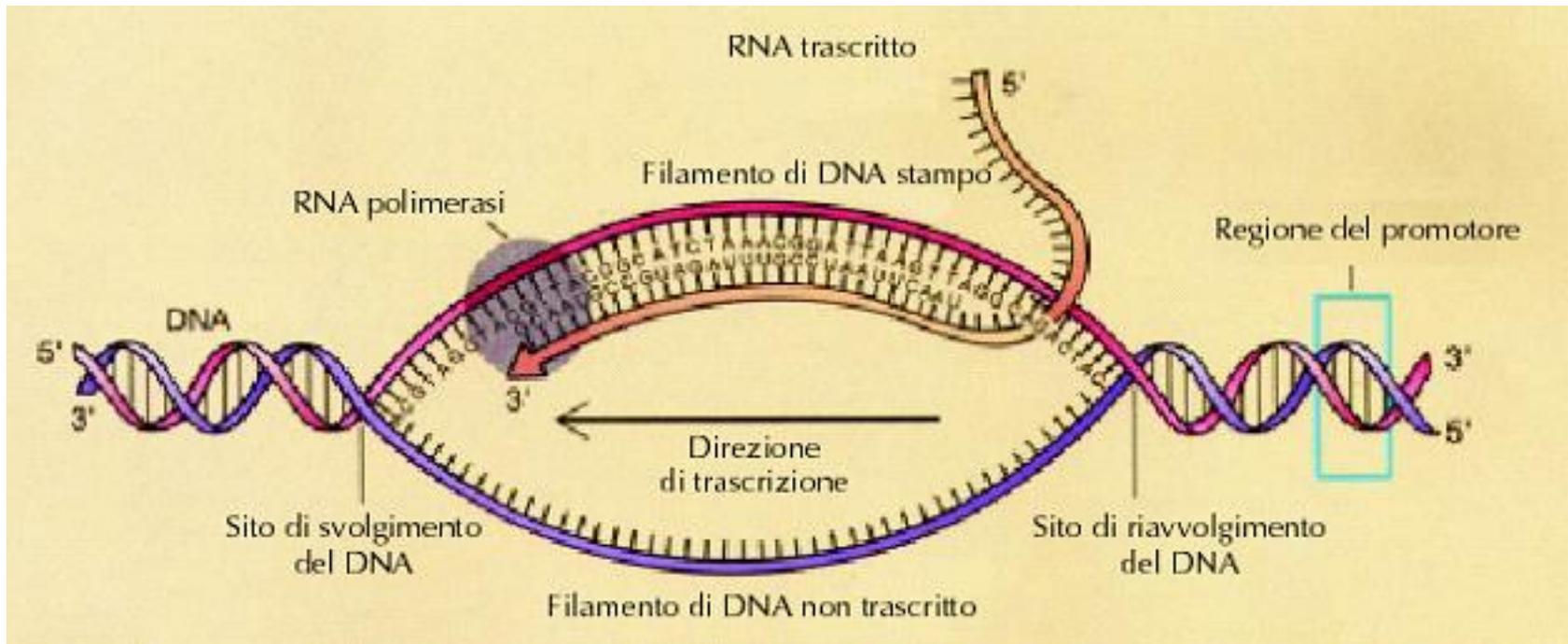


Lezione 6 - Trascrizione del DNA

1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer
7. Maturazione dell'RNA
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA



Lezione 6 - Trascrizione del DNA

1. Flusso dell'informazione genetica

2. RNA polimerasi

3. Siti di inizio e fine trascrizione

4. Reazione

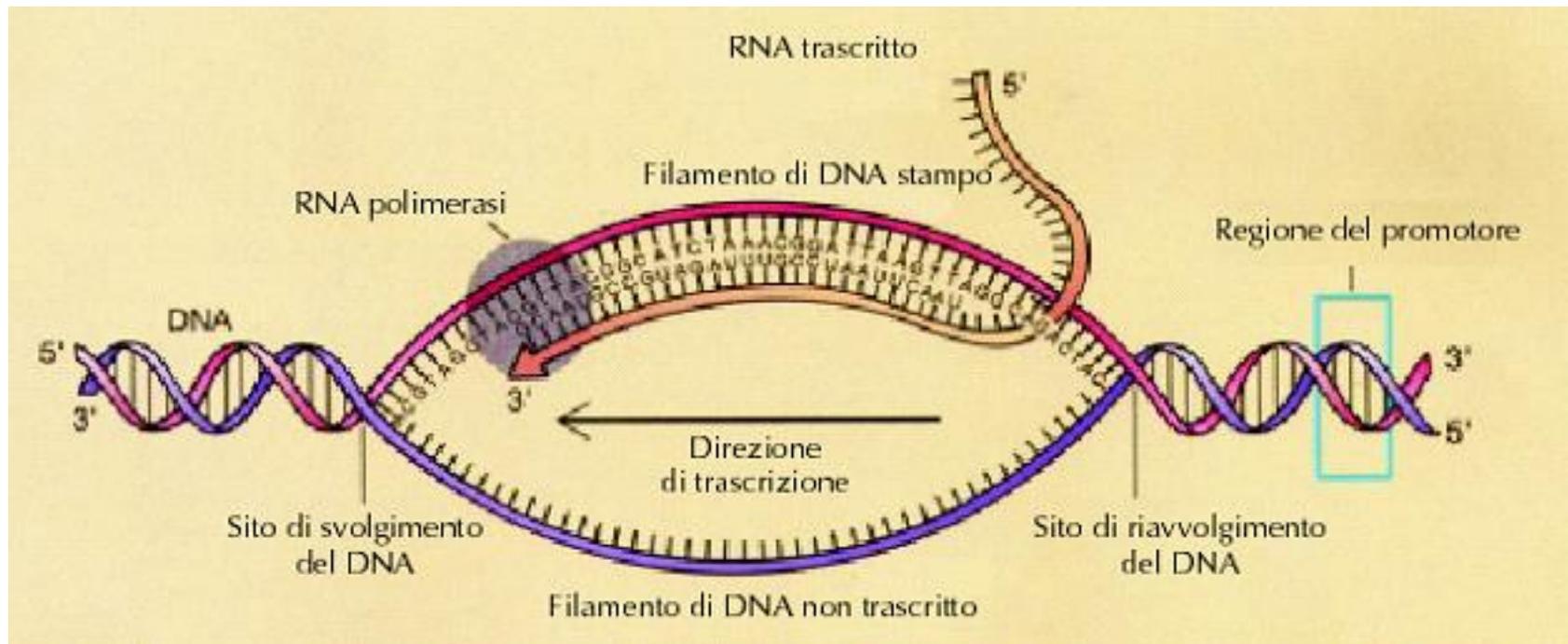
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti

6. Enhancer

7. Maturazione dell'RNA

8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma

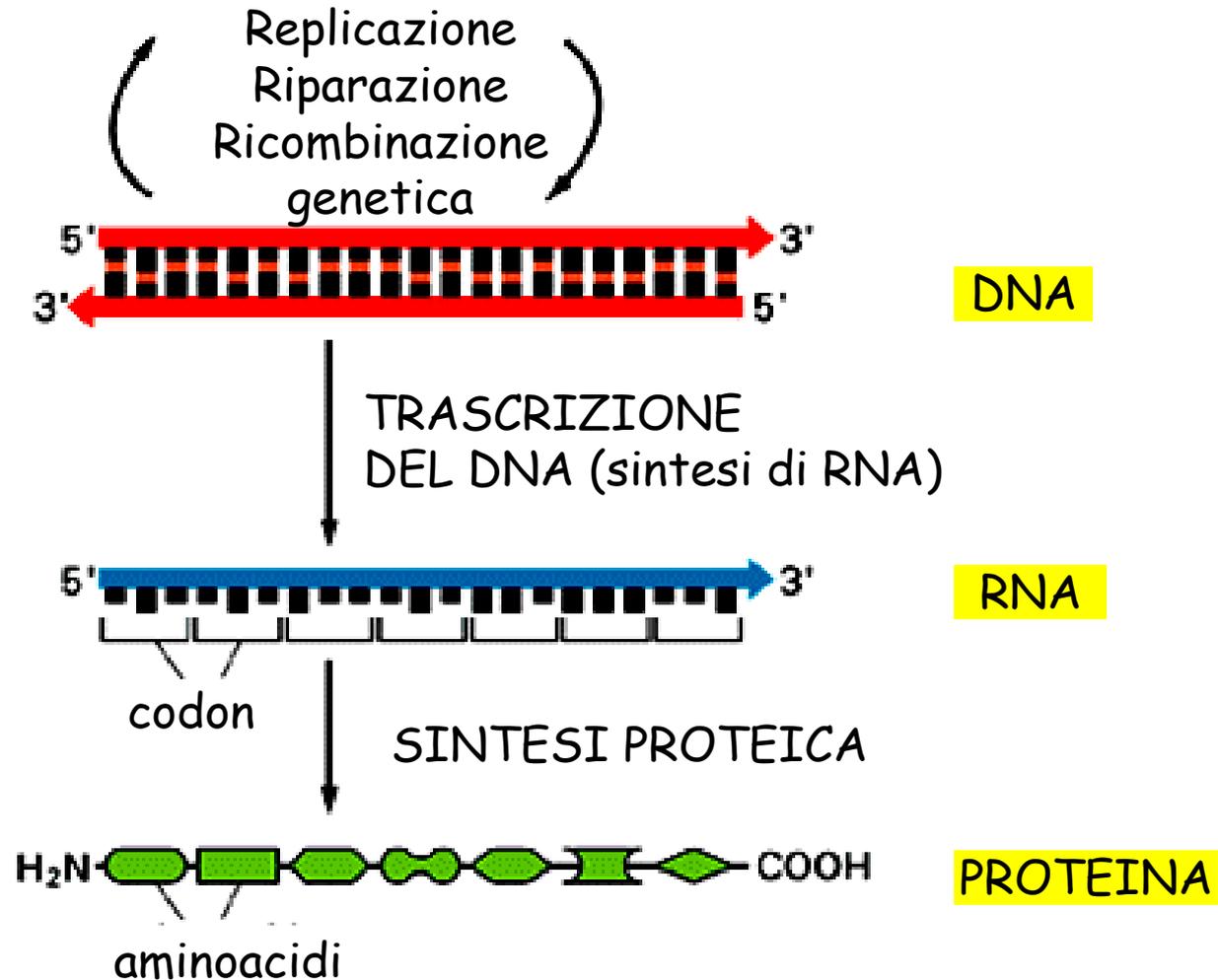
9. Maturazione di tRNA ed rRNA



Flusso dell'informazione genetica

Dogma centrale

Quando la cellula ha bisogno di una particolare proteina, la sequenza nucleotidica di un preciso tratto di DNA, situato sulla infinitamente lunga molecola di un cromosoma, viene inizialmente ricopiata ad RNA che farà da stampo per dirigere la sintesi delle proteine

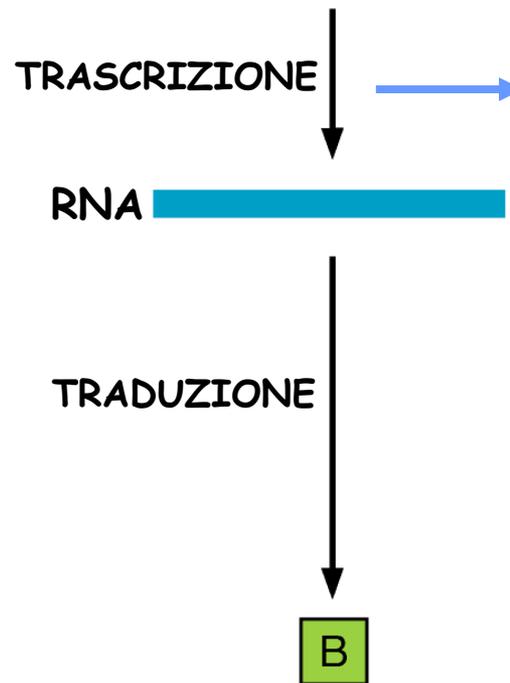
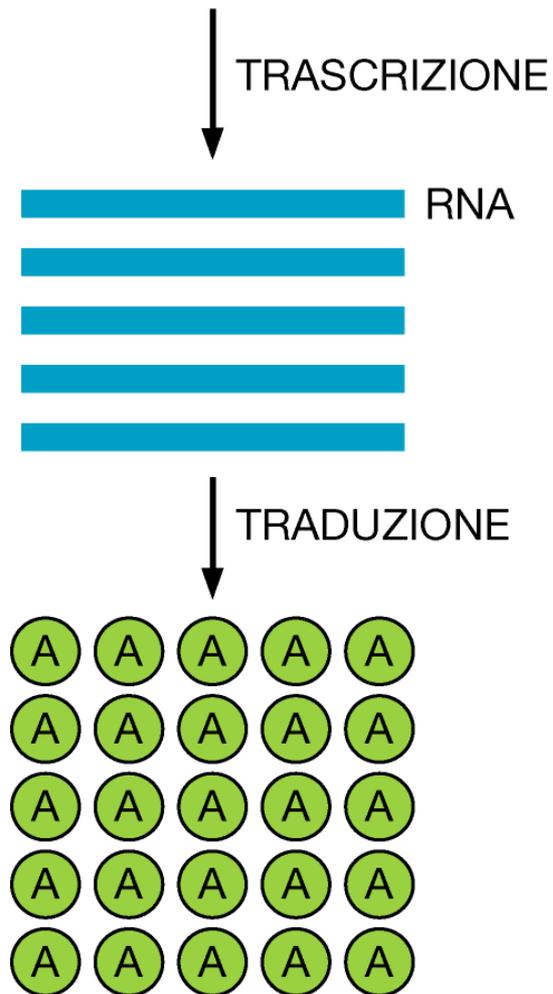


Dogma centrale della biologia molecolare: L'informazione genetica fluisce continuamente dal DNA all'RNA alle proteine

Flusso dell'informazione genetica

gene A

gene B



Tale processo si chiama trascrizione perché, pur cambiando la forma chimica, l'informazione rimane scritta nello stesso linguaggio, quello dei nucleotidi

Dallo stesso gene si possono ottenere molte copie identiche a RNA e ogni molecola di RNA può dirigere la sintesi di molte molecole proteiche identiche.

Il comportamento di una cellula è determinato non soltanto dai geni che eredita, ma anche da quali di questi geni sono espressi in ogni dato momento.

Quale dei 2 filamenti viene trascritto?

ELICA SENSO

Filamento uguale all'mRNA ma non partecipa alla trascrizione



ELICA ANTISENDO

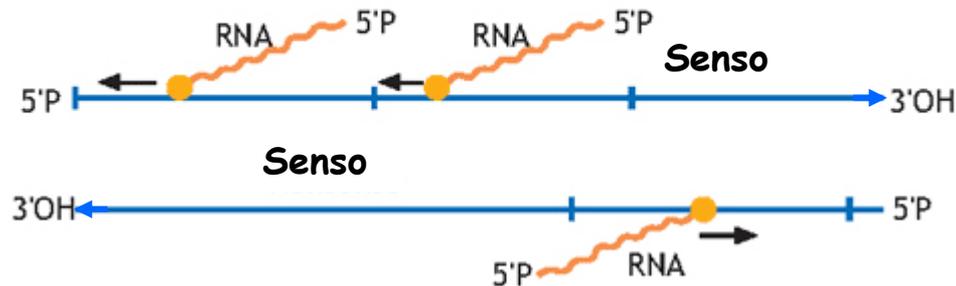
Filamento stampo: complementare all'mRNA ma è quello su cui lavora l'RNA pol



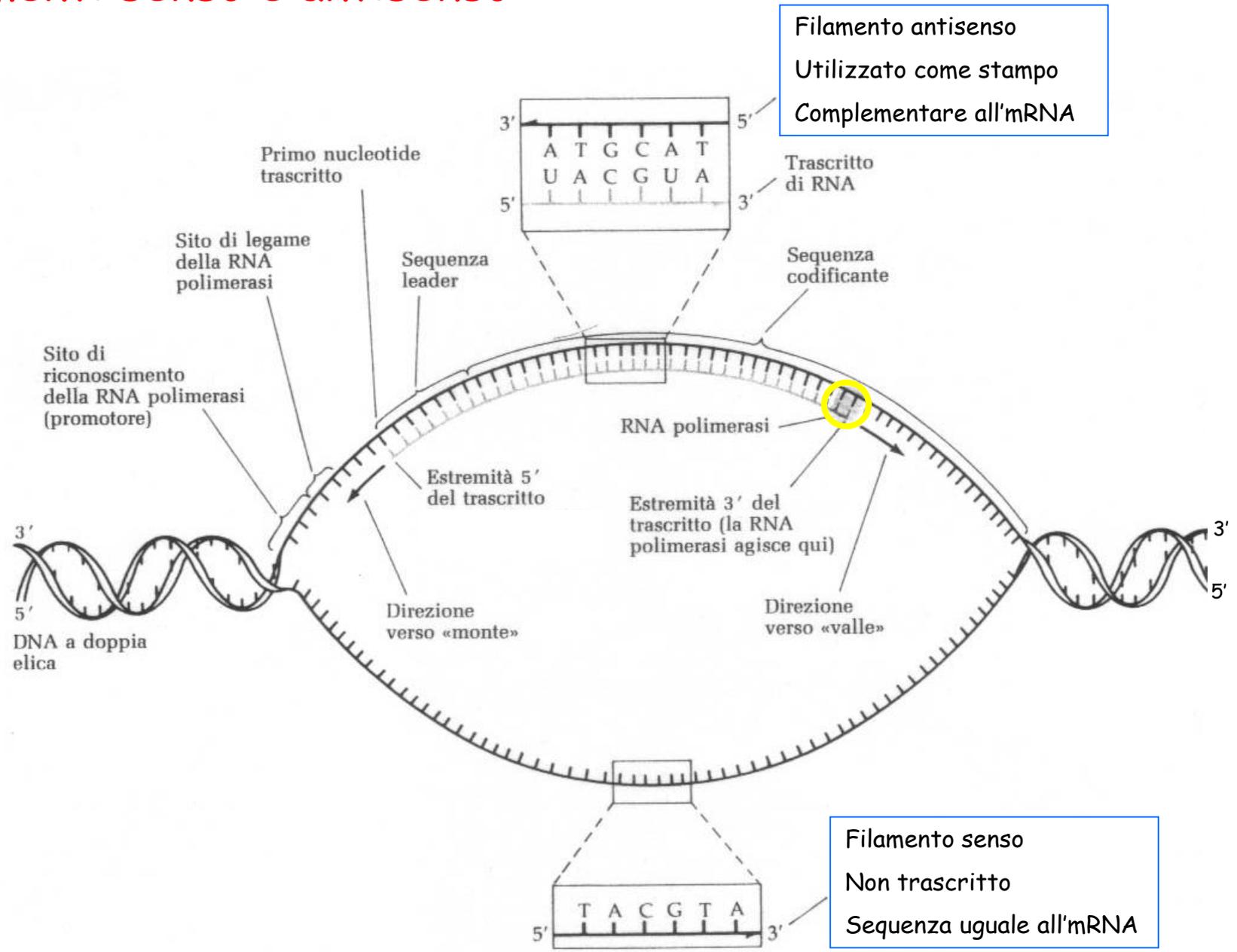
mRNA



Un dato filamento può essere di senso per alcuni tratti e anti-senso per altri.

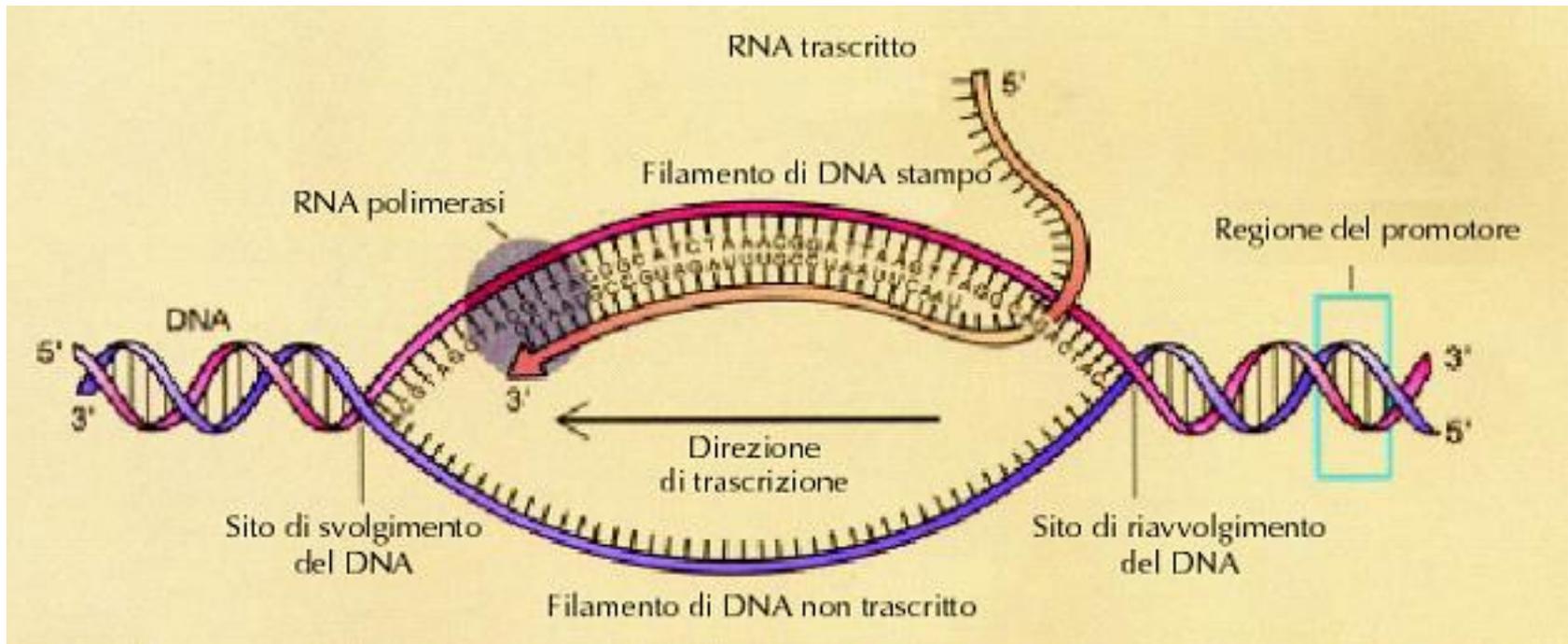


Filamenti senso e antisenso



Lezione 6 - Trascrizione del DNA

1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer
7. Maturazione dell'RNA
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA



RNA polimerasi

Il principale enzima responsabile della sintesi di RNA è la **RNA polimerasi**, che catalizza la polimerizzazione di ribonucleotidi-5'-trifosfato diretta da uno stampo di DNA.

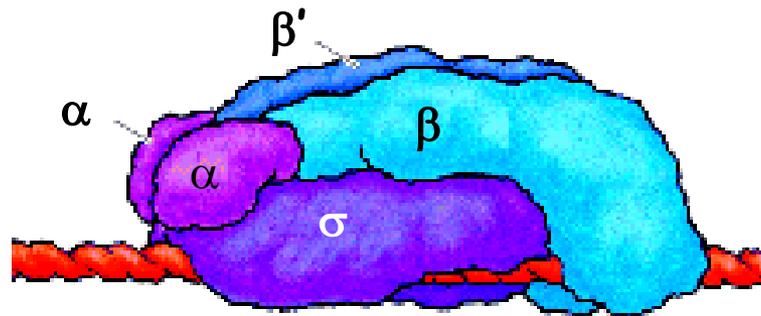
La RNAPol di *E. coli* è un enzima complesso composto da catene polipeptidiche multiple. L'enzima intatto consiste di 5 subunità:

2 subunità α

1 subunità β

1 subunità β'

1 subunità σ



La subunità σ è attaccata in modo relativamente debole e può essere dissociata dalle altre subunità che costituiscono il nucleo della polimerasi

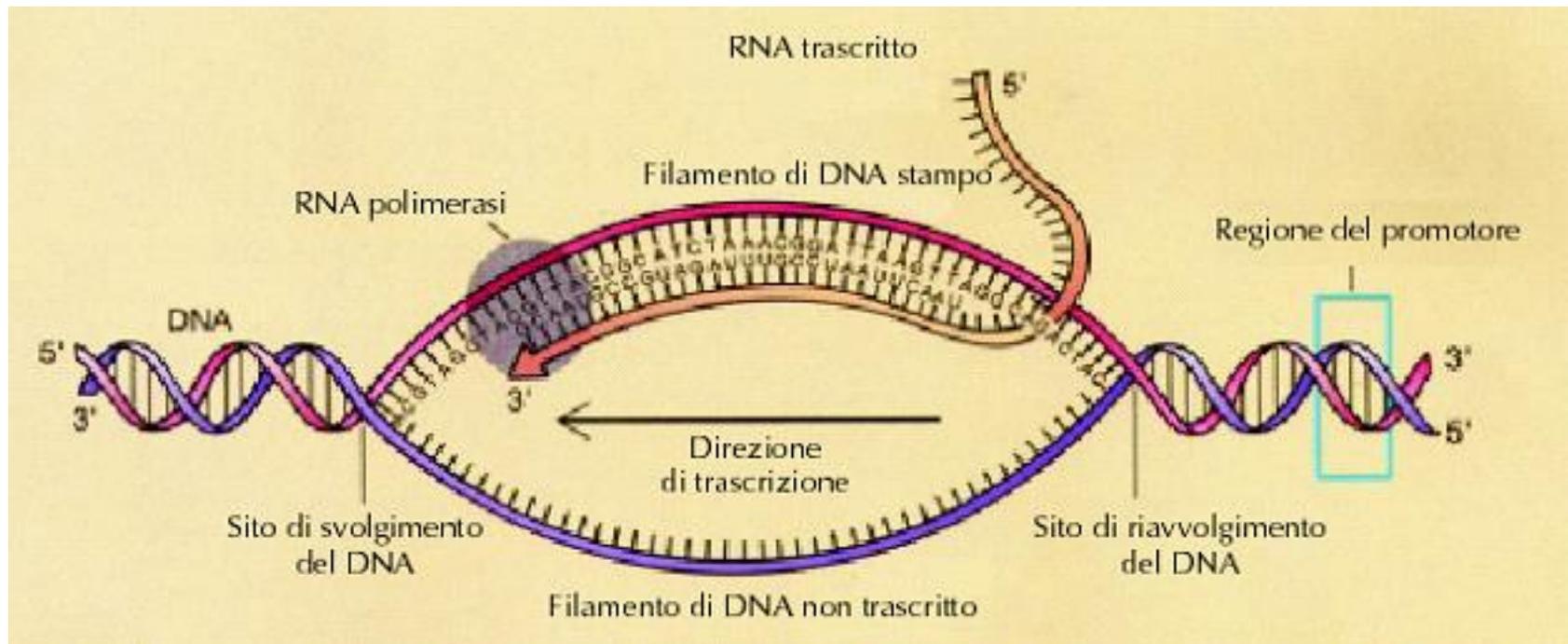
Replicazione e trascrizione: analogie e differenze

ANALOGIE	DIFFERENZE
<p>Apertura e despiralizzazione della doppia elica del DNA; esposizione delle basi presenti sul filamento che fa da stampo per la sintesi dell'RNA</p>	<p>Le molecole di RNA prodotte nella trascrizione sono a filamento singolo, complementare a uno solo dei filamenti di DNA</p>
<p>I ribonucleotidi si aggiungono uno alla volta</p>	<p>Il nuovo filamento di RNA si distacca dal DNA stampo, spiazzato dall'elica di DNA che va ricostituendosi</p>
<p>La sequenza nt della nuova catena di RNA viene determinata per appaiamento complementare sullo stampo di DNA</p>	<p>Le molecole di RNA sono molto più corte delle molecole di DNA:</p> <ol style="list-style-type: none">1. DNA di cromosoma umano: 250 milioni di nt2. RNA: max poche migliaia di nt e molti sono assai più corti
<p>Quando l'appaiamento è soddisfacente, il ribo-nt appena arrivato si lega covalentemente alla catena in crescita tramite una reazione chimica catalizzata da enzimi appositi</p>	<p>La RNA-pol non necessita di un primer</p>

Lezione 6 - Trascrizione del DNA

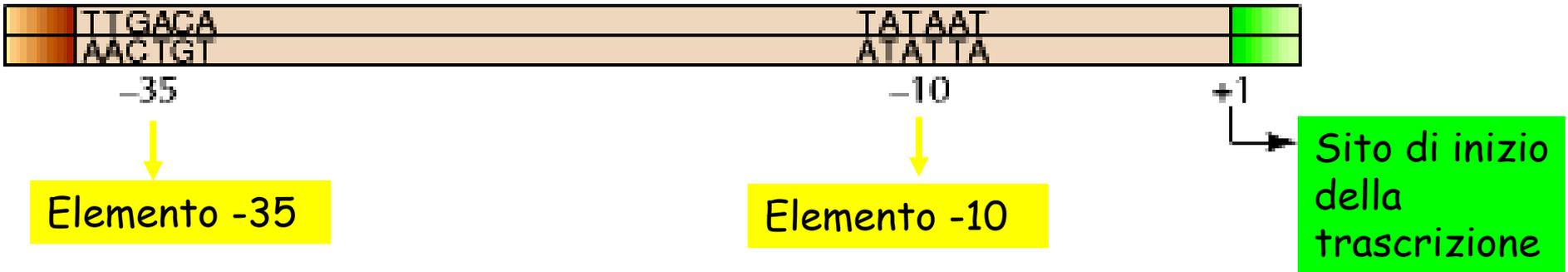
1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer

7. Maturazione dell'RNA
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA



Promotore procariotico

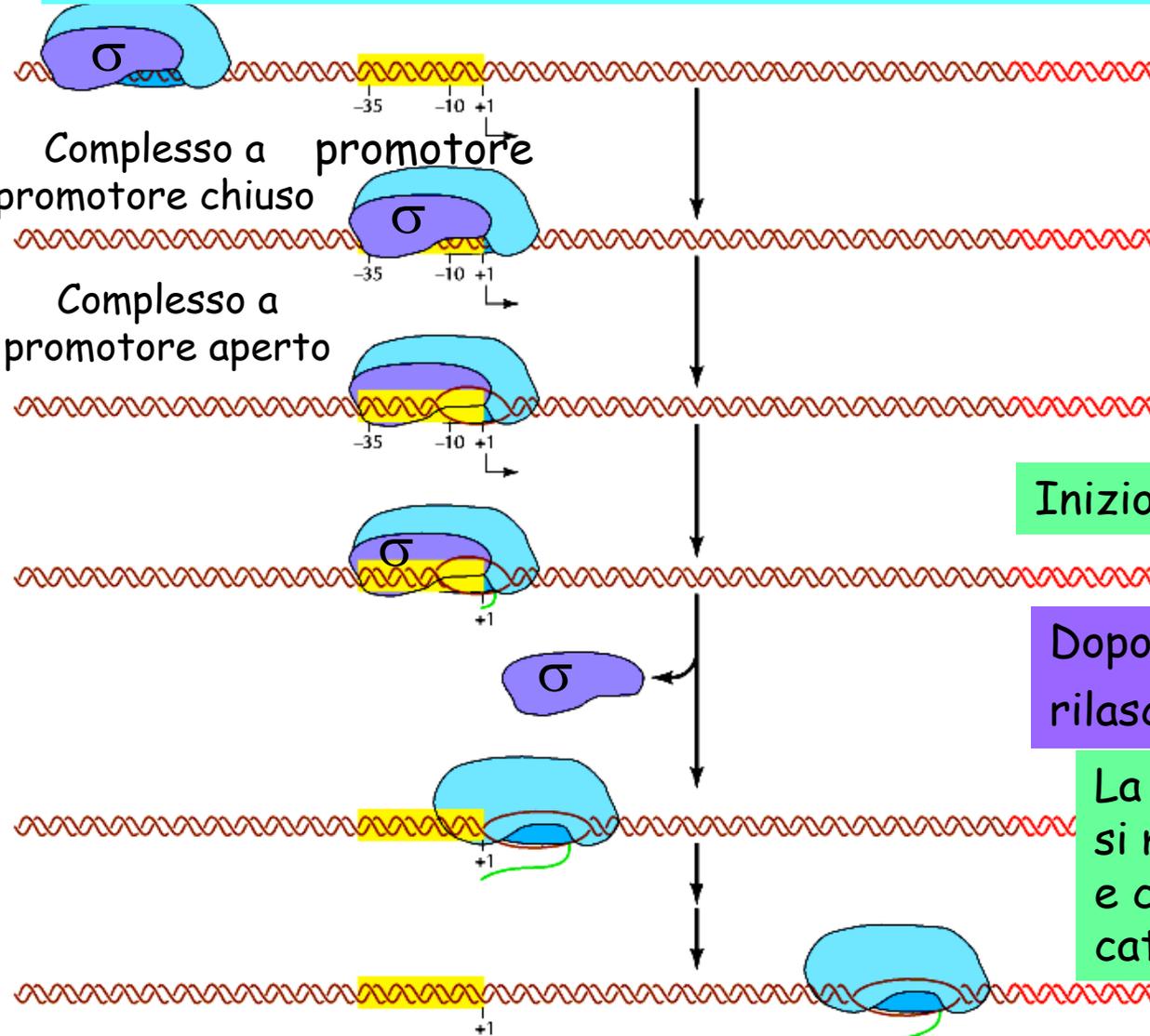
La sequenza di DNA cui si lega la RNA polimerasi per iniziare la trascrizione di un gene si chiama **promotore**.



La regione a monte del sito di inizio della trascrizione contiene due serie di sequenze che sono simili in una varietà di geni. Queste sequenze comuni contengono 6 nt ciascuna e si trovano approssimativamente 10 e 35 basi a monte del sito di inizio della trascrizione e sono chiamate elementi -10 e -35, dalla loro posizione relativa al sito di inizio della trascrizione, che è definito come la posizione +1.

Trascrizione da parte dell'RNA polimerasi in E. coli

La polimerasi si lega non specificamente al DNA e migra lungo la molecola



Legame specifico di σ alle sequenze -10 e -35 del promotore

La polimerasi svolge il DNA intorno al sito di inizio (ca 15 bp)

Inizio della trascrizione

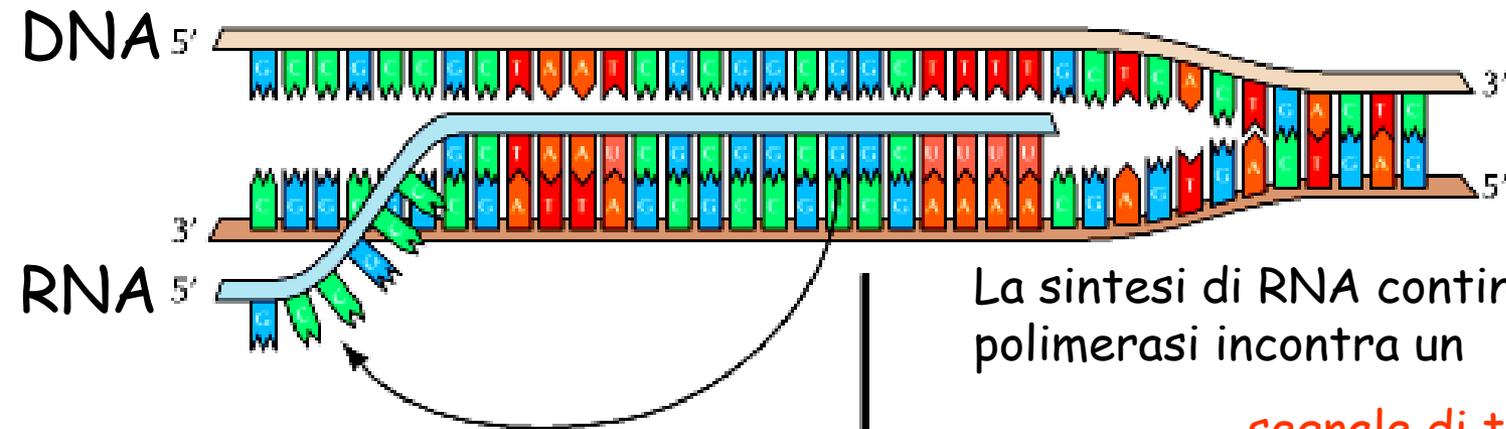
Dopo aggiunta di 10 nt viene rilasciata la subunità σ

La polimerasi lascia il promotore, si muove lungo lo stampo di DNA e continua l'allungamento della catena di RNA

La polimerasi svolge lo stampo di DNA davanti a sé e lo riavvolge dietro di sé, mantenendo una regione svolta di circa 17 bp nella regione della trascrizione

Trascrizione da parte dell'RNA polimerasi in E. coli

Termine della trascrizione

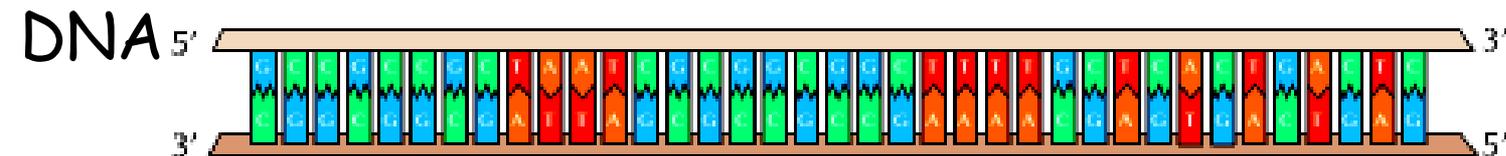
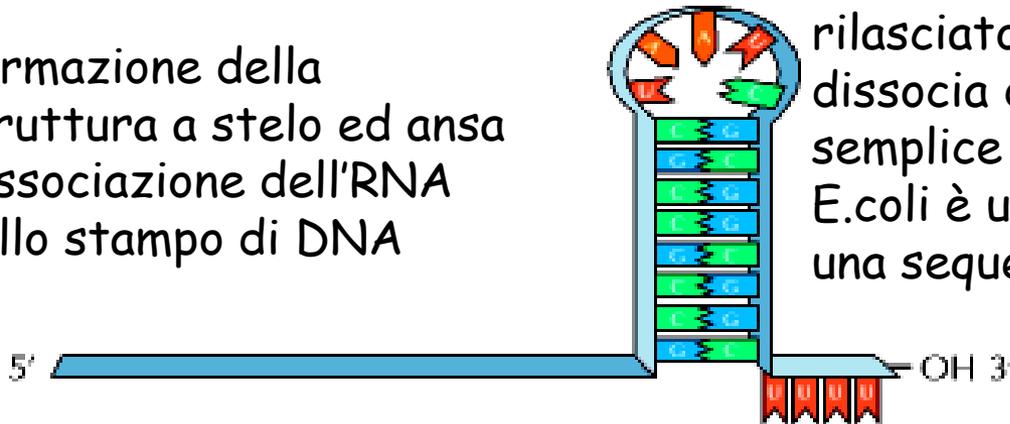


La sintesi di RNA continua fino a che la polimerasi incontra un

segnale di termine

dove la trascrizione si ferma, l'RNA è rilasciato dalla polimerasi e l'enzima si dissocia dal suo stampo di DNA. Il tipo più semplice e comune di segnale di termine in E.coli è una serie di **CG ripetute** seguite da una sequenza di **AAAAA**

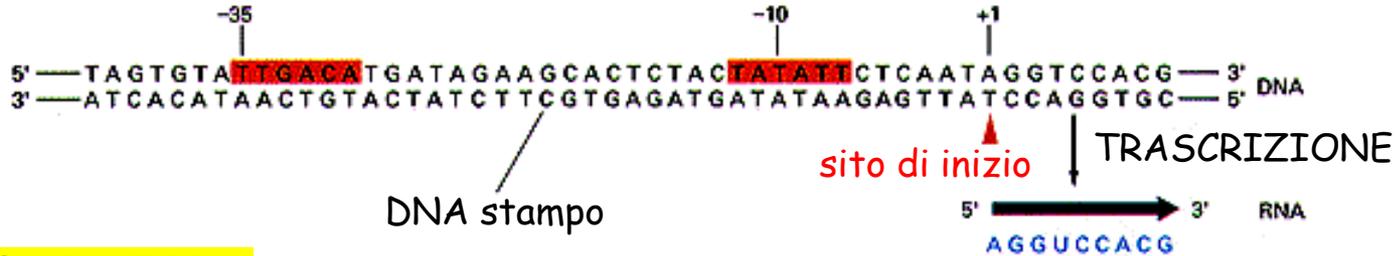
Formazione della struttura a stelo ed ansa
Dissociazione dell'RNA dallo stampo di DNA



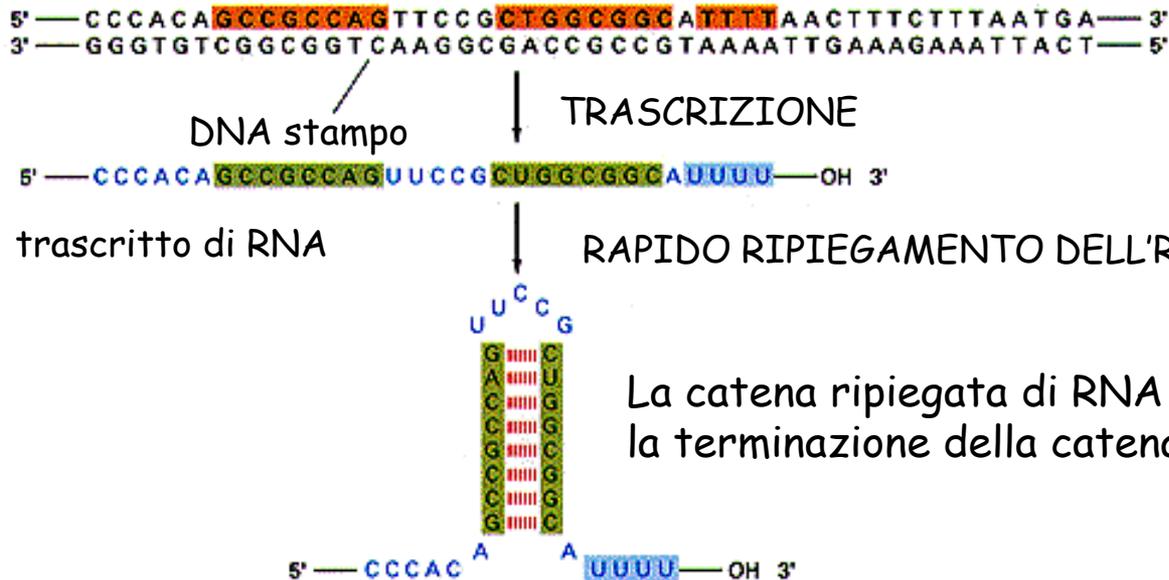
Trascrizione del DNA nei procarioti

Segnali di inizio e di stop per la sintesi di RNA da parte di una RNA polimerasi batterica

(A) SEGNALE DI INZIO

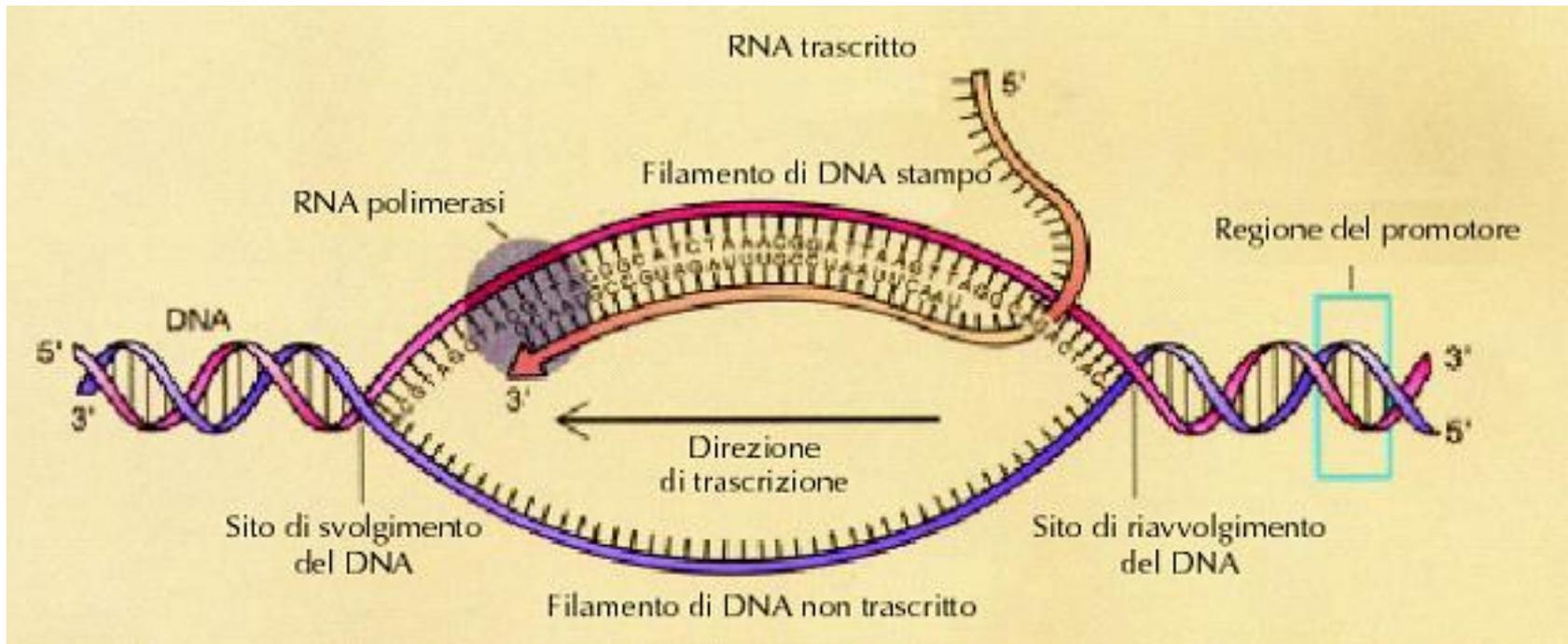


(B) SEGNALE DI STOP



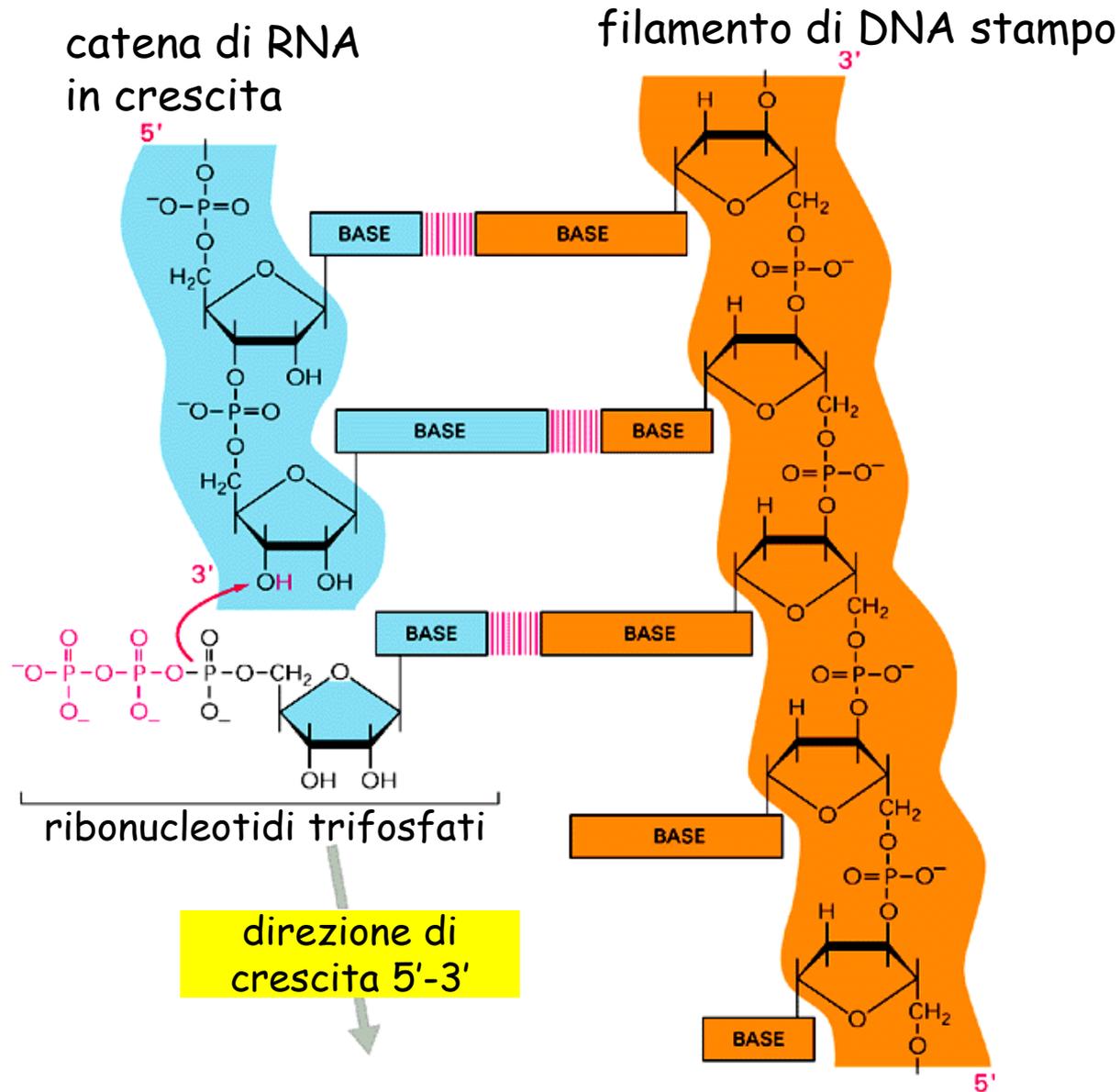
Lezione 6 - Trascrizione del DNA

1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer
7. Maturazione dell'RNA
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA

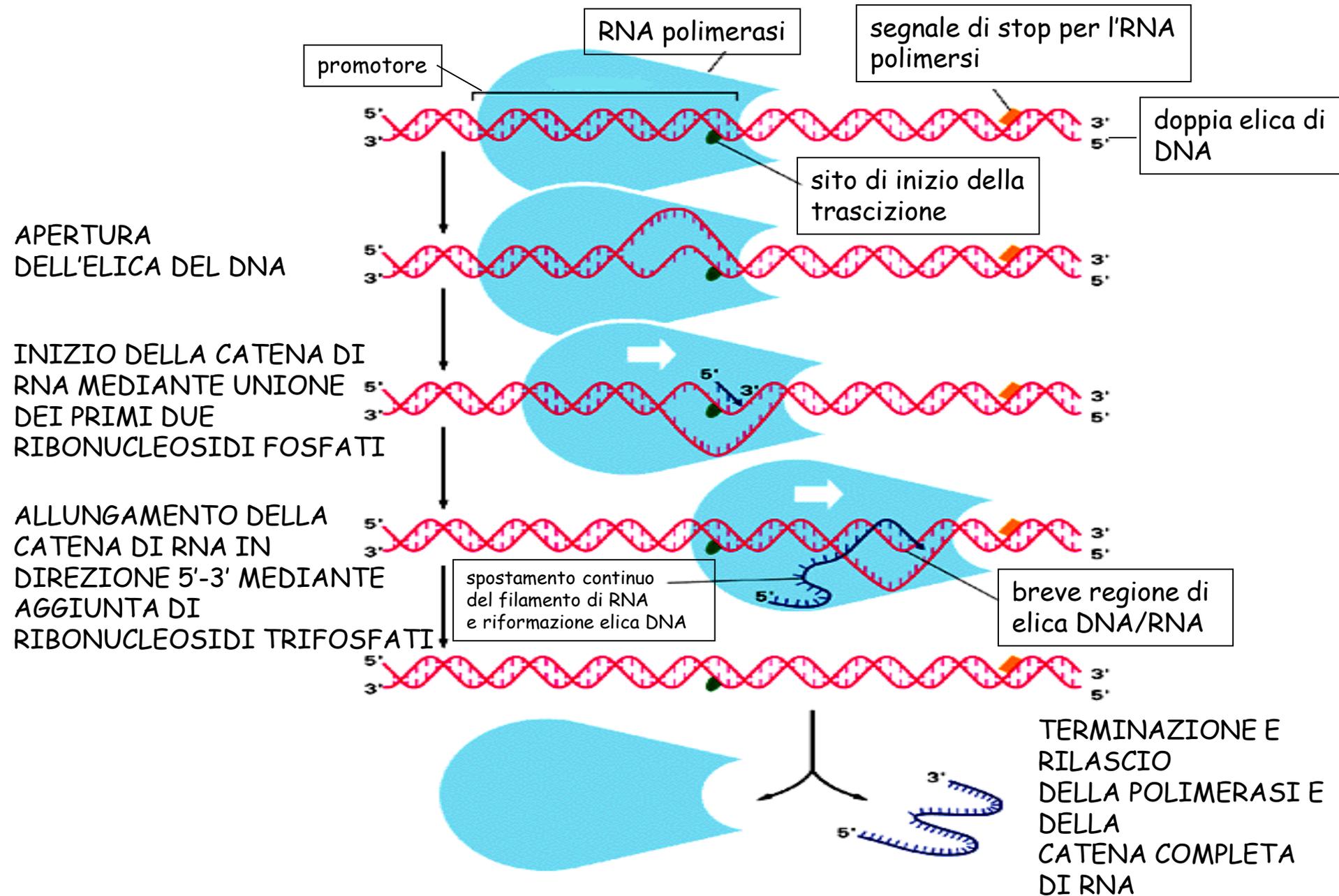


Trascrizione del DNA

La reazione di allungamento della catena catalizzata da una RNA polimerasi

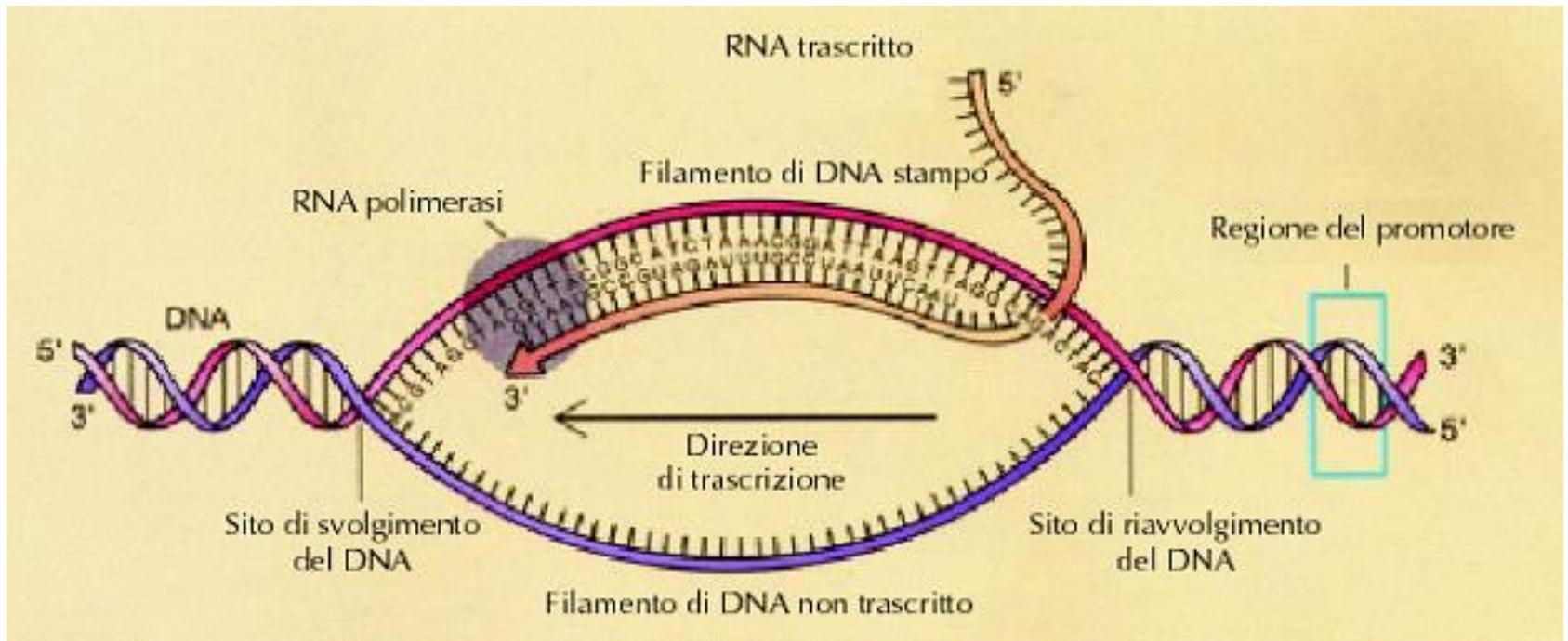


Riassunto della trascrizione del DNA



Lezione 6 - Trascrizione del DNA

1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer
7. Maturazione dell'RNA
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA



LA TRASCRIZIONE NEI PROCARIOTI

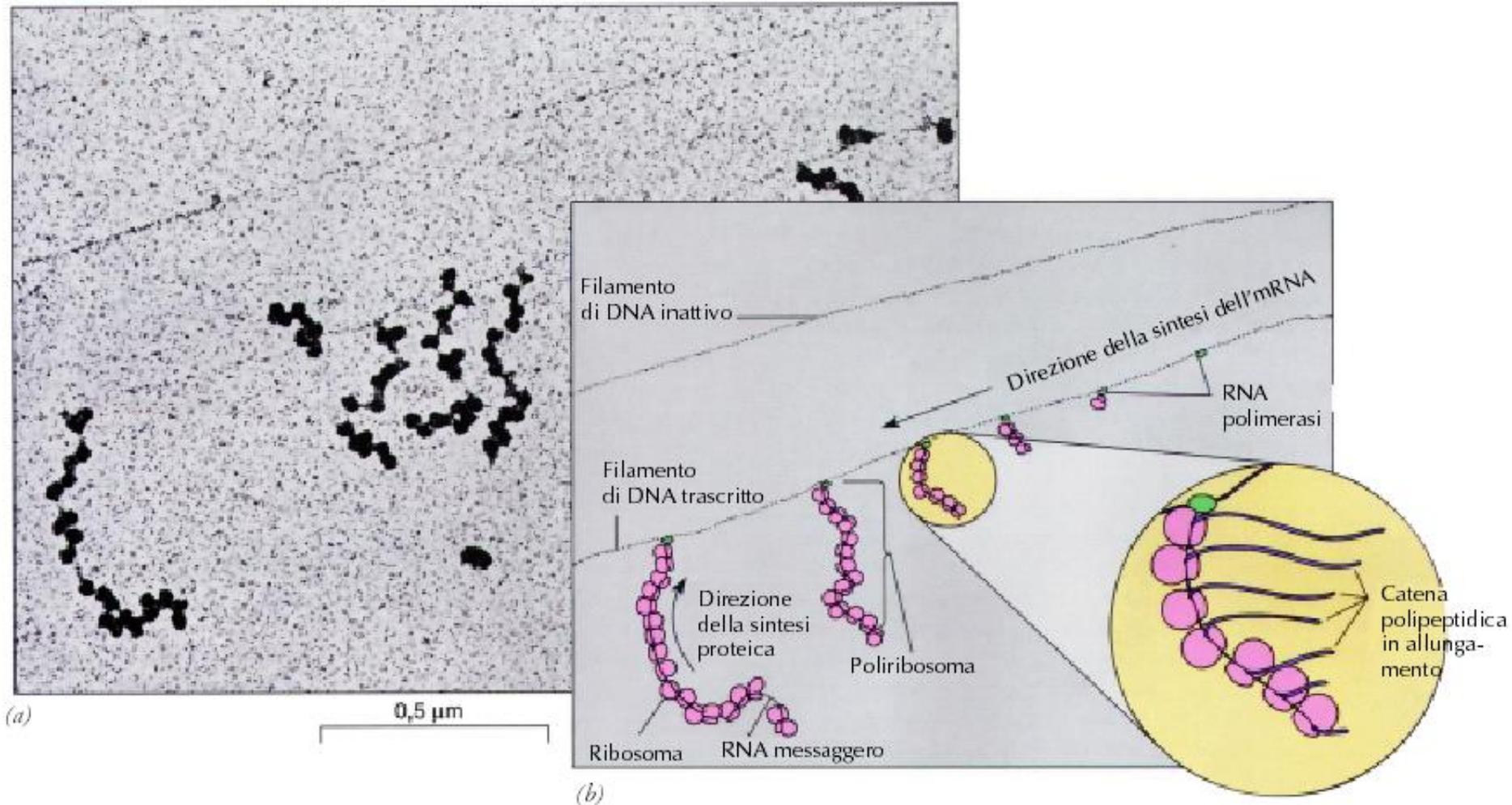
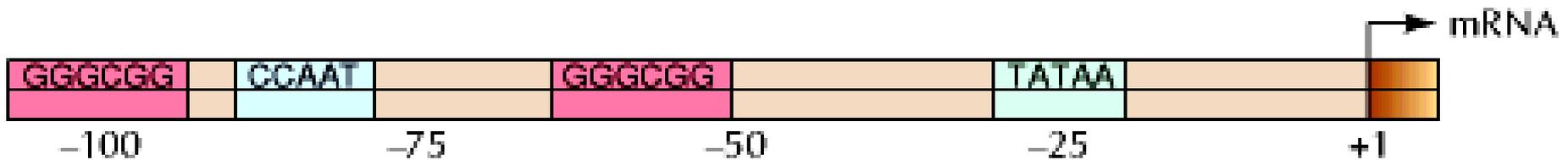


Figura 12–11 Nei batteri la trascrizione e la traduzione sono contemporanee. (a) Micrografia elettronica di due filamenti di DNA di *E. coli*, uno inattivo e l'altro in fase di attiva trascrizione. La sintesi proteica comincia prima che sia completata la trascrizione, non appena i ribosomi si attaccano all'RNA messaggero per formare un poliribosoma. (b) Rappresentazione schematica del processo di trascrizione accoppiato alla traduzione. (Per gent. conc. della dott.ssa Barbara Hamkalo, University of California, Irvine)

Promotore eucariotico

Le sequenze più comuni nei promotori eucariotici sono le seguenti:

- **TATA box**: si trova a -25-30 e assomiglia all'elemento -10 dei procarioti
- **CAAT box**: si trova a -80
- **GC box** (sequenze consenso GGGCGG)



Controllo della trascrizione negli eucarioti

L'espressione dei geni eucariotici è **controllata** soprattutto a livello **dell'inizio della trascrizione** da **proteine che si legano a sequenze regolative specifiche** e che modulano l'attività della RNA pol

Esistono specifici **fattori di trascrizione** che riconoscono specificamente queste sequenze e le legano stimolando la trascrizione

LA TRASCRIZIONE NEGLI EUCARIOTI

Negli eucarioti il meccanismo della trascrizione è simile ai procarioti ma il macchinario è **più complesso**.

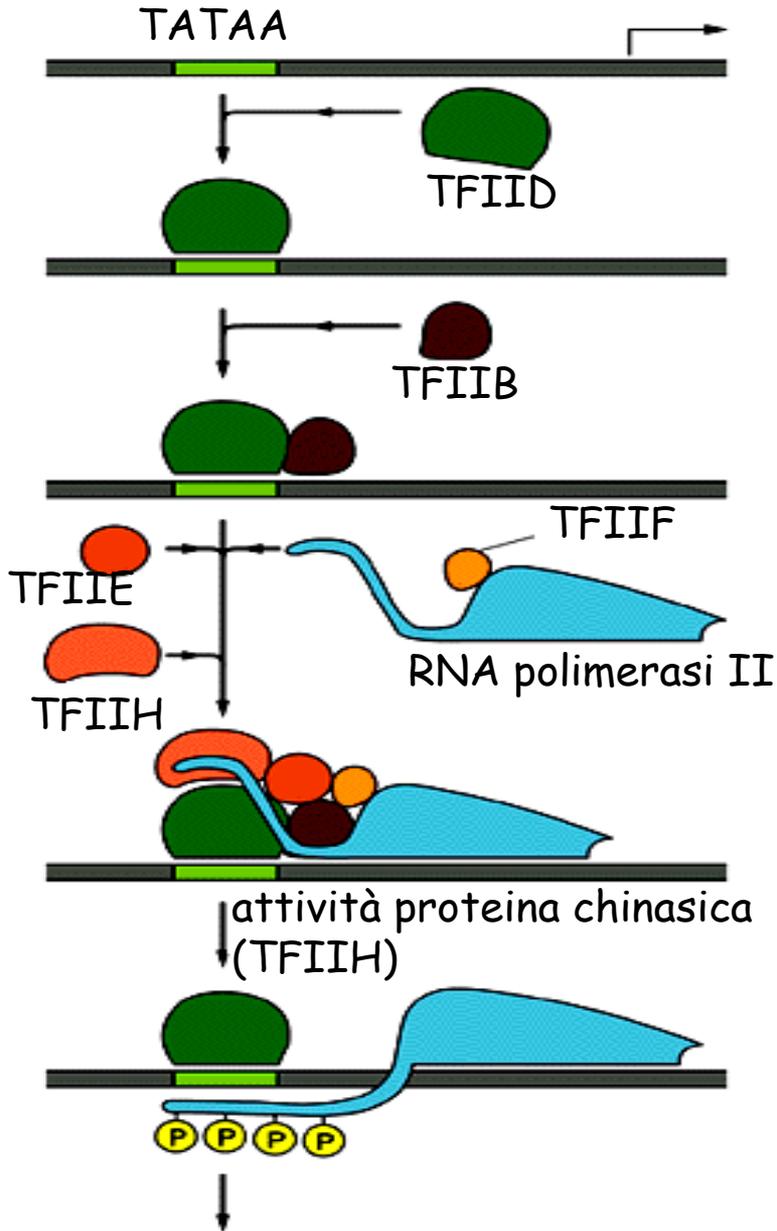
Negli eucarioti ci sono 3 tipi di RNA polimerasi (enzimi complessi costituiti da 8-14 subunità):

- | | |
|------------------------|----------------------------------|
| 1. RNA polimerasi I: | sintetizza rRNA (28S, 18S, 5,8S) |
| 2. RNA polimerasi II: | sintetizza mRNA (proteine) |
| 3. RNA polimerasi III: | sintetizza rRNA 5S e tRNA |

Le funzioni delle 3 polimerasi sono diverse, e riconoscono promotori diversi

LA TRASCRIZIONE NEGLI EUKARIOTI

inizio della trascrizione



Negli eucarioti il meccanismo della trascrizione è simile ai procarioti ma il macchinario è **più complesso**.

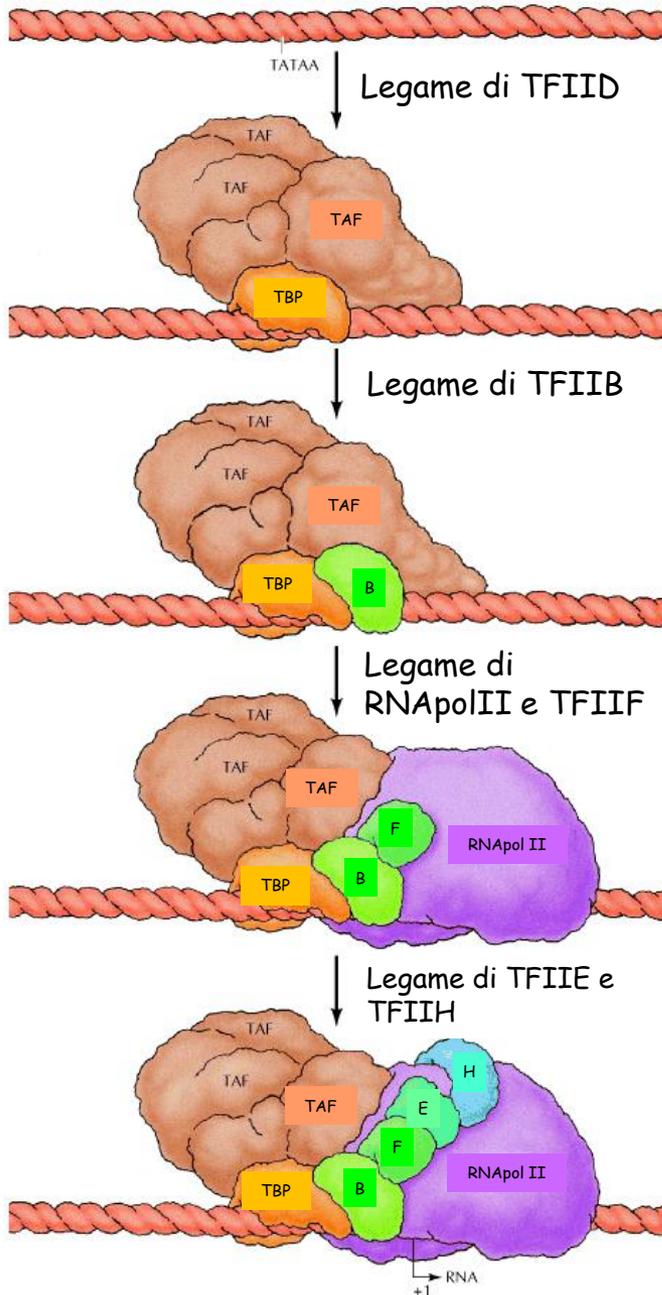
Distinzione importante: la RNA polimerasi II degli eucarioti per iniziare la trascrizione necessita di **proteine di inizio** che devono legarsi al promotore prima che si possa legare l'enzima

La RNA pol II è coadiuvata da una serie di proteine denominate **Fattori di Trascrizione per la RNA pol II**:

TFIIA
TFIIB
TFIID
TFIIE
TFIIF
TFIIH

LA TRASCRIZIONE INIZIA

Trascrizione negli eucarioti



Il momento chiave dell'attività dell'RNA polII è: il riconoscimento della TATA box da parte della TBP (TATA box Binding Protein) che è associata a 8-10 TAF (Fattori Associati a TBP)

TFIID: TAF-TBP

Quindi si legano **TFIIA e B**.

Infine si legano **E, F ed H**

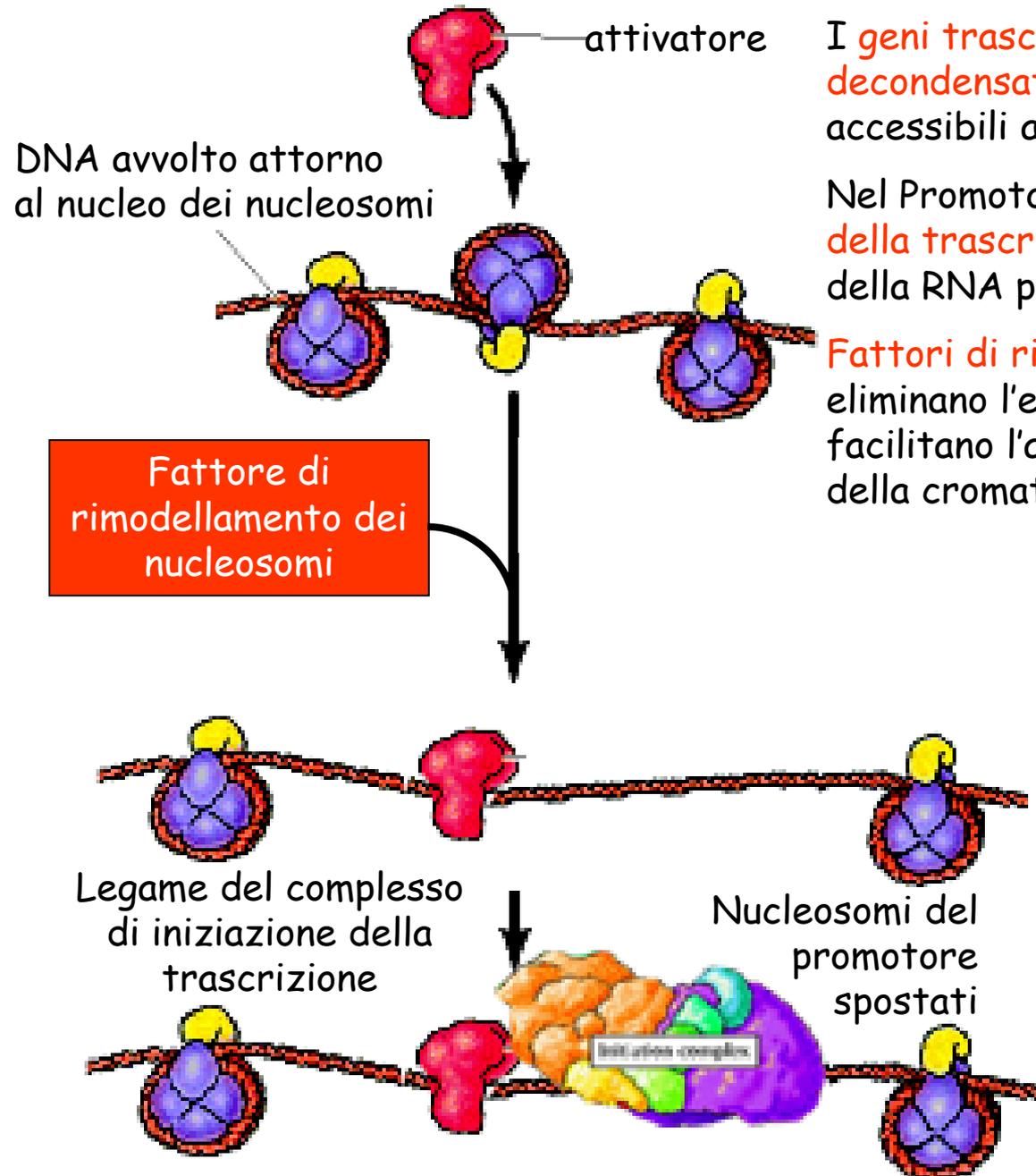
TFIIH è composto da molte subunità:

2 subunità sono la **elicasi** che svolge il DNA

1 subunità è una **protein-chinasi** che **fosforila** sequenze presenti nella subunità più grande della **RNA pol II**

permettendole di dissociarsi dal complesso d'inizio, per procedere lungo lo stampo ed **allungare** la catena di RNA in crescita

Trascrizione della cromatina



I **geni trascritti attivamente** si trovano in regioni **decondensate della cromatina** (fibre 10nm): più accessibili ai **fattori di trascrizione**

Nel Promotore i **nucleosomi inibiscono l'inizio della trascrizione** bloccando l'attacco di FT e della RNA pol.

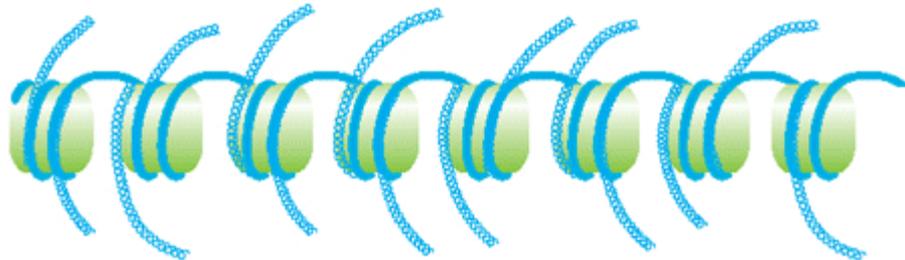
Fattori di rimodellamento dei nucleosomi: eliminano l'effetto inibitore dei nucleosomi: facilitano l'attacco dei FT rompendo la struttura della cromatina

Attivatori della trascrizione:

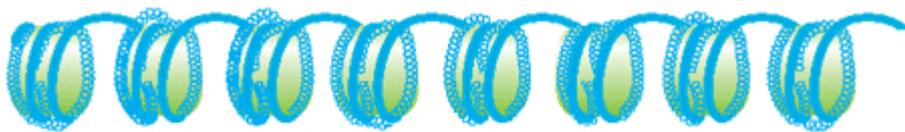
1. stimolano la trascrizione interagendo con i **fattori di trascrizione basali**
2. inducono alterazioni della struttura della **cromatina** riducendo la **repressione** da parte degli **istoni**

Problema del rimodellamento della cromatina

L'organizzazione della cromatina è cruciale nel permettere o meno che un determinato gene venga espresso



a) Cromatina acetilata: attiva nella trascrizione



b) Cromatina deacetilata: la trascrizione è repressa

L'aggiunta di particolari gruppi (fosforilazioni metilazioni acetilazioni, ecc.) agli **estremi N-term degli istoni** che protrudono dalla struttura ottamerica del nucleosoma, determinano il **riarrangiamento della cromatina** e possono avere un ruolo nell'attivazione o nella repressione della trascrizione

Es. **Acetilazione degli istoni:**

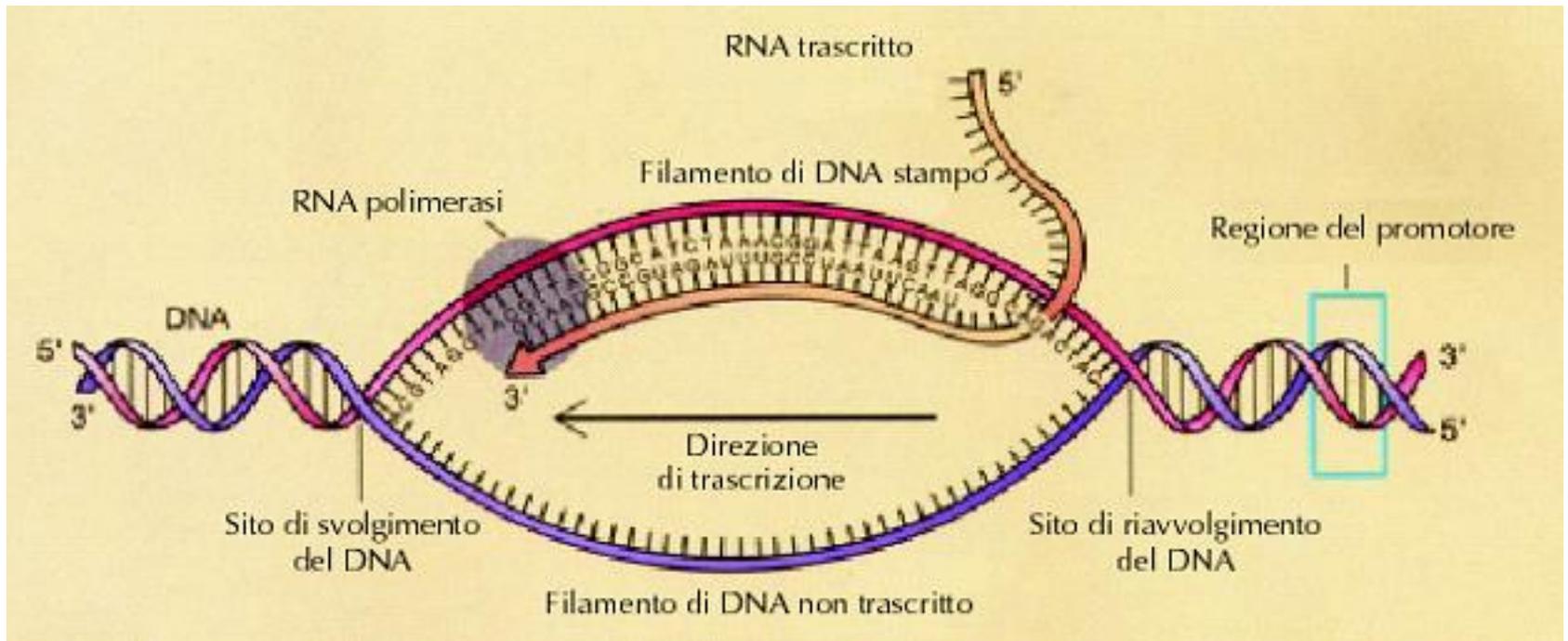
Quando gli istoni sono **acetilati** si ha formazione di **euromatina** ed **attivazione** della trascrizione

Quando gli istoni sono **deacetilati** si ha formazione di **eteromatina** e **repressione** della trascrizione

Lezione 6 - Trascrizione del DNA

1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer

7. Maturazione dell'RNA
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA



Controllo della trascrizione

Il principio centrale della regolazione dei geni è che il controllo della trascrizione è mediato dall'interazione di proteine regolatrici con sequenze specifiche di DNA

Le sequenze regolatrici sono chiamate elementi di controllo:

Elementi che agiscono in cis: influenzano soltanto l'espressione dei geni collegati sulla stessa molecola di DNA

Elementi che agiscono in trans: possono influenzare l'espressione dei geni posti su altri cromosomi all'interno della cellula

Entrambi possono agire da attivatori o da inibitori della trascrizione

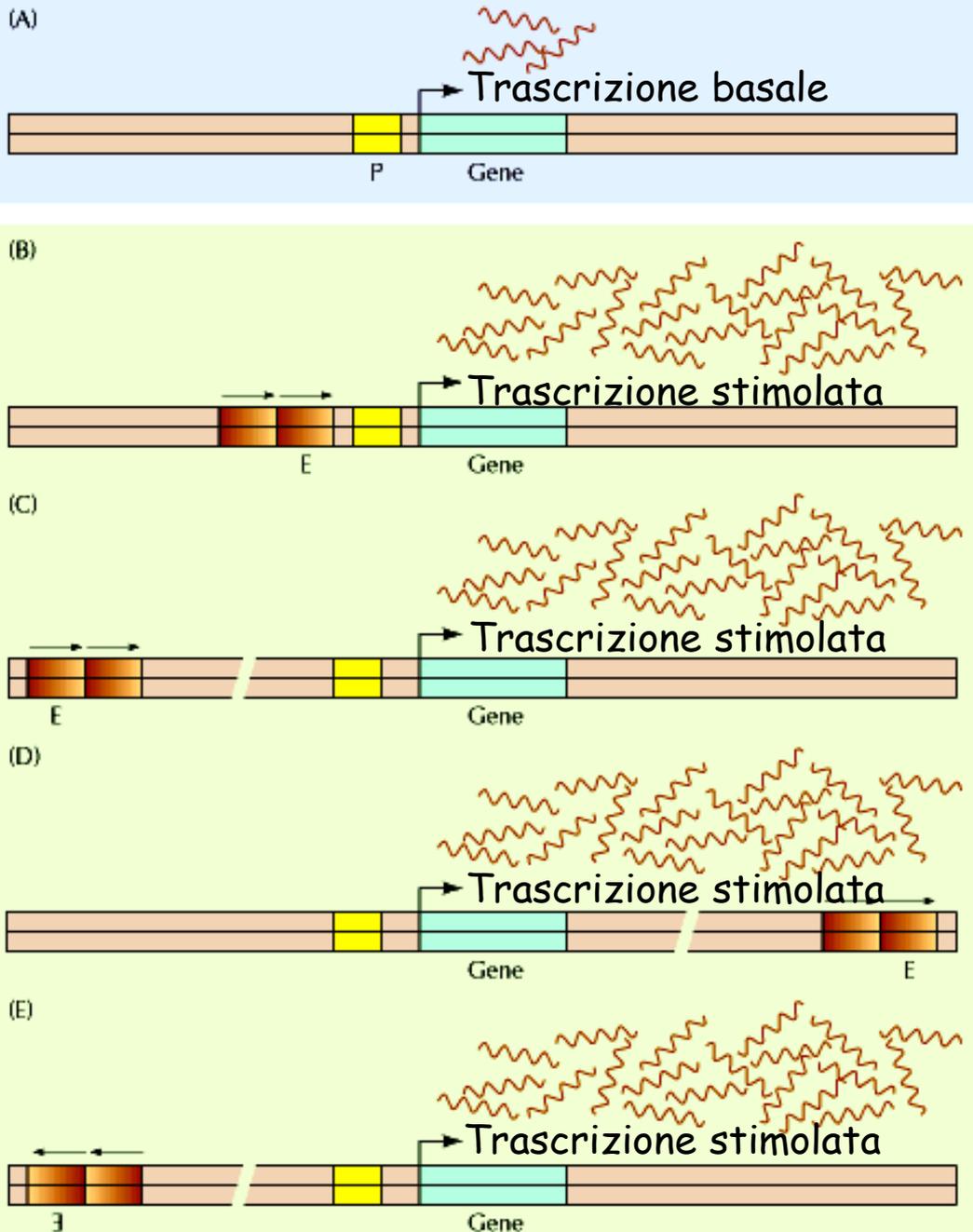
Trascrizione del DNA negli eucarioti: gli enhancer

Enhancer

sequenze regolatrici poste molto più lontano dal sito di inizio della trascrizione, talvolta più di 10 kb.

L'attività degli enhancer non dipende né dalla distanza, né dall'orientamento rispetto al sito di inizio della trascrizione.

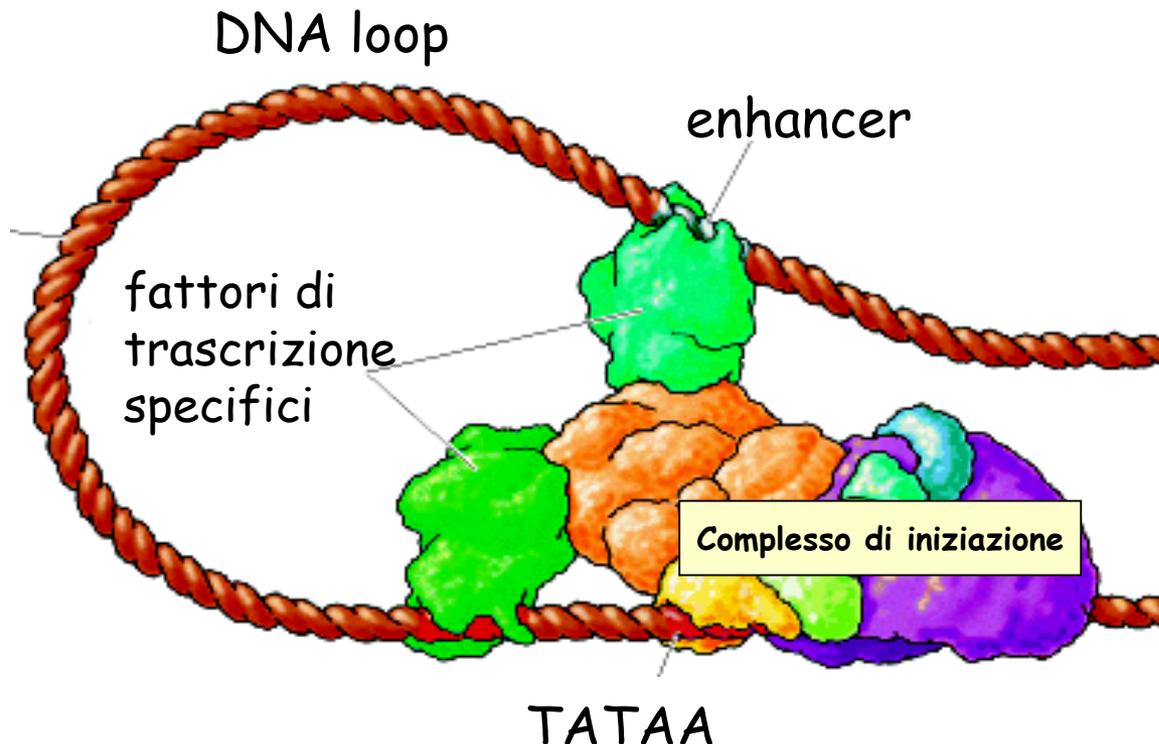
Possono essere sia a monte che a valle del promotore, orientate sia in un senso che nell'altro



Trascrizione del DNA negli eucarioti:

come si attivano gli enhancer

Come i promotori, **gli enhancer funzionano legando fattori di trascrizione** che regolano poi la RNA pol. Ciò è possibile per il ripiegamento del DNA, che permette ad un fattore di trascrizione legato ad un enhancer distante di interagire con la RNA pol o con i fattori basali di trascrizione presenti sul promotore

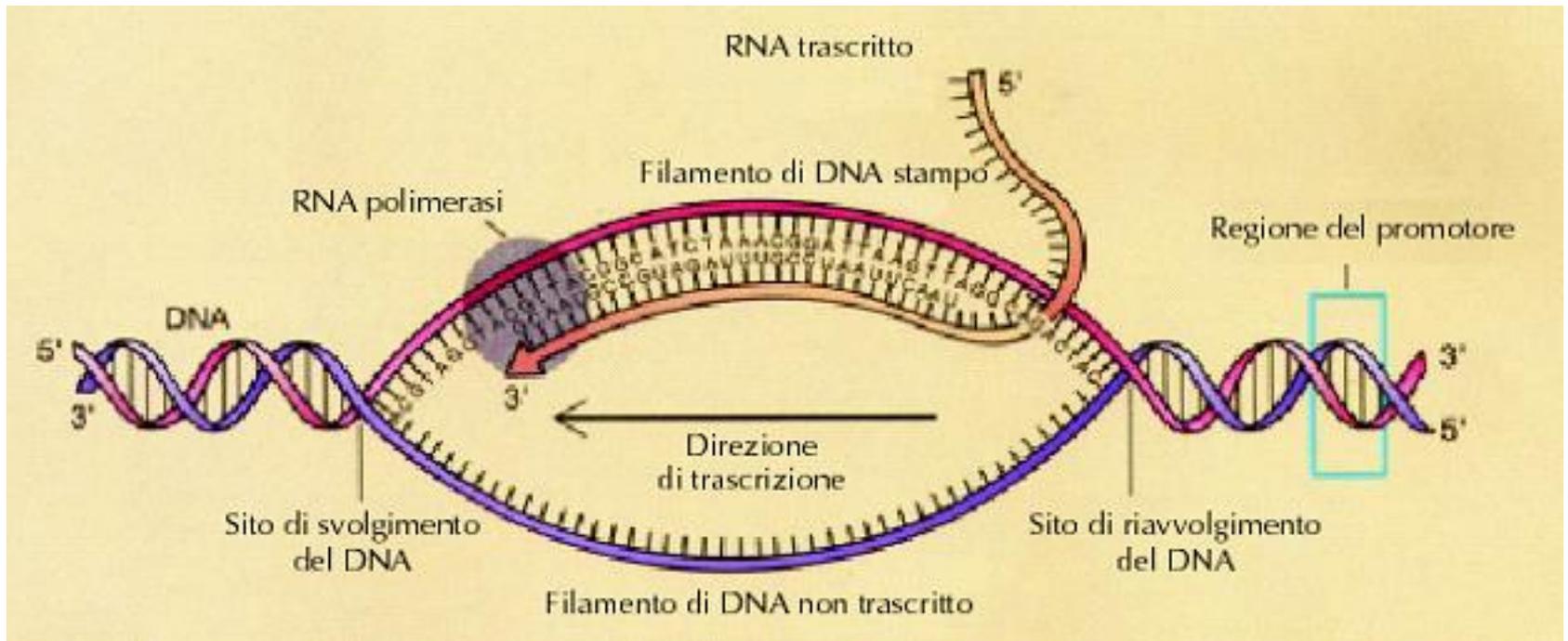


Una funzione degli enhancer può essere quella di **regolare l'espressione tessuto-specifica** di alcuni particolari geni nei tipi cellulari appropriati: l'enhancer può essere attivo in alcuni tipi di cellule ed in altri no

Trascrizione del DNA

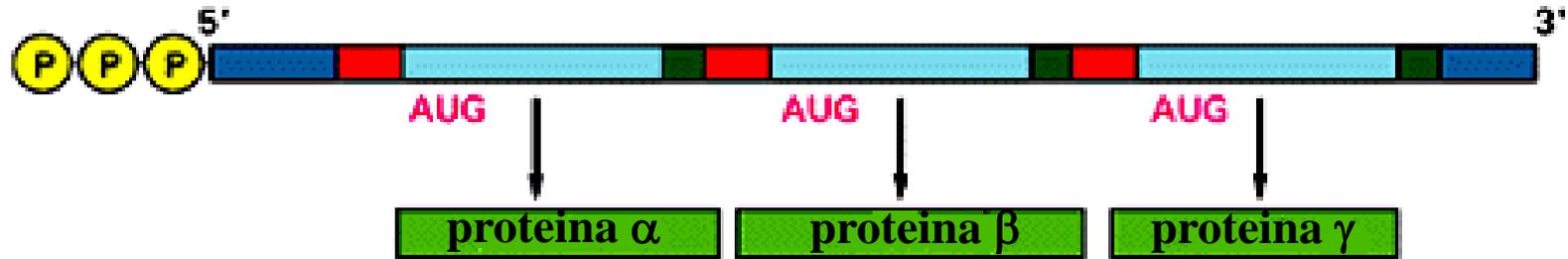
1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer

7. Maturazione dell'mRNA:
 - a) 5' cap
 - b) metilazione
 - c) poli-A
 - d) Splicing
 - e) editing
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA

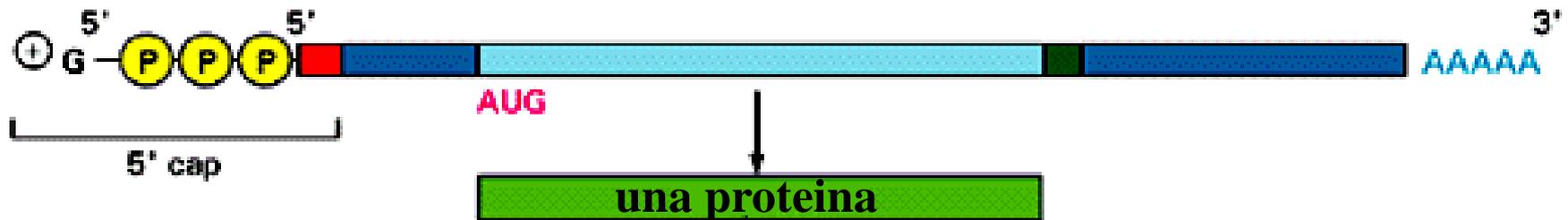


RNA MESSAGGERO DEI PROCARIOTI E DEGLI EUCARIOTI

RNAm procariotico



RNAm eucariotico



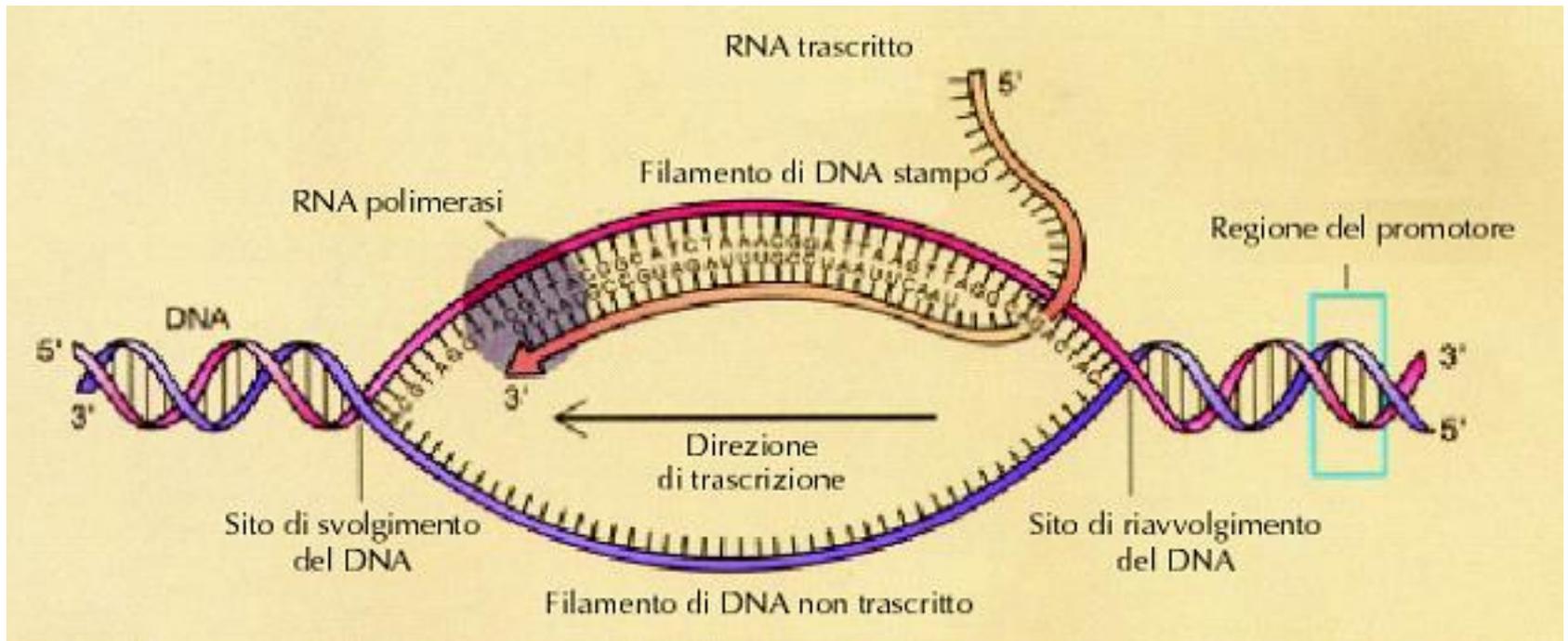
chiave:

	siti di legame dei ribosomi		sequenze codificanti		sequenze non codificanti		codoni di stop
--	-----------------------------	---	----------------------	---	--------------------------	---	----------------

Trascrizione del DNA

1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer

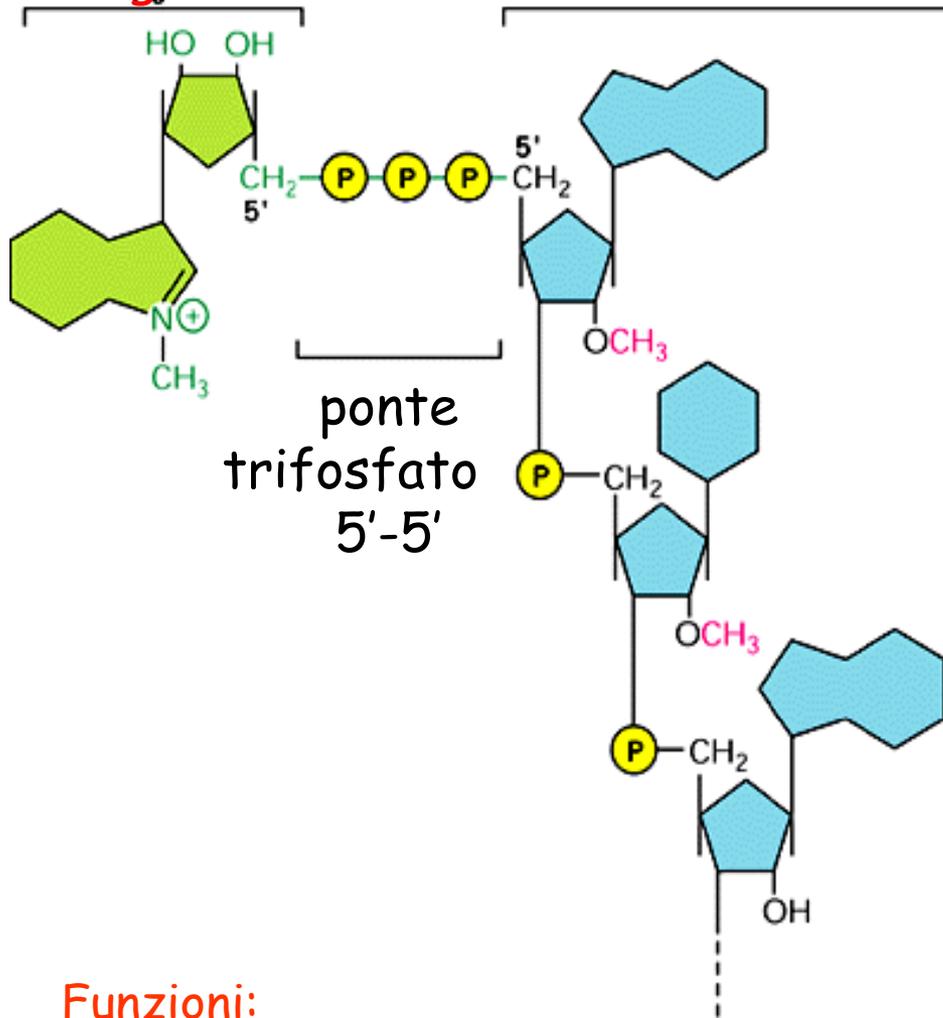
7. Maturazione dell'mRNA:
 - a) 5' cap
 - b) metilazione
 - c) poli-A
 - d) Splicing
 - e) editing
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA



5' CAP

7-metilguanosa

estremità 5' dell'RNAm: nucleoside trifosfato



L'estremità 5' dei pre-mRNA viene modificata per aggiunta di una struttura chiamata cappuccio (cap) di **7 metilguanosa**

Il GTP viene aggiunto in orientamento inverso al nucleotide 5' terminale del pre-mRNA con formazione di un **ponte trifosfato 5'-5'**.

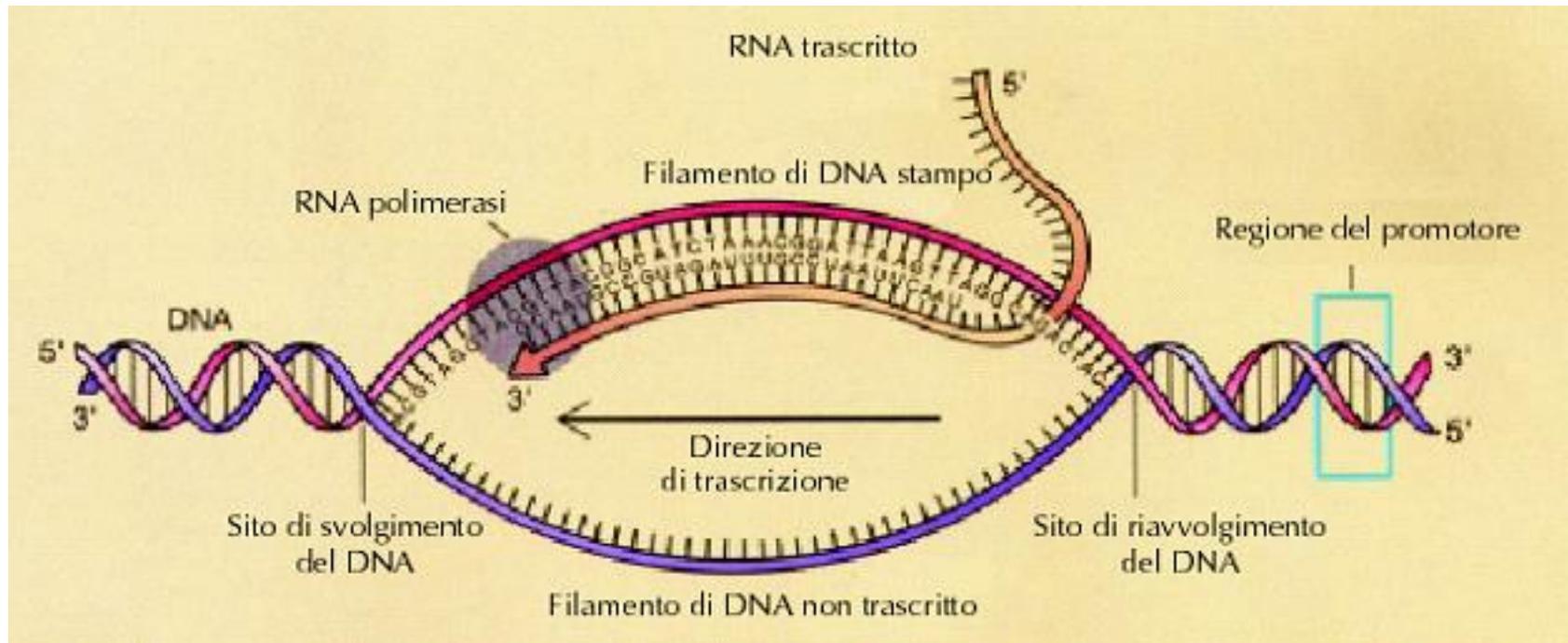
Funzioni:

1. allinea gli mRNA eucariotici sul ribosoma durante la traduzione
2. protegge l'estremo 5' dell'mRNA dalle ribonucleasi

Trascrizione del DNA

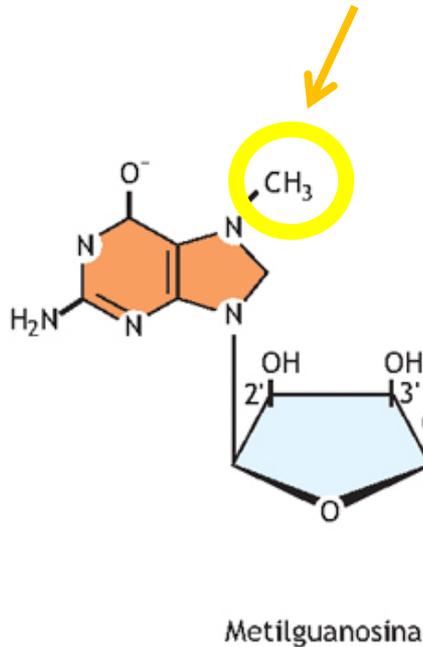
1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer

7. Maturazione dell'mRNA:
 - a) 5' cap
 - b) metilazione
 - c) poli-A
 - d) Splicing
 - e) editing
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA

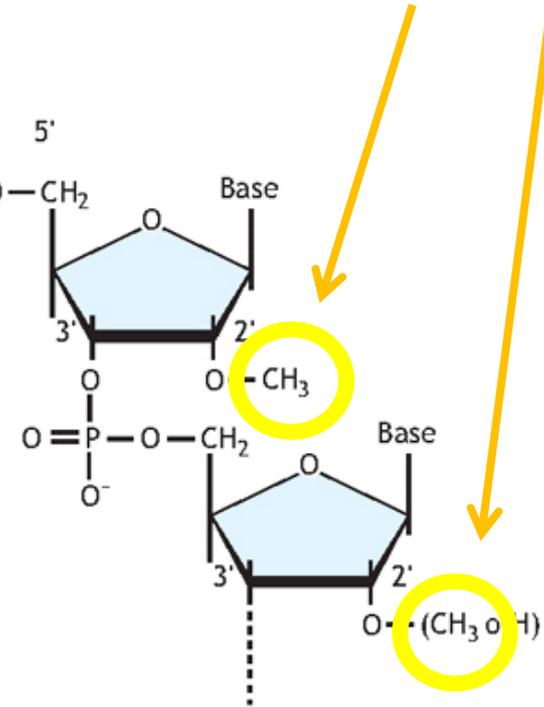


Metilazione

1. Il cap 5' viene **metilato sull'azoto** in posizione 7



2. I primi 2 nucleotidi dell'mRNA vengono metilati sul **carbonio** del ribosio in posizione 2'

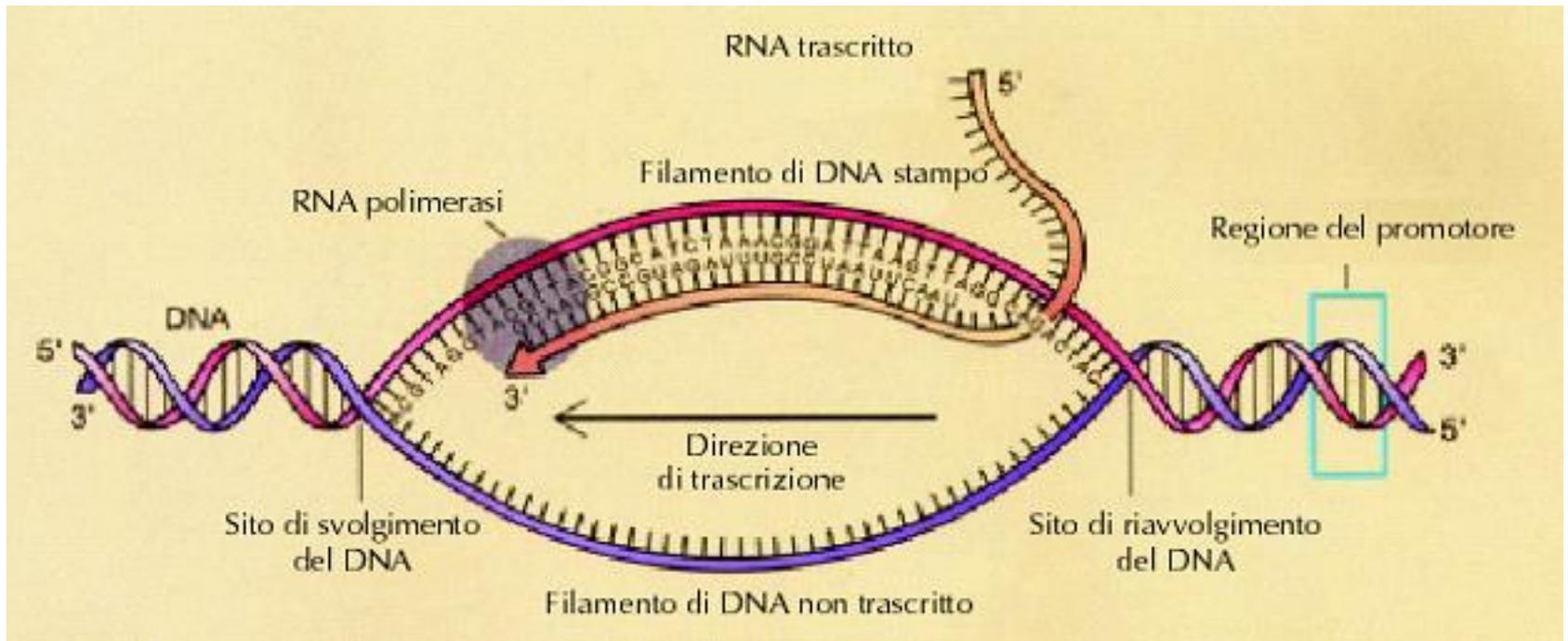


Funzione: conferisce al messaggero ulteriore stabilità

Trascrizione del DNA

1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer

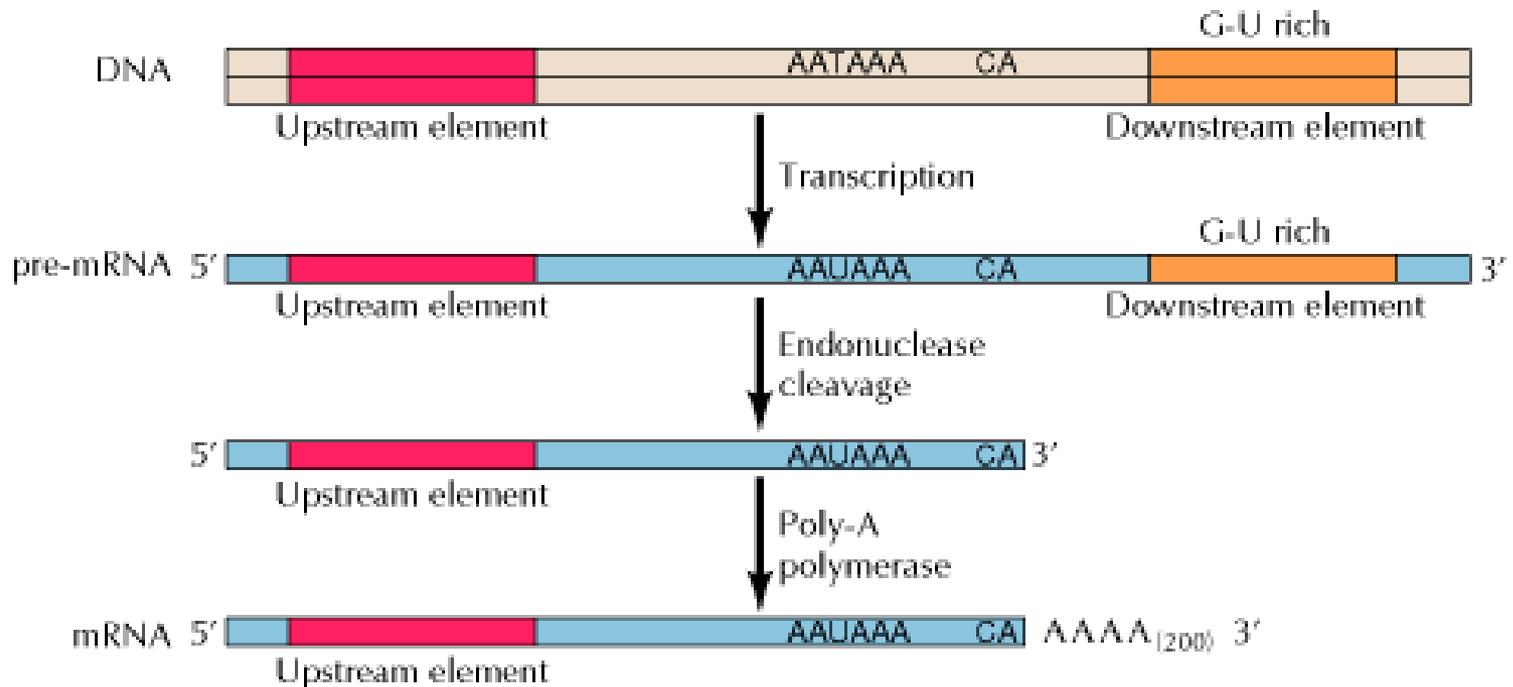
7. Maturazione dell'mRNA:
 - a) 5' cap
 - b) metilazione
 - c) poli-A
 - d) Splicing
 - e) editing
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA



Poly-A

L'estremità 3' della maggior parte degli mRNA eucariotici è caratterizzata da:

1. taglio da parte di una endonucleasi
2. Poliadenilazione: aggiunta di una coda di poly-A



Il segnale per la poliadenilazione è **AAUAAA** che viene riconosciuta da un complesso di proteine, compresa una endonucleasi che taglia la catena di RNA 10-30 nt più a valle

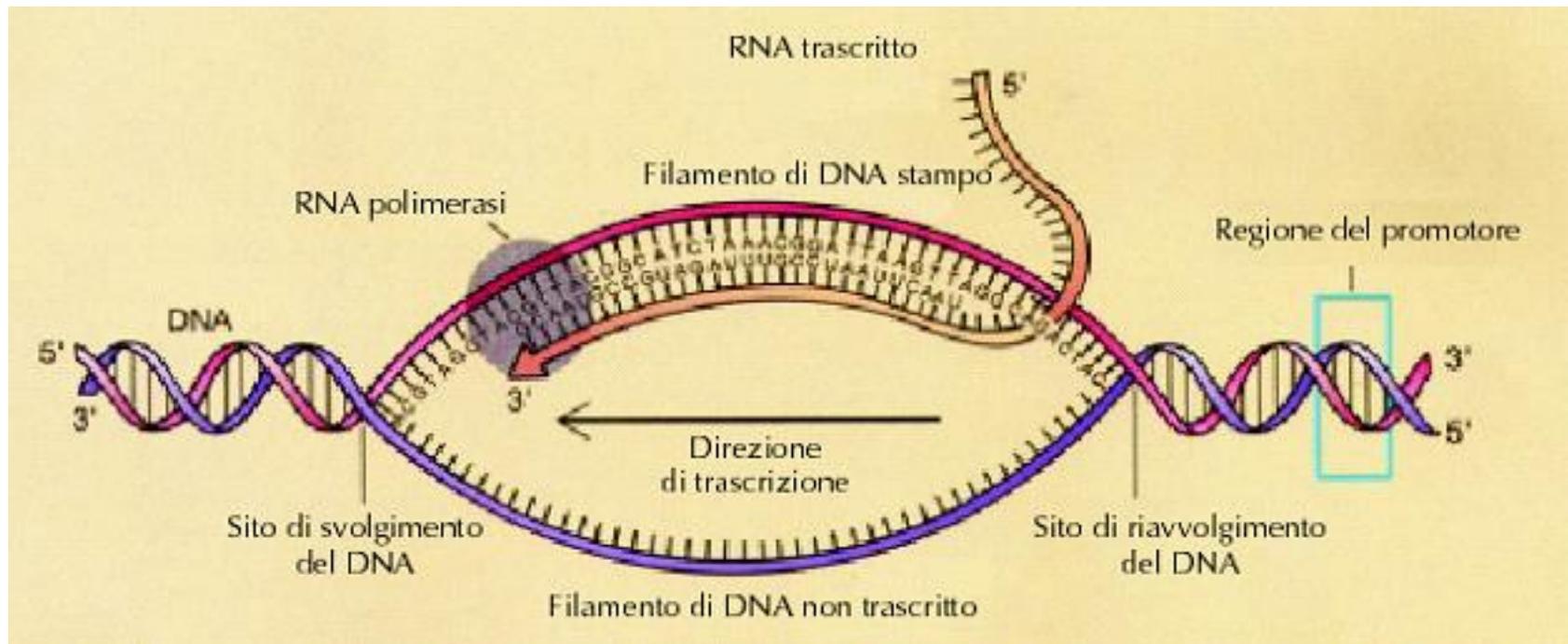
Una **poly-A-polimerasi** separata aggiunge quindi una **coda di poly-A di circa 200 nt**

Funzione: regolano sia la **stabilità** che la **traduzione** degli mRNA

Trascrizione del DNA

1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer

7. Maturazione dell'mRNA:
 - a) 5' cap
 - b) metilazione
 - c) poli-A
 - d) Splicing
 - e) editing
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA



Geni = sequenze uniche

Gene: segmento di DNA che è espresso per produrre un prodotto funzionante (RNA o polipeptide)

Introni ed esoni



esone 1 esone 2 esone 3

Trascrizione



Splicing



Trascritto primario di RNA

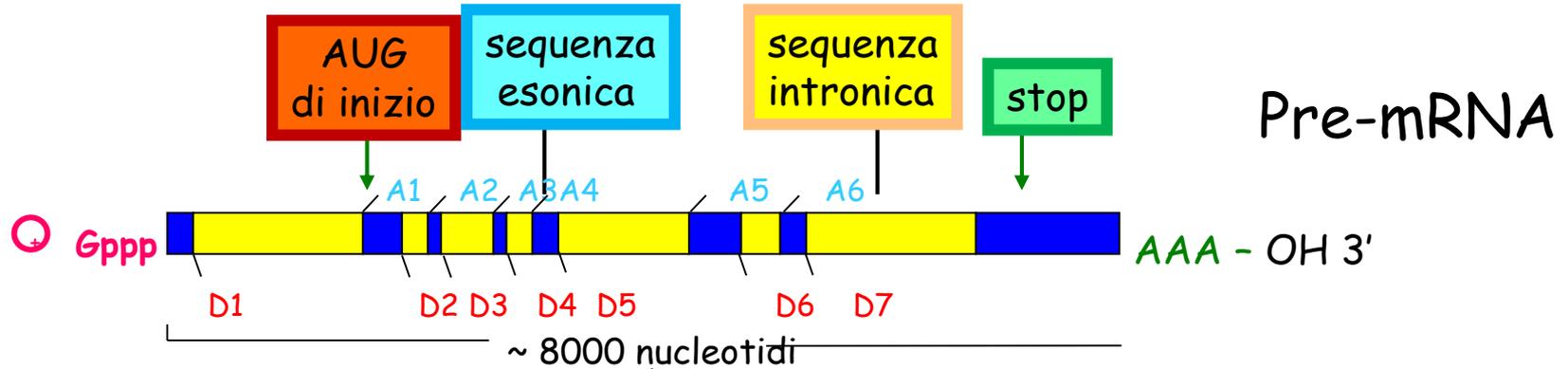
Sequenze spaziatrici:
lunghe sequenze di DNA
che si trovano fra i geni

DNA non codificante

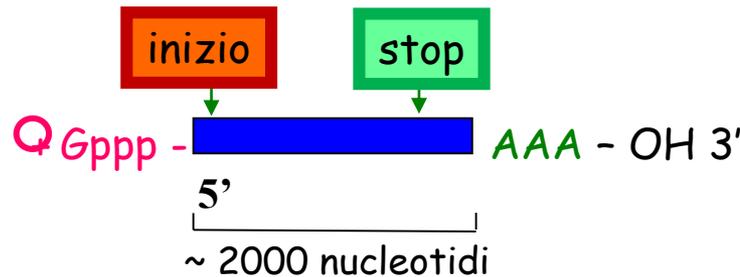
Introni:
sequenze non codificanti
che si trovano all'interno
della maggior parte dei
geni eucariotici

SPLICING

Processo con il quale **gli introni vengono rimossi** in modo preciso dal trascritto primario per creare l'mRNA maturo:



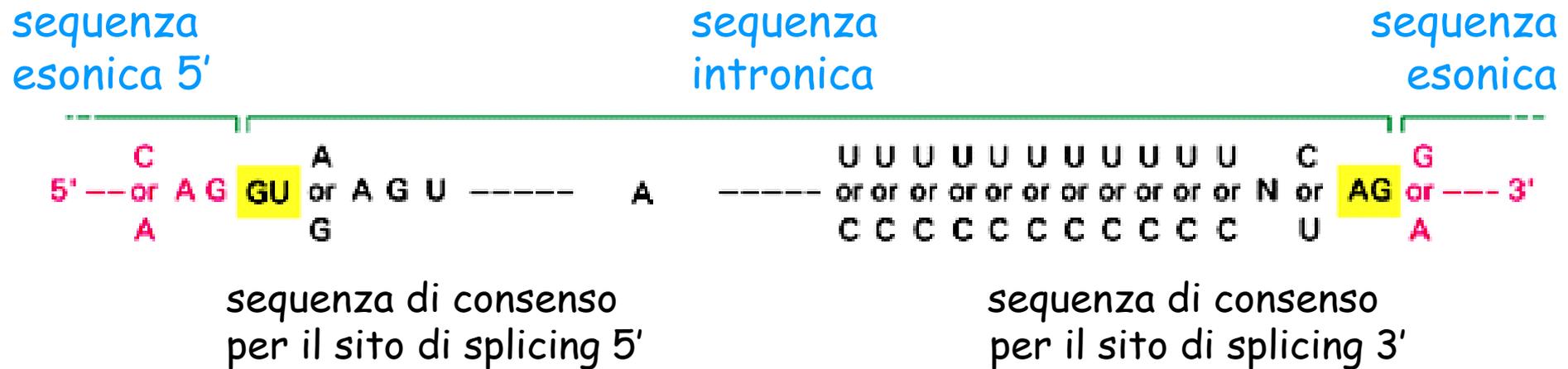
sequenze introniche
rimosse dallo
splicing



mRNA maturo

L'RNA MESSAGGERO DEGLI EUCARIOTI: Il meccanismo dello splicing dell'RNA

La maggior parte dei geni eucariotici contiene introni multipli, che in genere occupano 10 volte + sequenze degli esoni del pre-mRNA

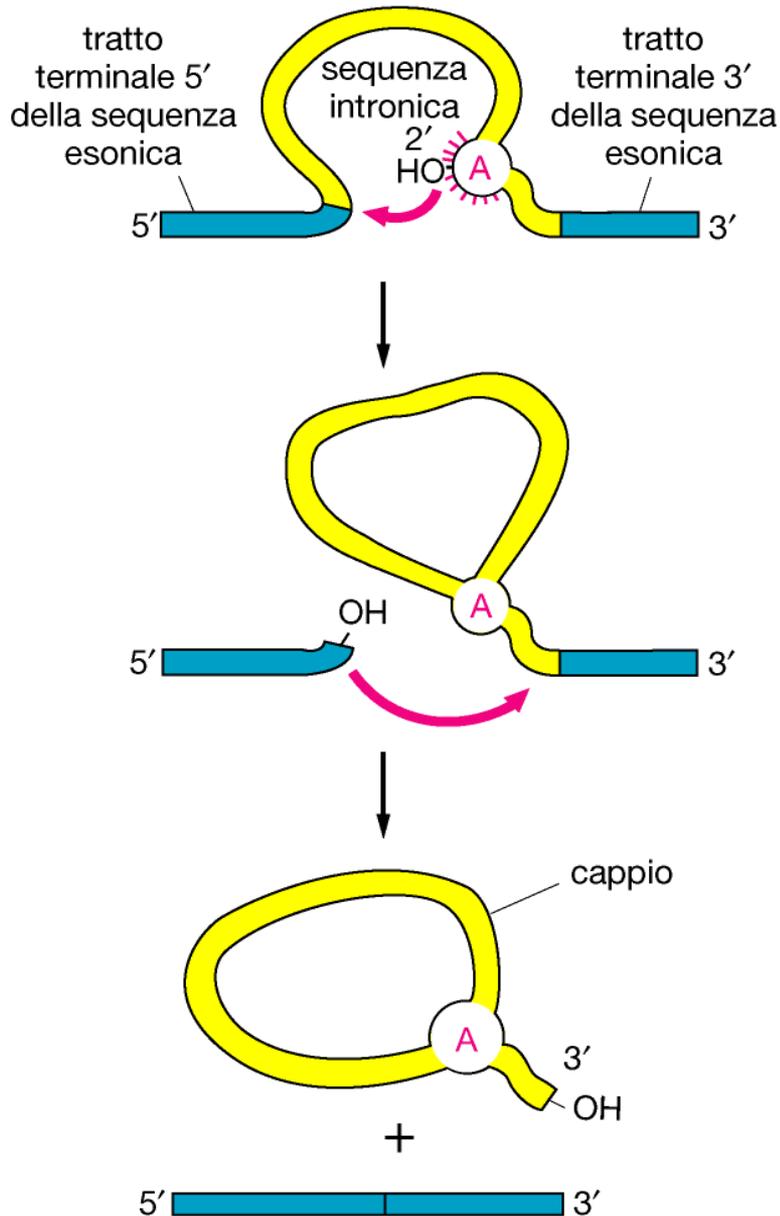


3 elementi critici di sequenza:

1. Sito di splicing 5'
2. Sito di splicing 3'
3. punto di ramificazione

SPLICING

Processo con il quale **gli introni vengono rimossi** in modo preciso dall'mRNA maturo



Lo splicing procede in **2 fasi**:

1. Il pre-mRNA è **tagliato al sito di splicing 5'** e **l'estremità 5' dell'introne viene unita ad una A all'interno dell'introne** (vicino all'estremità 3'). In questo modo l'introne forma un'ansa.
2. **Taglio simultaneo al sito di splicing 3'** e **la legatura dei 2 esoni**. L'introne viene quindi **escisso formando una struttura simile ad un lazo**, che viene poi **linearizzata e degradata all'interno del nucleo delle cellule intatte**.

Spliceosoma

Grosso complesso composto da
4 tipi diversi di snRNP composti da

RNA

ed

proteine

snRNA

Si chiamano U perché sono ricchi in uridina e sono di 5 tipi:

U1 U2 U4 U5 e U6 (50-200 nt)

Questi RNA sono complessati con

6-10 proteine formando gli snRNP

4 tipi:

snRNP U1: 1 sola molecola di RNA + 6-10 pt

snRNP U2: 1 sola molecola di RNA + 6-10 pt

snRNP U5: 1 sola molecola di RNA + 6-10 pt

snRNP U4/U6: 2 molecole di RNA + 6-10 pt

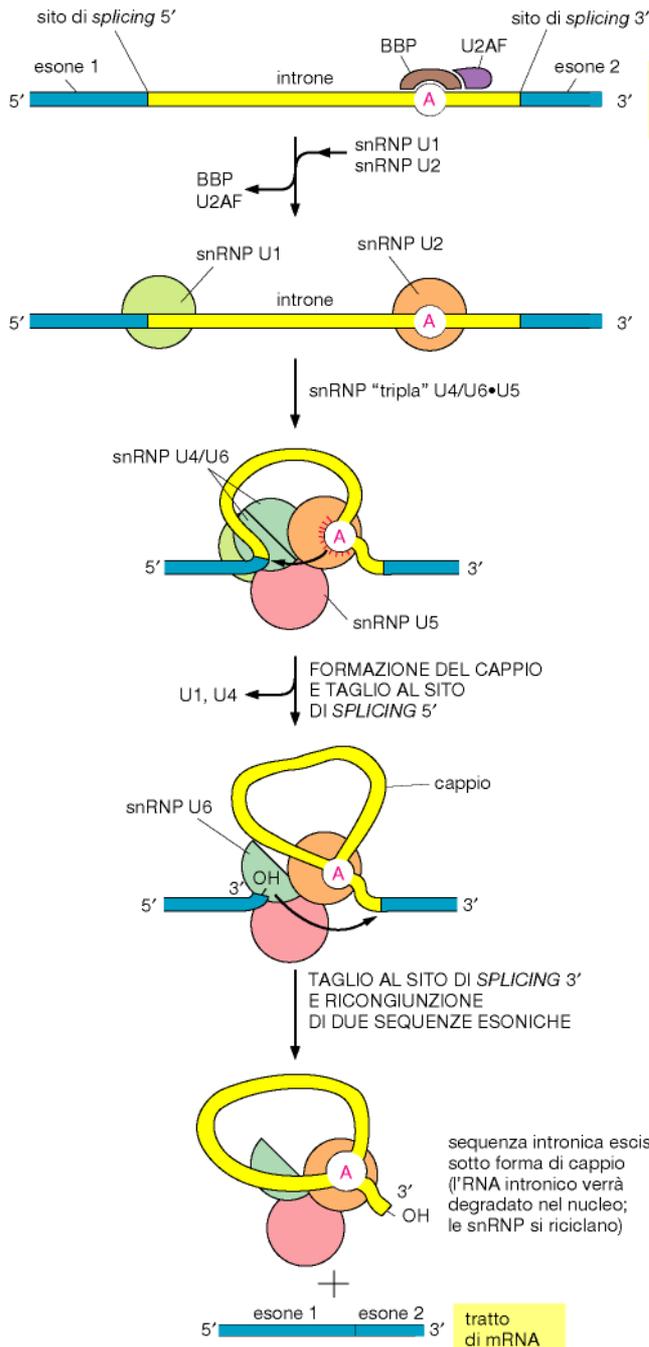
snRNP: small nuclear ribonucleoprotein :
particle

piccole particelle nucleari
ribonucleoproteiche

snRNA: small nuclear RNA:

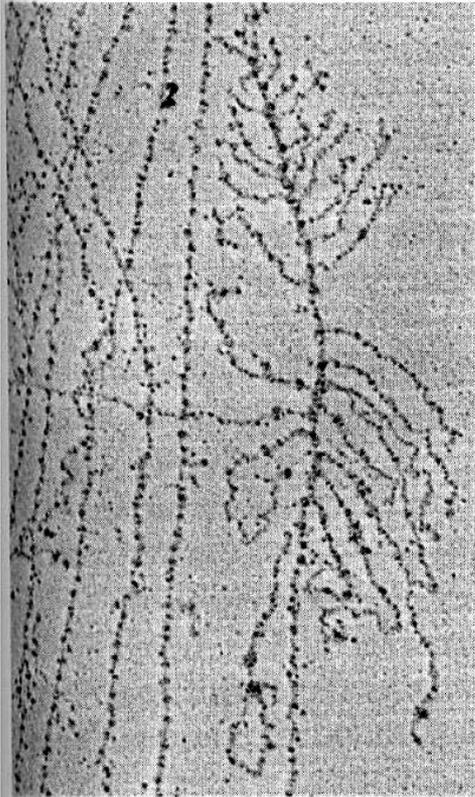
piccoli RNA nucleari
(insieme alle proteine formano gli snRNP)

Fasi dello splicing

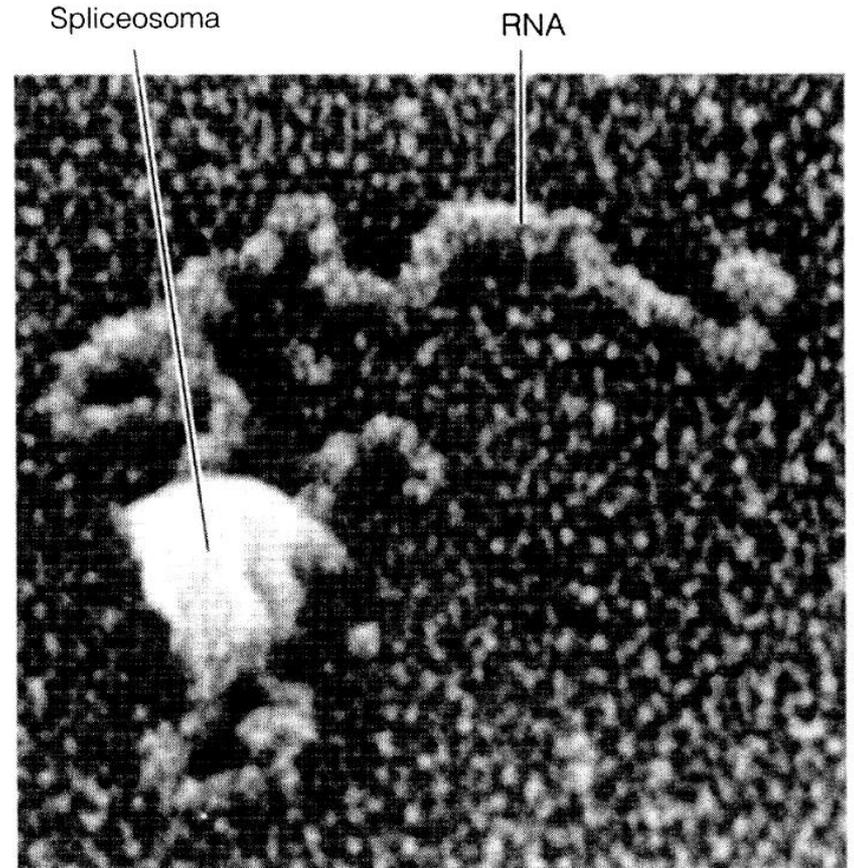
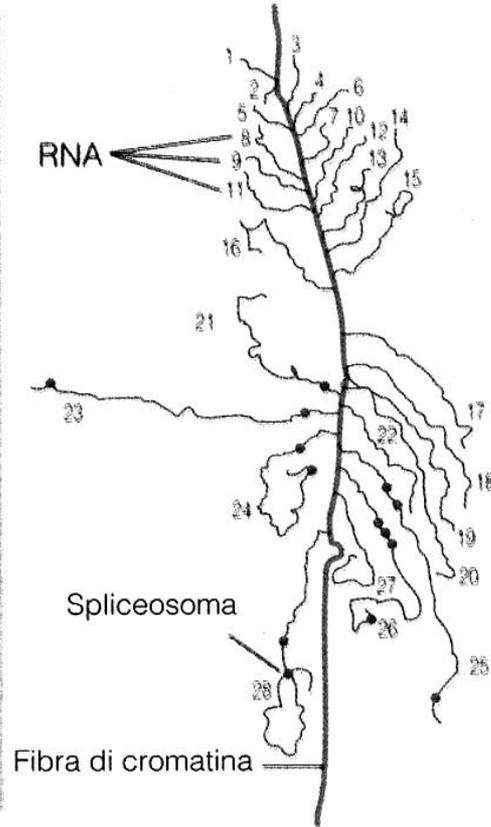


1. 1 snRNP **U1** si attacca e al **sito di splicing 5'** tramite accoppiamento della sequenza consenso e un sequenza sul snRNA U1
2. **Taglio dell'estremità 5'** dell'introne
3. 1 snRNP **U2** si attacca al **punto di ramificazione** tramite accoppiamento della sequenza consenso e un sequenza sul snRNA U2
4. 1 snRNP **U5** si attacca al **sito di splicing 3'** tramite accoppiamento della sequenza consenso e un sequenza sul snRNA U5
5. Viene reclutato **snRNP U4/U6** che si assembla con **U5, U1 e U2** formando lo **spliceosoma** mediante flessione della molecola di RNA messaggero
6. **U5 taglia l'estremità 3'** dell'introne e promuove la **saldatura** degli esoni

LO SPLICEOSOMA



0,2 μ m

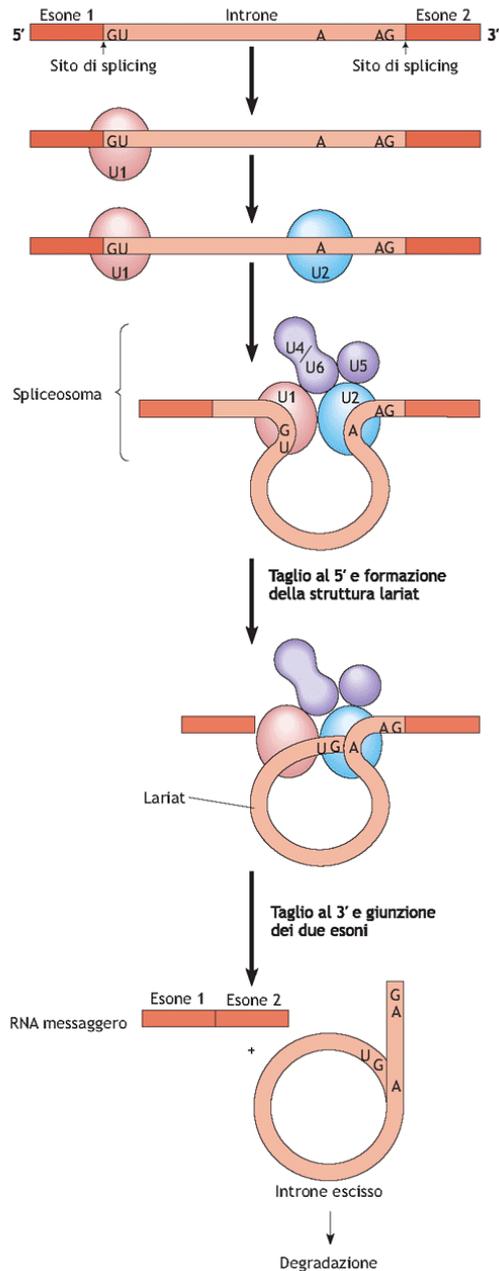


SPLICING

Gli snRNA hanno 2 funzioni:

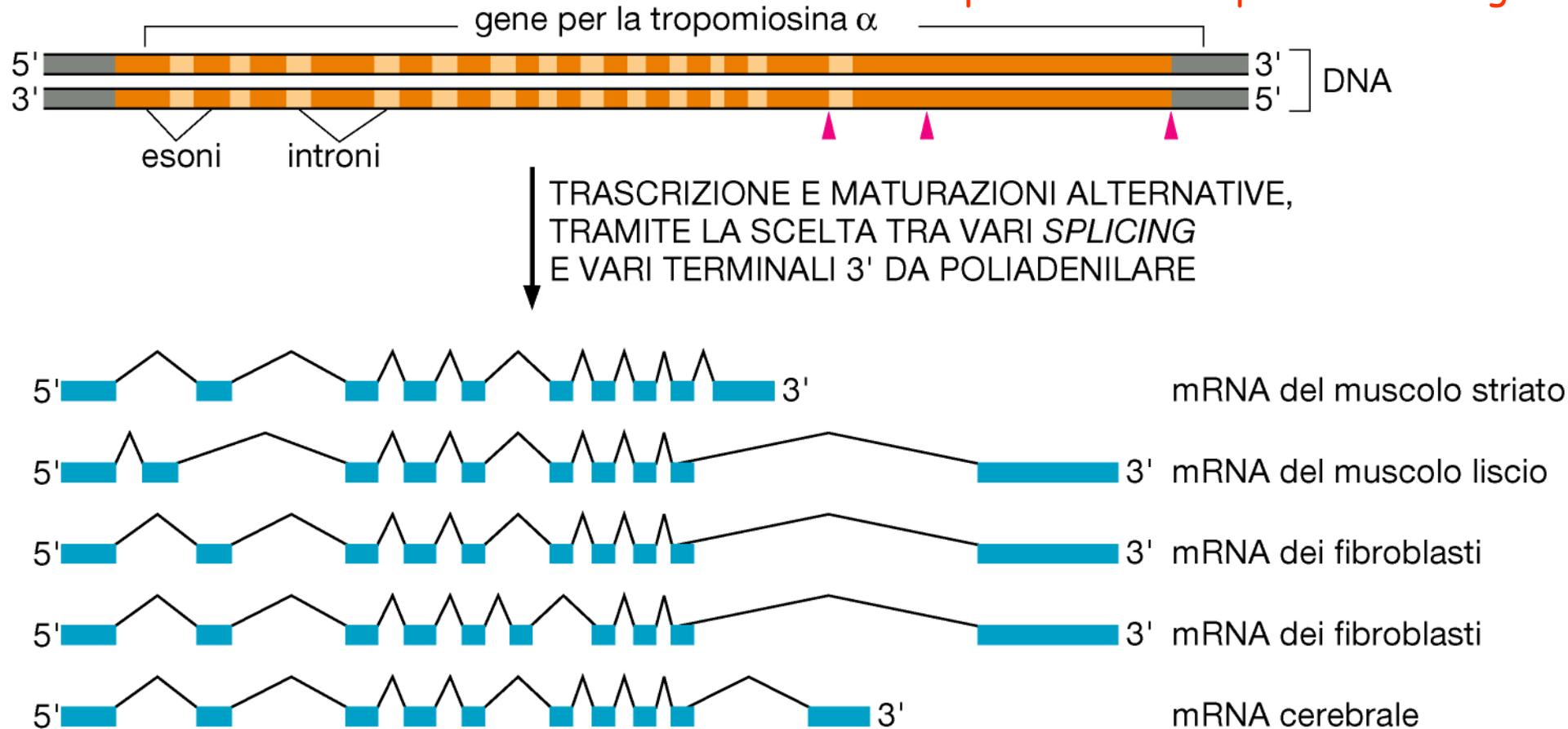
- Appaiano con le sequenze consenso
- Catalizzano direttamente la reazione di splicing

Gli snRNP devono la loro attività soprattutto agli RNA che le compongono e quindi possono essere considerate dei **ribozimi**



Splicing alternativo

meccanismo importante per la regolazione tessuto-specifica dell'espressione dei geni



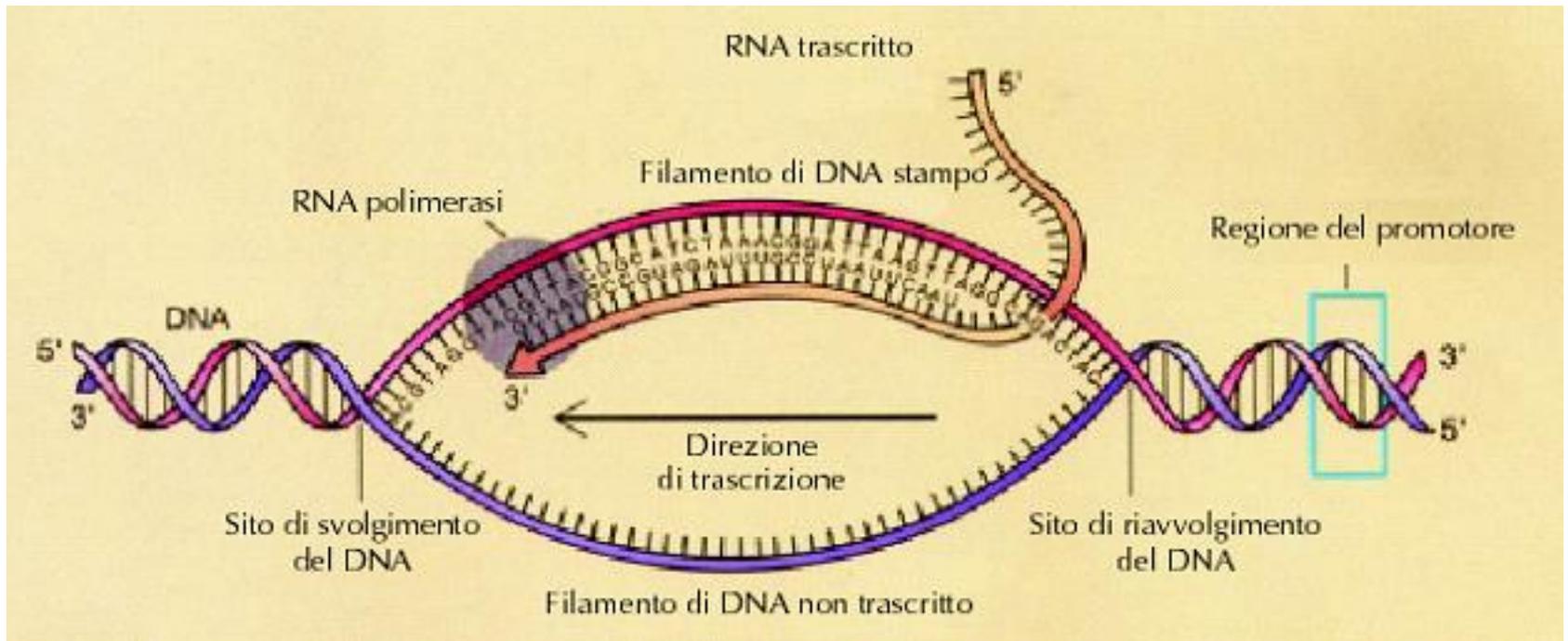
La maggior parte dei pre-mRNA contiene introni multipli quindi dallo stesso gene **si possono produrre mRNA diversi mediante combinazioni diverse di siti di splicing 5' e 3'**. La possibilità di unire esoni in varie combinazioni fornisce un mezzo nuovo per controllare l'espressione dei geni generando mRNA multipli.

Esempio: Regolazione tessuto-specifica dell'espressione dei geni

Trascrizione del DNA

1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer

7. Maturazione dell'mRNA:
 - a) 5' cap
 - b) metilazione
 - c) poli-A
 - d) Splicing
 - e) editing
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA



EDITING

Cambiamento post-trascrizionale delle sequenze dell'mRNA

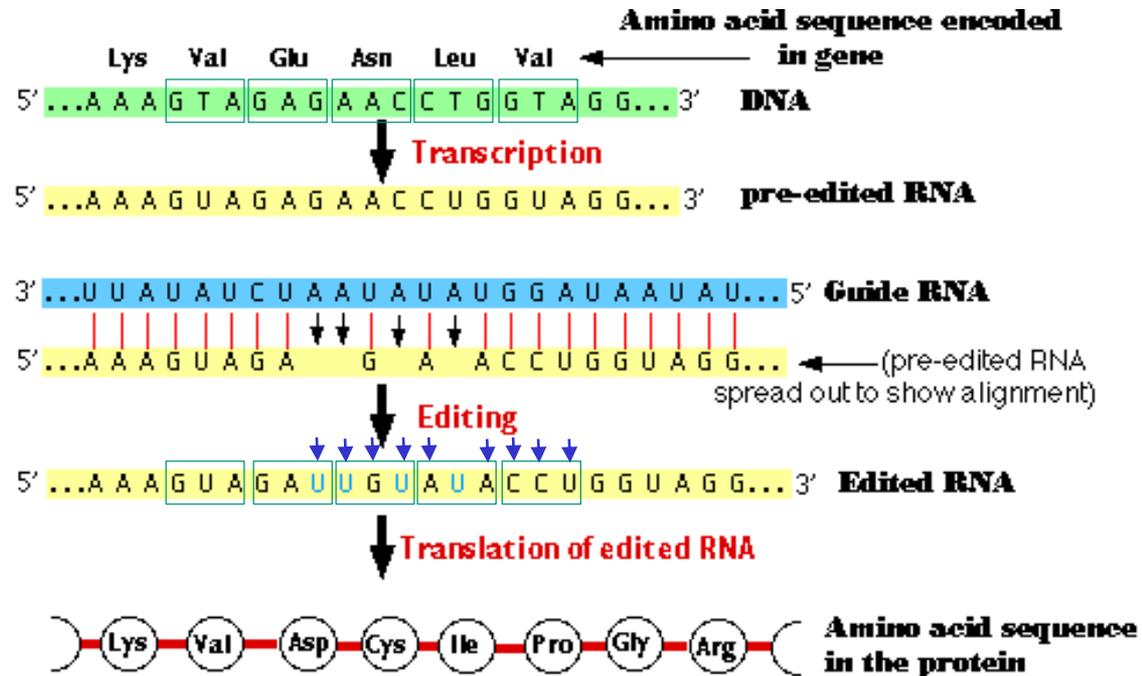
Mitocondri e cloroplasti di alcune specie:

delezione ed aggiunta di residui di uridina o il cambiamento di alcune uridine in citidine

Nei mammiferi si verifica per alcuni geni particolari:

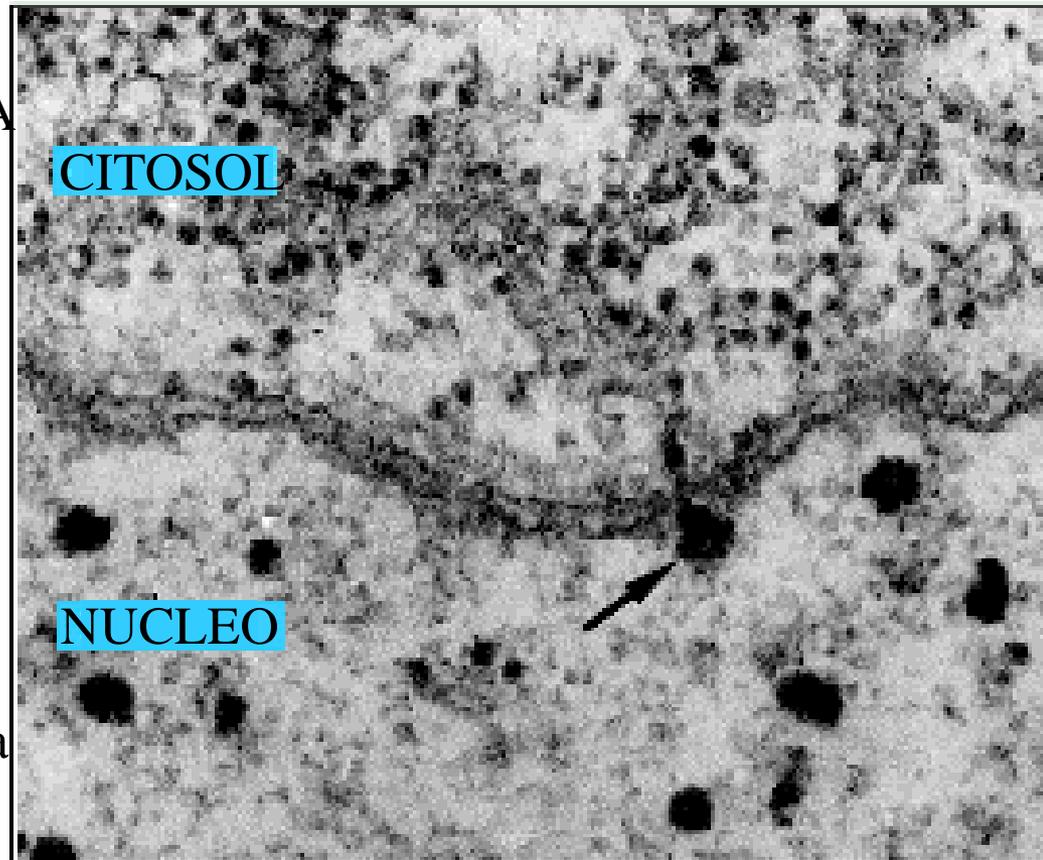
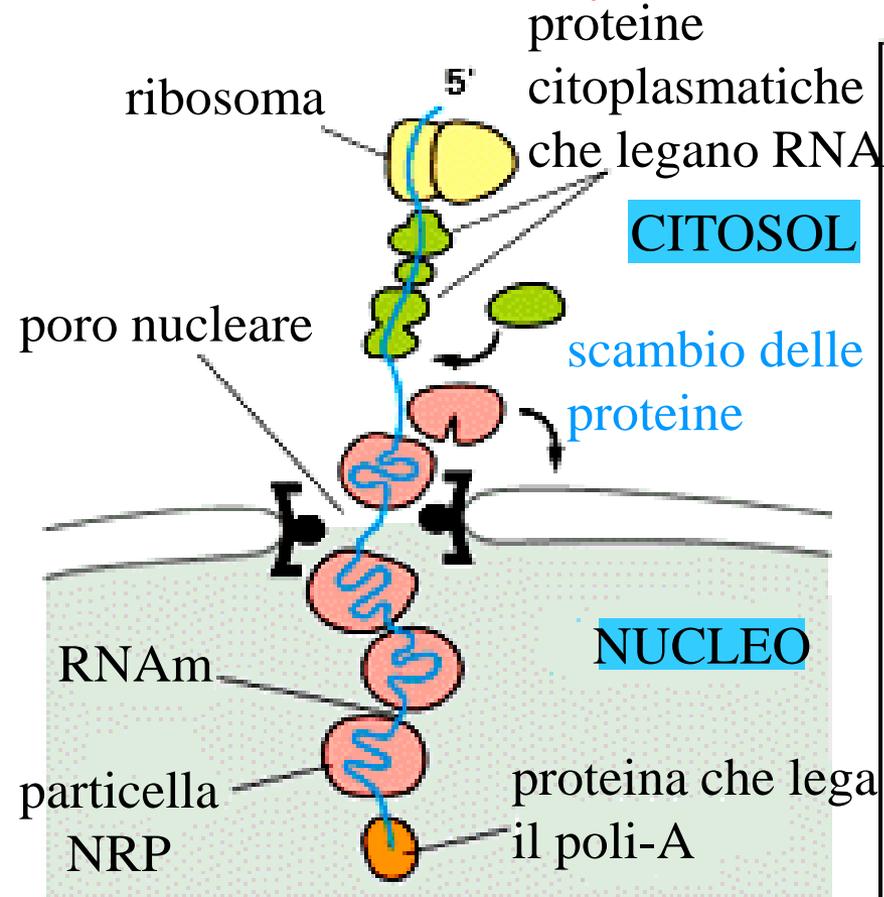
conversione di una C in U

generando una proteina un po' diversa in un tessuto rispetto ad un altro dello stesso organismo



Il meccanismo prevede l'appaiamento dell'mRNA da editare con un gRNA (RNA guida; di provenienza intronica) che indica i nucleotidi da sostituire

Trasporto dell'mRNA al citoplasma



200 nm

(A)

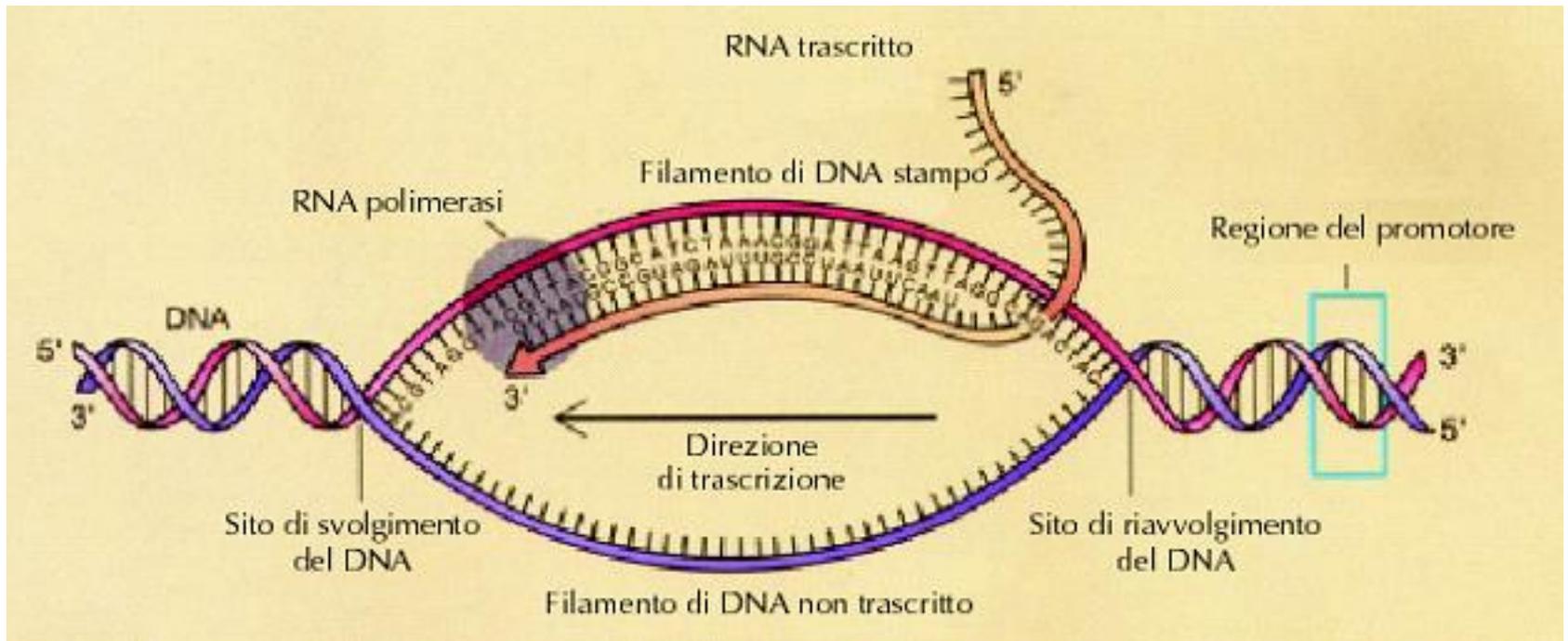
(B)

La sintesi e la maturazione dell'mRNA eucariotico avvengono all'interno del **nucleo** secondo un ordine programmato. Quindi l'mRNA maturo viene **ricosciuto da determinate proteine di trasporto**, che lo discriminano da RNA non maturi o danneggiati o frammenti di RNA o introni excisi e lo **traghettano selettivamente** verso il **citosol** attraverso i pori nucleari

Trascrizione del DNA

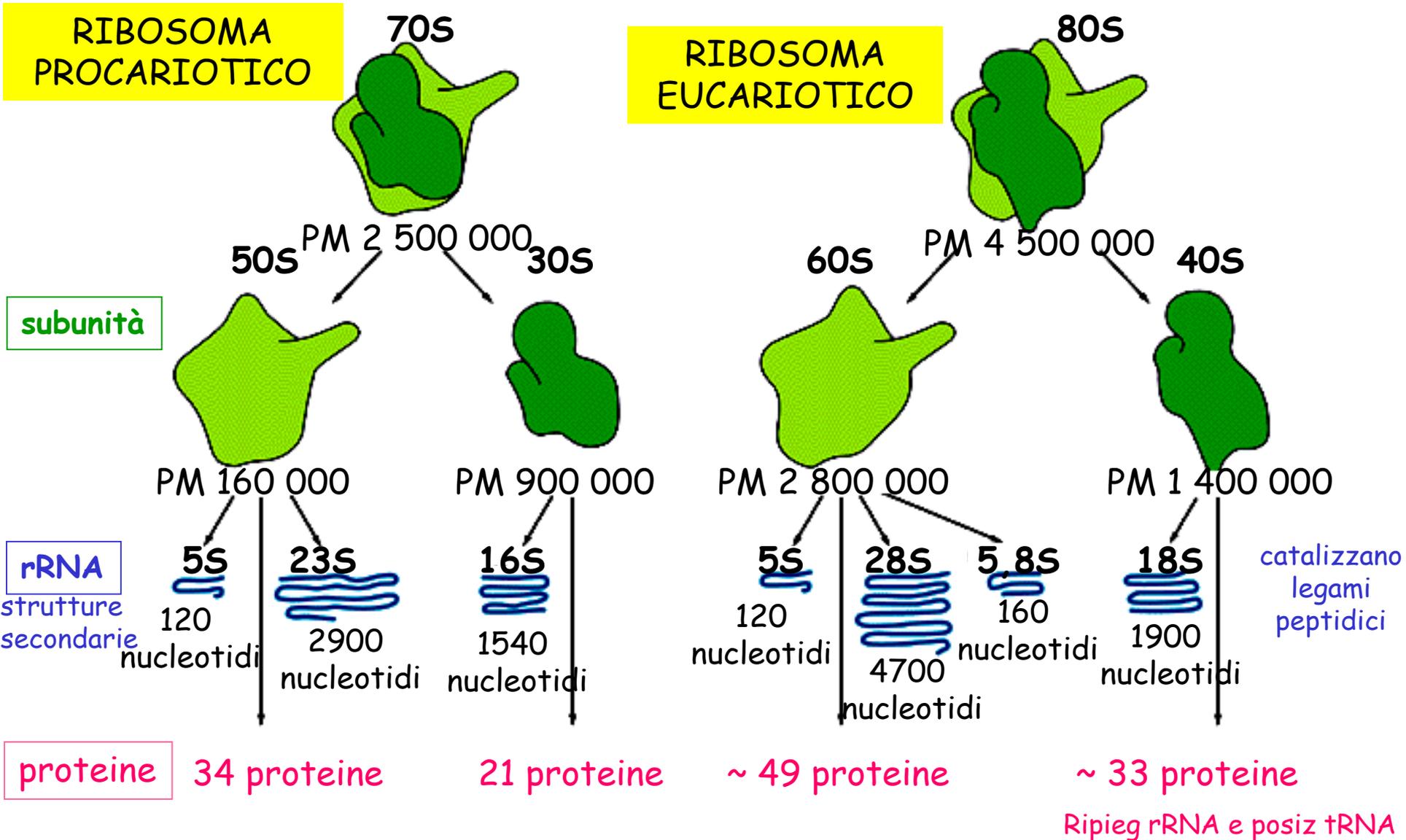
1. Flusso dell'informazione genetica
2. RNA polimerasi
3. Siti di inizio e fine trascrizione
4. Reazione
5. Differenze tra procarioti ed eucarioti
6. Enhancer

7. Maturazione dell'mRNA:
 - a) 5' cap
 - b) metilazione
 - c) poli-A
 - d) Splicing
 - e) editing
8. Trasporto dell'mRNA al citoplasma
9. Maturazione di tRNA ed rRNA



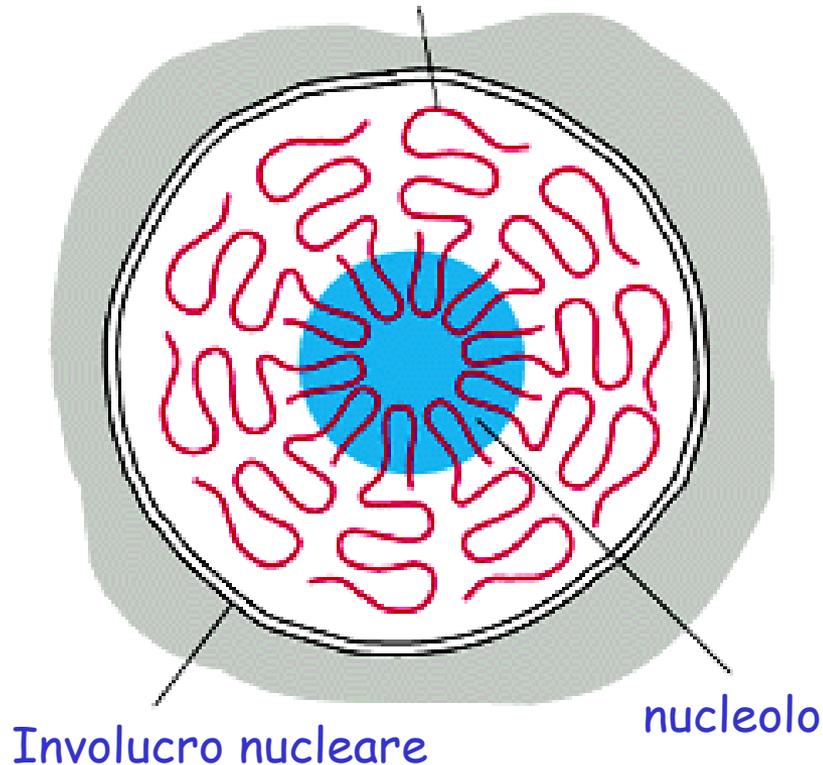
I RIBOSOMI

I ribosomi sono i siti della sintesi proteica. Denominati secondo la loro velocità di sedimentazione: 70S batterici; 80S eucariotici



IL NUCLEOLO E' UNA MACCHINA CHE PRODUCE I RIBOSOMI

10 cromosomi interfascici forniscono al nucleolo le anse di DNA che producono rRNA



•La struttura più evidente all'interno del nucleo è il

nucleolo:

il sito di trascrizione e di processazione dell'rRNA e di assemblaggio dei ribosomi

che all'interno della cellula sono necessari in grande quantità

•Il nucleolo non ha membrana

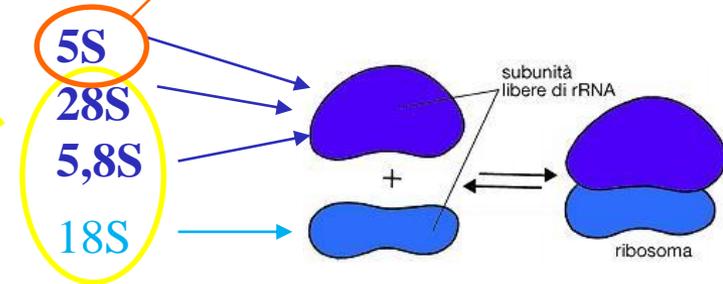
•E' organizzato intorno alle regioni cromosomiche che contengono i geni degli rRNA 5.8S, 18S e 28S.

IL NUCLEOLO E' UNA MACCHINA CHE PRODUCE I RIBOSOMI

Geni degli rRNA 5.8S, 18S e 28S:
sono raggruppati in serie in tandem su
5 cromosomi umani diversi
(13,14,15,21,22)

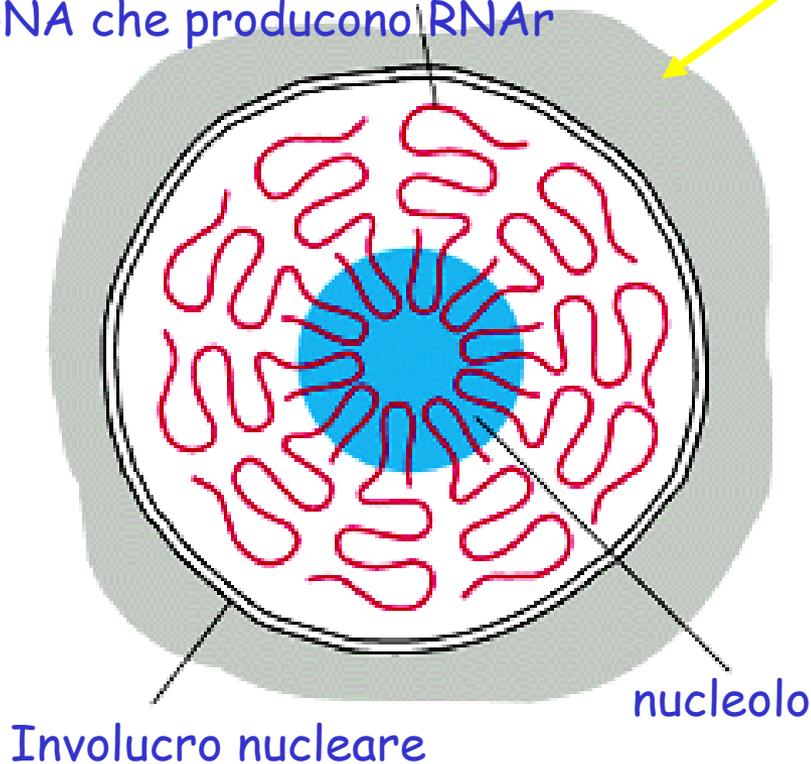
Geni dell'RNA 5S sono presenti
un una singola serie in tandem
sul cromosoma 1

10 cromosomi interfascici
forniscono al nucleolo le anse
di DNA che producono rRNA



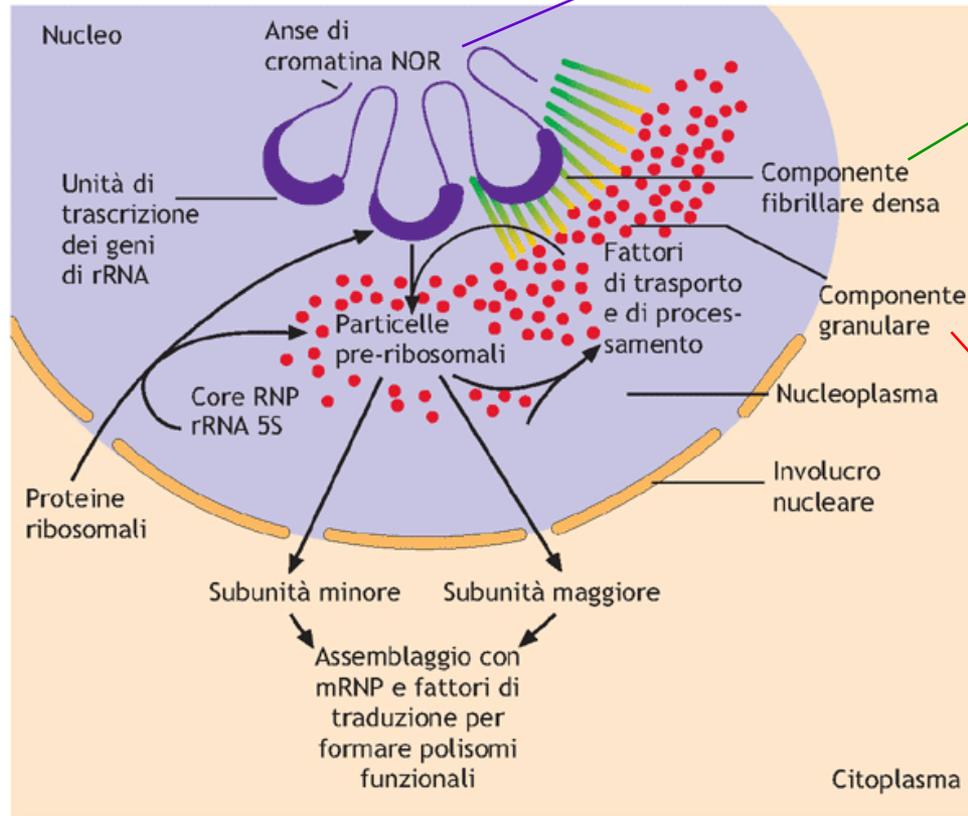
Il nucleolo è organizzato intorno alle
regioni cromosomiche che contengono i
geni degli rRNA 5.8S, 18S e 28S.

Per soddisfare la necessità di
trascrivere grandi quantità di molecole
di rRNA, ci sono **copie multiple** di questi
geni (Uomo: 200 copie)



IL NUCLEOLO E' UNA MACCHINA CHE PRODUCE I RIBOSOMI

Nucleolo: **1** regione fibrillare Centri fibrillari



Componente fibrillare densa

Componente granulare

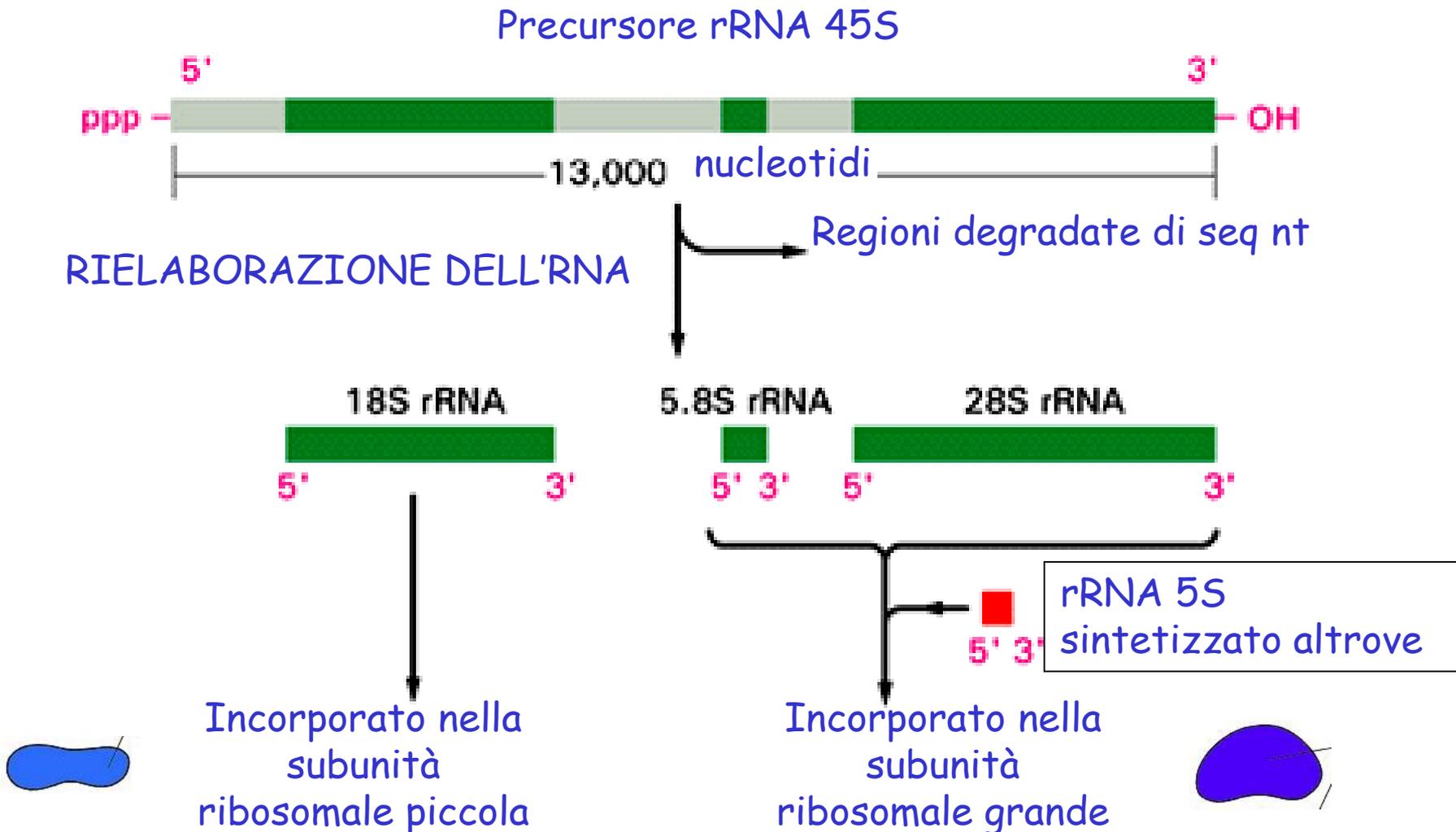
2

Regione granulare

Citoplasma

Trascrizione degli RNA ribosomali

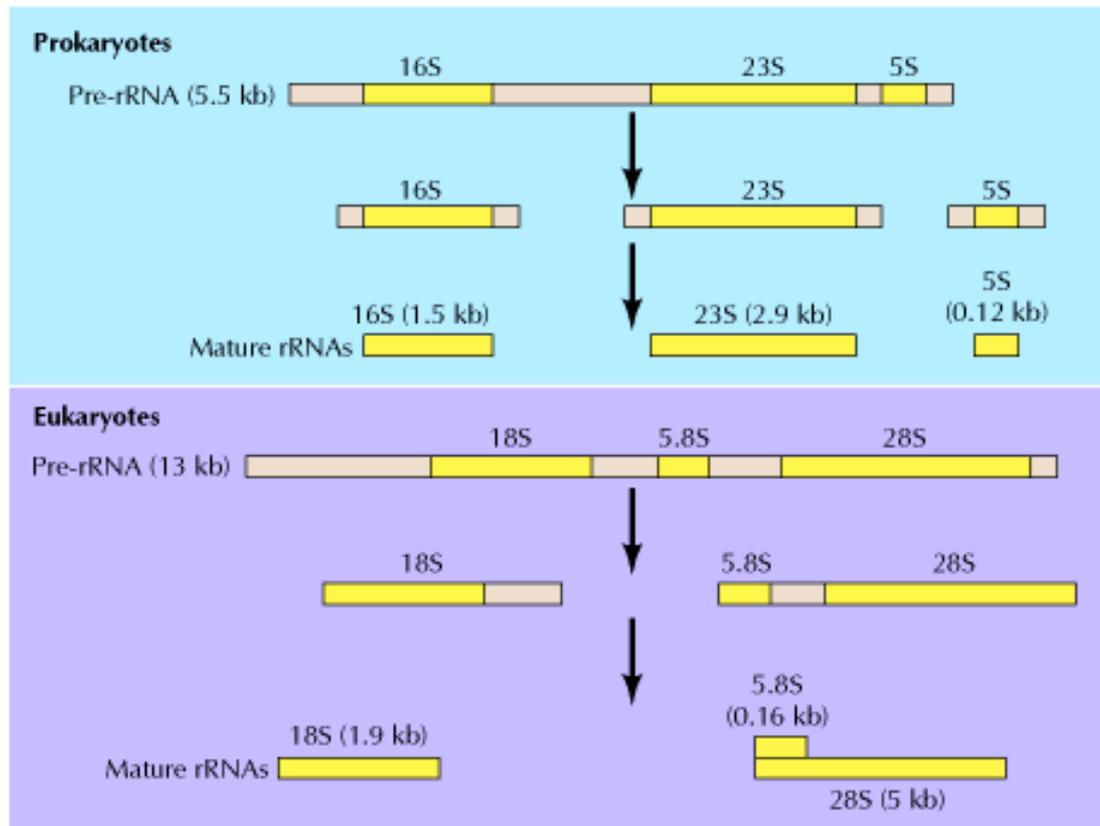
Gli rRNA 5.8S, 18S e 28S sono trascritti come una singola unità dentro il nucleolo dalla RNA pol I, producendo un RNA precursore 45S che poi viene processato per dare i 3 rRNA. Nell'assemblaggio del ribosoma mancherebbe il 5S che viene trascritto al di fuori del nucleolo dalla RNA pol III



Processazione degli rRNA

I pre-rRNA procariotici ed eucariotici sono **processati in parecchi passaggi**. Il taglio iniziale del pre-rRNA produce **precursori separati** che poi vengono tagliati ulteriormente per dare i prodotti finali

Le molecole responsabili sono degli **snRNP** che contengono degli **snRNA** correlati con quelli che partecipano allo splicing dell'mRNA. In particolare qui troviamo gli snRNA **U3, U8 e U14 e U22**.



ASSEMBLAGGIO DEI RIBOSOMI

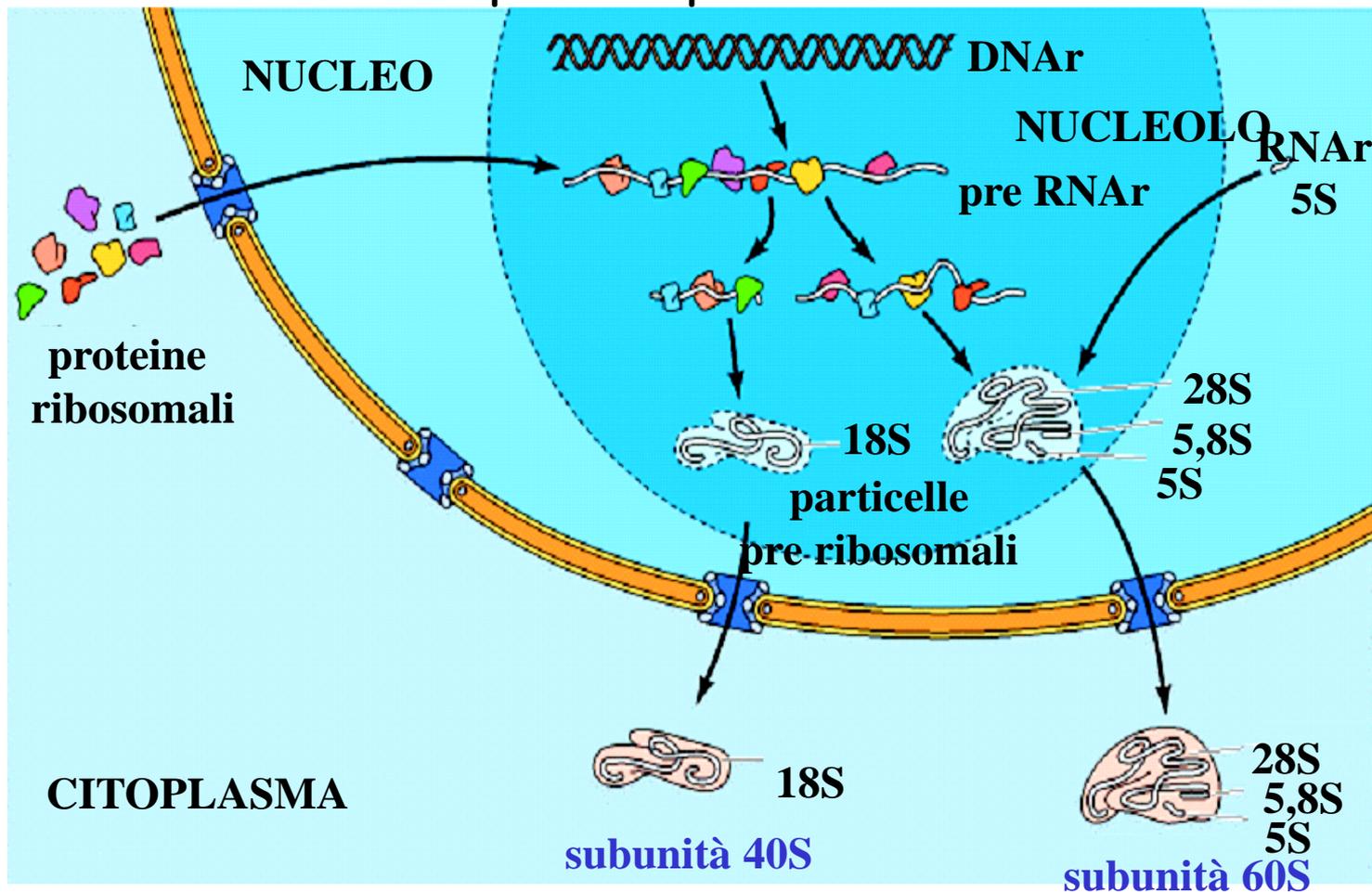
La formazione dei ribosomi coinvolge l'assemblaggio dell'RNA ribosomale precursore sia con **proteine ribosomali** che con **rRNA 5S**:

RNA 5S:

- **trascritti** fuori dal nucleolo dalla RNA pol III
- **assemblato** in particelle preribosomali all'interno del nucleolo

proteine ribosomali:

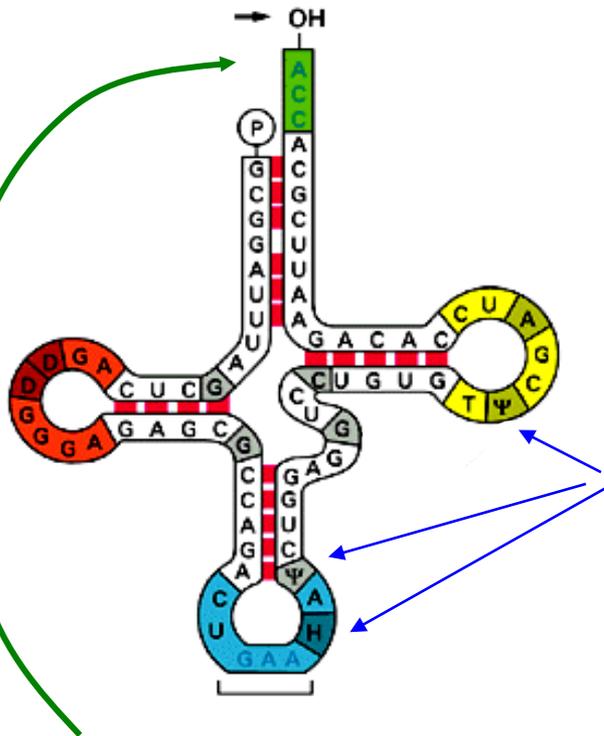
1. **trascritte** fuori dal nucleolo dalla RNA pol II
2. **tradotte** dai ribosomi citoplasmatici
3. **trasportate** dal citoplasma al nucleolo, dove sono assemblate con rRNA per formare particelle preribosomali.



Le fasi finali della maturazione dei ribosomi seguono l'**esportazione** delle particelle preribosomali nel citoplasma per formare le subunità 40S e 60S attive dei ribosomi eucariotici

Maturazione dei tRNA

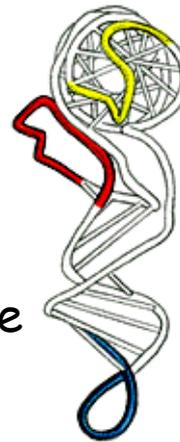
I geni per i tRNA sono organizzati in cluster. In ciascuno di essi ogni gene è separato dai geni vicini da spaziatori intergenici



Il pre-tRNA va incontro ai seguenti eventi maturativi:

1. **Perdita di sequenze** sia al terminale 5' che al terminale 3'
2. **Modificazioni** di numerose **basi** per generare ad esempio l'ipoxantina, lo pseudouracile

3. Al terminale 3' viene **aggiunta la sequenza 5'-CCA-3'**, comune a tutti i tRNA: la reazione è catalizzata dall'enzima tRNA nucleotidil transferasi



FINE

