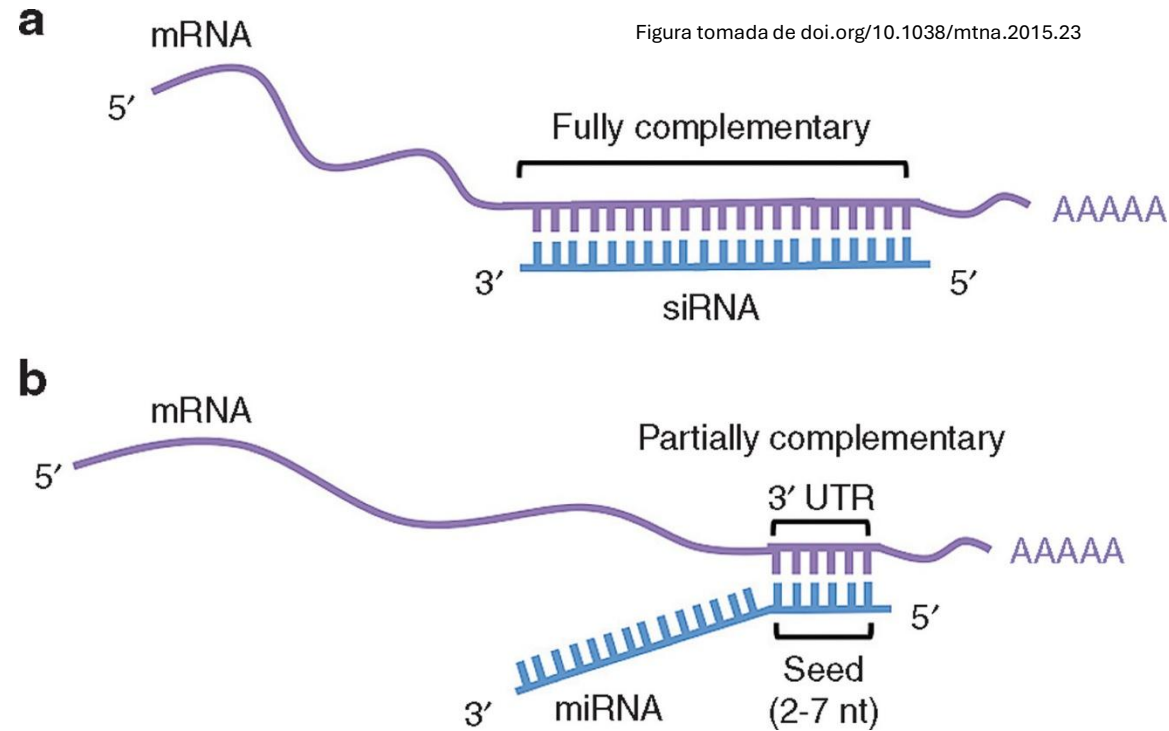
Los ARNmi presentan un papel fundamental en el desarrollo de *C. elegans*

El gen *lin-14* se sobre-expresa en la fase larval L1 cumpliendo funciones necesarias para el desarrollo. El paso a L2 requiere de su rápida desaparición mediada por *lin-4* que se une a 3'-UTR.

La inhibición de otro gen *lin-41* también está mediada por otro ARNmi (*let-7*) siendo fundamental en el desarrollo del individuo adulto.



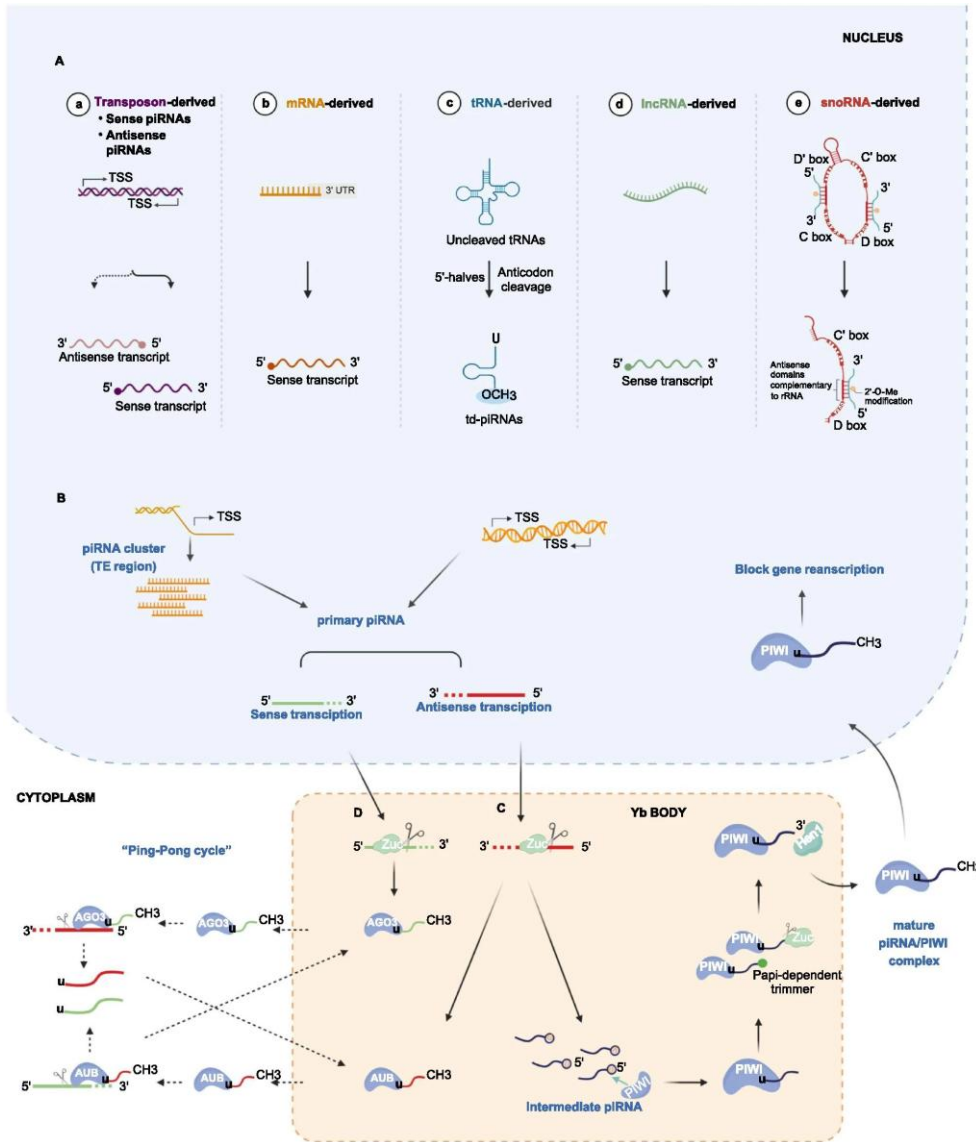
ARNs Cortos No-codificantes



¿Cuál puede ser el mejor tipo de molécula para aplicaciones terapéuticas ARNmi o ARNsi?

Considerar: especificidad, efectos off-target, estabilidad, delivery, regulación endógena

ARNs Cortos No-codificantes



<https://doi.org/10.1186/s13045-021-01104-3>

piRNA: (A/B) sus transcritos primarios pueden derivar de diferentes fuentes: transposones en regiones eucromáticas, mRNAs, tRNAs, lncRNAs, snoRNAs o loci que contienen múltiples secuencias de piRNAs (*clusters* de piRNAs). Los transcritos primarios se exportan a los cuerpos Yb en el citoplasma y son procesados por una endoribonucleasa llamada Zucchini, dando lugar a los intermediarios de piRNAs. (C) Los fragmentos 5' son cargados en el complejo Piwi donde son recortados en su extremo 3' hasta longitudes entre 24-31 nts, estos fragmentos se metilan en 3' mediante Hen1 dando lugar a su forma activa que es enviada de nuevo al núcleo para cumplir su función (principalmente silenciar elementos transponibles). (D) La ruta de amplificación "*ping-pong*" es un mecanismo secundario de producción de piRNAs en el citoplasma. Suele darse en líneas germinales, donde los intermediarios se unen a las proteínas AGO3 (principalmente intermediarios con A en posición 10) o AUB (principalmente intermediarios con U en 5'). Estos complejos contienen secuencias complementarias entre ellos, por lo que un complejo piRNA/AGO3 cortará su diana complementaria para generar secuencias sustrato para complejos piRNA/AUB y viceversa. Estos complejos actúan reclutando proteínas que inhiben la transcripción de elementos transponibles mediante cambios en las colas de las histonas o reclutamiento de metiltransferasas.

ARNs Largos No-codificantes

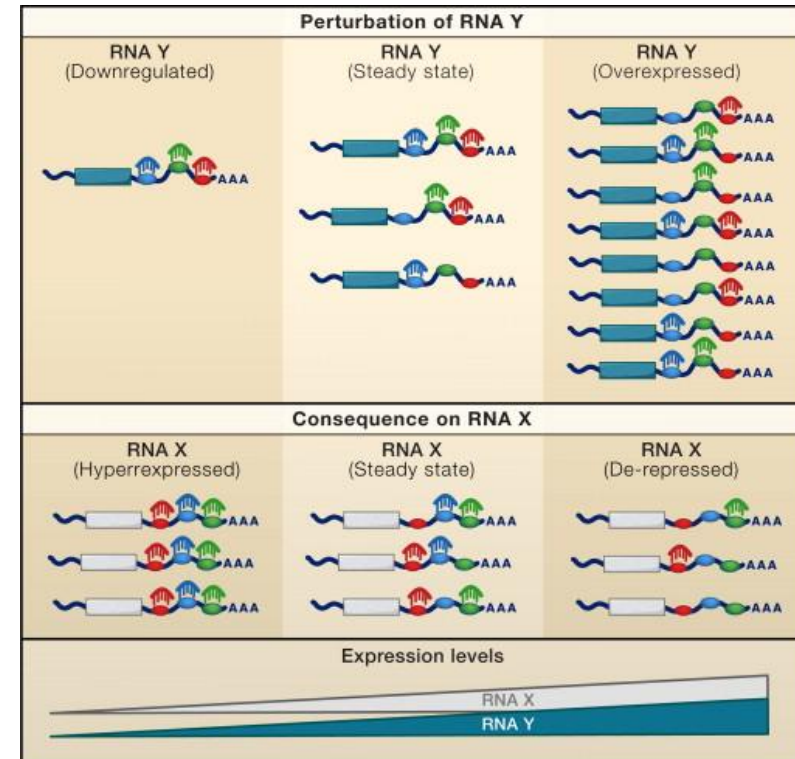
Moléculas de ARN > 200 nts que no codifican proteínas (ARNInc)

Mecanismos de acción

Regulación de la estructura de la cromatina, plataformas de anclaje de complejos remodeladores de la misma

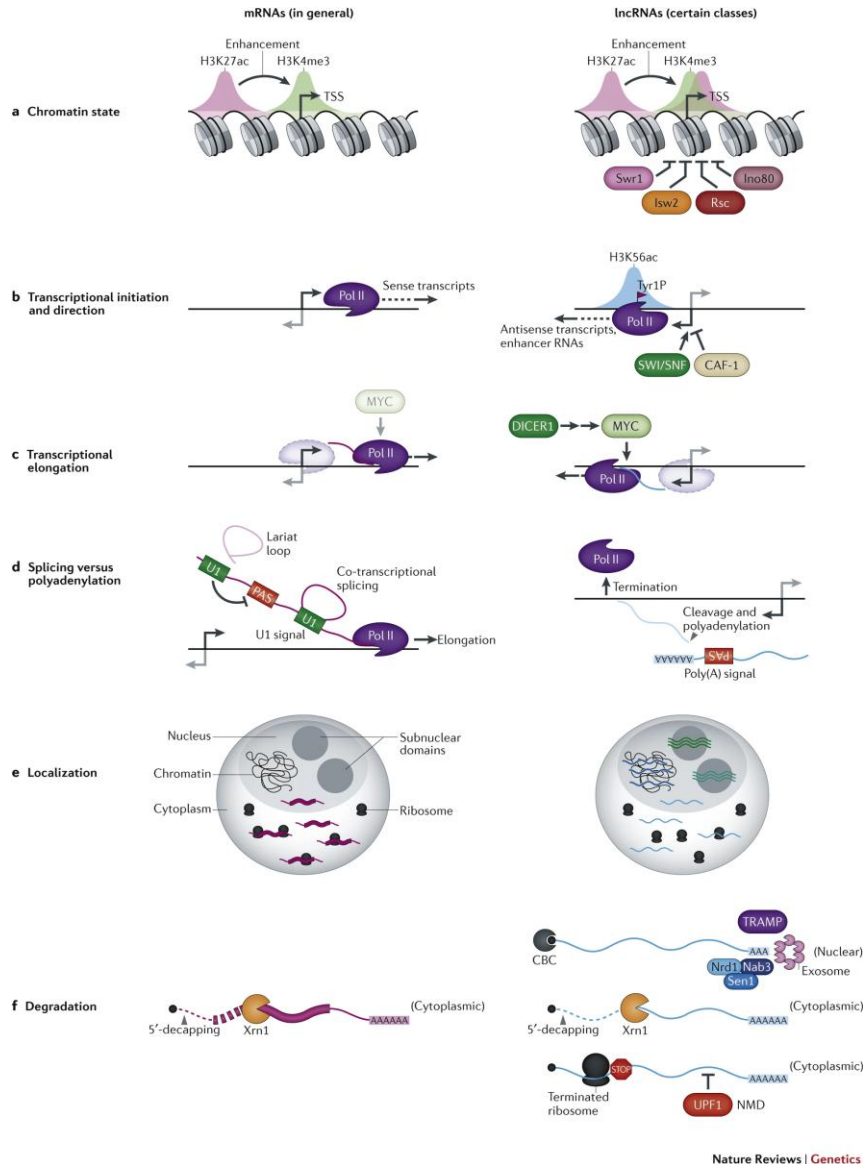
Control de la transcripción, se acumulan en los promotores impidiendo la unión de la ARN polimerasas

Regulando mecanismos postranscripcionales, sirviendo como “esponjas” de ARNm



Figurada tomada de doi.org/10.1016/j.cell.2011.07.014

ARNs Largos No-codificantes

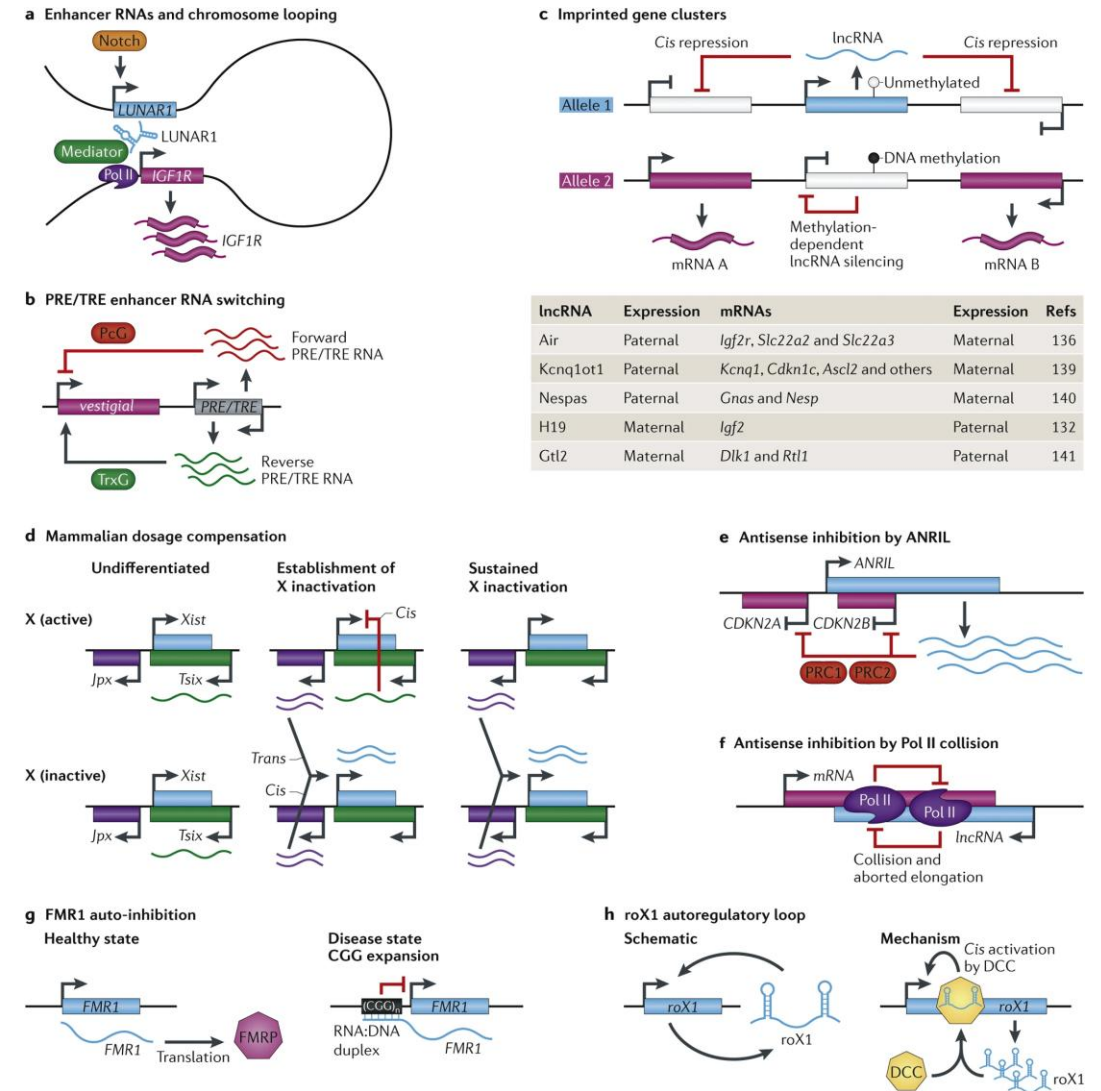


Existen otras diferencias en su regulación con respecto a los mRNAs:

- Estado de la cromatina similar pero mayor enriquecimiento de H3K27ac y mayor represión por parte de proteínas remodeladoras.
- lncRNAs antisentido en promotores bidireccionales presentan regulación diferente: activado por H3K56ac, complejo remodelador SWI/SNF y fosforilación del dominio Tyr1 de la RNAPol II.
- Elongación más dependiente del circuito de miRNAs y MYC que los mRNAs.
- En promotores bidireccionales enriquecimiento de maquinaria de splicing en los mRNAs y de poliadenilización en los lncRNAs antisentido (asegura su terminación eficiente y temprana).
- Localización diversa: citoplasma, cromatina, nucleosoma o dominios subnucleares.
- Degradación por múltiples vías: 5' decapping y digestión por exonucleasas 5'-3' (como los mRNAs), digestión mediante el complejo exosoma por exonucleasas 3'-5' o terminación prematura y via de "non-sense mediated decay" (NMD).

ARNs Largos No-codificantes

- Muchos lncRNAs son post-procesados para dar lugar a otras clases de ARNs no codificantes más pequeños como: miRNAs, snoRNAs, tRNAs...
- Sin embargo, también cumplen importantes funciones como lncRNAs:
 - a) Actúan formando bucles que facilitan la interacción entre potenciadores y los genes que regulan (*cis*)
 - b) Regulan mediante el complejo PRE/TRE (elementos de respuesta Polycomb / Trithorax) modifican el estado de la cromatina de genes cercanos.
 - c) Regulan genes cercanos en respuesta a cambios de la metilación mediados por impronta.
 - d) Contribuyen a la compensación de dosis del cromosoma X (Xist y su regulación).
 - e) Inhiben en *cis* la expresión por reclutamiento de Polycomb.
 - f) Inhiben en *cis* la expresión por colisión de las RNAPol II en ambas hebras.
 - g) Inhiben la transcripción por complementariedad en el promotor.
 - h) Pueden autoregularse reclutando los TFs necesarios.



ARNs Largos No-codificantes

Regulación de la inactivación del cromosoma X mediante la transcripción de un ARNlnc por el gen *Xist*

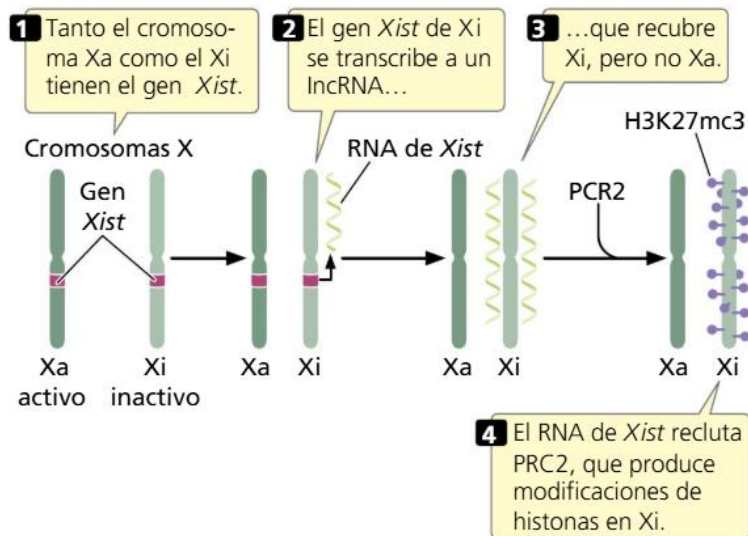


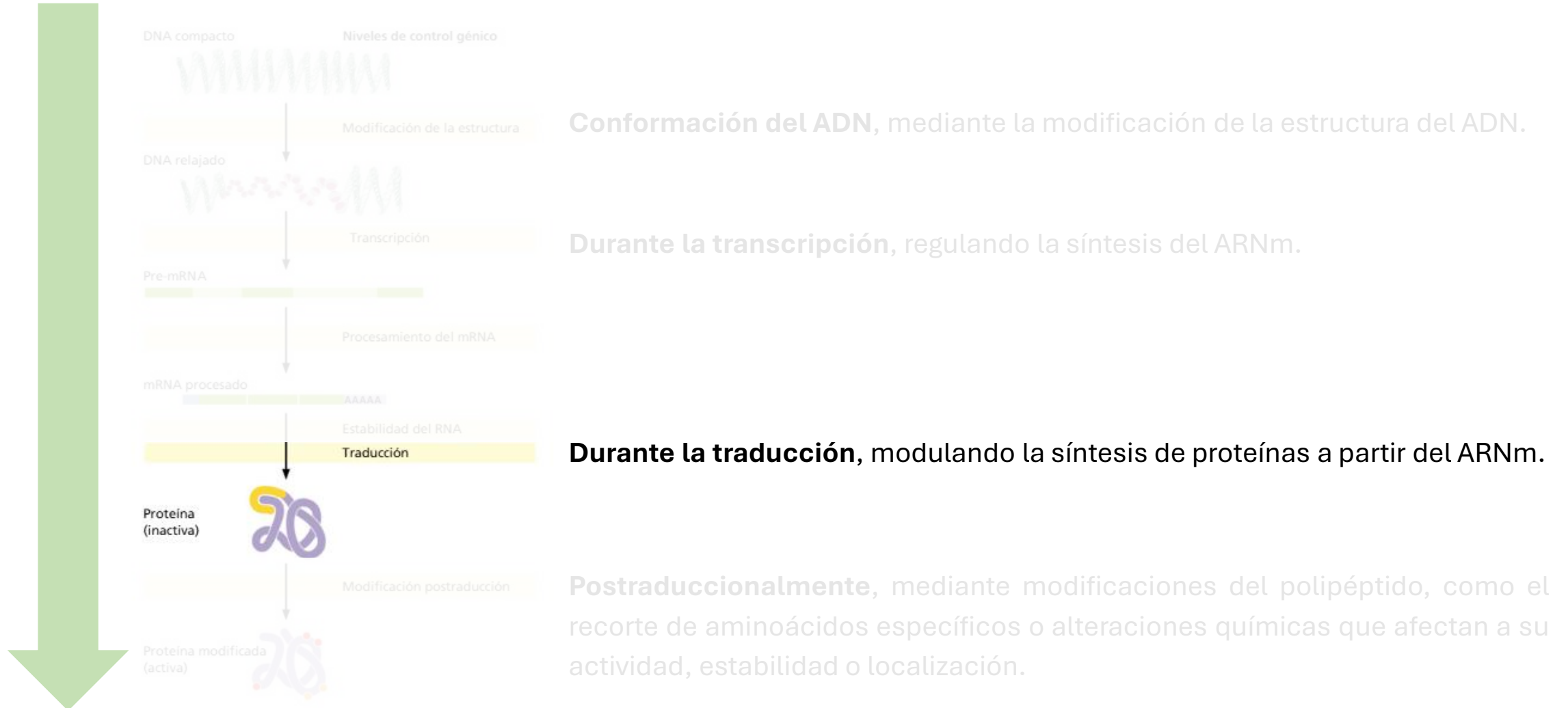
Figura 21.9 tomada de Pierce, Genética: Un enfoque conceptual 5ª edición

Durante la compensación de dosis en hembras de mamífero el gen *Xist* se expresa en el cromosoma que se inactivará

Xist recubre el cromosoma y recluta el complejo PRC2 marcando las H3 con trimetilaciones en K27 (H3K27me3) → compacta la cromatina

Finalmente, los CpGs en ese cromosoma son metilados estableciendo un silenciamiento estable y heredable

Regulación de la Traducción



Regulación de la Traducción

Afecta al inicio y velocidad de traducción

Mecanismos de acción

Disponibilidad de los elementos necesarios para traducción regula la velocidad de esta: ribosomas, ARNt, factores de iniciación y de elongación

Proteínas de unión a 5'-UTR y 3'-UTR pueden regular el inicio de la traducción

Activación de linfocitos T

Crucial para la respuesta de células inmunitarias
Aumento 7-10 en la síntesis proteica

Antígeno → Aumento de factores de iniciación → Mayor unión de ribosomas → Mayor producción → Proliferación de linfocitos T

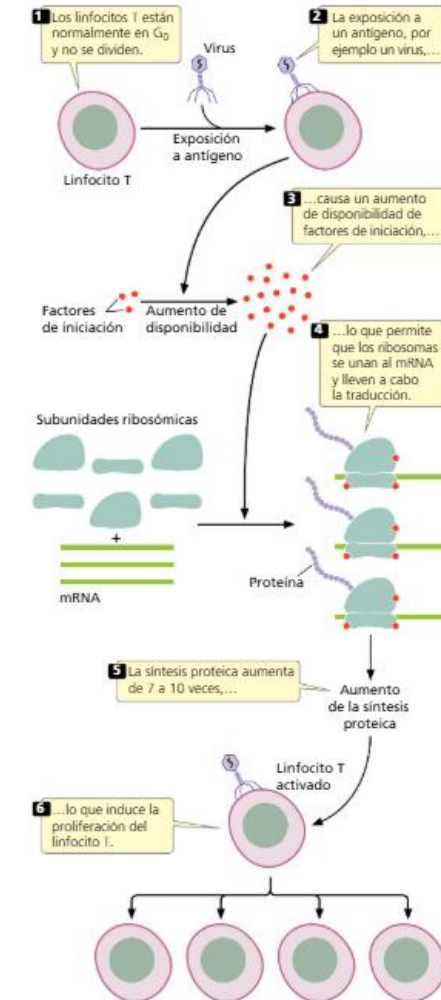
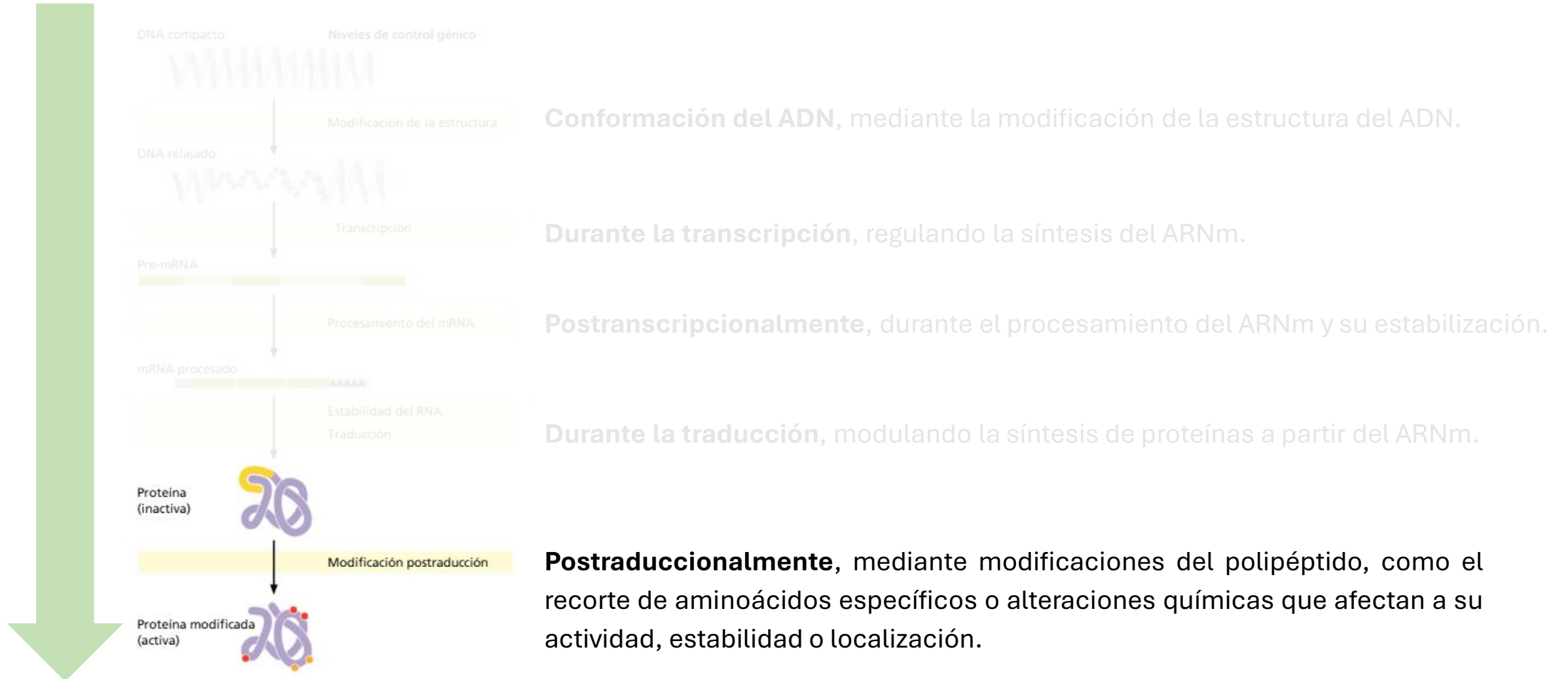
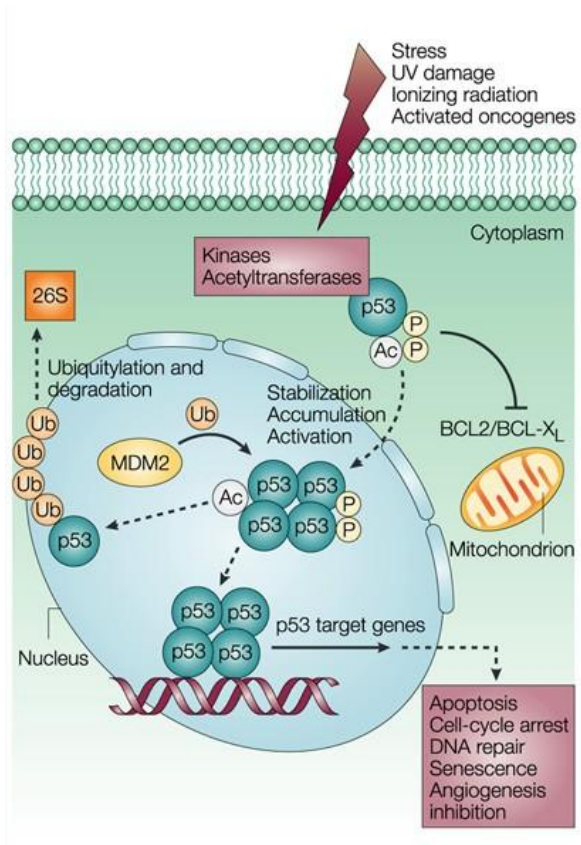


Figura 17.14 tomada de Pierce, Genética: Un enfoque conceptual 5ª edición

Regulación Postraduccional



Regulación Postraduccional



Figurada tomada de doi.org/10.1038/nrc1455

Modificaciones químicas que afectan al transporte, función y actividad

Mecanismos de acción

Escisión de aminoácidos de los extremos

Adición de grupos químicos a los aminoácidos

Proteína p53

Siempre se expresa

Estado normal → niveles bajos mediante ubiquitinización → degradación

Daño ADN o estrés metabólico → acetilación y fosforilación → activación