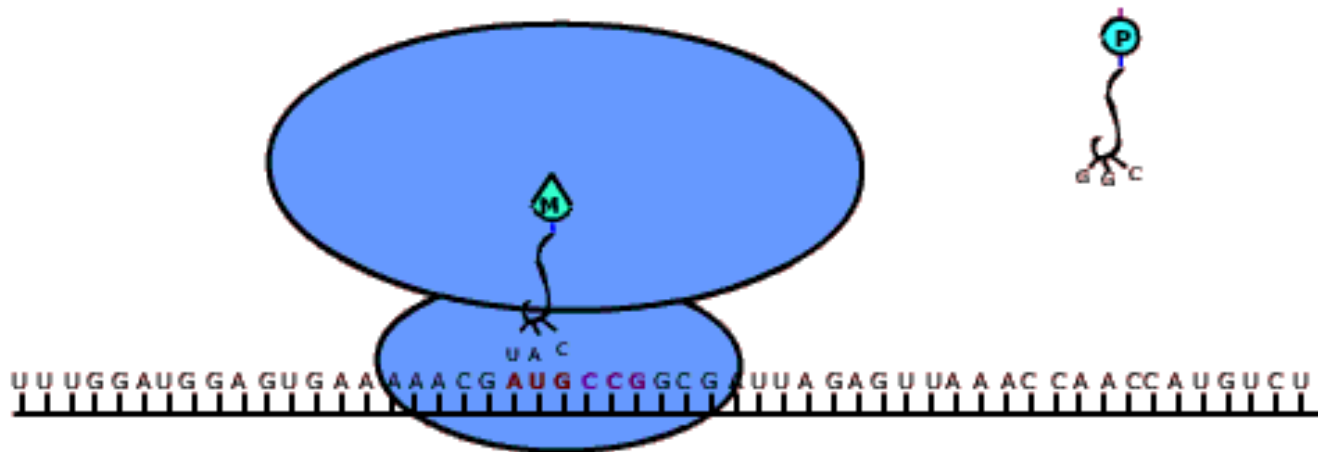


Prof. M. Carmen Cerdà

T-16 : L'EXPRESIÓ DEL MISSATGE GENÈTIC

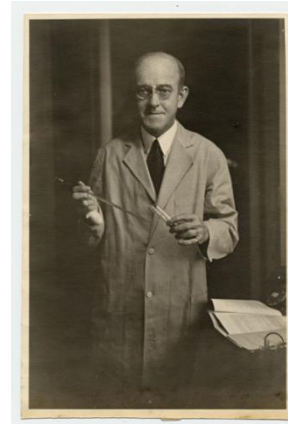


INDEX

- 1. El procés de l'herència
- 2. Context per arribar al dogma central de la biologia molecular. Gens i enzims
- 3. Transcripció
- 4. Codi genètic
- 5. Traducció
- 6. Regulació de l'expressió gènica

1. El procés de l'herència

- Arribem a 1940 i els biòlegs encara no tenien molt clar com es desenvolupava el procés de l'herència.
- Experiments de **Griffith** amb el bacteri *Streptococcus pneumoniae* (1928)
- Experiments **Avery et col** amb *Streptococcus pneumoniae* (1944)
- Experiment definitiu (1952) **Hershey i Chase** amb *E. coli* i un bacteriòfag.



Chargaff

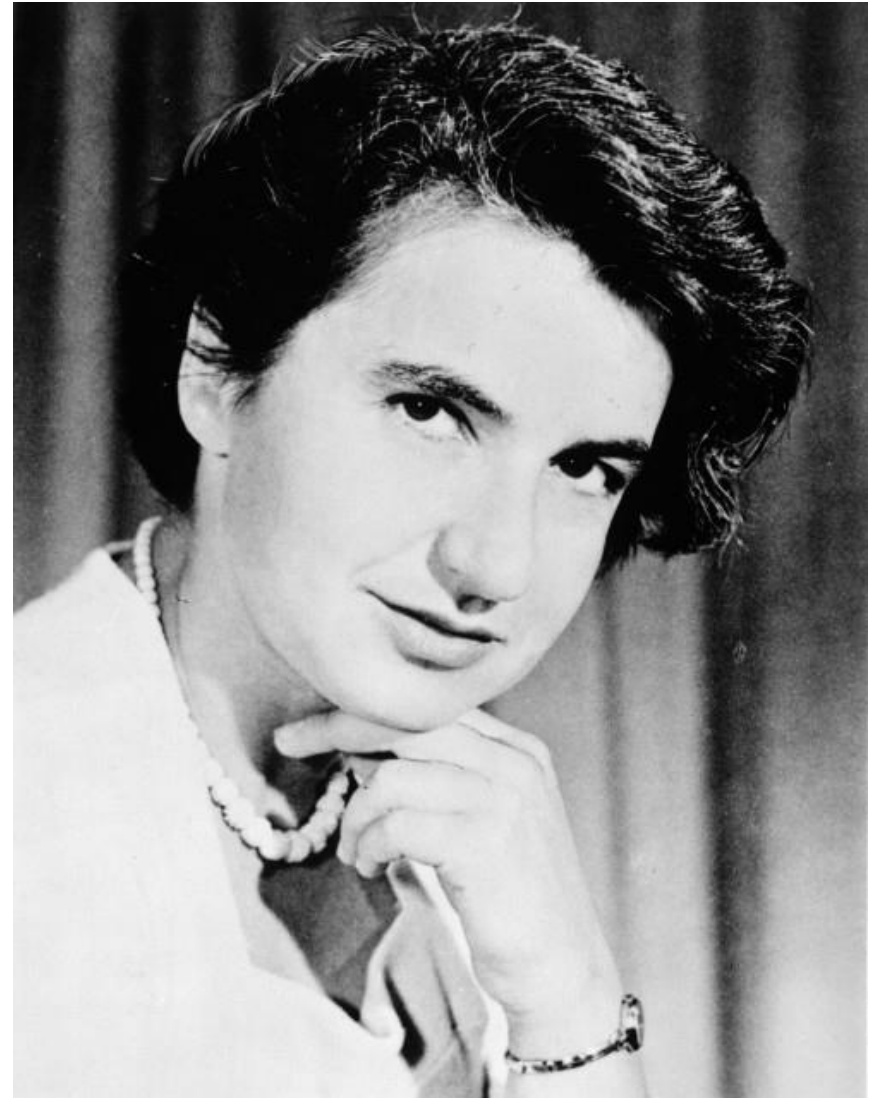
Erwin Chargaff va trobar dues coses interessants:

- La composició d'ADN varia d'una espècie a altra.
- El número de les **C** és igual al número de les **G**... El número de les **A** és el mateix que el de les **T**



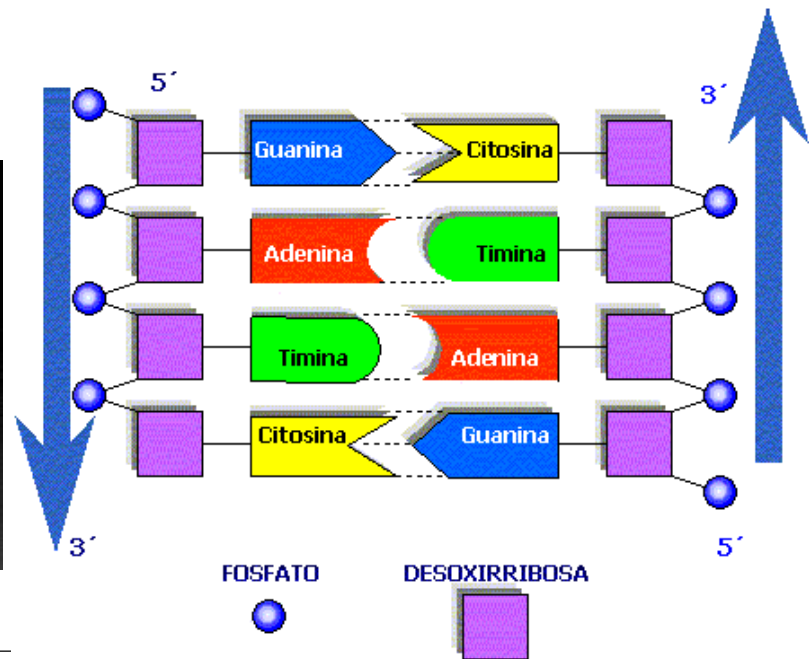
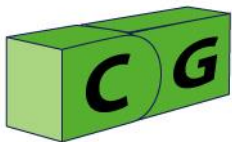
Franklin

- Estudiant radiografies d'ADN, **Rosalind Franklin** va demostrar que la molècula d'ADN tenia forma de tirabuixó amb dues o tres cadenes.
- Eren dues o tres?



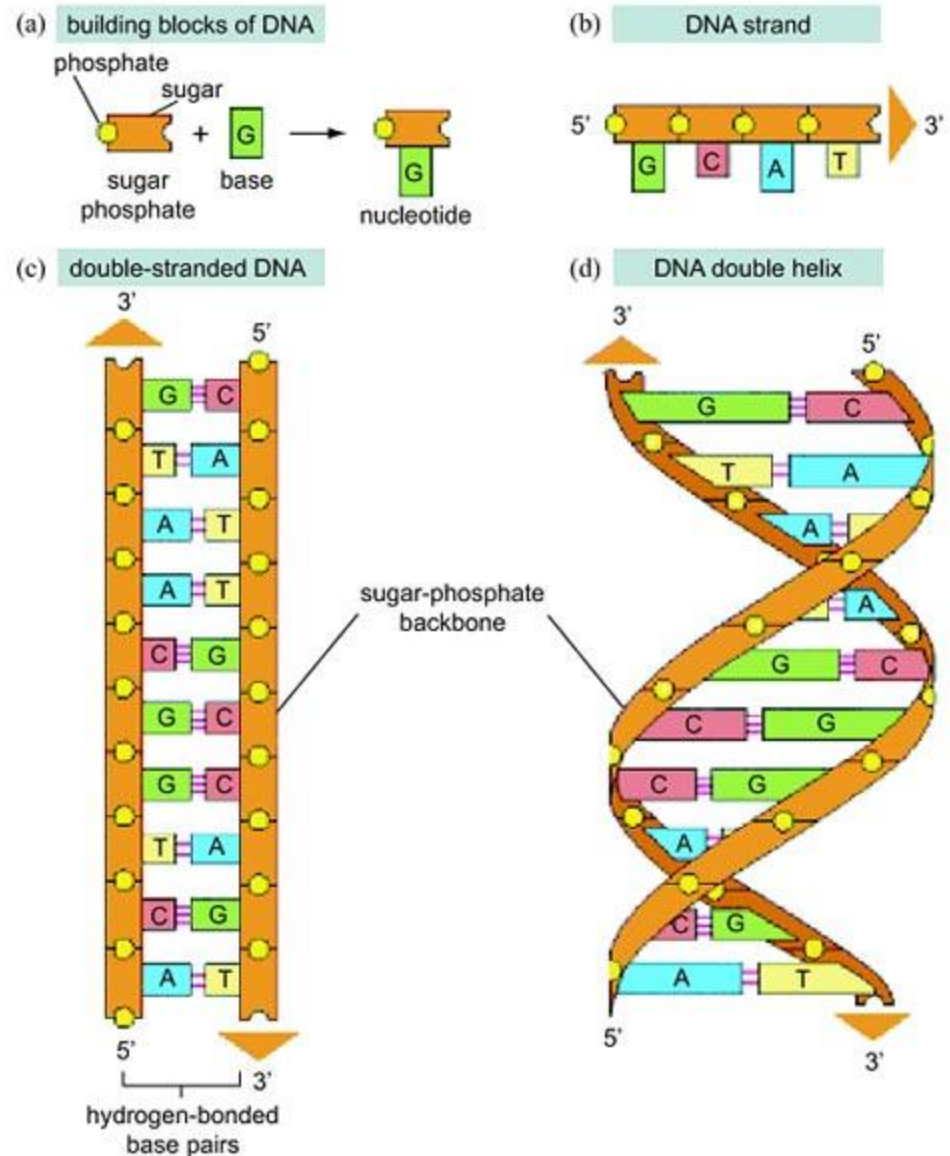
Watson y Crick

- En 1952, **James Watson y Francis Crick** solucionaren l'enigma.
- Jugant amb àtoms en models a escala observaren que...
- La adenina s'ajusta a la timina, i la guanina s'emparella amb la citosina.



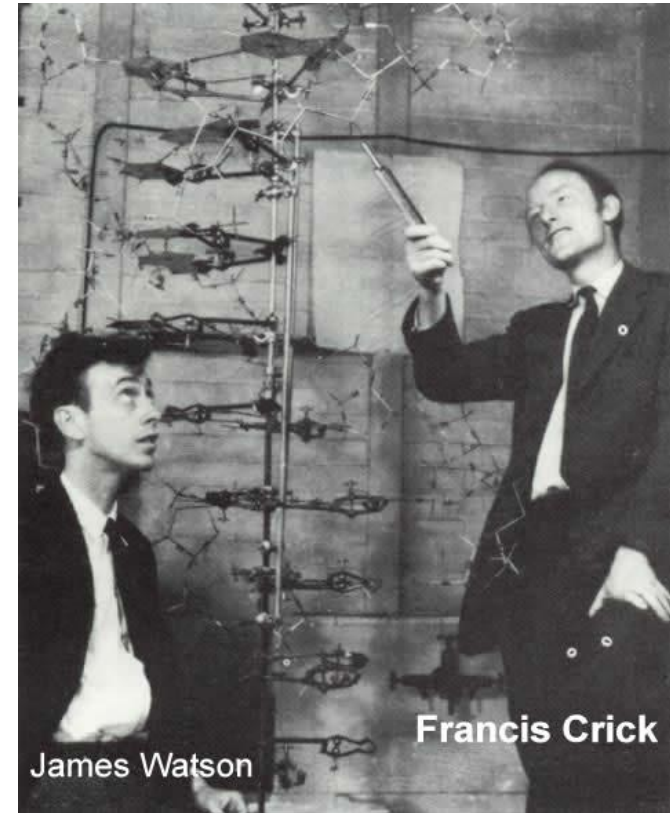
Watson y Crick

- Dos tires de fofat i glúcid s'enroscarien al voltant de les bases.
- Una complicació: les dues tires s'enrosquen en direccions oposades: els glúcids d'una d'elles està "de cap" en comparació amb l'altra tira.
- Són **antiparal·leles**



Watson i Crick

- Aquest model explica l'observació de Chargaff: el número de les T és igual al número de les A. Aquestes dues bases sempre s'emparellen!
- Aquest és el principi de complementarietat: cada base pot emparellar-se sols amb l'altra, la qual rep el nom de **complement**.



Watson i Crick

- Escribiren:
“L’emparellament ens fa pensar immediatament en un possible mecanisme de còpia del material genètic”.
- De fet, aquesta és la clau de les funcions principals dels gens:
 - ✓ La duplicació
 - ✓ La síntesi de proteïnes

2. Context per arribar al dogma central de la biologia molecular. Gens i enzims

- La relació entre els gens i els enzims es va aclarir en la dècada de 1940, gràcies als experiments de **George Beadle i Edward Tatum**.
- Primer amb la mosca del vinagre *Drosophila melanogaster* i després amb el fong *Neurospora crassa*.
- En les mosques van veure que hi havia variacions en el color dels ulls degut a canvis en els enzims.
- En els fongs van provocar mutacions amb rajos X i van obtenir mutants amb els enzims alterats.
- **Beadle i Tatum descobriren que: la mutació d'un sol gen origina la falta d'un enzim. Què significa açó?**

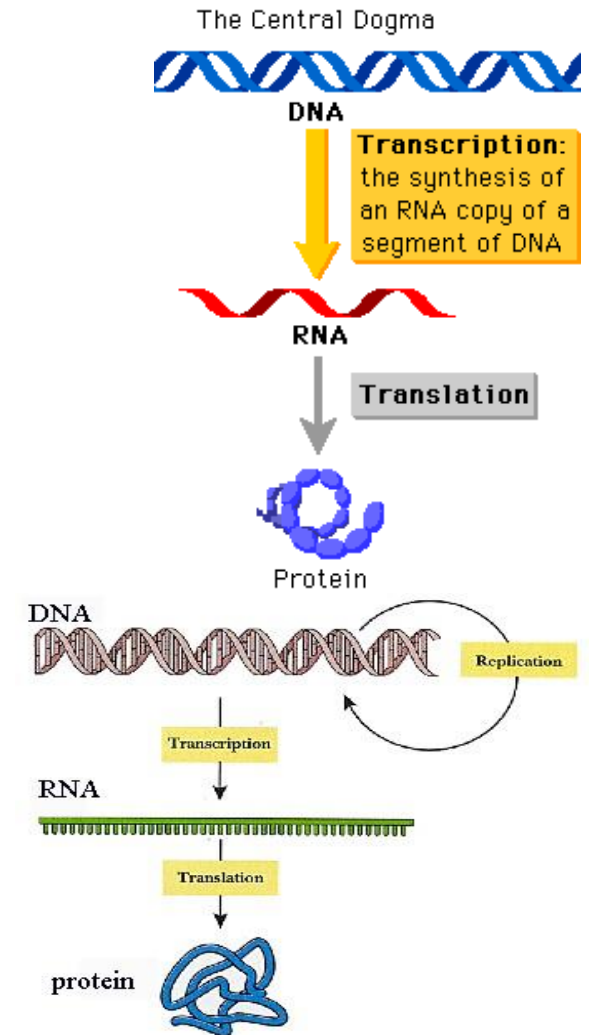
- En poques paraules: **Un gen, un enzim!**
- Cada gen, fragment d'ADN porta informació per a codificar un enzim.
- Després la hipòtesi es va ampliar: els enzims són proteïnes i les proteïnes poden tenir estructura quaternària, més d'una cadena.
- La hipòtesi més apropiada era:

**UN GEN, UNA CADENA
POLIPEPTÌDICA**

Francis Crick

- En 1970 va enunciar el **dogma central de la biologia molecular**:

L'ADN copia una part del seu missatge sintetitzant ARNm (transcripció), el qual es utilitza pels ribosomes per sintetitzar proteïnes (traducció)

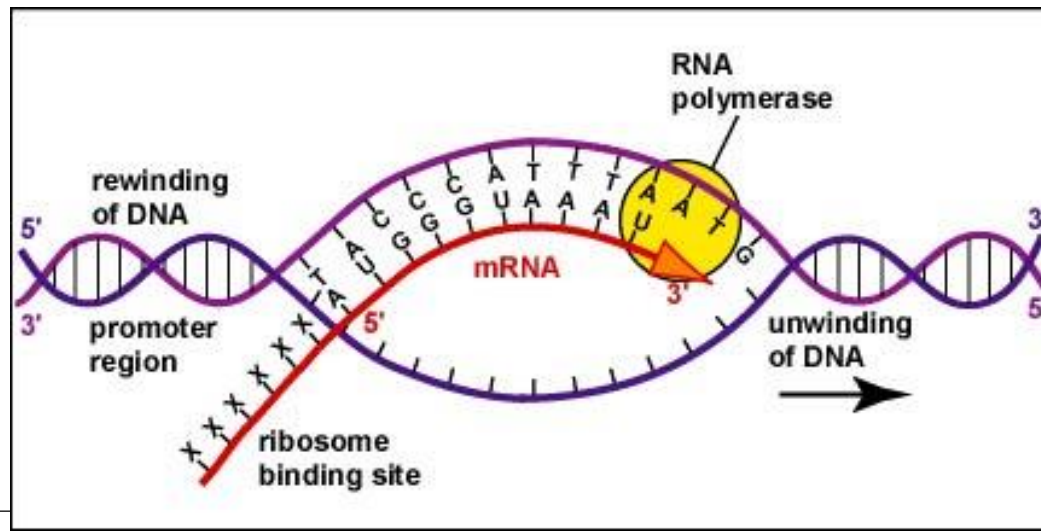
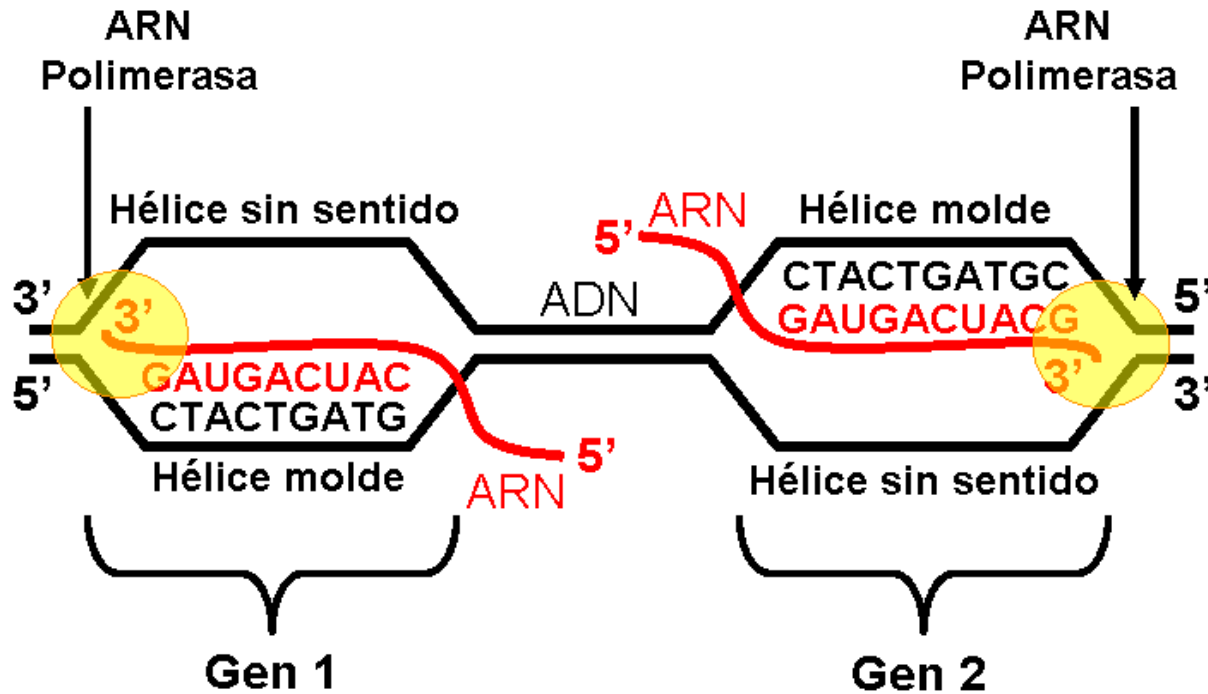


Els **retrovirus** són els únics organismes que poden fer el pas d'ARN a ADN perquè tenen un enzim capaç de fer-ho: la **transcriptasa inversa**

3. TRANSCRIPCIÓ

- Consisteix a copiar una part del missatge genètic des de la forma original, **ADN**, a una altra, **ARN** per fer la síntesi de **proteïnes**.
- L'enzim que s'encarrega de sintetitzar l'ARN és una primasa (**ARN polimerasa ADN dependent**) que necessita:
 - Una cadena d'ADN patró
 - Nucleòtids trifosfat
 - Uneix nucleòtids amb enllaços fosfodièster en sentit $5' \rightarrow 3'$, o recorre l'ADN en sentit $3' \rightarrow 5'$
 - Comença la transcripció en regions específiques de l'ADN, **promotor** on s'uneix l'ARN polimerasa i separa les cadenes.

Asimetría de la Transcripción



L'ARN

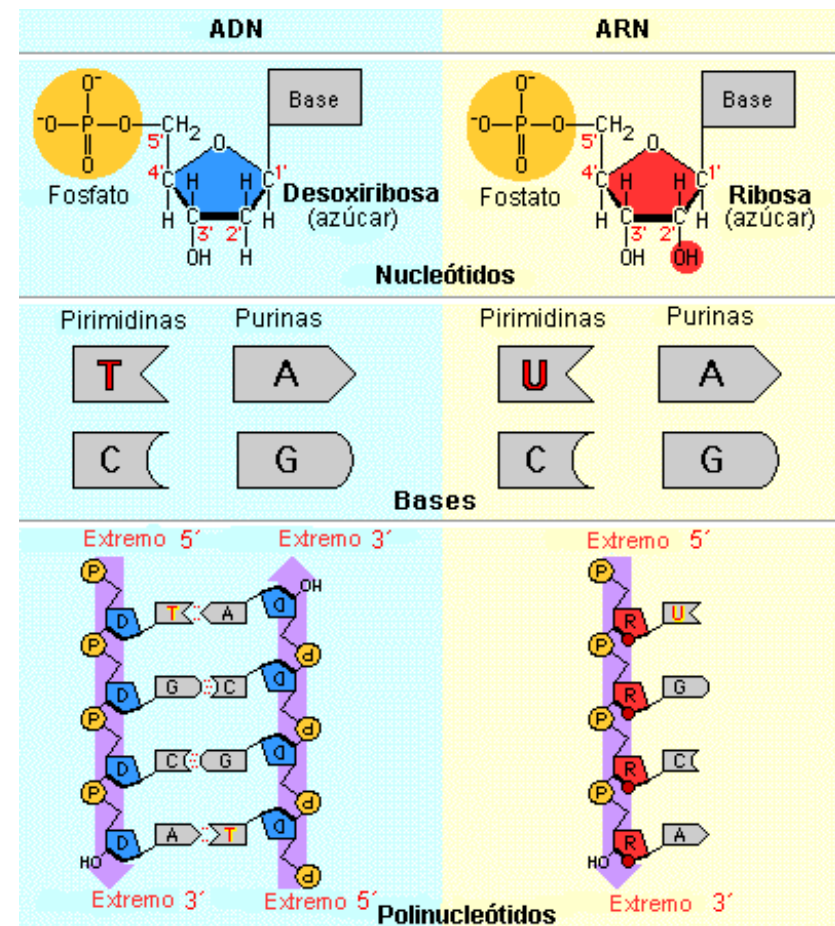
- L'ARN s'assembla a l'ADN: una columna vertebral de glúcids i fofats, a la qual s'uneixen les bases.

■ El glúcid és la ribosa en lloc de la desoxiribosa. L'ARN és normalment d'una cadena i molt més curt.

■ L'ARN té de 50 a 1 000 nucleòtids, en comparació amb el milió o més de l'ADN!

ADN = A, T, C, G

ARN = A, U, C, G

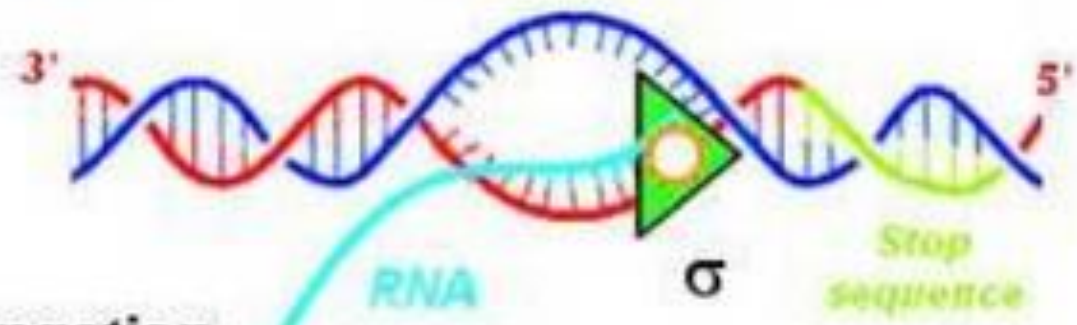


TRANSCRIPCIÓ EN CÈL·LULES PROCARIOTES

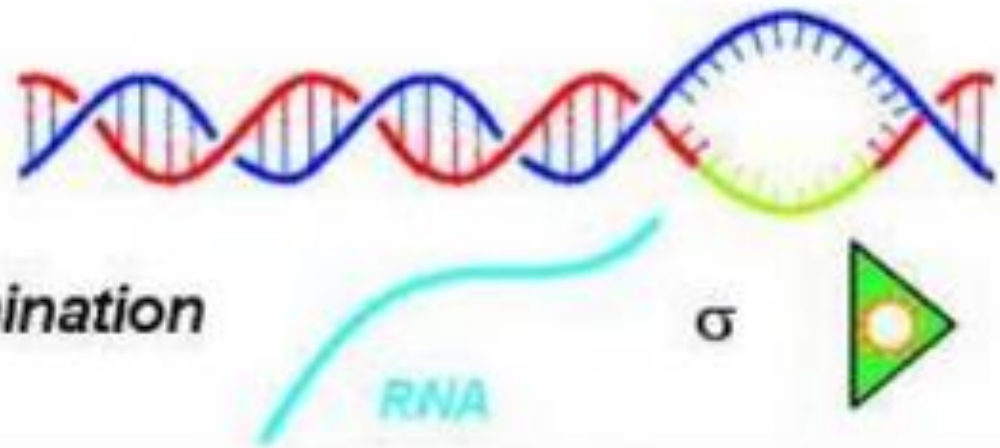
- Hi ha sols **un tipus d'ARN polimerasa o primasa** que sintetitza tots els ARN .
- **INICIACIÓ:**
 - Es necessita un **factor sigma**, que fa que l'ARN polimerasa canvie de conformació i es fixe al **promotor** i s'allibera de seguida.
 - La regió promotora en l'ADN és rica en bases T i A. Un exemple és **TATAAT i TTGACA**
 - L'ARN polimerasa fixada desenrotlla una volta de la doble hèlix d'ADN i comença a unir nucleòtids copiant una sola cadena d'ADN
- **ELONGACIÓ:**
 - L'ARN pol recorre la cadena d'ADN en sentit 3' ... 5', sintetitzant un ARN en sentit 5'3' a partir de ribonucleòtids trifosfat
 - La **velocitat** d'unió és de 30 a 40 nucleòtids/s i es cometen més errades que en la duplicació de l'ADN, però no es transmeten a la descendència.
- **FINALITZACIÓ**
 - La formació de la cadena d'ARN s'acaba quan la polimerasa arriba al **senyal de terminació**, seqüència de l'ADN amb moltes bases **G i C** que possibilita la complementarietat de la cua de l'ARN que origina un bucle provocant la seua separació de l'ADN
- **MADURACIÓ**
 - L'ARNm ja es pot utilitzar per a la síntesi de proteïnes però l'ARNr i l'ARNt ha de sofrir un procés de **maduració**.



Initiation



Elongation



Termination

TRANSCRIPCIÓ EN CÈL·LULES EUCARIOTES

- Hi ha 3 ARN polimerases o primases formades per subunitats
 - ❑ *ARN pol I*: transcriu l'ARNr excepte la subunitat 5S
 - ❑ *ARN pol II*: transcriu l'ARNm
 - ❑ *ARN pol III*: transcriu l'ARNt i l'ARNr 5S
- Necessiten per reconeixer la regió promotora factors basals, activadors i coactivadors.
- La regió promotora per a transcriure l'ARNm és una seqüència de bases CAAT o TATA de l'ADN
- Quan ja s'han transcrit els 1rs 30 ribonucleòtids s'afegeix a l'extrem 5' una **caperutxa** de 7-metilguanósina trifosfat, **CAP** per identificar aquest extrem en la traducció.
- La seqüència de l'ADN que indica el final és TTATTT. Sobre l'extrem 3' s'afegien 200 ribonucleòtids d'A, **cua poli-A**.
- Procariotes : **ARNm policistrònic**. Eucariotes:
ARNm monocistrònic (informació per a una sola proteïna)

MADURACIÓ ARN en eucariotes

Maduració de l'ARNm

- Els gens (ADN) consten de fragments amb informació, **exons**, i fragments que es transcriuen i no es tradueixen, **introns**.
- El procés de maduració de l'ARNm consisteix en l'eliminació dels introns i la unió dels exons entre ells.
- De l'eliminació s'encarreguen les **RNPpn**, ribonucleoproteïnes menudes nuclears després de que els introns adopte forma de bucle al associar-se a unes proteïnes .
- De la unió dels exons s'encarreguen les **ligases**.

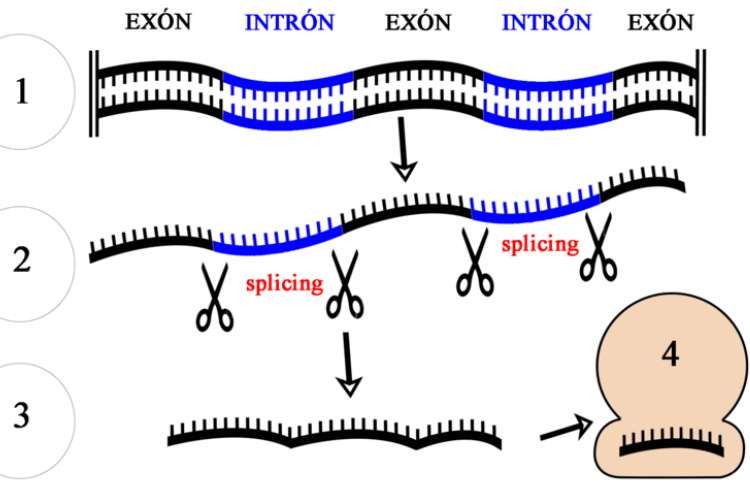
ARNm DEFINITIU

Maduració de l'ARNt

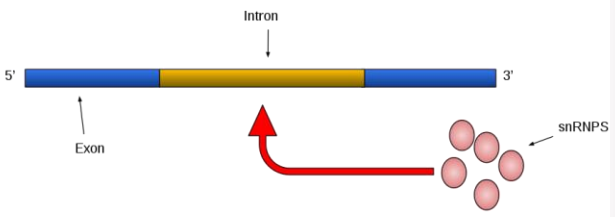
A banda de la maduració s'han de modificar algunes bases nitrogenades característiques que té i afegir en l'extrem 3' el **triplet CCA** on s'uniran els aa.

Maduració de l'ARNr

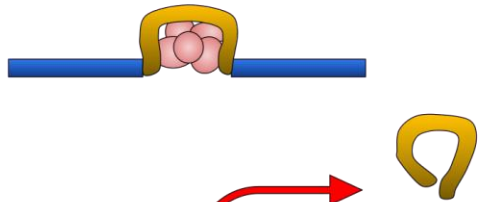
És molt complexa la maduració. Es du a terme en el nuclèol, en l'ADN anomenat organitzador nucleolar.



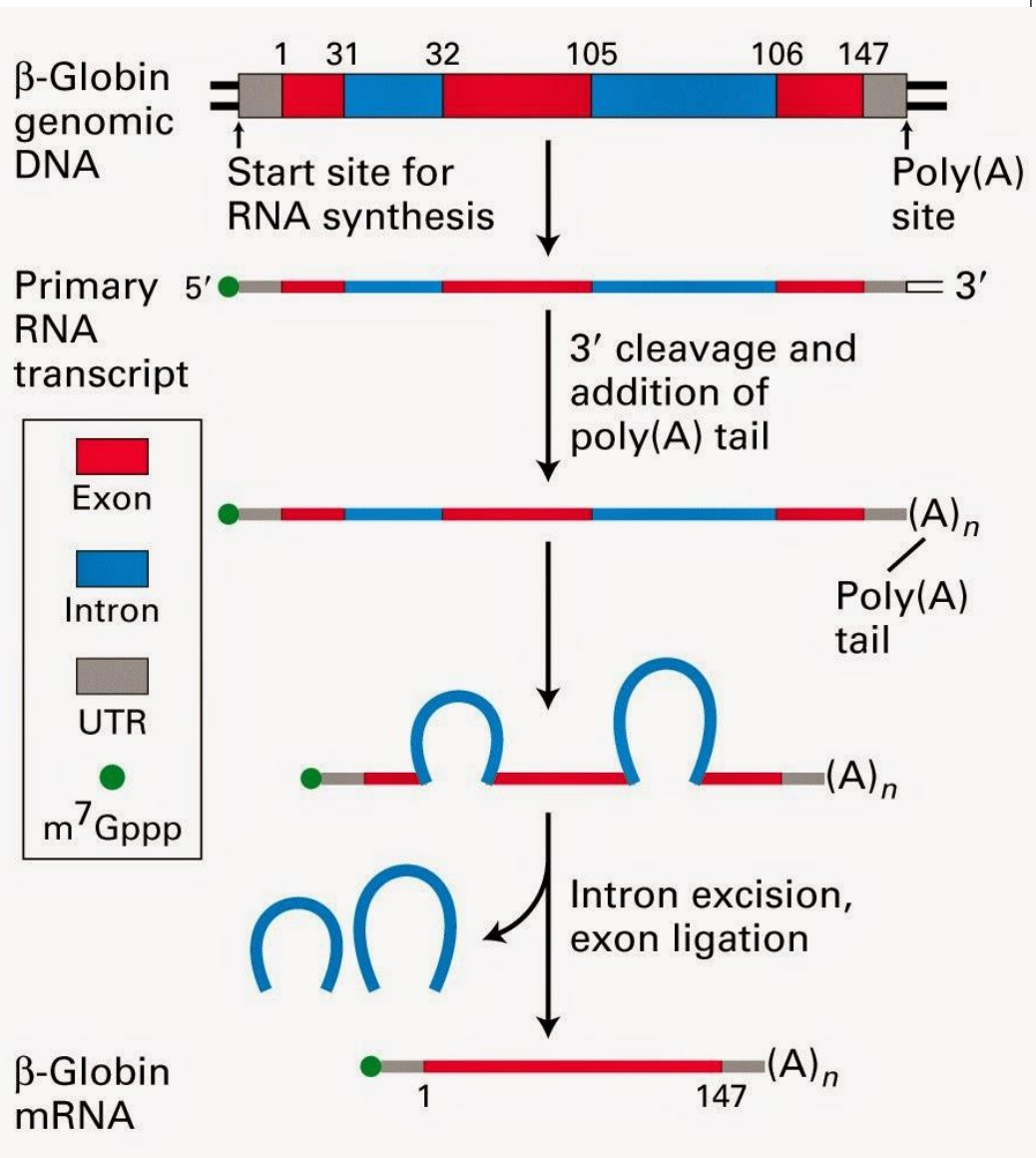
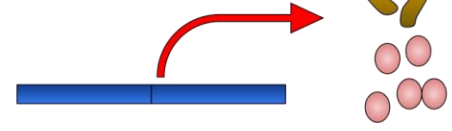
Step 1.
A group of five snRNPs's, or ribonucleoproteins, are needed to bind to the intron of pre-mRNA and remove it to leave only the exons.

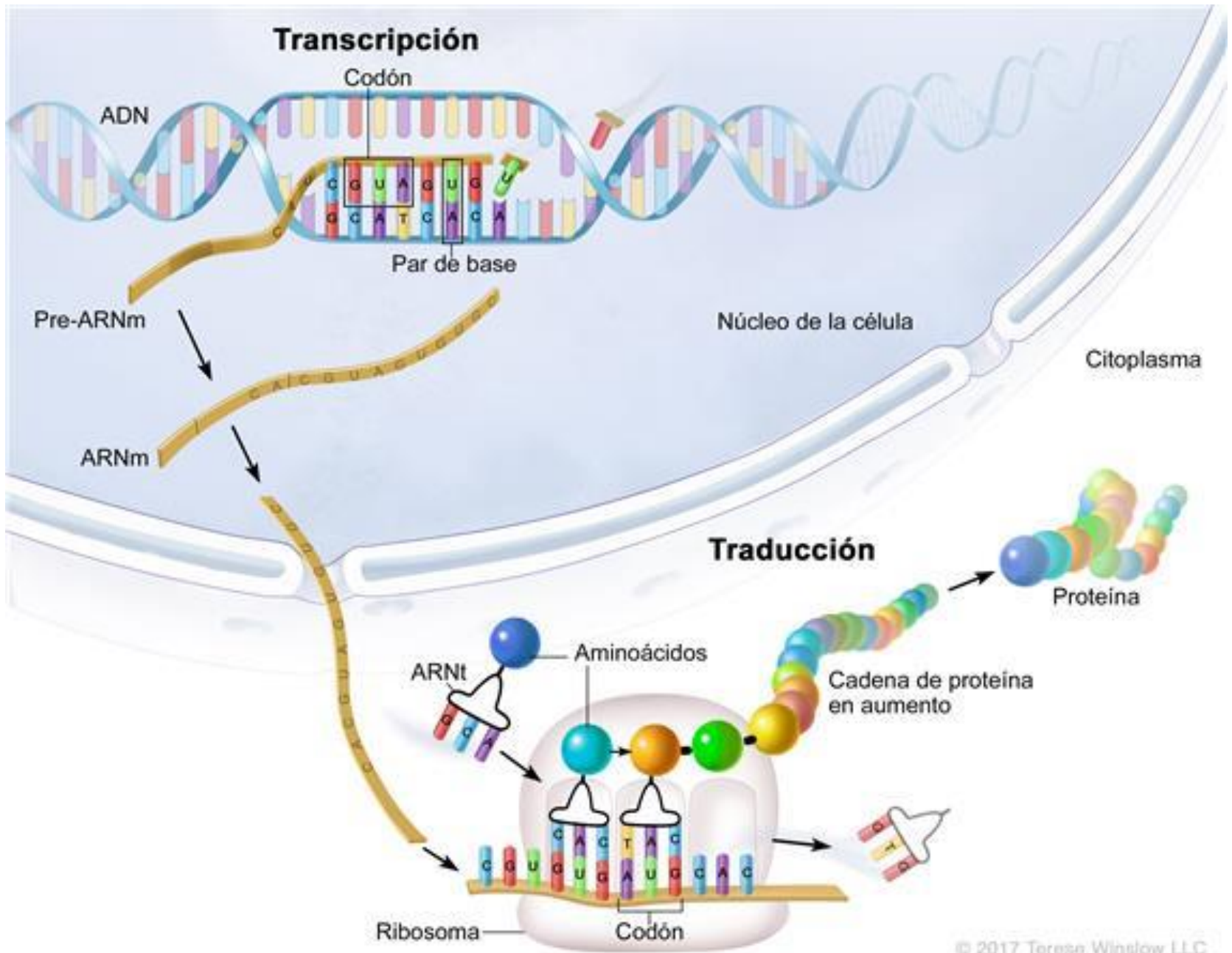


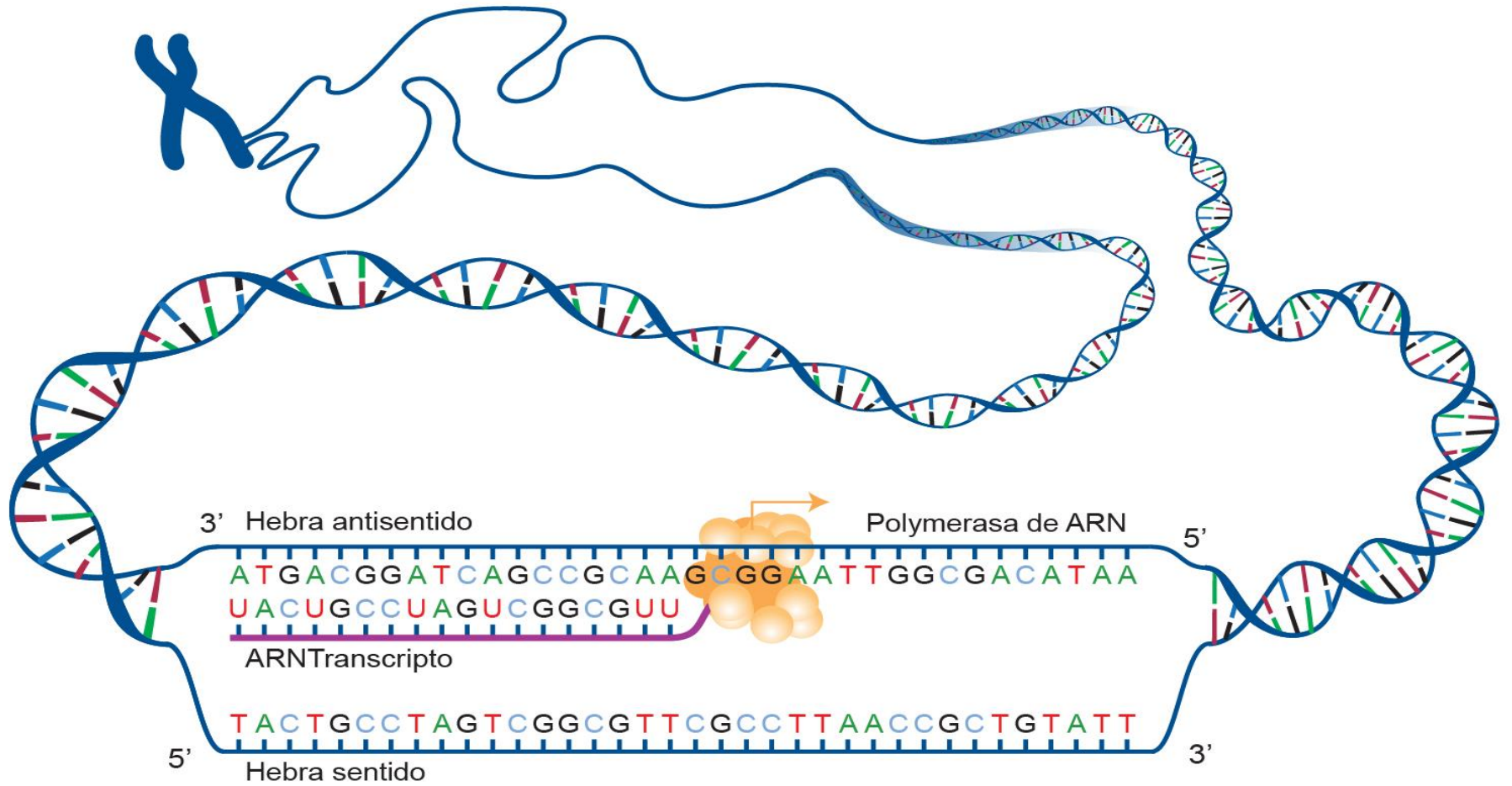
Step 2.
The snRNP's bind to the intron and cause it to fold into bring the 5' and 3' ends of the intron closer together, making a loop. The ends of the exons also move closer together to eventually join together.

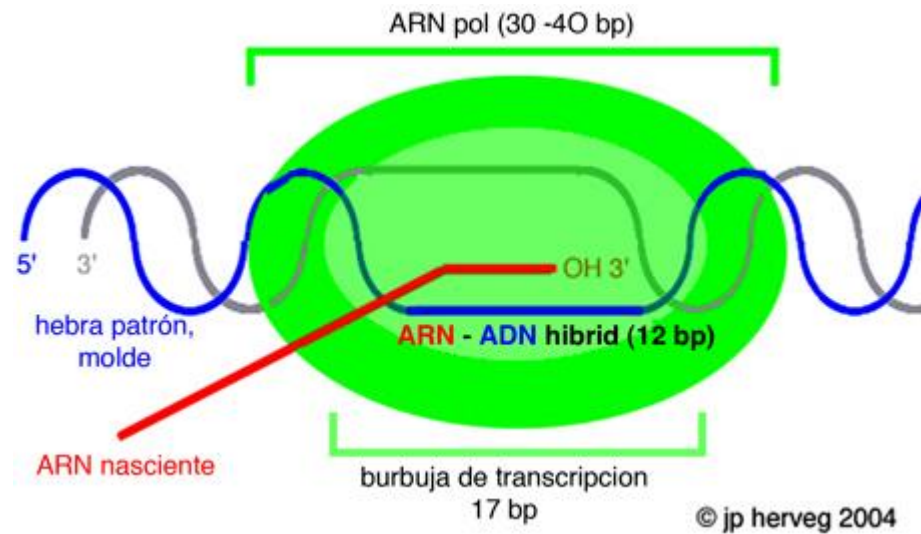


Step 3.
The intron detaches and the splice sites connect to make a mature mRNA. The introns were previously thought to be "junk" afterwards but most are used in other processes. The snRNP's detach from the intron and are used for more splicing.

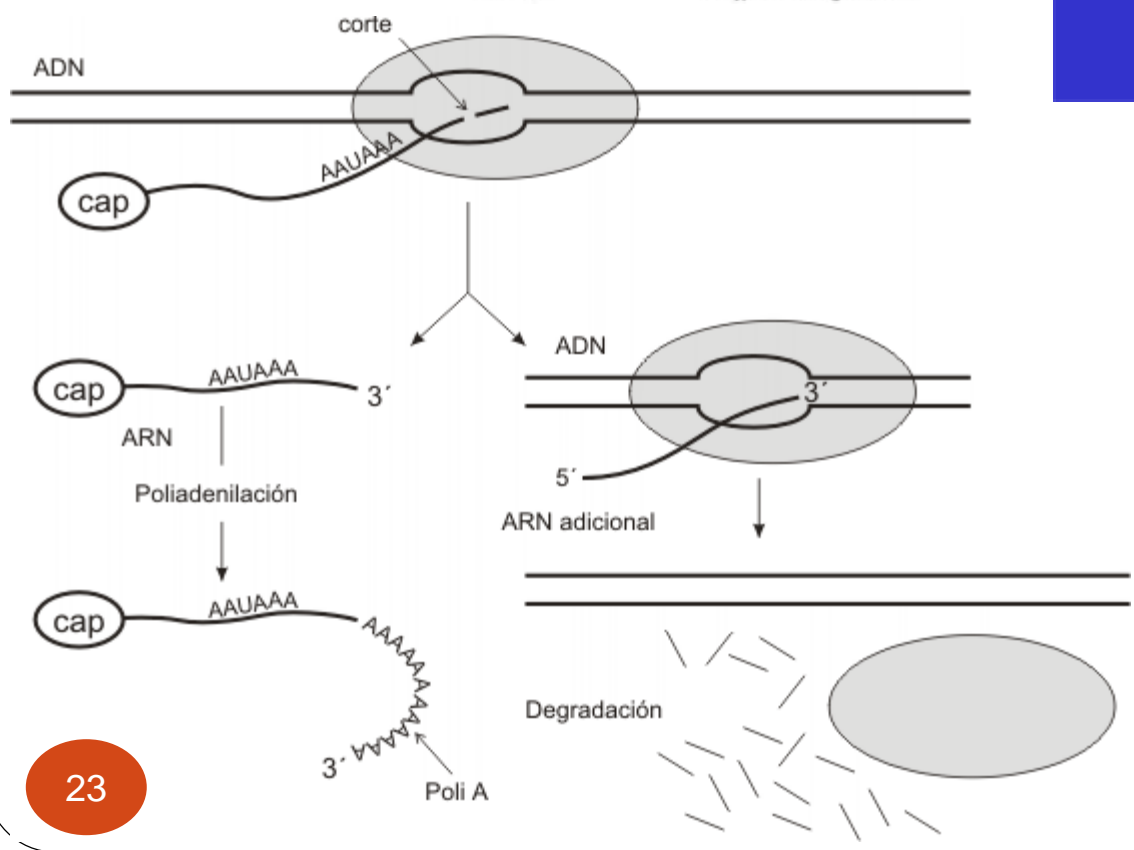
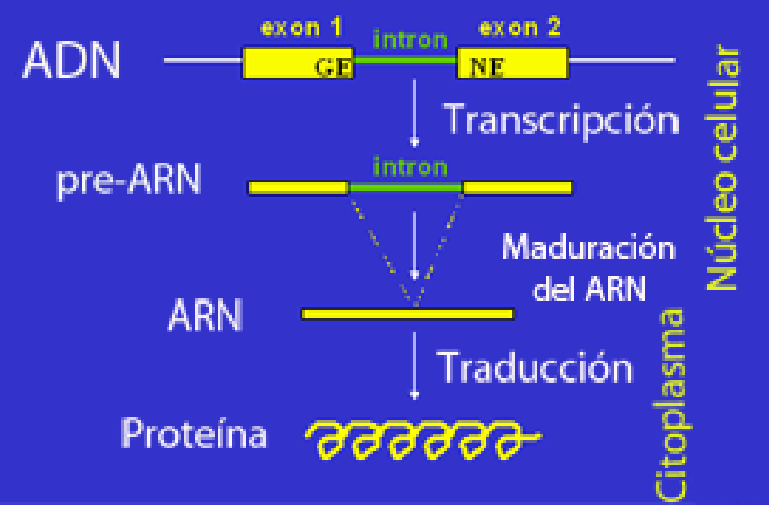


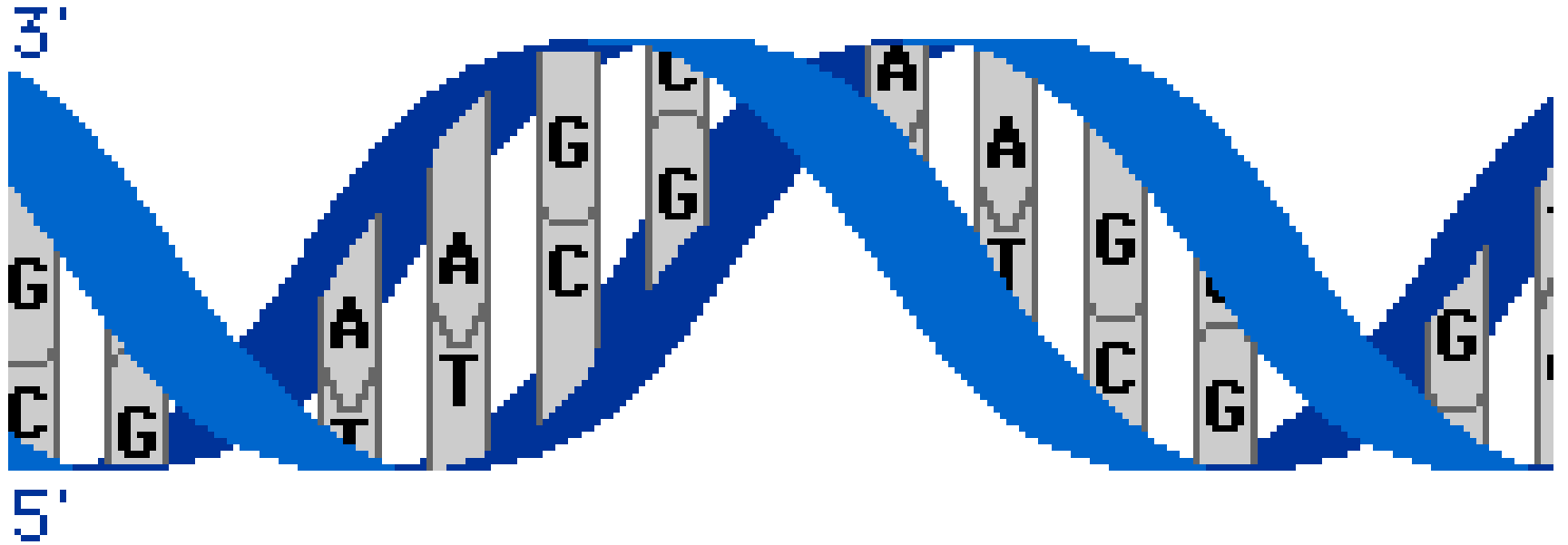






FASES DEL ARN mensajero



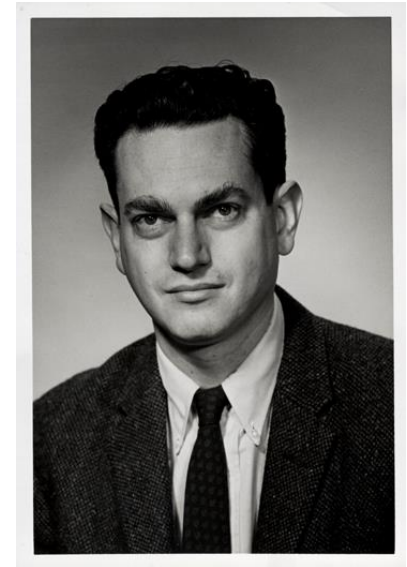


• Diferències entre transcripció i duplicació

- La transcripció és selectiva: sols es transcriuen algunes regions de l'ADN (gens). La duplicació afecta a tot l'ADN.
- Quan es transcriu un gen, es copia un sol bri de l'ADN. Hi ha gens que es transcriuen d'un bri i altres, en altres regions de l'ADN, que ho fan del complementari. En la duplicació es còpies els 2 bri.
- Un gen es pot transcriure moltes vegades, mentre que la replacació ocorre una vegada, abans de la divisió cel.lular

4. Codi genètic

- El desxifrat del codi genètic va començar en 1961, amb els treballs de Marshall Nirenberg. Va ser molt important també Severo Ochoa que va aïllar l'ARN polimerasa.
- Va descobrir que el triplet **UUU** és el codó per a l'aa Phe, *fenilalanina*.
- Va ser el primer pas per crear el **codi genètic**.

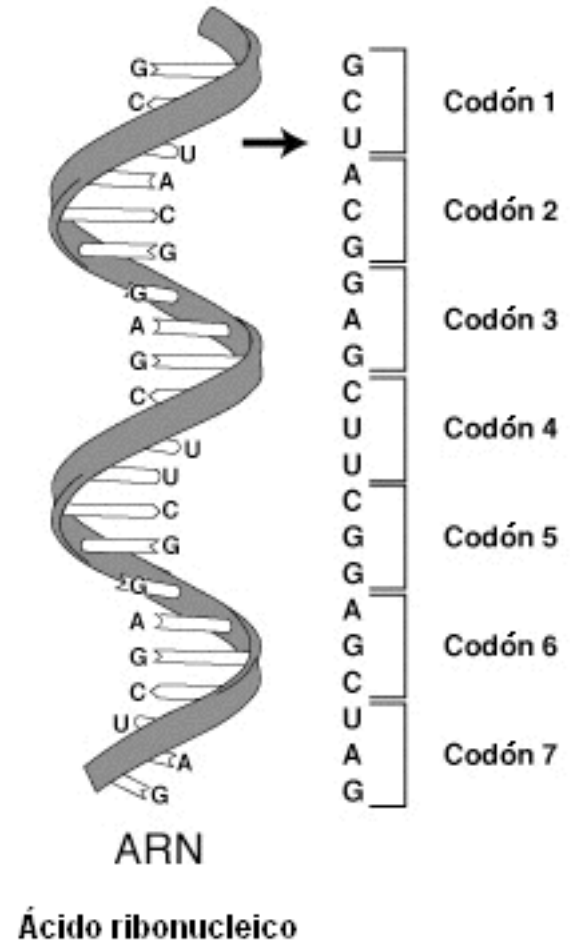


DEFINICIÓ

- ❑ És la relació entre la seqüència de nucleòtids (bases nitrogenades) de l'ARNm i la seqüència d'aminoàcids que formen una proteïna.
- ❑ És la clau que permet la traducció del missatge genètic a la seua forma funcional, les proteïnes.

Codó (triplet ADN)

- Les "paraules" del missatge són triplets de bases:
 - A - G - U
 - A - C - A
 - Etc.
- El nom tècnic per a cada paraula (triplet) és **codó**.
- Cada codó de tres bases correspon a un aminoàcid, i la cadena sencera d'ARNm codifica una proteïna.
 - 1 codó (tres bases) = 1 aminoàcid
 - 1 cadena de ARN = 1 proteïna (o diverses proteïnes)
- Es semblant a un missatge en forma de codi!



CARACTERÍSTIQUES CODI GENÈTIC

- És una **seqüència lineal** de bases nitrogenades
- Entre els codons succesius no hi ha espais ni separacions de cap tipus.
- És un **codi de triplets**. Hi ha 4 tipus de nucleòtids i 20 tipus de aas. La relació no pot ser un a un , ni entre doblets de nucleòtids...com a mínim entre triplets (64 possibles codons) de nucleòtids i aas. Hi ha 3 codons de finalització (UAA,UAG,UGA)
- Té caràcter **universal**, és el mateix codi per a totes les cèl·lules de totes les espècies. Prova a favor de l'origen de tots els éssers vius a partir d'un precursor comú. Excepcions en el material genètic dels mitocondris.
- És **degenerat**, cada codó codifica un sol aa , però cada aa pot ser codificat per més d'un codó, excepte el Trp i la Met que sols estan codificats per un codó.

Avantatge: si es produeix un canvi en una base nitrogenada (mutació) és possible que el codó alterat continue codificant per al mateix aa.

Però perquè triplets?

- Hi ha 20 aa que formen part dels éssers vius i hi ha 4 bases distintes.
- Si cada senyal estiguera formada per una sola base, sols podríem codificar 4 aa. $4^1 = 4 \text{ aa}$
- Si cada senyal estiguera formada per dues bases, sols podríem codificar 16 aa. $4^2 = 16 \text{ aa}$
- Han de ser 3 bases i així obtenim 64 triplets distintos. $4^3 = 64 \text{ triplets.}$
- Hi ha 64 codons possibles i 20 aa, i per això es diu que és degenerat. Hi ha senyals de parada, que són codons que no codifiquen per a cap aa. Serveixen per acabar els missatges.

Segunda base do códon

Primeira base do códon

	U	C	A	G	
U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } SER UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } UAG }	UGU } Cys UGC } UGA } UGG } Trp	U
C	CUU } Leu CUC } CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } Arg CGC } CGA } CGG }	U
A	AUU } Ile AUC } AUA } AUG } Met	ACU } ACC } Thy ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U
G	GUU } Val GUC } GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu CAG }	GGU } Gly GGC } GGA } GGG }	U

Terceira base do códon

First position
(5' end)

	U	C	A	G	
U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } Ser UCC } UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } Stop UAG } Stop	UGU } Cys UGC } UGA } Stop UGG } Trp	U C A G
C	CUU } Leu CUC } CUA } CUG }	CCU } Pro CCC } CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } Arg CGC } CGA } CGG }	U C A G
A	AUU } Ile AUC } AUA } AUG }	ACU } Thr ACC } ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G
G	GUU } Val GUC } GUA } GUG }	GCU } Ala GCC } GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } Gly GGC } GGA } GGG }	U C A G

Third position
(3' end)

Amino acid names:

Ala = alanine

Arg = arginine

Asn = asparagine

Asp = aspartate

Cys = cysteine

Gln = glutamine

Glu = glutamate

Gly = glycine

His = histidine

Ile = Isoleucine

Leu = leucine

Lys = lysine

Met = methionine

Phe = phenylalanine

Pro = proline

Ser = serine

Thr = threonine

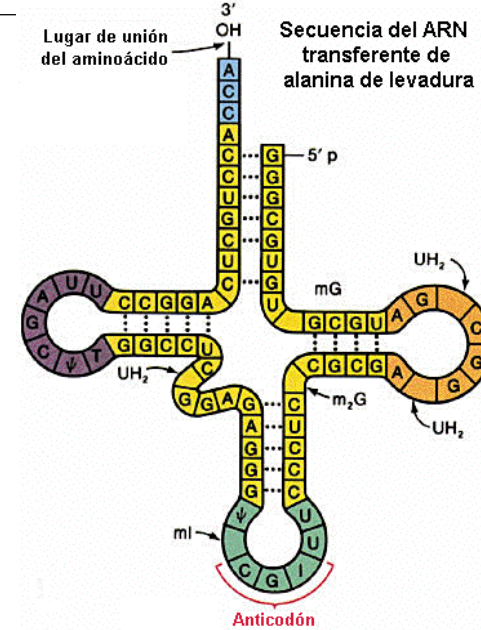
Trp = tryptophan

Tyr = Tyrosine

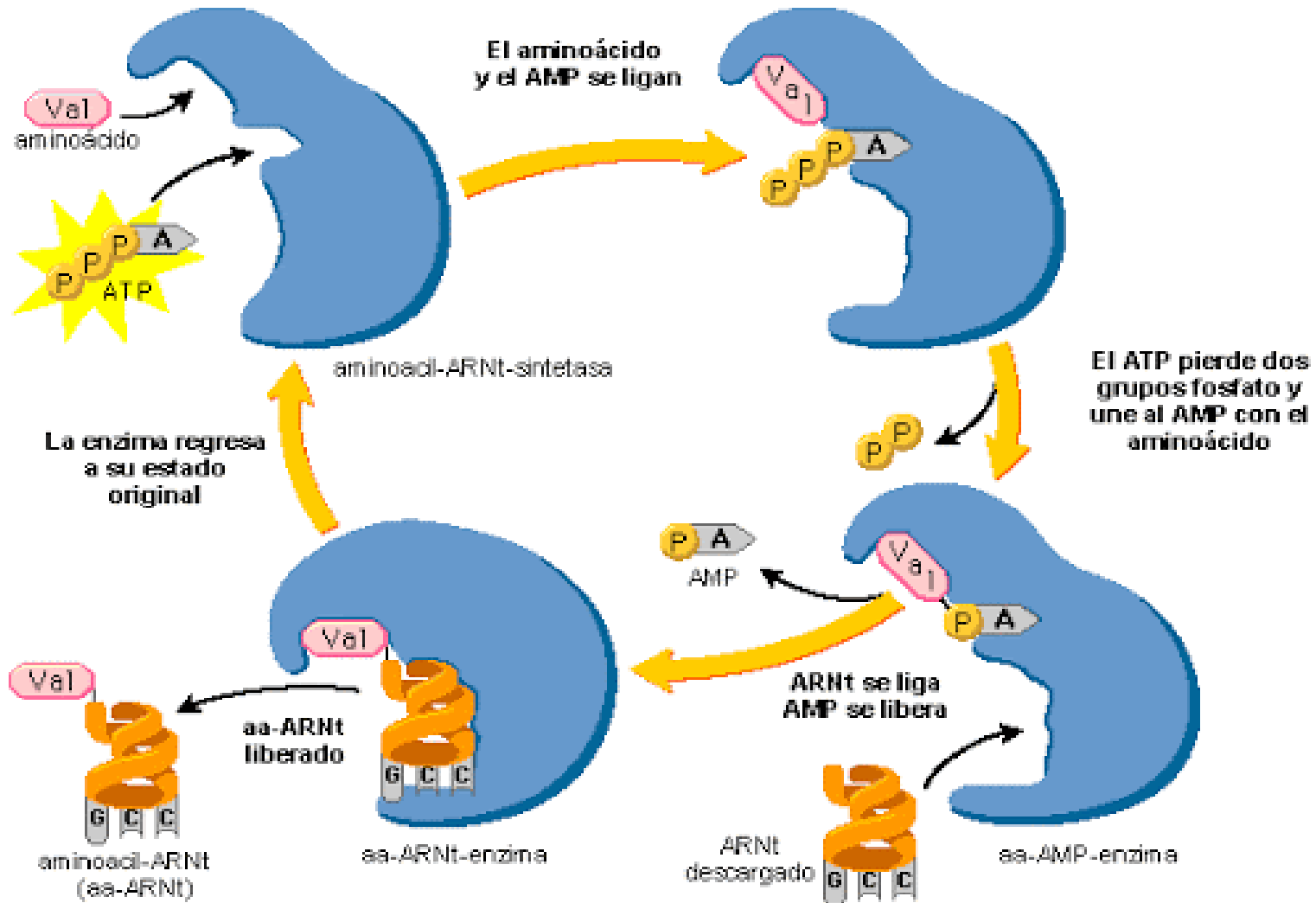
Val = valine

5. TRADUCCIÓ

- **Biosíntesi de proteïnes**, es canvia de llenguatge, d'una seqüència específica de nucleòtids a una seqüència específica d'aa. Ocorre en els **ribosomes**.
- **Els aa s'activen** en el citoplasma, unint-se a l'extrem 3' (CCA) d'un ARNt específic per les aminoacil-ARNt sintetases amb despesa d'ATP. Enllaç éster entre el -OH del nucleòtid d'adenina d l'extrem 3' de l'ARNt i el -COOH de l'aa
- L'aa que s'uneix a cada ARNt depèn del triplet de bases, **anticodó** que tinga.



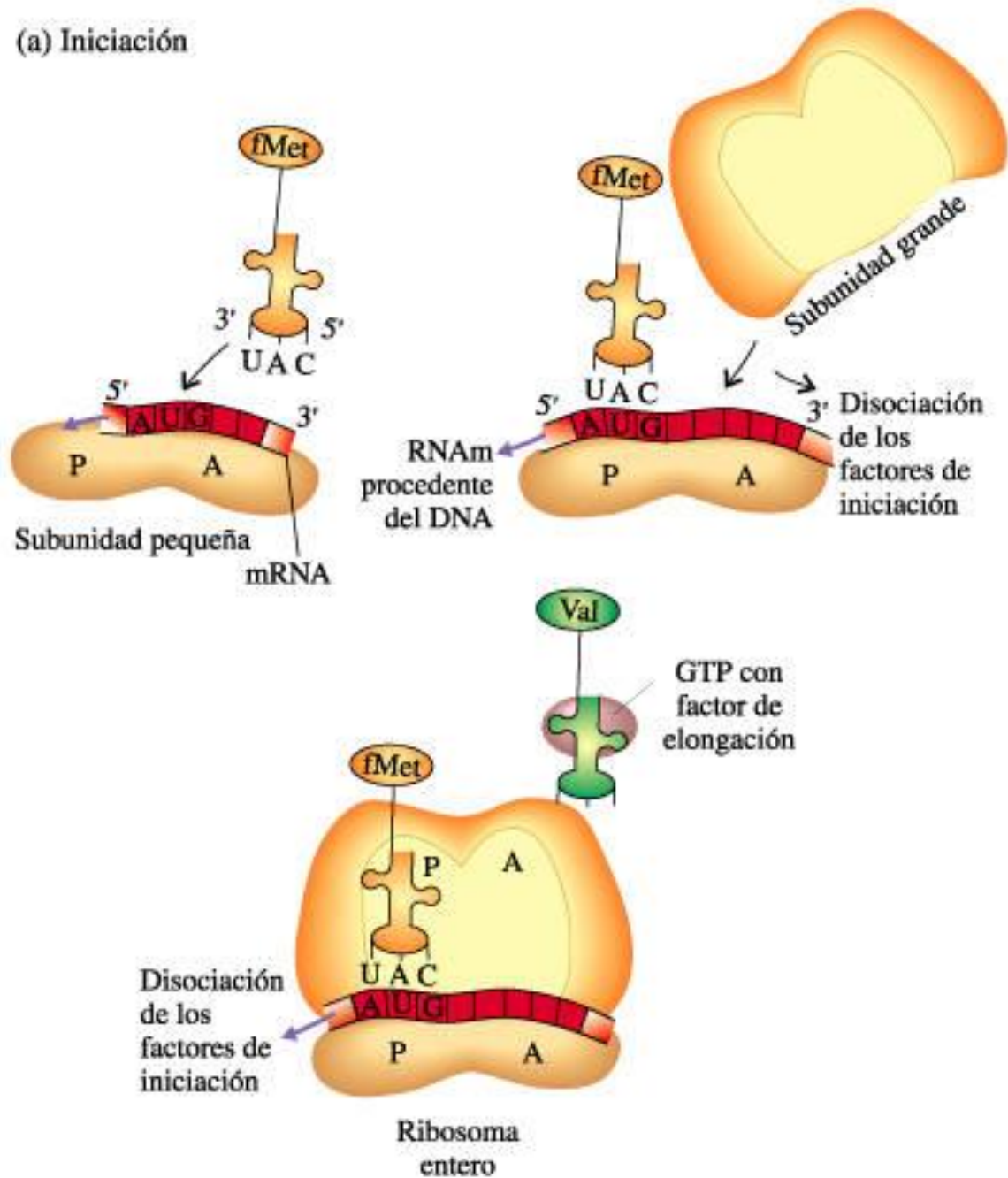
Activació dels aas i formació de l' aminoacil-ARNt



FASES DE LA TRADUCCIÓ

- **1. INICIACIÓ** : consisteix en formar el **complex d'iniciació**, de la següent forma:
 - L'ARNm s'uneix per l'extrem 5' (regió líder: 10 nucleòtids, complementaris a l'ARNr de la subunitat menuda del ribosoma, gràcies al factor proteic IF3.
 - Es fixa el 1r aminoacil-ARNt per ponts d'H entre les bases de l'anticodó i les complementàries del codó.
 - El 1r codó sempre és 5' AUG 3', per tant el 1r anticodó que s'uneix és UAC que és la formilMet. Aquest aa primer s'elimina posteriorment, sinò totes les proteïnes començarien per aquest aa i no és així.
 - S'acobla la subunitat gran. Es necessiten ions Mg^{2+} . Es dissocia el IF3. > **complexe ribosomal**
 - El tros d'ARNm cobert per un ribosoma són 6 nucleòtids, o siga dos codons. El primer triplet és el lloc P (peptidil) i el segon el lloc A (acceptor).

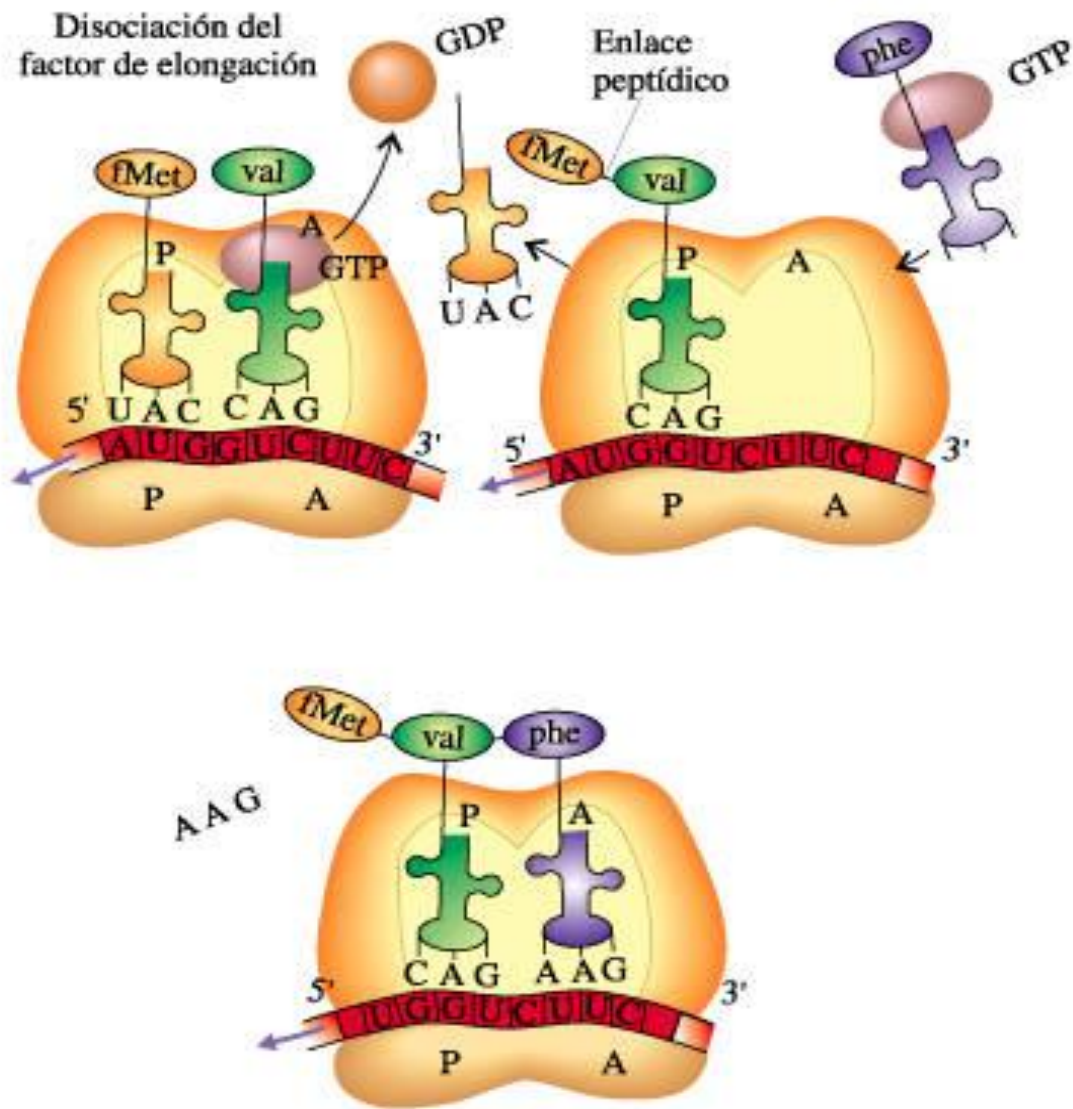
(a) Iniciación

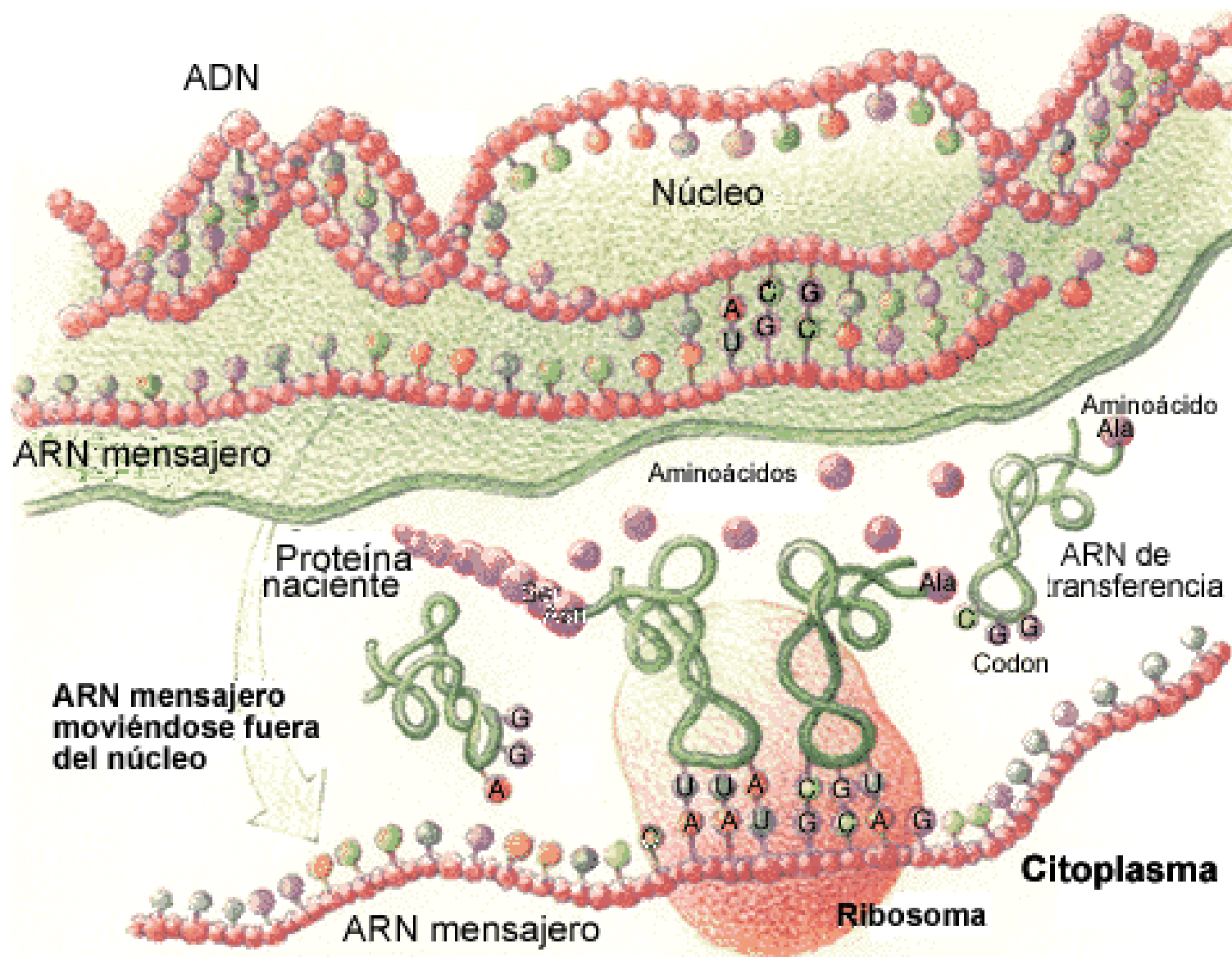


FASES DE LA TRADUCCIÓ

- **2. ELONGACIÓ:** se sintetitza la cadena peptídica per la unió dels aa transportats pels ARNt. És necessari el desplaçament del ribosoma al llarg de l'ARNm, en direcció 5' ...3'. Fan falta dos factors proteics d'elongació
 - Unió d'un aminoacil-ARNt al lloc A
 - **Formació de l'enllaç peptídic** entre l'aa del lloc P (fomilmet) i el del lloc A, per una E: *peptidil transferasa*, entre el $-COOH$ del 1r aa i el $-NH_2$ del 2n aa. Es desprén el 1r ARNt.
 - **Translocació** del dipèptid del lloc A al lloc P. El ribosoma avança recorrent ARNm en sentit 5' → 3'. El lloc A queda lliure per a un 3r ARNt.
 - **Formació de l'enllaç peptídic** entre el 3r aa i el dipèptid ja format.
 - Translocació del tripèptid del lloc A al lloc P etc. Es necessita energia en forma de GTP.

(b) Elongación

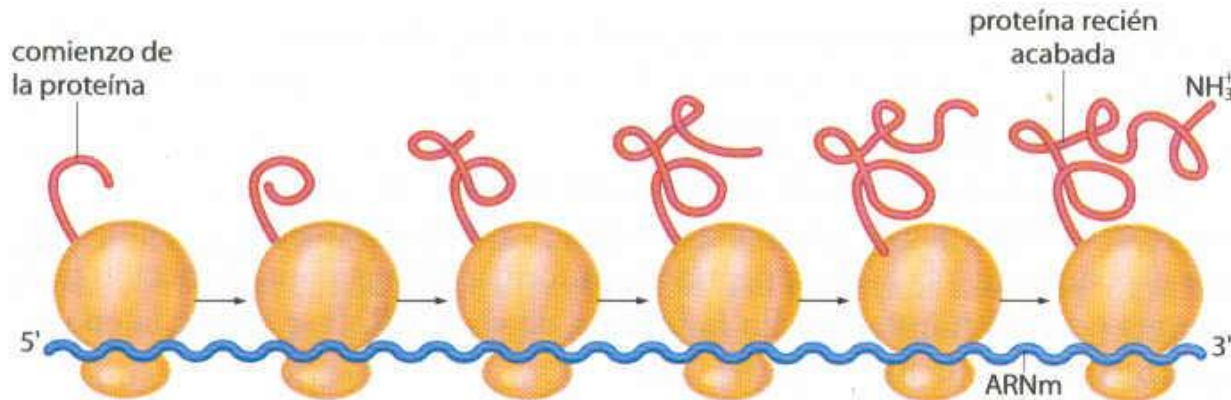




FASES DE LA TRADUCCIÓ

- **3.FINALITZACIÓ:** s'acaba la síntesi de la proteïna quan en l'ARNm apareix un dels codons de terminació, UAA, UAG o UGA, per als quals no s'uneix cap aminoacil-ARNt. Fan falta dos factors proteics d'alliberament.
 - s'allibera la cadena proteica que ha adquirit l'estructura secundària o terciària
 - s'alliberen les dues subunitats ribosòmiques
 - l'ARNm pot tornar a ser utilitzat.

La velocitat de síntesi es alta. Les cadenes d'ARNm solen ser llegides per més d'un ribosoma simultàniament (POLISOMA) i així augmenta l'efectivitat.

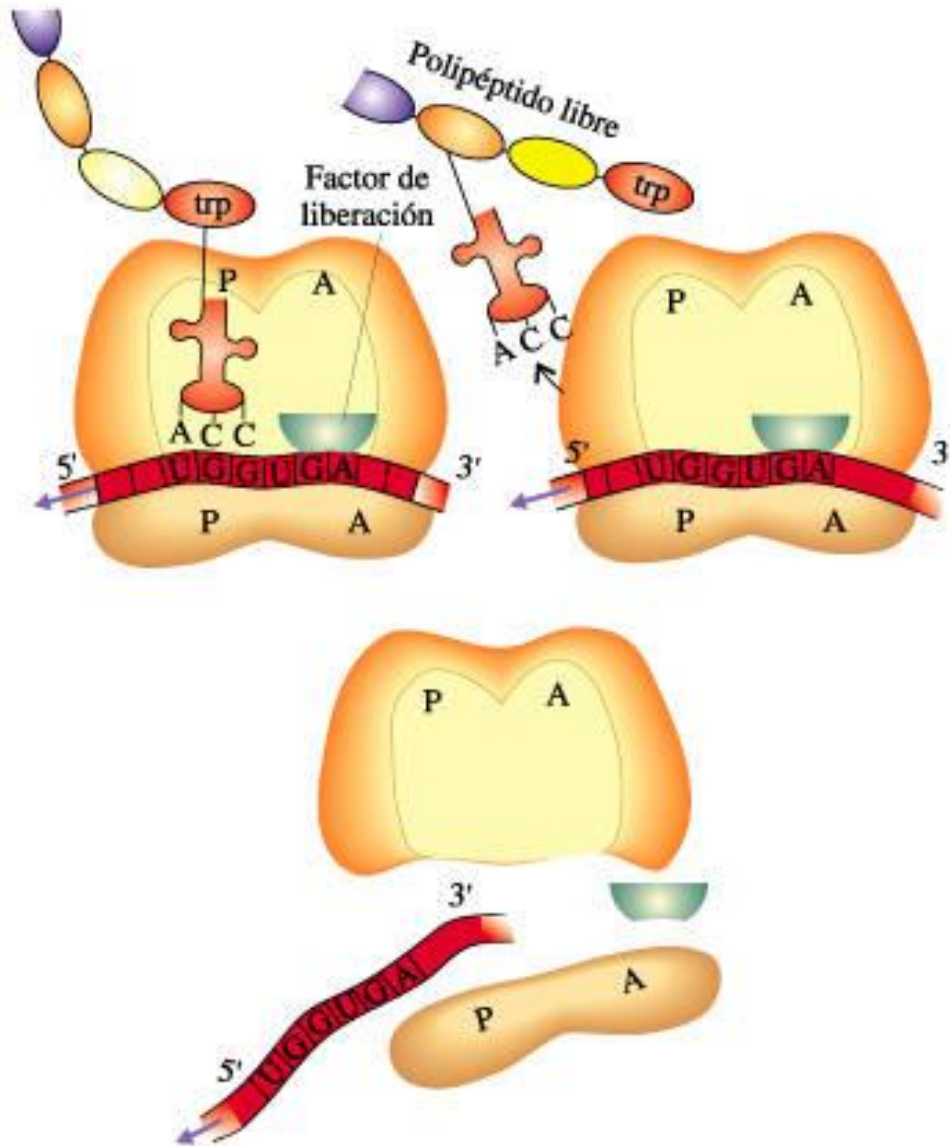


21.11. Diagrama de un polirribosoma (polisoma).

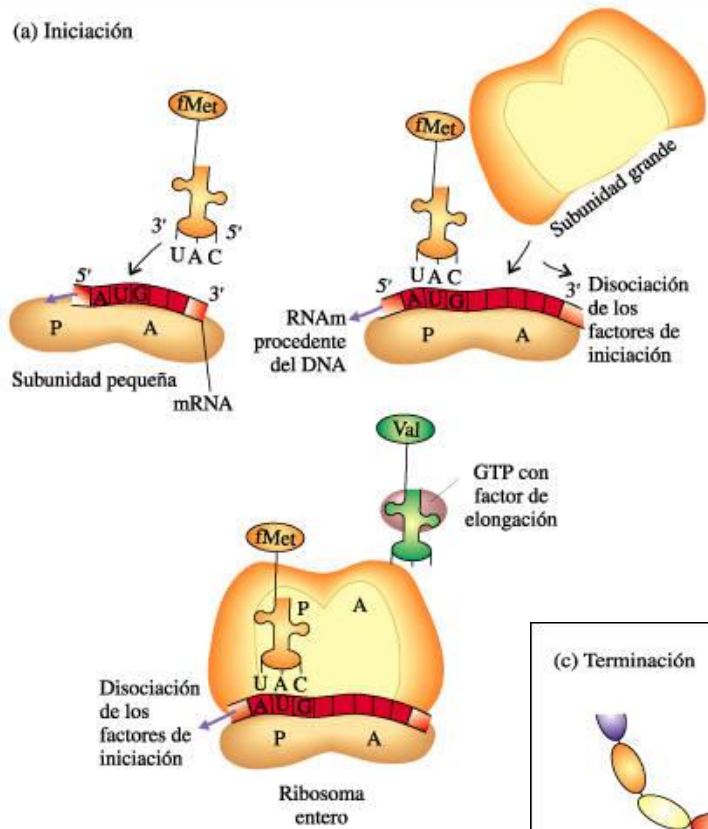
FASES DE LA TRADUCCIÓ

- **4. ASSOCIACIÓ DE LES CADENES POLIPEPTÍDIQUES PER A CONSTRUIR PROTEÏNES:**
 - Al finalitzar la traducció hi ha proteïnes enzimàtiques que ja són actives i altres que precisen eliminar alguns aas, normalment la metionina
 - Les proteïnes poden estar constituïdes per una o varies cadenes polipeptídiques.
 - Les proteïnes que s'han d'exportar fora de la cèl.lula es sintetitzen en ribosomes units al RER

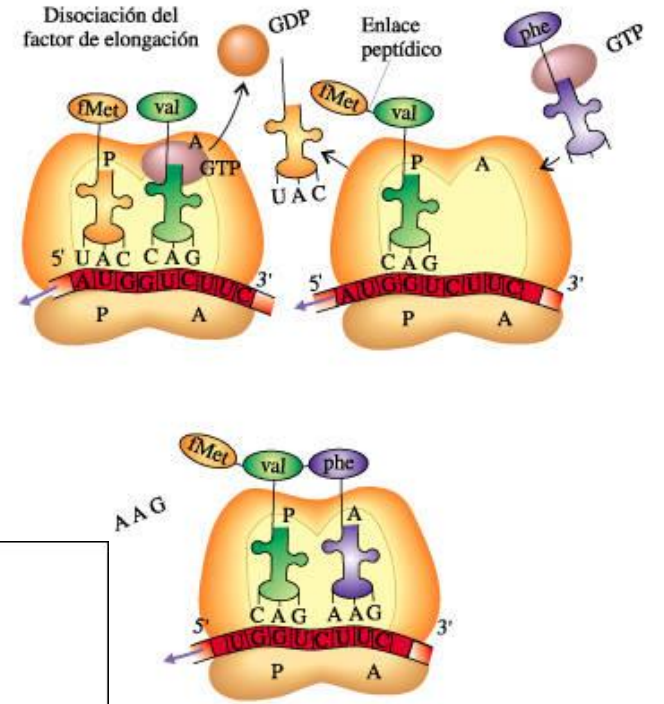
(c) Terminación



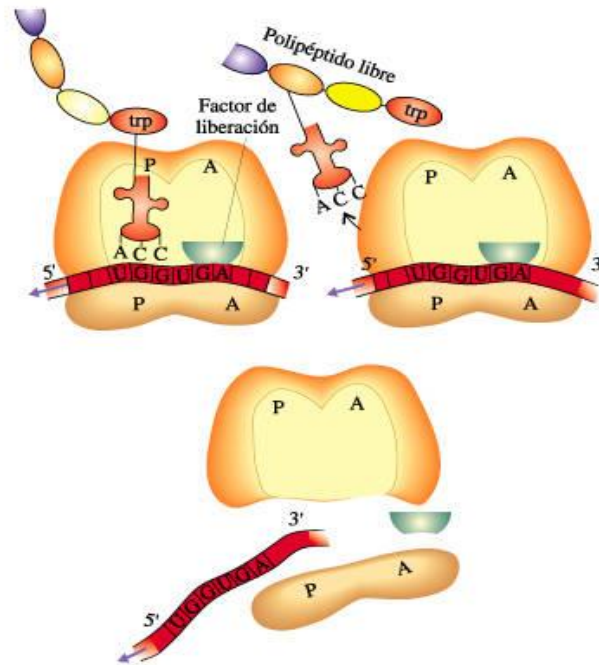
(a) Iniciación



(b) Elongación



(c) Terminación



Diferències en la traducció en c. procariotes i eucariotes

	C. eucariotes	C. procariotes
Lloc	Transcripció en el nucli Traducció en el citoplasma	Transcripció i traducció en el citoplasma , seguida
Tipus ARNm	Monocistrònic : informació per a una sola pr.	Policistrònic : informació per a moltes pr.
Extrem 5' ARNm	CAP : caperutxa de trifosfat metilguanosa	No hi ha CAP
1r ARNt	Met	formilmetionina
Ribosomes	80 S	70 S
Factors	D'iniciació, d'elongació i d'acabament diferents	D'iniciació, d'elongació i d'acabament diferents

6. Regulació de l'expressió gènica

- La síntesi proteica no té lloc contínuament, depén de les necessitats de la cèl.lula.
- Els gens **només s'expressen quan cal** sintetitzar les proteïnes adequades. No cal malgastar molècules i energia.
- En els **éssers pluricel.lulars**, els gens que s'expressen són distints segons el tipus de cèl.lula. La **diferenciació cel.lular** es basa en l'activació i la inhibició permanent de diversos gens.
- Per tant, **és imprescindible el control de l'expressió gènica** i es fa fonamentalment en el procés de transcripció, en el cas de **procariotes**, i en la transcripció, maduració de l'ARNm, transport de l'ARNm del nucli al citoplasma o en la traducció en el cas d'**eucariotes**.

Regulació de l'expressió gènica en procariotes

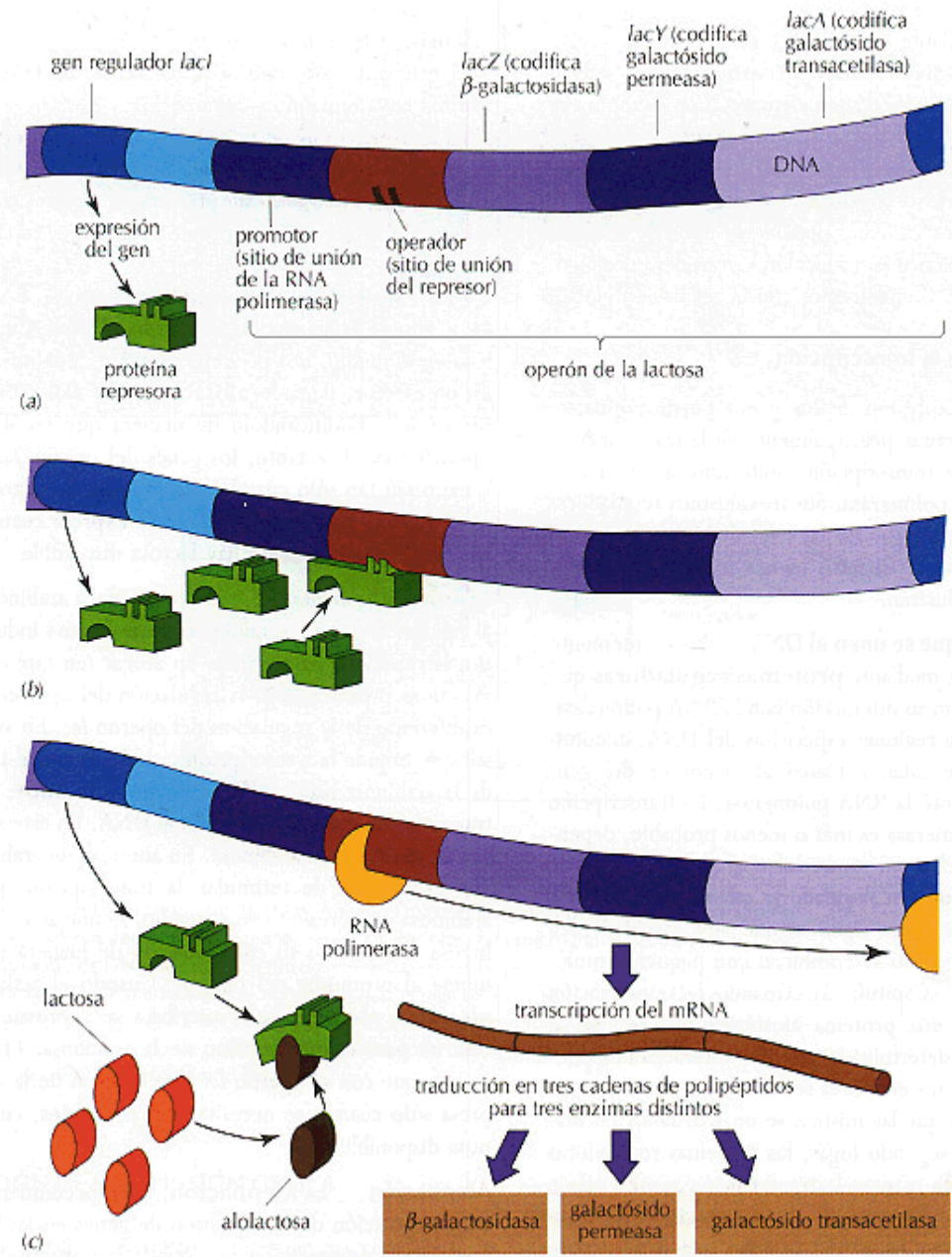
- 1960, Jacob i Monod proposen el model de l'**OPERÒ** fent experiments en *E. coli*
- Hi ha 4 tipus de gens:
 - **gens estructurals**: síntesi d'enzims
 - **gen promotor**: on s'uneix l'ARN pol
 - **gen operador**: on es pot unir una proteïna reguladora i evitar la transcripció dels gens estructurals
 - **gen regulador**: sintetitza la pr. reguladora

Operó sistema induïble

Processos catabòlics

- La pr sintetitzada pel *gen regulador lacI* és un **repressor actiu**, que s'uneix al *gen operador* i impedeix que s'unisca l'ARN pol al *gen promotor*.
- La inactivació del repressor s'aconsegueix per la unió a una **molècula inductora**, el mateix substrat i s'afavoreix l'acció del'ARN pol i es transcriuen i sintetitzen els enzims corresponents.
- Fins que no hi ha S no se sintetitzen els enzims!!!

Exemple: **l'operó Lac**

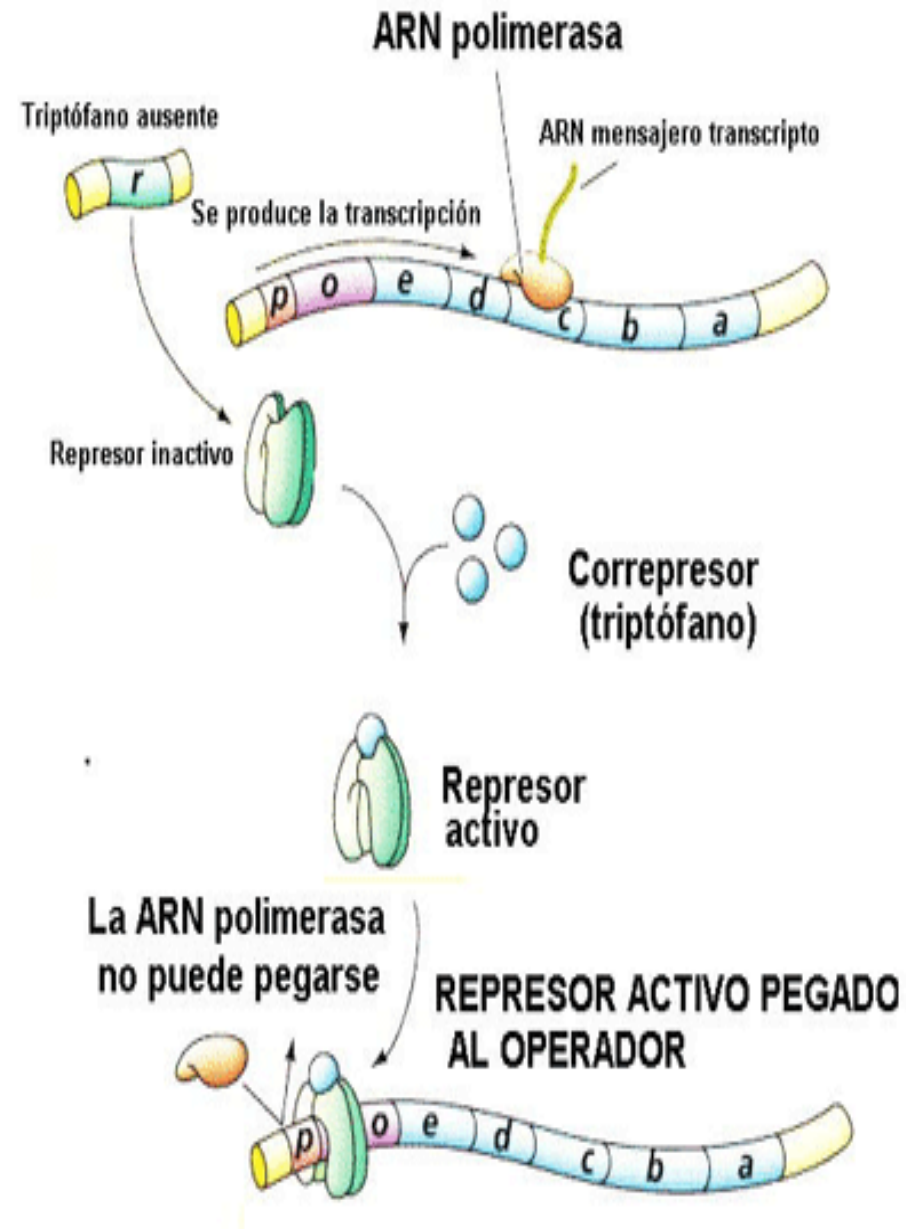


• Operó sistema repressible

Processos anabòlics

- La pr sintetitzada pel *gen regulador* és un **repressor inactiu**, que **no** s'uneix al *gen operador* i l'ARN pol s'uneix *gen promotor* i es transcriuen els *gens estructurals*.
- La molècula repressora s'activa per la unió d'un **correpressor**, que és el producte final de la ruta. Així el repressor s'uneix al *gen operador* i impedeix que l'ARN pol s'unisca al *gen promotor* i es transcriuen els *gens estructurals*.
- Fins que no hi ha prou P no es para la transcripció!!!

Exemple: **operó Trp**



Regulació de l'expressió gènica en eucariotes

- És més complexa i es coneix poc
- Se sap que hi ha factors activadors que responen a senyals intracel·lulars i extracel·lulars
- Un exemple de factors activadors que responen a senyals extracel·lulars són les **hormones**:
 - **esteroides**: entren a l'interior de la c, s'uneixen a pr del citoplasma, entren dins del nucli i es fixen a determinades seqüències de l'ADN i permeten la transcripció
 - **peptídiques**: s'uneixen a factors específics de la membrana, activen la síntesi d'AMPC a partir d'ATP i és l'AMPC el que entra dins el nucli i possibilita l'activació dels gens. Actua com a 2n missatger.

□ Hormonas

Hormona proteica

