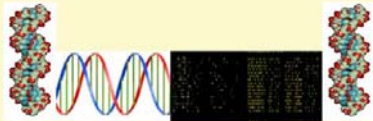


GRO: UN NUEVO METODO PARA MEDIR LAS TASAS DE TRANSCRIPCIÓN DE TODOS LOS GENES DE LEVADURA

**José García-Martínez,
Agustín Aranda
y José E. Pérez-Ortín**

**Depto. de Bioquímica y Biología Molecular
Universitat de València**

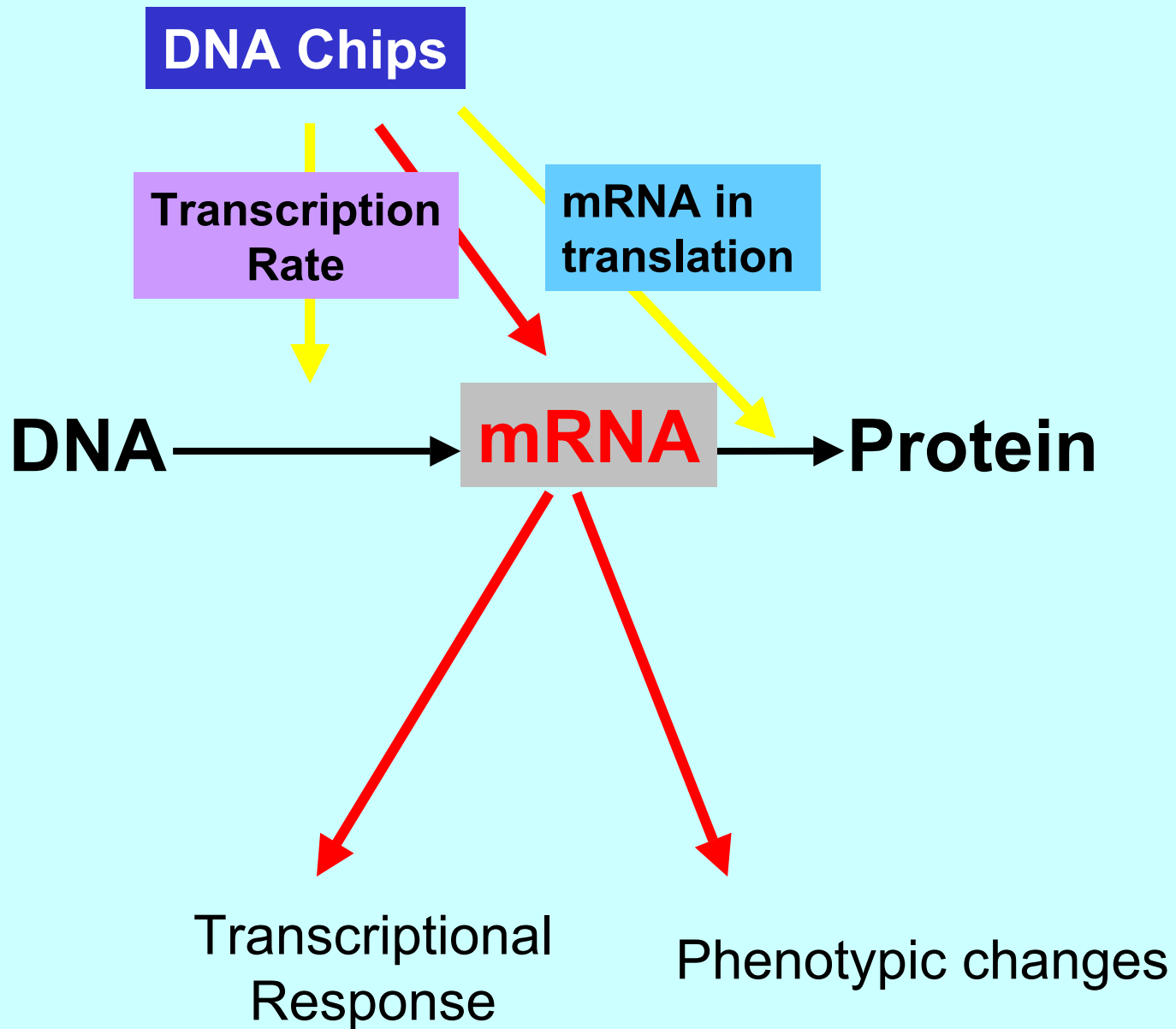


**LABORATORIO
DE
CHIPS DE DNA**

[Introducción](#)
[Personal y direcciones de contacto](#)
[Equipamiento](#)
[Productos y servicios ofertados](#)
[Datos experimentales](#)
[Enlaces de interés](#)

<http://scsie.uv.es/chipsdna>





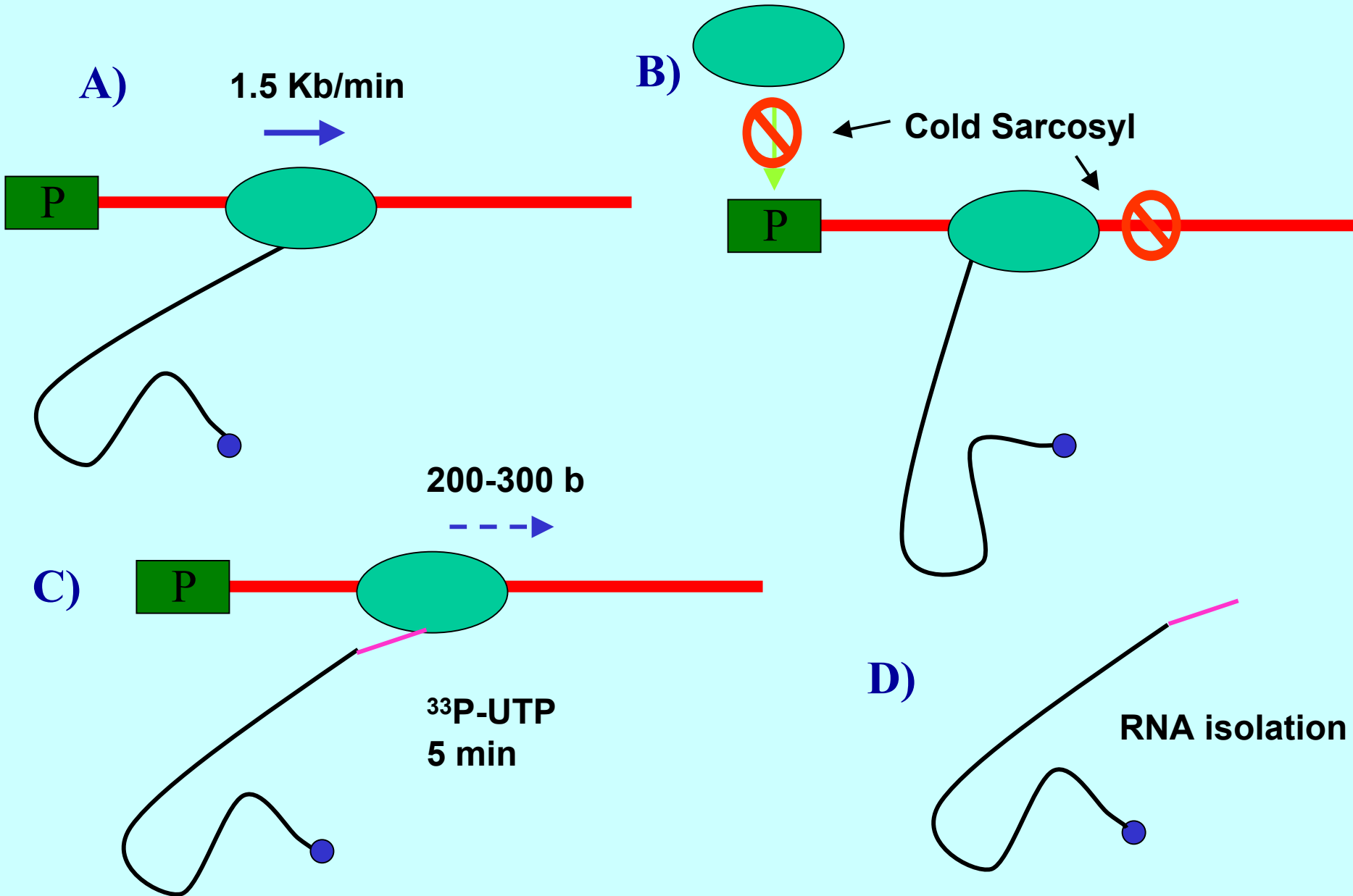
DNA chip analysis of Transcription

The mRNA amount is a consequence of its synthesis (V_F) and degradation (V_D) rates



Using DNA chips it is possible to calculate **mRNA amounts, transcription rates** and even **mRNA half lives** for all genes at the same time.

Transcription Rate measurement *in vivo*: Run-On



Transcription Rate measurement *in vivo*: Run-On

By extension of TRO methodology at genomic level, the *in vivo* labeled RNA can be used for hybridising a DNA chip containing probes for all genes, allowing us to estimate their transcription rate.

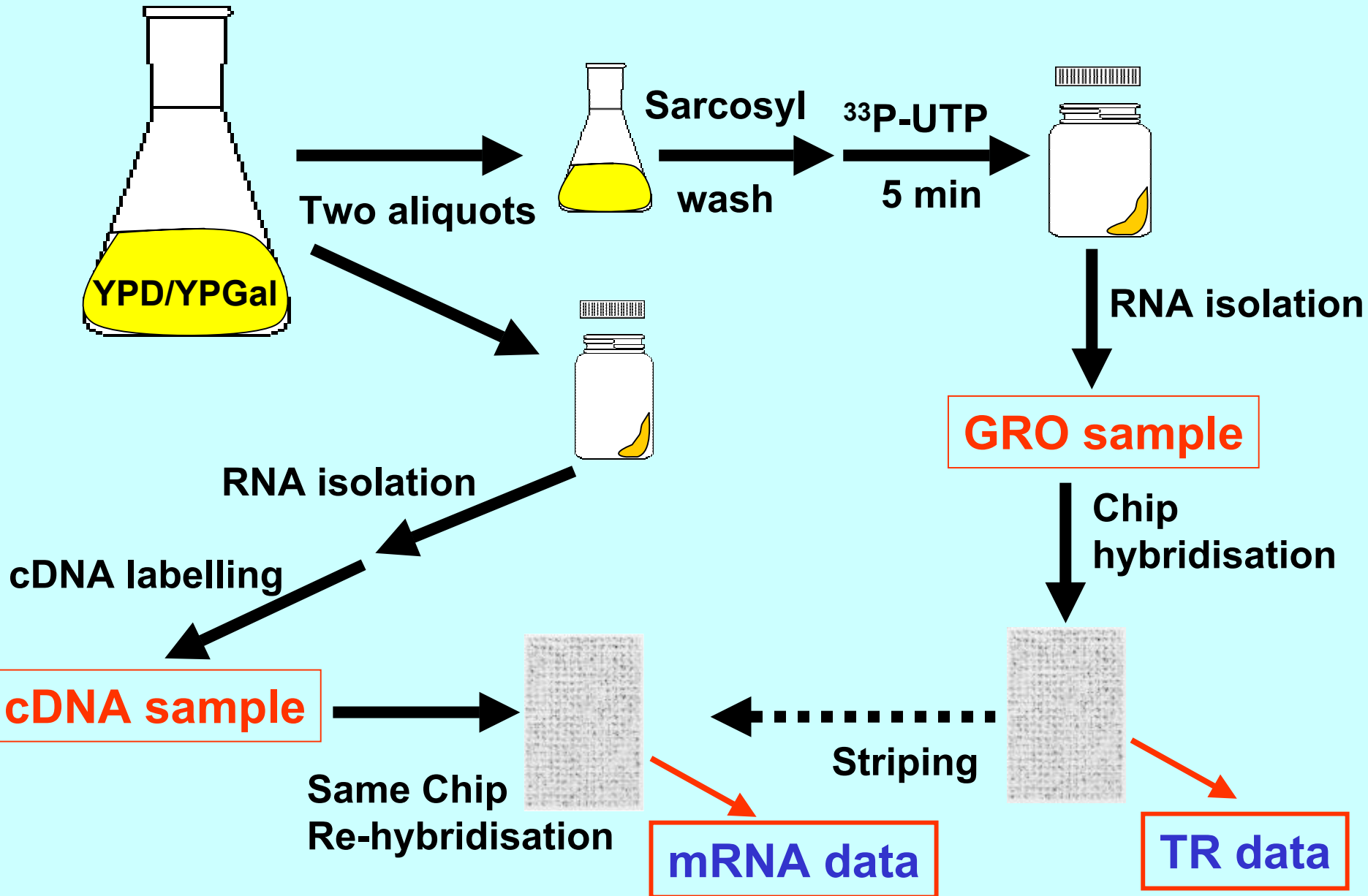
Genomic Run-On: GRO

These data are *arbitrary hybridisation intensity units*.
But, if they are corrected by:

- 1) probe amount
- 2) probe length and proportion of Uridines

the values are comparable between different genes.

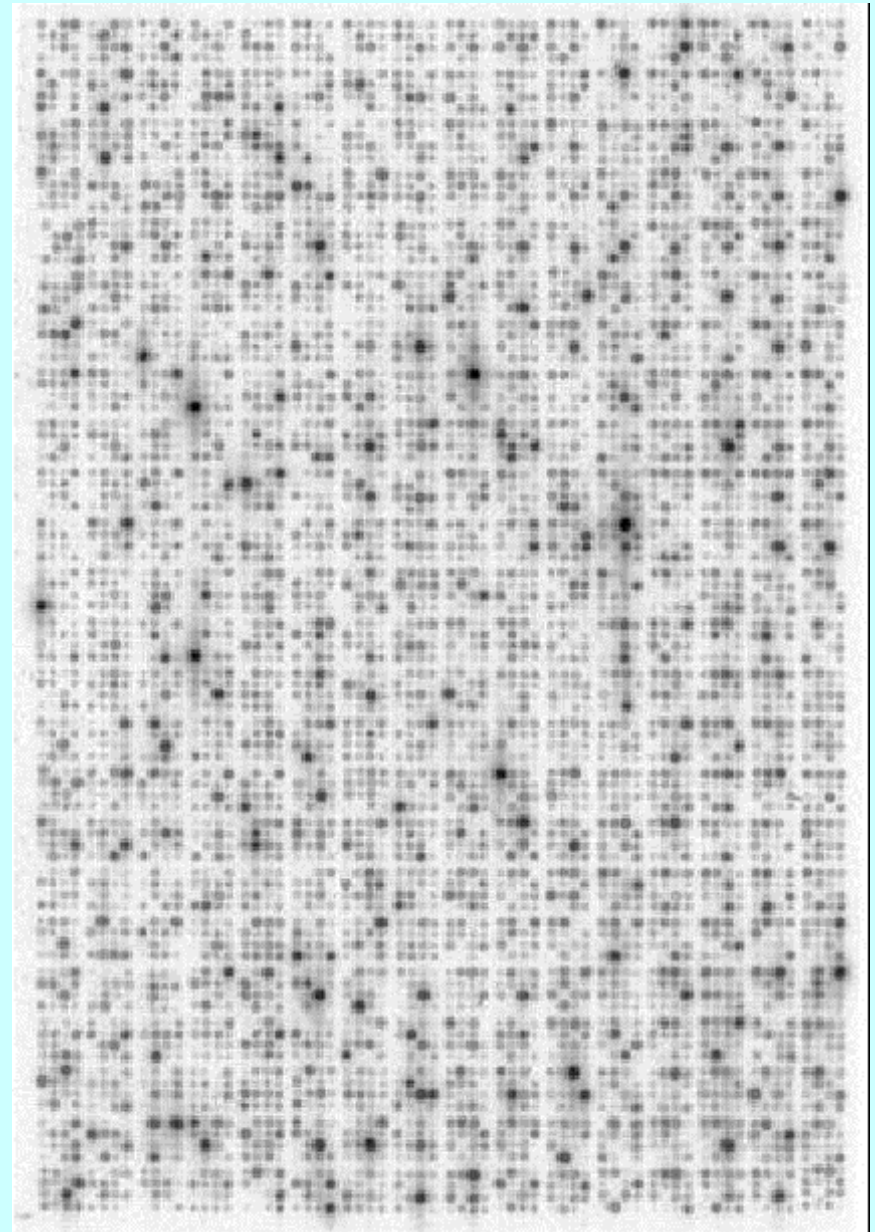
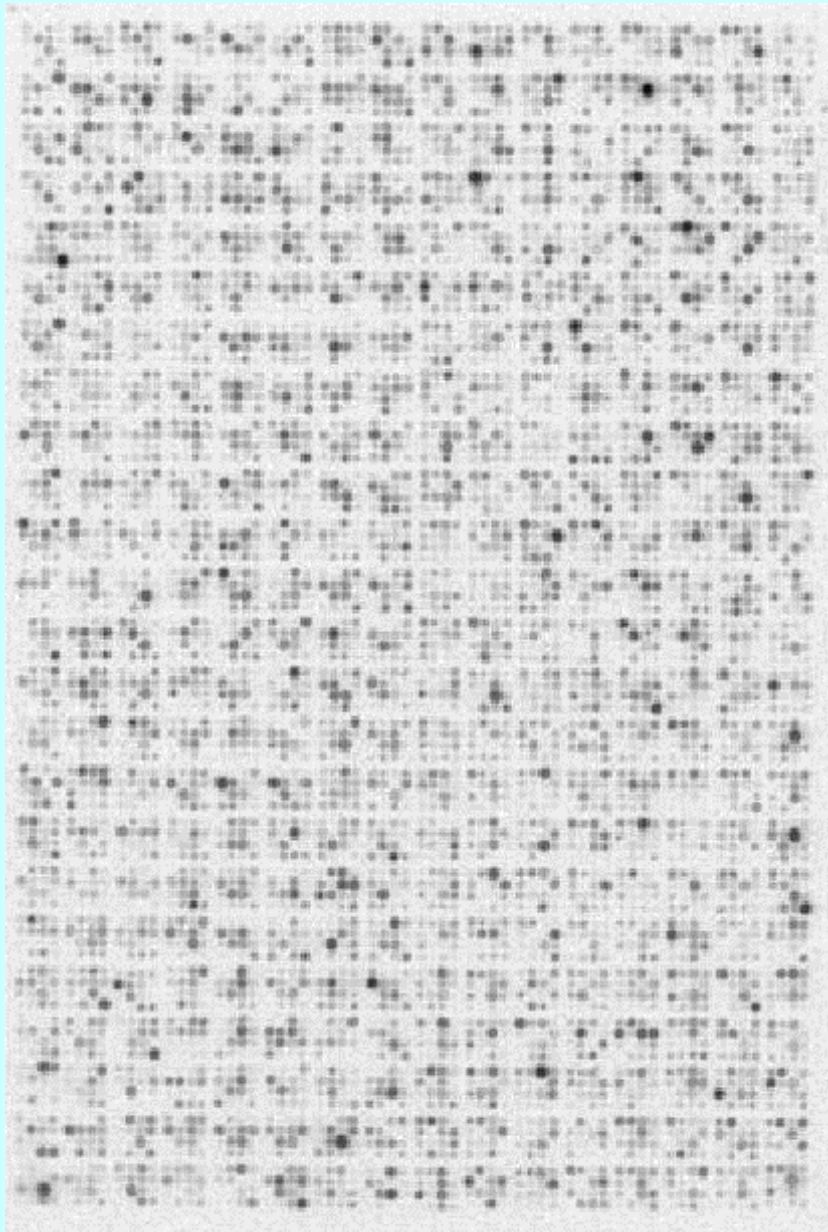
Experimental design



GRO

vs

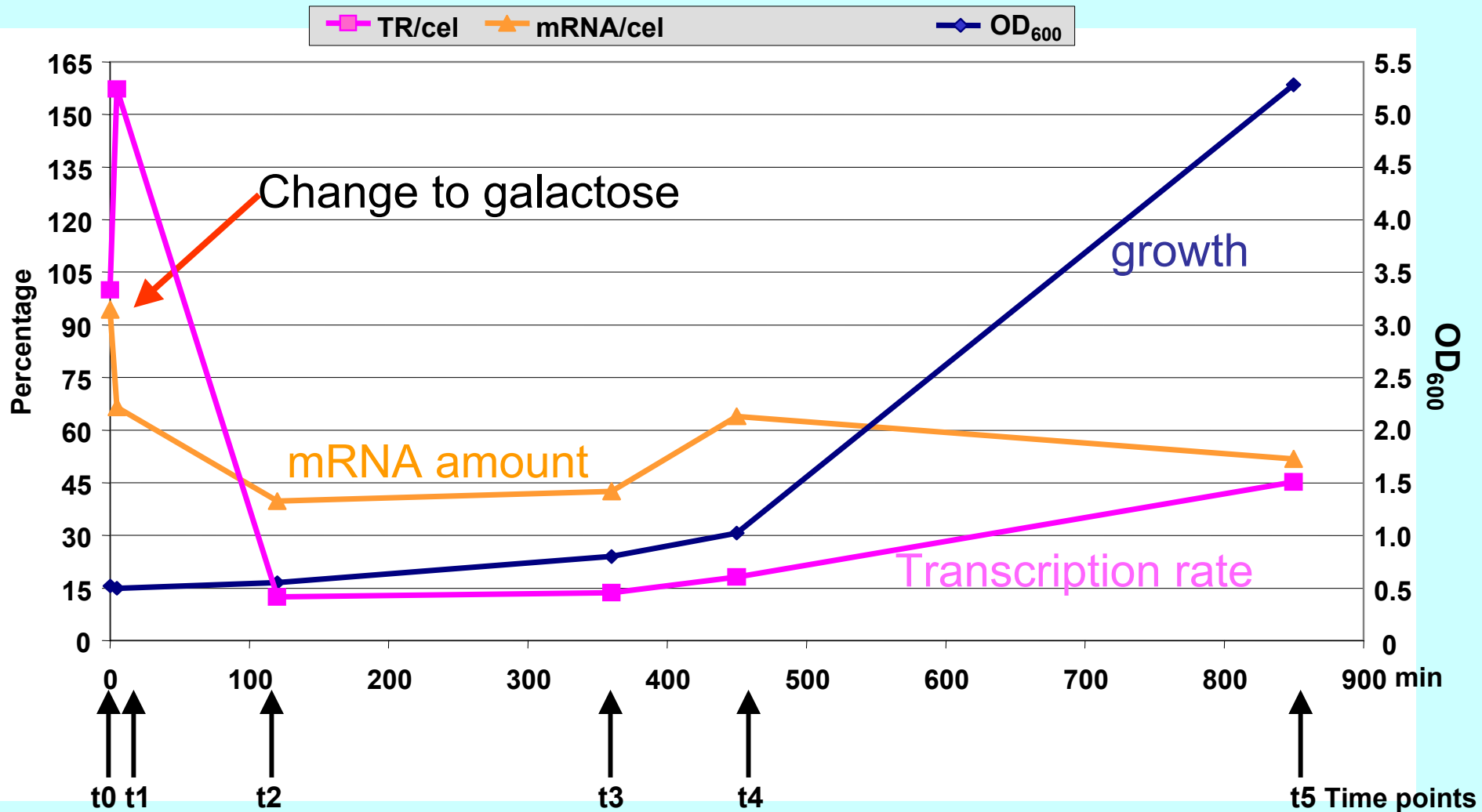
cDNA



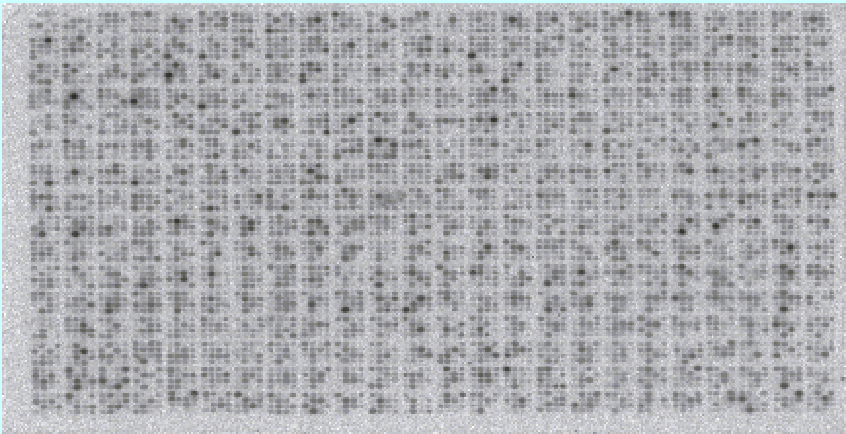
Application of the Experimental Protocol to a case of large physiological changes:

**An exponential yeast culture growing in
glucose as the sole carbon source is shifted
to galactose medium.**

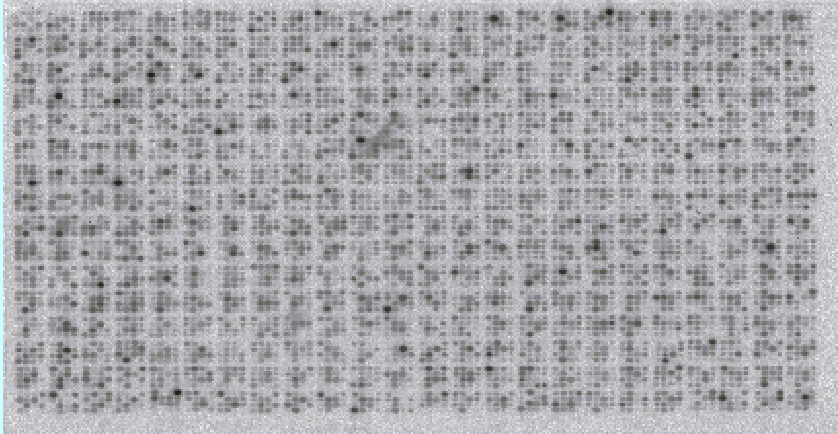
Global changes after shift from Glucose to Galactose



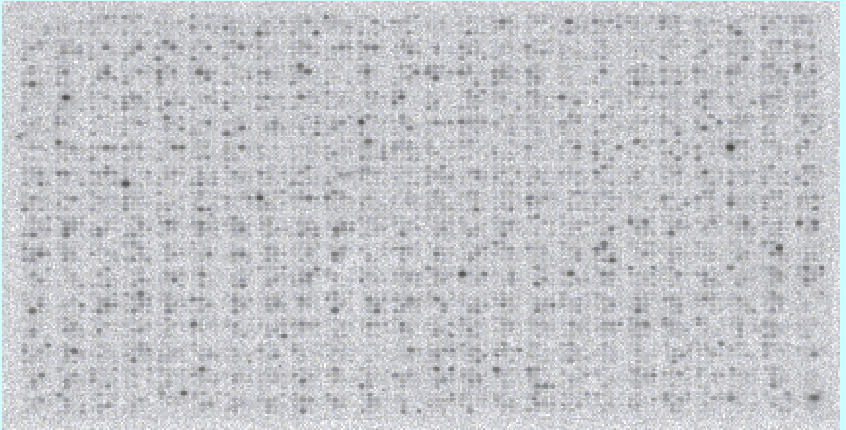
t0



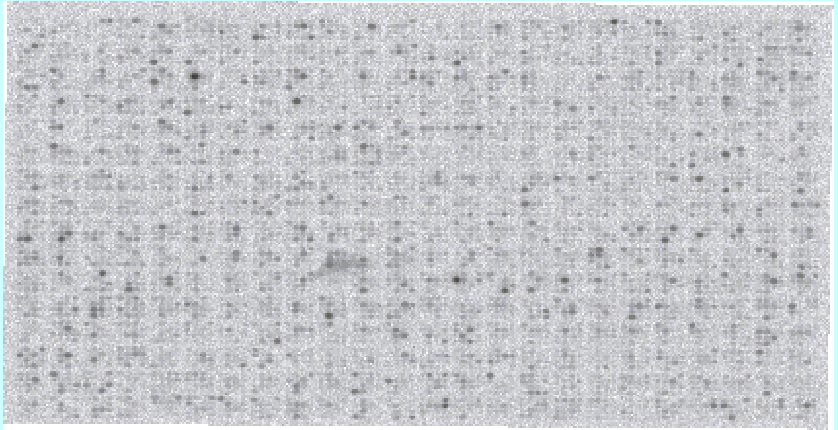
t1



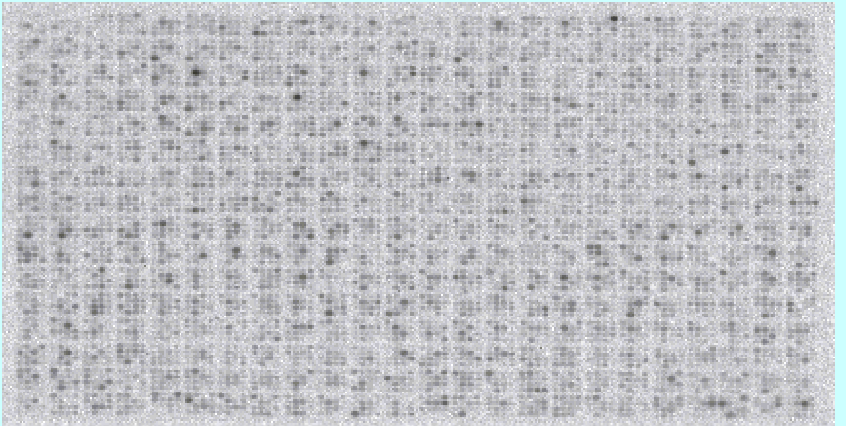
t2



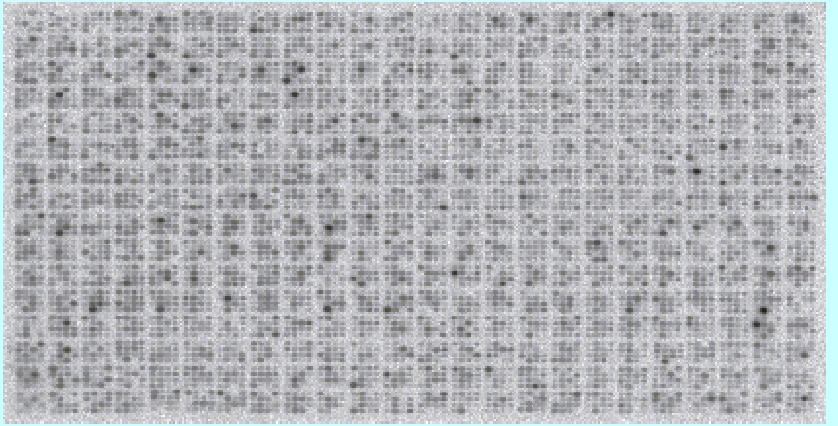
t3



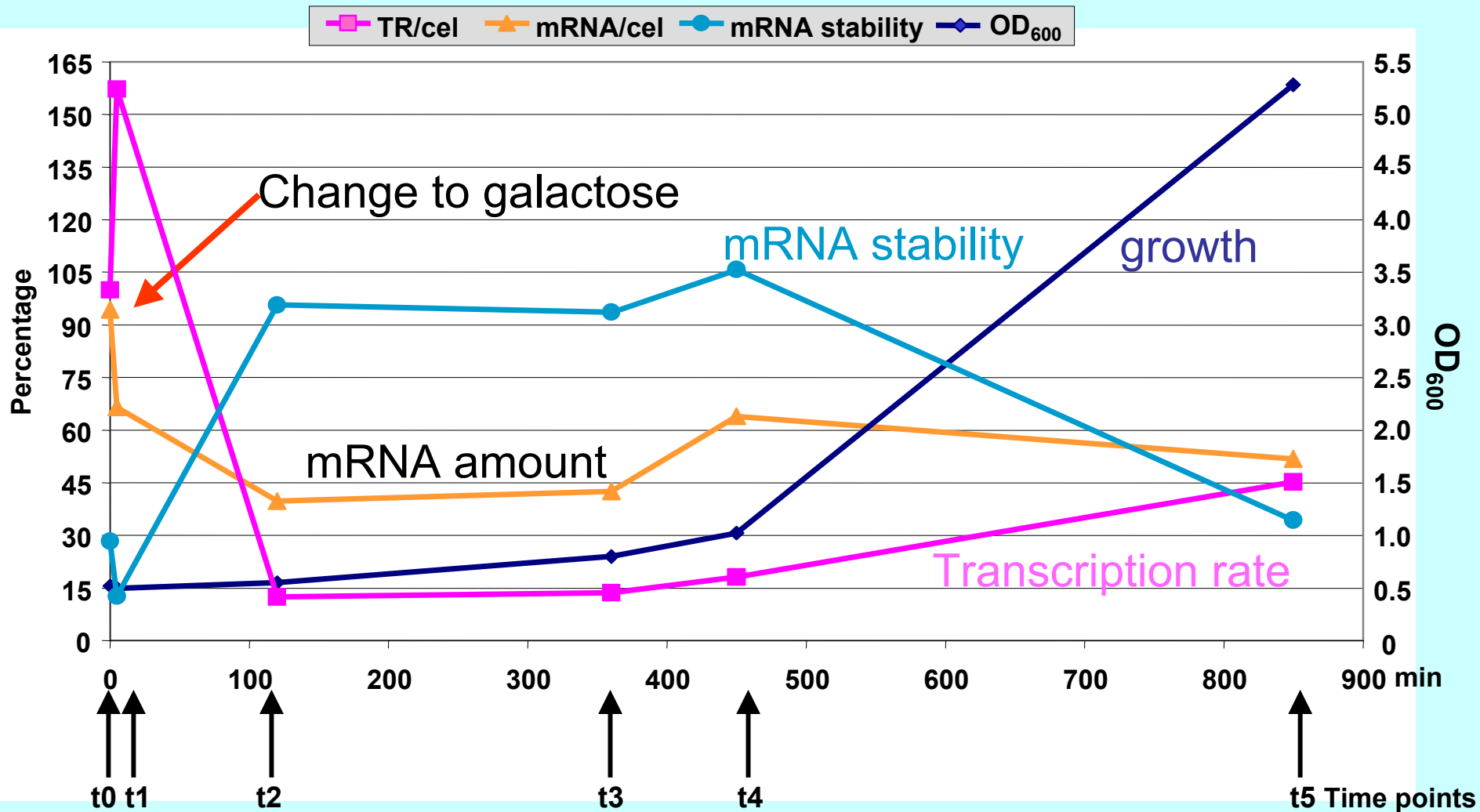
t4



t5



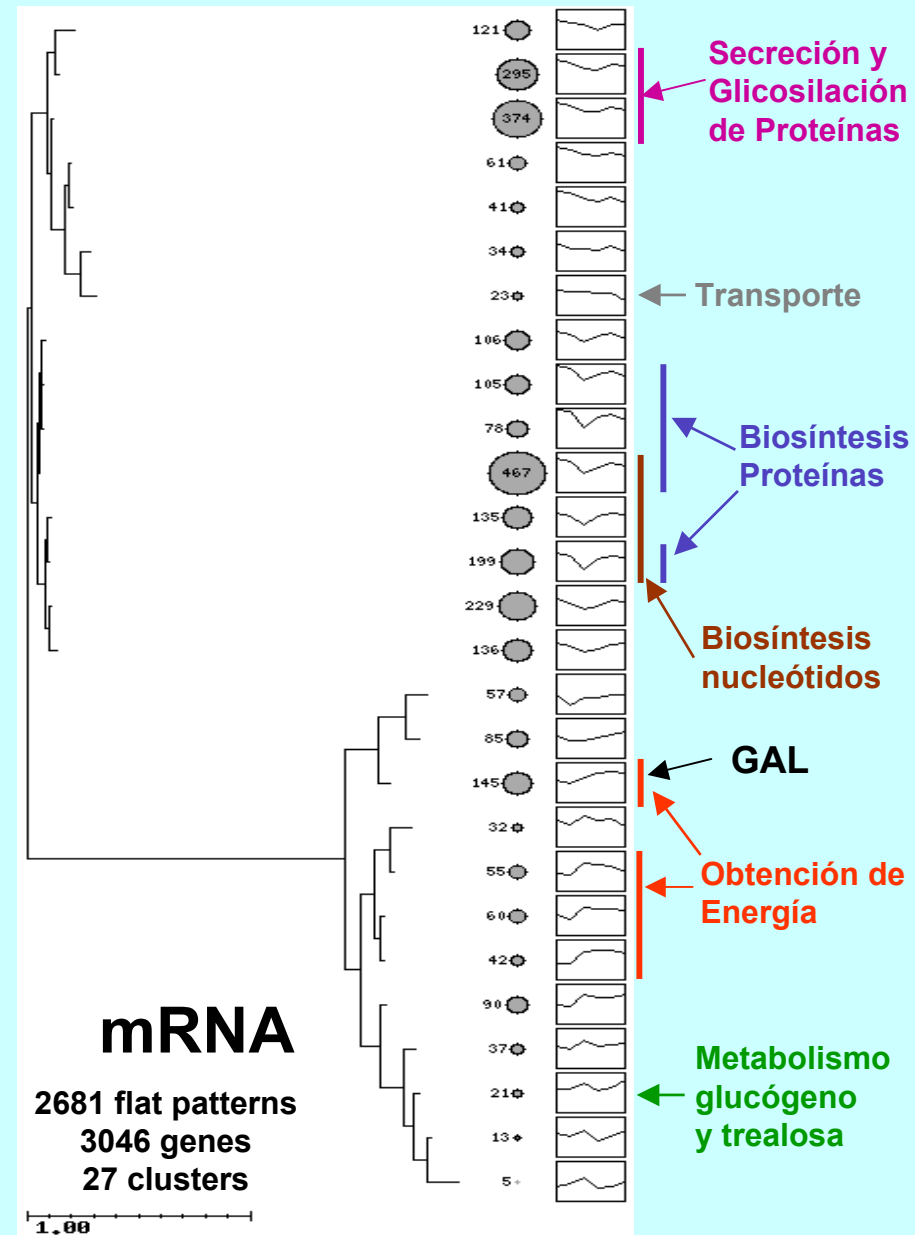
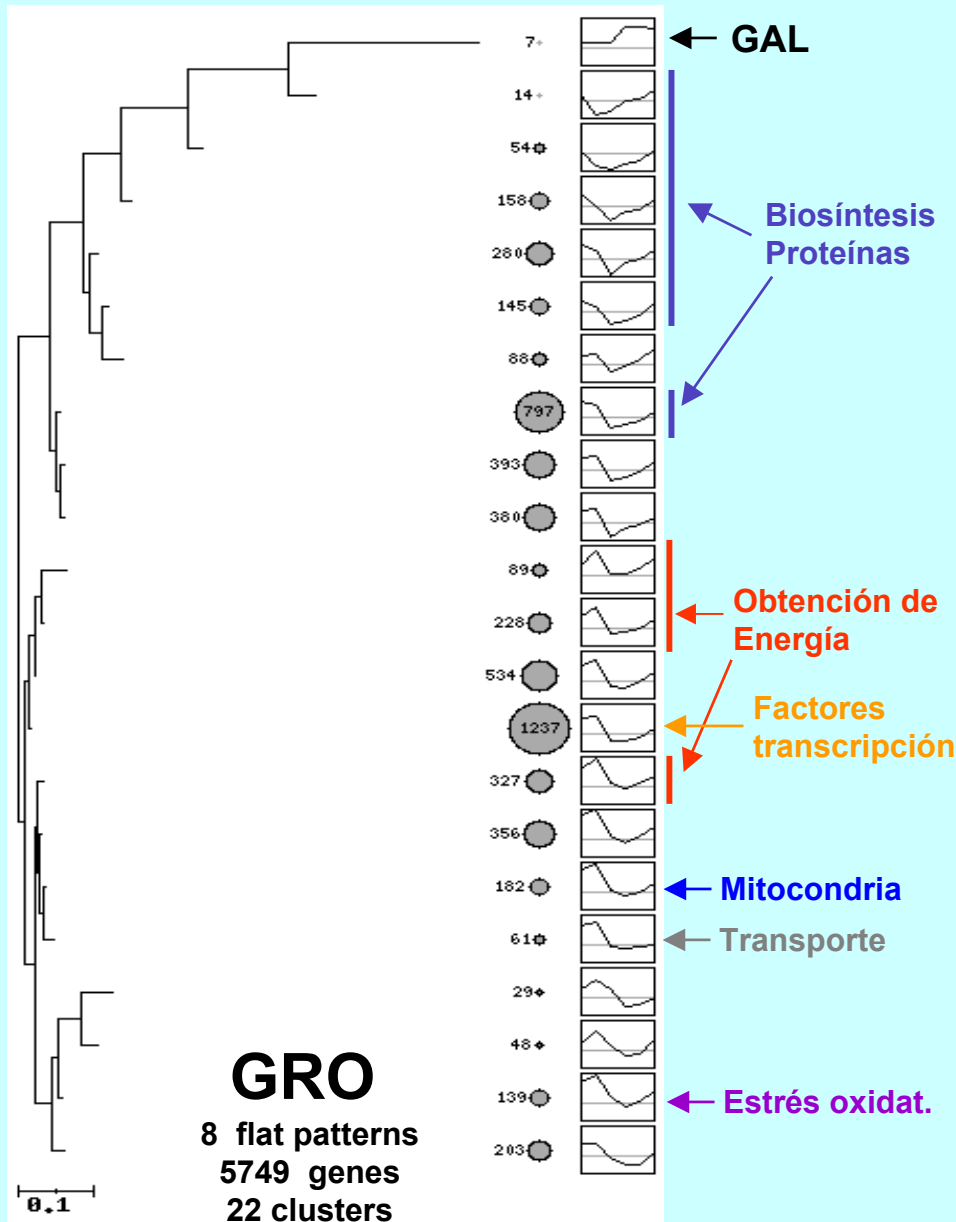
Global changes after shift from Glucose to Galactose



#NAME	GRO t0	GRO t1	GRO t2	GRO t3	GRO t4	GRO t5
YBL091C-A	7.09108	6.90006	2.82856	4.47419	5.37117	6.24669
YCR102W-A	2.38062	2.07394			-0.11506	0.59830
STF1	5.33518	6.55196	2.75882	2.73818	2.86269	4.11170
YDR034W-B	5.05170	5.95316	2.86986	0.82887	1.15680	3.37956
SEM1	4.69132	5.75219	0.37039	1.88590	2.39242	3.81194
SNA2	5.49310	6.00608		1.83220	2.75113	3.58758
MAK16	2.60534	1.93219	-2.70516	-0.46071	-0.39613	1.30895
FUN26	2.38695	1.83749	0.44258	-2.10718	-1.31968	-0.03323
YER048W-A	4.36543	4.50792	1.78500	1.28652	1.64024	2.19005
YER091C-A	1.69657	0.54700	1.68504	0.26457	0.33387	1.95376
YIR020W-B	3.95237	4.95704	1.70166	0.37590	1.52496	3.02430
MCH2	-2.45536	-2.28102	-5.22699	-3.68765	-3.99686	-2.98995
YKL053C-A	5.71718	6.95128	2.49810	3.36825	2.97810	4.74139
PNC1	7.13532	8.65662	3.11799	2.58337	3.95533	5.25956

#NAME	cDNA t0	cDNA t1	cDNA t2	cDNA t3	cDNA t4	cDNA t5
YBL091C-A	2.88080	3.11842	3.00309	2.92930	3.34653	3.84120
YCR102W-A	3.96021	2.79648	3.87096	3.17855	3.38094	3.00835
STF1	8.16165	7.38771	8.14550	7.97283	8.07845	8.07014
YDR034W-B	4.69000		5.00566	4.28529	1.70853	
SEM1	7.07749	6.48868	6.04866	6.26172	6.99271	7.08995
SNA2	4.78687		7.24007		5.77259	1.68878
MAK16	5.59312	5.03119		4.15829	4.85681	4.20636
FUN26	5.94231	5.12172	4.92479	3.42888	3.92474	3.16285
YER048W-A	5.36133	4.21160	3.55131	5.53268	6.09168	3.71014
YER091C-A						
YIR020W-B	3.65626	2.59473	1.85757	2.67378	3.21975	2.94839
MCH2	3.45884	2.86706	2.95229	2.92818	2.97540	2.42021
YKL053C-A	3.25763	2.98853	4.34382	3.75297	4.47960	3.99894
PNC1	7.58787	7.78124	8.97669	7.52302	8.41779	9.80265

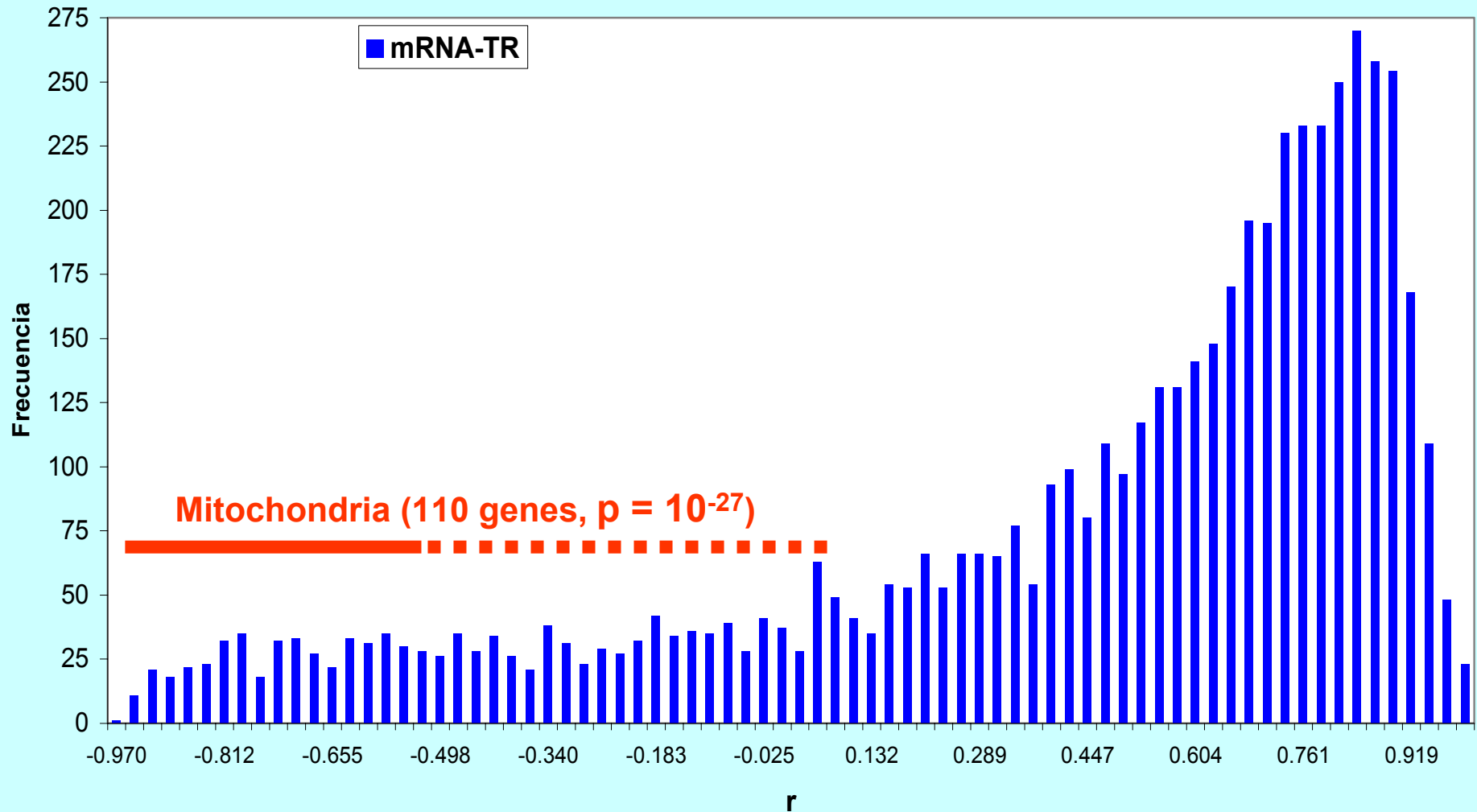
SOTA clustering of genes according to:



Clustering de genes según mRNA y TR

- Los perfiles de TR identifican los **regulones** y son una **nueva herramienta** para la búsqueda de función a los genes.
- Existen muchos casos de **genes agrupados por perfiles de TR y mRNA** pero en **otros casos no** es así
- Estas diferencias de agrupamiento indican que aunque la **regulación coordinada** se consigue en bastantes casos **mediante la transcripción (TR)**, en **otros casos** se obtiene **mediante mecanismos post-transcripcionales (estabilidad del mRNA)**
- La regulación de la **estabilidad del mRNA** es un **mecanismo más rápido** de actuación sobre su cantidad que la regulación transcripcional

Distribution of mRNA vs GRO correlation values



Conclusiones

- 1) Se ha desarrollado una nueva técnica para la medición de las tasas de transcripción (TR) de todos los genes de levadura usando macrochips con sondas de las 6000 ORFs de este organismo. Llamamos a esta técnica **genomic run-on (GRO)**. El GRO combinado con la cuantificación del mRNA en los mismos chips (**transcriptoma**) permite la medición de la expresión génica a diferentes niveles. También permite el cálculo de la **estabilidad** de cada **mRNA**.
- 2) Hemos aplicado esta tecnología al estudio de la **transición de glucosa a galactosa en un cultivo exponencial de levadura**. Se produce una parada de crecimiento inmediata.
 - 1) Se observa una **caída en la TR global** pero mucho menor en la cantidad de mRNAs, lo que sugiere una **estabilización general de la población de mRNAs** durante la fase de ajuste a la nueva situación metabólica.
 - 2) El clustering de perfiles de TR es una **nueva herramienta de análisis de la función génica**.
 - 3) Nuestro experimento de GRO detecta la **transcripción de 163 genes** (104 de función desconocida) no detectables a nivel de mRNA.
 - 4) El estudio de clustering sugiere una **regulación coordinada, no solo en TR sino también para niveles de mRNA para algunas familias génicas**. Por ejemplo, los genes de proteínas ribosomales.
 - 5) En otros casos, por ejemplo genes reprimidos por glucosa, se observan **diferentes comportamientos en TR y estabilidad de mRNAs en una misma familia**.

Distribution of mRNA vs mRNA stability correlation values

