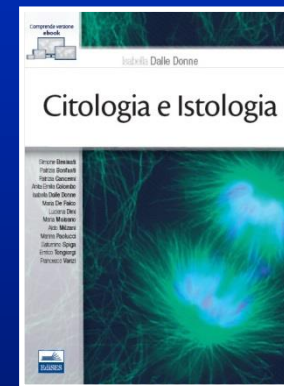
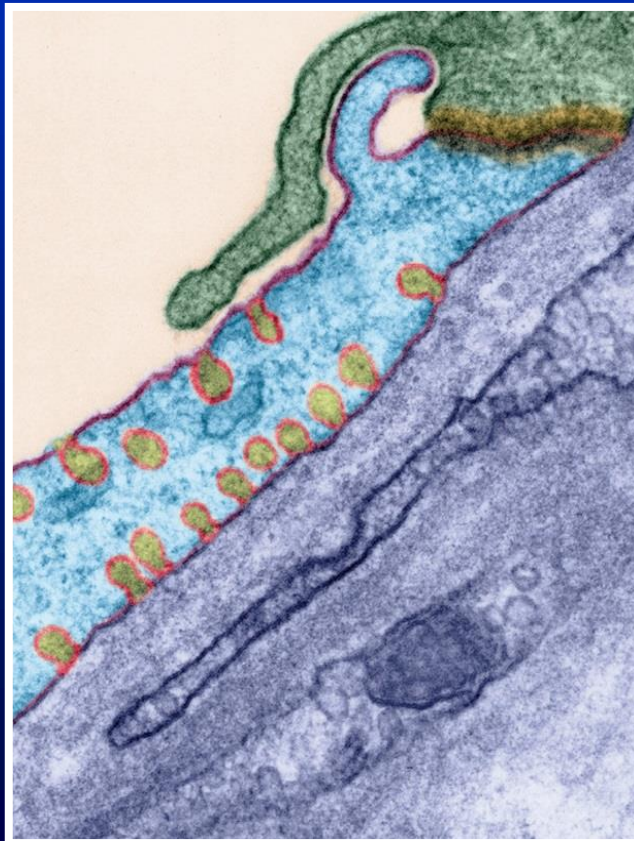




Università degli Studi di Milano
CORSO DI LAUREA IN SCIENZE NATURALI
Corso di Biologia generale e ambientale con elementi di istologia

TRASCRIZIONE

Citologia e Istologia – Capitolo 5

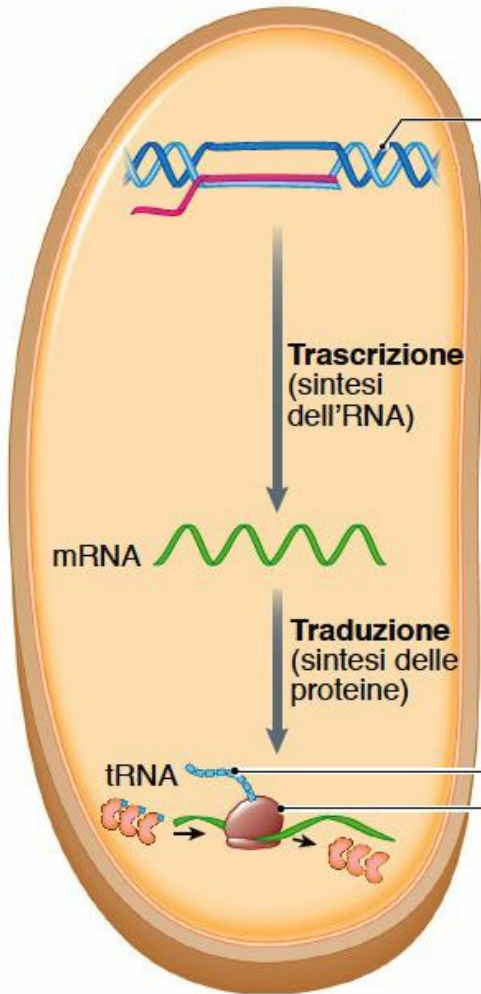


Anno accademico
2022-2023

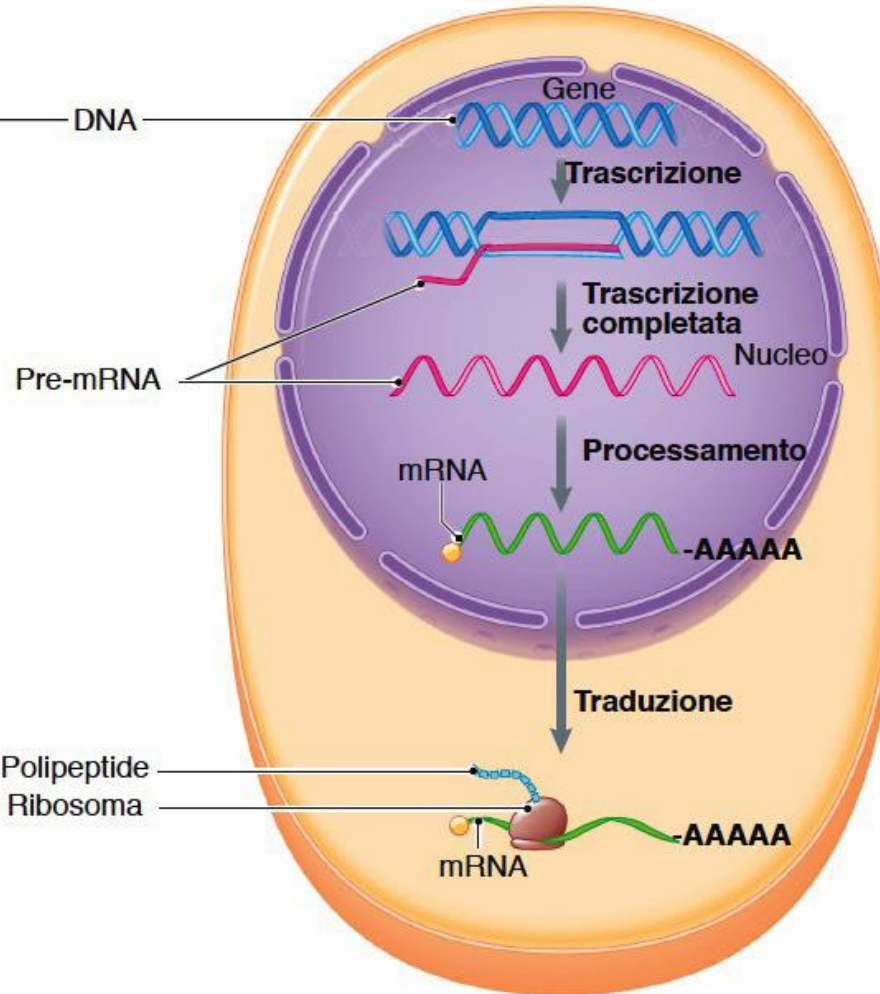
TRASCRIZIONE E TRADUZIONE

DIFFERENZA PROCARIOTI – EUCARIOTI

CELLULA PROCARIOTICA



CELLULA EUCARIOTICA



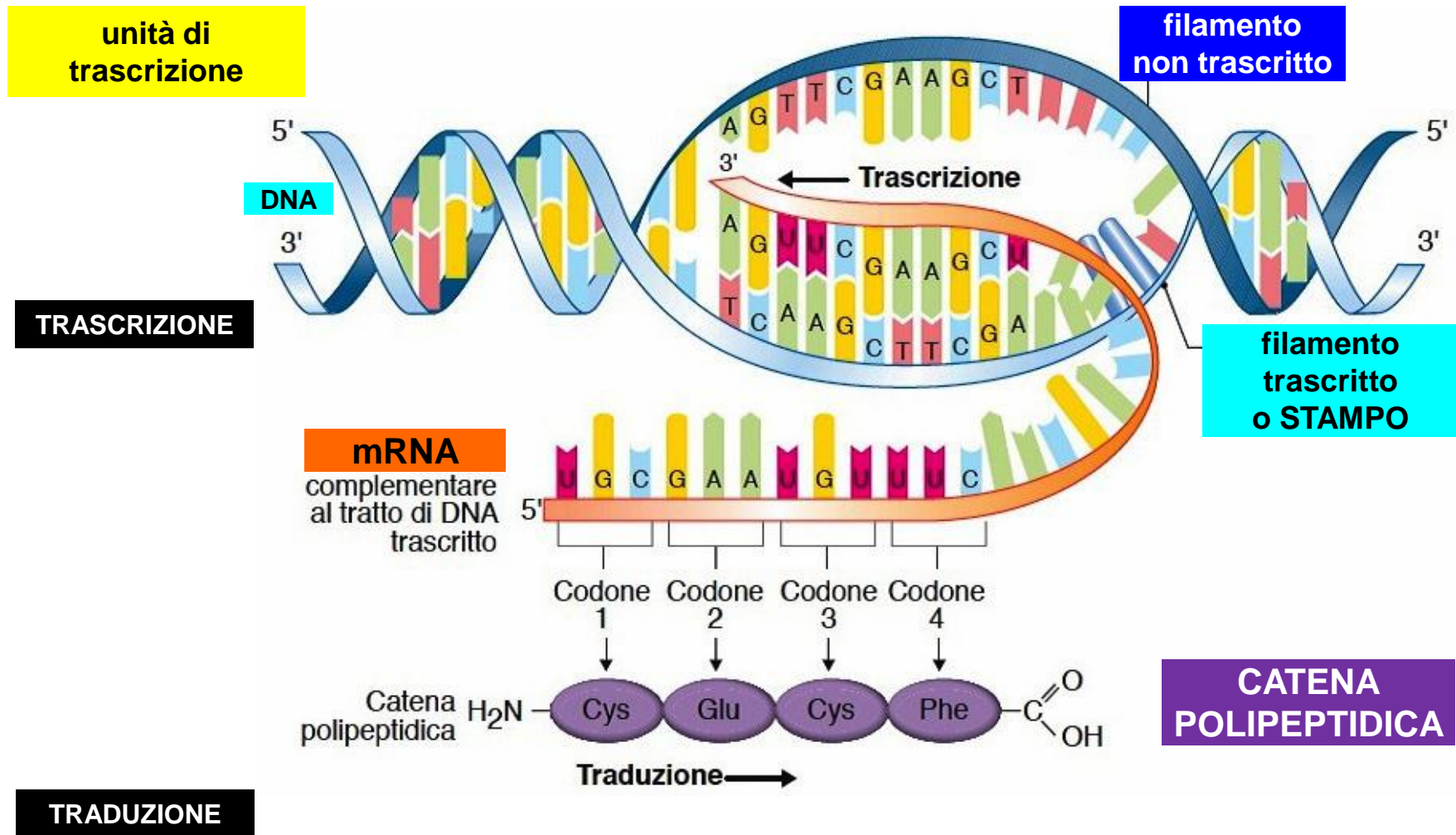
Nella **CELLULA PROCARIOTICA** (batterica) **che non ha nucleo**, l'mRNA prodotto nel citoplasma dalla trascrizione è immediatamente tradotto senza subire ulteriori modificazioni.

Nella **CELLULA EUCARIOTICA**, il nucleo separa nello spazio la trascrizione che avviene nel nucleo (ed è seguita dalla maturazione dell'RNA che avviene nel nucleo) dalla traduzione che avviene nel citoplasma.

TRASCRIZIONE E TRADUZIONE

TRASCRIZIONE DEGLI RNA

UNITÀ DI TRASCRIZIONE



PROCARIOTI ED EUCARIOTI

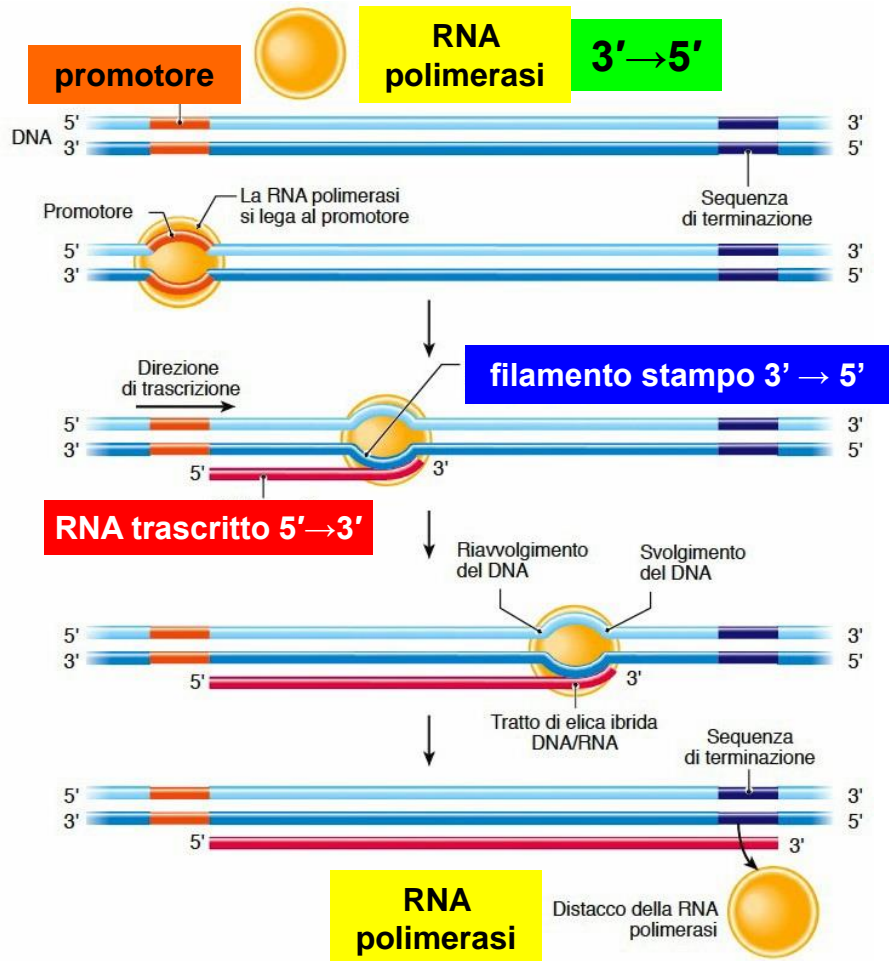
Ricordiamo le differenze...

<i>Caratteristiche</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Eukarya</i>
▶ Involucro nucleare	Assente	Presente
▶ Organelli delimitati da membrane	Assenti	Presenti
▶ Cromosoma circolare	Presente (lineare in alcune specie)	Assente
▶ Numero di cromosomi	Tipicamente uno (possono essere presenti anche plasmidi)	Tipicamente molti
▶ Istoni associati al DNA	Assenti	Presenti
Peptidoglicano nella parete cellulare	Presente	Assente
Struttura dei lipidi di membrana	Acidi grassi a catena lineare legati al glicerolo attraverso legami esterei	Acidi grassi a catena lineare legati al glicerolo attraverso legami esterei
▶ Dimensioni dei ribosomi	70S	80S, a eccezione di quelli di mitocondri e cloroplasti
RNA polimerasi	Una sola	Diverse
Traduzione	Inizia con la formilmetionina	Inizia con la metionina
Crescita sopra i 70°C	Sì	No

TRASCRIZIONE E TRADUZIONE

TRASCRIZIONE

TRASCRIZIONE = RNA complementare al filamento stampo di DNA (3'→5').



Sia nei procarioti sia negli eucarioti la trascrizione avviene ad opera della **RNA polimerasi**, che catalizza la sintesi di RNA a partire dal **filamento stampo del DNA (3'→5')**.

- Nei **PROCARIOTI** è presente **una sola RNA polimerasi**.
- Negli **EUCARIOTI** ci sono **3 RNA polimerasi nucleari**:

1. **RNA polimerasi I** localizzata nel nucleolo, catalizza la sintesi di vari tipi di molecole di rRNA
2. **RNA polimerasi II** catalizza la sintesi degli mRNA che codificano le proteine e dei miRNA
3. **RNA polimerasi III** catalizza la sintesi dei tRNA e di una delle molecole di rRNA

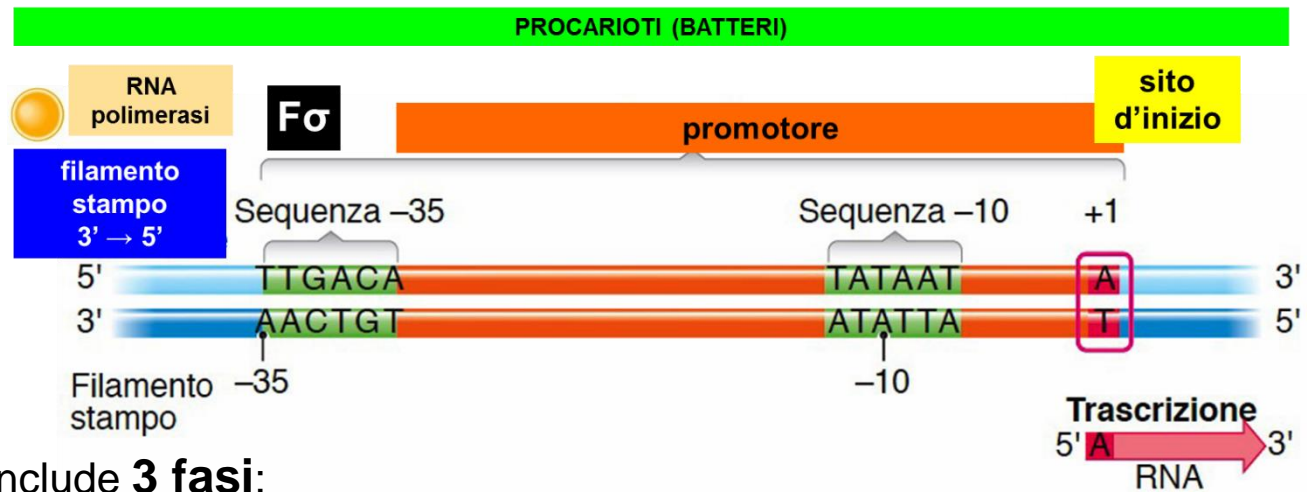
Nelle cellule eucariotiche è anche presente una **RNA polimerasi mitocondriale**.

Come i due filamenti del DNA, anche il filamento del DNA trascritto e il filamento dell'RNA complementare sono **ANTIPARALLELI**.

TRASCRIZIONE nei PROCARIOTI

RNA polimerasi
(apoenzima)
+ Fattore σ

= **OLOENZIMA**



La sintesi dell'RNA (trascrizione) include **3 fasi**:

1. **INIZIO DELLA TRASCRIZIONE**
2. **ALLUNGAMENTO**
3. **TERMINAZIONE**

Sia nei procarioti sia negli eucarioti l'RNA polimerasi inizialmente si lega al **PROMOTORE** (sequenza che non è trascritta). A valle del promotore è presente il **SITO DI INIZIO** dove inizia effettivamente la trascrizione.

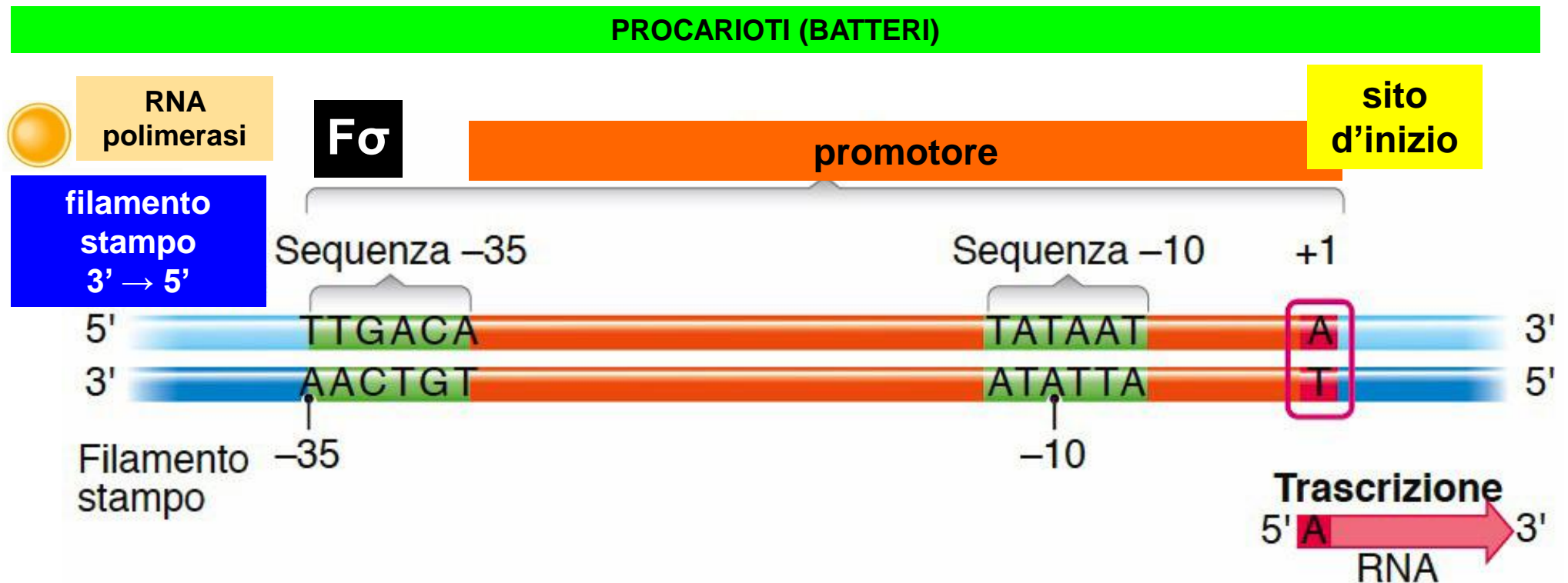
L'inizio della trascrizione differisce in procarioti ed eucarioti.

Nei **procarioti** l'RNA polimerasi riconosce in maniera specifica il promotore, legandosi ad esso, grazie a una subunità chiamata **FATTORE SIGMA (σ)**. Esistono più fattori σ a seconda delle condizioni.

Quando la RNA polimerasi ha riconosciuto il promotore, srotola la doppia elica e inizia la trascrizione del filamento stampo.

TRASCRIZIONE nei PROCARIOTI

IL FATTORE SIGMA e L'INIZIO



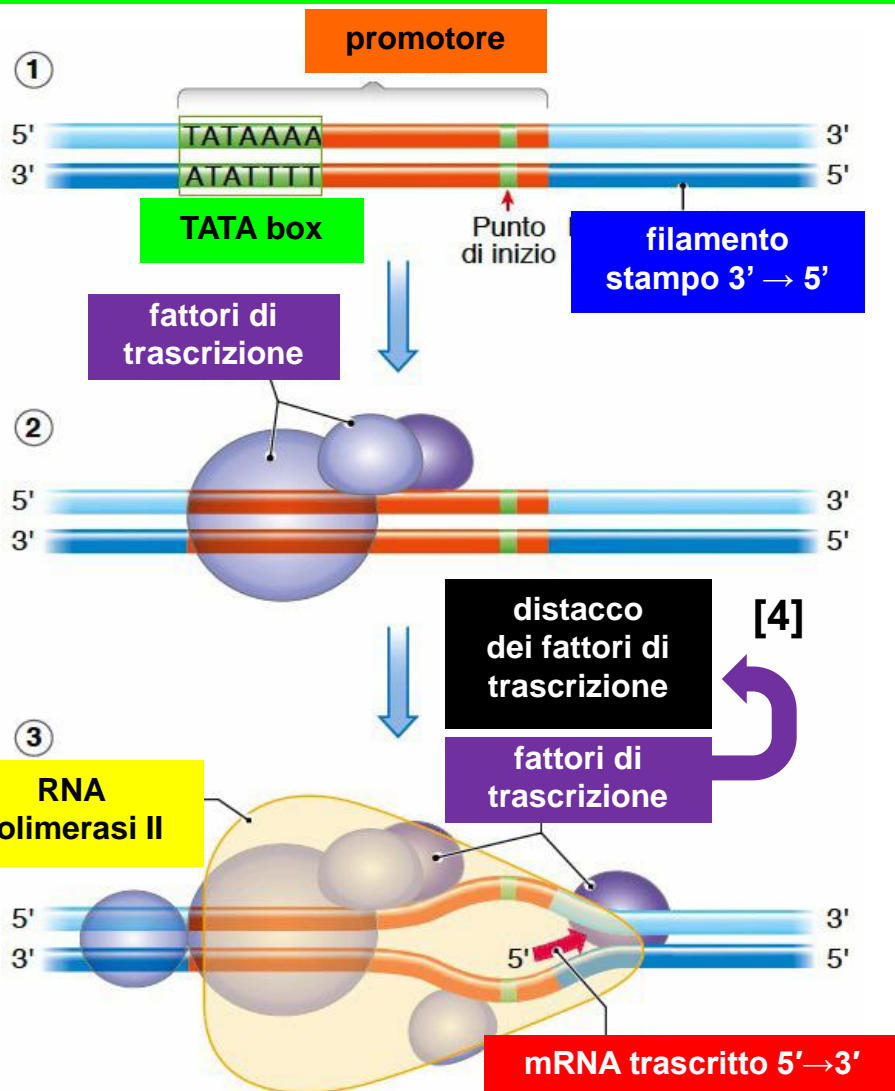
I promotori dei procarioti sono lunghi circa 40 basi e sono localizzati sul DNA appena a monte del punto di inizio della trascrizione.

Geni differenti possono avere **PROMOTORI DIVERSI** consentendo così alla cellula di decidere quali geni trascrivere in un determinato momento e quali no.

L'inizio della trascrizione è diverso nei procarioti e negli eucarioti.

TRASCRIZIONE negli EUCARIOTI: L'INIZIO

EUCARIOTI



COMPLESSO DI INIZIO DELLA TRASCRIZIONE

I geni nucleari degli eucarioti presentano **3 tipi di promotori**, una per ciascun tipo di RNA polimerasi.

1. Molti promotori della **RNA polimerasi II** (trascrive mRNA) contengono una breve sequenza di DNA di T e A, detta **sequenza TATA (TATA box)** a monte del sito di inizio.

A differenza di quella procariotica, le RNA polimerasi eucariotiche **NON** riconoscono direttamente il promotore.

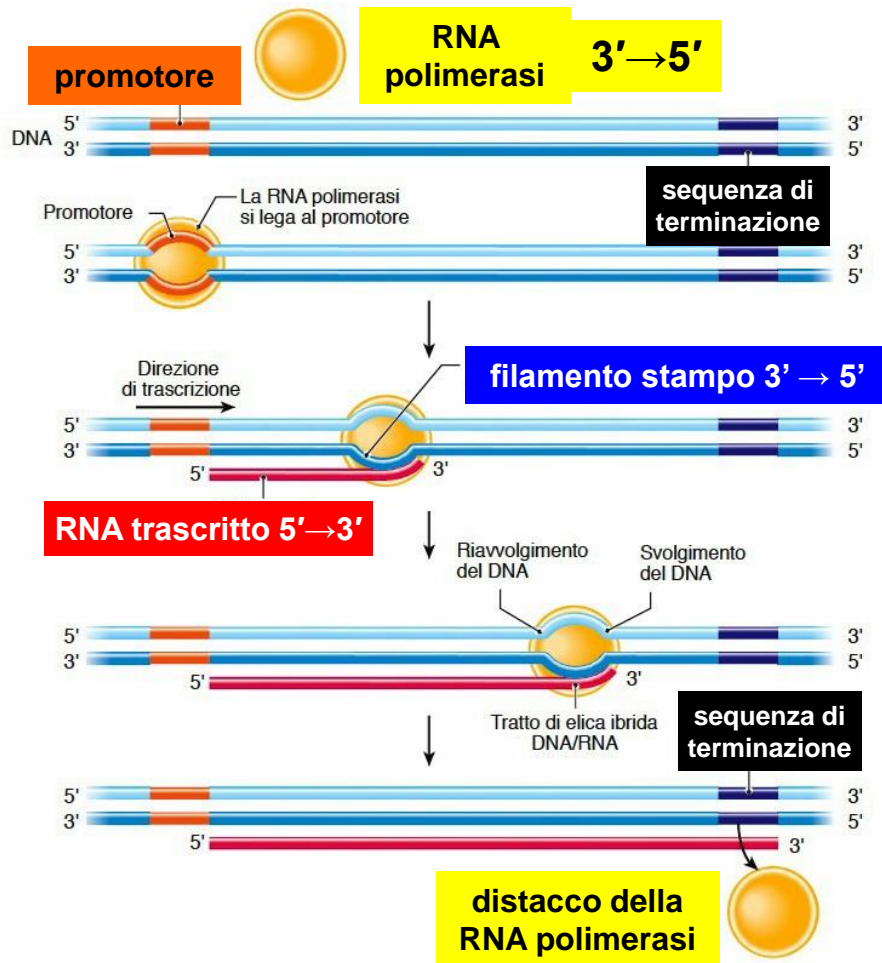
2. Alcune proteine (**FATTORI DI TRASCRIZIONE**) promuovono il legame dell'RNA polimerasi e l'inizio della trascrizione.

Alcuni fattori di trascrizione legano il DNA prima dell'RNA polimerasi [2], altri legano il DNA insieme alla RNA polimerasi [3], formando il **complesso di inizio della trascrizione**.

TRASCRIZIONE

FASI DI ALLUNGAMENTO & TERMINAZIONE

PROCARIOTI



L'allungamento dell'RNA prosegue fino a che l'RNA polimerasi raggiunge la **SEQUENZA DI ARRESTO** (o di terminazione) che determina il **distacco dell'RNA polimerasi** sia dal DNA stampo sia dall'RNA neo sintetizzato.

La terminazione della trascrizione avviene con meccanismi diversi nei procarioti e negli eucarioti.

Nei **PROCARIOTI** la trascrizione termina alla fine della sequenza di terminazione. Quando la RNA polimerasi arriva su tale sequenza, rilascia sia il DNA stampo sia il nuovo filamento di RNA.

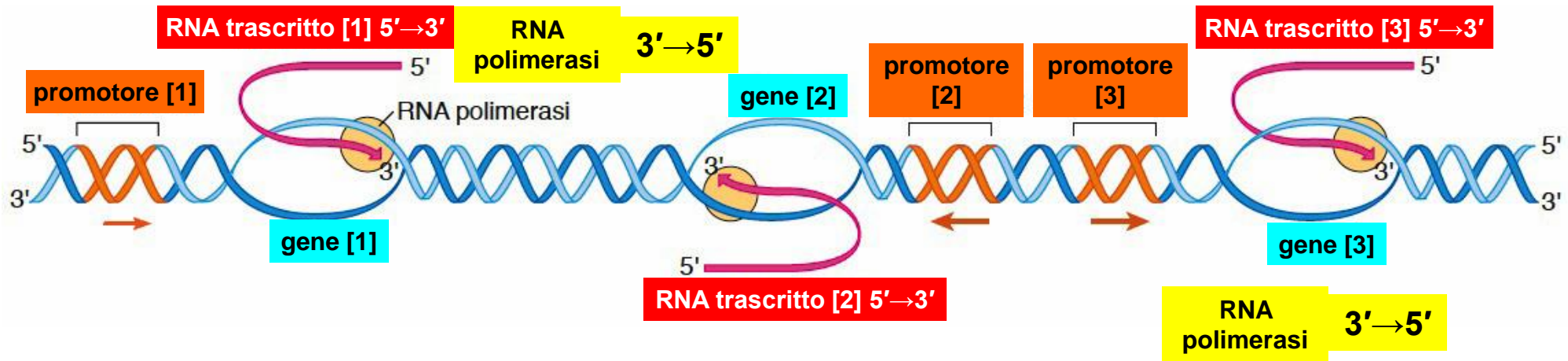
Negli **EUCARIOTI**, l'RNA polimerasi **oltrepassa la sequenza di terminazione** e aggiunge una sequenza di nucleotidi (**AAUAAA o segnale di poliadenilazione**) alla molecola di **pre-mRNA**.

EUCARIOTI: sequenza AAUAAA è un SEGNALE per un enzima adibito a tagliare il pre-mRNA.

Circa 10-35 nucleotidi a valle della sequenza AAUAAA il trascritto si separa dalla RNA polimerasi II, liberando il pre-mRNA.

TRASCRIZIONE

FILAMENTO STAMPO



Le frecce sotto i promotori indicano la direzione della trascrizione. Si noti che le RNA polimerasi effettuano sempre la sintesi in direzione 5' → 3'.

Per un determinato gene, **solo uno dei due filamenti del DNA è trascritto** per un determinato gene (FILAMENTO STAMPO), tuttavia il filamento opposto (filamento non stampo o codificante) può essere trascritto per un altro gene.

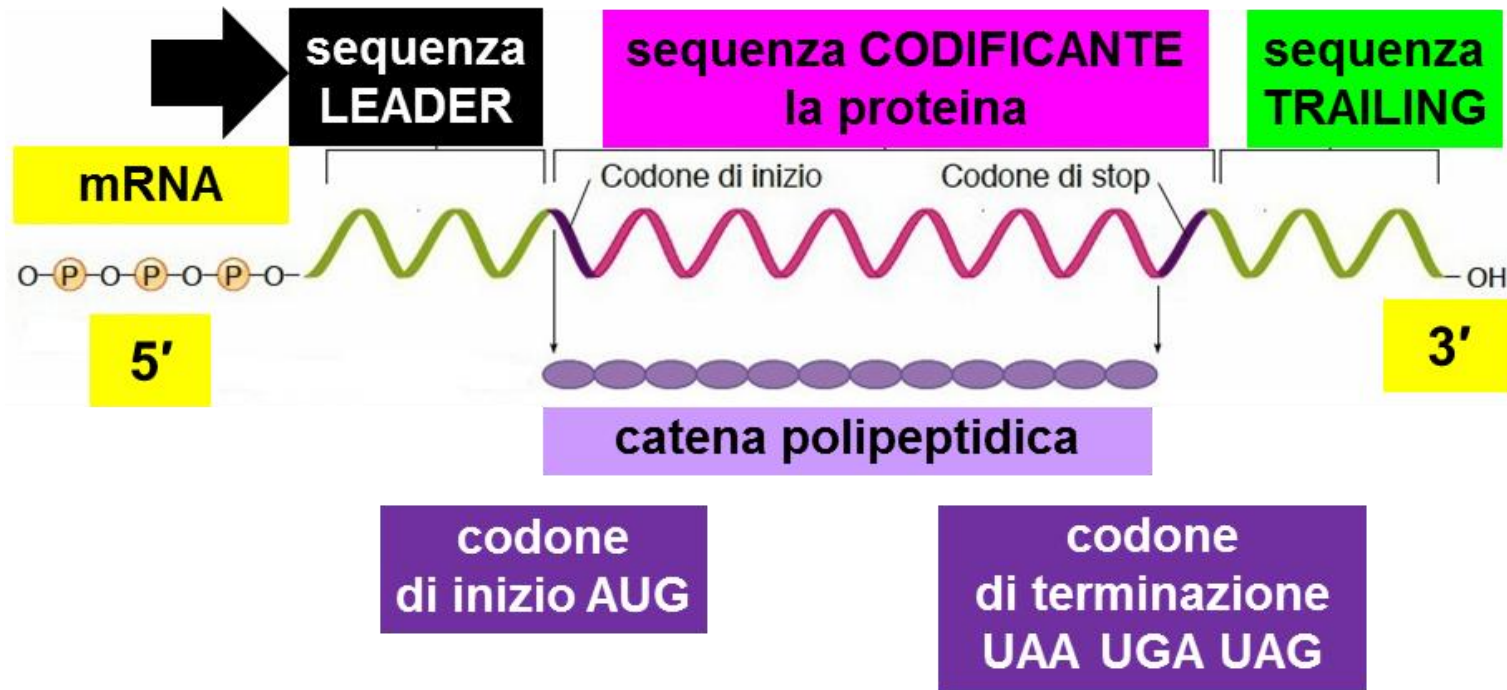
Quindi, il filamento stampo per un gene può essere il filamento non stampo per un altro gene.

Un singolo gene può essere **trascritto simultaneamente da più molecole di RNA polimerasi** che si susseguono sul filamento stampo.

Da ognuna molecola di RNA polimerasi si allunga un filamento di RNA in accrescimento, la cui lunghezza dipende dalla distanza della RNA polimerasi dal punto di inizio della trascrizione.

TRASCRIZIONE

mRNA PROCARIOTICO



Sia nei procarioti sia negli eucarioti il trascritto primario di mRNA contiene più sequenze di quelle che CODIFICANO la proteina.

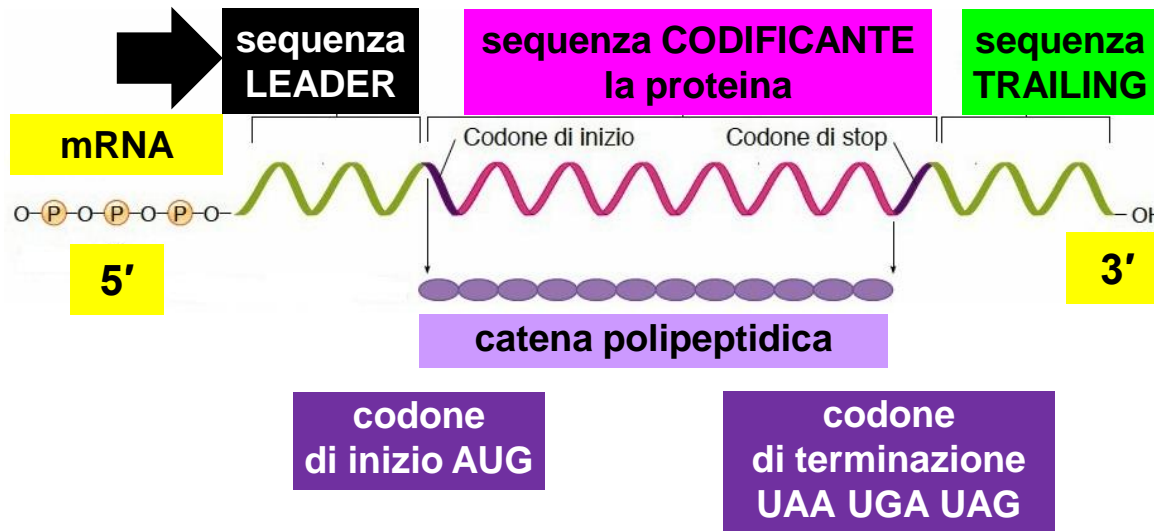
SEQUENZA LEADER non codificante:
sequenza di riconoscimento per il legame con il ribosoma.

SEQUENZA TRAILING non codificante:
sequenza di dimensioni molto variabili.

TRASCRIZIONE

mRNA PROCARIOTICO

mRNA PROCARIOTI



**SEQUENZA LEADER non codificante =
sequenza di riconoscimento per il legame con il
ribosoma.**

► consente al ribosoma di posizionarsi correttamente per iniziare la traduzione dell'mRNA.

► Sia nei procarioti sia negli eucarioti il trascritto primario di mRNA contiene più sequenze di quelle che CODIFICANO la proteina.

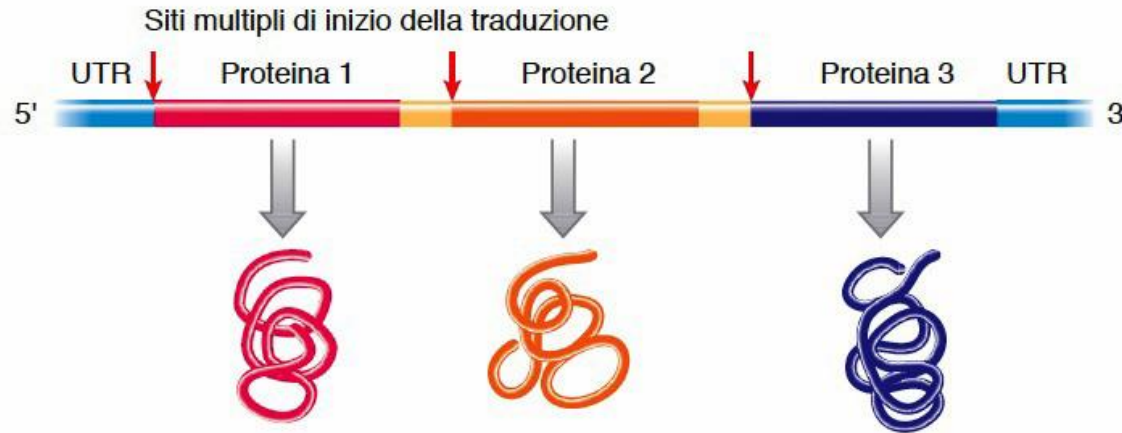
Sia nei procarioti, sia negli eucarioti l'RNA polimerasi inizia la trascrizione di un gene a monte della sequenza codificante. Come risultato, l'RNA messaggero possiede, alla sua estremità 5' una **SEQUENZA LEADER NON CODIFICANTE** seguita dal **codone di inizio AUG** che indica l'inizio della sequenza codificante.

Alla fine di ciascuna sequenza codificante vi sono i **codoni di terminazione UAA, UGA e UAG** presenti sia nei procarioti sia negli eucarioti. Questi sono seguiti da una **SEQUENZA TRAILING NON CODIFICANTE**, all'estremità 3', che possono variare in lunghezza.

TRASCRIZIONE

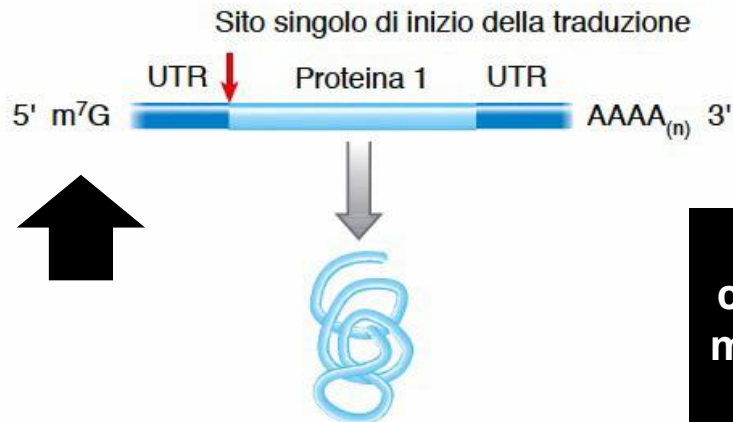
CONFRONTO mRNA PROCARIOTICO e mRNA EUCARIOTICO

mRNA procariotico POLICISTRONICO = codifica per più proteine



diverse catene
polipeptidiche

mRNA eucariotico MONOCISTRONICO = codifica per 1 sola proteina

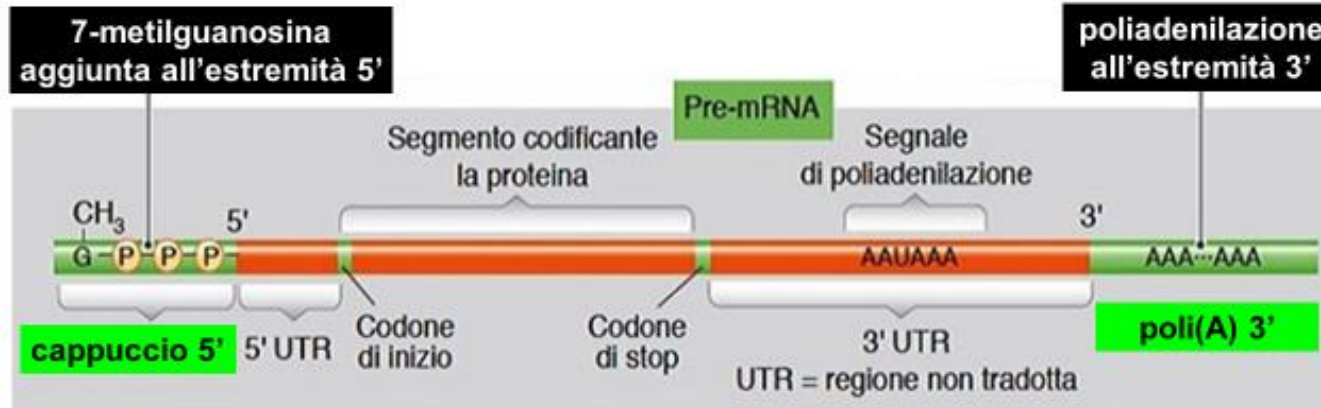


catena
polipeptidica

Gli mRNA **eucariotici** maturi
contengono anche un cappuccio di 7-
metilguanossina (m⁷G) al terminale 5' e
una coda di poli(A) al 3'.

TRASCRIZIONE

MODIFICAZIONI POST-TRASCRIZIONALI DEGLI RNA EUCARIOTICI



Mentre **gli mRNA batterici sono tradotti immediatamente** dopo la trascrizione senza ulteriori modificazioni, lo stesso non vale per gli RNA eucariotici.

Infatti, il DNA eucariotico è nel nucleo e **la sintesi proteica avviene nel citosol**, quindi mRNA tRNA e rRNA, una volta maturi, devono essere trasportati attraverso i **pori nucleari**. Tutti i trascritti primari eucariotici sono modificati subito dopo la trascrizione mentre sono ancora nel nucleo.

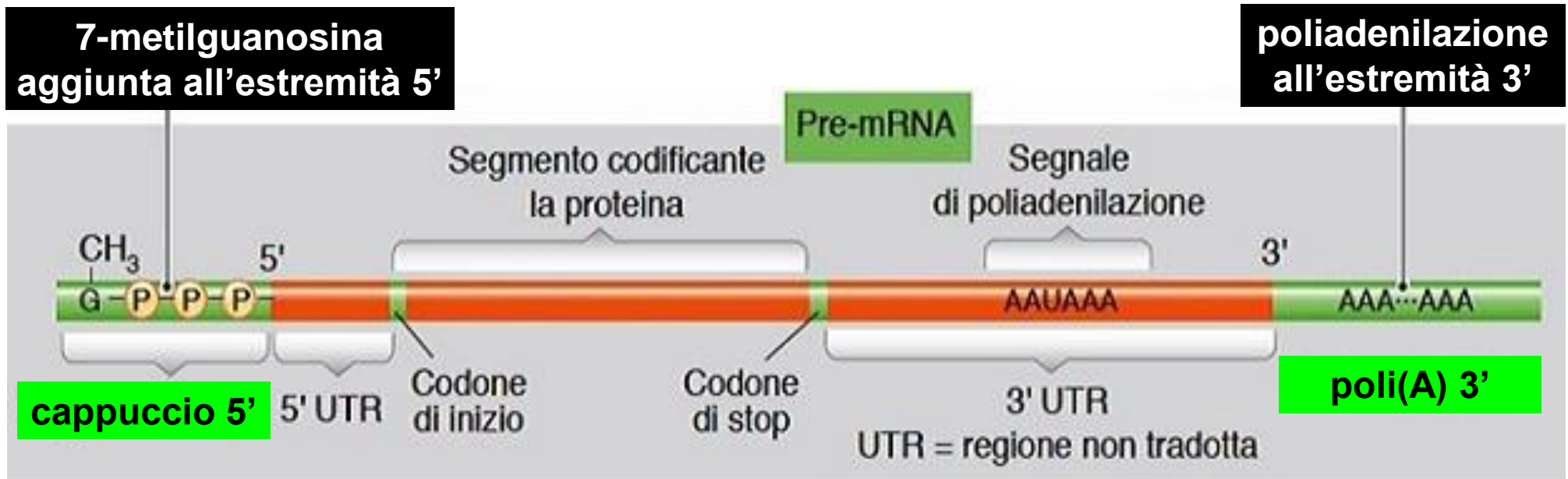
Il termine **maturazione dell'RNA** indica tutte le modificazioni, che avvengono durante (alcune) o al termine della trascrizione (definite modificazioni post-trascrizionali), necessarie per produrre un RNA funzionale da un trascritto primario.

I trascritti primari subiscono modificazioni diverse secondo il tipo di RNA che deve essere prodotto.

TRASCRIZIONE

MODIFICAZIONI POST-TRASCRIZIONALI DEGLI RNA EUCARIOTICI

Tutti i trascritti primari EUCARIOTICI sono modificati dopo la trascrizione quando ancora si trovano all'interno del nucleo. Il trascritto primario di un gene, detto mRNA precursore o pre-mRNA, è modificato a entrambe le estremità.



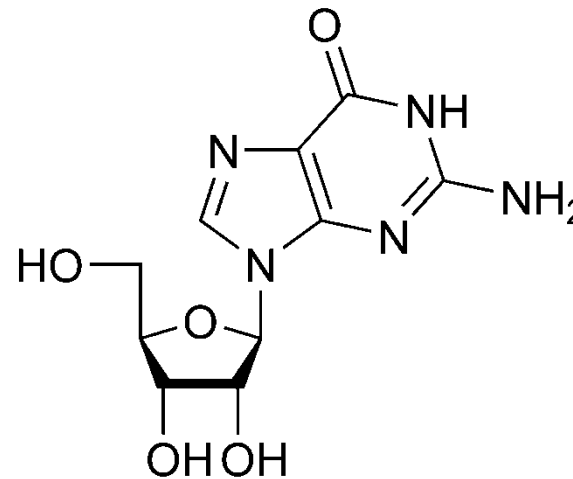
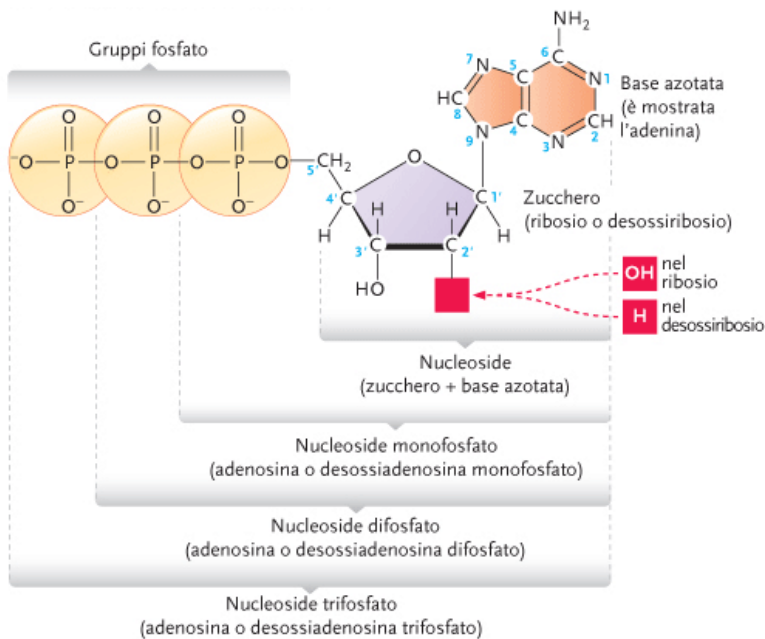
[1] AGGIUNTA DEL CAPPuccio m7G al 5'

[2] POLIADENILAZIONE al 3'

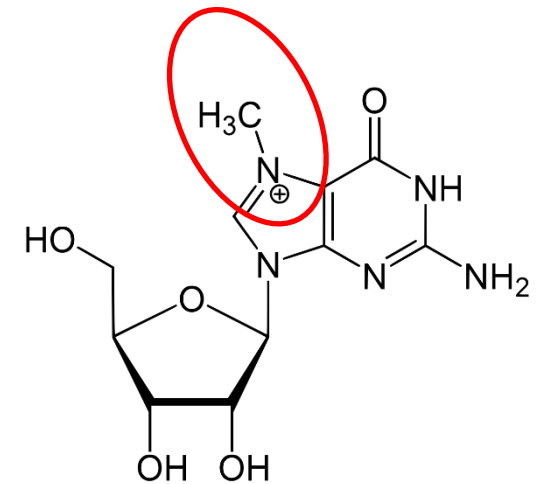
[3] TAGLIO DEGLI INTRONI

TRASCRIZIONE

MODIFICAZIONI POST-TRASCRIZIONALI DEGLI RNA EUCARIOTICI



guanosina



7-metilguanosina

TRASCRIZIONE

MODIFICAZIONI POST-TRASCRIZIONALI DELL'mRNA EUCARIOTICO

[1] AGGIUNTA DEL CAPPuccio 5'

È aggiunto il **cappuccio 5'** costituito da 7-metilguanosina legata al pre-mRNA da tre gruppi fosfato.

Gli mRNA degli eucarioti sono più stabili (**vita media 10 ore**) di quelli dei procarioti (**vita media 2 minuti**). Inoltre, il cappuccio al 5' favorisce il trasporto dell'mRNA fuori dal nucleo ed è fondamentale per il legame con il ribosoma: i ribosomi non si legano a un mRNA privo del cappuccio 5'.

Il cappuccio al 5' protegge l'mRNA dalla degradazione da parte di esonucleasi nucleari

[2] POLIADENILAZIONE 3'

All'estremità 3' del pre-mRNA si trova un segnale di poliadenilazione (sequenza AAUAAA) che induce l'aggiunta di 50-250 nucleotidi di adenina (**coda di poli(A)**)

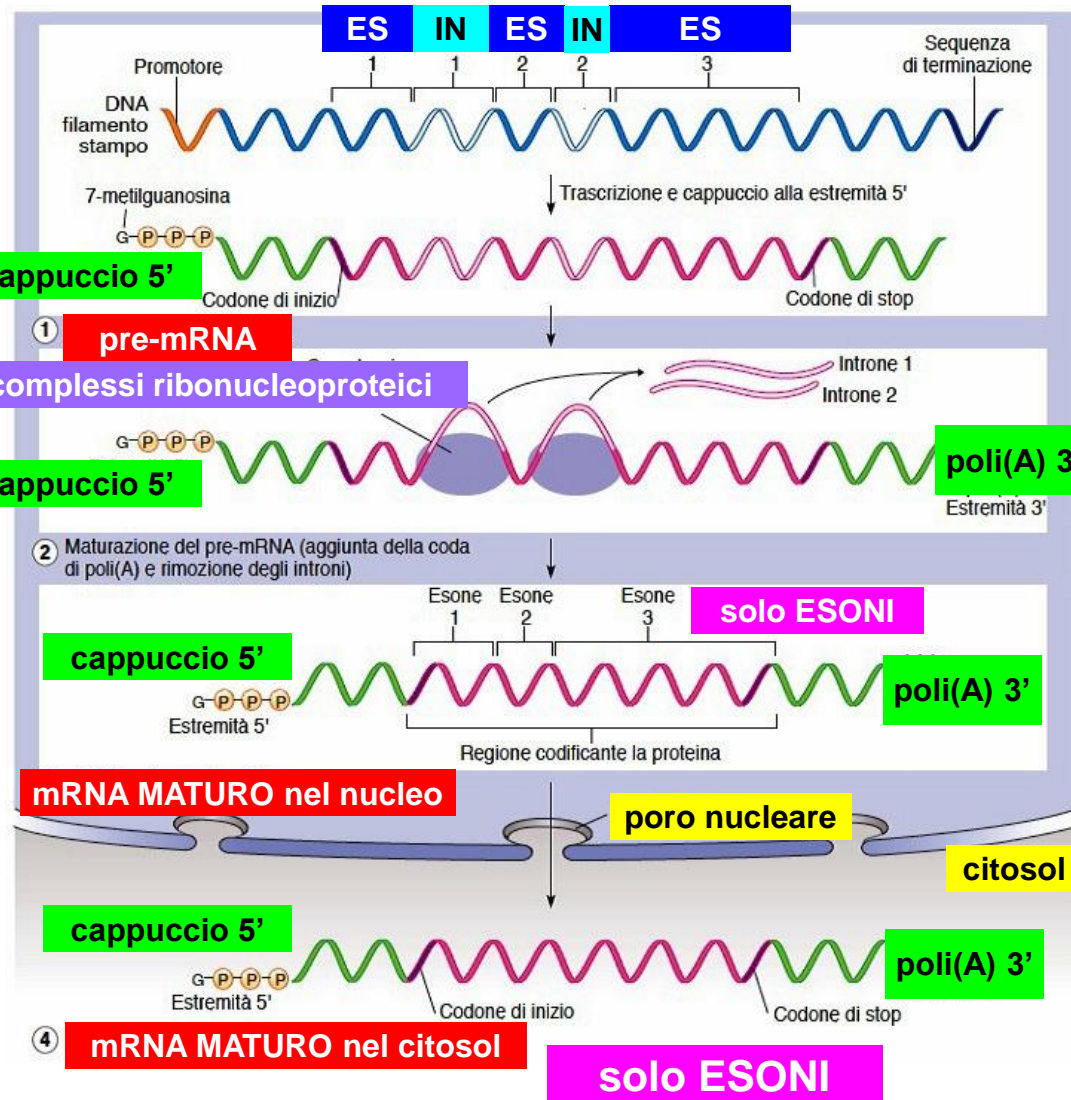
La coda di poli(A) facilita l'esportazione dal nucleo dell'mRNA poiché è riconosciuta da proteine di esportazione nucleare.

La coda di poli(A) protegge gli mRNA dalla degradazione nel nucleo e citoplasma, infatti più lunga è la coda di poli(A), più a lungo la molecola resta nel citosol.

Il cappuccio al 5' e la coda poli(A) al 3' non sono tradotti.

TRASCRIZIONE

MODIFICAZIONI POST-TRASCRIZIONALI DELL'mRNA EUCARIOTICO



[3] TAGLIO DEGLI INTRONI

Dai geni eucariotici sono trascritte sequenze codificanti o espresse (**ESONI**) interrotte da sequenze non codificanti o interposte (**INTRONI**).

I termini esoni e introni si riferiscono alle sequenze di nucleotidi corrispondenti sia nel DNA sia nell'RNA.

Un gene eucariotico può avere **numeri variabili** di esoni e introni. Il gene della β -globina umana ha 2 introni e 3 esoni, il gene dell'albumina umana ha 14 introni e 15 esoni. I **geni codificanti gli istoni**, sono delle eccezioni in quanto sono privi di introni.

Affinché il pre-mRNA maturi, gli **INTRONI** devono essere eliminati, mentre gli **ESONI** legati insieme a formare un mRNA maturo codificante. Il processo è detto **SPLICING dell'RNA** o **TAGLIO/ RICUCITURA**.

TRASCRIZIONE

TAGLIO DEGLI INTRONI & RICUCITURA DEGLI ESONI - mRNA EUCARIOTICO

Lo splicing comporta l'associazione di **PARTICELLE RIBONUCLEOPROTEICHE NUCLEARI** (o **snRNPs**, small nuclear RiboNucleoprotein Particles) costituite da:

1. specifiche proteine
2. alcuni **piccoli RNA nucleari** (o snRNA, small nuclear RNA), che a loro volta si combinano con
3. altre **piccole ribonucleoproteine nucleari o snRNPs** per formare grosse particelle ribonucleoproteiche dette **SPLICEOSOMI**, le cui dimensioni sono paragonabili a quelle dei ribosomi.

Gli spliceosomi catalizzano la rimozione degli introni dal pre-mRNA:

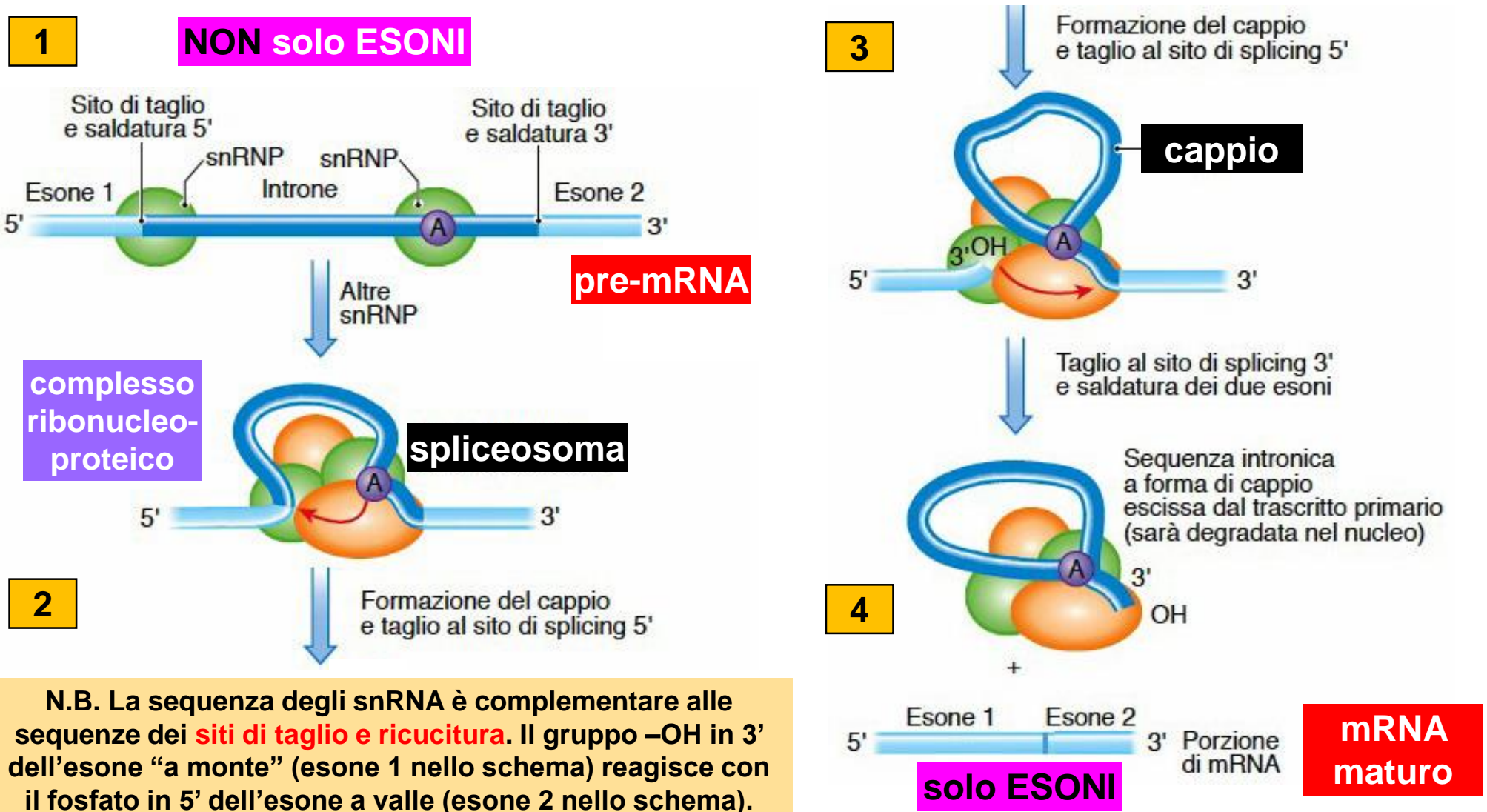
1. durante lo splicing, l'introne forma una struttura ad ansa,
2. che si stringe a formare un cappio portando in prossimità la parte terminale e quella iniziale di due esoni successivi
3. che infine viene escissa dal trascritto primario e che sarà degradata nel nucleo.

In rari casi l'RNA all'interno dell'introne si comporta come un **ribozima (o RNA catalitico)**, che catalizza la propria rimozione senza l'intervento di molecole di snRNA (quindi senza l'assemblaggio dello spliceosoma).

Tra i pochi geni che posseggono introni capaci di auto-splicing vi sono i geni mitocondriali nei funghi e nelle piante, alcuni geni dei cloroplasti, alcuni geni batterici e dei batteriofagi.

TRASCRIZIONE

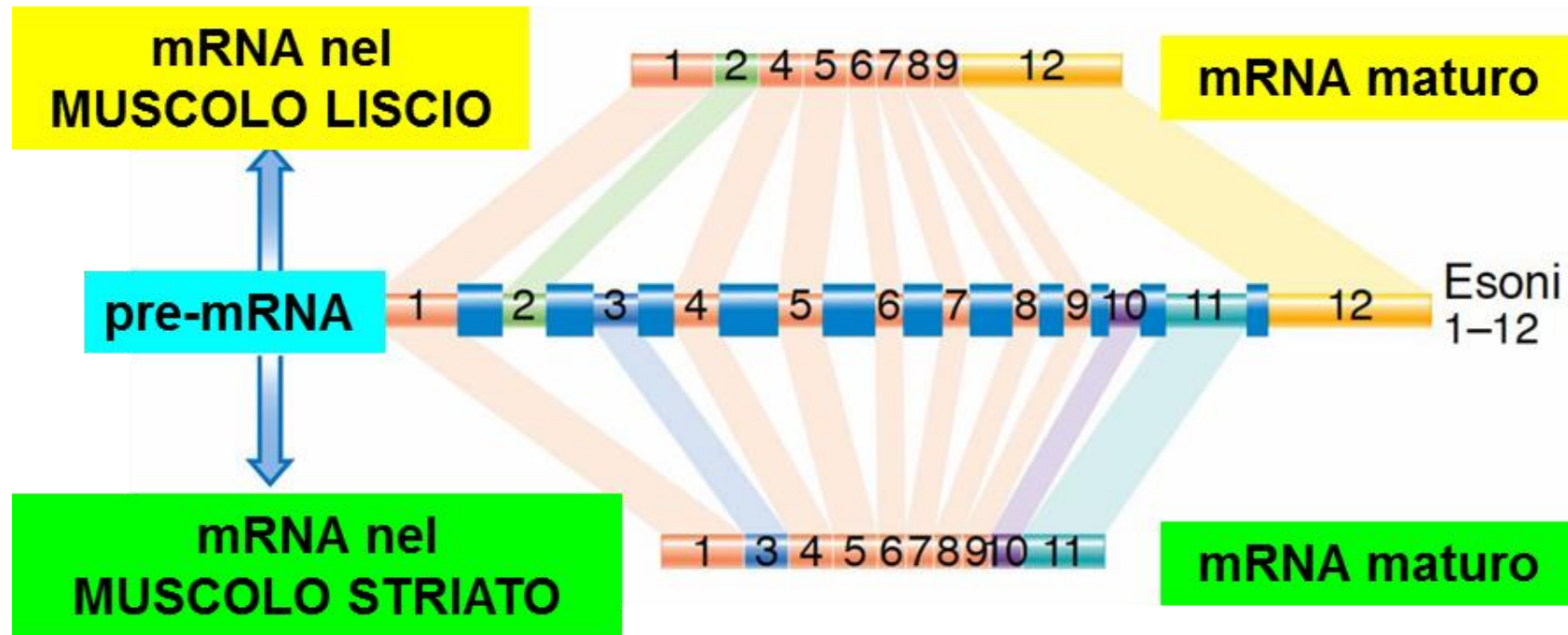
TAGLIO DEGLI INTRONI & RICUCITURA DEGLI ESONI - mRNA EUCARIOTICO



TRASCRIZIONE

TAGLIO DEGLI INTRONI & RICUCITURA DEGLI ESONI - mRNA EUCARIOTICO

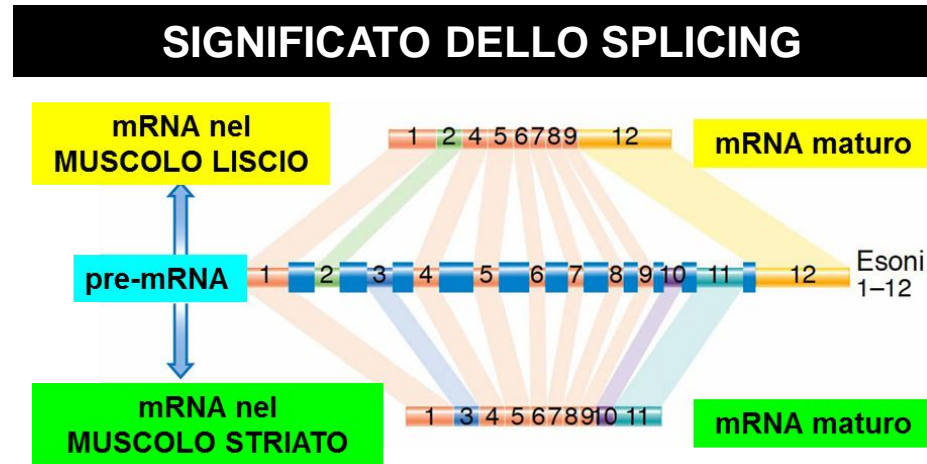
Da una molecola di pre-mRNA si possono ottenere diverse molecole di mRNA maturo in seguito a combinazioni diverse degli esoni.



L'esempio mostrato nello schema è relativo al pre-mRNA dell' **α -tropomiosina**. In entrambi i processi di splicing, tutti gli introni sono rimossi. Per produrre l'mRNA del **muscolo liscio** sono rimossi anche gli esoni 3, 10 e 11, mentre per produrre l'mRNA del **muscolo striato** sono rimossi gli esoni 2 e 12.

TRASCRIZIONE

TAGLIO DEGLI INTRONI & RICUCITURA DEGLI ESONI - mRNA EUCARIOTICO



Il trascritto primario di un gene eucariotico può subire processi di splicing differenti, generando molecole di mRNA diverse.

Questo **splicing alternativo** permette di ottenere da 2-3 a oltre 100 mRNA differenti, e quindi altrettanti polipeptidi, a partire dallo stesso gene.

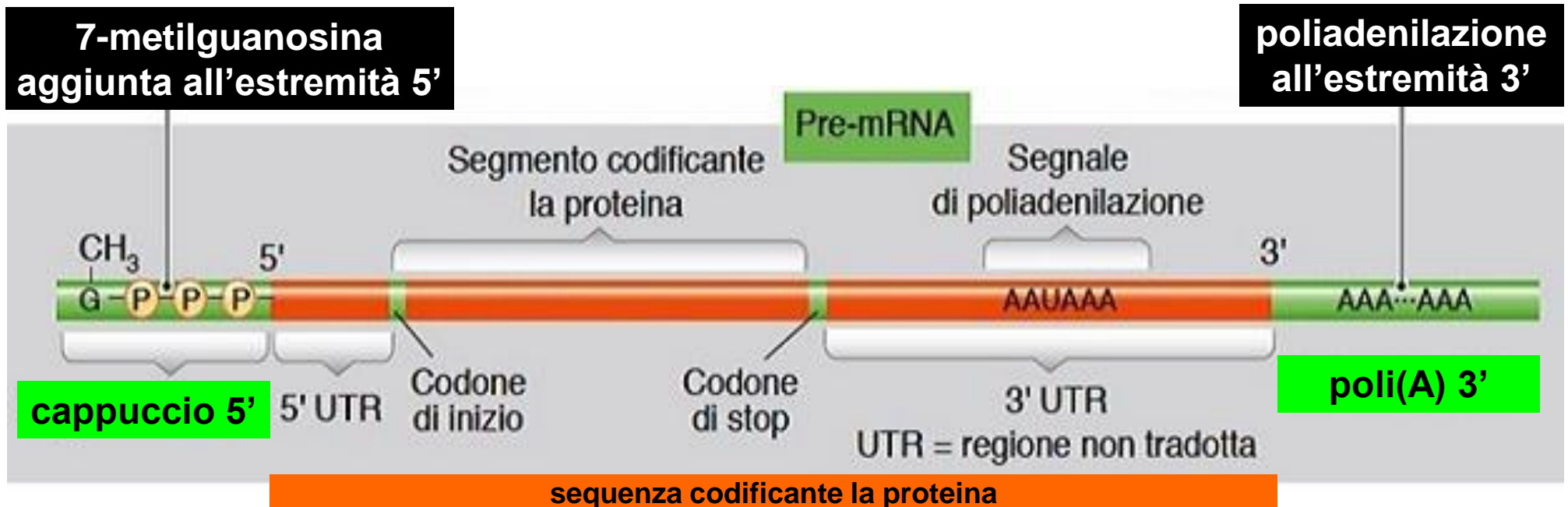
Lo splicing alternativo è reso possibile perchè i singoli siti di splicing in un pre-mRNA possono essere attivati o ignorati. In ciascun tipo di cellula eucariotica, **proteine regolatrici specifiche** controllano la scelta fra introni ed esoni legandosi a sequenze regolatrici poste all'interno del pre-mRNA.

Grazie allo splicing alternativo il numero di proteine diverse che un organismo può produrre è molto maggiore rispetto al numero di geni.

TRASCRIZIONE

MODIFICAZIONI POST-TRASCRIZIONALI DEGLI RNA EUCARIOTICI

Tutti i trascritti primari EUCARIOTICI sono modificati dopo la trascrizione quando ancora si trovano all'interno del nucleo. Il trascritto primario di un gene, detto mRNA precursore o pre-mRNA, è modificato a entrambe le estremità.



[1] AGGIUNTA DEL CAPPuccio m7G al 5'

[2] POLIADENILAZIONE al 3'

[3] TAGLIO DEGLI INTRONI

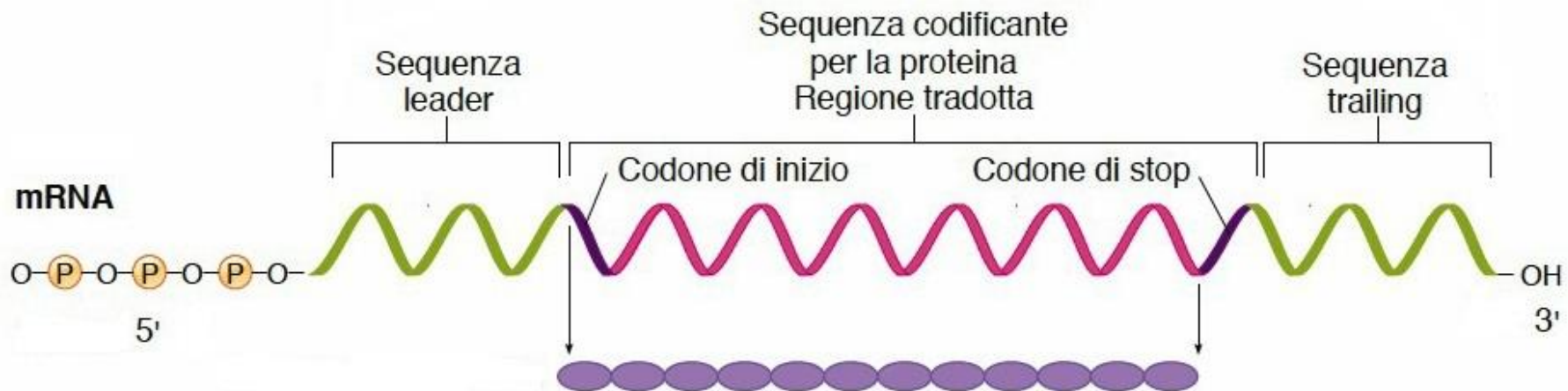
TRASCRIZIONE E TRADUZIONE

TRASCRIZIONE

Sia nei procarioti sia negli eucarioti la trascrizione avviene ad opera della **RNA polimerasi**, che catalizza la sintesi di RNA a partire dal **filamento stampo del DNA (3'-5')**.

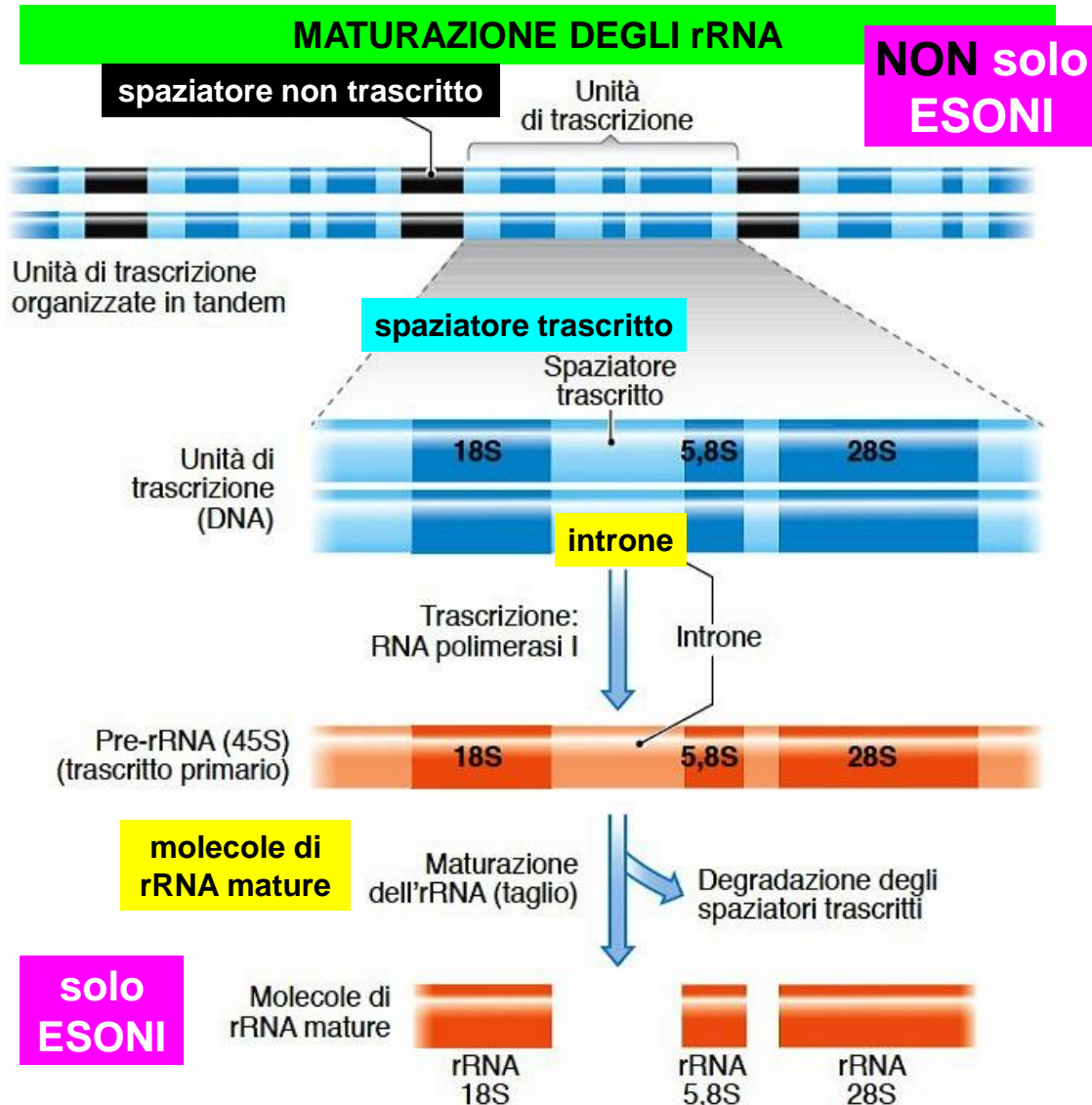
- Nei **PROCARIOTI** è presente **una sola RNA polimerasi**.
- Negli **EUCARIOTI** ci sono **3 RNA polimerasi nucleari**:
 1. **RNA polimerasi I** localizzata nel nucleolo, catalizza la sintesi di vari tipi di molecole di rRNA
 2. **RNA polimerasi II** catalizza la sintesi degli mRNA che codificano le proteine e dei miRNA
 3. **RNA polimerasi III** catalizza la sintesi dei tRNA e di una delle molecole di rRNA

Nelle cellule eucariotiche sono anche presenti una **RNA polimerasi mitocondriale**.



TRASCRIZIONE

MATURAZIONE DELL'rRNA EUCARIOTICO



Dei 4 rRNA nei ribosomi eucariotici, i 3 più grossi (**28S**, **18S** e **5,8S**) sono codificati da 1 singola unità di trascrizione, sintetizzata nel nucleolo dall'RNA pol I come unico trascritto primario detto **pre-rRNA 45S**.

All'interno dell'unità di trascrizione del DNA sono presenti **spaziatori trascritti** separate da **spaziatori non trascritti**.

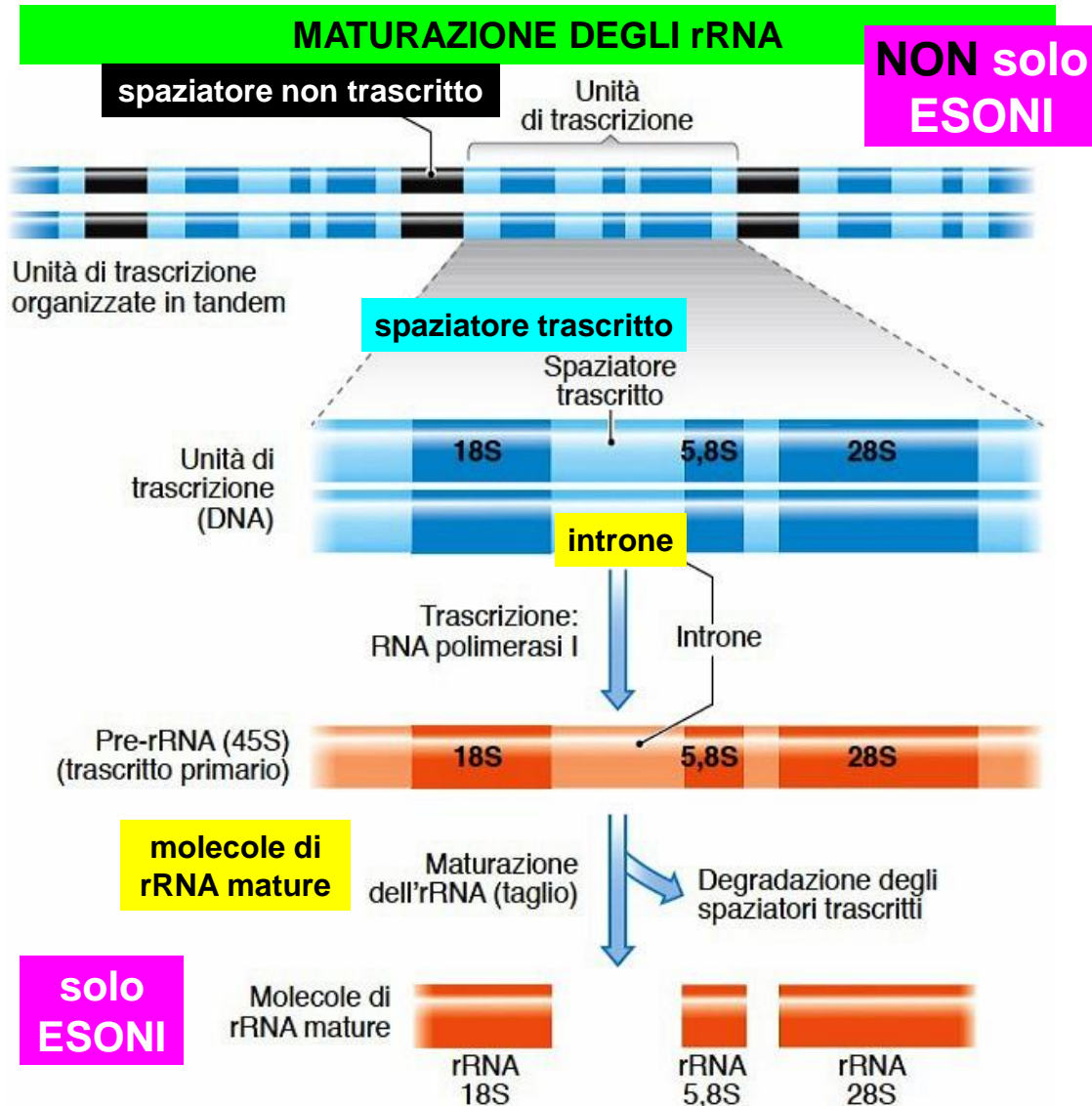
Nel nucleolo il pre-rRNA 45S è modificato nel ribosio e nell'uridina ad opera di **piccole ribonucleoproteine nucleolari** o snoRNPs costituite da molecole di RNA chiamate piccoli RNA nucleolari (snoRNAs) e proteine.

Il pre-rRNA 45S subisce reazioni di taglio, per rimuovere gli spaziatori trascritti e rilasciare gli rRNA maturi 28S, 18S e 5.8S.

Maturazione rRNA = taglio di spaziatori trascritti (introni) da un pre-rRNA comune.

TRASCRIZIONE

MATURAZIONE DELL'rRNA EUCARIOTICO



ECCEZIONE

L'ultimo rRNA dei 4 ribosomiali, l'**rRNA 5S** invece è trascritto dall'RNA polimerasi III e sintetizzato in forma matura a partire da geni non localizzati nel nucleolo.

Una volta sintetizzato, l'rRNA 5S diffonde nel nucleolo.

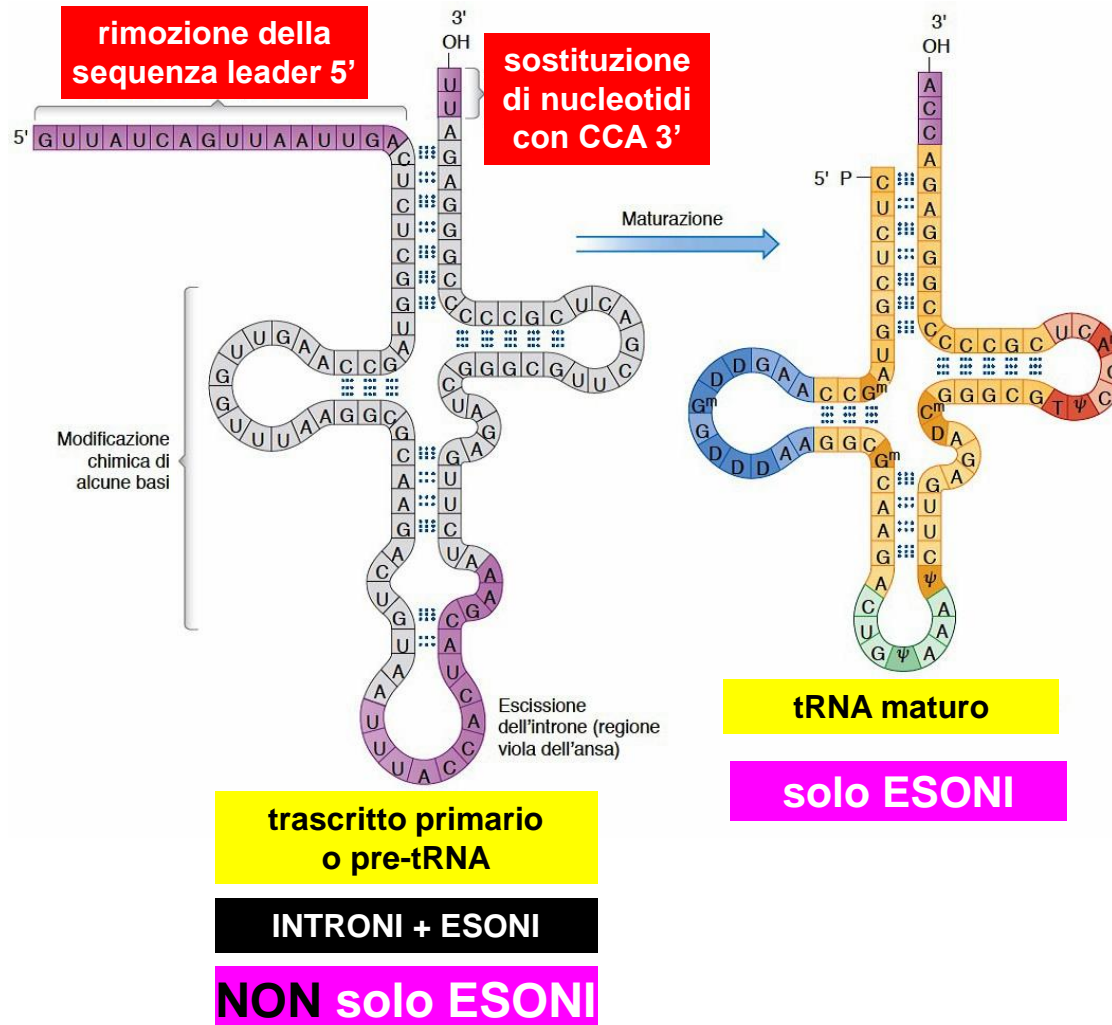
DESTINO rRNA

- rRNA 5S si associa con rRNA 28S, 5,8S e proteine ribosomiali a formare la **subunità ribosomale maggiore**
- l'rRNA 18S con altre proteine ribosomiali forma la **subunità ribosomale minore**.

TRASCRIZIONE

MATURAZIONE DEL tRNA EUCARIOTICO

MATURAZIONE DEI tRNA



La **maturazione del tRNA** comporta la rimozione, l'aggiunta e la modificazione chimica di nucleotidi e avviene nel nucleo.

Il trascritto primario di una molecola di tRNA o **pre-tRNA** è più grande del tRNA maturo e tratti del precursore devono essere rimossi; inoltre, numerose basi devono essere modificate. Infatti, una molecola di tRNA matura contiene soltanto 70-90 nucleotidi, con circa il **10-15%** dei nucleotidi chimicamente modificato.

Le principali modificazioni includono la **metilazione** di basi e zuccheri, la formazione di **basi insolite**, come diidrouracile, ribotimina, pseudouridina e inosina.

TRASCRIZIONE E TRADUZIONE

SINTESI PROTEICA

L'**espressione genica** è il processo mediante il quale l'informazione genetica fluisce dal DNA all'RNA – **TRASCRIZIONE** – e dall'RNA alle proteine – **TRADUZIONE**.

Il principio della direzionalità del flusso informativo dal DNA all'RNA alle proteine è il dogma centrale della biologia.

