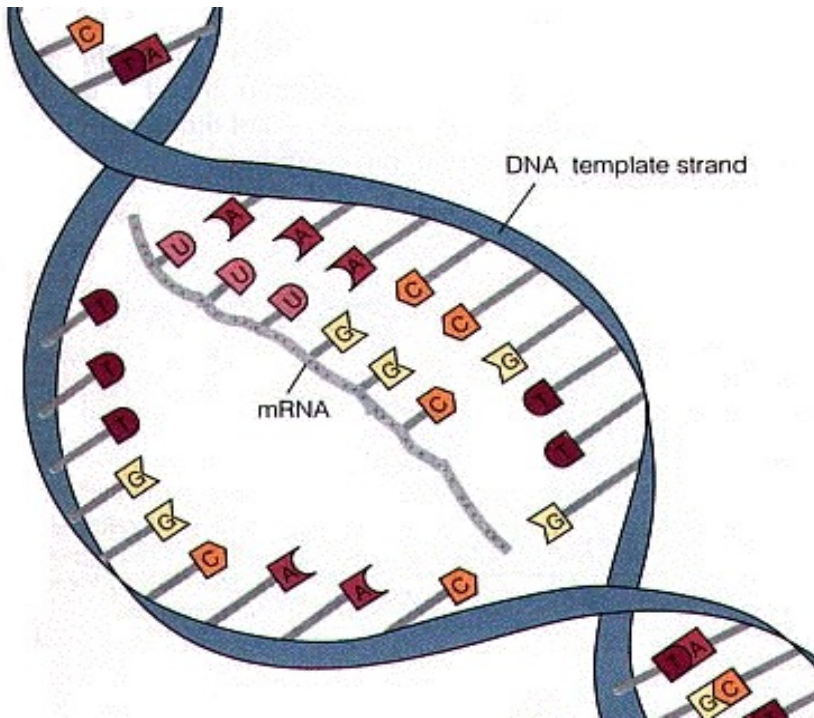
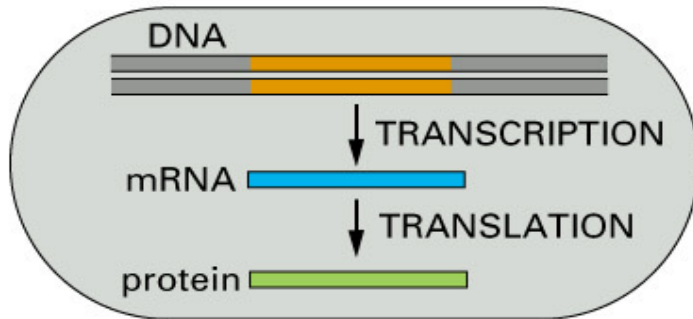


TRASCRIZIONE NEGLI EUCARIOTI

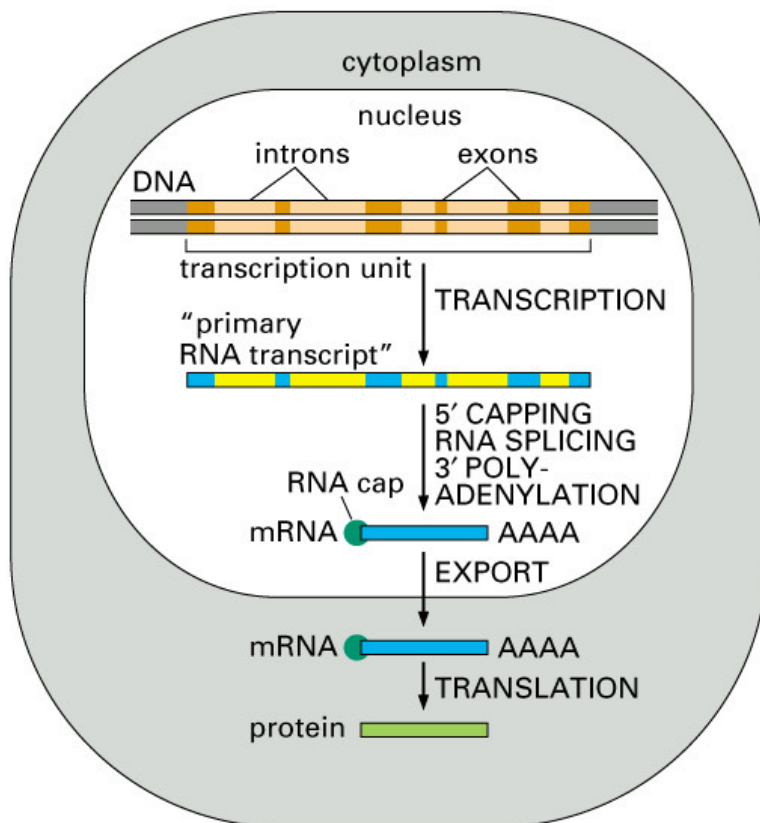


PROCARYOTES



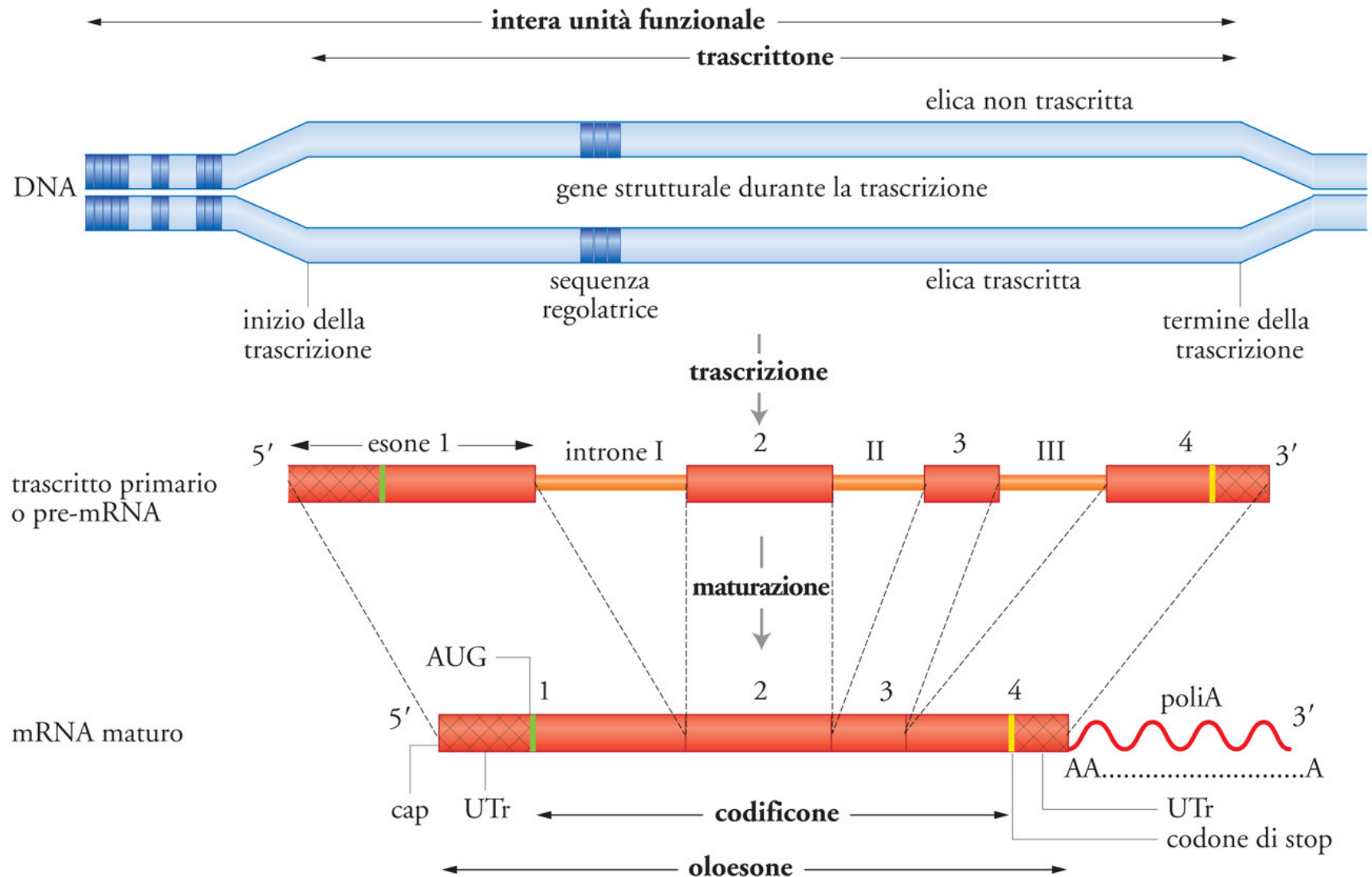
Nei batteri i trascritti prodotti sono direttamente utilizzati per la sintesi proteica (trascrizione accoppiata a traduzione)

EUCARYOTES



Negli eucarioti la trascrizione è accompagnata e seguita da una serie di modificazioni covalenti alle estremità dell'RNA e dalla rimozione di tratti del trascritto. Tali modificazioni avvengono nel nucleo. Nel caso dei trascritti prodotti dalla RNA Pol II si distingue tra pre-mRNA (non ancora modificati) e mRNA (modificati). Gli mRNA vengono esportati nel citoplasma, dove servono da "messaggeri" per la traduzione

STRUTTURA DI UN GENE EUCARIOTICO

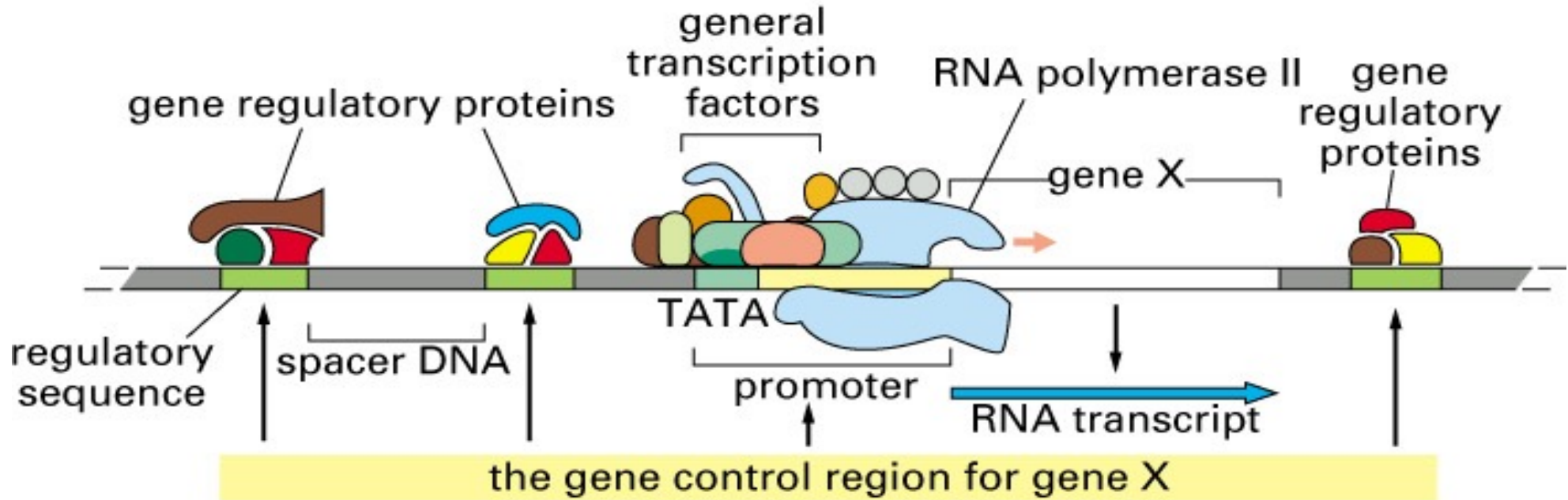


RNA POLIMERASI EUCARIOTICHE

Nei nuclei delle cellule eucariotiche si trovano 3 RNA polimerasi (I, II e III), ciascuna costituita da più subunità

ENZIMA	Localizzazione	Geni trascritti
RNA Pol I	Nucleolus	RNA ribosomiale 45s (precursor of 28S, 18S e 5.8S)
RNA Pol II	Nucleoplasm	mRNA , snoRNA e alcuni snRNA
RNA Pol III	Nucleoplasm	tRNA rRNA 5S snRNA U6 Sequenze ripetitive (Alu, etc.)

Mechanism of RNA Polymerases

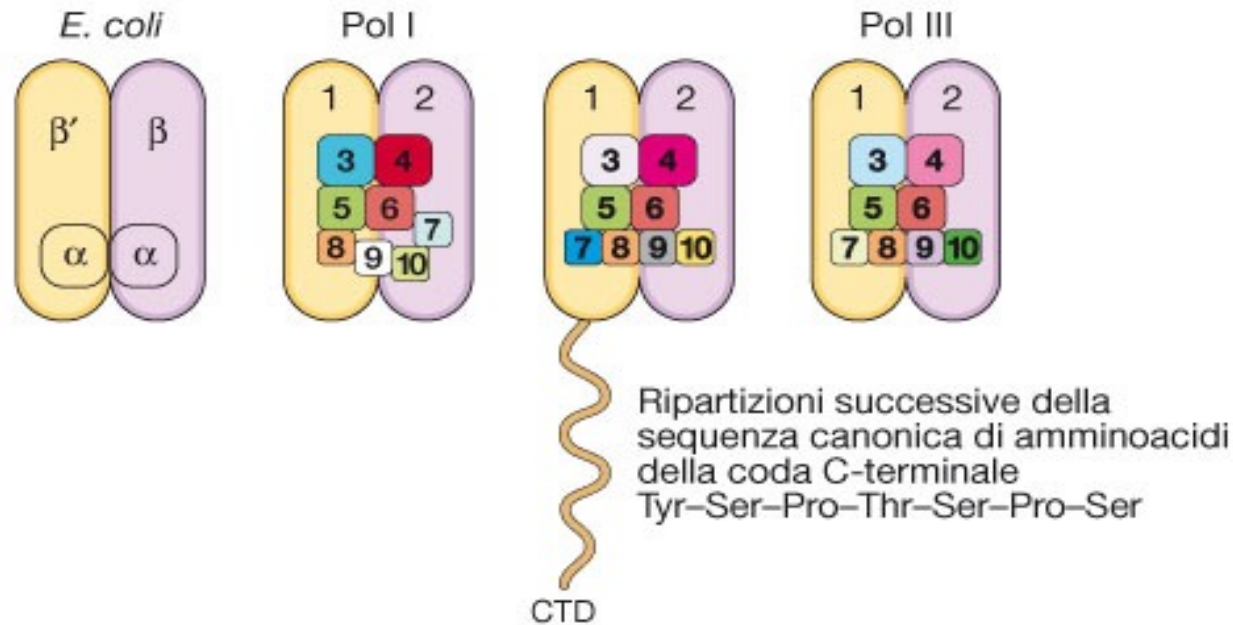


1. Transcription initiates, both in prokaryotes and eukaryotes, from many more sites than replication.
2. There are many more molecules of RNA polymerase per cell than DNA polymerase.
3. RNA polymerase proceeds at a rate much slower than DNA polymerase (approximately 50–100 bases/sec for RNA versus near 1000 bases/sec for DNA).
4. Finally the fidelity of RNA polymerization is much lower than DNA. This is allowable since the aberrant RNA molecules can simply be turned over.

IL MACCHINARIO PROTEICO DELLA TRASCRIZIONE

- RNA Polimerasi
- Fattori Generali della Trascrizione
- Attivatori, Repressori, Co-attivatori
- Fattori di trascrizione

RNA polimerasi II



L' RNA polimerasi II eucariota è molto simile strutturalmente a quella batterica, ma esistono delle **importanti differenze funzionali**:

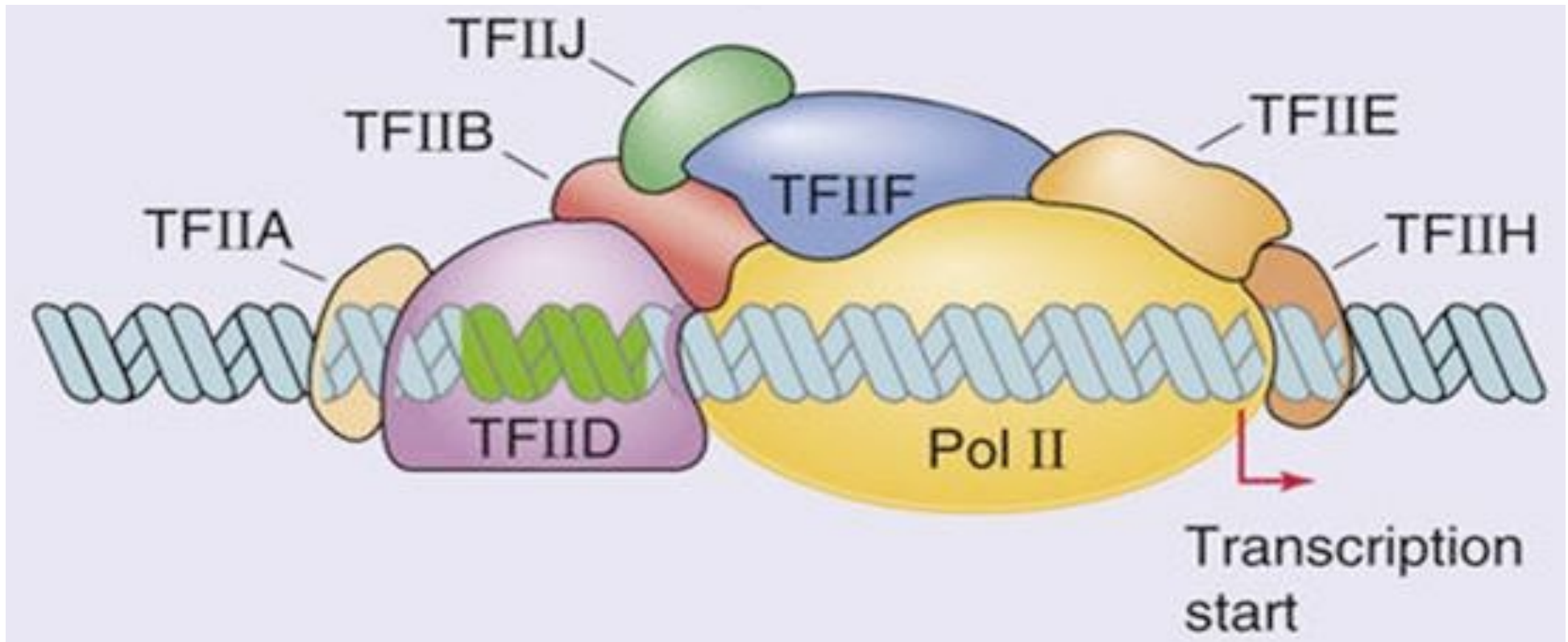
- la RNA pol negli eucarioti devono affrontare la struttura della cromatina
- la RNAPolII degli eucarioti richiede un set di proteine aggiuntive, chiamate
FATTORI GENERALI DELLA TRASCRIZIONE

FATTORI GENERALI DELLA TRASCRIZIONE

- aiutano il posizionamento della RNAPol nella regione del promotore
- contribuiscono allo svolgimento della doppia elica di DNA
- aiutano il distacco della RNAPol dal promotore e l'avvio della fase di elongazione
- si chiamano GENERALI perchè si assemblano su **tutti** i promotori usati dalla RNAPol II

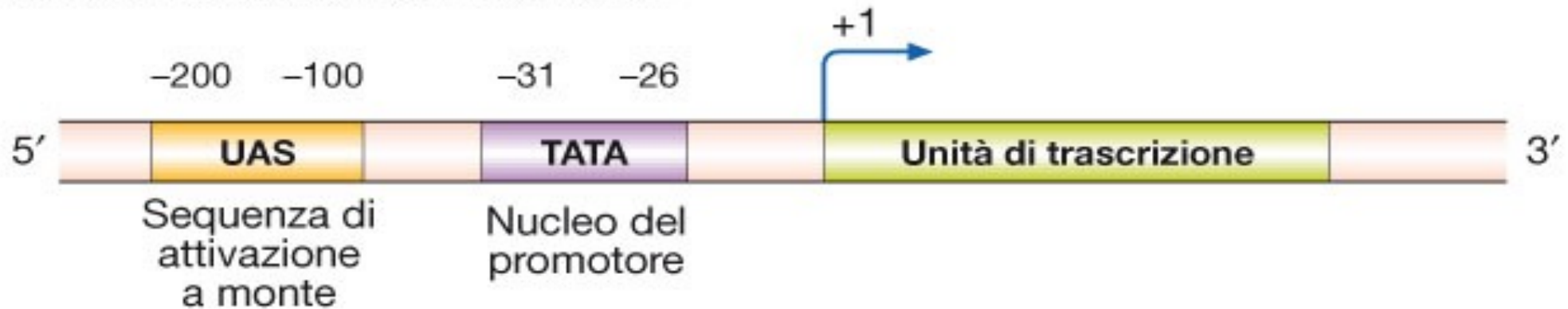
Fattore	Numero di subunità	Peso molecolare delle subunità in kDa	Funzioni
TFIIA	3	12, 19, 35	Stabilizza il legame di TBP e TFIIB
TFIIB	1	25	Lega TBP, seleziona il sito di inizio della trascrizione e recluta Pol II
TFIID	12	da 15 a 250	Interagisce con i fattori di regolazione ed è formata da TBP e TAF
TBP	1	38	Subunità di TFIID, si lega in maniera specifica alla TATA box
TFIIE	2	34, 57	Recluta TFIIH nel complesso di pre-inizio
TFIIF	2	30, 74	Lega Pol II e TFIIB
TFIIH		da 38 a 98	Ha un'attività elicasica che apre il promotore, fosforila la coda C-terminale (CTD) di Pol II
Pol II	12	da 10 a 220	Catalizza la sintesi dell'RNA usando il DNA come stampo
<i>Totale</i>	42	più di 1000	

Together with Pol II, the general transcription factors constitute the basal transcriptional machinery, which is also known as the **RNA polymerase holoenzyme**



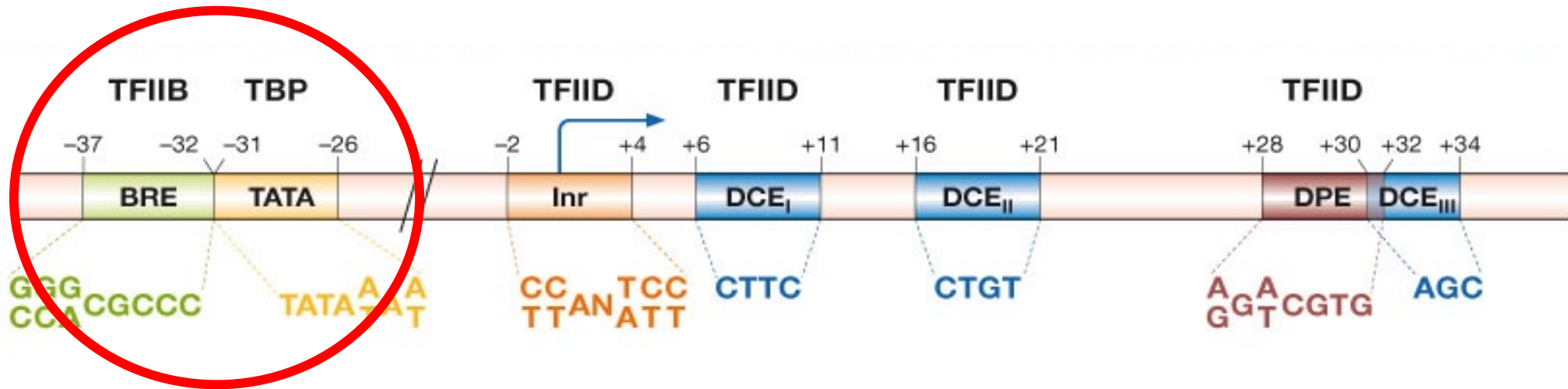
Il promotore tipico della RNA Pol II in LIEVITO

A. Unità di trascrizione del lievito



In lievito il promotore è costituito da una TATA box e da un elemento UAS (*upstream activating sequence*) riconosciuto da attivatori specifici.

PROMOTORE MINIMO EUCARIOTICO

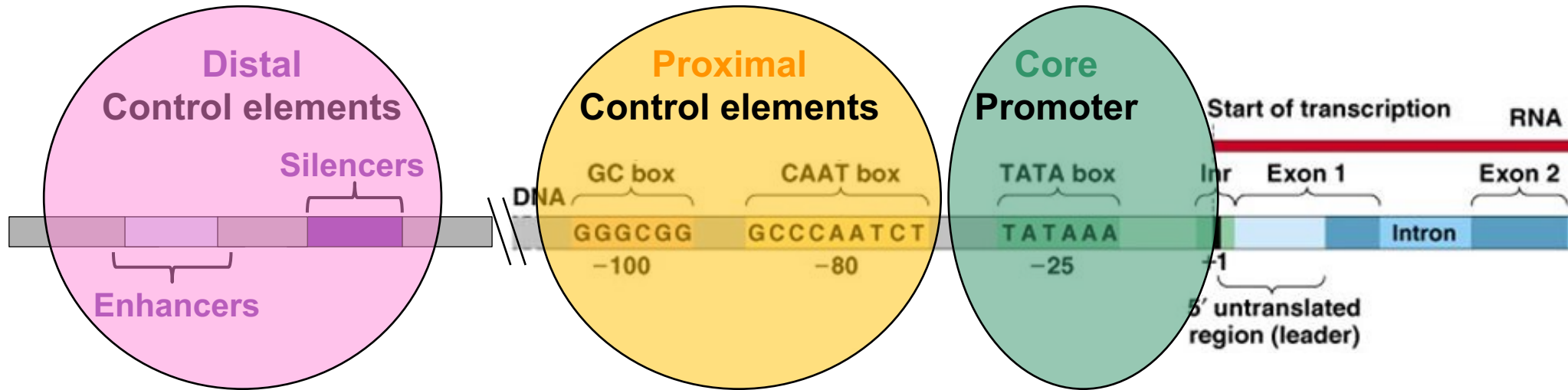


Il **promotore minimo** di PolII e' il tratto di DNA indispensabile per far iniziare la trascrizione.

Contiene **la TATA box**, preceduta, in genere, dall'elemento **BRE** (*B responsive element*) cui si lega TFIIB.

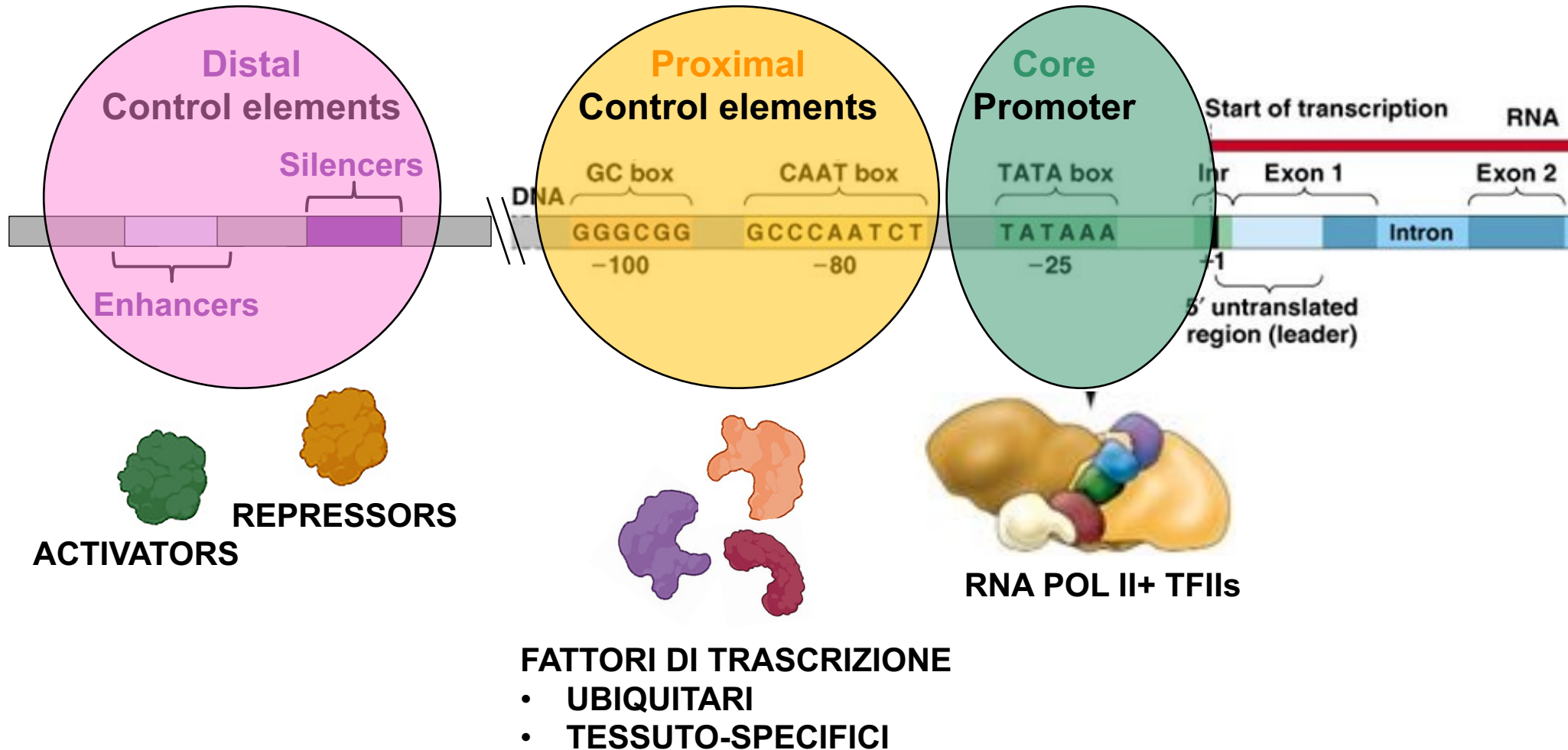
I siti di legame per gli altri fattori generali della trascrizione si trovano a valle del sito di inizio della trascrizione, sempre nella regione considerata "PROMOTORE".

UNITA' TRASCRIZIONALE EUCARIOTICA



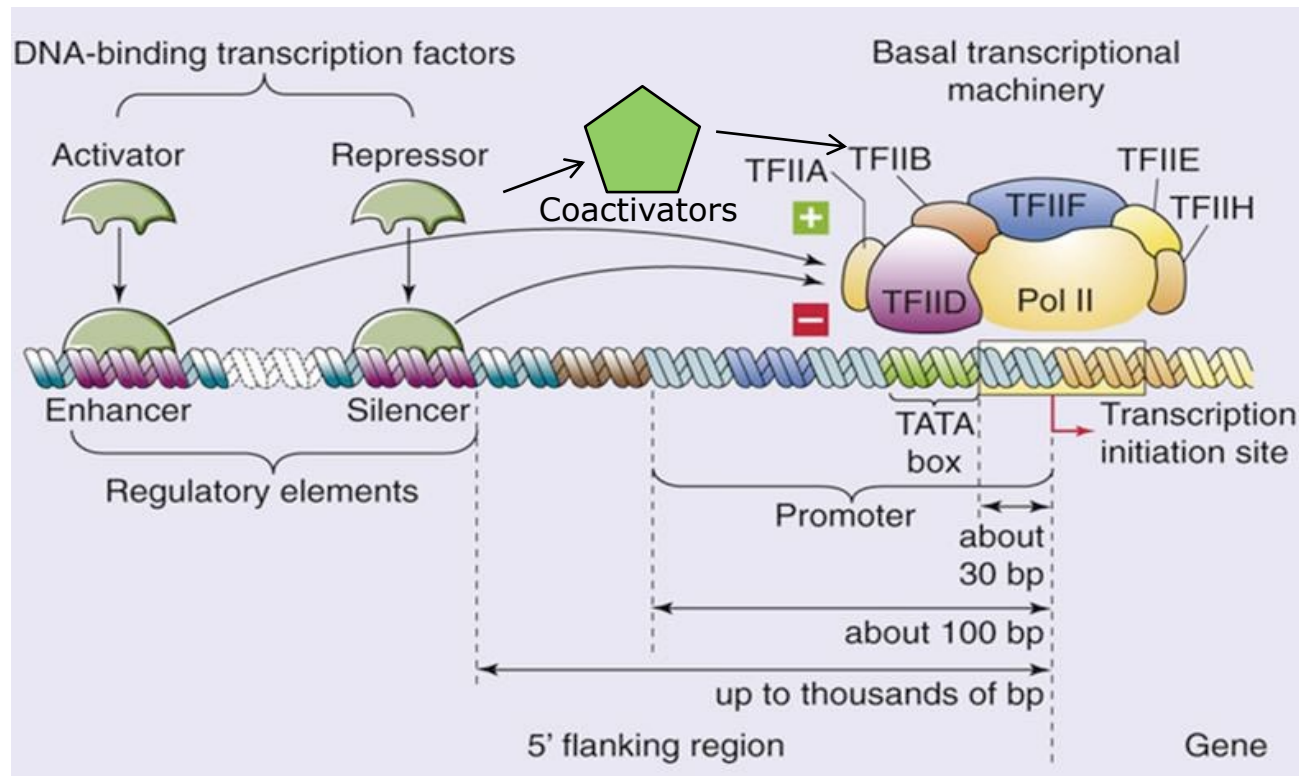
Oltre al promotore minimo, l'Unità Trascrizionale Eucariotica contiene **elementi regolatori prossimali** (nei pressi del sito d'inizio della trascrizione) ed **elementi distali**, fino a 10kbp dal sito d'inizio, detti anche elementi regolatori a lungo raggio.

CHI SI LEGA?



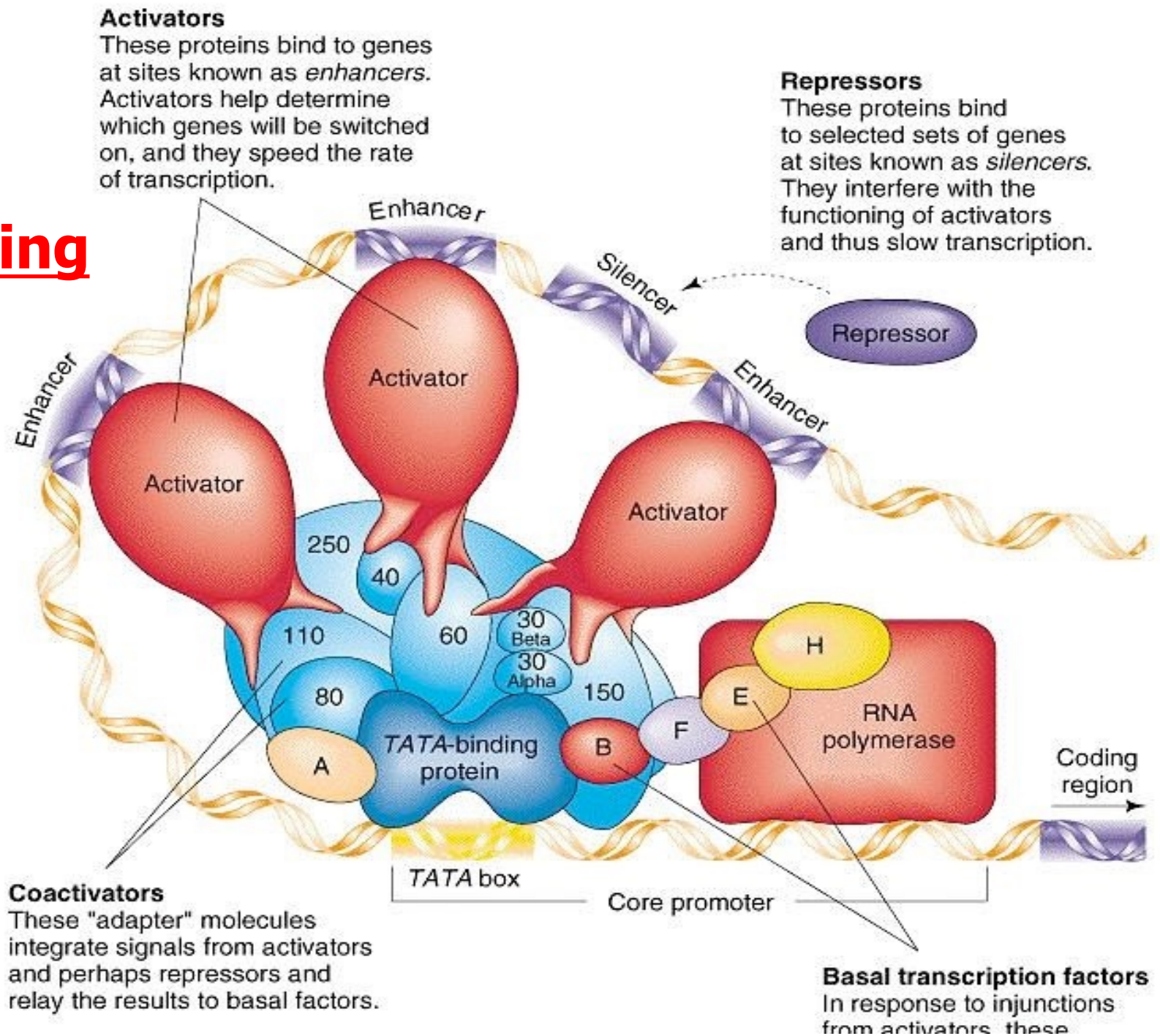
A COMPREHENSIVE MODEL OF REGULATION OF RNA POLYMERASE II TRANSCRIPTION:

- **Activators** bind to **enhancer** sites, increasing transcription of a gene.
- **Repressors** bind to **silencer** sites, decreasing transcription of a gene, possibly by interfering with activators.
- **Coactivators** bind to activators and/or repressors (at one end) and to basal factors (at the other end). The coactivators somehow communicate the signal from activators and/or repressors to the RNA polymerase.

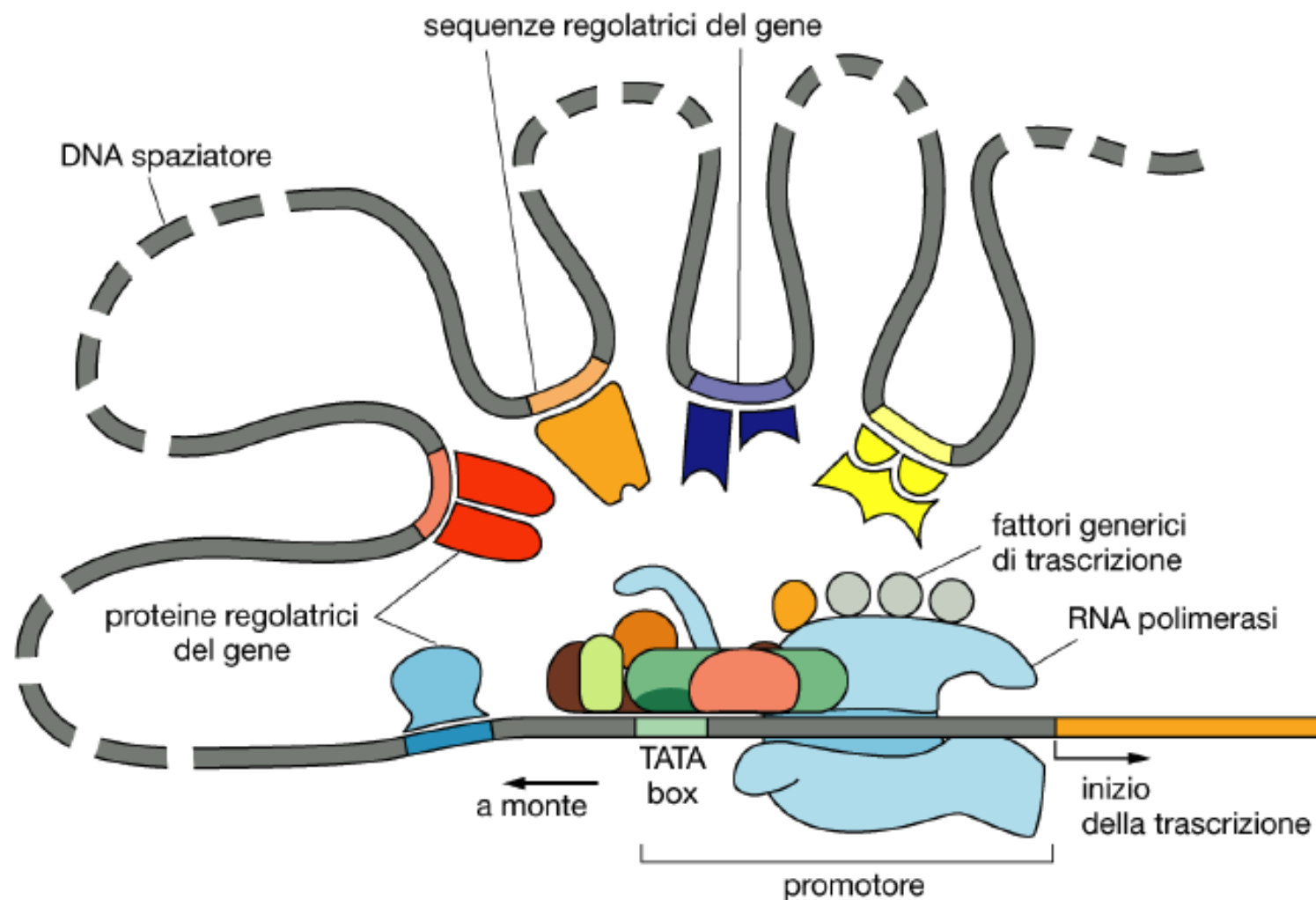


**Come elementi così distali possono
influenzare l'attività delle DNA Polimerasi
II?**

DNA looping

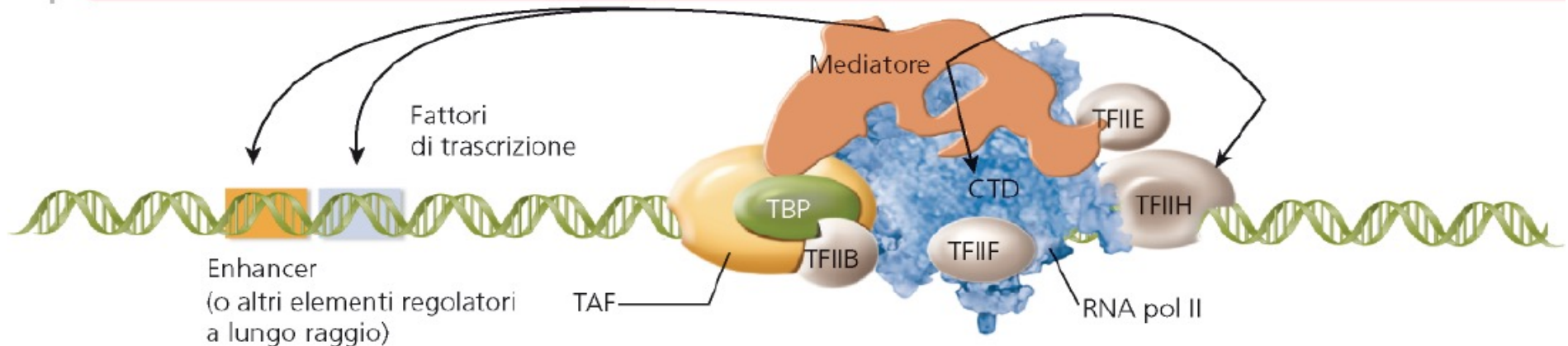
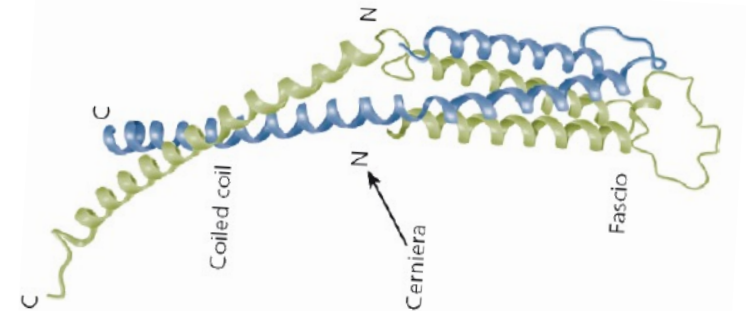
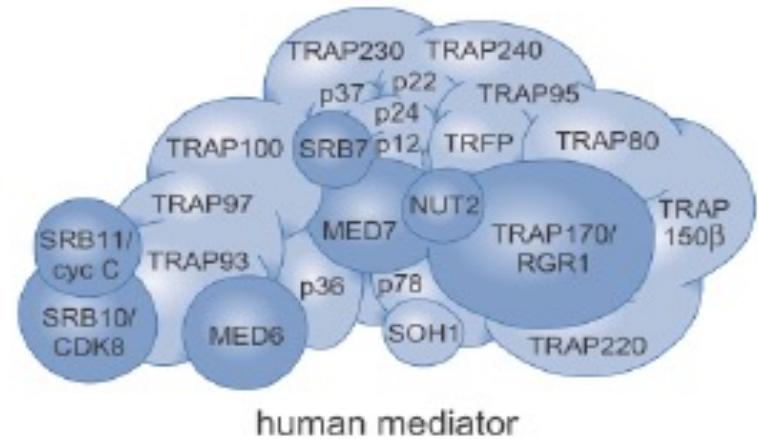


Negli eucarioti il controllo della trascrizione è largamente di tipo **combinatorio**



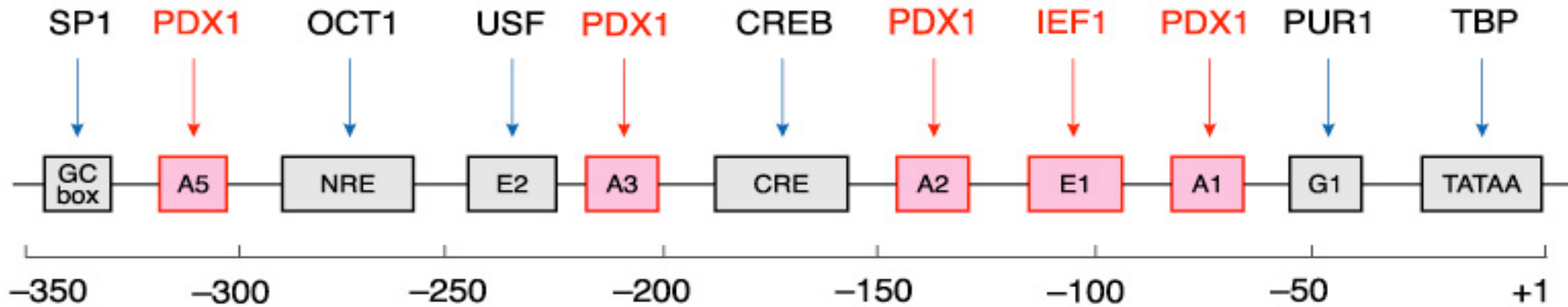
II MEDIATORE

è un complesso proteico di circa 20 subunità che media l'interazione degli ELEMENTI REGOLATORI A LUNGO RAGGIO con la RNAPolII e con i fattori generali della trascrizione

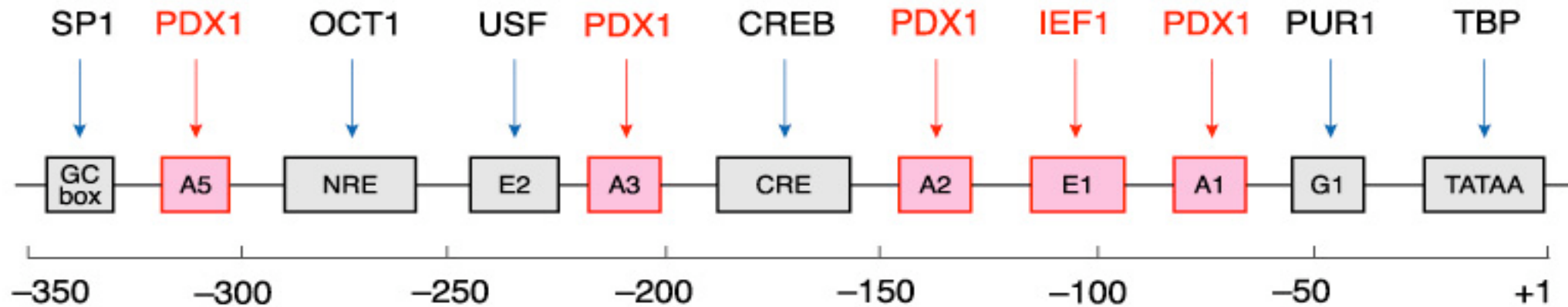


- A parità di sequenza del DNA in tutte le cellule di un organismo, come si spiega la tessuto specificità di espressione di alcuni geni?
- In altre parole.....
- Come l'insulina viene espressa solo e soltanto dalle cellule beta del pancreas e non in altre cellule?

Il promotore del gene umano dell'insulina



Il promotore del gene umano dell'insulina



Nero: fattori ubiquitari

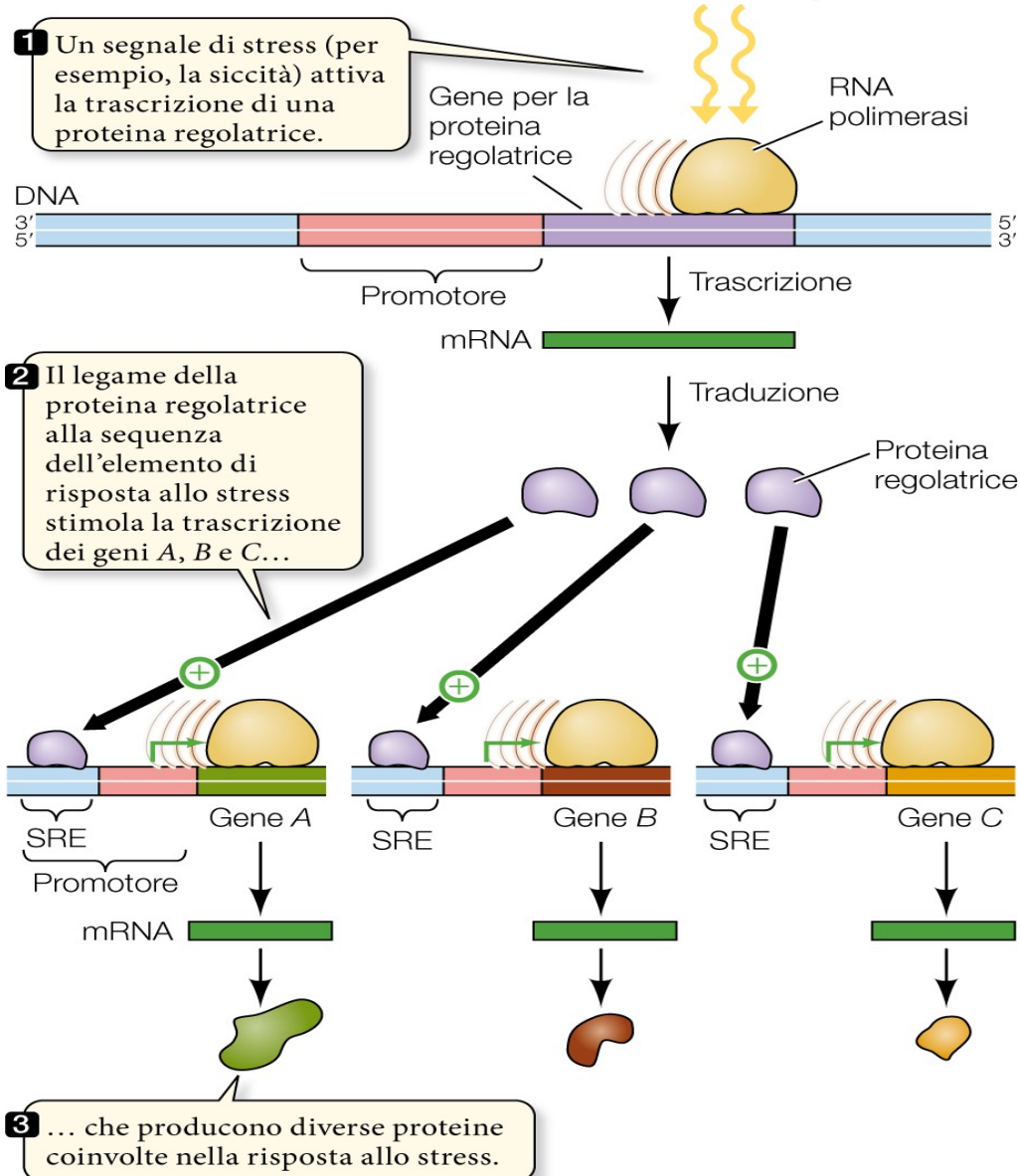
Rossi: fattori specifici delle cellule beta pancreatiche

FATTORI DI TRASCRIZIONE

- **UBIQUITARI**: legano i promotori di tutti i geni, grazie ad un consensus presente su tutti i promotori
- **TESSUTO-SPECIFICI**: legano i promotori di geni in un determinato tipo cellulare

NAME	TYPE	RECOGNITION SITE*	BINDS AS
Sp1	Zinc finger	5'-GGGCGG-3'	Monomer
AP-1	bZIP	5'-TGASTCA-3'	Dimer
C/EBP	bZIP	5'-ATTGCGCAAT-3'	Dimer
Heat shock factor	bZIP	5'-NGAAN-3'	Trimer
ATF/CREB	bZIP	5'-TGACGTCA-3'	Dimer
c-Myc	bHLH	5'-CACGTG-3'	Dimer
Oct-1	HTH	5'-ATGCAAAT-3'	Monomer
NF-1	Novel	5'-TTGGCN ₅ GCCAA-3'	Dimer

La regolazione durante la trascrizione: coordinazione fra geni

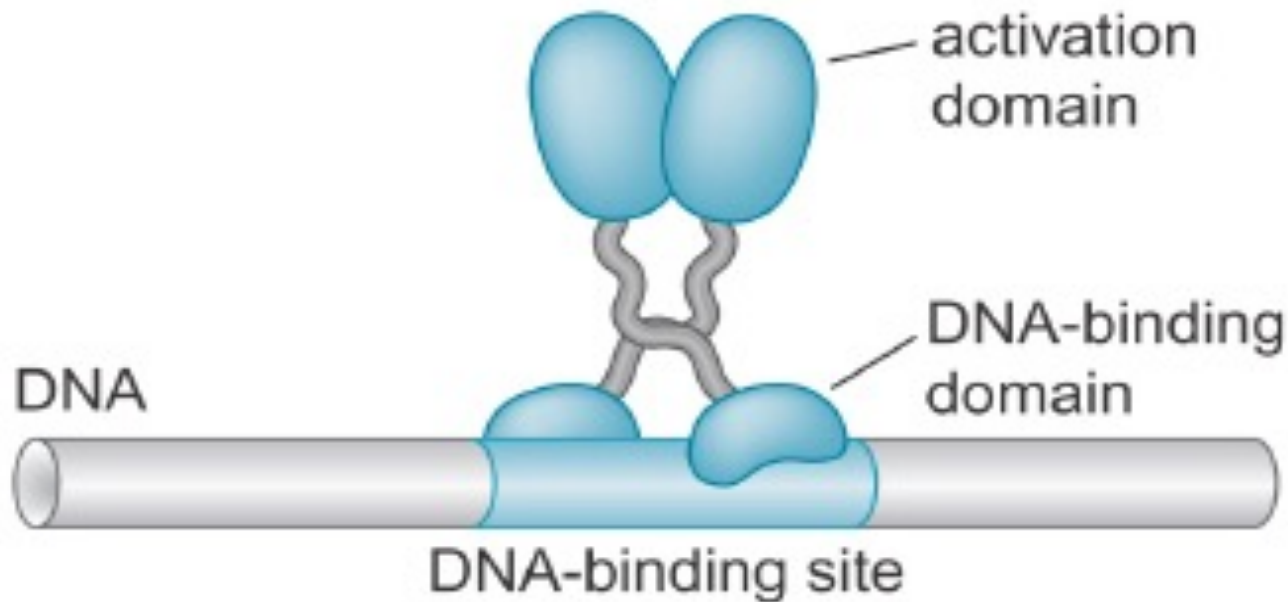


La coordinazione dell'espressione di più geni avviene grazie a un singolo segnale ambientale, che induce la sintesi di una proteina regolatrice della trascrizione.

Transcription Factors

I *fattori di trascrizione* hanno un'organizzazione in domini di tipo modulare:

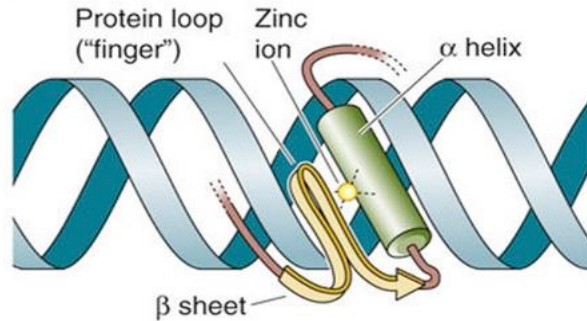
- a) Dominio di legame al DNA;
- b) Dominio di attivazione;
- c) Regione di dimerizzazione.



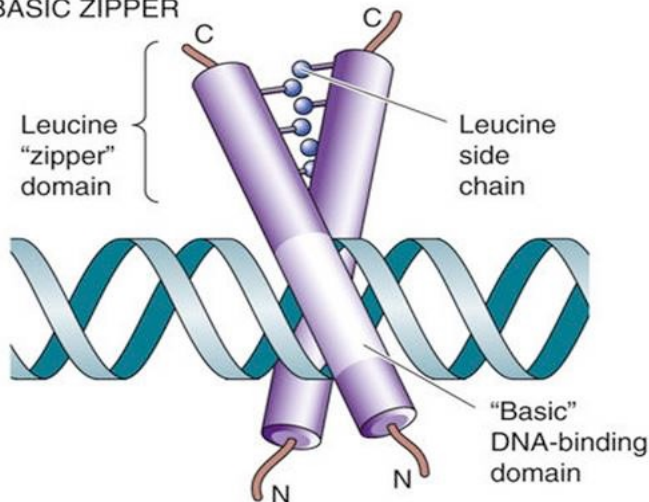
DNA-binding transcription factors have been grouped into families. Members of the same family use common structural motifs for binding DNA.

Each of these motifs consists of a particular tertiary protein structure in which a component, usually an α helix, interacts with the major groove of the DNA.

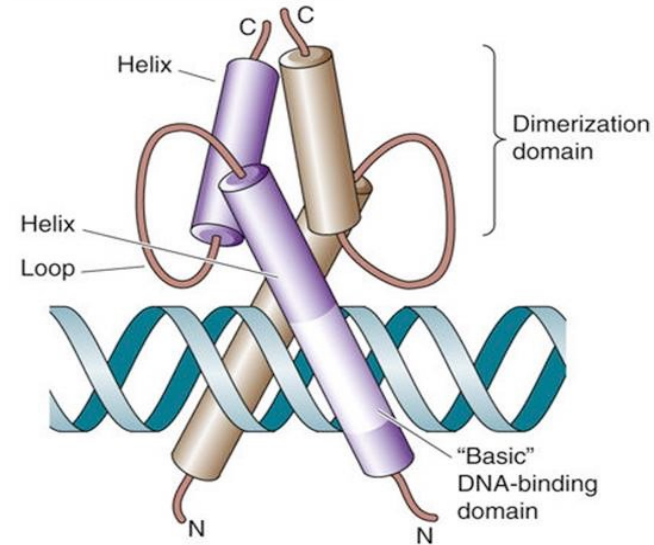
A ZINC FINGER



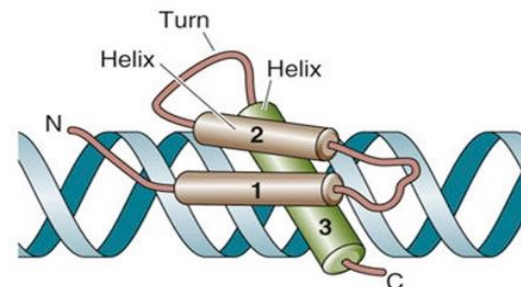
B BASIC ZIPPER



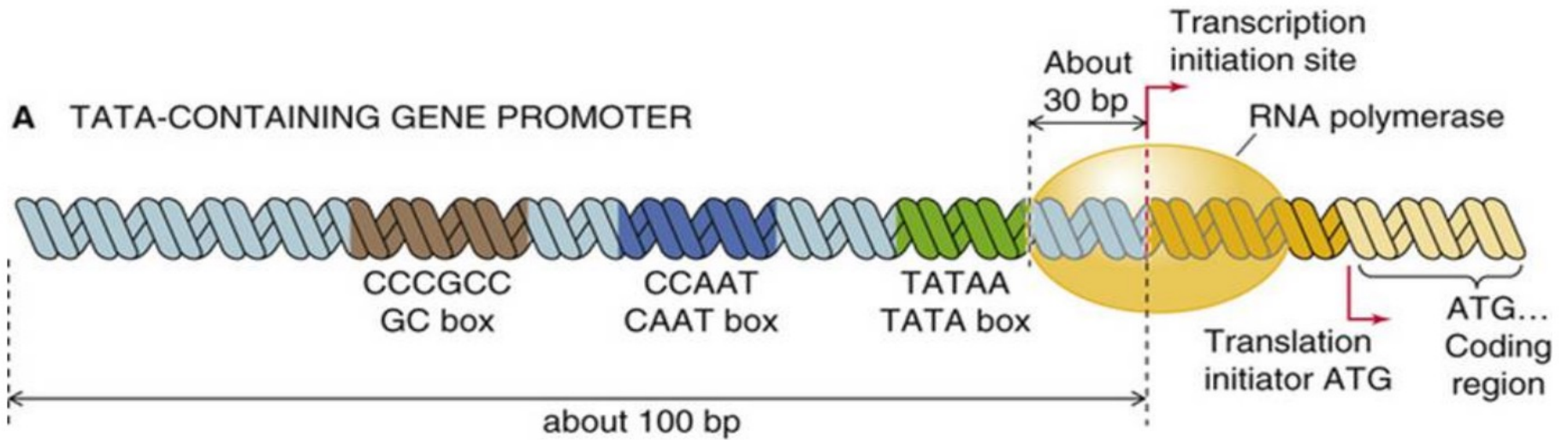
C BASIC HELIX-LOOP-HELIX



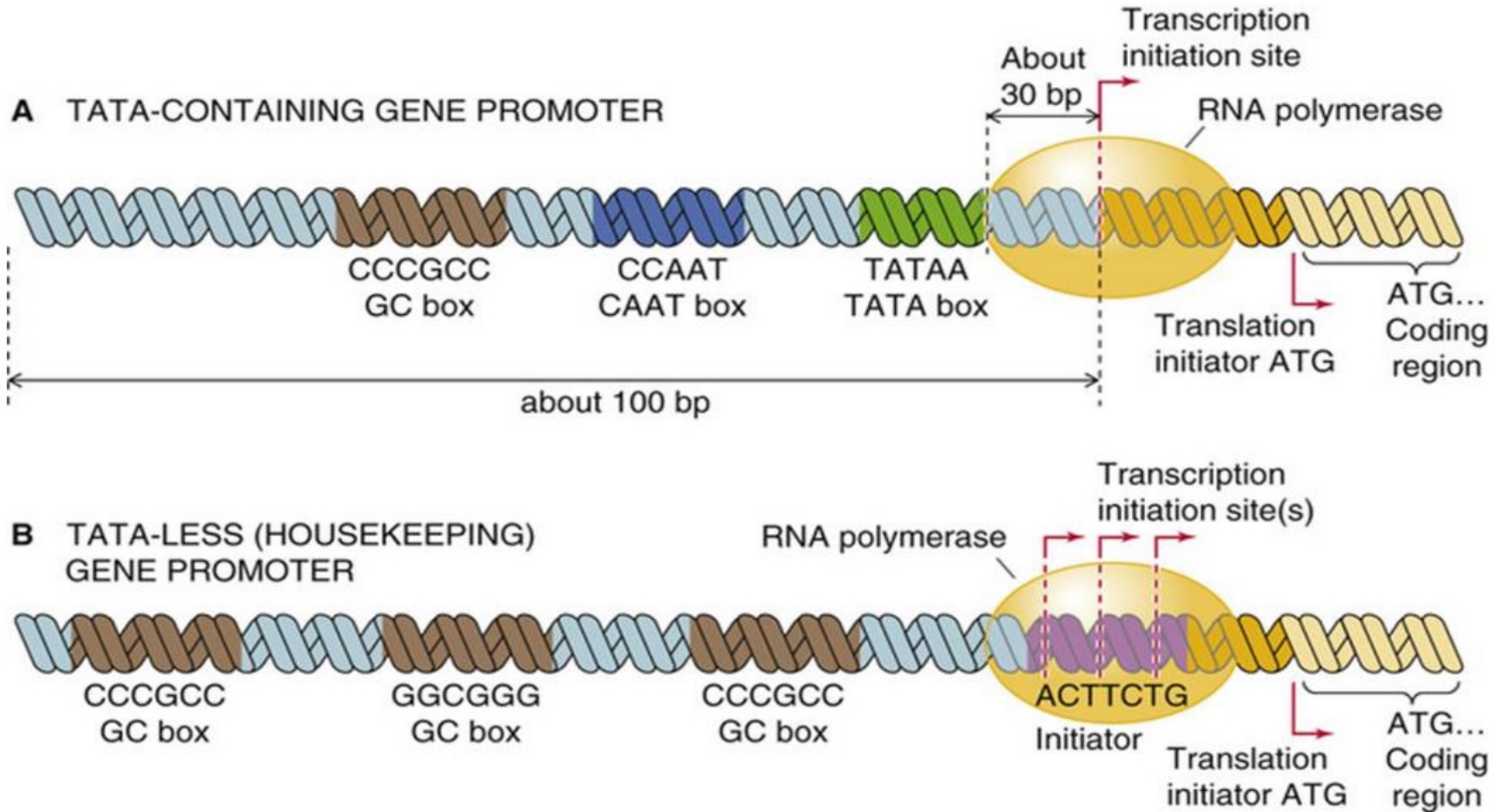
D HELIX-TURN-HELIX



A TATA-CONTAINING GENE PROMOTER

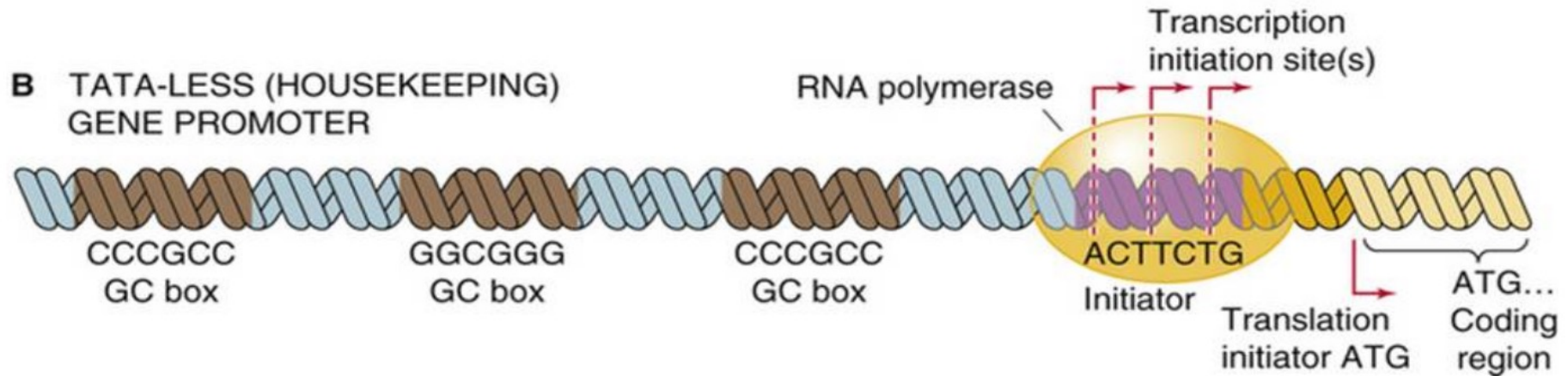


PROMOTORI PRIVI DI TATA box.



PROMOTORI PRIVI DI TATA box.

CpG islands (20-50 nucleotides within 100-1000 bp upstream the start site) act as promoters for **housekeeping genes**

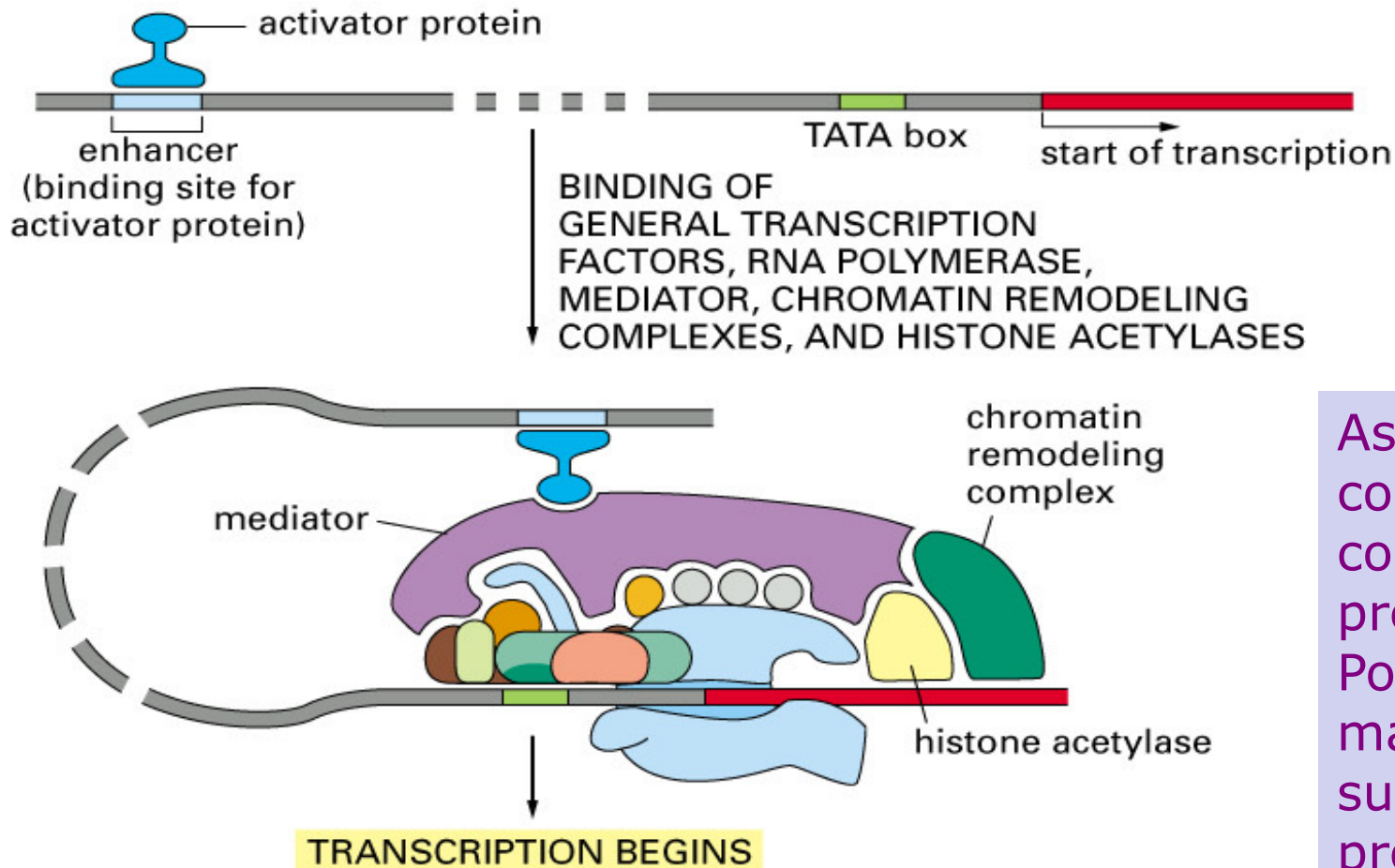


A transcription factor called **SP1** recognizes these CG rich regions

**Le CpG islands non sono MAI metilate
(ad eccezione del cromosoma X inattivato)**

TRASCRIZIONE NEGLI EUCARIOTI: MECCANISMO DELLA TRASCRIZIONE

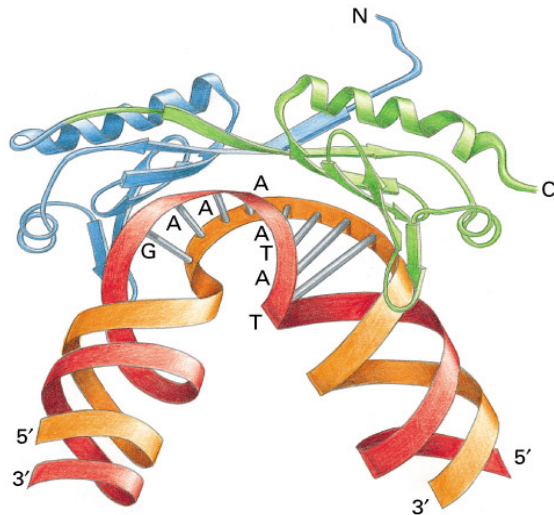
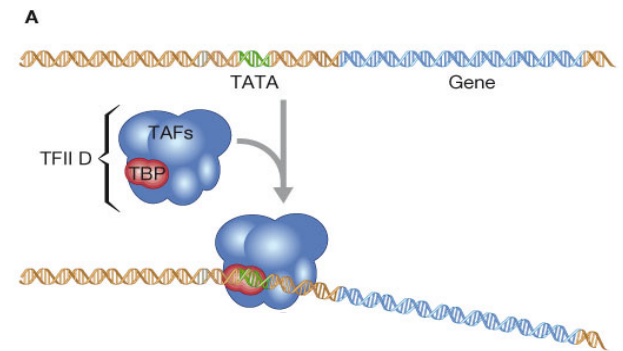
1. FORMAZIONE DEL COMPLESSO DI PREINIZIO:



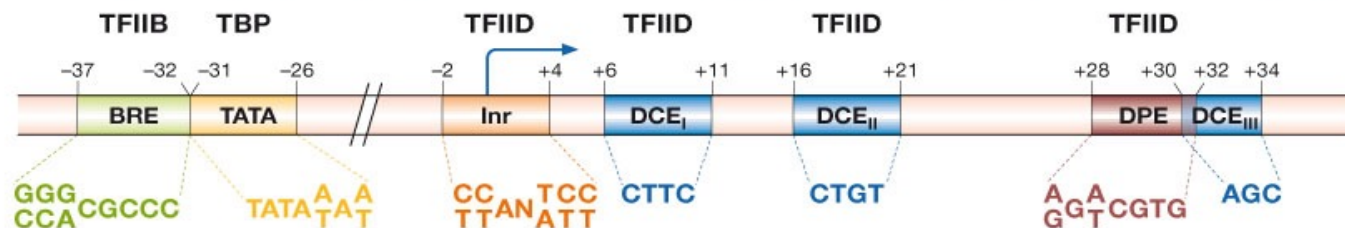
Assemblaggio dei componenti del complesso di preinizio; la RNA Pol non è attiva, ma "bloccata" sulla regione del promotore

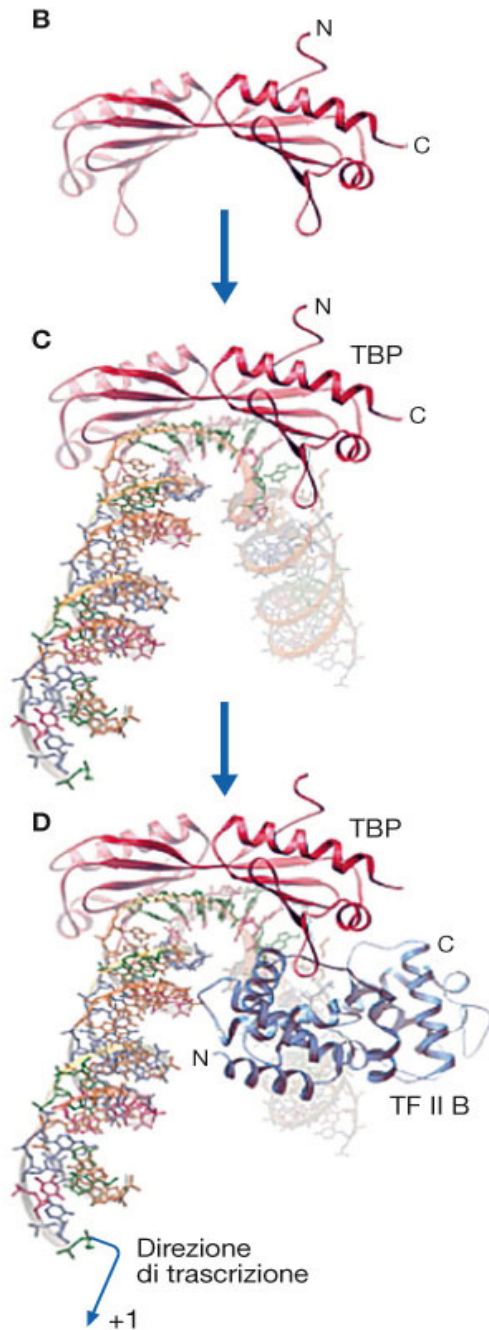
1. Pre-Initiation Complex Formation

1. The assembly of the PIC starts with the binding of **TFIID** to the **TATA box**. The subunit of TFIID that recognizes it is called **TBP** (TATA-binding protein); 11 different **TAFs** are targets of activators which strengthen the transcription.

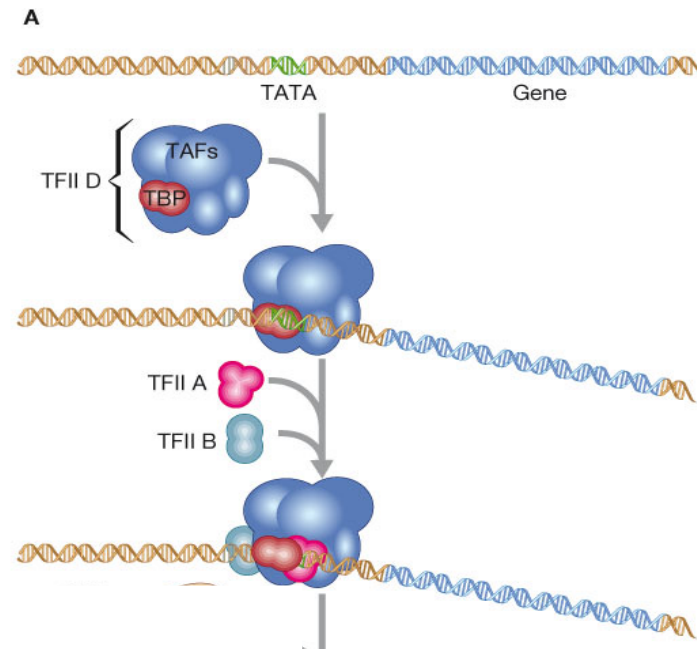


TBP binding induces the formation of a 80° bend in the DNA in the region of the TATA box. This distortion brings DNA sequences on both sides together for subsequent protein assembly.



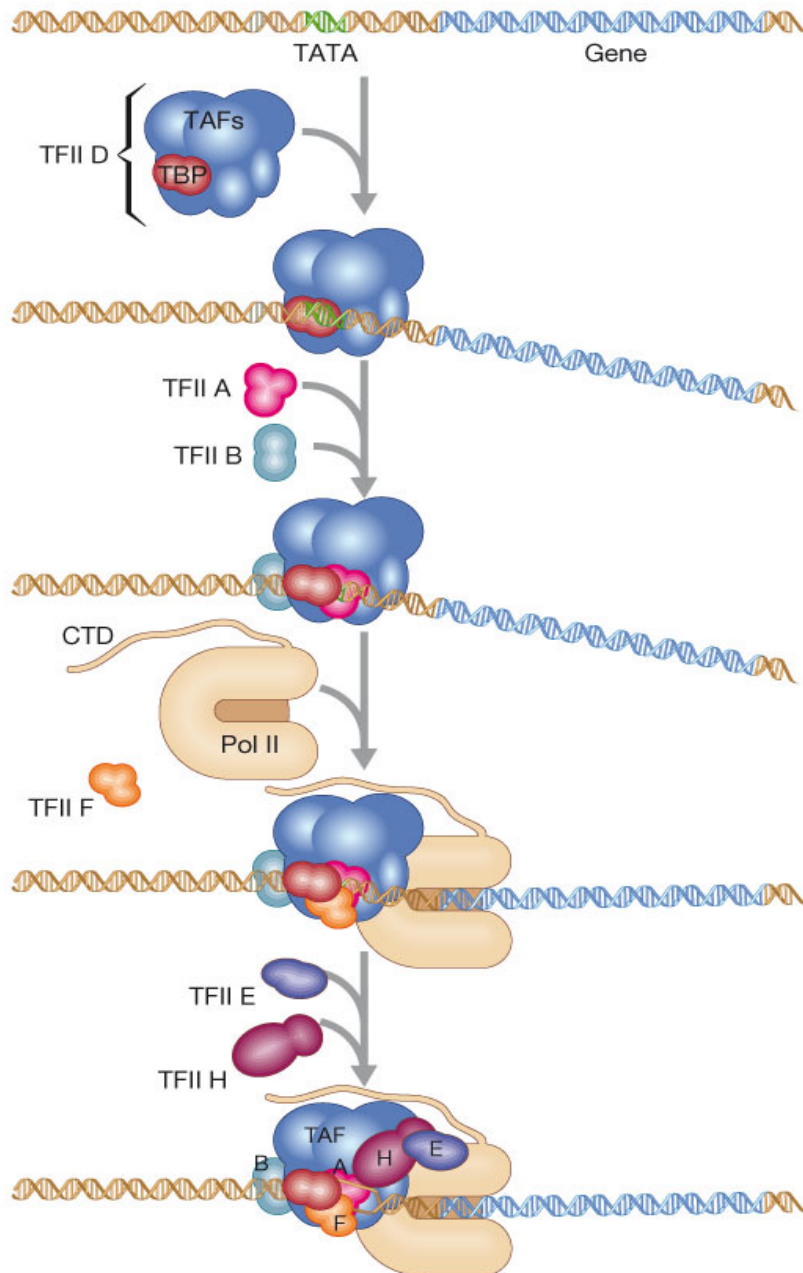


2. The DNA bend mediated by TBP provides a recognition structure for **TFIIB**, which ensures correct positioning of RNA polymerase II relative to the transcription start site.



3. **TFIIA** binding stabilizes TBP-DNA interaction and prohibits the binding of putative repressors able to block the PIC formation.

A



3. Once the RNA PolII is on the promoter, the **TFIIF** binding stabilizes TBP-DNA and DNA-TFIIB interactions.

4. At this point, **TFIIE** binding brings **TFIIH** to the PIC complex. The disruption to the base pairing needed to form the open promoter complex is brought about by the helicase-ATP dependent activity of **TFIIH**.

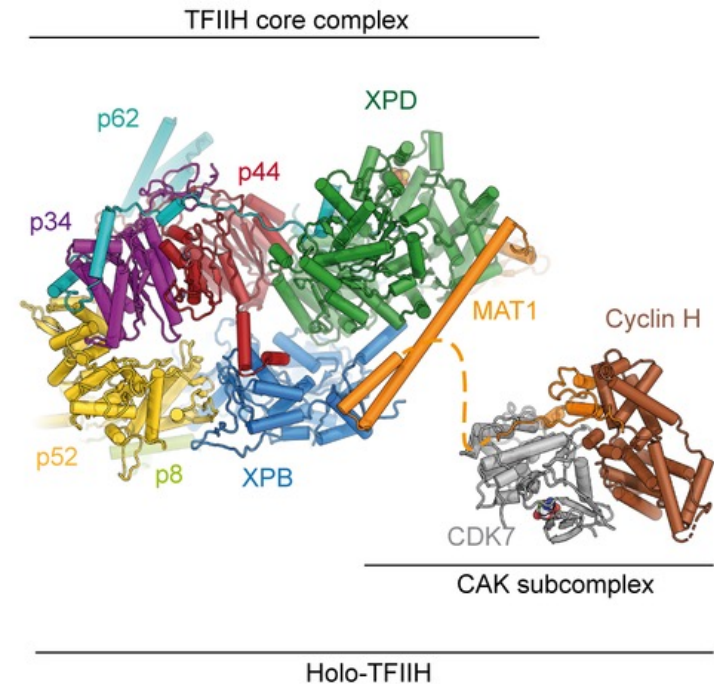
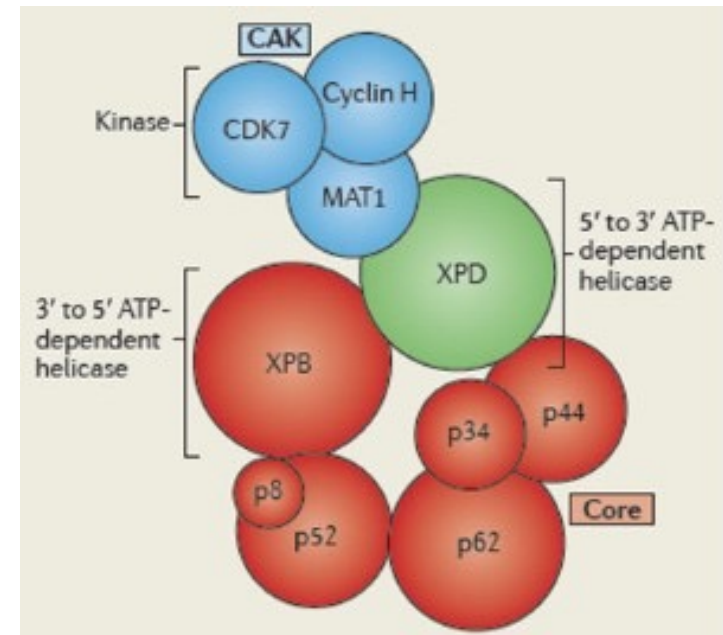
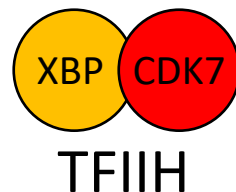
TFIIH is not only able to open the DNA strands, but thanks to its Kinase activity, it phosphorylates the C-terminal domain of the RNA PolII.

TFIIH

Mammalian TFIIH is a multiprotein complex with ten subunits that consists of two main functional subcomplexes: the core complex, composed of six subunits and the CAK (cyclin-dependent kinase (CDK)-activating kinase) complex, composed of CDK7, cyclin H and MAT1, bridged by the XPD subunit. The TFIIH complex revealed that it forms a ring-like structure with a central cavity that interacts with DNA.

TFIIH has several intrinsic enzymatic activities:

- CDK7 is a cyclin-dependent kinase
- XPB and XPD act as ATP-dependent helicases.



RNA POL II TAIL PHOSPHORYLATION

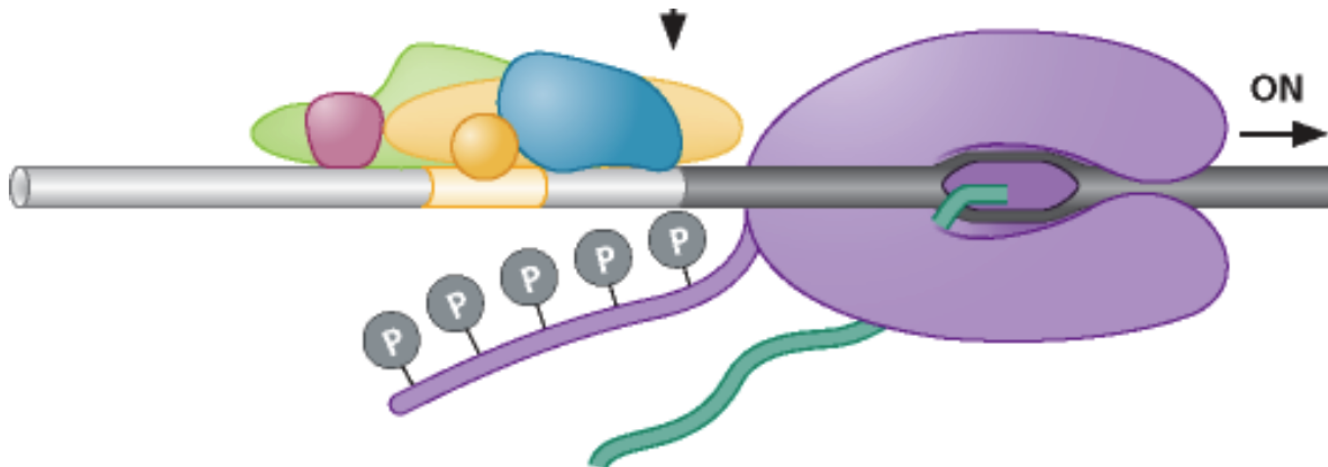
La subunità maggiore della PolII ha un dominio Carbossi-terminale (**CTD**), comunemente indicato come “coda”.

Il CTD contiene una serie di **ripetizioni**

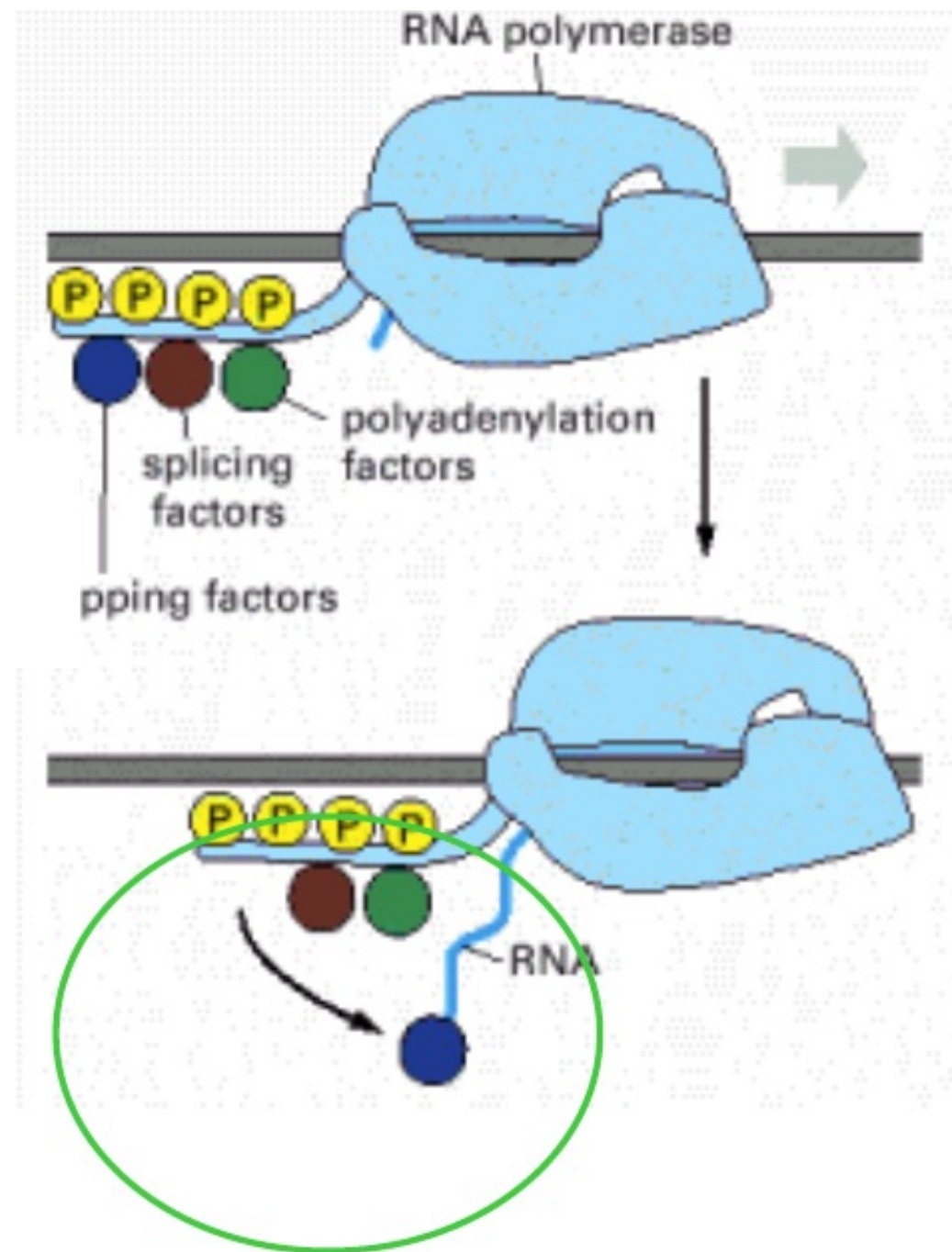
Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser

Vi sono 27 di queste ripetizioni nella PolII di lievito, 32 nel nematode *Caenorhabditis elegans*, 45 nel moscerino *Drosophila*, e 52 nell'uomo.

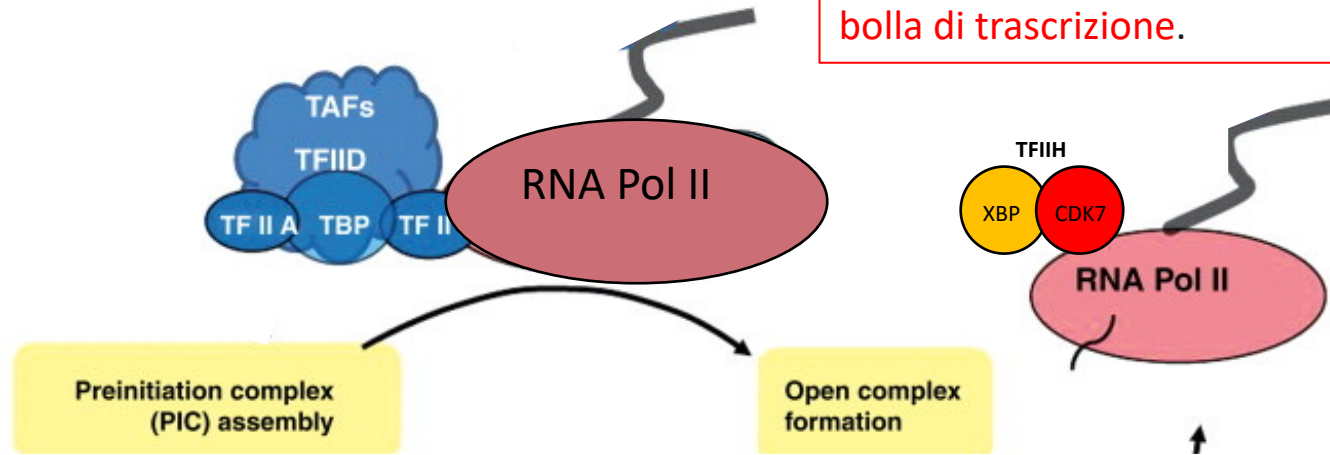
Ciascuna di queste ripetizioni contiene dei siti di fosforilazione da parte di chinasi specifiche, compresa quella che costituisce una subunità di TFIIF



CONCETTO DI "RNA FACTORY"



TRANSCRIPTION CYCLE

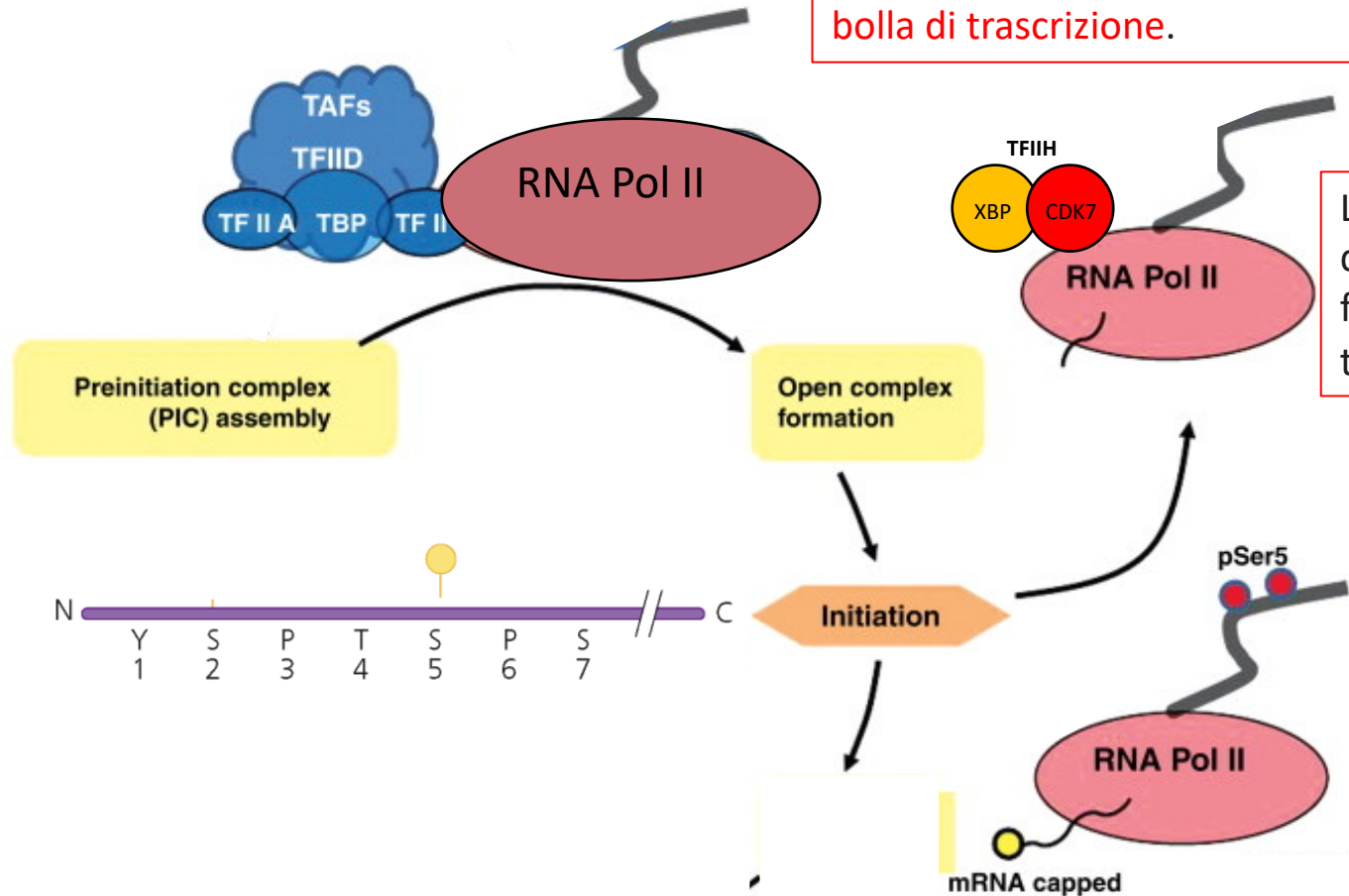


Quando il PIC e' assemblato, l'attivita' ELICASICA della subunita' **XBP** di TFIIF e' necessaria per la creazione della bolla di trascrizione.

Quando l'mRNA raggiunge circa i 7 nt di lunghezza, la subunita' **CDK7** (cyclin dependent kinase 7) di TFIIF fosforila 3 serine nel dominio C-terminale della RNA Pol II:

TRANSCRIPTION CYCLE

Quando il PIC e' assemblato, l'attivita' ELICASICA della **subunita' XBP** di TFIID e' necessaria per la creazione della **bolla di trascrizione**.

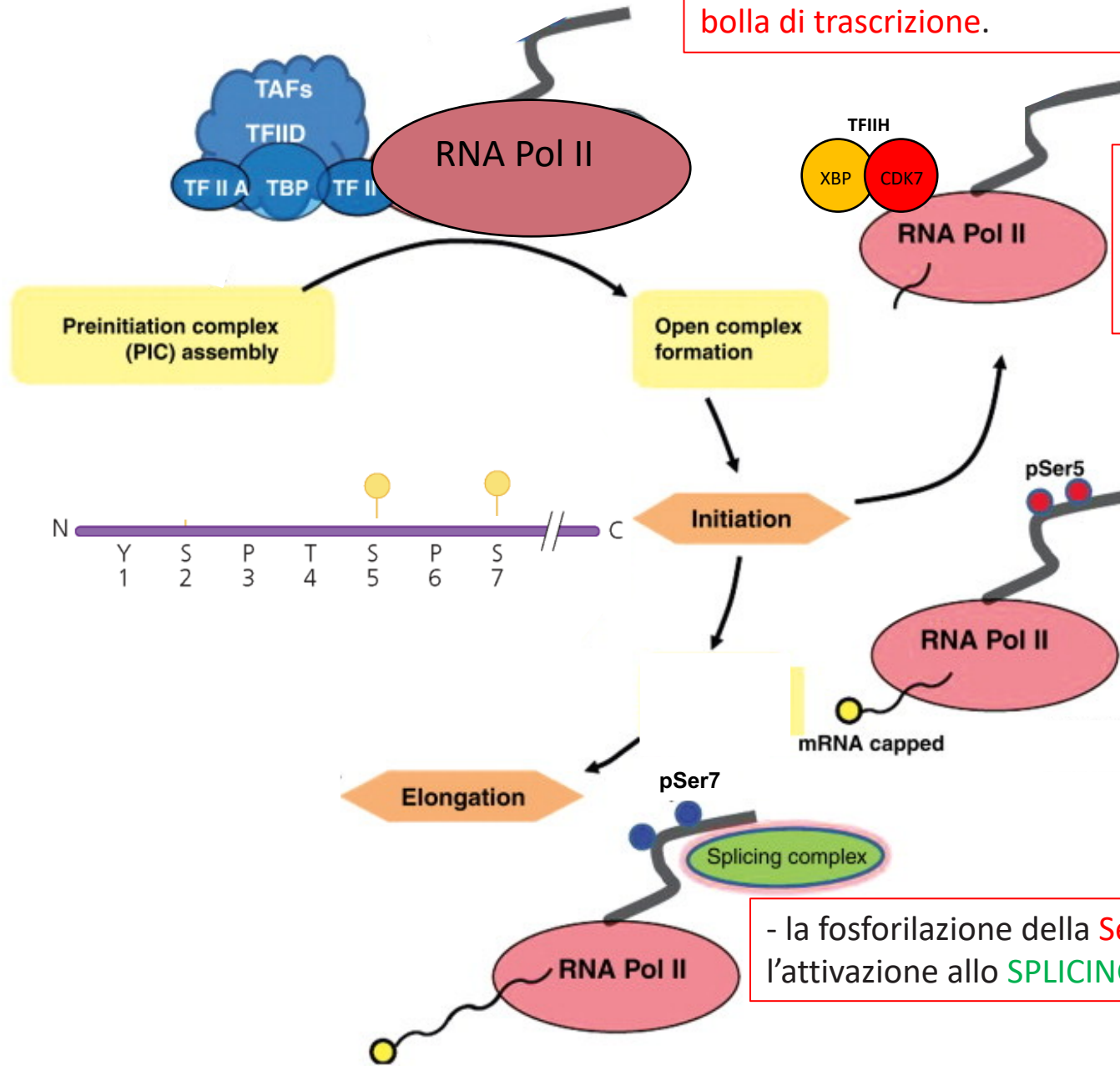


La **subunita' CDK7** (cyclin dependent kinase 7) di TFIID fosforila il dominio C-terminale della RNA Pol II:

- la fosforilazione della **Ser5** dà l'avvio alla trascrizione e stimola il **capping** dell'RNA nascente.

TRANSCRIPTION CYCLE

Quando il PIC e' assemblato, l'attivit  ELICASICA della subunit  **XBP** di TFIID e' necessaria per la creazione della **bolla di trascrizione**.



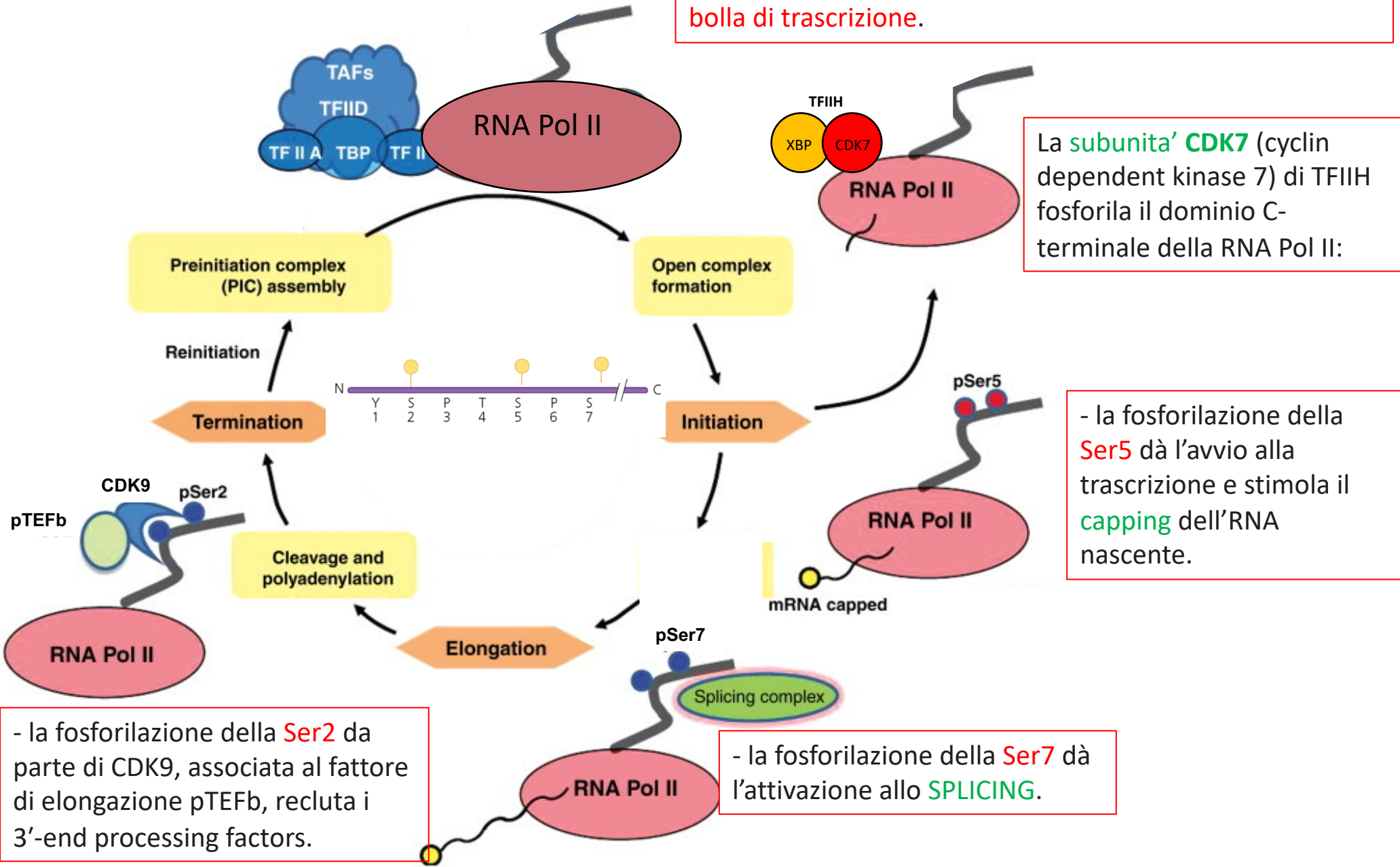
La subunit  **CDK7** (cyclin dependent kinase 7) di TFIIF fosforila il dominio C-terminale della RNA Pol II:

- la fosforilazione della **Ser5** d  l'avvio alla trascrizione e stimola il **capping** dell'RNA nascente.

- la fosforilazione della **Ser7** d  l'attivazione allo **SPLICING**.

TRANSCRIPTION CYCLE

Quando il PIC e' assemblato, l'attivita' ELICASICA della subunita' **XBP** di TFIID e' necessaria per la creazione della **bolla di trascrizione**.

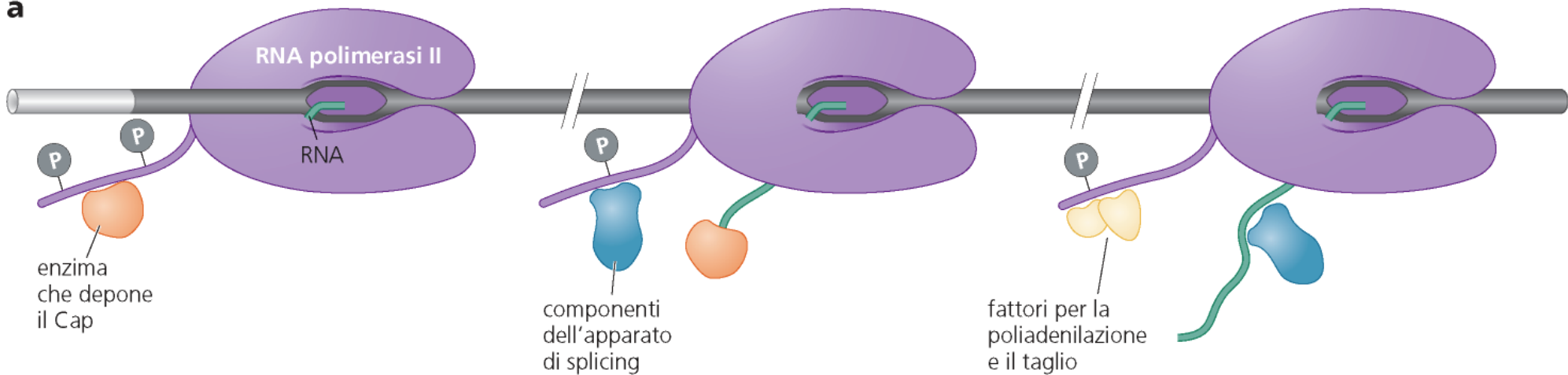


La subunita' **CDK7** (cyclin dependent kinase 7) di TFIIF fosforila il dominio C-terminale della RNA Pol II:

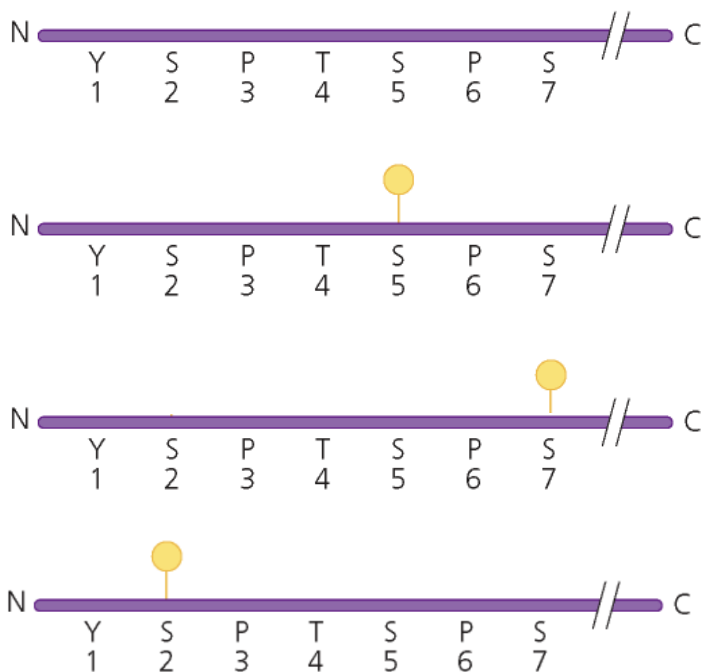
- la fosforilazione della **Ser5** dà l'avvio alla trascrizione e stimola il **capping** dell'RNA nascente.

- la fosforilazione della **Ser2** da parte di CDK9, associata al fattore di elongazione pTEFb, recluta i 3'-end processing factors.

- la fosforilazione della **Ser7** dà l'attivazione allo **SPLICING**.

a**b**

stato di fosforilazione
della coda CTD



fase della
trascrizione

preinizio

distacco dal promotore

allungamento

terminazione

reclutamento dei fattori necessari
al processing dell'RNA

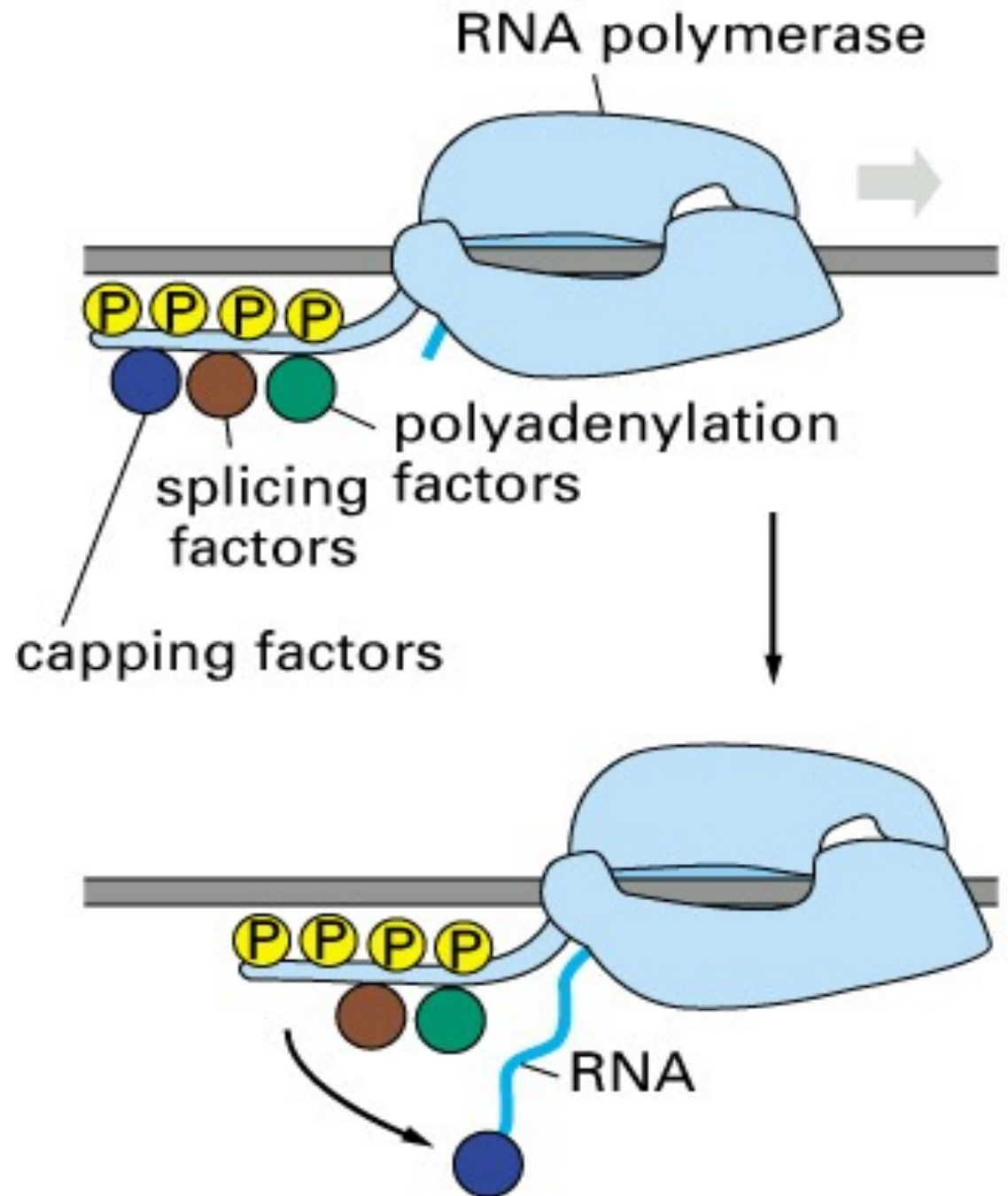
—

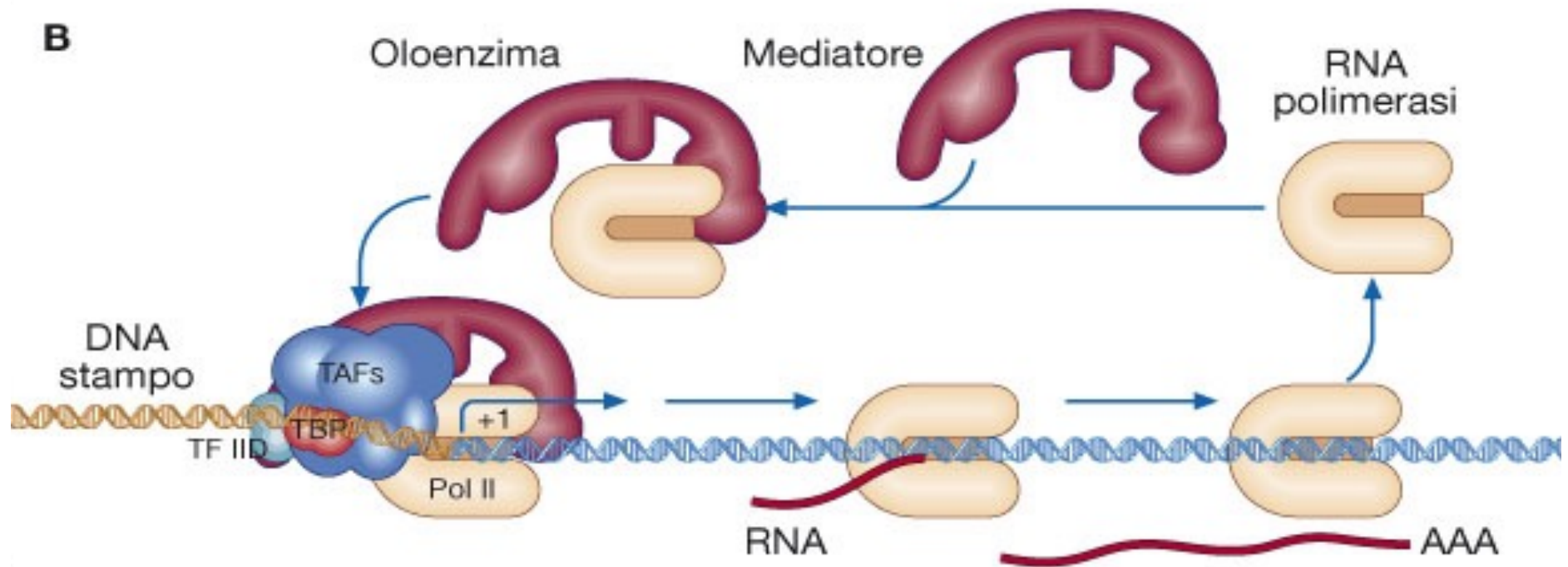
formazione del Cap

splicing

poliadenilazione

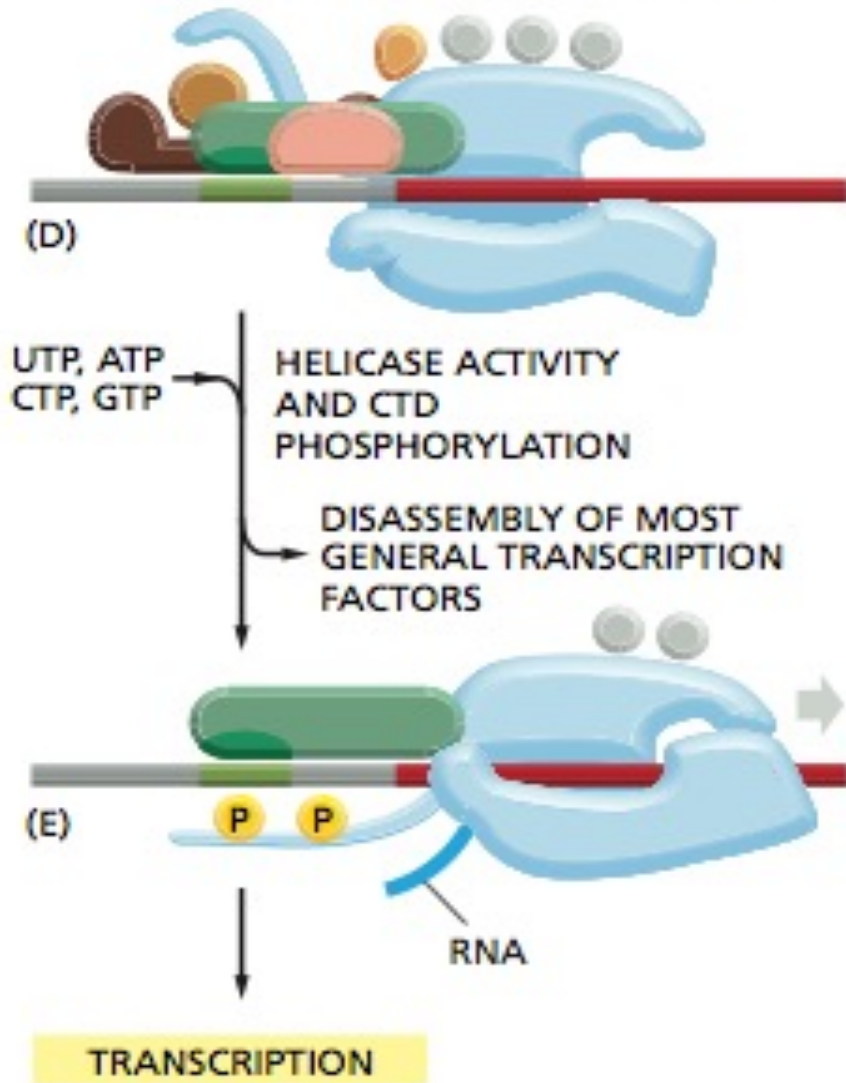
The tail phosphorylation of RNA polymerase II also causes **components of the RNA processing machinery (capping&splicing) to load onto the polymerase** and thus be in position to modify the newly transcribed RNA as it emerges from the polymerase.





Il **MEDIATORE**:

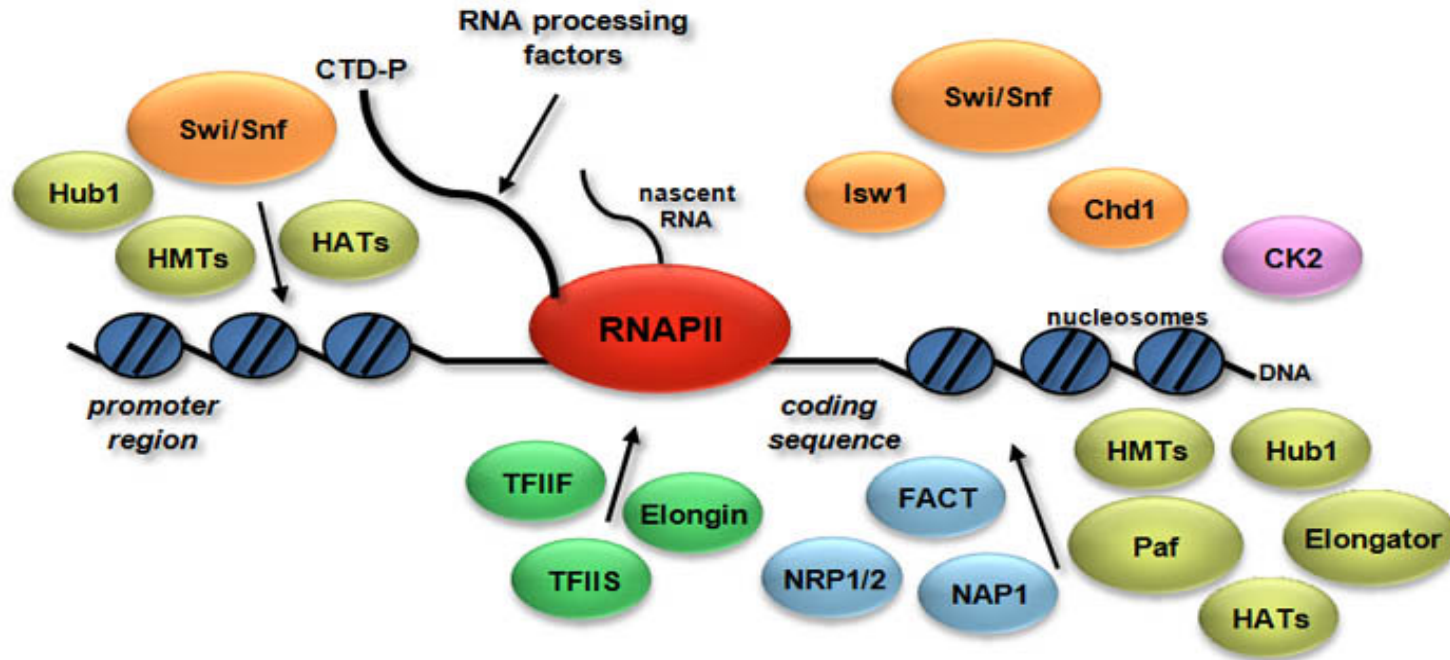
1. interagisce con il CTD della PolII
2. Stimola la fosforilazione TFIIH-dipendente del CTD
3. La fosforilazione del CTD causa la dissociazione del mediatore dalla PolII.



PROMOTER CLEARANCE

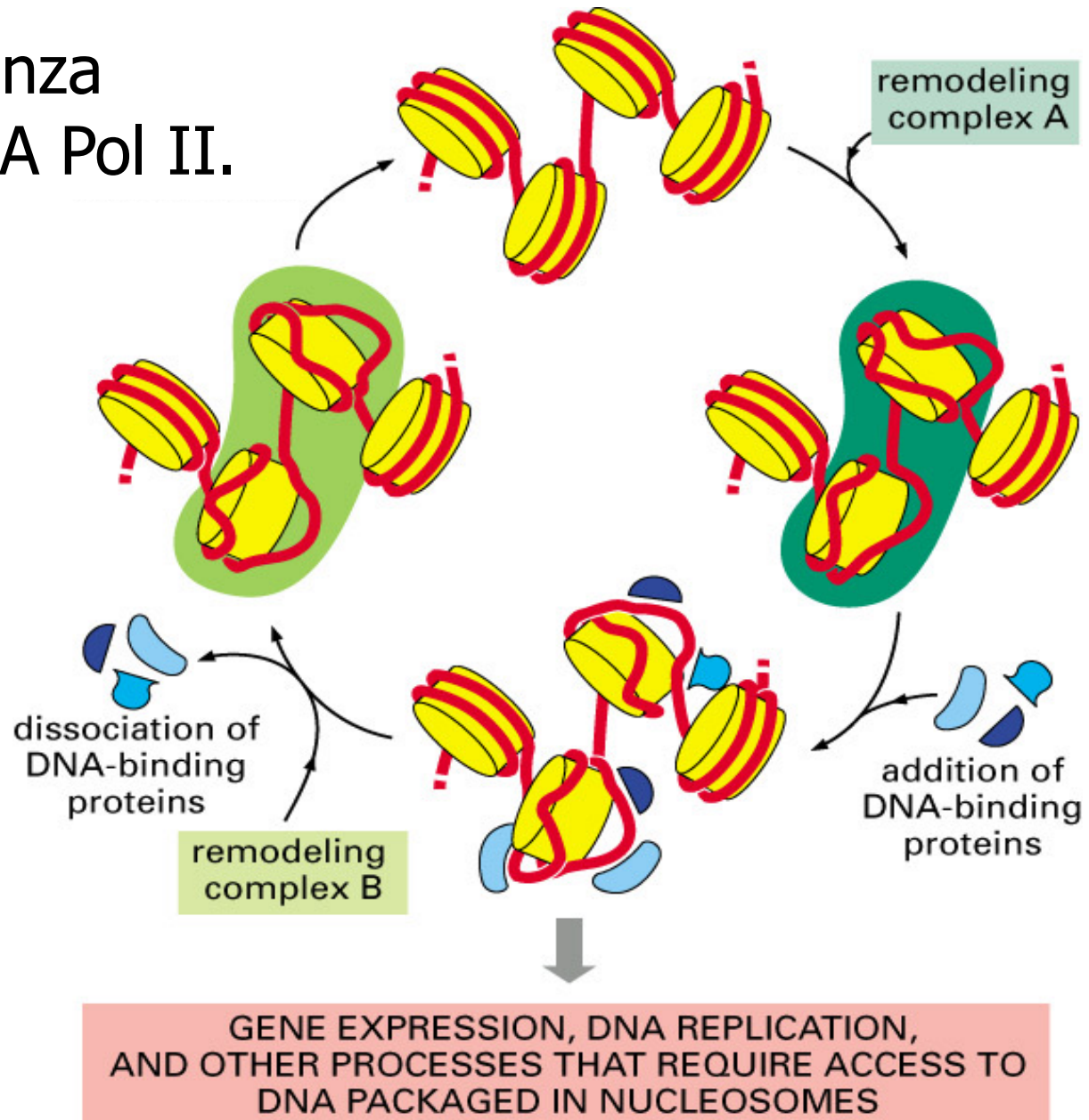
Once the polymerase II has begun elongating the RNA transcript, **most of the general transcription factors are released from the DNA** so that they are available to initiate another round of transcription with a new RNA polymerase molecule.

ALLUNGAMENTO: la RNA Pol si sposta lungo lo stampo mentre trascrive. Il DNA viene svolto davanti alla polimerasi e riavvolto dietro di essa.



Molti fattori intervengono durante l'allungamento, tra cui complessi di modificazione degli istoni e di rimodellamento della cromatina, perché è ovvio che la trascrizione procede attraverso la struttura dei nucleosomi che deve venir modificata e rimodellata affinché la RNA polimerasi possa passare (**verde**: fattori che controllano l'attività della RNA polimerasi; **blu** e **arancio**: fattori che facilitano il passaggio attraverso la cromatina; **turchese**: fattori che modificano gli istoni).

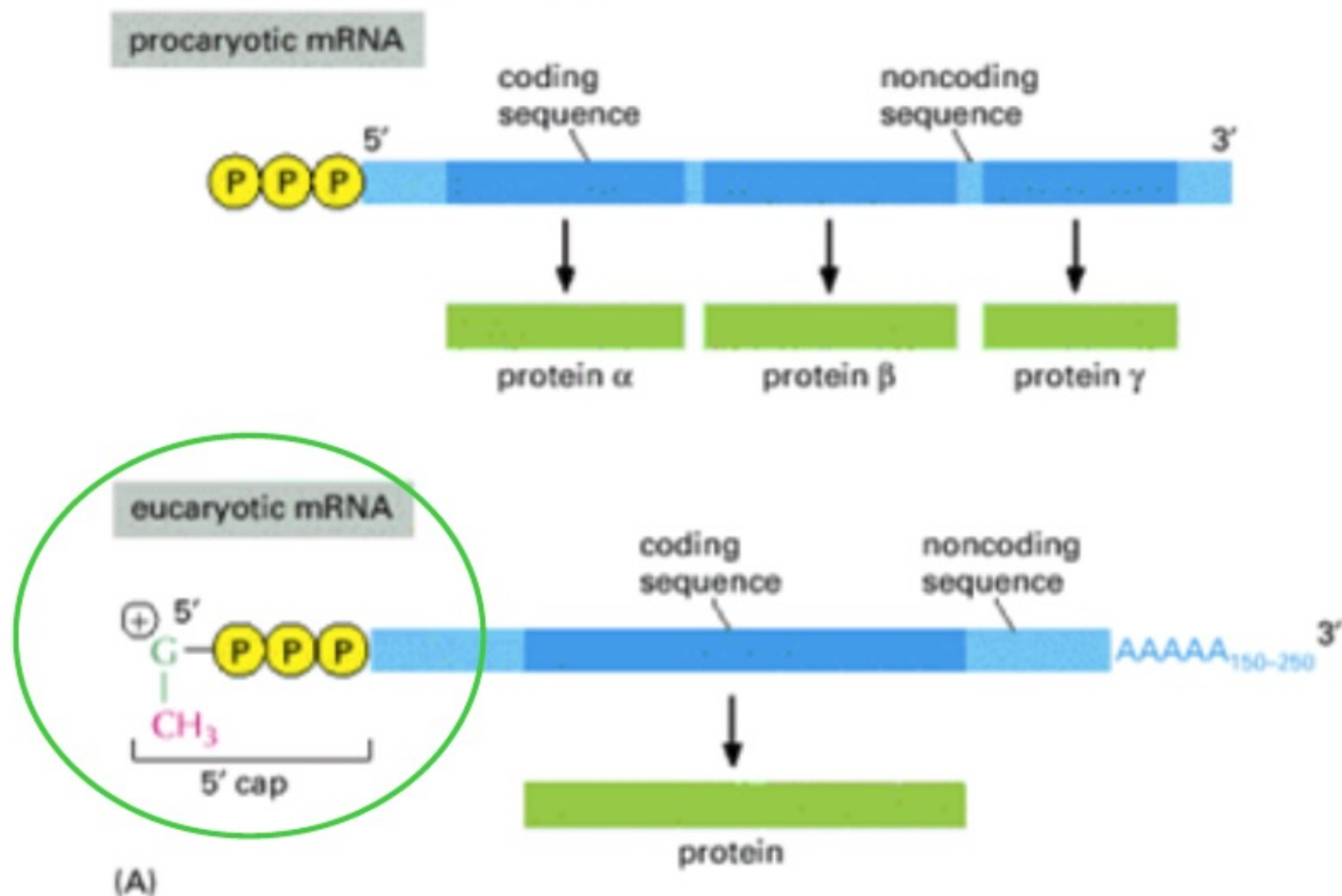
La posizione dei
nucleosomi influenza
l'attività della RNA Pol II.



Capping

Il capping dell'RNA è la prima modificazione che avviene sui pre-mRNA eucariotici

Non appena l'RNA polimerasi ha prodotto 25 nt, l'estremità 5' della nuova molecola di RNA è modificata mediante l'aggiunta di un "cap" che consiste in un nucleotide guanina modificato.



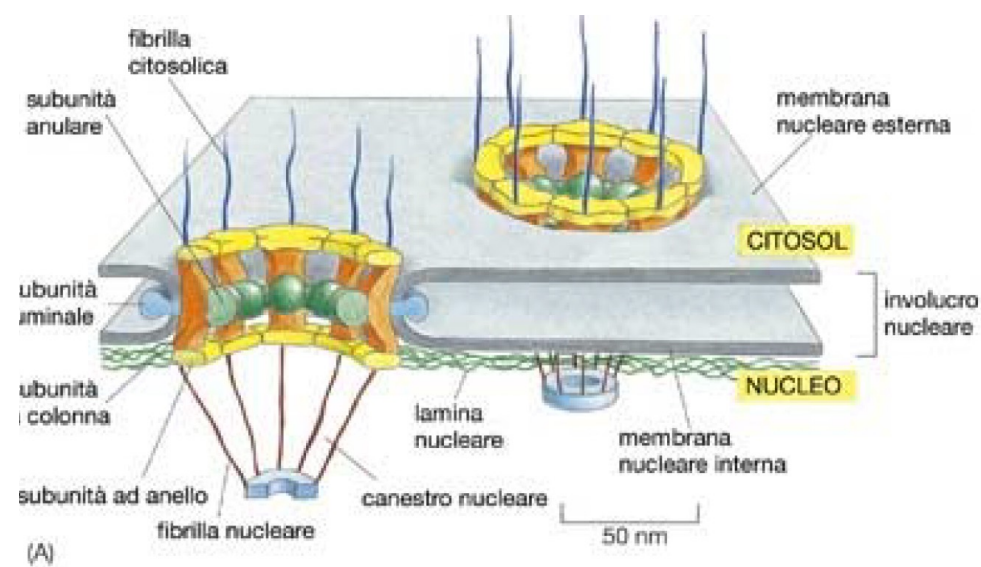
The 5' cap structure serves several roles:

Its **principal role** is to serve as a recognition feature during protein synthesis. Eukaryotic mRNAs do not contain ribosome binding sites unlike prokaryotic mRNA which do (the Shine-Dalgarno sequence).

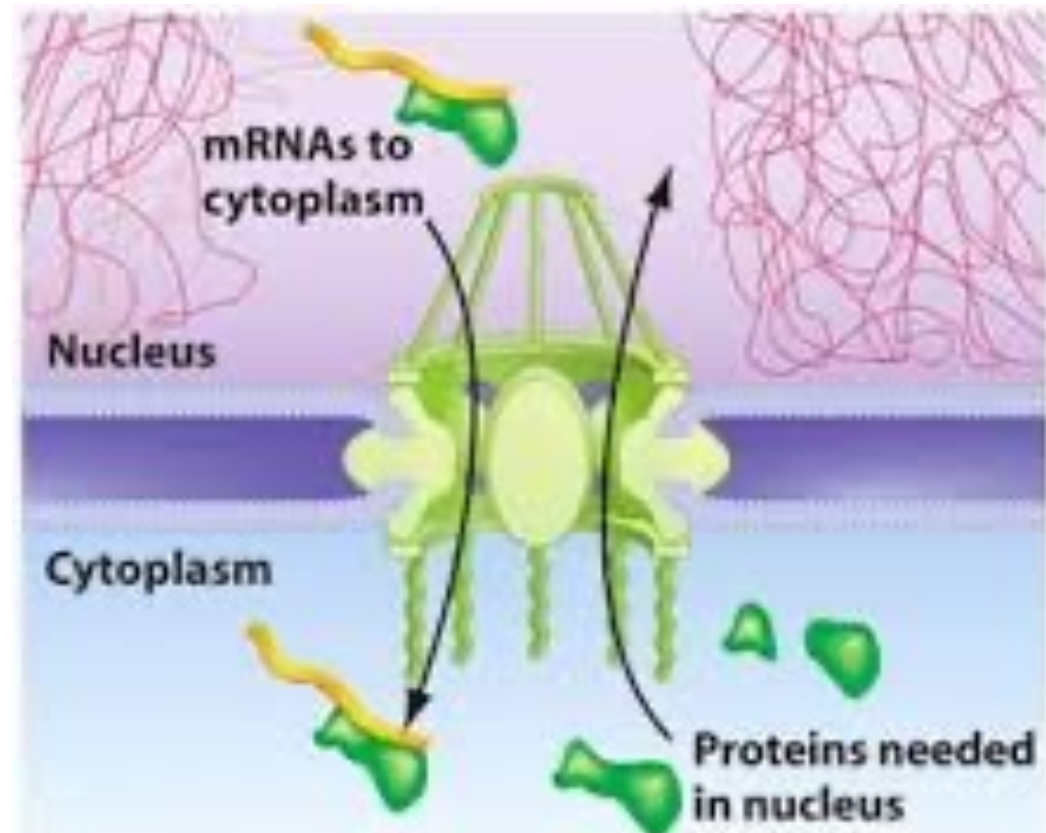
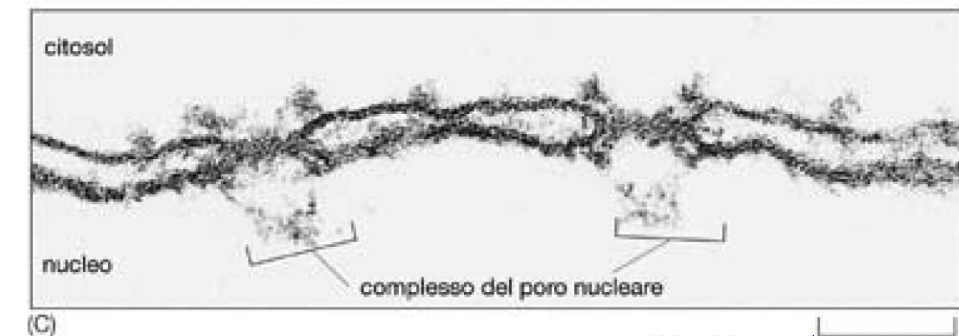
Eukaryotic ribosomes are positioned at the 5' end of mRNA through the action of **CBP-I**, an initiation factor that recognizes and binds to the 5' end.

MOREOVER

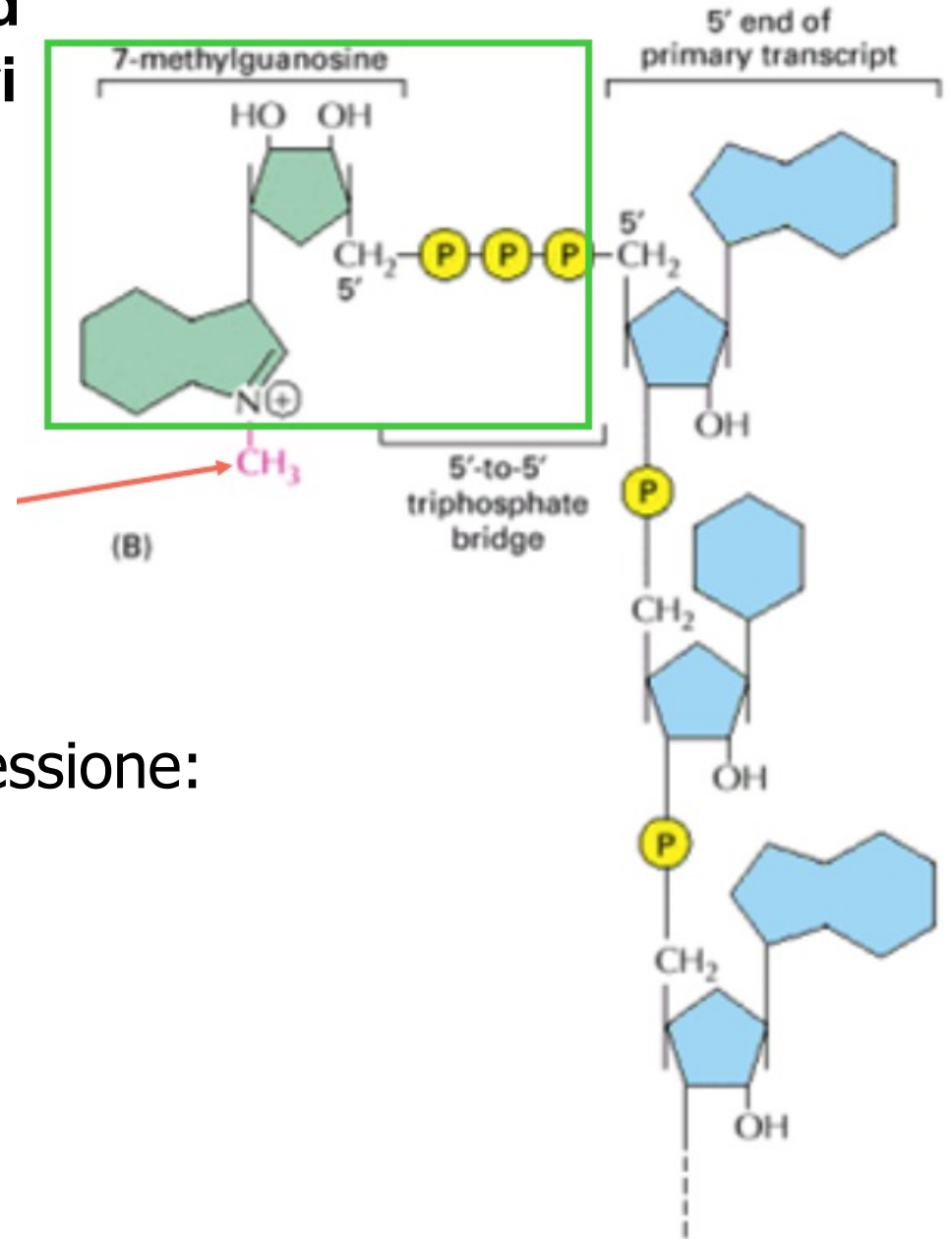
- The 5' cap may help the mRNA transport from the nucleus to the cytoplasm
- The 5' cap raises the efficiency of the splicing process



Il poro nucleare



La presenza del cap permette di distinguere gli mRNA dagli altri tipi di RNA

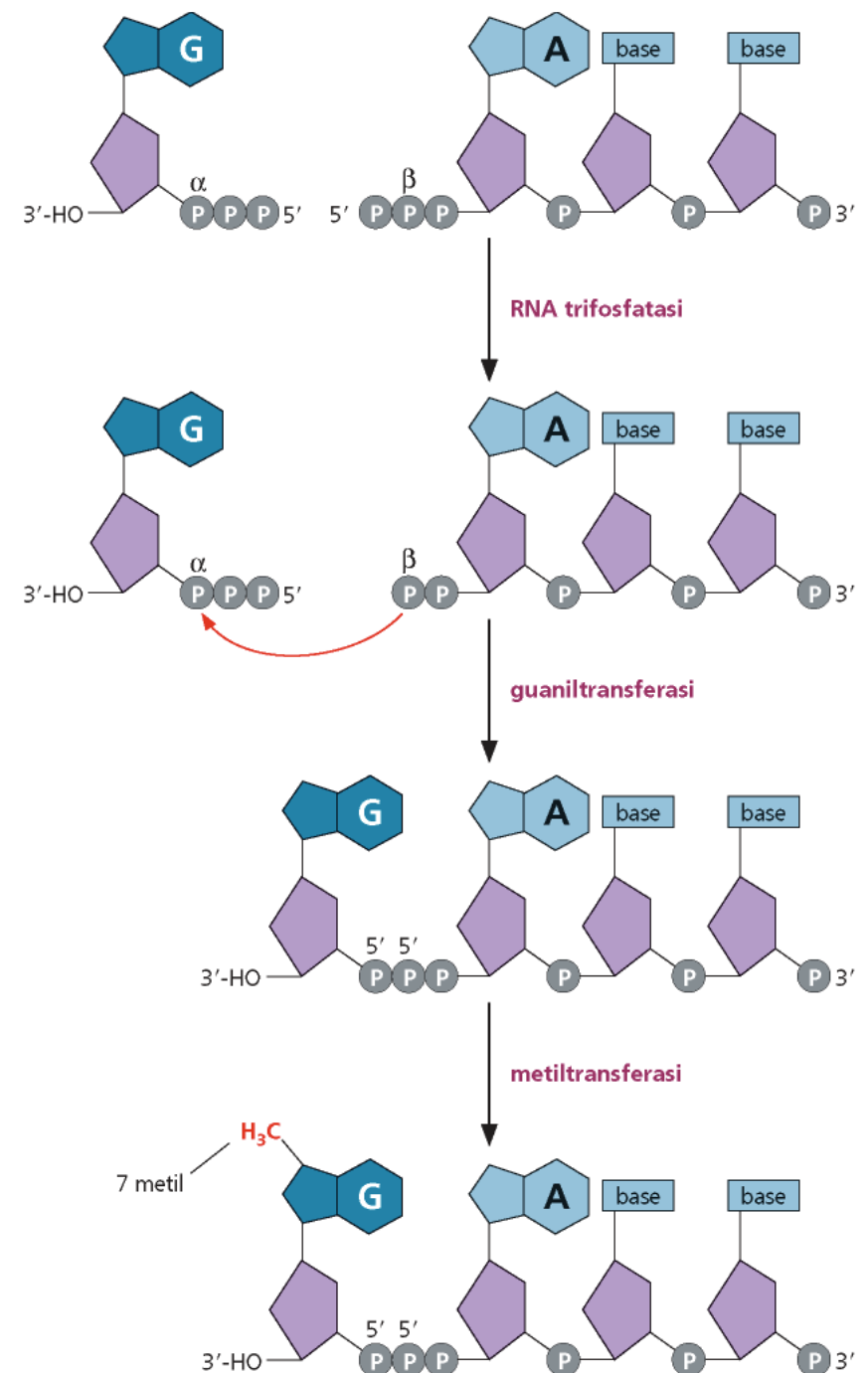


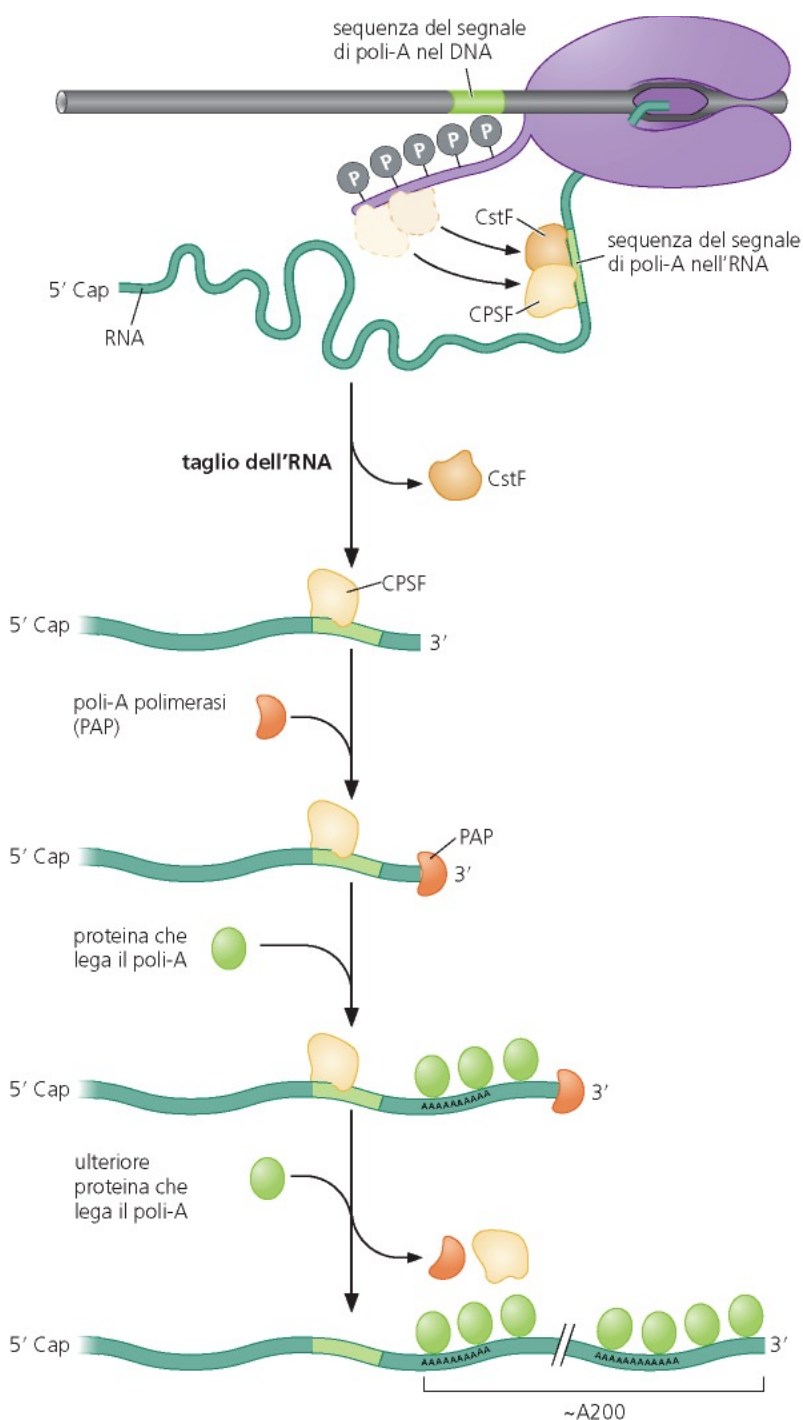
Operano 3 enzimi in successione:

1- Una fosfatasi rimuove un fosfato all' estremità 5'

2- Una guaniltransferasi aggiunge un GTP

3- Una metil-transferasi aggiunge un gruppo CH₃ alla guanosina





Poliadenilazione

Fattore di specificità (CPSF) riconosce la sequenza AAUAAA e aumenta la processività della poli(A) polimerasi

Fattore di stimolazione del taglio (CstF) lega la sequenza ricca in G-U a valle del sito di taglio

Un **Fattore di taglio** (endonucleasi) crea un'estremità 3' libera

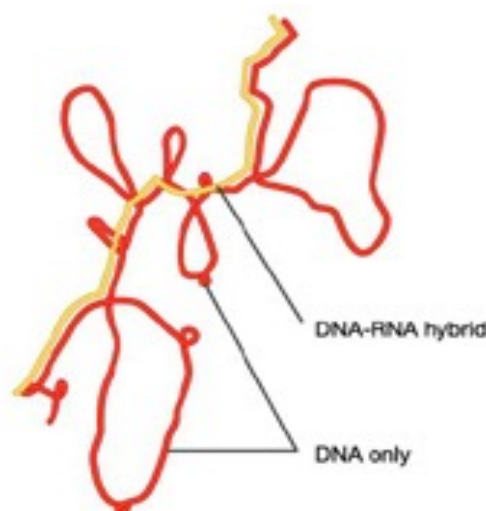
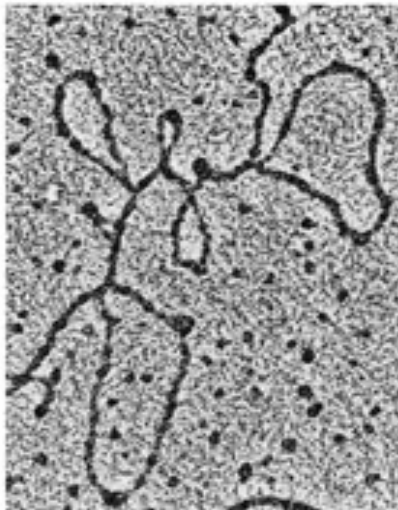
Esonucleasi (Xrn2) per tagliare l'RNA trascritto a valle del taglio

La **Poli(A) Polimerasi** (PAP) sintetizza la coda di poli(A) (in assenza di stampo)

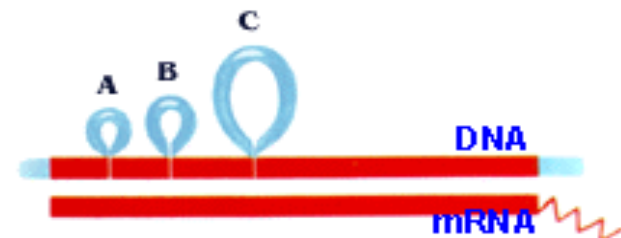
Le **Poly(A)-Binding Proteins** (PABP): PABPN1 aumenta la processività di PAP, così la coda di poliA diventa più lunga (ca. 250A)

SPLICING: TAGLIO E RIMOZIONE DI ALCUNI TRATTI DI TRASCritto (**INTRONI**) E SALDATURA DEI TRATTI RESTANTI (**ESONI**)

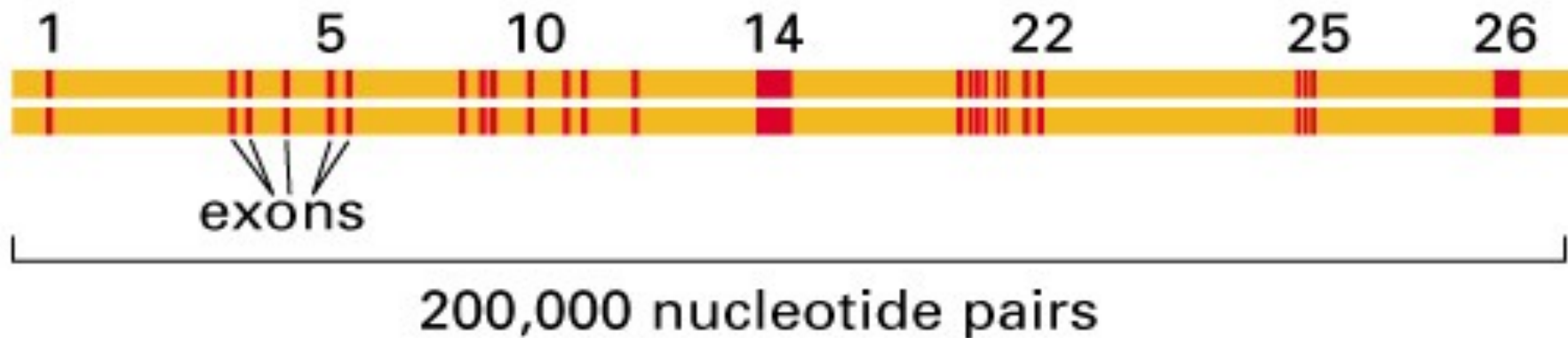
Nel 1977 R. Roberts e P.A. Sharp scoprirono che i geni sono "interrotti" (premio Nobel nel 1993) nel genoma dell'adenovirus



L'osservazione al microscopio elettronico dell'mRNA ibridato col DNA complementare rivelò che l'mRNA era molto più corto e che il DNA complementare formava delle anse



human Factor VIII gene



Spesso gli **ESONI** costituiscono la minima parte di un gene e sono generalmente corti in confronto agli introni (50-300nt)

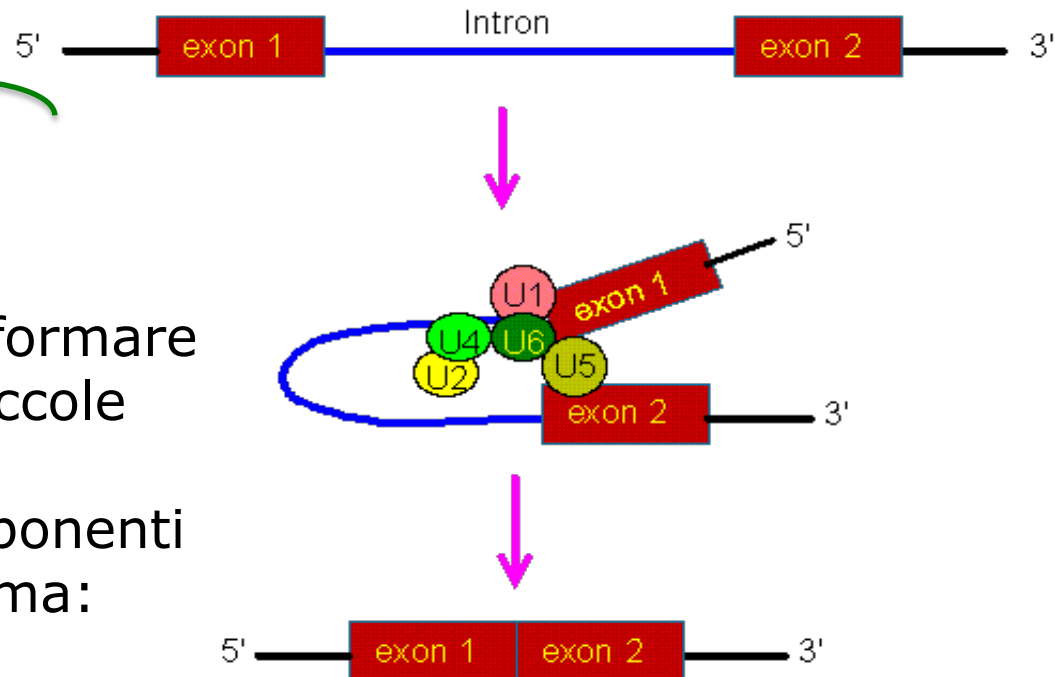
Gli **INTRONI** variano molto in dimensioni (da 100 a più di 100000 nt), non si possono considerare "spazzatura" che viene escissa e degradata: contengono elementi regolatori della trascrizione, possono codificare per piccoli RNA (miRNA o snoRNA)

MECCANISMO DI SPLICING

Lo splicing del pre-mRNA degli eucarioti multicellulari avviene grazie alla formazione di un enorme complesso RNA-proteine chiamato **SPLICEOSOMA**, che catalizza la reazione di splicing

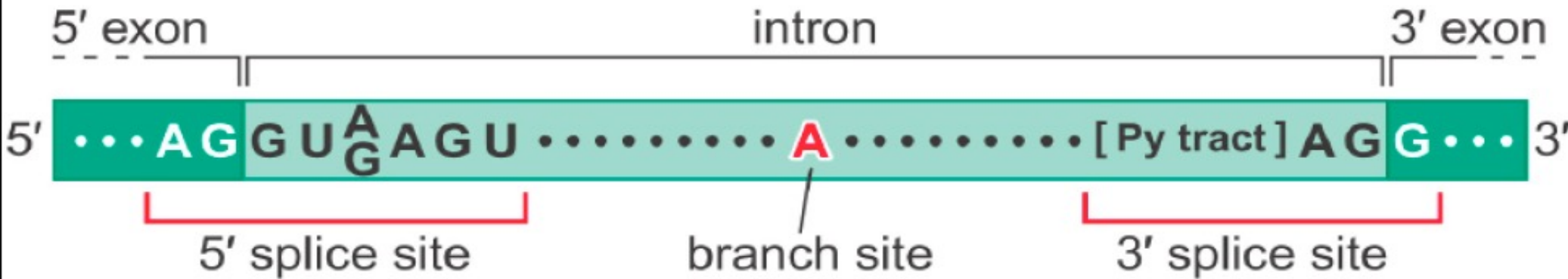
5 snRNA + >200 proteine

Compressati con proteine a formare 5 **snRNP** (pr. "snurp" = piccole particelle nucleari ribonucleoproteiche), i componenti principali dello spliceosoma:
U1, U2, U4, U5, U6.



I siti di splicing sono definiti da particolari sequenze di nucleotidi

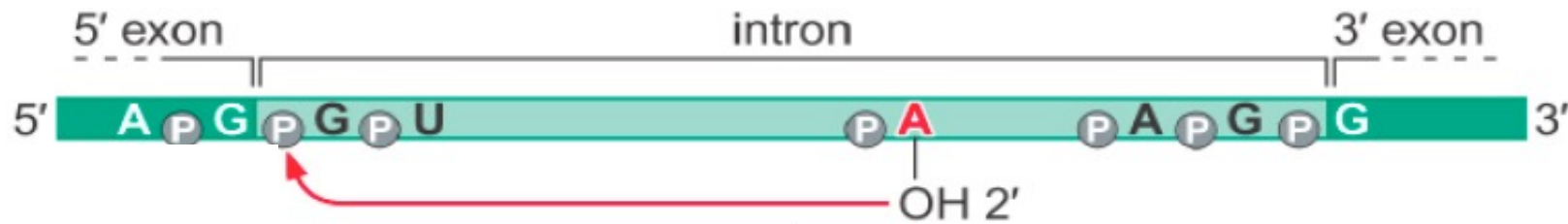
Analysis of a large number of mRNA genes has led to the identification of highly conserved consensus sequences at the 5' and 3' ends of essentially all mRNA introns



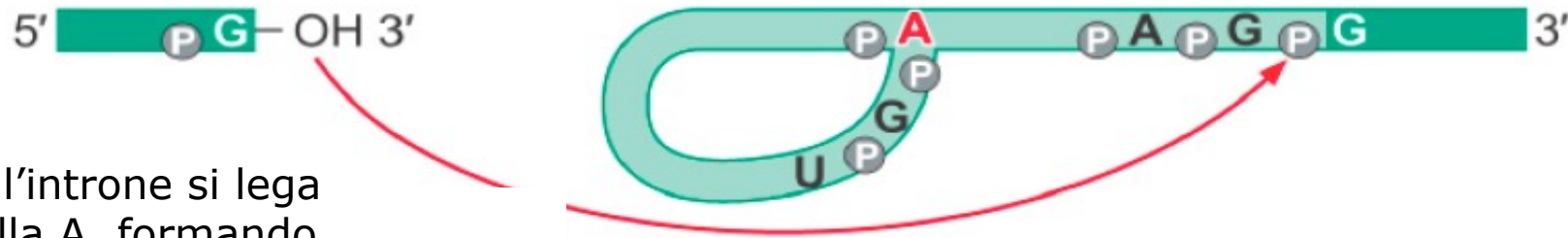
Tre sequenze consenso

- 5' splice site
- 3' splice site
- Branch point+poli pyrimidine tract

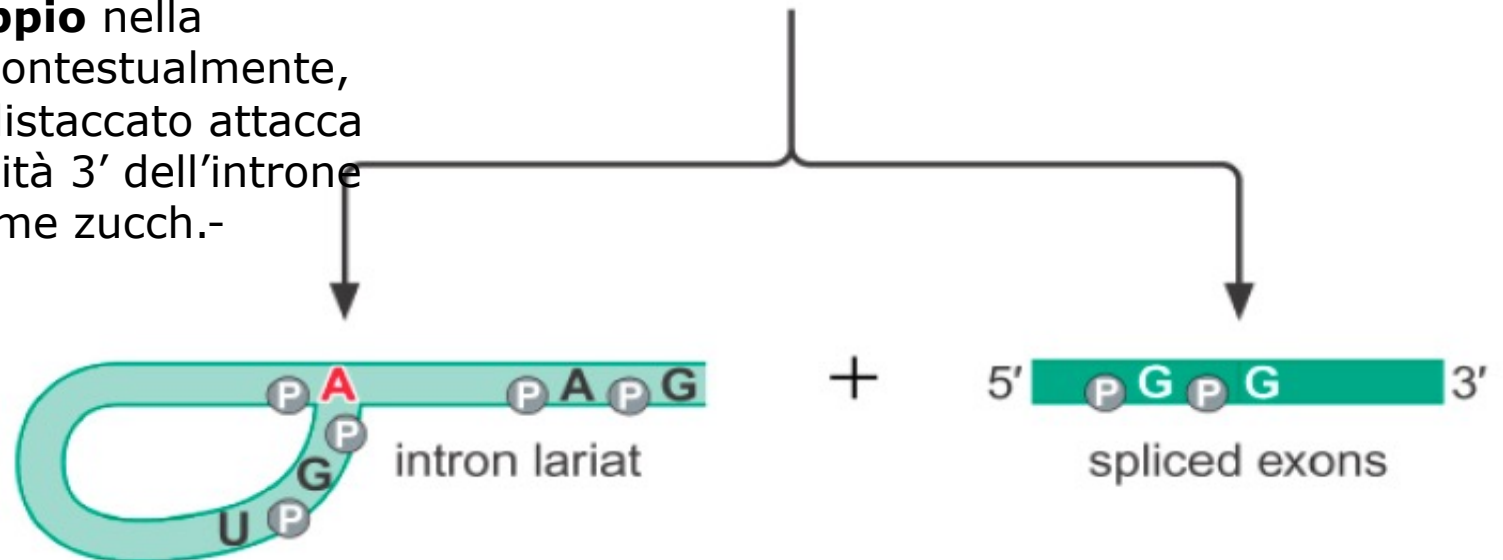
sono riconosciute dai diversi componenti della splicing machinery.



1. Il gruppo OH (2' del ribosio) della A del punto di ramificazione dell'introne "attacca" il fosfato al sito di splicing al 5' e fa tagliare il legame zucchero-fosfato.



2. L'estremità 5' dell'introne si lega covalentemente alla A, formando una struttura a **cappio** nella molecola di RNA. Contestualmente, il 3'OH dell'esone distaccato attacca il fosfato all'estremità 3' dell'introne e fa tagliare il legame zucch.-fosfato



3. Le due estremità degli esoni si legano rilasciando l'introne sempre con una struttura a cappio

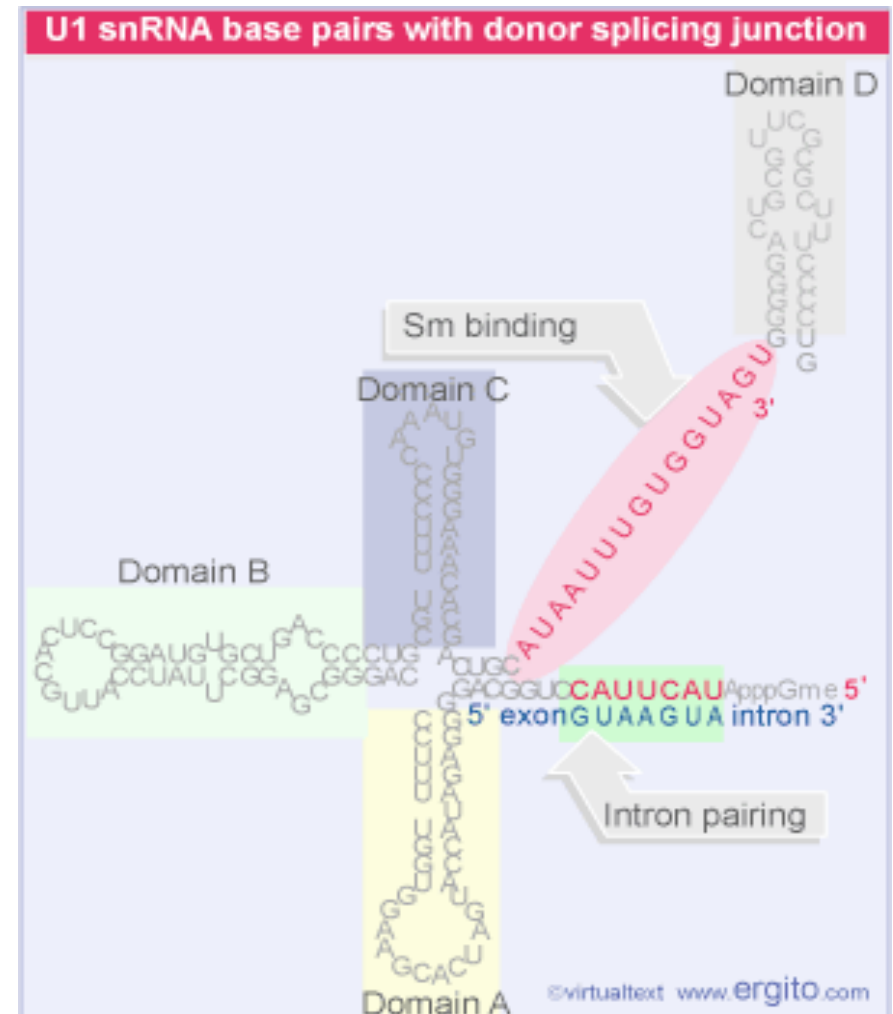
U1 snRNP e' composta da RNA e 8 proteine

Key concept

U1 snRNP inizia lo splicing legando il 5' splice site attraverso un appaiamento RNA-RNA

La struttura secondaria di snRNA contiene vari domini.

Il Sm-binding site serve per l'interazione con proteine comuni a tutte le snRNP, mentre gli stem loops mediano il legame a proteine specifiche di U1.



SPLICING ED EXPORT NUCLEARE

Completato lo splicing, lo spliceosoma direziona un set di proteine alle giunzioni esone-esone a formare i complessi EJC (Exon Junction Complexes), che contribuiscono al trasporto dell'mRNA fuori dal nucleo e al controllo di qualità dell'mRNA in vista della traduzione

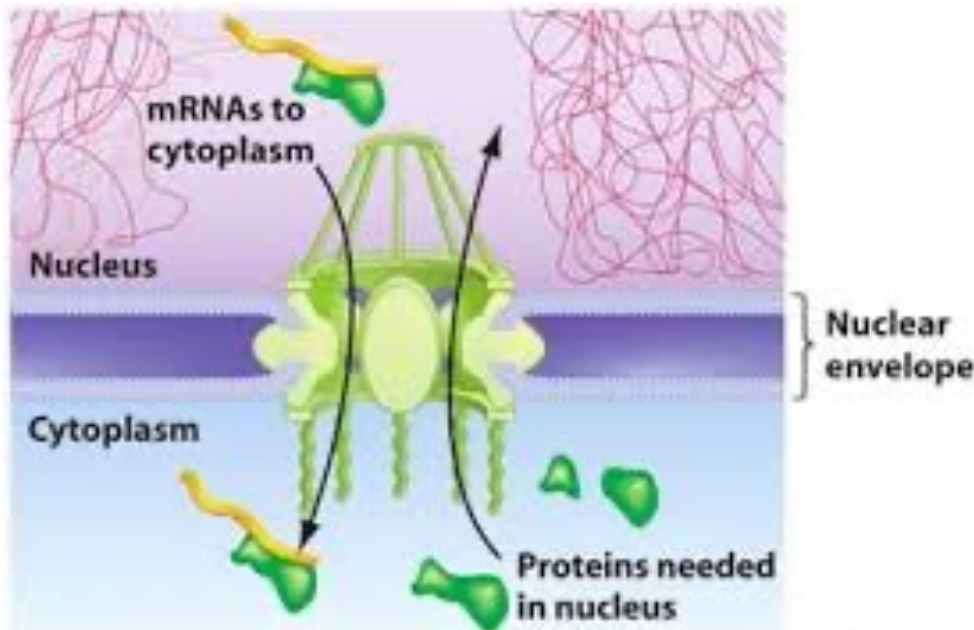
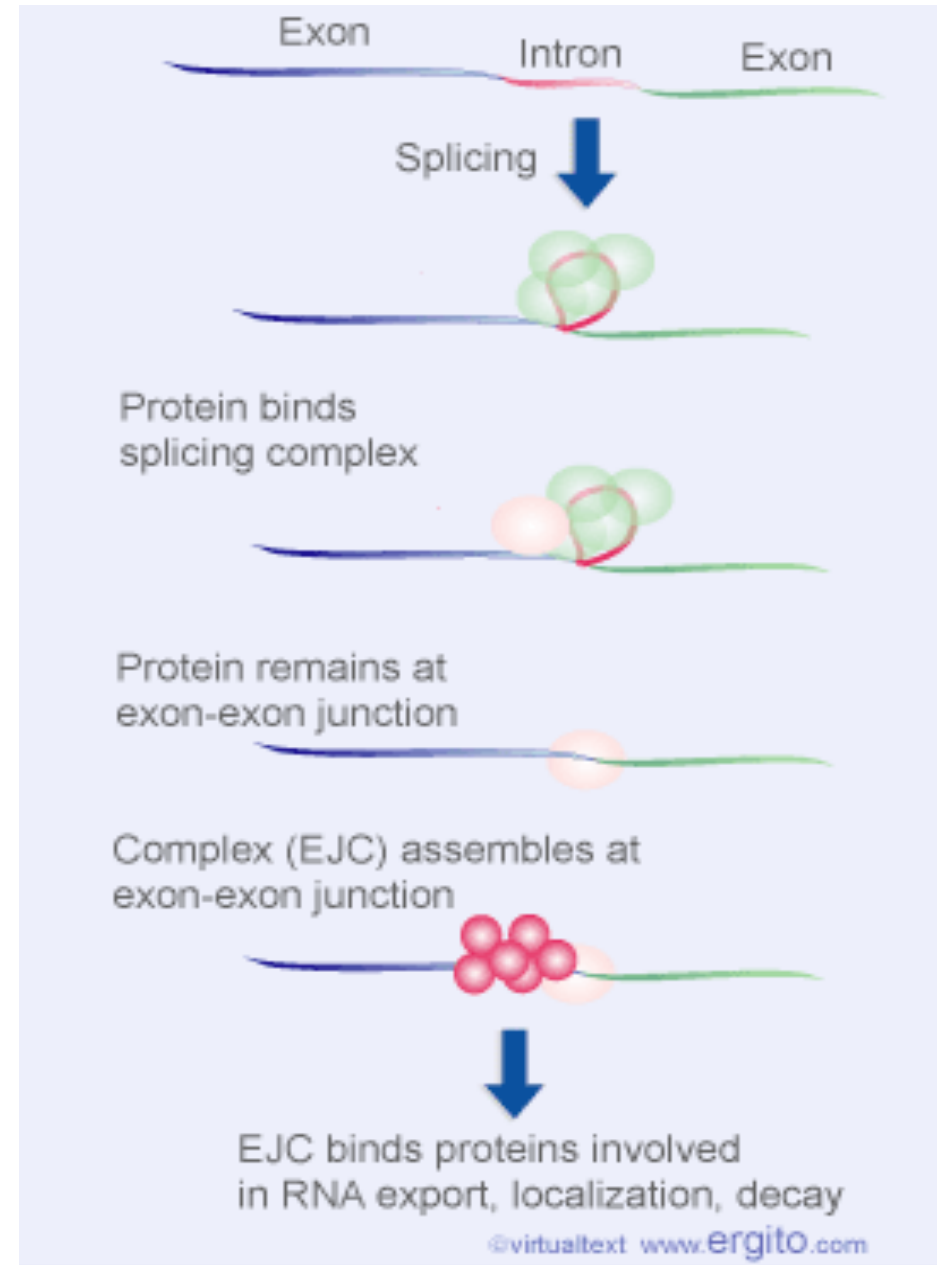


Figure 1-21: Biological Sciences, 2/e

© 2005 Pearson Education, Inc.



MECCANISMI DI SPLICING DI ALTRI RNA

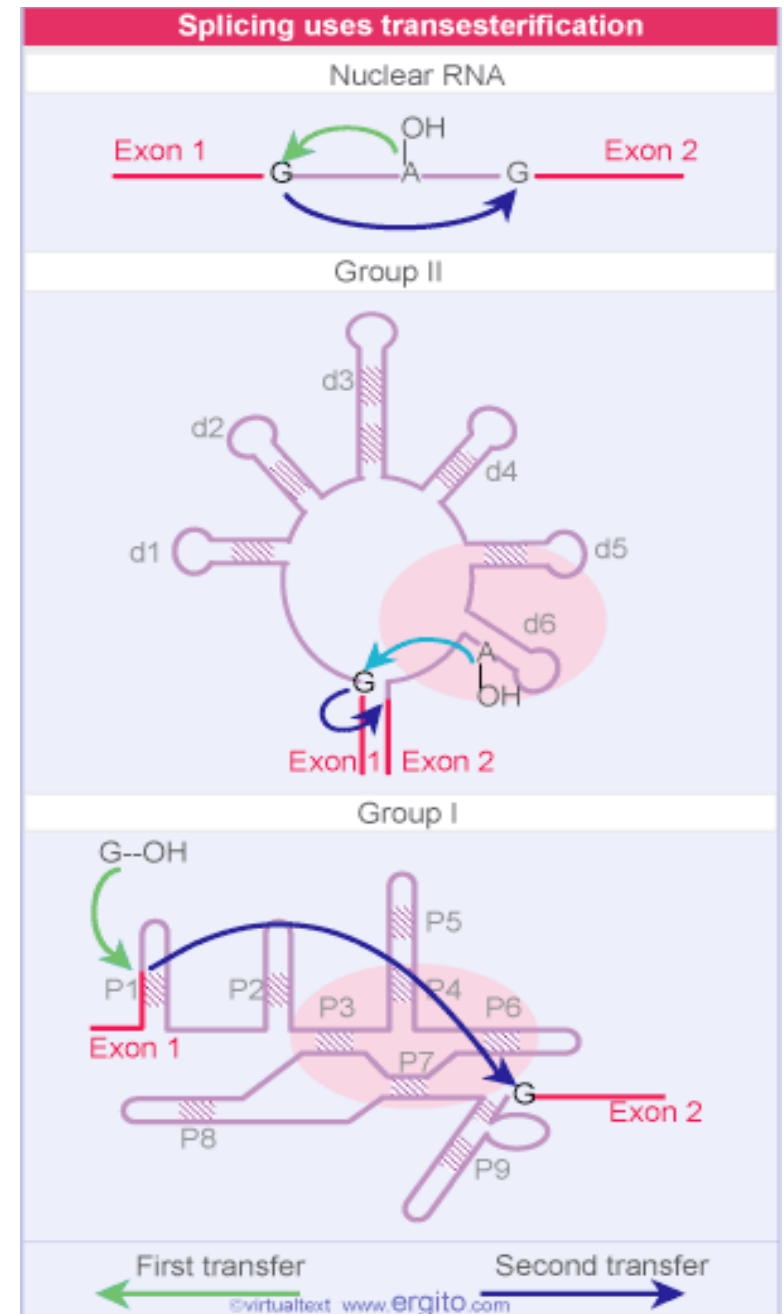
A seconda del meccanismo di splicing, gli introni sono classificati in 5 classi principali:

- Introni spliceosomali (dei pre-mRNA)
- Introni autocatalitici di gruppo I
- Introni autocatalitici di gruppo II
- Introni dei tRNA

Gli introni di gruppo I e II sono capaci di rimuoversi da soli dall'RNA (**autosplicing**)

- Introni autocatalitici di gruppo I: **rRNA** di eucarioti inferiori (in mitocondri: rRNA, tRNA e mRNA)
- Introni autocatalitici di gruppo II: in RNA di mitocondri e cloroplasti di alcuni protisti, funghi, alghe e piante e in alcuni RNA batterici

Si tratta in entrambi i casi di grandi RNA catalitici, i due gruppi si distinguono per struttura e meccanismo di autosplicing

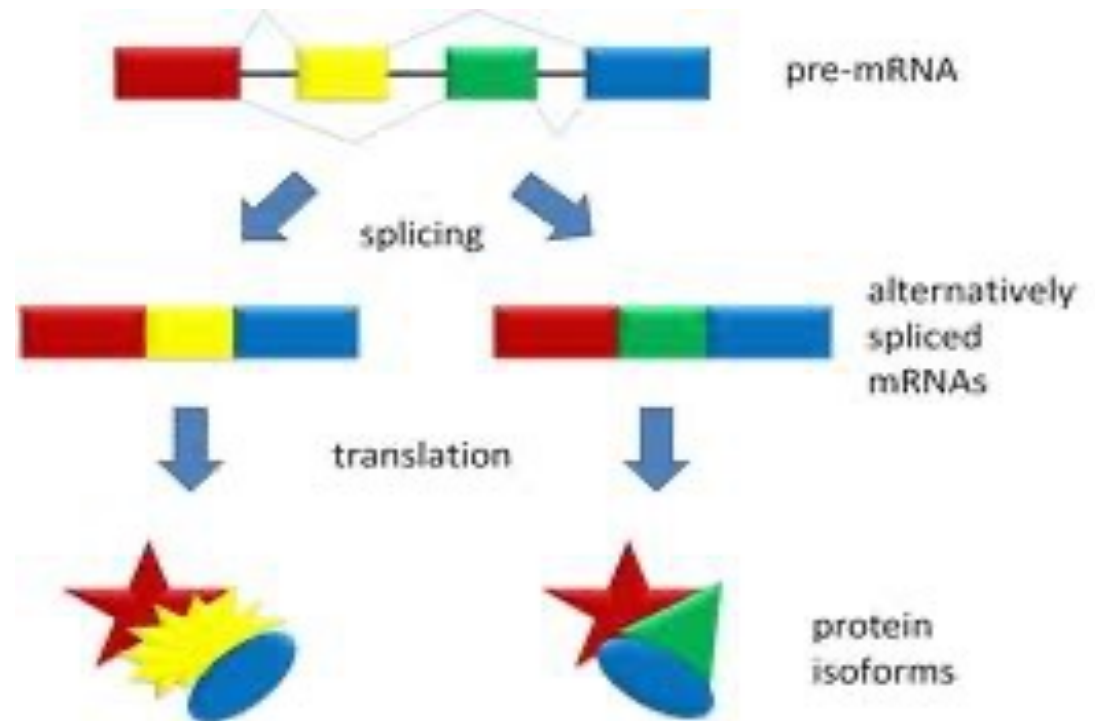


SPLICING ALTERNATIVO

Sintesi di diversi mRNA maturi a partire da uno stesso pre-mRNA grazie a differenti combinazioni di esoni che originano diverse isoforme proteiche. Particolari pre-mRNA hanno posizioni multiple di splicing alternativo che permettono di ottenere da un singolo gene una famiglia di proteine correlate.

Almeno il 60% dei geni umani va incontro a splicing alternativo; lo splicing alternativo rappresenta un mezzo versatile per

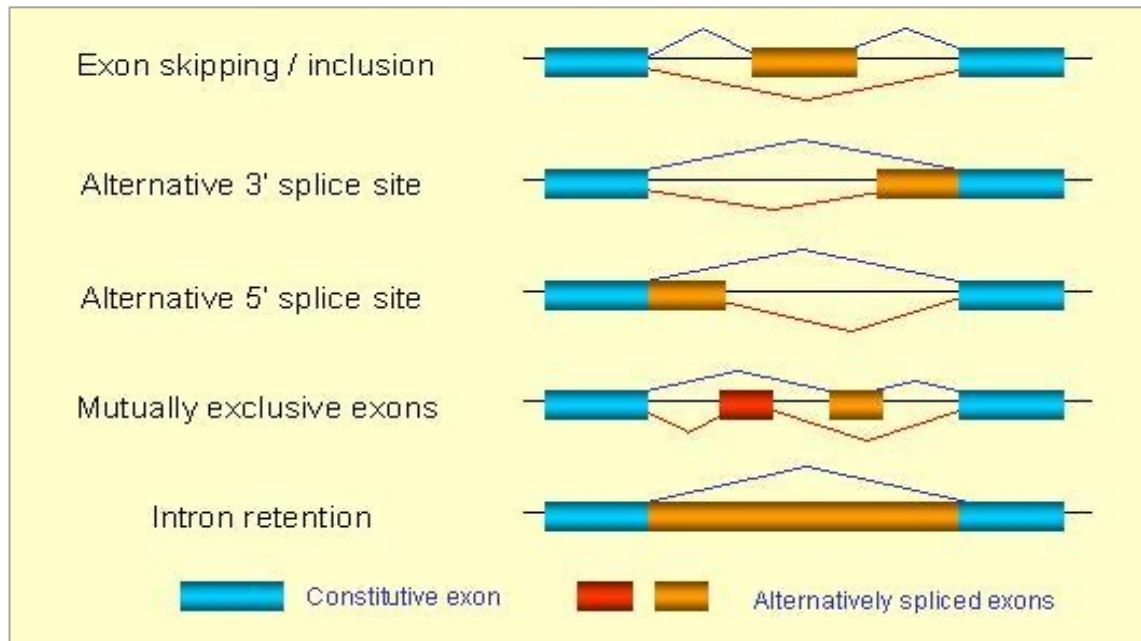
**REGOLARE
L'ESPRESSIONE GENICA**



SPLICING ALTERNATIVO: MECCANISMI

Lo splicing della maggior parte degli esoni è **COSTITUTIVO**: vengono sempre inclusi nell'mRNA maturo.

Lo splicing di alcuni esoni è **REGOLATO**: possono essere inclusi o esclusi in base all'utilizzo di giunzioni di splicing alternative.

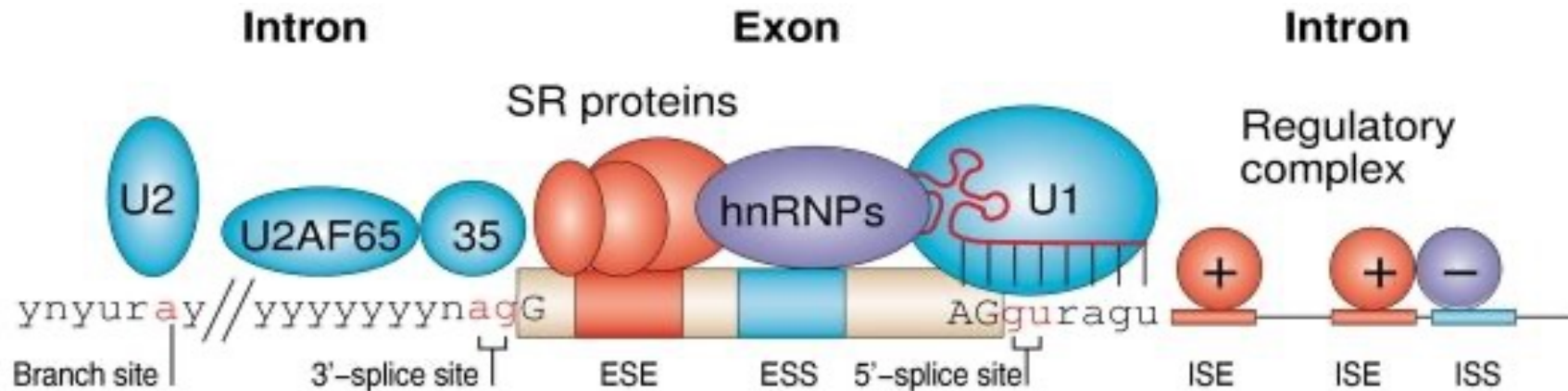


In certi casi di splicing alternativo si ha accorciamento o allungamento di un esone o la ritenzione di un introne.

SPLICING ALTERNATIVO: REGOLAZIONE

Negli esoni e negli introni dei pre-mRNA sono stati individuati elementi cis-agenti che regolano lo splicing alternativo riconosciuti da proteine regolatrici *trans-agenti*.

ESE (Enhancer di Splicing degli Esoni)
ESS (Silenziatori di Splicing degli Esoni)
ISE (Enhancer di Splicing degli Introni)
ISS (Silenziatori di Splicing degli Introni)



SPLICING: QUANDO NON FUNZIONA CORRETTAMENTE

Si è stimato che il 15% delle mutazioni puntiformi che causano malattie genetiche umane abbiano effetti sullo splicing

Table 1. The affects of alternative splicing on disease^a

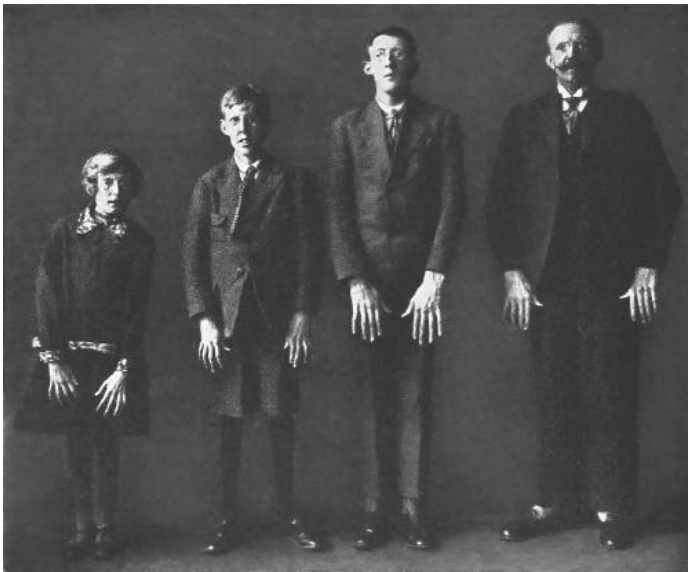
Disorder	Gene	Missense	Nonsense	Translationally silent	Refs
Acute intermittent porphyria	Porphobilinogen deaminase			R28R (C→G, 3)	[69]
Breast and ovarian cancer	<i>BRCA1</i>		E139K (G→T, 18)		[70]
Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type 1a	<i>PMM2</i>		E139K (G→A, 5)		[71]
Ceroid lipofuscinosis	<i>Sterol-27-hydroxylase</i>			G112G (G→T, 2)	[72]
<u>Cystic fibrosis</u>	<i>CFTR</i>		E60X (G→T, 3); R75X (C→T, 3); R553X (C→T, 11); W1228X (G→A, 20)		[65]
Ehlers-Danlos syndrome type V1	Lysyl hydroxylase		Y511X (C→A, 14)		[73]
Fanconi anemia	<i>FANCG</i>		Q356X (C→T, 8)		[74]
Frontotemporal dementia (FT DP-17)	Tau	S305N (G→A, 10); N297K (T→G, 10)		L284L (T→C, 10); S305S (T→C, 10)	[75,76]
<u>Hemophilia A</u>	Factor VIII		E1987X (G→T, 19); R2116X (C→T, 22)		[65]
HPRT deficiency	Hypoxanthine phosphoribosyl transferase	G40V (G→T, 2); R48H (G→A, 3); A161E (C→A, 6); P184L (C→T, 8); D194Y (G→T, 8); E197K (G→A, 8); E197V (A→T, 8)		F199F (C→T, 8)	[65]
Leigh's encephalomyelopathy	Pyruvate dehydrogenase E1α			G185G (A→G, 6)	[77]
<u>Marfan syndrome</u>	Fibrillin-1			I2118I (C→T, 51)	[78]
Metachromatic leukodystrophy (juvenile form)	Arylsulfatase A	T409I (C→T, 8)			[79]
Neurofibromatosis type 1	<i>NF1</i>		R304X (C→T, 7); Q756X (C→T, 14); Y2264X (C→A, 37)		[80]
OCT deficiency	Ornithine carbamoyltransferase		L304F (G→T, 9)		[81]
Porphyria cutanea tarda	Uroporphyrinogen decarboxylase			E314E (G→A, 9)	[82]
Sandhoff disease	Hexosaminidase	P404L (C→T, 11)			[83]
Severe combined immunodeficiency	Adenosine deaminase	R142Q (G→A, 5)	R142X (C→T, 5)		[84]
Spinal muscle atrophy	<i>SMN1</i>		W102X (G→A, 3)		[85]
Spinal muscle atrophy	<i>SMN2</i>			F280F (C→T, 7)	[86]
Tyrosinemia type 1	Fumaryl acetoacetate hydrolase	Q279R (A→G, 8)		N232N (C→T, 8)	[87,88]

^aMissense, nonsense and translationally silent point mutations that cause hereditary disease through changes in the alternative splicing of the exons that harbor them. Notation: S305N (G→A, 10) indicates that a G mutated to an A in exon 10, with a putative translational effect of replacing a serine at position 305 for an asparagine. Consistently E60X (G→T, 3) indicates that a G mutated to a T in exon 3, with a putative translational effect of generating a premature stop codon instead of the codon for glutamic acid position 60.

SPLICING: QUANDO NON FUNZIONA CORRETTAMENTE

Es: sindrome di Marfan

Disordine sistemico ereditario del tessuto connettivo risultante in un allungamento delle strutture scheletriche e malformazioni a livello cardiovascolare e oculare



- ✓ *Mutazioni gene fibrillina-1 (FBN1)*
- ✓ *Fibrillina-1: glicoproteina che lega il calcio*
maggior componente delle
microfibrille della matrice
extracellulare

Diverse mutazioni del gene FBN1 sono associate a uno splicing aberrante!