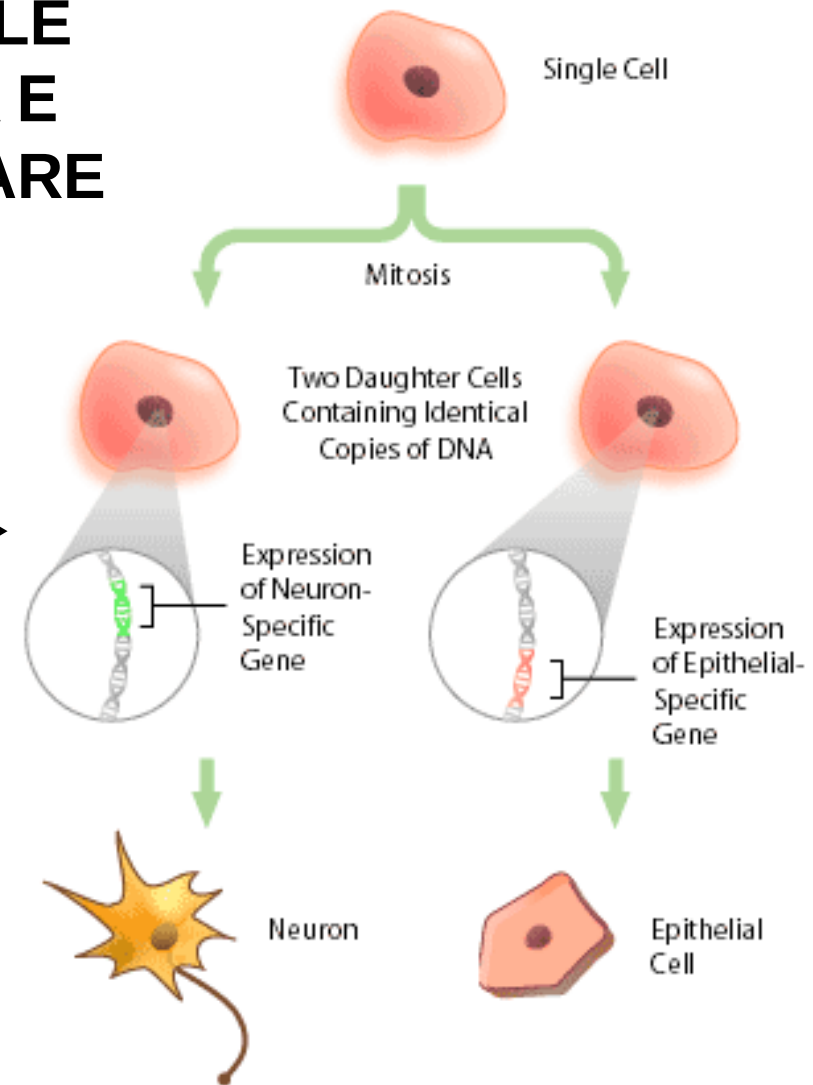
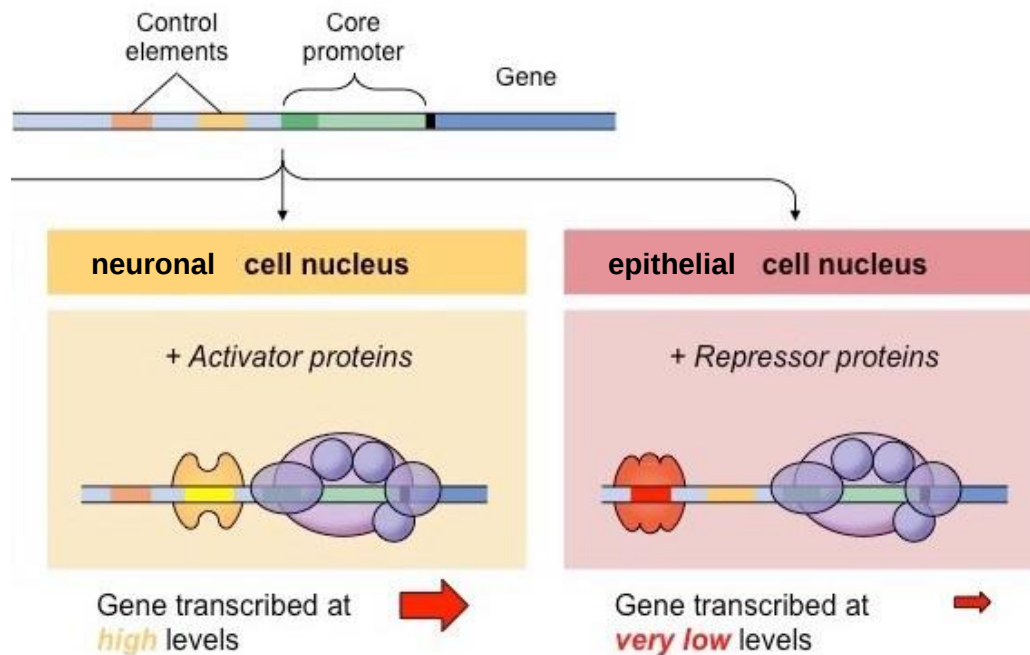


# REGOLAZIONE DIFFERENZIALE DELL'ESPRESSIONE GENICA E DIFFERENZIAMENTO CELLULARE

## FATTORI DI TRASCRIZIONE TESSUTO-SPECIFICI

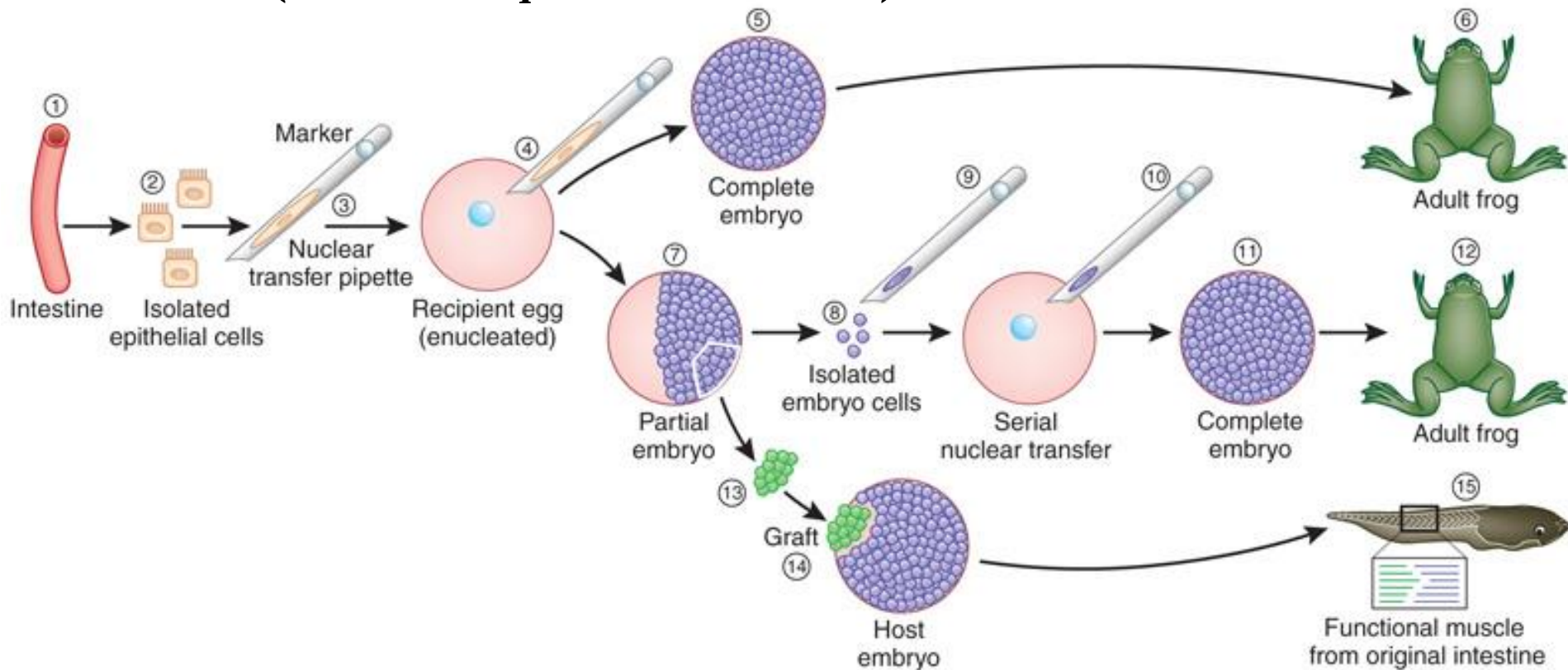


## Come vengono mantenuti i profili di espressione genica?

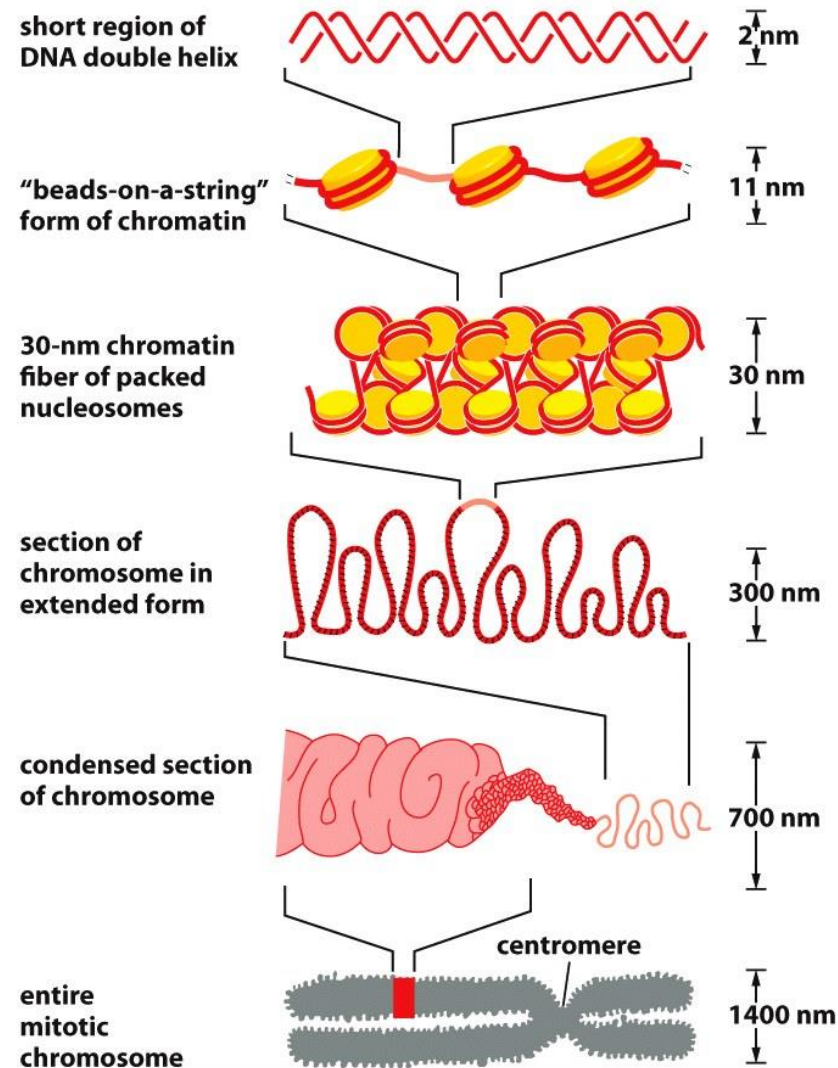
Non sempre i fattori di trascrizione rimangono attivi per tutta la vita di una cellula, eppure i fenotipi differenziati sono stabili, come mostrato dalla inefficienza del processo di riprogrammazione.

### MEMORIA EPIGENETICA

Meccanismi di mantenimento dei profili di espressione genica indipendenti dalla sequenza del DNA. Sono dovuti a modificazioni nella struttura della cromatina (non della sequenza nucleotidica).

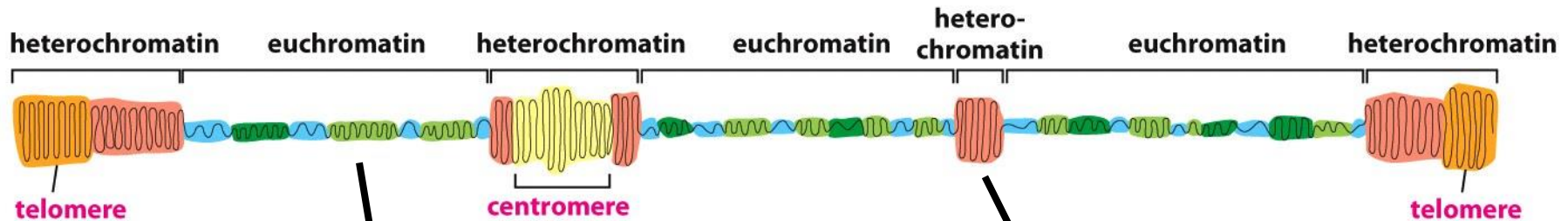


# IL DNA NUCLEARE E' ASSOCIATO A PROTEINE (ES. ISTONI) NELLA CROMATINA, CHE PUO' PRESENTARE DIVERSI LIVELLI DI COMPATTAZIONE



**NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH**

# LA CROMATINA DEL CROMOSOMA INTERFASICO PRESENTA LOCALMENTE DIVERSI LIVELLI DI CONDENSAZIONE

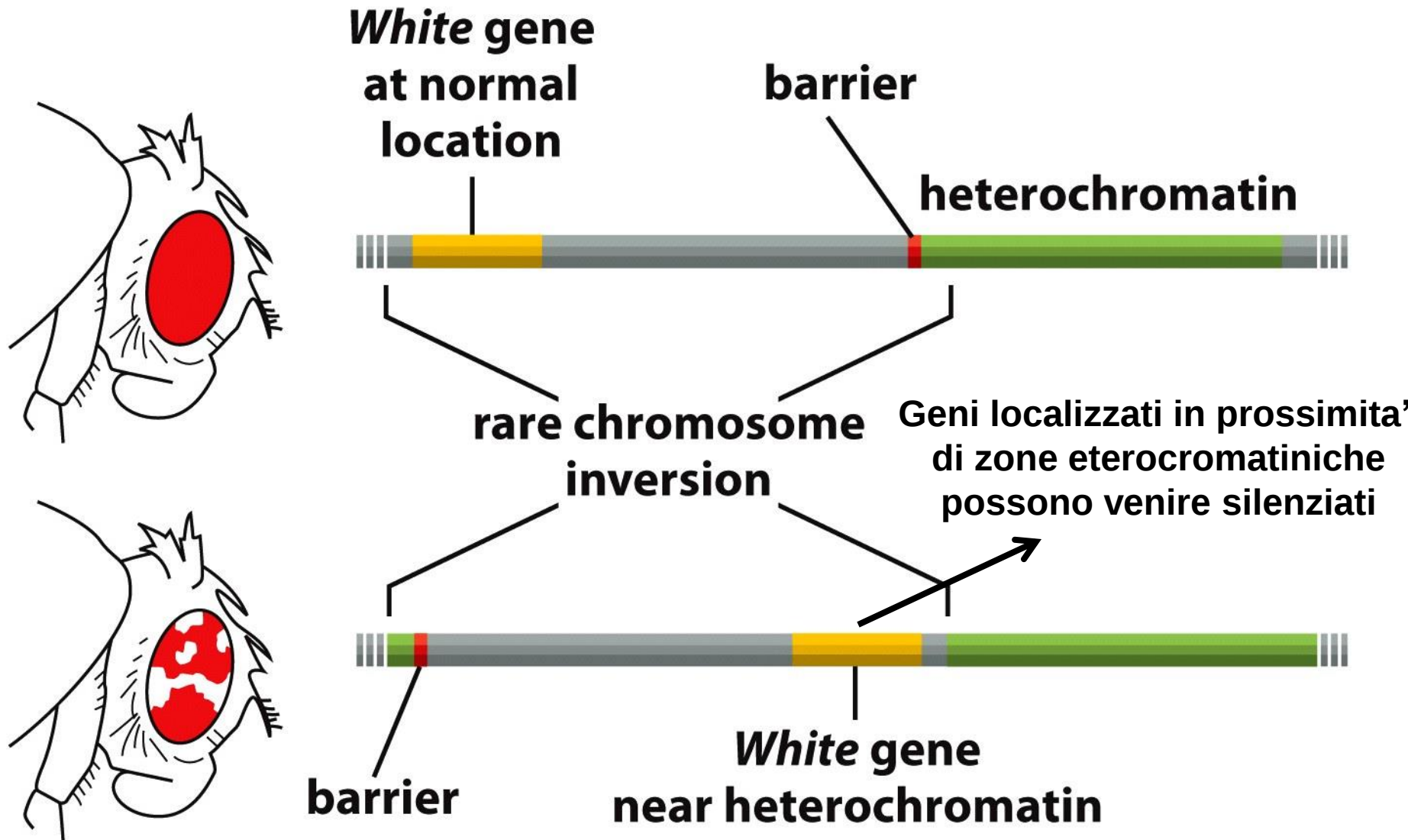


**EUCROMATINA:**  
cromatina meno condensata;  
puo' permettere attivazione  
dell'espressione genica

**ETEROCROMATINA:**  
cromatina fortemente condensata;  
conduce a silenziamento  
dell'attivit  genica

**La condensazione della cromatina rende i geni inaccessibili ai fattori di trascrizione ed al macchinario trascrizionale**

# IL GRADO DI CONDENSAZIONE DELLE CROMATINA INFLUISCE FORTEMENTE SULL'ATTIVITA' DEI GENI

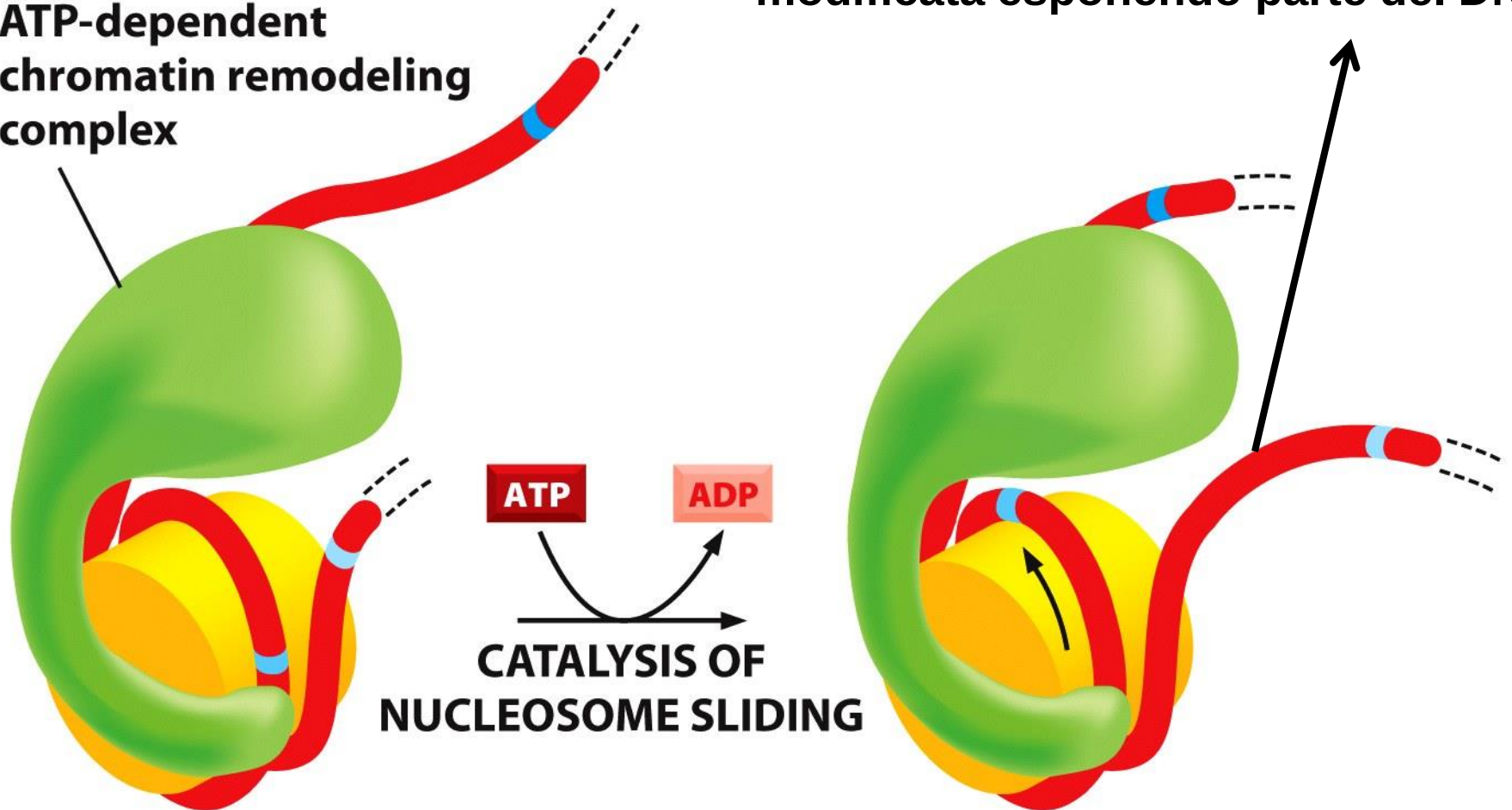


# MODIFICAZIONI DELLA CROMATINA CHE REGOLANO L'ESPRESSIONE GENICA:

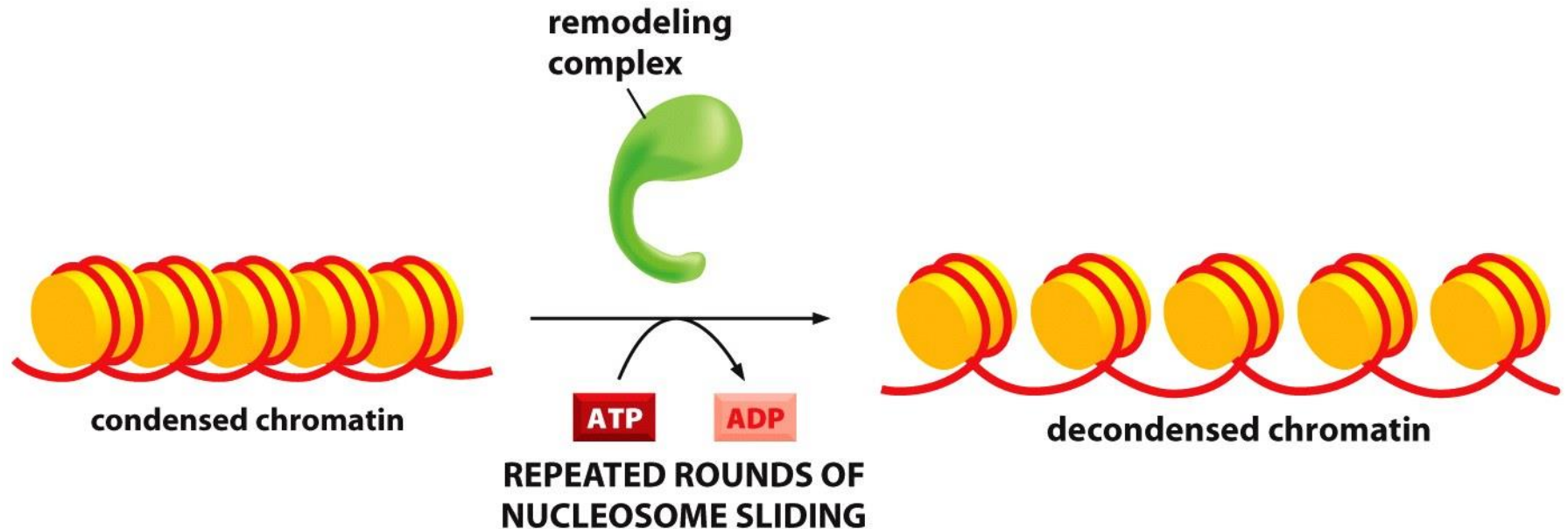
## 1) IL POSIZIONAMENTO DEI NUCLEOSOMI E' REGOLATO IN MODO DINAMICO DA ATTIVITA' ENZIMATICHE PER PERMETTERE (O IMPEDIRE) L'ACCESSO AL DNA

La posizione del nucleosoma e' stata modificata esponendo parte del DNA

ATP-dependent  
chromatin remodeling  
complex



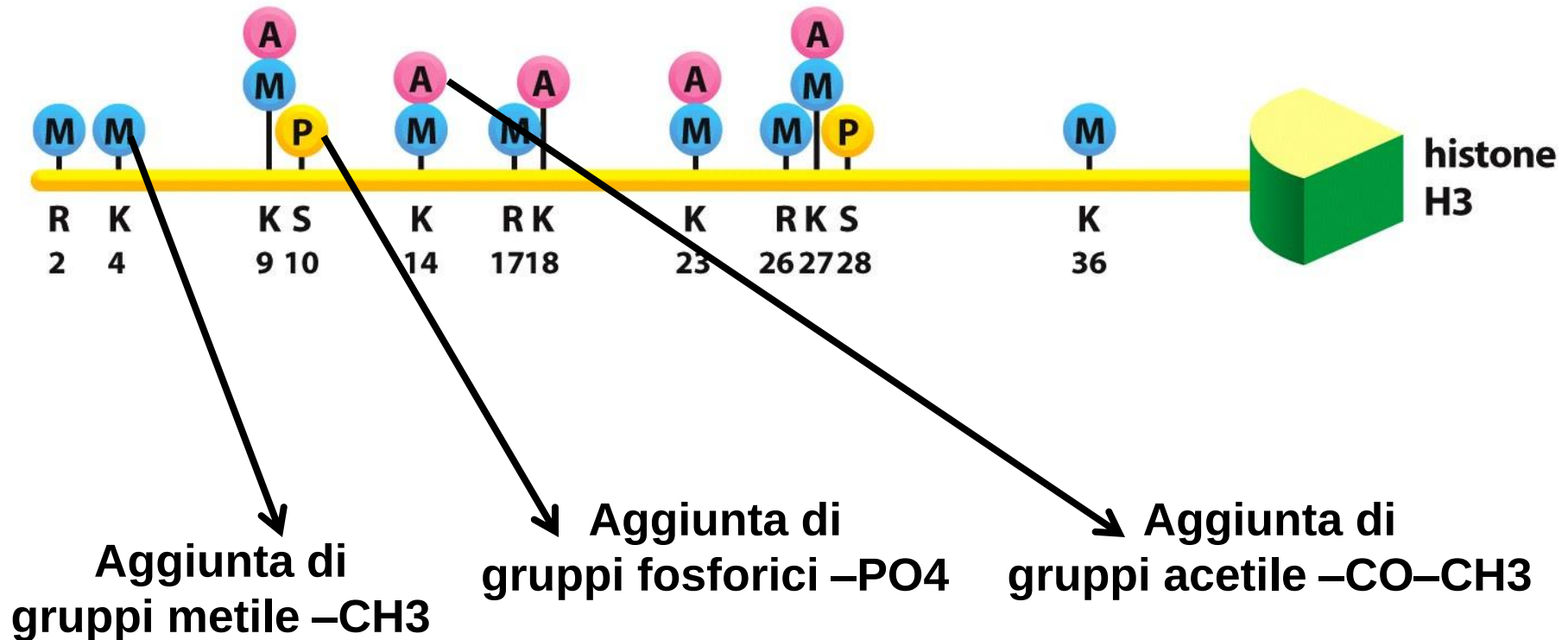
**MODIFICANDO LA POSIZIONE DI DIVERSI NUCLEOSOMI E' POSSIBILE CAMBIARE LOCALMENTE LO STATO DI CONDENSAZIONE DELLA CROMATINA E RENDERE ACCESSIBILI (O INACCESSIBILI) CERTE SEQUENZE DI DNA**



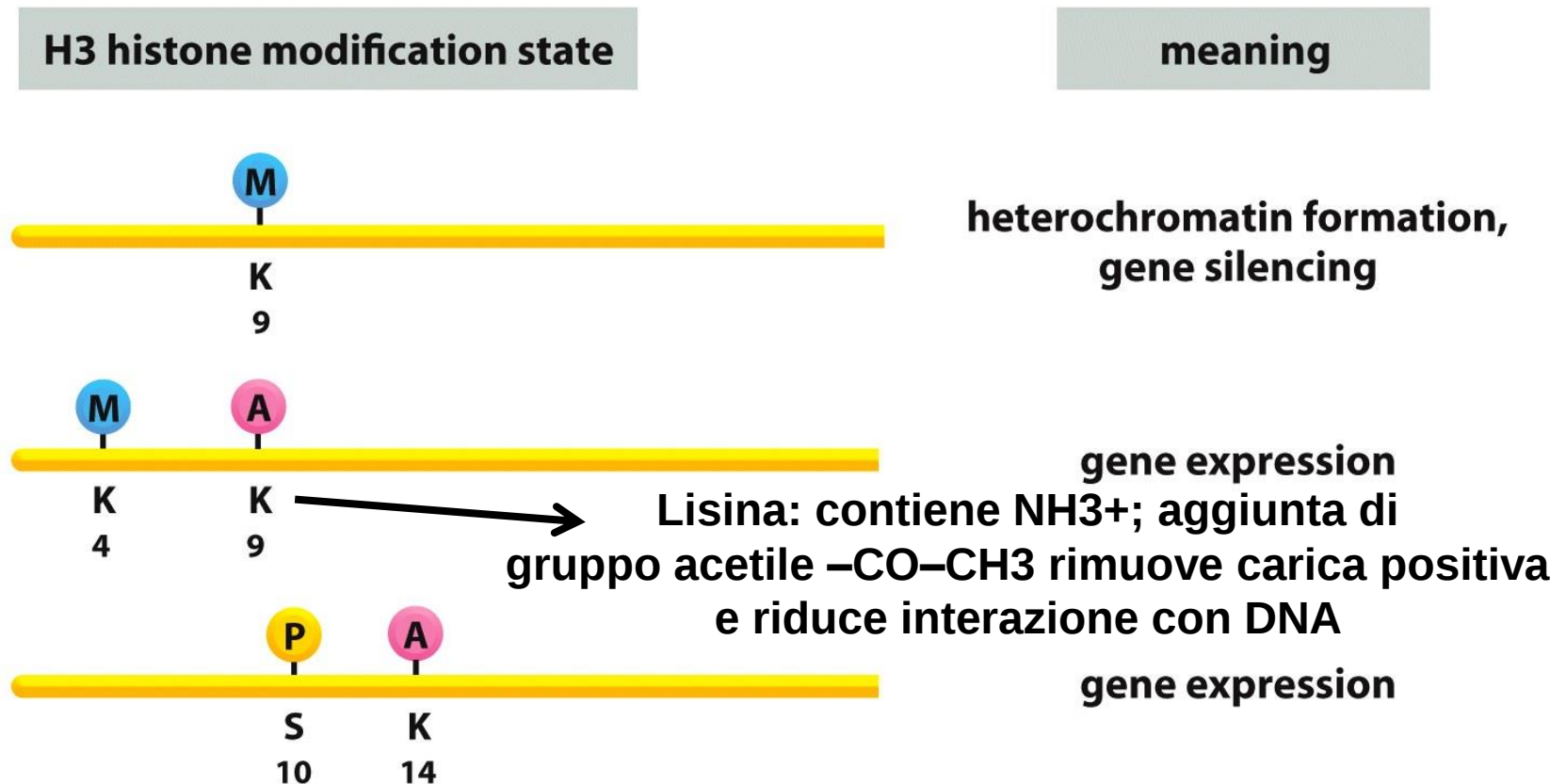
**La posizione dei nucleosomi e' stata modificata esponendo parte del DNA**

# MODIFICAZIONI DELLA CROMATINA CHE REGOLANO L'ESPRESSIONE GENICA:

## 2) LE CODE N-TERMINALI DELLE PROTEINE ISTONICHE POSSONO SUBIRE MODIFICAZIONI COVALENTI REVERSIBILI



# LE MODIFICAZIONI DELLE CODE ISTONICHE POSSONO INFLUIRE SULLA CONDENSAZIONE DELLA CROMATINA E REGOLARE L'ACCESSO AL DNA



**CODICE ISTONICO:** regola interazioni elettrostatiche DNA-Istoni, e la capacita' di attrarre proteine regolatorie che modificano localmente la condensazione della cromatina

**Acetilazione** degli istoni: in genere ha effetto di attivazione

**Metilazione** degli istoni: puo' causare attivazione o repressione a seconda dell'amminoacido metilato

In genere: H3K4me3 -> attivazione

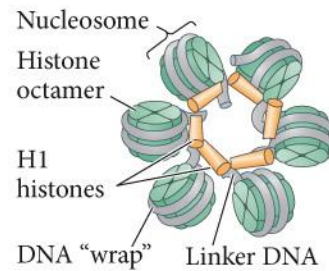
H3K9me3 -> repressione

H3K27me3 -> repressione

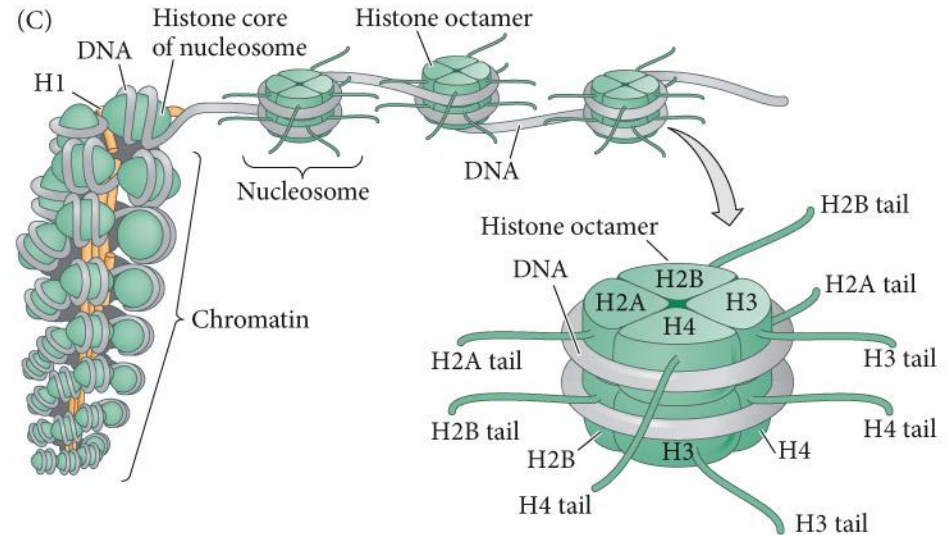
(A)



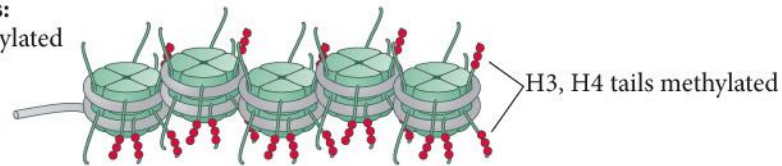
(B)



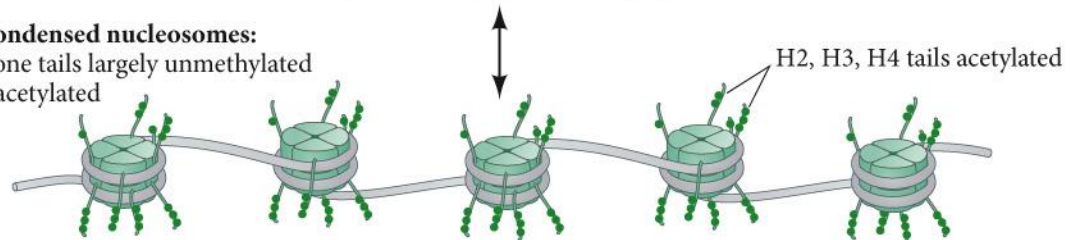
(C)

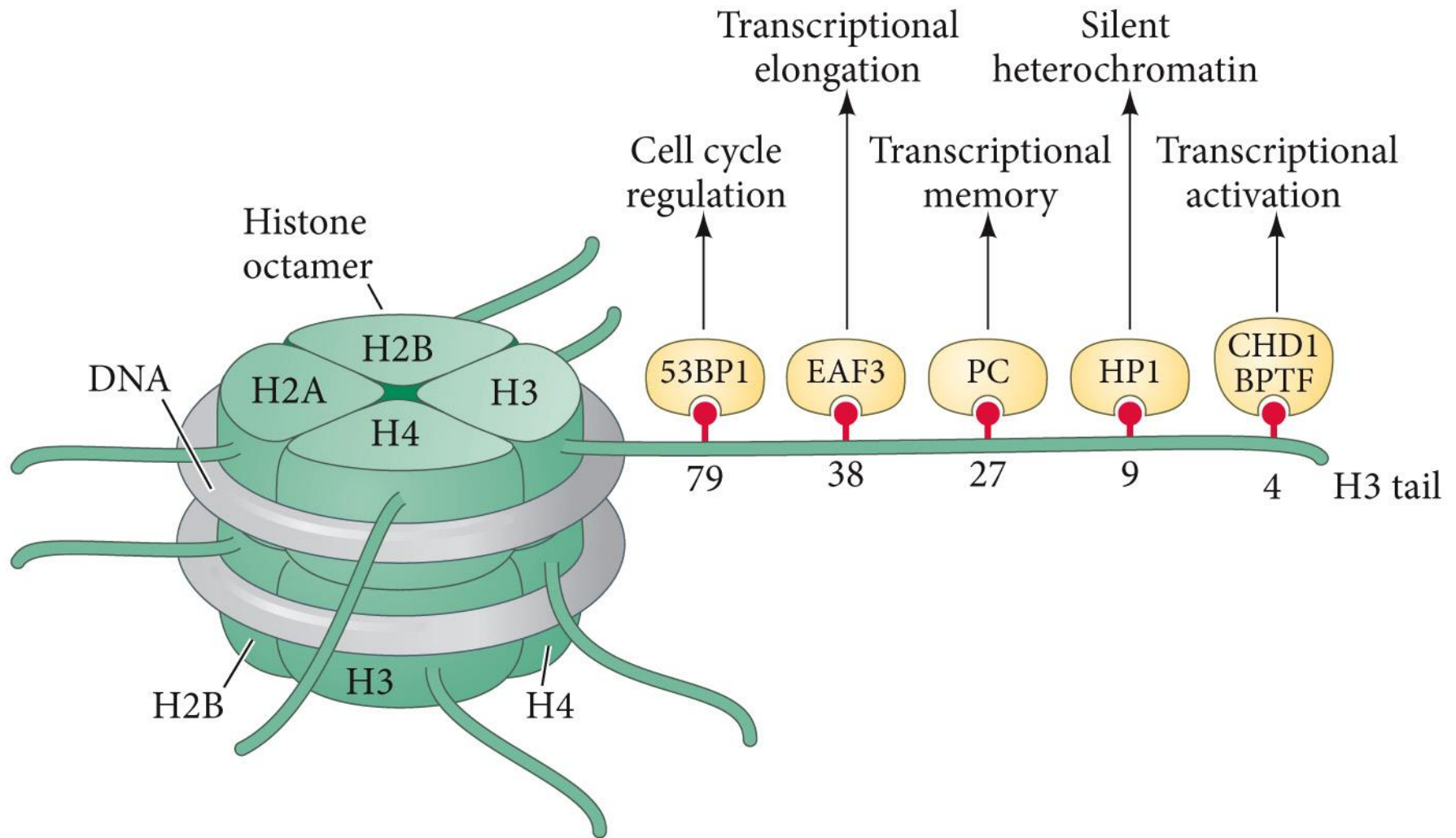


(D) **Condensed nucleosomes:**  
Histone tails largely methylated



**Uncondensed nucleosomes:**  
Histone tails largely unmethylated and acetylated

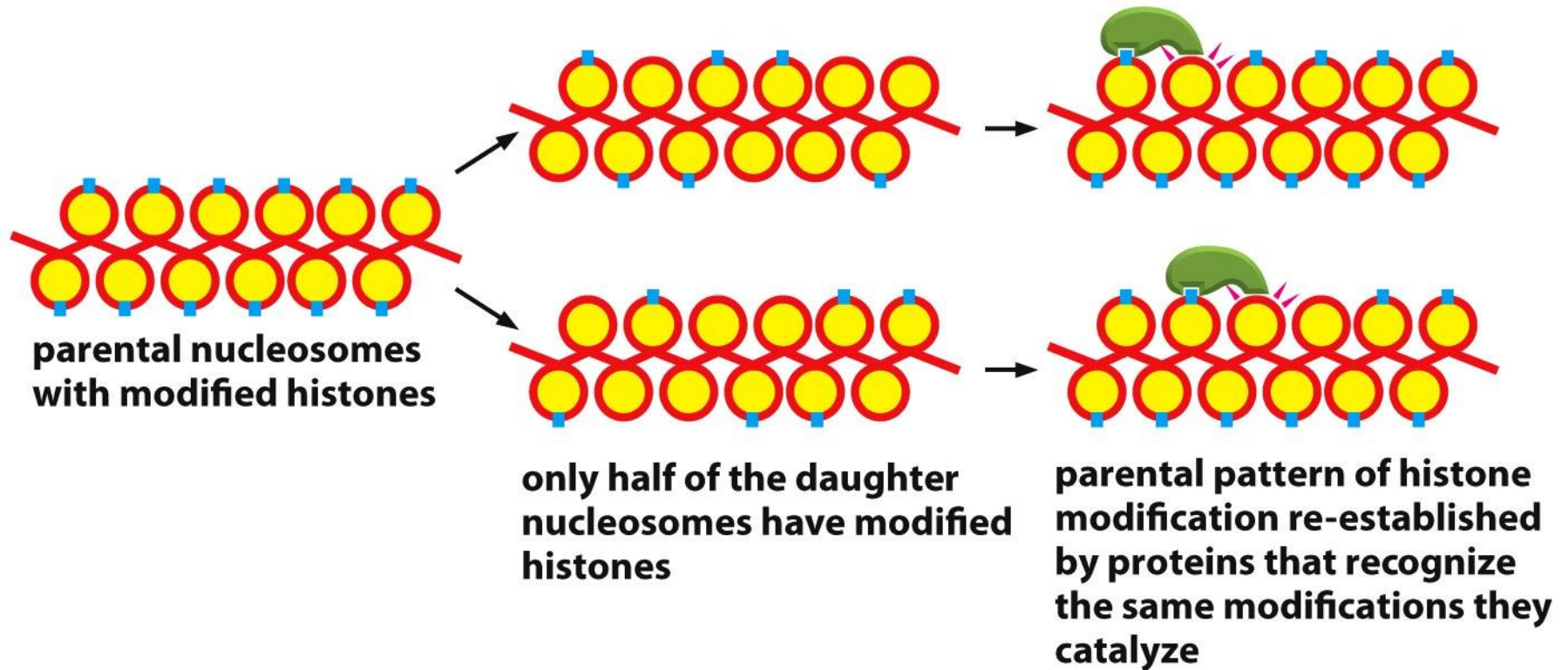




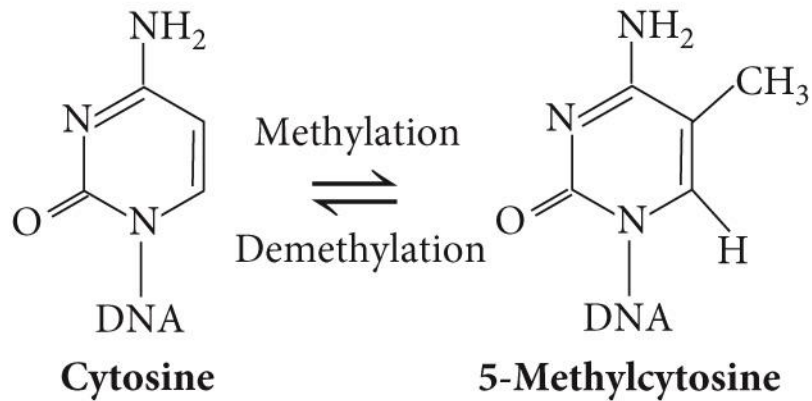
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 3.5  
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Lisine metilate sulle code istoniche agiscono come segnali di reclutamento per complessi proteici che promuovono localmente la compattazione (repressione) o la decompattazione (attivazione) del DNA

# LE VARIAZIONI DELLA STRUTTURA DELLA CROMATINA SONO EREDITABILI (EREDITA' O MEMORIA EPIGENETICA)



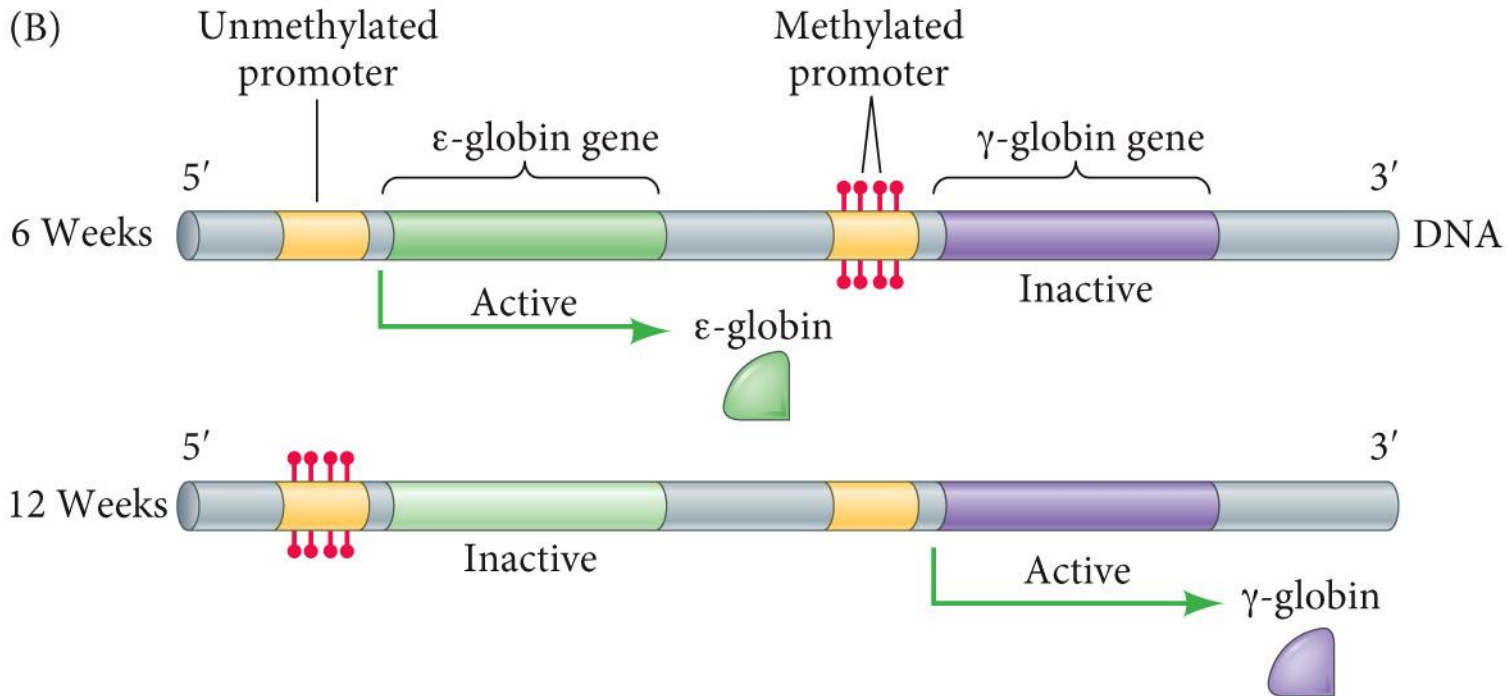
(A)



**Nel DNA, la citosina in sequenze CpG puo' andare incontro a metilazione.**

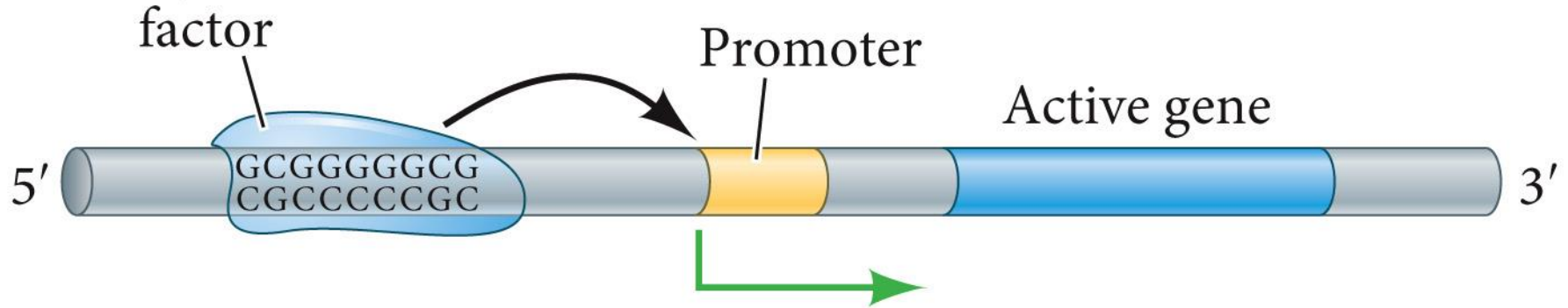
**Nei vertebrati, la presenza di citosine metilate nelle regioni regolatorie e' correlato alla repressione dell'espressione genica.**

(B)

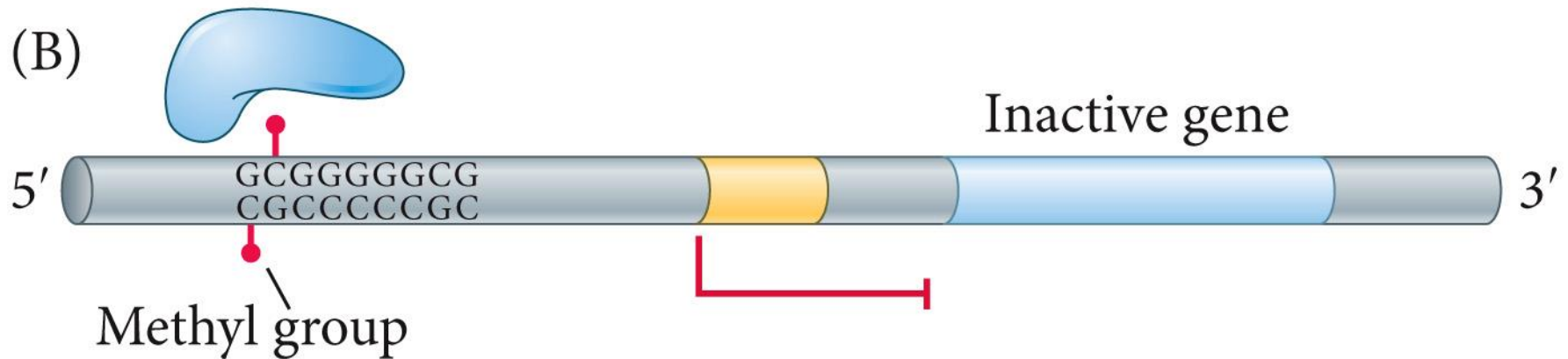


# La metilazione del DNA puo' reprimere l'espressione genica bloccando il legame dei fattori di trascrizione alle regioni regolatorie dei geni

(A) Egr1 transcription

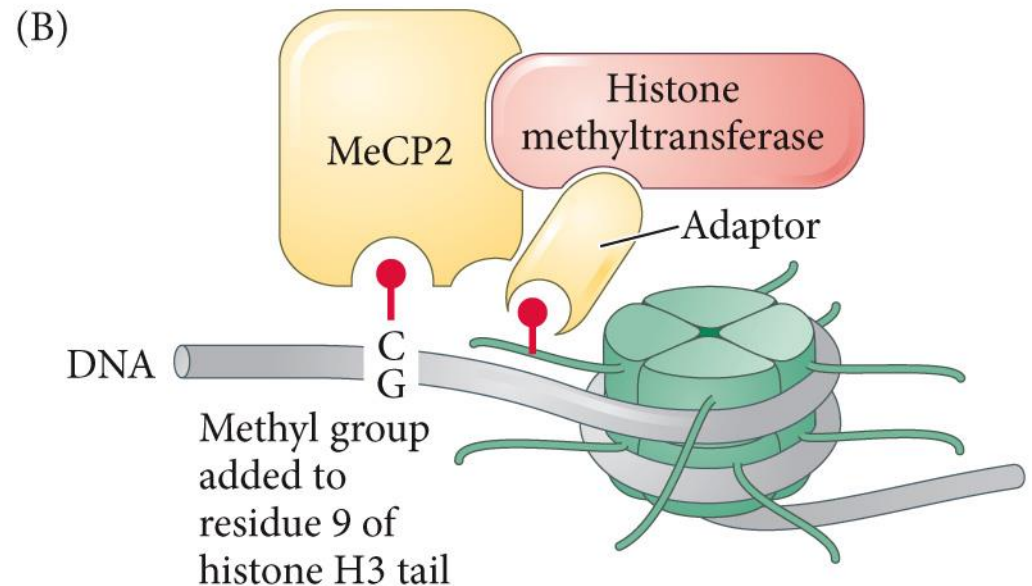
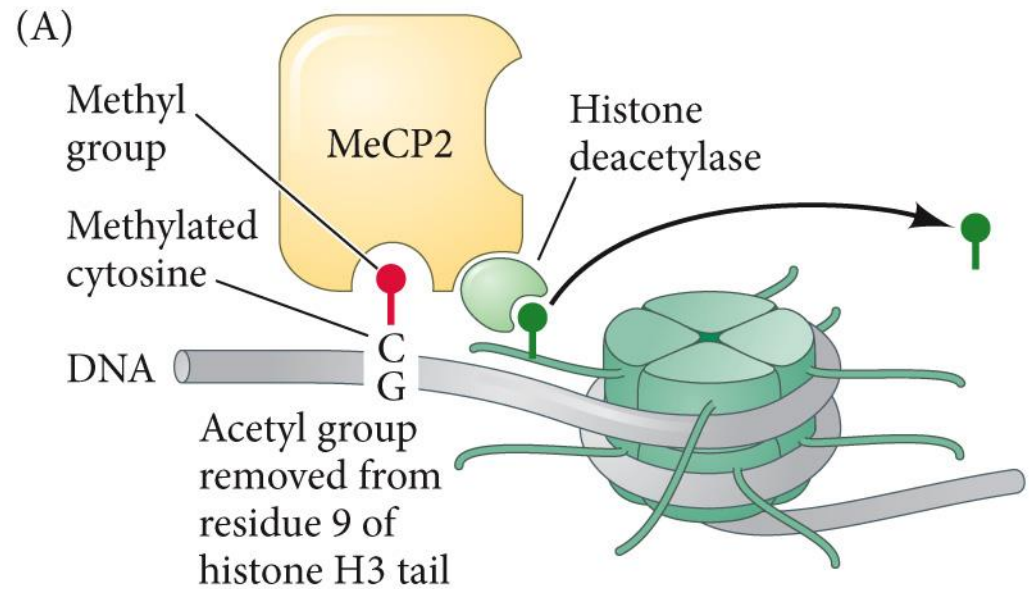


(B)

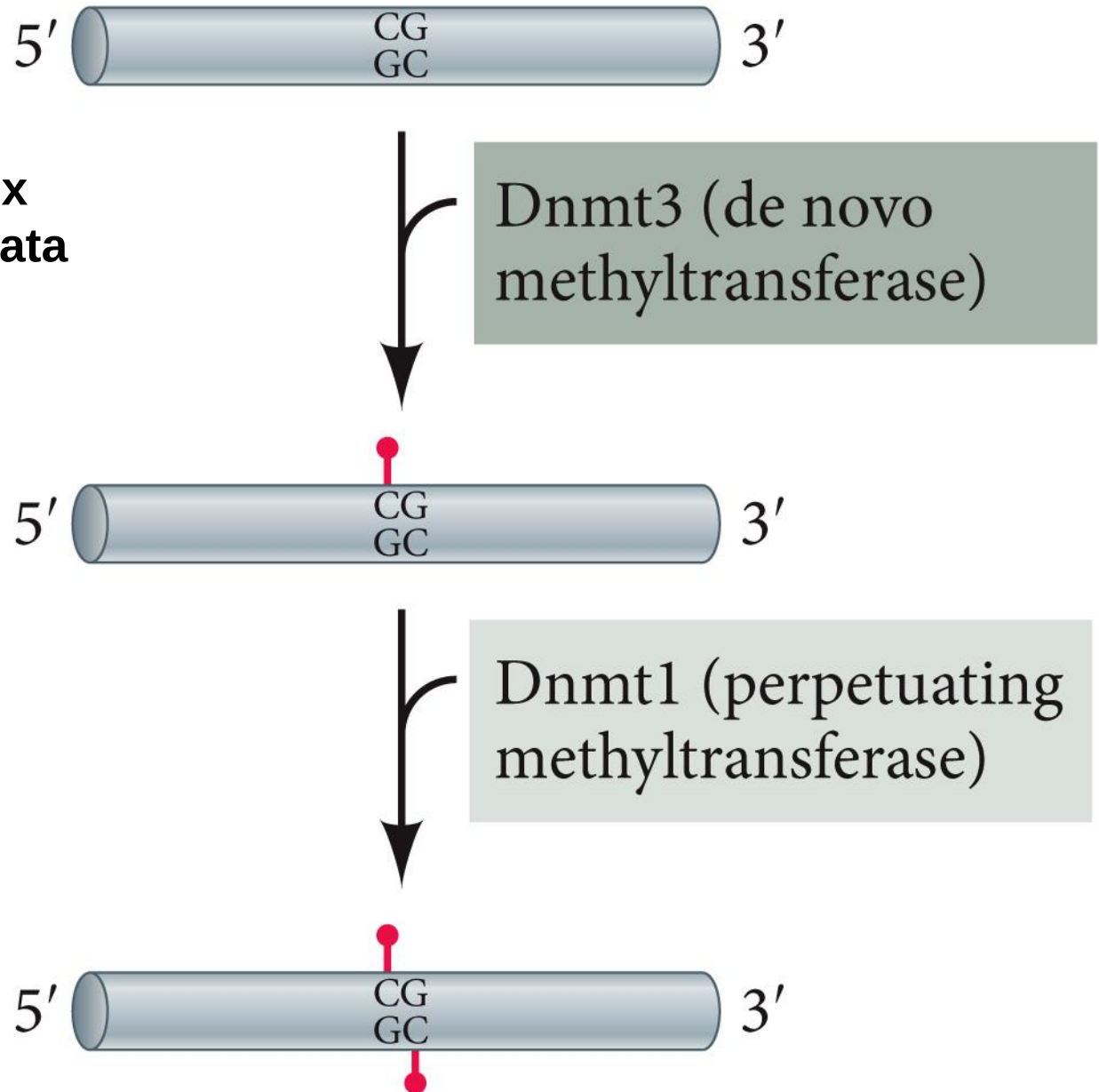


**La metilazione del DNA puo' indurre il reclutamento di complessi proteici che promuovono modificazioni istoniche di tipo repressivo, causando la compattazione della cromatina.**

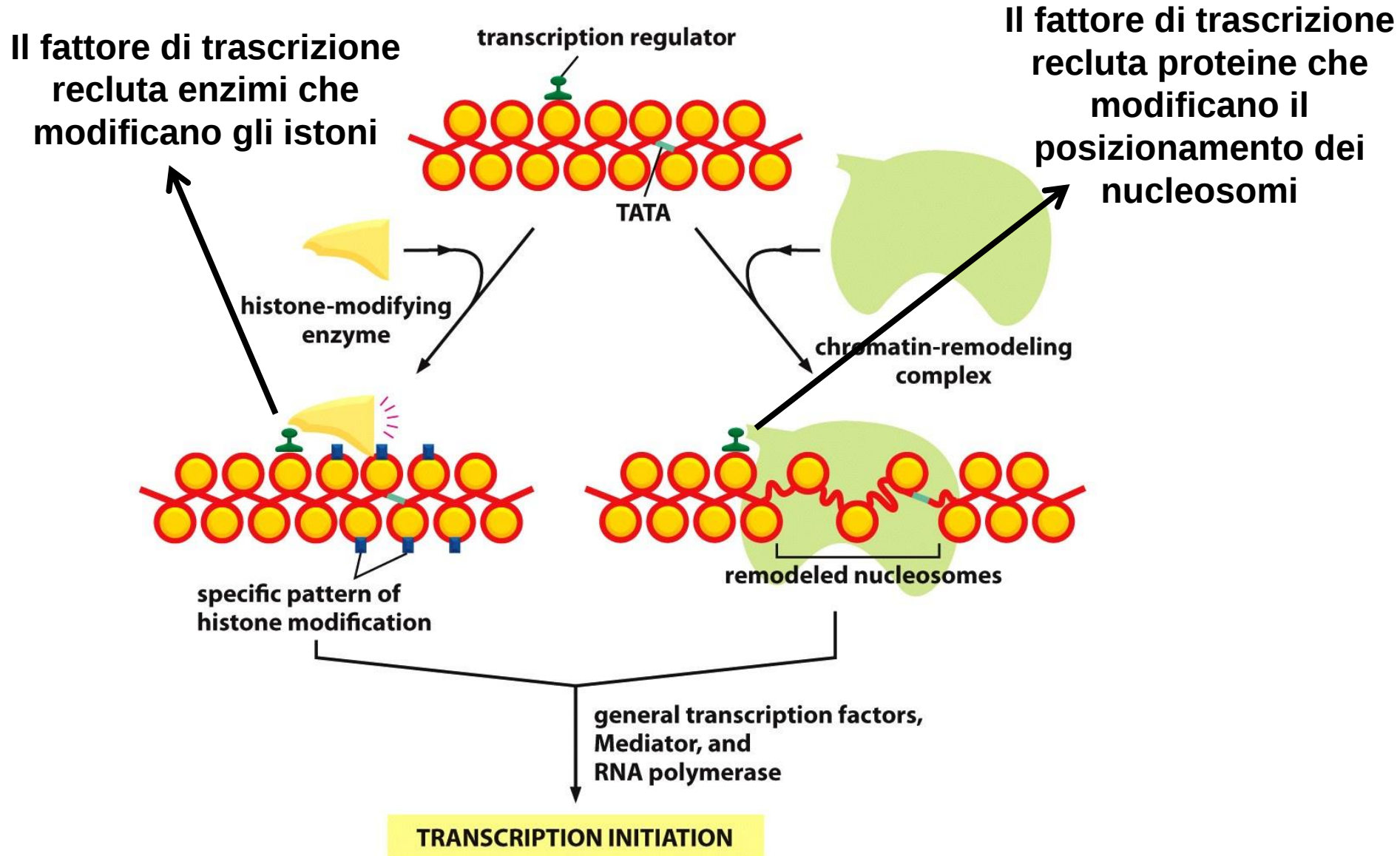
**Puo' avvenire anche il contrario: modificazioni istoniche repressive possono reclutare enzimi che metilano il DNA.**



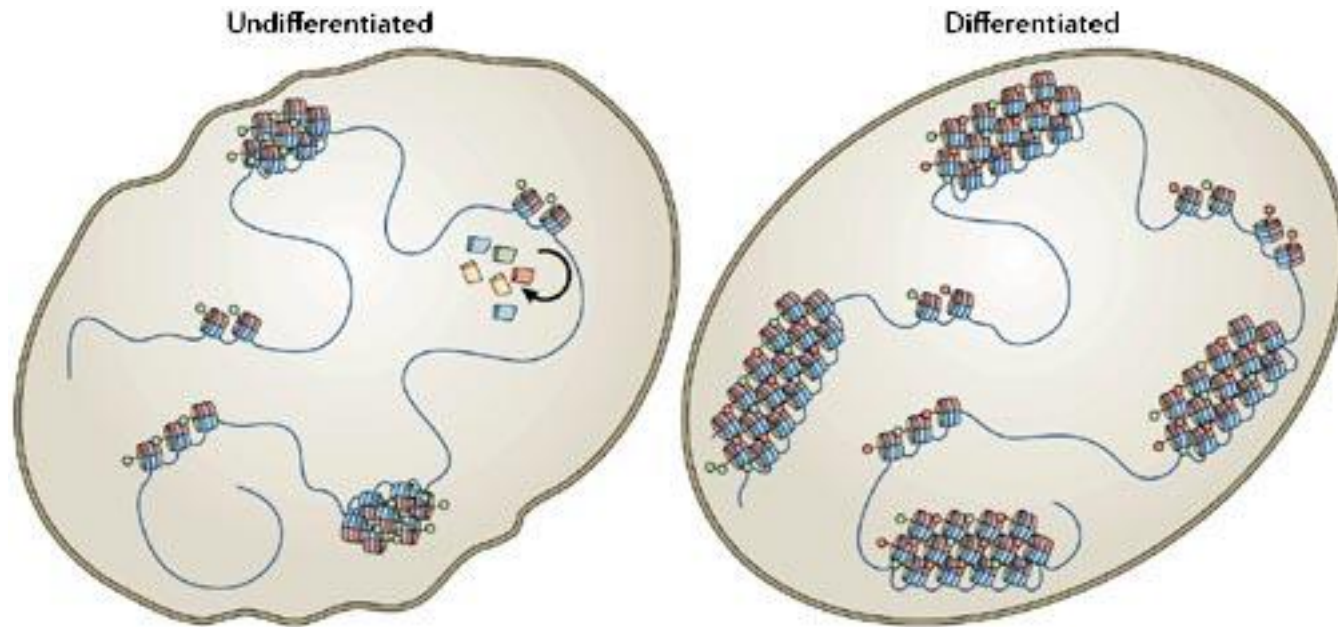
**La metilazione del DNA  
puo' essere introdotta ex  
novo, ma anche propagata  
durante le divisioni  
cellulari (MEMORIA  
EPIGENETICA)**



# NEGLI EUCARIOTI I FATTORI DI TRASCRIZIONE POSSONO REGOLARE IN MODO DURATURO L'ESPRESSIONE GENICA MODIFICANDO LOCALMENTE LA STRUTTURA DELLA CROMATINA

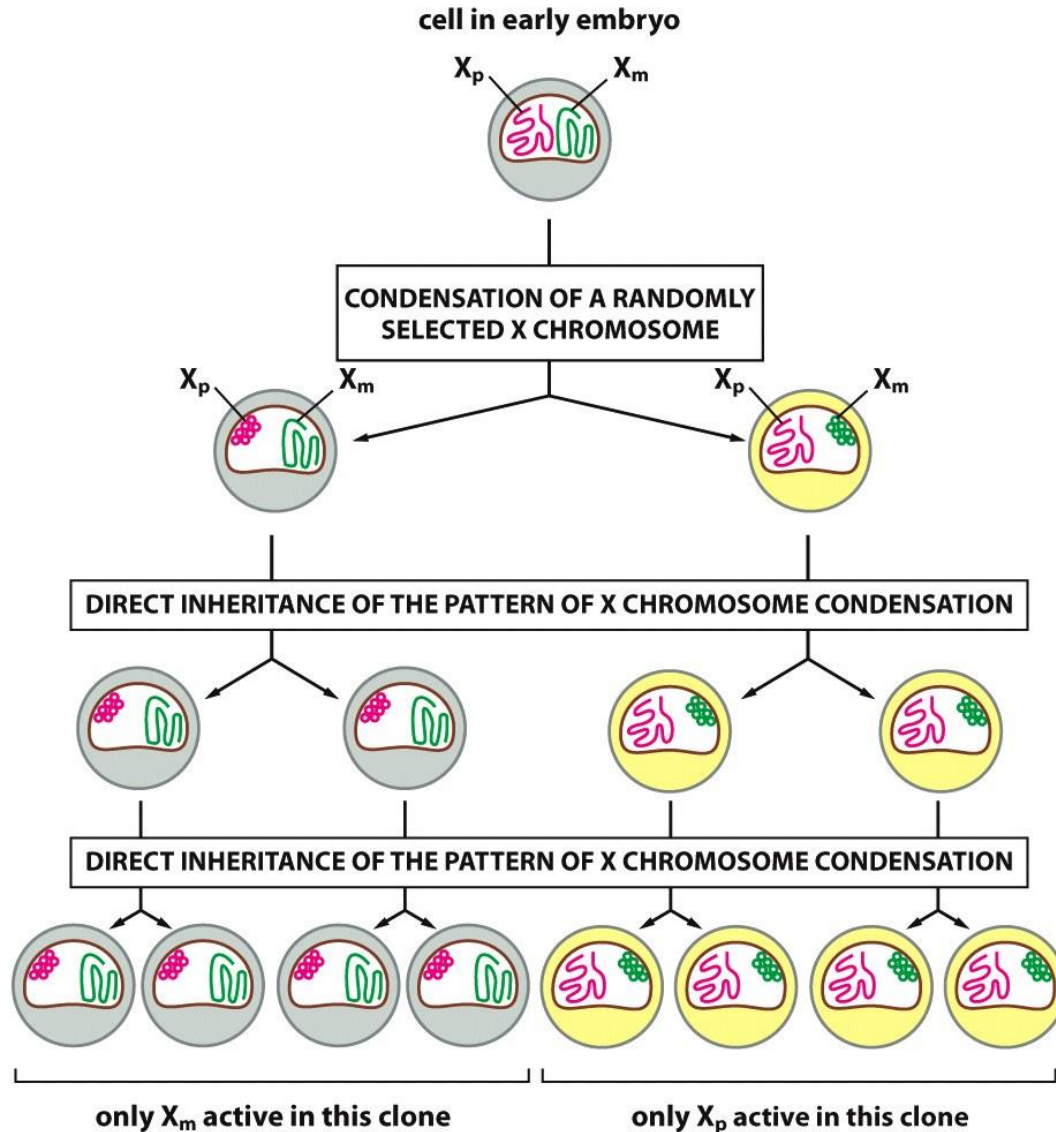


**In cellule pluripotenti i geni possiedono generalmente una struttura cromatinica aperta, competente per l'attivazione trascrizionale. Durante il differenziamento, si ha un ampio silenziamento, mediante compattazione della cromatina, delle regioni geniche non necessarie per lo specifico destino differenziativo. Cio' contribuisce a creare dei profili di espressione genica differenti e stabili nei diversi tipi cellulari.**

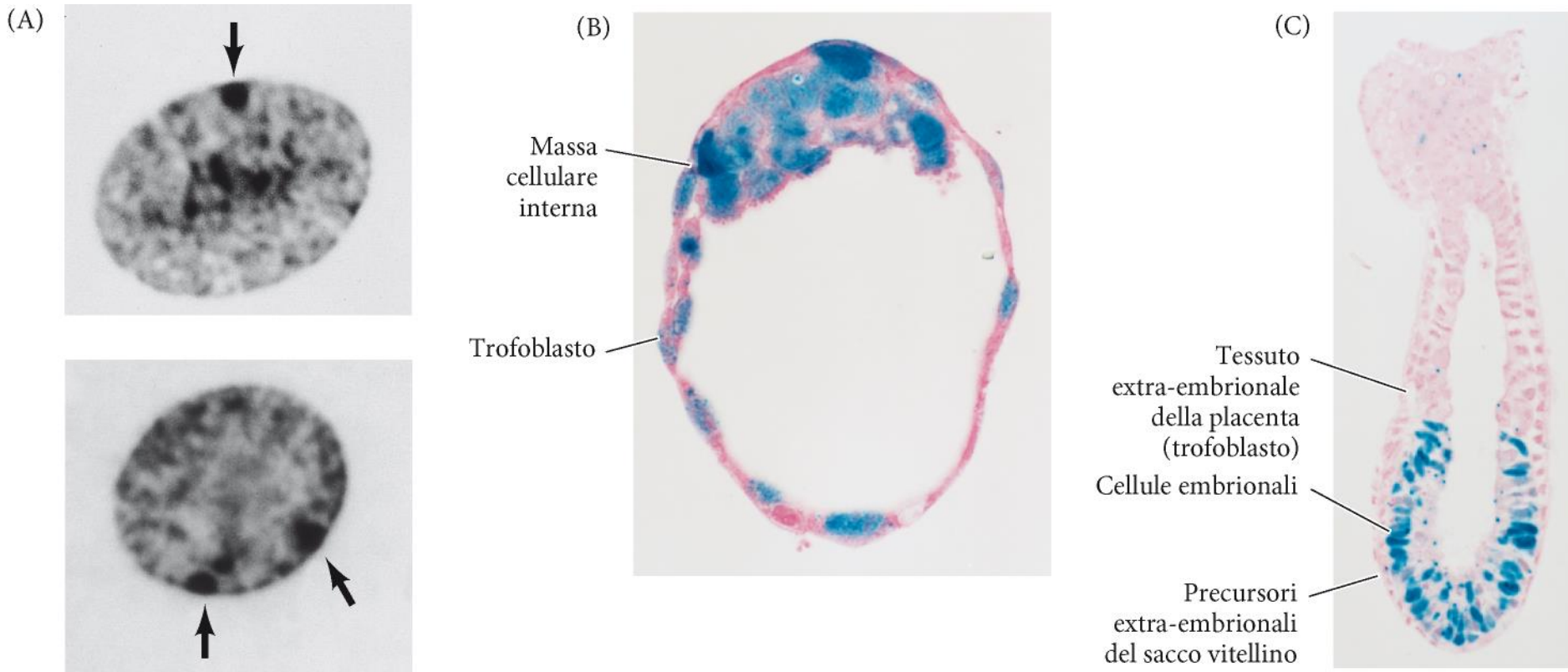


# LA FORMAZIONE DI ETEROCROMATINA REGOLA L'INATTIVAZIONE DI UNO DEI DUE CROMOSOMI X IN CELLULE FEMMINILI (COMPENSAZIONE DEL DOSAGGIO)

Durante lo sviluppo, ciascuna cellula inattiva a caso uno dei due X (chimerismo dei tessuti), ma il profilo di inattivazione rimane stabile nelle cellule figlie



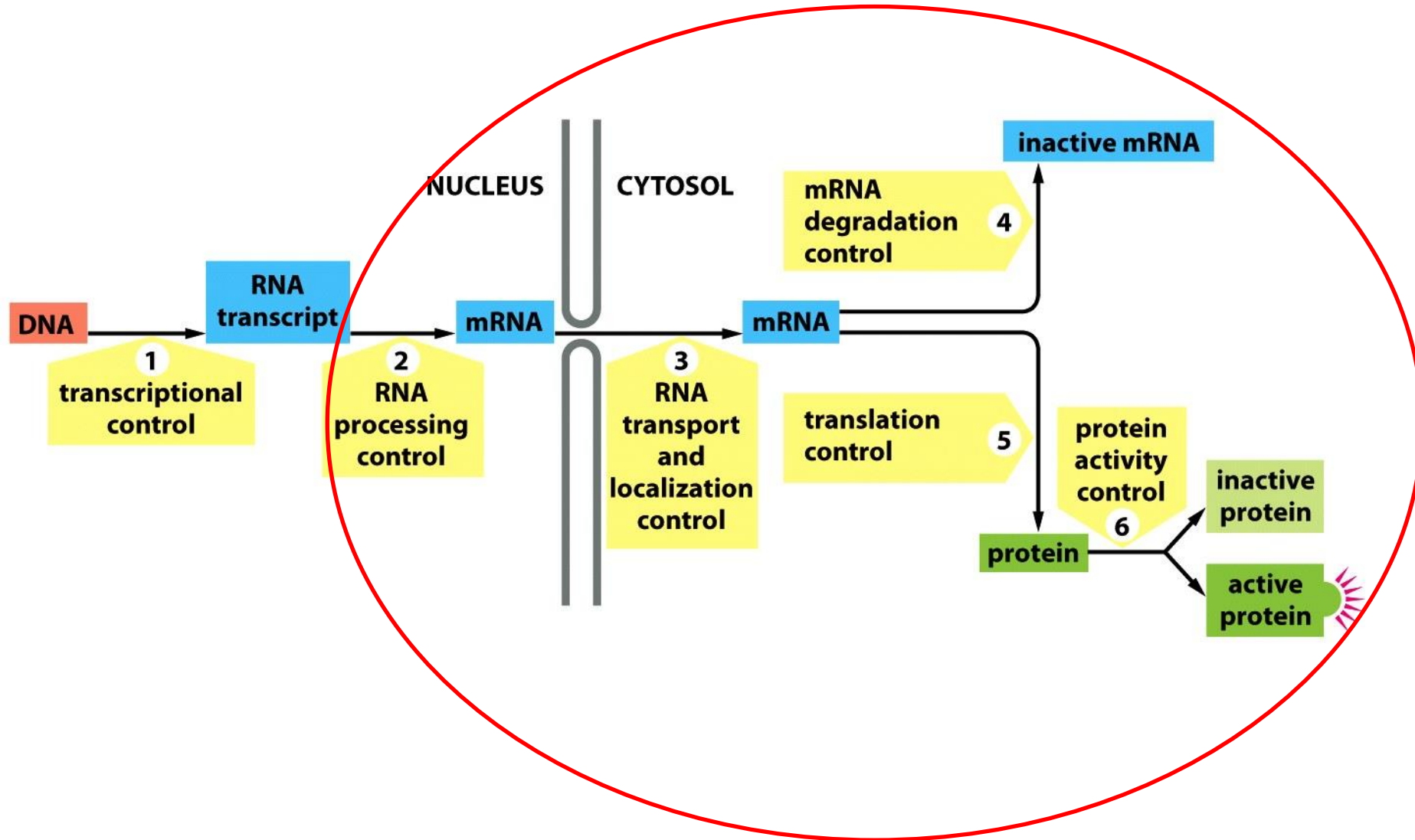
# L'inattivazione del cromosoma X avviene fra lo stadio di blastocisti e la gastrulazione

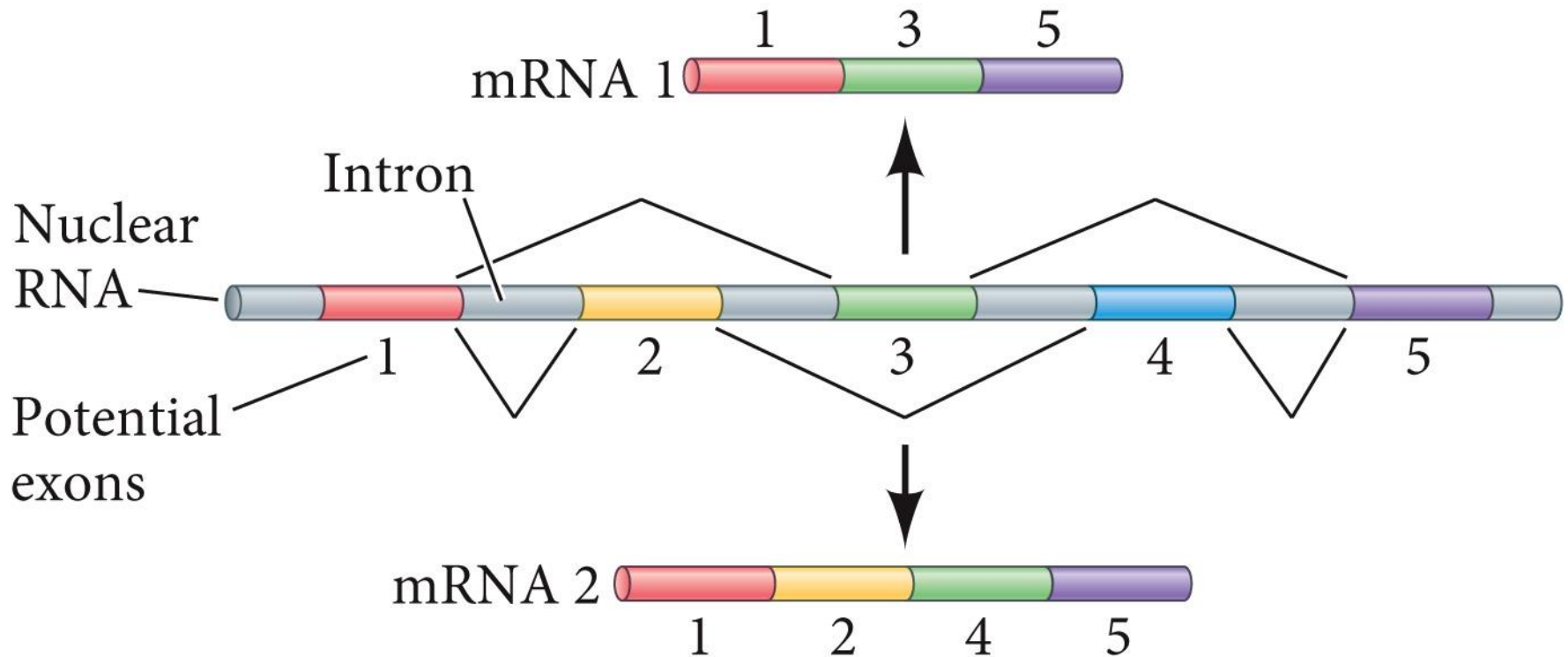


Gene reporter inserito nel cromosoma X di origine paterna: attivo in tutte le cellule della blastocisti, ma poi inattivato in parte delle cellule.

Nei tessuti extra-embryonali di topo (ma non nell'uomo) viene inattivato solo l'X paterno.

# IL CONTROLLO DELL'ATTIVITA' (ESPRESSIONE) GENICA PUO' ESSERE REGOLATO A DIVERSI LIVELLI





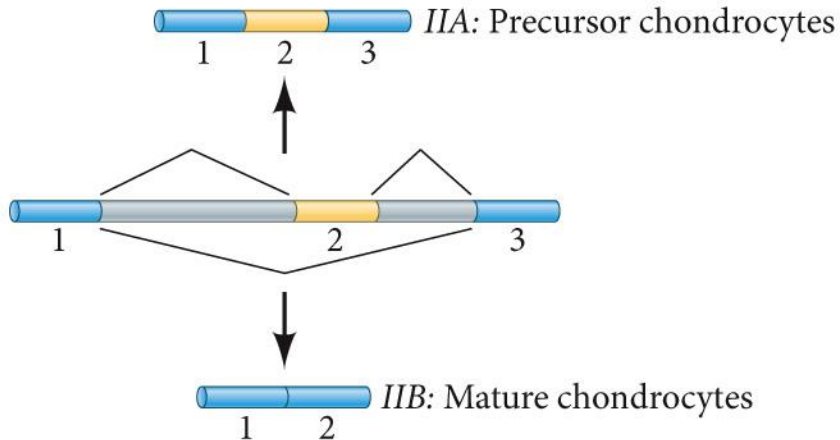
*DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e*, Figure 3.23  
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

**La maturazione differenziale degli mRNA è un  
meccanismo importante di regolazione  
dell'espressione genica**

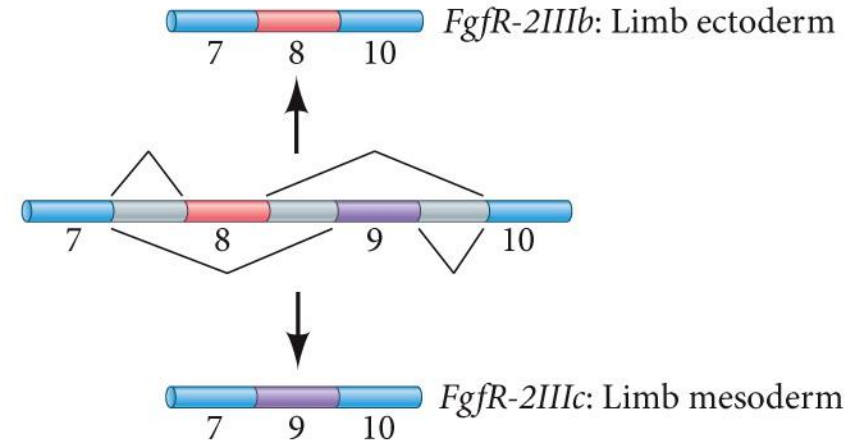
**Si stima che il 92% dei geni umani sia soggetto a  
splicing alternativo**

# Possibili modalita' di splicing alternativo di mRNA

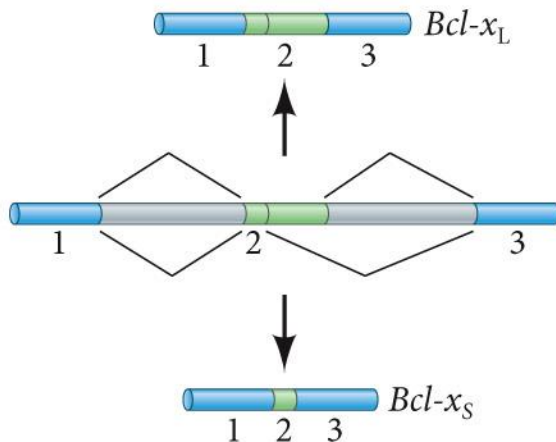
(A) Cassette exon: Type II procollagen



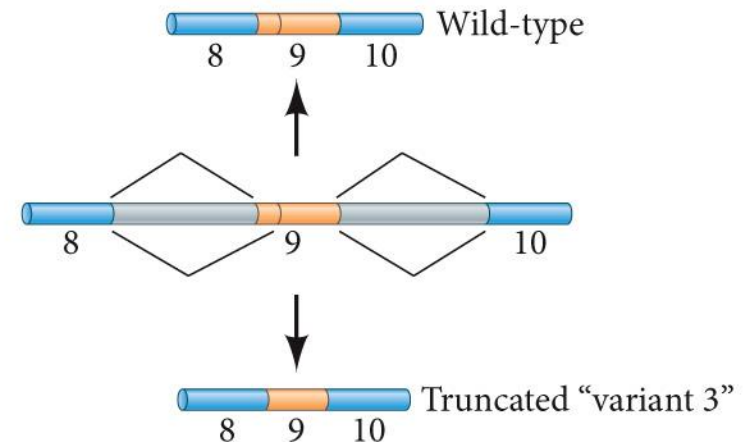
(B) Mutually exclusive exons: *FgfR2*



(C) Alternative 5' splice site: *Bcl-x*



(D) Alternative 3' splice site: Chordin





## Splicing alternativo dei trascritti di mRNA

Tessuto  
muscolare  
striato (1)



Tessuto  
muscolare  
striato (2)



Tessuto  
muscolare  
liscio



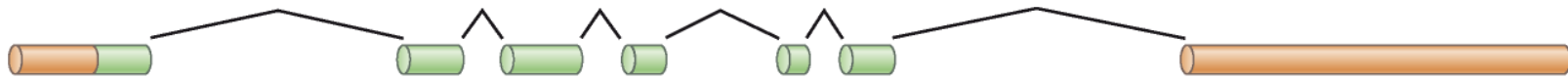
Mioblasto



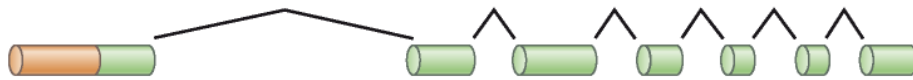
Tessuto non  
muscolare/  
fibroblasto



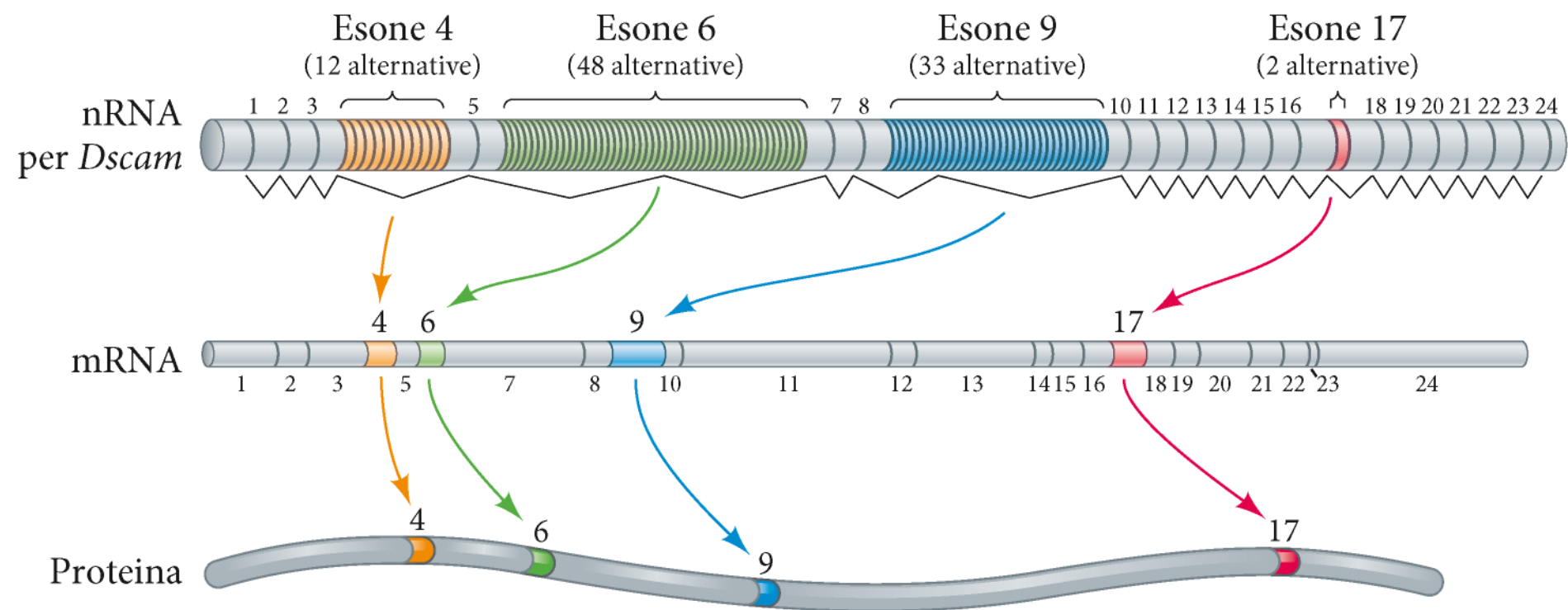
Epatoma



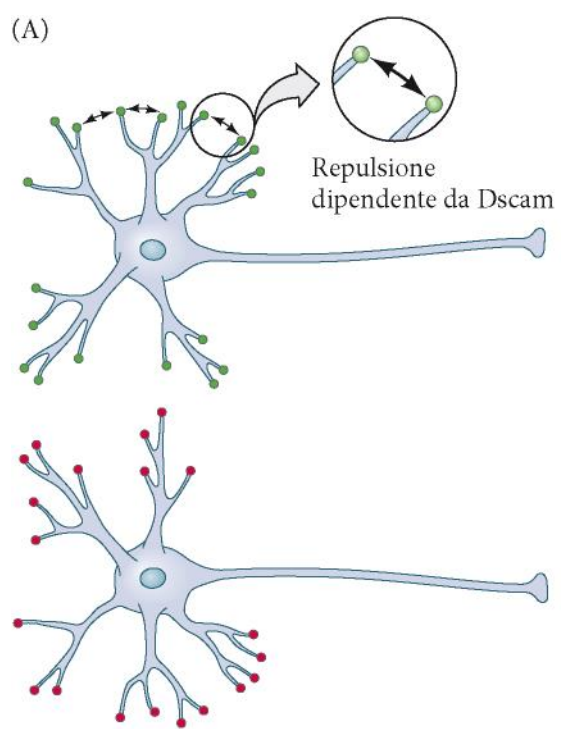
Cervello



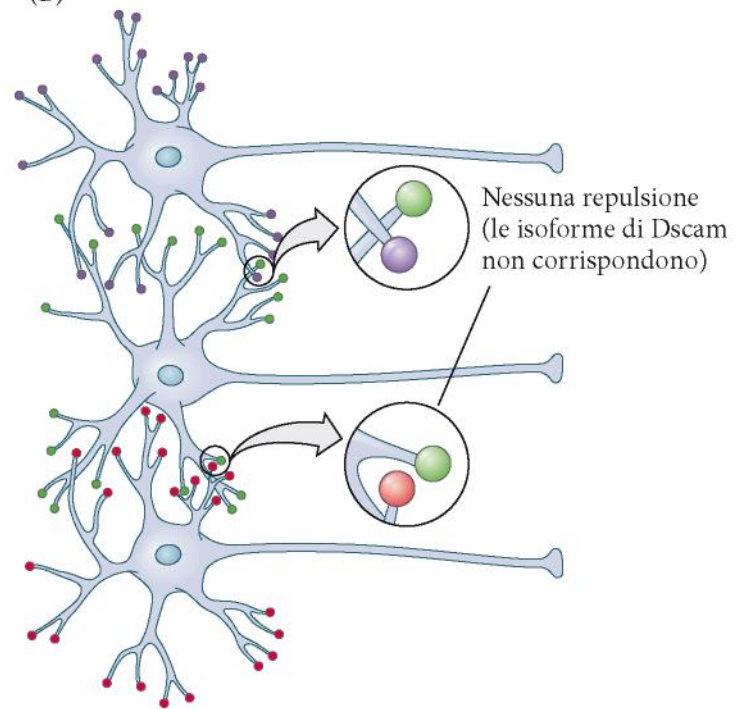
**Mediante splicing alternativo, un singolo gene puo' dare origine ad una famiglia di proteina correlate (isoforme di splicing)**



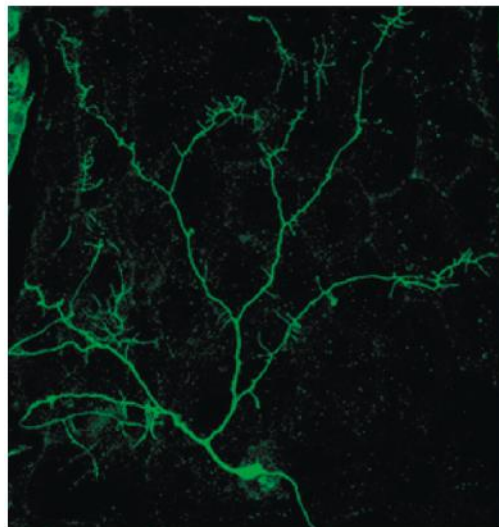
(A)



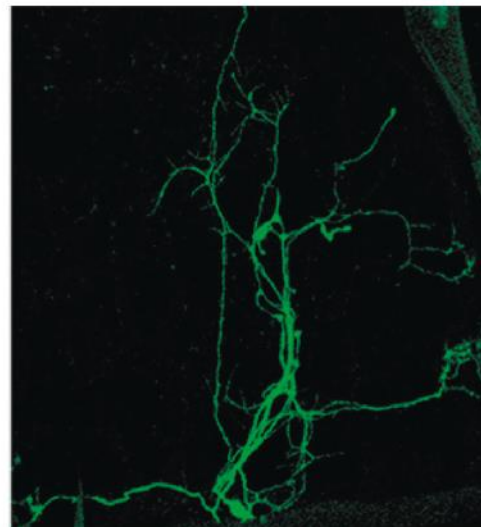
(B)



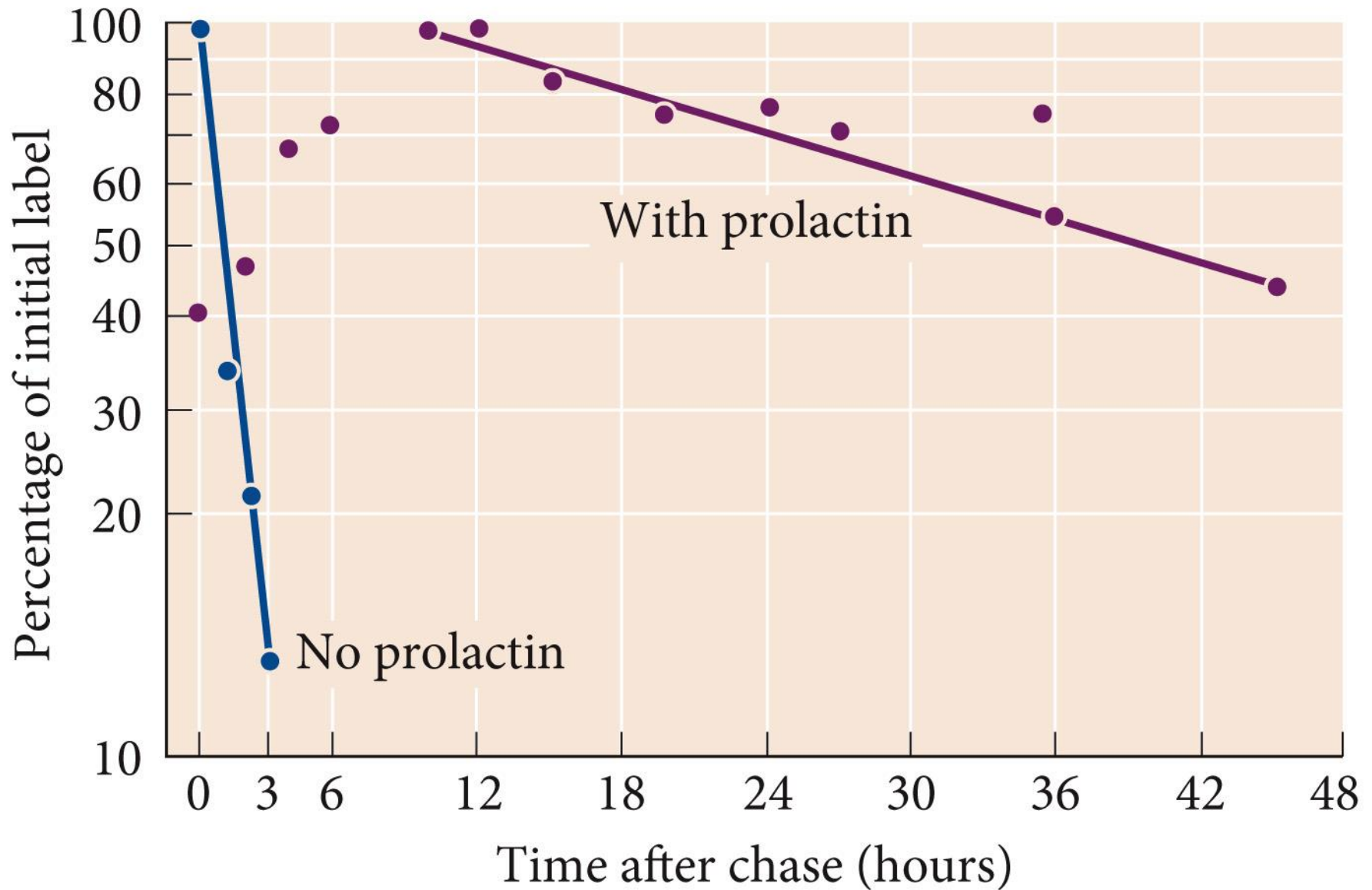
(C) Normale (*wild-type*)



(D) Neurone privo di Dscam



## Regolazione dei livelli di espressione genica in base alla stabilità (emivita) delle molecole di mRNA



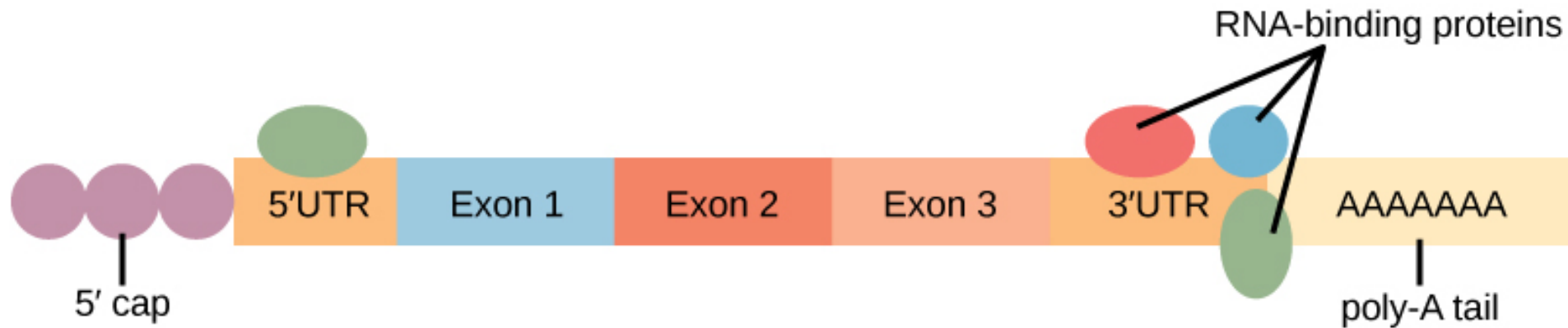
# **Accumulo mRNA nell'uovo: non vengono tradotti fino alla fecondazione**

**Tabella 13.4** Alcuni mRNA che vengono accumulati nel citoplasma degli oociti e tradotti al momento della fecondazione o poco prima

| Prodotti dell'mRNA                             | Funzioni                                         | Organismi                                              |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| Cicline                                        | Regolazione della divisione cellulare            | Riccio di mare, mollusco bivalve, stella di mare, rana |
| Actina                                         | Movimento cellulare e contrazione                | Topo, stella di mare                                   |
| Tubulina                                       | Forma fusi mitotici, ciglia e flagelli           | Mollusco bivalve, topo                                 |
| Subunità minore della ribonucleotide reductasi | Sintesi di DNA                                   | Stella di mare, mollusco bivalve, riccio di mare       |
| Ipoxantina fosforibosil-transferasi            | Sintesi di purine                                | Topo                                                   |
| Vg1                                            | Determinazione del mesoderma (?)                 | Rana                                                   |
| Istoni                                         | Formazione della cromatina                       | Riccio di mare, rana, mollusco bivalve                 |
| Caderine                                       | Adesione dei blastomeri                          | Rana                                                   |
| Metalloproteinasi                              | Impianto in utero                                | Topo                                                   |
| Fattori di crescita                            | Crescita cellulare; crescita cellule uterine (?) | Topo                                                   |
| Fattore di determinazione sessuale fem-3       | Formazione spermatozoi                           | <i>C. elegans</i>                                      |
| Prodotti del gene <i>par</i>                   | Determinanti della segregazione morfogenetica    | <i>C. elegans</i>                                      |
| Proteina <i>skn-1</i>                          | Determinazione del destino dei blastomeri        | <i>C. elegans</i>                                      |
| Morfogeno bicoid                               | Determinazione del destino del polo anteriore    | <i>Drosophila</i>                                      |
| Morfogeno nanos                                | Determinazione del destino del polo posteriore   | <i>Drosophila</i>                                      |
| Proteina germ cell-less                        | Determinazione delle cellule germinali           | <i>Drosophila</i>                                      |
| Proteina oskar                                 | Localizzazione delle cellule germinali           | <i>Drosophila</i>                                      |
| Ornitina transcarbamilasi                      | Ciclo dell'urea                                  | Rana                                                   |
| Fattore di allungamento 1a                     | Sintesi proteica                                 | Rana                                                   |
| Proteine ribosomiali                           | Sintesi proteica                                 | Rana, <i>Drosophila</i>                                |

Fonti: compilata utilizzando numerose fonti, incluso Raff, 1980; Shiokawa *et al.*, 1983; Rappaport *et al.*, 1988; Brenner *et al.*, 1989; Standart, 1992.

**Controllo dell'espressione genica mediante regolazione differenziale della stabilità o della traduzione o della localizzazione degli mRNA: ruolo delle regioni non tradotte (5' e 3' UTR)**



# IL 5' ED IL 3' UTR NEGLI mRNA HANNO UN RUOLO CRUCIALE NEL CONTROLLO DELLA TRADUZIONE

Fattori di inizio della traduzione:

eIF4E, lega il 5'UTR

eIF4G, lega il 3'UTR

Per il legame al ribosoma e l'inizio della traduzione i due fattori devono interagire mediante ripegamento dell'mRNA ed avvicinamento del 3' UTR al 5' UTR

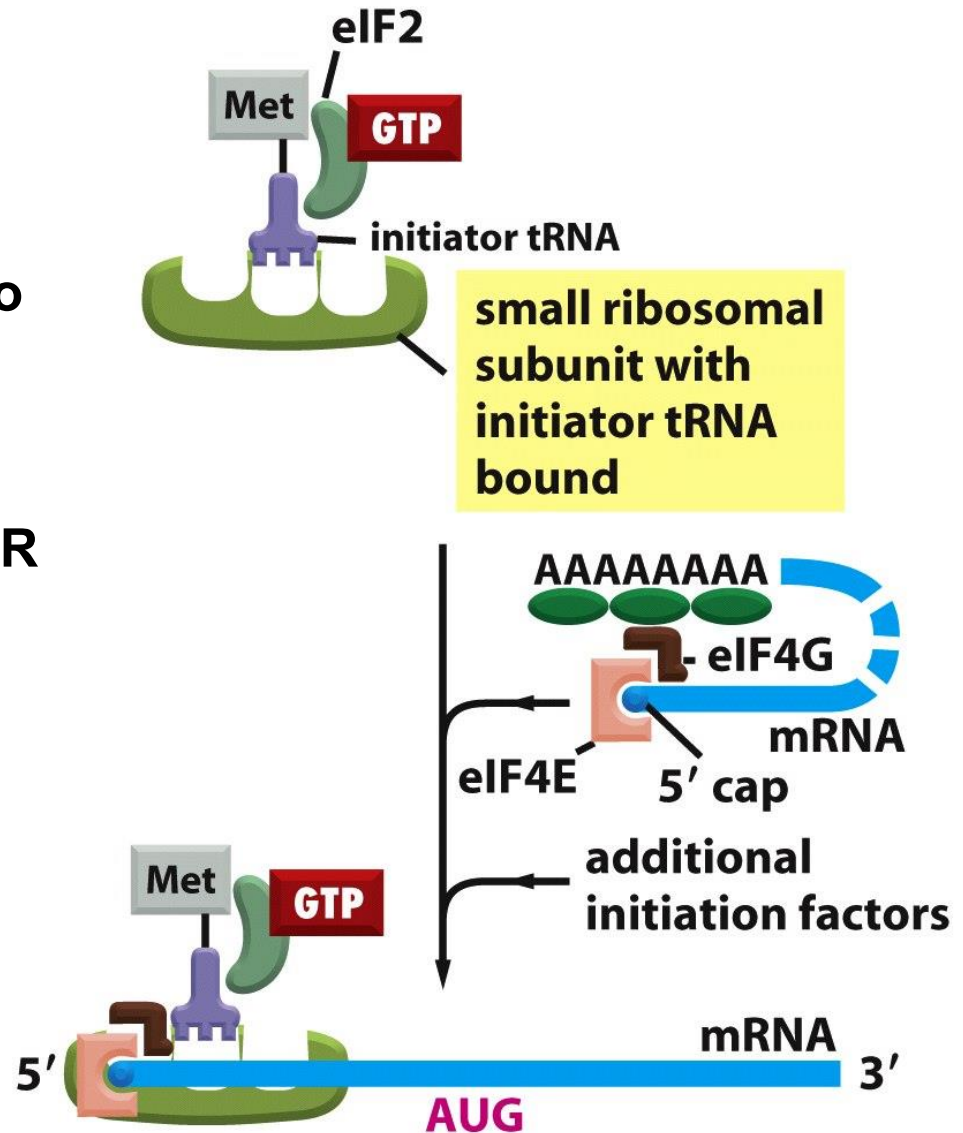
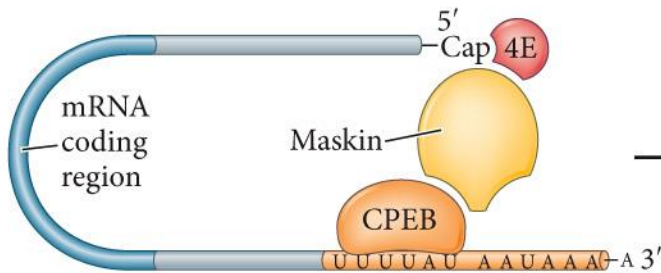


Figure 6-72 part 1 of 5 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

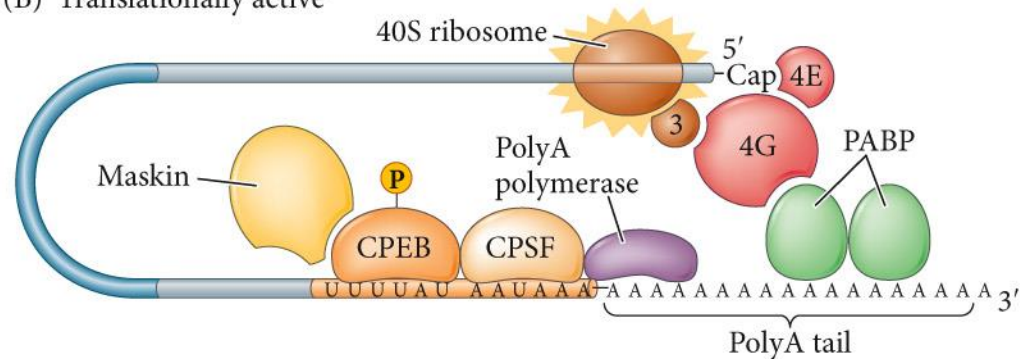
**Negli oociti di anfi, la proteina Maskin compete con eIF4G per il legame a eIF4E, bloccando la traduzione di molti mRNA.**

**Nelle uova fecondate, vengono attivati dei fattori che stabilizzano il legame di eIF4G con eIF4E al posto della proteina Maskin, permettendo l'inizio della traduzione.**

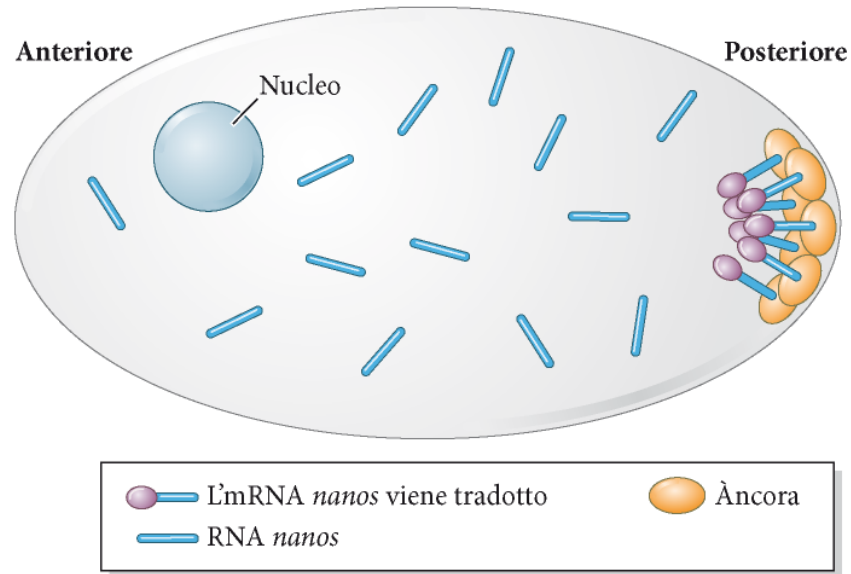
(A) Translationally dormant



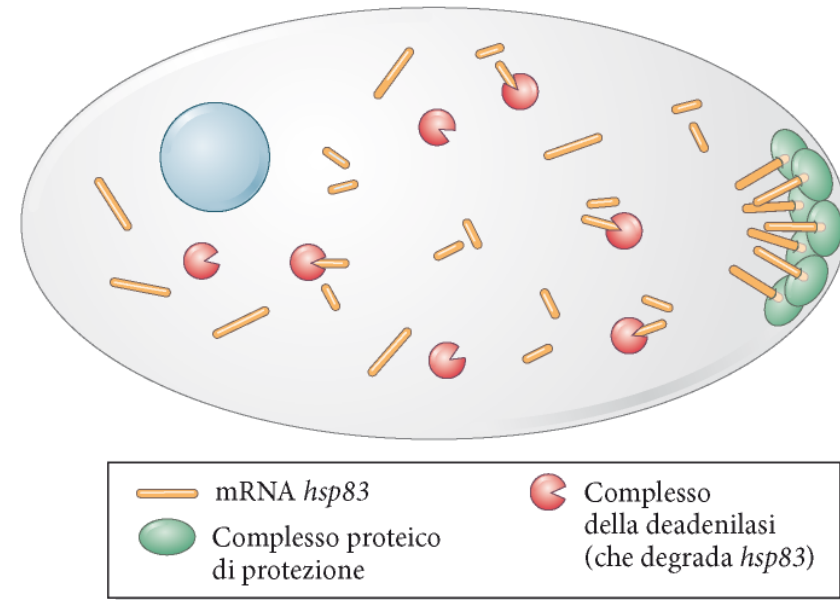
(B) Translationally active



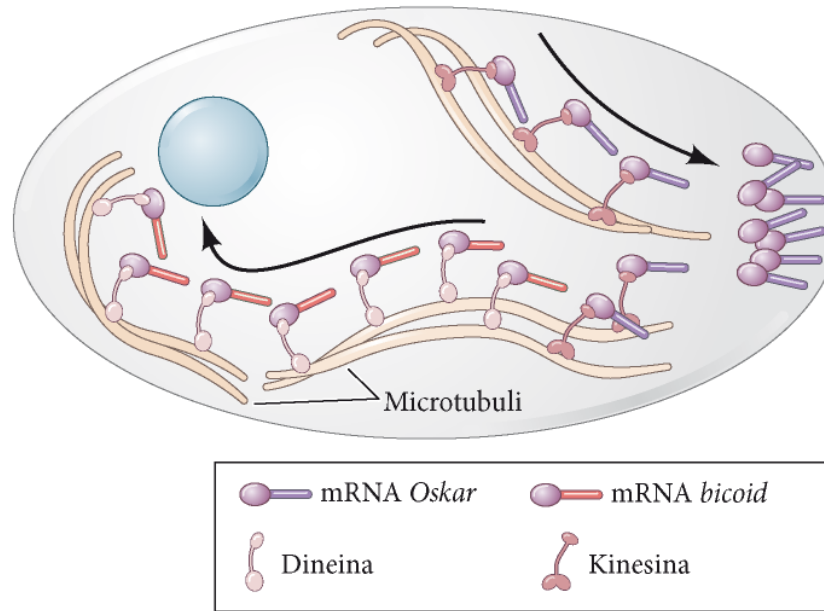
(A) Diffusione e ancoraggio locale



(B) Protezione localizzata



(C) Trasporto attivo lungo il citoscheletro

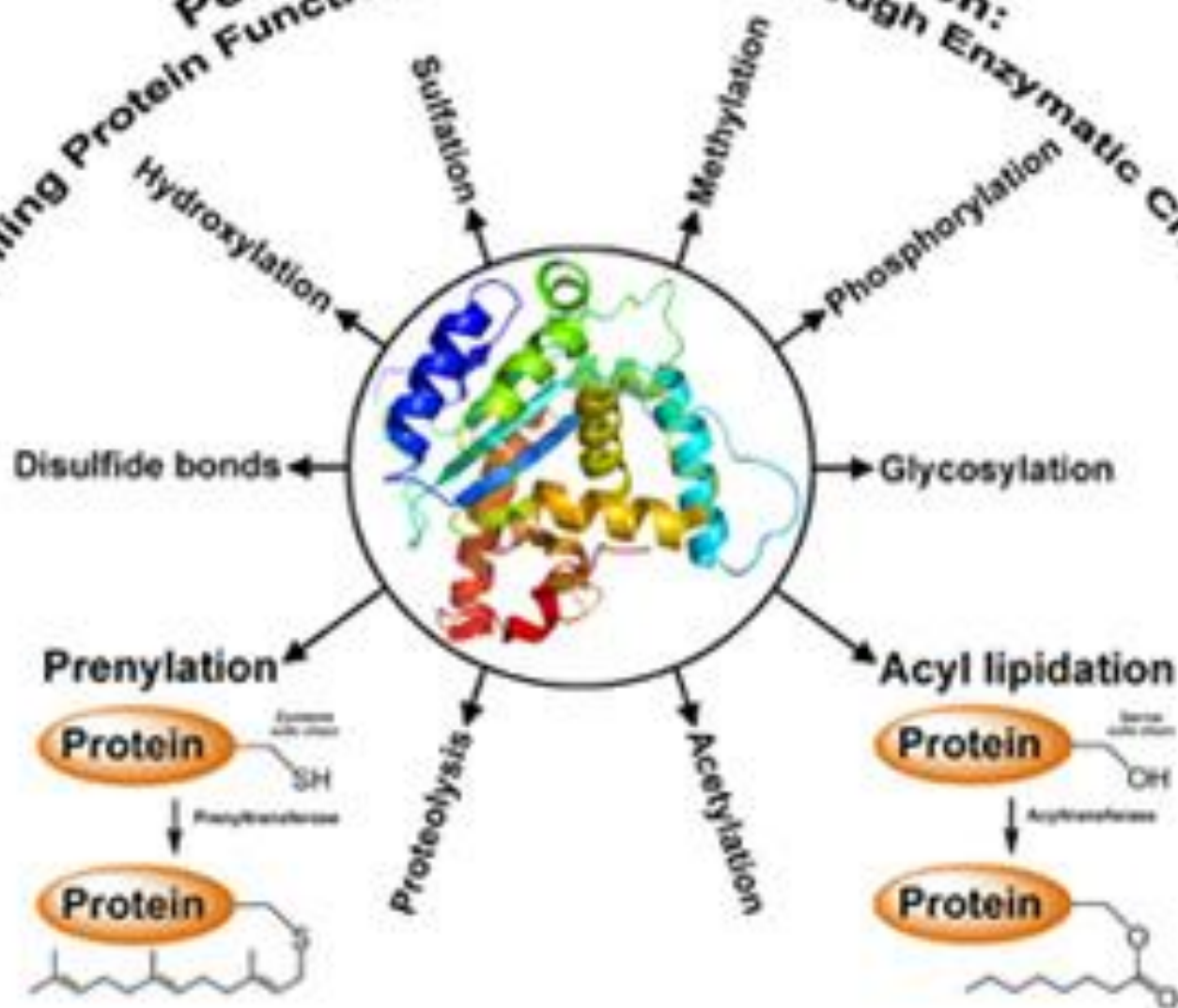


**La maggior parte degli mRNA sono localizzati in modo selettivo in certe regioni cellulari.**

**La localizzazione selettiva e' controllata spesso dal 3'UTR.**

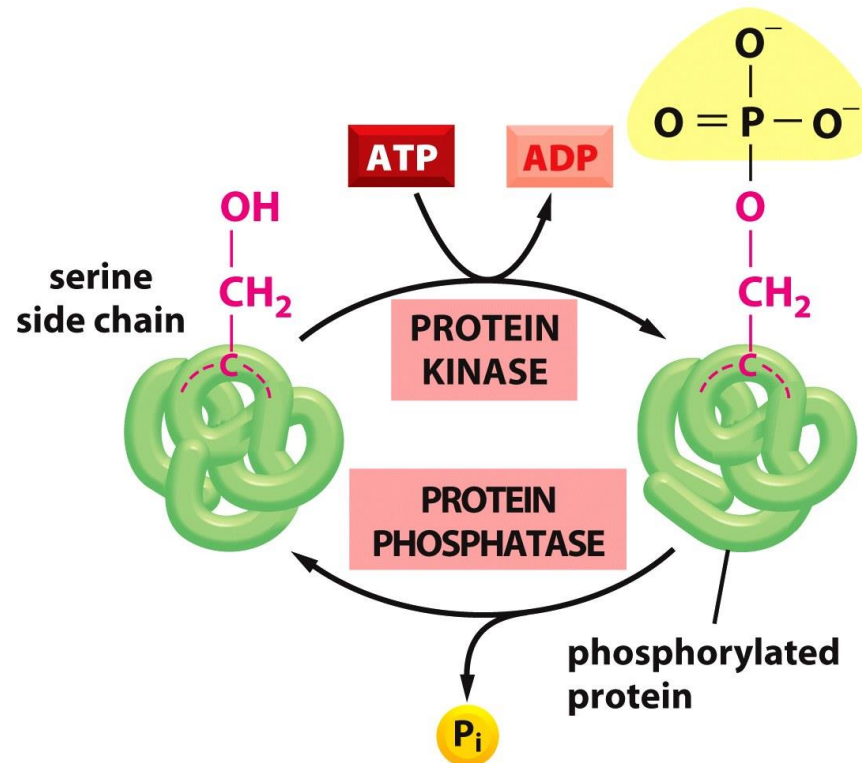
# Controlling Protein Function and Diversity Through Enzymatic Chemistry

## Post-Translational Modification:



## La fosforilazione.

Il legame di un gruppo fosforico (o più di uno) a una proteina può modificare la sua conformazione e così la sua attività, in maniera positiva o negativa. L'aggiunta del  $-P$  è catalizzata da una proteina chinasi, di solito molto specifica per la proteina che riceve il  $-P$ , e la rimozione del  $-P$  è operata da una fosfatasi, che può essere molto specifica per una proteina o famiglia di proteine, o di tipo più generico.



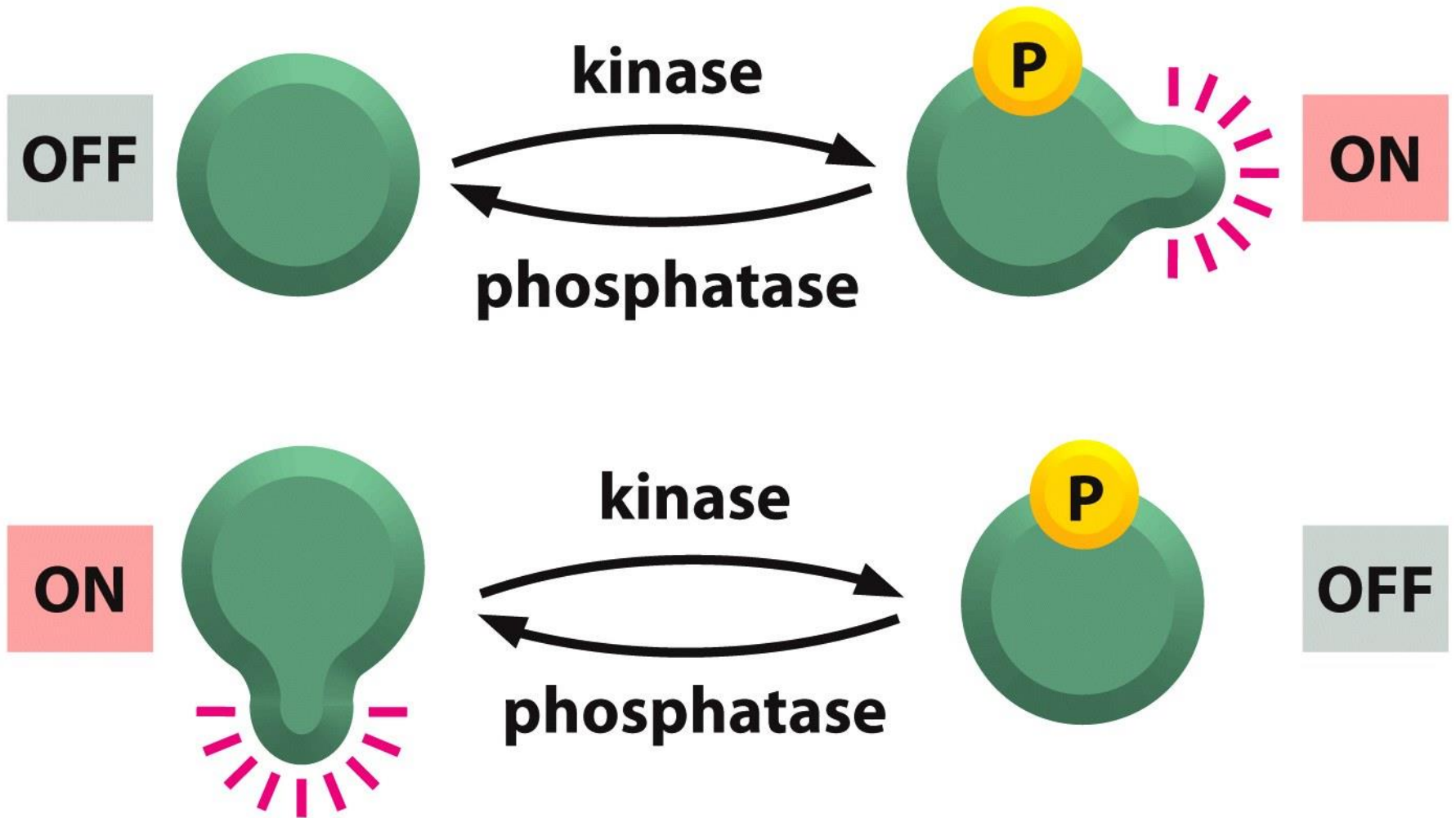


Figure 4-38b Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)