

«Le strutture cromosomiche sono codice di legge e potere esecutivo, o, per usare un'altra metafora, sono il progetto dell'architetto e insieme abili costruttori».

Erwin Schrödinger

Lezione 3

La regolazione a livello genetico

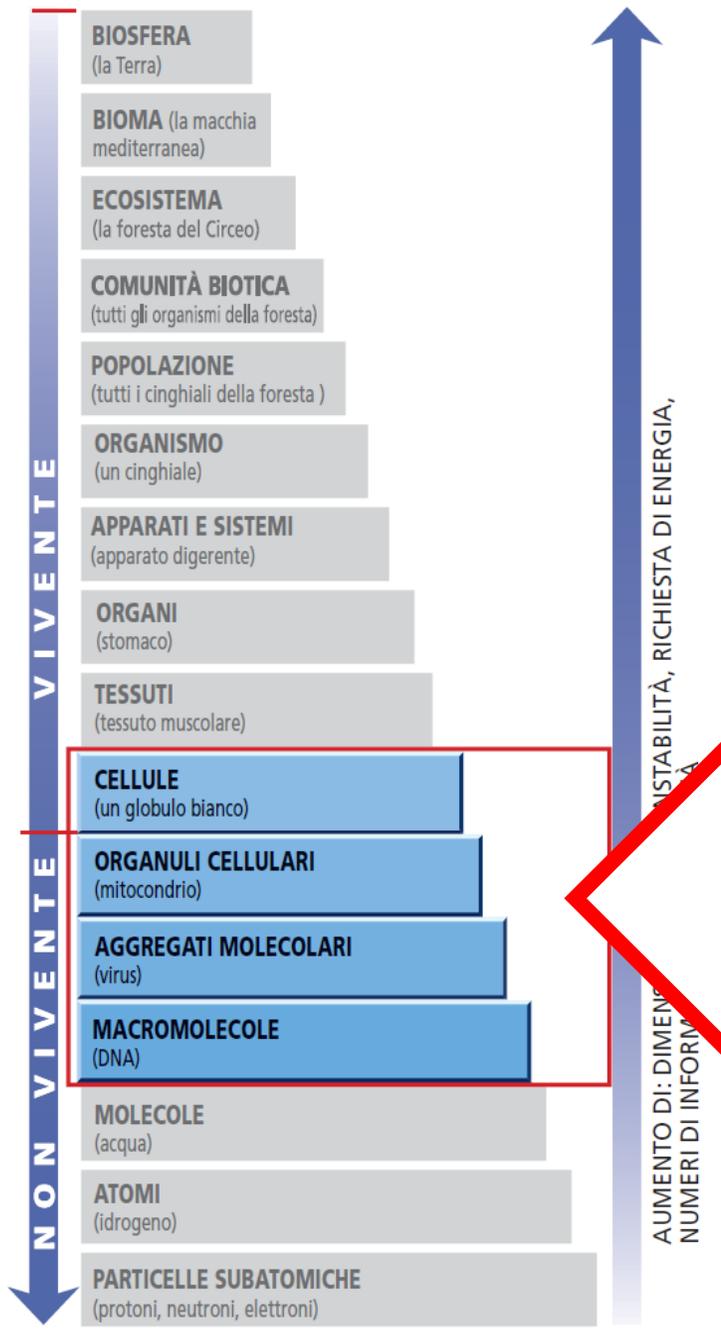


La definizione di essere vivente di Pietro Omodeo

“Un essere vivente è un **sistema cellulare aperto, autoriproducibile**, attraversato da **flussi autoregolati di materia, di energia e di informazione** che ne consentono la crescita, lo sviluppo e la **conservazione dello stato stazionario**. Per queste loro caratteristiche **le popolazioni dei viventi sono in grado di evolversi nel tempo** adeguandosi alle mutevoli condizioni ambientali”.



Continuità nell'organizzazione della materia



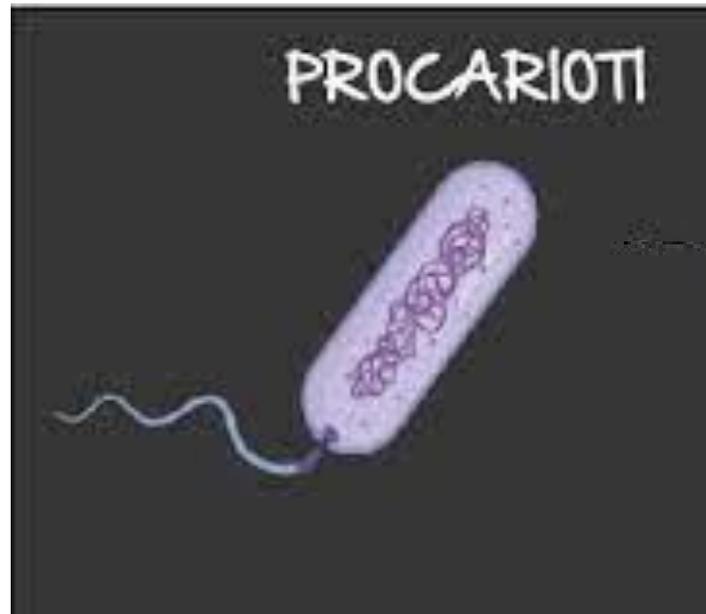
A quale livello di organizzazione ci situiamo?

NOI SIAMO QUI

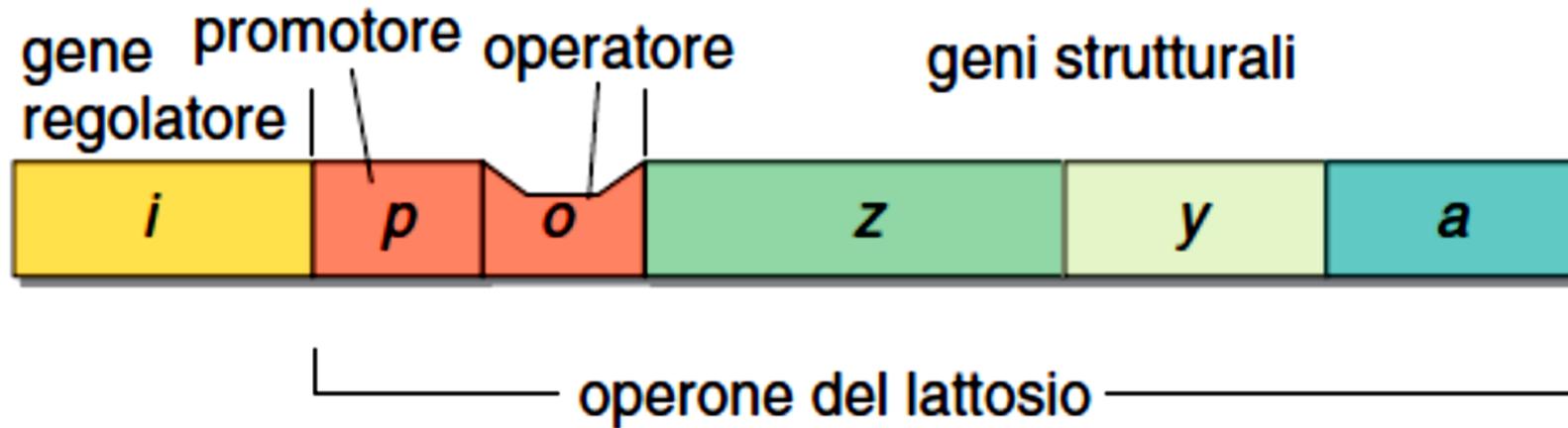
Accendiamo e spegniamo i geni

Il flusso di informazioni che dal genotipo (DNA) si svolge verso il fenotipo (proteine) è sottoposto a regolazione

1. La regolazione nei procarioti



L'operone *lac*

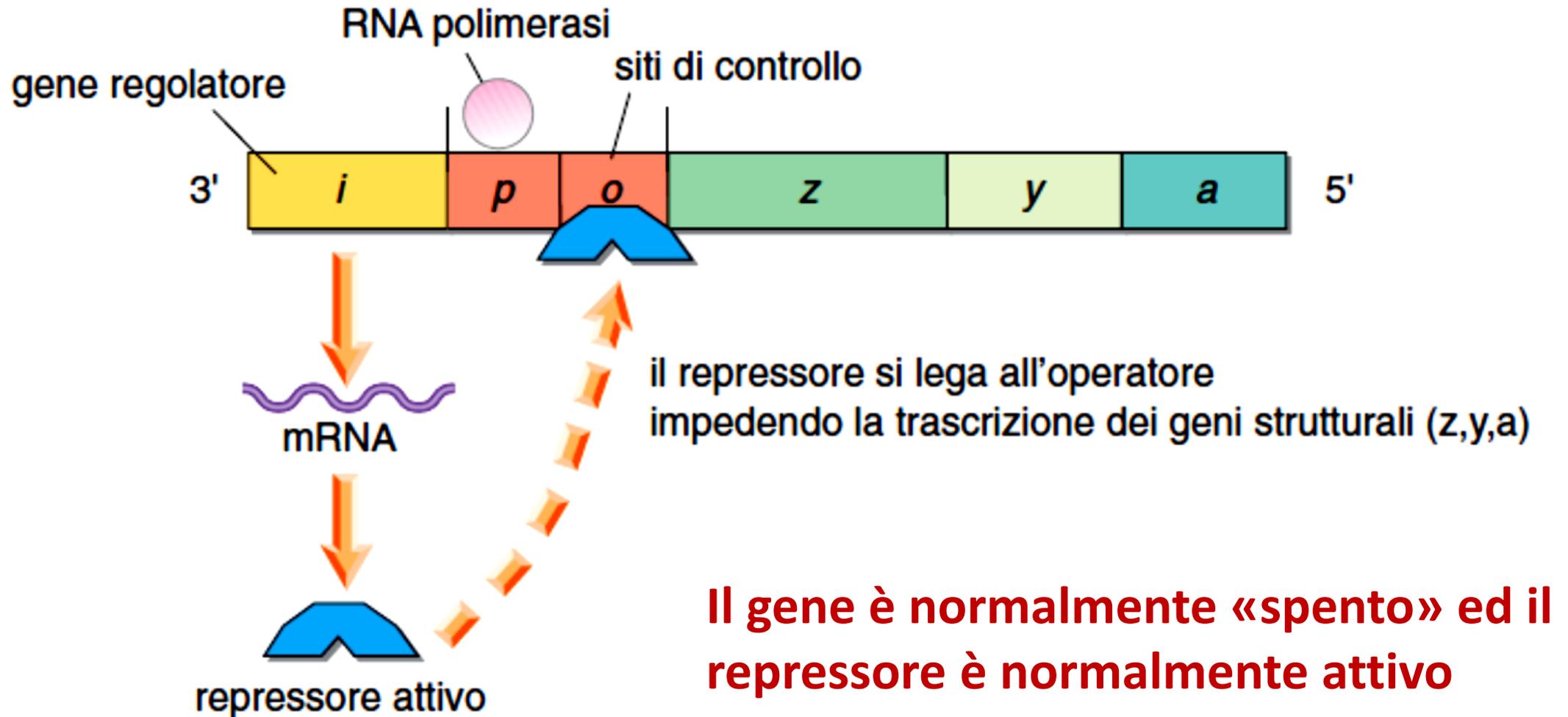


▲ **Figura 27** - Schema dell'operone del lattosio.

L'operone del lattosio è costituito da una serie di 3 geni strutturali (indicati con z, y e a) e da due siti di controllo: P (promotore), per l'RNA polimerasi, e O (operatore), per la molecola del repressore. È presente poi un gene regolatore che codifica per il repressore e che può essere situato anche in un sito diverso da quello dell'operone (negli eucarioti anche su di un altro cromosoma).

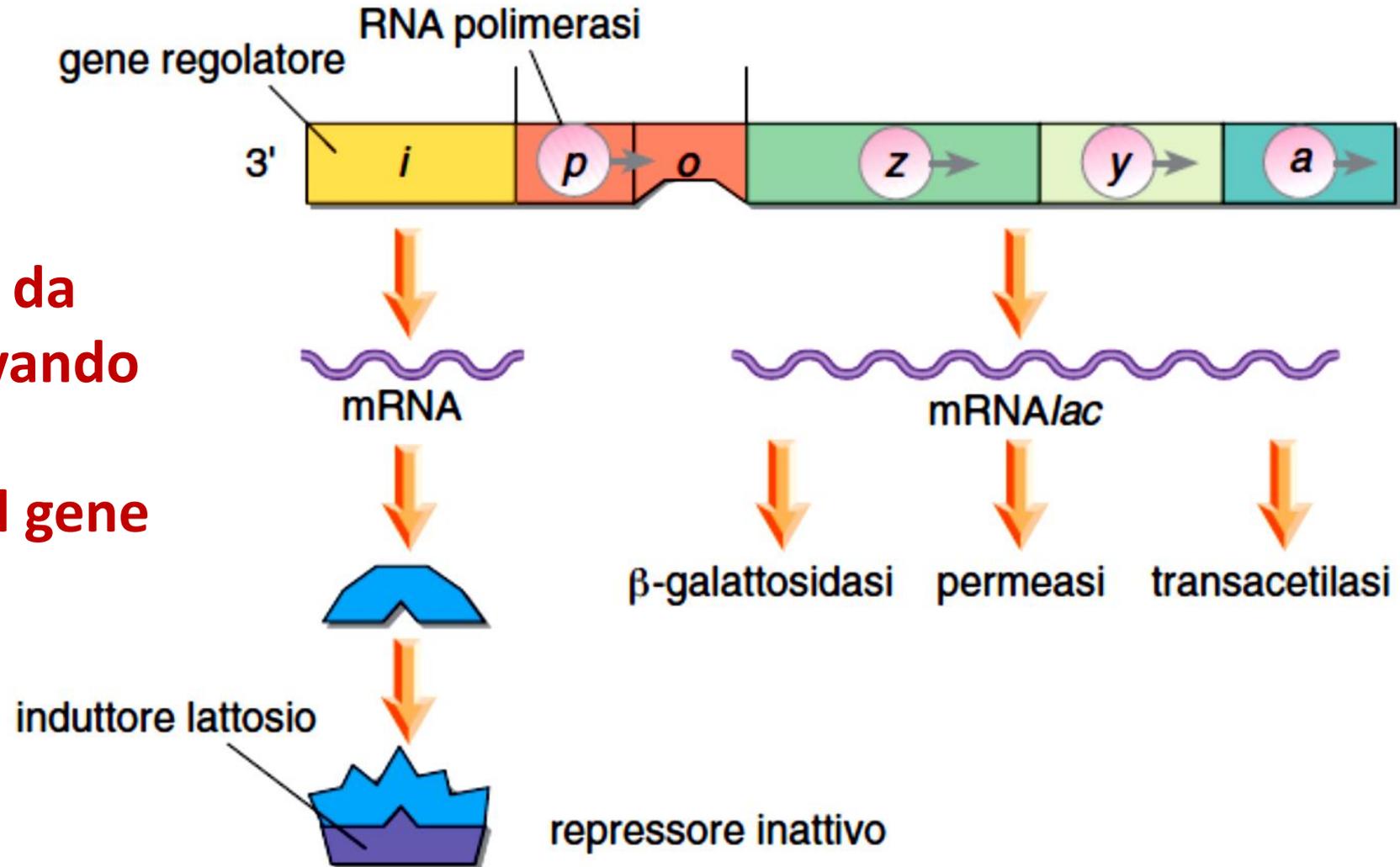
L'operone *lac*

REGOLAZIONE POSITIVA



L'operone *lac*

REGOLAZIONE POSITIVA



Il lattosio agisce da
induttore inattivando
il repressore ed
«accendendo» il gene

Qual è l'effetto dell'induttore?

- Scrivi su Socrative la risposta alla prima domanda



Student Login

Room Name

BOCCARDI9643

JOIN

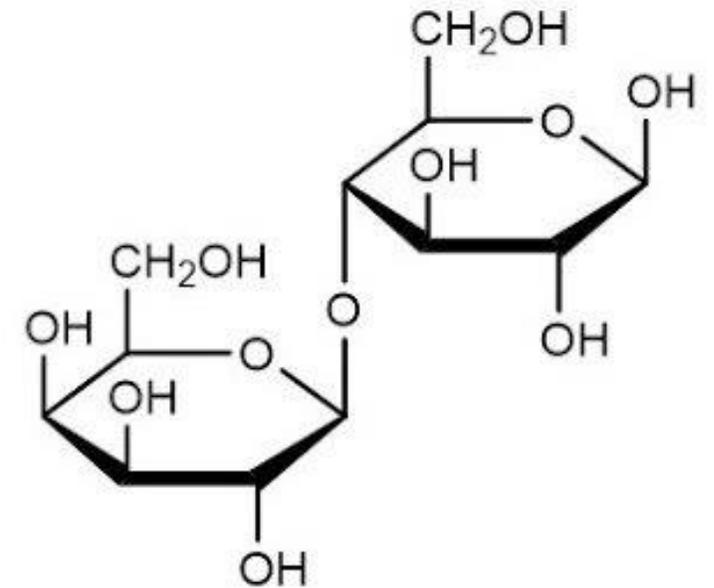
 English ▾

BOCCARDI9643

Enter your name

Prova |

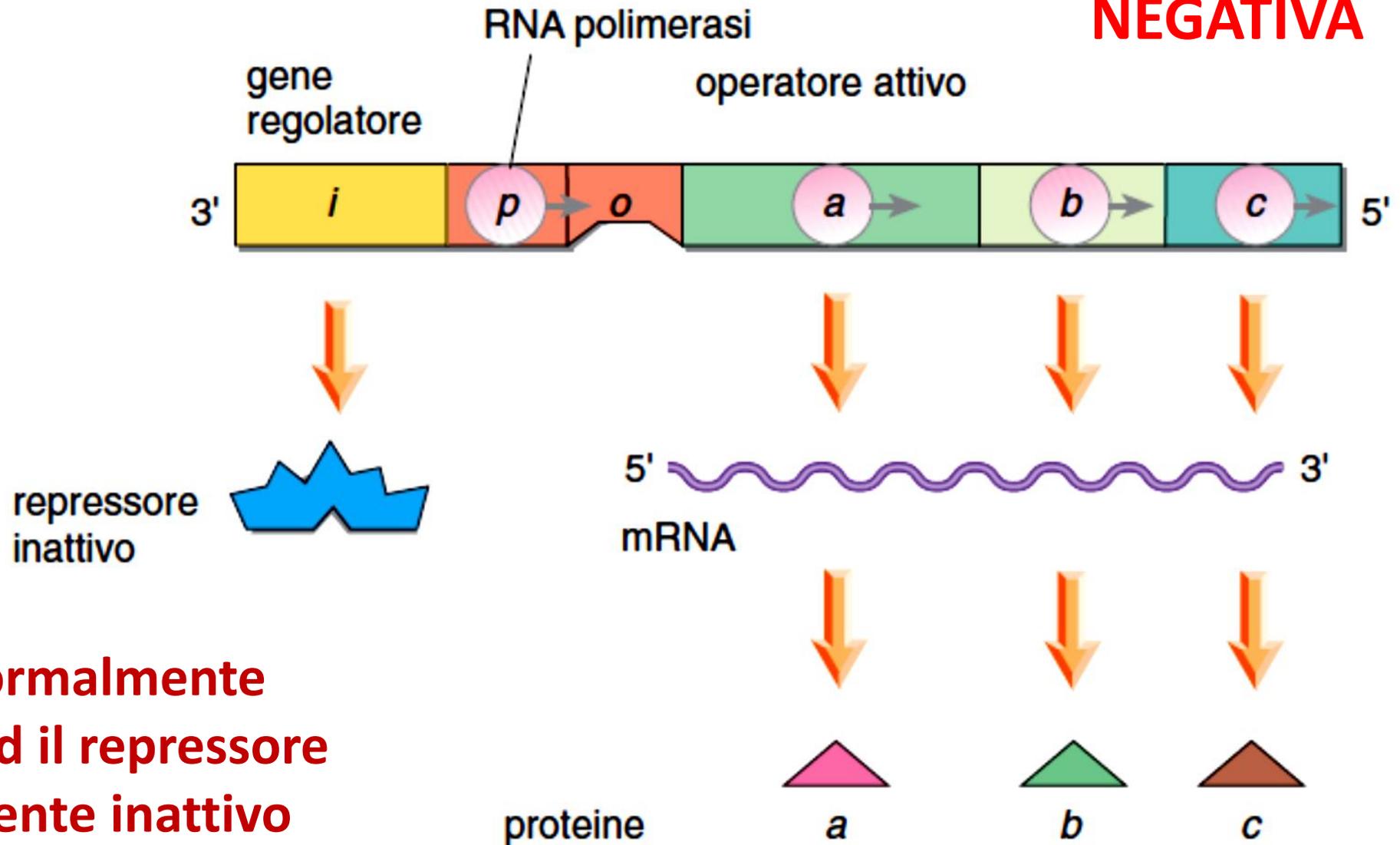
DONE



LATTOSIO

L'operone *trp*

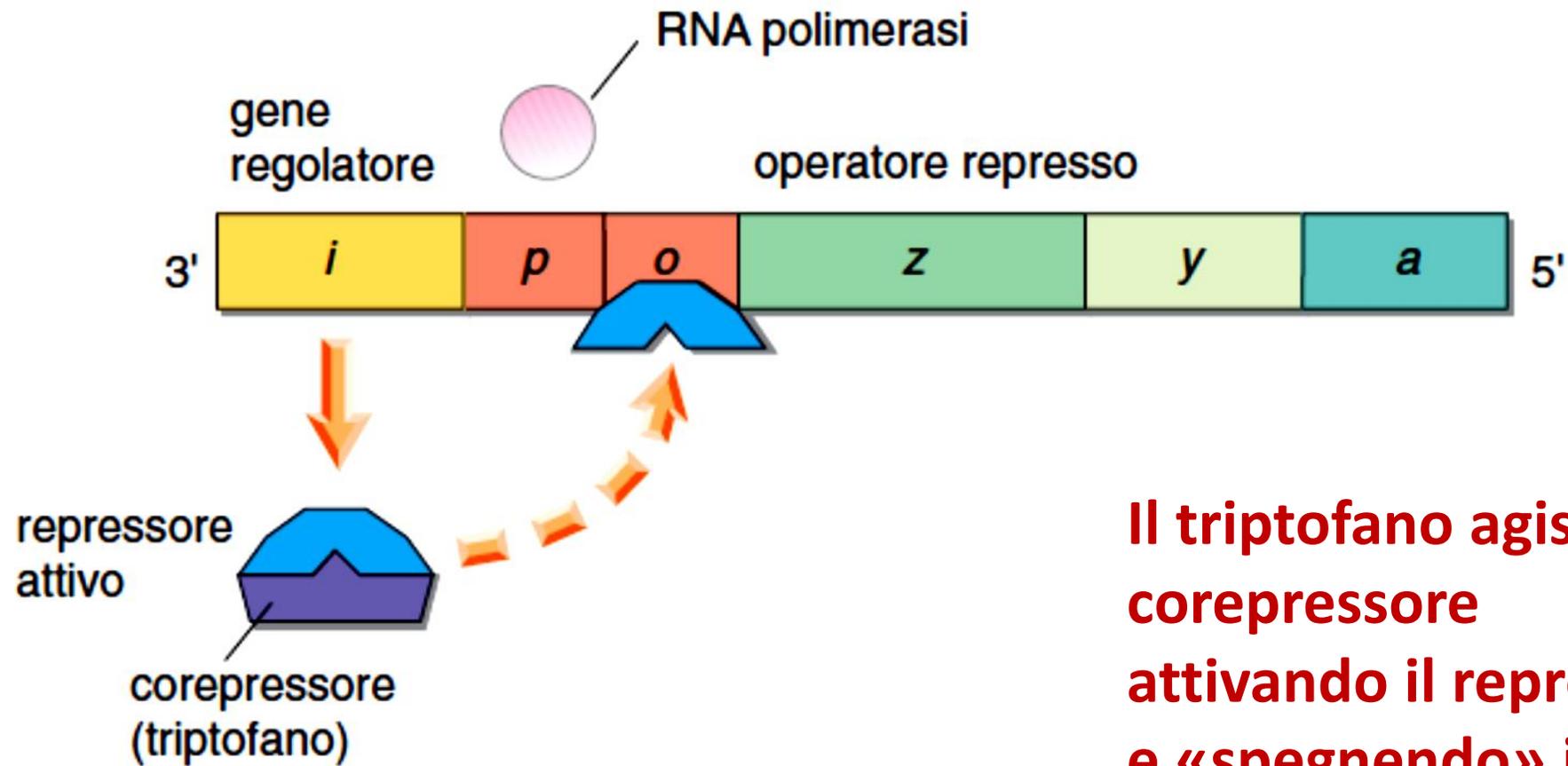
**REGOLAZIONE
NEGATIVA**



**Il gene è normalmente
«acceso» ed il repressore
è normalmente inattivo**

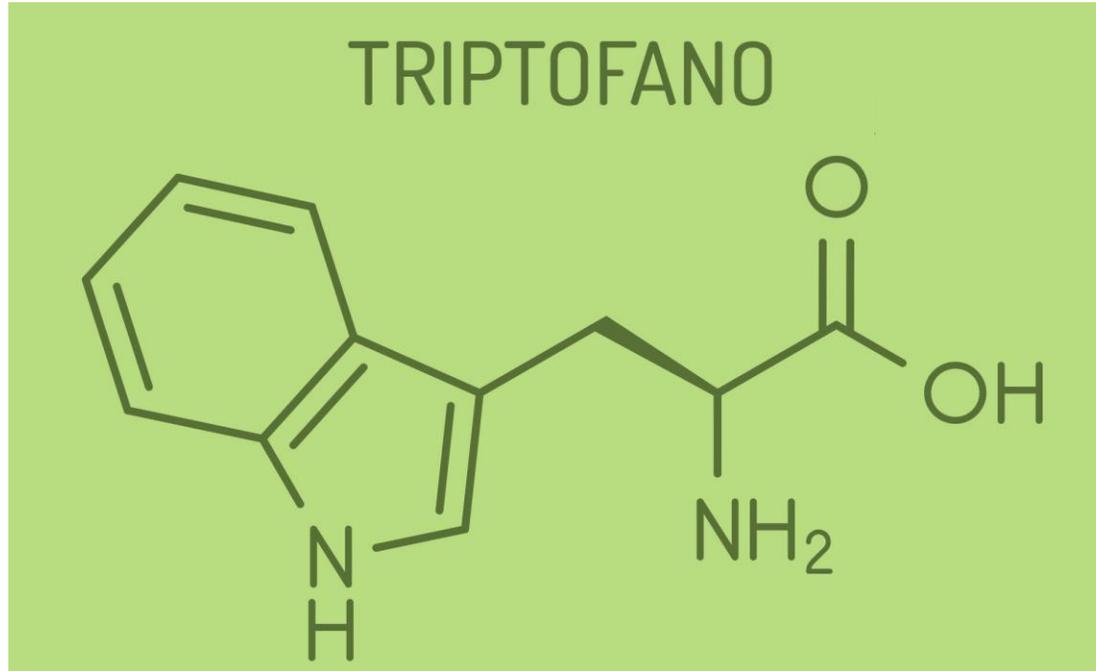
L'operone *trp*

**REGOLAZIONE
NEGATIVA**



**Il triptofano agisce da
corepressore
attivando il repressore
e «spegnendo» il gene**

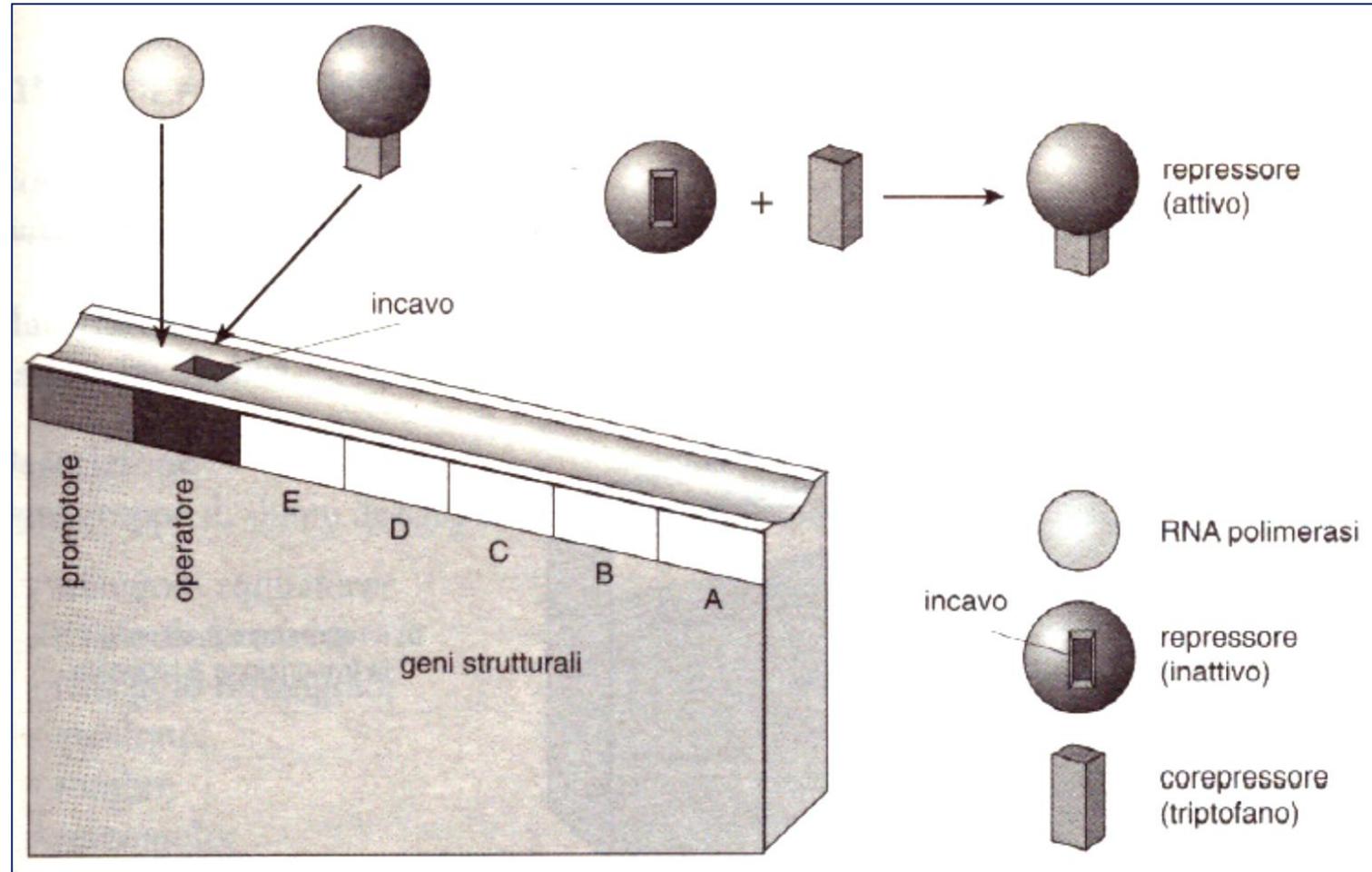
La regolazione negativa



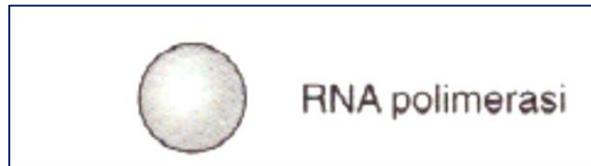
Che azione svolge il corepressore?

Il modello dell'operone *trp*

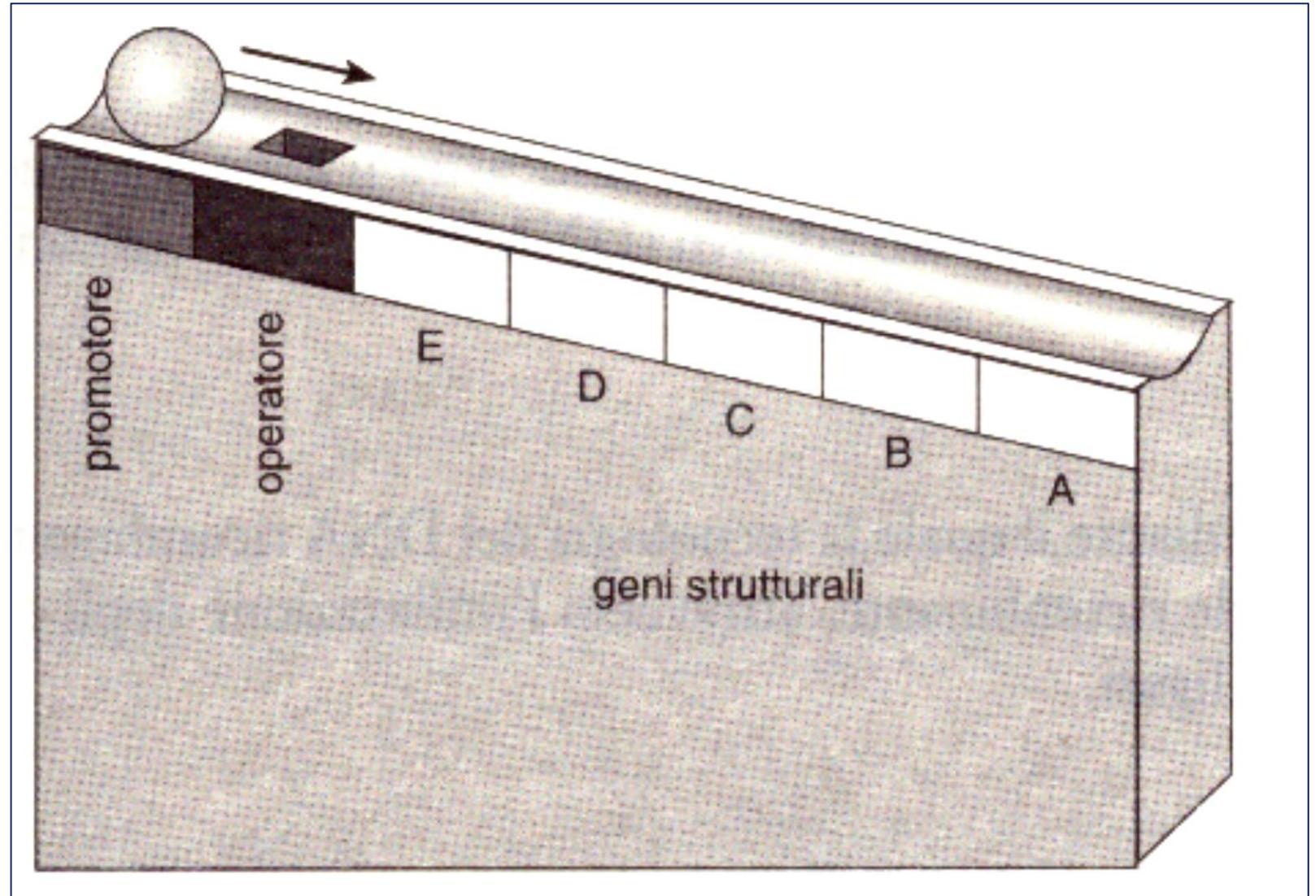
Costruisci un modello in legno dell'operone *trp*. Nel modellino, una pallina scivola lungo un piano inclinato, simboleggiando l'enzima **RNA polimerasi** che effettua la **trascrizione**. Essa comincia il suo percorso dal **sito promotore**, per poi passare all'**operatore** ed ai **geni strutturali**. Una seconda pallina (**repressore**) può legarsi all'operatore, bloccando la trascrizione. Il repressore è normalmente inattivo, cioè incapace di legarsi all'operatore, per cui i geni vengono trascritti. L'azione di una seconda molecola (un piccolo pezzo di legno che si incastra sia nella pallina repressore che nell'operatore, agendo da **corepressore**), consente al repressore di legarsi all'operatore, "spegnendo" il gene.



Il modello dell'operone *trp*



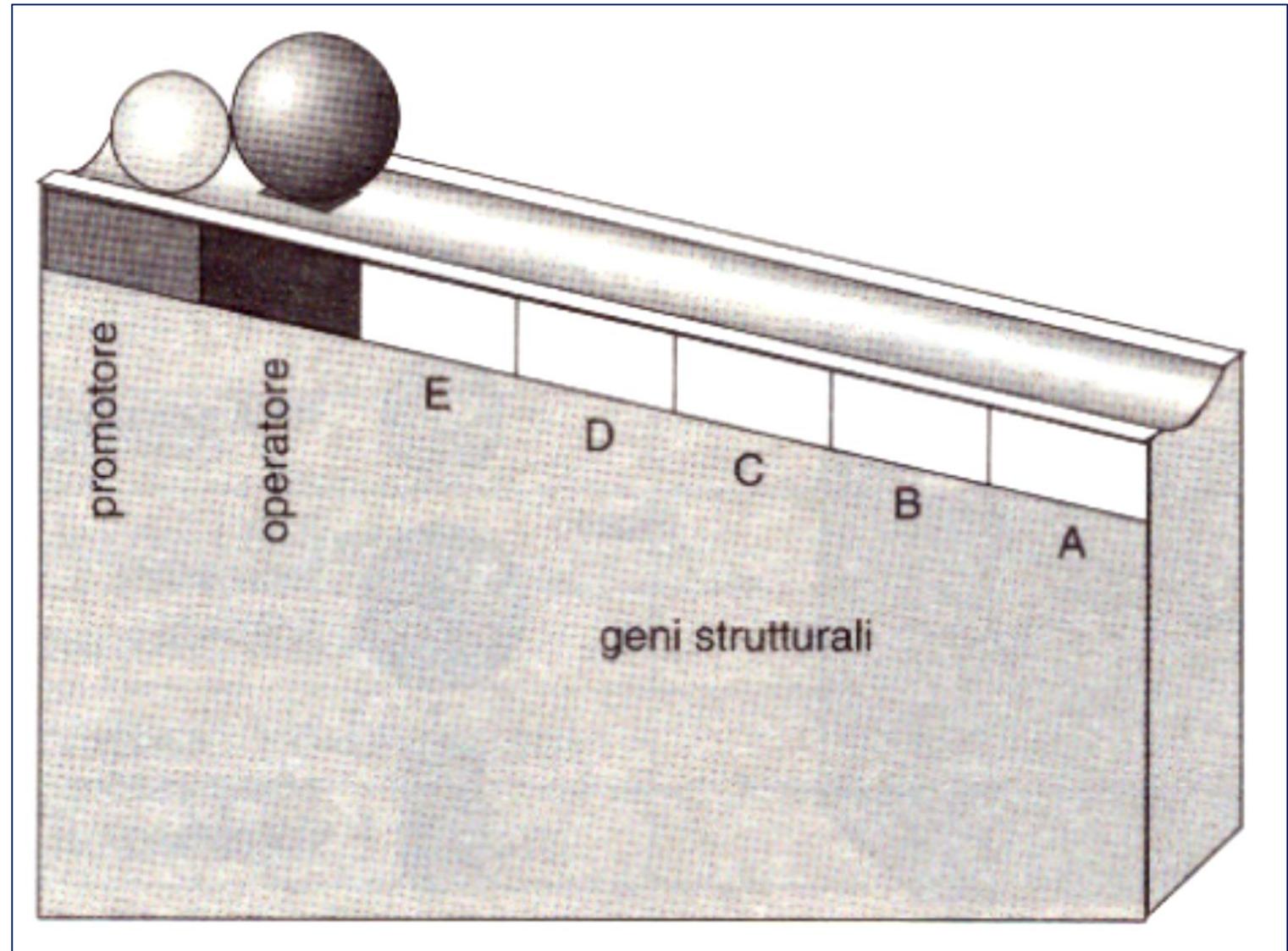
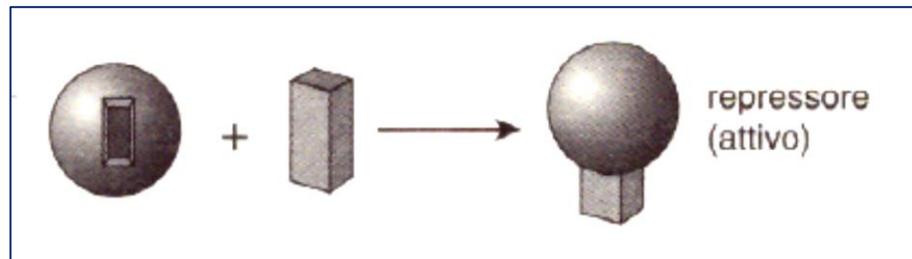
Il repressore è inattivo: i geni strutturali sono trascritti



Il modello dell'operone *trp*

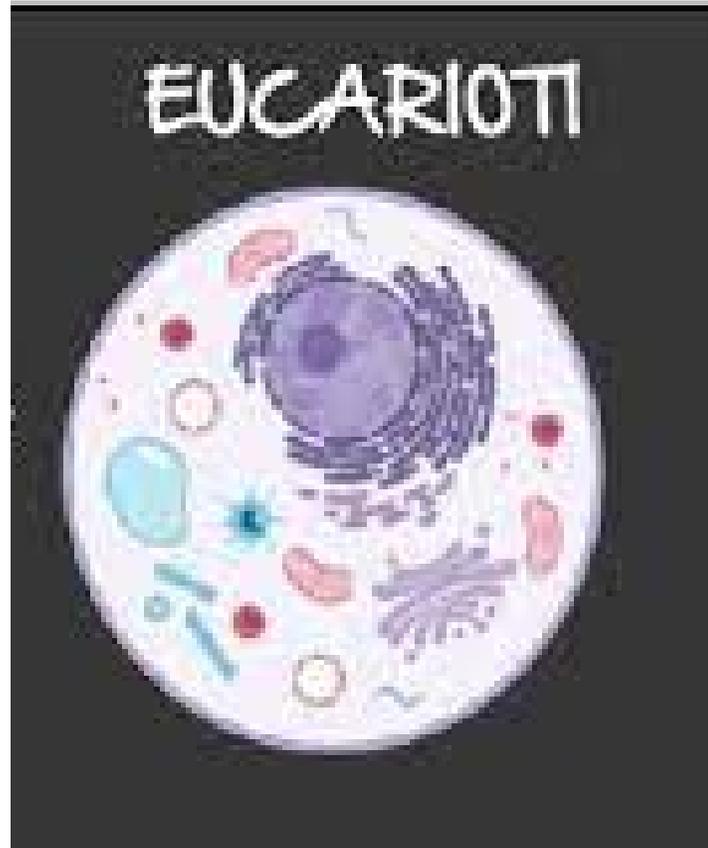


Il repressore è attivo: la trascrizione è bloccata



Accendiamo e spegniamo i geni

2. La regolazione negli eucarioti



La regolazione negli eucarioti

Anche negli eucarioti l'espressione genica è regolata da proteine specifiche. Pare però che negli organismi pluricellulari diverse proteine, alcune con azione attivante, altre con azione disattivante, influenzino contemporaneamente il processo di trascrizione di un gene. Alcuni di questi regolatori potrebbero essere implicati nel processo di sviluppo delle cellule cancerose.

1. La regolazione della trascrizione

a) Gli enhancers

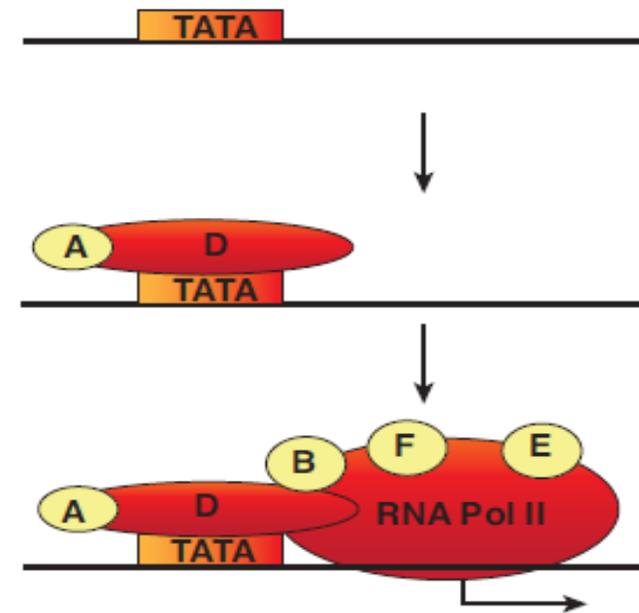
GLI ENHANCERS E LA REGOLAZIONE DELLA TRASCRIZIONE

Gli *enhancers* sono corte regioni del DNA che svolgono il ruolo di promuovere la trascrizione dei geni attraverso l'associazione con diverse proteine, tra cui diversi fattori coinvolti nell'avvio della trascrizione stessa. Essi aumentano notevolmente (fino a 200 volte) la frequenza di trascrizione del gene che controllano. Altre sequenze di DNA agiscono invece inibendo l'avvio della trascrizione e sono dette *silencers*.

Generalmente in assenza di enhancers la trascrizione

di un gene da parte della RNA polimerasi avviene a livelli molto bassi. Il compito di legare l'RNA polimerasi è svolto da particolari siti del DNA detti **promotori**. Negli eucarioti essi sono costituiti da almeno tre regioni differenti, una delle quali contiene la sequenza **TATA**, situata 25-30 nucleotidi a monte del punto di inizio della trascrizione, che viene riconosciuta dall'enzima RNA polimerasi II (l'enzima che forma l'mRNA). Tale sequenza è detta **sequenza di consenso** o **TATA-box**. La trascrizione richiede anche la presenza di diverse proteine, dette **fattori di trascrizione generali (GTF)**

che facilitano il legame dell'enzima con il promotore e che insieme alla RNA polimerasi formano il **complesso di trascrizione**

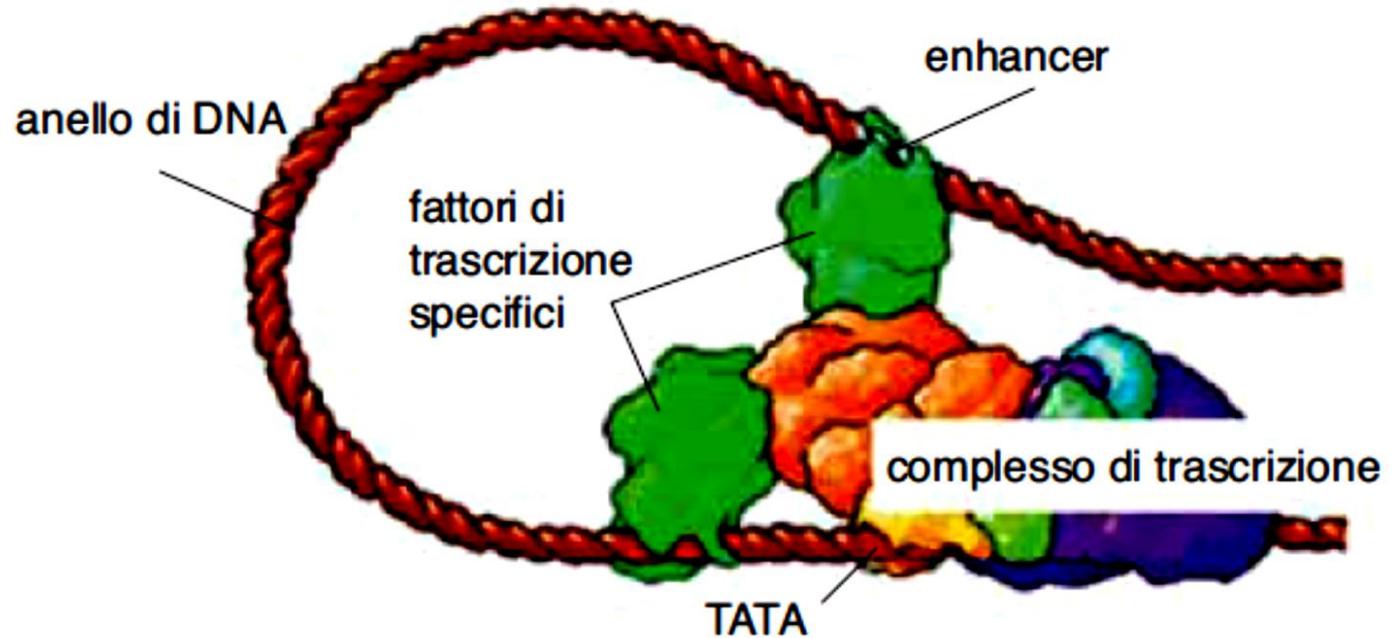


▲ **Figura 18** - Formazione del complesso di trascrizione. Per l'inizio della trascrizione da parte dell'RNA polimerasi II sono indispensabili i fattori di trascrizione A, B, D, E ed F. Essi si associano in tappe successive in modo da

formare il complesso di trascrizione attivo: per prima cosa il fattore D si lega alla sequenza TATA e poi si uniscono tutti gli altri. La freccia indica il punto di inizio della trascrizione.

Gli enhancers

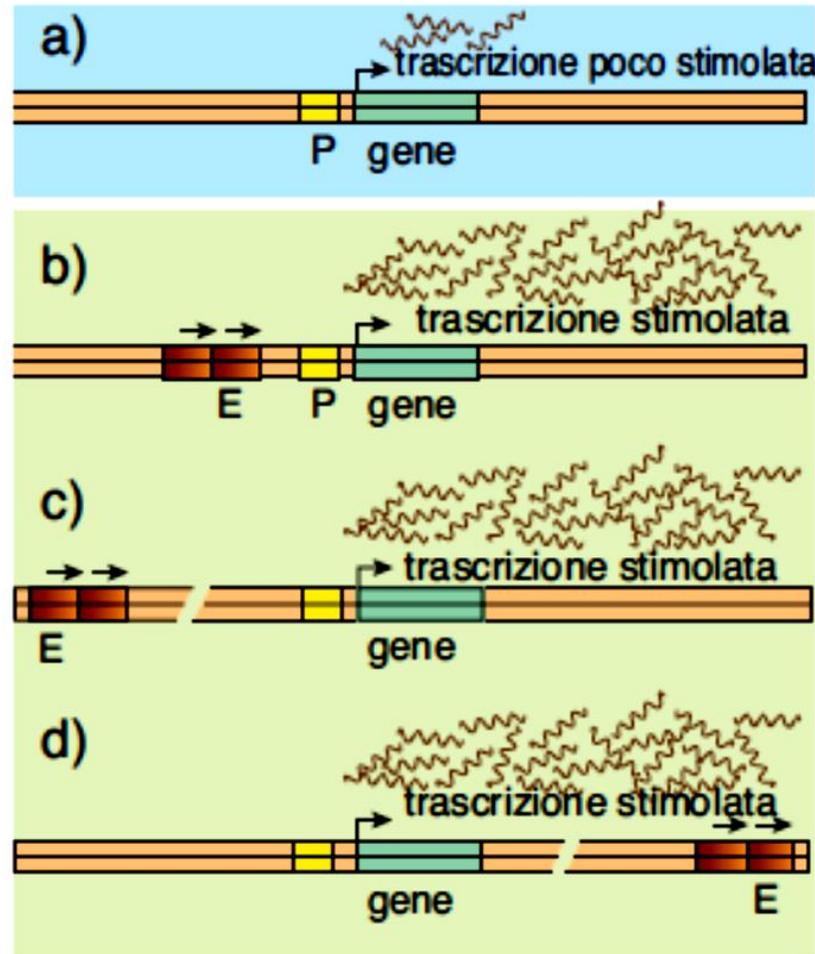
In presenza di un *enhancer* l'interazione tra fattori di trascrizione legati all'*enhancer* e fattori di trascrizione legati al promotore stimola fortemente la trascrizione. Gli *enhancers* non agiscono direttamente sul promotore, ma, dopo aver legato alcuni **fattori di trascrizione specifici**, interagiscono con il **complesso di trascrizione**, facilitandone l'assemblaggio e aumentandone la stabilità, migliorando così l'efficacia dei promotori nel legare la RNA polimerasi II e nel dare inizio alla trascrizione (Figura 19).



▲ **Figura 19** - *Interazione degli enhancers con il complesso di trascrizione. Quando un enhancer è collocato lontano dal sito promotore agisce mediante fattori di trascrizione specifici (in verde) che si collegano al complesso di trascrizione per mezzo di una proteina mediatrice (in arancione). Gli enhancers, i fattori di trascrizione specifici, la proteina mediatrice, l'RNA polimerasi II (in viola) e i fattori di trascrizione generali agiscono in modo coordinato e cooperativo con il risultato di aumentare la stabilità del complesso di trascrizione e di stimolare la trascrizione del gene.*

Gli enhancers

Gli *enhancers* non devono necessariamente essere vicini ai promotori: è possibile infatti trovarli anche a diverse centinaia di migliaia di paia di basi di distanza a valle o a monte del sito d'inizio della trascrizione e, in qualche caso, addirittura all'interno di un introne (Figura 20).



◀ **Figura 20** - Localizzazione degli enhancers. In assenza di enhancer, la trascrizione del gene avviene a livelli molto bassi (a). L'aggiunta di un enhancer (E) stimola la trascrizione. L'enhancer attiva non solo immediatamente a valle del promotore (b), ma anche a grande distanza sia a monte (c) sia a valle (d).

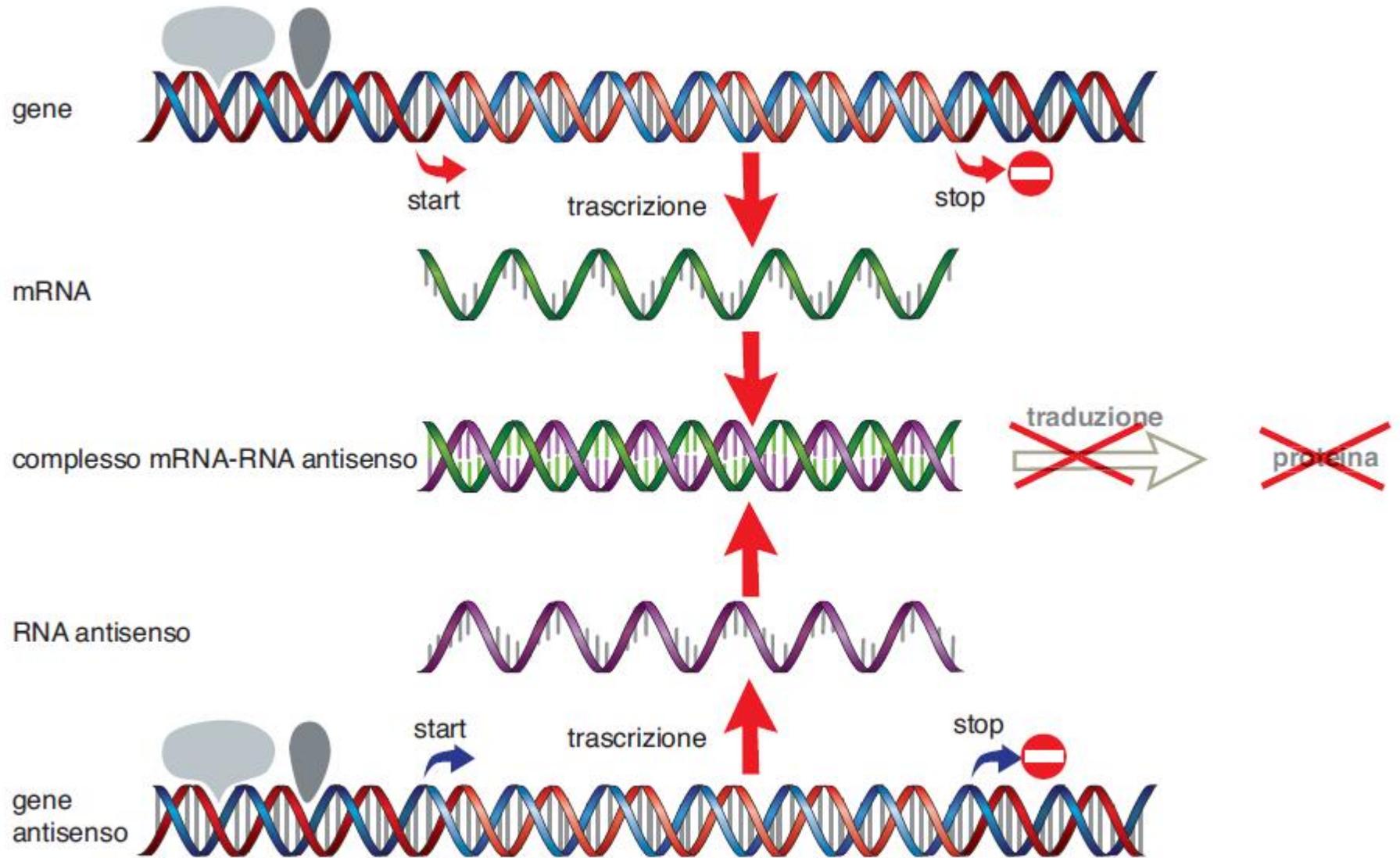
La regolazione negli eucarioti

2. La modulazione dell'attività dei geni a livello post-trascrizionale

- a) **Gli RNA antisenso**
- b) **L'interferenza dell'RNA**
- c) **I micro RNA**
- d) **I riboswitch**

Gli RNA antisenso

L'RNA antisenso è una molecola di RNA con una sequenza complementare a quella di un mRNA. L'RNA antisenso, appaiandosi con il corrispettivo mRNA, può impedirne la traduzione e quindi l'espressione del gene



▲ **Figura 30** - Meccanismo di azione dell'RNA antisenso. L'ibridazione dell'RNA antisenso con l'mRNA non permette la traduzione e di conseguenza non si forma la proteina.

L'interferenza dell'RNA

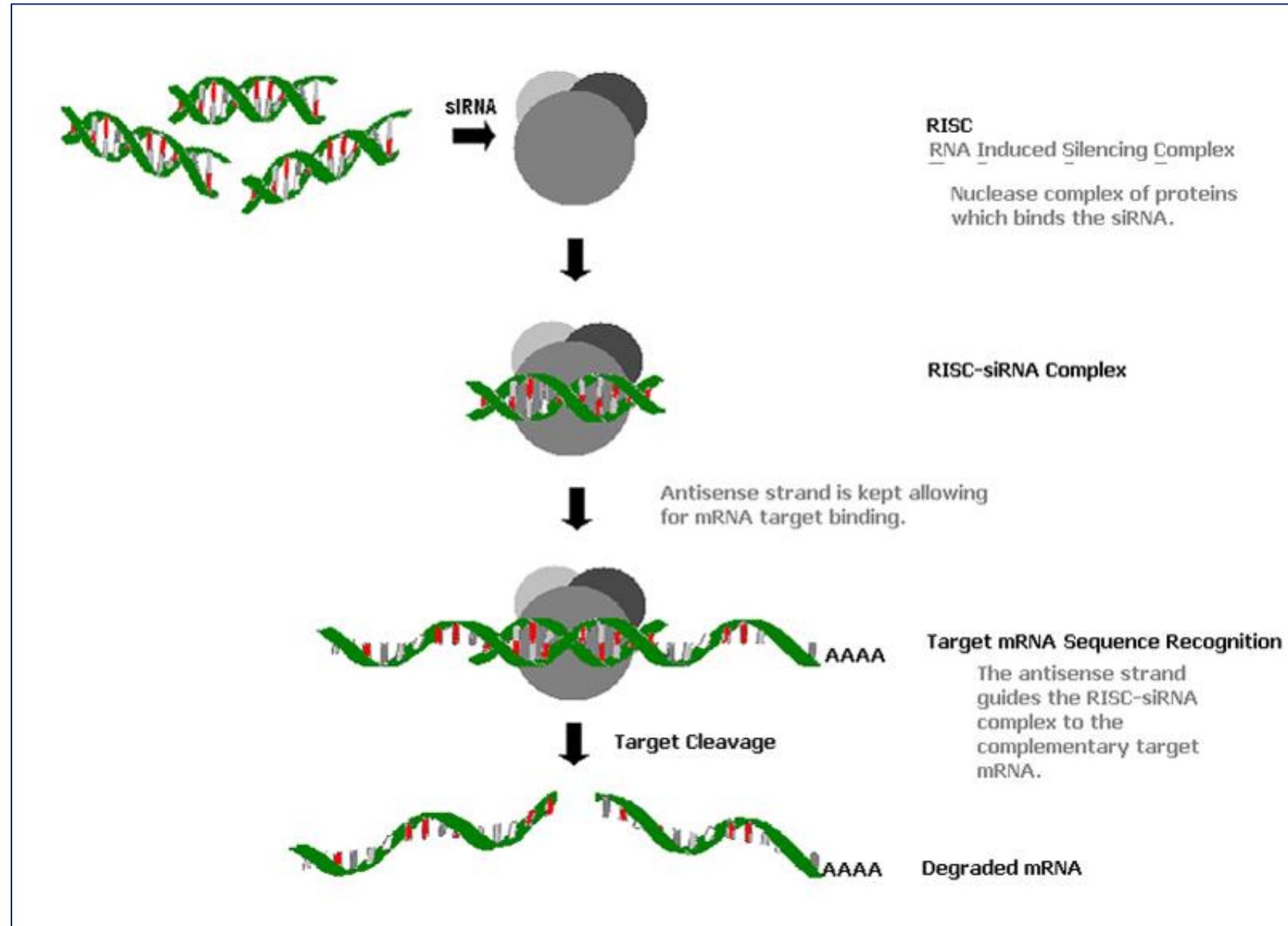


L'enzima Dicer

Con il termine **RNAi** si intende una particolare classe di RNA non codificanti che si formano per trascrizione di entrambi i filamenti del DNA (trascrizione simmetrica): si genera così una lunga molecola di RNA a doppio filamento la quale viene successivamente tagliata in vari punti da una RNAsi (**Dicer**) generando una popolazione attiva di piccole molecole a doppia elica di RNA, della lunghezza di circa 21-25 nucleotidi, dette **siRNA** (small interfering RNA). Uno dei loro due filamenti viene scelto e incorporato in un complesso ribonucleoproteico detto **RISC** (RNA Induced Silencing Complex).

L'interferenza dell'RNA

Il filamento di RNA incorporato nel complesso ribonucleoproteico è in grado di riconoscere l'mRNA bersaglio appaiandosi perfettamente alla sua sequenza di basi e determinandone la degradazione (**silenziamento genico**). L'RNAi interferisce solo con molecole di acido nucleico già trascritte, e non direttamente con il DNA, per cui essa potrebbe avere interessanti sviluppi nel campo della terapia genica in quanto non solleverebbe dubbi etici.



I micro RNA



I microRNA

I **microRNA** (miRNA) sono una classe di molecole di RNA non codificanti della lunghezza di 19-25 nucleotidi contenuti nel genoma di

molti organismi. I loro precursori (**pri-miRNA**) sono più lunghi e sono successivamente tagliati da una RNAsi (**Drosha**) producendo molecole più piccole (**pre-miRNA**). Quest'ultime vengono trasportate fuori dal nucleo e nel citosol vengono processate da una seconda RNAsi (**Dicer**) che produce i miRNA maturi a doppio filamento. Anche qui uno dei loro due filamenti viene scelto e incorporato in un complesso ribonucleoproteico diventando così in grado di riconoscere l'mRNA bersaglio e provocando un blocco della traduzione (Figura 31 a destra). Quasi sempre l'appaiamento tra le basi del

I micro RNA

miRNA e quelle dell'mRNA bersaglio non è perfetto, poiché la sequenza di basi delle due molecole non sono perfettamente complementari tra loro.

I miRNA possono avere sull'mRNA bersaglio anche un effetto destabilizzante, diminuendone la vita media e favorendone la degradazio-

ne (Figura 31 a sinistra).

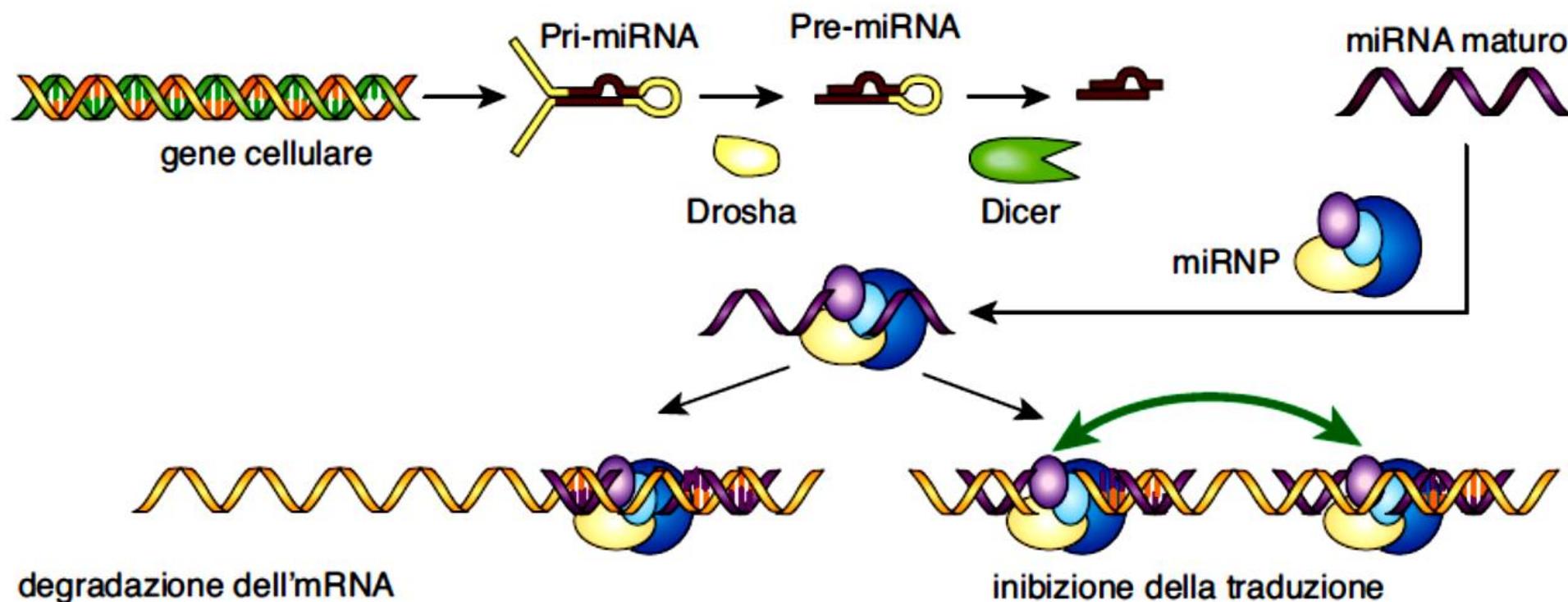
I microRNA possono essere organizzati nel genoma in diversi modi:

- possono trovarsi raggruppati in particolari regione genomiche (cluster) ed essere trascritti tutti insieme in un'unica molecola di RNA che successivamente viene tagliata in diverse molecole di microRNA;

- possono trovarsi sparsi singolarmente nel genoma in regioni intergeniche e all'interno di introni e di esoni.

Un caso particolare è quello dei miRNA generati dagli introni di geni attivamente trascritti: in tal caso dopo lo splicing gli introni sono riciclati e usati come repressori dell'mRNA da cui derivano.

I micro RNA



▲ **Figura 31** - *Meccanismo di azione dei microRNA. La traduzione di un gene porta alla formazione di un microRNA primario (Pri-miRNA). Successivamente l'enzima nucleare Drosha riduce il microRNA primario in una forma più piccola di circa 70 nucleotidi detta pre-microRNA, che dal nucleo migra nel citoplasma. Qui l'intervento di un secondo enzima (Dicer) porta alla formazione del microRNA maturo a doppia elica. Nel citoplasma uno dei suoi filamenti viene assemblato in un complesso ribonucleoproteico (miRNP) divenendo così in grado di riconoscere l'mRNA bersaglio. L'effetto finale è un blocco della traduzione (a destra) o la destabilizzazione del messaggero (a sinistra).*

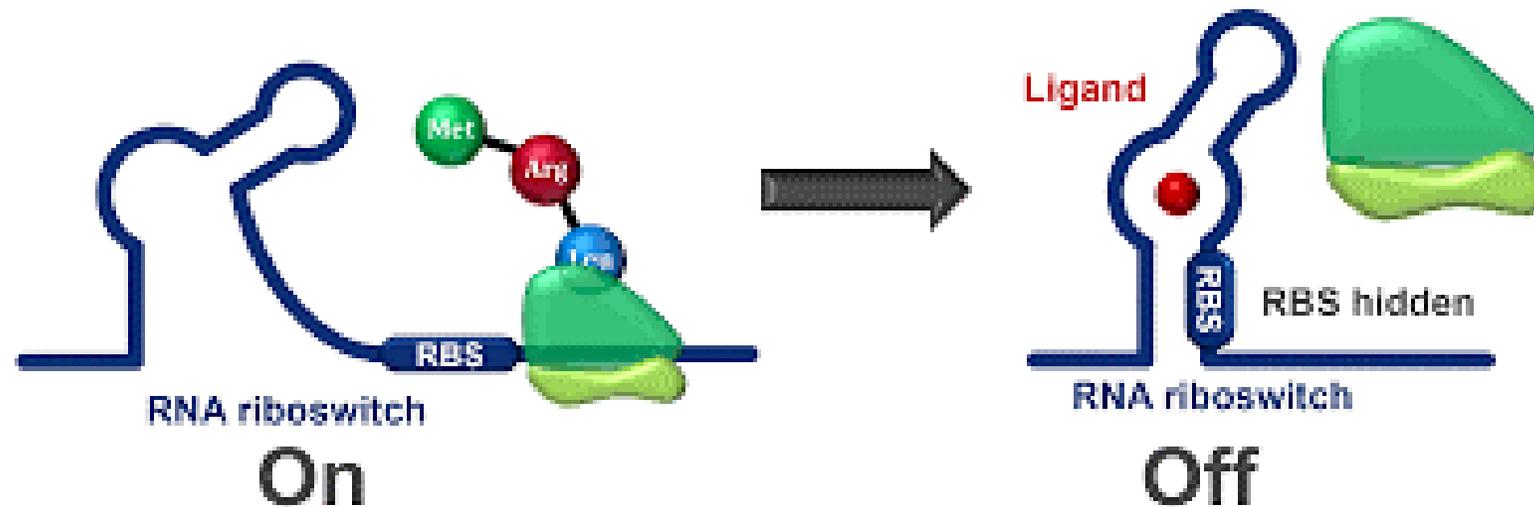
I riboswitch

I riboswitch

I riboswitch sono parti di una molecola di mRNA che possono legare direttamente una piccola molecola segnale con il risultato di modificare la loro forma. Essi sono infatti ca-

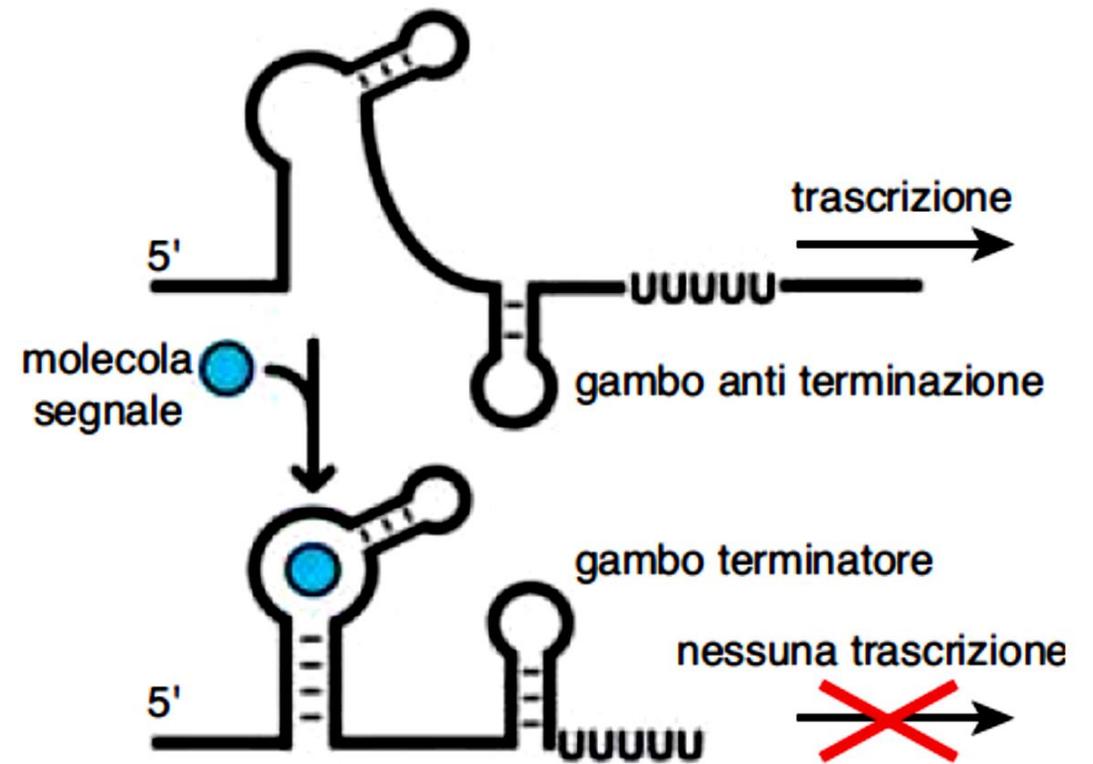
paci di assumere due conformazioni che, proprio come un interruttore, possono scattare (to switch) dall'una all'altra: solo una delle due conformazioni consente la sintesi della proteina codificata dall'mR-

NA. Un mRNA che contiene un riboswitch è quindi direttamente coinvolto nella regolazione della propria attività. I riboswitch possono regolare sia la **trascrizione** (Figura 32) sia la **traduzione** (Figura 33).



I riboswitch

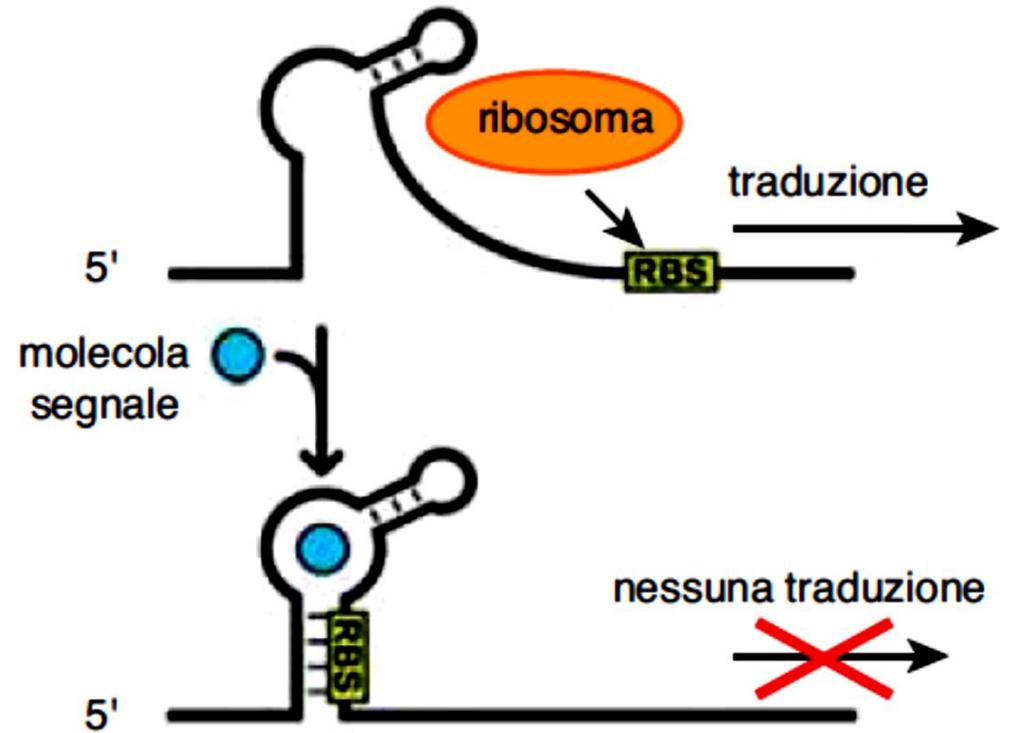
Regolazione della trascrizione



▲ **Figura 32** - *Regolazione della trascrizione da parte di un riboswitch. Quando la molecola segnale non è disponibile, la trascrizione del gene a valle è consentita a causa della formazione nell'mRNA di un gambo anti-terminazione (in alto) Quando la molecola segnale si lega all'mRNA, quest'ultimo cambia conformazione, formando un gambo terminatore che destabilizza il legame DNA-RNA determinando il rilascio dell'RNA e l'arresto della trascrizione.*

I riboswitch

Regolazione della traduzione



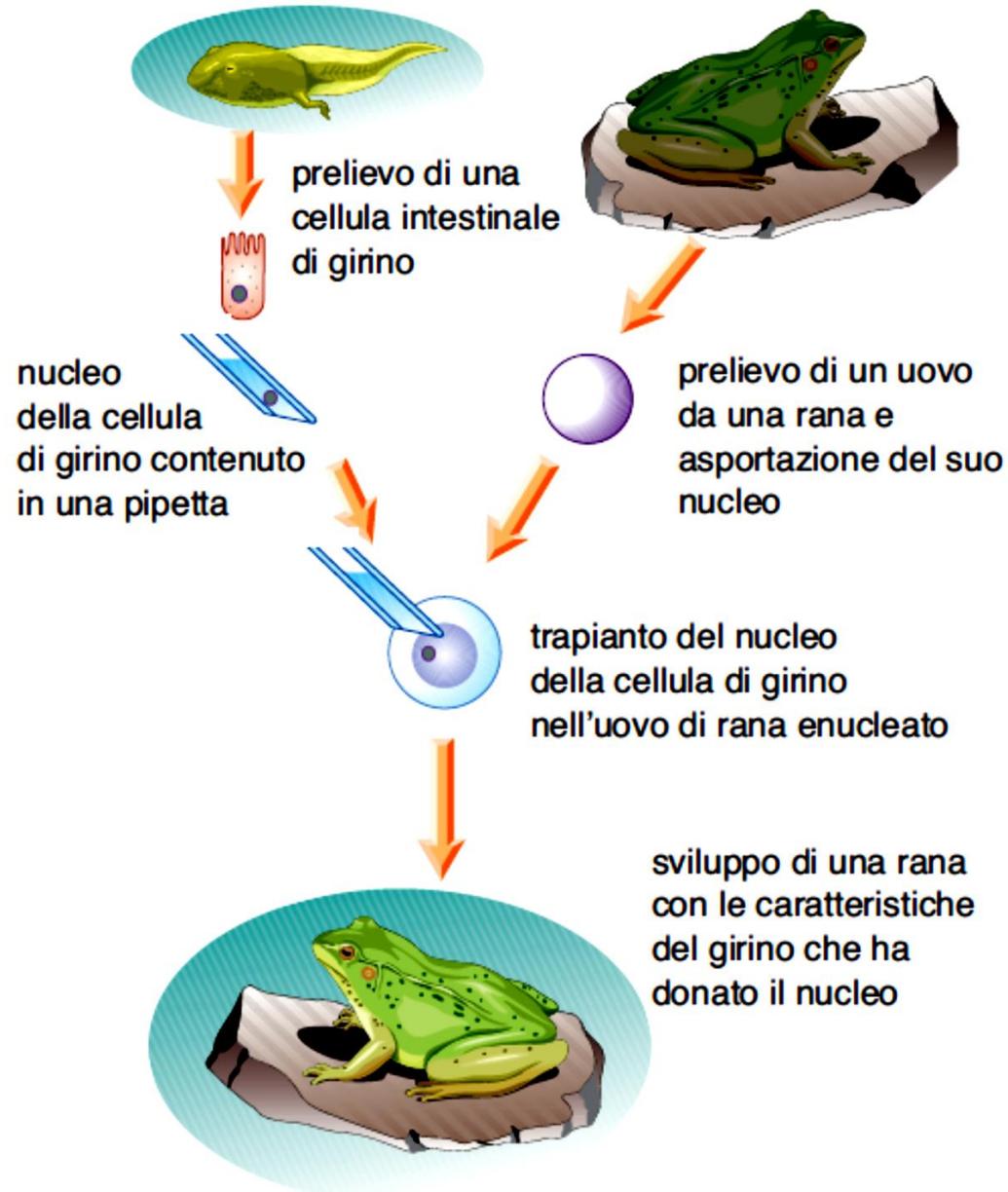
▲ **Figura 33** - *Regolazione della traduzione da parte di un riboswitch. In assenza della molecola segnale, un ribosoma si lega al sito di legame per il ribosoma (sito RBS) dell'mRNA e ha inizio la traduzione. Quando è presente la molecola segnale, essa si lega all'mRNA e il sito RBS viene sequestrato e non può più essere riconosciuto dal ribosoma. La traduzione si blocca.*

La regolazione a livello della trascrizione a livello post-trascrizionale



Che cosa sono gli enhancers?

Come agiscono i riboswitch?



L'esperienza di Gurdon

▲ **Figura 34** - Con i suoi esperimenti Gurdon dimostrò che il nucleo della cellula intestinale di girino contiene tutte le informazioni necessarie per costruire un intero organismo; ciò significa che l'inattivazione dei geni che si verifica durante lo sviluppo embrionale non è definitiva.

Eterocromatina ed eucromatina



◀ **Figura 35**

Differenza tra eterocromatina ed eucromatina nei cromosomi giganti di Drosophila. La colorazione consente di distinguere l'eterocromatina, più strettamente condensata e inattiva, dall'eucromatina, meno condensata e quindi attiva.

L'epigenetica



L'epigenetica si occupa dello studio di tutte quelle modificazioni ereditabili che portano a variazioni dell'espressione genica senza però alterare la sequenza del DNA, quindi senza provocare modificazioni nella sequenza dei nucleotidi che lo compongono.

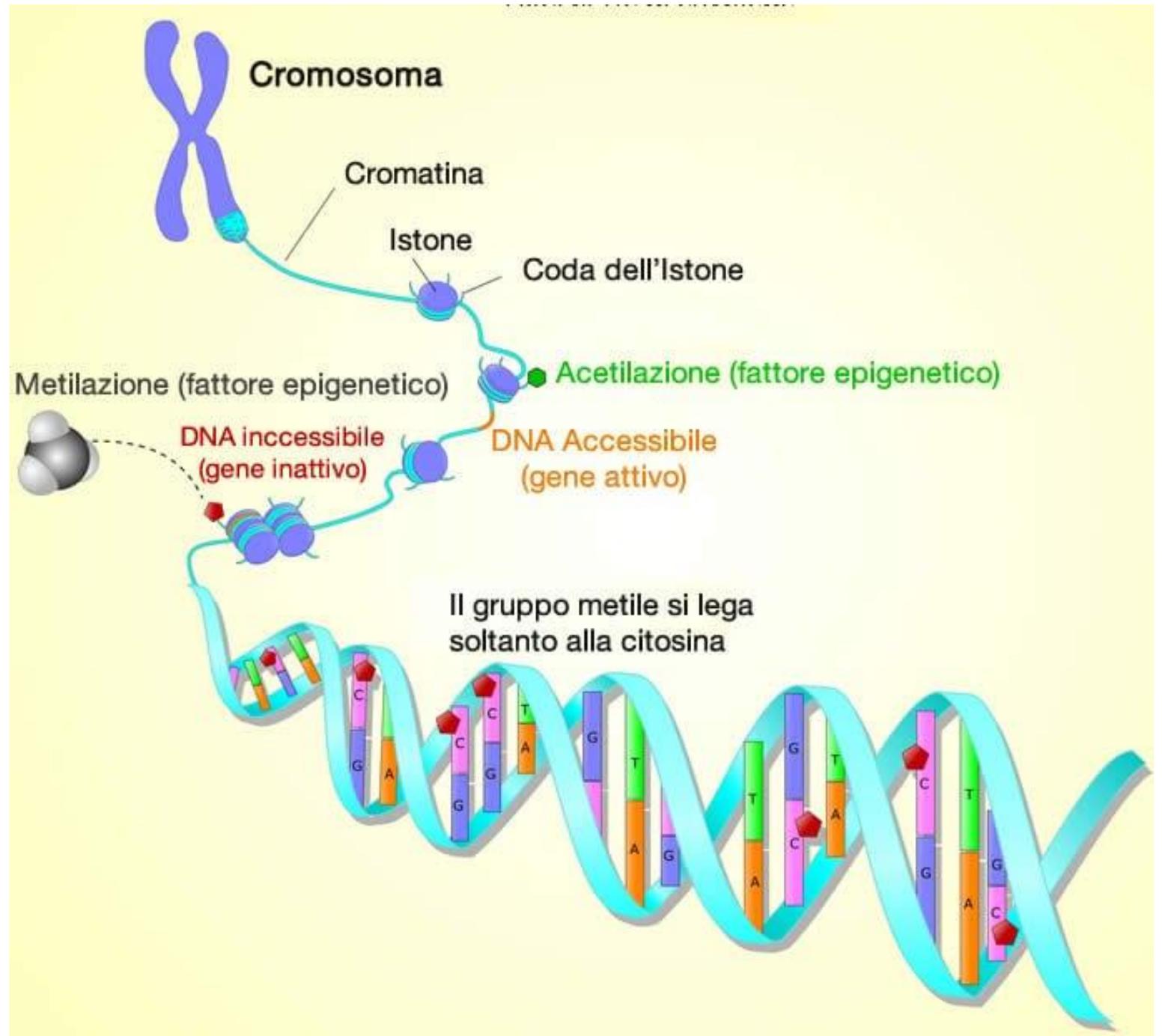
Le modificazioni epigenetiche

Le modificazioni epigenetiche:

- possono avere luogo in risposta a **stimoli ambientali esterni** che riguardano l'ambiente che ci circonda, il nostro stile di vita (compresa l'alimentazione) e il nostro stato di salute.
- sono **reversibili**.
- sono **ereditarie**, possono infatti essere trasmesse da una cellula all'altra,
- in risposta a nuovi stimoli esterni possano **subire ulteriori cambiamenti nel tempo**.
- possono avvenire a **livello embrionale** ma anche **dopo la nascita**, in diverse fasi della vita.

Segnali epigenetici

- **Acetilazione degli istoni: fa sì che la cromatina assuma una conformazione più rilassata, consentendo la trascrizione.**
- **Metilazione del DNA: riduce la trascrizione.**





AMBIENTE E GENI SI INFLUENZANO A VICENDA



- **L'ambiente può modificare l'espressione genica per periodi molto lunghi.**
- **Le modificazioni epigenetiche che si verificano durante la vita embrionale possono avere delle ricadute nelle età più avanzate o addirittura nelle generazioni successive**

L'epigenetica



Quali sono le caratteristiche delle modificazioni epigenetiche?

Una seconda conclusione



Anche a livello genetico sono presenti diversi meccanismi che regolano la trascrizione e traduzione dei geni.

Bibliografia

1. V. Boccardi, «L'importanza della dimensione storico - epistemologica nell'insegnamento delle scienze naturali Parte Prima – La Biologia – SICSI - SCUOLA INTERUNIVERSITARIA CAMPANA DI SPECIALIZZAZIONE ALL'INSEGNAMENTO» (appunti per le lezioni di tirocinio indiretto).
2. V. Boccardi “I viventi come sistemi complessi: spunti didattici”, Bollettino Sezione Campana ANISN, 46-48, 22, luglio 2001.
3. V. Boccardi, “Gli esseri viventi: un percorso sulla complessità”, Didattica Delle Scienze, 5-9, 218, La Scuola, febbraio 2002.
4. V. Boccardi, “Gli esseri viventi: un percorso sulla complessità 2”, Didattica Delle Scienze, 19-23, 219, La Scuola, aprile 2002.
5. V. Boccardi, Moduli di Biologia, Editrice La Scuola, 2002.
6. V. Boccardi, Moduli di Biologia per la riforma, Editrice La Scuola, 2009.