

# La trascrizione differenziale

Tutti i tessuti dell'organismo contengono lo stesso materiale genetico.

Tuttavia cellule di tessuti differenti hanno bisogno di differenziare la loro espressione genica per produrre proteine diverse.

Esistono però dei geni, detti **housekeeping**, che vengono espressi da tutte le cellule dell'organismo.

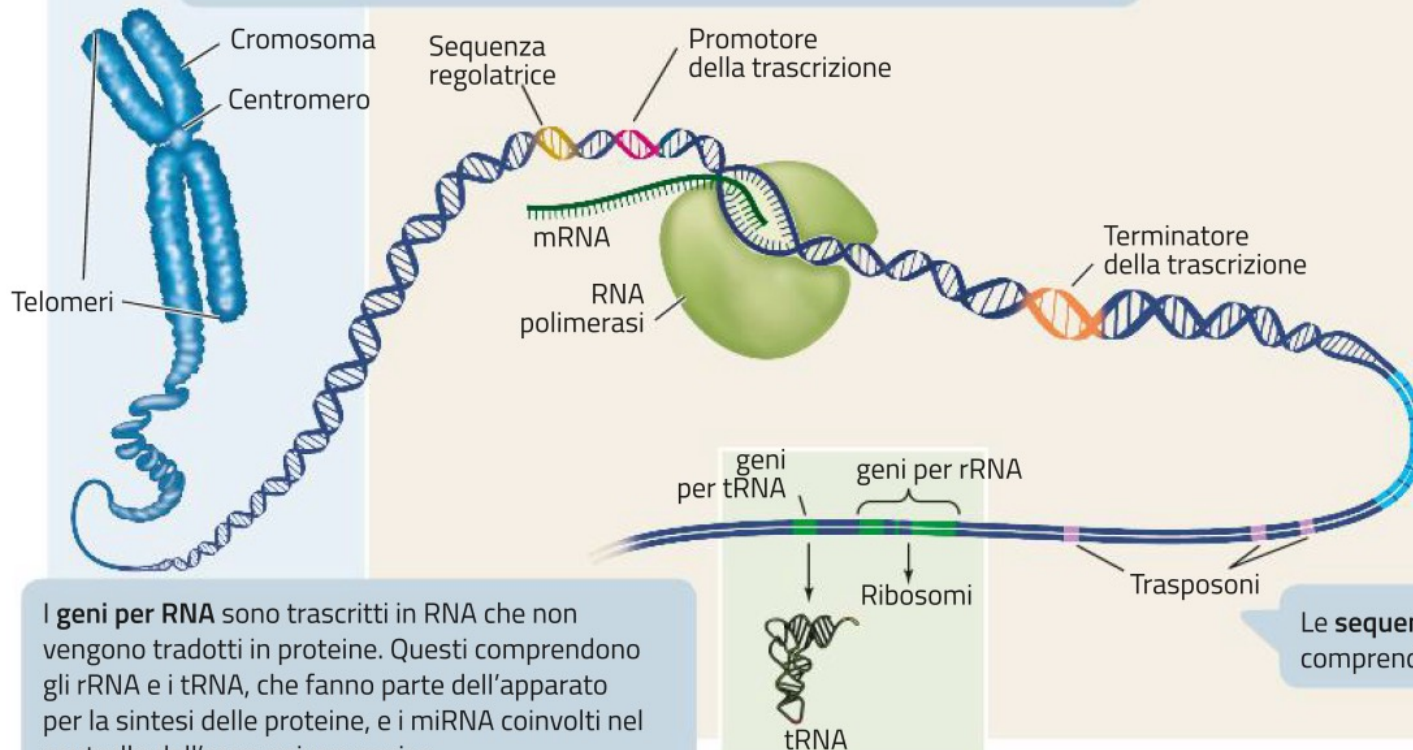
# Il genoma eucariotico

Il **genoma eucariotico** presenta le seguenti caratteristiche:

- è più **grande** di quello dei procarioti;
- è organizzato in **cromosomi**;
- possiede i **telomeri**;
- contiene sequenze ripetitive;
- possiede molti **geni interrotti**;
- contiene **sequenze regolatrici**;
- trascrizione e traduzione avvengono in ambienti separati.

# Il DNA eucariotico è complesso

Un **cromosoma** è una singola molecola di DNA contenente sequenze specializzate per la duplicazione e la trascrizione, per la mitosi (centromero) e per il mantenimento delle estremità (telomeri).

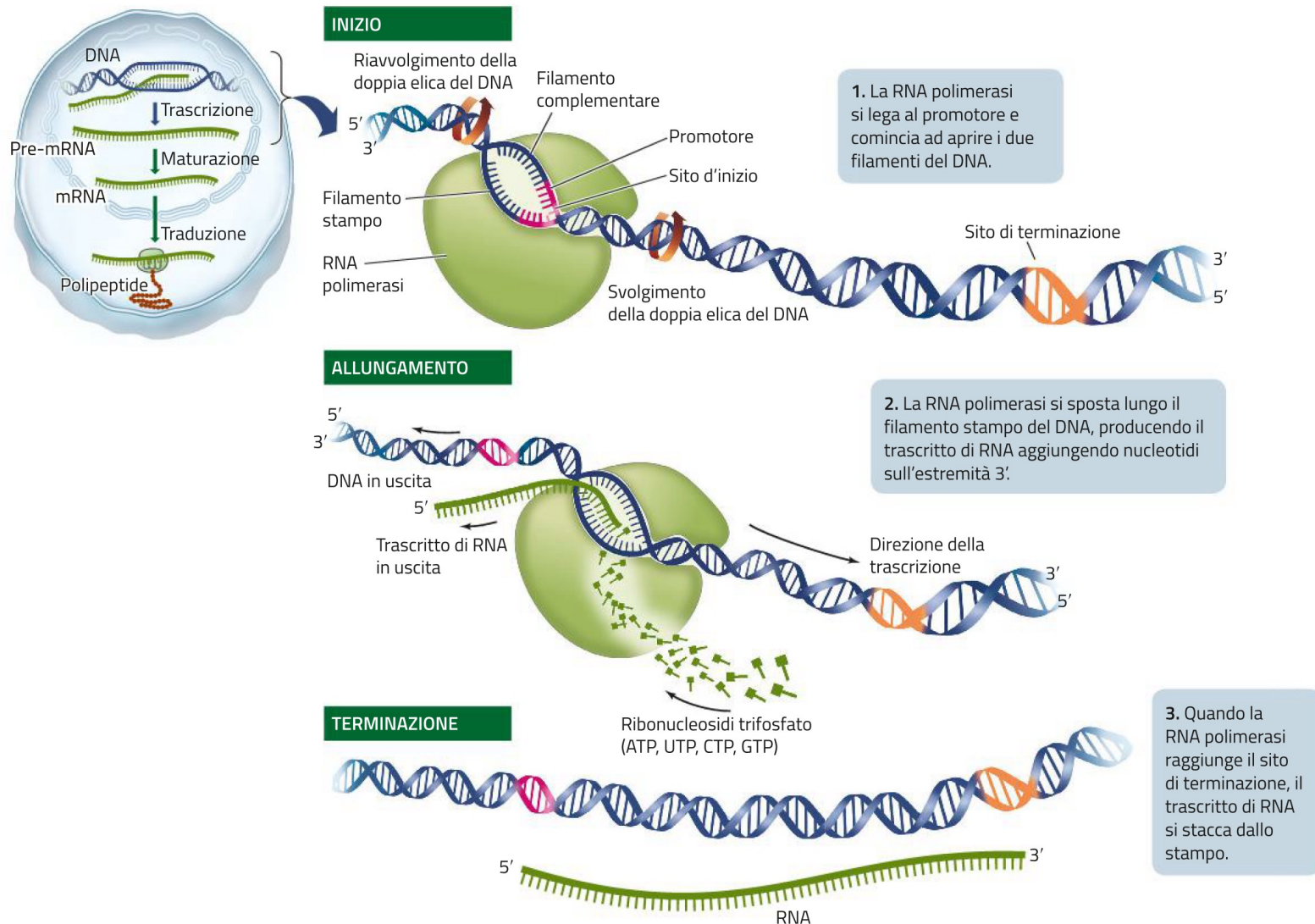


Le **sequenze altamente ripetute** sono brevi sequenze non codificanti che sono ripetute centinaia di volte una di seguito all'altra.

I **geni per RNA** sono trascritti in RNA che non vengono tradotti in proteine. Questi comprendono gli rRNA e i tRNA, che fanno parte dell'apparato per la sintesi delle proteine, e i miRNA coinvolti nel controllo dell'espressione genica.

Le **sequenze moderatamente ripetute** comprendono i geni per RNA.

# La trascrizione: dal DNA all'RNA





# Il controllo dell'espressione genica

L'espressione genica viene regolata in diversi *momenti*:

- **prima** della trascrizione o traduzione;
- **durante** la trascrizione o traduzione;
- **dopo** la trascrizione o traduzione;

e in *ambienti cellulari* differenti:

- nel **nucleo**;
- nel **citoplasma**.

# Prima della Trascrizione: Il rimodellamento della cromatina

Prima della trascrizione intervengono meccanismi che riguardano la cromatina e i cromosomi.

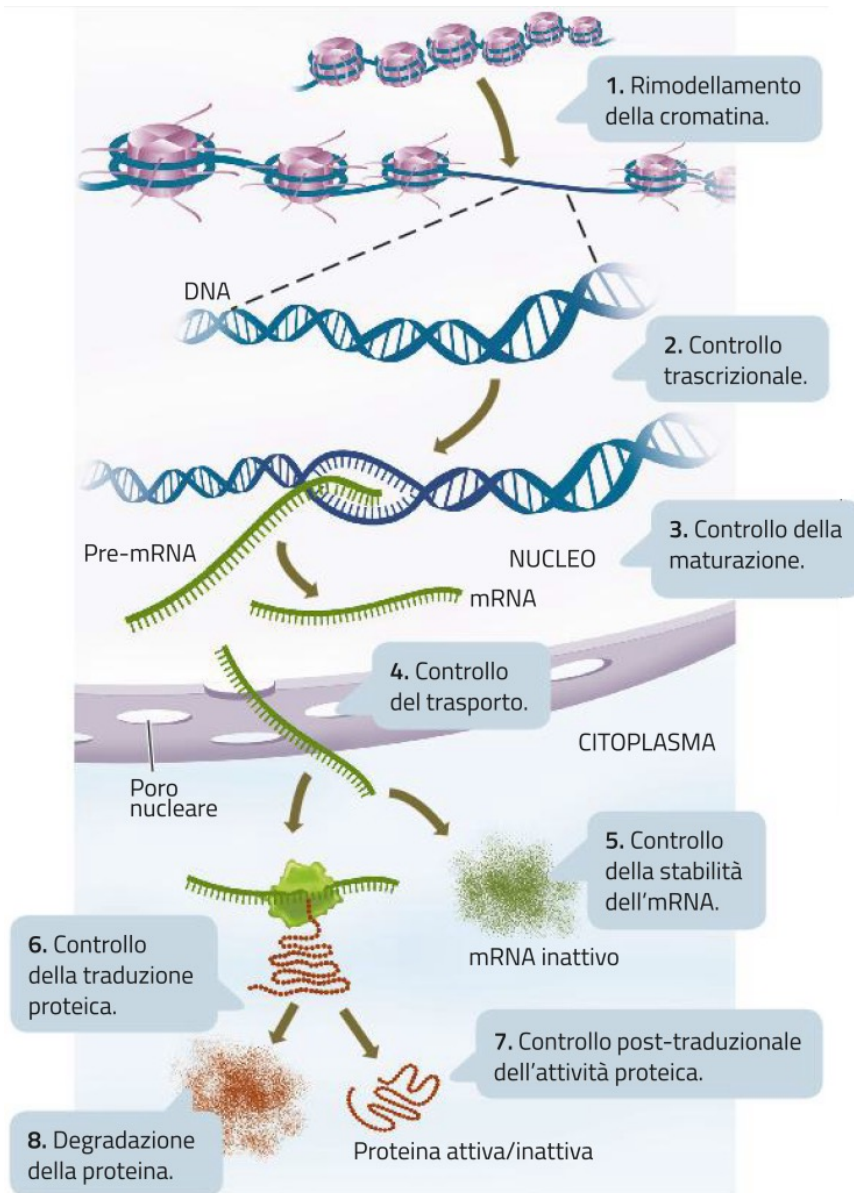
 **cambiamenti EPIGENETICI = NON CAMBIANO L'INFORMAZIONE GENETICA cioè la sequenza del DNA ma solo la sua ACCESSIBILITÀ**



**1. METILAZIONE DEL DNA**

**2. MODIFICAZIONE PROTEINE ISTONICHE**

# Prima della Trascrizione: Il rimodellamento della cromatina



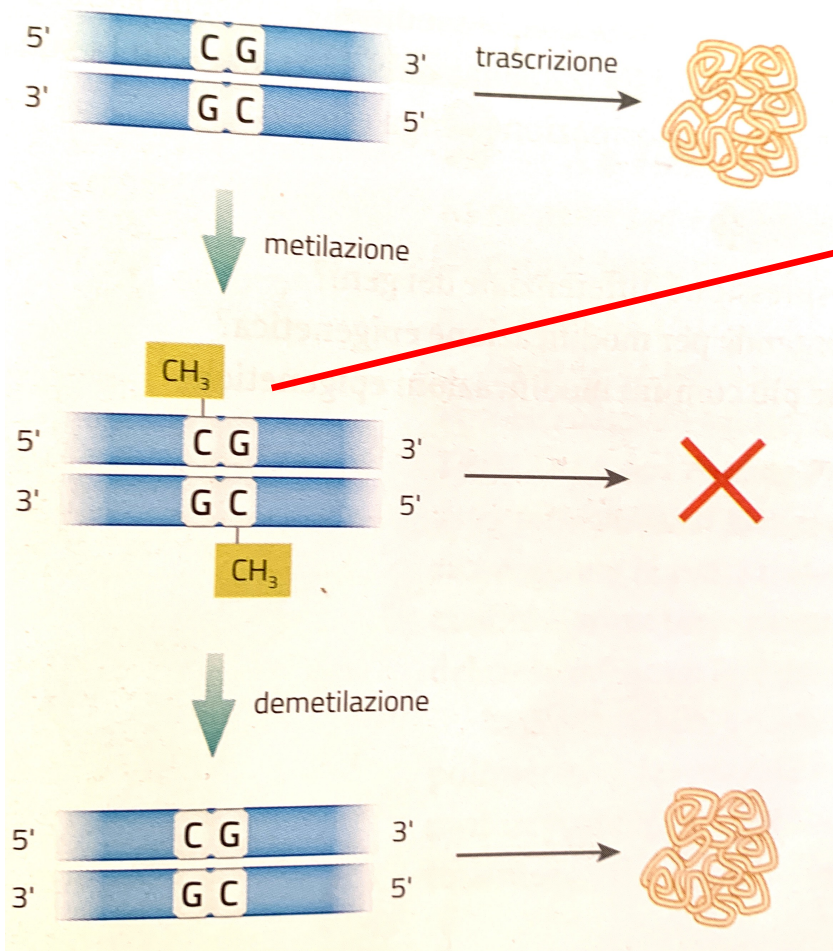
Prima che inizi la trascrizione, avviene un **rimodellamento della cromatina**.

In un nucleo in interfase si distinguono due tipi di cromatina:

- l'**eucromatina**, contenente il DNA che viene abitualmente trascritto;
- l'**eterocromatina**, che contiene geni o cromosomi inattivi.

# Prima della Trascrizione: Il rimodellamento della cromatina

1. METILAZIONE DEL DNA: aggiunta di un gruppo metilico ( $\text{CH}_3$ ) per mezzo dell'enzima Metiltrasferasi sulle Citosine (C) che sono abbondanti sul promotore

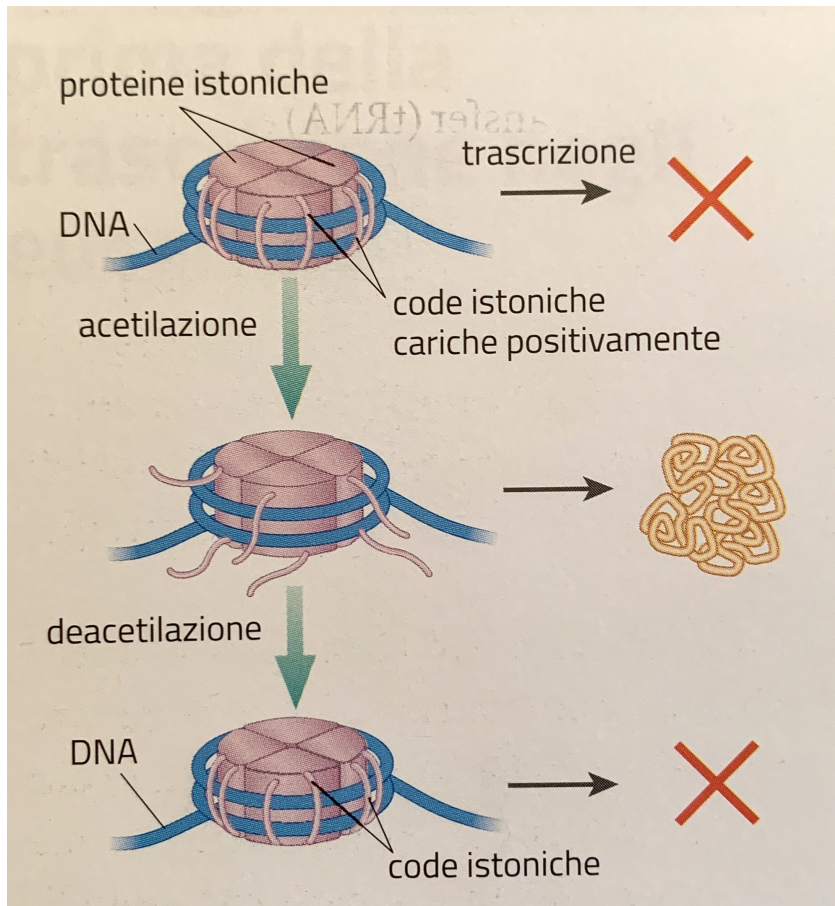


Con la metilazione ottengo una metilCitosina che si appaia NORMALMENTE con la base complementare Guanina

La presenza di gruppi metilici attrae **repressori** che si legano sul DNA: i geni metilati sono INATTIVI

La metilazione delle citosine è ereditabile ma modificabile con l'enzima demetilasi.

## 2. MODIFICAZIONI PROTEINE ISTONICHE:



### ACETILAZIONE degli ISTONI

aggiunta di gruppi acetile ( $\text{COCH}_3$ ) alle lisine delle code istoniche

**Favorisce la Trascrizione**

### METILAZIONE

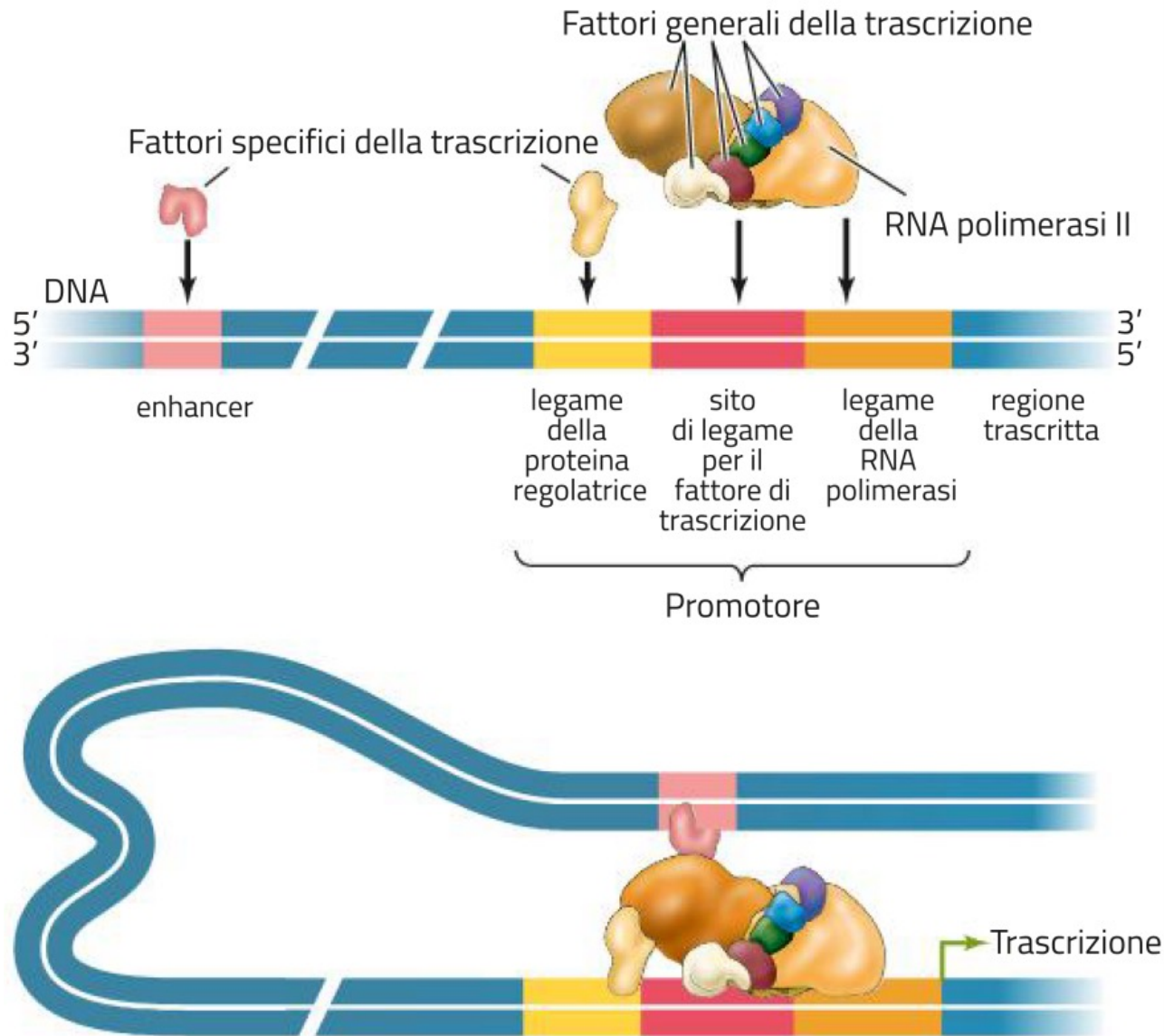
aggiunta di gruppi metile ( $\text{CH}_3$ ) alle lisine delle code istoniche

**Inibisce la Trascrizione**

I cambiamenti degli istoni sono ereditabili ma modificabili



# Durante la Trascrizione: Il complesso trascrizionale

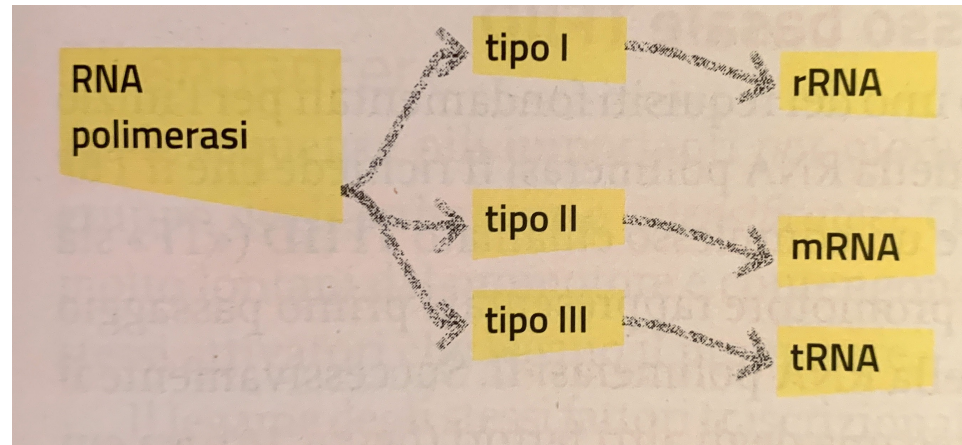




# Durante la Trascrizione: Il complesso trascrizionale

	Procarioti	Eucarioti
<b>Localizzazione di geni correlati</b>	uniti in operoni	distanti uno dall'altro con promotori separati
<b>RNA polimerasi</b>	una	tre
<b>Promotori e altre sequenze regolatrici</b>	pochi	molti
<b>Inizio della trascrizione</b>	legame della RNA polimerasi al promotore	legame di molte proteine, inclusa l'RNA polimerasi

## Diverse classi di RNA Polimerasi



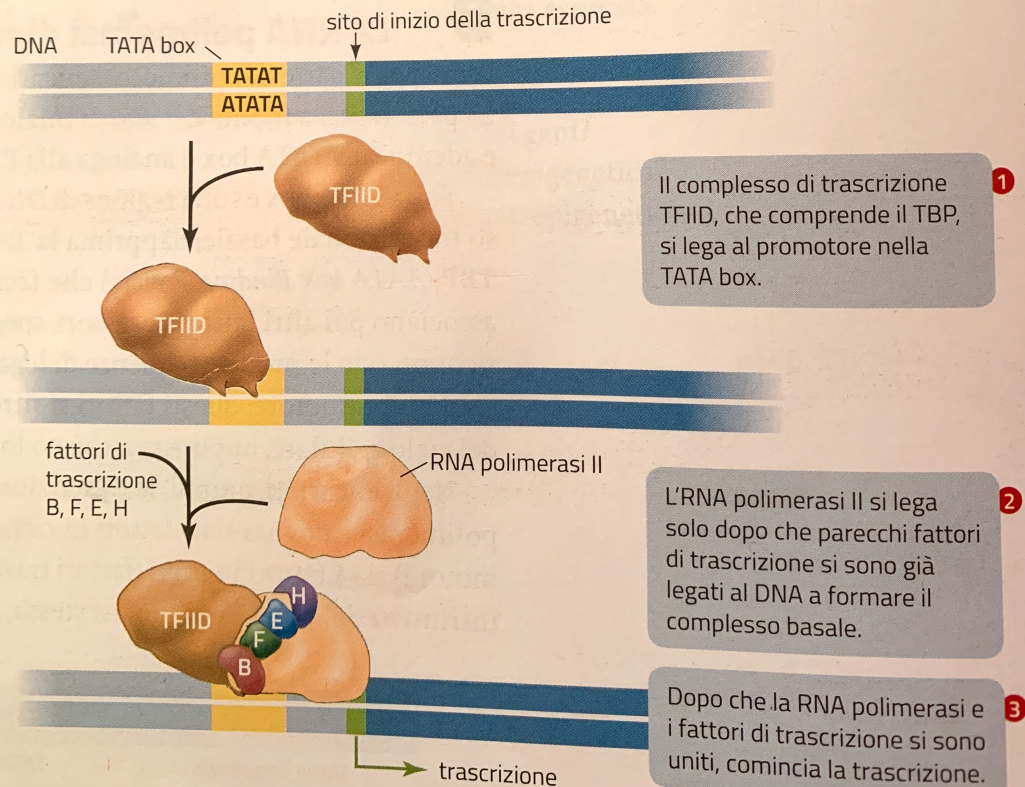
3 tipi di RNA:

- **mRNA** o *RNA messaggero*, che porta una copia delle informazioni di un tratto di DNA ai ribosomi;
- **tRNA** o *RNA transfer*, che porta gli amminoacidi ai ribosomi e li colloca nella corretta posizione;
- **rRNA** o *RNA ribosomiale*, che entra a far parte dei ribosomi e permette la sintesi proteica.

Oltre a questi RNA vi sono RNA la cui funzione non riguarda l'espressione del codice genetico e si definiscono **NON CODING RNA**.



# Durante la Trascrizione: Il complesso trascrizionale



- **fattori di trascrizione** proteici generali e accessori che si legano al promotore.
- **siti di riconoscimento specifico** x RNA Pol (TATA Box)

## Fattore proteico TBP:

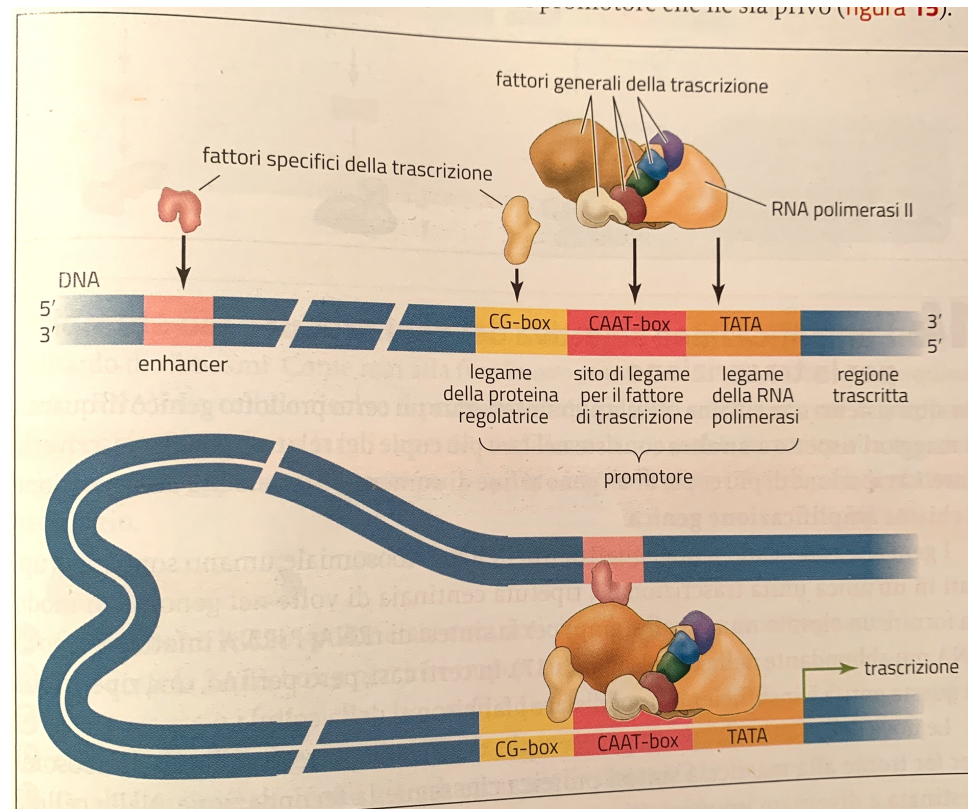
x legare RNA Pol alla TATA box

Si associa ad altri fattori per formare il complesso TFIID

# Durante la Trascrizione: Il complesso trascrizionale

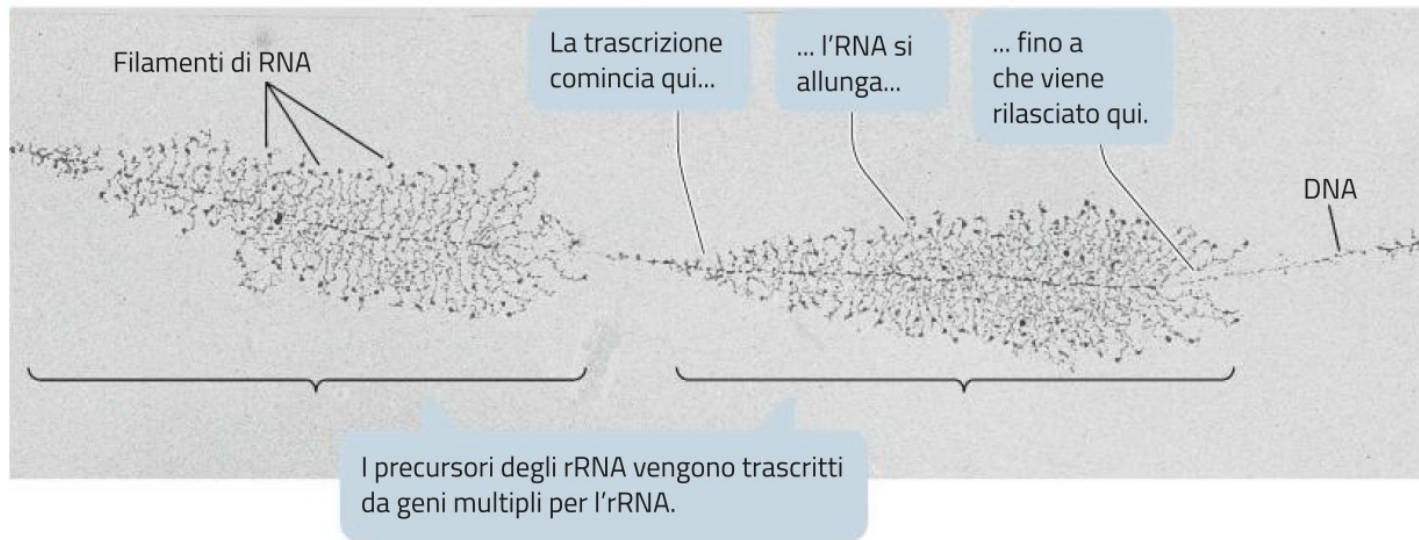
Esistono sequenze con funzioni regolative sulla trascrizione perché il promotore ha una bassa efficienza:

- gli **intensificatori** o *enhancers*, che legano i fattori di trascrizione e stimolano l'attività del complesso di trascrizione;
- i **silenziatori** o *silencers*, che arrestano la trascrizione in seguito al legame con specifici repressori proteici.



# L'amplificazione genica

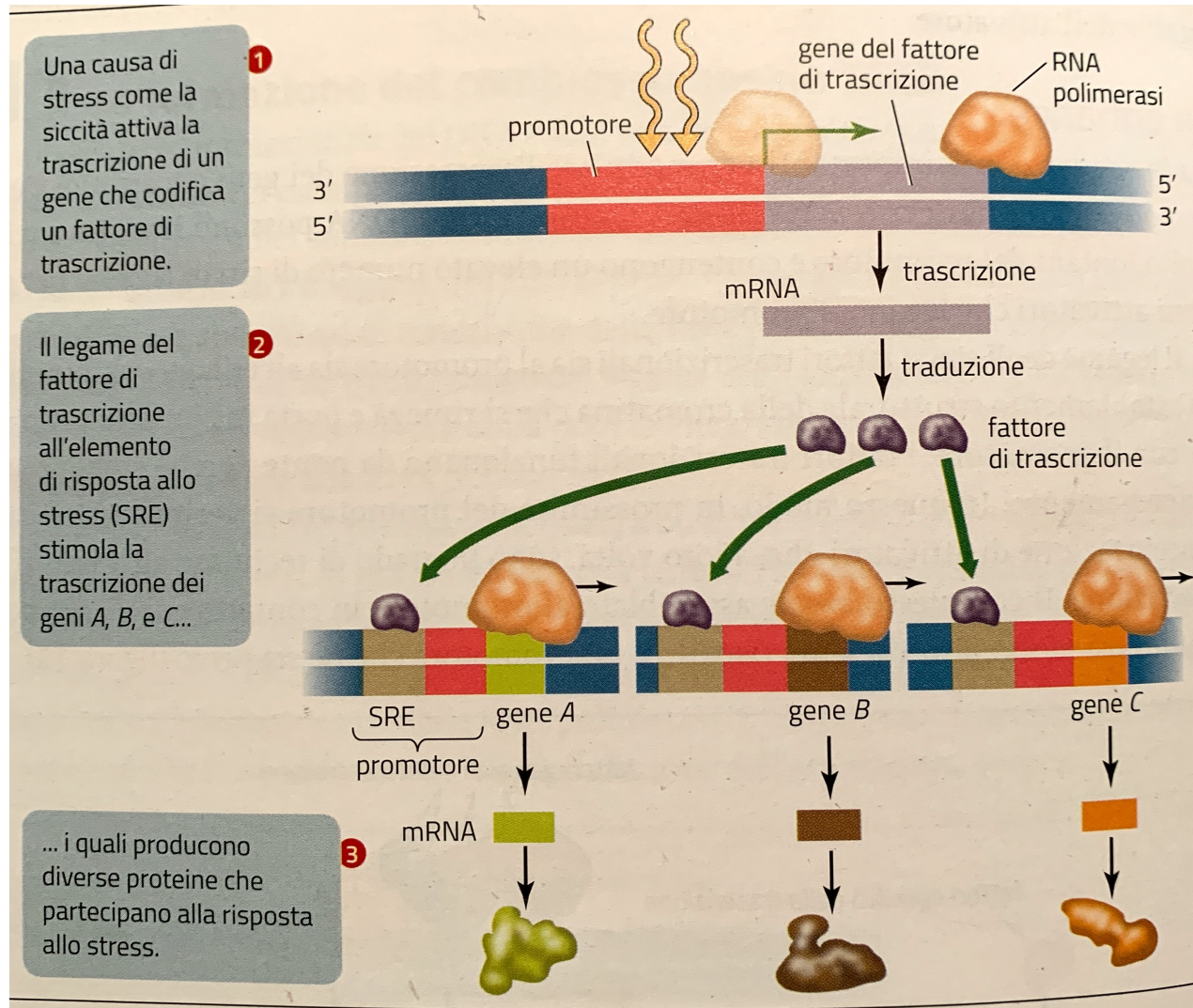
L'**amplificazione genica selettiva** produce più copie di un gene così da aumentarne la velocità di trascrizione. Un esempio è il gruppo di geni che codifica per gli rRNA.





# La coordinazione di più geni

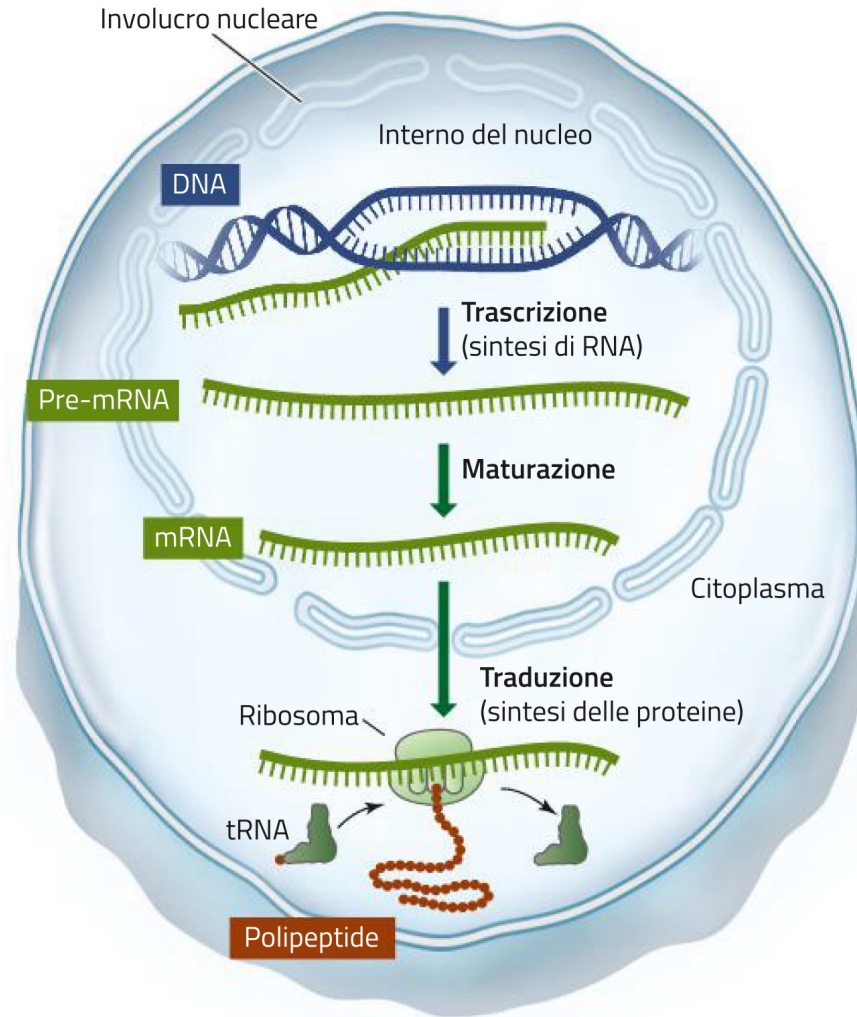
i promotori di alcuni geni contengono le stesse sequenze regolatrici







# **La regolazione dopo la trascrizione**

# Dai geni alle proteine

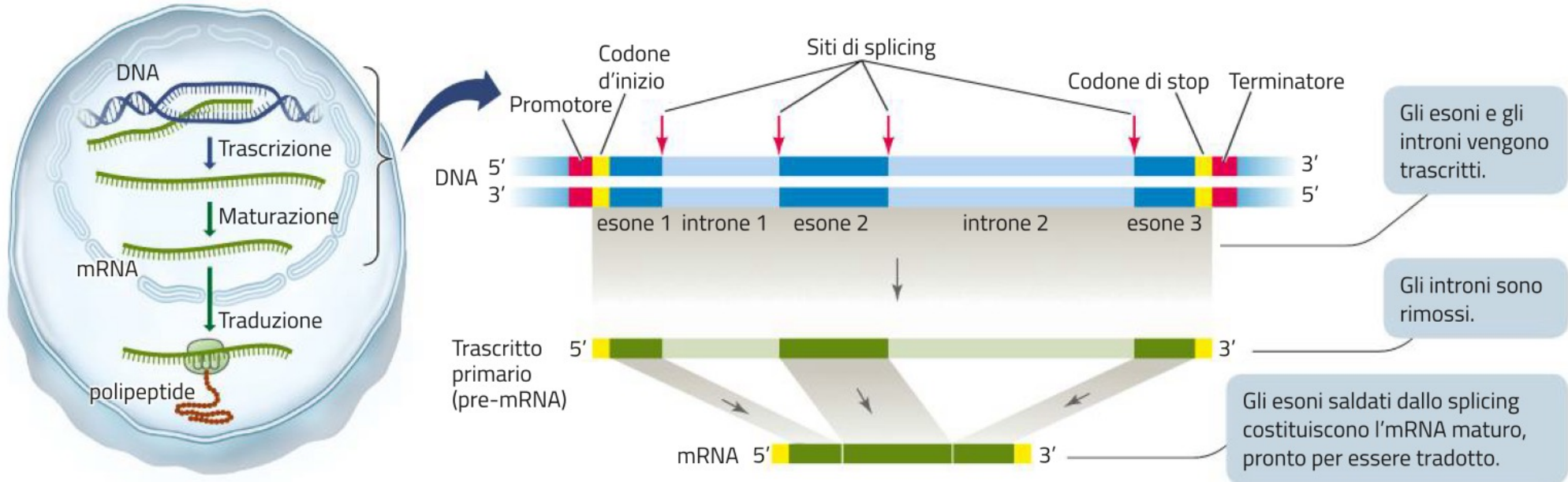


Il **gene** è un tratto di DNA che contiene le informazioni per la produzione di una **catena polipeptidica**.

# I geni interrotti e lo splicing

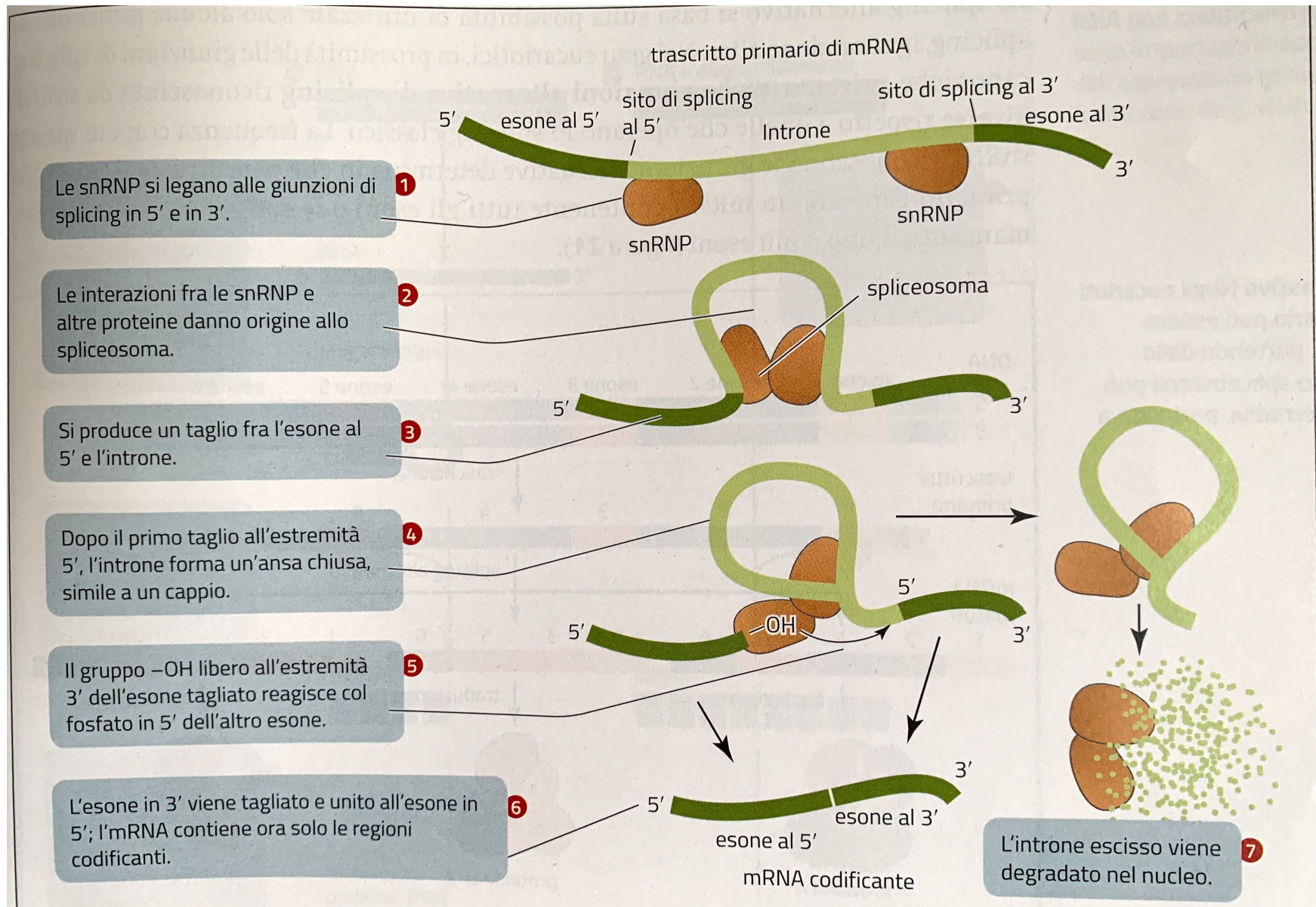
I geni sono formati da  sequenze codificanti, gli **esoni**,  
 sequenze non codificanti, gli **introni**.

Il processo di rimozione degli introni e di saldatura degli esoni si definisce **splicing dell'RNA**.





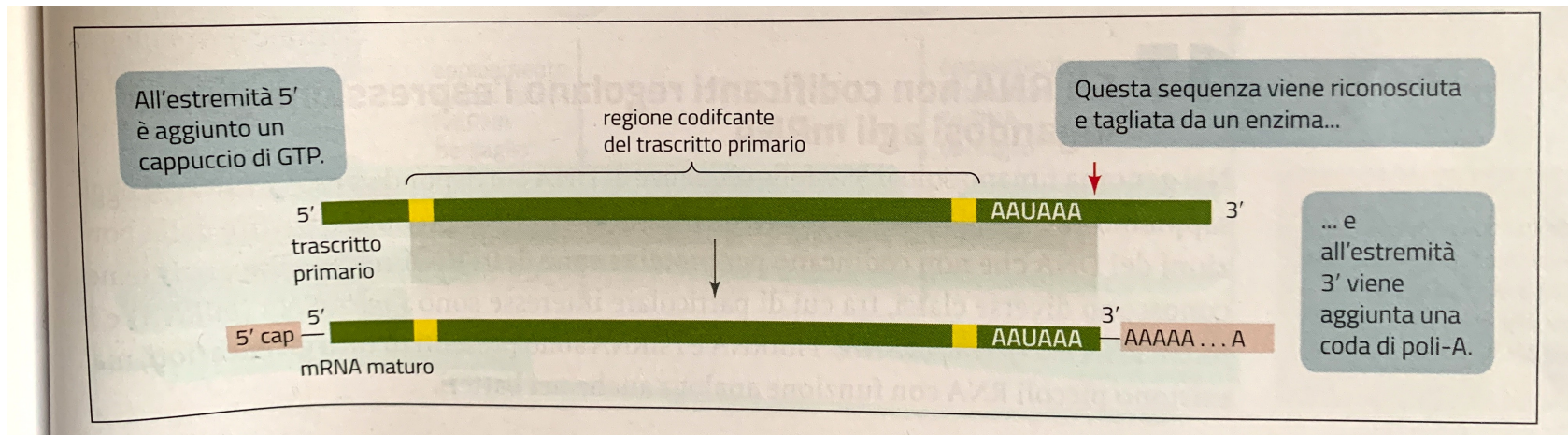
# LO SPLICEOSOMA





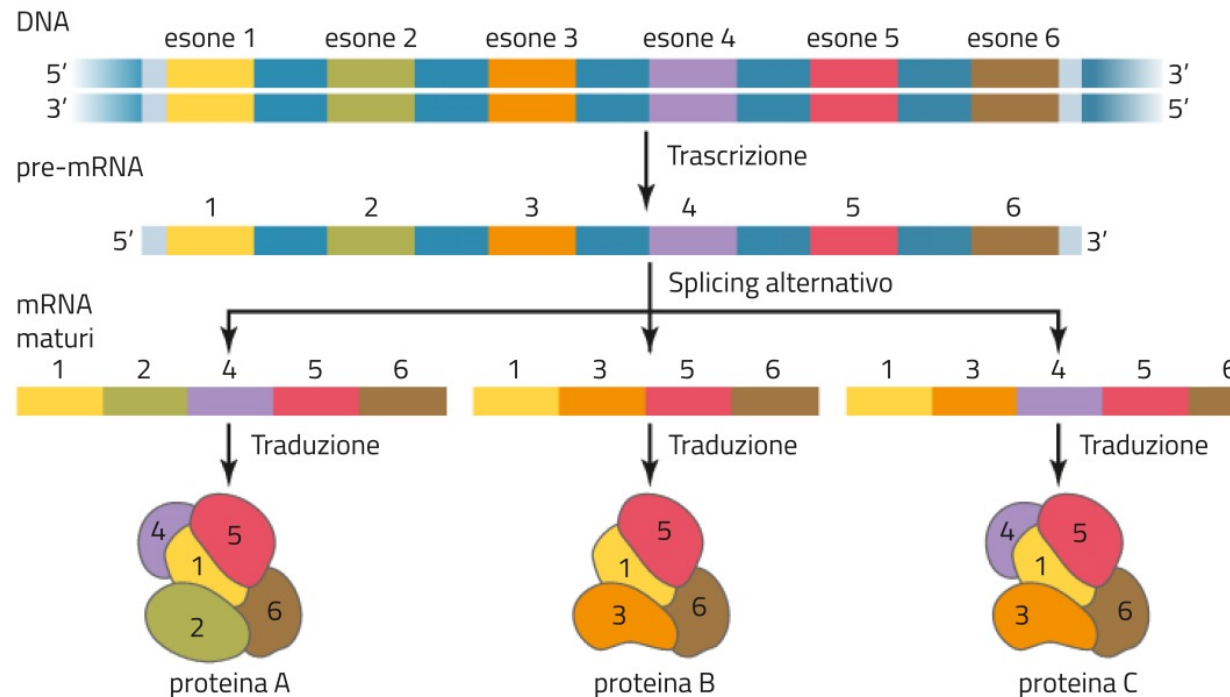
# LO SPLICEOSOMA

1. snRNP (small nuclear ribonucleic protein)
2. Proteine associate a snRNP chiamate Fattori di Splicing
3. all'estremità 5' viene aggiunto un cappuccio di GTP «Cap»
4. all'estremità 3' viene aggiunta una coda di 200 adenine «poli A»



# Lo splicing alternativo

Lo **splicing alternativo** permette di ottenere proteine diverse a partire dallo stesso pre-mRNA.



25.000 geni ➔ 100.000 proteine



# La regolazione dopo la trascrizione

I meccanismi di regolazione che controllano il livello di proteina prodotta o da produrre possono essere:

1. **traduzionali** come i *microRNA* e *siRNA*;
2. **post-traduzionali**, come l'*ubiquitina* e i *proteosomi*.

# Diverse classi di RNA

Esistono tre tipi di RNA:

- **mRNA** o *RNA messaggero*, che porta una copia delle informazioni di un tratto di DNA ai ribosomi;
- **tRNA** o *RNA transfer*, che porta gli amminoacidi ai ribosomi e li colloca nella corretta posizione;
- **rRNA** o *RNA ribosomiale*, che entra a far parte dei ribosomi e permette la sintesi proteica.

Oltre a questi RNA vi sono RNA la cui funzione non riguarda l'espressione del codice genetico e si definiscono **NON CODING RNA**.

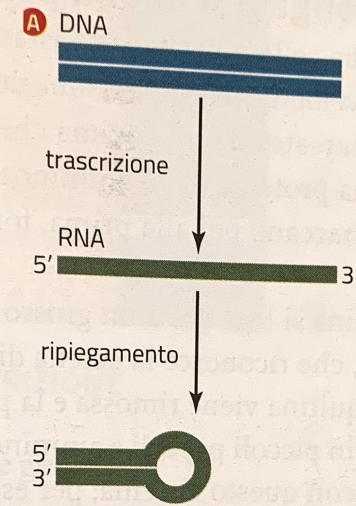
NON CODING RNA: vasta famiglia di RNA di piccole dimensioni. Tra questi importanti sono i **microRNA**

## 1. 1 I microRNA (miRNA)

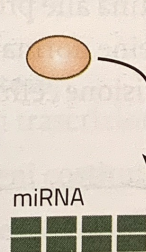
- Sono meccanismi di controllo **negativo** dell'espressione genica molto potenti: un solo miRNA può controllare l'espressione di centinaia di geni.
- Frammenti di 20-24 nucleotidi
- Fase 1: trascrizione di una breve sequenza genomica da cui originano **microRNA primari**
- Fase 2: i microRNA primari vengono tagliati in miRNA immaturi
- Fase 3: nel citoplasma diventano maturi: contengono 1 solo filamento e si legano a specifiche proteine
- Fase 4: si legano a specifiche sequenze complementari su mRNA inibendone la traduzione o iniziandone la degradazione.

# 1. 1 I microRNA

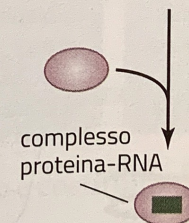
La trascrizione del DNA produce una molecola di RNA che si ripiega in una struttura a doppio filamento simile a una forcina.



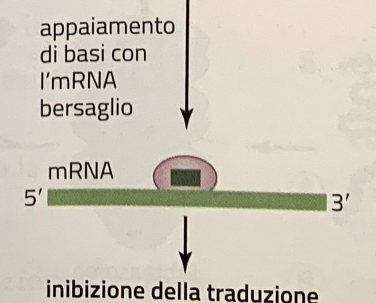
Un enzima frammenta l'RNA a doppia elica per produrre i miRNA o i siRNA.



I miRNA o i siRNA a singolo filamento si combinano con proteine citoplasmatiche per formare un complesso silenziatore indotto da RNA...



...che inibisce la traduzione o degrada uno specifico mRNA.

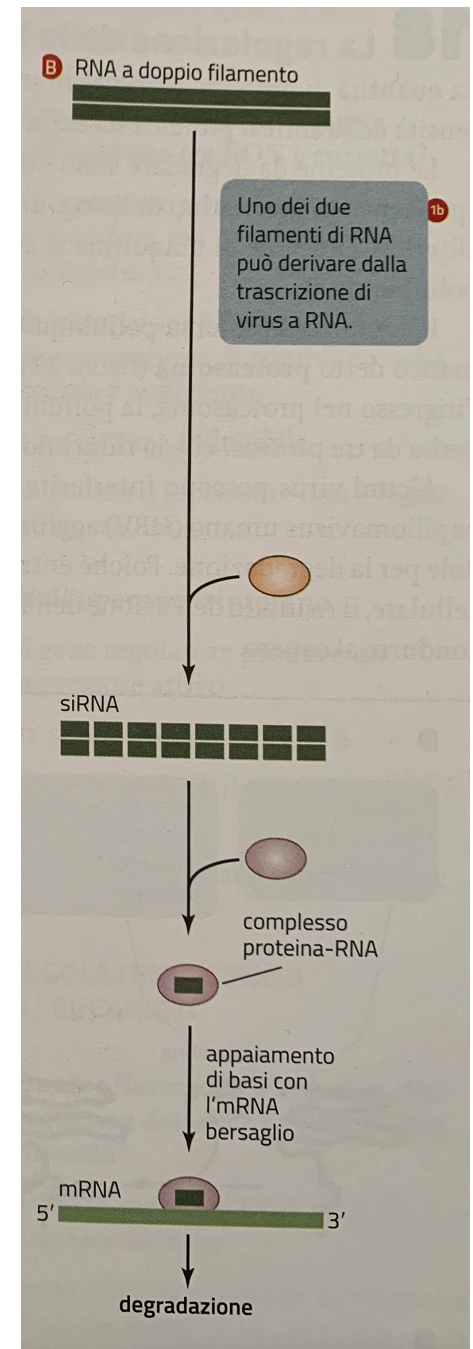


## 1.2 siRNA (small interference RNA)

- Sono prodotti da DNA o RNA **esogeno**, solitamente infezioni virali. Virus a RNA quando si replicano producono lunghi filamenti di RNA. Specifici enzimi li tagliano in corte sequenze. I singoli filamenti di RNA si uniscono a sequenze complementari sugli mRNA virali.
- Vengono sintetizzati in laboratorio, introdotti nelle cellule per bloccare l'espressione del loro mRNA bersaglio.

## 1.2 siRNA (small interference RNA)

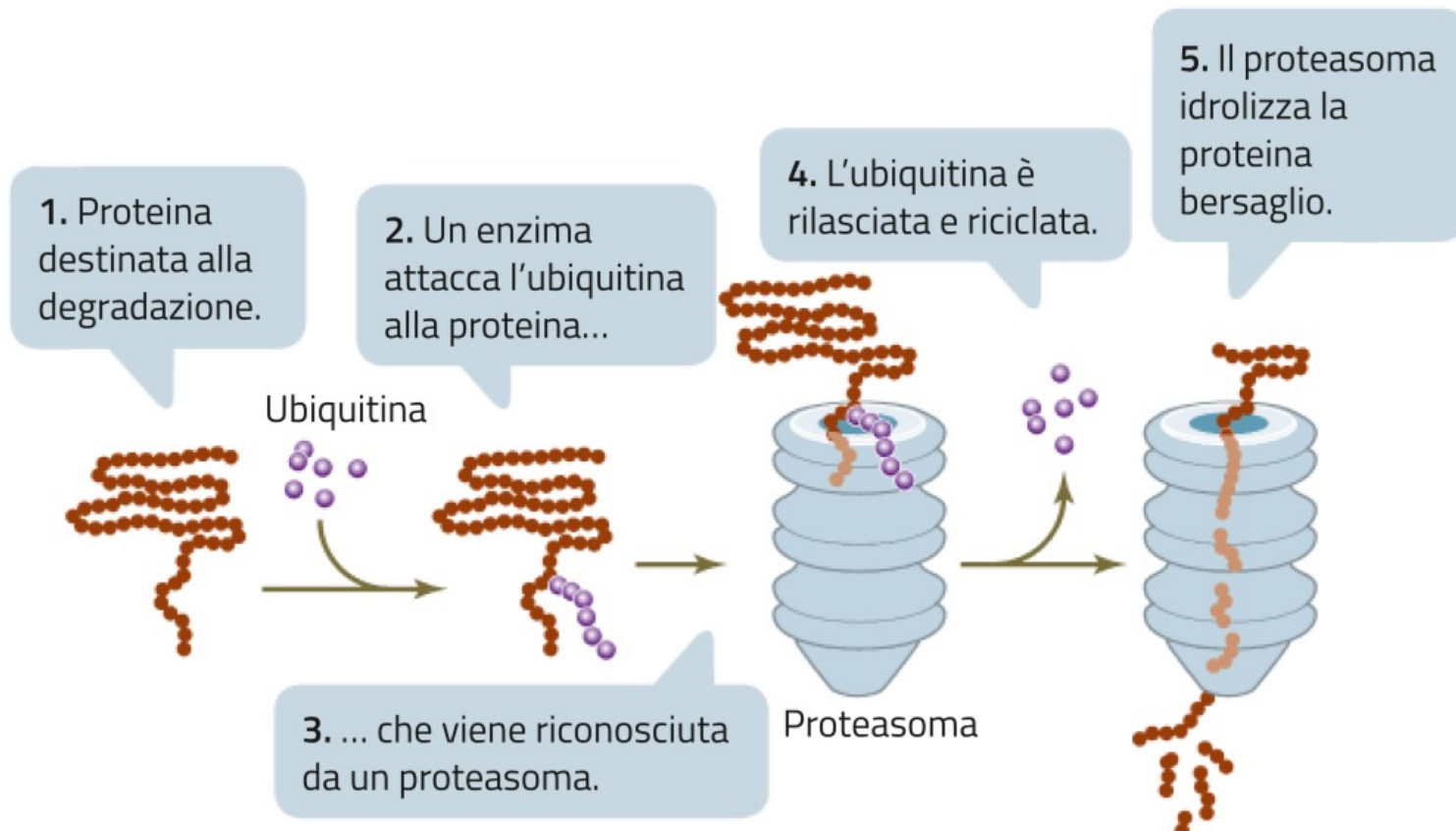
Come i miRNA inibiscono la traduzione degli mRNA a cui si legano





# La regolazione dopo la trascrizione

1. **traduzionali** come i *microRNA* e *siRNA*;
2. **post-traduzionali**, come l'*ubiquitina* e i *proteosomi*.



Nel genoma di un organismo esistono dunque varie parti, caratterizzate da funzioni diverse:

- regioni codificanti dei geni;
- sequenze amminoacidiche delle proteine;
- sequenze regolatorie;
- geni per RNA;
- sequenze non codificanti.