

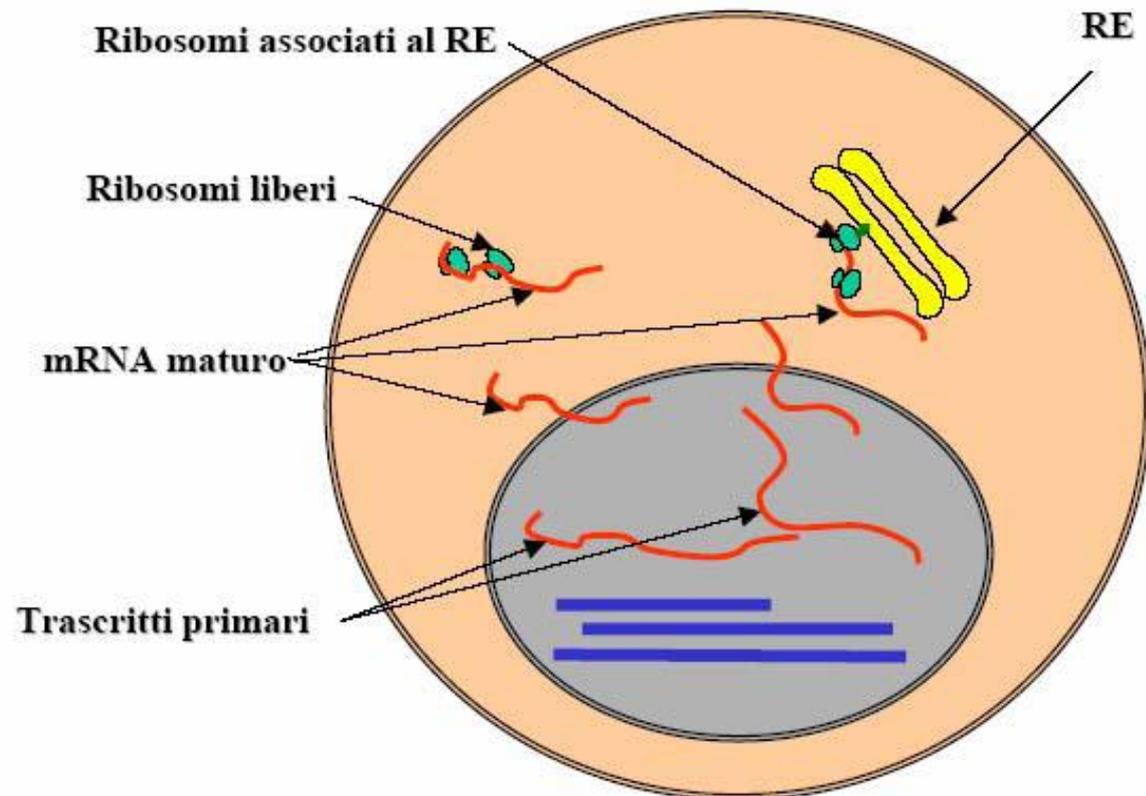
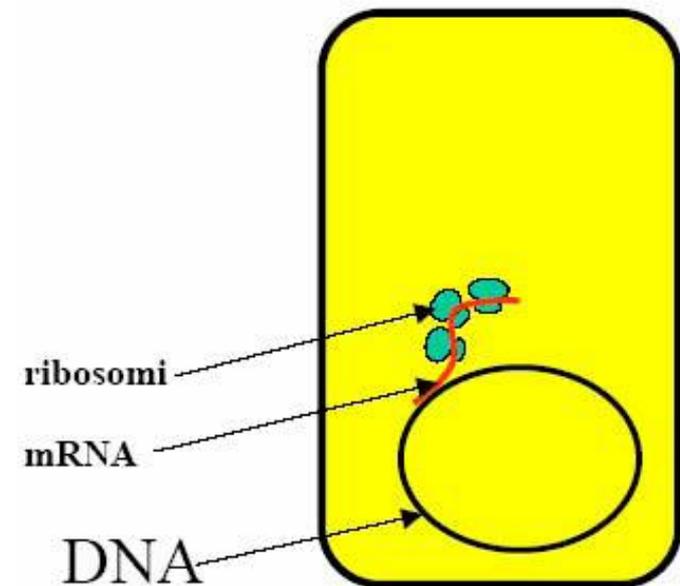
Negli eucarioti, il flusso dell'informazione genetica è reso più complesso dalla compartimentalizzazione.

### Procarioti:

- DNA libero nel citoplasma, unico cromosoma circolare.
- Geni organizzati in operoni
- sintesi mRNA e proteine praticamente simultanea

### Eucarioti:

- DNA racchiuso nel nucleo, numerosi cromosomi lineari.
- Geni non organizzati in operoni
- sintesi mRNA nel nucleo, sintesi proteica nel citoplasma su ribosomi liberi e associati al RE



# La regolazione nei procarioti

I geni batterici sono tipicamente raggruppati in operoni, in cui più geni si susseguono l'un l'altro preceduti da un unico promotore e trascritti insieme in un unico RNA policistronico.

Il primo operone di cui è stata studiata la regolazione a livello molecolare è **l'operone del lattosio** di *Escherichia coli*. Esso consiste di tre geni (*LacZ*, *LacY*, *LacA*) posti di seguito, sotto il controllo di un unico promotore, i quali codificano tre proteine coinvolte nel metabolismo del lattosio: la  **$\beta$ -galattosidasi**, una **permeasi** e una **transacetilasi**. La permeasi facilita l'ingresso del lattosio nella cellula, la  $\beta$ -galattosidasi catalizza la scissione del lattosio in galattosio e glucosio, che poi intraprendono la loro via metabolica, la transacetilasi ha una funzione a tutt'oggi non del tutto chiara. I tre geni sono preceduti da un promotore inducibile (che cioè permette la trascrizione dell'operone soltanto in risposta ad opportuni stimoli ambientali – in questo caso la presenza del lattosio). Nella regolazione della trascrizione di questo operone sono implicate due proteine regolatrici, il lac-repressor (codificato dal gene *LacI*) e la cAMP-receptor-protein CRP (codificata dal gene *crp*) detta anche CAP (catabolite activator protein).

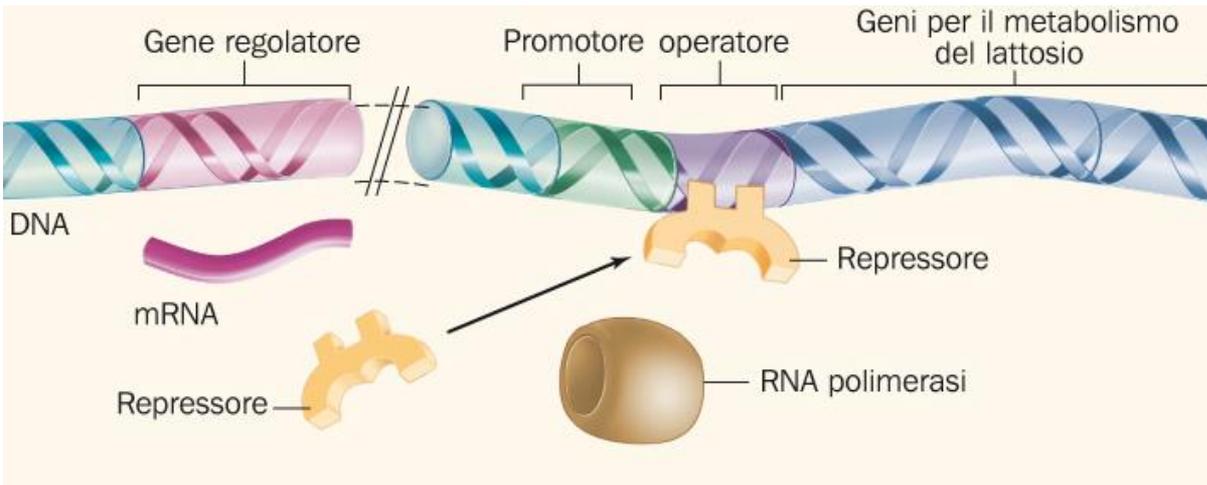
# I procarioti controllano l'espressione genica

Nei procarioti certe proteine legate al DNA «accendono» e «spengono» i geni.

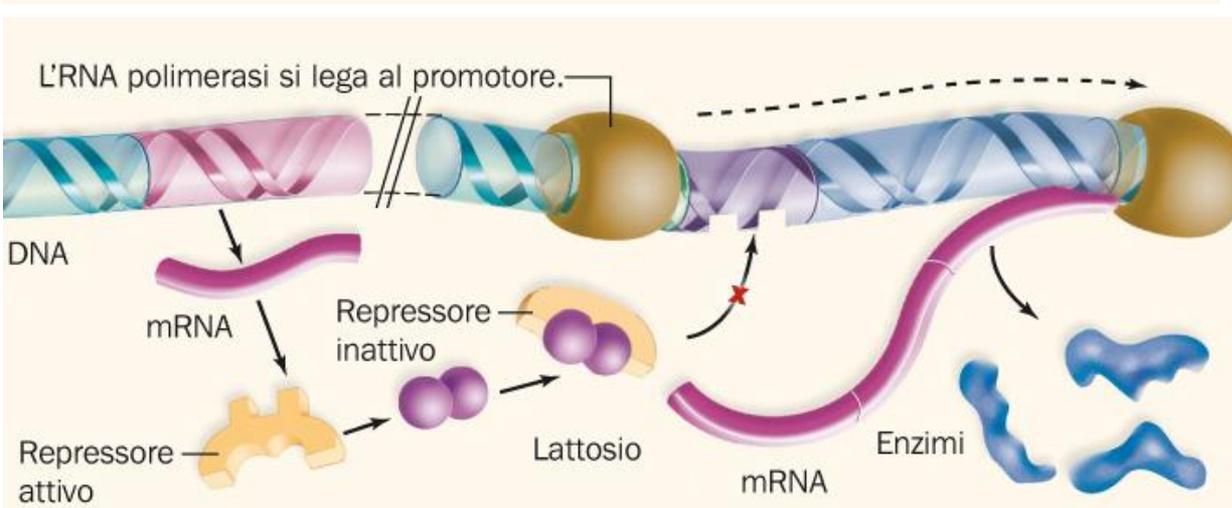
La regolazione genica nei procarioti è spiegata dal modello dell'**operone**, formato dai seguenti componenti:

- un gene regolatore;
- un promotore;
- un operatore;
- alcuni geni strutturali.

# I procarioti controllano l'espressione genica



L'operone *lac* è un **operone inducibile**: in assenza di lattosio l'operone è inattivo, mentre in presenza di lattosio l'operone è attivo e vengono così prodotti gli enzimi per digerire il lattosio.

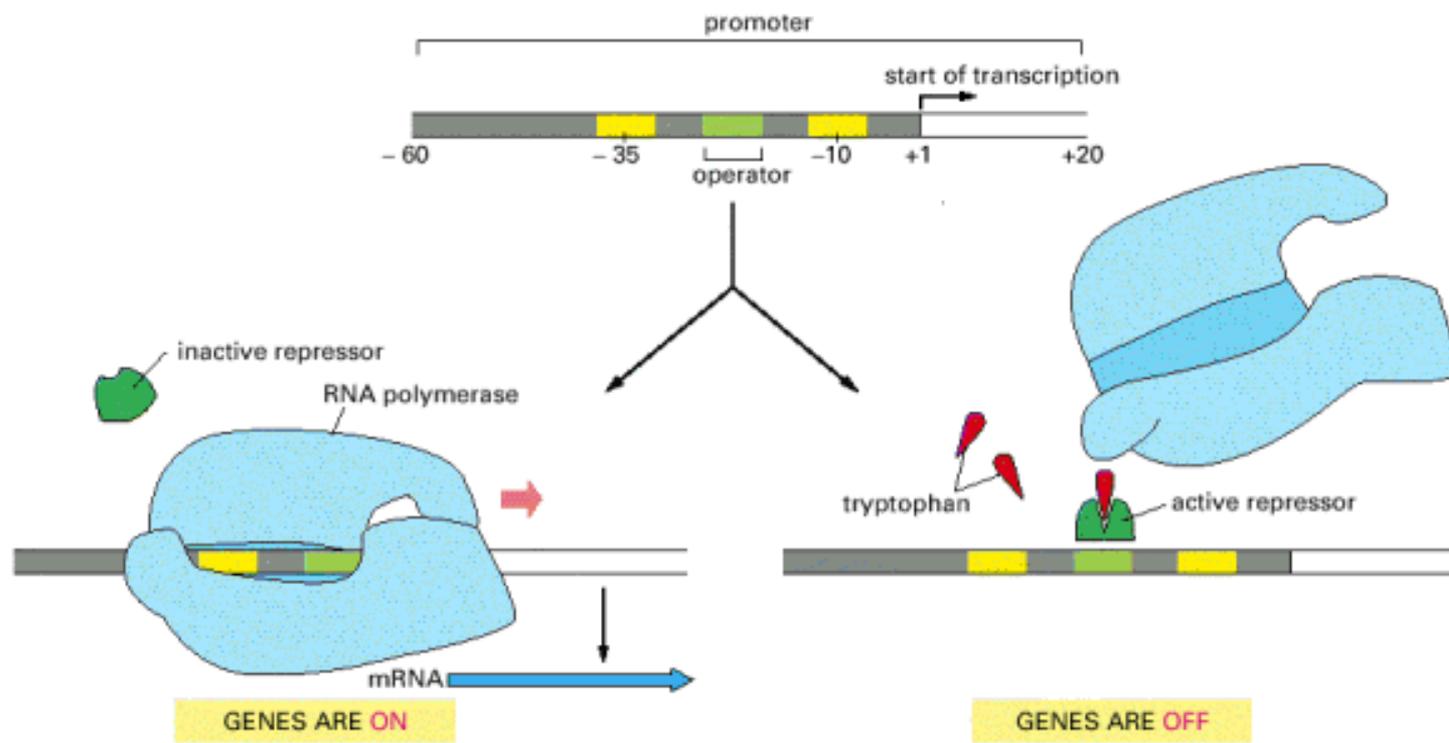
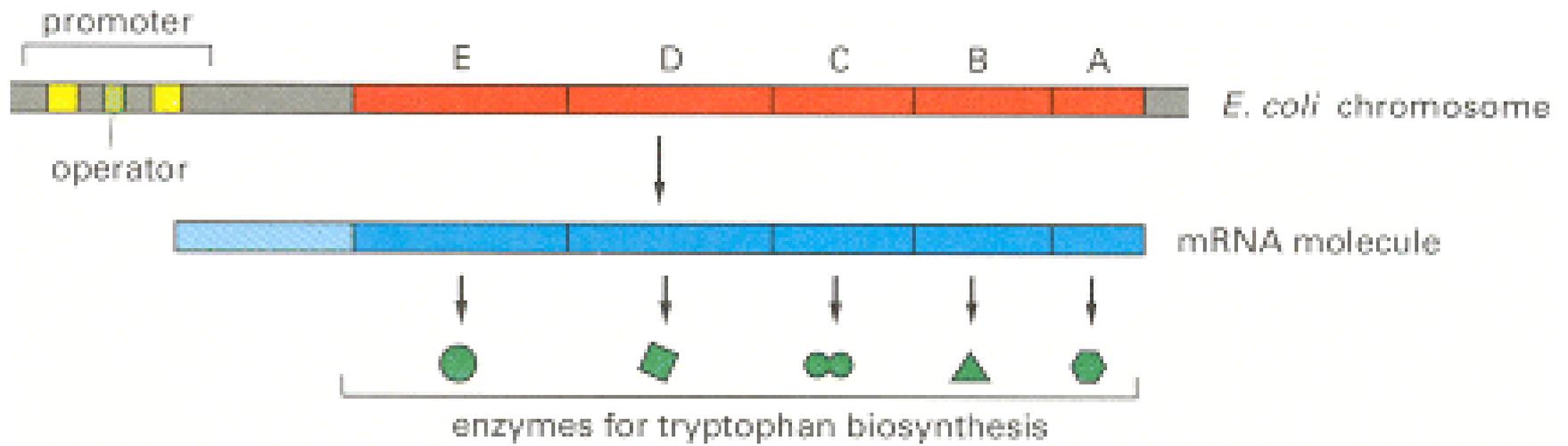


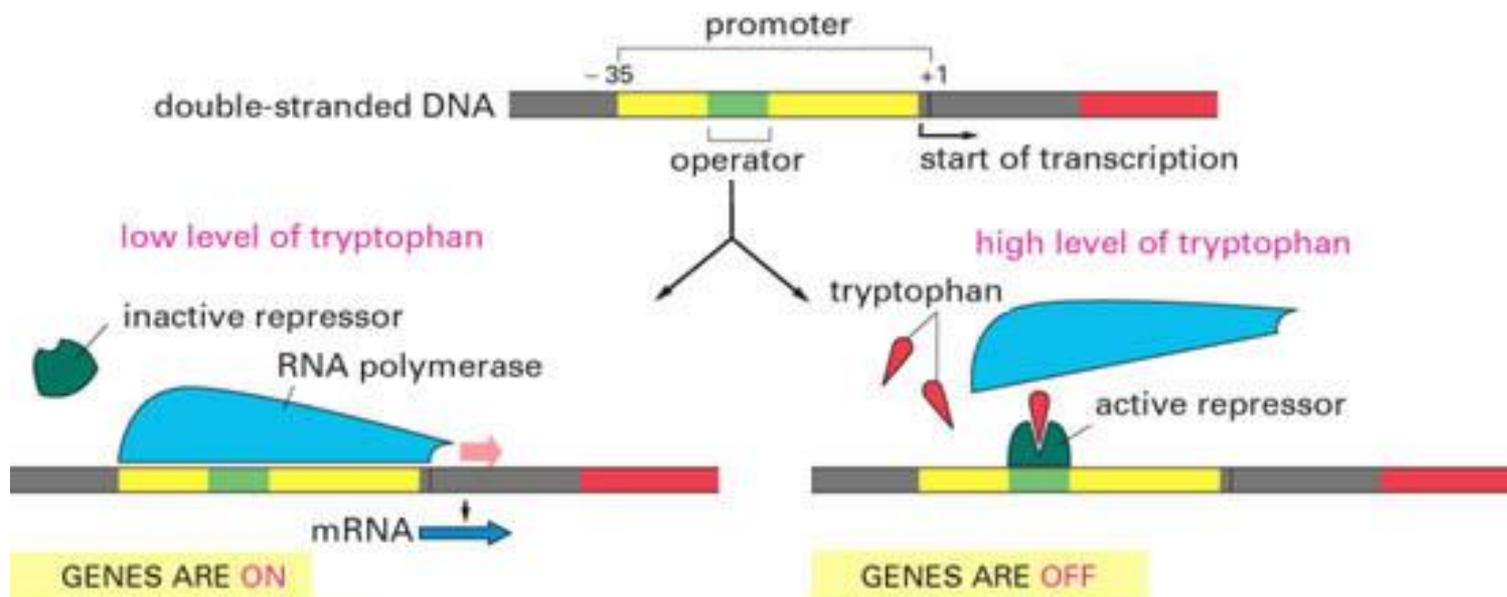
# L'operone del triptofano

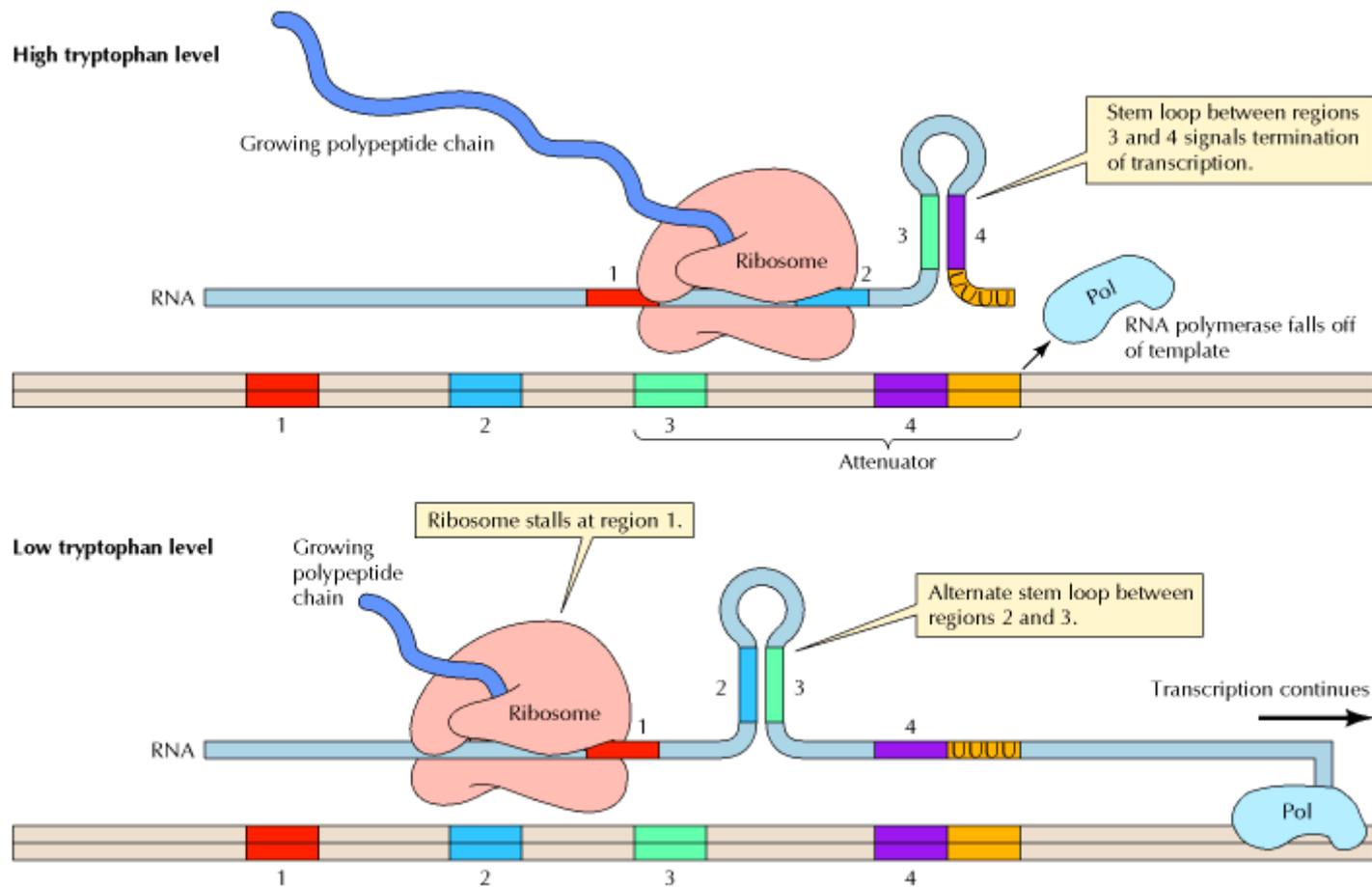
La regolazione dell'operone del triptofano (che contiene i geni per cinque enzimi necessari alla biosintesi di questo amminoacido) è basata su due meccanismi:

il primo implica la presenza di una proteina repressore che viene attivata solo dalla presenza di triptofano, con cui interagisce in modo utile a legarsi alla sequenza bersaglio sul promotore dell'operone bloccando la trascrizione,

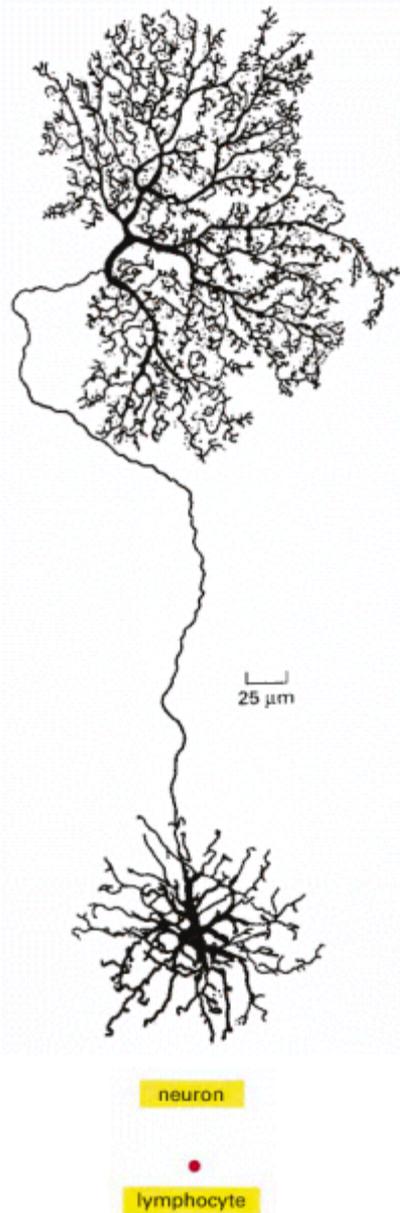
Il secondo meccanismo (l'attenuazione) è esclusivo dei procarioti in quanto opera in modo concertato tra trascrizione e traduzione.







**Mechanism of transcriptional attenuation** The *trp* mRNA is translated while still being synthesized. In the presence of high levels of tryptophan, the ribosomes proceed along the message slightly behind the site of transcription. Under these conditions, the mRNA regions designated 3 and 4 hybridize to form a stem-loop structure that signals the termination of transcription. In the presence of low levels of tryptophan, however, the ribosomes stall at region 1 of the mRNA, which contains two adjacent codons for tryptophan. In this case, since region 2 is not bound to a ribosome, it is free to form an alternative stem-loop structure by hybridizing to region 3. This hybridization prevents formation of the 3 4 stem loop, and transcription is able to continue past the attenuator sequence.



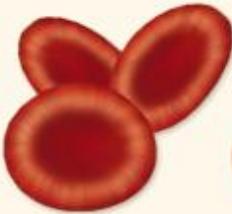
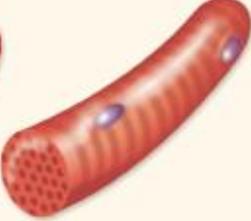
La regolazione dell'espressione genica negli eucarioti è alquanto più complessa che nei procarioti, sia per il maggior numero di geni (da circa 6000 in un eucariote unicellulare molto semplice come il lievito a 20.000-30.000 negli eucarioti pluricellulari, contro 500-5000 nei procarioti), sia soprattutto nei pluricellulari per le esigenze del differenziamento cellulare durante lo sviluppo dell'organismo.

### **Un neurone e un linfocita di mammifero.**

Nonostante le estreme differenze di morfologia, dimensione e funzione, queste due cellule contengono essenzialmente lo stesso patrimonio genetico, e derivano (a seguito di ripetute mitosi accompagnate da differenziamento) da una cellula zigote iniziale.

# Negli eucarioti l'espressione genica specializza le cellule

Le cellule eucariotiche sono specializzate grazie all'attivazione di certi geni.

| Tipo di cellula   | Globulo rosso   | Muscolare  | Pancreatica   |
|---|---|--|---|
|  |   |   |   |
| <b>Tipo di geni</b>   |   |  |   |
| Costitutivo   |    |    |    |
| Per l'emoglobina  |    |    |    |
| Per l'insulina  |  |  |  |
| Per la miosina  |  |  |  |

Esempi di espressione genica in cellule specializzate: i geni «accesi» sono quelli contrassegnati in colore.

## **Livelli di modulazione dell'espressione genica in eucarioti**

**1. pre-trascrizionale cromatinico**

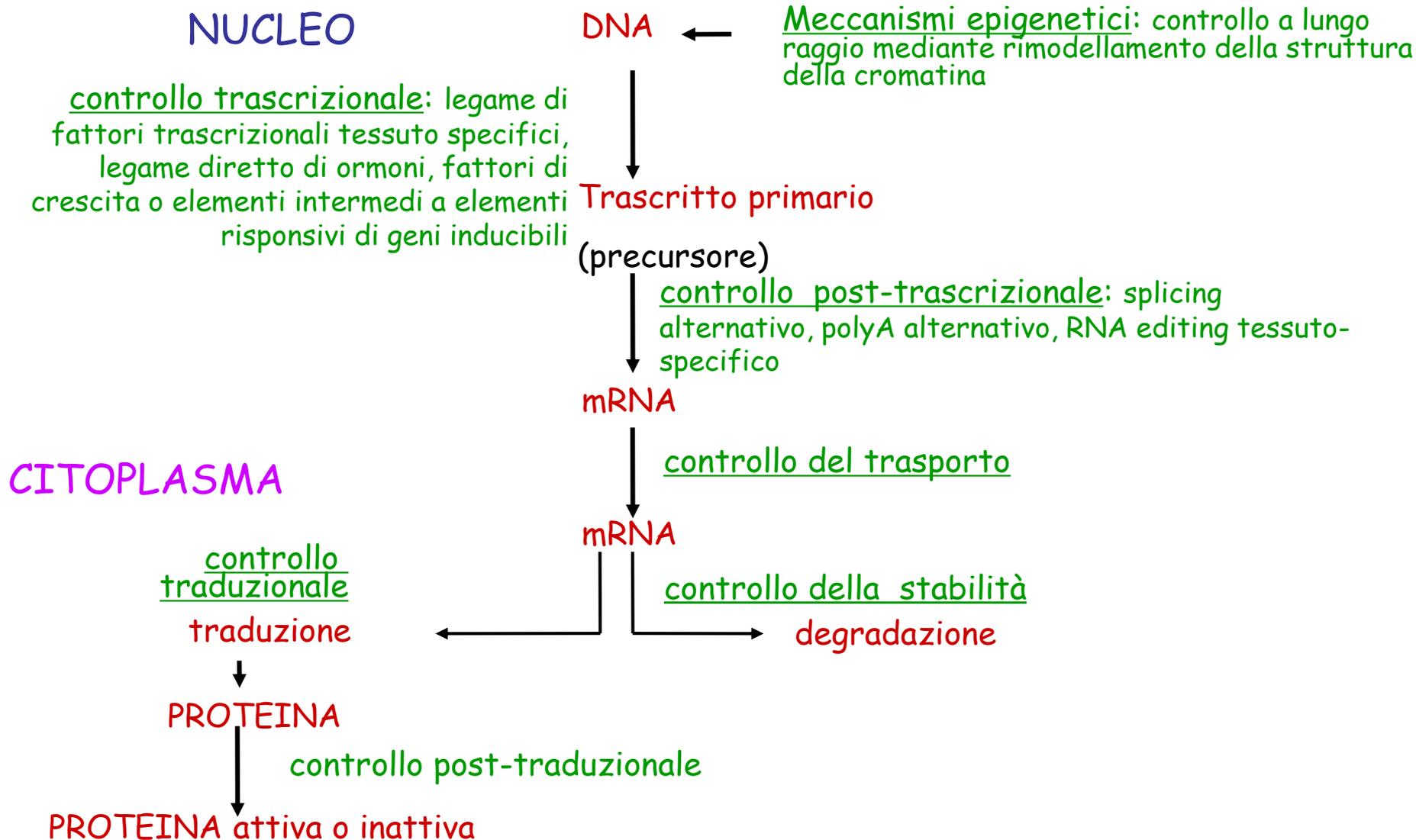
**2. trascrizionale**

**3. post-trascrizionale**

**4. traduzionale**

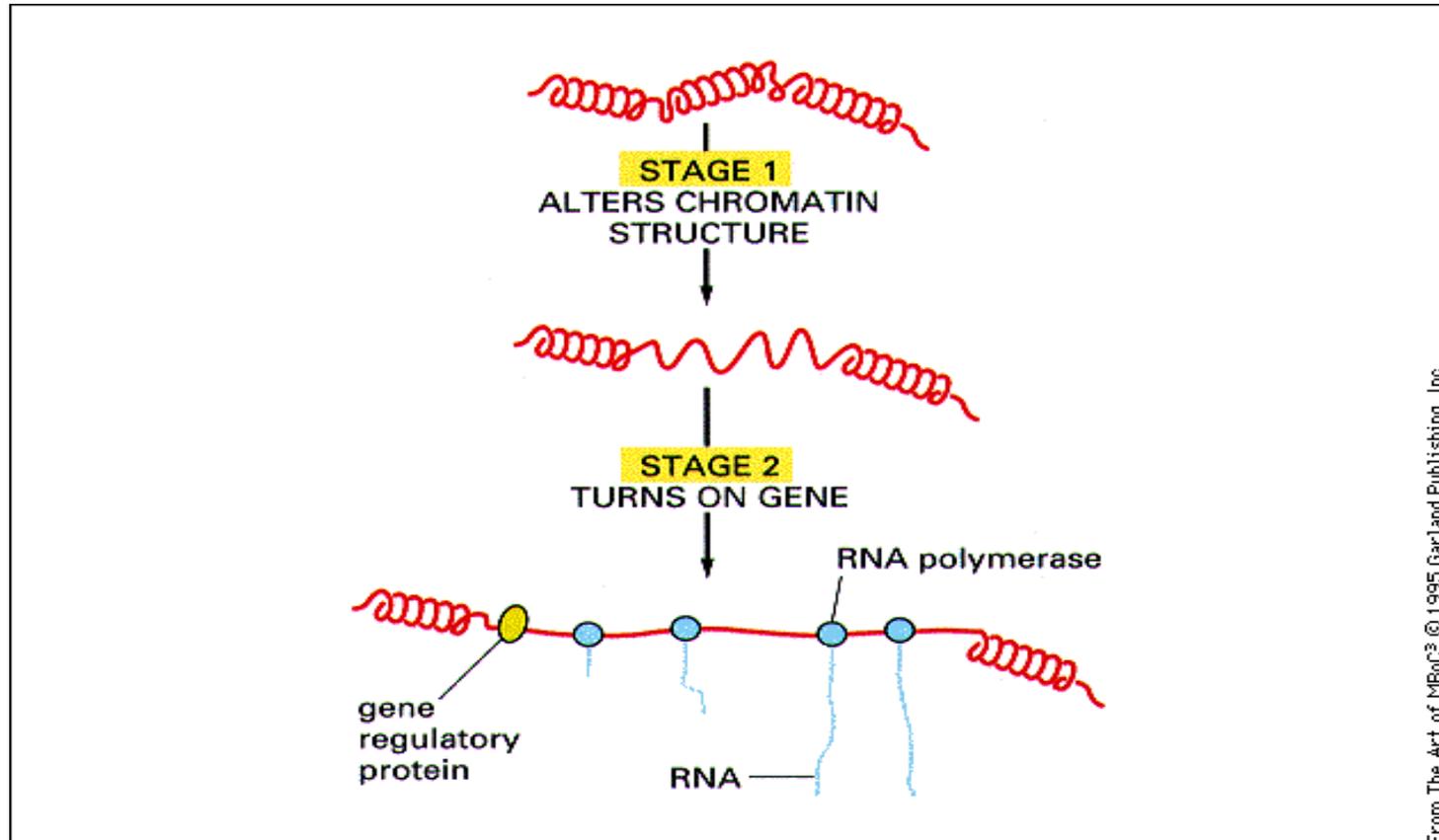
**5. post-traduzionale, controllo sull'attività della proteina**

# I livelli di regolazione dell'espressione genica

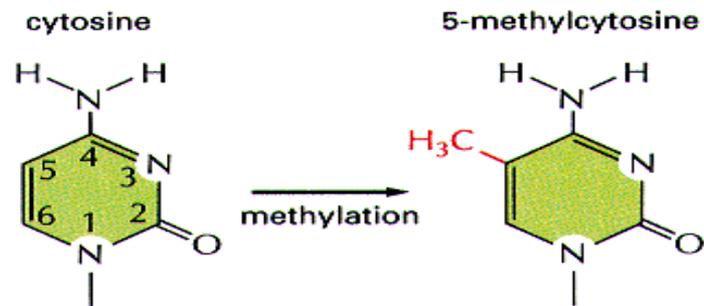


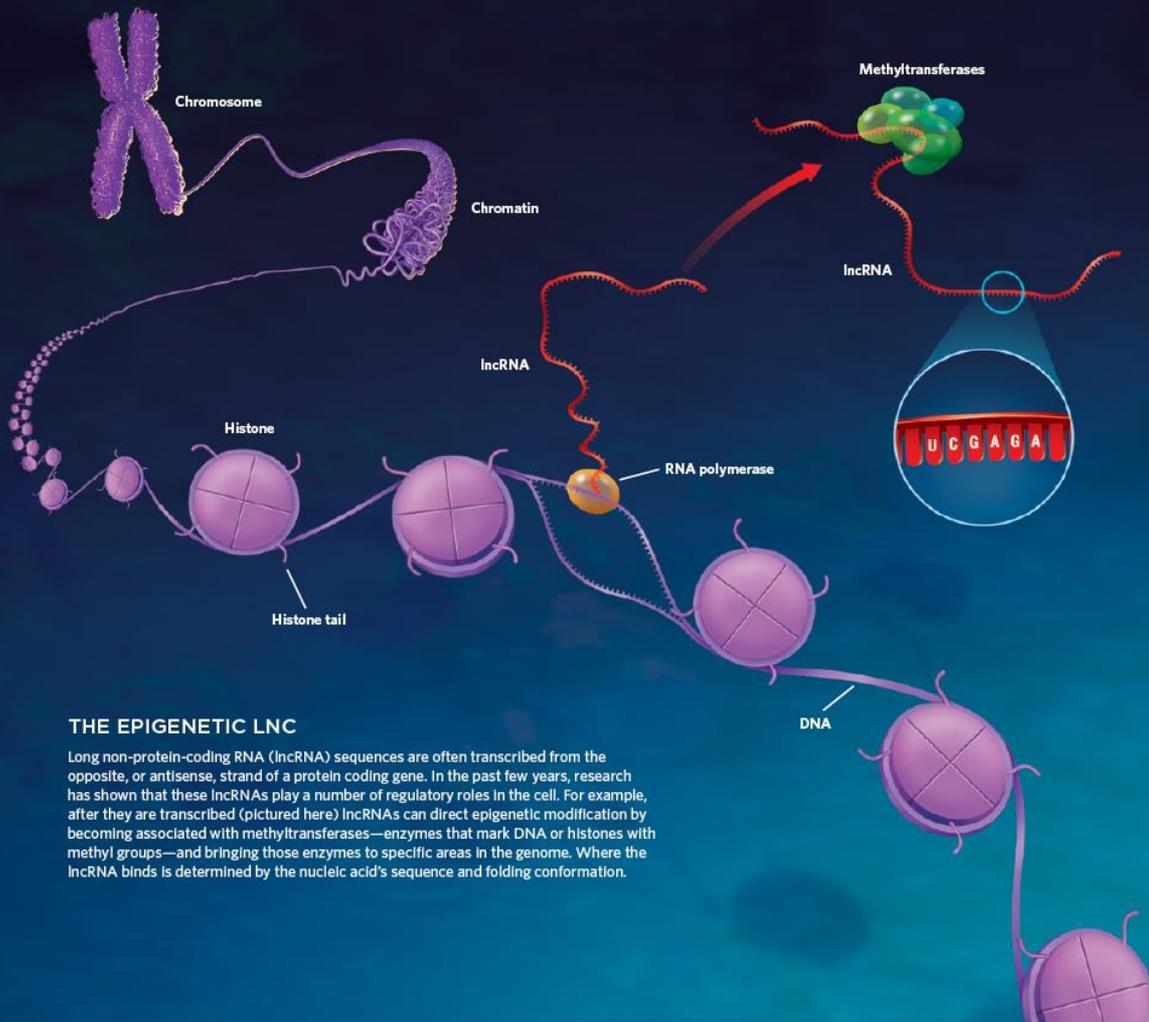
# Il primo livello di regolazione riguarda lo stato di condensazione della cromatina nel nucleo

La decondensazione locale “scopre” il DNA: dissociazione (temporanea) dagli istoni e accessibilità al macchinario della trascrizione



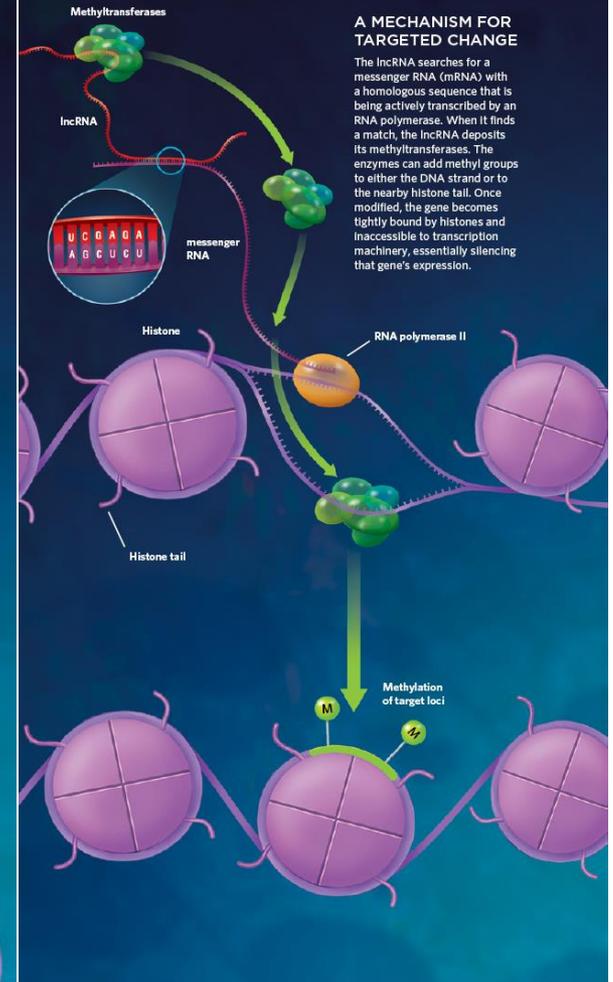
# I geni trascrizionalmente attivi hanno promotori ipometilati





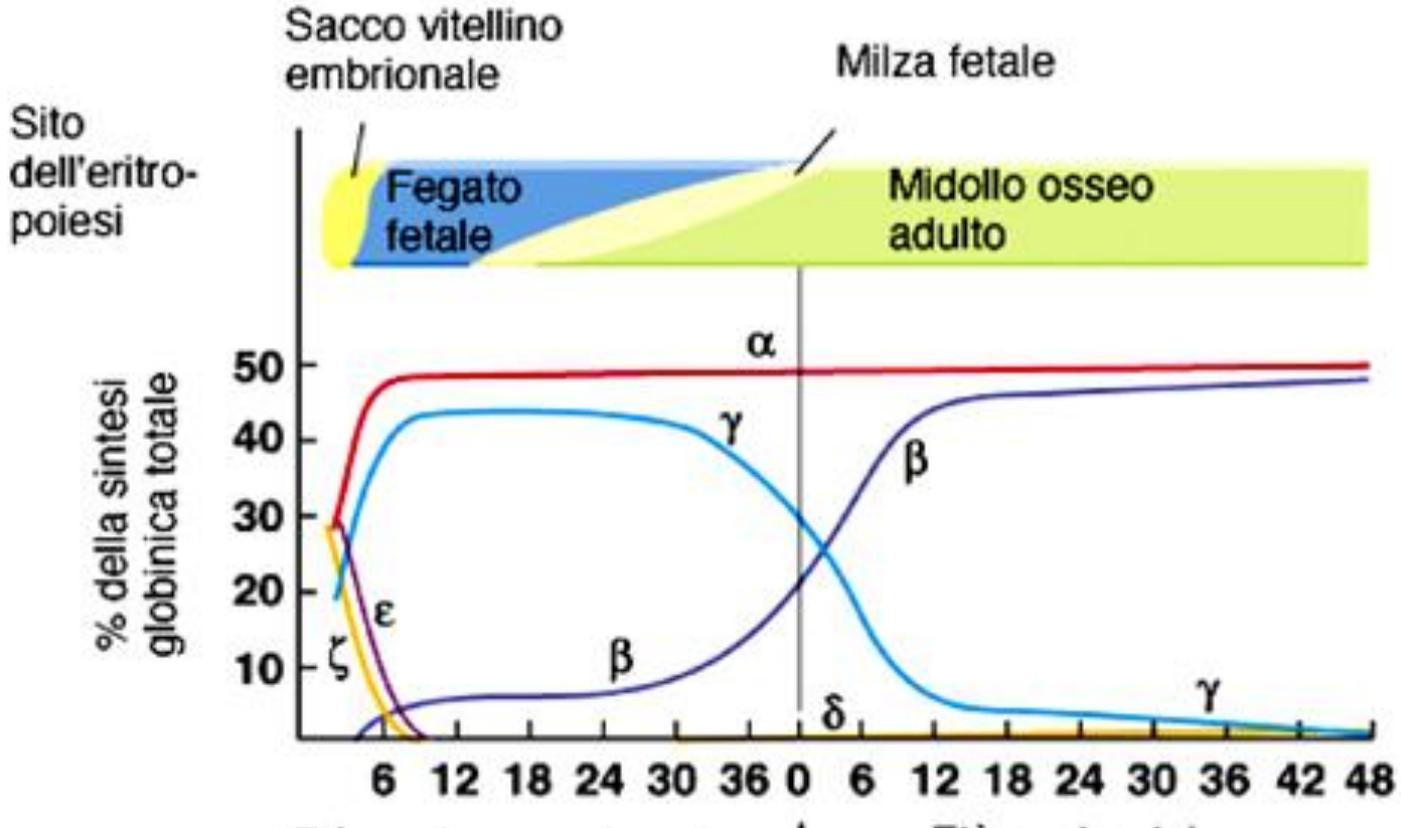
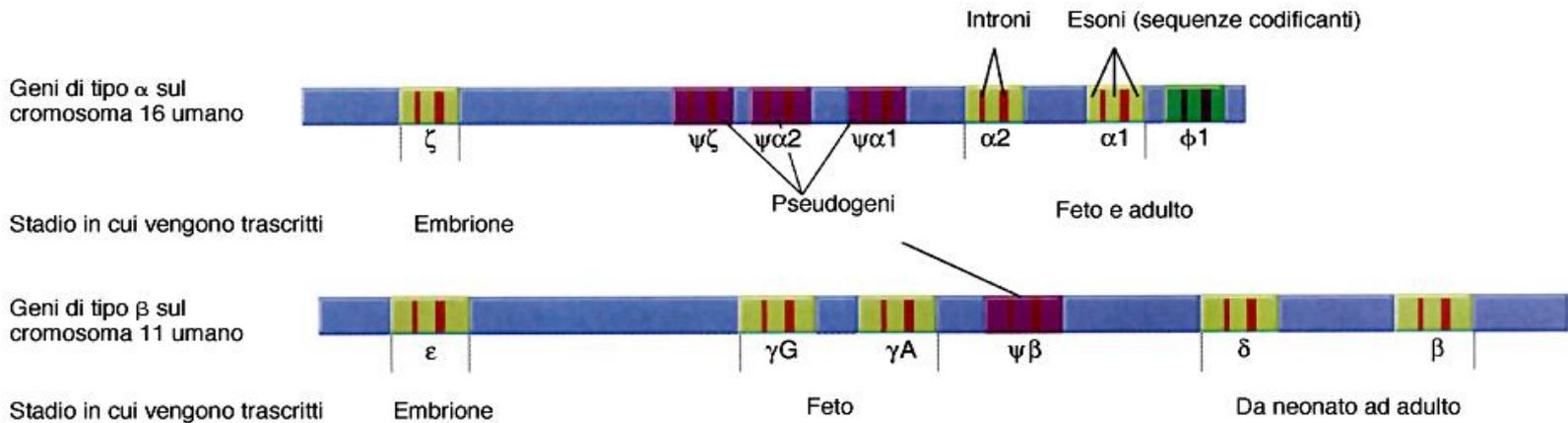
### THE EPIGENETIC LNC

Long non-protein-coding RNA (lncRNA) sequences are often transcribed from the opposite, or antisense, strand of a protein coding gene. In the past few years, research has shown that these lncRNAs play a number of regulatory roles in the cell. For example, after they are transcribed (pictured here) lncRNAs can direct epigenetic modification by becoming associated with methyltransferases—enzymes that mark DNA or histones with methyl groups—and bringing those enzymes to specific areas in the genome. Where the lncRNA binds is determined by the nucleic acid's sequence and folding conformation.



### A MECHANISM FOR TARGETED CHANGE

The lncRNA searches for a messenger RNA (mRNA) with a homologous sequence that is being actively transcribed by an RNA polymerase. When it finds a match, the lncRNA deposits its methyltransferases. The enzymes can add methyl groups to either the DNA strand or to the nearby histone tail. Once modified, the gene becomes tightly bound by histones and inaccessible to transcription machinery, essentially silencing that gene's expression.



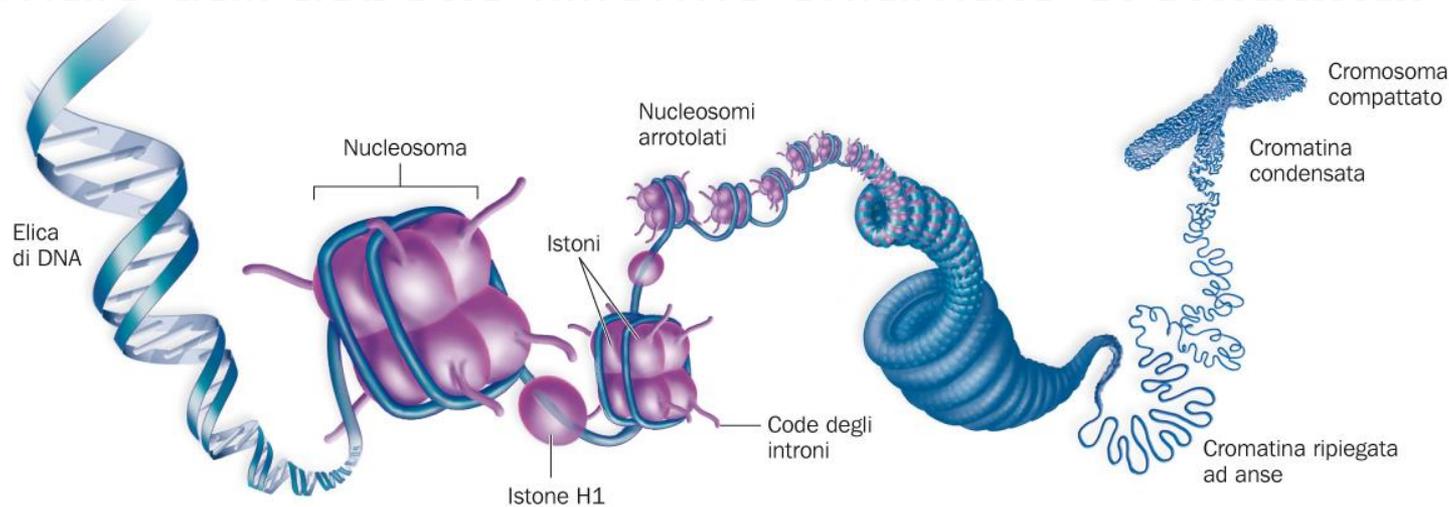
**Il controllo trascrizionale è molto importante**

**Esistono molte proteine di regolazione che legano il DNA (fattori trascrizionali)**

**Appartengono a famiglie e presentano MOTIVI STRUTTURALI COMUNI molto conservati**  
**MOTIVI conservati••HELIX—TURN--HELIX••ZINC FINGER**  
**••LEUCINE ZIPPER**

# Negli eucarioti l'espressione genica è controllata a vari livelli

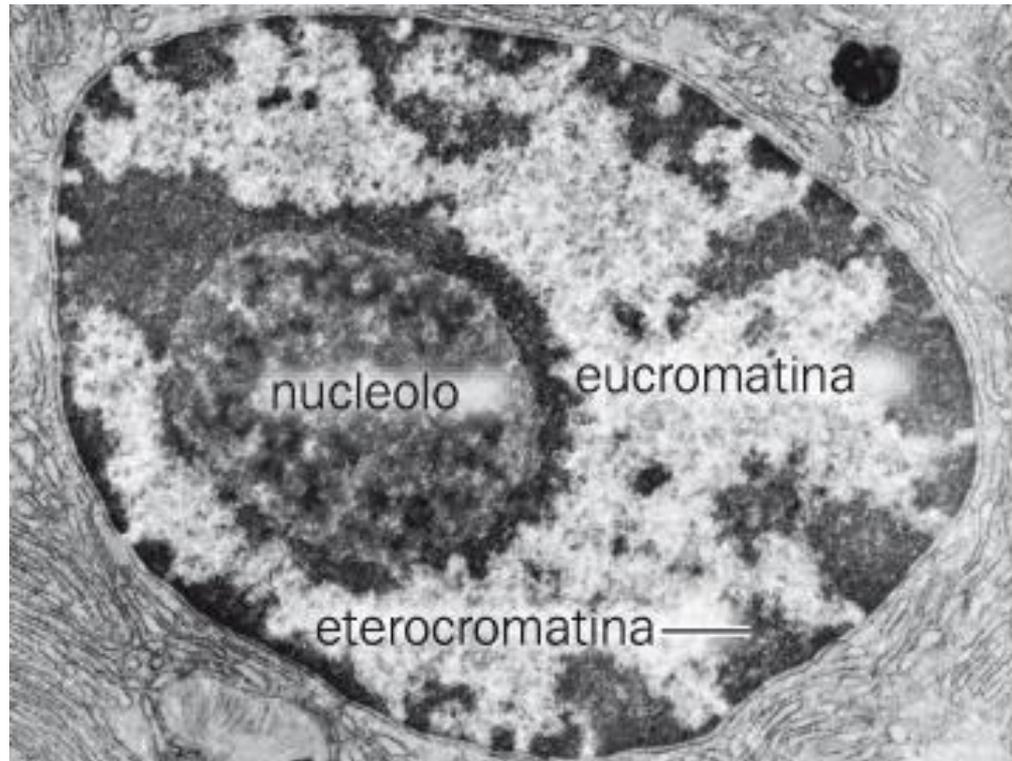
Negli eucarioti il DNA è sempre associato con abbondanti proteine. L'acido nucleico e le proteine formano un materiale dall'aspetto filiforme chiamato **cromatina**.



Durante la divisione cellulare, la cromatina si condensa notevolmente formando i **cromosomi**.

# I geni fortemente condensati nella cromatina non vengono espressi

Nell'interfase la maggior parte della cromatina si trova in uno stato poco condensato, lasso, chiamato **euromatina**. I geni posti nell'euromatina possono venire espressi.



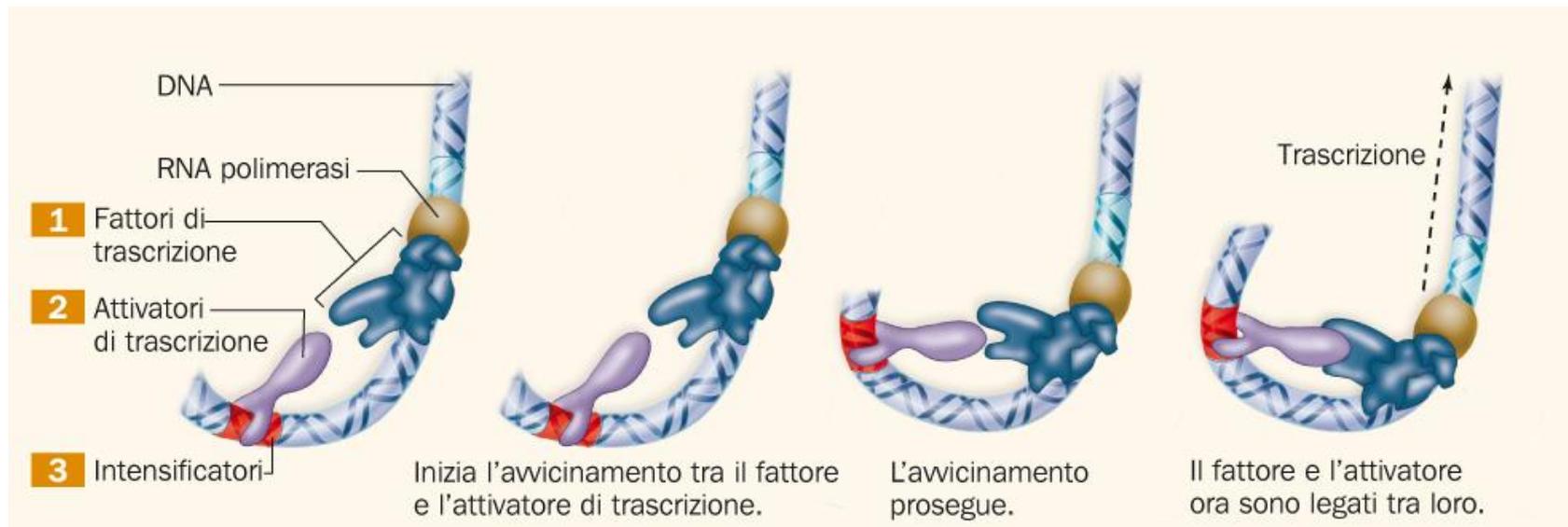
**Ogni gene ha diverse sequenze regolatrici**  
**Le sequenze di regolazione a cui si legano**  
**i fattori trascrizionali sono:**

- **Promotori**
- **Intensificatori (Enhancer )**
- **Silenziatori**

**Diversi fattori trascrizionali specifici devono**  
**essere presenti per accendere completamente**  
**un gene “accendere”**

# Negli eucarioti le proteine legate al DNA regolano la trascrizione

I **fattori di trascrizione** sono proteine che regolano la trascrizione del DNA. Gli **attivatori di trascrizione** sono coinvolti nella promozione della trascrizione; essi si legano a regioni di DNA chiamate **intensificatori** (o *enhancers*).



# **Il controllo post post-trascrizionale:**

- **splicing alternativo**
- **stabilità del mRNA**

Nell uomo, il numero di geni molto inferiore all'atteso

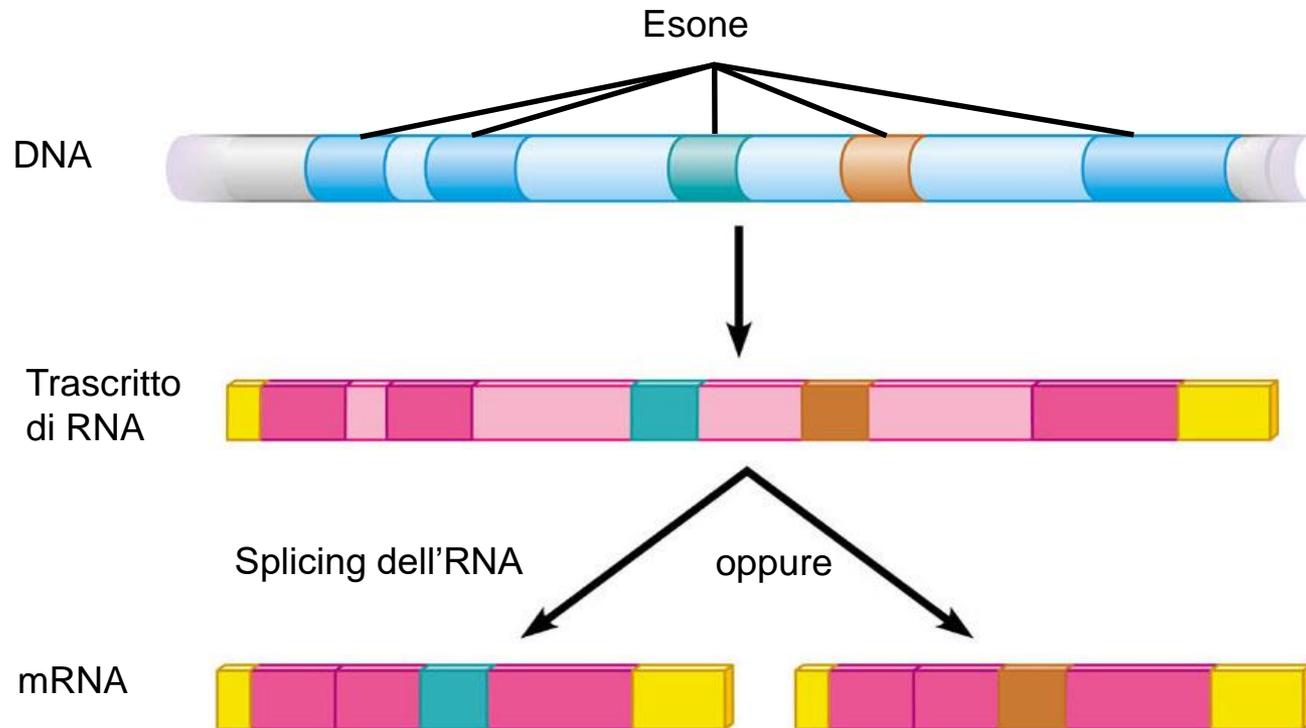
Il genoma umano contiene circa 23,000 geni

Il trascrittoma : almeno il 75% dei geni hanno splicing  
alternativo :

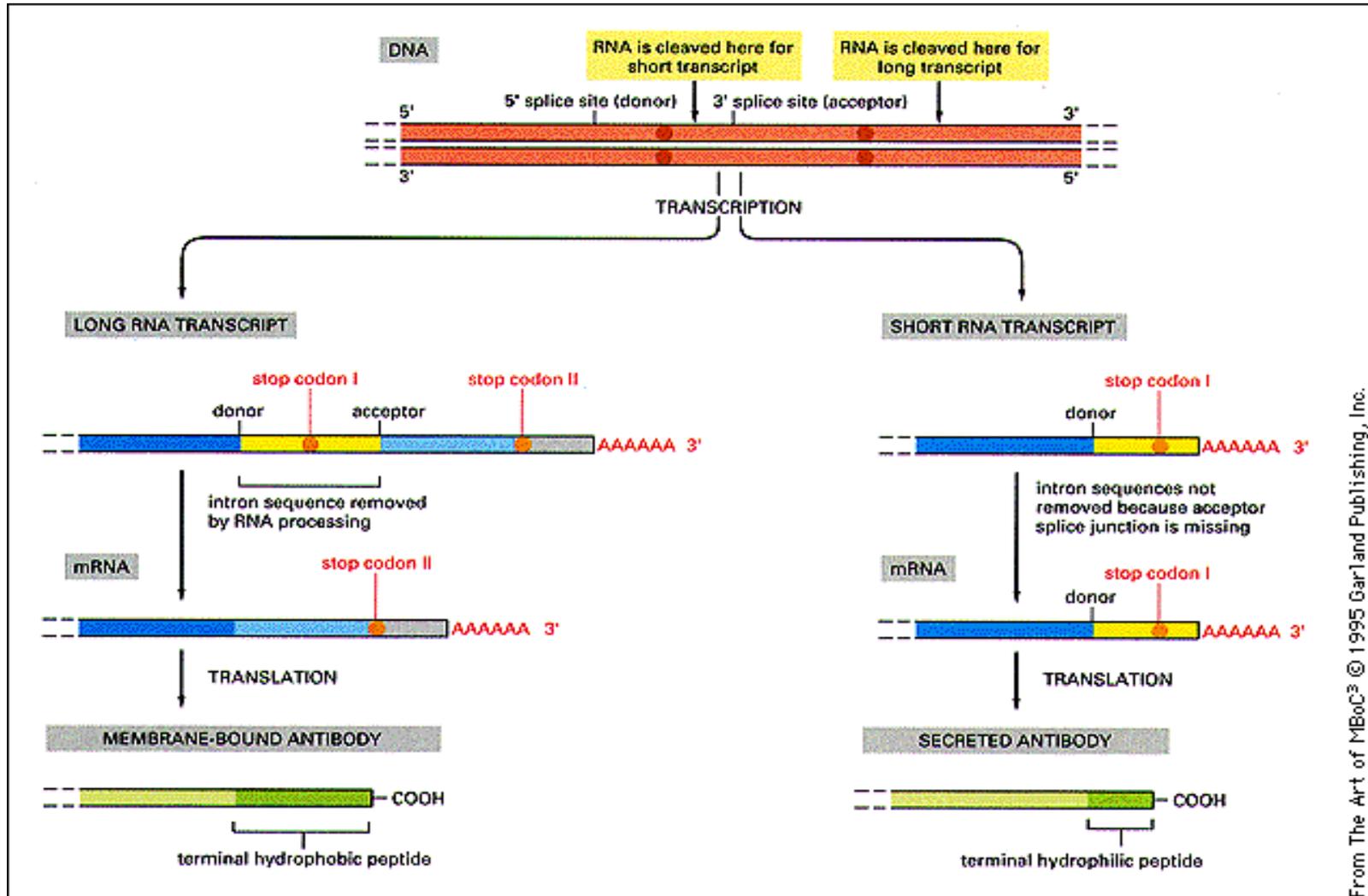
Il proteoma : nel ~70% dei casi, lo splicing genera  
sequenze aa diverse, quindi il proteoma costituito da  
50.000- 60.000 membri

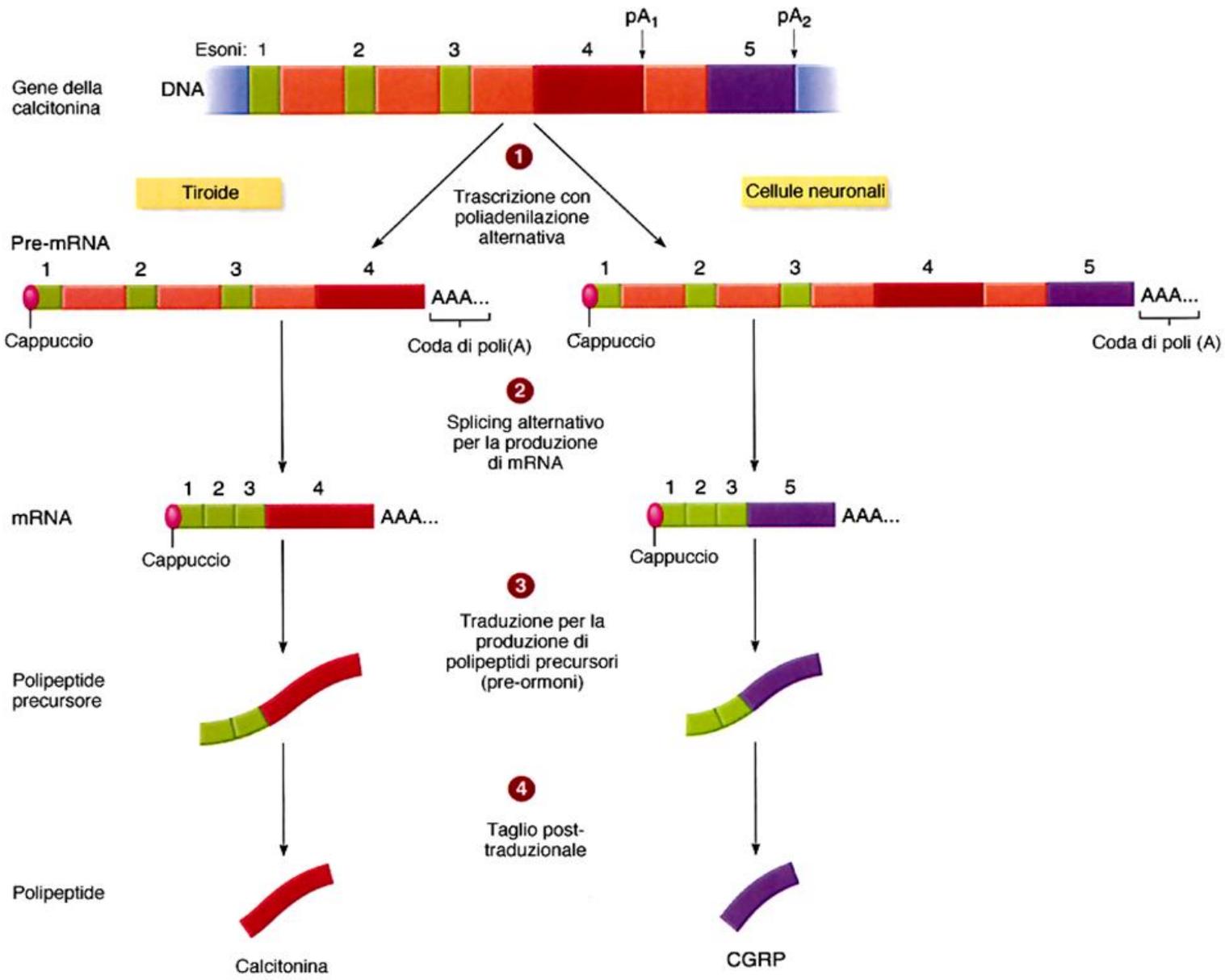
# Controllo dopo la trascrizione

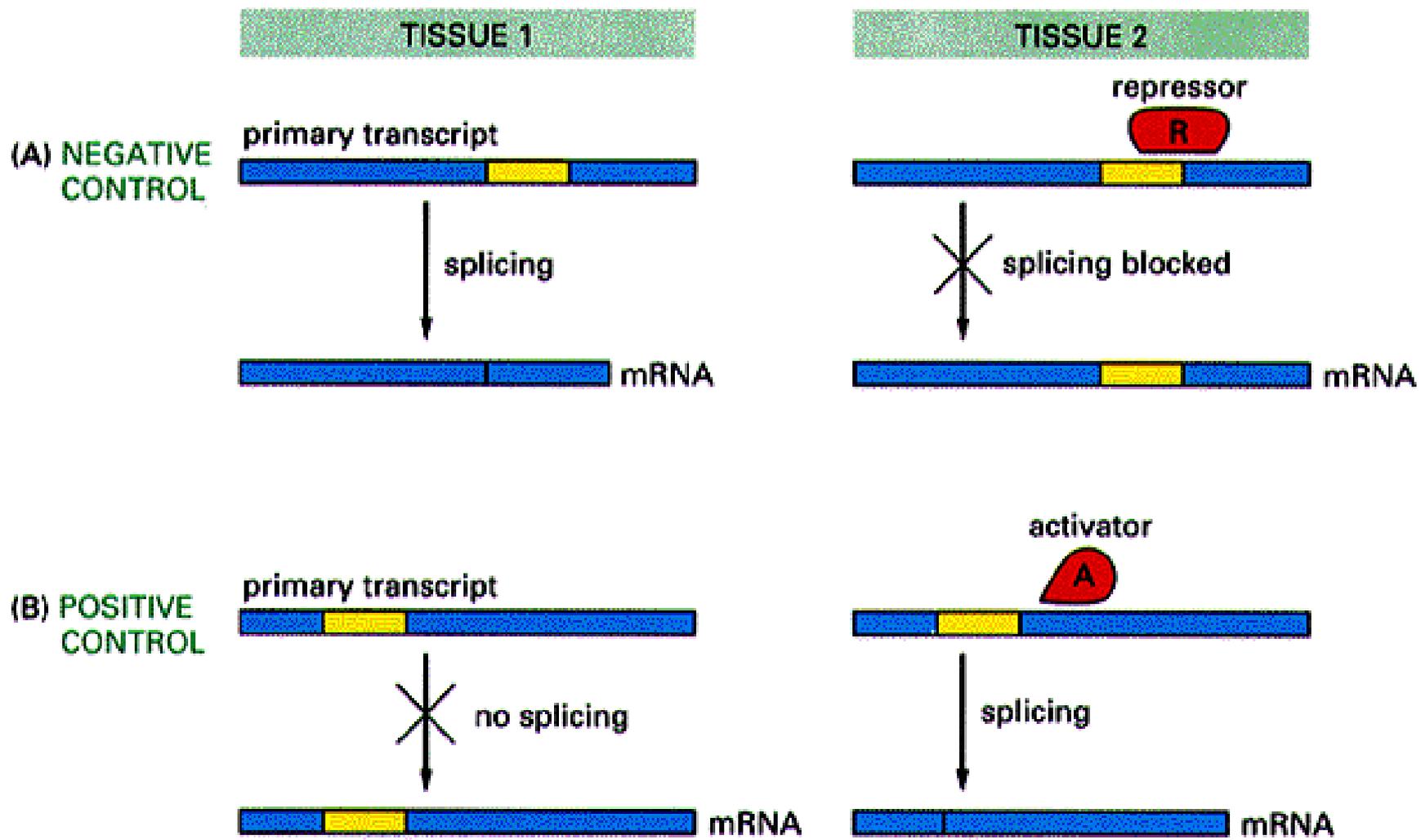
- i segmenti non codificanti (introni) vengono rimossi grazie al processo di **splicing**. In alcuni casi la cellula svolge lo splicing in maniera differente (**splicing alternativo**) e genera diverse molecole di mRNA a partire dallo stesso trascritto di RNA.



# Poliadenilazione e splicing alternativi: anticorpi di membrana e di secrezione nei linfociti







# Editing dell'RNA

Possibilità di modificare la sequenza nucleotidica di un RNA dopo che è stato trascritto.

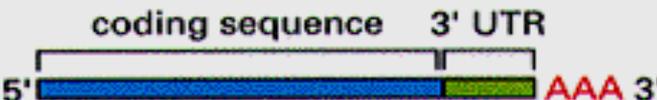
Un ulteriore modo per produrre da un unico gene una varietà di proteine correlate.

# Un ulteriore livello di regolazione post-trascrizionale: la stabilità dell' mRNA

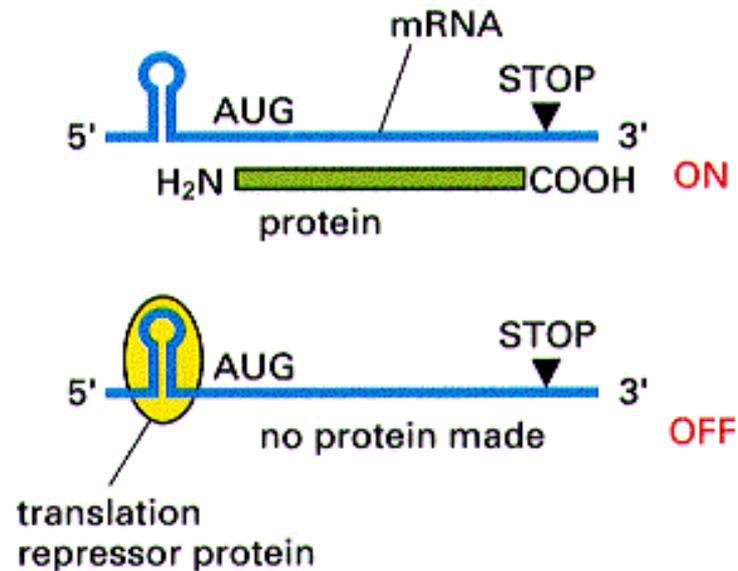
## Meccanismi che regolano la degradazione del mRNA:

- Accorciamento o distacco della coda di poli-A
- Perdita del 3'UTR ad opera di endonucleasi specifiche

### THE STABILITY OF NATURAL mRNAs

|  |  |                      | HALF-LIFE                         |  |
|--|--|----------------------|-----------------------------------|--|
|    | $5'$ coding sequence $3'$ UTR AAA $3'$ | $\beta$ -globin mRNA | STABLE                            | > 10 hours   |
|   | $5'$ coding sequence $3'$ UTR AAA $3'$ | growth factor mRNA   | UNSTABLE                          | 30 minutes   |
|  | $5'$ coding sequence $3'$ UTR          | histone mRNA         | DNA SYNTHESIS MODULATES STABILITY | 1 hour when cell is synthesizing DNA, but 12 minutes when cell is not synthesizing DNA |

# Regolazione dell'espressione genica a livello della traduzione



## Controllo durante la traduzione

- Dopo che l'mRNA è stato modificato e trasferito dal nucleo al citoplasma, avvengono altre forme di controllo dell'espressione genica:
  - demolizione più o meno rapida dell'mRNA;
  - attivazione della traduzione;
  - modificazione dei polipeptidi tradotti;
  - demolizione delle proteine.

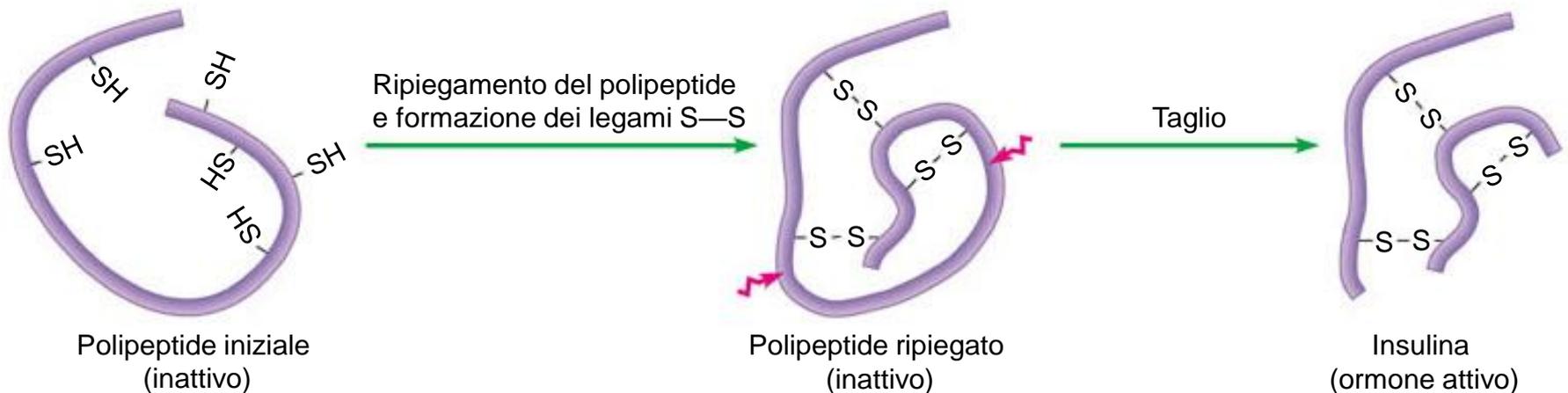
# **Controllo post—traduzionale dell'attività delle proteine**

- Modificazioni allosteriche**
- Modificazioni covalenti: Livello di fosforilazione**
- Attivazione con tagli proteolitici della proteina precursore**
- Presenza/assenza inibitore**
- Localizzazione/Compartimentalizzazione**
- Ubiquitinazione e direzionamento al proteasoma**

# Controllo dopo la traduzione

- *L'attivazione delle proteine*

I polipeptidi che si formano dopo la traduzione non sempre sono già pronti ad agire: spesso devono essere modificati per diventare funzionali.



# La regolazione dell'espressione genica

- Una visione d'insieme dell'espressione genica negli eucarioti
- I molteplici meccanismi che controllano l'espressione genica sono analoghi alle valvole di controllo delle tubazioni.

