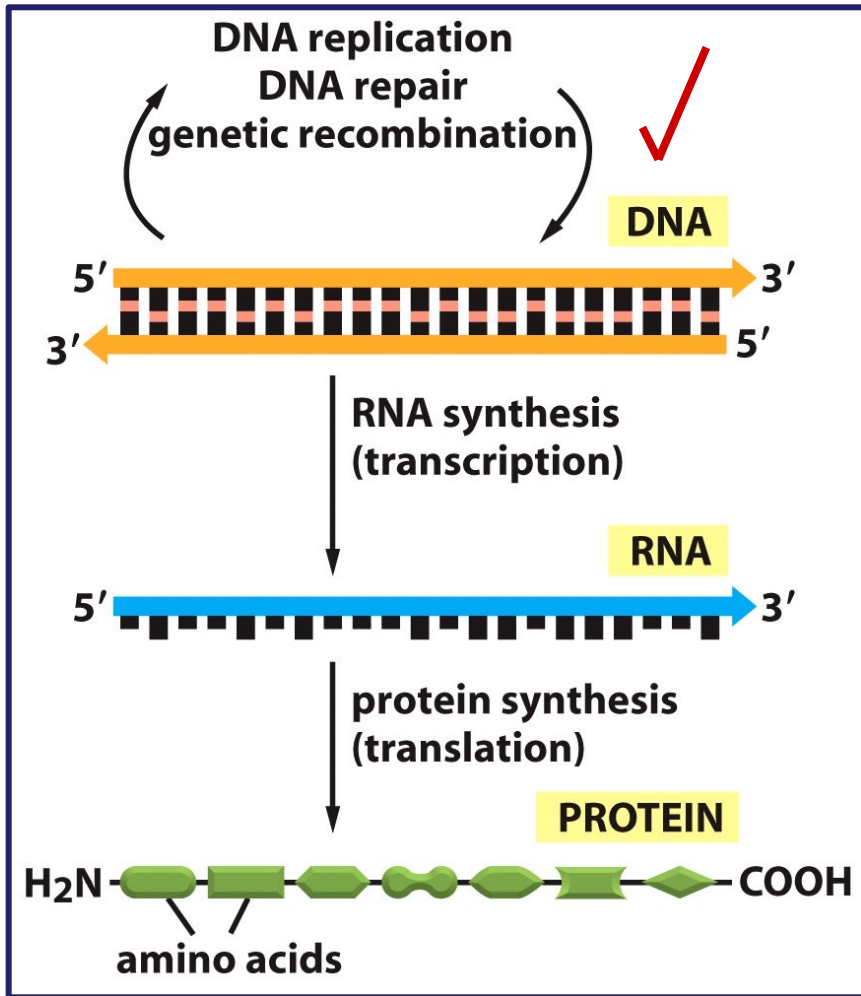
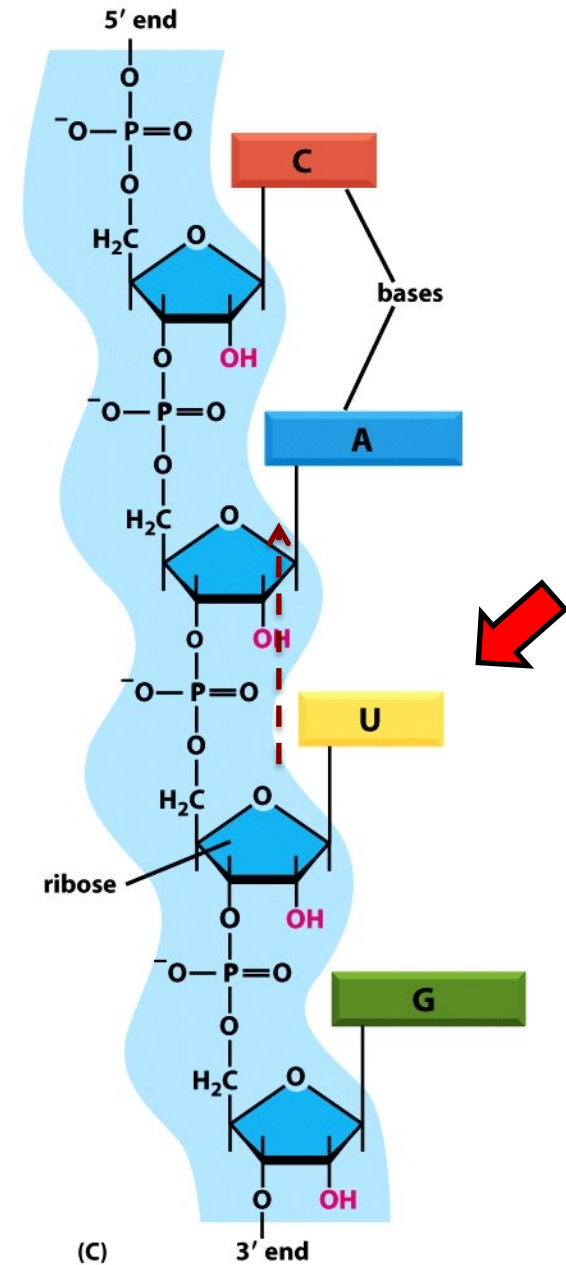
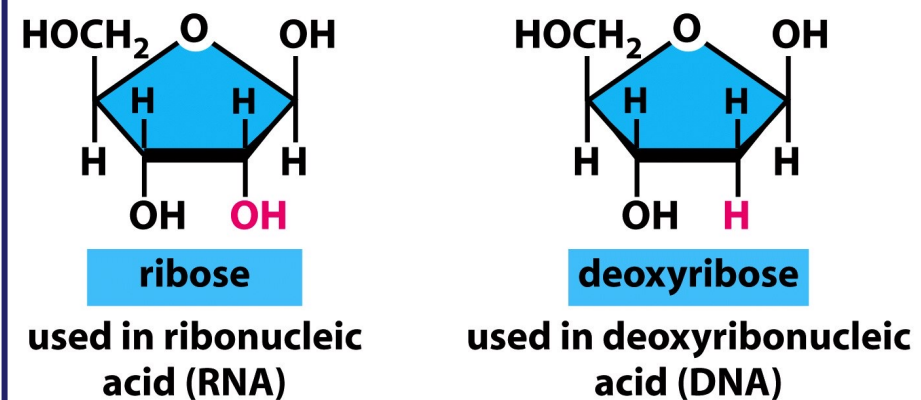


# TRANSCRIPCIÓN



Generar moléculas de RNA utilizando DNA como sustrato

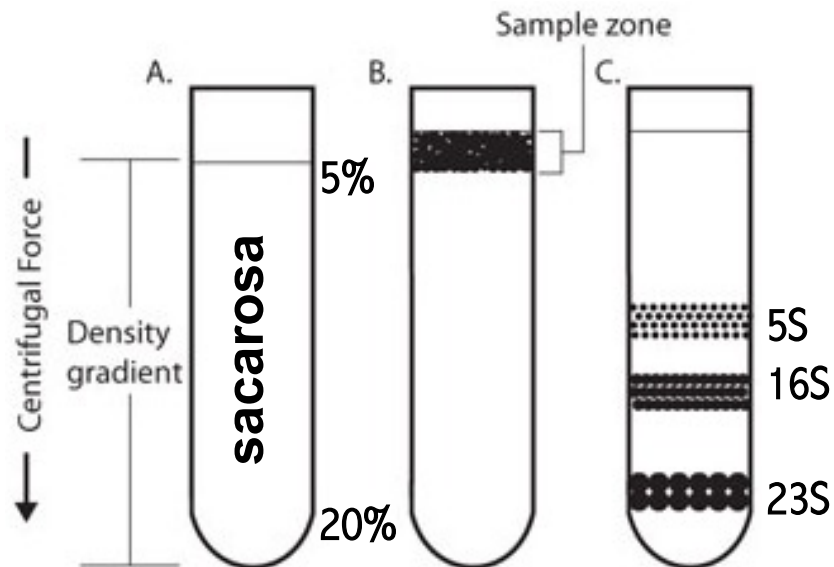
RNA polimerasa



# Tipos de moléculas de RNA (bacteria)

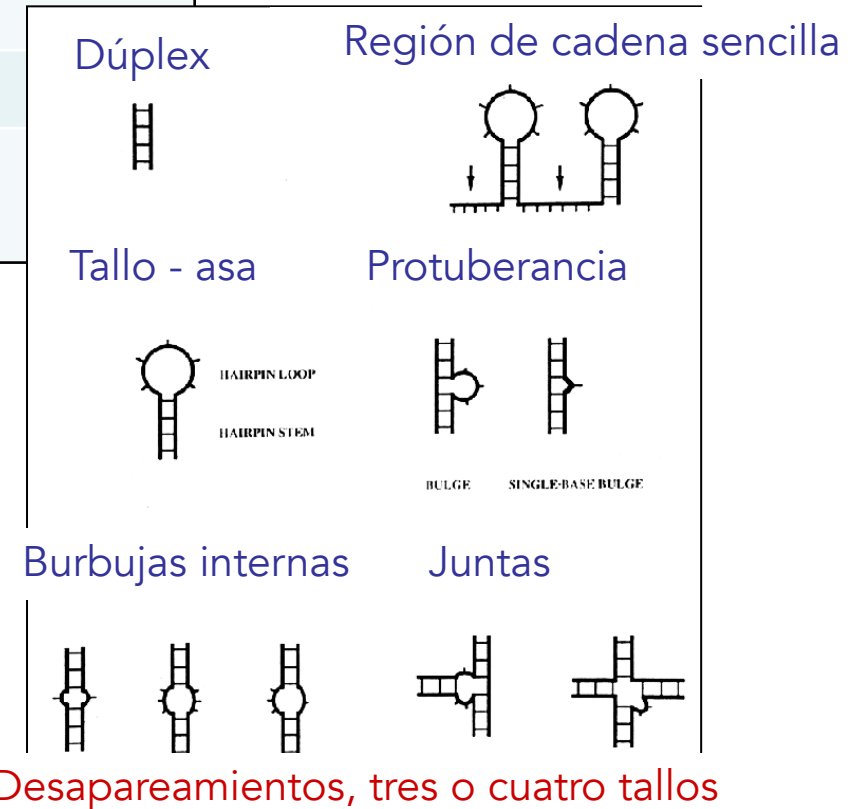
Tipo de RNA	Cantidad relativa (%)	Coefficiente de sedimentación (S)	Número de nt
Ribosomal (rRNA)	80	23S 16S 5S	3700 1700 120
Transferencia (tRNA)	14	4S	75
Mensajero (mRNA)	5	variable	variable
Otros RNAs no codificantes	1	variable	variable

Todos los apareamientos internos son **antiparalelos**  
 5' → 3'  
 3' ← 5'



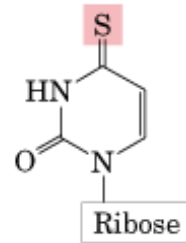
El RNA es de cadena sencilla, pero forma apareamientos internos

El coeficiente de sedimentación (S) depende del **tamaño y forma del RNA**

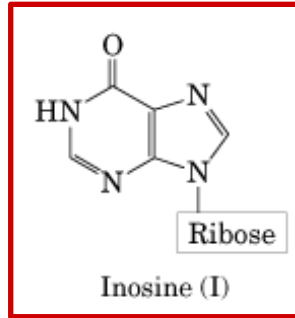


Desapareamientos, tres o cuatro tallos

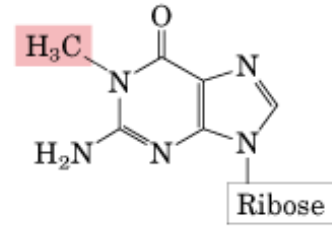
# Los RNA tienen diferentes estructuras y presentan modificaciones en las bases nitrogenadas



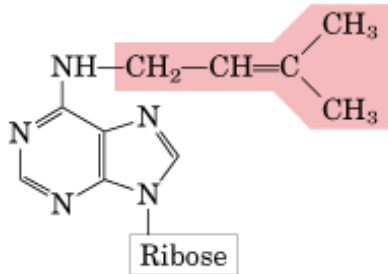
4-Thiouridine ( $S^4U$ )



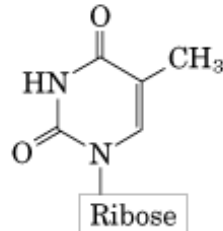
Inosine (I)



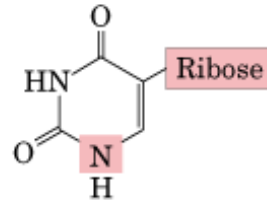
1-Methylguanosine ( $m^1G$ )



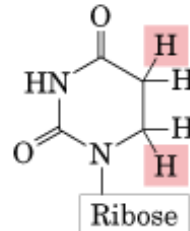
$N^6$ -Isopentenyladenosine ( $i^6A$ )



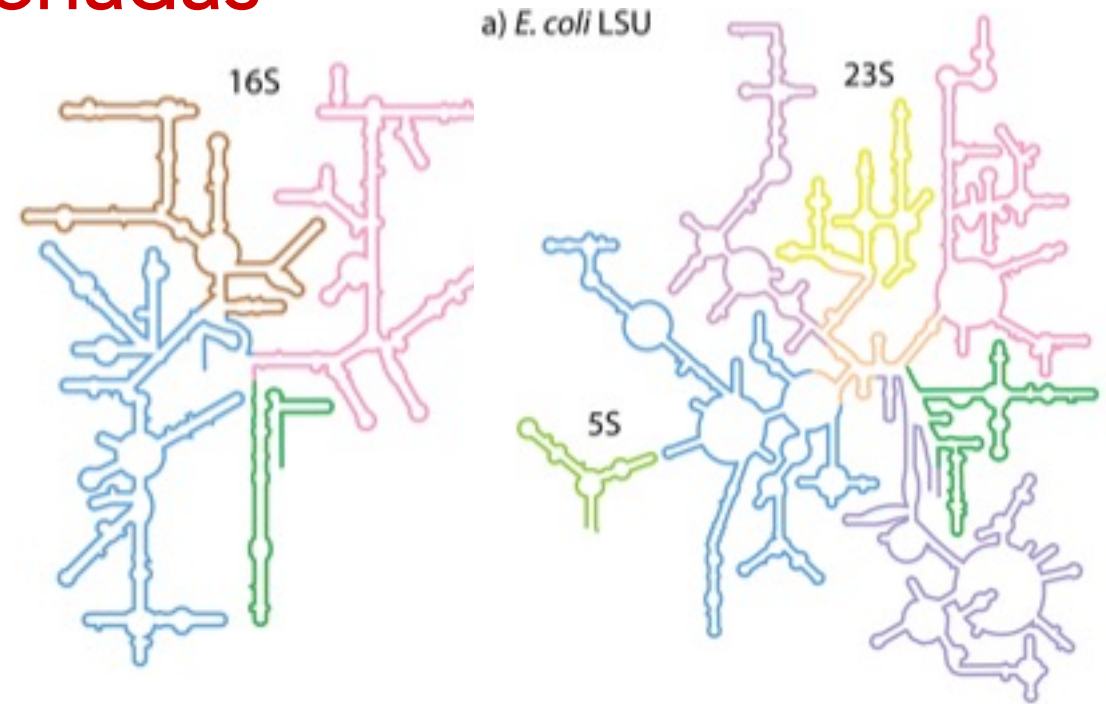
Ribothymidine (T)



Pseudouridine ( $\psi$ )

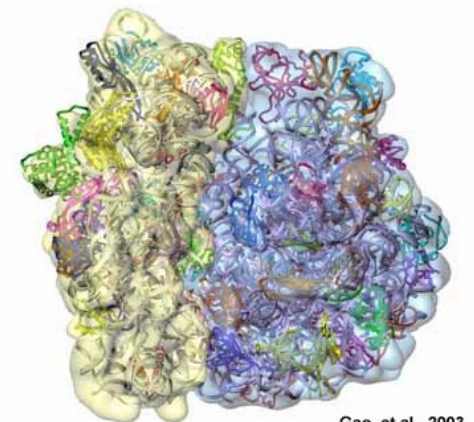


Dihydrouridine (D)

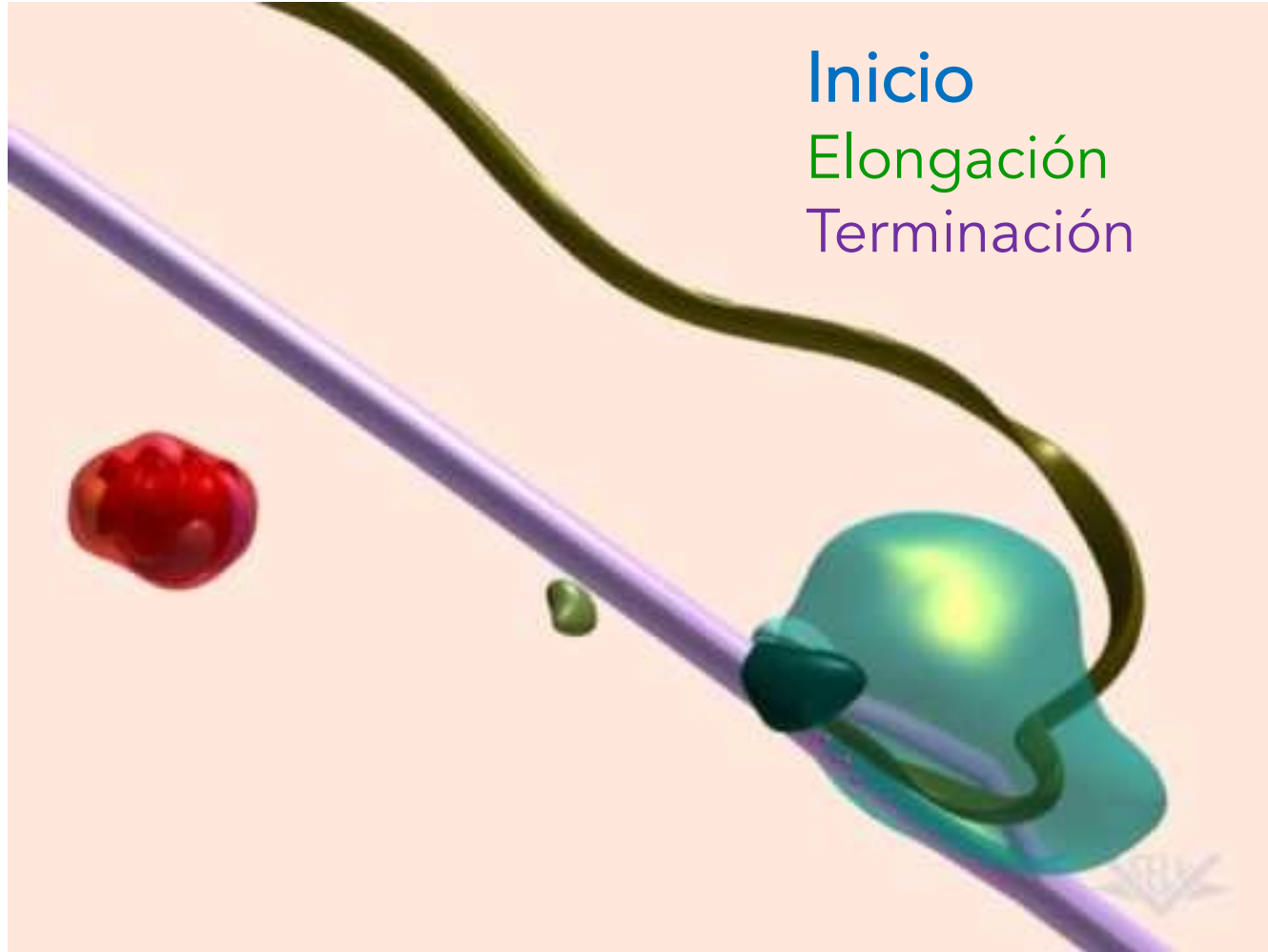


RNA de transferencia  
(suele presentar muchas bases  
modificadas)

RNA ribosomal  
(altamente estructurado)



# Proceso de TRANSCRIPCIÓN



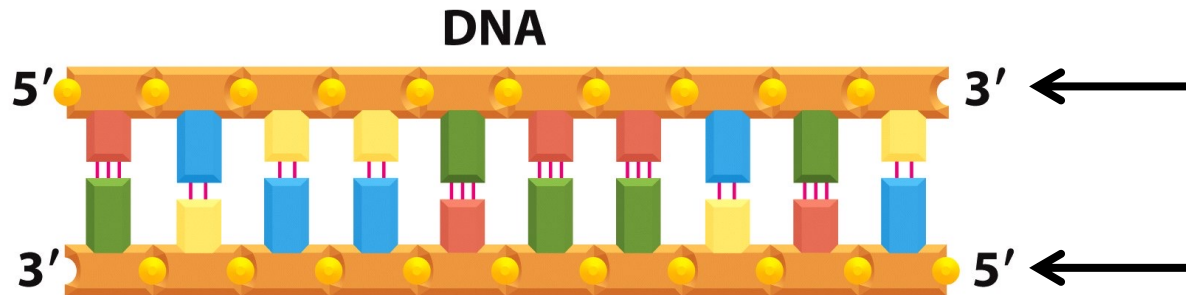
¿Cómo se recluta la RNA polimerasa al DNA?

¿Cómo sabe cuál es la cadena que va a transcribir?

¿Qué necesita para poder transcribir el DNA?

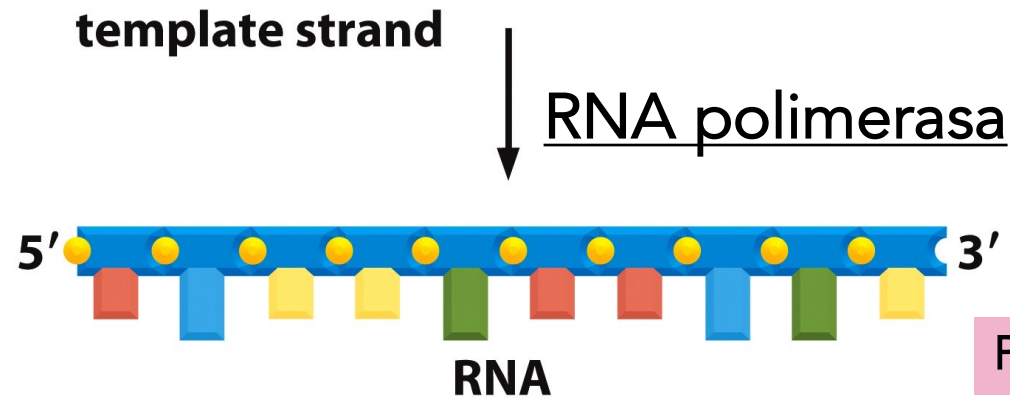
¿Cómo sabe la RNA polimerasa que debe terminar la transcripción?

# Una de las cadenas de DNA se transcribe



**Codificante:** Es IDÉNTICA al RNA producido (5'→3') excepto por presentar T en lugar de U

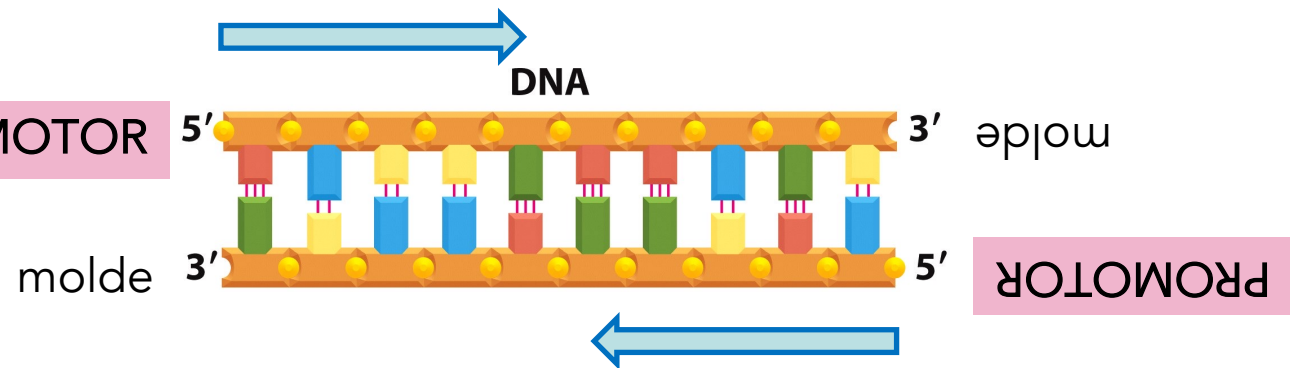
**Molde:** Es la que copia la RNA polimerasa agregando NTPs complementarios en sentido 5' → 3'



## INICIO

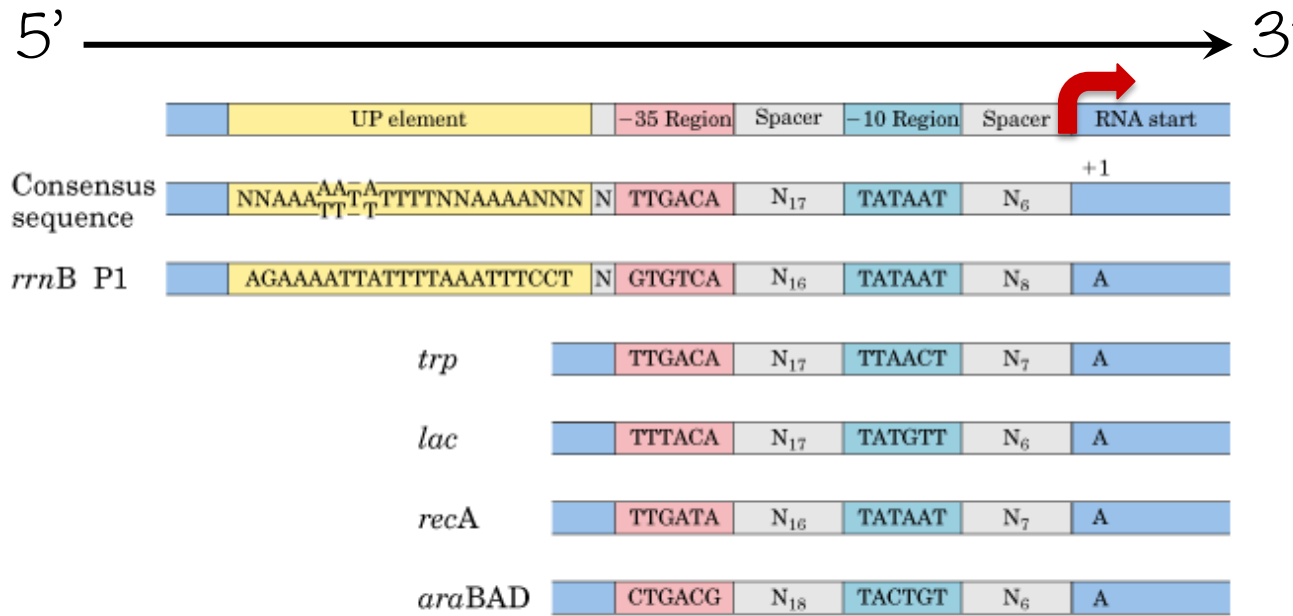
- ❖ Secuencia en el DNA (**PROMOTOR**)
- ❖ Reconocimiento del Promotor
- ❖ RNA polimerasa

PROMOTOR



**Promotor:** secuencias de DNA que reconoce la RNA polimerasa y proteínas asociadas a ella (en la cadena codificante) para iniciar la transcripción

# El Promotor (secuencia) se lee de 5' a 3' y determina el INICIO



Sitio a partir del cual inicia la TRANSCRIPCIÓN (+1): TSS

Caja -10  
(Caja TATA):  $5' \text{ - TATAAT - } 3'$

Secuencia -35:  $5' \text{ - TTGACA - } 3'$

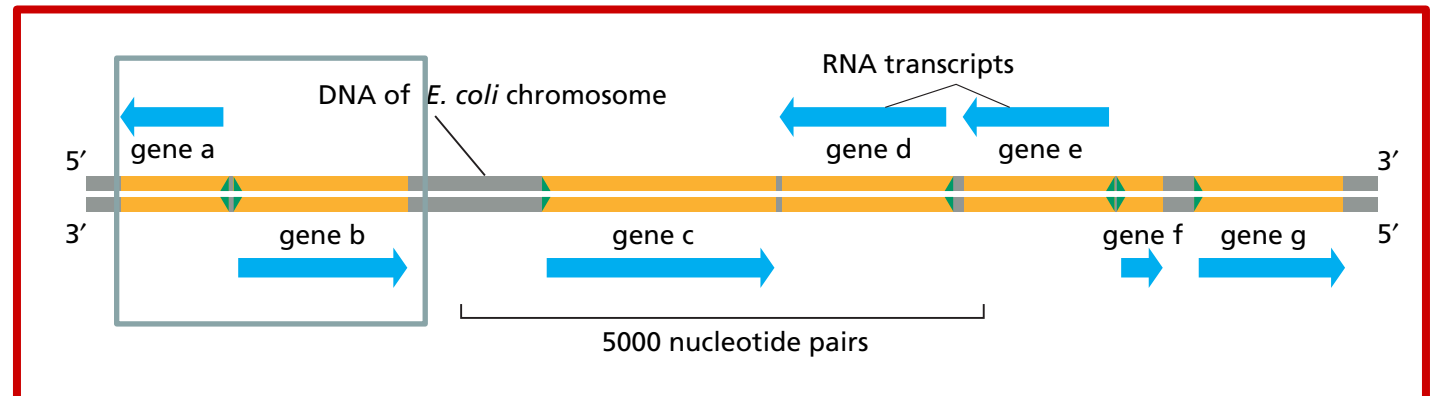
Elemento UP: presente en algunos genes

(-) no se transcribe, significa antes de +1 (hacia el 5'; corriente arriba). Se lee en cadena codificante

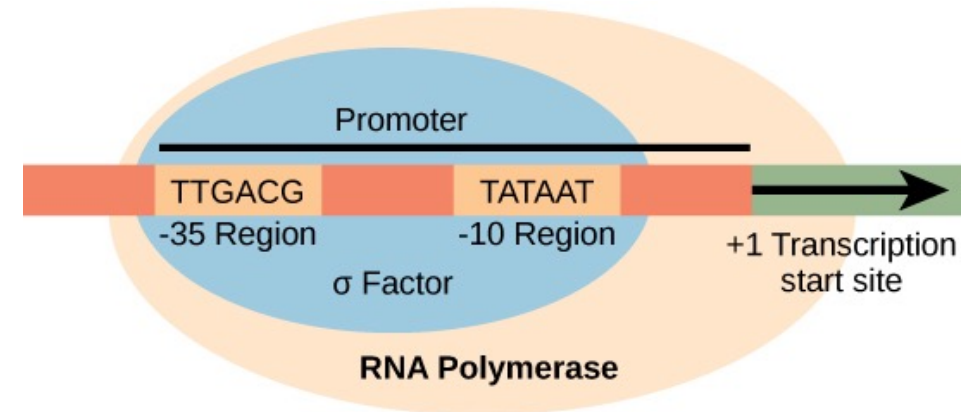
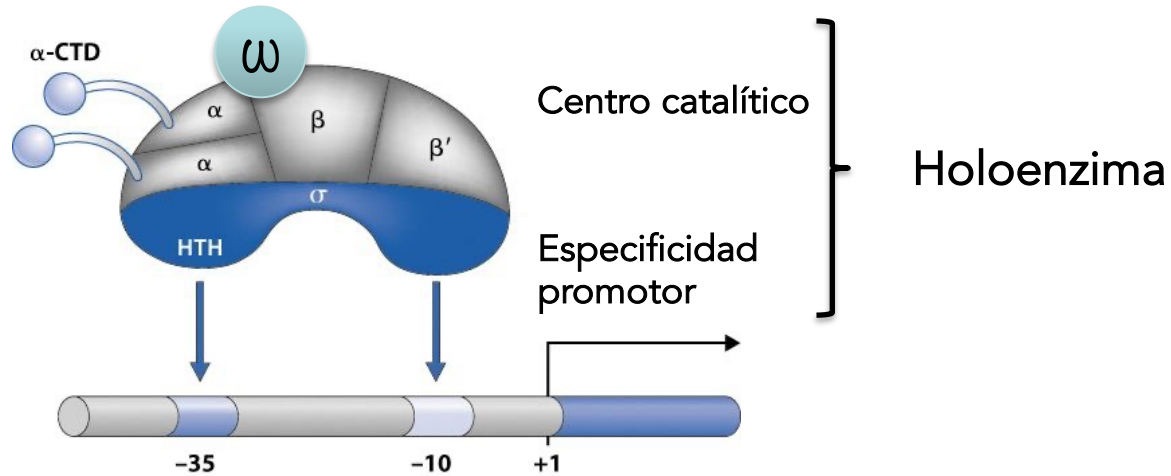
Gen a:  
La cadena codificante es la inferior



Gen b:  
La cadena codificante es la superior



# Subunidades de la RNA polimerasa bacteriana



Subunidad	Gen	Número	Función
<b>α</b>	RpoA	2	Iniciación de la cadena, anclaje de otras subunidades y proteínas reguladoras
<b>β</b>	RpoB	1	Iniciación y elongación de la cadena, formación de enlace fosfodiéster
<b>β'</b>	RpoC	1	Unión al DNA
<b>ω</b>	RpoH	1	Proteína reguladora
<b>σ</b>	RpoD	1	Reconoce el Promotor

El factor SIGMA reconoce la caja TATA y secuencia -35

Los genes que se expresan bajo condiciones particulares, tienen promotores diferentes y utilizan otros factores sigma (diferentes al general, sigma 70)

## Ejemplo:

5' ..... ATGGCAGCATGATATTATA ..... 3'  
3' ..... TACCGTCGTACTA**TAATAT** ..... 5'

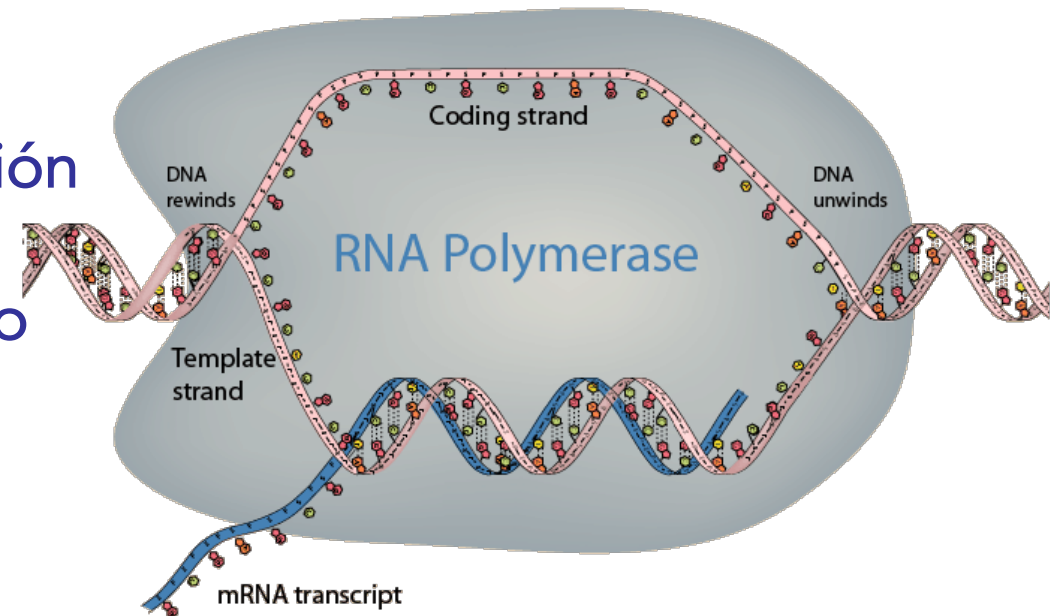
+1 ..... -10  
**promotor**

Molde  
Codificante

RNA transcrito 5' UGCUGCCAU 3'

## Una vez que reconoce el promotor:

- La RNA pol debe abrir la burbuja de transcripción (helicasa, gasto de ATP)
- Comenzar la polimerización de NTPs en sentido 5'→3' (NO necesita cebador)
- Debe escapar del Promotor

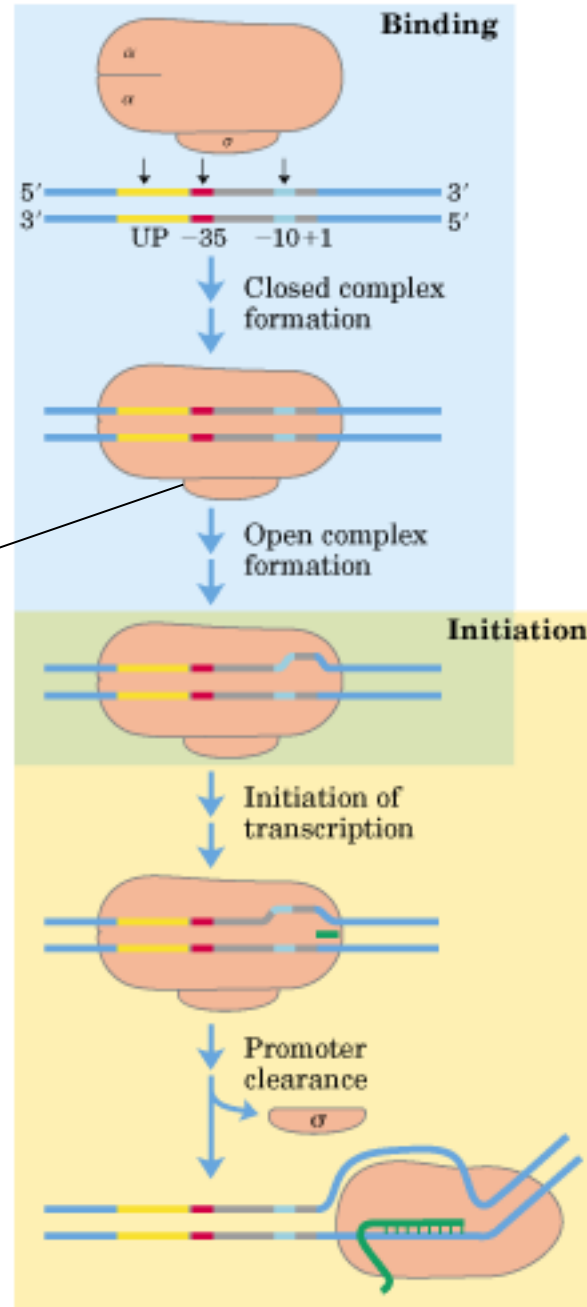




# INICIO de la Transcripción bacteriana

Factor sigma

El INICIO se ha completado sólo cuando se separa sigma y permite el escape del promotor



1) Reconocimiento del promotor

Complejo cerrado

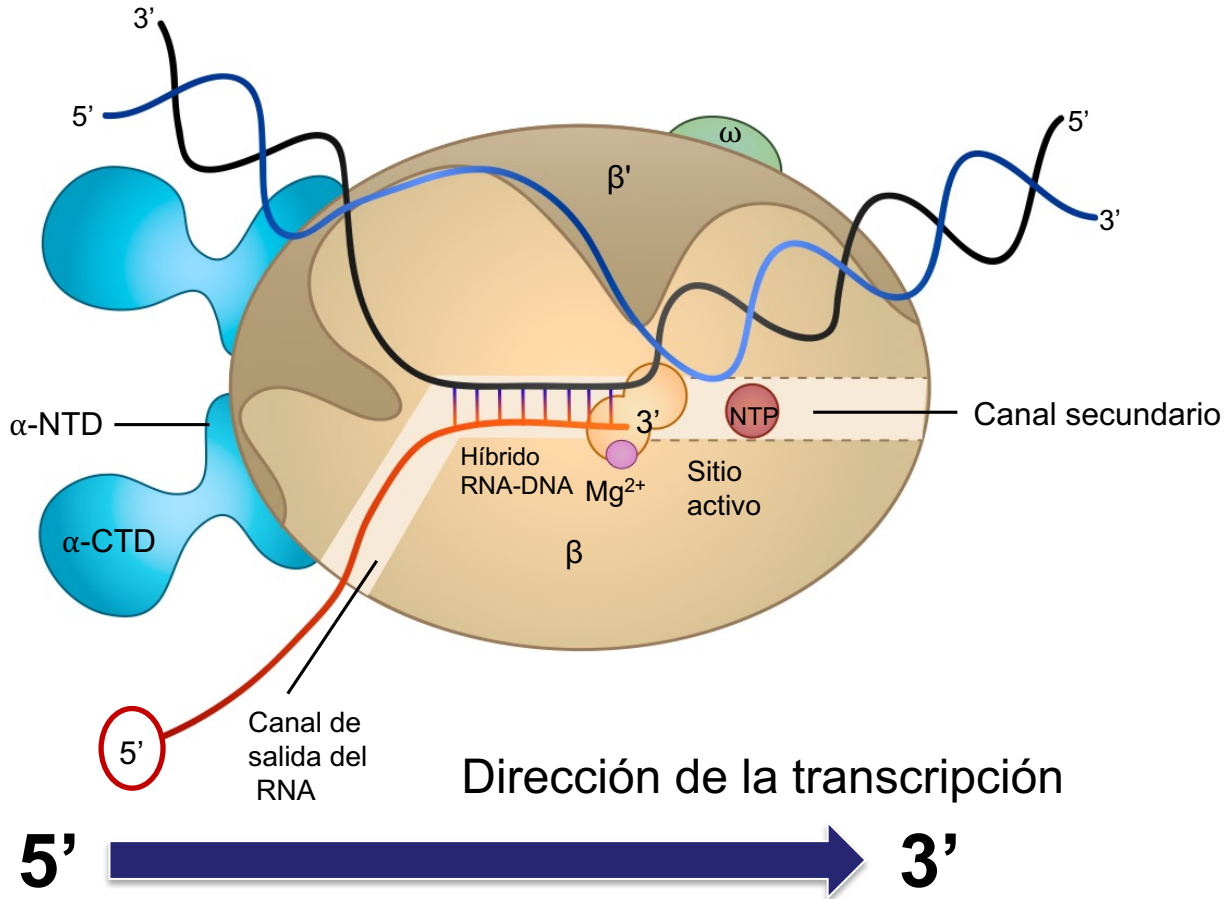
2) Complejo abierto (12 nt)

3) Síntesis de 8-10 nt de RNA abortiva hasta...

4) Liberación de Sigma

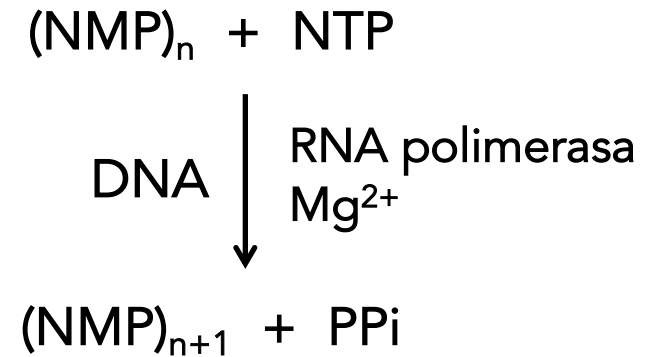
5) Escape del Promotor

# ELONGACIÓN de la Transcripción bacteriana



Nature Reviews Microbiology 9, 319-329

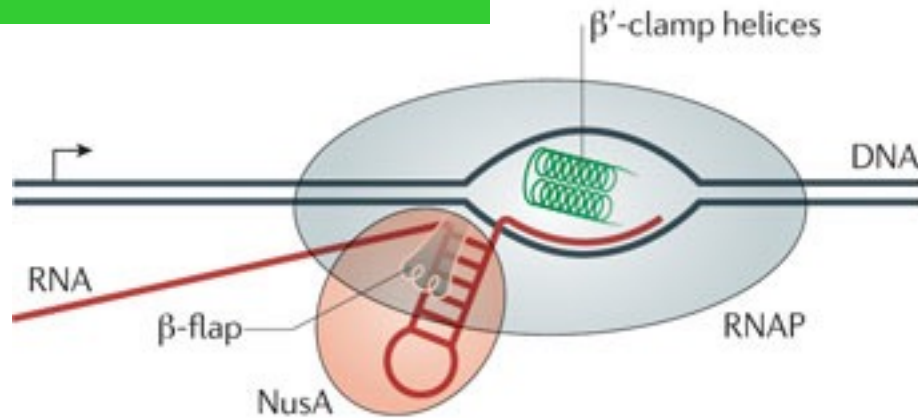
## Reacción que cataliza la RNA polimerasa



- NO requiere cebador
- utiliza  $Mg^{2+}$  como cofactor
- utiliza NTPs (ATP, GTP, CTP, UTP) como sustrato
- La cadena de ARN crece SIEMPRE en sentido  $5' \rightarrow 3'$

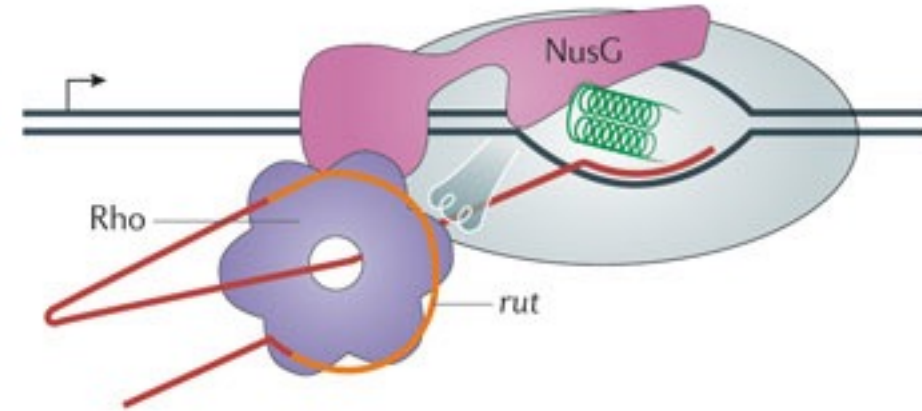
# TERMINACIÓN de la Transcripción bacteriana

## Terminador intrínseco



El terminador intrínseco presenta secuencia rica en CG en el RNA transcrito formando un tallo-asa que pausa a la RNA pol y se libera el RNA recién sintetizado

## Terminador Rho-dependiente

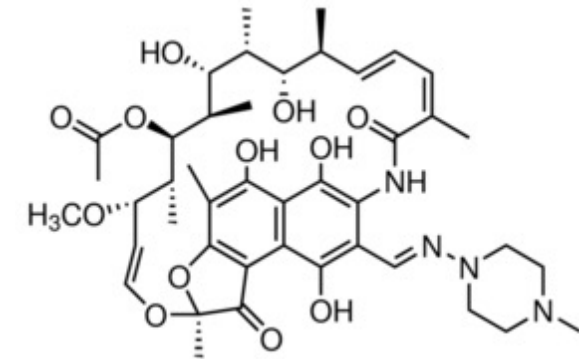
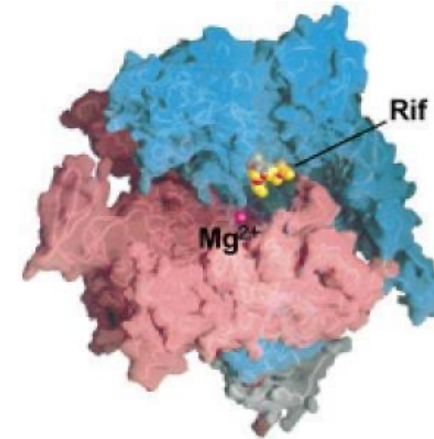
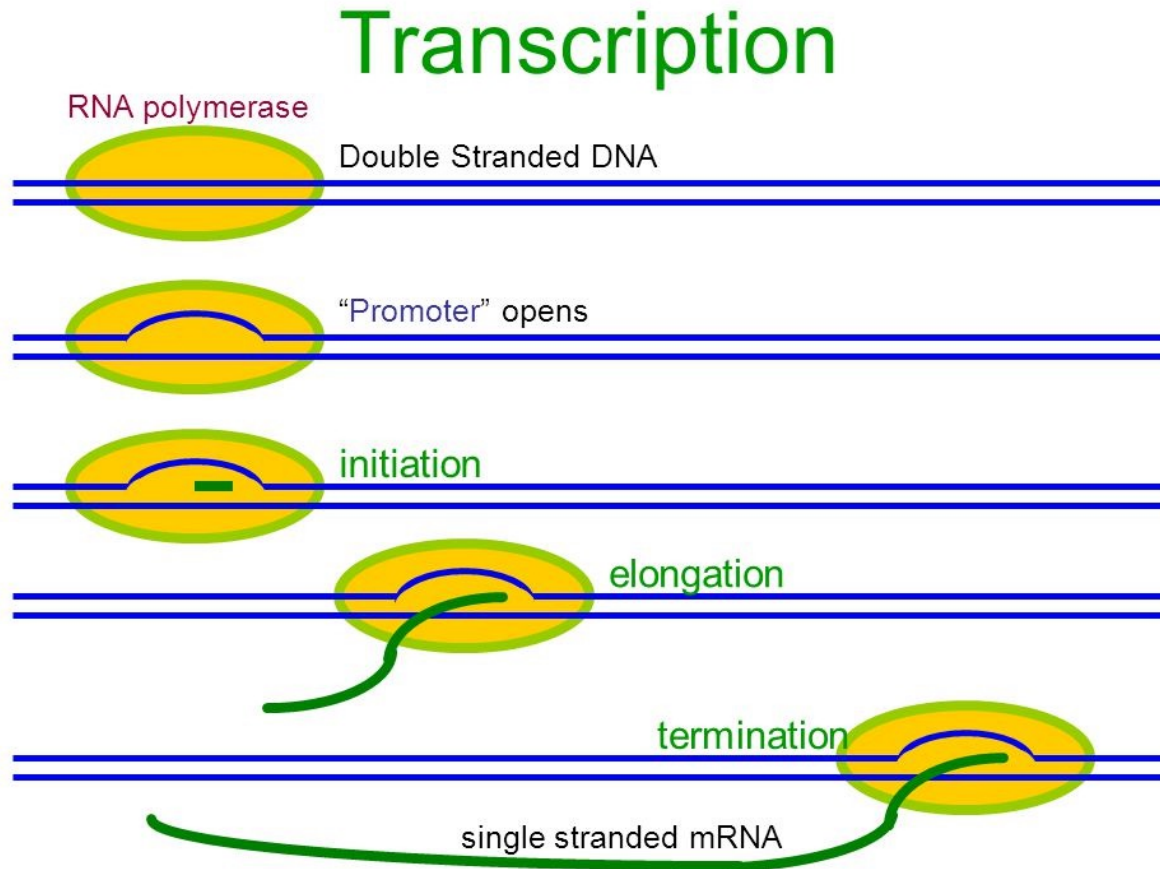


La proteína **Rho** reconoce en el RNA transcrito secuencias específicas rut, avanzando hacia la RNA pol y desenrollando el dúplex RNA : DNA en el sitio de síntesis

La secuencia terminadora de la transcripción aparece en el RNA transcrito

Inicio – Promotor – Sigma – RNA pol bacteriana  
Elongación – RNA pol bacteriana + NTPs + Mg<sup>2+</sup>  
Terminación – Terminador RNA – RNA pol bacteriana

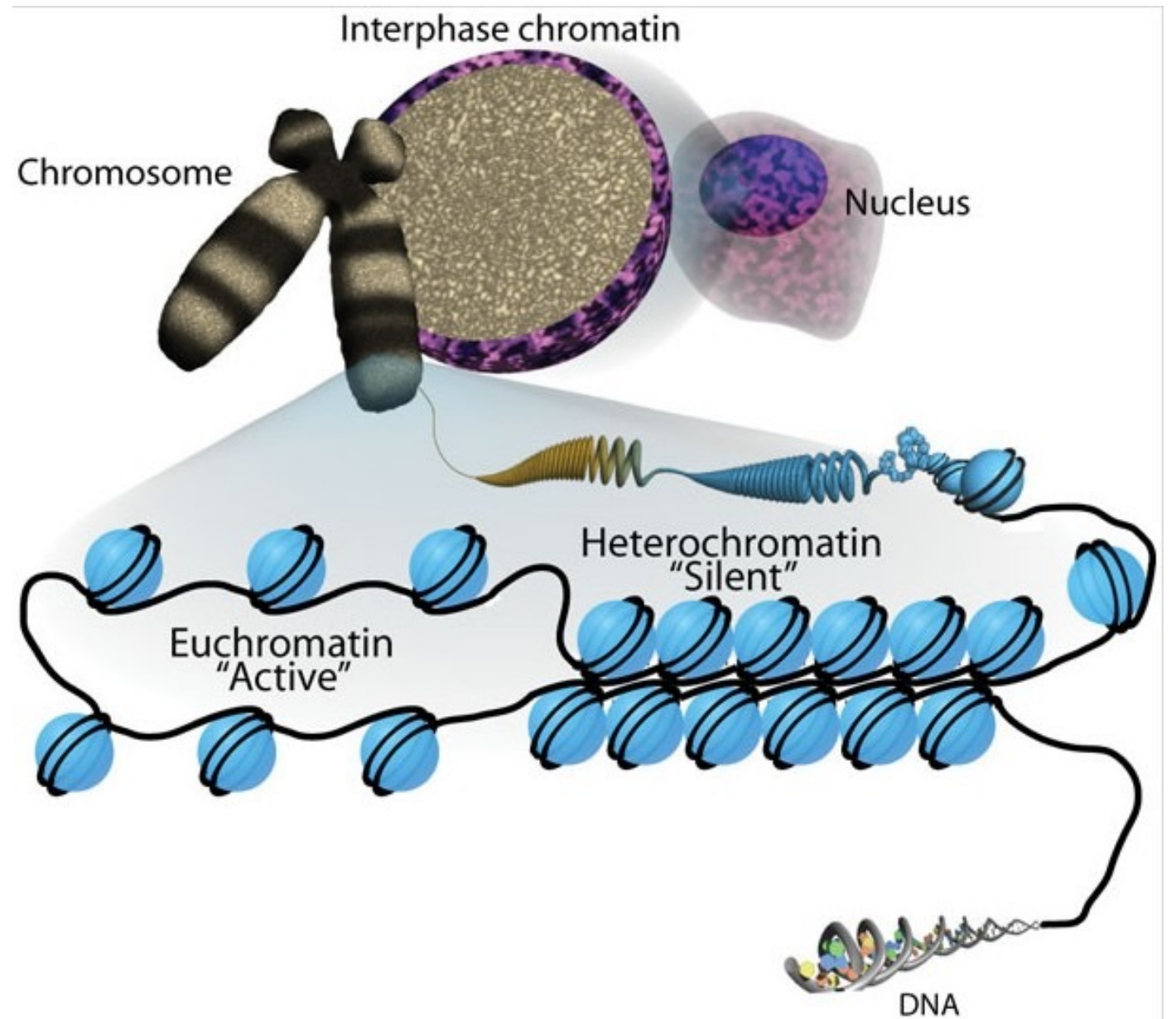
## Rifampicina: Inhibidor de la RNA pol bacteriana



Su mecanismo de acción estriba en la inhibición del inicio de la transcripción, uniéndose de modo no covalente a la subunidad  $\beta$  de la RNA polimerasa bacteriana.

# TRANSCRIPCIÓN en eucariontes:

- Promotores complejos
- Estructuración compleja del DNA (Epigenética)
- Diferentes RNA polimerasas para diferentes tipos de RNA
- Procesamiento del RNA mensajero (elongación y terminación)



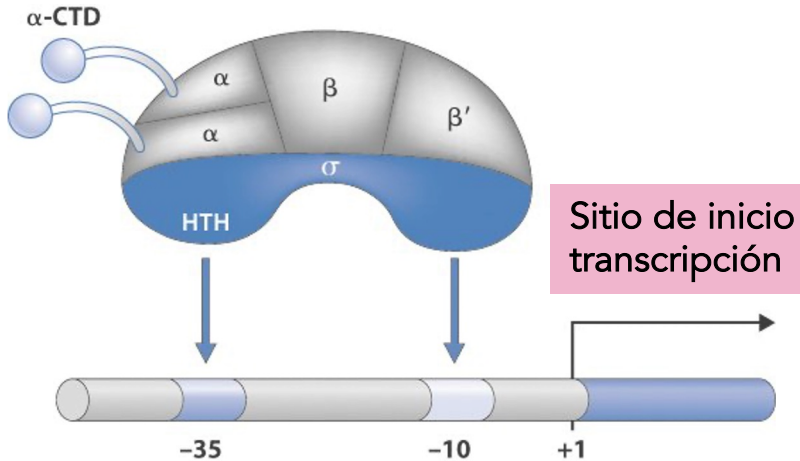
# Tipos de RNA y RNA polimerasas en eucariontes:

Tipo de RNA	Cantidad relativa (%)	Coefficiente de sedimentación (S)	Número de nt	RNA polimerasa
Ribosomal (rRNA)	80	28S	5070	RNA pol I
		18S	1900	RNA pol I
		5.5S	156	RNA pol I
		5S	121	RNA pol III
Transferencia (tRNA)	14	4S	75	RNA pol III
<b>Mensajero (mRNA)</b>	2-5	variable	variable	RNA pol II
RNAs pequeños nucleares (snRNA)	Resto (<1)		variable	RNA pol II RNA pol III (pocos)
RNAs pequeños nucleolares (snoRNA)			variable	RNA pol II
RNAs pequeños interferentes (siRNA)			20-24	RNA pol II RNA pol IV y V (plantas)
microRNAs (miRNA)			21-22	RNA pol II
RNAs largos no codificantes (lncRNAs)			variable	RNA pol II

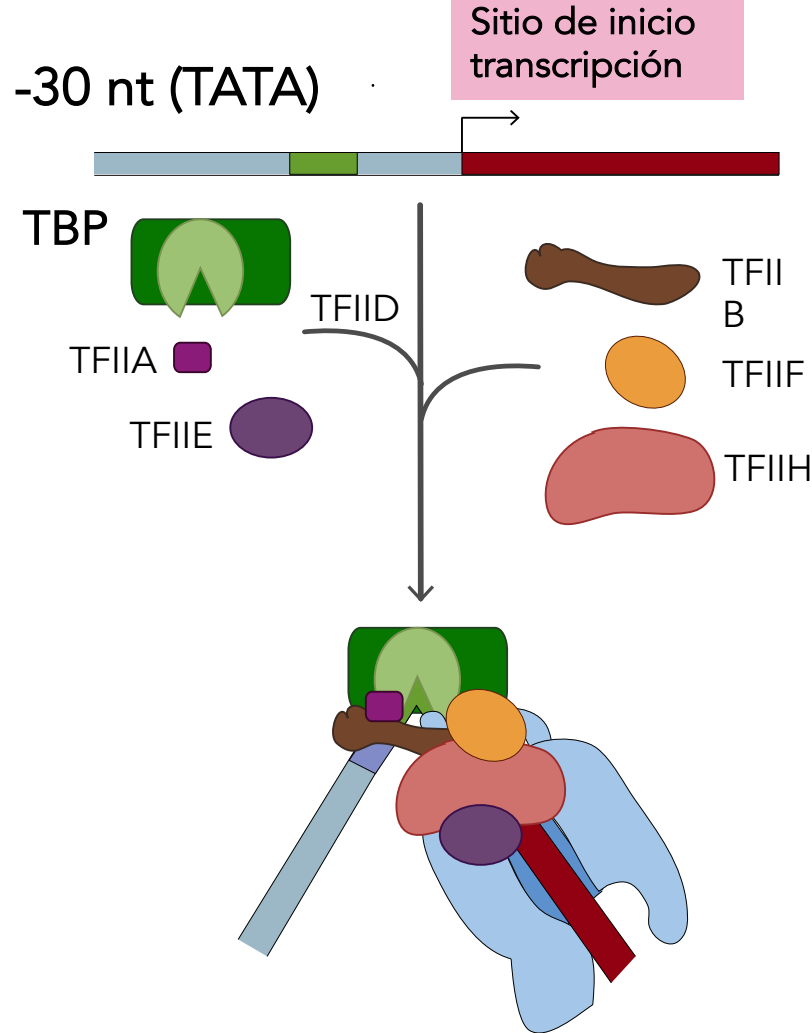
# El reconocimiento del promotor es asistido por Factores Generales Transcripción (TFI – RNA pol I; TFI – RNA pol II; TFI – RNA pol III)

## Eucariontes

### Bacterias



En bacterias sólo se requiere **Sigma** para el reconocimiento eficiente del promotor. Cajas TATA (-10) y caja -35



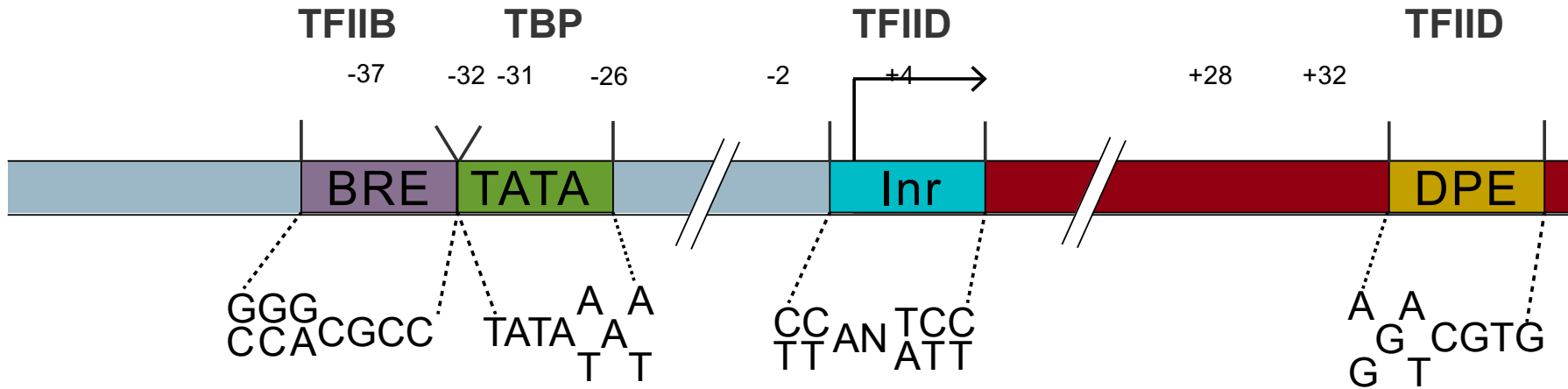
La unión de los TFI es secuencial

Algunos reconocen secuencias en el promotor

Otros se unen a la RNA pol II

Se forma un complejo grande que requiere espacio libre de nucleosomas

# Secuencias en el promotor basal eucarionte para RNA pol II



Elemento	Secuencia consenso	GTF
BRE	G/C G/C G/A CGCC	TFIIB
TATA	TATA A/T A/T	TBP
INR	C/T C/T AN A/T C/T C/T	TFIID
DPE	A/G A/T CGTG	TFIID

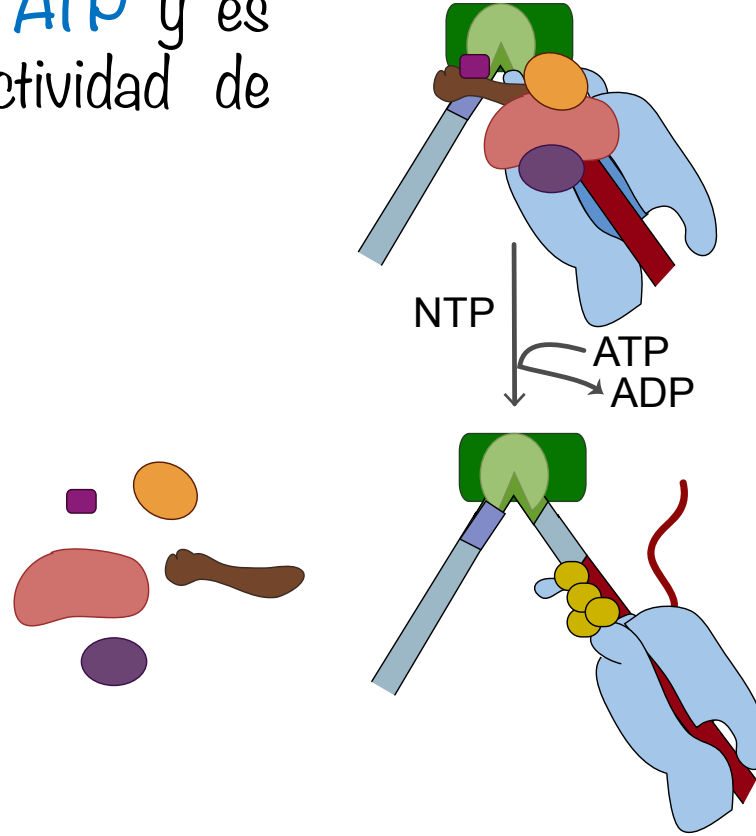


# Escape del promotor en eucariontes

A diferencia de bacterias la **apertura de la doble cadena de DNA** y la formación de burbuja de transcripción **requiere la hidrólisis de ATP** y es **mediada por TFIIF** mediante su actividad de helicasa.

El escape del promotor requiere de la **fosforilación del CTD** de la subunidad mayor de RNA pol II

El **CTD** está conformado por varias repetidas del heptapéptido: Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser (52 en humano)



**TFIIF:** Complejo de 9 subunidades:

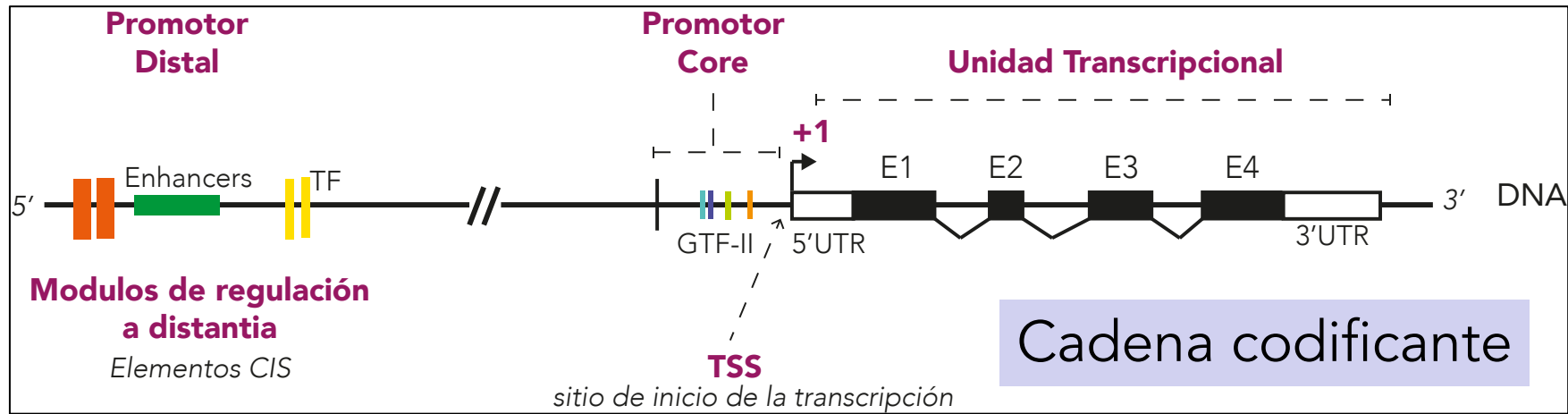
Posee 3 actividades:

Helicasa dependiente de ATP para abrir la doble hélice e iniciar transcripción.

Actividad de cinasa para fosforilar el Dominio Carboxilo Terminal (CTD) de la RNA pol II y permitir escape del promotor.

Actividad de exonucleasa para reparar errores en MMR.

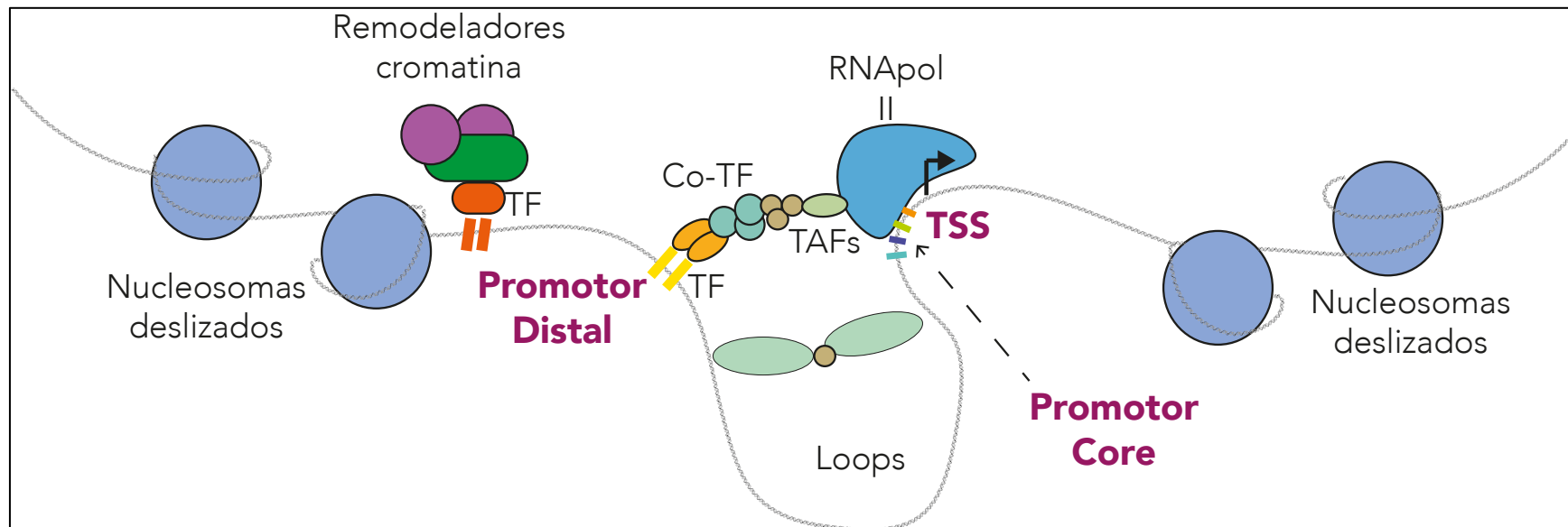
# Promotores basal y distal para la transcripción eucarionte



**Promotor basal:**  
Es reconocido por TFI general o basales. Es esencial para que la transcripción ocurra.

Promotor (-1000 nt)

← +1 → Exones (E) e intrones



**Promotor distal:**  
Secuencias distantes al TSS que reclutan a otros TF reguladores y factores epigenéticos que modifican el entorno de cromatina.

# INICIO de la Transcripción eucarionte

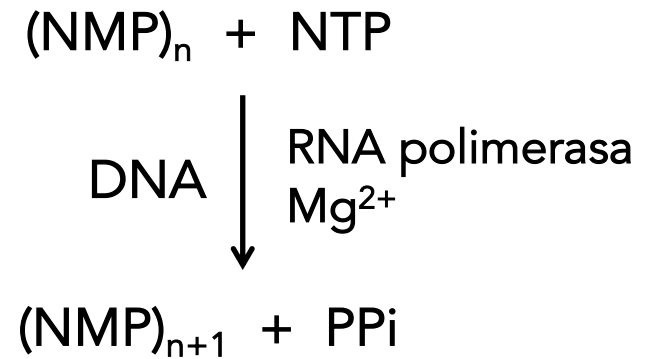
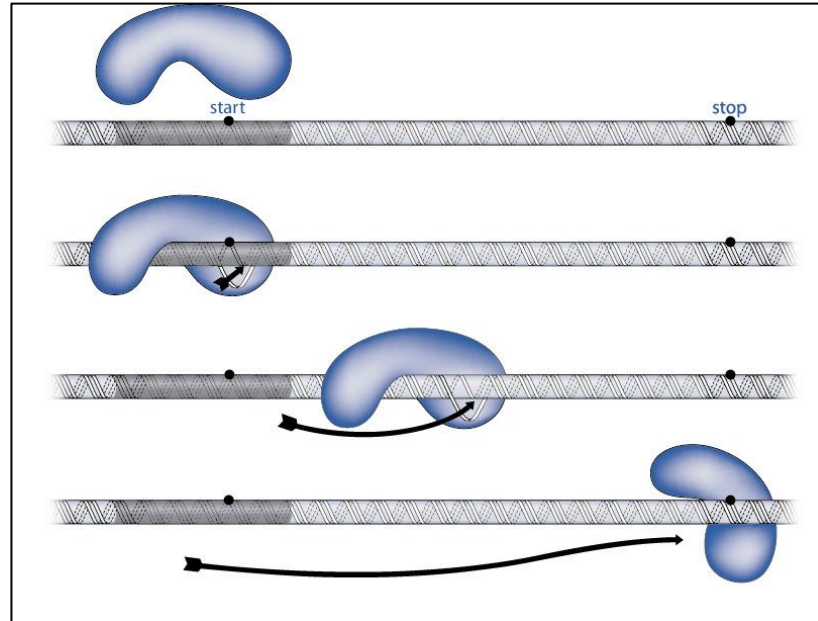
- 1) Reconocimiento del promotor
- 2) Cambio conformacional y reclutamiento de TFII
- 3) Unión de la la RNA polimerasa II
- 4) Unión de TFIIH para:
  - a. abrir la doble hélice (Helicasa)
  - b. fosforilar el CTD de la RNA pol II
  - c. reparar errores de bases mal apareadas (MMR)
- 5) Escape del promotor

TBP  
Otros TFII  
RNA pol II-CTD  
TFIIH



Bacteria:  
RNA polimerasa  
Sigma

## ELONGACIÓN



- NO requiere cebador
- utiliza  $\text{Mg}^{2+}$  como cofactor
- utiliza NTPs (ATP, GTP, CTP, UTP) como sustrato
- La cadena de ARN crece SIEMPRE en sentido  $5' \rightarrow 3'$



## PROCARIOTES

- Transcripción y Traducción simultáneas
- Alta densidad de genes (Operones)
- No hay intrones (mRNA NO se procesa)
- Baja complejidad en estructura de DNA

VS.

## EUCARIOTES

- Transcripción y Traducción separadas en tiempo y espacio
- Baja densidad de genes (muchas secuencias no codificantes)
- Sí hay intrones (mRNA se procesa)
- Alta complejidad en estructura de DNA (heterocromatina y eucromatina)