T11. SÍNTESIS DEL ARN. TRANSCRIPSCIÓN.

Debemos tener en cuenta que la replicación y la transcripción pertenecen a dos vías completamente independiente y que no se dan en los mismos momentos temporales, por ello presentan un diseño diferente. Pertenecen a la vía de la transmisión génica y a la vía de la expresión génica, respectivamente.

La vía de transmisión (replicación), que únicamente tiene lugar cuando la célula va a dividirse, para así obtener el doble del material genético y poder transmitirlo a las dos células hijas, no tiene nada que ver con la vía de expresión de la información genética (paso de información del DNA a RNA mediante el proceso de transcripción y su posterior traducción para dar lugar a las cadenas peptídicas), que está ocurriendo continuamente.

TRANSCRIPCIÓN

Principal punto de control de la expresión genética

DNA → RNA

*La **expresión genética** se refiere al procese en que la información contenida en una secuencia de DNA se traduce en un producto que tiene un efecto en la célula u organismo que lo expresa.*

Características generales de la transcripción

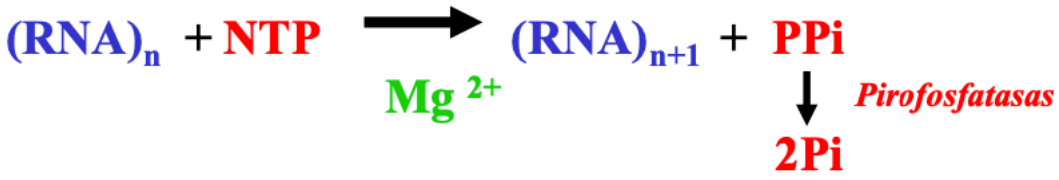
- **Proceso conservativo**: el DNA no se modifica, simplemente se copia.
- **Proceso selectivo**: Selecciona aquellos genes que se van o no a transcribir y dentro de los genes copia solamente la información de una de las hebras que es la que contiene la información. Se delimita el segmento de la hebra que se va a transcribir.
- **Independiente al ciclo celular**: responde a las necesidades de la célula en cada momento.
- Existen **tantos orígenes de transcripción como genes**. Hay genes cuya transcripción puede comenzar desde diferentes puntos.
- Es **unidireccional**: macroscópica y bioquímicamente (5'→3').
- **Regulado estrictamente**: es el punto principal de control de la expresión génica.
- **Sin posibilidad de corrección de errores**: tasa de error de $10^{-4}/10^{-5}$.
- Realizado **por RNA polimerasas**: se trata de enzimas de elevado peso molecular, son más lentas copiando (**50 nucleótidos/segundo**) y presentan una mayor tasa de error.
- **Estrictamente regulado.**

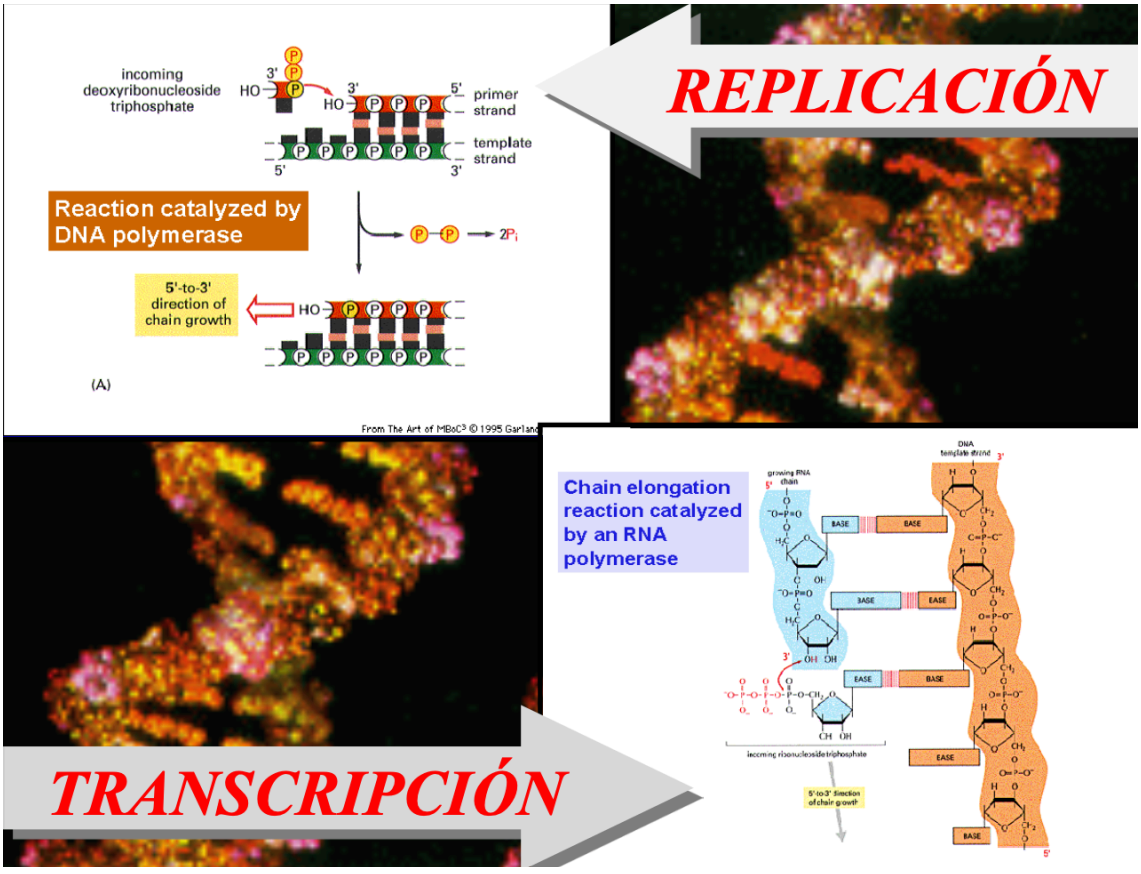
Características de la RNA polimerasa

Las **RNA polimerasas** son las principales enzimas de la transcripción.

Requerimientos para su funcionamiento:

- **Síntesis de RNA dirigida por la hebra molde de DNA**.
- **No requieren cebador**. Las RNA polimerasas pueden comenzar la transcripción a partir de dos ribonucleótidos trifosfato libres, uniéndolos mediante enlace éster, seleccionadas por complementariedad.
- Se utilizan como **sustratos** los **ribonucleótidos trifosfato (NTP)**, formando complejos con el **Mg^{2+}** que eliminan cargas negativas fosfato. Necesita aporte de energía que proporciona el trifosfato.
- Se trata de una reacción catalizan: polimerización en sentido 5'♋3'.
- Estas enzimas **no presentan actividad exonucleásica**, por lo que **no pueden corregir errores**, ya que no se trata de enzimas de doble lectura.





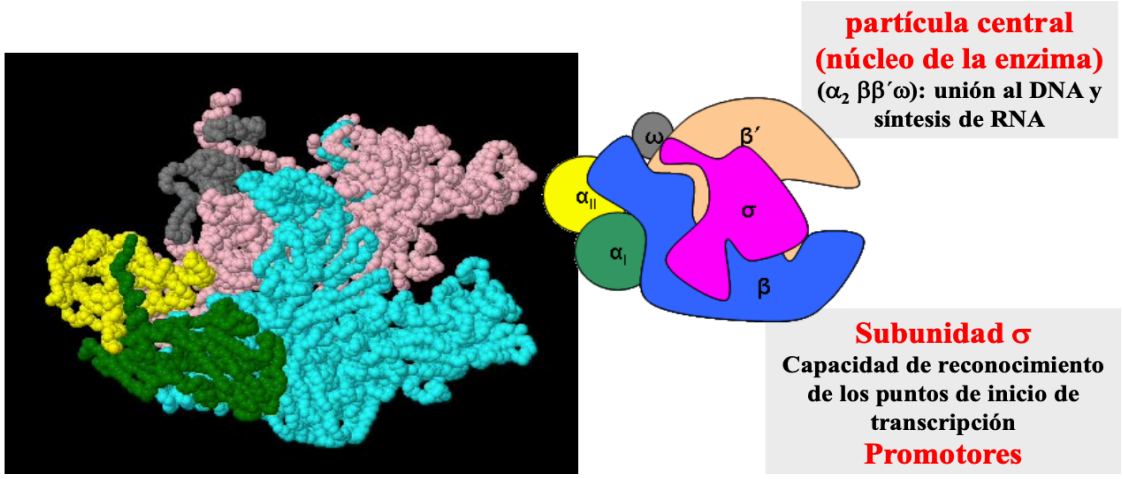
RNA polimerasas de procariotas y su función

Existe **un único tipo de RNA polimerasa en los procariotas**, que:

- Se encarga de la transcripción de todos los genes.
- Es autosuficiente, es decir, no requiere la ayuda de proteínas.
- Se trata de una **holoenzima (RNApol)** funcional, **compleja** (**450 kDa**, la mitad que la ADN-polimerasa, porque solo transcribe una hebra, no necesita ser un dímero) y **completa**. Con esto queremos decir que ella sola se encarga de realizar todo el proceso.

El **núcleo del enzima** posee actividad polimerásica, está formado por:

- 2 subunidades **α**, una subunidad **β** y una subunidad **β'**. En esta partícula central reside la capacidad para **unirse al DNA y realizar la síntesis de RNA**.
- La subunidad **σ**. Le da la **capacidad de reconocer los puntos de inicio de la transcripción (promotores)**. Encontramos diferentes subunidades σ que harán que se transcriban unos u otros genes (la más frecuente es la subunidad 70).



Como se ha comentado, los genes que codifican las proteínas son solo una pequeña porción de toda la molécula de DNA. La enzima debe reconocer una señal en el cromosoma que indique dónde comienza y dónde termina el mensaje. Existen secuencias en el DNA que sirven como señal de comienzo para que la **RNA polimerasa** inicie la transcripción: los **centros promotores** de los genes. Estas secuencias están en una posición inmediatamente anterior a la región codificante.

Mediante el análisis de la secuencia de multitud de genes, se ha observado que existe una **secuencia consenso** en una posición fija de la región 5' no codificante de genes procariotas. Esta será la señal para que la enzima RNA polimerasa comience a transcribir el mensaje.

Los promotores difieren notablemente en su eficacia para atraer a la RNA pol. Los más parecidos a la secuencia consenso son **promotores fuertes**, mientras que los menos parecidos son **promotores débiles.**

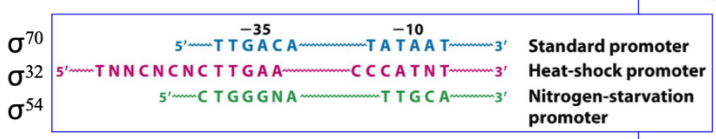
Mecanismo de la transcripción

La enzima encargada de la síntesis de cualquier RNA son las **RNApol.** A diferencia de las células eucariotas donde existen diferentes enzimas en función de la clase de RNA transcrito; las células procariotas solo poseen un único tipo de RNA polimerasa.

Iniciación: la enzima RNApol (proteína multimérica que se asocia al DNA) solo se une al promotor en la secuencia de consenso cuando la **subunidad σ** se integra en el complejo formándose la holoenzima. Una vez sintetizados los primeros nucleótidos, esta subunidad se libera para fortalecer la unión de NDA a la RNApol (sino el complejo es inestable).

Iniciación: importancia del factor σ

E. Coli tiene múltiples factores σ para reconocer diversos tipos de secuencias promotoras. El más común es el σ^{70} (tiene una masa de 70 kDa)



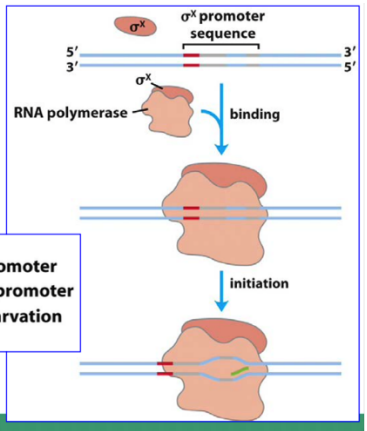
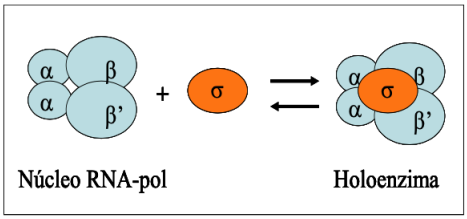
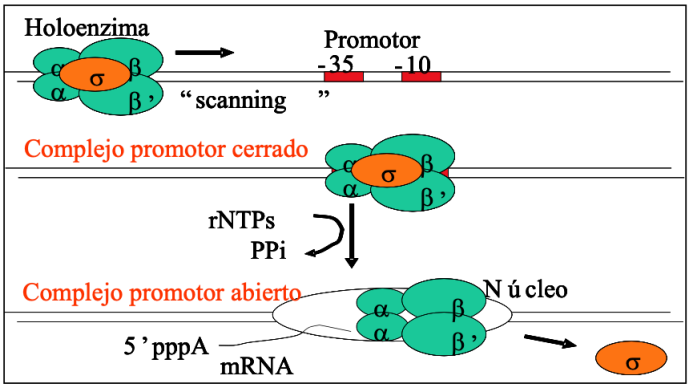


TABLE 26–1 The Seven Subunits of *Escherichia coli*

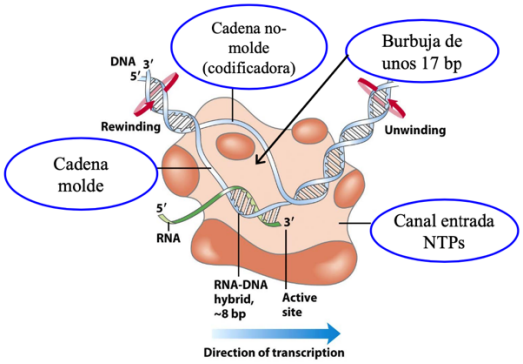
σ subunit	K_d (nM)	Molecules/cell*	Holoenzyme ratio (%)*	Function
σ^{70}	0.26	700	78	Housekeeping
σ^{54}	0.30	110	8	Modulation of cellular nitrogen levels
σ^{38}	4.26	<1	0	Stationary phase genes
σ^{32}	1.24	<10	0	Heat shock genes
σ^{28}	0.74	370	14	Flagella and chemotaxis genes
σ^{24}	2.43	<10	0	Extracytoplasmic functions; some heat shock functions
σ^{18}	1.73	<1	0	Extracytoplasmic functions, including ferric citrate transport

Requiere que la subunidad sigma "active" (se una) a la RNA polimerasa para reconocer las secuencias promotoras de los genes





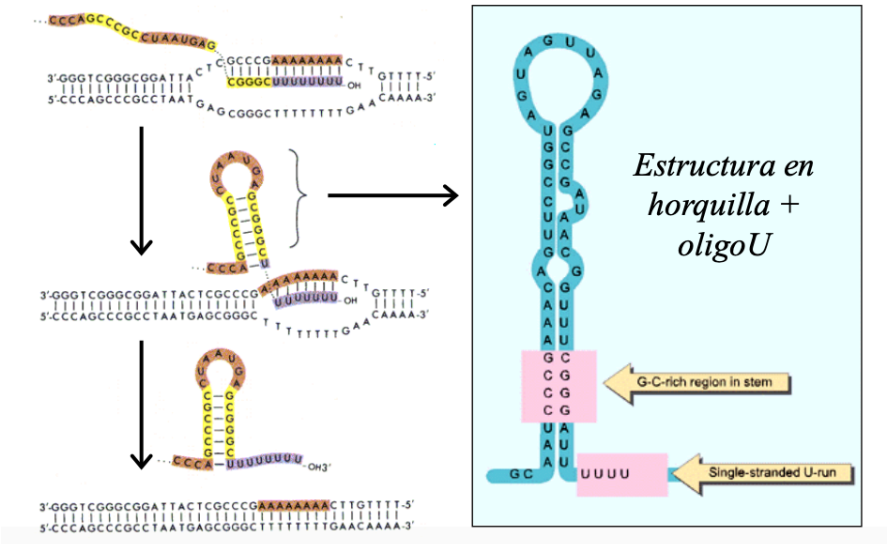
Elongación: La RNA polimerasa se desplaza a lo largo del gen estructural, formando la **burbuja de transcripción** en su seno. Va copiando la hebra molde y forma, por complementariedad, la hebra codificadora. Al principio forma un híbrido DNA-RNA de unos 10 nucleótidos. Avanza en dirección 5'-3', leyendo la cadena molde en dirección 3'-5'.



Terminación: una vez que la RNApol ha copiado la secuencia de terminación (indica el final del mensaje), la RNApol se descuelga del DNA finalizando la transcripción del RNA. Este proceso requiere la colaboración de determinados factores proteicos, como el **factor Rho (ρ)** (helicasa dependiente de ATP).

En procariotas se conocen dos mecanismos:

- **Terminación dependiente de la proteína Rho (ρ) (factor de terminación):** se mueve a lo largo del RNA naciente, encuentra la burbuja de transcripción, desenrolla el heterodúplex RNA-DNA y libera a la cadena de RNA.
- **Terminación independiente de la proteína Rho (ρ)/ terminaciones dependiente de secuencias específicas:** son repeticiones invertidas ricas en GC que frenan el avance de la RNApol y forman estructuras secundarias en horquilla en el transcrito de RNA (*la estructura en horquilla promueve la disociación del complejo de elongación y la liberación del RNA*). Después de las secuencias repetidas nucleotídicas en orientación inversa, se siguen de 6 a 8 adeninas en el DNA que se transcriben a uracilo en el transcrito de RNA.



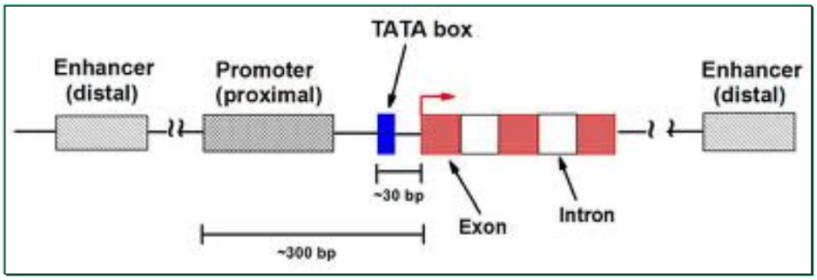
Transcripción en eucariotas

Más compleja y con múltiples mecanismos de regulación

En las células eucariotas, el RNA se sintetiza mediante **3 tipos de RNApol** (tipo I, tipo II y tipo III); sin olvidar la RNApol de la mitocondria.

Type	Location	Cellular transcripts	Effects of α-amanitin
I	Nucleolus	18S, 5.8S, and 28S rRNA	Insensitive
II	Nucleoplasm	mRNA precursors and snRNA	Strongly inhibited
III	Nucleoplasm	tRNA and 5S rRNA	Inhibited by high concentrations

Las **regiones promotoras de los genes eucariotas** son mucho **más extensas** y con **más elementos de control**.



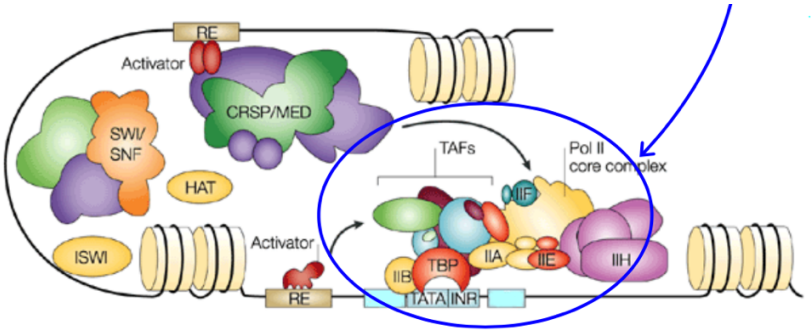
Los elementos **CIS** son **secuencias de DNA** y los elementos **TRANS** son **secuencias de proteínas/factores**. Requiere la interacción entre ambos para regular la transcripción.

En la zona proximal del promotor es donde se encuentra la secuencia TATbox que regula que la RNApol se sitúe en el lugar adecuado.

Podemos distinguir:

*** Mecanismos básicos de transcripción:** los factores de trascripción tienen una serie de características que les permiten interaccionar con el DNA. Todos los genes requieren de factores basales que interaccionen con la zona proximal del promotor, aunque ellos solo posicionan la RNA polimerasa, no varían la tasa de transcripción.

*** Mecanismos de regulación y control:** para aumentar o disminuir la tasa de transcripción va a ser necesaria la presencia de otros factores, los llamados coactivadores, que interaccionan con los factores basales.



Transcripción en eucariotas: Otras características importantes

- Actividad de la RNApol II regulada por fosforilación de su dominio carboxi-terminal (CTD)
- Existen factores (proteínas) reguladoras de la elongación
- Se desconocen los mecanismos de terminación
- Es un proceso muy regulado. Los genes que se transcriben varían según el tejido o etapa del desarrollo.
- La maquinaria de la transcripción debe tener en cuenta la compleja estructura de la cromatina eucariota.
- El RNA sintetizado debe sufrir un complejo proceso de maduración (mRNA) que permita transportar la información al citoplasma.