**Proteine da ricordare implicate nella biologia molecolare del gene.**

Capping:

RNA trifosfatasi

Guanilil-transferasi

Metil-transferasi

CBP20/80 lega CAP, stimola primo evento splicing, interagisce con TREX per esporto dal nucleo

Poliadenilazione:

Cstf=Cleavage stimulation factor

CpsF=Cleavage and polyadenilation specificity Factor

PAP

PABPs

Modificazione tRNA:

RNasiP (taglia al 3')

tRNA-nucleotidil transferasi

Aminoacil-tRNA-sintetasi II (ABACD, 3'OH, omodimeri, due tetrameri), I (CABA, 2'OH, monomeri, alcuni omodimeri) con A=aa, ATP, catalisi/B=lega accettore/C=lega anticodon/D=oligomerizzazione

Sintesi proteica procarioti:

Metionil-tRNA-transformilasi (usa 10-tetraidrofolato)

IF-1 stabilizza inizio, impedisce accesso tasca A

IF-2 GTPasi (arrivo LSU), porta tRNA al P

IF-3 antiassociativo

EF-Tu accomoda tasca A, GTPasi

EF-Ts fattore di scambio

EF-G traslocazione

RF1 (UAA, UAG), 2 (UAA, UGA) = classe I (ruolo aa-tRNA, con accettore H2O)

RF3 classe II, GTPasi

RRF

Sintesi proteica eucarioti:

43S=SSU(40S)+eIF2+eIF3+Met-tRNAi

eIF2B fattore scambio eIF2

eIF4 si attacca al cap e scorre su mRNA, poi su questo si 43S (+PBPs) = 48S

           -G: scaffold, contatta PBP, 43S (su eIF3)

           -E: lega cappuccio, modulata da fosf attivatrice [4E-BPs]

           -A: elicasi ATPasica svolge 5'

           -B: stimola A

           -F: legante il cap

eIF1A permette scansione

eIF5B unione della 60S

eEF1α analoga Tu

eEF1Bγ analoga Ts

EF2 traslocasi

eRF1, eRF3, eRRF

Sintesi allarmoni:

REL-A (p)ppGpp sintasi

NMD:

UPF favoriscono degradazione cap

Selenocisteina:

SelD, SelA modificano Ser in selenocisteina quando Ser è caricata sul tRNA SelC (che va su UGA)

SelB analogo EF-Tu

DNApol di E. coli:

I (polA): riparazione (Klenow, sf), sostituzione innesco

II (polB): riparazione secondario, reinizio a forche bloccate da lesione al DNA

III (polC): replicasi

- α catalitica

- ε esonucleasi

- θ stimola ε

- τ dimerizzazione

- γ caricatore della pinza ATPasi

- β sliding clamp (pinza)

IV, V: riparazione SOS/translesione

Replicazione DNA procarioti:

RNasiH rimuove primer

DnaG primasi

Ssb

DnaA lega ripetizioni 9bp (4) poi 13bp (3) di ori, piegatura e apertura

DnaB elicasi

DnaC caricatori dell'elicasi alla forcella

DAM DeoxyAdenosine Methylase

SeqA lega DNA a membrana, impedisce nuova replicazione

Ter E, D, A legano sequenze terminazione forcella 1

Ter C, B legano sequenze terminazione forcella 2

Tus muro contro elicasi DnaB alla terminazione

Replicazione DNA eucarioti:

DNAα primasi

DNAδ pol leading

DNAε pol lagging

DNAβ pol BER a elevata fedeltà

DNAη pol supera dimeri di timina

DNAζ pol supera lesioni filamento

ORC Origin Recognizing Complex lega ARS lievito, rep quando si stacca

PCNA Proliferating Cells Nuclear Antigen

RFC Replication Factor C carica PCNA

MCM Mini-Chromosome Maintenance elicasi esameriche analoghe DnaB

Cdc6 carica le MCM

RNasiH1 taglia flap primer a RNA

FEN1 Flap Endonuclease 1 taglia ultimo nucleotide del flap

Licensing factors attivazione rep 1! volta/ciclo

Telomeri:

TERT TElomere Reverse Transcriptase

TRF2 stabilizzante t loop

MRE11 complex strutturale in ricombinazione DNA

(Shelterina complesso proteico al telomero)

Fago λ:

Terminasi rompe concatenameri a COS 50kbp

Fagi filamentosi, eg M13:

P8 va in membrana, avvolge a spiga il genomico

P2 nickase

P5 ssb

Degradazione mRNA:

Xrn1 esonucleasi dopo perdita poliA e cap

Mismatch repair in E. coli:

MutS scan distorsione/L attiva/H nickasi/UvrD elicasi/esonucleasi/DNApolII/ligasi

Reversione diretta del danno al DNA:

DNA fotoliasi usa E luce per revertire dimeri pirimidine

Excision repair:

Glicosilasi BER

UvrA2B2 detection (A), bolla a ss (B)/C cleavage/D elicasi/... NER; TFIIH recluta per tranacription-coupled

Ku70-80/DNA PKcs/Artemis/ligasi IV/... NHEJ (eucarioti)

Mappa genica (orario) del fago λ:

sib

att

int

PI

xis

proteine di ricombinazione

cIII

tL1

N

Pl

cI

Prm

Pr

cro

tR1

Pre

cII

proteine replicatorie

Q

Pr'

proteine litiche

COS

geni della testa

geni della coda

Proteine batteriche implicate nell'interazione con λ:

RecA stimola autocleavage LexA (e quindi cI) in SOS

HflA, B proteasi High frequency of lisogenization

IHF Integration Host Factor

FIS per escissione

Trascrizione nei procarioti:

RNApol: core α2[rpoA, impalcatura, cofattori, UP]-β[rpoB,]-β'[rpoC, con β catalitica e canali]-ω[regolazione] + fattore σ [rpoD; 70: 2 Pribnow, svolge/4 su -35/NTD impedisce attacco a DNA senza core]

GreA, B fattori di editing idrolitico

Nus sostituisce σ in allungamento e terminazione

Rho

Trascrizione negli eucarioti:

RNApolI: rRNA 18S, 5,8S, 28 S in unico 45S nucleolo

- UBF1 Upstream Binding Factor su UCE -100 dimerico avvicina promotrici -> lega SL1 Selective Factor fattore di posizionamento sul core -> con sua TBP recluta pol oloenzima

RNApolIII: tRNA, rRNA 5S, snRNAs

3.1) 5S: TFIIIA con zinc finger su boxA +55bp -> TFIIIC su boxC +80 (separati da IE Intermediate Element) -> TFIIIB fattore di posizionamento con TBP che recluta pol e Brf

3.2) tRNA: TFIIIC su boxA +10bp, boxB +40-50bp

3.3) snRNA: TBP su TATAbox, interagisce con fattori di posizionamento per pol: basale + PSE Proximal Sequence Element, OCTbox enhancer >forza

RNApolII: pre-mRNA, ncRNA

- PIC Pre Initiation Complex: TFIID/TFIIA scalza TAFII1 sbloccando TBP di TFIID/TFIIB (determina direzione trascr e allinea fattori)/B recluta TFIIF, che recluta pol

-Rilascio del promotore: TFIIE/TFIIH elicasi ATPasi chiuso->aperto, chinasi su CTD/cicli abortivi/P-TEFb fosforila CTD/pol+E+H in trascr

XP Xeroderma Pigmentoso di TFIIH richiama apparato repair su strand stampo

Regolatore master competenza genetica di B. subtilis: ComK

Interruttore bimodale eccitabile per lo stato di motilità di B. subtilis: Slr

Circuito oscillante di allineamento picco/cavo in batch sequenzialmente maturanti di somiti: Her1/Her7 si autoreprimono in un batch -> non possono bloccare il posizionamento di Delta in membrana -> Delta lega Notch su membrana batch successivo, che attiva Her1/7 in esso, che blocca Delta, che non può segnalare su Notch

Regolazione trascrizionale eucariotica:

Mediator

CTCF su Insulator con zincf

E12 tf ontogenesi, differenziamento, anticorpi con HLH

MyoD tf muscolo con bHLH inibito da HLH

C/EBPs CAAT/Enhancer Binding Proteins con leucine zipper

AP-1 Activator Protein 1 media risposta a citochine, gf, stress, inf virali con leucine zipper

p53 [...] contatta DNA con singoli aa sporgenti

GR Glucocorticoid Receptor

Hsp90 chaperon che trattiene NR (Nuclear Receptors) nel citosol

Segnalatore Wnt -> la β-catenina (AD) non è più degradata -> dimerizza con LEF-1 -> attiva MYC. Se degradata, invece, LEF-1 (DBD) dimerizza con altra proteina e reprime MYC

SEC Super Elongation Complex

Coesina

Condensina

In lievito, AND: SWI5 [in mature] su siti multipli a distanza recluta modificatori -> può legarsi SBF [in transizione G1-S] su prossimali, recluta Mediator => attivazione gene HO (gemmazione)

Mating types S. cerevisiae: a/ap a1, Mcm1; α/ap α1, α2, Mcm1; a-α/dip a1, α2, Mcm1 [a1+α2 spengono hsgs haploid specific genes]

STAT Signal Transducer & Activator of Transcription: citochina -> transautoP -> SH2 si STAT riconosce, P, dimerizza -> in nucleo

MAPK Mitogen Activated Protein Kinase: gf -> transautoP -> SH2 etc -> Ras GTPasi da GDP a GTP -> cascata P -> amplifica, attivatori in nucleo

Cromatina ed epigenetica:

Varianti istoniche:

CenH3 centomeri

CENPA centromeri, attacco al fuso

H2AX fosforilabile su Ser in caso danno DNA da parte di PI3K-like [ATM-K G1->S, ATR-K S->G2], attivate dal Mismatch Repair System via P (attivano anche p53, BRCA1/2)

H2AZ confini eu/etero

Macro H2A corpo di Barr

Modificatori:

HAT-KAT/HDAC

CBP CREB Binding Protein acetila (coattivatore)

HP1 cromodominio metila H3 -> interagisce con DNA metiltransferasi

Cdc2 fosforila H1 per mitosi

Formazione cromatina RC Replication Coupled: PCNA recluta:

CAF-1 Chromatin Assembly Factor dispone tetrameri neosintetizzati

ASF-1 Anti-Silencing Factor riposiziona tetrameri rimossi da forcella

Formazione cromatina RI Replication Independent (dopo che pol ha rimosso ottameri/danno): HIRA al posto di CAF, ingloba tendenzialmente H3.3

Rimodellamento:

CHD Chromodomain Helicase DNA-binding

HMG14, 17 High Mobility Group rimuovono H1 liberando enhanceosoma

MLL Mixed Lineage Leukemia marca geni per event expr via H3K4me -> lega e pausa pol ma non suff per avvio. In leucemia, fusa con SEC -> runaway

Metilazione DNA:

MDB Methyl-CpG Domain Binding lega e recluta condensatori, eg MeCP2, recluta modificatore Sin3 deacetilasi; metilazione H3K9 recluta HP1 Heterochromatin Protein 1, stimola DNMT DNA MethylTransferase

Chaperon istonici (eg CAF-1)

Topoisomeria:

Topoisomerasi tipo II Lk+2 DSB ATP

Topoisomerasi tipo I Lk+1 SSB no ATP

Girasi (procarioti) introduce superavv neg ATP

Repressione via Polycomb:

PRC1, 2 Polycomb Repressive Complexes (2 contiene metiltransferasi istonica: H3K27me3, 1 condensa e nucleosoma prossimo a start)

miRNA pathway:

Drosha Microprocessor Complex

Exportin5

Dicer RNasiIII

RISC (Ago Argonauta)

FMRP Fragile-X Mental Retardation Protein fa parte del RISC

siRNA pathway:

DCR1 Dicer

RDE1 ortologo Ago

RdRP RNA dependent RNA Polymerase

SAGO Secondary Argonaute Complexea

Interagenti con sRNA batterici:

Hfq chaperonina li lega

Cas legano CRISPR

Regolazione traduzionale generalista eucarioti:

mTor chinasi fosforola 4E-BPs -> non legano più eIF4E, che allora può esser legato da G

Splicing:

SR proteins interagiscono con CTD, regolazione

E) U1 (legano U-rich) su cons5', BBP Branch Binding Protein, U2AF su cons3'

A) esce BBP, sost U2

.) esce U2AF, entrano tri-snRNP particle (U4, 5, 6), piegatura. Escono U1[B1], poi U4.

B2) lariat 2'-5'

C) cataliticamente attivo

SL1, SL2 trans-splicing

DEAD-box helicase proteins ATPasi dissociano RNA/RNA

PTB Py Tract Binding-protein

tRNA e risposta alle proteine destrutturate (UPR):

Ire3 sensore interno membrana nucleare

Fattori chiave nel mantenimento della pluripotenza: NANOG, OCT4, FOXP1

Varie:

Dscam Down syndrome cell adhesion molecule

A3G enzima ipermutazione su strand- cDNA HIV

Vif Viral infectivity factor di HIV

Sxl Sex lethal di Drosophila

ADAR Adenosine Deaminase Acting on RNA inosinizza

Citidina deaminasi CAA->UAA

SMN Survival of Motor Neuron

**Numeri e sequenze di biologia molecolare.**

Diametro DNA: 20A

Diametro interno DNA: 10,8A

Passo DNA: 34A

Diametro DNA/RNA A: 23A

Diametro DNA Z: 18A

Atassia di Friedrich: 8-30 copie -> 1000 copie

Codice dei solchi: ADHM (M=metilico della timina)

Consenso BamHI: 3'-CCTAG G-5'

Consenso Sau1: isocaudamero di BamHI, esige solo le quattro centrali

Consenso EcoRI: 3'-CTTAA G-5'

Sistemi di restrizione I: 25bp a valle

Sistemi di restrizione III: 1000bp a valle

Vmigrazione dsDNA lineare proporzionale a log(bp)

Assorbanza DNA: UV 260nm

dG(+nucleotide)=0,5kcal/mol

dG(idrolisi PPi)=-7kcal/mol

Denaturation: 93-95°

Annealing: 55-65° (dipende dai primer)

Extentension: [Taq] 72°

Primer comuni: 18-20bp

CODIS: 13STR (Ger:16)

mRNA: 500-10000nt

tRNA: 74-95nt

rRNA SSU: 1500-1900nt

rRNA LSU: 2900-4700nt

Esone umano tipico: 100-200bp

Introne umano tipico: 30000bp

mRNA abbondanti (tessuto-sp): 10000-15000 copie

mRNA intermedi (houskeeping): 200-500 copie

mRNA rari: 1-15 copie

Emivita mRNA eucariotici: 1-24h

Sequenza di poliadenilazione: 5'-AAUAAA-3'

Velocità standard di trascrizione: 40nt/s

Induzione->prodotto proteico in eucariote: 4h

tRNA: 60Ax60A

Ribosoma batterico 220Ax200A

70S. 2,5MDa

50S=23S+5S+31-34proteine

30 S=16S+21proteine

Ribosoma di mammifero 80S. 4,2MDa

60S=28S+5,85S+5S+49proteine

40S=18S+33proteine

RBS=5'-AGGAG-3' (sul messaggero); AUG a valle ca 10bp

Kozak=5'-ANNAUGG-3'

Velocità sintesi proteica procarioti: 15aa/s

Velocità sintesi proteica eucarioti: 1,5 aa/s

Processività media DNApol: 1000nt

Tasso di errore medio DNApol: 1errore/10000000nt

Metilazione DAM: CTAmeG

Origini replicative mammiferi: ogni 100kbp

Repeat telomerico umano: TTAGGG

Frammenti Okazaki: ordine 1kbp

Velocità sintesi DNA procarioti: 50000bp/min

Velocità sintesi DNA eucarioti: 2000bp/min

Densità genica H. sapiens: 6,25geni/Mbp

Capacità inserzione Lambda: 15-20kbp

Capacità plasmidi: 10-15kbp

Capacità cosmidi: 40kbp

Capacità YAC: 150kbp (ma anche 2000kbp)

Capacità BAC: 300kbp (a 1-2 copie/batterio)

Capacità fagi filamentosi: 1kbp

Capacità fagemidi: 10-15kbp

Sequenziamento genoma umano top down: YAC>150kbp, cosmidi<50kbp, inserti<500bp

Shotgun: 300-400bp

Pribnow box procarioti (-10): TATAAT

Elemento -35 procarioti: TTGACA

Forza promotori procariotici: rRNA 1avvio/s, rari 1avvio/30min

Copertura RNApol procariotica -55bp->+20bp

Basi coperte da RNApol procariotica in allungamento: 35bp

Elementi del core promoter eucariotico:

Inr Initiator -3/+5 Py2 CA Py5

TATA box -31/-26 TATAA contornata di GC

BRE B-Responsive Element -38 lega TFIIB

DPE Downstream Promoter Element +28/+32 sui TATA-less (50%)

Polimerasi eucariotiche: ca 550kDa, 12 subunità

Enhancer eucariotici: CAAT box -80bp, GC box -100bp multiple, UAS Upstream Activating Sequences (lievito, a monte)

Cromatina:

dsDNA 2nm, beads 11nm, fibra 30nm, estesa 300nm, condensata 700nm, cromosoma mitotico 1400nm

Pm singolo istone core 11-15kDa

Pm H1=21kDa, piegatura ca 20°

Ottamero r=3,2nm incluso DNA 5,2  h=6nm

Composizione istone: minArg/Lys=20%

H4K8/16ac su start geni espressi

ICR Imprinting Control Region

DMD Differentially Methylated Domain

Modello solenoidale fibra30nm: superelica pitch 11nm, ca6nucleosomi/turn

Densità di superelica di molecole circolari procariotiche e anche eucariotiche ca -0,06

Riduzione Lk al legame di un istone: -1,2

miRNA 19-25nt

siRNA 21-22nt

piRNA 24-34nt

lncRNA>200nt

TERC TElomerase RNA Component ca540bp

Evitare risposta interferonica mammiferi: no RNA esogeni>26bp/nt (eg shRNA)

Branch point:-40/-18bp da splicing 3'