

Riboswitches antisentido o de cómo la evolución adapta mecanismos de regulación para obtener respuestas antagónicas

Mariela Serrano-Gutiérrez¹ y Enrique Merino^{1*}

¹ *Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, México.*

**enrique.merino@ibt.unam.mx*

Resumen

Los riboswitches son elementos de RNA que regulan genes que participan en la biosíntesis o transporte de metabolitos y componentes esenciales, como vitaminas, cofactores, nucleótidos y aminoácidos. Se caracterizan por su alta afinidad y especificidad hacia las moléculas con las que interactúan. Por lo general, estas moléculas señal son productos finales de vías biosintéticas o de transporte controladas por sus genes regulados. Los riboswitches suelen encontrarse en la región intergénica 5' y regulan negativamente la expresión génica al inhibir la transcripción o traducción de sus genes blanco en presencia de estas moléculas. Desde su descubrimiento hace más de dos décadas, solo se habían reportado dos casos excepcionales de riboswitches ubicados en el extremo 3', cuya transcripción era opuesta a la de sus genes regulados. Esto desafió el paradigma de la mayoría de los riboswitches, que se cotranscriben en la misma unidad transcripcional regulada. Estos riboswitches, conocidos ahora como riboswitches antisentido, son un claro ejemplo de la plasticidad de los organismos que deben generar nuevas respuestas a partir de unidades funcionales reguladoras. Debido a esto, su conservación en secuencias primarias, secundarias y terciarias, así como su amplia distribución en organismos de los tres dominios de la vida, ha llevado a la propuesta de que podrían haber sido los primeros elementos de regulación en un posible mundo primigenio basado en moléculas de RNA. Con este trabajo se propone visibilizar la importancia de los riboswitches antisentido como algo más que un evento fortuito, además de abrir la discusión acerca de la temporalidad de la aparición de estos elementos regulatorios.

Palabras claves: *Riboswitches antisentido, regulación, RNAs antisentido, mundo de RNA, origen de la vida.*

Abstract

Riboswitches are RNA elements which regulate genes involved in biosynthesis or transport of metabolites and essential compounds such as vitamins, cofactors, nucleotides and amino acids. They are characterized by its great affinity and specificity to their sensed molecules. Typically, these signal molecules are end products of biosynthetic or transport pathways controlled by their regulated genes. Riboswitches tend to be located at the 5' intergenic region and negatively regulate the gene expression by inhibiting the transcription or translation of their target genes in the presence of these molecules. Ever since their discovery over two decades ago, only two exceptional cases of riboswitches located at the 3' end, whose transcription was opposite to that of the regulated genes, had been reported. This challenged the paradigm of most riboswitches cotranscribed in the same regulated transcriptional unit. These riboswitches, now known as antisense riboswitches, are a clear example of the plasticity of organisms that must generate new responses from regulatory functional units. Due to this, their conservation in primary, secondary and tertiary sequences, as well as their wide distribution in organisms from the three domains of life, has led to the proposal that they could have been the first regulatory elements in a possible primordial world based on RNA molecules. The aim of this work is bringing to light the importance of antisense-acting riboswitches as something greater than a stochastic event, besides to open up the discussion about the emergence temporality of these regulatory elements.

Key Words: *Antisense-acting riboswitches, gene regulation, antisense RNAs, RNA world, origin of life*

Introducción

Una de las características esenciales de cualquier ser vivo es su capacidad para regular la expresión de sus componentes genéticos de tal forma que puedan expresarse en la cantidad y el tiempo que son requeridos para optimizar los recursos que obtienen del medio ambiente. En organismos procariontes, en donde se describieron los primeros modelos de regulación a un nivel molecular, la idea de que las proteínas reguladoras eran los únicos elementos responsables de orquestar dicha expresión molecular constituyó un dogma, que inició en 1961 con la descripción de la regulación del operón de lactosa en la bacteria *Escherichia coli* por la proteína reguladora LacI (Jacob & Monod, 1961). En dicho modelo fue posible explicar que la expresión del operón que codificaba para enzimas encargadas de la degradación de la lactosa era expresada exclusivamente en presencia de este azúcar en el medio de cultivo gracias a la participación de una proteína reguladora llamada LacI. Este modelo de regulación sentó las bases para explicar la regulación de otros miles de sistemas de regulación bacteriana, todos ellos basados en proteínas reguladoras. A principios del siglo XX, ya se contaba con la secuencia de un centenar de genomas bacterianos de diferentes especies, lo que dio origen a una nueva área de la Biología Molecular llamada Genómica Comparativa. Fue entonces cuando el grupo de la Dra. Tina Henkin, estudiando la regulación del gen que codifica para la aminoacil tRNA-sintetasa, *tyrS*, en *Bacillus subtilis* (Grundy et al., 1997); y el grupo del Dr. Mario Soberón, caracterizando la regulación de los genes de biosíntesis de tiamina en *Rhizobium etli* (Miranda-Ríos et al., 1997); pudieron identificar motivos de secuencias nucleotídicas inusualmente largas y altamente conservadas en las regiones intergénicas de los genes ortólogos de diferentes especies bacterianas, lo que los llevó a proponer su potencial papel en la regulación, como parte de unidades transcripcionales. Pocos años después, la hipótesis sobre la capacidad regulatoria de estos elementos conservados de RNA fue verificada experimentalmente por el grupo del Dr. Ronald Breaker (Winkler et al., 2002). A este novedoso elemento de regulación se le llamó "riboswitch", por su naturaleza de tipo RNA y su capacidad de

alternar ("switch") entre los estados de regulación activo e inactivo.

Características de los riboswitches como elementos de regulación de la expresión

Como se mencionó anteriormente, a principios de este siglo, se describió un nuevo tipo de elementos de regulación, denominado riboswitch, gracias a su participación como interruptor o switch genético en respuesta a la presencia de su correspondiente molécula blanco y estar compuesto por RNA (Knappenberger & Hiller, 2022; Salvail & Breaker, 2023; Serganov & Patel, 2007; Vitreschak et al., 2004). Los riboswitches se caracterizan por reconocer una gran variedad de moléculas que por su naturaleza pueden ser agrupadas principalmente en coenzimas (Cbl, FMN, THF, TPP, SAM, Moco), nucleótidos (Purinas, 2-deoxiguanosina, PreQ1), iones (F^- , Mg^{2+} , NiCo, Mn^{2+}) y aminoácidos (Glicina, Lisina, Glutamina). Actualmente, el número de clases de riboswitches conocidos es aproximadamente 50 y, a pesar de su diversidad, presentan tres características en común: suelen tener tamaños pequeños, son elementos centrales en el metabolismo de los organismos y comúnmente corresponden a algunos de los productos finales de las vías biosintéticas o de transporte a las que regulan (Kavita & Breaker, 2023; Mukherjee et al., 2023; Salvail & Breaker, 2023; Serrano-Gutiérrez & Merino, 2023). Gracias a la presión selectiva para reconocer a su ligando, los riboswitches han evolucionado para contar con conformaciones tridimensionales que le permiten identificarlos con gran afinidad y alta especificidad.

Los riboswitches suelen encontrarse en la región intergénica 5' y regulan negativamente la expresión génica al inhibir la transcripción o traducción de sus genes objetivo en presencia de estas moléculas. Suelen estar compuestos de dos dominios funcionales. El primer dominio es llamado plataforma de reconocimiento, que es una secuencia de ribonucleótidos que adopta una estructura tridimensional específica capaz de reconocer selectivamente a su ligando. El segundo dominio es llamado de plataforma de expresión y contiene el elemento a partir del cual se modulará la expresión del gen regulado (Breaker, 2011; Garst et al., 2011). Figura 1.

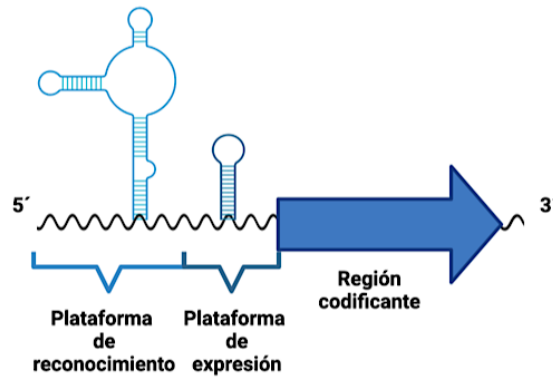


Figura 1. Dominios funcionales de riboswitches. Los riboswitches se integran por dos dominios distintos: la plataforma de reconocimiento y la plataforma de expresión. Como su nombre lo indica, la primera se encarga de identificar los cambios en la concentración de un metabolito dado con alta afinidad y especificidad gracias a su secuencia y estructura tridimensional; y la segunda se encarga de generar un cambio que como consecuencia controlará la expresión del gen regulado.

Comúnmente, la unión de la molécula señal a la plataforma de reconocimiento le induce un cambio conformacional que es transmitido a la plataforma de expresión favoreciendo alguna de las siguientes estructuras secundarias de regulación: a) un terminador transcripcional del tipo Rho independiente que al plegarse favorece el término prematuro de la transcripción; b) una estructura secundaria que secuestra al sitio de unión al ribosoma con

lo que se inhibe el inicio de la traducción del gen colocado inmediatamente río abajo, c) un plegamiento compatible con la formación de un sitio de unión de ribozima, misma con la que la región líder del mensajero policistrónico es escindido; y d) en el caso de organismos eucariontes, plegamientos que modulan la formación de sitios de splicing alternativos en el mRNA (Garst et al., 2011; Mccown et al., 2017; Sherwood & Henkin, 2016). Figura 2.

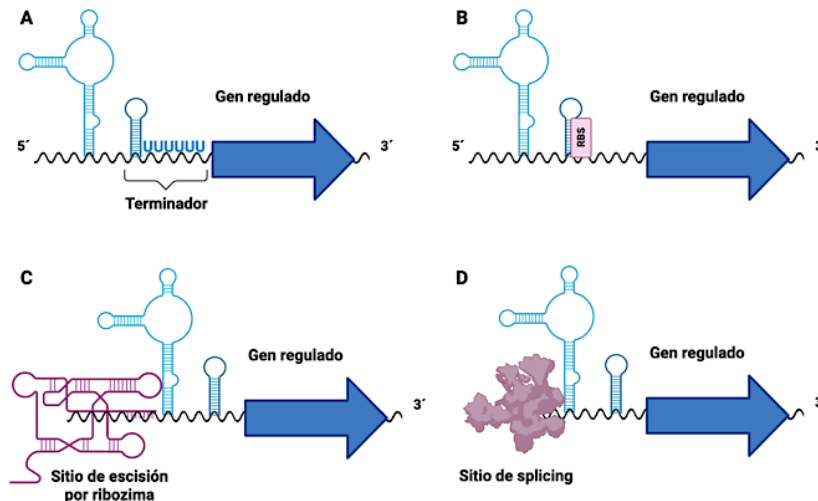


Figura 2. Plataformas de expresión más comunes de los riboswitches. La modulación de la expresión del gen regulado por un riboswitch puede darse mediante diversos mecanismos, de acuerdo a su plataforma de expresión. Las estructuras secundarias más usuales son: A. Formación de una estructura tipo terminador Rho independiente; B. Secuestro del sitio de unión a ribosoma (RBS); C. Estructuración de un sitio de reconocido por una ribozima; D. Configuración de un sitio reconocido por un spliceosoma.

Riboswitches como primeros elementos de regulación de la expresión genética en un mundo primigenio

Gracias a estimaciones basadas en registros fósiles antiguos y datación radiométrica de rocas y minerales, se considera que la vida en la Tierra comenzó hace aproximadamente 3,500 millones de años. Durante ese tiempo, las condiciones en este mundo primigenio eran drásticamente diferentes de las actuales y claramente inhóspitas a la vida como la conocemos hoy en día. La Tierra estaba mayormente cubierta por océanos primitivos y su atmósfera estaba compuesta por gases como metano, amoníaco, vapor de agua y dióxido de carbono. Estos compuestos inorgánicos, expuestos a fuentes de energía intensas, como la actividad volcánica y las tormentas eléctricas, crearon un entorno favorable para la síntesis abiótica de diversos compuestos orgánicos simples, tales como aminoácidos, ácidos grasos y ciertos tipos de azúcares (Baum, 2018; Müller et al., 2022; Paleos, 2015).

Una de las principales características de los seres vivos es que su información genética se transmite de generación en generación y es el DNA, o ácido desoxirribonucleico, la molécula biológica que alberga la información genética hereditaria en la mayoría de los organismos vivos que conocemos hoy en día. No obstante, se piensa que esto no fue así cuando la vida inició en la Tierra (Sankaran, 2016).

En las etapas tempranas de la evolución molecular, el RNA, o ácido ribonucleico, pudo haber sido la molécula en el que residiera la información genética de los primeros organismos vivos. A esta hipótesis se le

conoce como “La hipótesis del mundo del RNA” que sugiere que la vida en la Tierra comenzó con moléculas de RNA que pudieron haber tenido la capacidad de copiarse a sí mismas gracias a la presencia de ciertas arcillas que actuaron como catalizadores para la formación de enlaces químicos y la polimerización de ribonucleótidos. La evidencia con la que contamos actualmente y que soporta dicha teoría, es la presencia de organismos, como ciertos virus, cuyo material genético es el RNA y tienen la propiedad de autoreplicarse, así como la capacidad catalítica de algunas moléculas de RNA, llamadas ribozimas, como es el caso de la Ribozima del grupo I, presente en algunos intrones y algunos virus, misma que es capaz de cortar y unir hebras de RNA mediante una reacción de autosplicing, o la RNasa P, involucrada en el procesamiento de los precursores de RNAs de transferencia (tRNAs). Adicionalmente, las moléculas de RNA pueden ser partes esenciales de complejos riboproteicos como los ribosomas, esenciales en el proceso de la traducción de proteínas, el complejo del spliceosoma, involucrado en procesamiento del mRNA de organismos eucariontes, o los complejos de las ribonucleoproteínas RNPs, en donde los microRNAs forman un complejo con proteínas que regulan la expresión de sus genes blanco a través de su degradación o la inhibición de su traducción (Bonfio, 2022; Haig, 2021; Mayer, 2023; Saito, 2022).

Las diversas capacidades que tiene el RNA, por las que se piensa que esta molécula pudo haber jugado un papel preponderante en el mundo primigenio se representan en la Fig. 3.

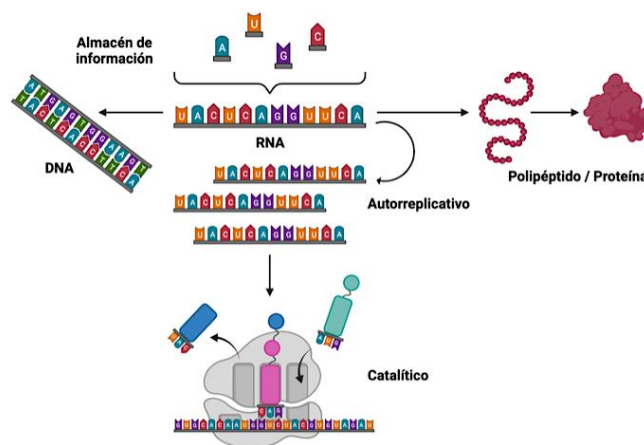


Figura 3. Propiedades del RNA. La molécula de RNA posee propiedades de almacenamiento de información, autoreplicación y catálisis.

Artículos

Considerando los atributos de regulación de los riboswitches, su capacidad de reconocer a sus moléculas señal con gran afinidad y alta especificidad sin requerir la participación de ningún componente proteico y la extensa distribución de algunas familias de riboswitches en los tres dominios de la vida Figura 4 se ha propuesto, en términos de la

parsimonia de su origen, que debieron de haber estado presentes en el último ancestro común previo a la división de los dominios Bacteria, Archaea y Eukarya, por lo que pueden ser considerados como los primeros elementos de regulación de los organismos vivos (Garst et al., 2011; Serganov & Patel, 2007; Vitreschak et al., 2004).

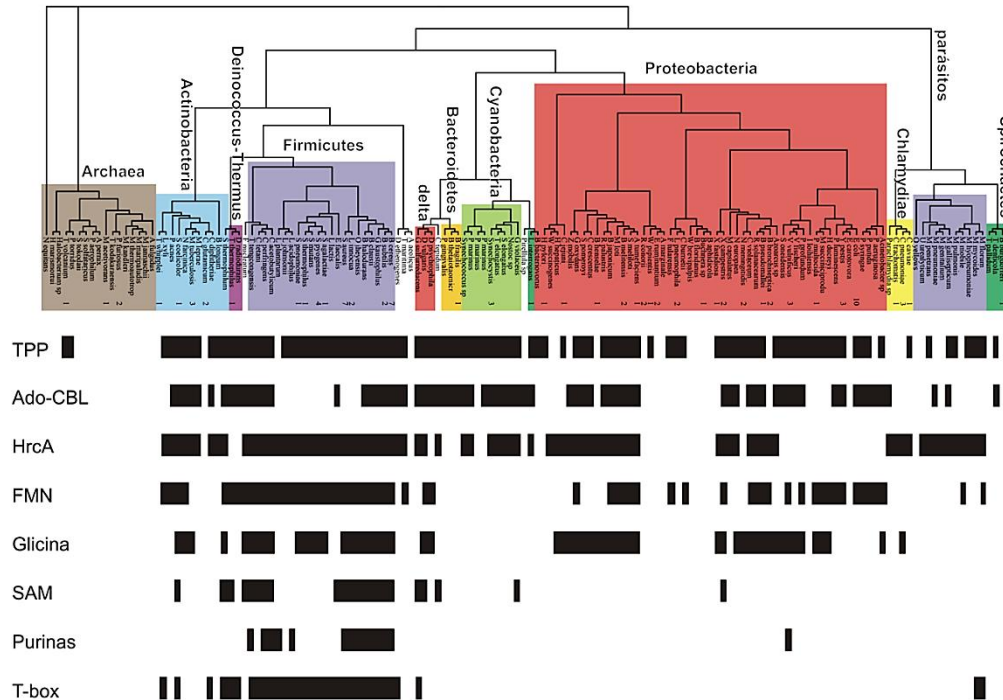


Figura 4. Distribución filogenética de riboswitches. En la figura se muestra una muestra representativa de diferentes clases de riboswitches (indicadas en el extremo inferior izquierdo), mismos que es posible apreciar se distribuyen ampliamente en los phylum de bacterias y arqueas representados (indicados en la parte superior de la imagen), además se muestra que su distribución es uniforme sin importar el phylum al cual pertenezcan (Tomado de Abreu-Goodger, 2005).

Regulación de la expresión génica basada en RNAs antisentido

El término de RNA antisentido es usado para describir cierto tipo de moléculas reguladoras de RNA que poseen una secuencia reversa complementaria a la de su secuencia blanco y que, por lo tanto, son comúnmente transcritas en sentido opuesto al locus al que reconocen mediante interacciones por puentes de hidrógeno entre bases complementarias. Los mecanismos moleculares empleados por los RNAs antisentido son muy amplios y pueden incluir diferentes niveles de regulación como la transcripción, la traducción, la estabilidad del mRNA, y la replicación y segregación de plásmidos (Brantl, 2007; Georg & Hess, 2011; Saber et al., 2016). Los elementos reguladores de RNA, comparados con los elementos reguladores proteicos, presentan diversas ventajas: son menos costosos energéticamente para la célula, su producción

es más rápida debido a que son más pequeños que la mayoría de las proteínas y no requieren del proceso de traducción. Asimismo, sus efectos suelen manifestarse con mayor velocidad y especificidad gracias a la conservación de su secuencia y estructura (Waters & Storz, 2009).

Gracias al desarrollo de las nuevas técnicas de secuenciación, en diversos análisis sobre la transcripción de diferentes organismos, ha sido posible identificar nuevos sistemas de regulación basados en RNAs antisentido y que son mucho más abundantes de lo originalmente pensado. Un novedoso ejemplo de este tipo de regulación es el llamado "excludon", mediante el cual es posible inhibir la expresión de un operón, a la vez que aumenta la expresión de otro. Lo anterior puede ocurrir mediante tres diferentes tipos de mecanismos regulatorios: a) colisión de RNA polimerasas, en la cual las RNA polimerasas

Artículos

de las hebras complementarias de DNA chocan entre sí durante la transcripción convergente; b) formación de un dúplex de RNA, mismo que está sujeto a degradación por la actividad de la RNasa III; y c) acumulación de superenrollamiento del DNA,

que se origina a partir de los enrollamientos positivos en la doble hebra de DNA que ocurren cuando las RNAs polimerasas que transcriben en direcciones opuestas avanzan a través del mismo locus de DNA (Lejars et al., 2019; Sesto, 2013). Figura 5.

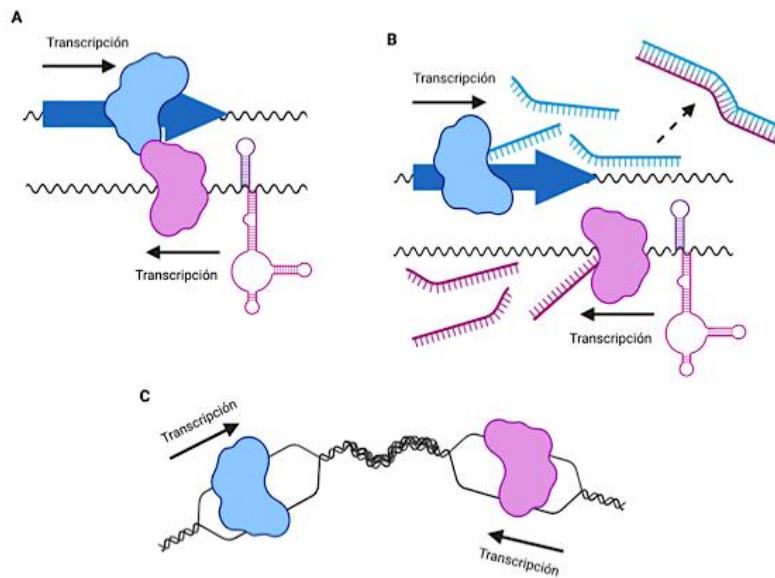


Figura 5. Mecanismos moleculares de regulación de RNA polimerasas que transcriben en dirección opuesta. A. Colisión de RNA polimerasas; B. Formación de un dúplex mRNA/asRNA; C. Acumulación de superenrollamiento del DNA (Modificado de Serrano-Gutiérrez & Merino, 2023).

Riboswitches antisentido: Plasticidad evolutiva para generar variantes regulatorias.

En términos generales, se considera que los riboswitches regulan en *cis* y se encuentran ubicados en el extremo 5' de sus genes blanco, regulando, en la mayoría de los casos, negativamente la expresión genética en respuesta a la presencia de sus correspondientes moléculas señal. Sin embargo, hace aproximadamente una década, fueron reportados dos casos excepcionales en los que los riboswitches estaban localizados en el extremo 3' y cuya transcripción era opuesta a la de sus genes regulados. Estos riboswitches, ahora conocidos como riboswitches antisentido, representan un claro ejemplo de la plasticidad que tienen los organismos para generar nuevas respuestas regulatorias a partir de elementos funcionales ya existentes (André et al., 2008; Mellin et al., 2013; Serrano-Gutiérrez & Merino, 2023).

El primer ejemplo de un riboswitch antisentido fue descrito en el año 2008 en el genoma de

Clostridium acetobutylicum, durante la caracterización de la regulación del operón *ubiG/mccBA*, encargado de la interconversión de los aminoácidos metionina a cisteína. En este caso, un riboswitch cuya molécula señal es la S-adenosilmetionina (SAM) se localiza en extremo 3' y su transcripción es en sentido opuesto al del operón. Cuando la concentración intracelular de SAM es baja, se favorece la formación de un antiterminador transcripcional en la plataforma de expresión, y en consecuencia, la transcripción a partir del promotor del riboswitch avanza en sentido contrario hacia el interior del operón *ubiG/mccBA*, inhibiendo su expresión por los mismos mecanismos moleculares descritos para los elementos llamados "excludones", es decir, ya sea mediante la colisión de RNA polimerasas transcribiendo convergentemente, la formación de un dúplex de RNA, o la acumulación de superenrollamiento del DNA. De manera contraria, cuando la concentración de SAM es baja, la plataforma de expresión del riboswitch se pliega para formar un terminador

Artículos

transcripcional Rho-independiente, terminando prematuramente la transcripción proveniente del riboswitch antisentido, y, en consecuencia, no se afecta la transcripción proveniente del promotor del operón localizado en el extremo 5' del mismo. Este proceso de regulación conducido por el riboswitch antisentido garantiza que la síntesis del operón *ubiG/mccBA* ocurra de manera exclusiva cuando existe una concentración intracelular de SAM adecuada (André et al., 2008).

La segunda descripción de este elemento regulatorio de RNA no canónico se llevó a cabo en el año 2013. En este caso se reportó la existencia de un riboswitch antisentido que reconoce a cobalamina (vitamina B₁₂), en el extremo 3' del gen que codifica para el factor transcripcional *PocR* en *Listeria monocytogenes*, el cual regula un grupo de genes denominado *pdu*, involucrados en la utilización de propanediol en el proceso infeccioso de esta bacteria. Es importante mencionar que dichos genes utilizan a la cobalamina como cofactor para ser activos. Debido a lo anterior, cuando la concentración de cobalamina es baja, la síntesis de los genes *pdu* será innecesaria porque no podrán ser activos en ausencia de la misma y, por lo tanto, el riboswitch antisentido de cobalamina inhibirá su síntesis por medio de alguno de los mecanismos moleculares antes mencionados. En caso contrario, cuando la célula crece en niveles elevados de cobalamina, la síntesis de los genes involucrados en el metabolismo del propanediol son transcritos por el regulador *PocR* (Mellin et al., 2013).

Considerando los ejemplos de riboswitches antisentido antes mencionados, recientemente, Serrano-Gutiérrez y Merino realizaron un estudio bioinformático con el propósito de identificar nuevos casos de esta disposición no-canónica de riboswitches en el genoma de bacterias y arqueas, encontrando un número muy significativo de ellos. El análisis de la regulación esperada para dichos riboswitches antisentido, en términos de las funciones y las vías metabólicas de los genes regulados, permitió establecer tendencias de los principales grupos de genes que pueden estar regulados por este novedoso sistema de regulación, encontrando que pertenecen fundamentalmente a las siguientes clases: a) genes codificantes para enzimas involucradas en la interconversión de compuestos relacionados con el metabolito detectado por el riboswitch; b) genes que codifican enzimas que requieren un cofactor para volverse activas o participar en una vía metabólica en la cual otra enzima requiere el cofactor detectado por el riboswitch; c) genes que codifican proteínas transportadoras para compuestos relacionados con el metabolito detectado por el riboswitch; y d) genes que codifican proteínas de señalización celular (Serrano-Gutiérrez & Merino, 2023).

En todos los casos anteriormente mencionados, el cambio de posición del riboswitch a la región intergénica 3', así como la transcripción en antisentido, originaron una respuesta contraria a la observada cuando se cuenta con este elemento en la posición canónica en el extremo 5'. Figura 6.

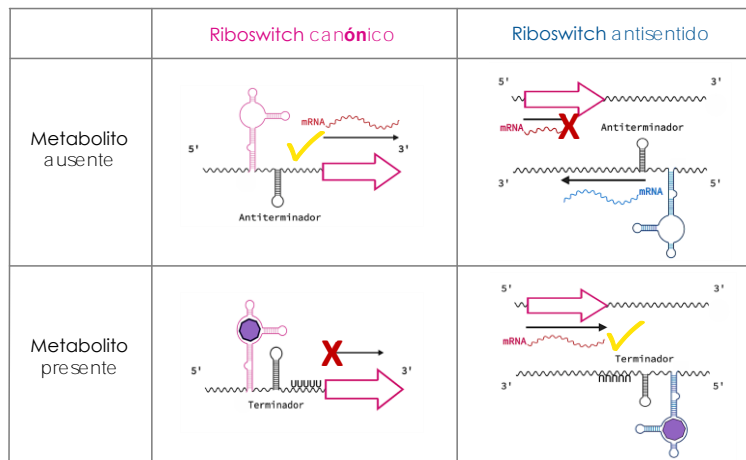


Figura 6. Mecanismo de regulación de riboswitches canónicos vs riboswitches antisentido. La regulación de los riboswitches antisentido sobre su gen blanco ocurre a nivel de interferencia transcripcional. Se propone que se desencadena de manera opuesta a los riboswitches canónicos, localizados en el extremo 5' de su gen blanco de regulación.

Artículos

Finalmente, el análisis bioinformático efectuado en el último estudio mostró que los riboswitches antisentido se encuentran más ampliamente distribuidos de lo originalmente pensado y hace patente la gran plasticidad

con la que han contado los riboswitches como elementos de regulación de la expresión génica, desde un estado primigenio en el que surgió la vida, hasta nuestros días. Figura 7.

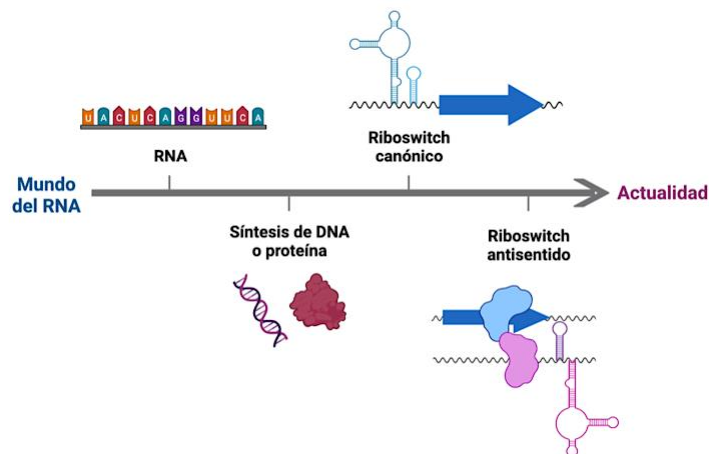


Figura 7. Línea de tiempo del sobre la posible evolución de los riboswitches como elementos de regulación de la expresión génica. Se propone la temporalidad de aparición de los elementos genéticos, desde la propuesta del mundo del RNA hasta la descripción de los riboswitches antisentido.

Perspectivas

Como se ha mencionado hasta ahora, el estudio y conocimiento de los riboswitches antisentido es un campo prometedor que aún tiene mucho por descubrir y, gracias a los análisis *in silico*, es posible abrir un amplio panorama acerca de la importancia de este tipo de elemento regulatorio.

El descubrimiento de elementos regulatorios no canónicos nos permite conocer a profundidad nuevos mecanismos, tanto de metabolismo celular, como de evasión de mecanismos de control de su propio desarrollo, lo cual resulta benéfico tanto para la célula como para nosotros como científicos.

De manera específica, resulta de interés el estudio del origen evolutivo de los

riboswitches antisentido, con especial importancia en algunas familias de riboswitches tales como aquellas relacionadas a moléculas señalizadoras (di-GMP-cíclico) y compuestos antimicrobianos (aminoglicósidos) (Serrano-Gutiérrez & Merino, 2023), ya que el estudio de éstos permitiría conocer aspectos relacionados con los procesos vitales en el metabolismo celular y la crisis de antimicrobianos que se vive en la actualidad, respectivamente. La verificación experimental de los resultados obtenidos en estudios *in silico* será de gran relevancia para tener una visión más integral sobre el proceso de evolución de nuevos mecanismos de regulación en organismos bacterianos (André et al., 2008; Mellin et al., 2013).

Referencias

Abreu-Goodger, C. (2005). *Tesis de Doctorado. Señales conservadas en regiones intergénicas en bacterias: Riboswitches y más allá.* UNAM.

André, G., Even, S., Putzer, H., Burguière, P., Croux, C., Danchin, A., Martin-Verstraete, I., & Soutourina, O. (2008). S-box and T-box riboswitches and antisense RNA control a sulfur metabolic operon of *Clostridium*

acetobutylicum. *Nucleic Acids Research*, 36(18), 5955–5969. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn601>

Baum, D. A. (2018). The origin and early evolution of life in chemical composition space. *Journal of Theoretical Biology*, 456, 295–304. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2018.08.016>

Artículos

- Bonfio, C. (2022). A possible path towards encoded protein synthesis on ancient Earth. *Nature*, *605*(7909), 231–232. <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01256-3>
- Brantl, S. (2007). Regulatory mechanisms employed by cis-encoded antisense RNAs. *Current Opinion in Microbiology*, *10*(2), 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2007.03.012>
- Breaker, R. R. (2011). Prospects for Riboswitch Discovery and Analysis. In *Molecular Cell* (Vol. 43, Issue 6, pp. 867–879). <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.08.024>
- Garst, A. D., Edwards, A. L., & Batey, R. T. (2011). Riboswitches: Structures and mechanisms. In *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* (Vol. 3, Issue 6, pp. 1–13). Cold Spring Harbor Laboratory Press. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a003533>
- Georg, J., & Hess, W. R. (2011). cis - Antisense RNA, Another Level of Gene Regulation in Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *75*(2), 286–300. <https://doi.org/10.1128/mubr.00032-10>
- Grundy, F. J., Hodil, S. E., Rollins, S. M., & Henkin, T. M. (1997). Specificity of tRNA-mRNA interactions in *Bacillus subtilis* tyrS antitermination. *Journal of Bacteriology*, *179*(8), 2587–2594. <https://doi.org/10.1128/jb.179.8.2587-2594.1997>
- Haig, D. (2021). A Textual Deconstruction of the RNA World. *Biosemiotics*, *14*(3), 651–656. <https://doi.org/10.1007/s12304-021-09444-w>
- Jacob, F., & Monod, J. (1961). Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Journal of Molecular Biology*, *3*(3), 318–356. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(61\)80072-7](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(61)80072-7)
- Kavita, K., & Breaker, R. R. (2023). Discovering riboswitches: the past and the future. *Trends in Biochemical Sciences*, *48*(2), 119–141. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2022.08.009>
- Knappenberger, A. J., & Hiller, D. A. (2022). How Do Bacteria “See” Molecules Inside Themselves? *Frontiers for Young Minds*, *10*. <https://doi.org/10.3389/frym.2022.686804>
- Lejars, M., Kobayashi, A., & Hajnsdorf, E. (2019). Physiological roles of antisense RNAs in prokaryotes. *Biochimie*, *164*, 3–16. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.04.015>
- Mayer, C. (2023). Order and Complexity in the RNA World. *Life*, *13*(3), 603. <https://doi.org/10.3390/life13030603>
- Mccown, P. J., Corbino, K. A., Stav, S., Sherlock, M. E., & Breaker, R. R. (2017). Riboswitch diversity and distribution. *RNA*, *23*(7), 995–1011. <https://doi.org/10.1261/rna.061234>
- Mellin, J. R., Tiensuu, T., Bécavin, C., Guoin, E., Johansson, J., & Cossart, P. (2013). A riboswitch-regulated antisense RNA in *Listeria monocytogenes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(32), 13132–13137. <https://doi.org/10.1073/pnas.1304795110>
- Miranda-Ríos, J., Morera, C., Taboada, H., Dávalos, A., Encarnación, S., Mora, J., & Soberón, M. (1997). Expression of thiamin biosynthetic genes (thiCOGE) and production of symbiotic terminal oxidase cbb3 in *Rhizobium etli*. *Journal of Bacteriology*, *179*(22), 6887–6893. <https://doi.org/10.1128/jb.179.22.6887-6893.1997>
- Mukherjee, S., Retwitzer, M. D., Hubbell, S. M., Meyer, M. M., & Barash, D. (2023). A computational approach for the identification of distant homologs of bacterial riboswitches based on inverse RNA folding. *Briefings in Bioinformatics*, 1–12.
- Müller, F., Escobar, L., Xu, F., Węgrzyn, E., Nainytė, M., Amatov, T., Chan, C. Y., Pichler, A., & Carell, T. (2022). A prebiotically plausible scenario of an RNA-peptide world. *Nature*, *605*(7909), 279–284. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04676-3>
- Paleos, C. M. (2015). A decisive step toward the origin of life. *Trends in Biochemical Sciences*, *40*(9), 487–488. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.06.001>
- Saberi, F., Kamali, M., Najafi, A., Yazdanparast, A., & Moghaddam, M. M. (2016). Natural antisense RNAs as mRNA regulatory elements in bacteria: A review on

Artículos

function and applications. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 21(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/s11658-016-0007-z>

Saito, H. (2022). The RNA world 'hypothesis.' *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(9), 582. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00514-6>

Salvail, H., & Breaker, R. R. (2023). Riboswitches. *Current Biology*, 33(9), R343–R348. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.03.069>

Sankaran, N. (2016). The RNA World at Thirty: A Look Back with its Author. *Journal of Molecular Evolution*, 83(5–6), 169–175. <https://doi.org/10.1007/s00239-016-9767-3>

Serganov, A., & Patel, D. J. (2007). Ribozymes, riboswitches and beyond: Regulation of gene expression without proteins. *Nature Reviews Genetics*, 8(10), 776–790. <https://doi.org/10.1038/nrg2172>

Serrano-Gutiérrez, M., & Merino, E. (2023). Antisense-acting riboswitches: A poorly characterized yet important model of transcriptional regulation in prokaryotic organisms. *Plos One*, 18(2), e0281744. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0281744>

Sesto, N. et al. (2013). The excludon: a new concept in bacterial antisense RNA-mediated gene regulation. *Nature Reviews Microbiology*, 11(2), 75–82.

Sherwood, A. V., & Henkin, T. M. (2016). Riboswitch-Mediated Gene Regulation: Novel RNA Architectures Dictate Gene Expression Responses. *Annual Review of Microbiology*, 70(1), 361–374. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104306>

Vitreschak, A. G., Rodionov, D. A., Mironov, A. A., & Gelfand, M. S. (2004). Riboswitches: The oldest mechanism for the regulation of gene expression? *Trends in Genetics*, 20(1), 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2003.11.008>

Waters, L., & Storz, G. (2009). Regulatory RNAs in Bacteria. *Cell*, 136(4), 615–628. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.043>

Winkler, W., Nahvi, A., & Breaker, R. R. (2002). Thiamine derivatives bind messenger RNAs directly to regulate bacterial gene expression. *Nature*, 419(6910), 952–956. <https://doi.org/10.1038/nature01145>