

Trascrizione

La trascrizione è il processo mediante il quale le informazioni contenute nel DNA vengono riportate in una molecola complementare di RNA.

Concettualmente, si tratta del trasferimento dell'informazione genetica dal DNA all'RNA. Nel caso in cui il DNA trascritto codifichi per una catena polipeptidica, tale trasferimento di informazioni è l'inizio del processo che porterà, attraverso la produzione intermedia di un mRNA, alla sintesi di peptidi o di proteine funzionali.

Dove avviene ? Nel nucleo

Quando ? In un qualsiasi momento della vita della cellula e, in particolare, nella fase G1.

Quali i suoi prodotti ?

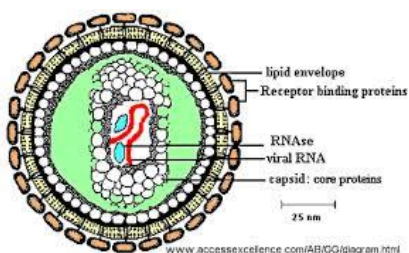
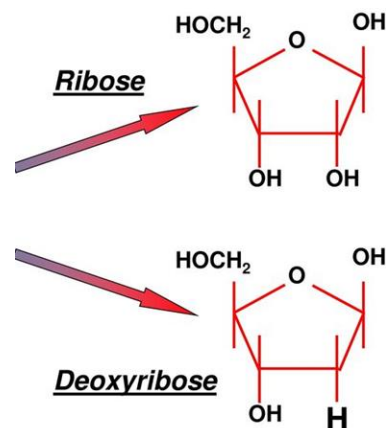
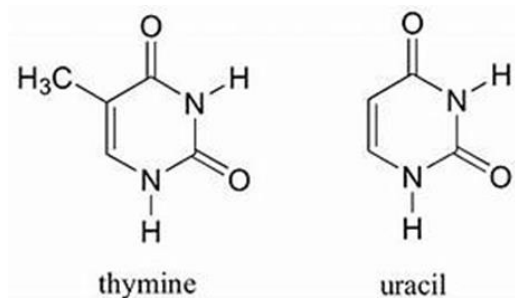
1- nei procarioti: mRNA , rRNA, tRNA

2- negli eucarioti: pre-mRNA (successivamente maturato in mRNA), rRNA, tRNA, snRNA

l'acido ribonucleico (RNA) è un polinucleotide a singola elica costituito da una sequenza di nucleotidi in ciascuno dei quali sono presenti un gruppo fosfato, un ribosio e una base azotata che può essere adenina A, guanina G, citosina C e uracile U.

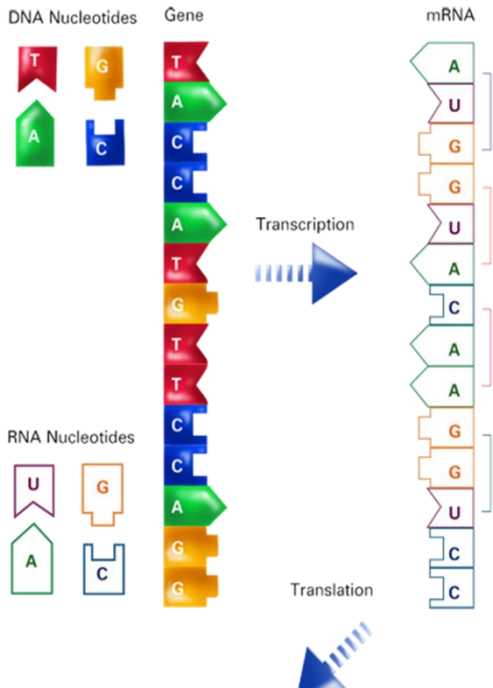
La presenza dell'uracile al posto della timina e del ribosio al posto del deossiribosio distingue chimicamente l'RNA dal DNA.

Nel tRNA è, comunque, presente anche la timina insieme a delle altre basi definite "insolite"



In alcuni virus (retrovirus) l'RNA costituisce l'unica molecola contenente informazione genetica.

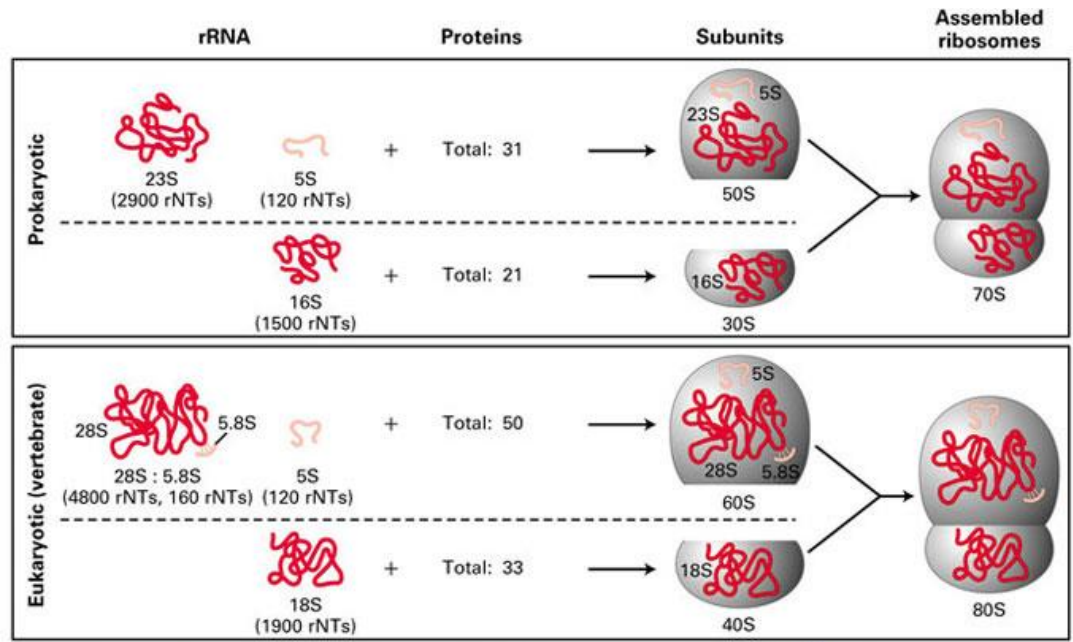
-**L'RNA messaggero (mRNA)** è un tipo di RNA che codifica e trasferisce informazioni dal DNA ai ribosomi, i siti della sintesi proteica, per essere sottoposto alla **traduzione**.



L'mRNA si definisce **monocistronico** quando porta l'informazione contenuta in un solo gene, ed è una caratteristica tipica degli eucarioti, mentre nei procarioti l'mRNA è molto spesso **policistronico** e porta, pertanto, l'informazione contenuta in più geni.

-**L'RNA ribosomiale (rRNA)** è la tipologia più abbondante di RNA presente nella cellula. Esso rappresenta il componente principale dei ribosomi, i complessi ribonucleoproteici che provvedono all'assemblaggio delle proteine.

Il ribosoma è una struttura che si auto-assembla in due subunità (la subunità maggiore e la subunità minore) costituite dall'RNA ribosomiale, in presenza di 70-80 proteine ribosomiali, che si trovano all'esterno oppure nelle cavità presenti all'interno dell'rRNA ripiegato.



Le sue caratteristiche sono importanti per la medicina e per lo studio dell'evoluzione.

L'rRNA, infatti, costituisce il bersaglio di molti antibiotici ed è il componente più conservato (che ha subito meno variazioni nel corso dell'evoluzione) in tutte le cellule.

Per tale motivo, i geni che codificano per l'rRNA vengono sequenziati* per identificare il gruppo tassonomico di un organismo, per riconoscere i gruppi correlati e stimare il tasso di divergenza tra le varie specie.

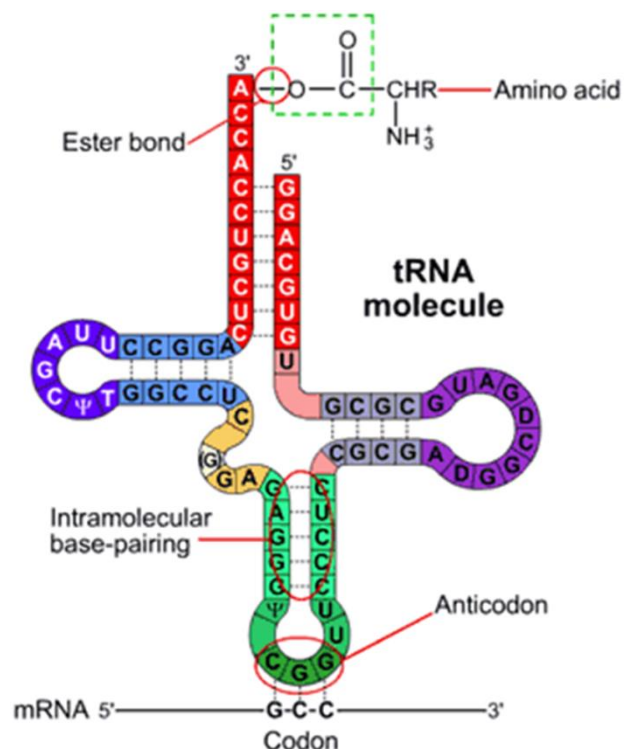
*(Il termine **sequenziamento**, in biologia molecolare, indica il processo per la determinazione dell'esatta struttura primaria di un biopolimero, e cioè dell'ordine delle basi nel caso di un acido nucleico o degli amminoacidi nel caso di proteine)

-L'RNA transfer (o RNA di trasporto, t-RNA) è una piccola molecola di RNA, costituita da 74-93 nucleotidi, che si comporta da **traduttore molecolare**, facendo corrispondere, al momento della traduzione, ad ogni tripletta di nucleotidi, o **codone**, presente nell' mRNA uno specifico amminoacido.

Il t-RNA ha un sito di attacco per l'amminoacido ed una regione con tre basi (nucleotidi), chiamata **anticodone**, che riconosce il corrispondente codone a tre basi dell'mRNA attraverso l'appaiamento di basi complementari.

Ogni tipo di molecola di tRNA può legarsi ad un solo tipo di amminoacido, ma essendo presenti nel DNA tipi diversi di codoni che specificano uno stesso amminoacido, molti tipi di tRNA con anticodoni differenti possono portare lo stesso amminoacido.

La molecola di RNA transfer è dunque il dispositivo "adattatore" ipotizzato da Crick, che media il riconoscimento della sequenza del codone nell'mRNA e permette la sua traduzione nell'amminoacido appropriato.



-Col termine **small nuclear RNA** (piccolo RNA nucleare, abbreviato come snRNA) si intende una piccola molecola di acido ribonucleico, solitamente molto ricca di uracile, che partecipa alla maturazione dell'mRNA

La localizzazione degli snRNA è tipicamente nel nucleo eucariote.

Gli snRNA, trascritti dalla RNA polimerasi II o dalla RNA polimerasi III, sono coinvolti in una serie di importanti processi fra i quali lo splicing.

Gli snRNA sono sempre associati a proteine specifiche, con cui formano complessi noti come small nuclear ribonucleoproteins (piccole ribonucleoproteine nucleari, o **snRNP**).

Le **snRNP** formano lo spliceosoma, cioè quell'insieme di particelle che contribuiscono allo splicing di un tratto della catena di pre-mRNA.

L'enzima chiave della trascrizione è l'RNA polimerasi.

Nei **procarioti** è presente una sola RNA polimerasi, coinvolta nel processo di trascrizione dei geni.

Negli **eucarioti** sono presenti tre diverse RNA polimerasi, le quali differiscono sia per la struttura che per la funzione dell'RNA neosintetizzato.

Enzima	Geni trascritti
RNA polimerasi I	Geni per r-RNA (28S, 5.8S e 18S)
RNA polimerasi II	Geni codificanti catene polipeptidiche (mRNA) Geni per la maggior parte dei piccoli RNA nucleari (sn-RNA)
RNA polimerasi III	Geni per t-RNA e r-RNA 5S Geni per alcuni sn-RNA

N.B.

A differenza di quanto avviene nel corso della replicazione, la trascrizione interessa, di volta in volta, solo porzioni limitate del genoma.

Inoltre viene trascritto solo uno dei due filamenti di DNA che costituiscono la porzione di cromosoma che, in quel momento, subisce la trascrizione.

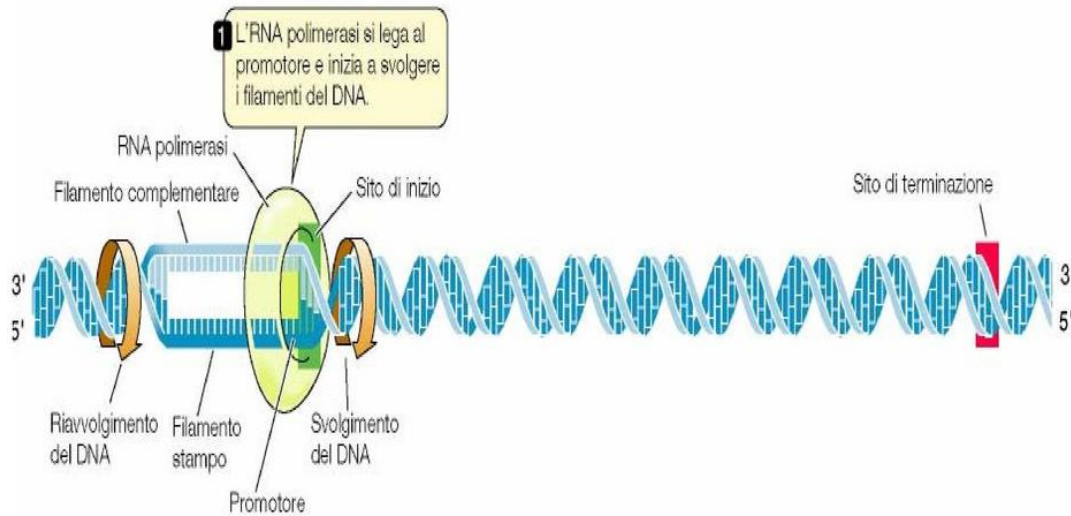
Ciò comporta la possibilità di poter distinguere nel DNA un **filamento senso** che presenta la stessa sequenza nucleotidica dell'RNA trascritto e un **filamento antisenso** che funge da stampo per la sintesi dell'RNA. Come per la replicazione del DNA, la trascrizione procede in direzione 5' → 3'.

La trascrizione può essere suddivisa in tre stadi distinti: **inizio**, **allungamento** e **terminazione**.

Inizio

Il primo stadio, che dà inizio alla trascrizione, richiede un **promotore**, una speciale sequenza di DNA alla quale si lega molto saldamente la RNA polimerasi. Per ogni gene (o, nei procarioti, per ogni serie di geni) c'è almeno un promotore.

I promotori sono importanti sequenze di controllo che forniscono all'RNA polimerasi tre informazioni: da dove far partire la trascrizione, quale filamento del DNA trascrivere e in quale direzione procedere.



Una parte di ogni promotore è il sito di inizio, dove incomincia la trascrizione.

Esistono differenze fra i promotori dei procarioti e quelli presenti negli eucarioti.

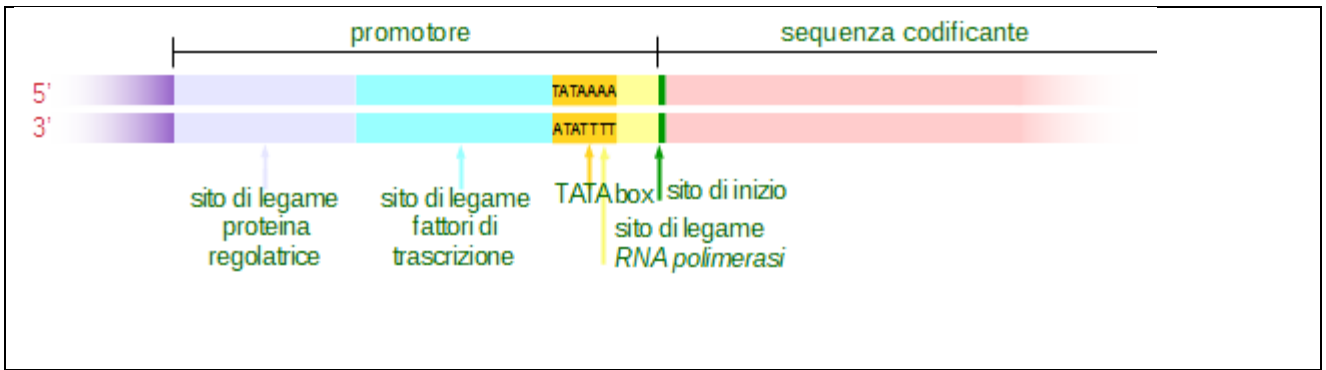
Nei **procarioti**, il promotore è una sequenza di DNA situata in prossimità dell'estremità 5' della regione che codifica una proteina.

Un promotore procariotico possiede due sequenze fondamentali: la **sequenza di riconoscimento**, ossia la sequenza riconosciuta dall'RNA polimerasi, e il **TATA box** (così denominato poiché ricco di coppie di basi AT), che si trova più vicino al sito di inizio e in corrispondenza del quale il DNA inizia a denaturarsi per esporre il filamento stampo.

Le cose sono notevolmente diverse negli **eucarioti**. L'RNA polimerasi degli eucarioti non è in grado di legarsi semplicemente al promotore e di iniziare a trascrivere; essa infatti si lega al DNA soltanto dopo che sul cromosoma si sono associate varie proteine regolatrici dette **fattori di trascrizione**.

Il primo fattore di trascrizione si lega al TATA box, inducendo un cambiamento di forma sia di sé stesso sia del DNA, favorendo così il legame di altri fattori di trascrizione (tra cui l'RNA polimerasi) che vengono a formare il **complesso di trascrizione**.

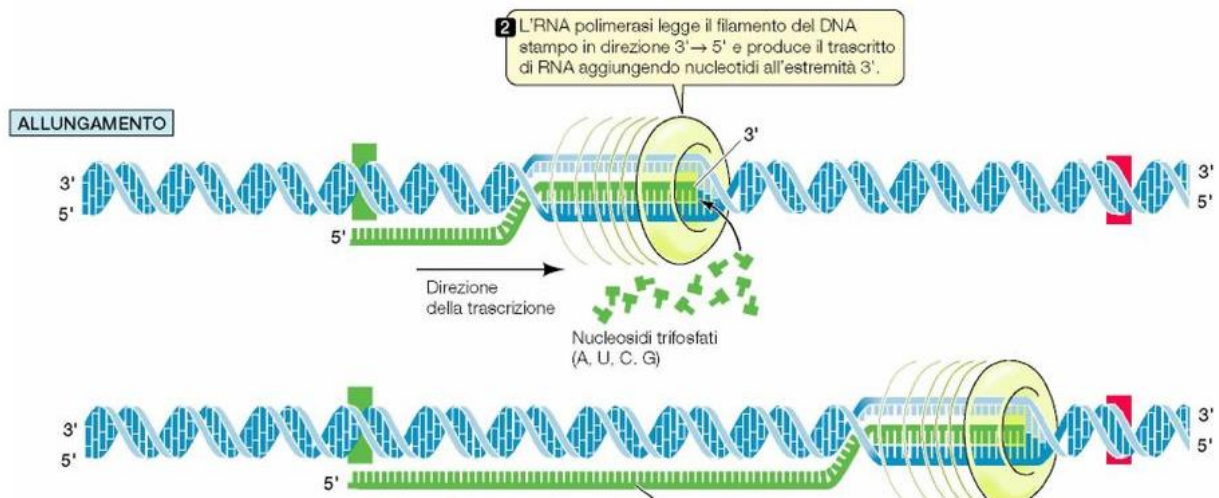
Alcune sequenze del DNA, come il TATA box, si trovano comunemente nei promotori di molti geni eucariotici e vengono riconosciute da fattori di trascrizione presenti in tutte le cellule dell'organismo. Altre sequenze dei promotori sono specifiche di particolari geni e vengono riconosciute da fattori di trascrizione presenti soltanto in particolari tessuti. Questi specifici fattori di trascrizione svolgono un ruolo importante nel differenziamento, ossia nella specializzazione delle cellule durante lo sviluppo.



Allungamento

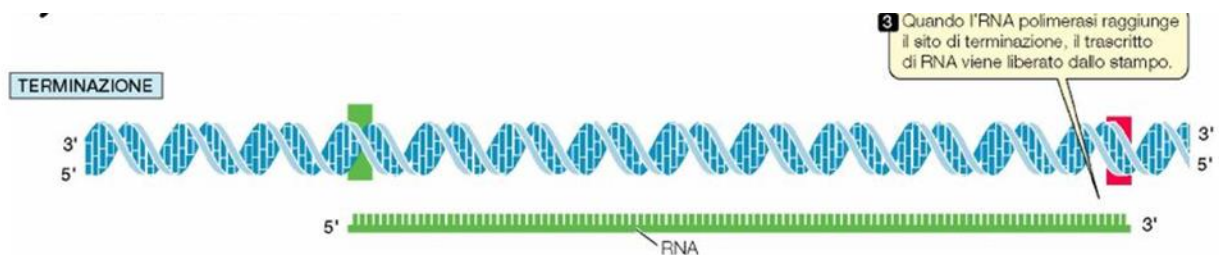
Dopo che l'RNA polimerasi si è legata al promotore, incomincia il processo dell'allungamento.

La RNA polimerasi apre il DNA a circa 10 basi per volta e legge il filamento di stampo in direzione 3'-5'. Come la DNA polimerasi, anche la RNA polimerasi aggiunge i nuovi nucleotidi all'estremità 3' del filamento in crescita, ma non ha bisogno di un primer per dare inizio al processo. Il nuovo RNA si allunga verso l'estremità 3' partendo dalla prima base che costituisce l'estremità 5'. Di conseguenza l'RNA trascritto è antiparallelo al filamento di stampo del DNA.

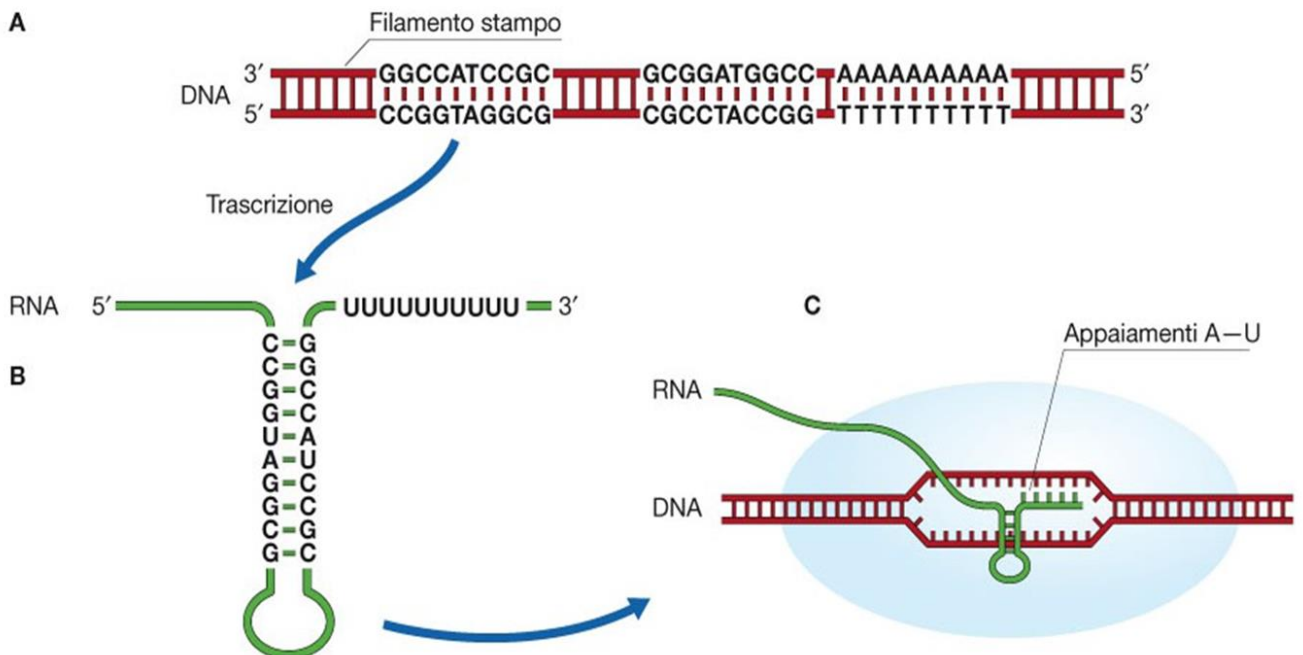
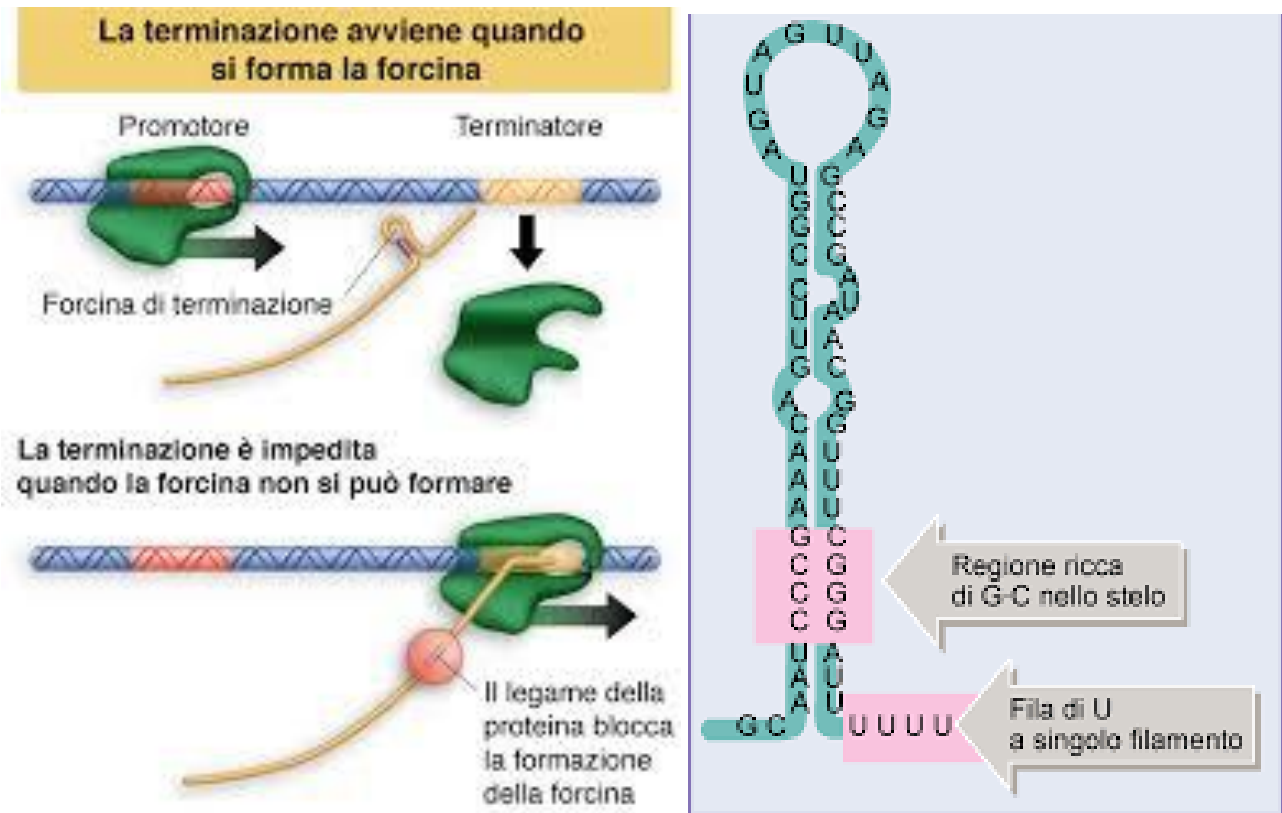


Terminazione

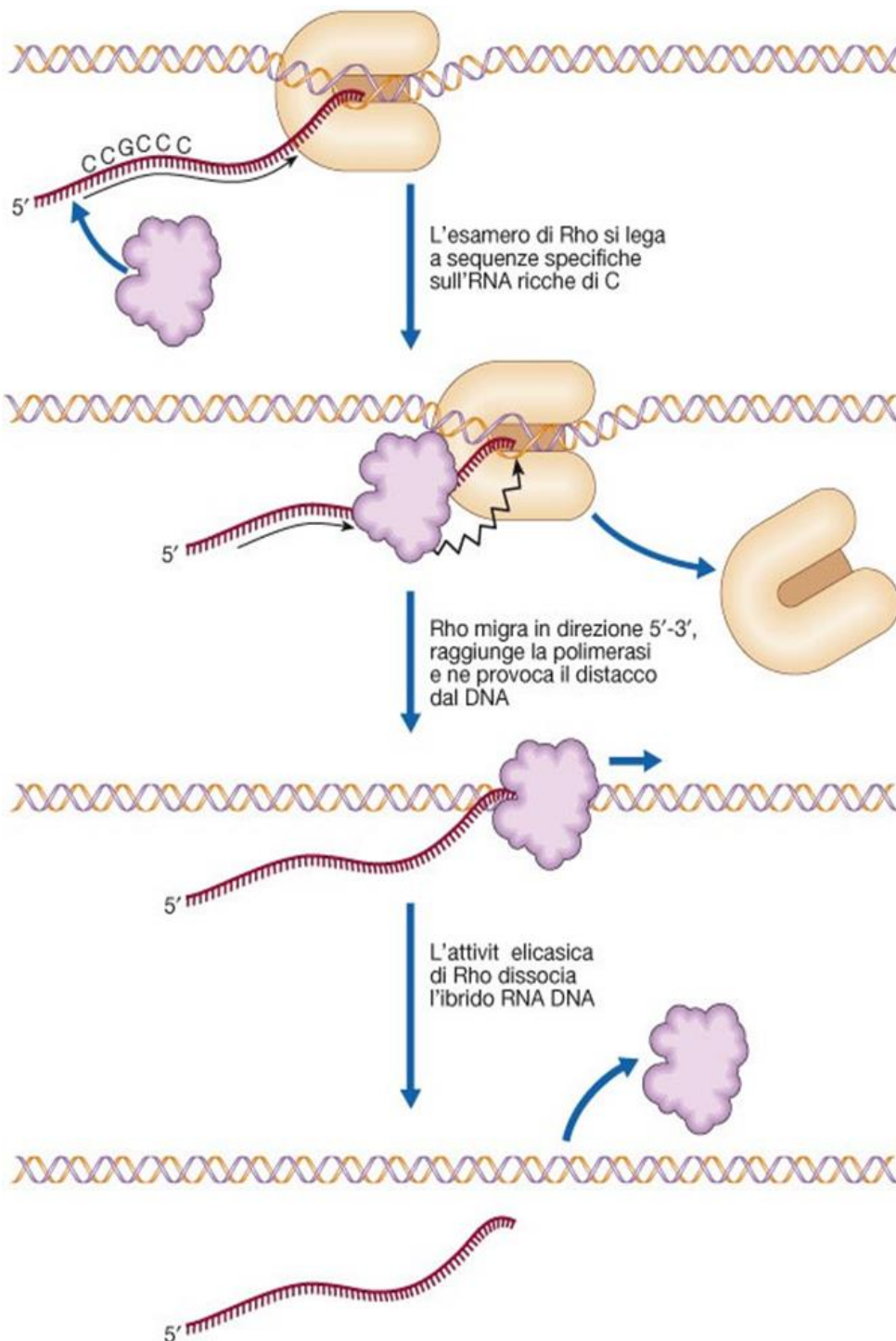
Analogamente al sito di inizio che precisa il punto di partenza della trascrizione, sul filamento stampo del DNA ci sono particolari sequenze di basi che ne stabiliscono la terminazione.



I **terminatori intrinseci** sono rappresentati da un tratto di DNA che contiene sequenze palindromiche ricche in G-C, seguite da un tratto di 8-9 nucleotidi ricco di A-T.



I **terminatori Rho-dipendenti** richiedono l'intervento della proteina Rho che svolge l'ibrido DNA-RNA



La trascrizione presenta un meccanismo di controllo della fedeltà (o proofreading), ma esso è molto meno efficace di quelli legati alla replicazione del DNA; lo stesso meccanismo di sintesi dell'RNA comporta un numero di errori decisamente maggiore.

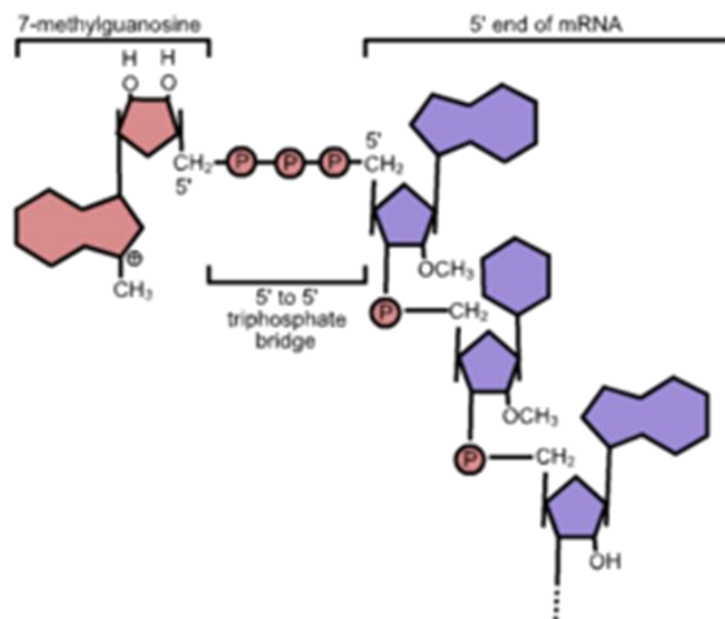
maturazione dell' mRNA

La maturazione dell' mRNA consiste in una serie di processi chimici che trasformano una molecola di pre m-RNA (trascritto primario) in m-RNA

La maturazione dell'm-RNA richiede tre processi:

Capping – Poliadenilazione – Splicing

Capping



Il processo del cosiddetto capping ("rivestimento") in 5' è vitale nella creazione di RNA messaggero maturo, in grado poi di avviare il processo di traduzione dell' mRNA in proteina.

Poco dopo che la RNA polimerasi ha iniziato a trascrivere l'informazione genetica, la cellula inizia ad operare sul trascritto delle modifiche. Quando l'mRNA è lungo solo circa 30 nucleotidi, la cellula lega un nucleotide guanosina sulla terminazione libera (5'). Il pezzo aggiunto, che contribuisce a rendere più stabile l'mRNA e che è importante per il riconoscimento e l'aggancio appropriato dell' mRNA al ribosoma, è chiamato **cappuccio** ed è insolito per tre motivi: la base di guanina è metilata, la connessione è formata da tre fosfati invece del normale singolo fosfato e l'orientazione del nucleotide è opposta a quella normale.

Poliadenilazione

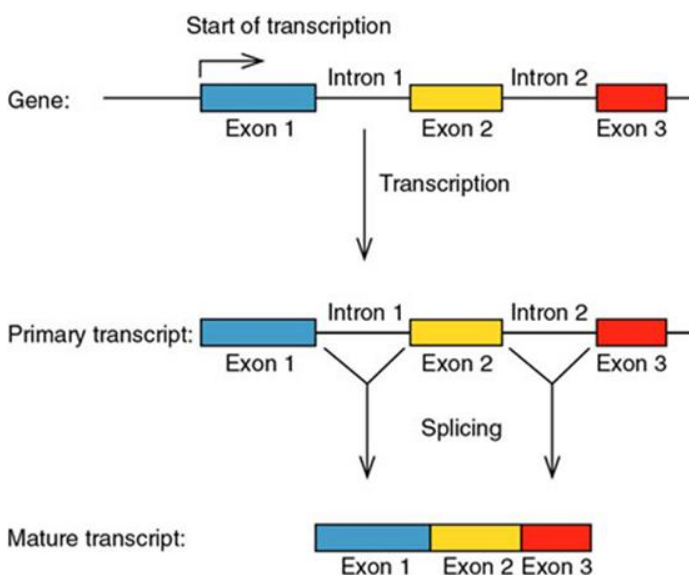
La poliadenilazione consiste nell'aggiunta di un numero elevato di A all'estremità 3' della catena di pre-mRNA nascente. In linea generale, tutte le molecole di pre-mRNA possono andare incontro alla poliadenilazione ad esclusione delle molecole che codificano per gli istoni. Il numero di A inserite è molto variabile, ma è compreso tra circa cento e duecentocinquanta.

La presenza del poli(A) impedisce l'azione delle esonucleasi 3'-5' e fa sì che l'mRNA possa essere tradotto prima che venga degradato.

Splicing

Lo splicing è il processo mediante il quale il pre-mRNA viene modificato attraverso la rimozione di alcuni tratti di sequenze non codificanti chiamate **introni**; i tratti rimanenti, che includono le sequenze per la codifica delle catene polipeptidiche, sono chiamati **esoni**.

Lo splicing è praticato di solito da complessi snRNA-proteina chiamati spliceosomi, ma alcune molecole di RNA sono anche capaci di catalizzare un autosplicing.



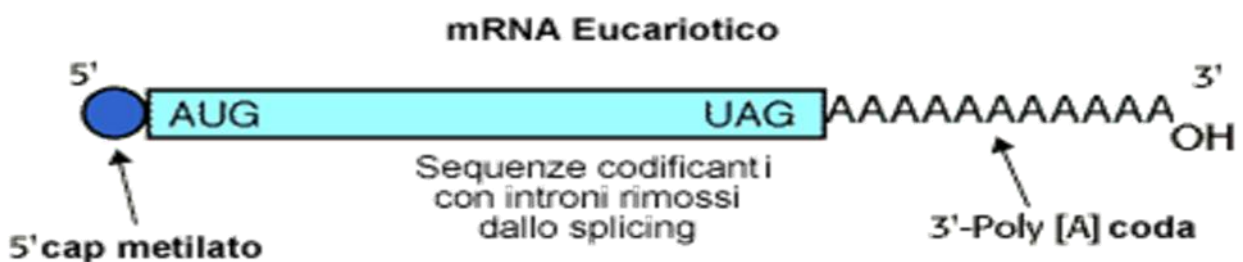
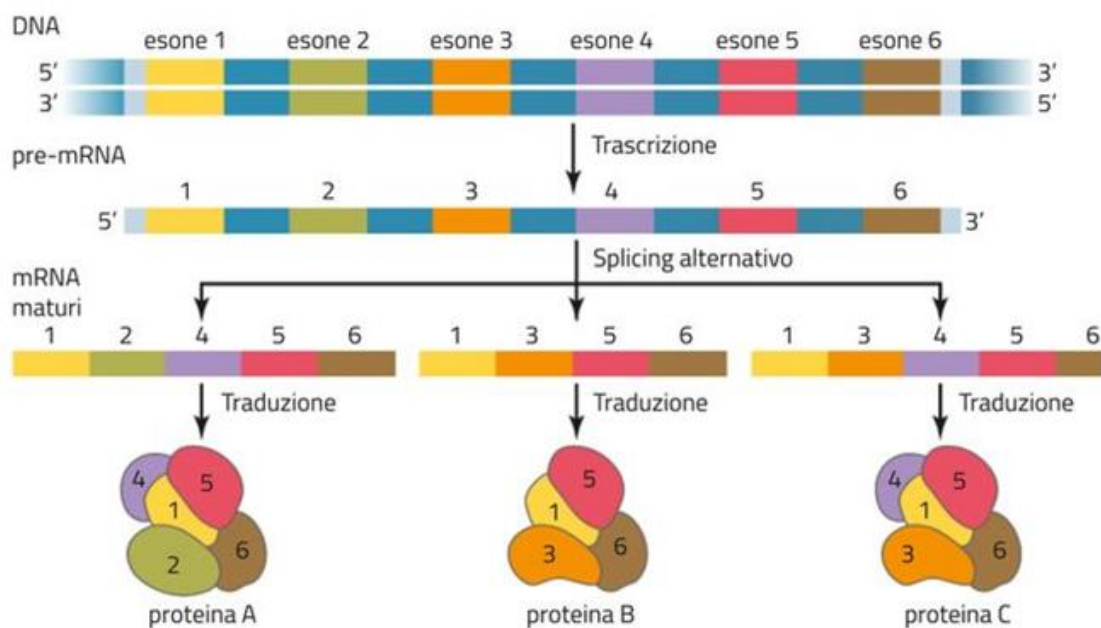
A volte le informazioni portate dall'mRNA possono essere "montate" in modi diversi, permettendo ad un singolo gene di codificare per diverse proteine. Questo processo è chiamato **splicing alternativo**.

Gli introni, infatti, possono essere escissi in maniere diverse generando un diverso arrangiamento degli esoni, facendo sì che da uno stesso gene possano derivare diverse proteine, dette **isoforme**.

Recenti stime affermano che il 90% dei geni di *Homo sapiens* ubiscono splicing alternativo.

Si conta che ogni gene umano dia vita, in media, a 4 proteine diverse.

Questo meccanismo di saldatura alternativa spiega, in parte, perché negli organismi superiori non ci sia un rapporto lineare tra numero di geni e complessità dell'organismo (=numero di proteine), che dipende, pertanto, anche dalla capacità di utilizzare più o meno diffusamente il meccanismo dello splicing alternativo.



La regolazione dell'espressione genica nei procarioti – Il modello dell'operone

L'operone costituisce un insieme di geni che vengono regolati in modo strettamente coordinato. L'organizzazione dei geni in operoni è un elemento fondamentale nella regolazione genica dei procarioti: gli operoni contengono infatti, oltre ai geni che devono essere trascritti, sequenze particolari, denominate siti di controllo, che con vari meccanismi regolano l'espressione dei geni dell'intero operone.

Gli operoni vennero studiati per la prima volta nel 1961 dai biologi francesi François Jacob e Jacques Monod.

Struttura

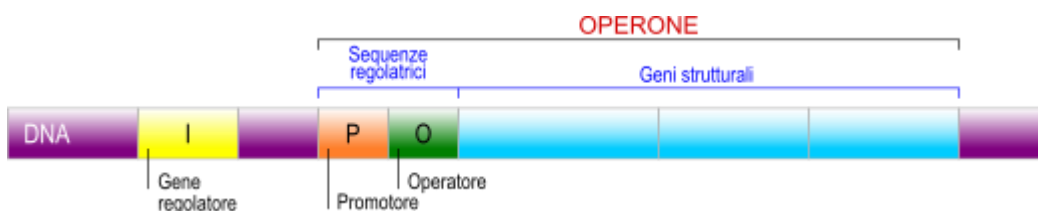
Un operone contiene i seguenti elementi:

Uno o più **geni strutturali**, ovvero geni che codificano per determinati enzimi o proteine necessari alla cellula.

Un **promotore**, situato a monte dei geni, ovvero una sequenza di DNA che, legandosi all'RNA polimerasi, permette l'inizio della trascrizione.

Un **operatore**, frammento di DNA che regola l'espressione dei geni strutturali. L'operatore svolge questa funzione interagendo con una specifica proteina chiamata **proteina repressore** o **proteina attivatore**, a seconda che impedisca o stimoli l'espressione.

L'operone può anche contenere un **gene regolatore**, che codifica per una proteina regolatrice. Questo gene, tuttavia, non viene normalmente considerato parte integrante dell'operone, in quanto può trovarsi dislocato in un punto del genoma anche molto lontano dall'operone stesso.



P e O sono elementi in CIS I è un elemento in TRANS

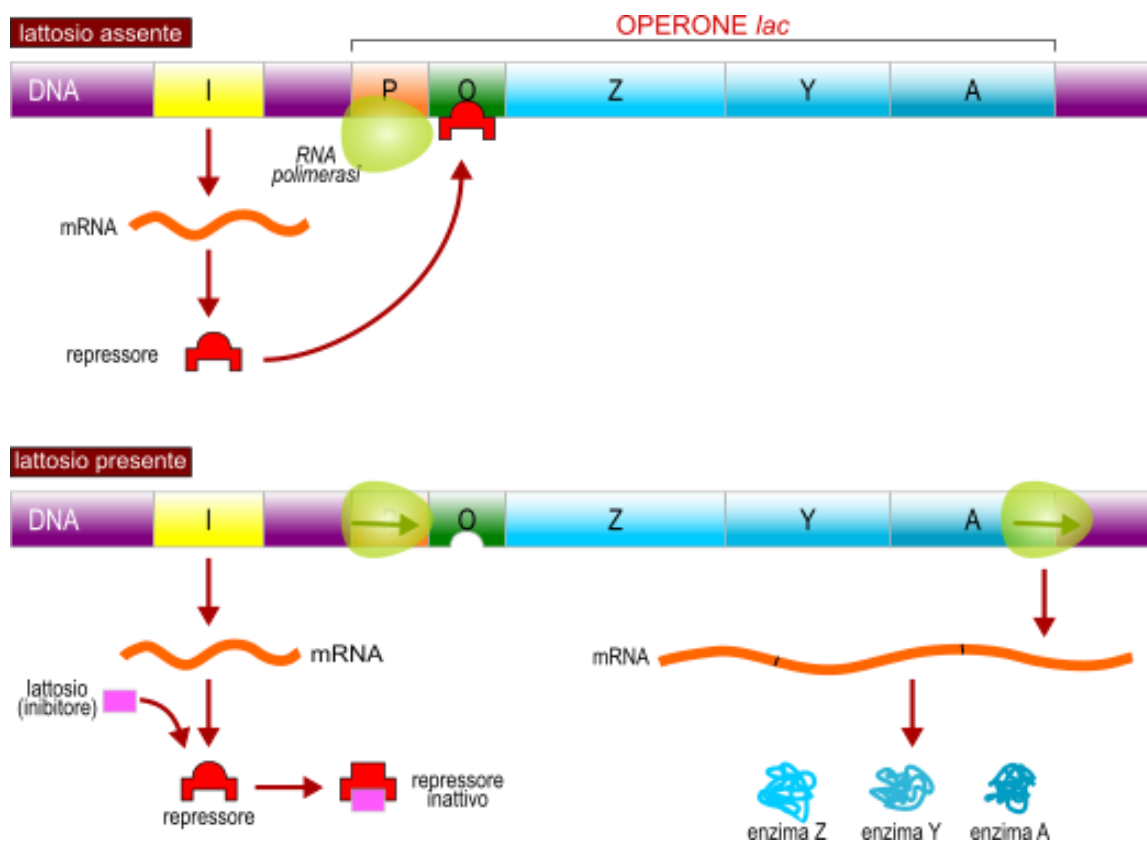
Il controllo attraverso gli operoni permette alle cellule di regolare l'espressione genica a seconda delle condizioni dell'ambiente in cui vivono.

Si distinguono due tipi di regolazione, una di **tipo negativo** e una di **tipo positivo**.

La **regolazione negativa** coinvolge il legame di una **proteina repressore** all'operatore per impedire la trascrizione. Gli operoni sottoposti a regolazione negativa si distinguono in **operoni inducibili o reprimibili**, a seconda del tipo di feedback.

Negli **operoni inducibili negativi**, una proteina repressore si trova legata, in condizioni normali, all'operatore, impedendo così la trascrizione dei geni dell'operone. Se però nella cellula è presente una particolare molecola, detta induttrice, essa si lega alla proteina repressore, cambiandone la conformazione e rendendola incapace di legare l'operatore, permettendo così la trascrizione.

Ne è un esempio il **lac-operon**.



Enzima Z (beta-galattosidasi)

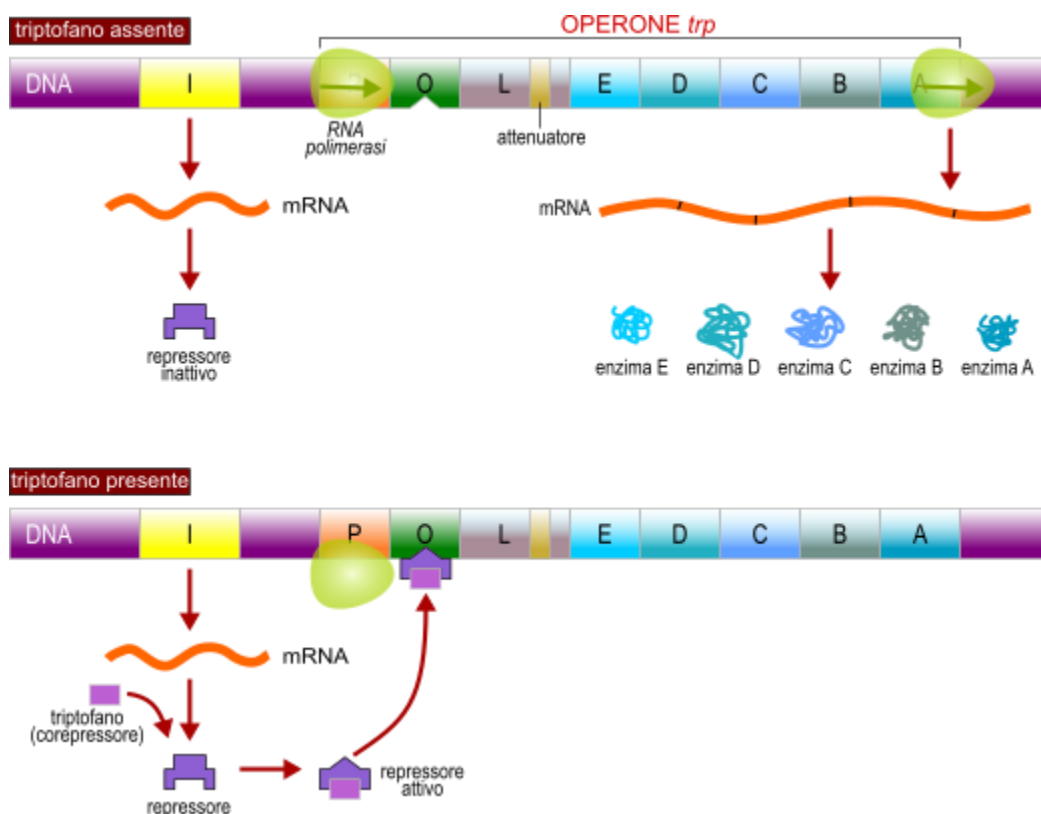
Enzima Y (Permeasi)

Enzima A (Transacetilasi)

Negli **operoni reprimibili negativi**, la trascrizione dei geni dell'operone avviene regolarmente in condizioni normali.

La proteina repressore, infatti, pur essendo attivamente prodotta dal gene regolatore, è incapace di legarsi all'operatore nella sua conformazione normale. Tuttavia, alcune molecole chiamate **corepressori** possono legarsi alla proteina repressore, e cambiarne la conformazione in modo da renderla capace di legarsi all'operatore e di impedire così la trascrizione.

Ne è un esempio il **trp-operon**



Negli operoni sottoposti a **regolazione positiva**, una **proteina attivatore** si lega al DNA (normalmente ad un sito diverso dall'operatore) stimolando la trascrizione. Anche gli operoni sottoposti a controllo positivo si suddividono in operoni inducibili o reprimibili.

Negli **operoni inducibili positivi**, la proteina attivatore è normalmente incapace di legarsi all'operatore. Certe molecole, tuttavia, possono legarsi alla proteina attivatore e cambiare la sua conformazione in modo da renderla capace di legarsi al DNA e incentivare, così, la trascrizione.

Negli **operoni reprimibili positivi**, la proteina attivatore si trova legata all'operatore in condizioni normali, e la trascrizione avviene perciò regolarmente.

Determinate molecole però possono legarsi all'attivatore e impedirgli, cambiandone la conformazione, di legarsi all'operatore.

In questo modo, la trascrizione viene inibita.