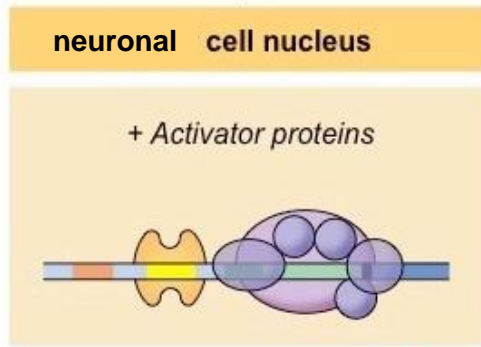
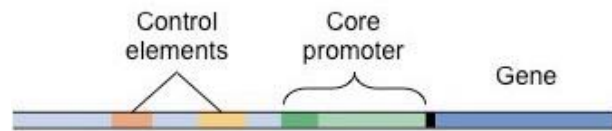
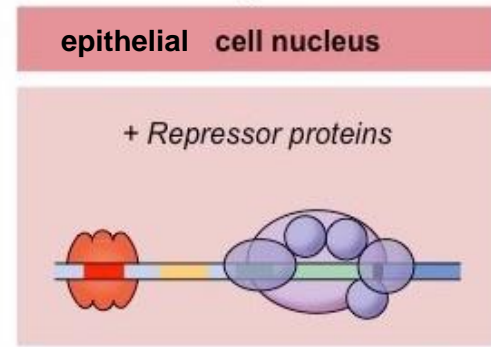


REGOLAZIONE DIFFERENZIALE DELL'ESPRESSIONE GENICA E DIFFERENZIAMENTO CELLULARE

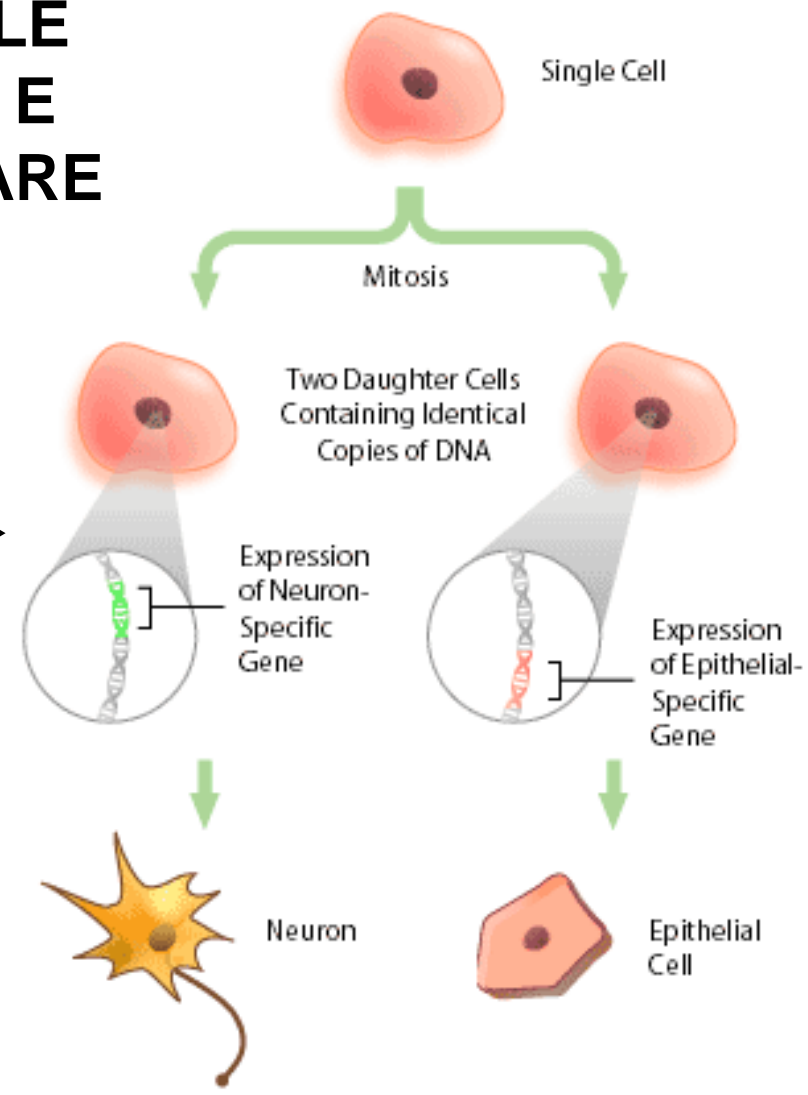
FATTORI DI TRASCRIZIONE TESSUTO-SPECIFICI



Gene transcribed at **high** levels



Gene transcribed at **very low** levels

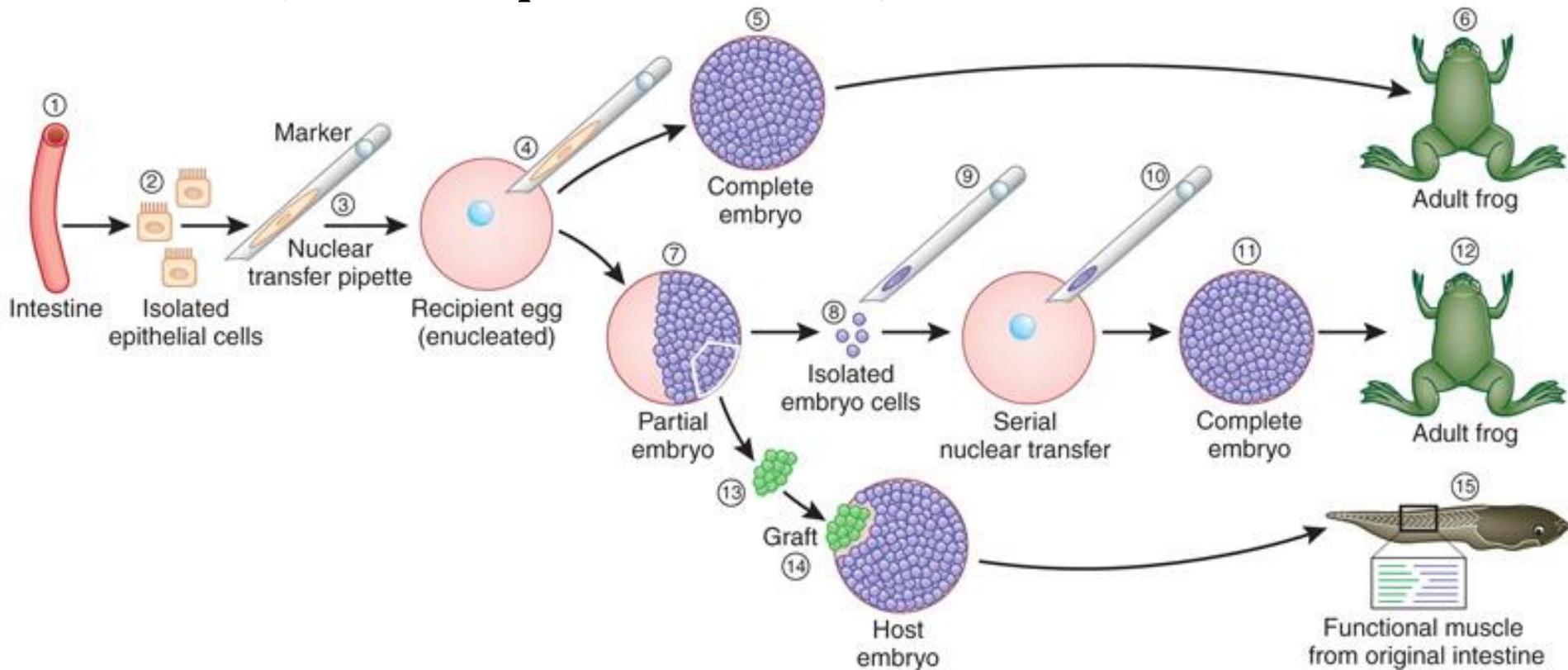


Come vengono mantenuti i profili di espressione genica?

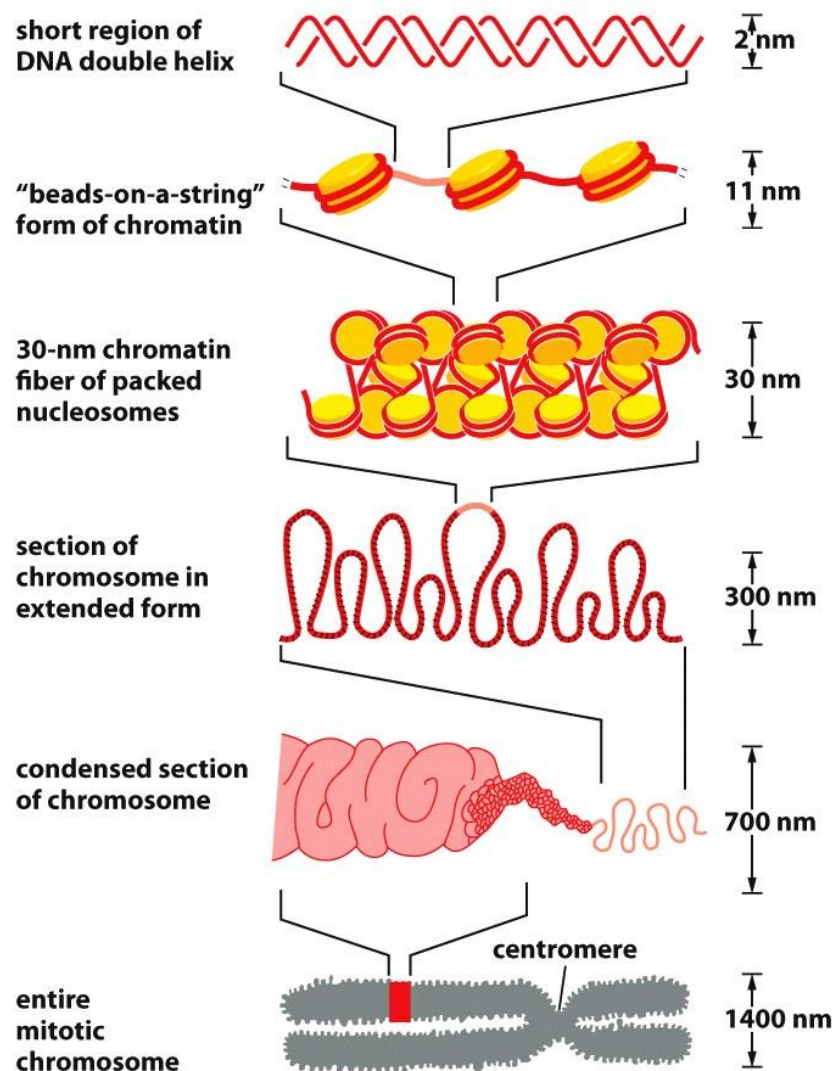
Non sempre i fattori di trascrizione rimangono attivi per tutta la vita di una cellula, eppure i fenotipi differenziati sono stabili, come mostrato dalla inefficienza del processo di riprogrammazione.

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).

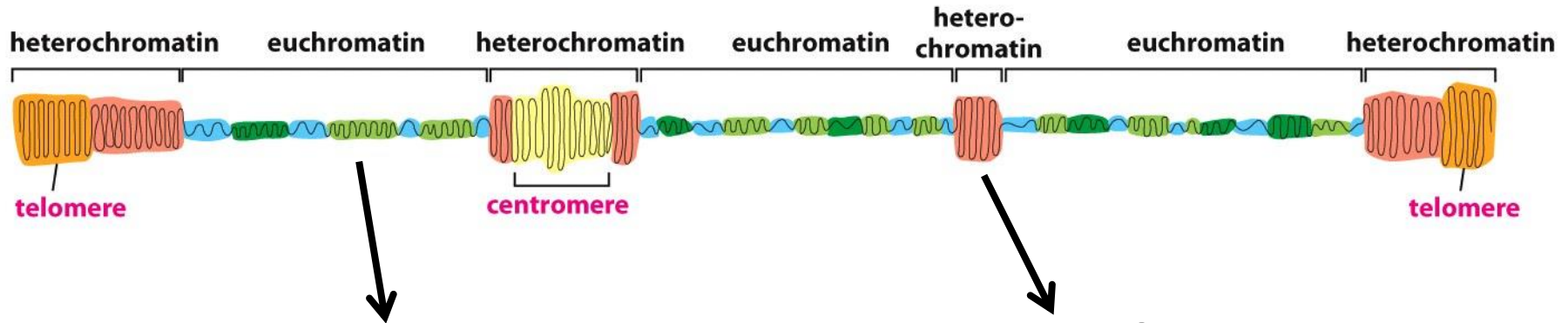


IL DNA NUCLEARE E' ASSOCIATO A PROTEINE (ES. ISTONI) NELLA CROMATINA, CHE PUO' PRESENTARE DIVERSI LIVELLI DI COMPATTAZIONE



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

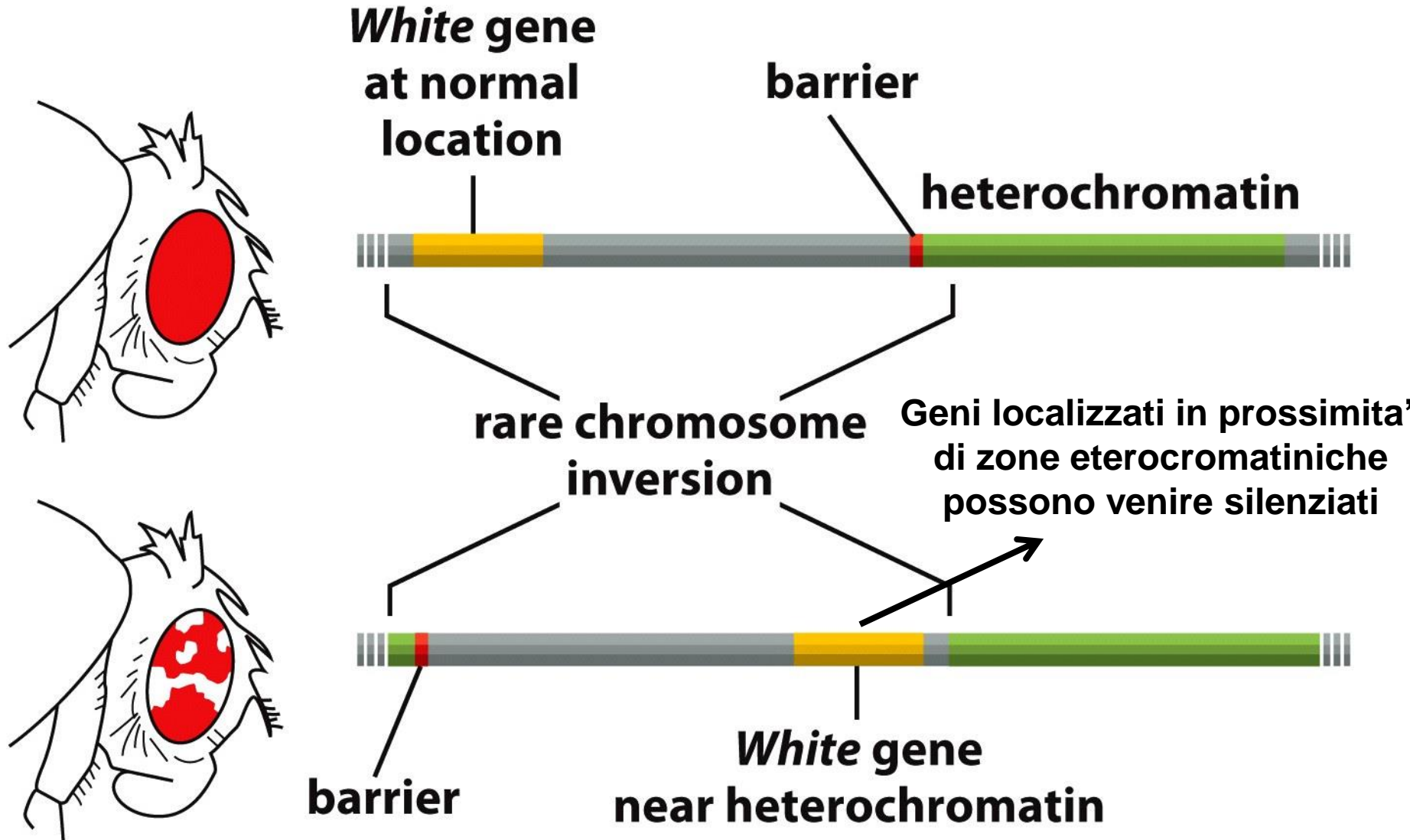


EUCROMATINA:
cromatina meno condensata;
puo' permettere attivazione
dell'espressione genica

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

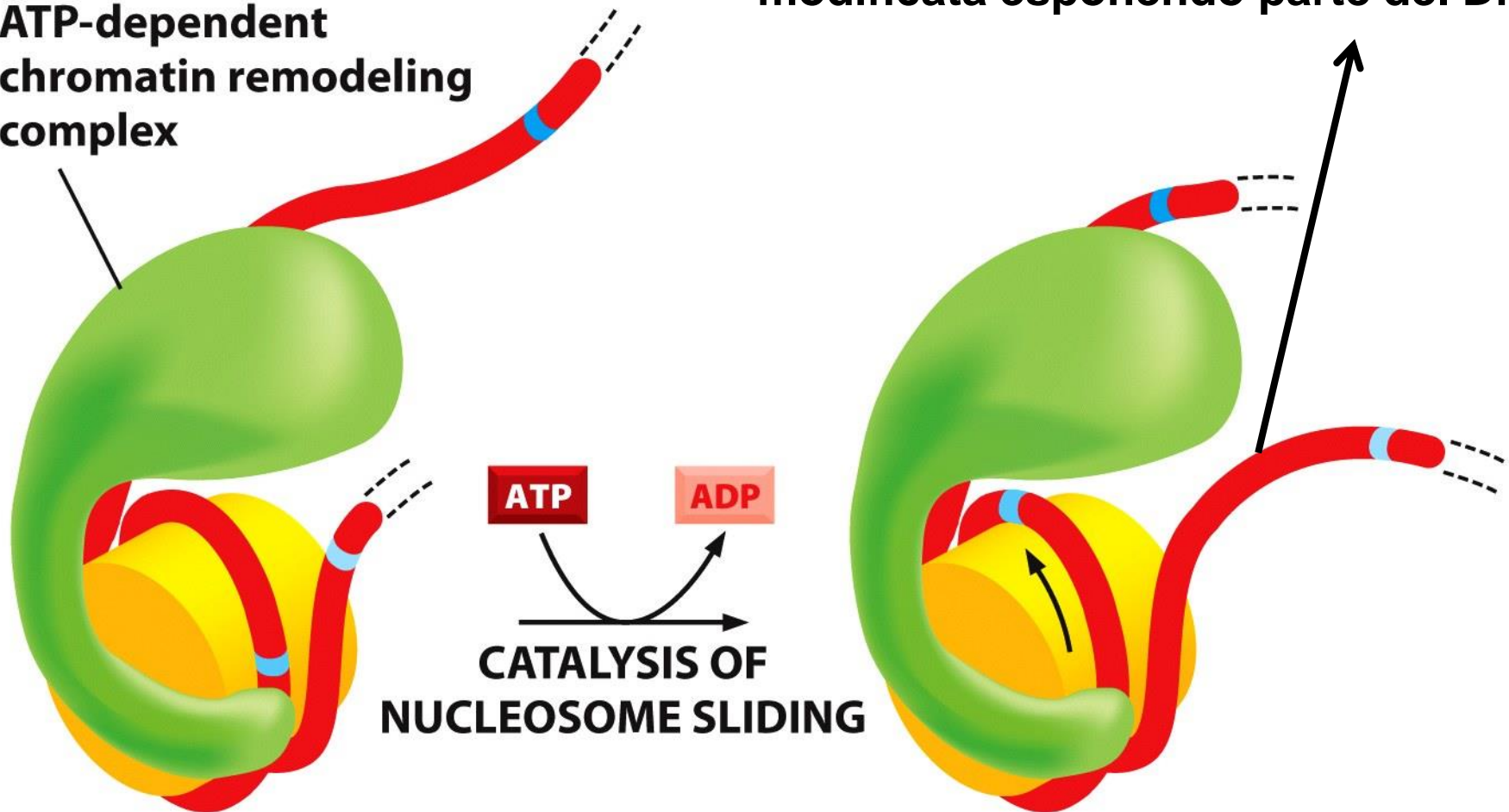


MODIFICAZIONI DELLA CROMATINA CHE REGOLANO L'ESPRESSIONE GENICA:

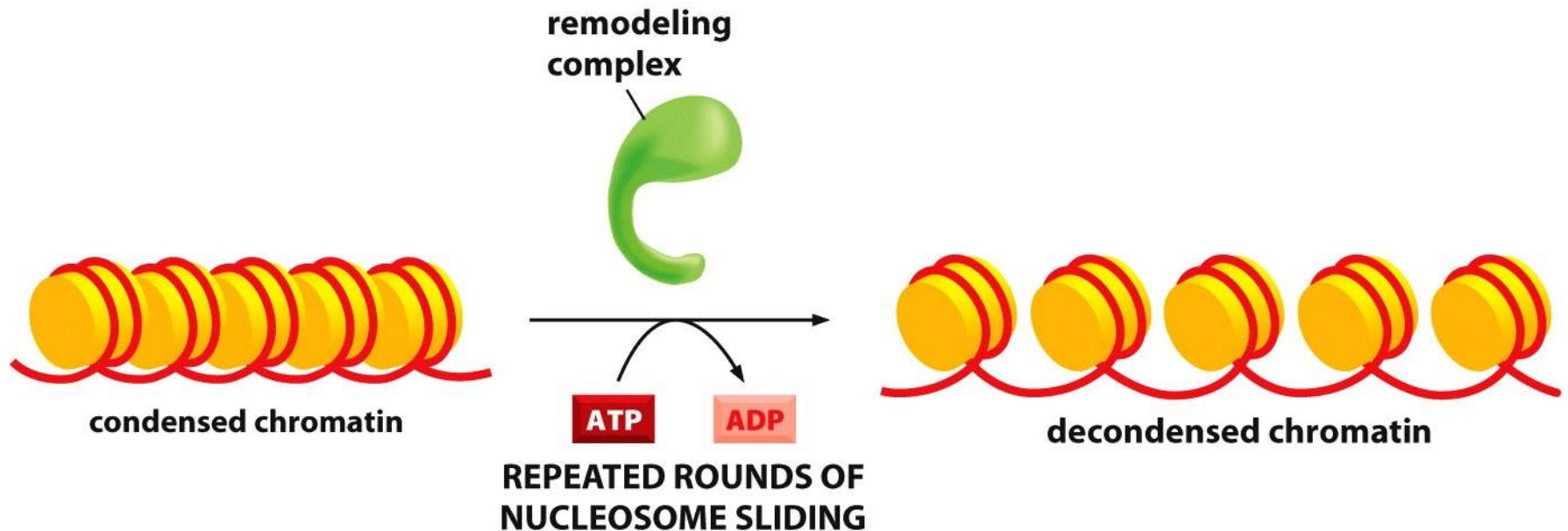
1) IL POSIZIONAMENTO DEI NUCLEOSOMI E' REGOLATO IN MODO DINAMICO DA ATTIVITA' ENZIMATICHE PER PERMETTERE (O IMPEDIRE) L'ACCESSO AL DNA

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

ATP-dependent
chromatin remodeling
complex



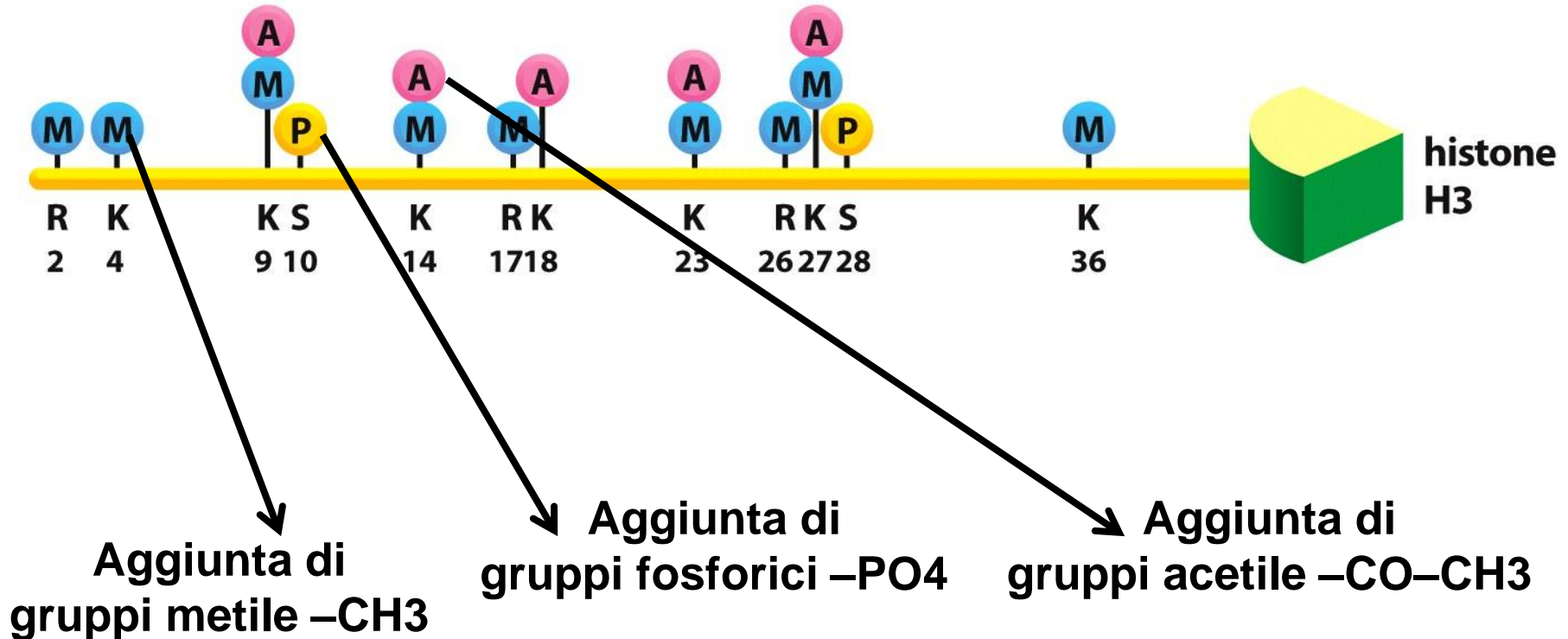
MODIFICANDO LA POSIZIONE DI DIVERSI NUCLEOSOMI E' POSSIBILE CAMBIARE LOCALMENTE LO STATO DI CONDENSAZIONE DELLA CROMATINA E RENDERE ACCESSIBILI (O INACCESSIBILI) CERTE SEQUENZE DI DNA



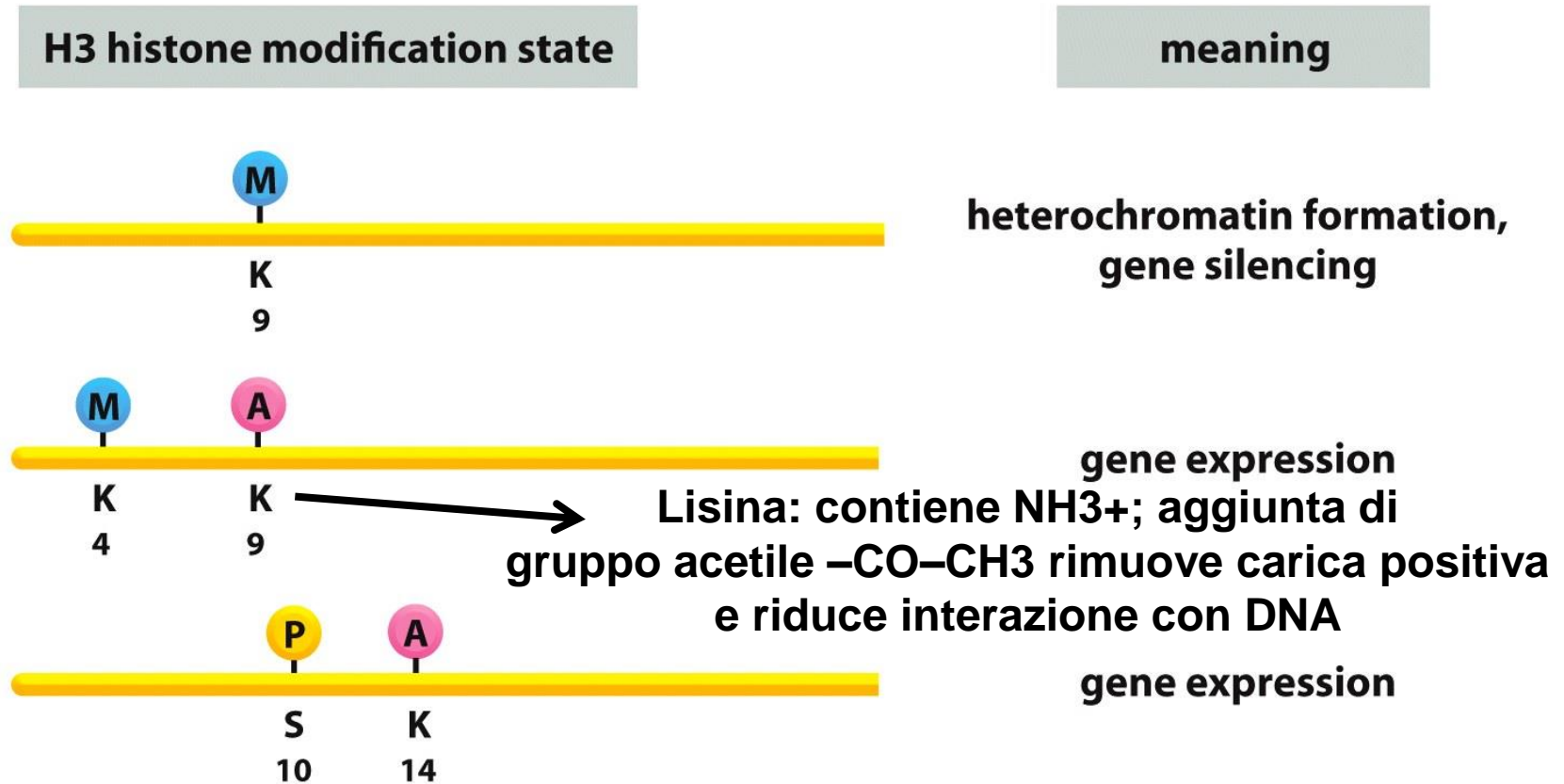
La posizione dei nucleosomi e' stata modificata esponendo parte del DNA

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

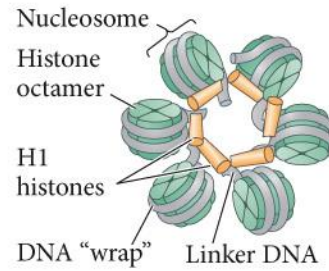
H3K9me3 -> repressione

H3K27me3 -> repressione

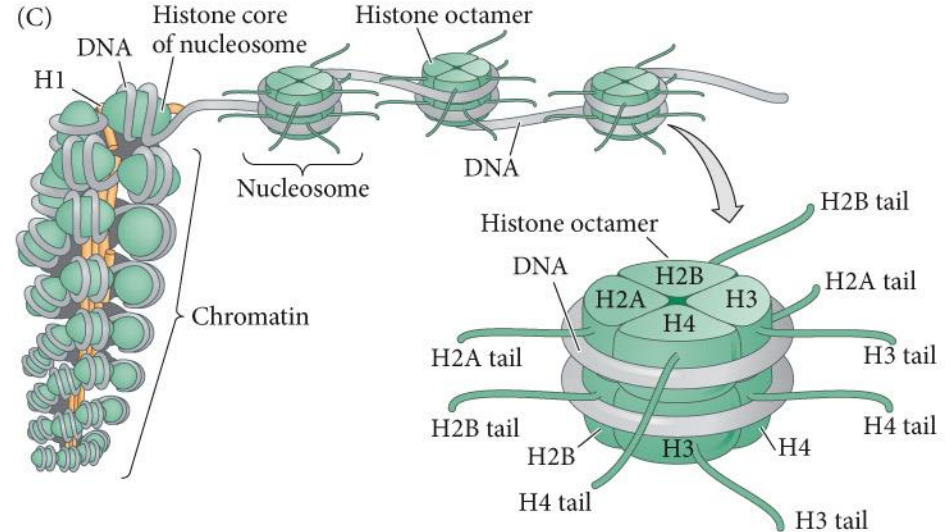
(A)



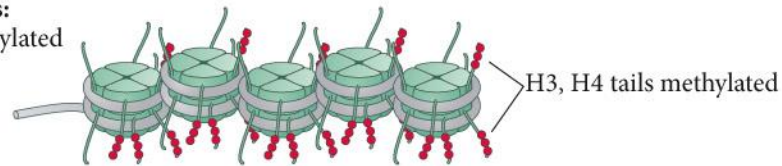
(B)



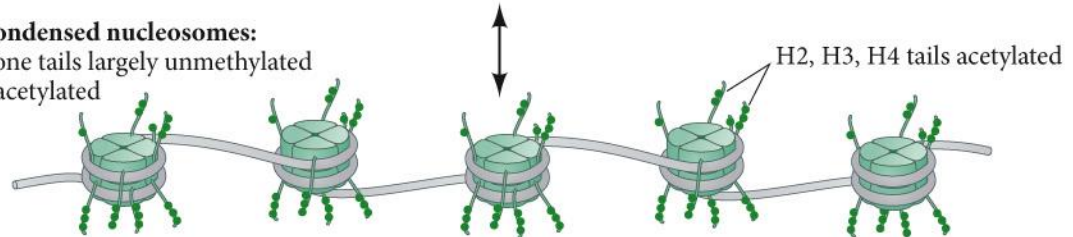
(C)

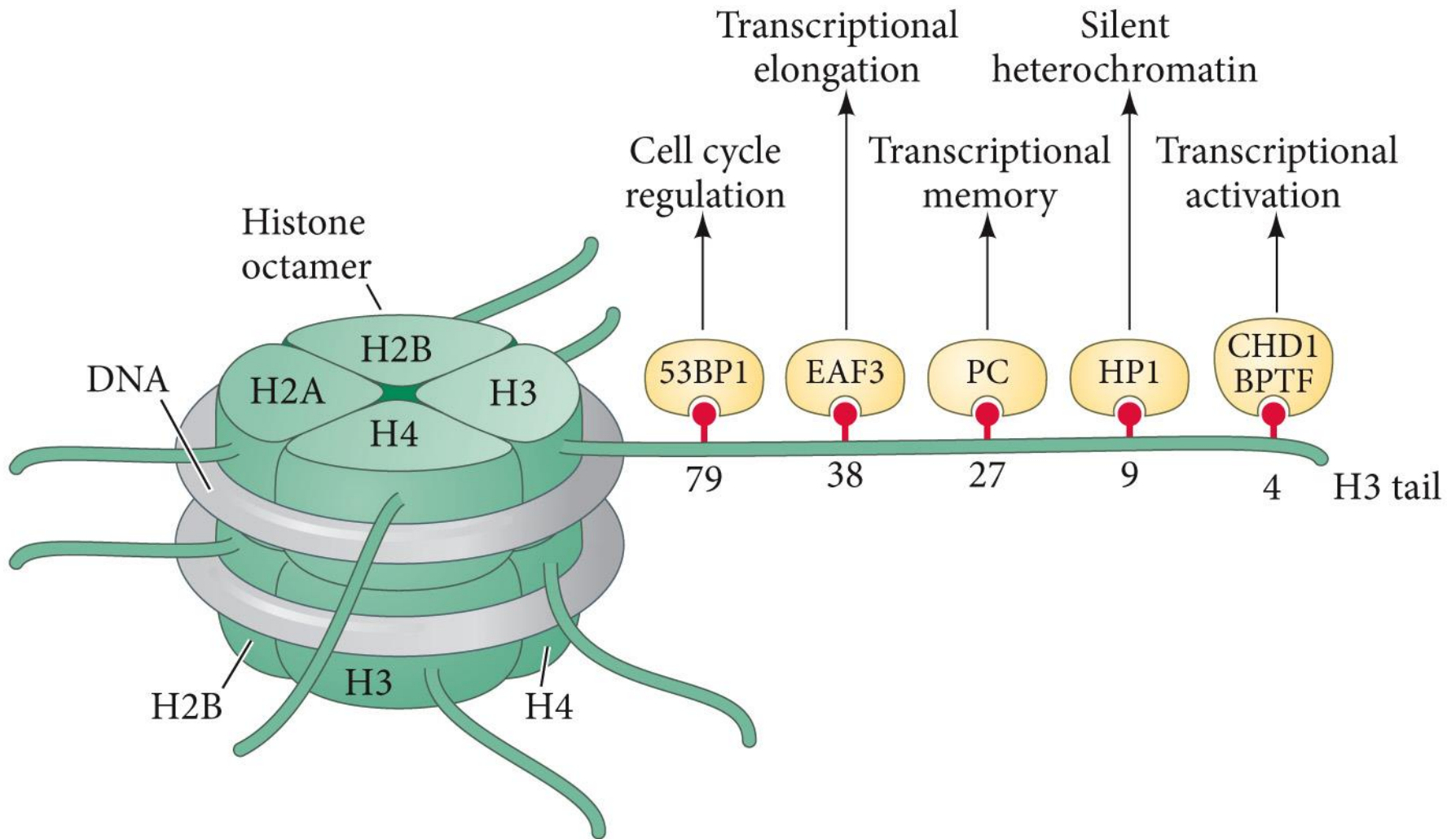


(D) **Condensed nucleosomes:**
Histone tails largely methylated



Uncondensed nucleosomes:
Histone tails largely unmethylated and acetylated

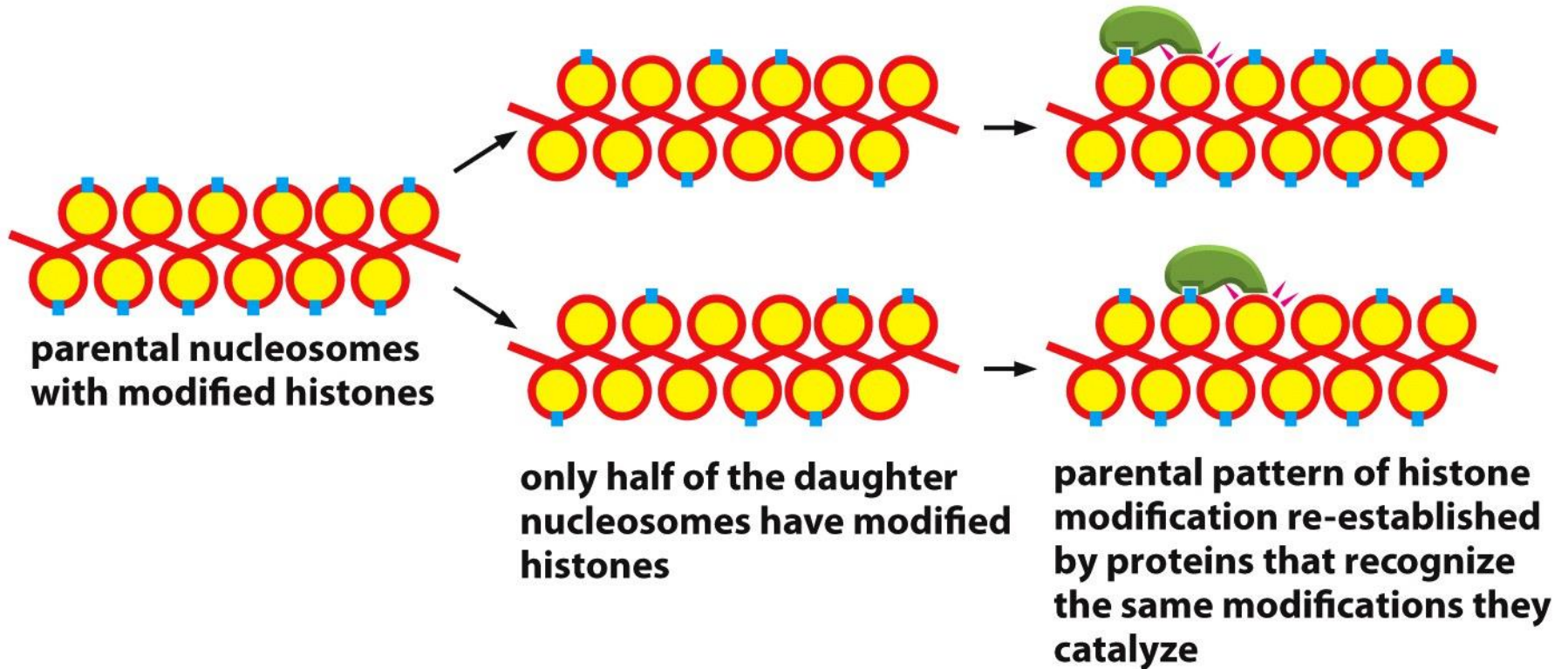




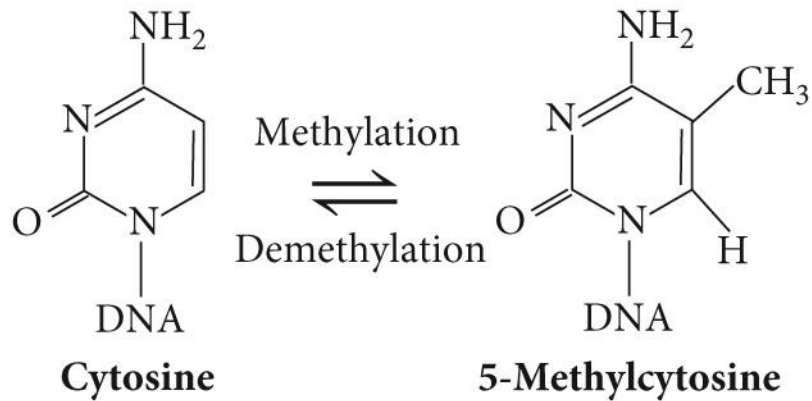
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 3.5
 © 2016 Sinauer Associates, Inc.

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)



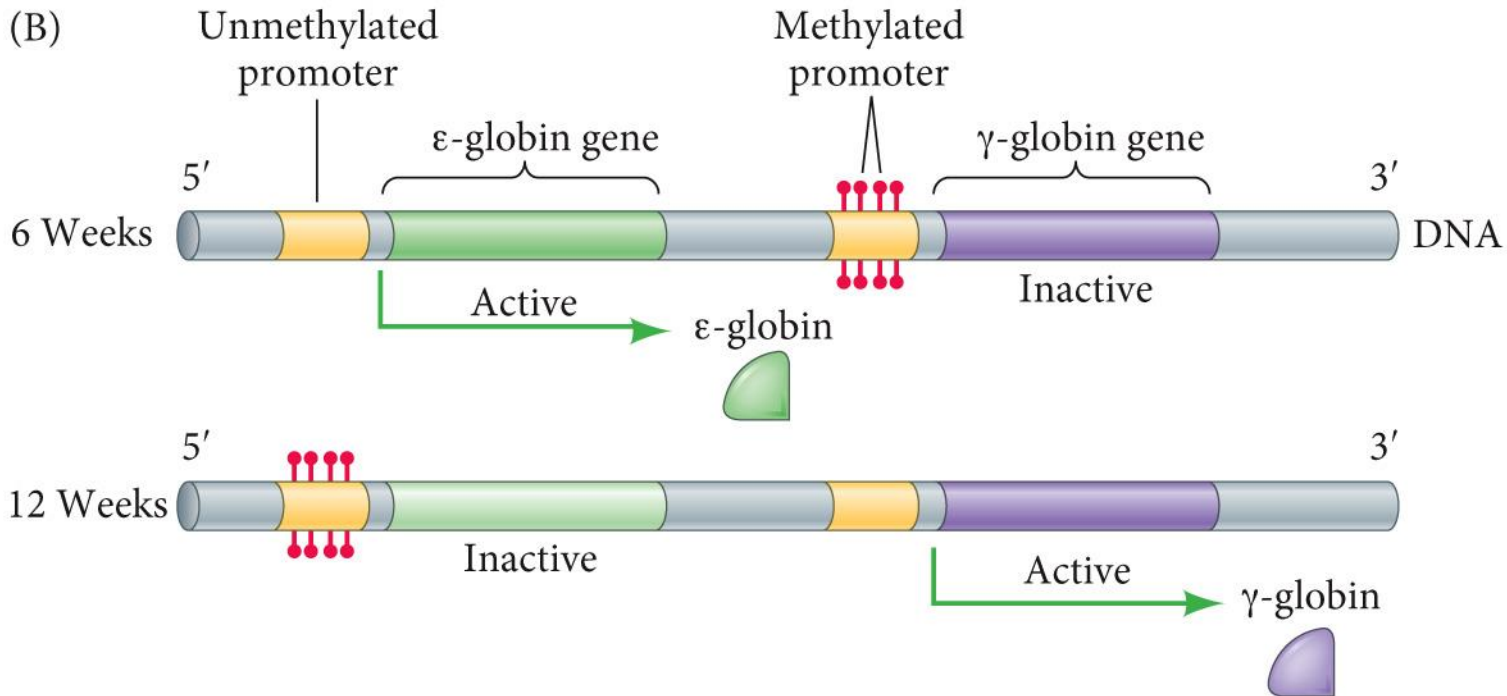
(A)



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

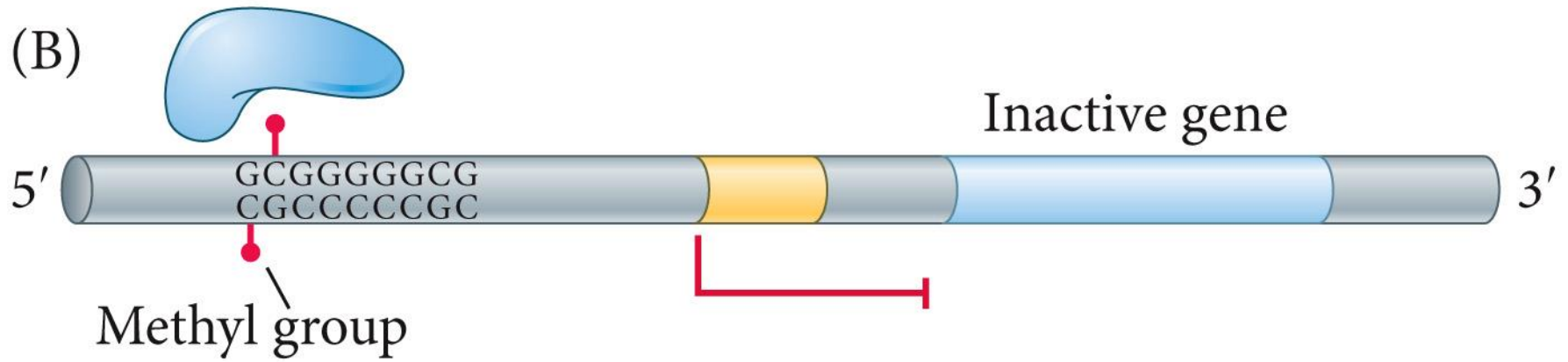
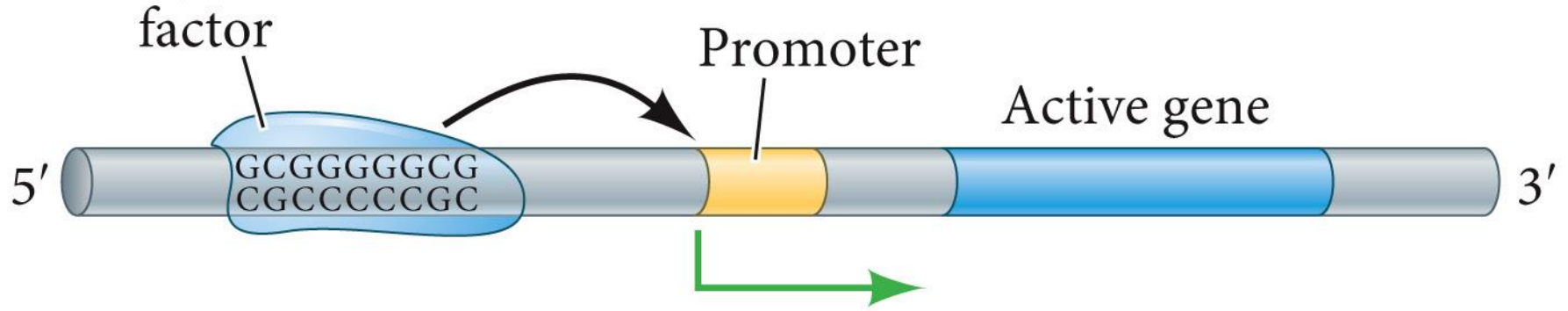
Nei vertebrati, la presenza di citosine metilate nelle regioni regolatorie e' correlato alla repressione dell'espressione genica.

(B)



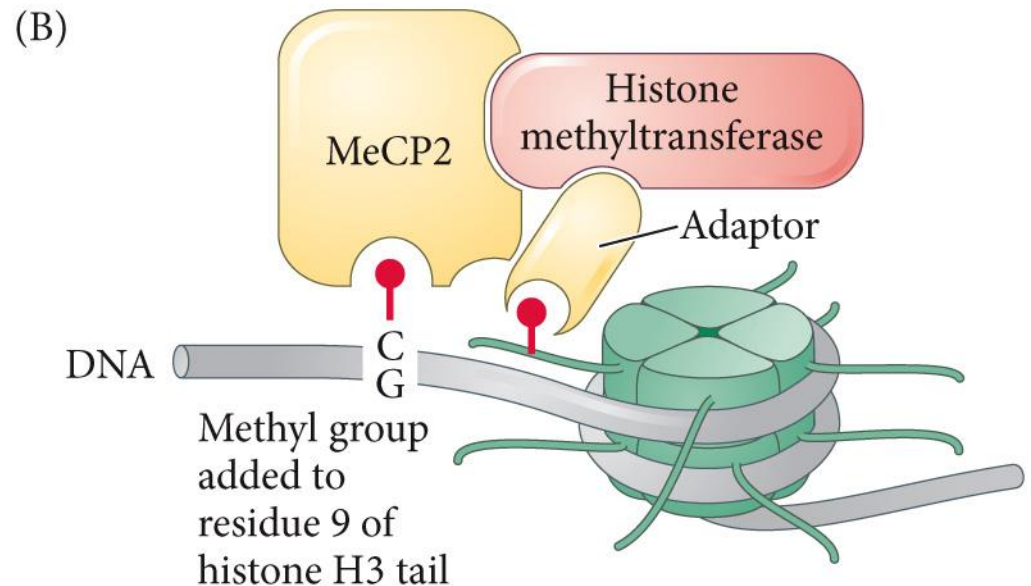
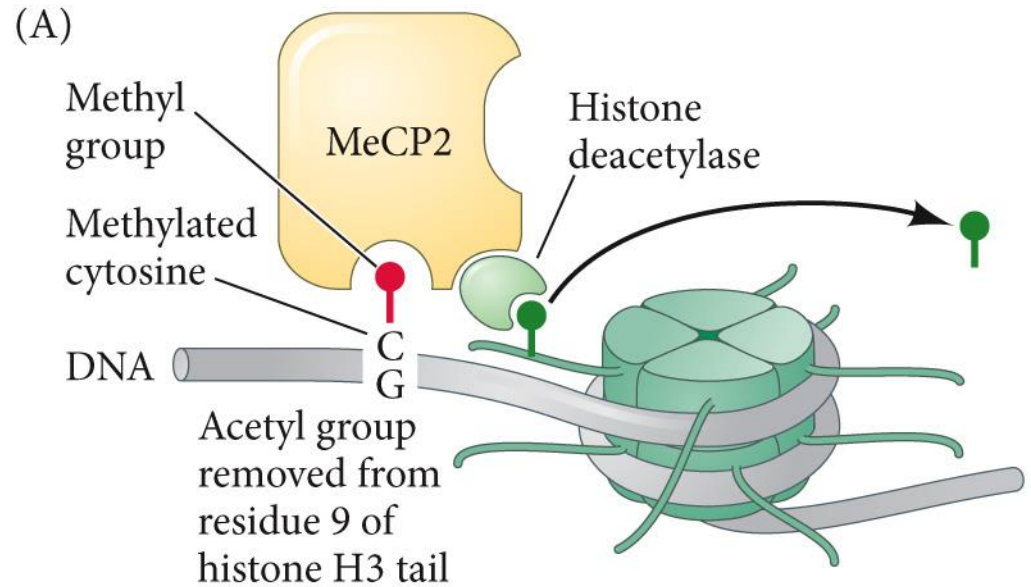
La metilazione del DNA puo' reprimere l'espressione genica bloccando il legame dei fattori di trascrizione alle regioni regolatorie dei geni

(A) Egr1 transcription



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.



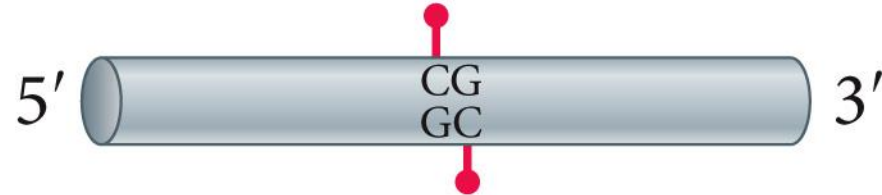
**La metilazione del DNA
puo' essere introdotta ex
novo, ma anche propagata
durante le divisioni
cellulari (MEMORIA
EPIGENETICA)**



Dnmt3 (de novo methyltransferase)

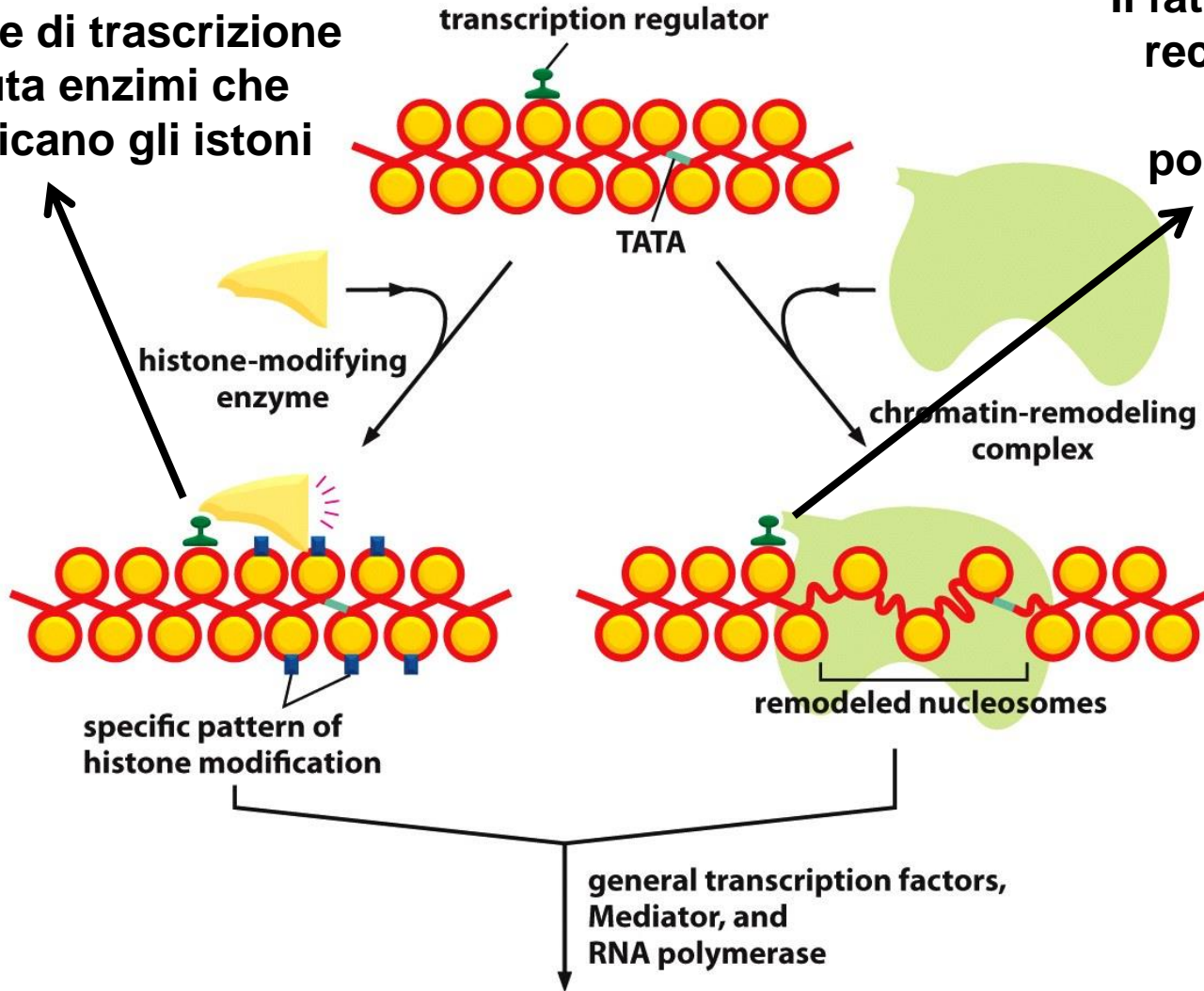


Dnmt1 (perpetuating methyltransferase)



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

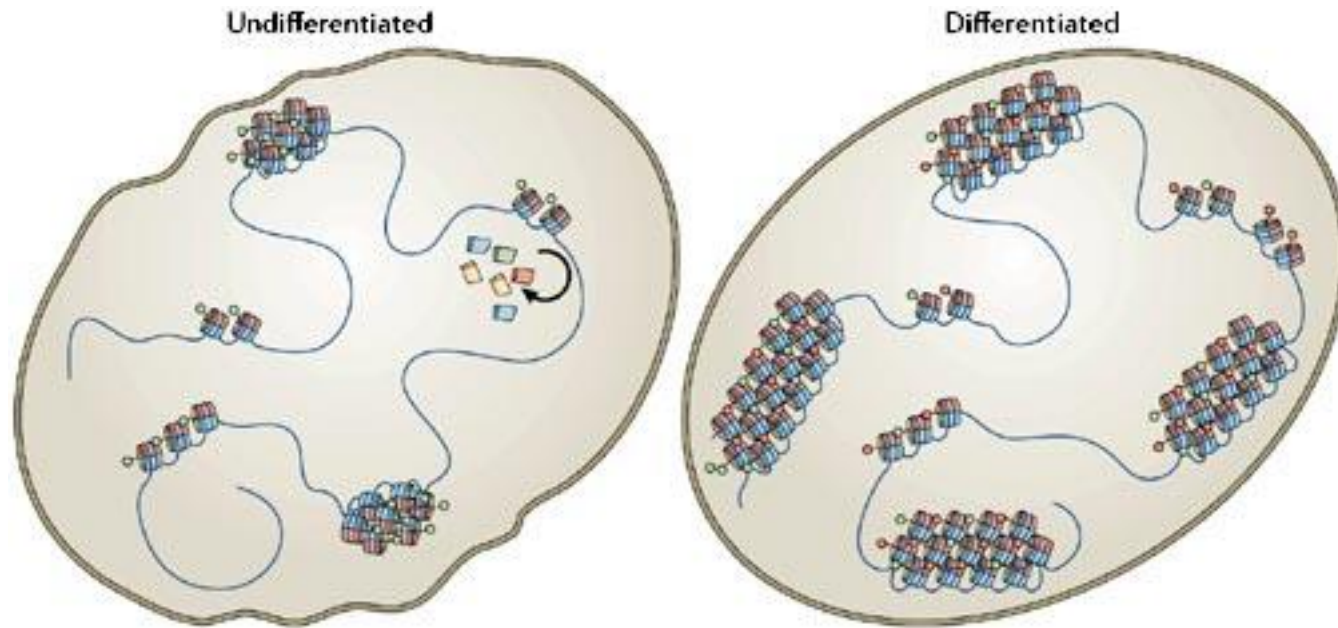
Il fattore di trascrizione
recluta enzimi che
modificano gli istoni



Il fattore di trascrizione
recluta proteine che
modificano il
posizionamento dei
nucleosomi

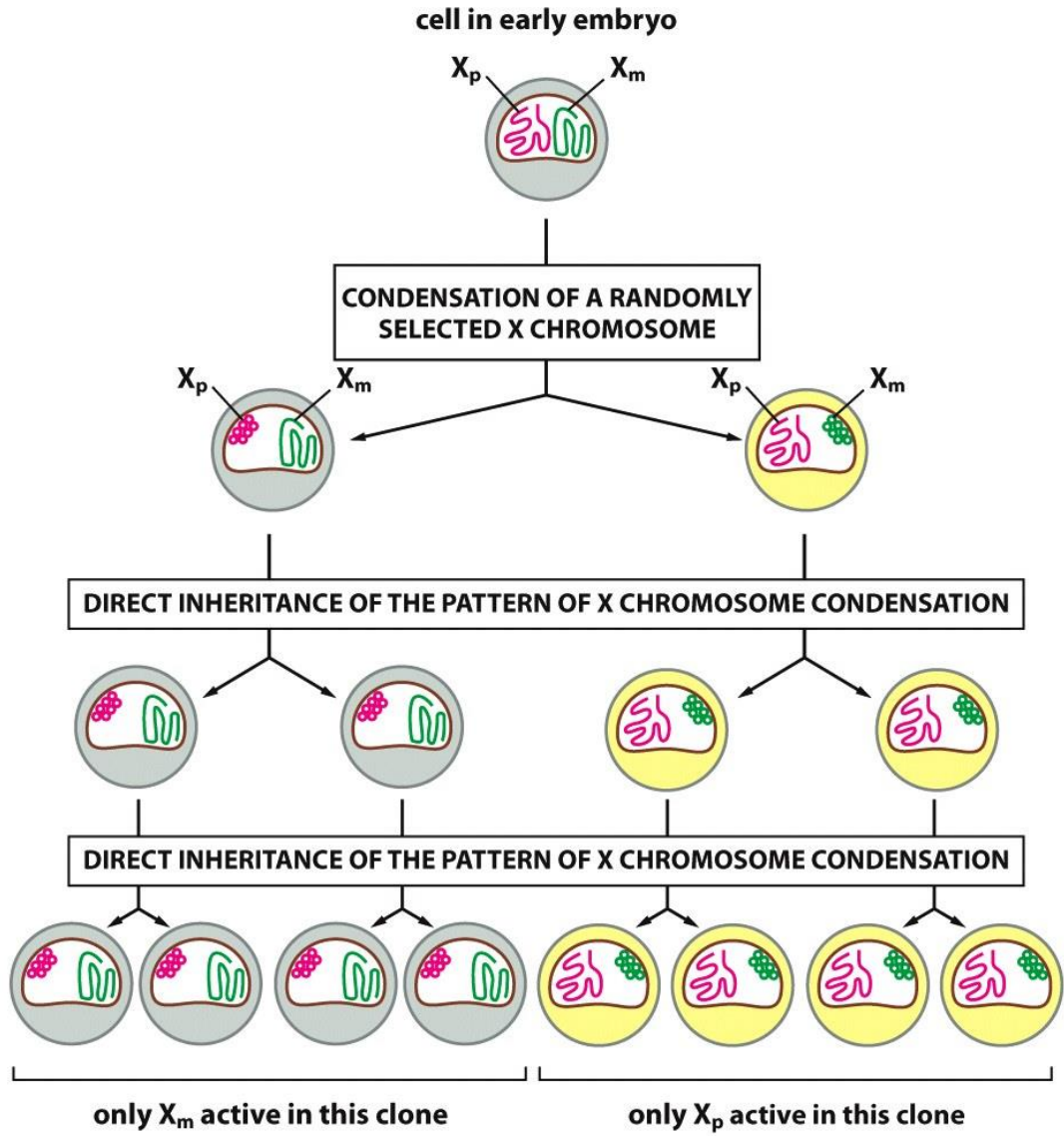
TRANSCRIPTION INITIATION

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.

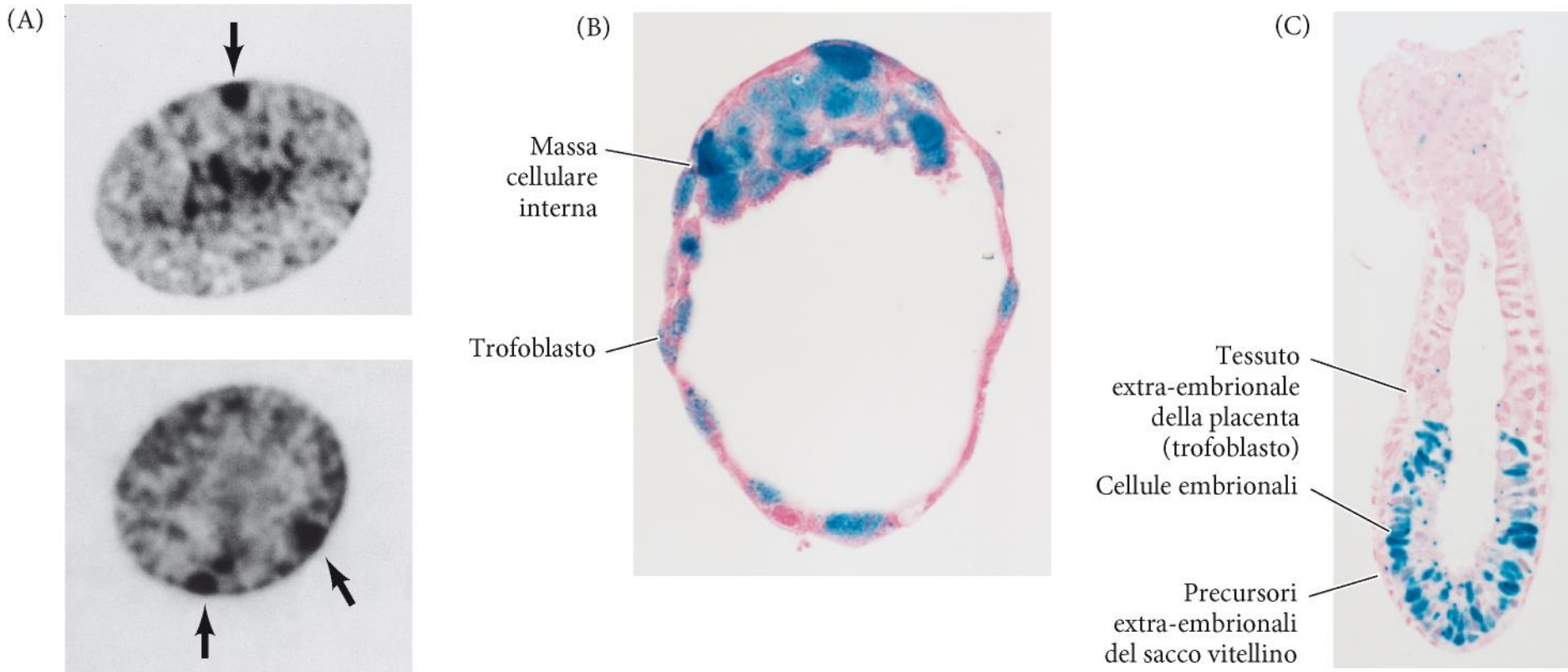


LA FORMAZIONE DI ETEROCROMATINA REGOLA L'INATTIVAZIONE DI UNO DEI DUE CROMOSOMI X IN CELLULE FEMMINILI (COMPENSAZIONE DEL DOSAGGIO)

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



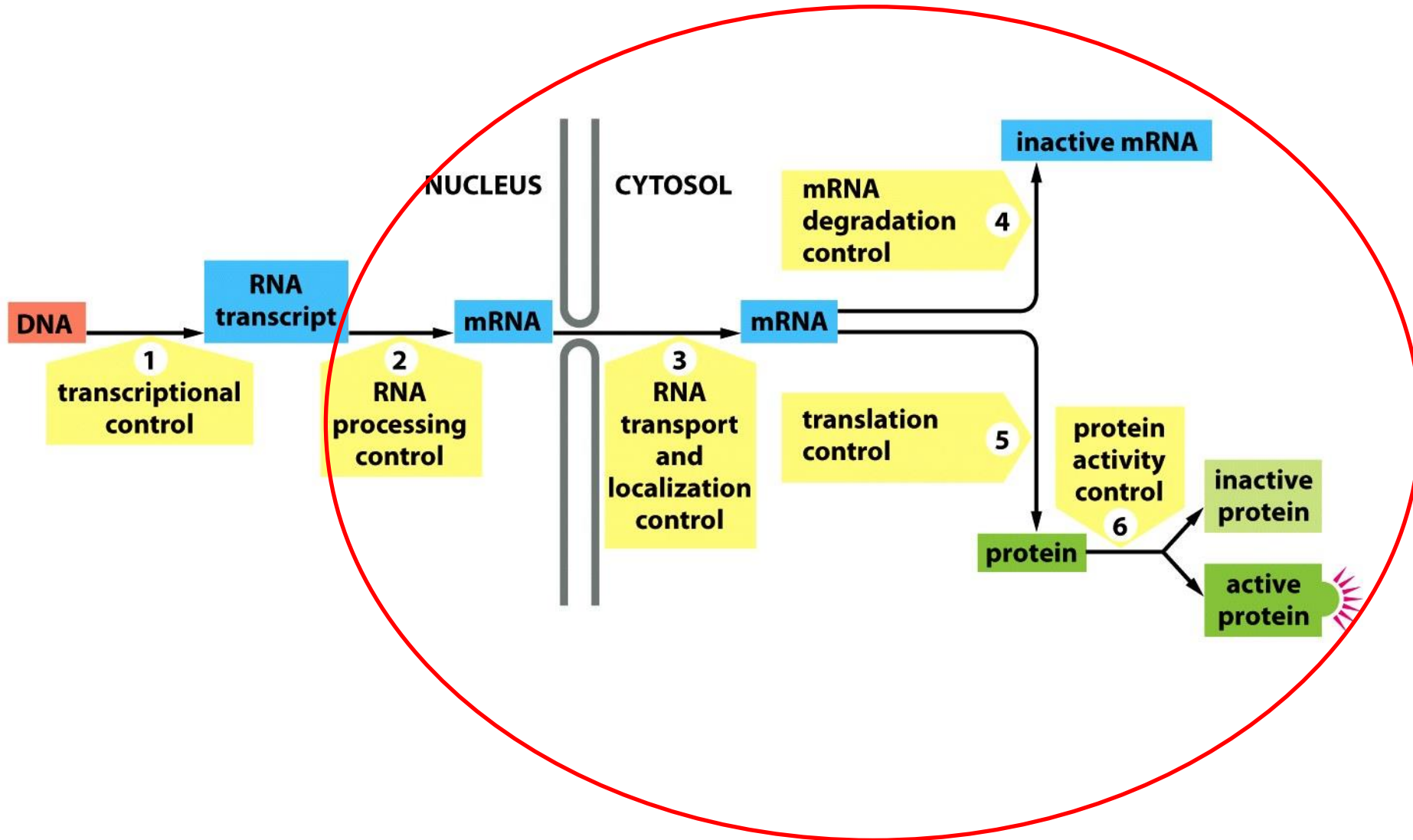
L'inattivazione del cromosoma X avviene fra lo stadio di blastocisti e la gastrulazione

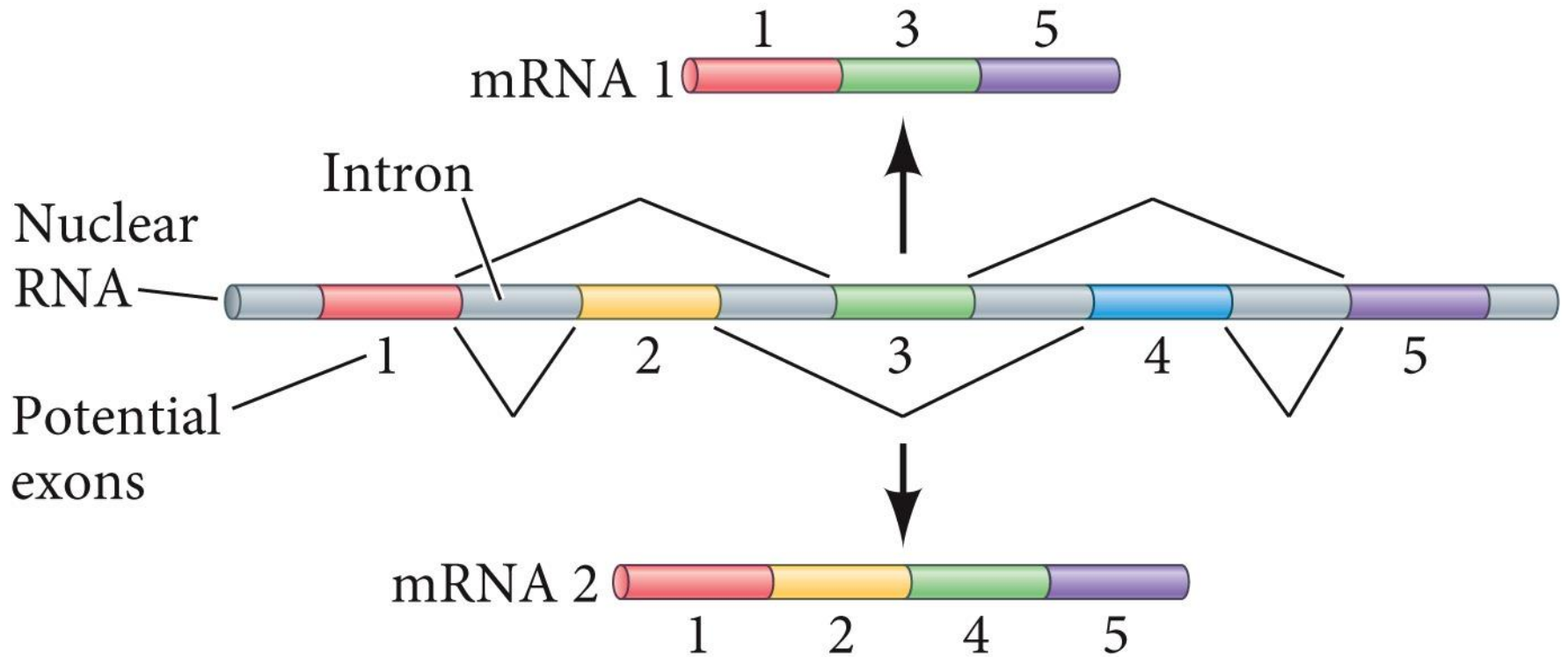


Gene reporter inserito nel cromosoma X di origine paterna: attivo in tutte le cellule della blastocisti, ma poi inattivato in parte delle cellule.

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

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





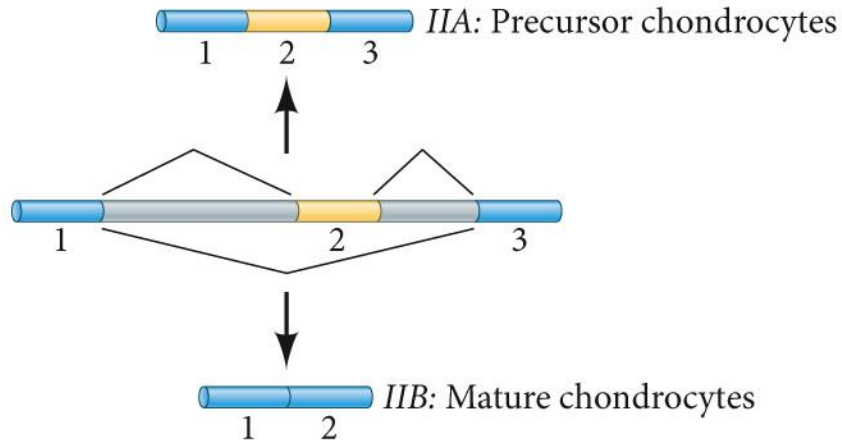
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 3.23
 © 2016 Sinauer Associates, Inc.

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

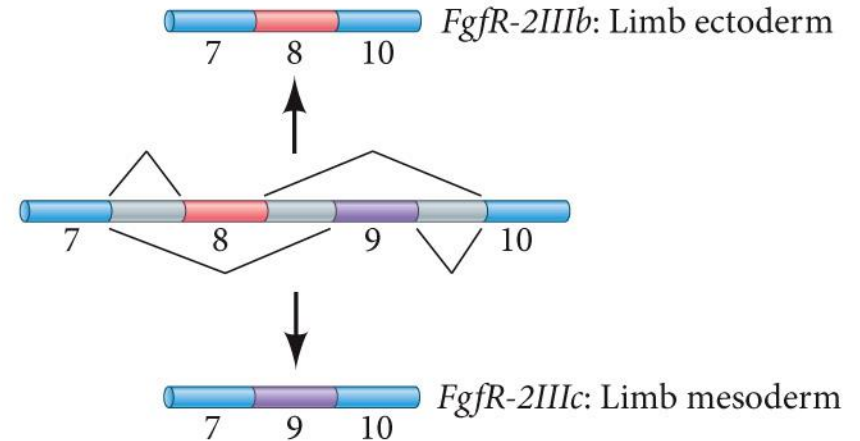
Si stima che il 92% dei geni umani sia soggetto a splicing alternativo

Possibili modalita' di splicing alternativo di mRNA

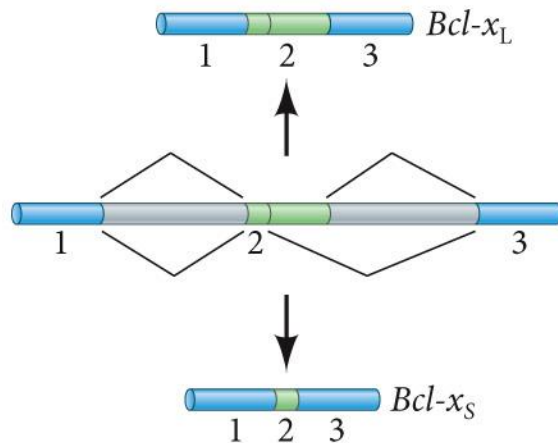
(A) Cassette exon: Type II procollagen



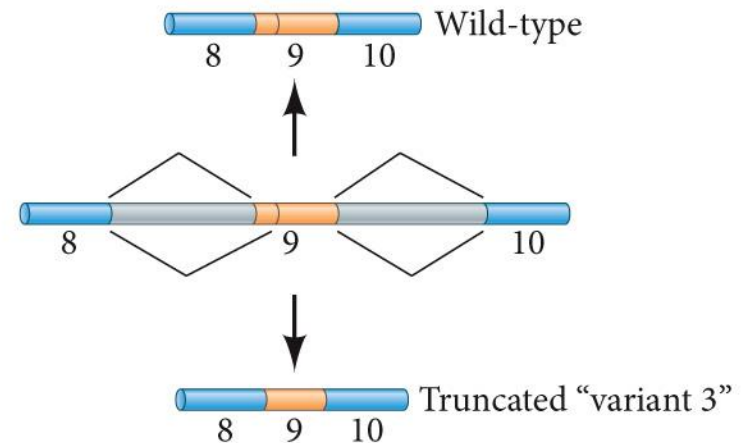
(B) Mutually exclusive exons: FgfR2

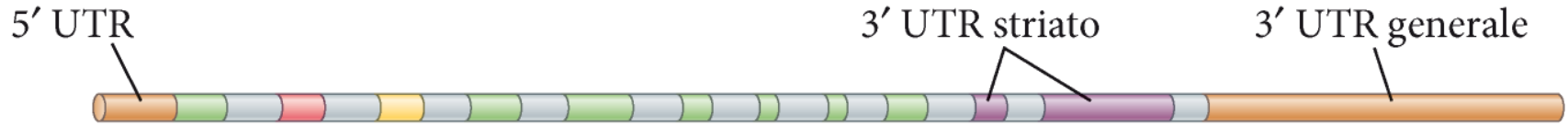


(C) Alternative 5' splice site: Bcl-x



(D) Alternative 3' splice site: Chordin





Splicing alternativo dei trascritti di mRNA

Tessuto muscolare striato (1)



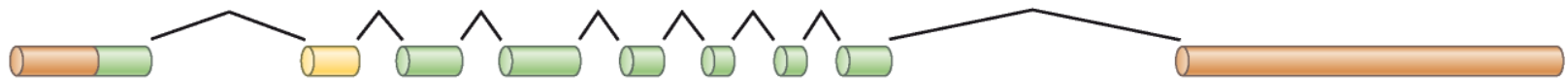
Tessuto muscolare striato (2)



Tessuto muscolare liscio



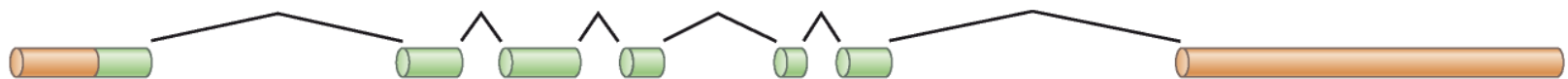
Mioblasto



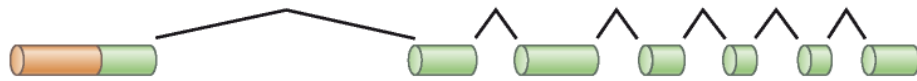
Tessuto non muscolare/fibroblasto



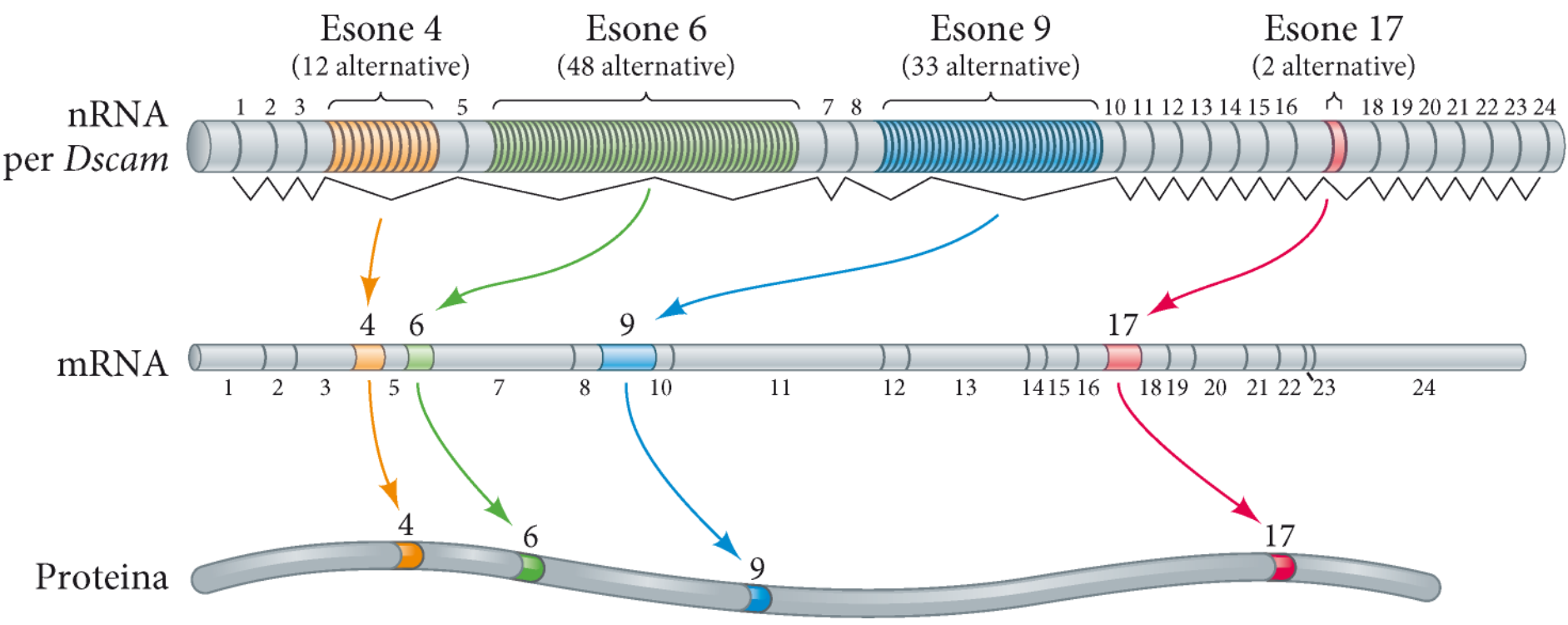
Epatoma

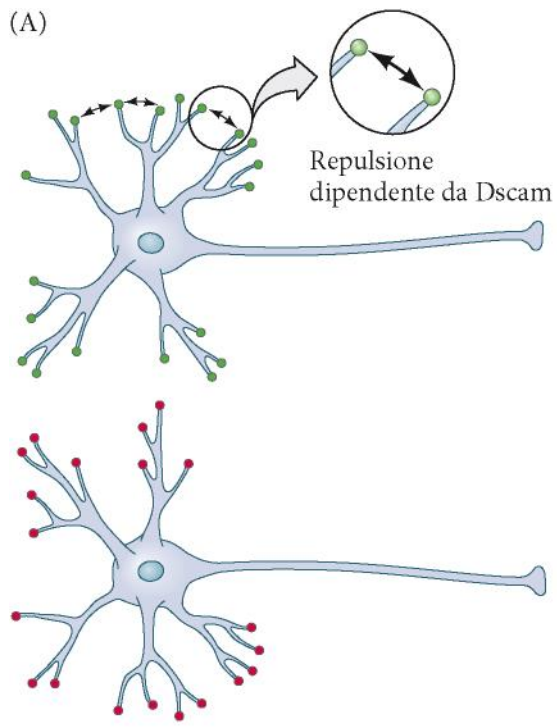


Cervello

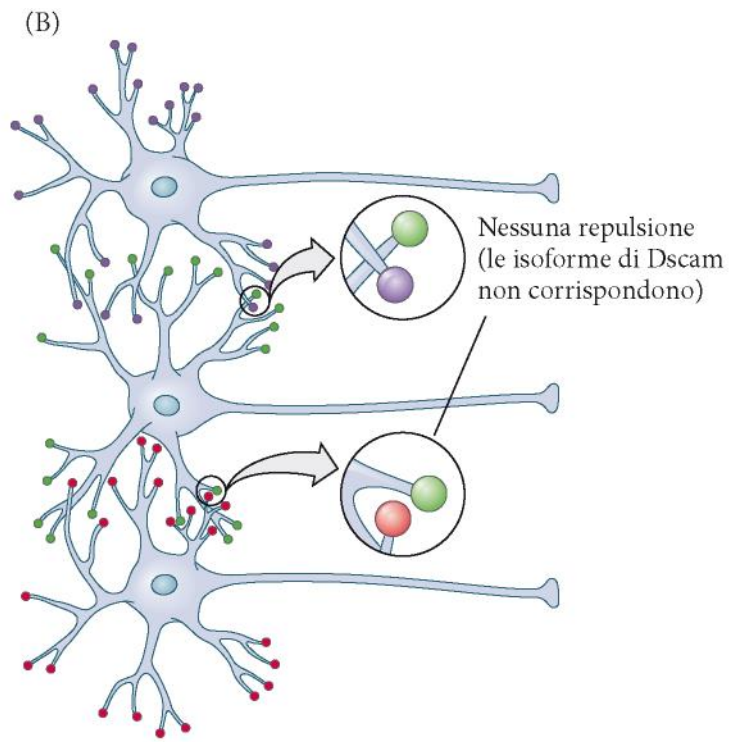
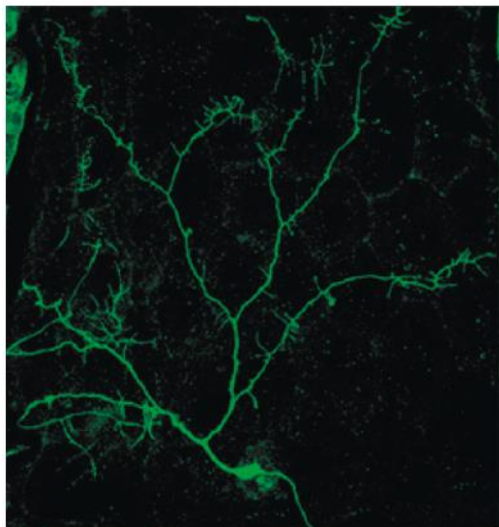


Mediante splicing alternativo, un singolo gene puo' dare origine ad una famiglia di proteina correlate (isoforme di splicing)

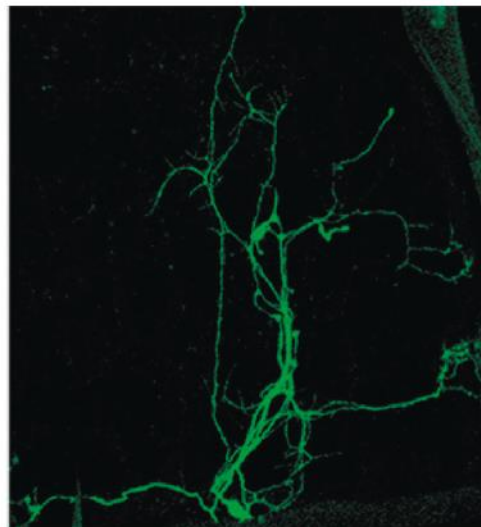




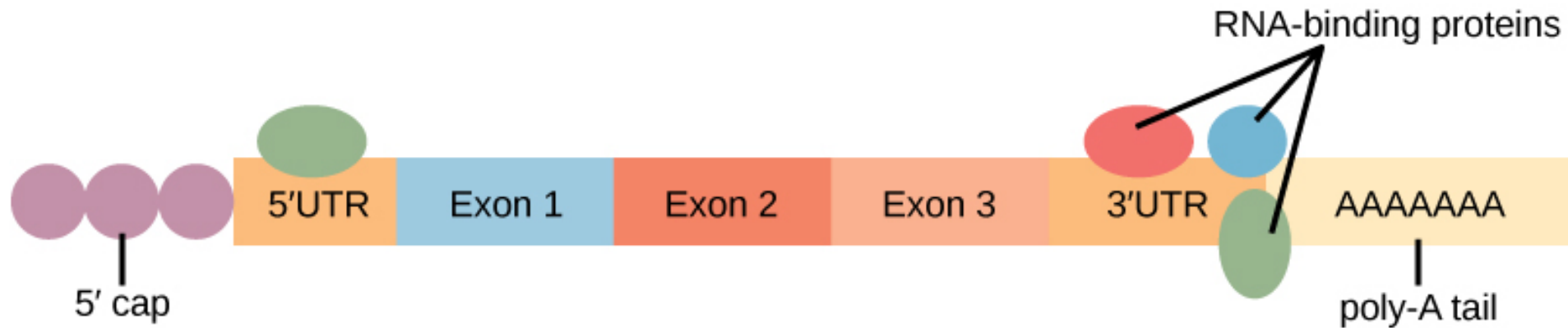
(C) Normale (*wild-type*)



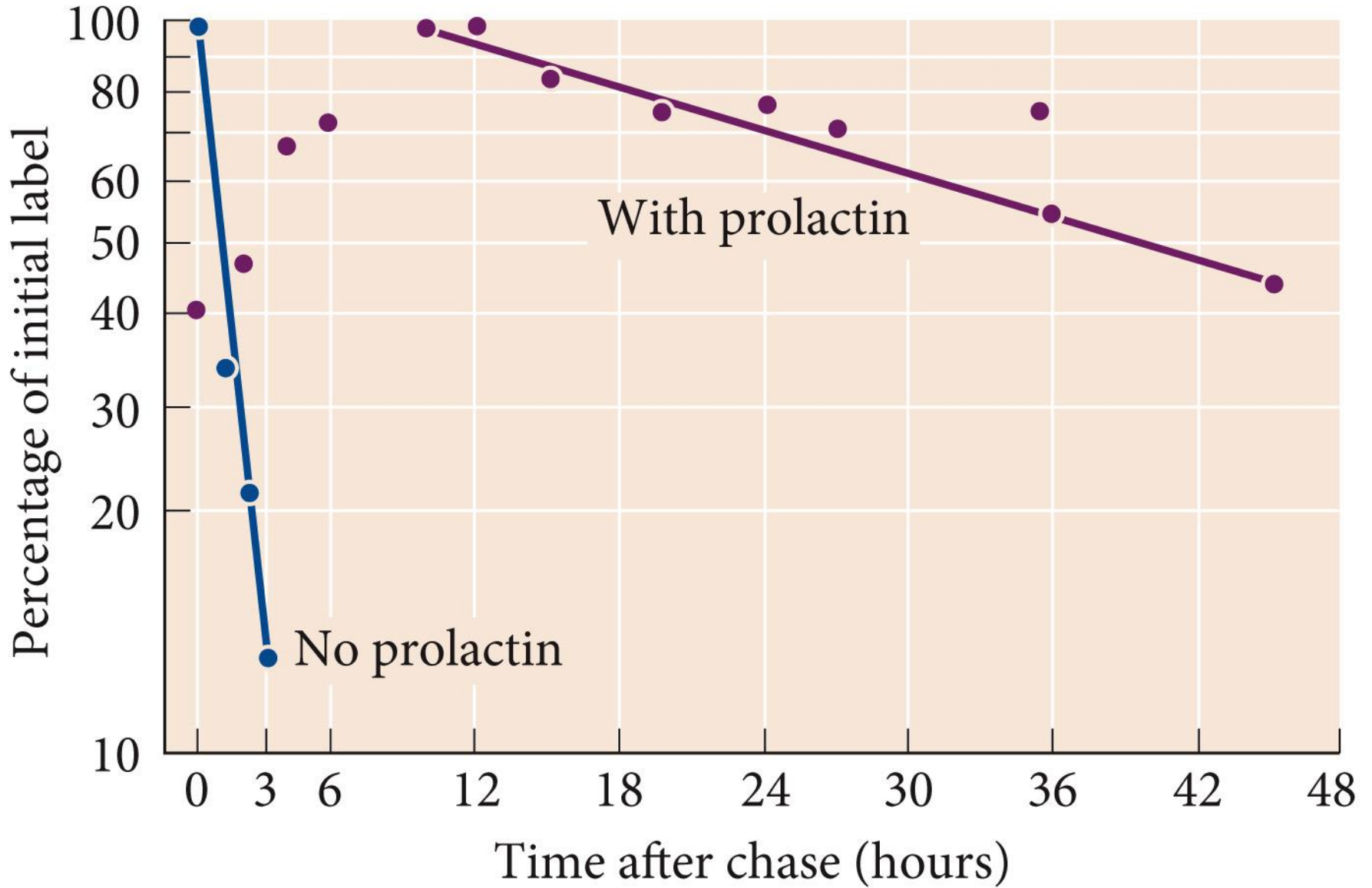
(D) Neurone privo di Dscam



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



Regolazione dei livelli di espressione genica in base alla stabilita' (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.

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 riavvicinamento dell'mRNA ed avvicinamento del 3' UTR al 5' UTR

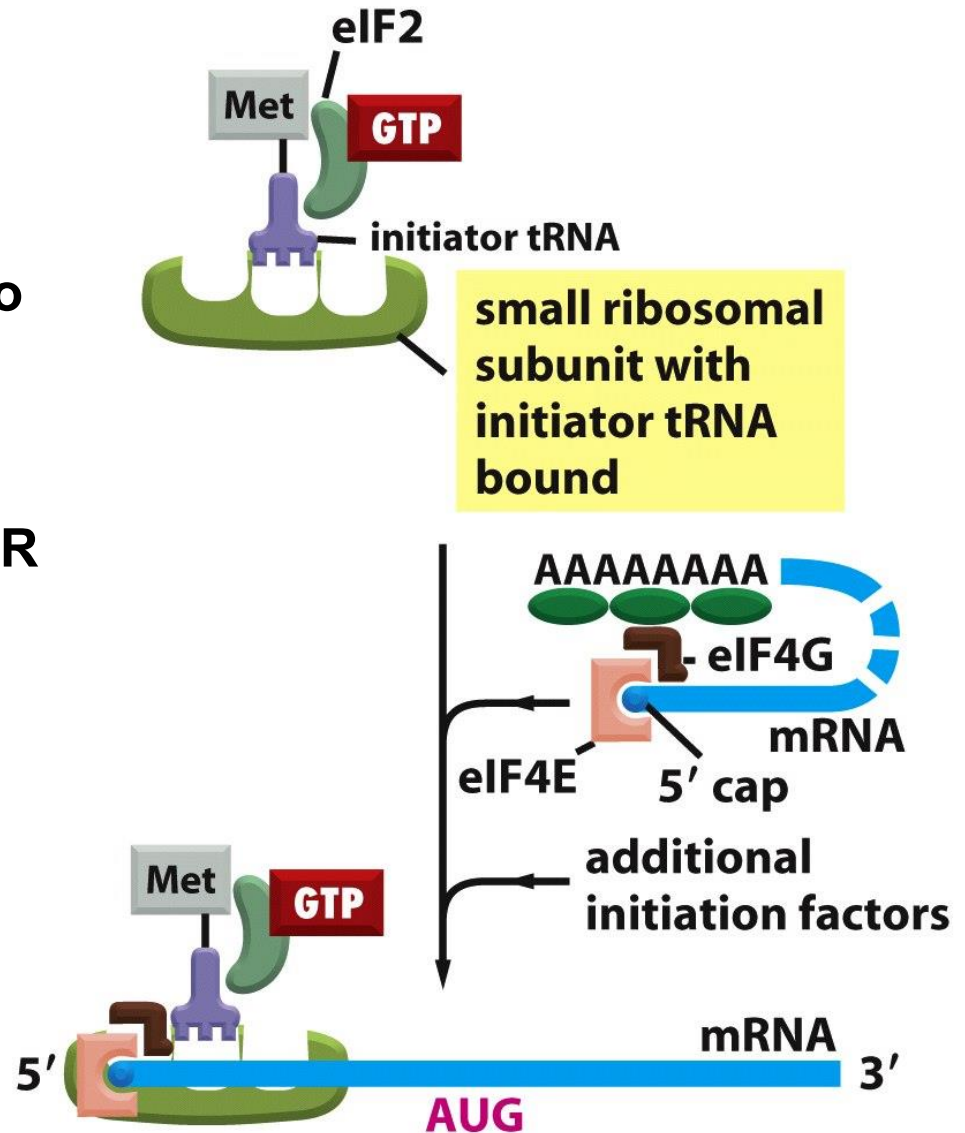
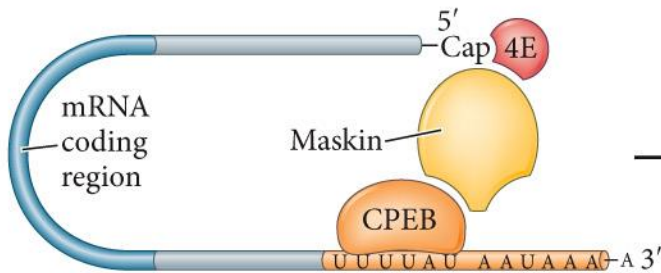


Figure 6-72 part 1 of 5 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

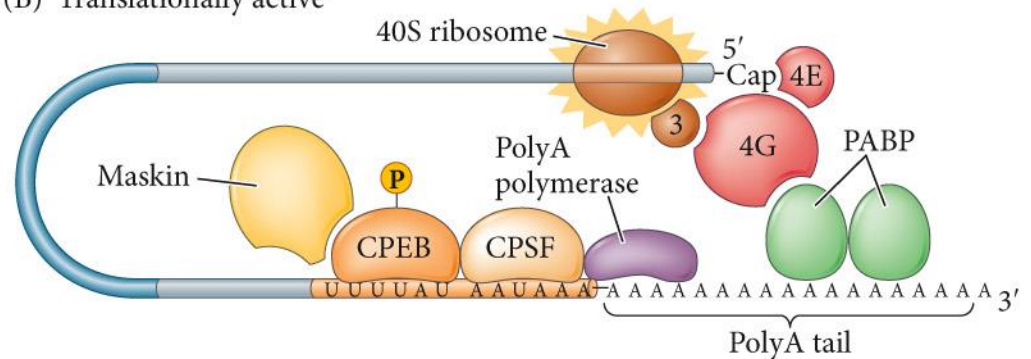
Negli oociti di anfi, la proteina Maskin compete con eIF4G per il legame a eIF4E, bloccando la traduzione di molti mRNA.

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.

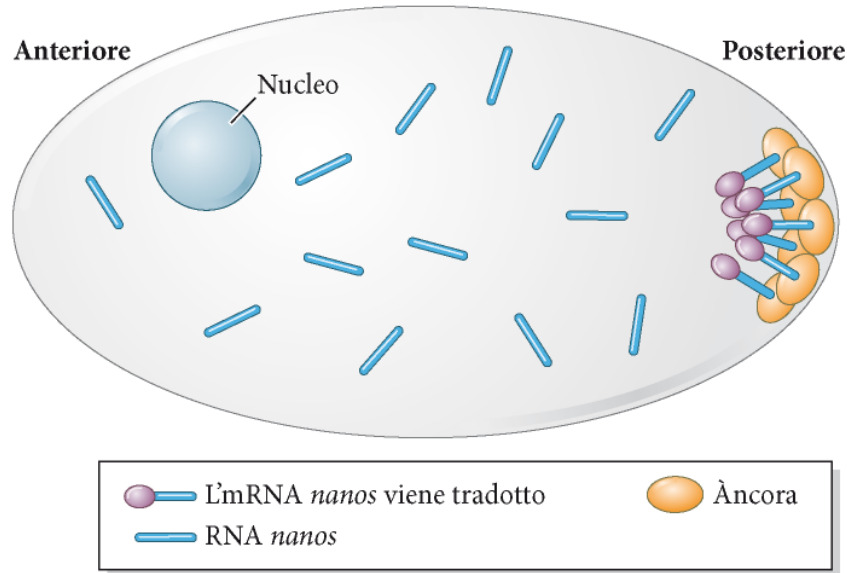
(A) Translationally dormant



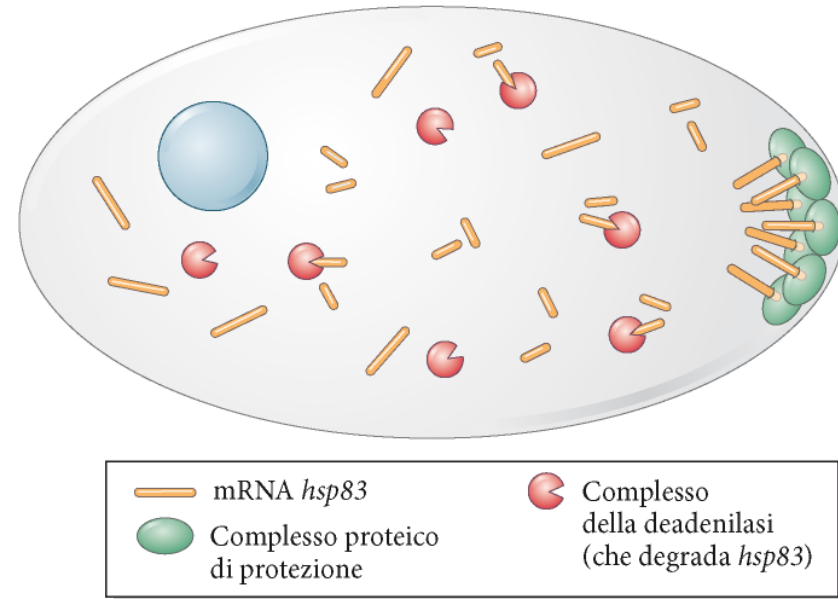
(B) Translationally active



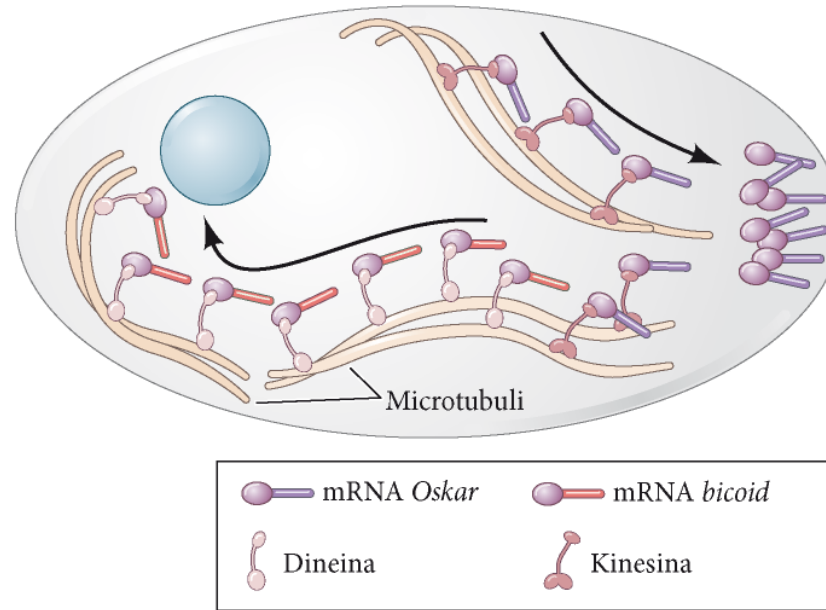
(A) Diffusione e ancoraggio locale



(B) Protezione localizzata



(C) Trasporto attivo lungo il citoscheletro

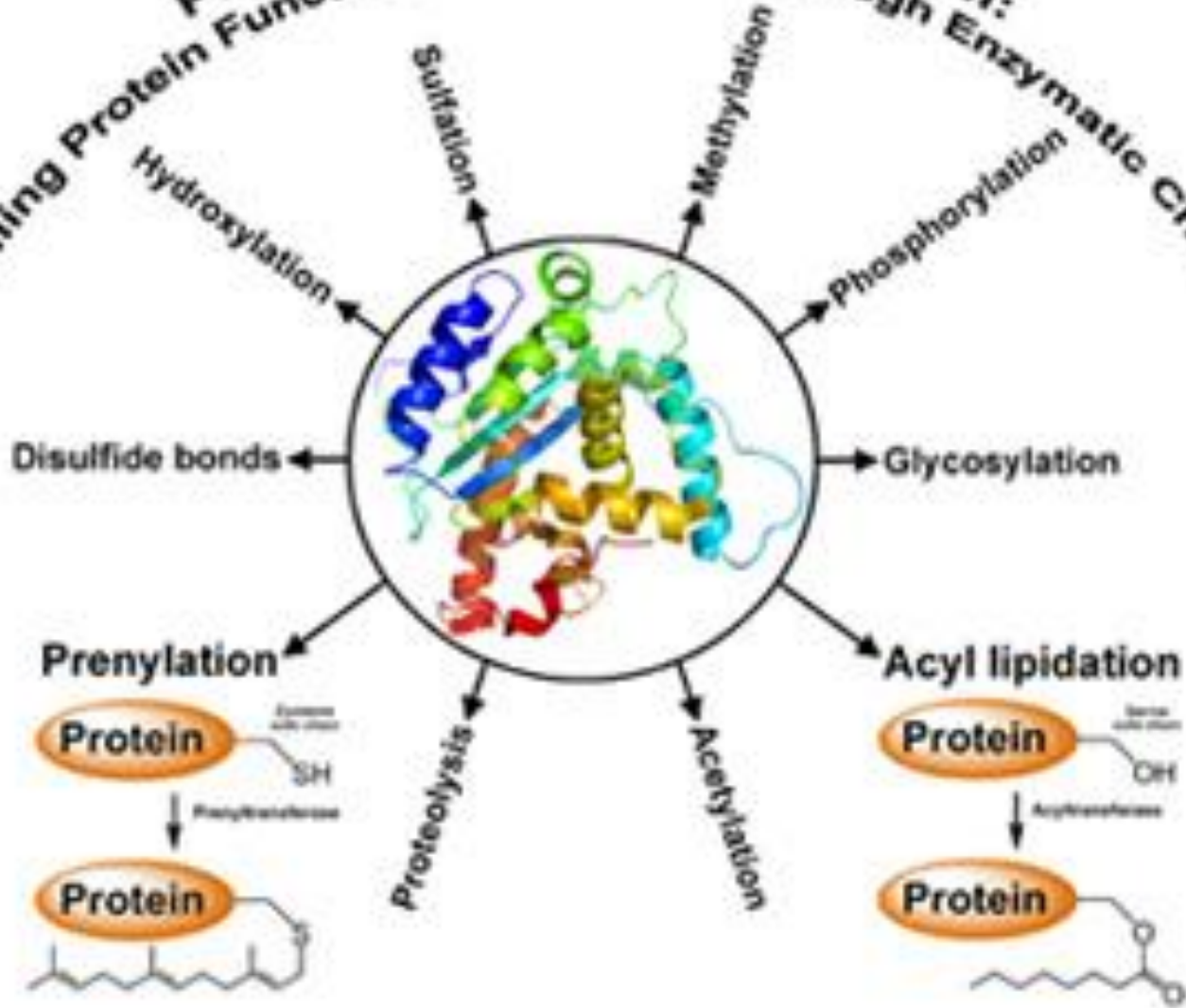


La maggior parte degli mRNA sono localizzati in modo selettivo in certe regioni cellulari.

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

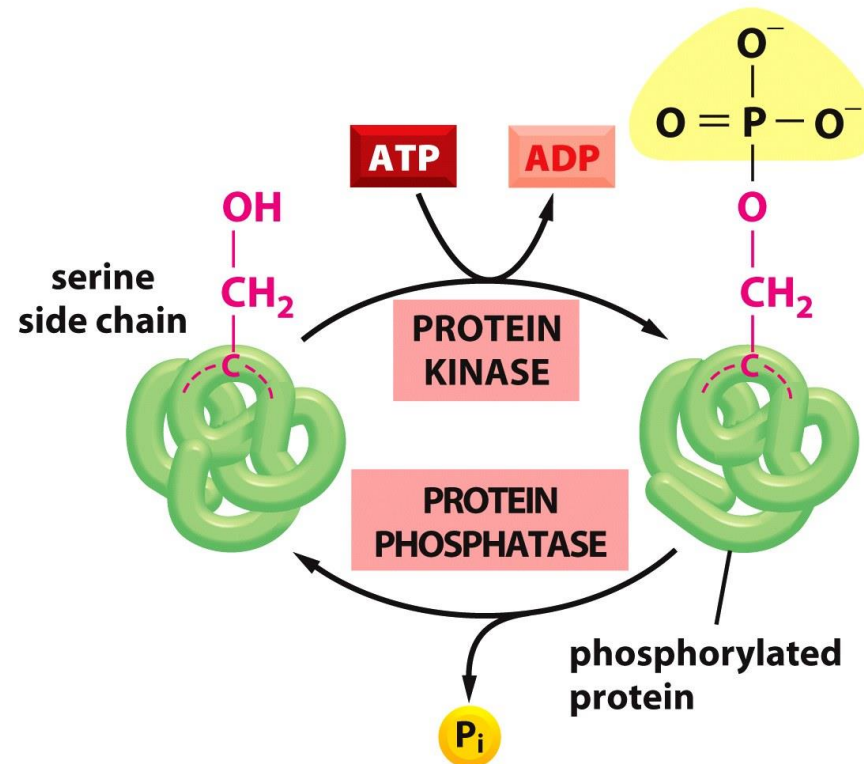
Controlling Protein Function and Diversity Through Enzymatic Chemistry

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.



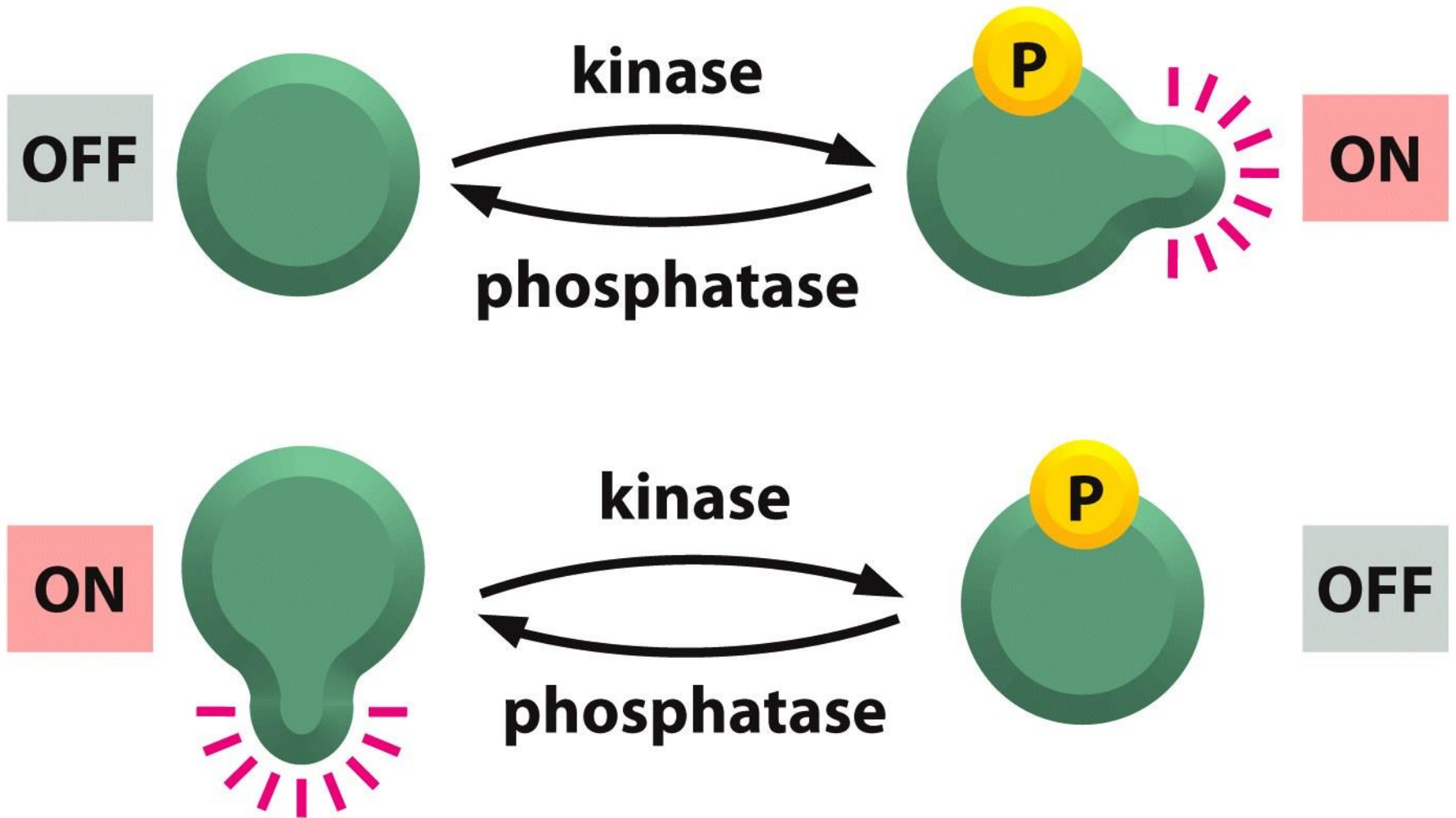


Figure 4-38b Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)