

# REGOLAZIONE DELL'ESPRESSIONE GENICA NEGLI EUCARIOTI

**Ogni cellula differenziata contiene proteine necessarie per il mantenimento delle funzioni metaboliche generali e proteine specifiche per quel particolare stato differenziato.**

**Poiché le cellule di un organismo mantengono, anche se differenziate, tutta l'informazione genetica della specie e quindi la stessa informazione genetica dello zigote, la sintesi di proteine caratteristiche per ogni tipo cellulare differenziato dipende da attivazione differenziale di geni specifici. Questo comporta un controllo dell'espressione dell'informazione genetica.**

**Per il raggiungimento dello stato differenziato (durante lo sviluppo) è necessario che alcuni geni siano espressi secondo precisi rapporti spazio-temporali.**

Dopo il raggiungimento dello stato differenziato, nei vari tipi di cellule sono in funzione geni: 1) che vengono continuamente trascritti perché codificano per proteine necessarie per il mantenimento di funzioni generali ( es.: il gene per l'actina, i geni per enzimi, quali la glucoso-6-fosfato deidrogenasi, ecc.) e 2) geni espressi solo in un particolare tipo di cellule e in momenti ben precisi, in risposta a determinati stimoli.

I primi sono chiamati “*housekeeping genes*”: “geni domestici” e sono riconosciuti da attivatori ubiquitari, cioè presenti in tutte le cellule. Vengono considerati “geni costitutivi”.

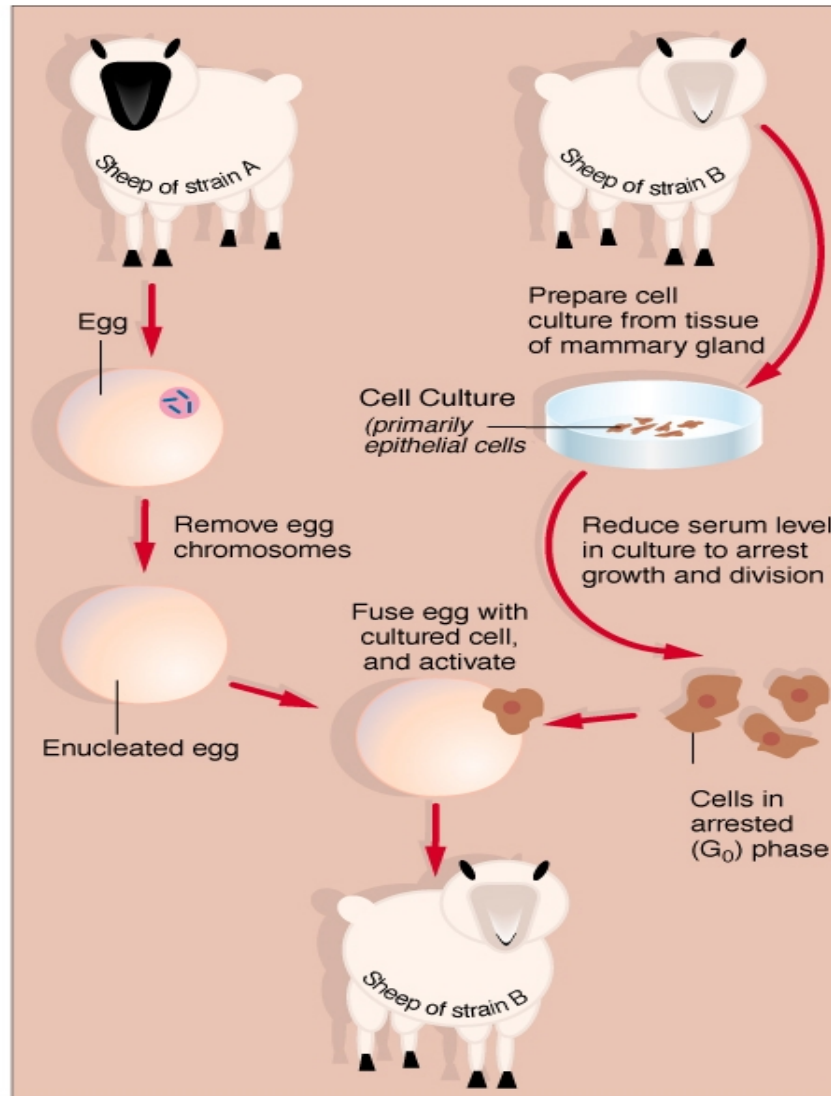
I secondi sono “geni regolati” e nel promotore contengono elementi (sequenze nucleotidiche) riconosciuti solo da attivatori presenti in quel tipo di cellula e in quel determinato momento.

# Il nucleo di cellule differenziate contiene tutta l'informazione genetica dello zigote

Per i dettagli  
si rimanda a

Karp J. :  
Biologia  
cellulare e  
molecolare

EdiSES



# Negli organismi eucarioti

- **La regolazione dell'espressione genica avviene principalmente su tre livelli:**
- **Controllo a livello della trascrizione:** determina quando e quanto spesso un gene deve essere trascritto.
- **Controllo a livello della maturazione:** determina la via attraverso la quale il trascritto primario di RNA diventa un RNA messaggero maturo.
- **Controllo a livello della traduzione:** determina quando, quanto frequentemente e per quanto tempo un mRNA deve essere tradotto.
- **A questi si aggiunge un controllo post-traduzionale:** determina la maturazione funzionale delle proteine.

Il controllo della trascrizione rappresenta un livello cruciale per la regolazione dell'espressione genica perché con esso le cellule eucarioti determinano quali geni devono essere attivati o spenti e di conseguenza quali proteine devono essere sintetizzate in ogni preciso momento della vita cellulare.

# Controllo a livello della trascrizione

- Il controllo trascrizionale è regolato dall'azione di molte proteine: i fattori di trascrizione.
- Questi possono essere distinti in due classi funzionali:
- *fattori di trascrizione generali*, che si legano agli elementi della regione fondamentale e prossimale del promotore in associazione con la RNA polimerasi;
- *fattori di trascrizione specifici*, che si legano con diversi siti regolatori (elementi distali) di numerosi geni e ne stimolano o inibiscono la trascrizione.
- Un singolo gene può essere controllato da molti siti regolatori, capaci di legare differenti proteine di regolazione, in risposta a differenti stimolatori (che agiscono su quel determinato gene).
- Mentre, una singola proteina di legame al DNA può legarsi a numerosi siti nel genoma, controllando l'espressione di diversi geni.

- La regolazione della trascrizione dei geni eucariotici è complessa e influenzata da vari fattori, tra i quali: l'affinità dei fattori di trascrizione per particolari sequenze del DNA e la capacità da parte dei fattori di trascrizione, legati a sequenze vicine, di agire in maniera cooperativa
- Cellule esposte a diversi stimoli rispondono sintetizzando diversi fattori di trascrizione, che si legano a differenti siti del DNA.
- Il grado di trascrizione dipende dalla particolare combinazione con cui i fattori di trascrizione si legano ad elementi di regolazione a monte.

### Modulazione della trascrizione

- Il DNA che contiene **promotori intatti** è in grado di permettere un **livello basale** di trascrizione *in vitro* in presenza di RNA polimerasi seconda
- Questo livello è **modulato** da fattori specifici di trascrizione **legati ad altri siti del DNA** che possono stimolare (attivatori) o inibire (repressori) la trascrizione
- Bisogna fare rilevare che nei sistemi eucariotici **viene regolata l'efficienza della trascrizione**, che può aumentare o diminuire tra due stati estremi "on", "off".

# Individuazione della funzione di sequenze di DNA

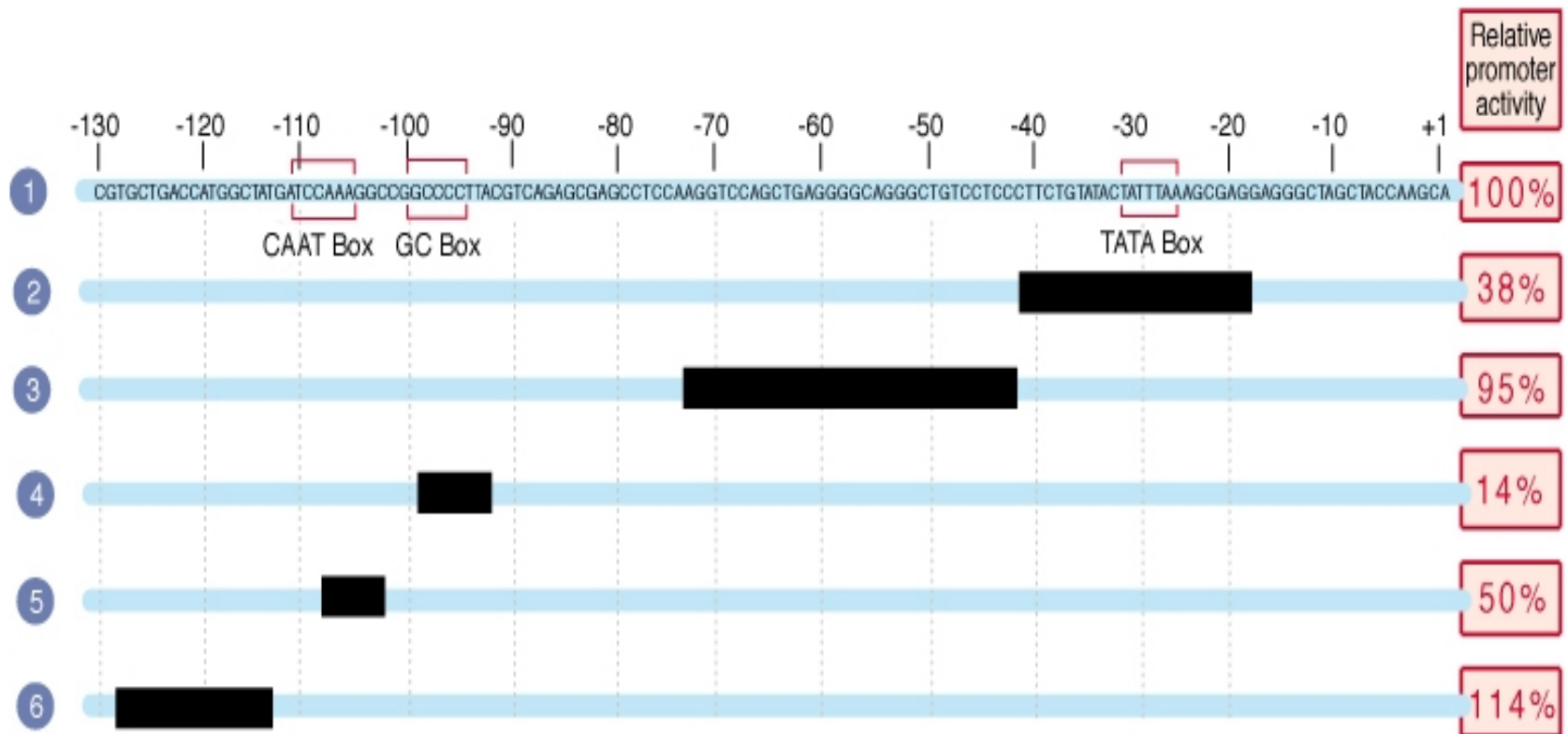
## Mappatura per delezione

La individuazione della funzione di sequenze di DNA coinvolte con la regolazione della trascrizione sono state eseguite mediante diverse tecniche, tra le quali la mappatura per delezione. In breve: vengono preparate molecole di DNA con delezioni in diversi punti del promotore del gene. Le molecole modificate di DNA vengono inserite(trasfezione) nelle cellule che lo inglobano nel loro DNA. Si determinerà poi la capacità e l'efficienza della trascrizione del DNA trasfettato nella cellule. La fig sottostante rappresenta i risultati di questi esperimenti; l'attività della trascrizione è indicata come % rispetto alle sequenze non modificate (100%).Fig. sottostante:



# Identificazione delle sequenze promotore necessarie per la trascrizione

*Per i dettagli si rimanda ai testi*



# DNA footprinting

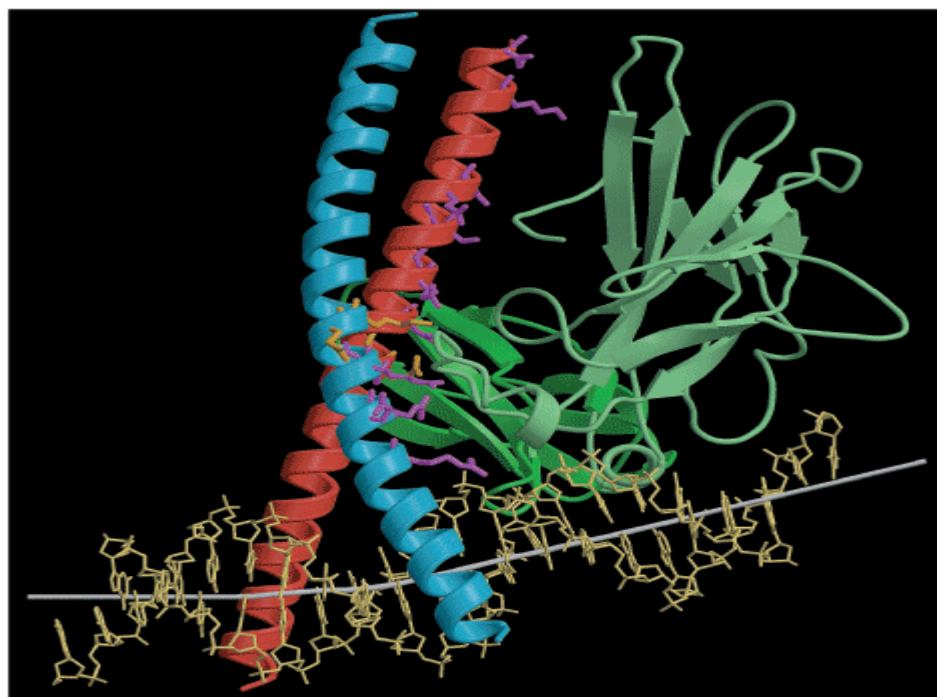
La individuazione della funzione di sequenze di DNA coinvolte con la regolazione della trascrizione e dei fattori di trascrizione (FT) legati possono essere eseguite mediante la tecnica del *footprinting*. Quando un FT si lega ad una sequenza di DNA protegge la sequenza dalla digestione con nucleasi (es., DNAasi I). La digestione con nucleasi degrada il DNA non protetto da FT legati. Dopo che la DNAasi ha digerito la cromatina estratta dalla cellula, la proteina legata al DNA viene rimossa. Possono essere analizzati sia i frammenti di DNA isolato sia le proteine. ( per la descrizione della tecnica si rimanda ai testi).

Le sequenze funzionali del promotore si distinguono in **1) nucleo del promotore** (comprendente il **TATA box**) e **2) elementi prossimali (CAAT box e GC box)**. Tutti questi siti sono riconosciuti dai fattori di trascrizione generali (GTF).

Altre sequenze regolatrici in *cis* del DNA si trovano più a monte e sono riconosciuti dai fattori di trascrizione specifici attivati da determinati stimoli (ormoni, fattori di crescita, ecc). Queste sequenze sono indicate come **sequenze (elementi) distali** del promotore.

# Struttura dei fattori di trascrizione

- I Fattori di Trascrizione contengono in genere **due domini**: un dominio di **legame al DNA**, che lega una specifica sequenza, e un dominio **di attivazione** attraverso il quale interagisce con le altre proteine per attivare la trascrizione. Molti FT contengono anche **un terzo dominio** per **legare una proteina simile o diversa**, per la formazione di dimeri.
- Il legame al DNA è reso possibile da domini strutturali delle proteine capaci di riconoscere sequenze di basi nei solchi della doppia elica.
- Le Figure che seguono presentano i vari motivi strutturali dei FT. Per i dettagli si rimanda ai libri di testo.

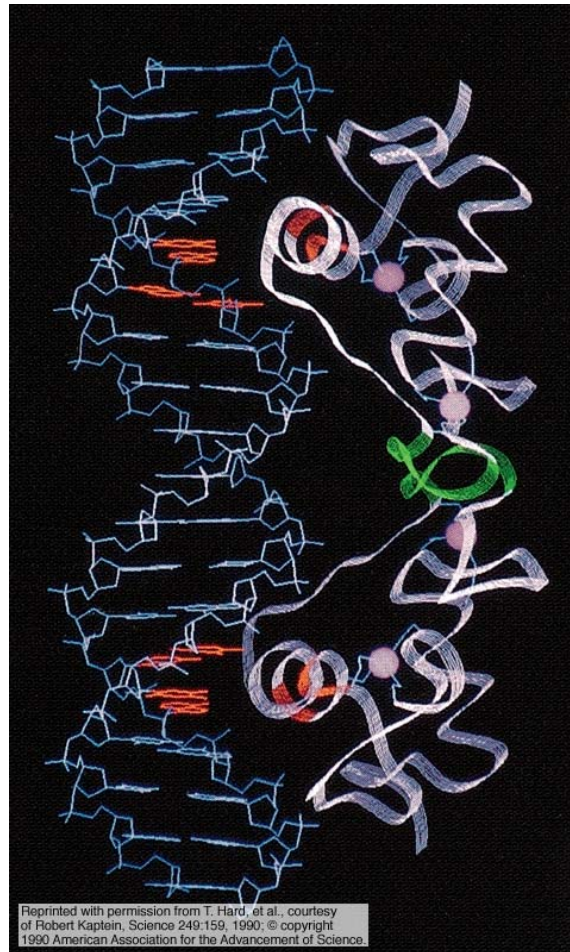


**FIGURA 12.35** Interazioni fra fattori di trascrizione legati a siti differenti nella regione regolatoria di un gene. Questo disegno illustra la struttura terziaria di due diversi fattori di trascrizione, NFAT-1 (in verde) e AP-1 (le cui due subunità sono colorate in rosso e in blu), legati al DNA a monte di un gene per una citochina coinvolta nella risposta immunitaria. L'interazione cooperativa fra queste due proteine altera l'espressione del gene per la citochina. Come si può osservare, la doppia elica del DNA (la cui direzione è indicata dalla linea grigia) risulta incurvata per effetto di tale interazione proteina-proteina. (Da TOM K. KERPPOLA, STRUCTURE 6:550, 1998).

# Interazioni tra fattori di trascrizione e DNA

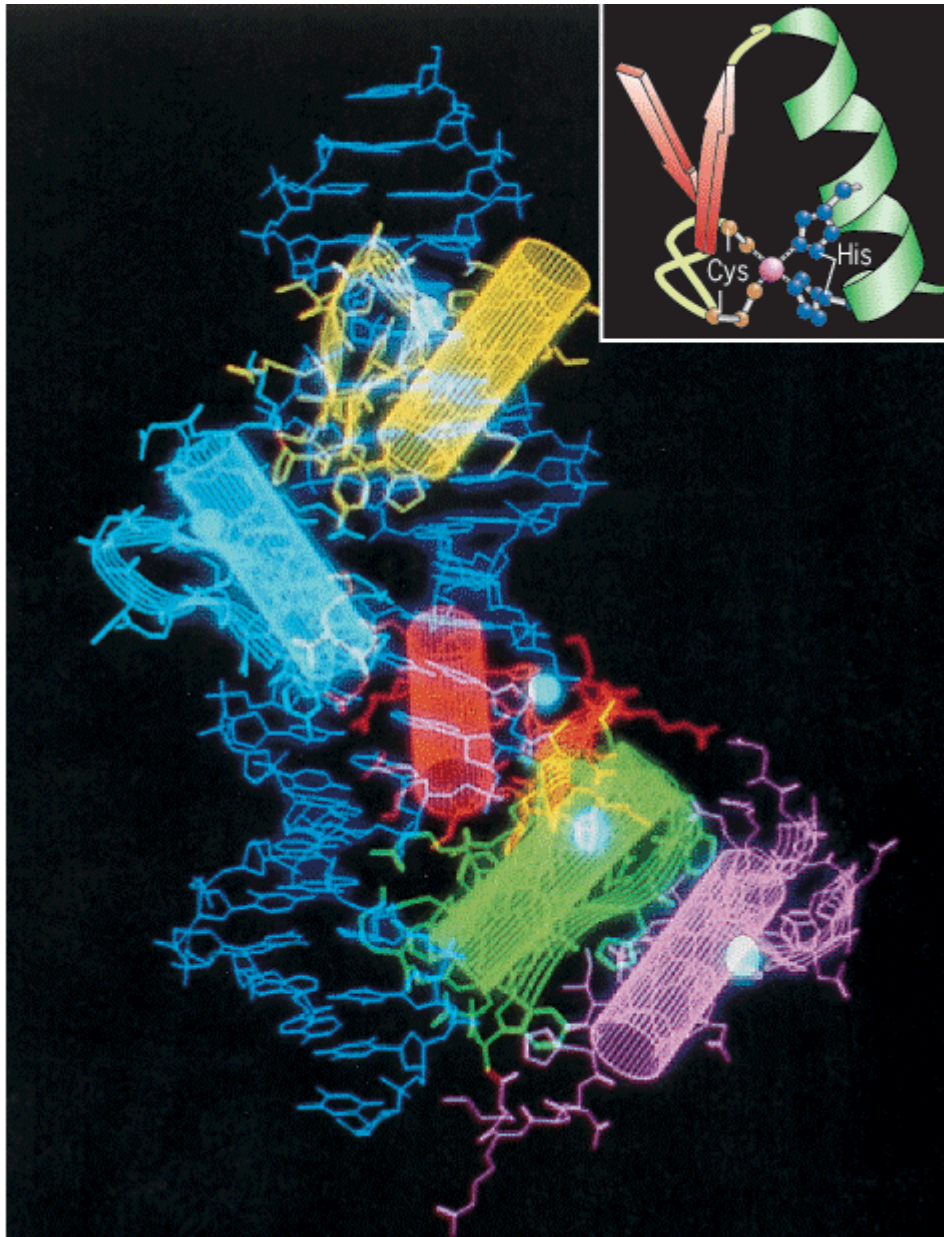
## Motivo “zinc finger”

Interazioni tra il recettore per i glucocorticoidi (GR) dimerizzato e l'elemento di risposta (GRE) sul DNA. In rosso le parti che interagiscono.



5'-AGAACA<sub>n</sub>nnTGTTCT-3'  
3'-TCTTCT<sub>n</sub>nnACAAGA-5'



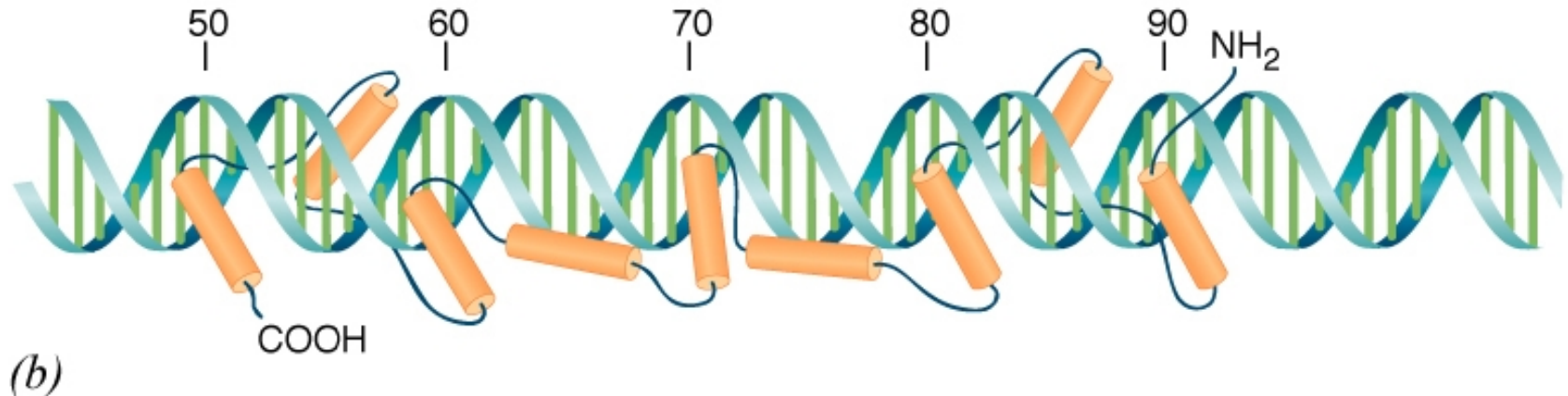


Il motivo Zinc-finger (inserto) è coordinato da un atomo di zinco che lega due residui di cisteina, facente parte di un foglietto beta, e due residui di istidina, facenti parte di un'alfa-elica situata sul lato opposto.

Per i dettagli si rimanda al Karp.

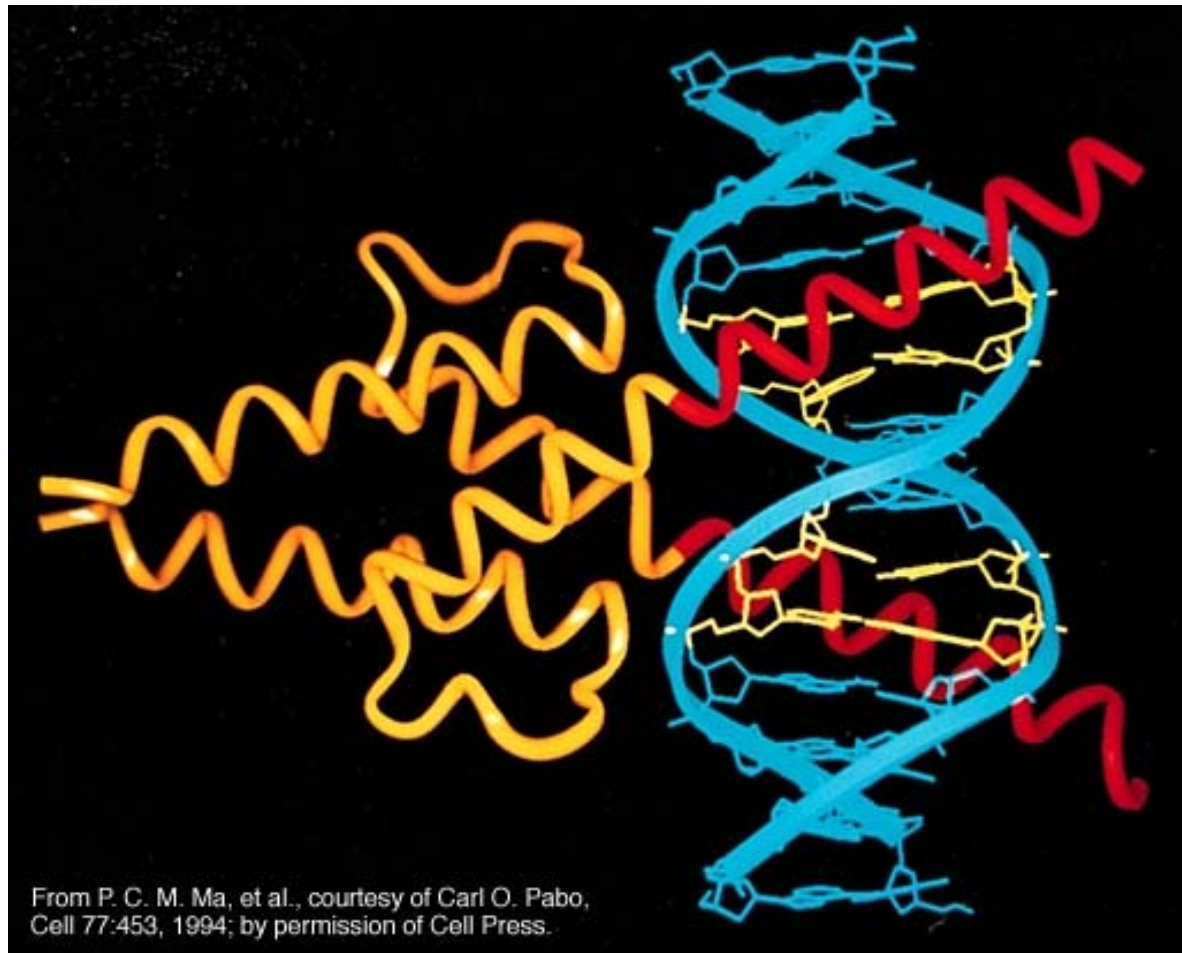
Motivo Zinc-finger: Modello del legame tra il TFIIIA al DNA del gene per l'RNA 5s.

TFIIIA è necessario per la trascrizione del gene da parte della RNA polimerasi III



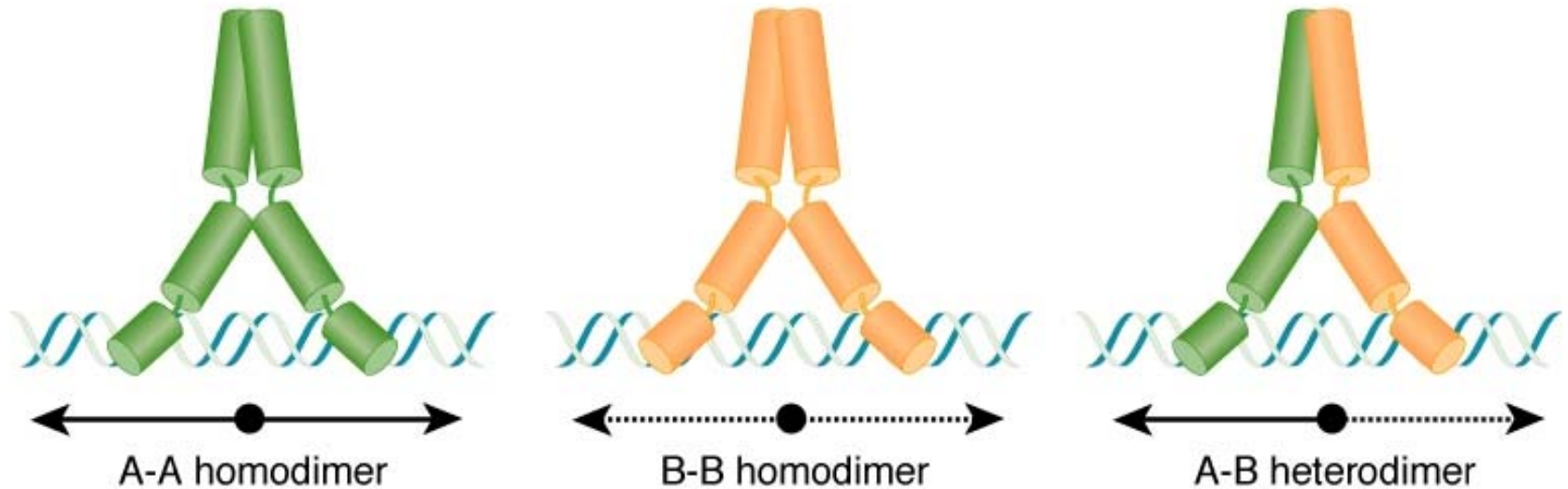
# Motivo “heliz-loop-helix (bHLH)

## Fattore di trascrizione MyoD dimerico che avvia il differenziamento delle cellule muscolari

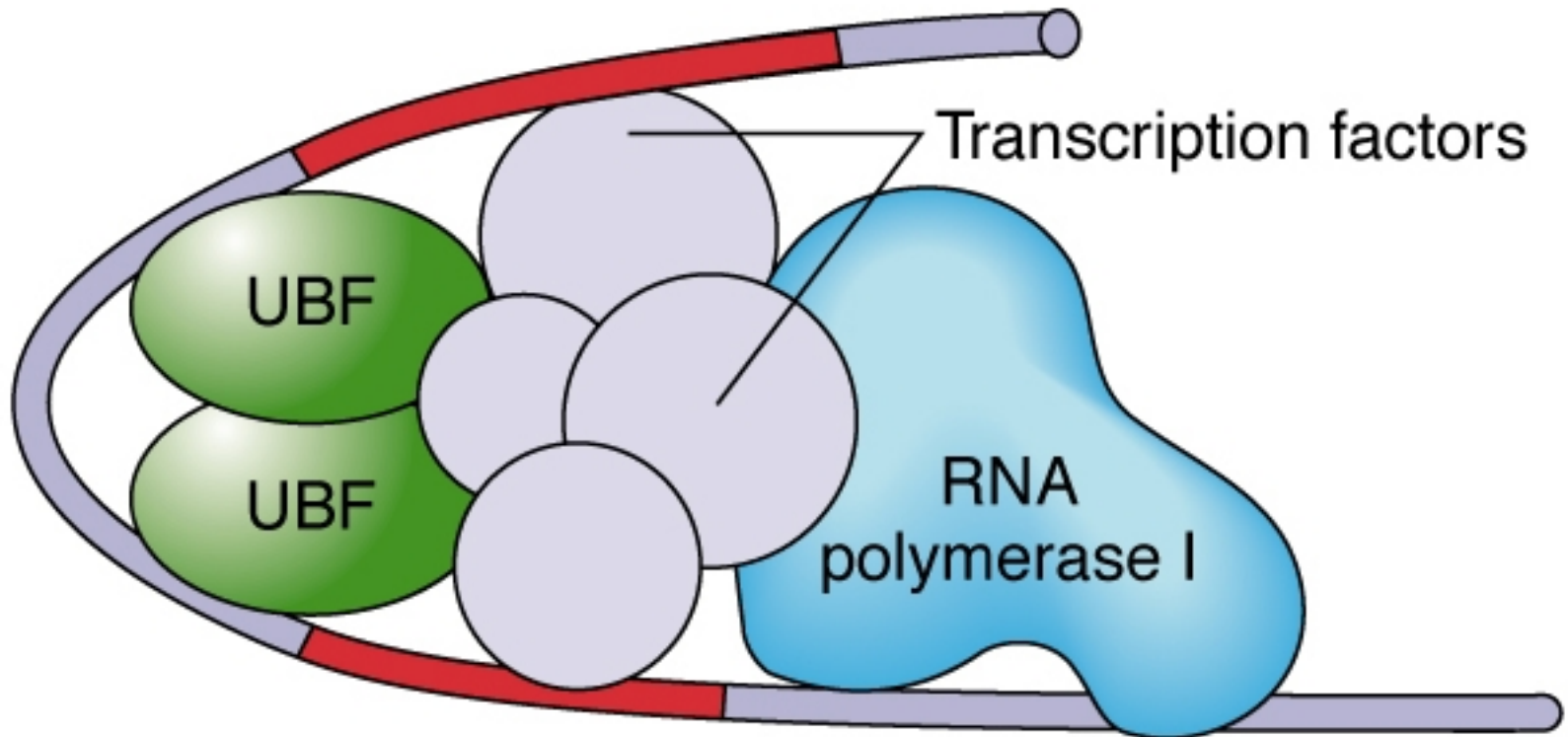




Motivo HLH - La dimerizzazione dei FT fa aumentare la specificità di legame al DNA. L'associazione di due o più subunità in combinazione può formare diversi FT che riconoscono sequenze diverse di DNA



# Le proteine HMG piegano il DNA. Fattore UBF della RNA polimerasi I

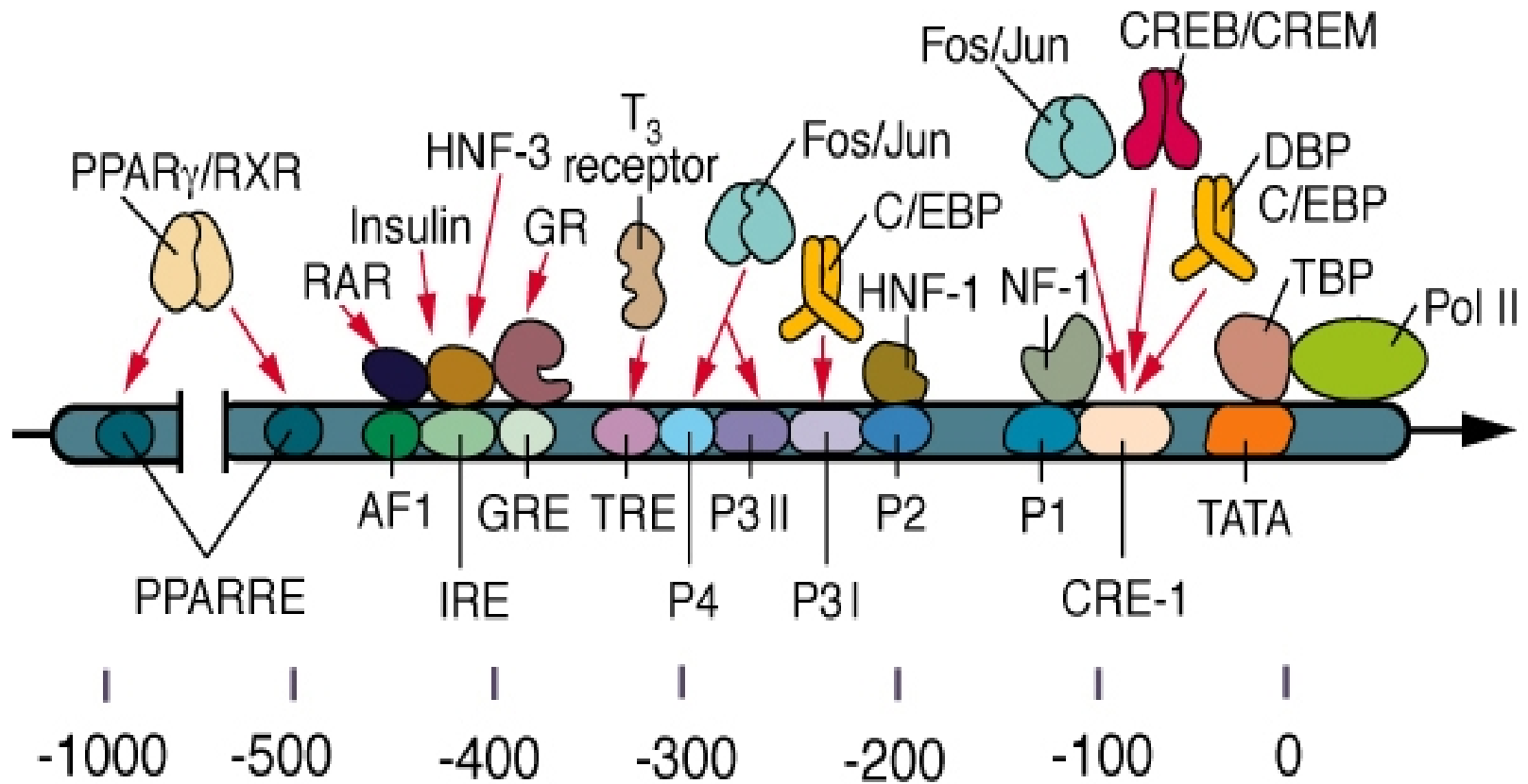


# Descrizione del gene per la fosfoenolpiruvato carbossichinasi (PEPCK).

- La PEPCK è uno degli enzimi chiave della gluconeogenesi, la via metabolica che converte il piruvato in glucosio. L'enzima viene sintetizzato nel fegato quando i livelli di glucosio sono bassi, per es., dopo un prolungato digiuno.
- Le regioni più importanti del promotore sono **TATA box**, che definisce il sito preciso in cui inizia la trascrizione, **CAAT box** e **CG box**, localizzate a monte, riconosciute da fattori come NF1 ed SP1 e che regolano la frequenza(l'efficienza) con cui la RNA polimerasi II trascrive il gene.

# Regolazione della trascrizione del gene *PEPCK*

*Elementi di risposta del promotore a vari fattori di trascrizione*



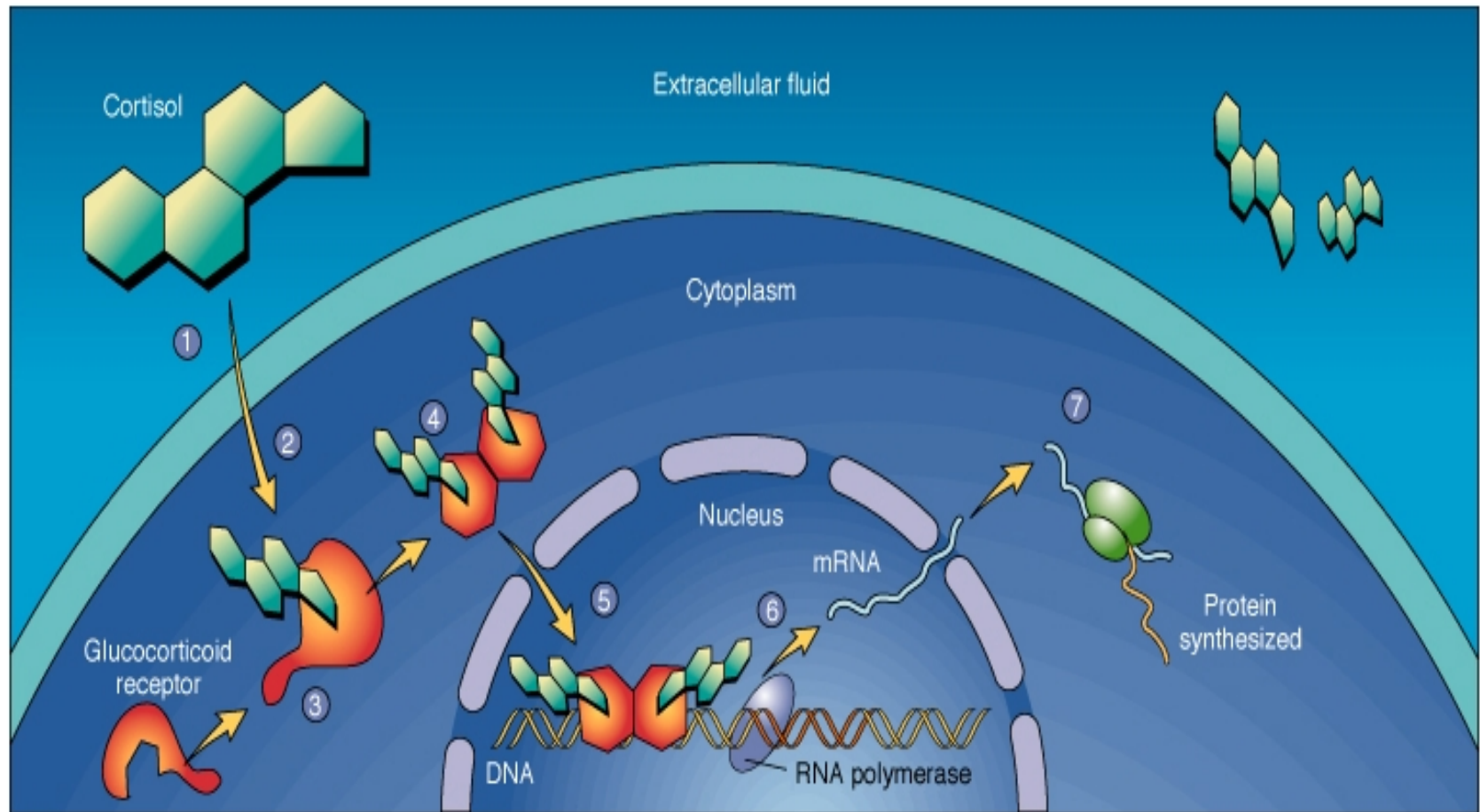
# Esempi di stimolatori del gene PEPCK

- Tra i diversi ormoni che influenzano l'espressione del gene PEPCK vi sono l'insulina, l'ormone tiroideo, il glucagone, i glucocorticoidi. Tutti questi ormoni svolgono la loro azione attraverso fattori di trascrizione specifici che legano il DNA in corrispondenza di sequenze specifiche chiamate elementi di risposta in *cis*.
- Nella figura sovrastante son evidenziati i siti di legame sul DNA: per un recettore per l'ormone tiroideo (IRE), l'elemento di risposta ai glucocorticoidi (GRE), per una proteina che lega l'AMP ciclico (CRE-1) e per vari altri fattori che attivano la trascrizione da parte della RNA polimerasi II. Tutti questi elementi di risposta in *cis* (cioè sulla stessa molecola del DNA) esemplificano gli **elementi distali** del promotore.

# Stimolazione genica da parte di ormoni steroidei, quali i glucocorticoidi.

- Sono ormoni sintetizzati dalla corteccia surrenale in risposta a stati di stress.
- I glucocorticoidi stimolano l'espressione del gene PEPCK interagendo, attraverso un recettore citoplasmatico, con un elemento di risposta ai glucocorticoidi GRE. Descrizione delle tappe dell'attivazione del gene Fig.
- Tutti gli elementi di risposta come GRE ed altre sequenze del DNA a monte del gene sono chiamati **elementi distali** del promotore.

# Tappe dell'attivazione di un gene da parte di un ormone steroideo come il glucocorticoide cortisolo

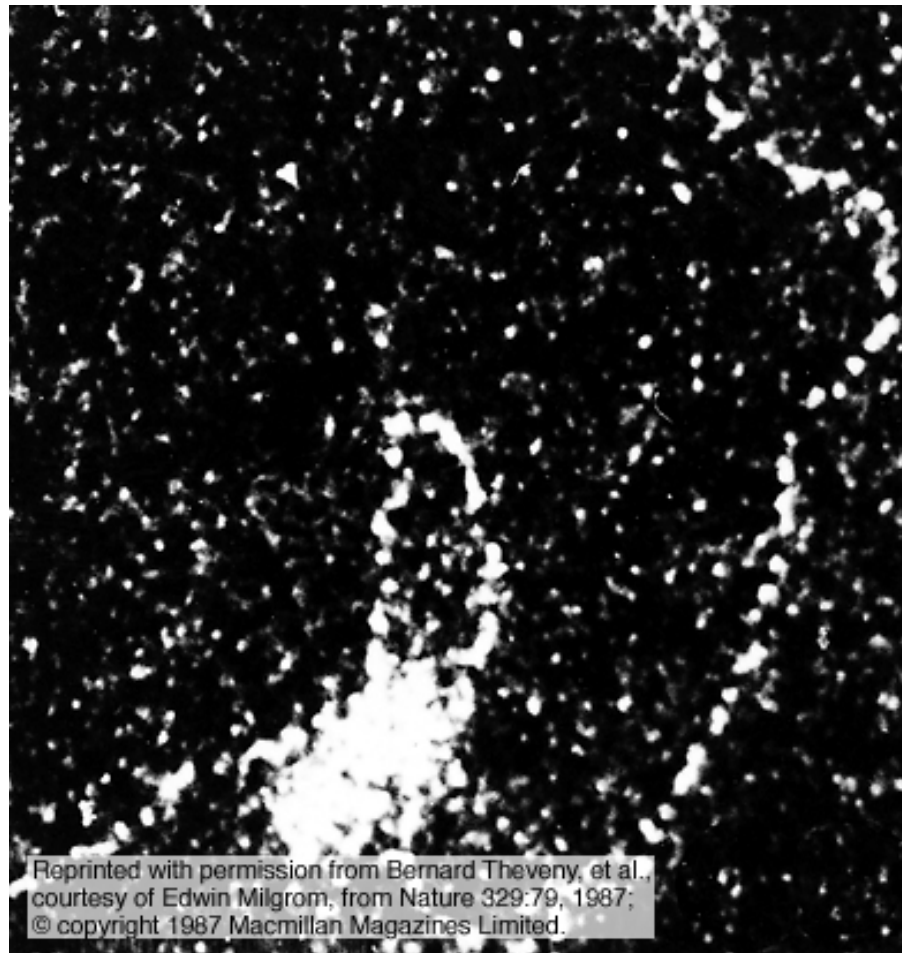


# Enhancer

- L'espressione della maggior parte dei geni può essere controllata anche dagli *enhancer* (intensificatori). Sono sequenze del DNA poste anche a molta distanza dal promotore, possono essere spostate ed anche ruotate di  $180^\circ$  senza che ciò interferisca con la capacità dei fattori di trascrizione ad esse legate di stimolare la trascrizione. Questi fattori proteici hanno la capacità di legare i fattori proteici del promotore piegando ad ansa il filamento di DNA.
- Un gene di mammiferi può contenere diversi enhancer nella zona di DNA che controlla quel gene. Ogni enhancer lega gruppi di fattori di trascrizione diversi che rispondono a stimoli diversi, e che possono agire indipendentemente.
- Si ritiene che, poiché gli enhancer agiscono a distanza sul gene da essi controllato, per evitare interazioni errate con altri geni, ogni sistema promotore/enhancer sia isolato da sequenze di confine specifiche chiamate **insulator** (isolatori), alle quali si legherebbero proteine della matrice nucleare, individuando i domini ad ansa della cromatina (vedi livelli di super-elicitura della fibrilla nucleo.istonica).



Fattori di trascrizione legati in siti distali possono influenzare l'espressione del gene



Reprinted with permission from Bernard Theveny, et al.,  
courtesy of Edwin Milgrom, from Nature 329:79, 1987;  
© copyright 1987 Macmillan Magazines Limited.

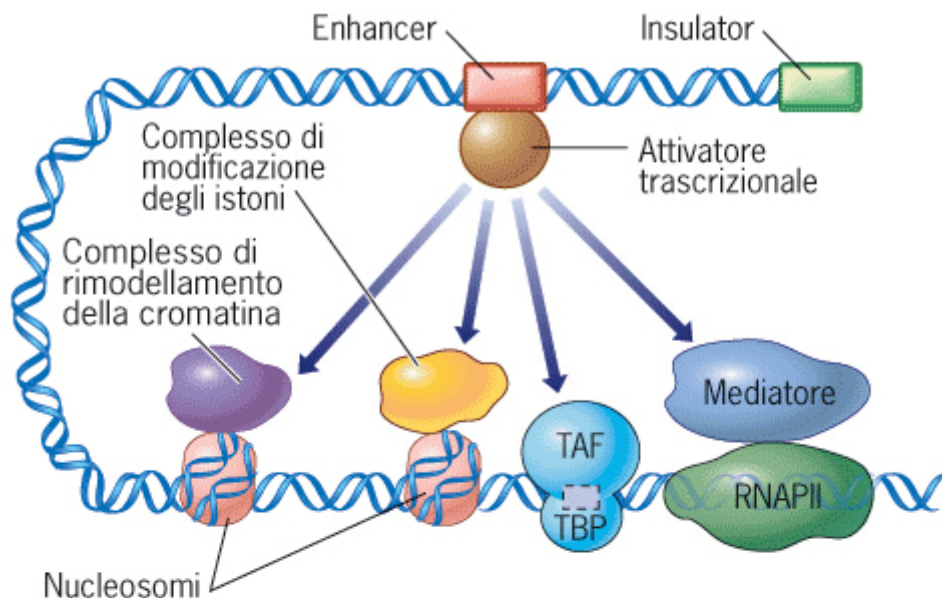
Si ritiene che gli *enhancer* stimolino la trascrizione influenzando eventi che si attuano nel core del promotore.

Lo schema della Fig. 12.45 mostra le possibili interazioni tra un enhancer e 1) la RNA polimerasi, 2) alcuni dei fattori di trascrizione generali, 3) il complesso di modificazione degli istoni, 4) il complesso di rimodellamento della cromatina.

Alcuni coattivatori **agiscono con l'apparato basale** di trascrizione. Alcune interazioni avverrebbero con subunità TAF del fattore generale TFIID. Altre attraverso un coattivatore chiamato “mediatore”.

Altri coattivatori agiscono sulla struttura della cromatina

Per i dettagli  
si rimanda  
al testo



**FIGURA 12.45** Una panoramica dei meccanismi con cui attivatori trascrizionali situati su siti distanti possono influenzare l'espressione genica. Gli attivatori trascrizionali legati a regioni enhancer a monte influenzano l'espressione genica mediante l'interazione con coattivatori. Sono illustrati quattro diversi tipi di coattivatori; due di questi, chiamati "complesso di modificazione degli istoni" e "complesso di rimodellamento della cromatina", agiscono alterando la struttura della cromatina. Gli altri due tipi, chiamati "TAF" e "mediatore", agiscono su componenti dell'apparato basale della trascrizione che si assemblano sul core del promotore. Questi vari tipi di coattivatori sono descritti nei paragrafi seguenti.

## **Coattivatori che alterano la struttura della cromatina**

Nei cromosomi eucariotici il DNA è strettamente associato con gli istoni dei nucleosomi e evidenze sperimentali dimostrano che queste interazioni impediscono l'accesso al DNA dei fattori della trascrizione.

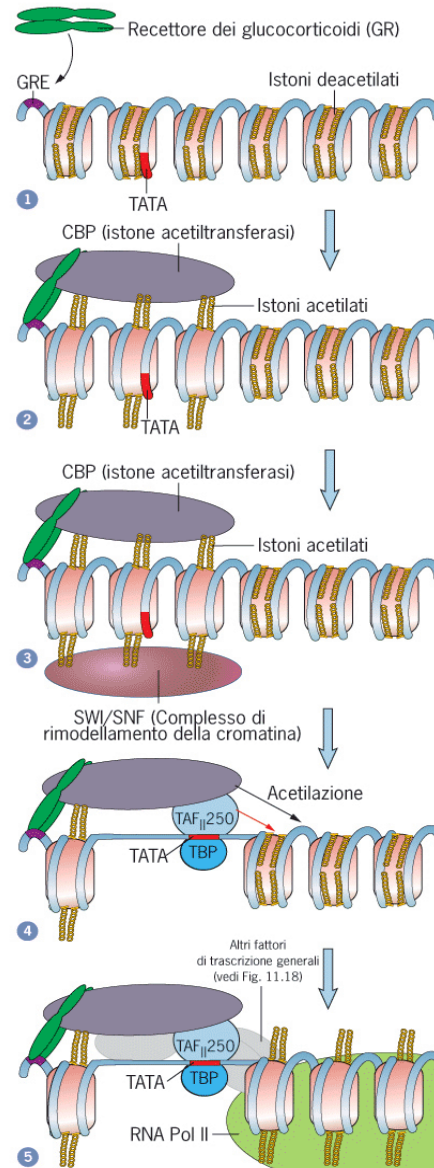
La molecola di ciascun istone del nucleosoma presenta un'estremità n-terminale flessibile che si estende fuori dall'elica del DNA. Modificazioni chimiche di queste code hanno un importante impatto sulla struttura e funzione della cromatina. Per es., la metilazione dell'istone H3 è capace di causare il compattamento della cromatina e il silenziamento della trascrizione. L'aggiunta di gruppi acetile a specifici residui di lisina degli istoni del core produce effetti opposti. L'acetilazione degli istoni agirebbe su due livelli molecolari: 1) impedendo la compattazione della cromatina e favorendo lo stato di attività delle regioni eucromatiche; 2) incrementando l'accessibilità delle proteine alle regioni del DNA stampo e promuovendo l'attivazione della trascrizione.

I gruppi acetile vengono aggiunti a specifici residui di lisina da enzimi chiamati istone acetiltrasferasi (HAT).

# Complesso di modificazione degli istoni – L'Attività Istone-acetil-trasferasica HAT:

- Trasferisce gruppi acetile sui residui di lisina alla estremità N-terminale degli istoni, determinando :
- La neutralizzazione della carica positiva del residuo di lisina, con conseguente riduzione della forza d'interazione col DNA
- La destabilizzazione delle interazioni dell'istone con altre proteine coinvolte nel mantenimento della struttura del nucleosoma.
- E' stato osservato che i coattivatori e alcune subunità dei FT generali, es. TFIID presentano attività HAT

Quando il recettore dei glucocorticoidi (GR) si lega al suo elemento di risposta al DNA (GRE), recluta un coattivatore (es. CBP). Questo inizia la sua attività HAT e successivamente recluta un complesso di rimodellamento della cromatina come, per es. SW1/SNF

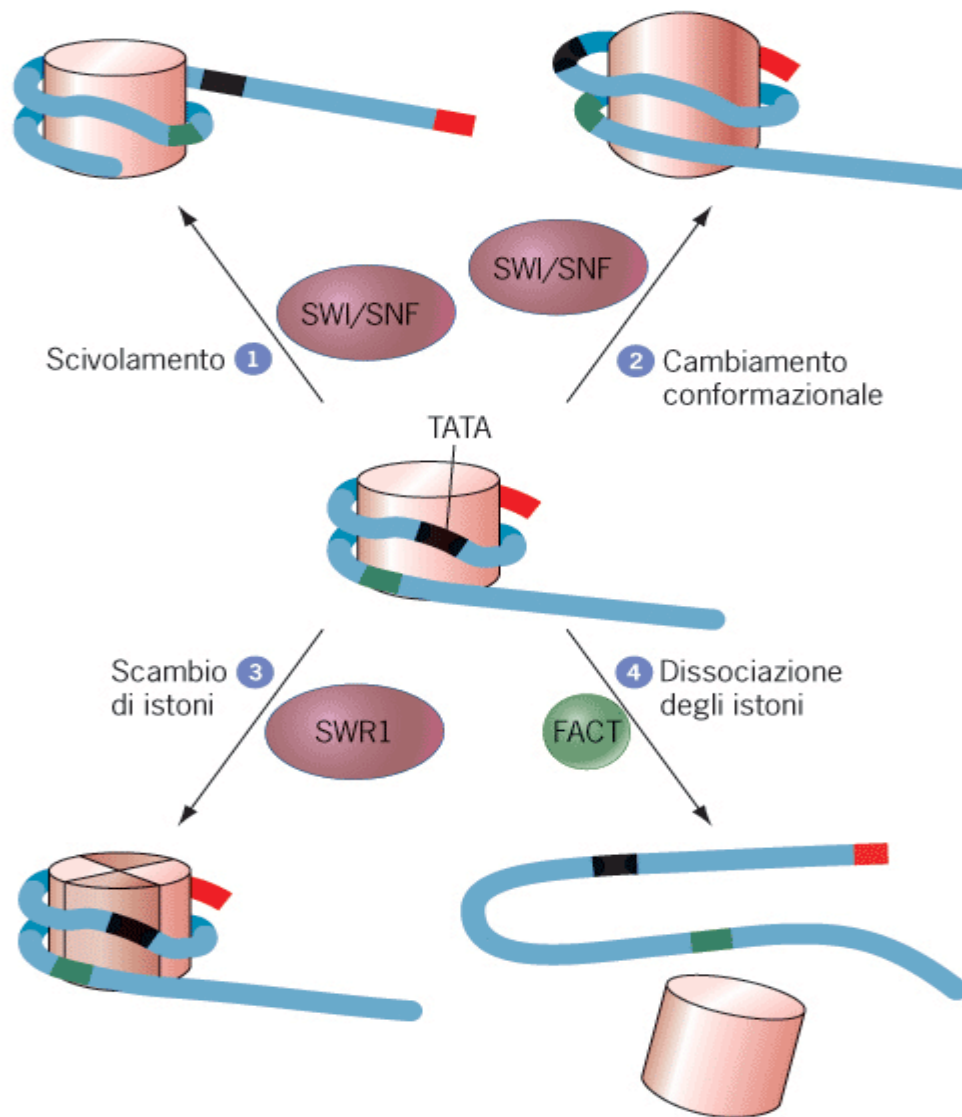


**FIGURA 12.46** Un modello degli eventi che avvengono a livello del promotore in seguito al legame di un attivatore della trascrizione. I fattori di trascrizione, come il recettore dei glucocorticoidi (GR), si legano al DNA e reclutano i coattivatori, che facilitano l'assemblaggio del complesso di pre-inizio della trascrizione. Il passaggio 1 del disegno illustra una regione di un cromosoma che è in uno stato represso a causa dell'associazione del DNA con istoni deacetilati. Nel passaggio 2, il recettore dei glucocorticoidi si è legato all'elemento di risposta ai glucocorticoidi (GRE), reclutando sul DNA il coattivatore CBP. Il CBP contiene una subunità con attività di istone acetiltransferasi (HAT); questi enzimi trasferiscono gruppi acetile da un donatore (acetil CoA) al gruppo amminico di specifici residui di lisina. Di conseguenza, gli istoni delle particelle core dei nucleosomi situati nelle regioni a monte e a valle del TATA box vengono acetilati. Nel passaggio 3, gli istoni acetilati hanno reclutato un complesso di rimodellamento della cromatina, chiamato SWI/SNF. Nell'insieme, i due coattivatori CBP e SWI/SNF hanno modificato la struttura della cromatina in uno stato più aperto ed accessibile. Sebbene non sia menzionato nel testo, anche una delle subunità di TFIID (chiamata TAF<sub>II</sub>250) possiede attività acetiltransferasica, come indicato dalla freccia rossa. Insieme, CBP e TAF<sub>II</sub>250 destabilizzano ulteriori nucleosomi per permettere l'avvio della trascrizione. Nel passaggio 5, i rimanenti nucleosomi del promotore sono stati acetilati, la RNA polimerasi è legata al promotore e la trascrizione sta per iniziare.

# I complessi di rimodellamento della cromatina

Agiscono secondo i seguenti modelli:

- Promuovendo la mobilità dell'ottamero istonico, che scorre sul filamento di DNA lasciando libero il sito di attivazione della trascrizione TATA box (sul promotore)
- Inducendo un'ansa transiente del DNA, e facendo sporgere dall'ottamero un sito che diventa disponibile al legame con le proteine regolatrici
- Facilitando la sostituzione di un istone standard del core dell'ottamero, con un altro che favorisce la trascrizione (H2A/H2B con H2AZ/H2B).
- Dislocando completamente l'ottamero dal DNA.



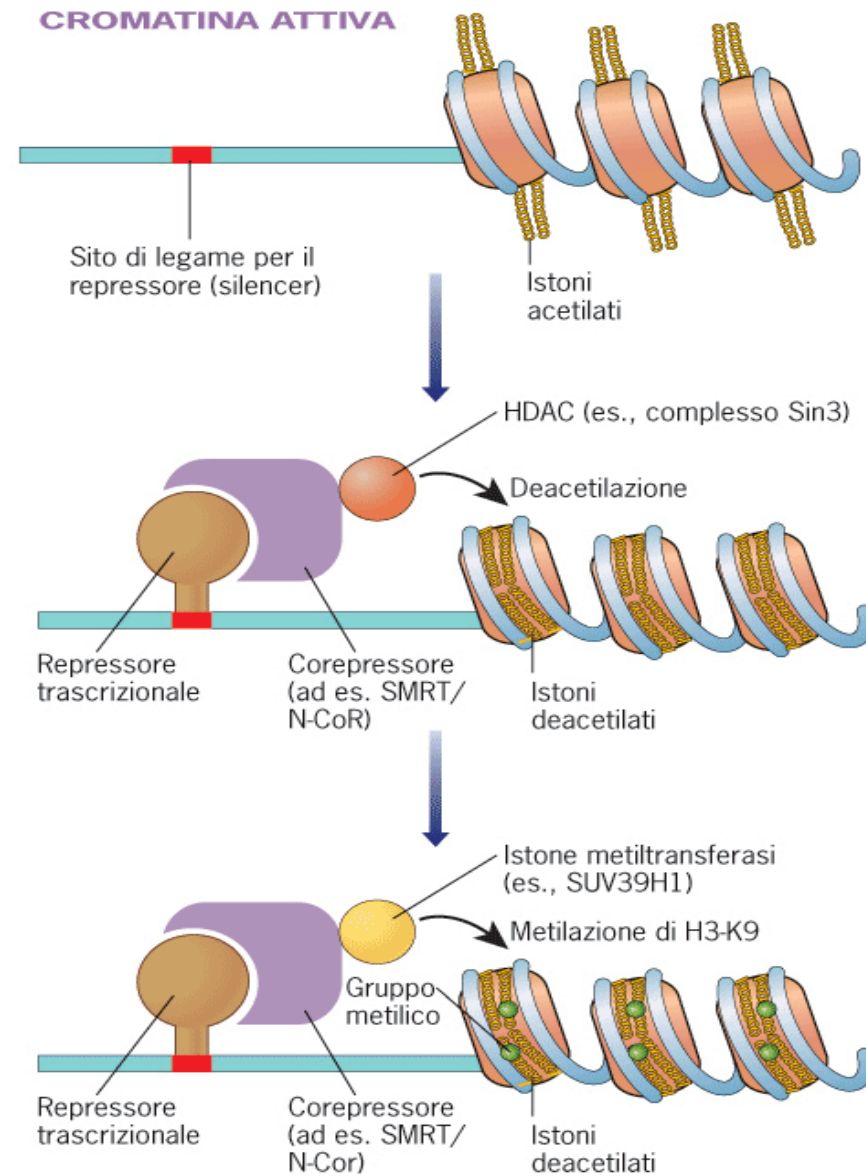
**FIGURA 12.47** Varie azioni alternative dei complessi di rimodellamento della cromatina. Nella via 1, un nucleosoma chiave è stato



# La repressione della trascrizione negli eucarioti

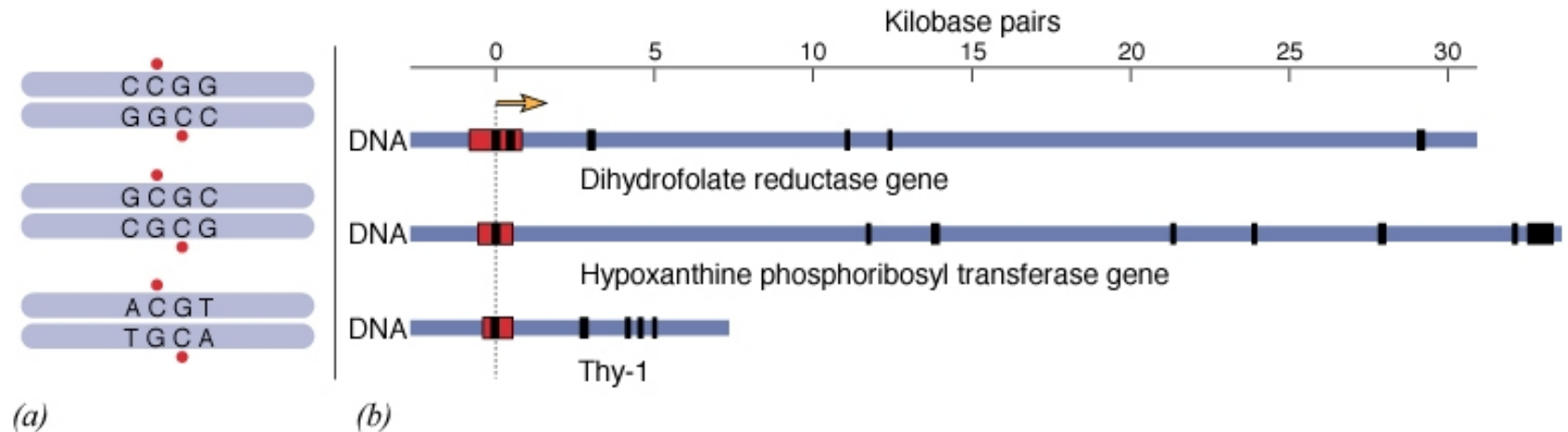
- **Ruolo dei FT negativi** ( es. Il recettore per i glucocorticoidi GR può legare elementi del DNA chiamati GRE negativi e inibire la trascrizione del gene associato.
- **La metilazione del DNA.** Avviene attraverso un gruppo di enzimi chiamato *metiltrasferasi* che trasferiscono gruppi metile al carbonio 5' di una citosina. (Per i dettagli si rimanda al testo).

La  
descrizione  
è riportata  
sul testo



**FIGURA 12.48** Un modello della repressione della trascrizione. Le

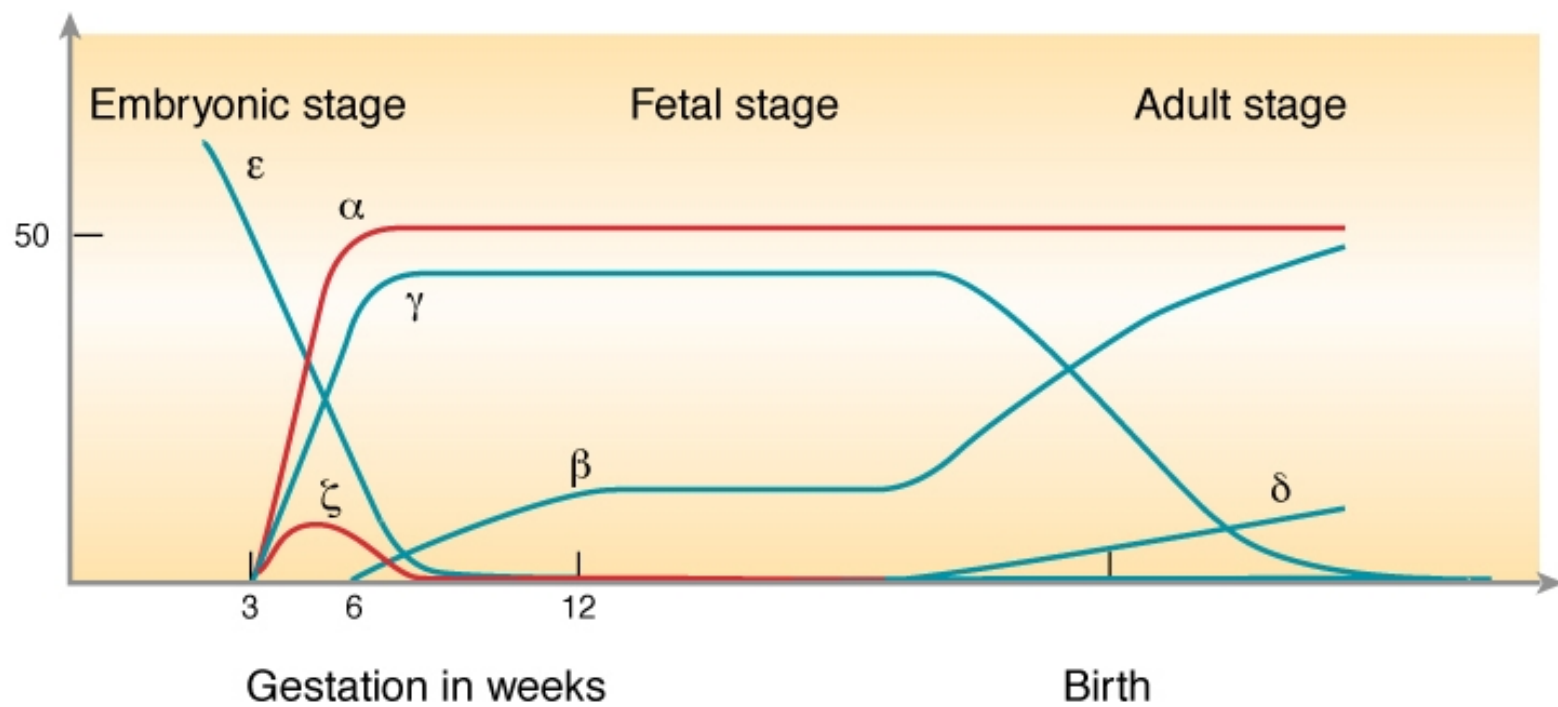
Metilazione del DNA – a) sequenze nucleotidiche metilate.  
B) isole ricche di CG nelle regioni dei promotori di tre geni di mammiferi



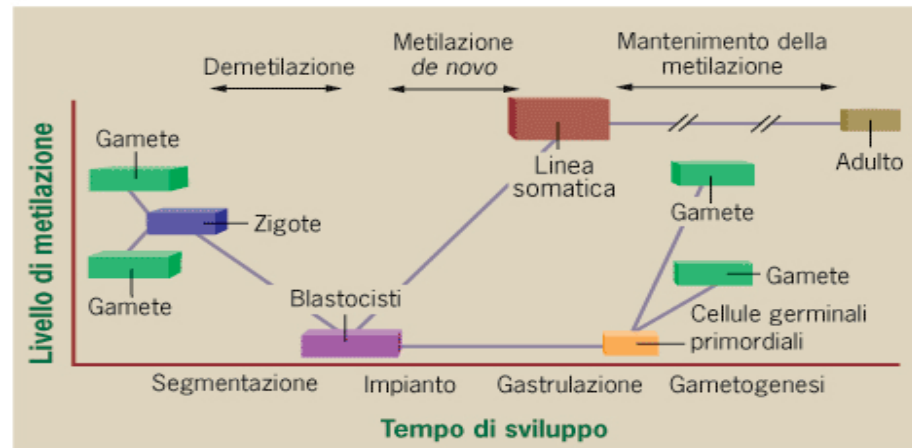
# Metilazione del DNA

- La metilazione del DNA promotore è fortemente correlata con la repressione genica. (Esempio: il livello di metilazione a monte del gene  $\gamma$ -globina fetale nel fegato è ridotto rispetto al livello di metilazione dello stesso gene in altri tessuti fetali, dove non è trascritto).
- Evidenze sperimentali dimostrano che la metilazione serve a mantenere un gene in stato inattivo piuttosto che agire come un meccanismo iniziale di inattivazione
- Sono stati dimostrati cambiamenti dei livelli di metilazione durante lo sviluppo nei mammiferi a partire dalla segmentazione.
- La metilazione non è irreversibile. Prime fasi dello sviluppo: annullamento delle etichette con la demetilazione del DNA; successive onde di metilazione (Fig. )
- La metilazione del DNA è stata messa in relazione con il fenomeno dell'imprinting genomico. Durante lo sviluppo precoce determinati geni sono mantenuti attivi in base al fatto che siano stati trasmessi dallo spermatozoo o dall'oocita. ( es. il gene per il fattore di crescita fetale insulino-simile 2, IGF2, è attivo solo nel cromosoma trasmesso dal padre; il gene che codifica per un canale specifico per il potassio KVLQT1 è attiva nel cromosoma trasmesso dalla madre).
- L'imprinting genomico è un fenomeno epigenetico. Si ritiene che i geni diventino " *imprinted* " come risultato di una metilazione selettiva di uno dei due alleli

Percent of polypeptide chains present



Per i  
particolari si  
rimanda al  
testo

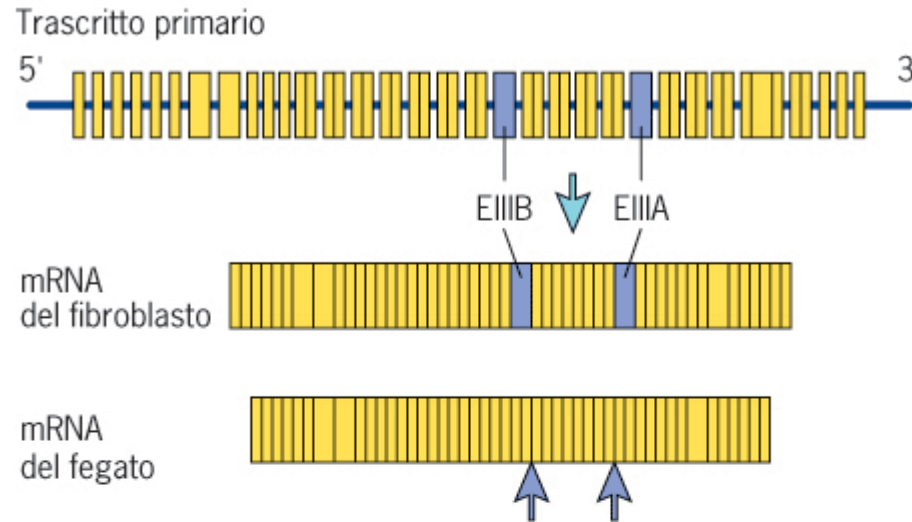


**FIGURA 12.49 Cambiamenti nella metilazione del DNA durante lo sviluppo dei mammiferi.** Il DNA di uno zigote è notevolmente metilato. Durante le prime divisioni, il genoma va incontro ad una demetilazione globale. È interessante notare che il DNA ereditato dal padre viene demetilato più precocemente del DNA ereditato dalla madre. Dopo l'impianto nell'utero, il DNA è sottoposto a nuova metilazione nelle cellule che origineranno i tessuti embrionali, mentre il DNA delle cellule germinali primordiali, che darà origine ai gameti nell'adulto, rimane non metilato. Il DNA delle cellule germinali verrà metilato negli stadi tardivi della formazione dei gameti. Il livello di metilazione generale viene mantenuto elevato nelle cellule somatiche (non germinali) durante tutto lo sviluppo successivo e nell'adulto. (DA R. JAENISCH, TRENDS GENET. 13:325, 1997; COPYRIGHT 1997, PER GENT. CONC. DI ELSEVIER SCIENCE).

# Controllo della maturazione

- Ruolo degli enhancers dello splicing
- Processo dello splicing alternativo

Consultare il testo

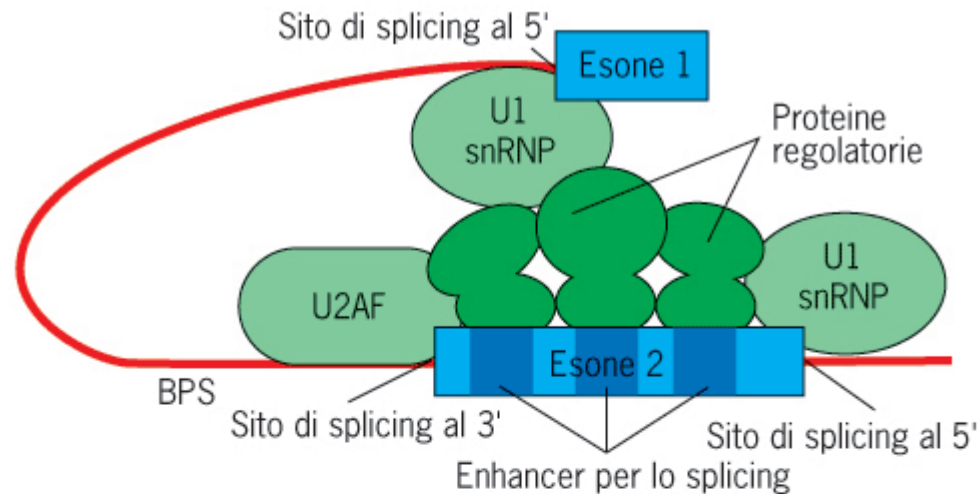


**FIGURA 12.51 Splicing alternativo dell'mRNA per la fibronectina.**

Il gene per la fibronectina consiste di una serie di esoni, indicati nel disegno in alto (gli introni, in nero, non sono in scala). Due di questi esoni codificano per porzioni della proteina chiamate EIIIA e EIIIB, che sono incluse nella proteina prodotta dai fibroblasti ma assenti in quella prodotta dal fegato. Tale differenza è dovuta a splicing alternativo: le porzioni del pre-mRNA codificanti per questi due esoni vengono rimosse dal trascritto nelle cellule del fegato. I siti corrispondenti agli esoni mancanti sono indicati dalle frecce nell'mRNA di fegato.



Consultare il  
testo



**FIGURA 12.52** Modello del ruolo degli enhancer esonici per lo splicing nella regolazione dello splicing alternativo. In questo caso, l'esone 2 contiene diversi enhancer per lo splicing, lunghi circa 6-8 nucleotidi ciascuno, che legano specifiche proteine regolatorie. Queste proteine regolatorie legate reclutano fattori chiave per lo splicing (U2AF) e U1 snRNP ai vicini siti di splicing al 3' e al 5'. [U2AF svolge un ruolo diretto nel reclutare U2 snRNP a livello del sito di ramificazione (BPS) ed è richiesto per la formazione del cappio]. Se U2AF e U1 snRNP non sono reclutate a livello dei siti di splicing ad entrambe le estremità dell'esone 2, tale esone non viene riconosciuto e viene invece rimosso come parte dell'introne. (DA K. J. HERTEL ET AL., CURR. OPIN. CELL BIOL. 9:351, 1997).

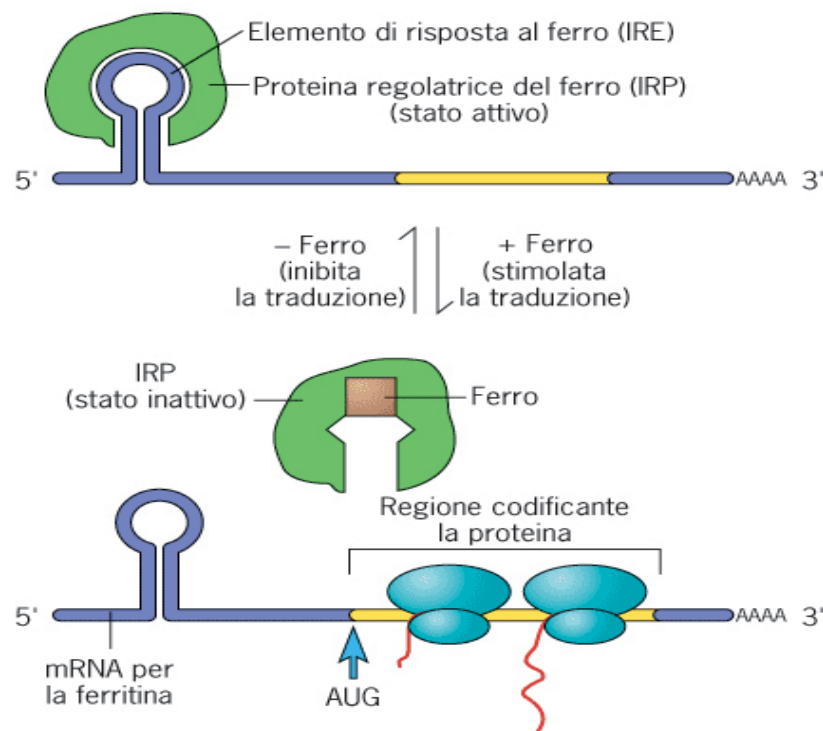
# Controllo a livello della traduzione

Comprende una grande varietà di meccanismi regolatori che agiscono sulla traduzione degli mRNA trasportati nel citoplasma. In questo tipo di controllo sono compresi:

- La localizzazione del mRNA in determinati siti della cellula
  - La capacità di una cellula di controllare se un mRNA deve essere tradotto e quanto frequentemente.
  - La longevità dell'mRNA, che stabilisce per quanto tempo deve essere tradotto (emivita del mRNA)
  - Questi meccanismi di controllo agiscono attraverso l'interazione tra gli mRNA e specifiche proteine presenti nel citoplasma
- (L'approfondimento su questo argomento è facoltativo).

# Controllo della traduzione

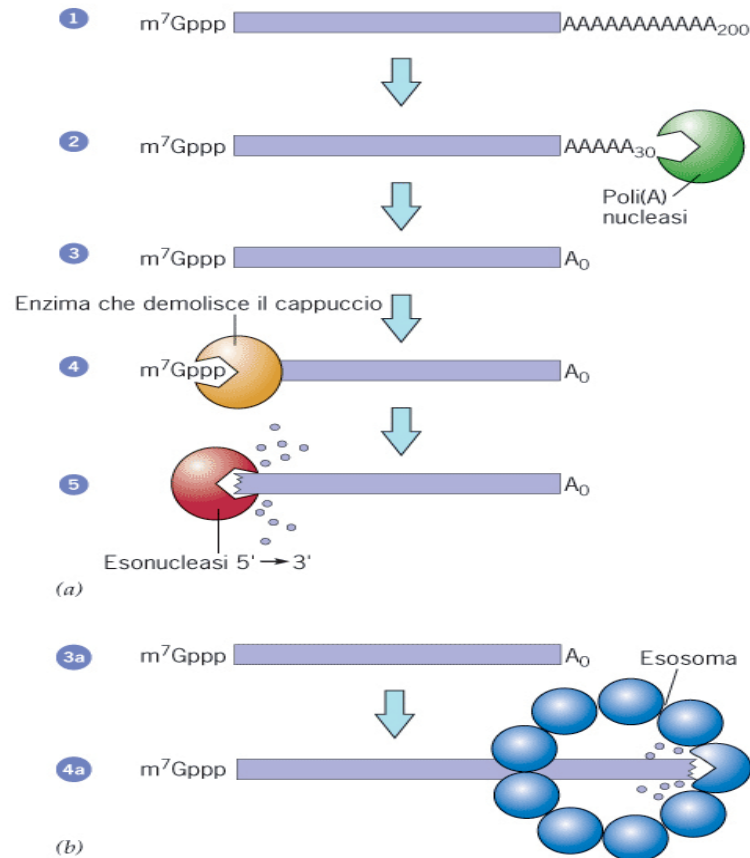
- Gli mRNA accumulati rappresentano stampi per le proteine che verranno sintetizzate durante le prime fasi della segmentazione dell'uovo Fig. 12.54
- Proteine mascherate
- L'attivazione di queste proteine è descritto nella Fig.12.55
- Altri meccanismi di controllo prevedono l'intervento di fattori generali di traduzione, eIF2 (viene fosforilato e inibito), eIF4 viene inibito nel riconoscimento del 5'-cap (durante la mitosi)
- Meccanismi specifici, es. Controllo della traduzione del mRNA della ferritina (Fig. 12.56)



**FIGURA 12.56 Il controllo della traduzione dell'mRNA della ferritina.** Quando la concentrazione di ferro è bassa, una proteina repressore che lega ferro, chiamata IRP (proteina regolatrice del ferro), si lega ad una sequenza specifica nel 5'-UTR dell'mRNA per la ferritina, chiamata IRE (elemento di risposta al ferro), che è ripiegata a formare un'ansa a forcina (hairpin). Quando il ferro è disponibile, esso si lega a IRP modificandone la conformazione e causando la sua dissociazione dall'IRE; in tal modo, l'mRNA può essere tradotto in ferritina. Alcune evidenze suggeriscono che il ferro legato sia presente come un gruppo ferro-zolfo.

# Controllo della stabilità degli mRNA

- Degradazione dell'mRNA
- Coda poli-A Fig. 12.57
- Regioni 3-UTR



**FIGURA 12.57** Degradazione dell'mRNA nelle cellule di mammifero. I passaggi illustrati in figura sono descritti nel testo.

- Controllo post-traduzionale:

Controllo della stabilità delle proteine

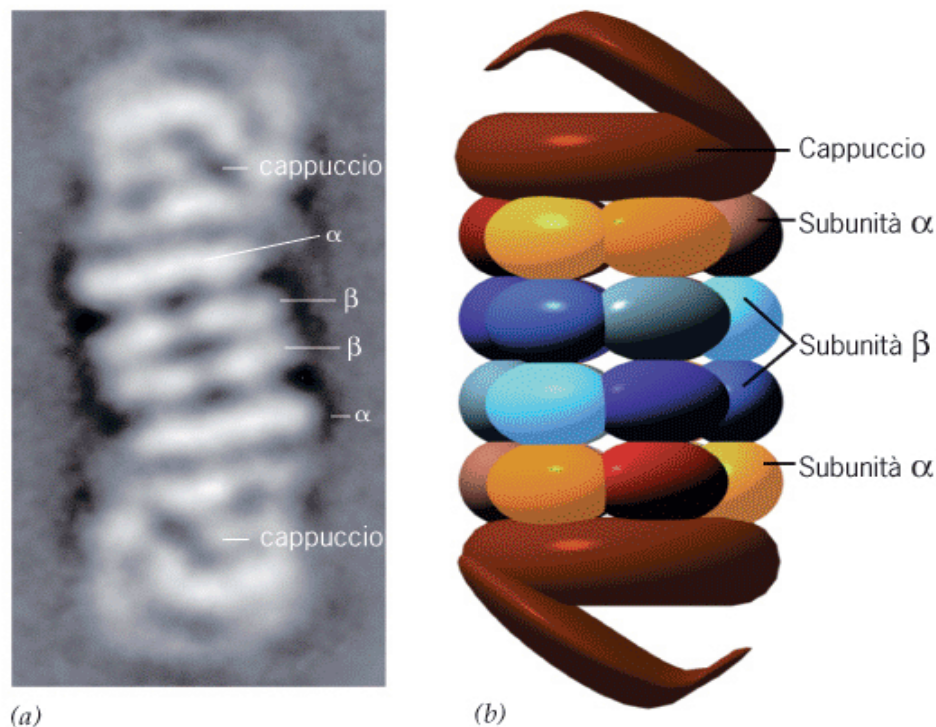
Regolazione dell'emivita delle proteine

Fosforilazione di alcuni residui di aa (es. fattori del ciclo cellulare)

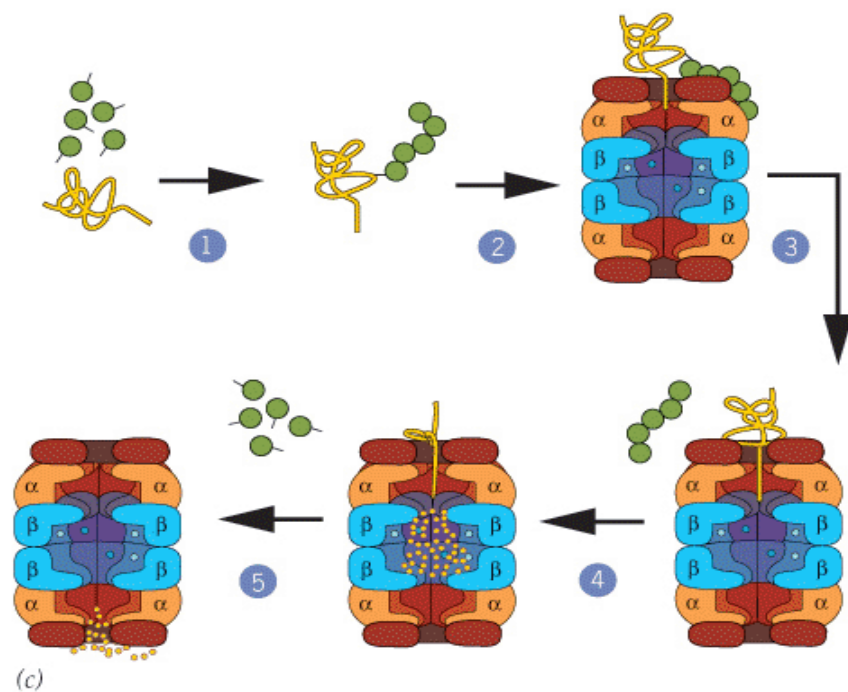
Degradazione da proteasoma (Fig 12.58)

( per quest'ultimo, vedi testo)





**FIGURA 12.58 Struttura e funzione del proteasoma.** (a) Immagine al microscopio elettronico ad alta risoluzione di un proteasoma di *Drosophila*. (b) Modello del proteasoma basato sulla microscopia elettronica ad alta risoluzione e sulla cristallografia ai raggi X. Ciascun proteasoma consiste di due grandi cappucci alle due estremità e di una porzione centrale a forma di imbuto costituita da quattro anelli sovrapposti. Ciascun anello consiste di sette subunità suddivise in due classi: tipo  $\alpha$  e tipo  $\beta$ . I due anelli centrali sono formati da subunità  $\beta$  che circondano una camera centrale; nello schema, le subunità sono indicate con colori diversi, in quanto esse sono polipeptidi simili ma non identici. Tre delle 7 subunità  $\beta$  in ciascun anello possiedono attività proteolitica, le altre quattro sono inattive nelle cellule eucariotiche. (Anche i procarioti possiedono proteasomi, ma essi hanno una struttura più semplice e tutte le subunità  $\beta$  sono attive). I due anelli più periferici sono formati da subunità  $\alpha$  enzimati-



camente inattive; queste formano una stretta apertura (circa 13 Å) attraverso la quale vengono infilati i substrati polipeptidici denaturati, in modo da raggiungere la camera centrale dove sono degradati. (c) I passaggi nella degradazione delle proteine mediante il proteasoma. Nel passaggio 1, la proteina che deve essere degradata viene legata covalentemente ad una serie di molecole di ubiquitina. L'attacco della catena di ubiquitina richiede la partecipazione di tre enzimi distinti (E1, E2 ed E3) con un processo che non viene qui descritto. Nel passaggio 2, la proteina poli-ubiquitinata si lega al cappuccio del proteasoma. La catena di ubiquitina viene quindi rimossa ed il polipeptide denaturato viene infilato nella camera centrale del proteasoma (passaggio 3), dove viene degradato grazie all'attività catalitica delle subunità  $\beta$  (passaggi 4 e 5). (A: DA H. HÖLZL ET AL., PER GENT. CONC. DI WOLFGANG BAUMEISTER, J. CELL BIOL. 150:126, 2000; COPYRIGHT DI ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS).