

# Espressione ed utilizzo della informazione genetica III Regolazione

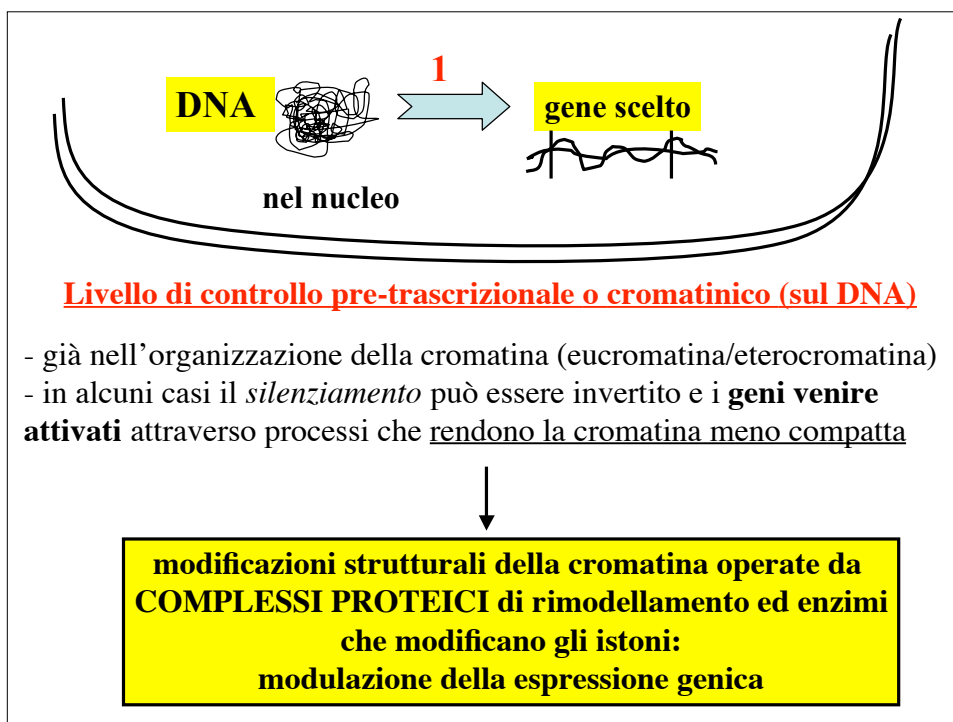
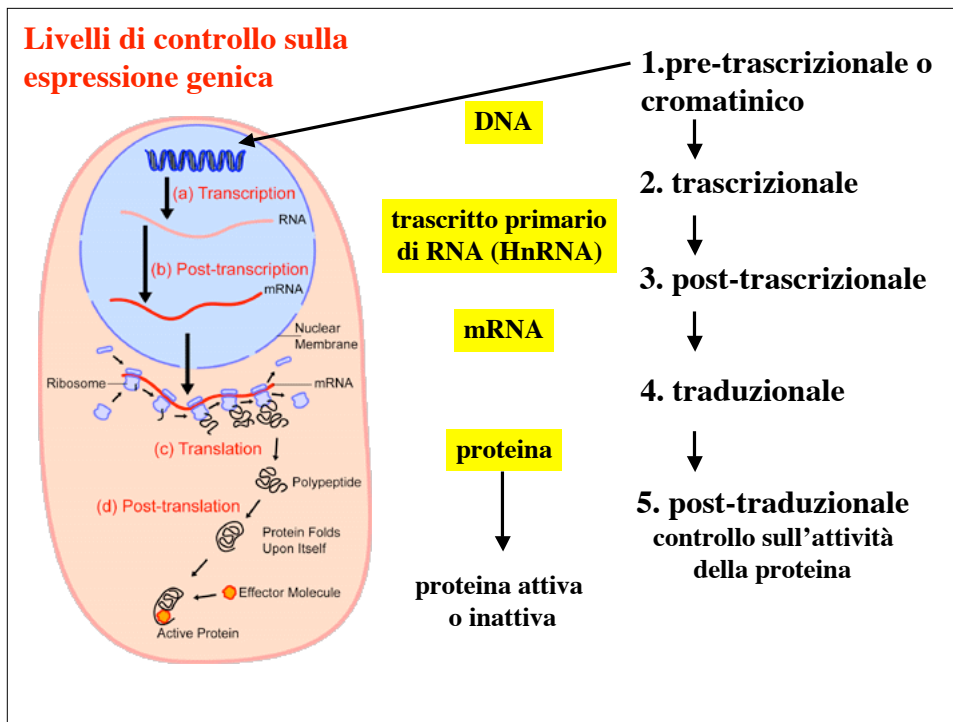
CdL Tecnici di Lab Biomedico  
AA. 2011-12 - Prof.ssa Frabetti

## Controllo o regolazione della espressione genica negli EUCARIOTI

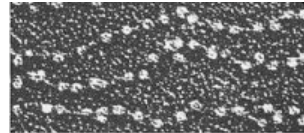
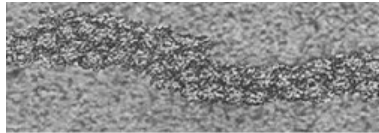
**Scopo:**  
**differenziamento cellulare,**  
ovvero espressione coordinata nel tempo  
di geni diversi in cellule diverse.

*Geni costitutivi* cioè trascritti e tradotti in tutte le cellule  
*Geni specifici* attivati selettivamente da meccanismi di  
**regolazione genica**

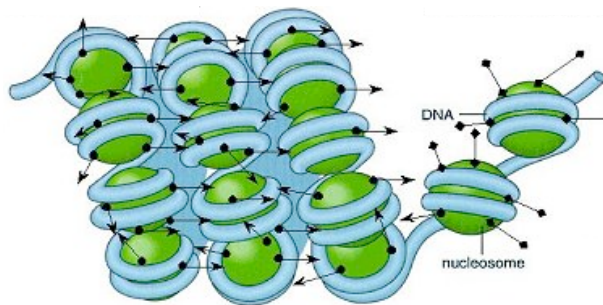
**L'espressione genica è modulabile anche da segnali esterni**  
che possono "accendere" o "spegnere" geni specifici.



## Fibre di cromatina



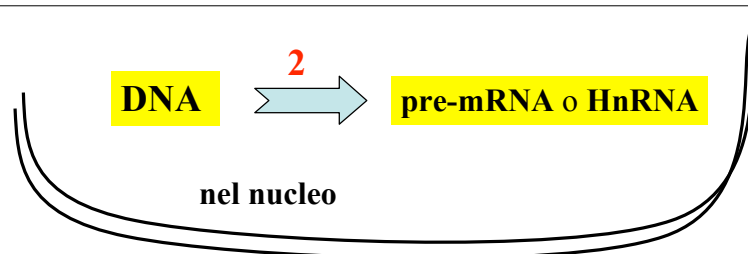
Fibre  
di  
30 nm



Fibre  
di  
10 nm

**NO TRASCRIZIONE  
GENICA**

**TRASCRIZIONE GENICA  
POSSIBILE**



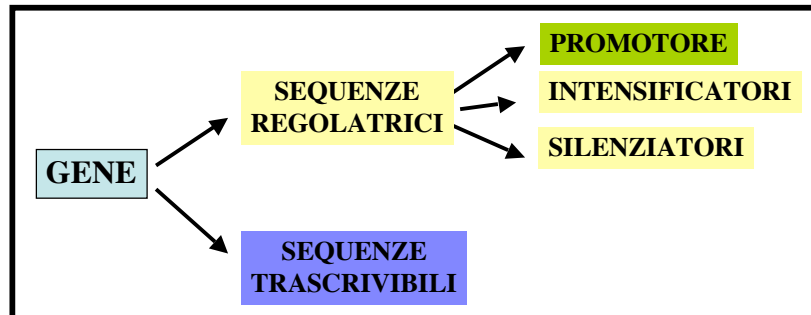
**Livello di controllo trascrizionale (da DNA a pre m-RNA):  
il controllo si esercita sulla attività della RNA polimerasi.**

- sul suo **riconoscimento ed aggancio al promotore**
- sulla sua **efficienza nel trascrivere**



**regolazione su quale gene trascrivere e su quanto pre-RNA produrre**

## Gene: Cosa fa accendere il gene?



### **PROMOTORE natura modulare**

Sequenza nel DNA di almeno 40 nucleotidi, con affinità più o meno elevata per la **RNA polimerasi**, di solito posta *a monte* del gene.

Hanno:

siti di riconoscimento (es. **TATA box**)

sito di legame stabile

sito di inizio della trascrizione

**siti di regolazione** (simili a intensificatori e/o silenziatori)

**SEQUENZE DI REGOLAZIONE**, anche a grande distanza!  
Si tratta di **corte SEQUENZE di DNA**

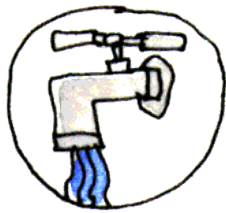
**Enhancer** ovvero **intensificatori** = aumentano la capacità di iniziare la trascrizione, intensificano la trascrizione

**Silenziatori** = spengono o reprimono la trascrizione

**Sequenze tessuto-specifiche**

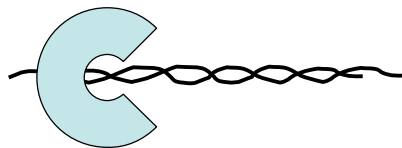
**La trascrizione** ovvero la **attività della RNA polimerasi** sarà dovuta ad un **bilancio complessivo tra fattori che la favoriscono o la inibiscono**.

**I FATTORI DI TRASCRIZIONE** sono proteine nucleari il cui ruolo è *modulare* la trascrizione, attivandola o spegnendola

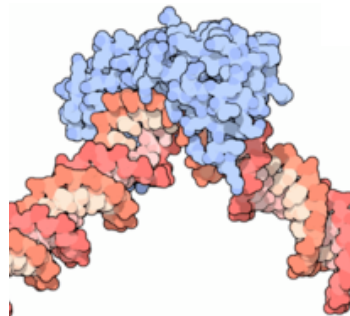
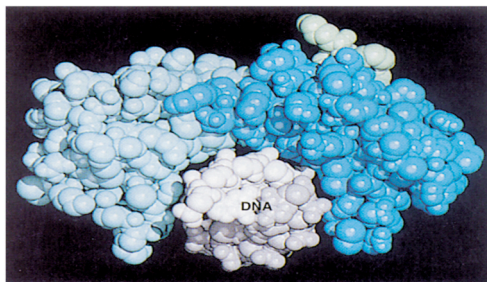


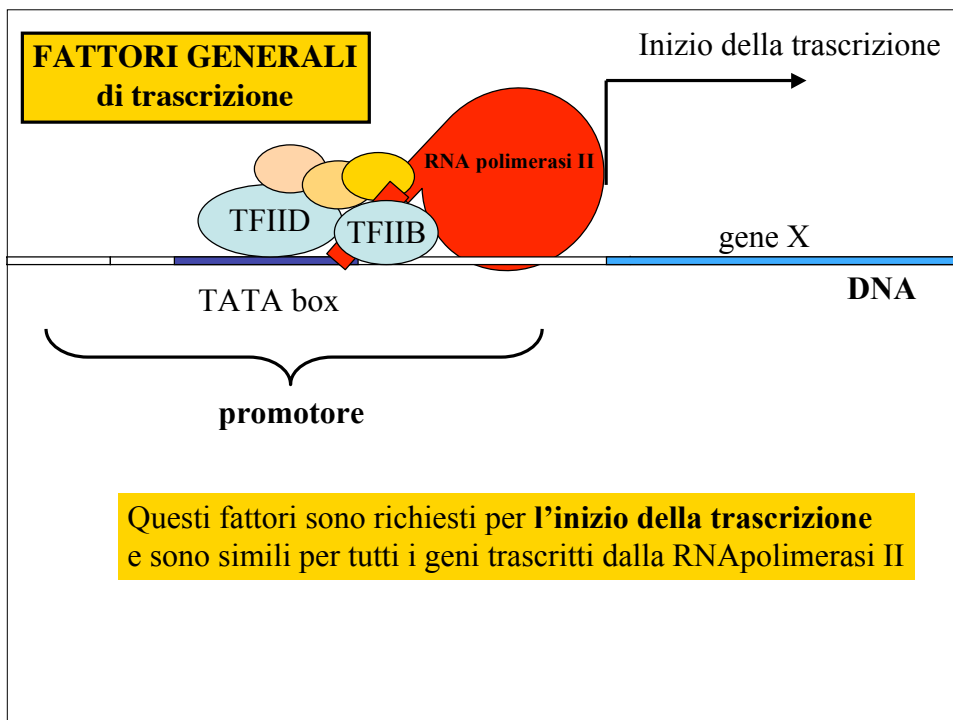
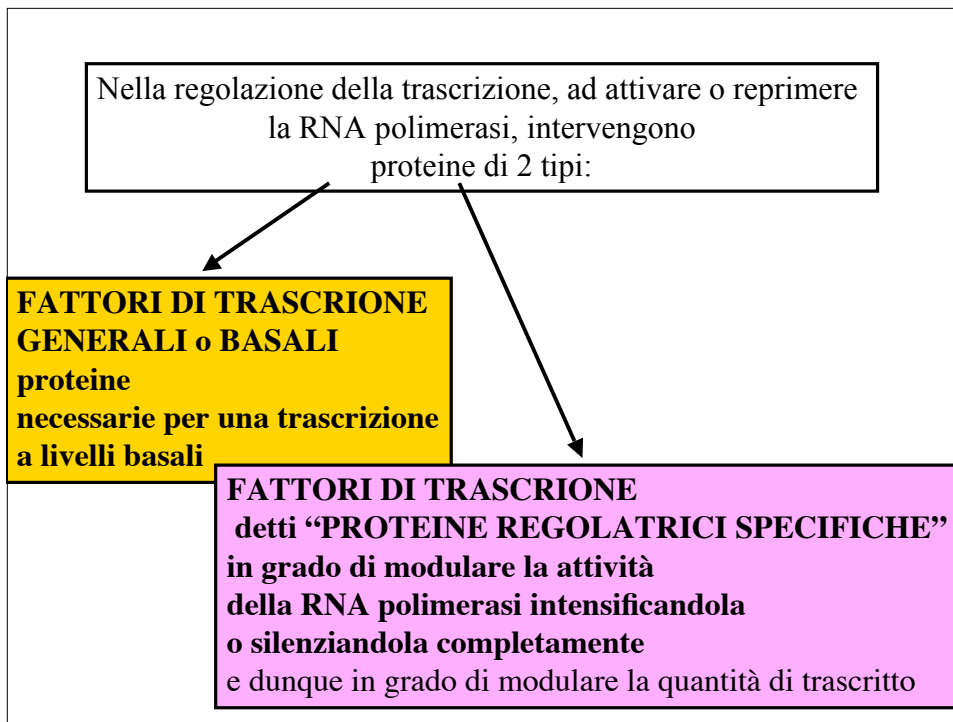
**Intensità di trascrizione:**  
tra quando e quanto quel gene è attivo!

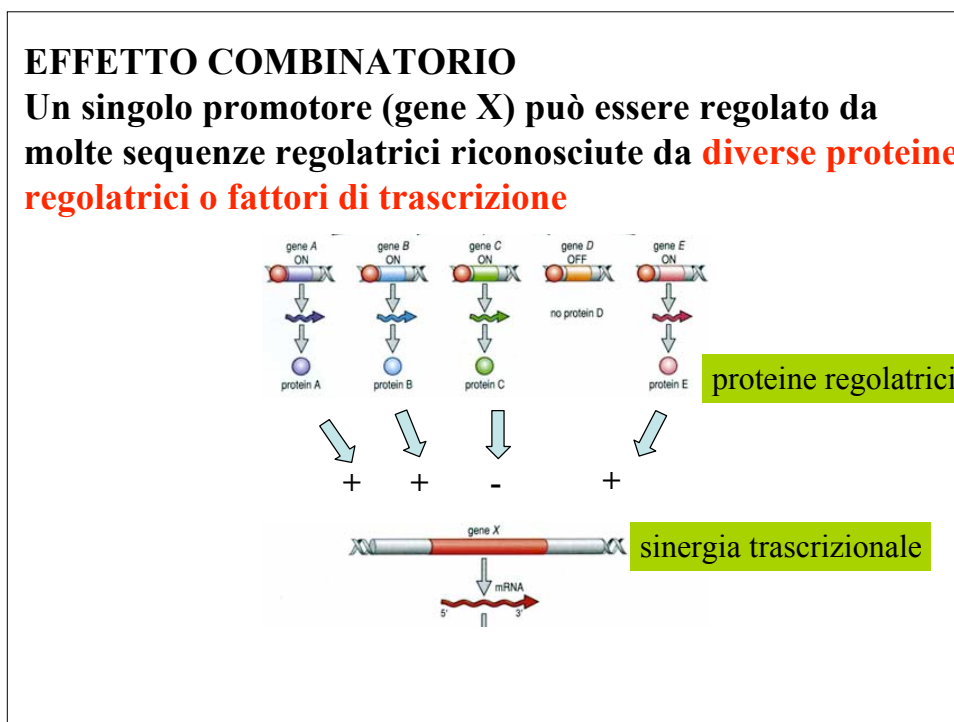
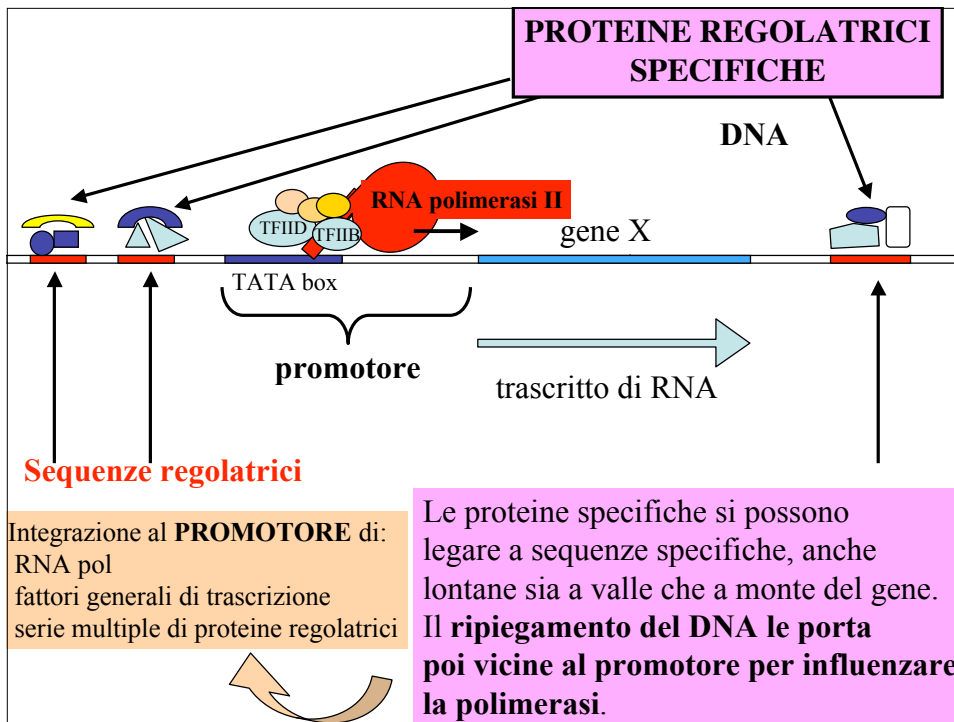
**SEQUENZE di DNA riconosciute da**  
specifiche proteine dette **FATTORI DI TRASCRIZIONE**



“Dialogo” tra sequenze regolatrici di **DNA** (elementi in *CIS* al gene) e proteine (elementi in *TRANS* al gene)

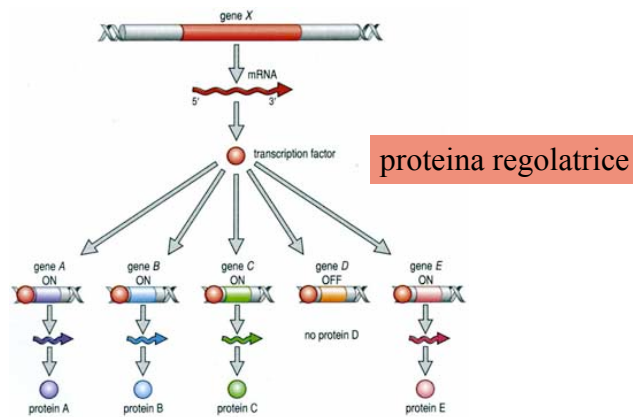




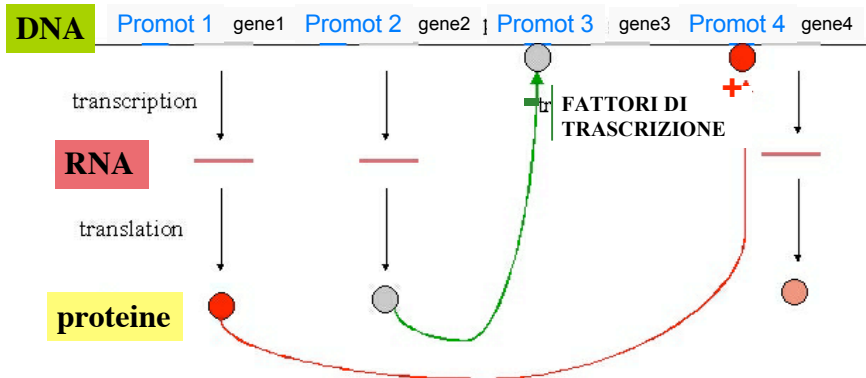


## EFFETTO DI COORDINAZIONE

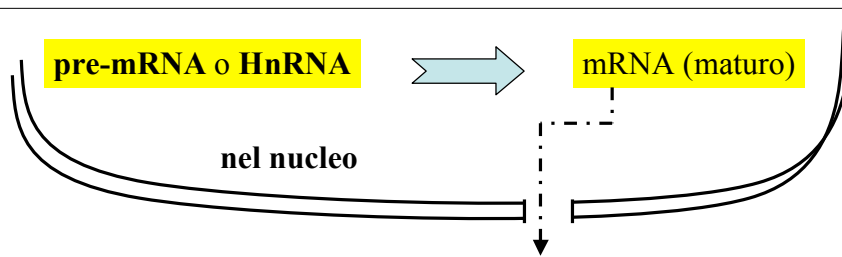
Una singola proteina regolatrice/fattore di trascrizione può regolare e quindi **coordinare** l'espressione genica di parecchi geni diversi



**Gene networks** - un gene può esprimere le proprie informazioni solo nel contesto dell'intero genoma della cellula in esame. Infatti la regolazione della trascrizione si basa sul riconoscimento di sequenze promotrici e sequenze di regolazione da parte di **fattori di trascrizione** che sono proteine (ovvero prodotti genici) e possono modulare la efficienza di espressione di ogni singolo gene, condizionando la RNAPolimerasi.







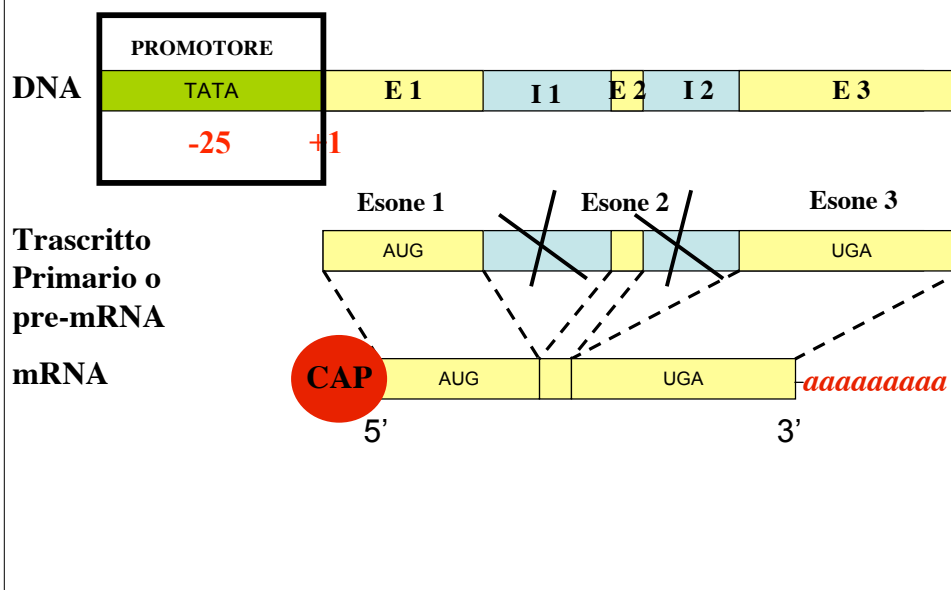
**Livello di controllo post-trascrizionale (da pre m-RNA a mRNA):**

**-controllo sulla elaborazione dell'mRNA,**

la "maturazione" dell'mRNA comporta **3 tipi fondamentali di modificazioni del pre-mRNA o trascritto primario**

**-controllo del trasporto dell'mRNA** al citoplasma e **sulla sua stabilità** nel citoplasma (concetto di **EMIVITA** dell'mRNA ovvero il tempo necessario a dimezzare (emi) la concentrazione dell'mRNA)

**Da pre-mRNA (HnRNA) a mRNA maturo!!!**



**Eventi post-trascrizionali:  
dal preRNA all'mRNA**

**1- aggiunta del CAP (m<sup>7</sup>G)**

aggiunta in 5' di una 7metil-guanosina:

**preserva il trascritto dalla degradazione ed è segnale di  
aggancio per il ribosoma**

**2- poli-adenilazione in 3'OH**

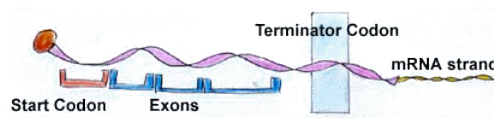
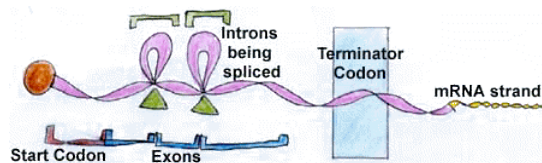
aggiunta di una coda di poliA (200-250):

**aiuta il passaggio al citoplasma, influenza la stabilità dell'mRNA**

**3- *splicing***

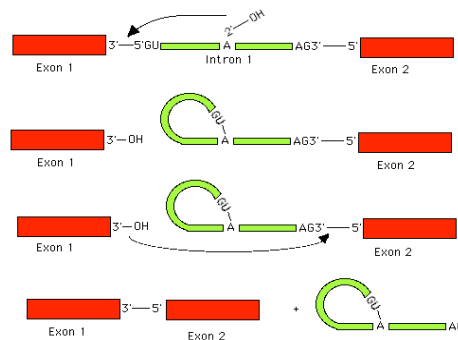
processo di **taglia e cuci** per eliminare gli introni

**SPLICING= TAGLIA E CUCI degli introni/esoni**



Più in dettaglio:

**Splicing** per rimuovere gli introni dall'HnRNA o pre-mRNA



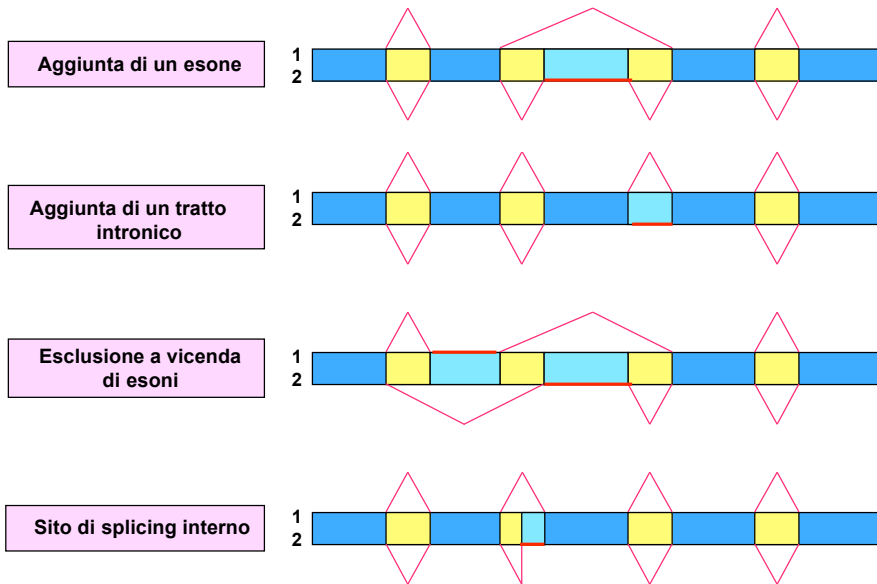
## Lo *spliceosoma* fa lo splicing

**Spliceosoma** = complesso ribonucleoproteico fatto da 150 proteine e 5 RNA detti *small nuclear RNA* o snRNA, piccoli RNA nucleari  
Dimensioni dello spliceosoma sono simili ad un ribosoma

Che significato ha lo *splicing*?  
E gli introni nei “geni eucariotici discontinui”?

Plasticità del genoma e della sua espressione

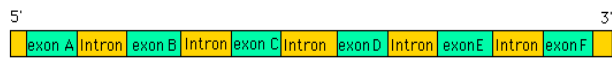
**“SPLICING ALTERNATIVO”: lo splicing mostra una notevole flessibilità**



**Splicing alternativo**

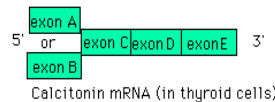
può produrre forme diverse di mRNA e dunque di una proteina dallo stesso gene

pre-mRNA

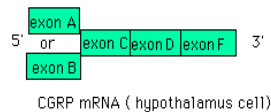


Pre-mRNA (transcribed in both thyroid and hypothalamus cell)

**Calcitonina**= ormone che riduce la concentrazione del  $Ca^{2+}$  nel plasma prodotto dalla tiroide



**CGRP**= peptide correlato alla calcitonina, potente vasodilatatore che può intervenire nella trasmissione del dolore su sistema nervoso periferico e centrale



## Variazioni

al modello *standard* di gene:

~~un gene → un mRNA → una proteina~~

un LOCUS → **più** prodotti genici **alternativi**

Un singolo gene è un genoma in  
miniatura

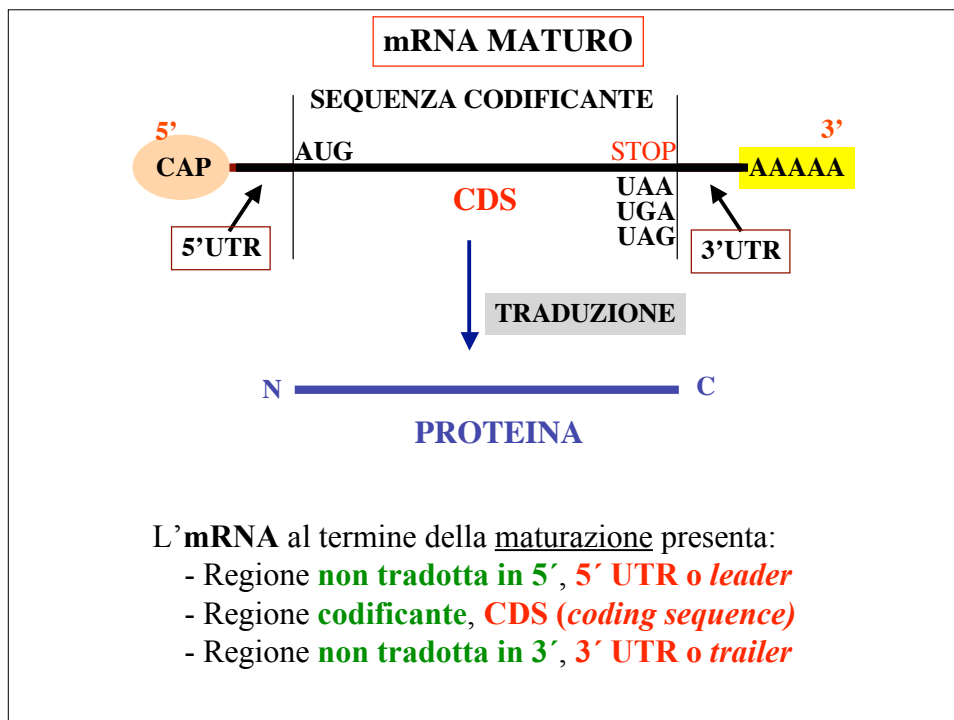
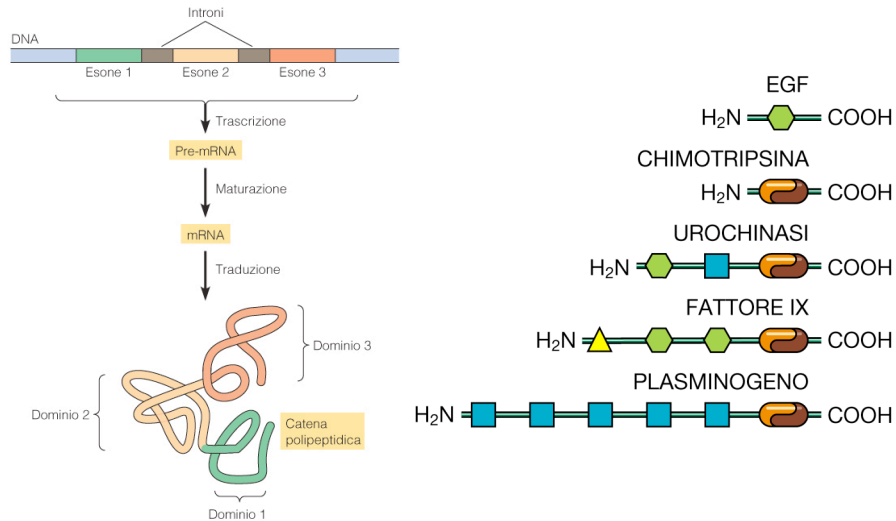
### Perché i geni eucarioti hanno gli INTRONI?

1- consentono lo **splicing alternativo**: **grande flessibilità e potenzialità nella regolazione genica**

2- in alcuni casi gli introni **non** vengono degradati e **danno altri RNA funzionali** nella regolazione genica ovvero alcuni tipi di ncRNA (RNA non codificanti)

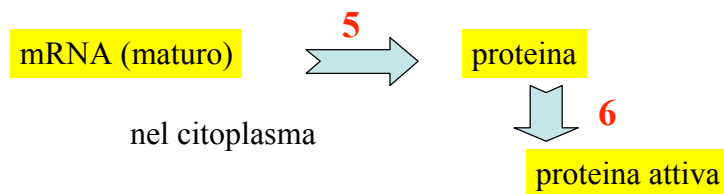
3- **possibile ruolo evolutivo** consentendo l'evoluzione di geni con esoni diversi che specificherebbero per domini differenti della proteina. La ricombinazione tra introni **di geni diversi** può avere creato geni con **nuove combinazioni di esoni**: **rimescolamento di esoni**.

## Ipotesi del ruolo degli esoni a livello proteico: proteine diverse come *patchwork* di domini simili



## Funzione delle regioni dell'mRNA

<b>5'UTR</b>	<b>Efficienza della traduzione</b>
<b>CDS</b>	<b>Traduzione</b>
<b>3'UTR</b>	<b>Stabilità (velocità di degradazione; concetto di <i>emivita</i> da pochi minuti a 50-100 ore)</b>



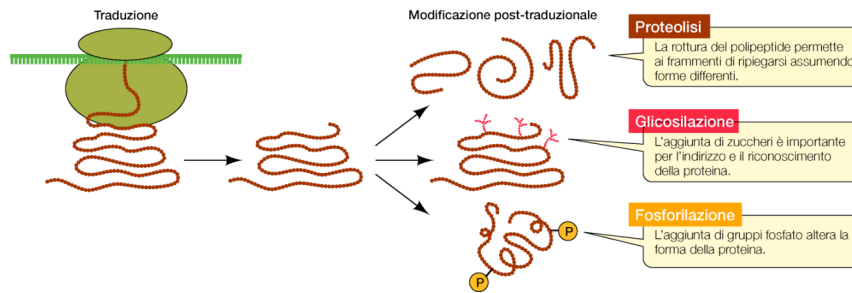
### **5. Livello di controllo traduzionale (da m-RNA a proteina):**

Operato da fattori proteici che possono influire sull'inizio della traduzione e quindi modularla.

### **6. Livello di controllo post-traduzionale (sulla proteina):**

- controllo sulla modificazione delle proteine sintetizzate
- controllo del ripiegamento e trasporto

**Livello di controllo post-traduzionale (sulla proteina):**  
**modificazione delle proteine sintetizzate che risultano essenziali perché la proteina possa funzionare**

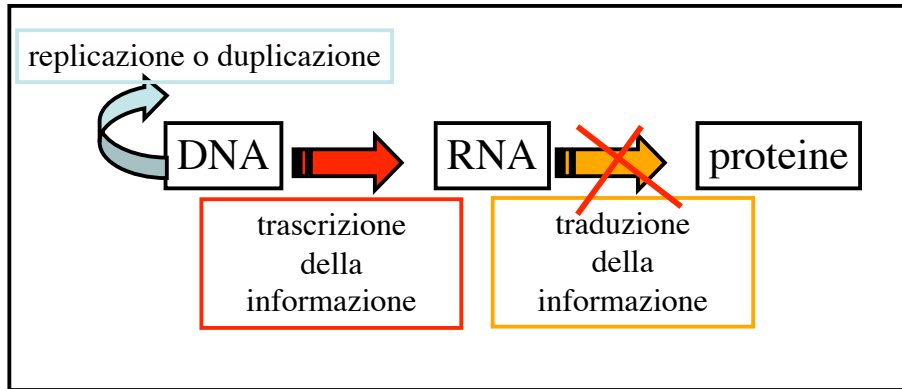


**Immagine mentale della attivazione dei geni lungo il DNA:**  
**I geni lungo il DNA** sono come “luci di Natale” lungo la matassa dei fili: si accendono e si spengono ad intermittenza e con una intensità che va da MASSIMA luminosità a MINIMA luminosità e può essere modulata cioè regolata





**A modulare la espressione genica delle proteine cellulari intervengono anche i geni non codificanti proteine**



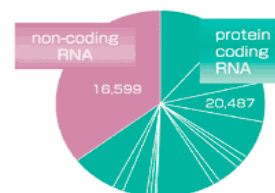
**Reintrepetazione**  
del dogma della biologia molecolare alla  
luce delle nuove conoscenze sul genoma

**Ai geni che codificano proteine si affiancano geni che specificano per RNA non codificanti.**

*Stime odierne:*

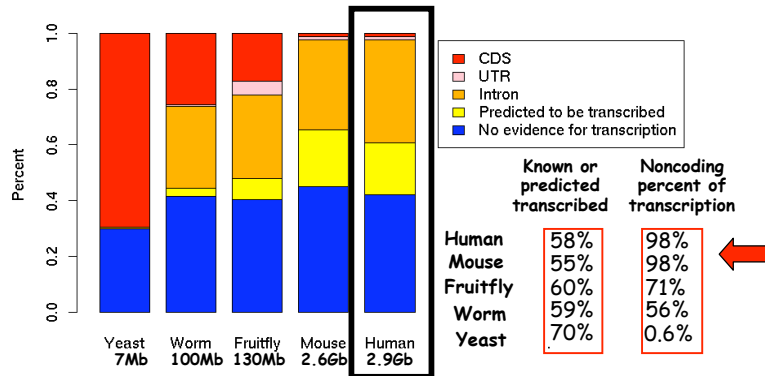
**Geni umani codificanti per proteine sono un numero di 20.000-25.000**

**Geni per RNA non tradotti o non-coding RNA (ncRNA, RNA non codificanti proteine), nei mammiferi rappresentano da 1/2 a 3/4 di tutti i trascritti**

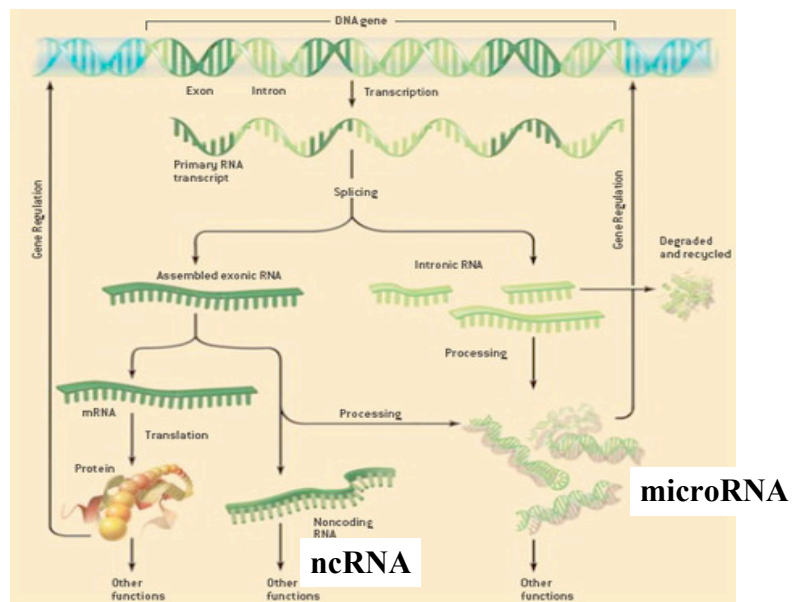


## Complessità dell'organismo e del genoma. La maggior parte del genoma dei mammiferi è trascritta

**Il 98% dell'output trascrizionale nei mammiferi è rappresentato da RNA che non verrà tradotto in aa**

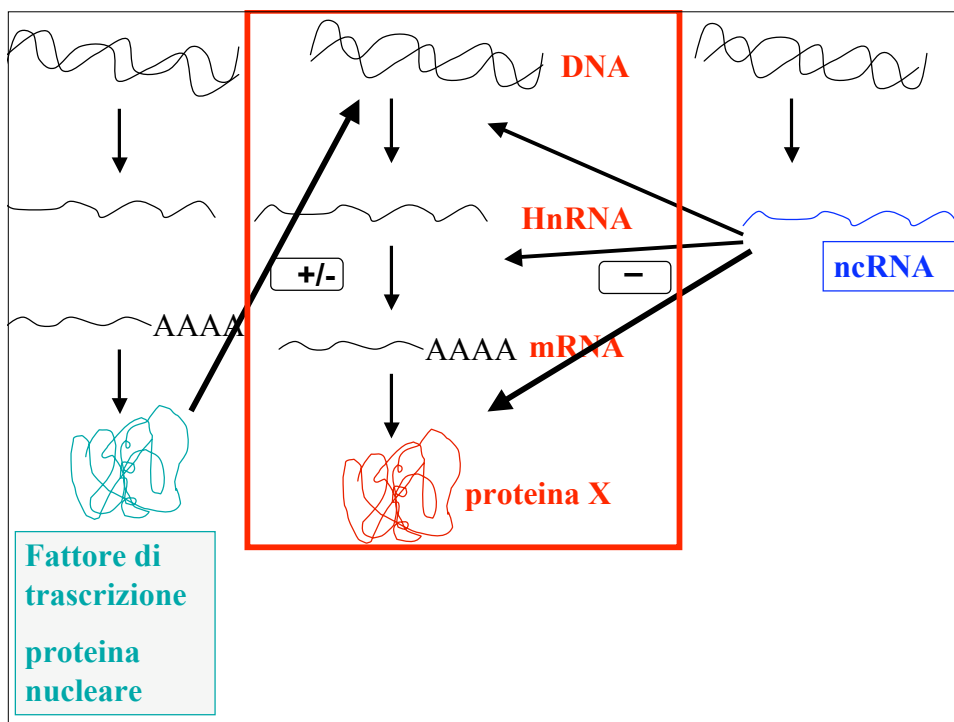


## Il nuovo "dogma"



## *Ipotesi*

ncRNA non sono semplice “rumore trascrizionale”, ma più probabilmente svolgono **un ruolo regolatorio** e sono coinvolti in numerosi processi cellulari e biologici, in particolare durante lo **sviluppo** e il **differenziamento**



### ***ncRNA - generalità***

- Sempre di più scoperti ed annotati nei *database* internazionali
- Gruppo **eteogeneo per dimensioni** e meccanismo d'azione: difficile classificazione
- Caratterizzati spesso da una alta densità di codoni di STOP e quindi dalla assenza di *ORF (open reading frame)* estese
- La loro trascrizione ed elaborazione è sottoposta a controllo
- Possono formarsi dalle zone introniche di *geni coding* o da vere e proprie unità geniche
- Grande importanza per il ruolo da protagonisti nella **REGOLAZIONE GENICA**

### ***ncRNA - funzioni e meccanismi***

Dinamica della struttura della cromatina (regolatori epigenetici)

Modulazione della trascrizione (interazioni a *triplice elica*)

Regolazione del *trafficking* nucleare degli mRNA (*RNPs*)

Silenziamento genico post-trascrizionale: stabilità mRNA

*Interferenza da RNA*

***Regolazione espressione genica***

**Cambiamenti nei livelli di espressione degli ncRNA sono associati con forme diverse di cancro e patologie neurodegenerative**

