

Transcripción de RNAnh

Dr. Alfredo Rigalli

tabla de contenidos

Estructura del ADN.....	1
Enzimas que participan en la condensación descondensación de la cromatina.....	2
Histonas acetil transferasa.....	2
Histona deacetilasa (HDAC).....	2
Transcripción.....	3
Transcripción por DNA directed RNA polymerase II (POLR2A).....	3
Proteínas involucradas en la transcripción.....	3
DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB1	4
PAF1C (PAF1 complex).....	4
PAF1 (Q8N7H5).....	5
CDC73 (Q6P1J9).....	5
LEO1 (Q8WVC0).....	5
CTR9.....	5
RTF1 (Q92541).....	5
WDR61 (Q9GZS3).....	5

Revisaremos algunos conceptos de la estructura de genes y cromatina para comprender algunos detalles del proceso de transcripción.

Estructura del ADN

Revisemos brevemente la estructura del ADN. Esta molécula es una doble hebra complementaria antiparalela de nucleóticos unidos por uniones fosfodiéster.

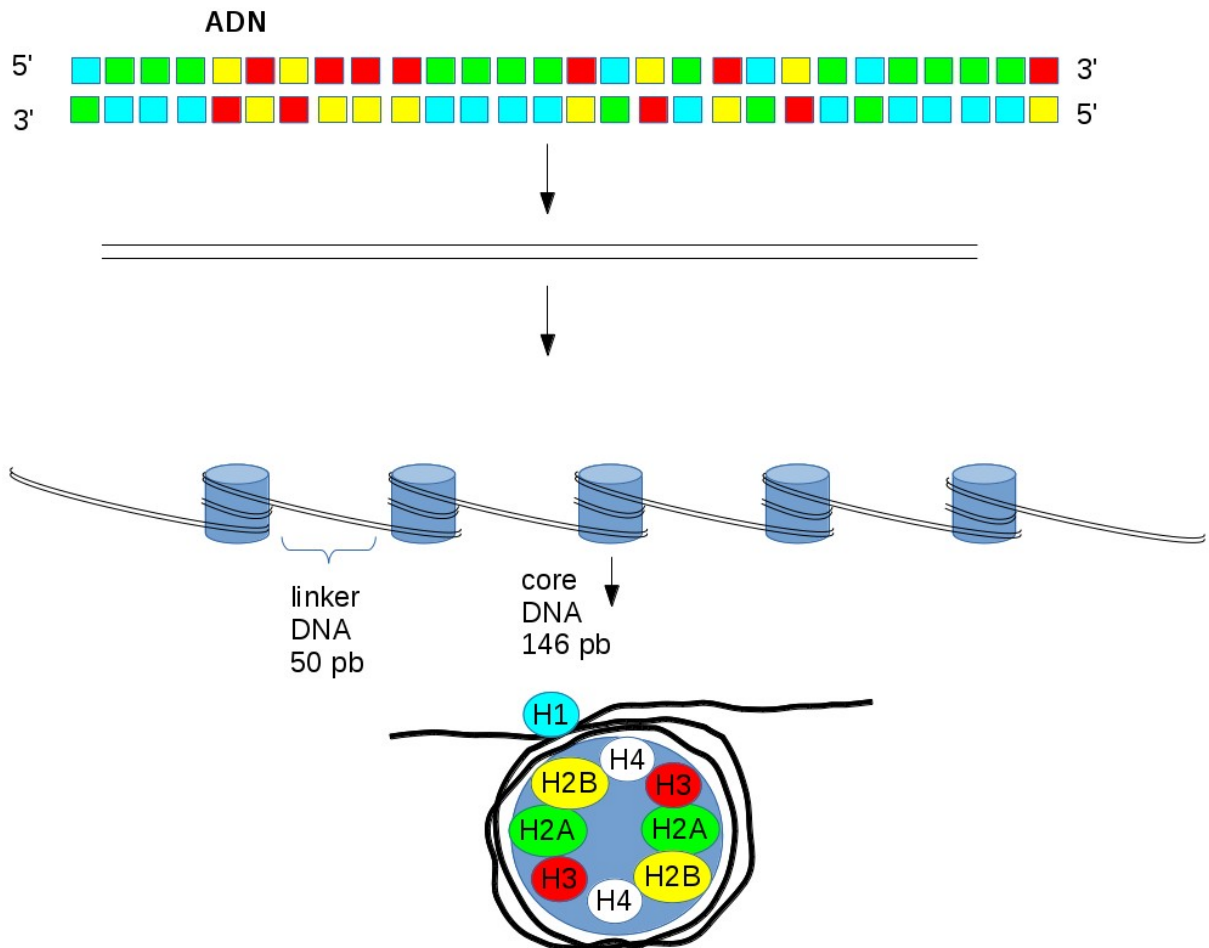
En la figura siguiente se muestra una simplificación. Debemos recordar la complementariedad de las bases nitrogenadas: Adenina (en rojo) y timinas (en amarillo) se complementan ya que establecen dos puentes de hidrógeno. Por otro lado las bases Citosina (en verde) y guanina (en celeste) se complementan estableciendo dos puentes de hidrógeno.

De esta manera el ADN se constituye en una doble cadena, que se representa esquemáticamente en la figura como una doble fila de cuadrados: rojos, amarillo, verdes y celestes, con las complementariedades indicadas. Por otra parte las hebras son antiparalelas, significando que en la hebra representada en la parte superior, queda libre el oxhidrilo de la desoxirribosa de la posición 5' a la derecha, mientras que en la hebra inferior, a la derecha queda libre el oxhidrilo 5' de la molécula de desoxirribosa.

Representamos entonces esta estructura compleja, de una manera simplificada por dos líneas paralelas como lo muestra la figura,

Esta doble hebra se enrolla alrededor de proteínas conocidas como histonas, constituyendo nucleosomas. Los nucleosomas son estructuras formadas por DNA y octámeros de histonas y que son un claro obstáculo al avance de la RNA polimerasa DNA dirigida (POLR2A).

El nucleosoma tiene dos vueltas de DNA de aproximadamente 146pb (core DNA) y se hallan separados de otros nucleosomas por 50 pb (linker DNA). El nucleosoma está formado por 8 histonas (entre paréntesis se muestra el número de unidades de cada una que forman el octámero): H2A (2), H2B(2), H3(2), H4(2) y la H1 por fuera del nucleosoma.



H1: histona que se une a los DNA linkers y permite la formación del superenrollamiento de cromatina.

Dos enzimas claves controlan el grado de acetilación de las histonas y de esta manera la expresión de los genes: son las enzimas histona acetil transferasas y las histonas desacetilasas. Existen diferentes enzimas con esta actividad. Nombraremos algunas

Enzimas que participan en la condensación descondensación de la cromatina

Histona acetil transferasa (HAT)

Enzima que acetila las 8 histonas del core del nucleosoma a través de la reacción

Histona + Acetil CoA -----> histona-acetato + CoA

Como la acetilación se produce sobre residuos de lisina, se produce pérdida de la carga positiva de las histonas y disminuye la interacción entre ADN e histonas, permitiendo el desenrollamiento del nucleosoma y favoreciendo la expresión génica.

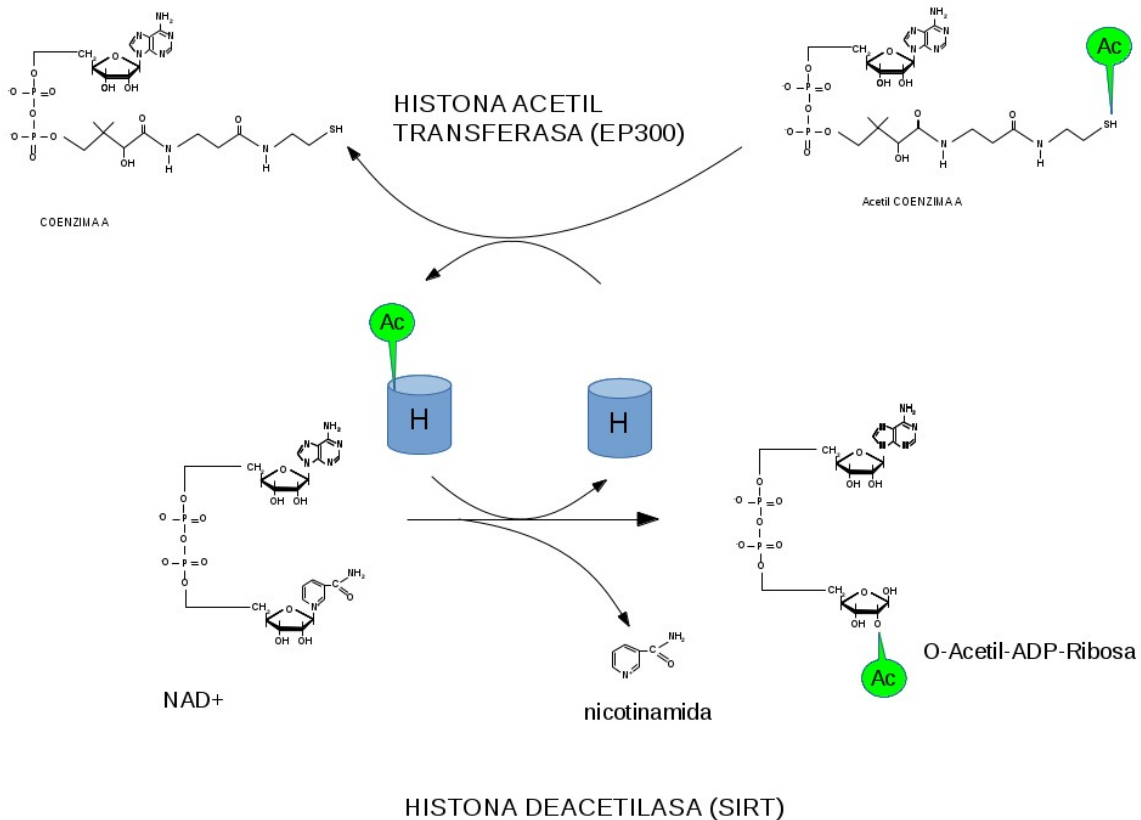
Existen diversos tipos: HAT1, p300/EP300, MYST

Histona deacetilasa (HDAC)

Enzima que desacetila las histonas. Producen el efecto contrario a las HAT. Al quitar el acetato de las lisinas favorece la condensación de la cromatina. Existen varios tipos HDAC1-11, SIRT1-7.

Las histonas deacetilasa de la familia SIRT son NAD dependientes y catalizan la reacción
 acetil proteína + NAD -----> proteína + nicotinamida + O-acetil-ADP-ribosa

La figura siguiente representa el proceso de acetilación y desacetilación de histonas



Además de la descondensación de la cromatina, la unión de factores transcripcionales es un evento necesario para la transcripción. Son numerosos los factores transcripcionales que se unen al sitio de inicio de la transcripción. Son conocidos: TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIF, TFIIH. Estos se unen a la zona TATA box junto con la proteína TBP (TATA box binding protein) para el inicio de la transcripción junto con la POLR2A. Este complejo se halla arrestado y su progreso depende del cambio de los estados de fosforilación del dominio carboxiterminal de la enzima que tiene repeticiones en tándem de aminoácidos con Tirosina (Y), serina (S), treoninas (T) y prolina (P): Y-S-P-T-S-P-S.

Transcripción

La transcripción es la formación de ARN a partir del ADN utilizado como molde por acción de enzimas conocidas como RNA polimerasas. Nos centraremos en la RNA polimerasa II (POLR2A) encargada de la síntesis de RNAm que dará origen al RNAm, con información para la síntesis de proteínas.

Transcripción por DNA directed RNA polymerase II (POLR2A)

La transcripción ocurre en tres etapas

- 1- iniciación de la transcripción en que la POLR2A se une a la región promotora del gen
- 2- elongación, en que la POLR2A sintetiza activamente el RNA en sentido 5'-3'.
- 3- paso de terminación en que intervienen diversos factores

Proteínas involucradas en la transcripción

DSIF (DRB sensitivity inducing factor)

NELF (negative elongation factor)

DSIF y NELF son reclutados por POLR2A inmediatamente después de la iniciación de la transcripción y causa inmediatamente el detenimiento de la POLR2A en el sitio conocido como "promoter proximal pause". En este punto la Ser-5 de la secuencia Y-S-P-T-S-P-S, está fosforilada. Positive transcription elongation factor b (P-TEFb/CDK9) fosforila la Ser-2 y se separa NELF, posibilitando así la transcripción, cambiando la función de DSIF de represor a activador. En esta situación se puede unir a PAF1C y Tat-SF1, en estas condiciones POLR2A puede catalizar la elongación.

POLR2A se halla en estado pausado en el promoter proximal pause y cambios en la fosforilación del CTD, pueden activarla produciendo la rápida expresión del gen.

DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB1

[P24928](#) (POLR2A)

Es la subunidad catalítica más importante junto con una segunda subunidad. Tiene un surco largo que interactúa con una unidad que abre y cierra el surco (clamp element) y otro elemento que une la simple hebra de DNA molde al surco (the jaw element). Durante la transcripción POLR2A se mueve sobre el molde de ADN a medida que la transcripción progresa. Durante la transcripción se fosforila el extremo C terminal de la subunidad RPB1 que sirve para unión de factores de iniciación, elongación y terminación.

la reacción catalizada es

Nucleosido trifosfato + RNA(n) = difosfato + RNA(n+1).

Tiene numerosos sitios de unión a Zinc y magnesio.

EC number: [2.7.7.48](#)

ES una cadena de 1970 aminoácidos.

Modificaciones

aminoácido 1: N-acetil metionina

varias fosfoserinas

en varios sitios N metil arginina

dimetil arginina

fosfotirosinas

fosfotreoninas

En el extremo C terminal (CTD) tiene una aproximadamente 50 repetición en tándem de un heptapéptido que puede ser hiperfosforilado y activa la transcripción. Esta secuencia se repite durante 300 aminoácidos desde el CTD. La fosforilación se lleva a cabo por CDK7 o CDK9

Heptapéptido: Y-S-P-T-S-P-S (tirosina-serina-prolina-treonina-serina-prolina-serina)

En algunos casos la secuencia consenso del heptapéptido puede estar cambiada la serina 7 por lisina: Y-S-P-T-S-P-K. Esta lisina puede ser acetilada por EP300

puede ser ubiquitinada por WWP2 y degradada en proteosoma

Según HPA se expresa prácticamente en todos los tejidos a nivel de RNA y proteínas

El complejo de la RNA polimerasa II está formado al menos por 12 proteínas

PAF1C (PAF1 complex)

PAF1C es un complejo ampliamente conservado en especies y cumple un rol crucial en la transcripción y en la modificación transcripcional de histonas. Se une a la RNA polimerasa II (POLR2A) a través del CTD desfosforilado y fosforilado en serina 2 y 5. Juega un rol importante en la elongación, actuando independiente o sinérgicamente con TCEA1 y en cooperación con DSIF complex y HTATSF1.

PAF1C juega un rol importante también en la ubiquitinación H2B y en la metilación de H3. El

reclutamiento de RNF20 y UBE2A o UBE2B (ubiquitin proteín ligasa) para ubiquitinación de H2B es un requisito para la metilación de H3

PAF1C también se halla unido al extremo 3' interactuando con cleavage y polyadenylation factor.

PAF1C está formado por: PAF, CDC73,LEO1, CTR9, RTF1, WDR61

PAF1 ([Q8N7H5](#))

PAF1 (RNA polymerase II-associated factor 1 homolog): RNA polymerase II-associated factor 1 homolog. Es una cadena de 531 aminoácidos que se halla en núcleo, pero no en nucléolo y cromatina perinuclear.

CDC73 ([Q6P1J9](#))

Parte del complejo PAF1 (PAF1C). Proteína supresora de tumores, involucrada en el progresión del ciclo celular, regulando la expresión de ciclina D1/PRAD1

LEO1 ([Q8WVC0](#))

RNA polymerase-associated protein LEO1

parte del complejo PAF1C. Se une a PAF1 a través de una lámina beta antiparalela

CTR9

juega un rol crucial en la formación de PAF1C generando la plataforma de unión (scaffold)

RTF1 ([Q92541](#))

RNA polymerase associated protein RTF1

WDR61 ([Q9GZS3](#))

WD repeat-containing protein 61