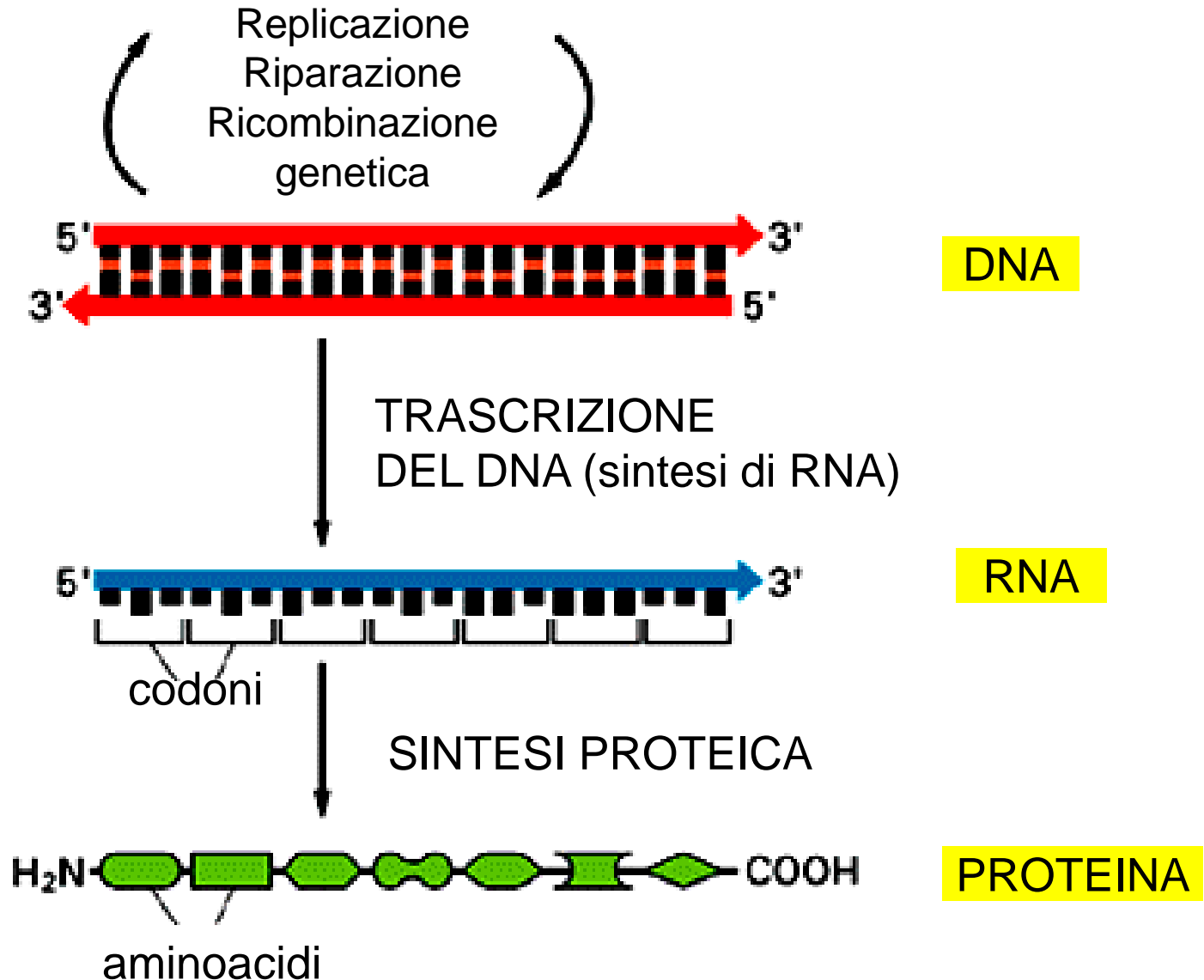


**FLUSSO DELL'INFORMAZIONE E
REGOLAZIONE
DELL'ESPRESSIONE GENICA**

Trascrizione e maturazione degli RNA

Caratteristiche generali della trascrizione

Il flusso dell'informazione genetica è da DNA a RNA a proteine. Tutte le cellule, dai batteri all'uomo, esprimono la loro informazione genetica in questo modo – un principio così fondamentale da essere chiamato il **dogma centrale** della biologia molecolare.

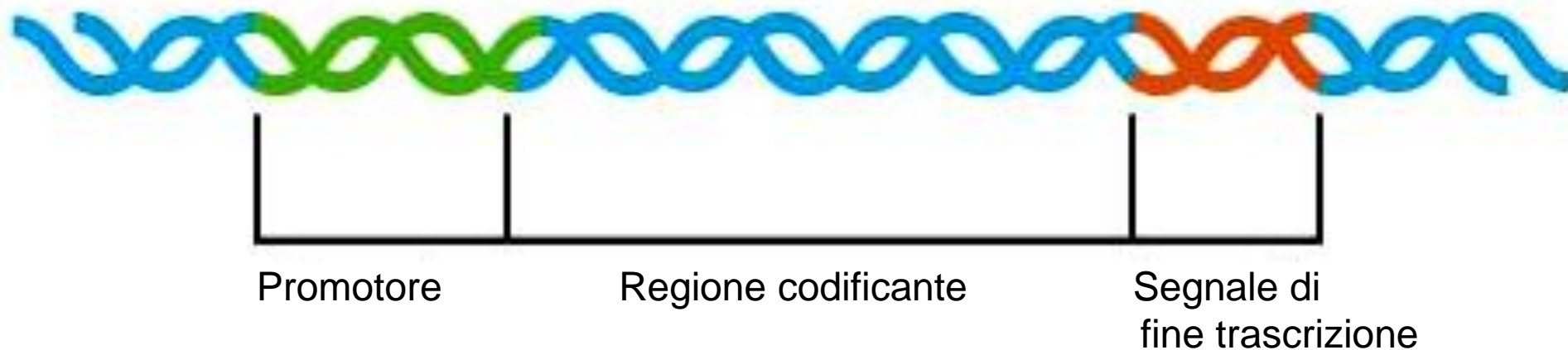


Trascrizione e maturazione degli RNA

Caratteristiche generali della trascrizione

Il primo passaggio della lettura di una parte necessaria delle istruzioni genetiche di una cellula è quello di copiare una porzione particolare della sequenza nucleotidica del suo DNA – un gene – in una sequenza nucleotidica di RNA. L'informazione del DNA, anche se copiata in un'altra forma chimica, è ancora scritta essenzialmente nello stesso linguaggio del DNA – il linguaggio di una sequenza nucleotidica. Da cui il nome trascrizione.

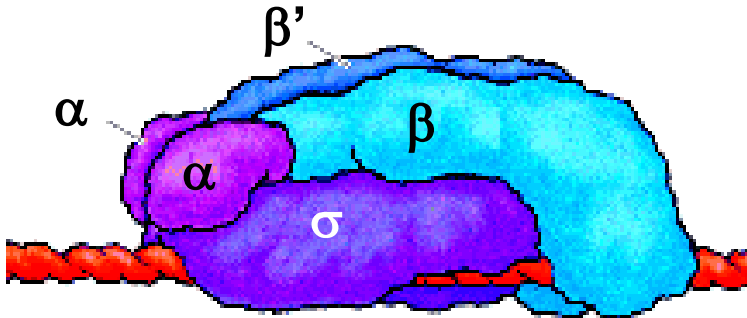
In termini molecolari un **GENE** può essere definito come un segmento di DNA che viene espresso per ottenere un prodotto funzionale, corrispondente o ad una molecola di RNA (es. RNA ribosomiali o RNA transfer) o ad un polipeptide.



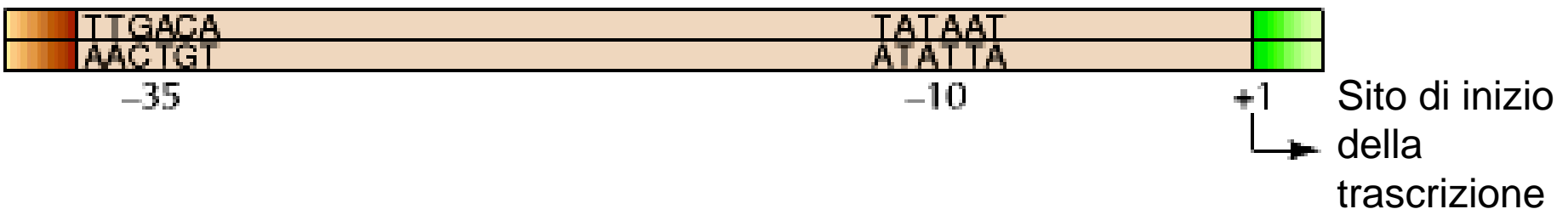
Trascrizione e maturazione degli RNA

Nei procarioti

RNA polimerasi:



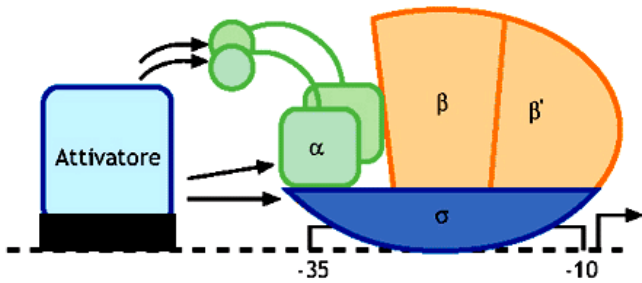
l'enzima completo consiste di 5 subunità: 2 α , 1 β , 1 β' e 1 σ . La subunità σ è attaccata in modo relativamente debole e può essere dissociata dalle altre subunità che costituiscono il nucleo della polimerasi



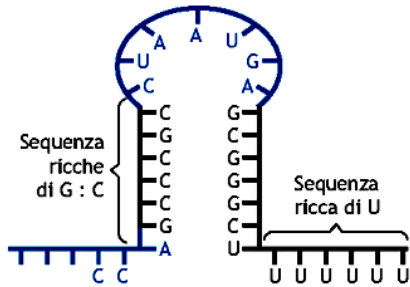
La sequenza di DNA a cui si lega la RNA polimerasi per iniziare la trascrizione di un gene si chiama **promotore**

Trascrizione e maturazione degli RNA

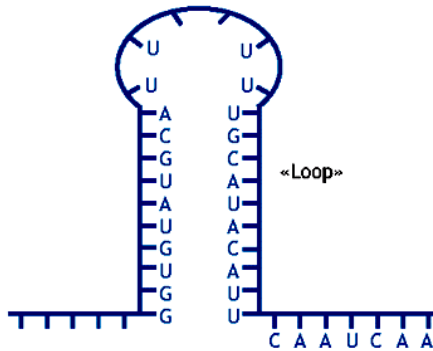
Nei procarioti



■ **Figura 4.29** L'attivatore può contattare un certo numero di siti dell'RNA polimerasi per ancorarla saldamente al promotore.

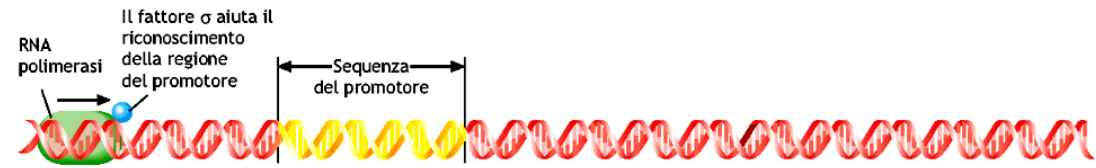


Terminatore ρ-indipendente

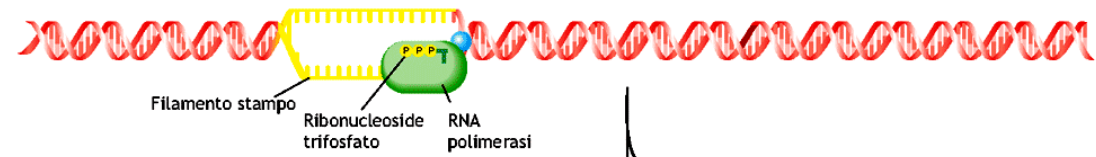


Terminatore ρ-dipendente

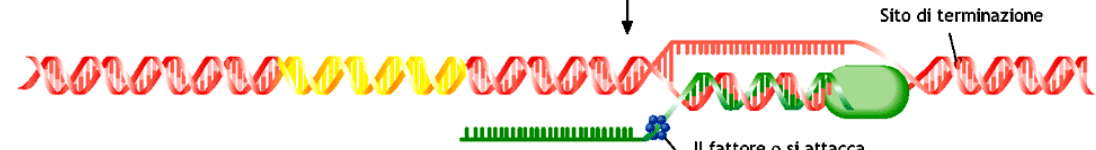
■ **Figura 4.28** La terminazione della trascrizione mediante formazione di loop nelle molecole di mRNA.



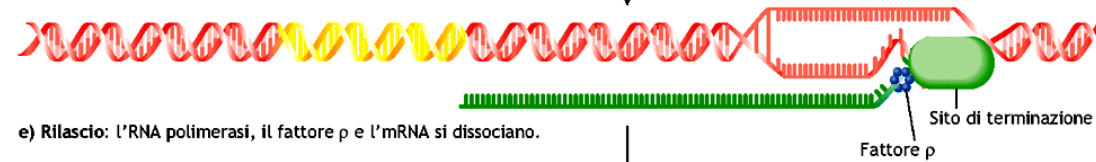
b) **Inizio:** l'RNA polimerasi si lega alla sequenza del promotore e separa i due filamenti in modo tale che copierà solo un filamento, ma non l'altro. Si forma quindi una coppia di basi fra una base nel filamento stampo e un ribonucleoside trifosfato.



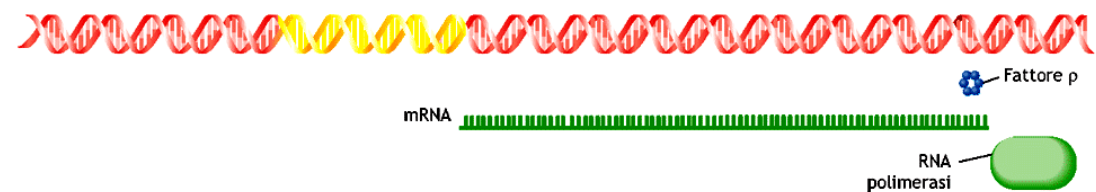
c) **Allungamento:** vengono aggiunti ulteriori residui nucleotidici. Il filamento di RNA cresce dal 5' al 3' ed è parzialmente legato al DNA (Ibrido DNA-RNA in conformazione A).



d) **Terminazione:** il sito di terminazione indica la fine della trascrizione. Il fattore ρ srotola l'ibrido DNA/RNA a livello della "bolla" di trascrizione.



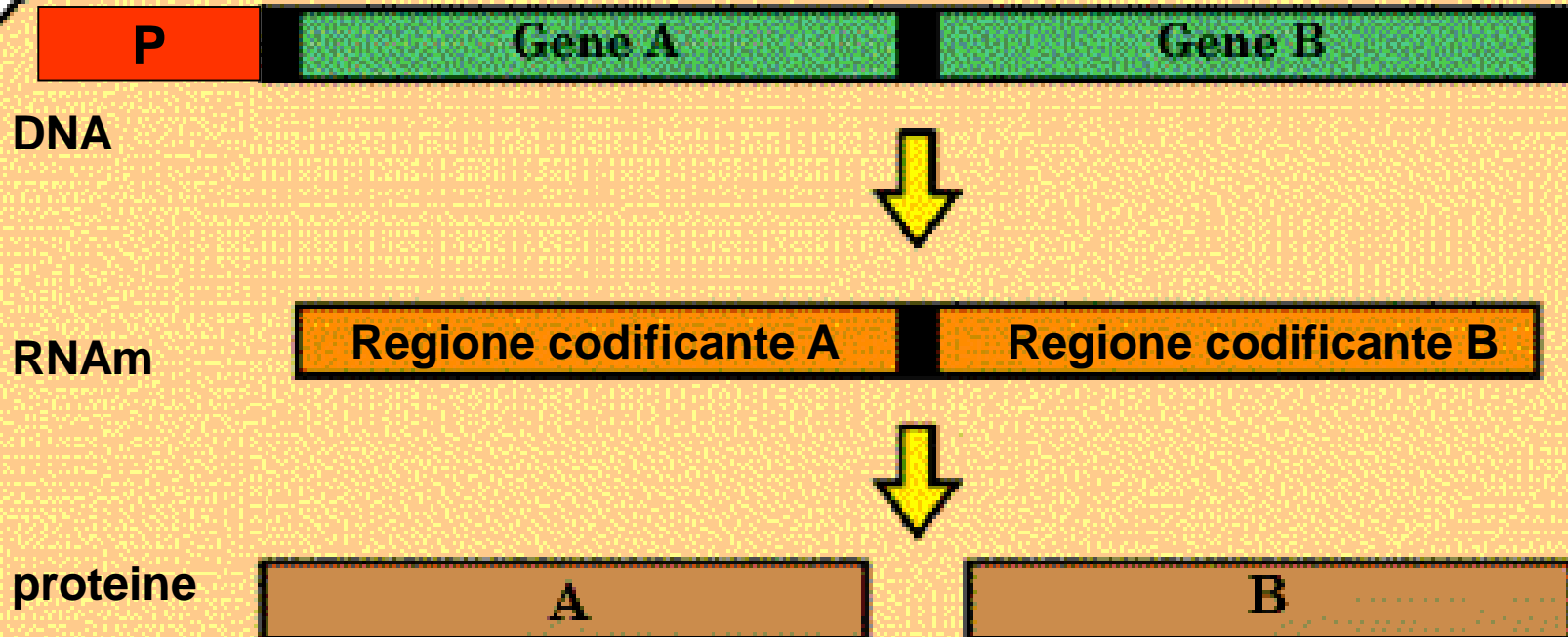
e) **Rilascio:** l'RNA polimerasi, il fattore ρ e l'mRNA si dissociano.



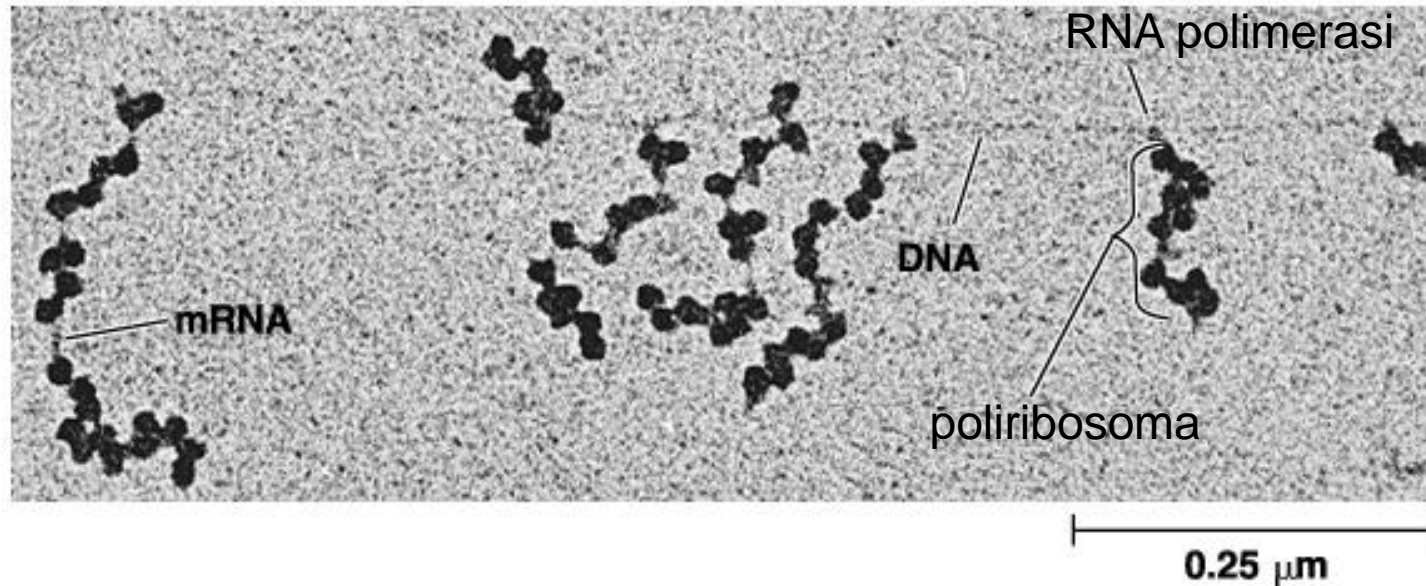
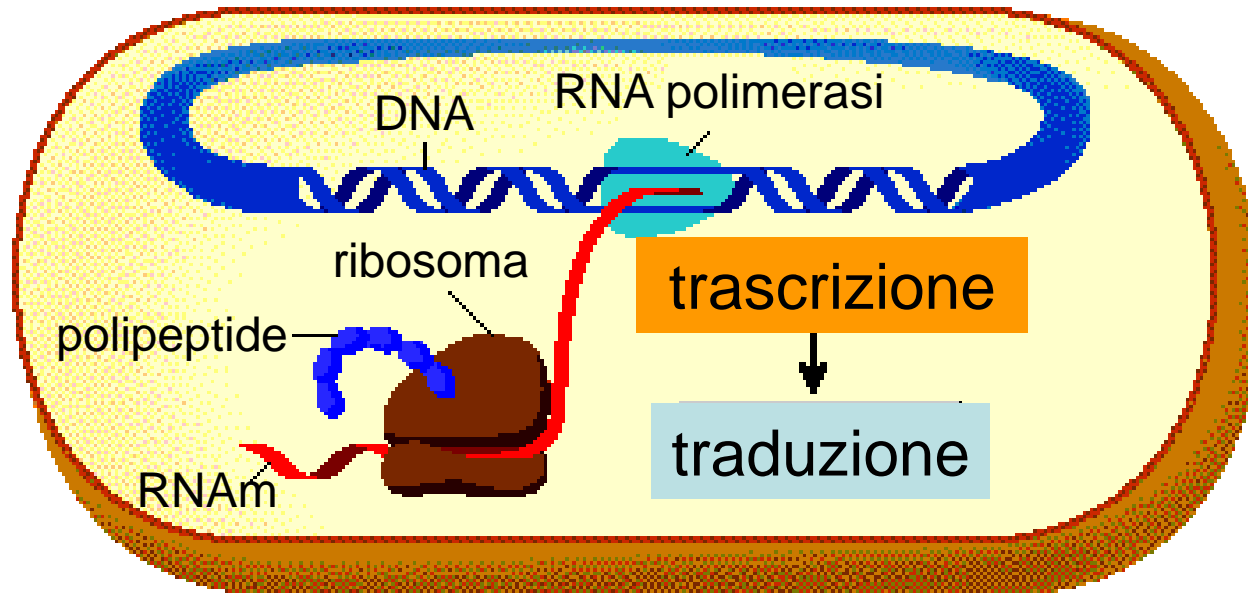
■ **Figura 4.27** La trascrizione nei batteri.

L'RNAm dei procarioti è policistronico

Nei procarioti più geni si trovano sotto il controllo di un unico promotore a formare i cosiddetti operoni. Questi geni, in genere, codificano proteine necessarie in una specifica via metabolica come la biosintesi di un amminoacido o il catabolismo del glucosio. Ne consegue che l'RNAm trascritto da un operone procariotico è policistronico cioè codifica più proteine da un singolo trascritto.



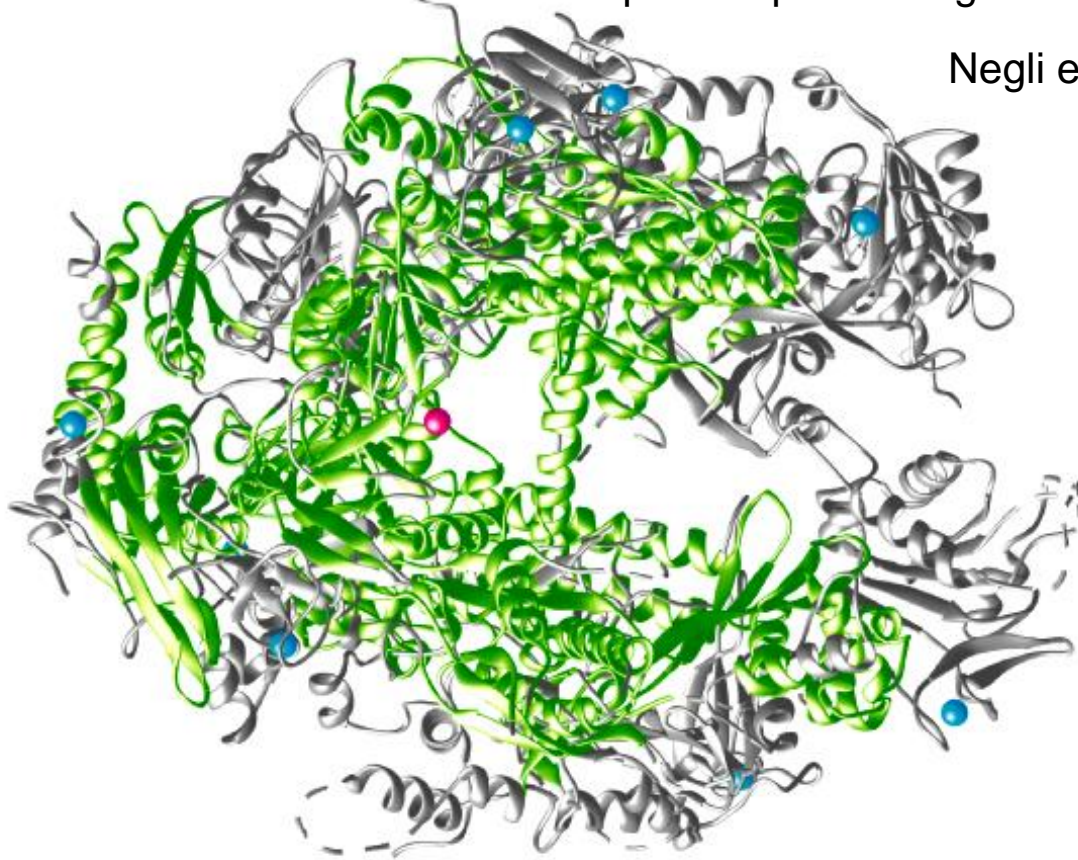
La trascrizione nei procarioti



Trascrizione e maturazione degli RNA

Negli eucarioti

Sebbene il meccanismo della trascrizione del DNA sia simile nei procarioti e negli eucarioti, il macchinario è considerevolmente più complesso negli eucarioti.



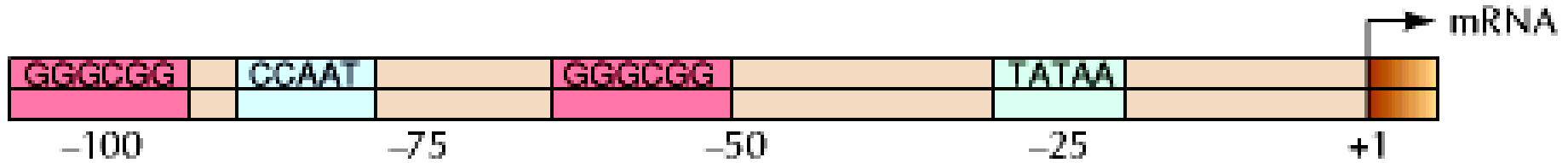
Negli eucarioti ci sono tre tipi di RNA polimerasi:

- 1. RNA polimerasi I:**
sintetizza i grossi RNA ribosomali (28S, 18S, 5,8S).
- 2. RNA polimerasi II:**
trascrive i geni il cui RNA verrà tradotto in proteine, geni di snoRNA e alcuni geni di snRNA.
- 3. RNA polimerasi III:**
sintetizza una varietà di RNA piccoli e stabili come l'RNA ribosomale 5S, gli RNA transfer, alcuni geni di snRNA e il scRNA.

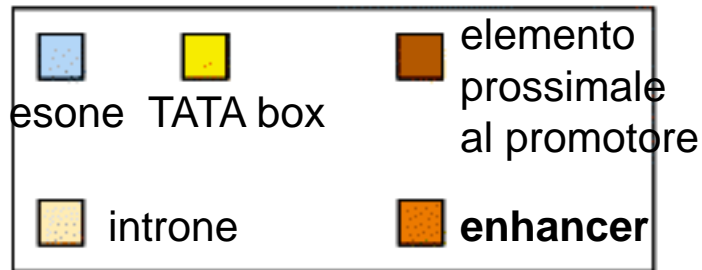
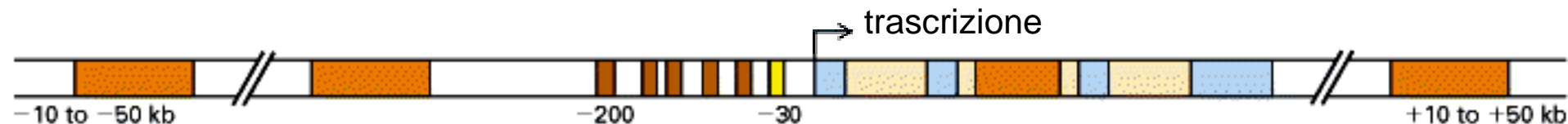
Una distinzione importante tra la RNA polimerasi batterica e la RNA polimerasi II degli eucarioti è che (1) l'enzima eucariotico per iniziare la trascrizione necessita di **proteine di inizio** che devono legarsi al promotore prima che si possa legare l'enzima. (2) L'inizio della trascrizione eucariotica deve tenere conto del compattamento del DNA nei nucleosomi e in forme di ordine superiore di struttura della cromatina, caratteristiche assenti nei cromosomi dei batteri.

Trascrizione e maturazione degli RNA

Negli eucarioti



Promotore eucariotico. Il promotore del gene della timidina chinasi di herpes simplex virus (HSV) contiene 3 sequenze a monte del TATA box che sono necessari per una efficiente trascrizione: 1 CCAAT box and 2 GC boxe (sequenze consenso GGGCGG).



LA TRASCRIZIONE NEGLI EUKARIOTI

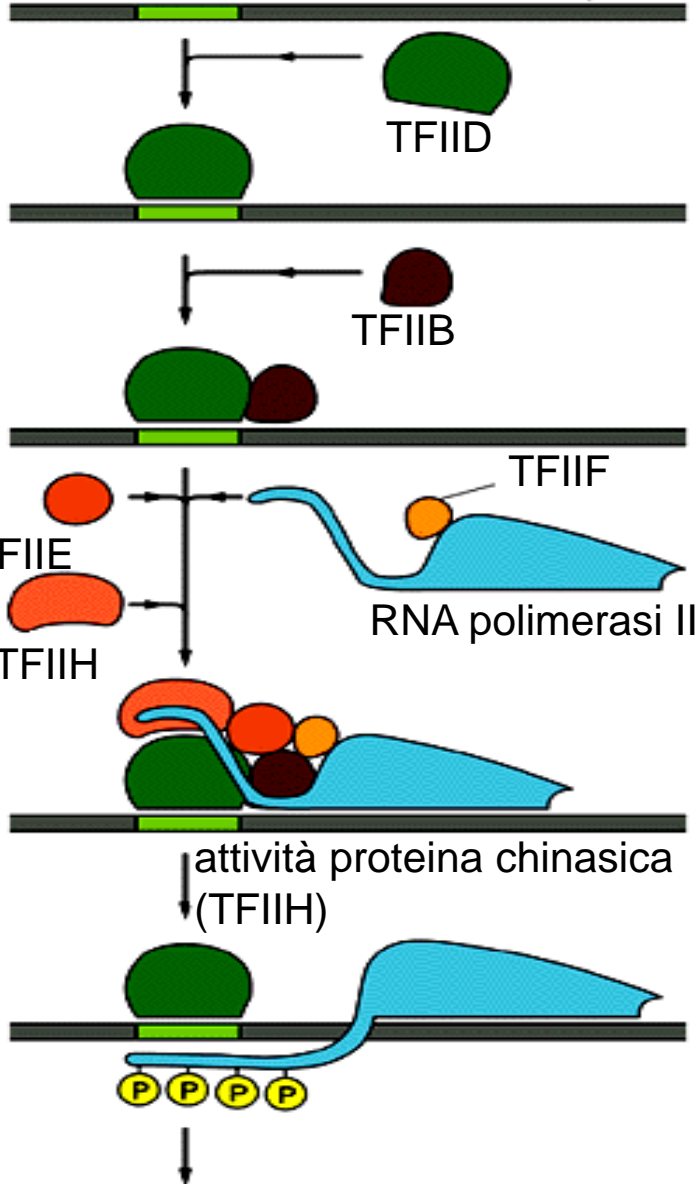
L'RNA polimerasi II richiede i fattori generali di trascrizione

(1) Aiutano a posizionare l'RNA polimerasi correttamente sul promotore; (2) aiutano a separare i due filamenti di DNA per permettere l'inizio della trascrizione; (3) rilasciano l'RNA polimerasi dal promotore nella modalità di allungamento una volta che la trascrizione è cominciata. Le proteine sono "generali" perché si assemblano su tutti i promotori usati dall'RNA polimerasi II.

Come la RNA polimerasi batterica, la polimerasi II rimane nel promotore, fino a che subisce un cambiamento conformazionale e viene rilasciata per iniziare a trascrivere un gene. Un passaggio chiave in questo rilascio è l'aggiunta di gruppi fosfato alla "coda" della RNA polimerasi (nota come CTD o dominio C-terminale). Questa fosforilazione è catalizzata anche da TFIIH, che, oltre ad un'elicasi, contiene come subunità una proteina chinasi. La polimerasi può allora staccarsi dal gruppo dei fattori generali di trascrizione, subendo una serie di cambiamenti conformazionali che rafforzano la sua interazione con il DNA e acquisendo nuove proteine che le permettono di trascrivere per lunghe distanze senza dissociarsi.

inizio della trascrizione

TATAA



LA TRASCRIZIONE INIZIA

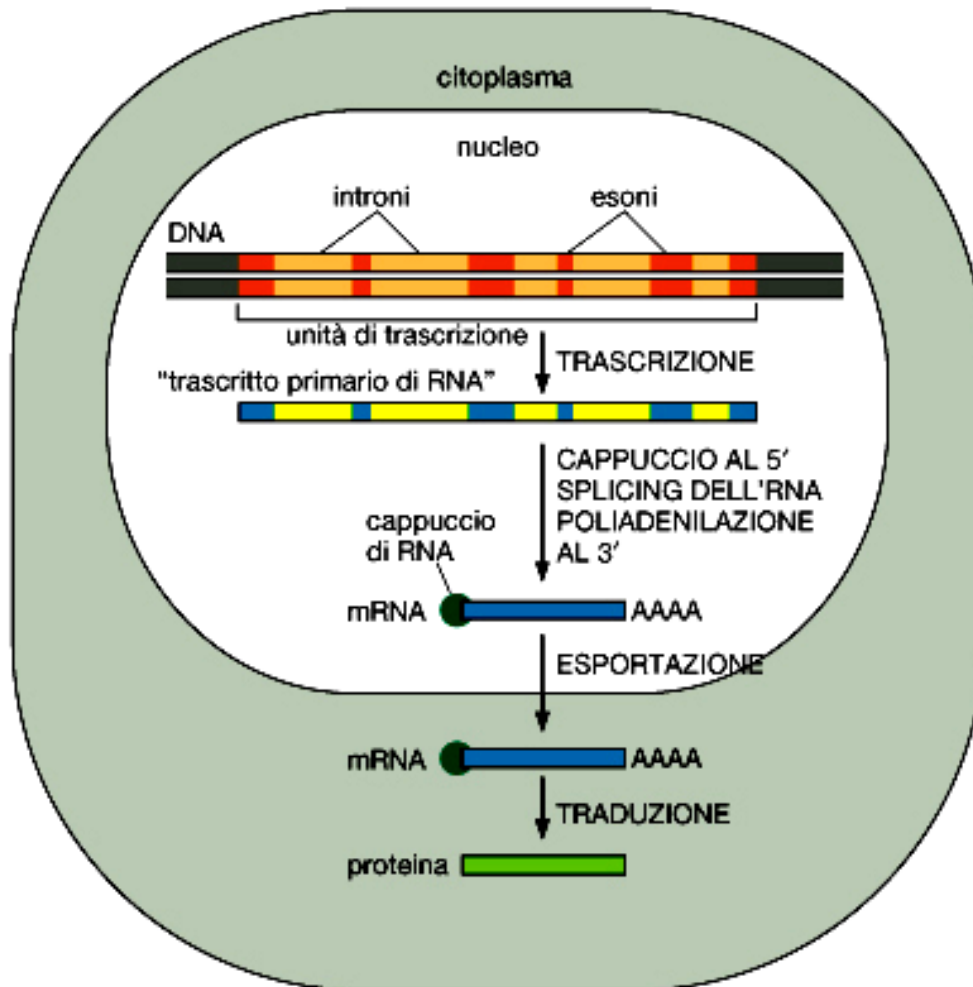
Negli eucarioti

Trascrizione e maturazione degli RNA

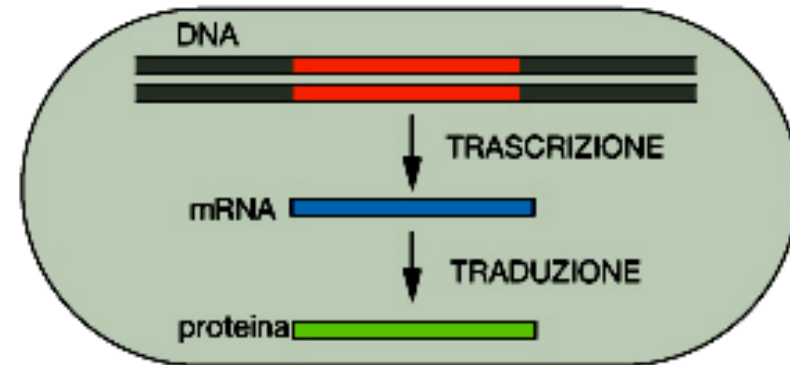
L'allungamento della trascrizione negli eucarioti è strettamente accoppiato alla modificazione dell'RNA

Le modificazioni al 5' e 3' permettono alla cellula di stabilire se sono presenti entrambe le estremità di una molecola di RNA (e perciò se il messaggero è intatto) prima di esportare l'RNA dal nucleo per tradurlo in proteina. Lo splicing dell'RNA fornisce agli eucarioti superiori la capacità di sintetizzare parecchie proteine diverse dallo stesso gene.

(A) EUCARIOTI



(B) PROCARIOTI

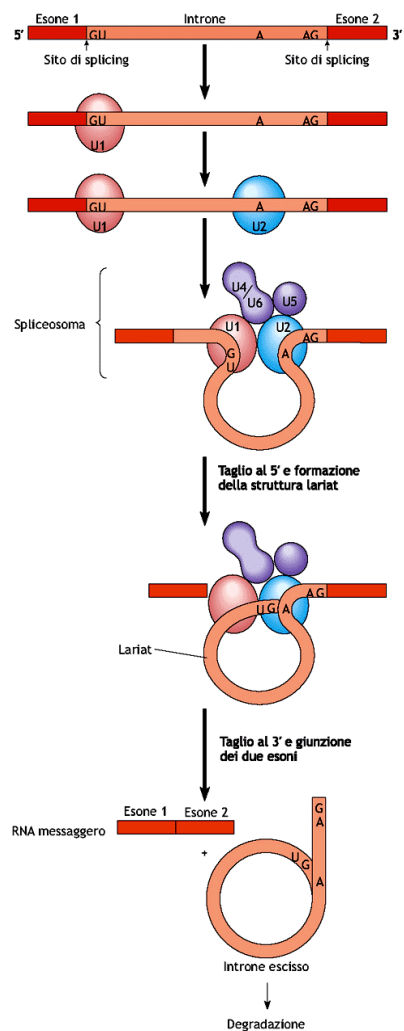
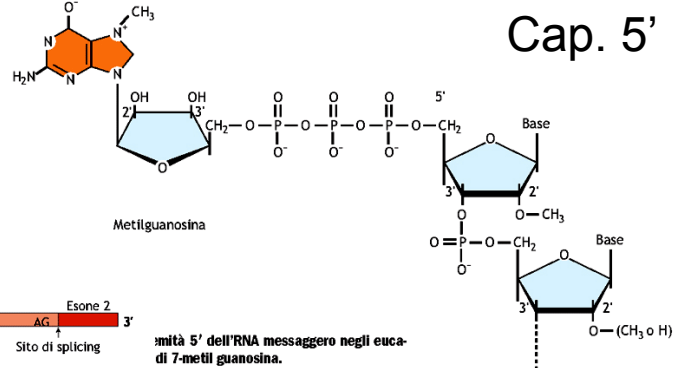
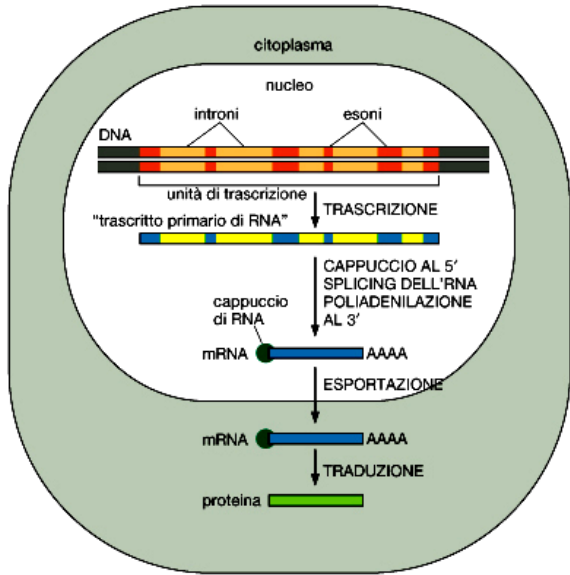


Trascrizione e maturazione degli RNA

Cap. 5'

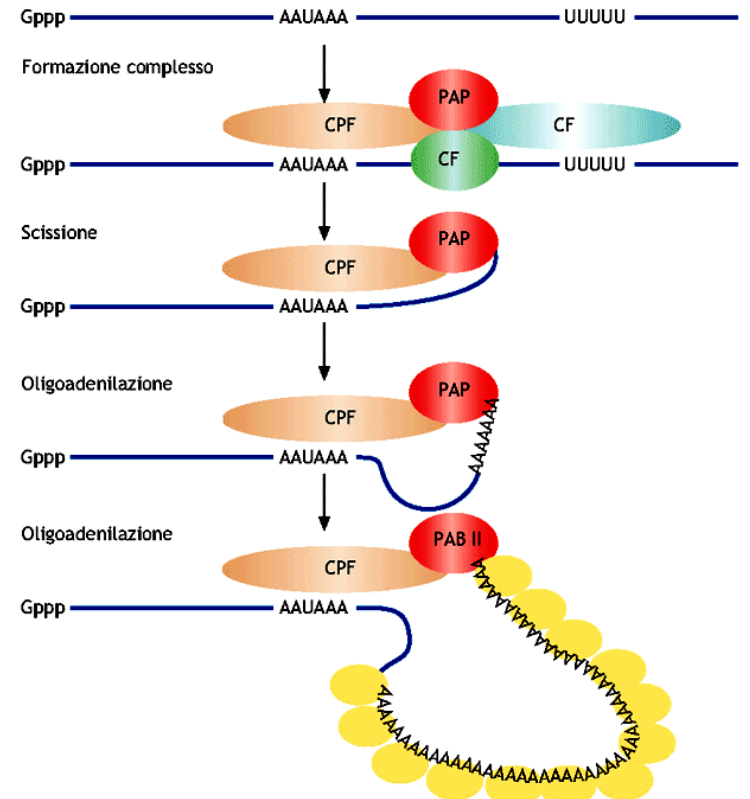
Negli eucarioti

(A) EUCARIOTI



mità 5' dell'RNA messaggero negli eucarioti 7-metil guanossina.

Poliadenilazione 3'



Splicing

Figura 4.39 Processo di splicing. Formazione e funzionamento dello spliceosoma.

La struttura del codice genetico e la traduzione

Proprietà del codice genetico

UGA=selenocisteina
UAG=pirrolisina

		Seconda base							
		U	C	A	G				
Prima base del codone	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } UAG }	UGU } Cys UGC } UGA } UGG } Trp	U	C	A	G
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U	C	A	G
	A	AUU } Ile AUC } AUA } AUG } Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U	C	A	G
	G	GUU } Val GUC } GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U	C	A	G

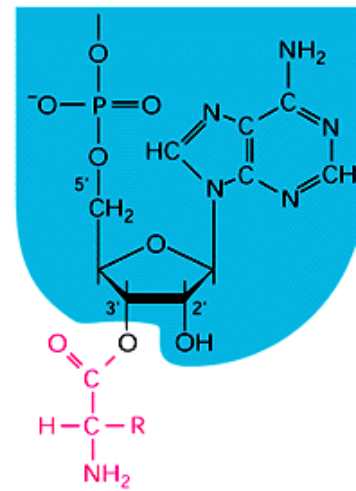
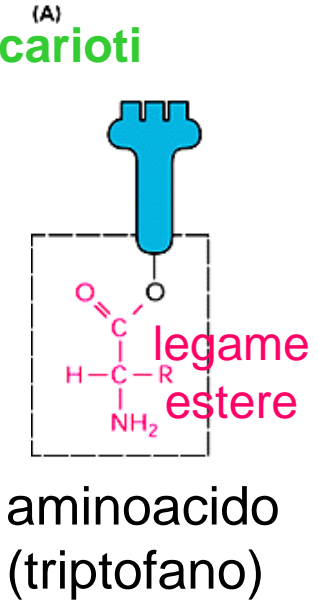
■ **Figura 4.46** Corrispondenza tra codoni ed amminoacidi.

macchina biosintetica di *Escherichia coli*, di amminoacidi marcati radioattivamente e di omopolimeri composti da

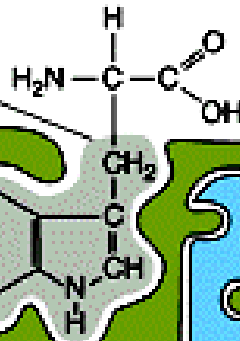
La traduzione nei procarioti

Traduzione nei procarioti

1. Fase ATP dipendente: attivazione dell'amminoacido

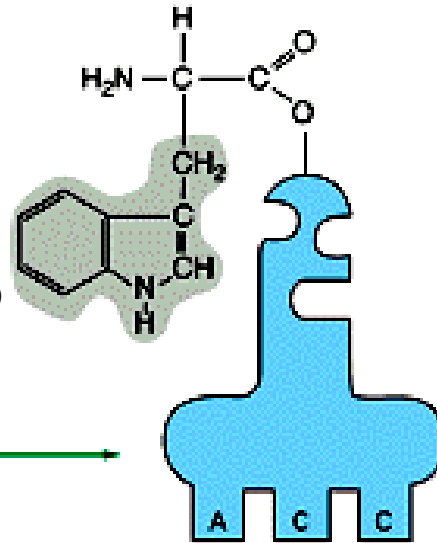


aminoacido (triptofano)



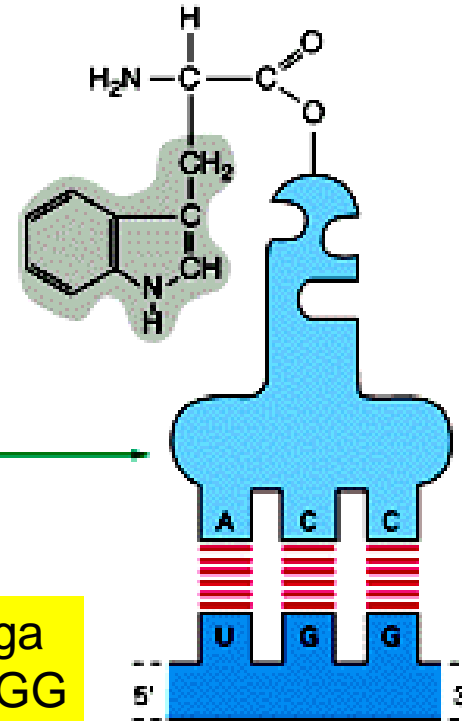
aminoacil-RNAt sintetasi specifica

RNA_t specifico



unione del Trp all'RNA_t

il Trp si lega al codon UGG



5' 3'

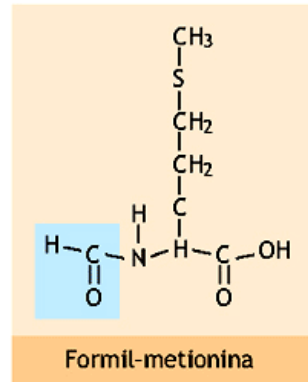
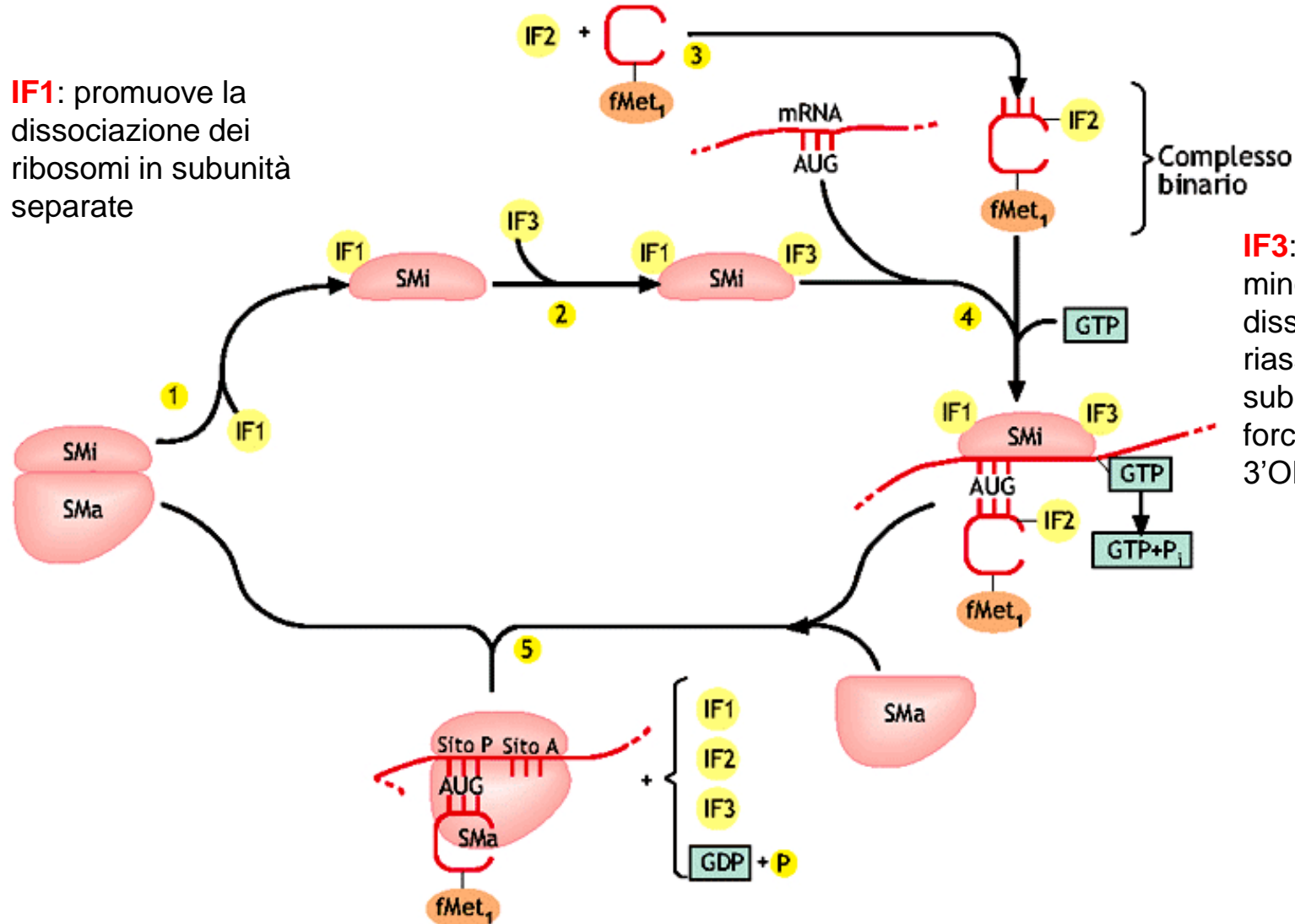
La traduzione nei procarioti

2. Fase GTP dipendente: Inizio

IF2: lega fMet-tRNA e lo porta alla sub minore del ribosoma; idrolizza GTP

IF1: promuove la dissociazione dei ribosomi in subunità separate

IF3: stabilizza la sub minore nella forma dissociata; previene la riassociazione delle 2 subunità; denatura la forcina terminale 3'OH dell'rRNA 16S



Formula della formilmetionina.

La traduzione nei procarioti

1. Fase GTP dipendente: Allungamento

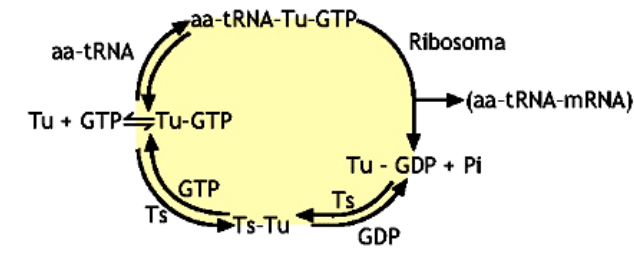


Figura 4.62 Il fattore di allungamento EFT (Ts-Tu).

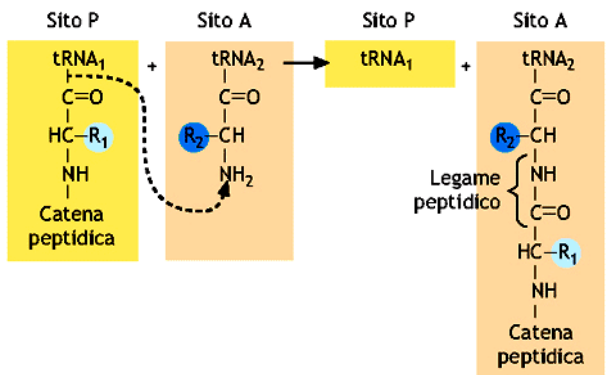
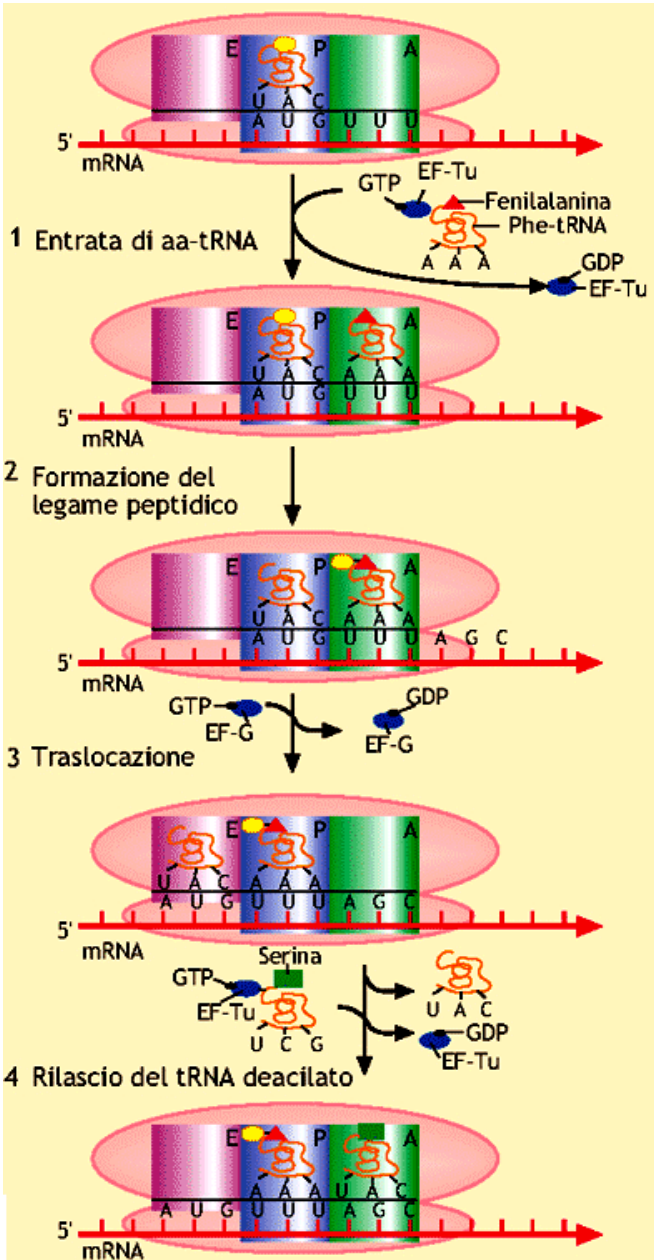


Figura 4.63 La reazione di transpeptidazione: formazione del legame peptidico.

Figura 4.61 Fase GTP-dipendente: allungamento.



La formilmetionina è entrata nel sito P grazie a IF2

Entra in funzione EF-Tu

Nel sito A entra il tRNA carico di Phe

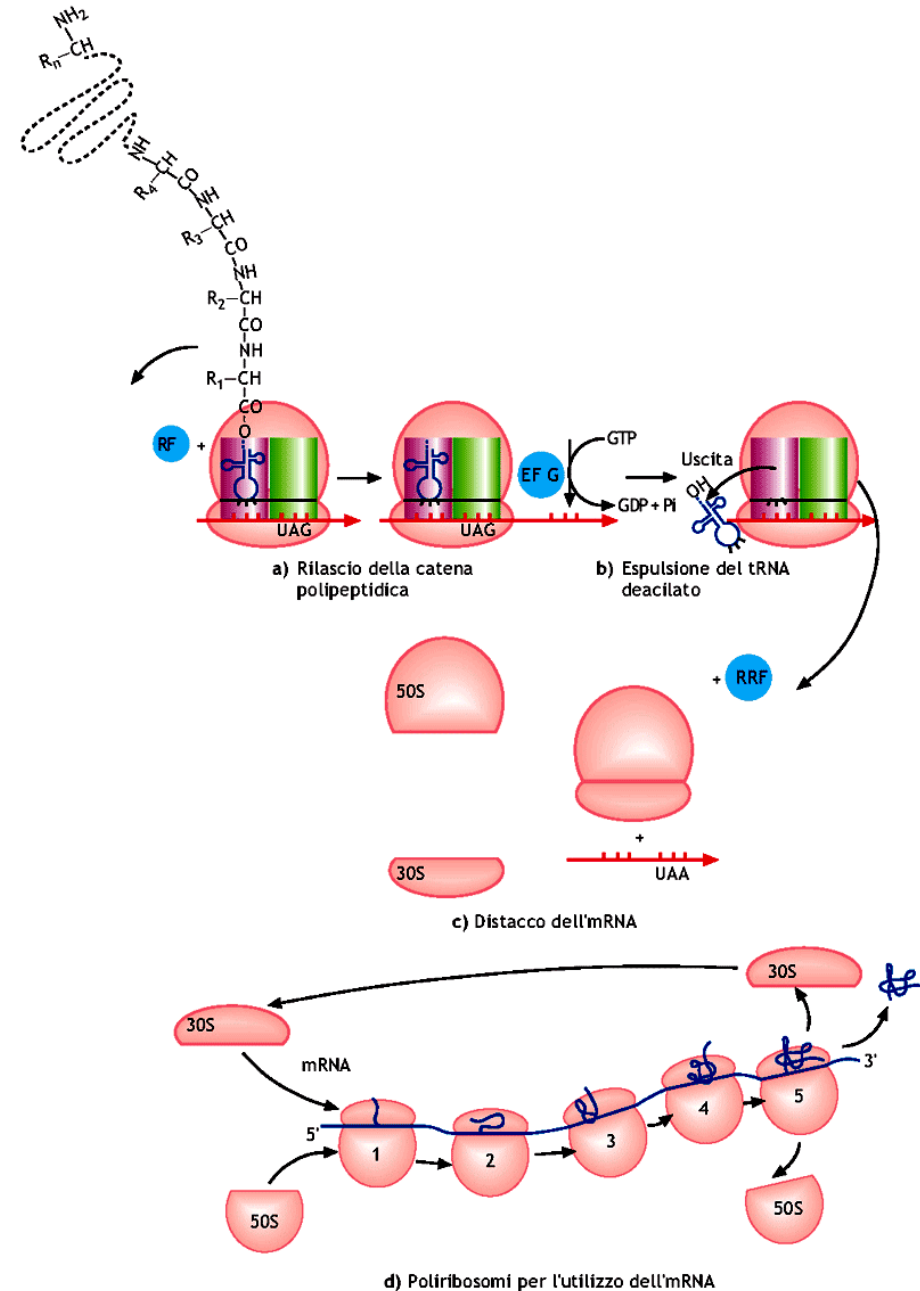
L'allungamento: il COOH del primo aa lega l'NH₂ del secondo aa

Lo scorrimento del ribosoma, mediato da EFG, porta il sito A sulla tripletta adiacente. Il sito P conterrà il peptide nascente ed il sito E il tRNA scarico

Entra in funzione EF-Tu

La traduzione nei procarioti

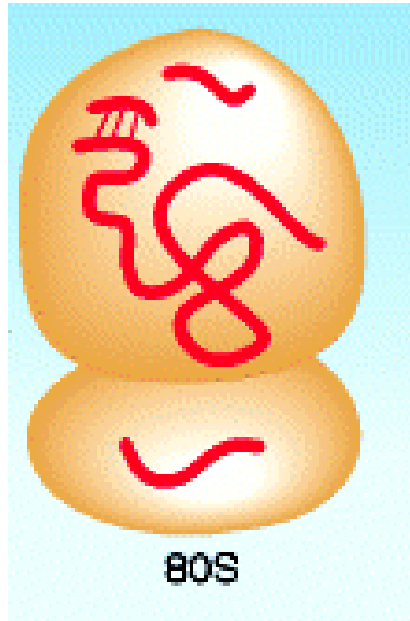
2. Fase GTP dipendente: Termine



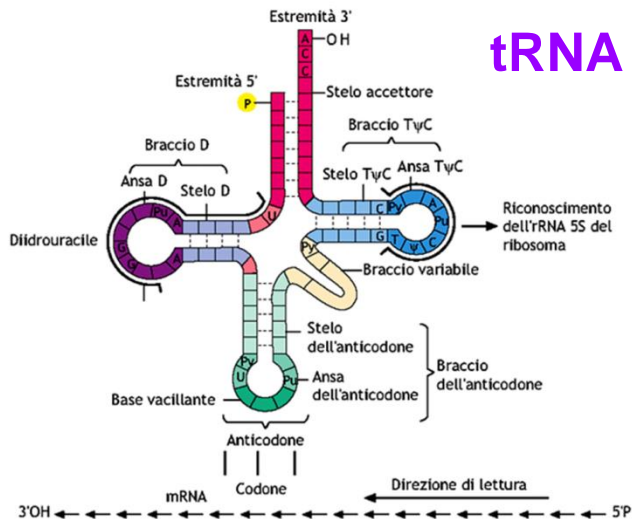
■ Figura 4.65 Fase di termine della sintesi proteica. Il sito E è omissa per semplificare l'immagine.

La traduzione negli eucarioti

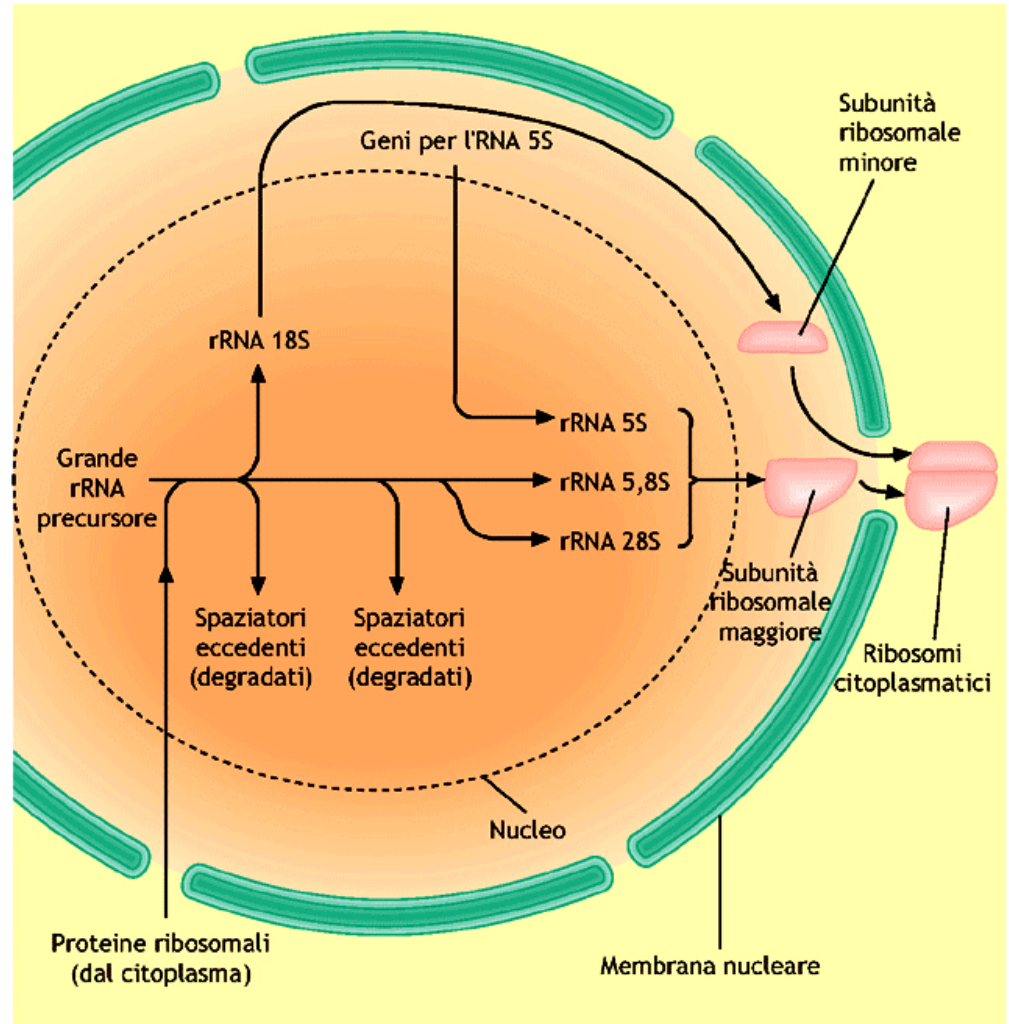
Ribosomi



tRNA



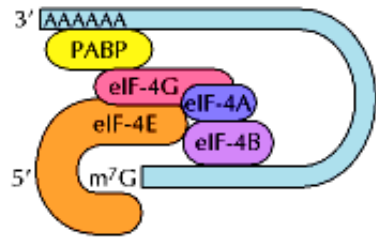
mRNA



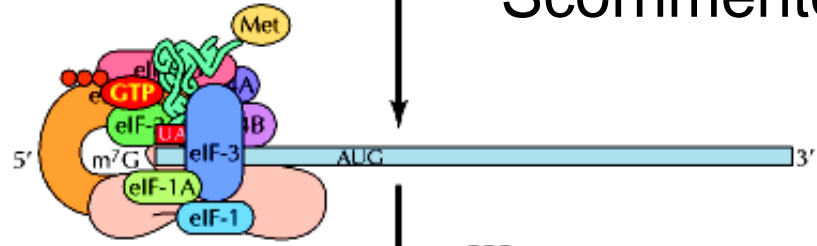
Inizio della traduzione negli eucarioti

Subunità 40S
Attacco dei fattori di inizio

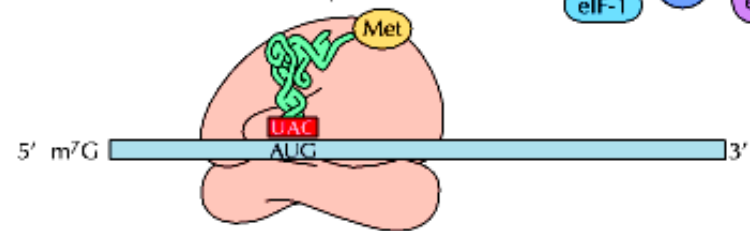
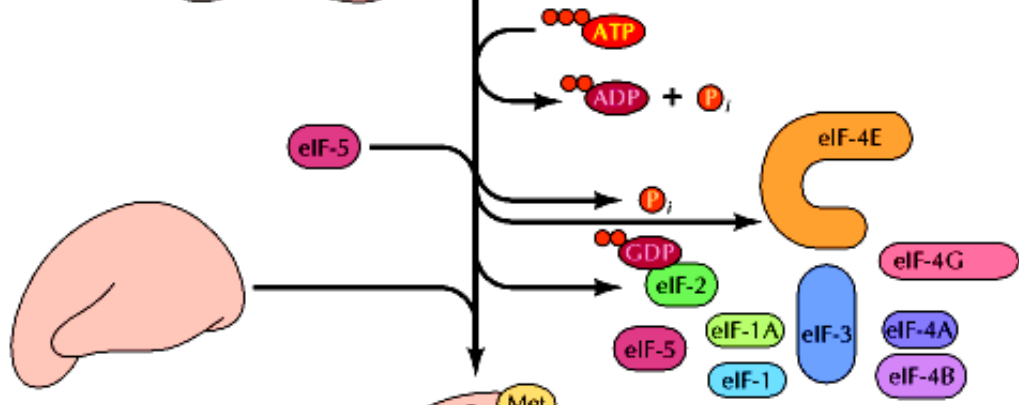
RNA_m



Scorrimento



Subunità 60S



Traduzione negli eucarioti

Smistamento delle proteine nei compartimenti cellulari

Le vie principali

