

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



RNA polimerasa II: transcribiendo y regulando

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2020.04.1

Olga Calvo

Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG), CSIC-Universidad de Salamanca

Biografía Resumen

Olga Calvo realizó su tesis doctoral en el Instituto de Microbiología Bioquímica, centro mixto de la Universidad de Salamanca y el CSIC.

Durante este período contribuyó a la caracterización de factores implicados en el inicio de la traducción y su conexión con la transcripción y procesamiento del tRNAiMet.

Después se trasladó al laboratorio del Dr. Manley en Columbia University (New York, 1999-2002). Allí trabajó en el procesamiento de los pre-mRNAs y sus estudios fueron pioneros en el descubrimiento de factores implicados en el procesamiento co-transcripcional. Después, realizó una breve estancia en el CRG en Barcelona para continuar con los proyectos iniciados en Nueva York (2002-2003). En 2004 se incorporó como Ramón y Cajal a la USAL y desde 2009 es Científica Titular del CSIC en el Instituto de Biología Funcional y Genómica (CSIC-USAL), donde ha continuado haciendo importantes contribuciones al campo de la regulación transcripcional.

La transcripción de los mRNAs es un proceso muy complejo y dinámico en el que participan multitud de factores regulando la actividad de la RNAPII. Dicha actividad además está regulada por tres de sus doce subunidades, Rpb1 y el heterodímero Rpb4/7, esenciales en el mantenimiento de la expresión génica.

Summary

The transcription of mRNAs is a very complex and dynamic process in which many factors are involved regulating the activity of RNAPII. This activity is also regulated by three of the twelve RNAPII subunits, Rpb1 and Rpb4/7, which are essentials in the maintenance of gene expression.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La transcripción de los mRNAs es un proceso muy complejo y dinámico, finamente regulado, como muestra la intrincada red de interacciones entre proteínas, y de éstas con ácidos nucleicos. Estas interacciones producen cambios conformacionales en la RNAPII y en su actividad durante las diferentes fases de la transcripción. Así, la actividad de la RNAPII está modulada por Factores Generales de la Transcripción (GTFs) durante la iniciación, por factores de elongación y terminación, y también por una enorme diversidad de complejos actuando como activadores, represores, co-activadores y co-represores. A esto se añade el procesamiento de los pre-mRNAs (capping, splicing y poliadenilación) que ocurre y se regula co-transcripcionalmente y la coordinación entre la transcripción y el estado de la cromatina, lo que regula y facilita el paso de la RNAPII a través de los genes (1). Todos estos procesos están coordinados y regulados de manera específica y diferencial por el estado de fosforilación del dominio carboxilo-terminal (CTD) de la subunidad mayor de la RNAPII, Rpb1 (Figura A). Este dominio se encuentra evolutivamente muy conservado desde protozoos a metazoos y su fosforilación ocurre siguiendo un código extremadamente complejo, que podríamos asimilar al código de modificaciones de las histonas. Dicho código es crucial en la regulación de la transcripción en particular y de la expresión génica en general. Cómo se establece este código, cómo se decodifica y qué factores están implicados, han sido y siguen siendo objeto de numerosísimos estudios desde su descubrimiento hace unos veinte años (2-5). Por lo tanto, la RNAPII es capaz de regular su actividad determinando qué factores y cuándo se asocian a la misma o a los mRNAs durante su biogénesis. Pero no sólo Rpb1, a través de su CTD, tiene esta capacidad.

La RNAPII está formada por 12 subunidades (Rpb1-Rpb12, Figura A), organizadas en cinco módulos estructurales, que en conjunto median la actividad y procesividad de la polimerasa (6,7). Uno de estos módulos es el heterodímero Rpb4/Rpb7, con importantes funciones a distintos niveles de la expresión génica, lo que le ha hecho merecedor de la etiqueta de “*regulador maestro*” (Figura B). Participa en la transcripción y procesamiento de los mRNAs, en su transporte, degradación y traducción. Para ello, Rpb4/7 es capaz de unirse a los mRNAs y salir al citoplasma unido a ellos. También se ha implicado a Rpb4/7 en la respuesta a estrés y en la reparación del DNA acoplada a la transcripción (8).

En los últimos años nuestro grupo ha contribuido al estudio de las funciones de Rpb4/7, y a la identificación de factores y mecanismos implicados en la regulación de la fosforilación de la RNAPII. Así, descubrimos que Rpb4/7 facilita el acceso de las fosfatasa del CTD, Ssu72 y Fcp1, para su defosforilación y además regula la asociación de otros factores, como Sub1, que modula globalmente la fosforilación de la RNAPII a lo largo de todo el ciclo de transcripción (9,10).

La fosforilación/defosforilación de residuos específicos del CTD es crucial durante la fase de elongación y terminación, y la total defosforilación lo es para el reciclaje de la polimerasa y el reinicio de la transcripción.

Más recientemente, nuestros estudios han permitido esclarecer el papel de la RNAPII en la formación de los bucles génicos (11). En un gran número de genes transcripcionalmente activos, el promotor y terminador de los mismos se yuxtaponen para formar una estructura dinámica denominada “*gene loop*”. La arquitectura del gen en forma de bucle ocurre por la interacción física entre factores de iniciación y terminación que ocupan las zonas distales de los genes (12). El *gene looping* se ha implicado en la reiniciación y terminación de la transcripción, en la direccionalidad de la misma, en el aumento de la transcripción mediada por intrones y en la memoria transcripcional. Durante mucho tiempo, y desde el descubrimiento de los bucles génicos, se creyó que la RNAPII era un mero factor pasivo. Dado que el *gene looping* es un proceso dependiente de transcripción, se presumió, sin demostración, que todas las mutaciones que afectarían a la transcripción, en consecuencia, también afectarían al *gene looping* (12-14). Sin embargo, nuestro trabajo ha demostrado que esto es erróneo y que la RNAPII juega un papel directo en la formación de los bucles génicos *vía* Rpb4 al mediar la interacción directa entre dos factores esenciales de este proceso, TFIIB, un GFT, y Ssu72, fosfatasa del CTD y además componente del factor de corte y poliadenilación CPF (15,16). Nuestro trabajo demuestra claramente que Rpb4 desempeña un papel fundamental, no sólo al mediar la interacción de TFIIB y Ssu72 entre sí, sino también con la RNAPII durante la formación de bucles génicos, promoviendo así la transferencia de la misma desde las regiones terminadoras a los promotores para reiniciar la transcripción (Figura C, (11)).

El mecanismo/s por el que Rpb4/7 tiene la capacidad de participar en tantos procesos, separados espacial y temporalmente, se desconoce por el momento. Actualmente, parte de nuestras investigaciones van dirigidas a la búsqueda de dicho/s mecanismo/s.

Referencias:

- Bentley, D.L. (2014) Coupling mRNA processing with transcription in time and space. *Nat. Rev. Genet.*, **15**, 163-175.
- Calvo, O.G., A. (2012) RNA Polymerase II Phosphorylation and gene expression regulation *Protein Phosphorylation in human health*, 151-194.
- Kadonaga, J.T. (2019) The transformation of the DNA template in RNA polymerase II transcription: a historical perspective. *Nat Struct Mol Biol*, **26**, 766-770.
- Schuller, R., Forne, I., Straub, T., Schrieck, A., Texier, Y., Shah, N., Decker, T.M., Cramer, P., Imhof, A. and Eick, D. (2016) Heptad-Specific Phosphorylation of RNA Polymerase II CTD. *Mol. Cell*, **61**, 305-314.
- Suh, H., Ficarro, S.B., Kang, U.B., Chun, Y., Marto, J.A. and Buratowski, S. (2016) Direct Analysis of Phosphorylation Sites on the Rpb1 C-Terminal Domain of RNA Polymerase II. *Mol. Cell*, **61**, 297-304.
- Bushnell, D.A. and Kornberg, R.D. (2003) Complete, 12-subunit RNA polymerase II at 4.1-A resolution: implications for the initiation of transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**, 6969-6973.
- Liu, X., Bushnell, D.A. and Kornberg, R.D. (2013) RNA polymerase II transcription: structure and mechanism. *Biochim. Biophys. Acta*, **1829**, 2-8.
- Sharma, N. and Kumari, R. (2013) Rpb4 and Rpb7: multifunctional subunits of RNA polymerase II. *Critical reviews in microbiology*, **39**, 362-372.
- Allepuz-Fuster, P., Martínez-Fernández, V., Garrido-Godino, A.I., Alonso-Aguado, S., Hanes, S.D., Navarro, F. and Calvo, O. (2014) Rpb4/7 facilitates RNA polymerase II CTD dephosphorylation. *Nucleic Acids Res*, **42**, 13674-13688.
- Garavis, M., Gonzalez-Polo, N., Allepuz-Fuster, P., Louro, J.A., Fernandez-Tornero, C. and Calvo, O. (2017) Sub1 contacts the RNA polymerase II stalk to modulate mRNA synthesis. *Nucleic Acids Res*, **45**, 2458-2471.
- Allepuz-Fuster, P., O'Brien, M.J., Gonzalez-Polo, N., Pereira, B., Dhoondia, Z., Ansari, A. and Calvo, O. (2019) RNA polymerase II plays an active role in the formation of gene loops through the Rpb4 subunit. *Nucleic Acids Res*, **47**, 8975-8987.
- Hampsey, M., Singh, B.N., Ansari, A., Laine, J.P. and Krishnamurthy, S. (2011) Control of eukaryotic gene expression: gene loops and transcriptional memory. *Adv Enzyme Regul*, **51**, 118-125.
- Laine, J.P., Singh, B.N., Krishnamurthy, S. and Hampsey, M. (2009) A physiological role for gene loops in yeast. *Genes Dev.*, **23**, 2604-2609.
- Singh, B.N. and Hampsey, M. (2007) A transcription-independent role for TFIIB in gene looping. *Mol. Cell*, **27**, 806-816.
- Ansari, A. and Hampsey, M. (2005) A role for the CPF 3'-end processing machinery in RNAP II-dependent gene looping. *Genes Dev.*, **19**, 2969-2978.
- Tan-Wong, S.M., Zaugg, J.B., Camblong, J., Xu, Z., Zhang, D.W., Mischo, H.E., Ansari, A.Z., Luscombe, N.M., Steinmetz, L.M. and Proudfoot, N.J. (2012) Gene loops enhance transcriptional directionality. *Science*, **338**, 671-675.

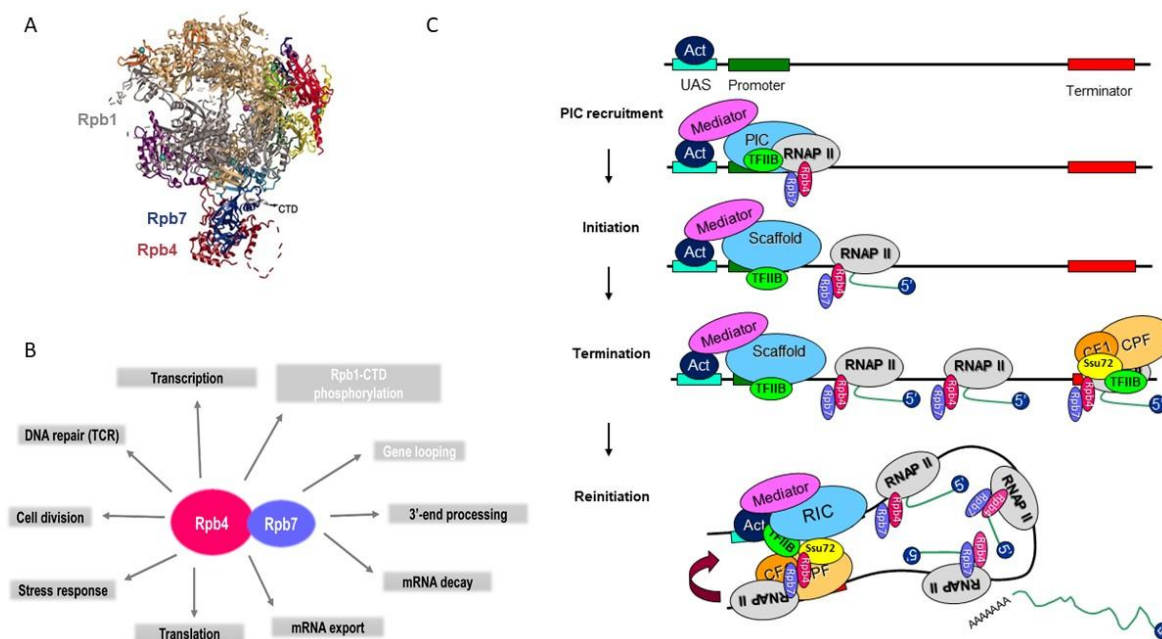


Figura. A) RNAPII. B) Funciones de Rpb4/7 en la expresión génica. C) Modelo:Rpb4/7 participa en la formación de los bucles génicos (11).