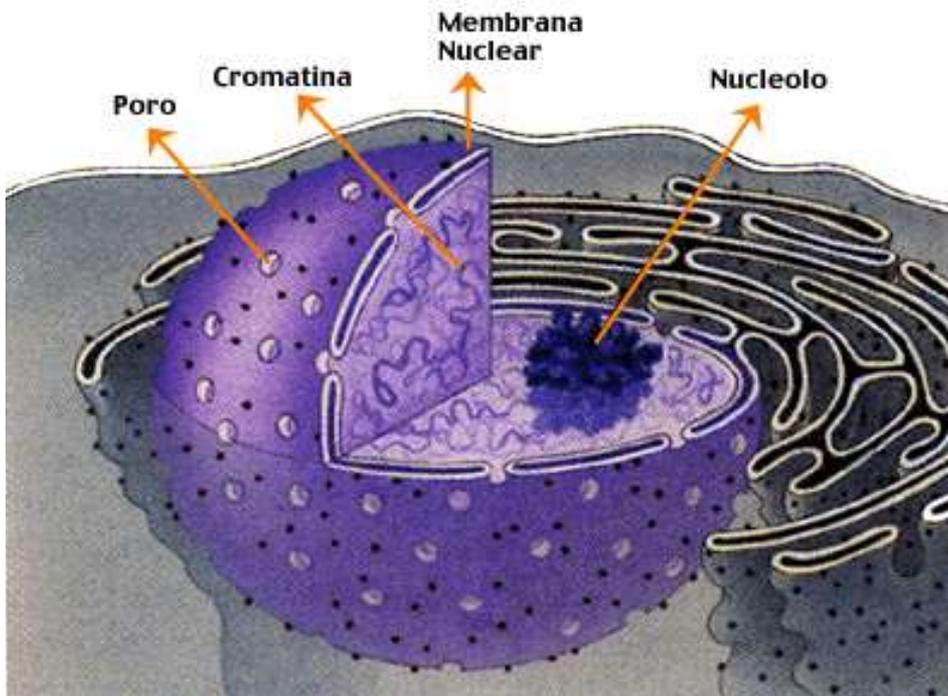


FISIOLOGÍA GENOMICA

Núcleo y material genético
Expresión génica y
síntesis de proteínas

EL NUCLEO. DEFINICIÓN E IMPORTANCIA BIOLÓGICA

- Es un corpúsculo, normalmente en posición central pero puede hallarse desplazado por los constituyentes del citoplasma, (caso de las vacuolas en las células vegetales).
- Rige todas las funciones celulares.
- Es el portador de los factores hereditarios.



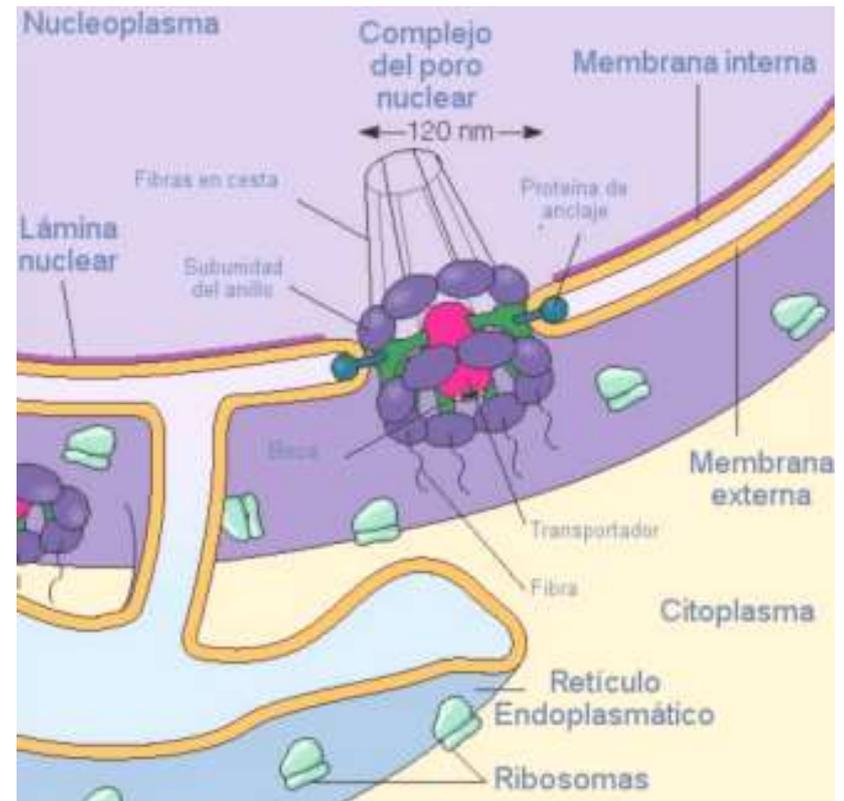
- Entre el núcleo y el citoplasma existe una relación muy estrecha y dependen el uno del otro de tal manera que ninguna de las dos partes puede mantenerse viva mucho tiempo separada de la otra.

ENVOLTURA NUCLEAR

La **envoltura nuclear** son dos membranas, con un espacio perinuclear o intermembranoso en medio de 200 a 300 Å, que se continúa con el Retículo Endoplasmático.

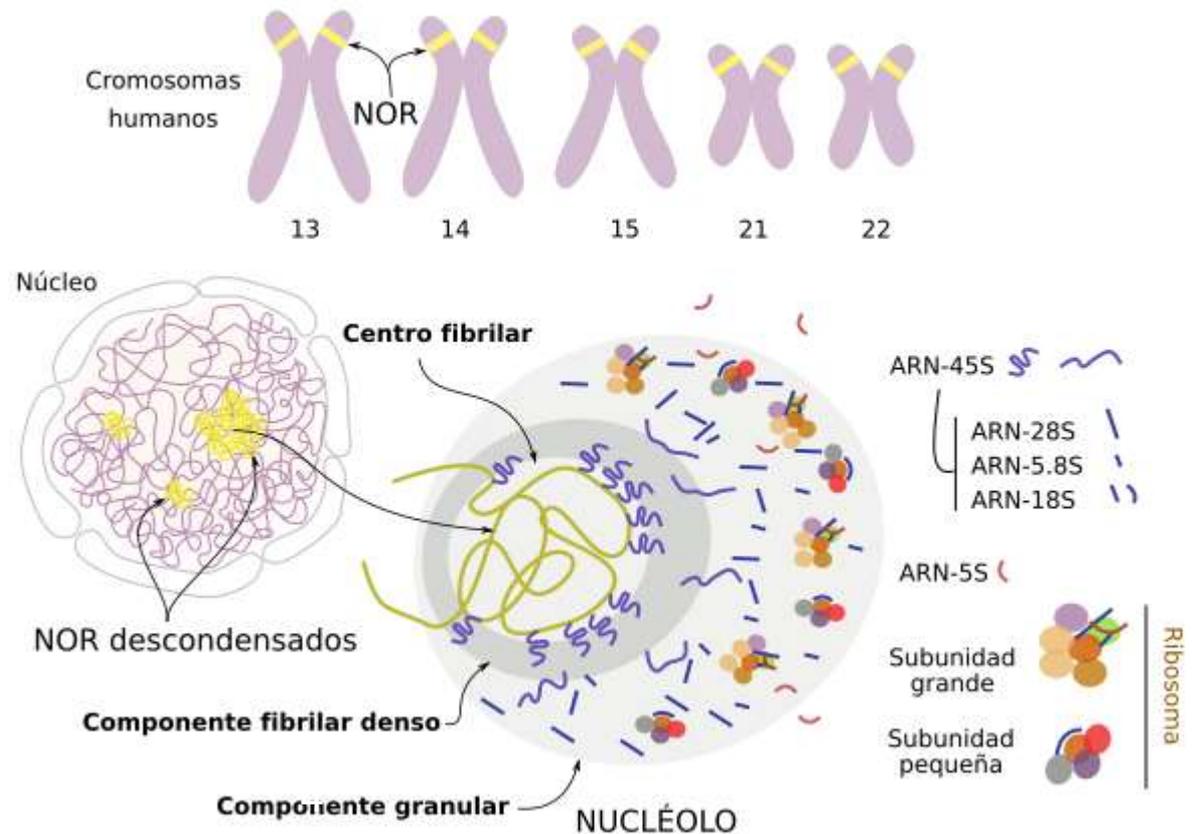
Unidas a la membrana nuclear interna se encuentran proteínas fibrilares (del tipo de los filamentos intermedios) que funcionan como esqueleto del núcleo (**lámina nuclear**), que interviene en la desorganización y reorganización de las membranas nucleares al comienzo y al fin de la división celular.

Las dos membranas de la envoltura se interrumpen por los **poros nucleares**, que comunican el interior del núcleo con el citoplasma, pero el paso de sustancias entre los dos es un proceso muy selectivo.



NUCLEOLO

- El nucléolo contiene el aparato enzimático encargado de sintetizar los diferentes tipos de ARNr.
- Durante la división del núcleo el nucléolo desaparece y cuando los cromosomas se vuelven a desespiralizar, se forma de nuevo, a partir de unos genes que contienen información para la síntesis del ARNr. Son las llamadas **Regiones Organizadoras Nucleolares** de los cromosomas (**NOR**)

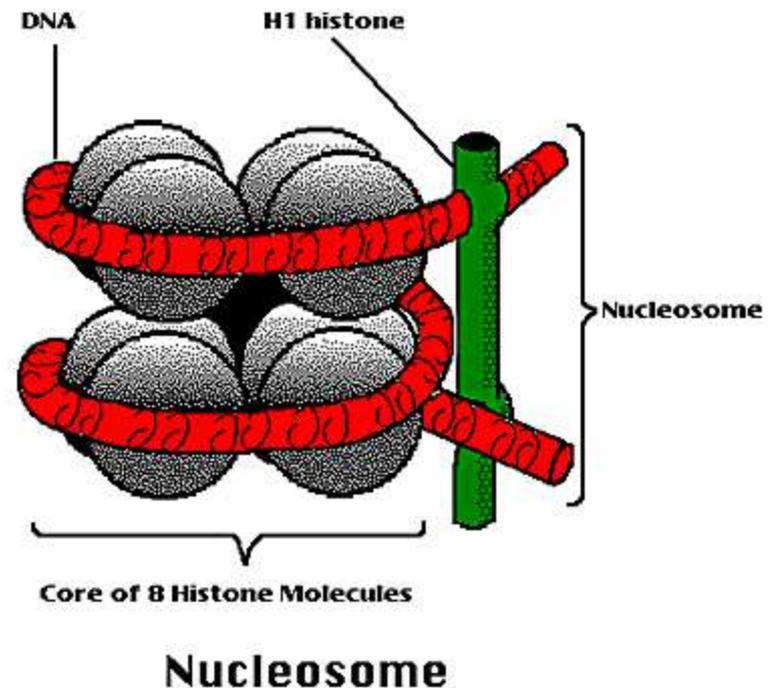


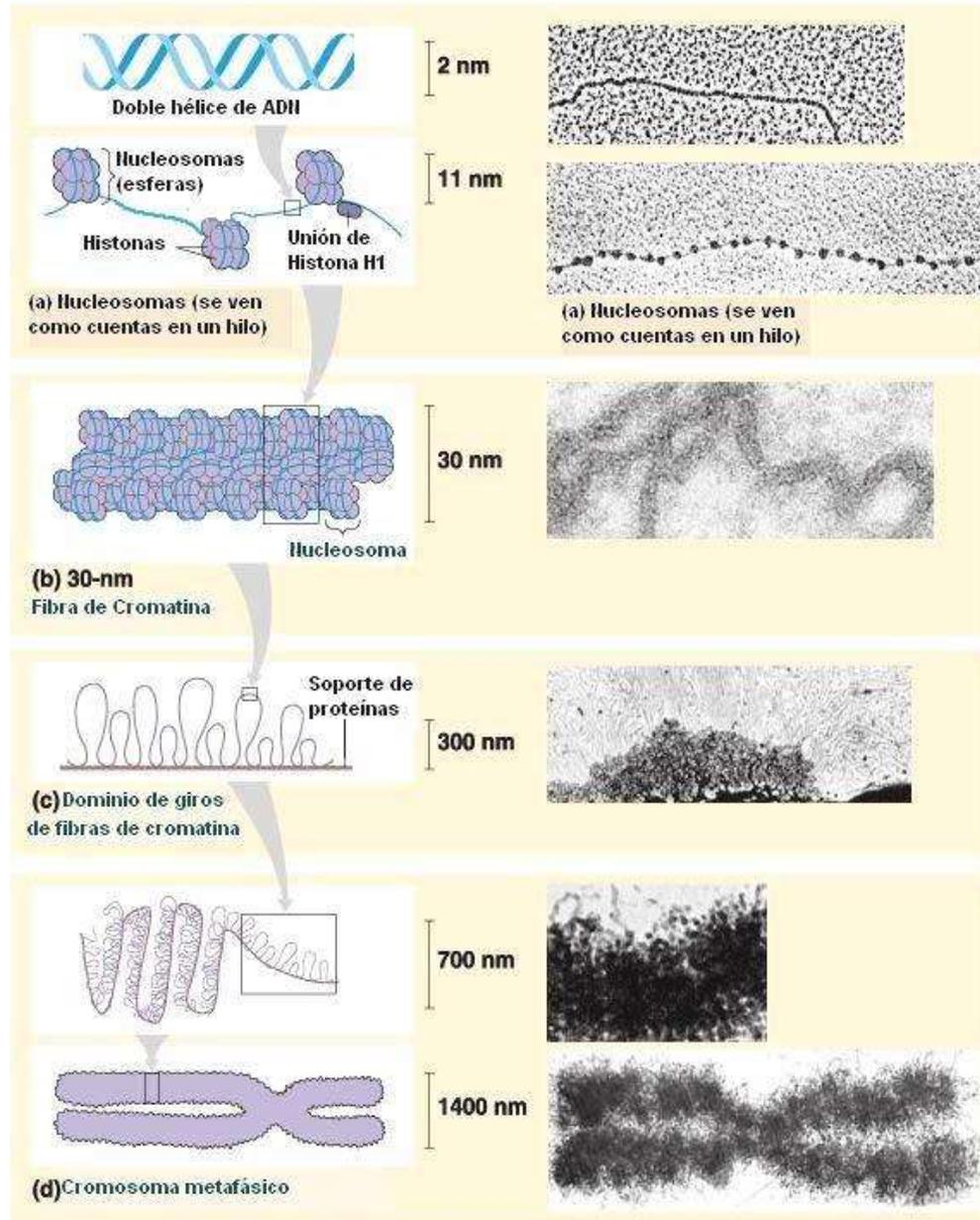
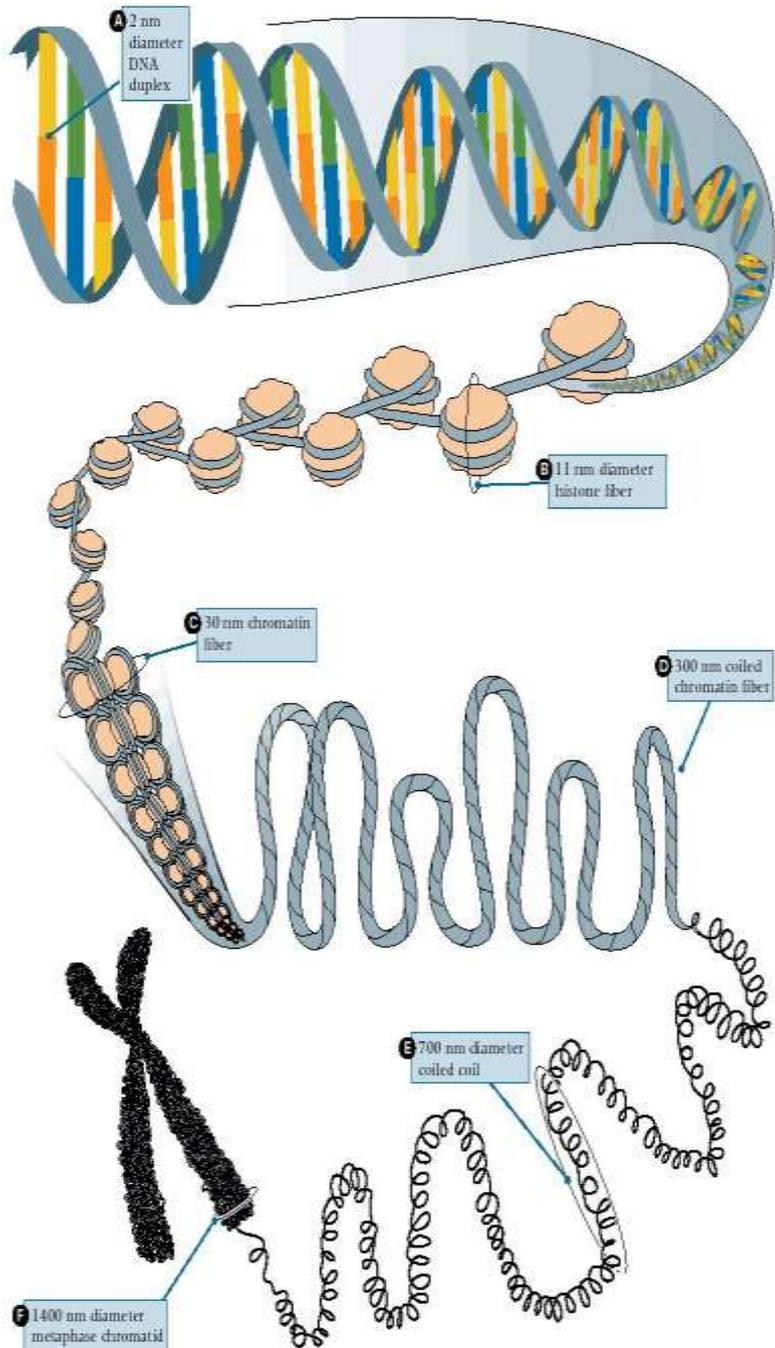
Estructura de la cromatina.

La cromatina esta formada por la fibra de cromatina de 100 Å (collar de perlas), que a su vez está formado por la fibra de ADN de 20 Å (la doble hélice) asociada a unas proteínas llamadas histonas. Las histonas son proteínas básicas (ricas en lisina y arginina), lo que les permite unirse a la molécula de ADN (con carga negativa debido a los residuos fosfóricos) independientemente de la secuencia de nucleótidos.

Hay dos tipos de histonas:

- nucleosomales (H2A, H2B, H3 y H4) que tienen de 102 a 135 aminoácidos
- no nucleosomales (H1) que son más grandes (223 aminoácidos).



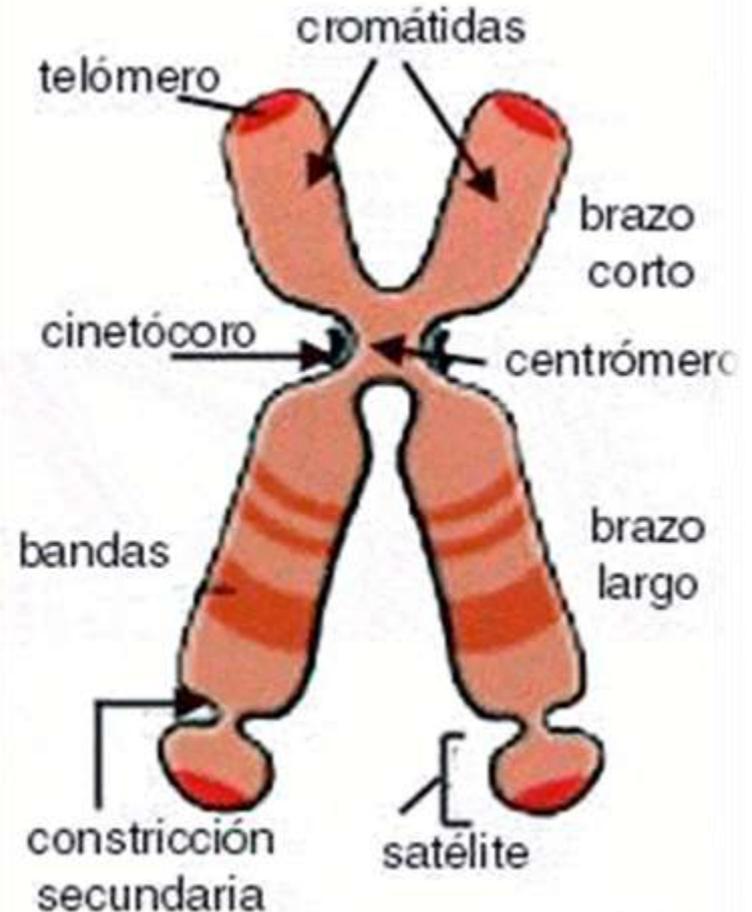


CROMOSOMAS

En los periodos de división celular (Mitosis o Meiosis), la cromatina da lugar a unas estructuras denominadas cromosomas, visibles con microscopio.

Antes de iniciarse la división celular se produce la duplicación del ADN y aparecen dos fibras de ADN idénticas, fuertemente replegadas sobre si mismas denominadas cromátidas, unidas por el centrómero.

Telómero: secuencia de ADN repetitivo en los extremos del cromosoma, que lo protege, se acorta en cada división celular y por ello se relaciona con el envejecimiento.



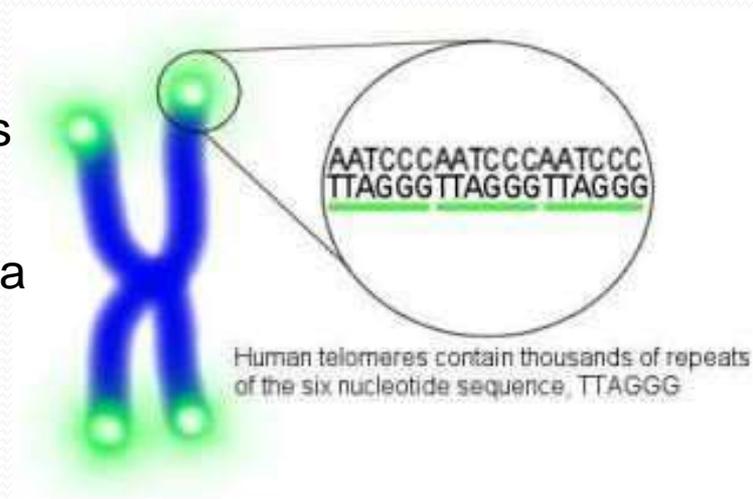
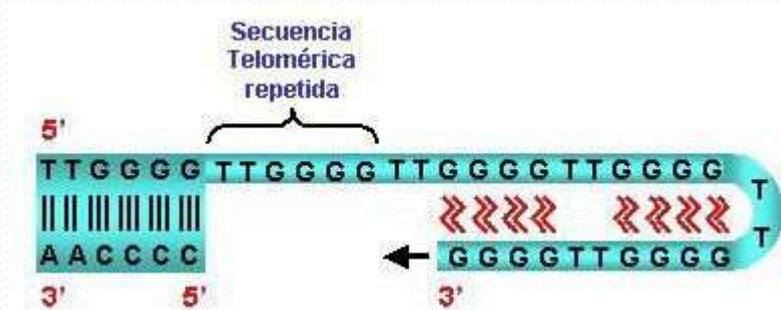
Telómeros

Secuencias repetitivas localizadas en los extremos de los cromosomas de eucariotas (los procariontas no porque son circulares): tienen unas 6-10 kilobases, y consisten de unas 250 – 1500 repeticiones de una secuencia rica en G, en los vertebrados es TTAGGG

- Sin los telómeros, los cromosomas son inestables y pueden combinarse con otros cromosomas
- Protegen al cromosoma de la degradación
- Permiten la replicación completa de cada cromosoma
- Posicionan a los cromosomas dentro del núcleo

Se acortan un poco luego de cada división celular, lo que implica un límite de divisiones y es responsable del envejecimiento.

En células que se dividen mucho existe la enzima telomerasa que se encarga de alargar los telómeros.

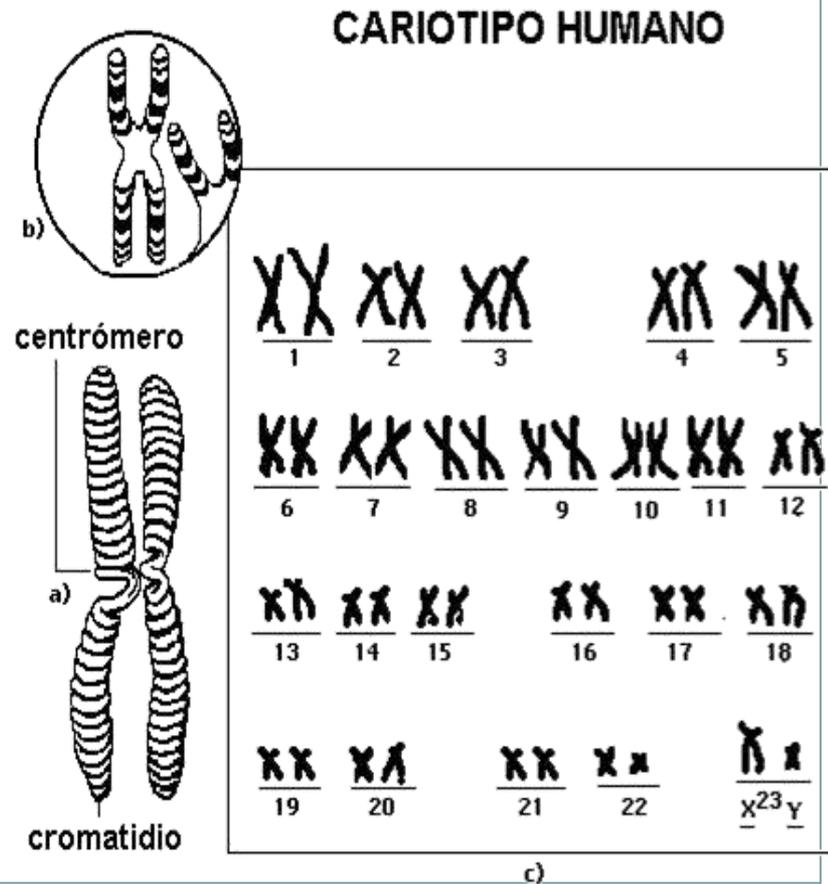


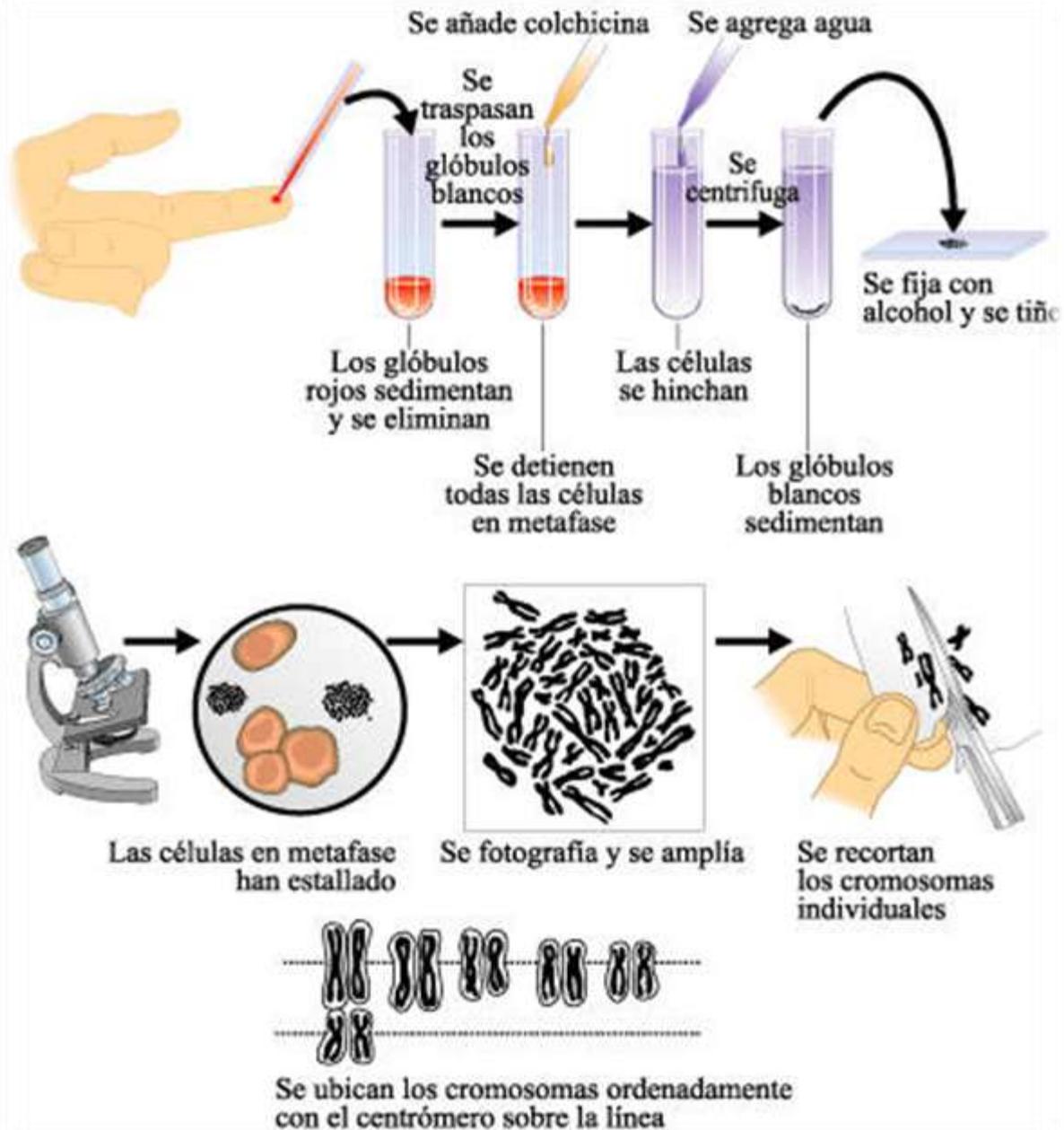
Número de cromosomas.

- El número de cromosomas de cada especie es constante. El conjunto formado por los cromosomas de una especie, representados de forma fotográfica, constituye su **cariotipo**.

Dentro del cariotipo se distinguen:

- Cromosomas somáticos o autosomas**, que son comunes a los dos sexos y están implicados en el desarrollo de las características del cuerpo.
- Cromosomas sexuales**: Son los que determinan el sexo del individuo. Son el cromosoma X y el Y (generalmente de menor tamaño).

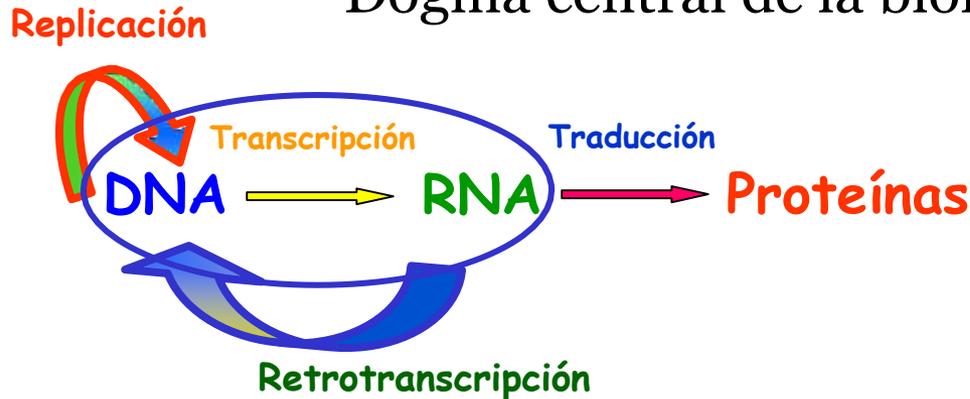




Material genético cumple tres funciones:

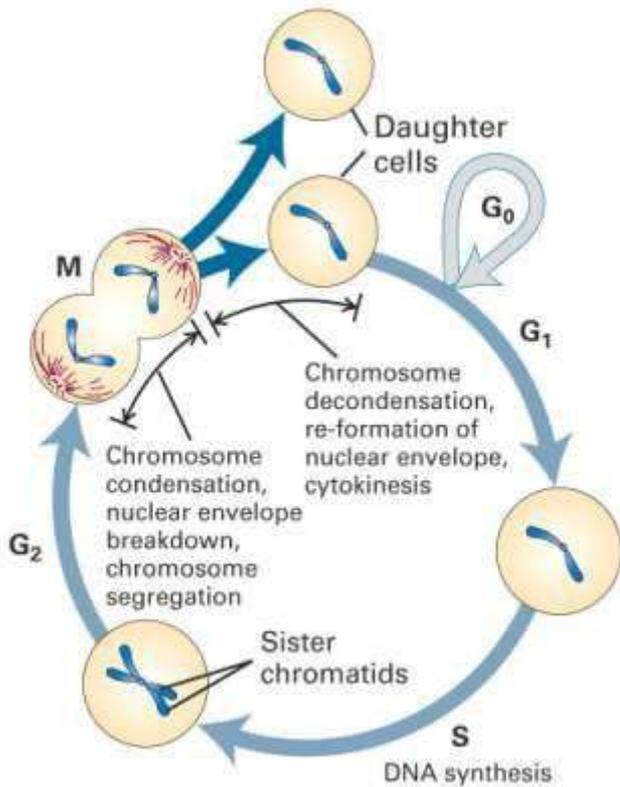
- 1) almacena información, 2) replicación y herencia,
- 3) expresión genética-función celular

Dogma central de la biología molecular



- La replicación y la transcripción implican los pasos generales de iniciación, elongación y terminación, con polaridad 5' a 3'
- Requieren grandes complejos de iniciación con múltiples componentes
- En el ARN, U reemplaza a T, como base complementaria de A
- En la síntesis de ARN no está involucrado un iniciador
- Solo una pequeña porción del genoma se transcribe a ARN, en tanto el genoma completo debe copiarse durante la replicación de ADN.
- En la síntesis de proteínas luego de la traducción sigue el procesamiento para darle su funcionalidad.

La replicación de los cromosomas eucarioticos ocurre una vez por ciclo celular



Relación :

Estado Replicación Progresión del ciclo

- Inicia Replicación DNA Célula inicia división celular
- Cuando inicia debe terminar No hay división celular hasta que se complete la replicación
- El final de la replicación Posible señal División

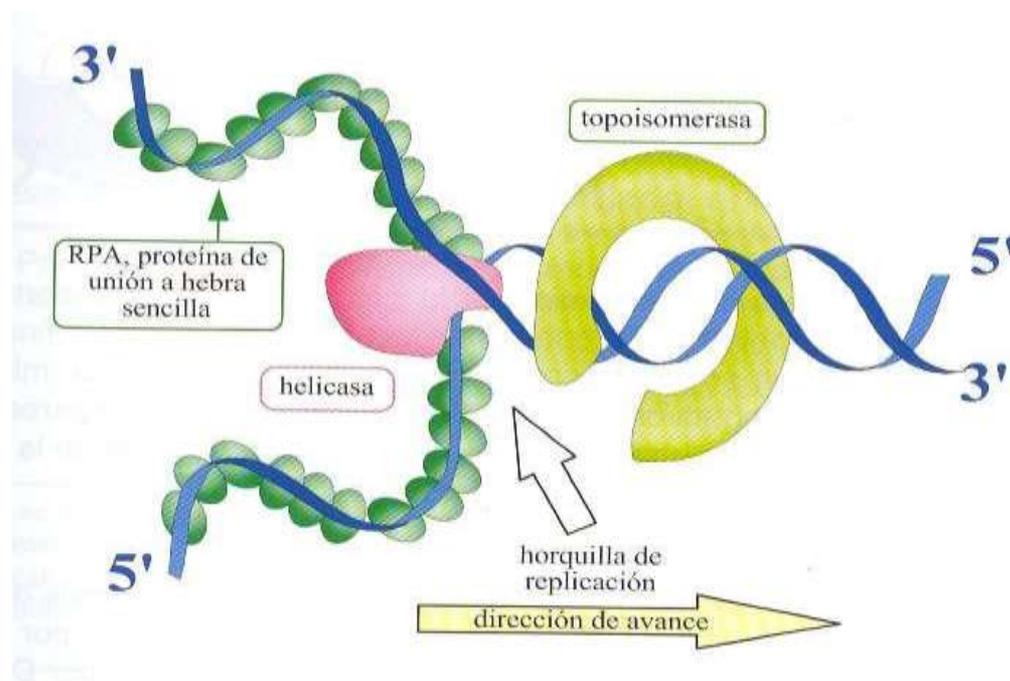
Replicación en eucariotas

Iniciación de la replicación: Se caracterizan por múltiples sitios de unión, selección de sitios por mecanismos epigenéticos.

-ORC (origin recognition complex), se une al complejo.

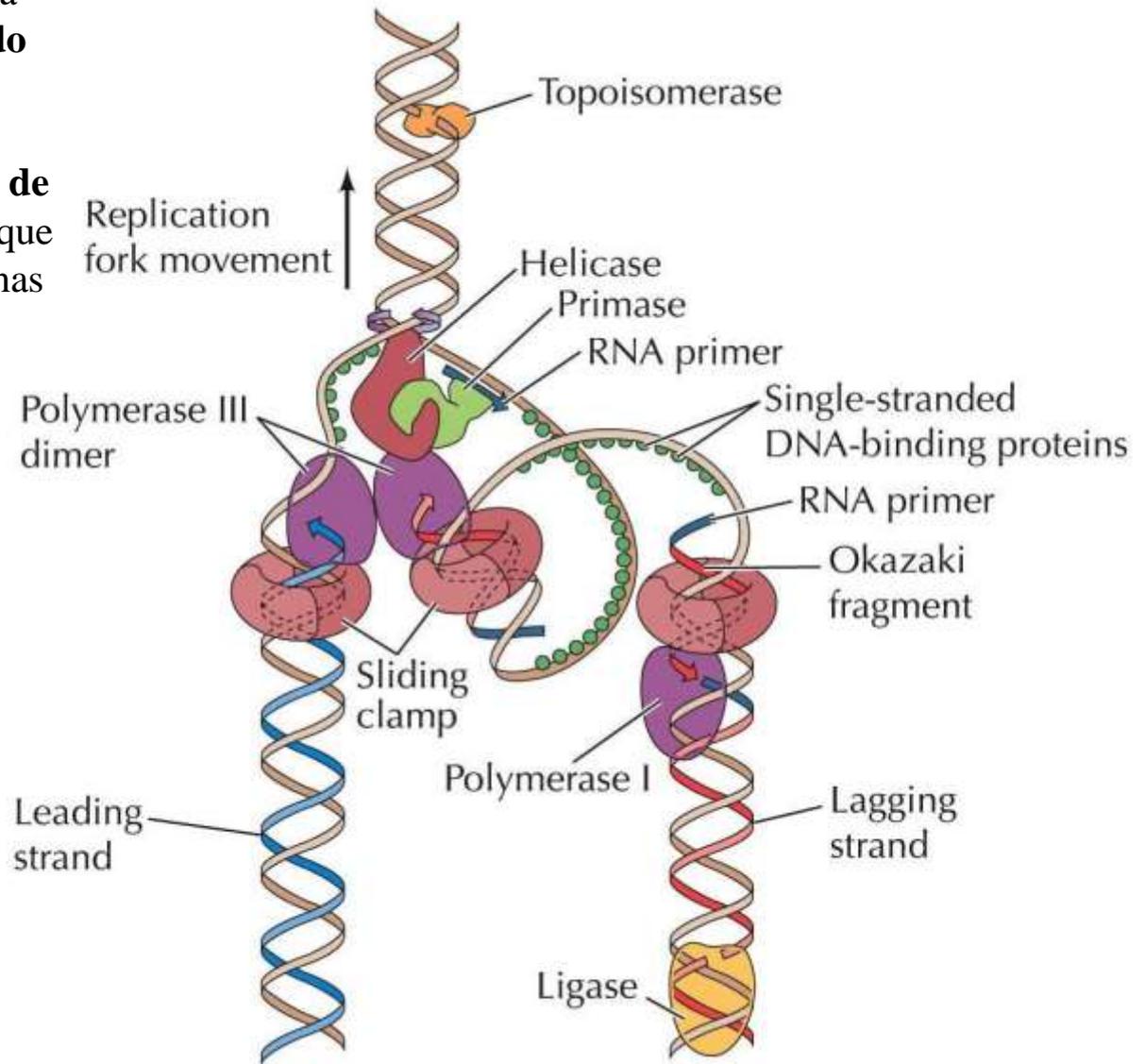
-Ensamblaje del complejo de pre-replicación (pre-RC) formado por ADN más proteínas MCM con función helicasa.

-Después de la fase S del ciclo celular la fosforilación de MCM y proteínas para iniciar la replicación, y la MCM helicasa se mueve con la horquilla de replicación.



El replisoma: horquilla de replicación

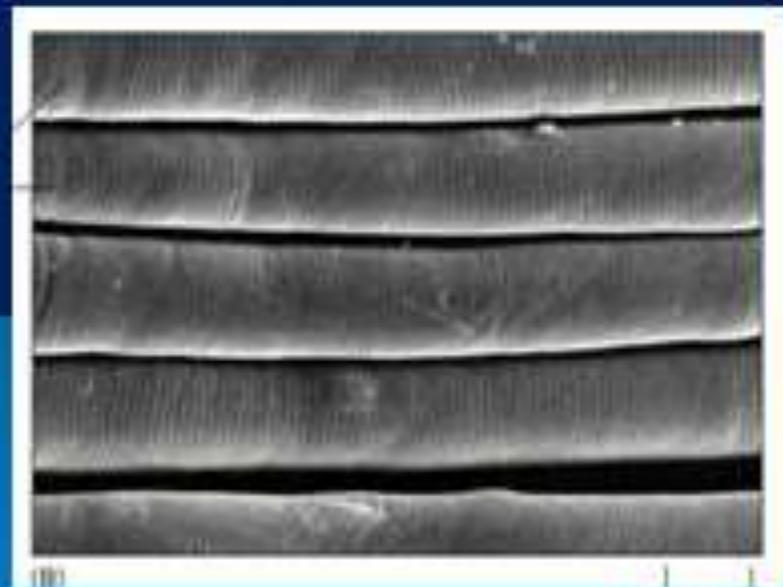
macrocomplejo compuesto por la ADN-pol, una **helicasa** (que separa las dos hebras de ADN **rompiendo los enlaces de hidrógeno**), un complejo **gamma** que coloca **proteínas en la hebra retardada de ADN para estabilizarla** y evitar que **renaturalice** con la continúa; y unas proteínas que mantienen el resto unidas entre sí.



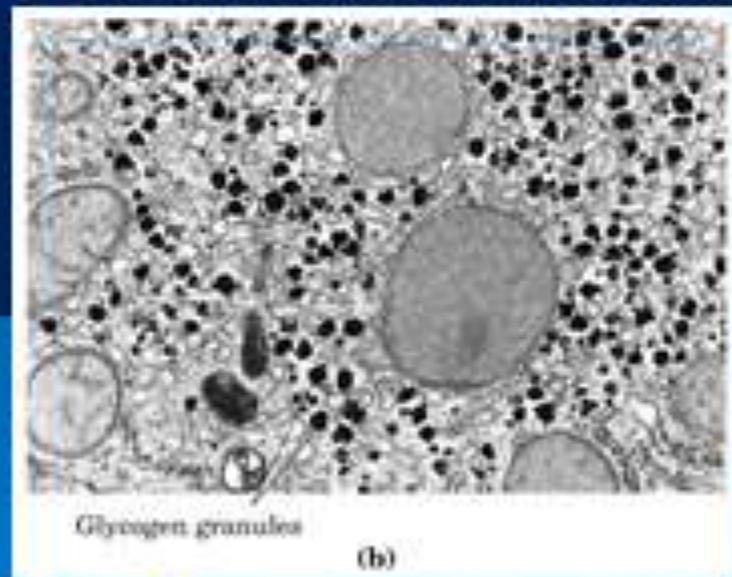
Regulación de la expresión de los genes

El mismo genoma, pero función distinta

FIBRA MUSCULAR



HEPATOCITO



¿CÓMO ES POSIBLE?

MEDIANTE PATRONES DE REGULACIÓN GÉNICA

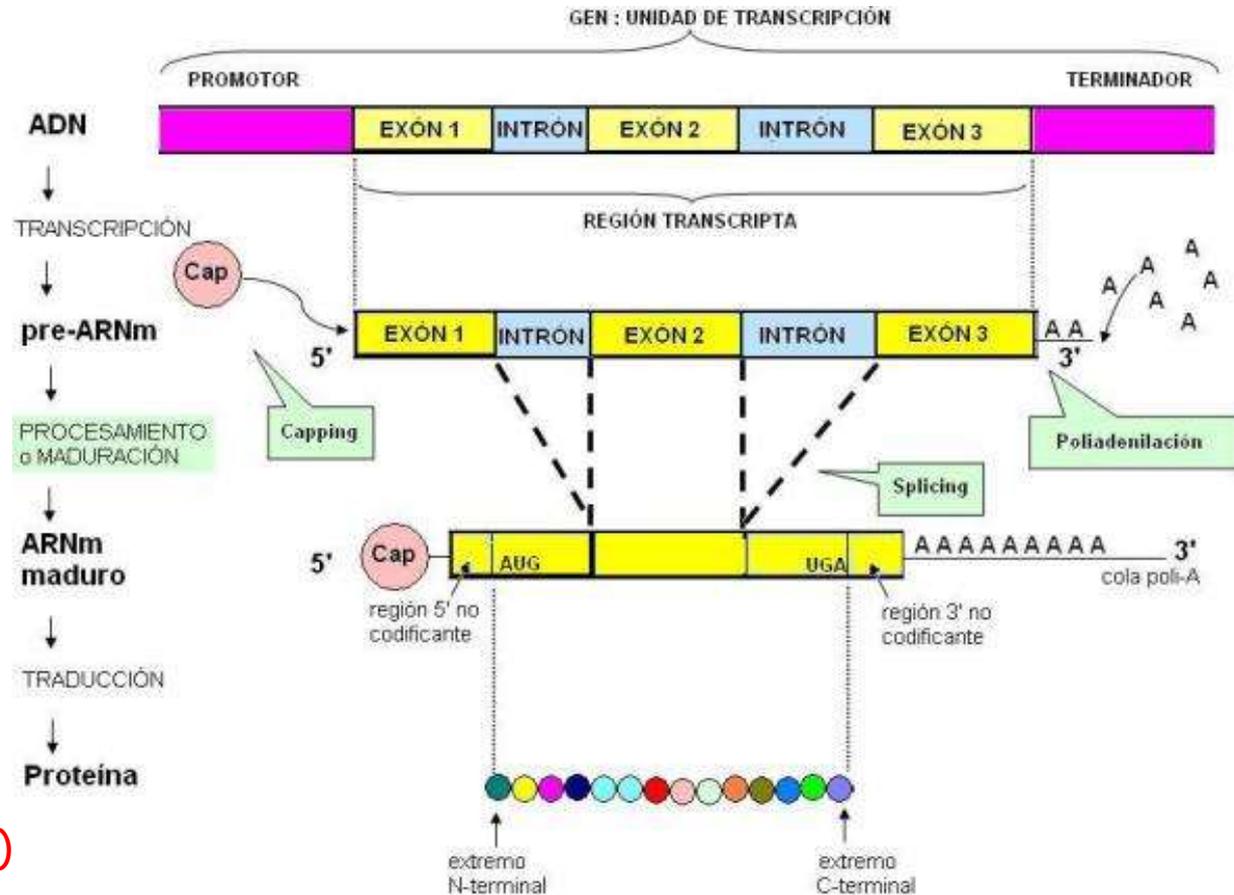
Expresión genética: Síntesis de proteínas

- **Transcripción**

- ✓ Iniciación
- ✓ Elongación
- ✓ Terminación
(en el núcleo)

- **Traducción**

- ✓ Iniciación
- ✓ Elongación
- ✓ Terminación
(en el citoplasma)

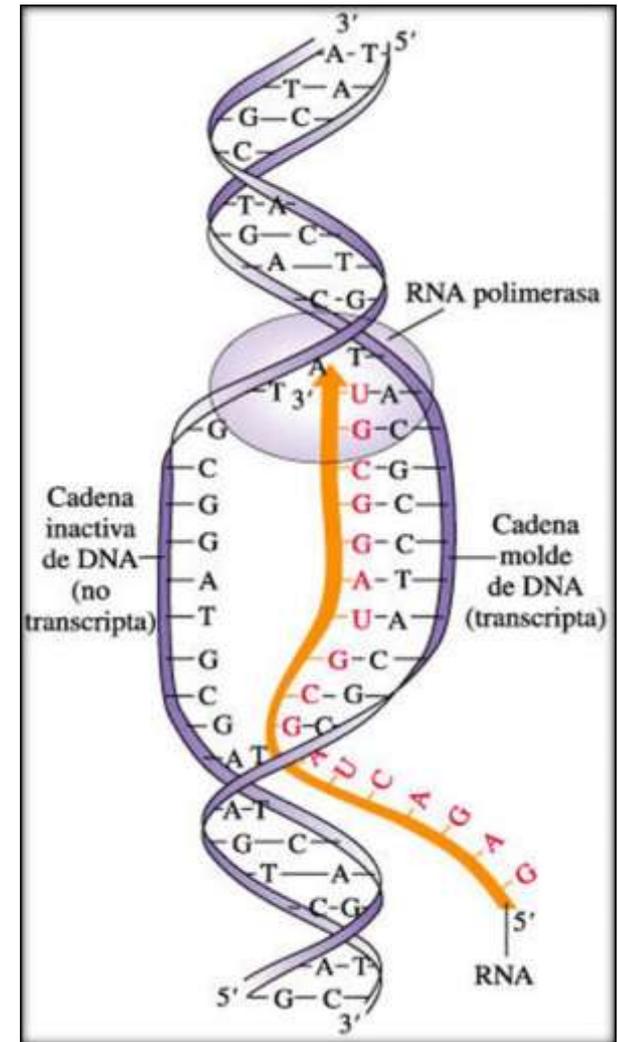
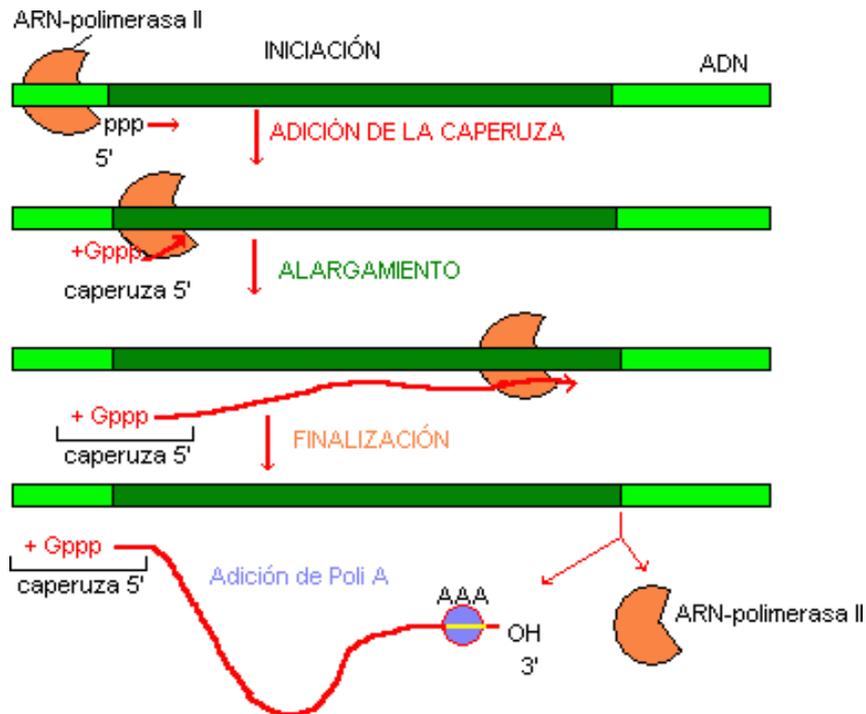


Transcripción:

- Mecanismo celular donde información genética contenida en el **ADN** es transferida a una molécula de **ARN**.
- Mediante la **polimerización de nucleótidos** a lo largo de una cadena molde de DNA.
- La síntesis de ARN está catalizada por la **ARN polimerasa**.

En los eucariotas sucede en el núcleo.

La transcripción del DNA es un mecanismo fundamental para el control celular y para la expresión de la información genética.

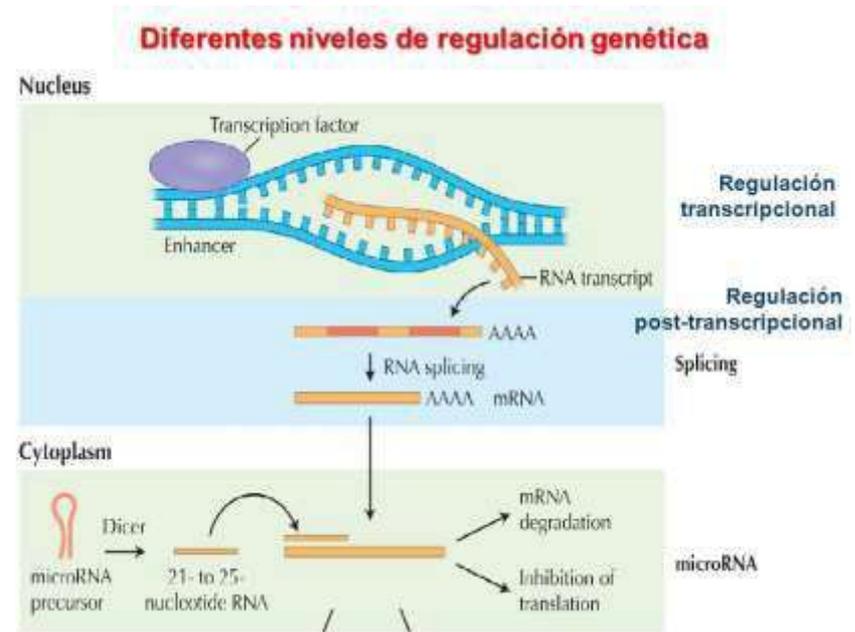


La transcripción es **asimétrica**: solamente se transcribe para cada gen una de las dos cadenas del ADN. La cadena transcrita se llama **codificadora**, y la cadena de ADN que no se transcribe se denomina **estabilizadora**.

NIVELES DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN EUKARIONTES

Las diferentes posibilidades de regulación de la expresión génica en organismos eucariotas son:

1. Nivel de cromatina o genómico
2. Nivel transcripcional
3. Nivel postranscripcional
4. Nivel traduccional
5. Nivel postraduccional



Una regulación precisa y oportuna (activar y desactivar genes, ajustar la velocidad de la expresión) permite regular la diferenciación celular; que las células respondan eficazmente a los cambios

1. CONTROL GENOMICO o pre-transcripcional

Solo una fracción de los genes se llega a expresar en cada una de las diversas clases de células.

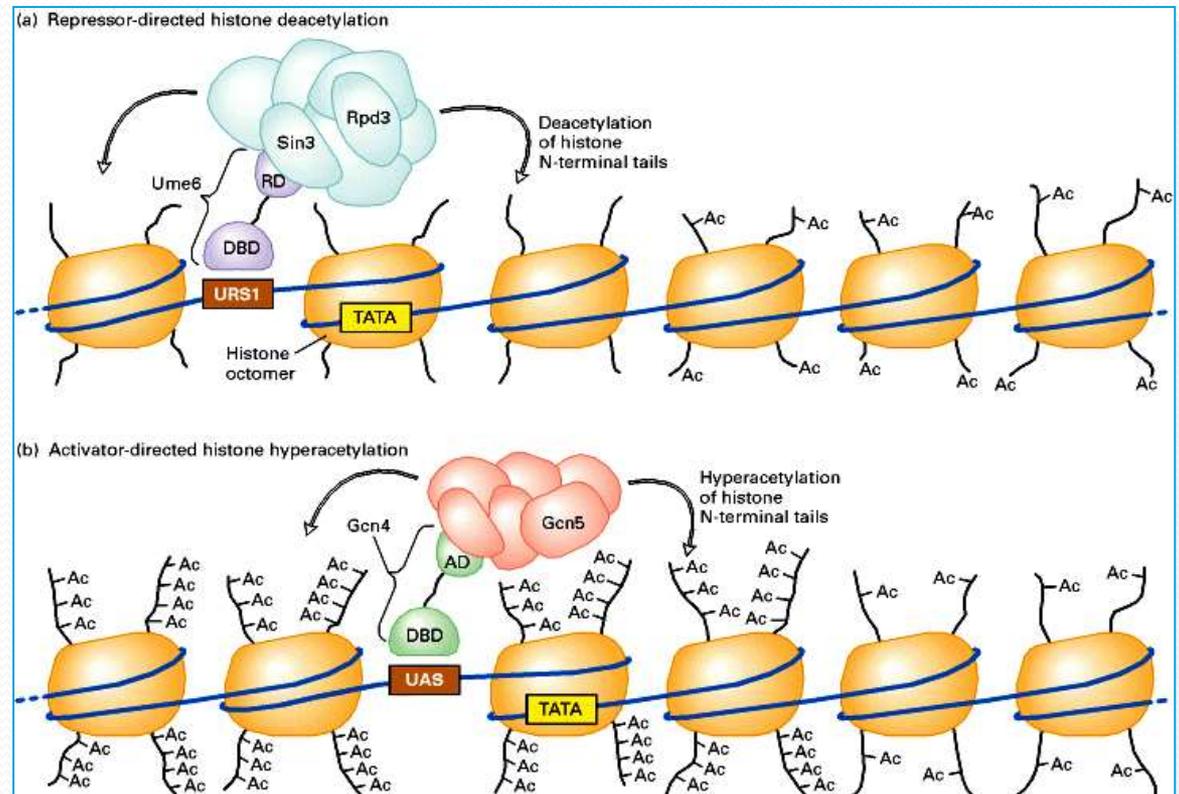
Se basa en interacciones ADN-proteínas y se controla el acceso a las secuencias génicas del ADN.

- -**metilación del DNA**, los residuos de desoxicitidina silencian la expresión. Es un mecanismo de control epigenético ej impronta
- -**acetilación de las histonas** (impulsa la expresión de los genes) y la **desacetilación** tiene el efecto contrario (inhibe la expresión génica)

Ejemplos menos frecuentes;

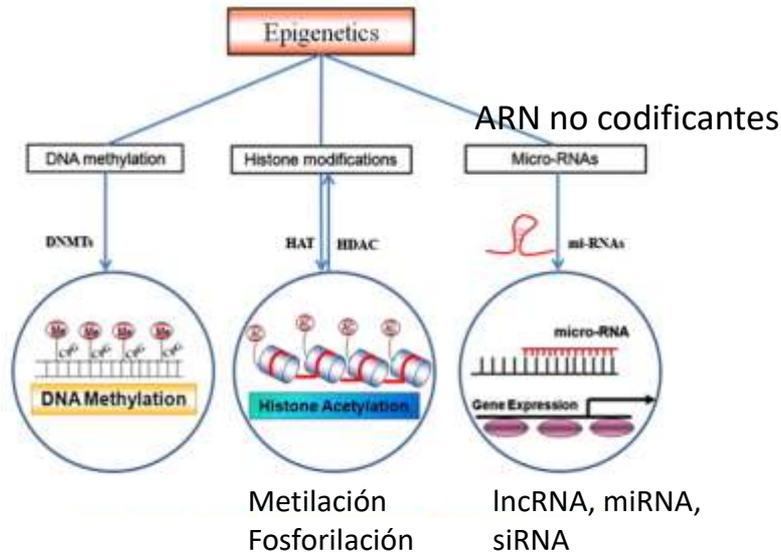
-**Reordenamiento**: se transcribe el gen que se ha creado, eliminando varias secuencias de DNA que separan la información que es necesaria para la síntesis del producto génico

-**Amplificación o delección selectiva de genes** (ocurre en las primeras fases del desarrollo)



Mecanismos Epigenéticos

Cambios de la expresión de nuestro ADN sin que se modifique la secuencia genética



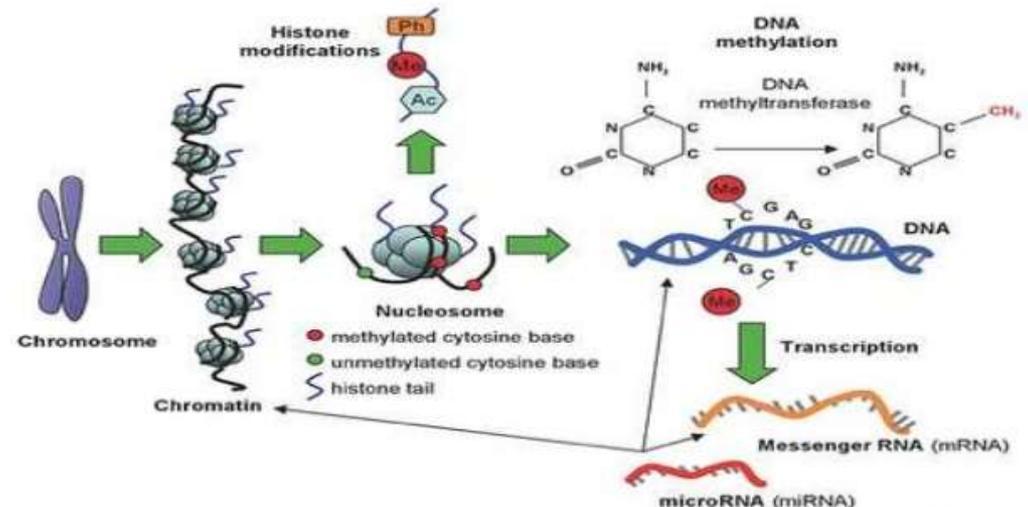
Epigenética:

Herencia que no está codificada en el ADN.

Modificaciones de la expresión genética que no dependen de la información almacenada en el ADN, sino de factores ambientales (dieta, ejercicio, contaminación).

Mecanismos de regulación

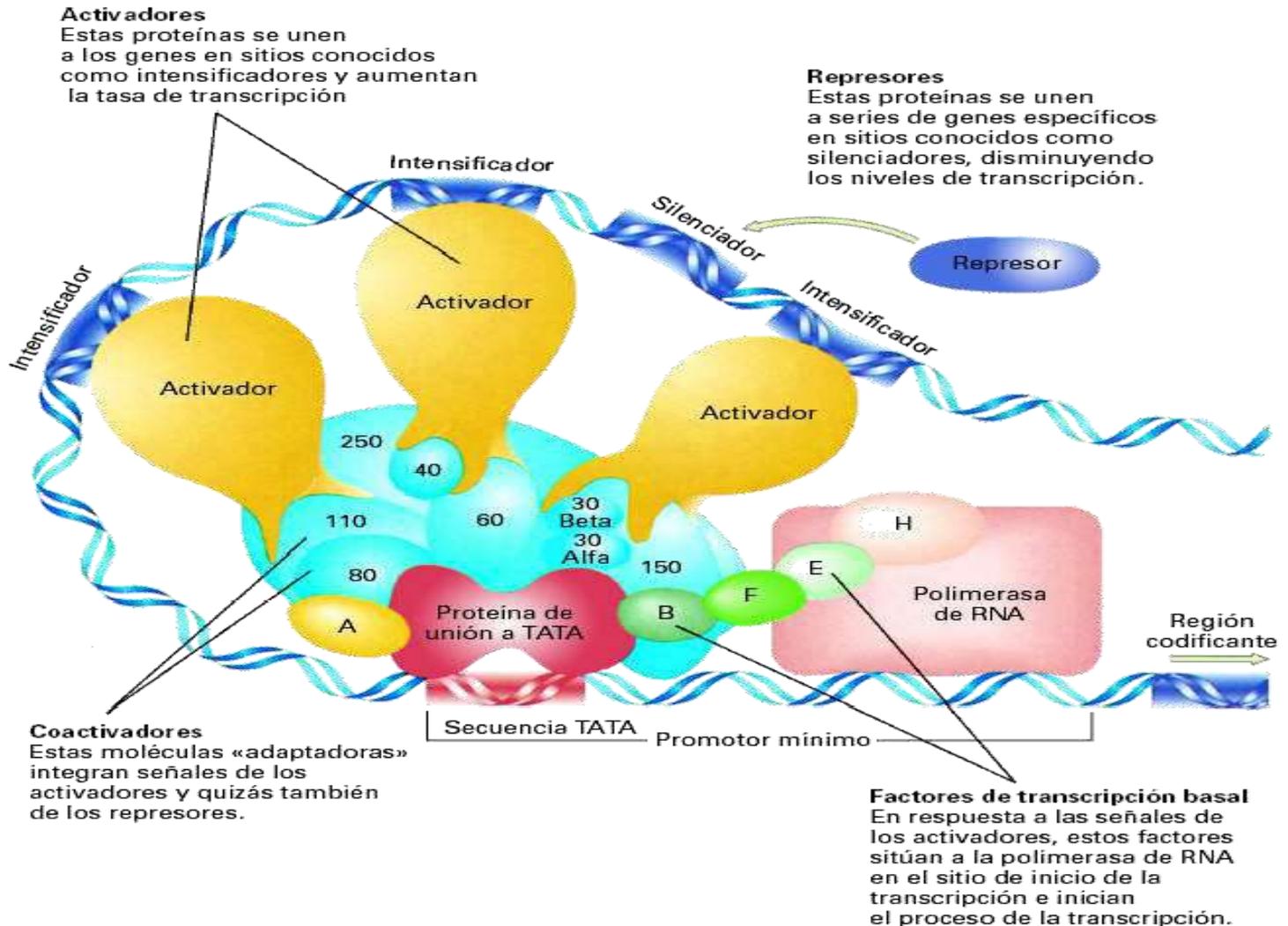
Metilación del ADN: silencia la expresión. Explica la impronta genómica



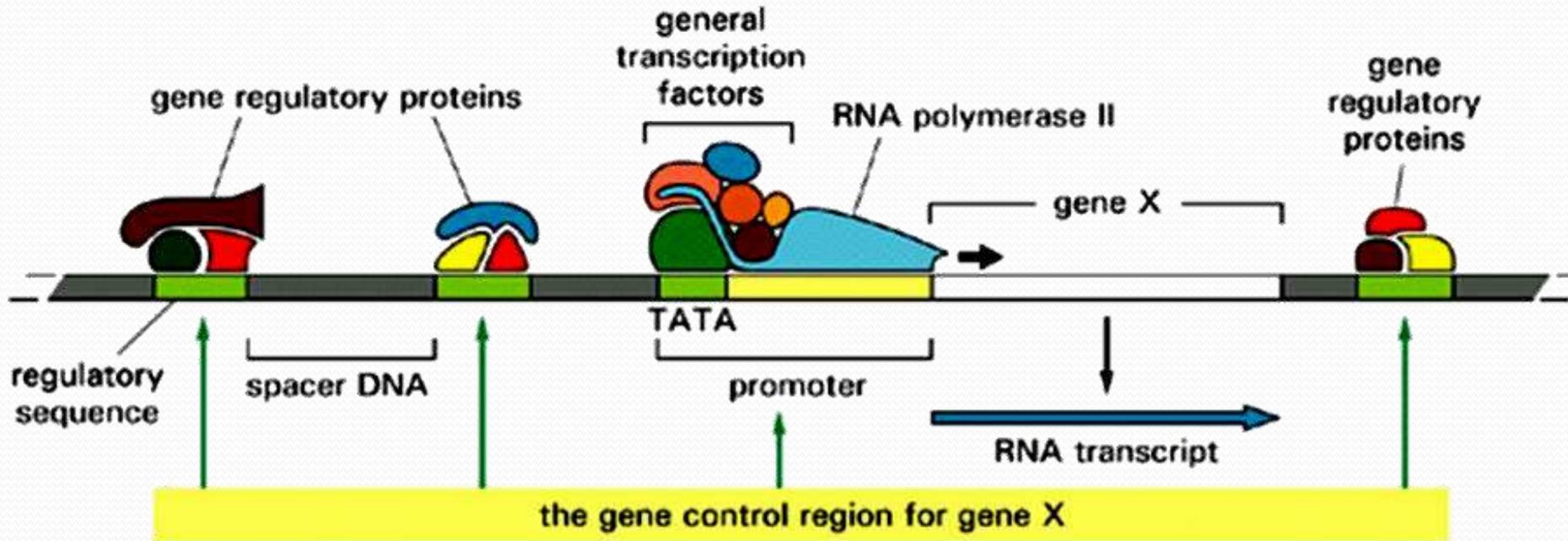
2. CONTROL TRANSCRIPCIONAL

Uno de los modos más importantes de regulación de la expresión en eucariontes.
Incluye los promotores, la presencia de secuencias reguladoras potenciadoras (enhancers)
Se modifica la velocidad y la frecuencia del inicio o de la elongación

y la interacción entre múltiples proteínas activadoras o inhibidoras, mediante su unión a secuencias específicas de reconocimiento al ADN



Factores de transcripción reconocen promotores en la región reguladora del gen



Los factores de transcripción (TF) pueden actuar de dos maneras:

- 1) Regulando el acceso a las secuencias de inicio
- 2) Colaborando con la estabilidad del complejo de inicio

Mensajeros químicos como factores de transcripción:

Se sintetizan en múltiples actividades neuroendocrinas y ejercen sus efectos sobre el crecimiento, el desarrollo del tejido y la homeostasis corporal en el mundo animal. Las diversas acciones de regulación del desarrollo y función corporal se pueden explicar en términos de vías de regulación de la expresión génica.

Por ejemplo, las hormonas esteroideas

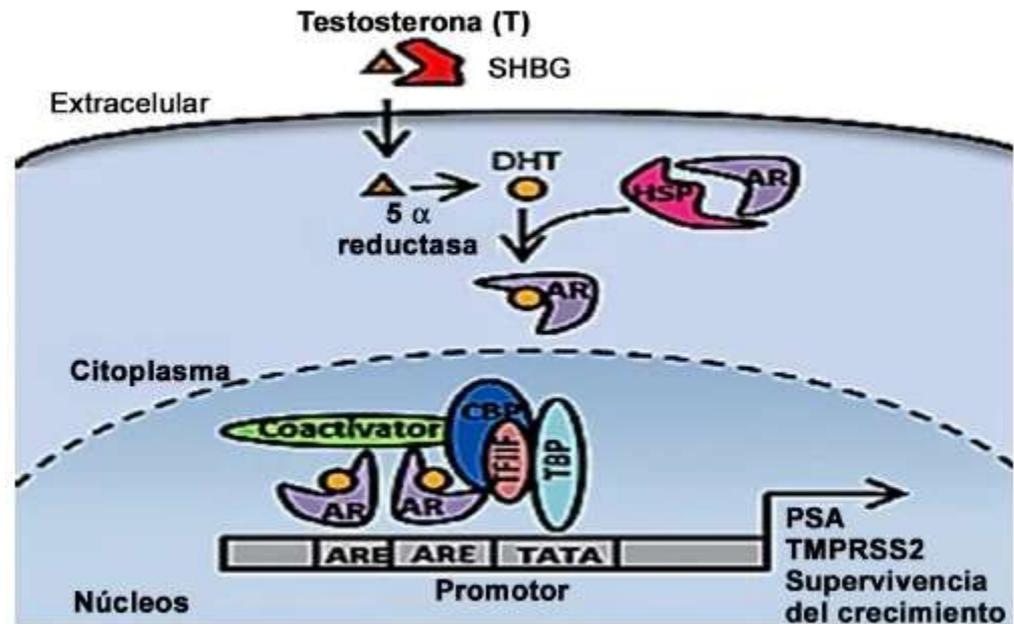
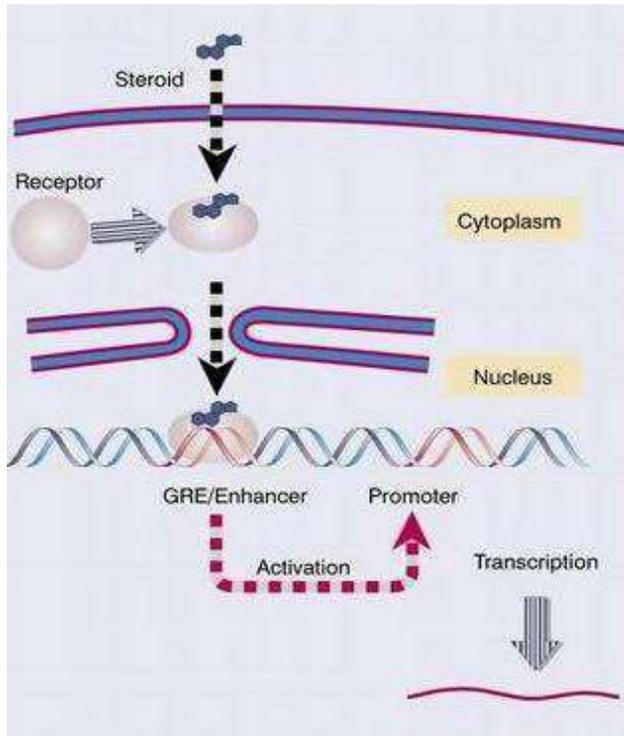
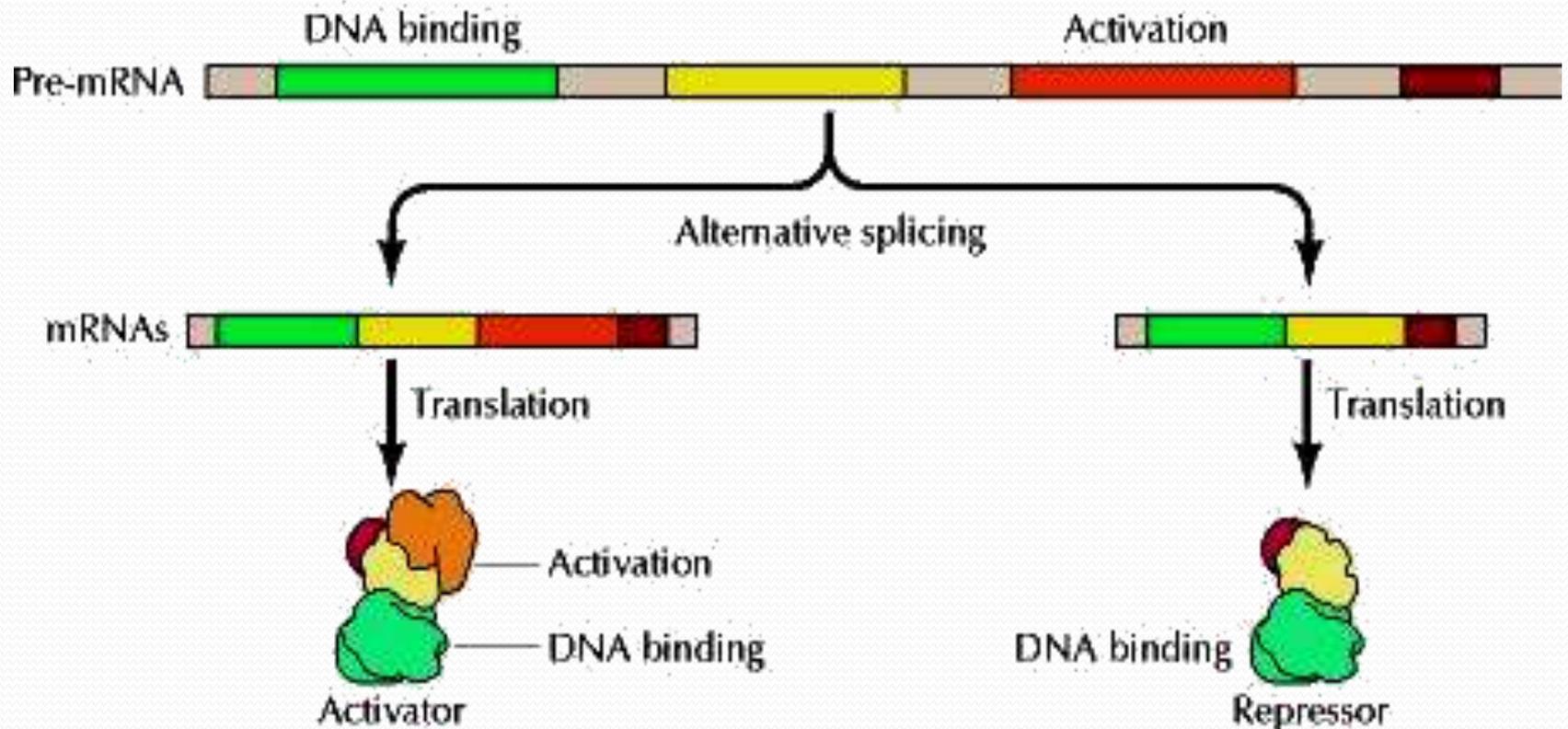


Figura 1. Mecanismo de acción del receptor de andrógenos⁵

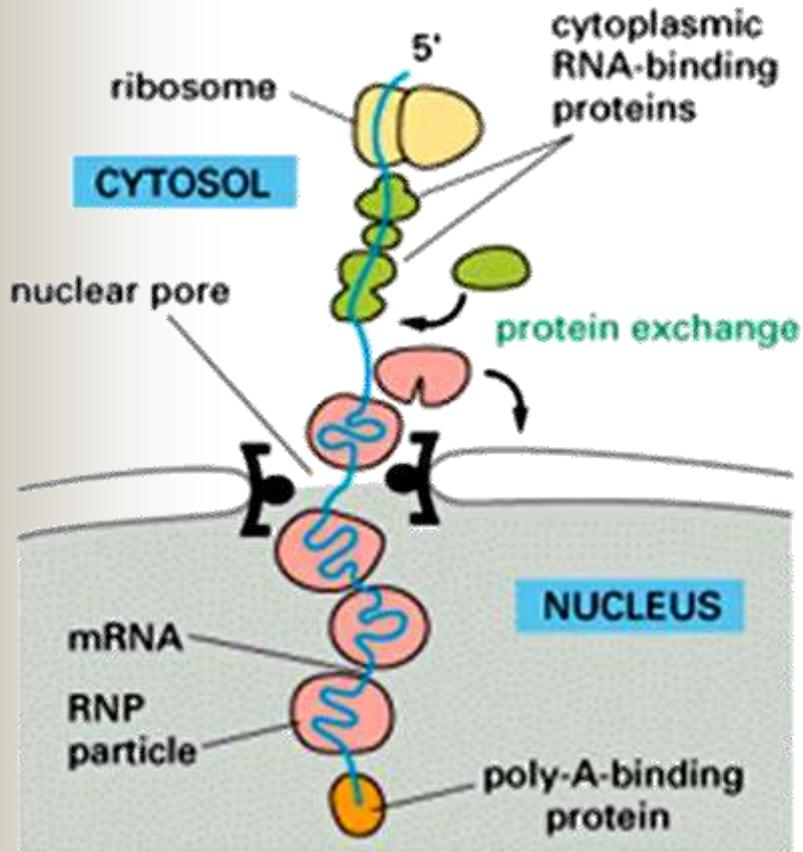
3. Control post-transcripcional

El corte y empalme alternativo: la unión de diferentes combinaciones de exones da lugar a la formación de mRNA de diferentes proteínas

SPLICING ALTERNATIVO



Diversas proteínas regulan el transporte del mRNA desde el núcleo hacia el citoplasma

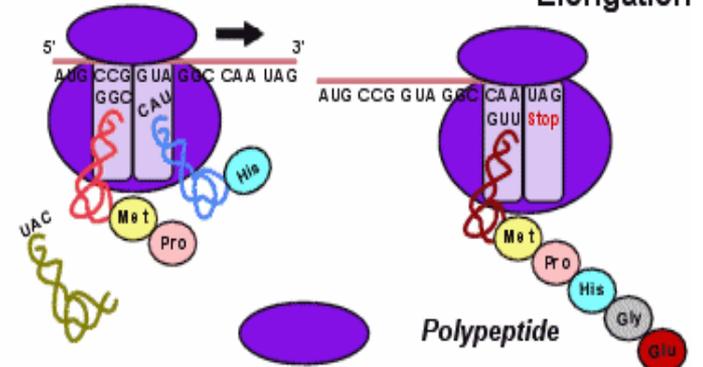
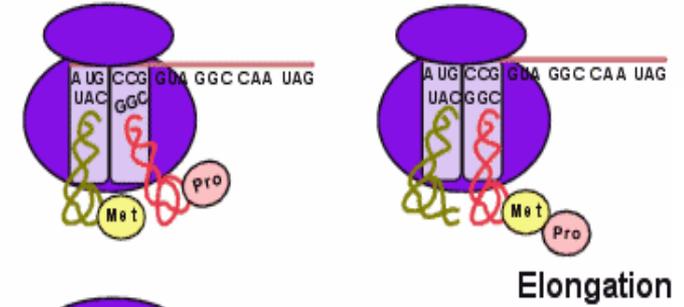
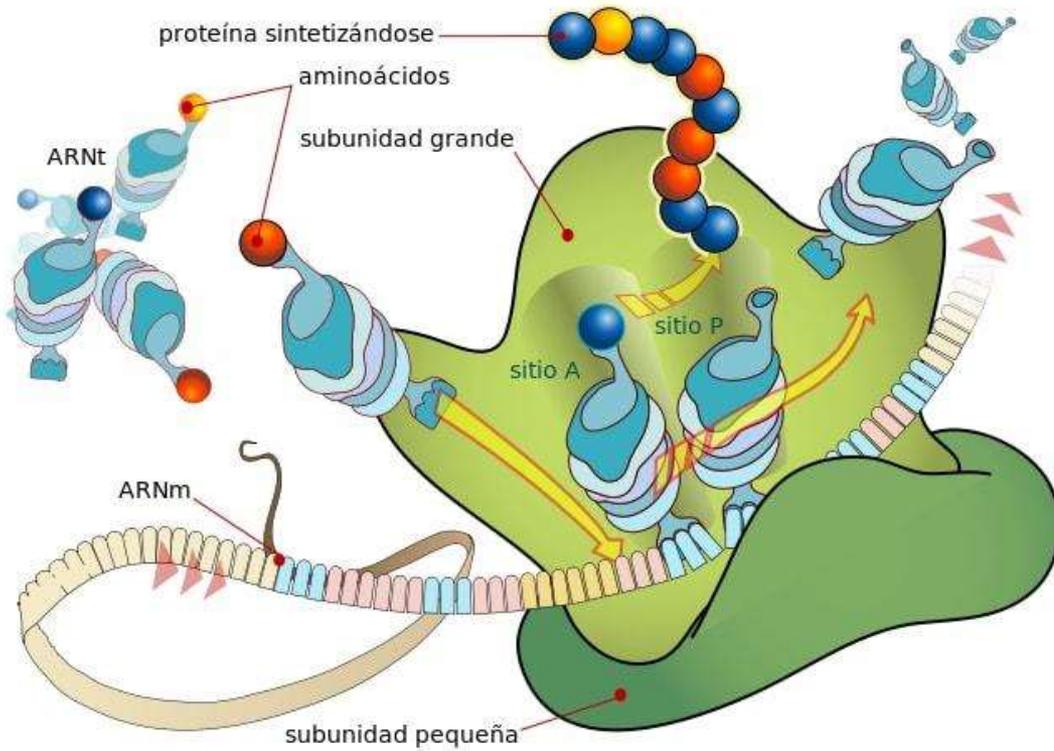


La exportación de las moléculas procesadas requiere la unión del extremo 5' del mRNA dentro del hnRNA a la proteína de unión a la caperuza (CBP) y la presencia de determinadas proteínas que componen una señal nuclear de exportación.

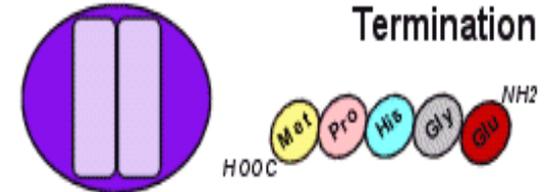
4. Control traduccional

- Edición del RNA: algunas células cambian las propiedades codificantes de las moléculas de mRNA recién sintetizadas (modificación química: se pierde o se añaden determinadas bases)
- Factores de traducción (proteínas no ribosómicas que ayudan en el proceso) alteran la tasa global de síntesis de proteínas y/o potencian la traducción de mRNA específico.
- Represores de la traducción, incluyendo microRNAs
- Estabilidad de los ARNm: al modificar la duración de la vida de los ARNm varía la cantidad de proteínas sintetizadas; la duración es variable pocas horas hasta un día; los que tienen colas poli-A cortas duran menos;

Factores de iniciación de la traducción



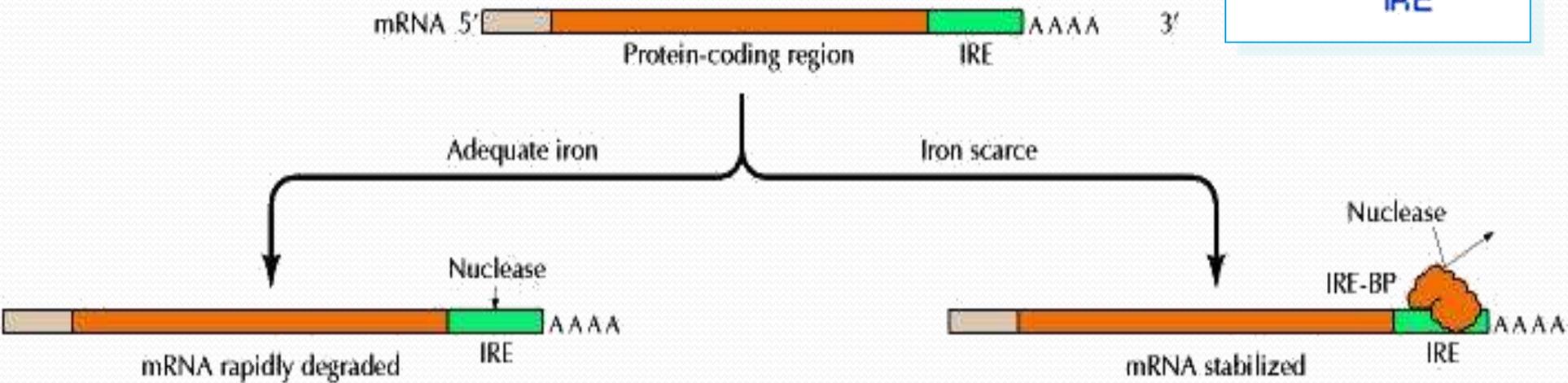
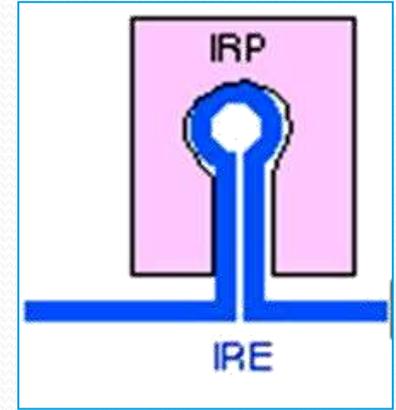
AUG CCG GUA GGC CAA UAG



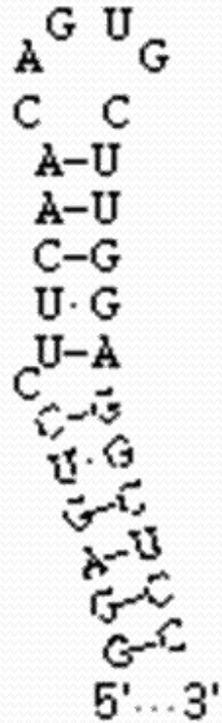
(c) 1999 Chemis

Se puede regular la vida media de los RNA

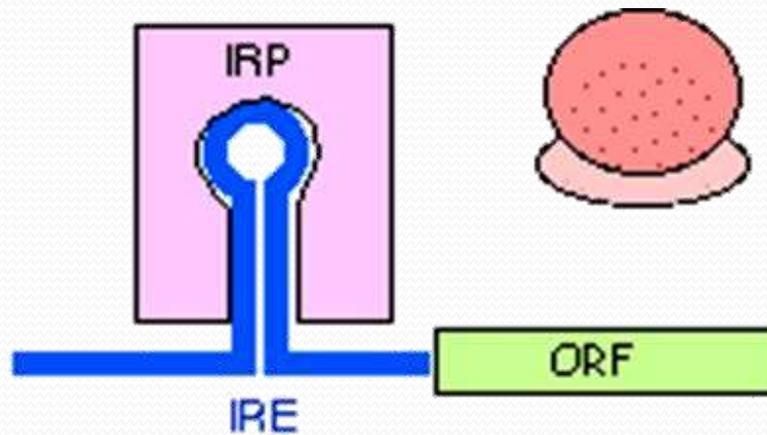
Transferrina



Controlar la frecuencia de traducción

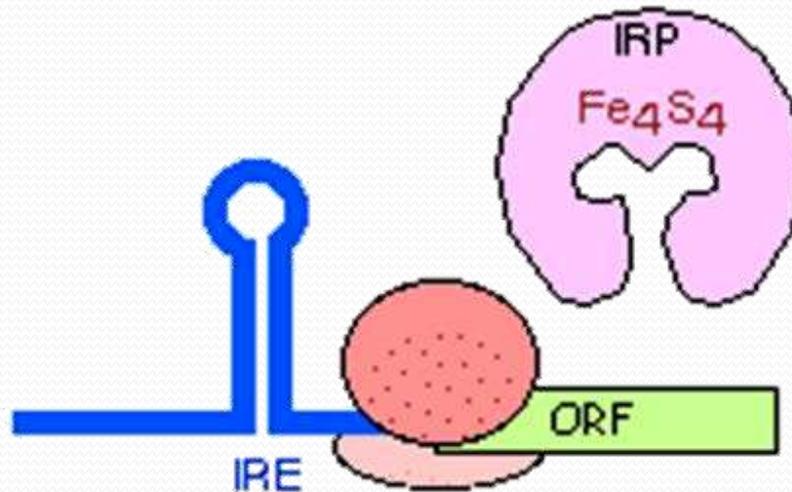


Motivo IRE



En ausencia de Fe,
IRP impide el inicio de
traducción

Ferritina



En presencia de Fe,
IRP no se une a IRE,
por lo que no se afecta
el inicio de traducción

5. Control postraduccional

Modificaciones que sufren las proteínas después de su síntesis para poder ser funcionales, que a su vez sirven para controlar la expresión génica.

El procesamiento de la proteína comprende maduración en RER, Golgi, citosol y separación proteolítica

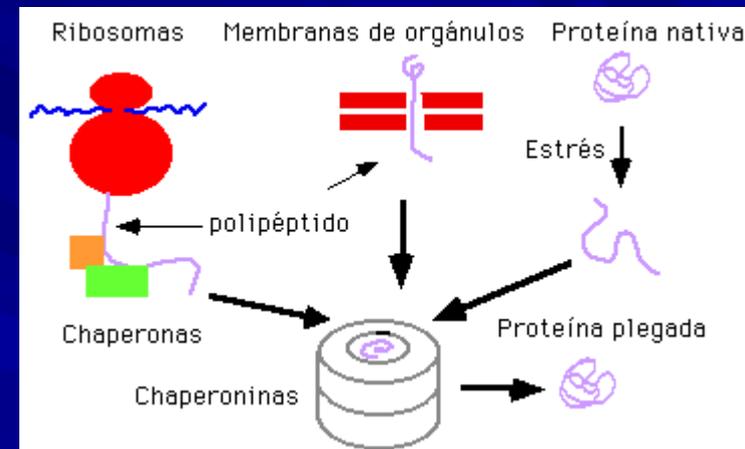
-plegamiento y ensamble de proteínas

-*cleavage* o corte de polipéptidos para activar o inactivar

-modificación de proteínas ej fosforilación, glucosidación

-incorporación de proteínas en vesículas secretoras

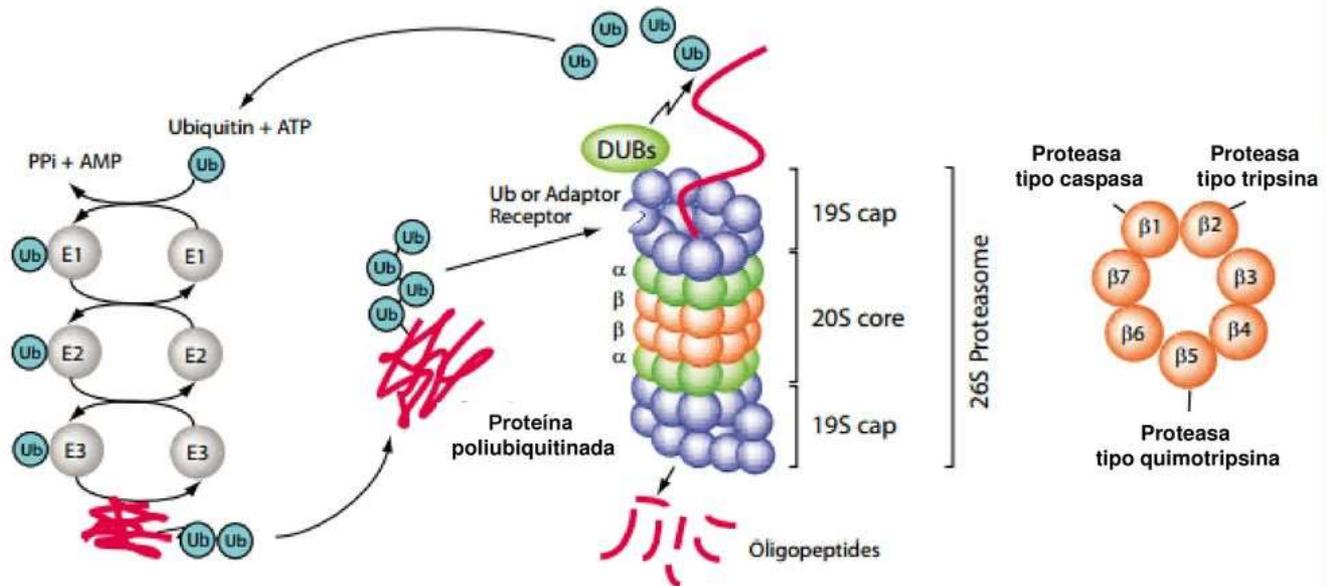
-tasa de degradación (*turnover*) de proteínas



Proteasoma o proteosoma

Complejo proteico cilíndrico, encargado de la degradación de proteínas en el citosol. Aquellas no armadas, dañadas, plegadas incorrectamente. También para generación de péptidos que son reconocidos por el sistema inmune y para regulación de la vida celular de las proteínas reguladoras encargadas del ciclo celular.

1. Reconocimiento de la proteína a degradar: ubiquitina, polipéptido corto (76 aa y 8,5 kDa) adicionado a modo de etiqueta.
2. Degradación de la proteína a cargo del proteasoma y liberación de aminoácidos



E1: enzima activante, E2: enzima condensante, E3: proteína ligasa.
DUBs: deubiquitininas (hidrolasas)

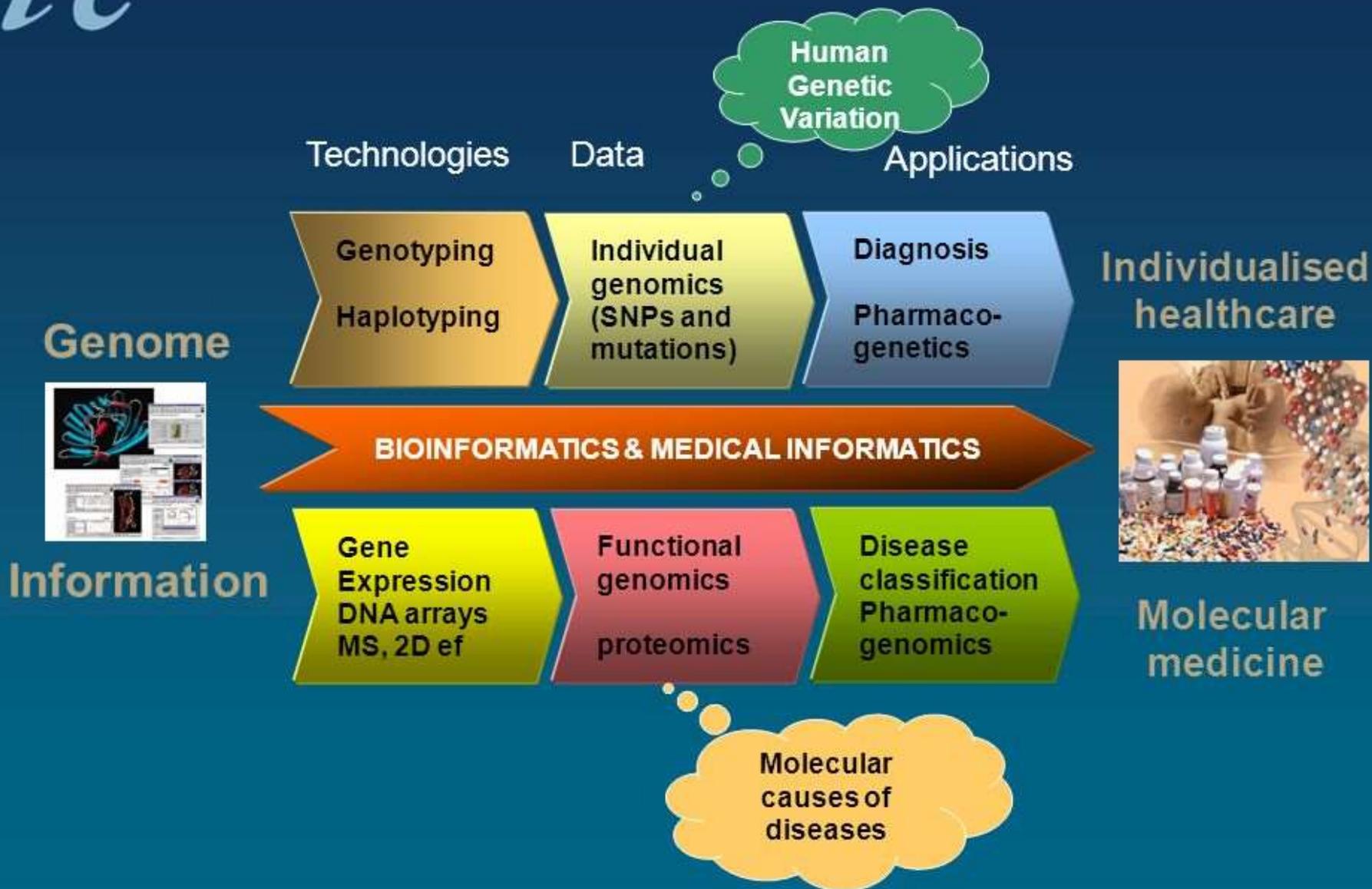
Aplicaciones

Ciclo celular, división celular (proliferación) y diferenciación celular e factores de transcripción específicos de tejido

En patología estos mecanismos son importantes en apoptosis, cancer

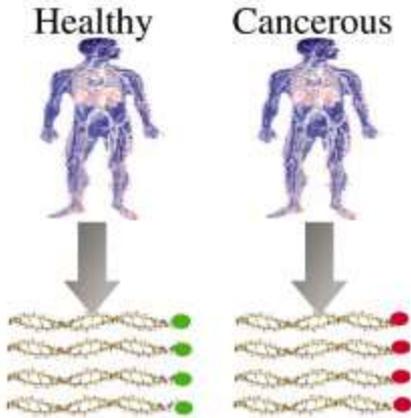
Diagnóstico: en genética molecular se pueden estudiar los SNPs (single nucleotide polymorphisms, para diagnóstico de enfermedades que tienen una base genética

Overview

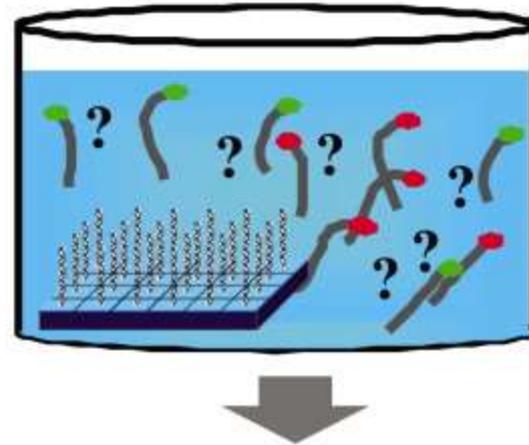


DNA microarray technology

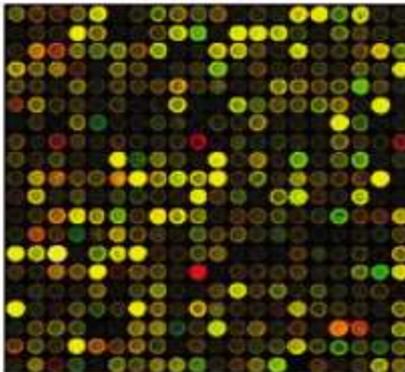
1) Targets are isolated and labeled



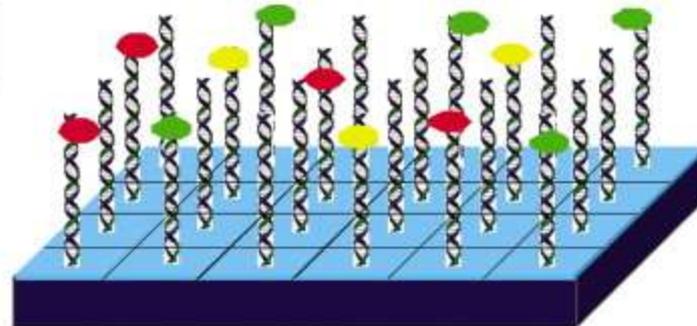
2) Labeled targets are combined with array



4) Hybridized array is scanned



3) Array is washed after hybridization*

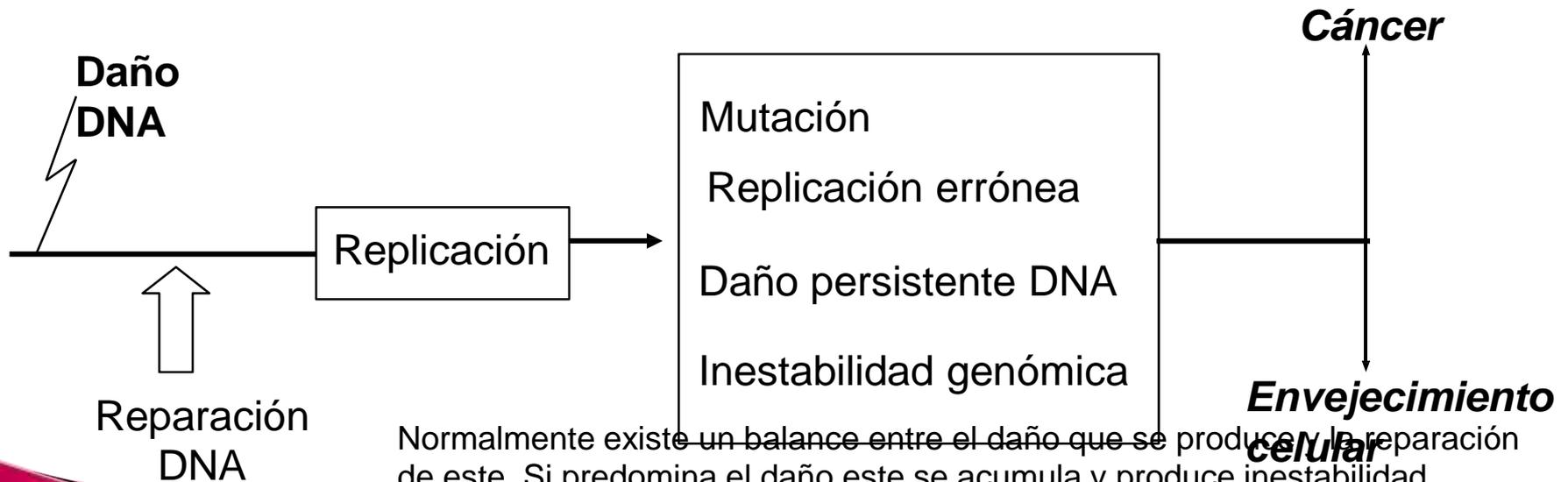


Mutaciones

Modificaciones en la secuencia de ADN. Se origina por azar. Los organismos están expuestos todo el tiempo a gran variedad de agentes que pueden dañar el ADN dentro de las células.

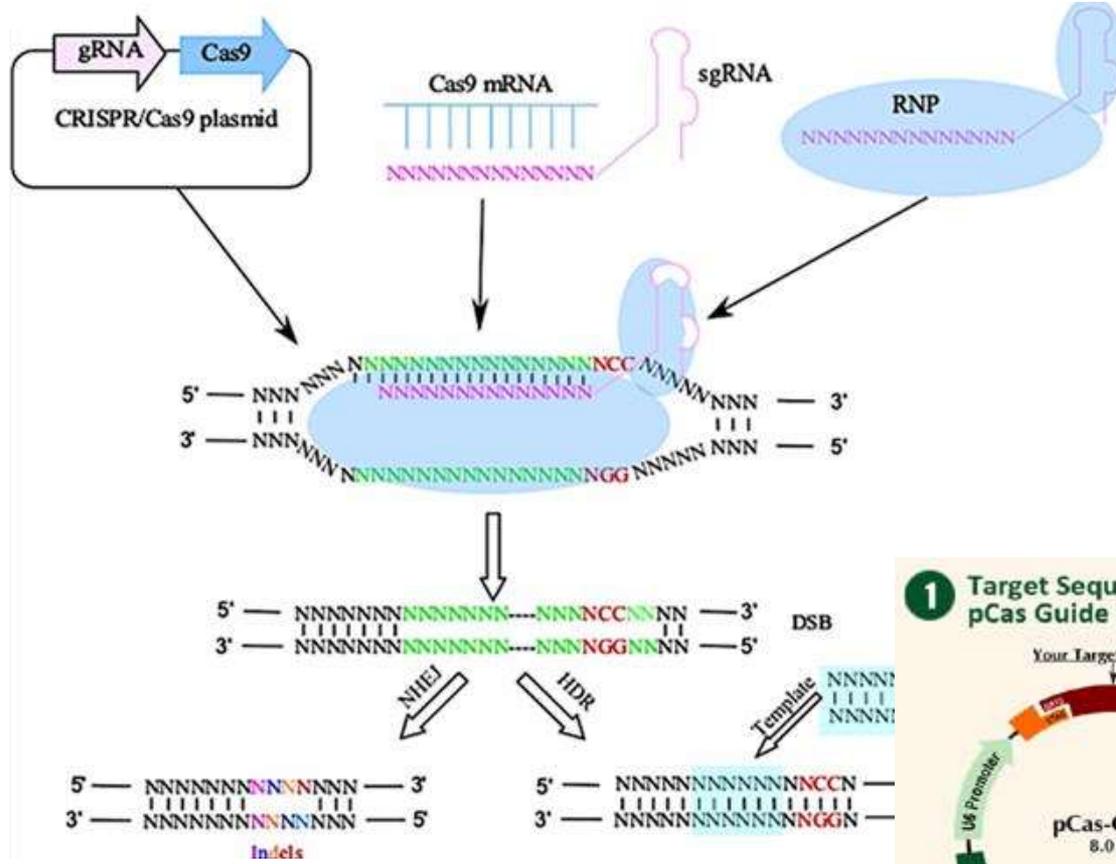
Pueden ser el resultado de:

- *Una incorporación incorrecta de bases durante la replicación.* Errores de las polimerasas (proofreading, slippage)
- *Producto de cambios químicos espontáneos* (tautomería, despurinización (10000/ciclo), desaminación de C o 5-meC)
- *Exposición de agentes químicos y/o radiaciones; estrés oxidativo*
- Inserciones de trasposones/virus. Traslocaciones/recombinación

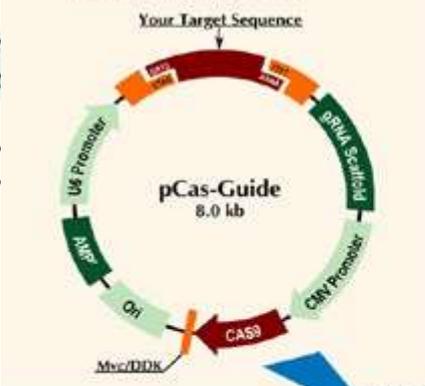


Normalmente existe un balance entre el daño que se produce y la reparación de este. Si predomina el daño este se acumula y produce inestabilidad genética, la cual se refleja en divergencia genética (para evolución) y en mayor presencia de enfermedades genética, cáncer, envejecimiento.

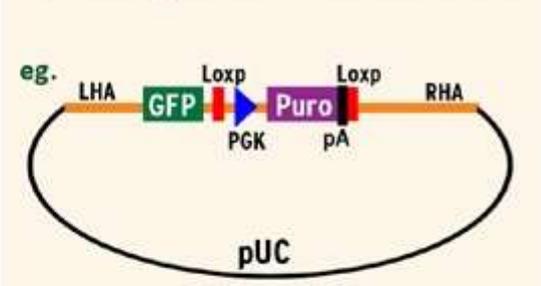
Edición genética



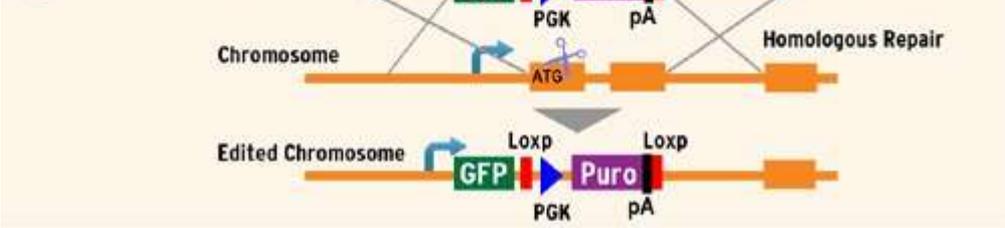
1 Target Sequence Cloned In pCas Guide Vector



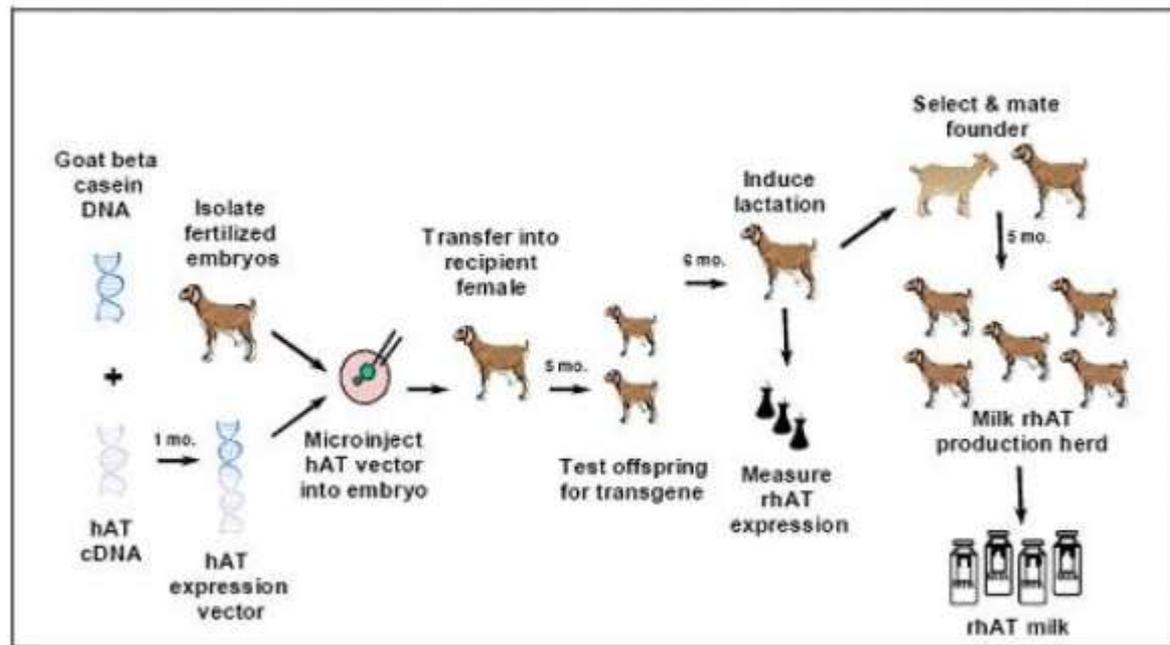
2 Donor Template DNA Containing Homologous Arms & Functional Cassette



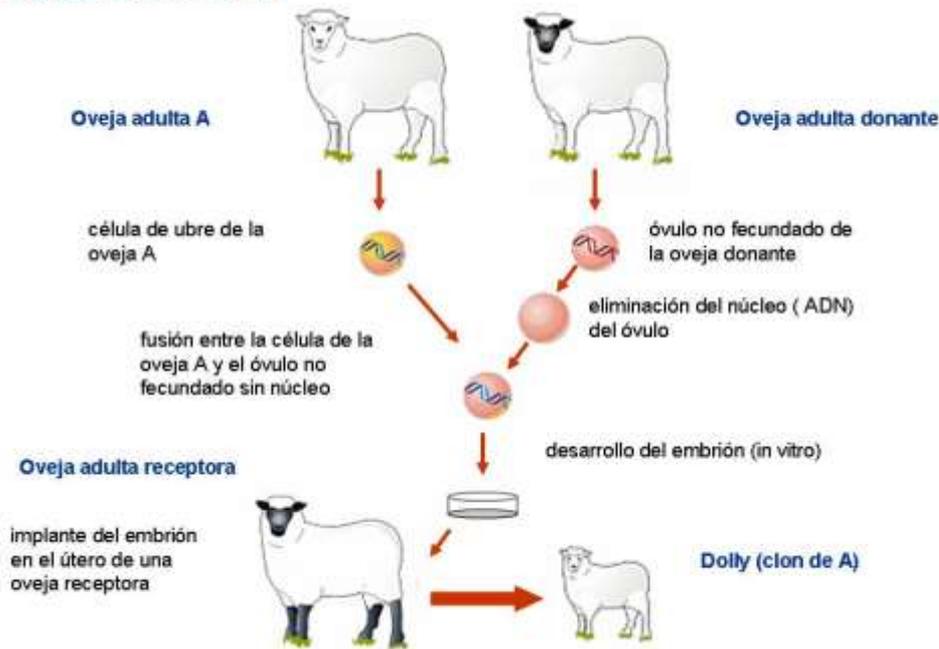
3 Genome Incorporation



Aplicaciones en biotecnología animal



Clonación de animales



Animales transgénicos