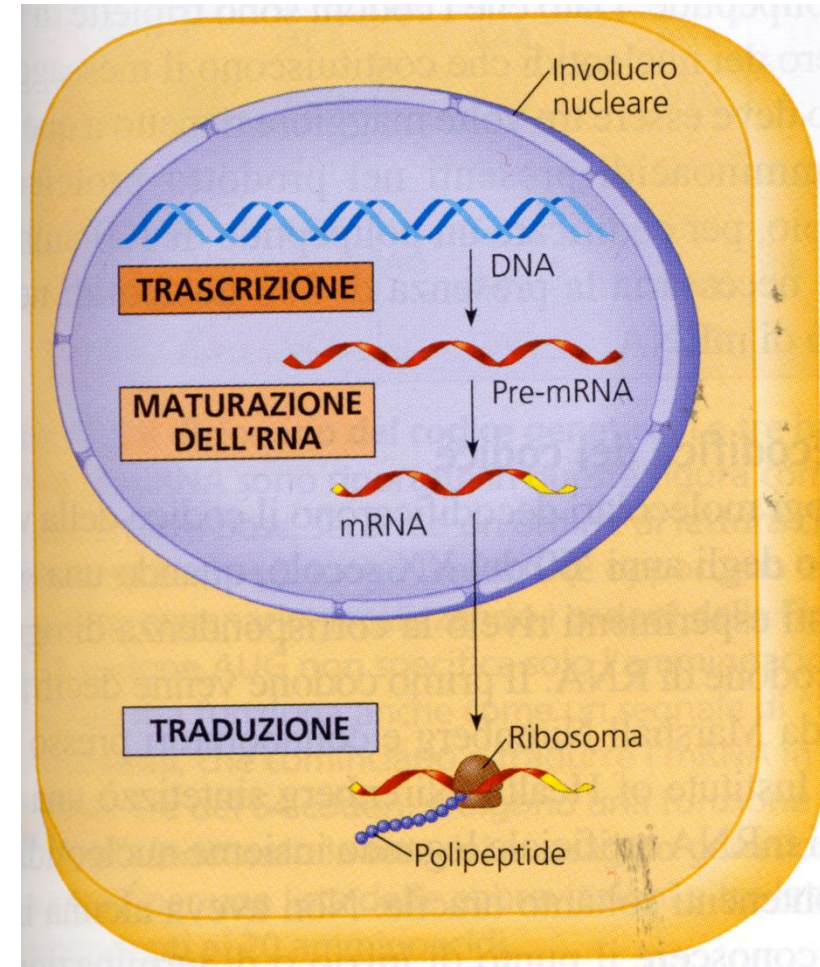
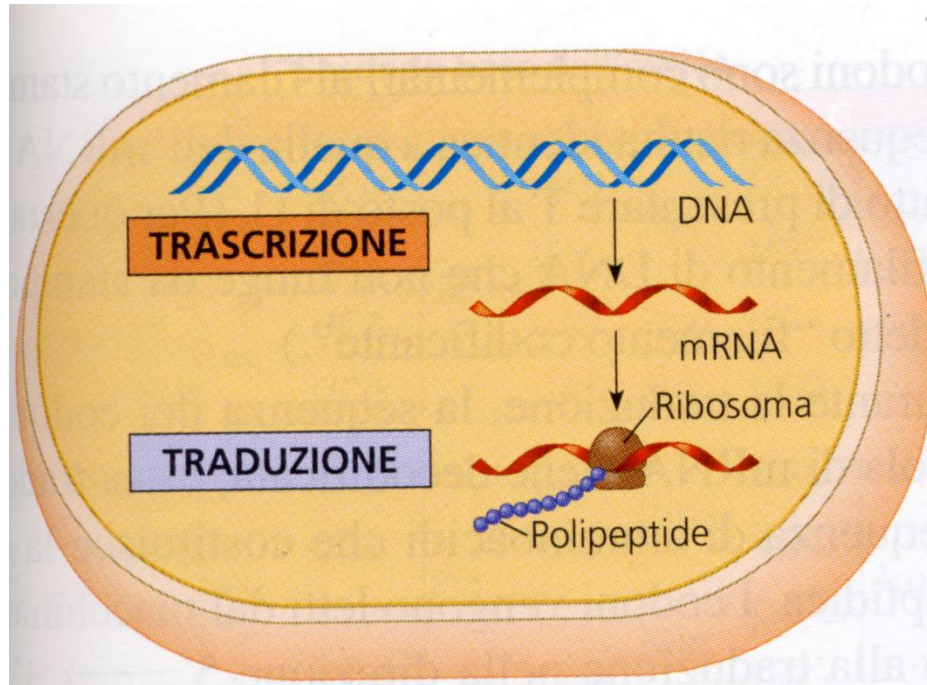
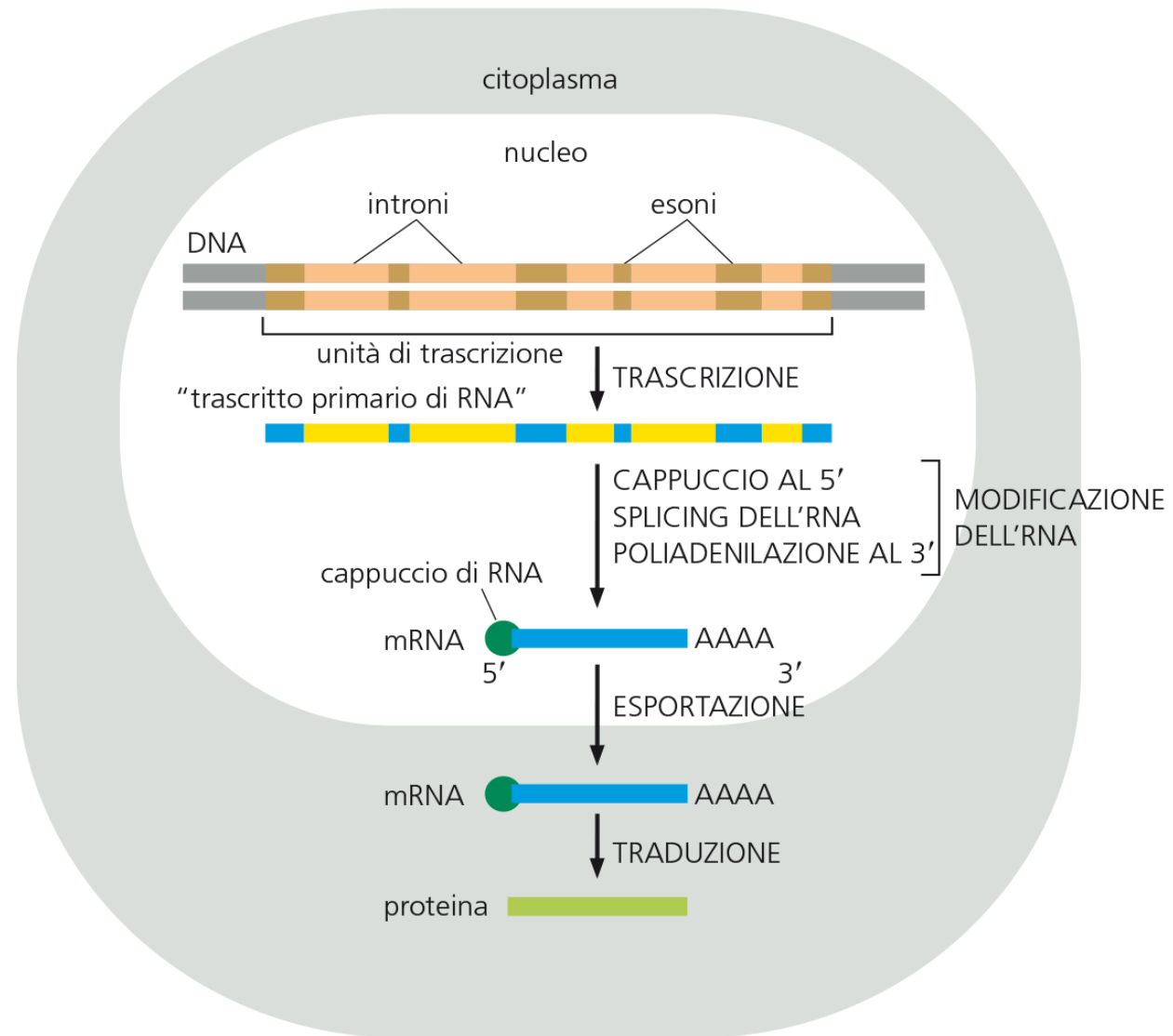


# La maturazione degli RNA

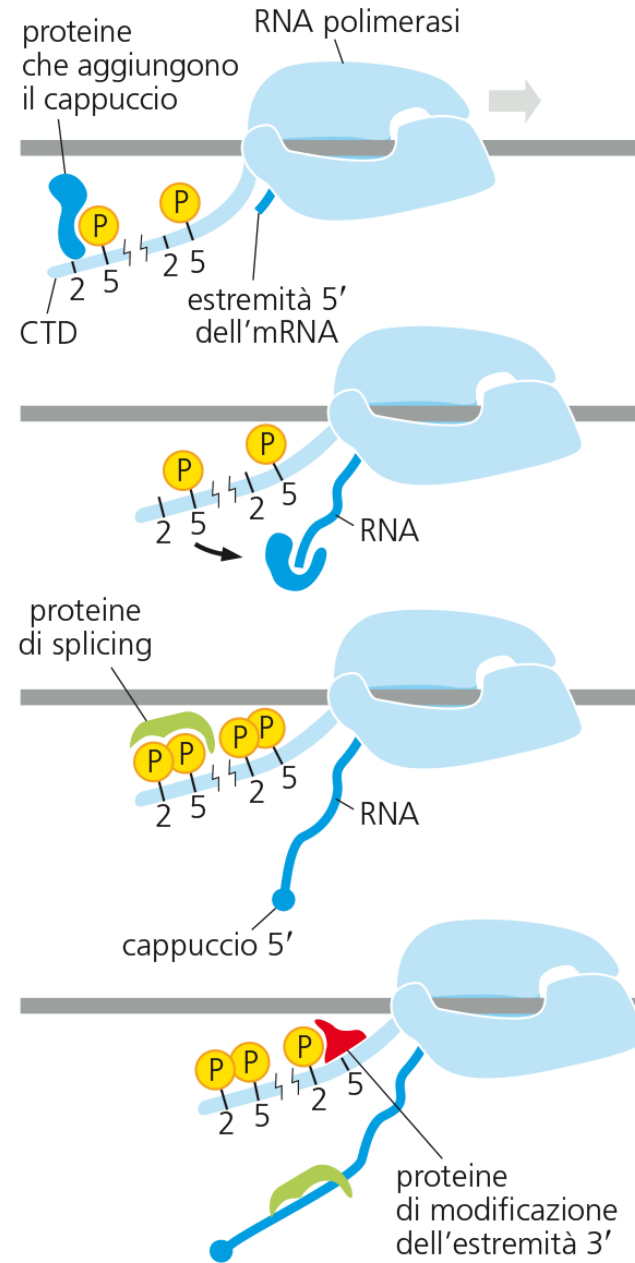


# L'RNA messaggero negli eucarioti

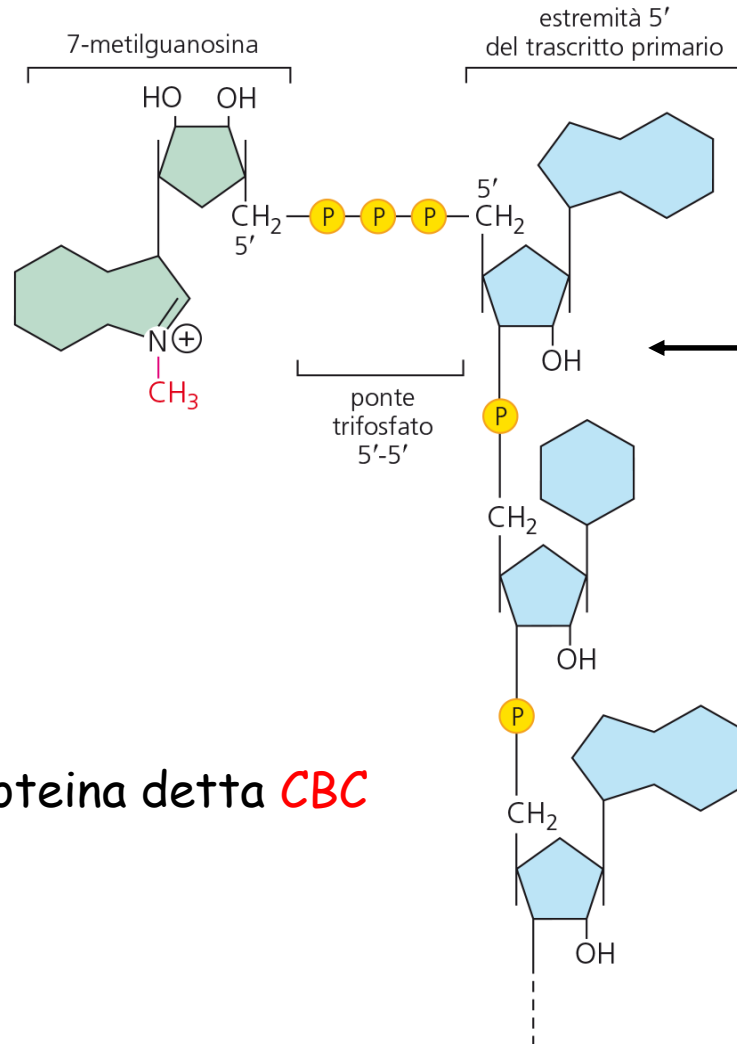


L'allungamento della trascrizione negli eucarioti è strettamente accoppiato alla maturazione dell'RNA (evento co-trascrizionale)

CTD: dominio C-terminale della RNA polimerasi II



# L'aggiunta del cappuccio all'RNA è la prima modificazione dei pre-mRNA eucariotici



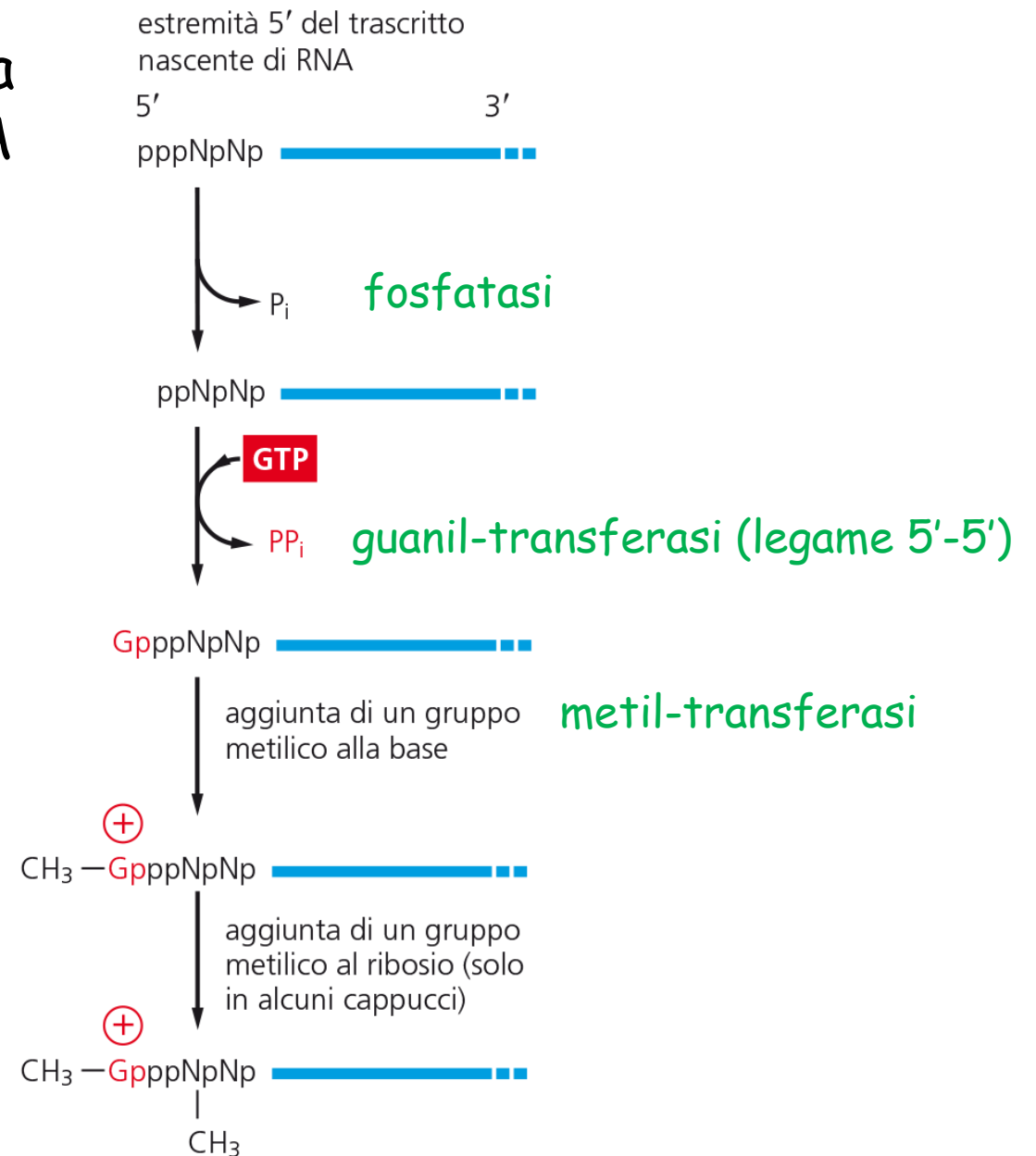
Alcuni mRNA presentano la metilazione del gruppo 2'-ossidrilico del ribosio all'estremità 5'

Al 5' modificato si lega ad una proteina detta **CBC** (cap-binding complex)

# L'aggiunta del cappuccio all'RNA è la prima modificazione dei pre-mRNA eucariotici

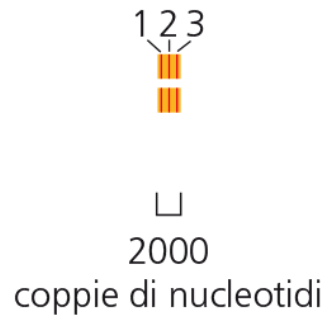
Questa modificazione:

- distingue gli mRNA dagli altri mRNA che non sono modificati all'estremità 5'
- aumenta la stabilità dell'mRNA

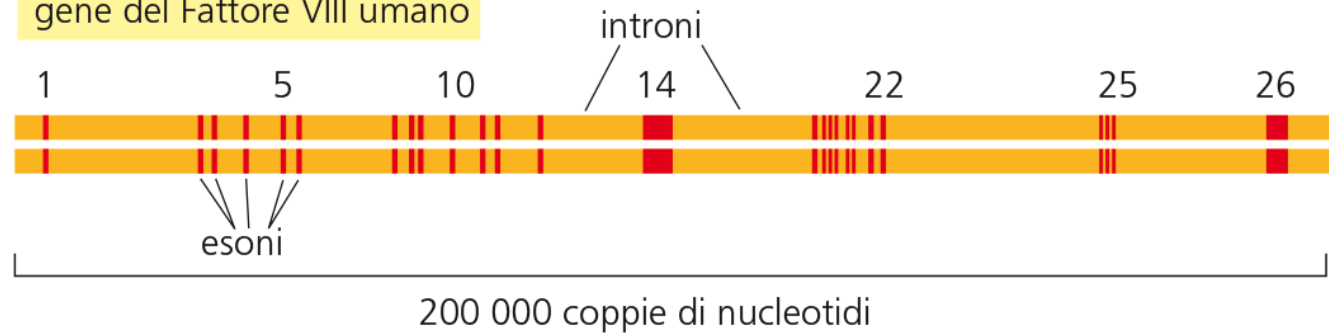


I geni eucariotici contengono porzioni codificanti (**esoni**) e porzioni non codificanti (**introni**)

gene della  $\beta$ -globina umana

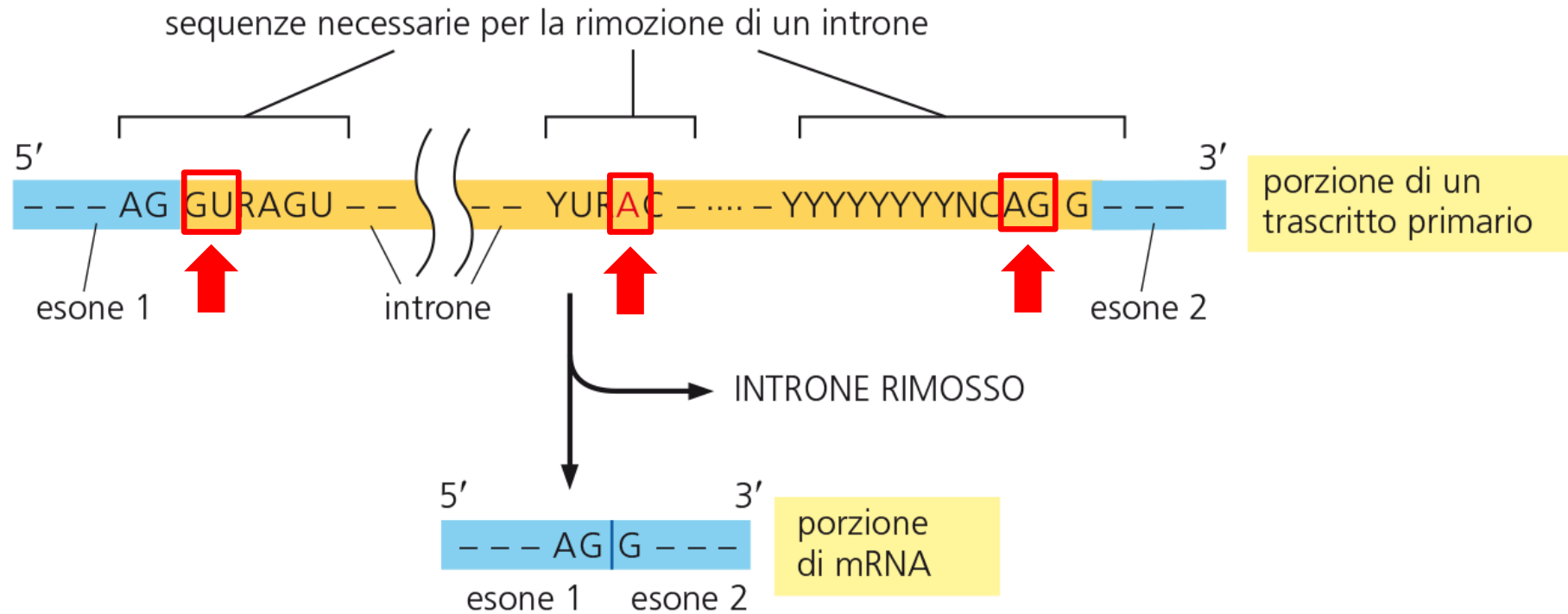


gene del Fattore VIII umano



L'mRNA corrispondente contiene sia esoni che introni

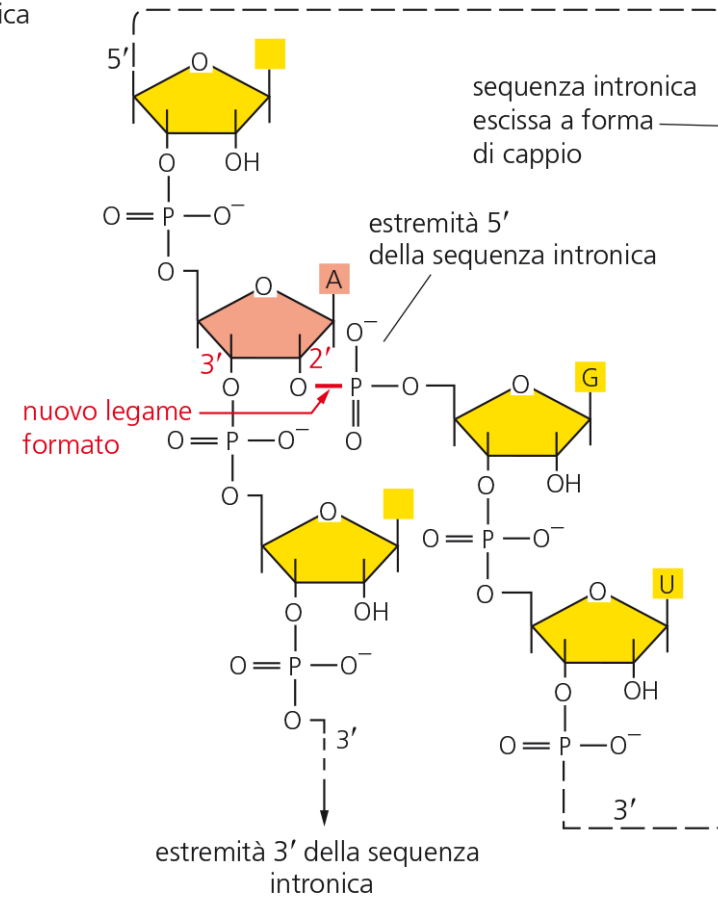
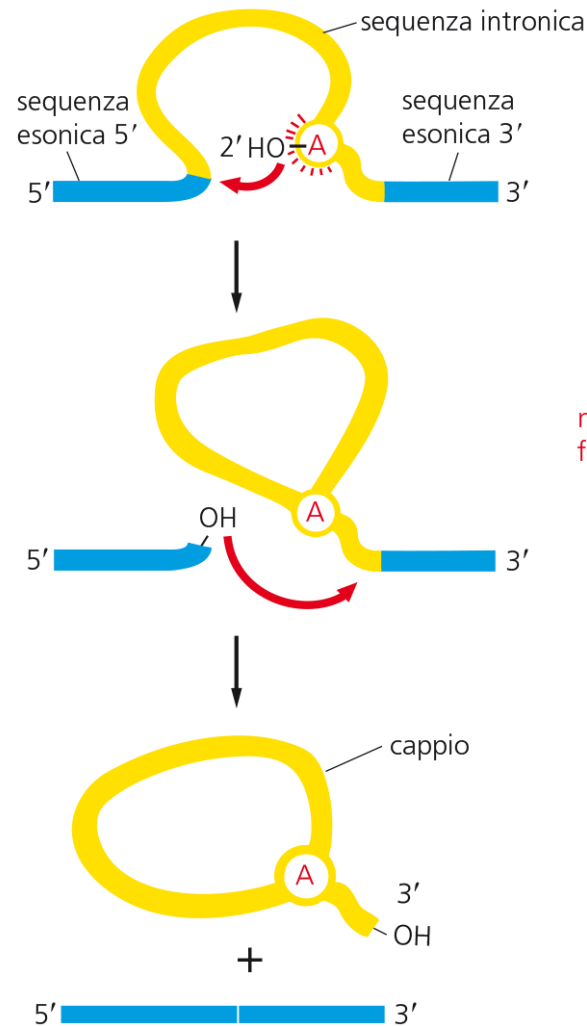
L'inizio e la fine di un introne in un mRNA dell'uomo sono segnalate da **sequenze nucleotidiche consenso** (Y= pirimidina; R= purina)



# Le sequenze introniche vengono rimosse mediante il processo di splicing del pre-mRNA

Avvengono due reazioni di trans-esterificazione

L'adenina (A) nell'introne è chiamata punto di ramificazione





Lo splicing dell'mRNA è eseguito dallo **spliceosoma**

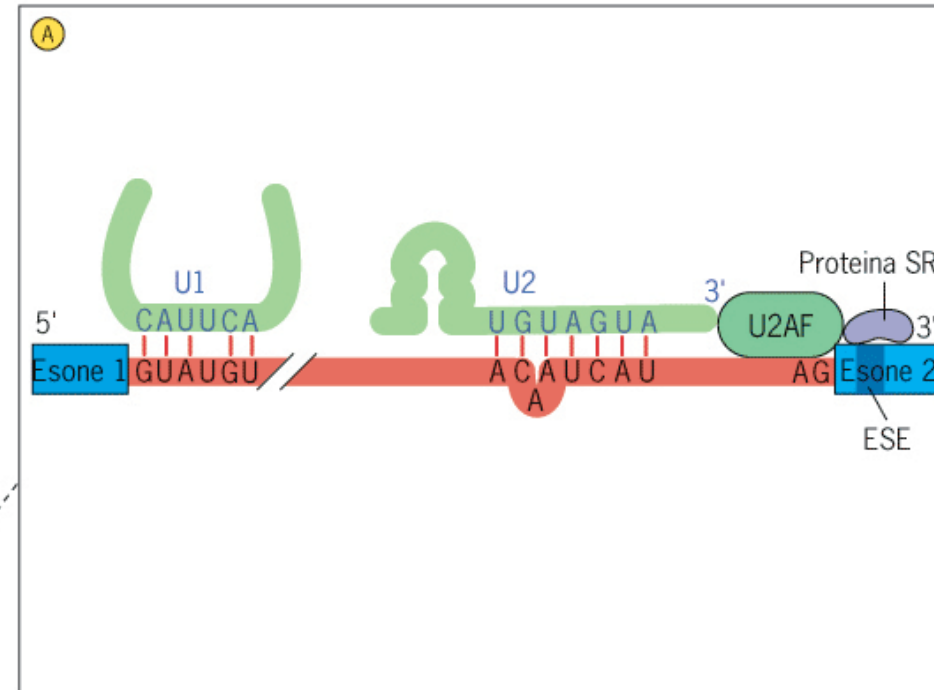
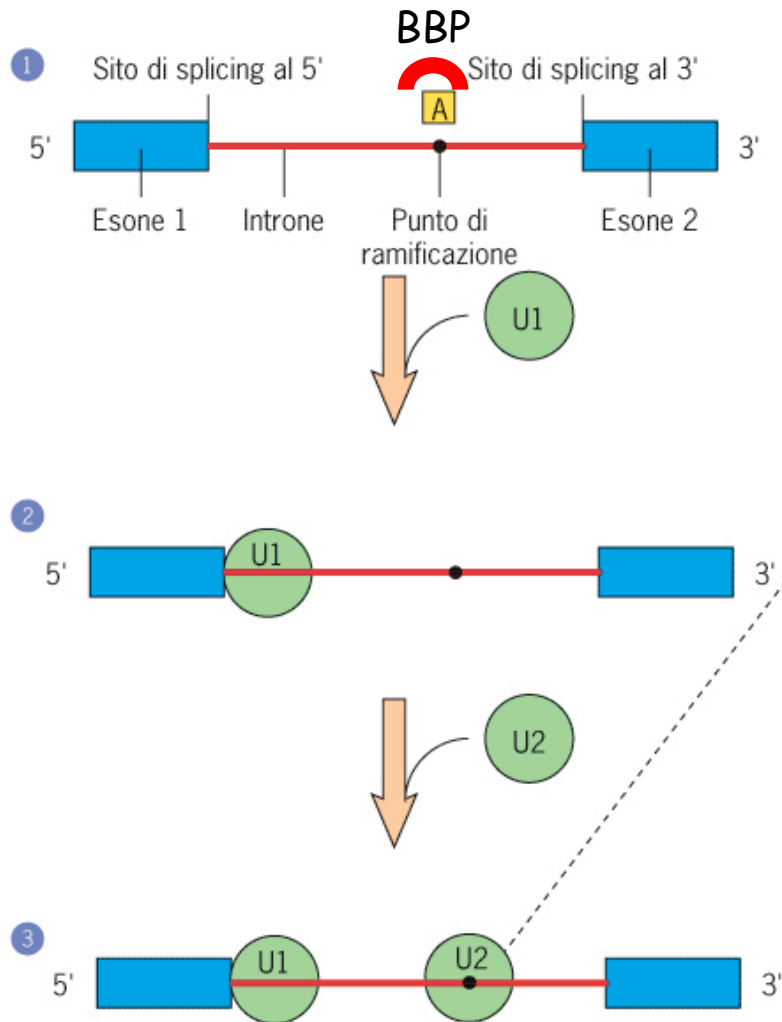
Lo spliceosoma è formato da proteine e da piccoli RNA nucleari (circa 200 nucleotidi) chiamati **snRNA (small nuclear RNA)**

Ciascun snRNA è associato ad almeno sette subunità proteiche per formare uno **spliceosoma (snRNP)**.

Gli spliceosomi sono **U1, U2, U4, U5 e U6**

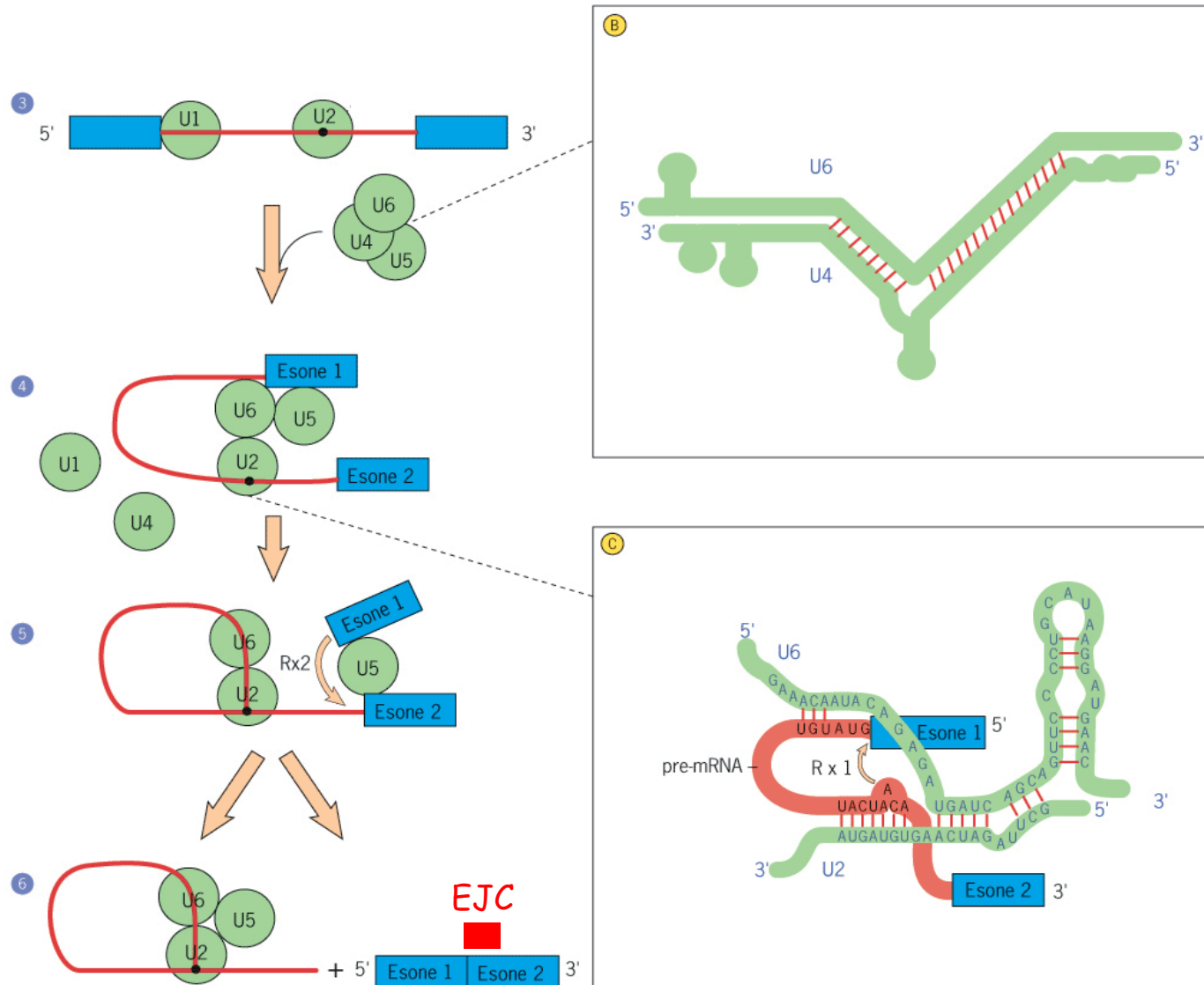
Il riconoscimento dei siti di splicing avviene per accoppiamento di basi fra gli snRNA e le sequenze consenso degli introni

# Il meccanismo di splicing del pre-mRNA



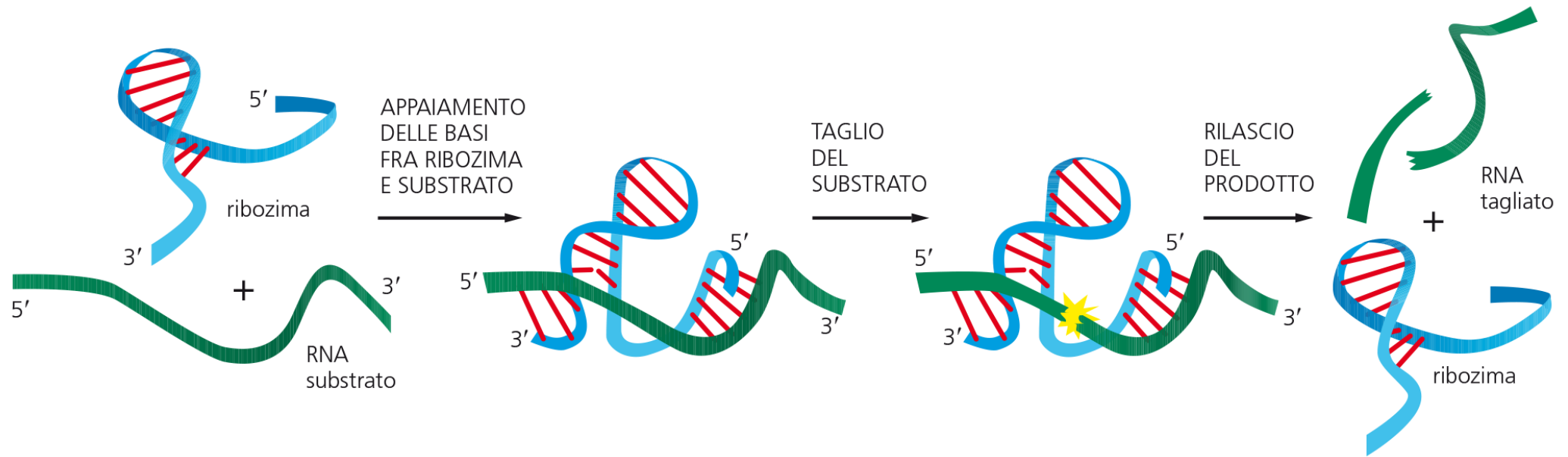
**ESE (enhancer esonici per lo splicing):** sequenze nucleotidiche localizzate all'interno degli esoni  
**U2AF:** fattore ausiliario di U2  
**BBP:** proteina che si lega al punto di ramificazione

# Il meccanismo di splicing del pre-mRNA



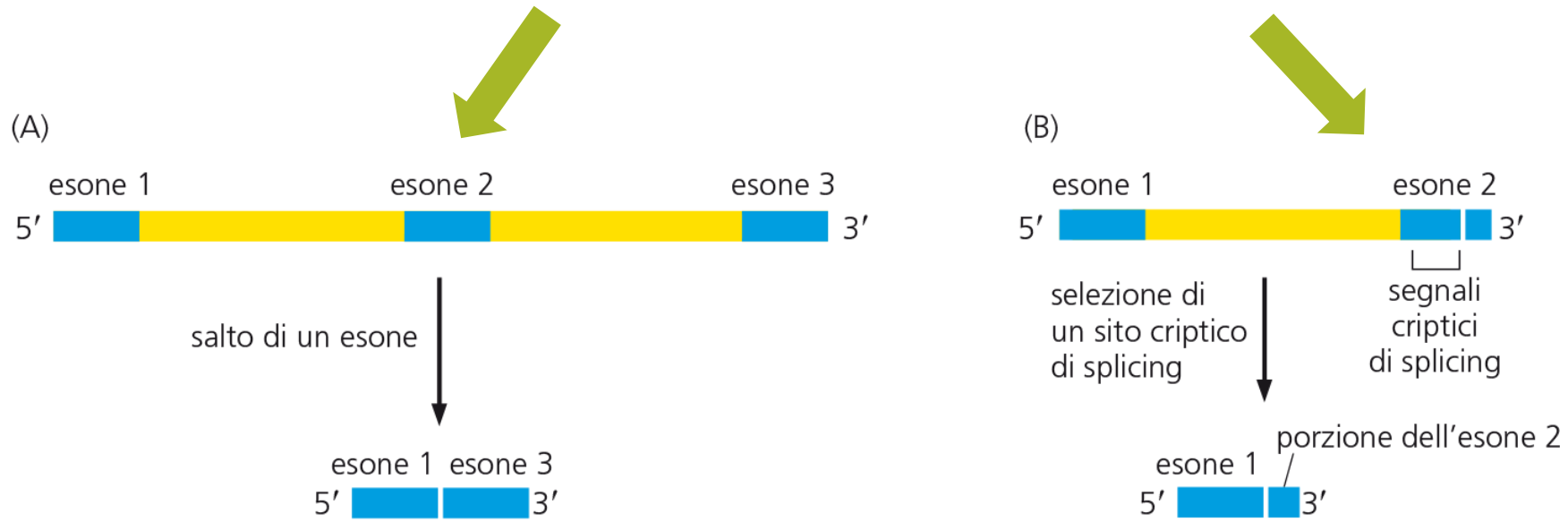
Terminato lo splicing, lo spliceosoma indirizza una serie di proteine (chiamate **complesso di giunzione degli esoni, EJC**) a legarsi all'mRNA vicino alla posizione occupata dall'introne. Indicano che lo splicing è avvenuto correttamente ed aiutano l'mRNA a lasciare il nucleo.

Durante il processo di splicing è ipotizzato che **U6** funzioni da **ribozima** e **U4** da **inibitore** della sua attività



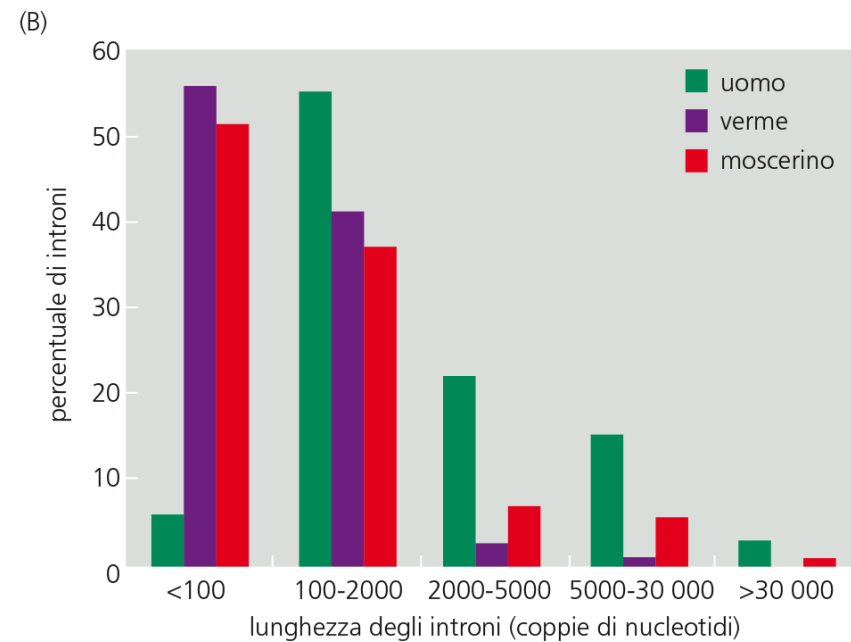
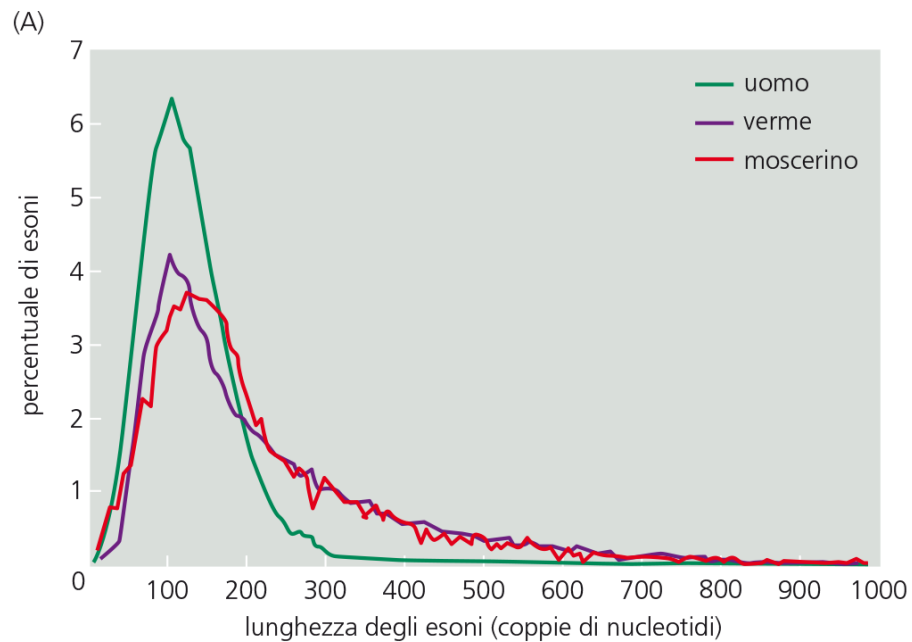
# Accuratezza del meccanismo di splicing

devono essere evitati possibili errori di splicing



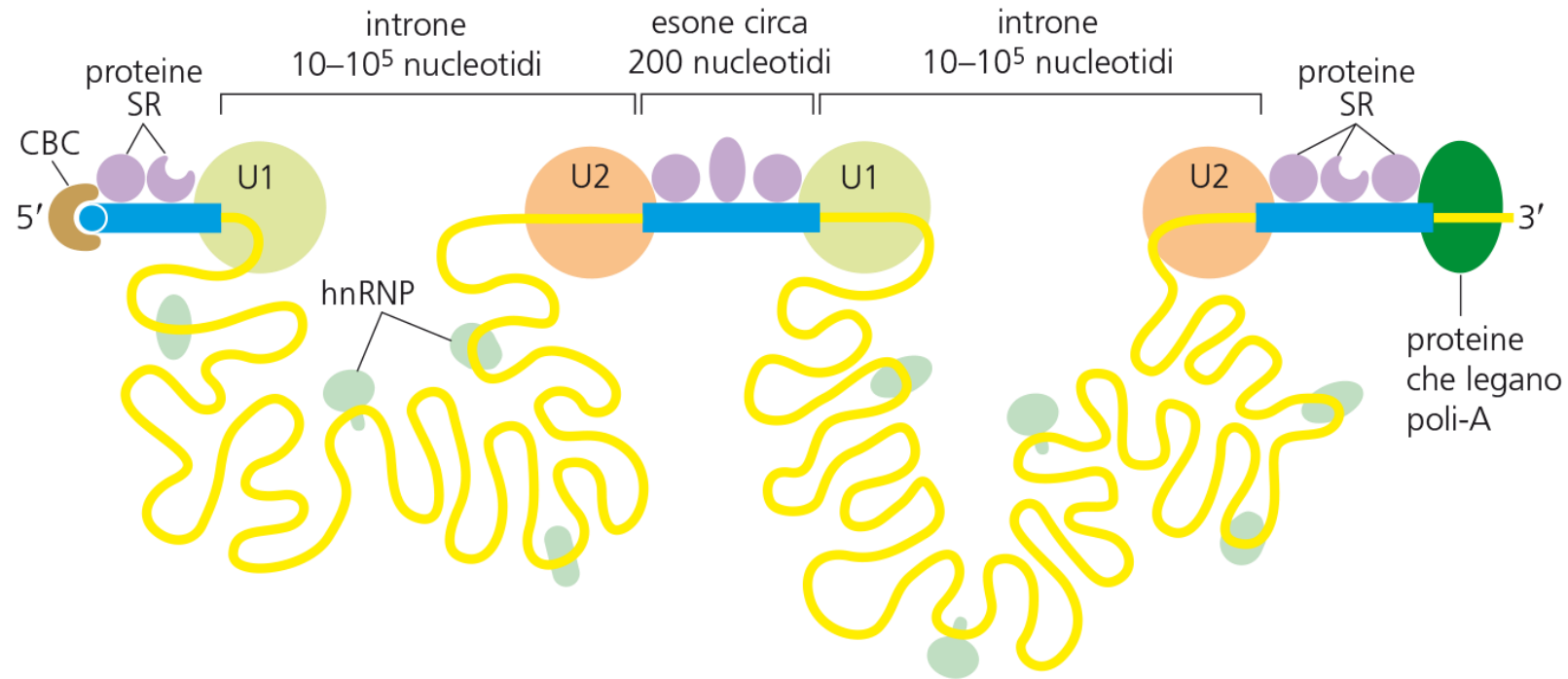
# Accuratezza del meccanismo di splicing

1. Lo splicing avviene durante la trascrizione
2. Strategia detta «definizione dell'esone»



# Accuratezza del meccanismo di splicing

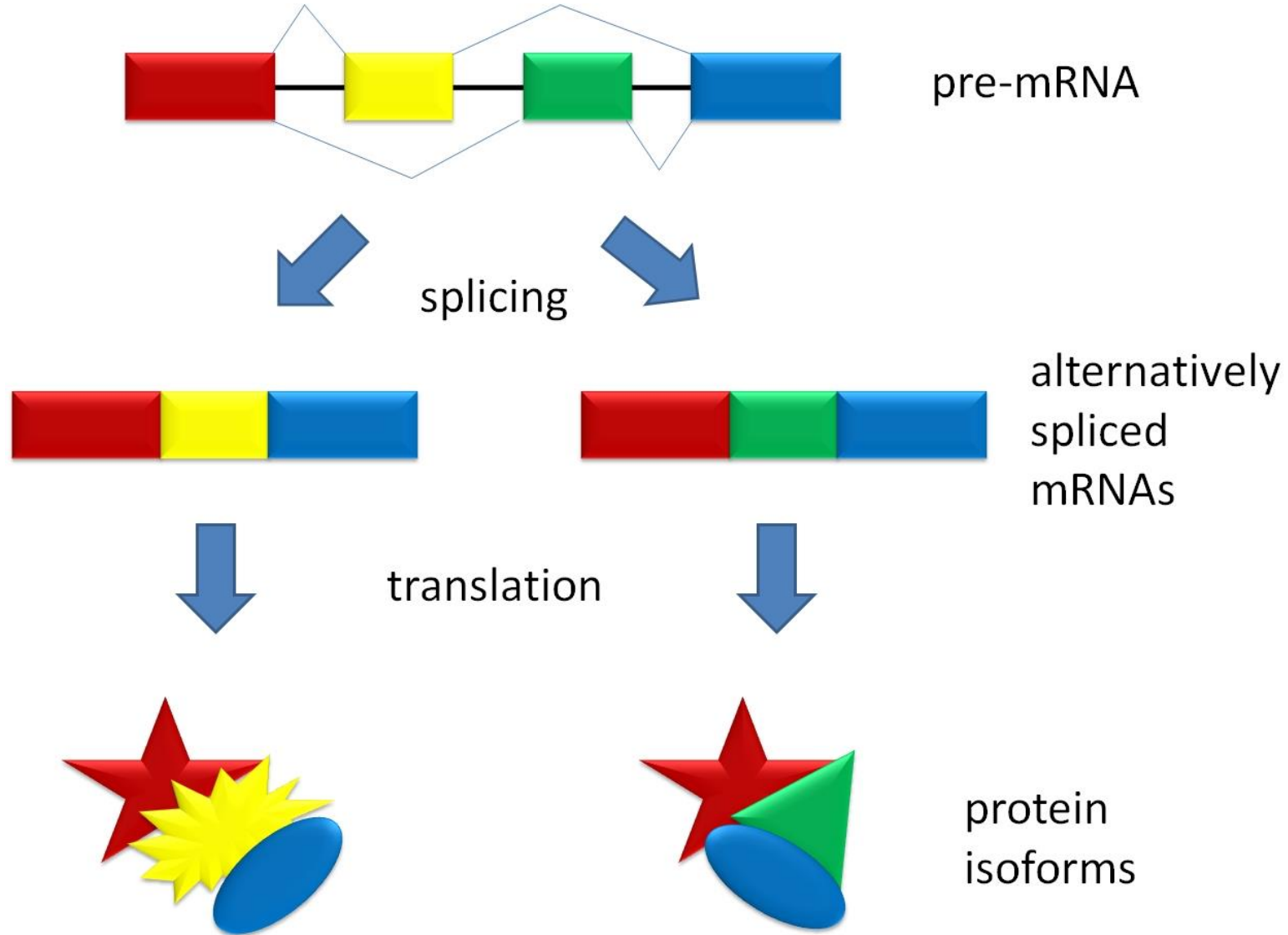
## L'ipotesi della definizione dell'esone



Le proteine SR si legano agli *enhancer esonici per lo splicing (ESE)*

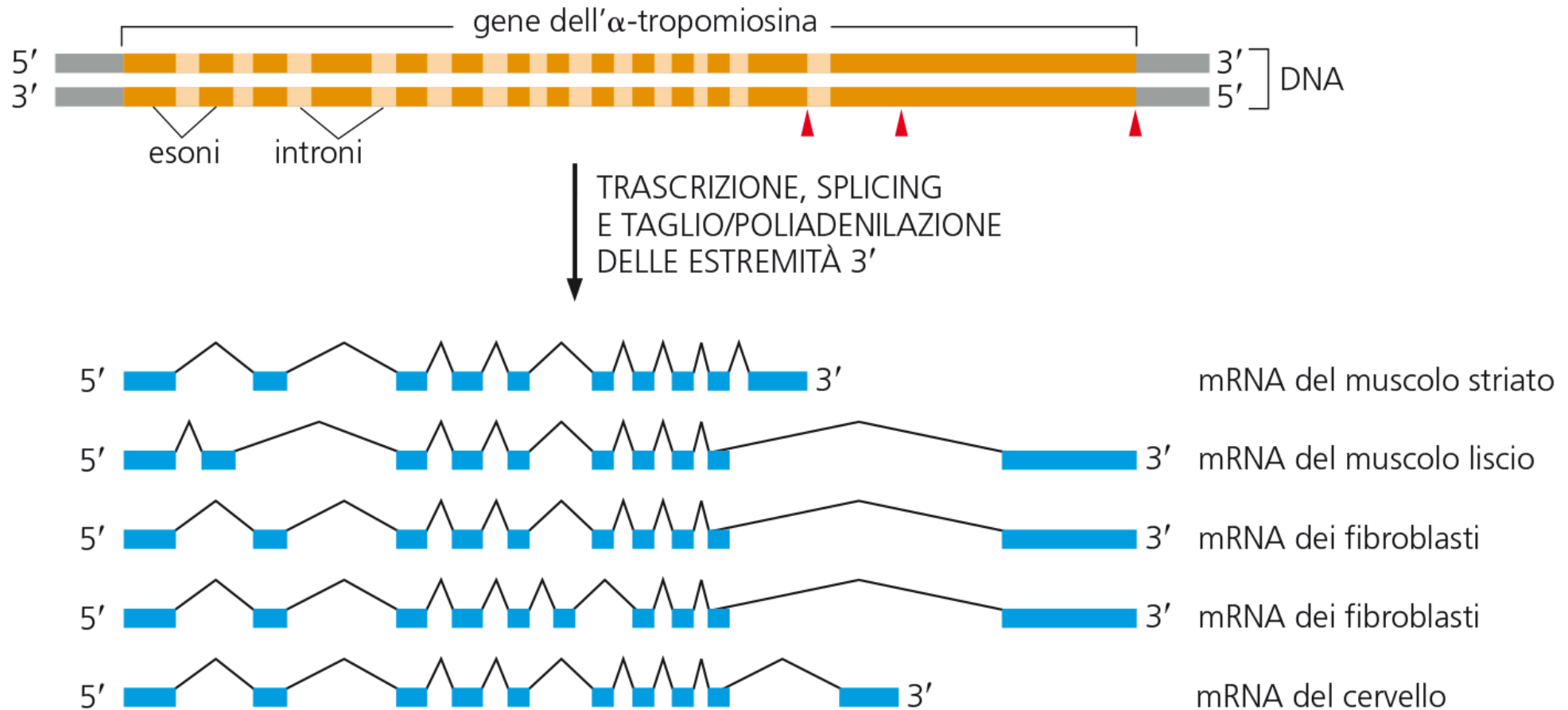
Il legame di queste proteine al pre-mRNA è co-trascrizionale

# lo splicing alternativo

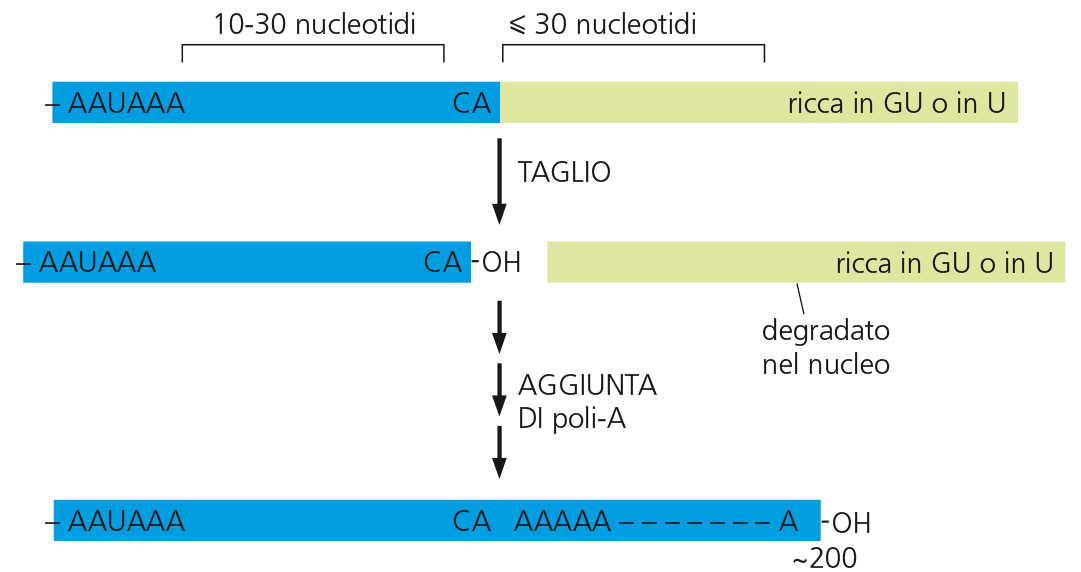
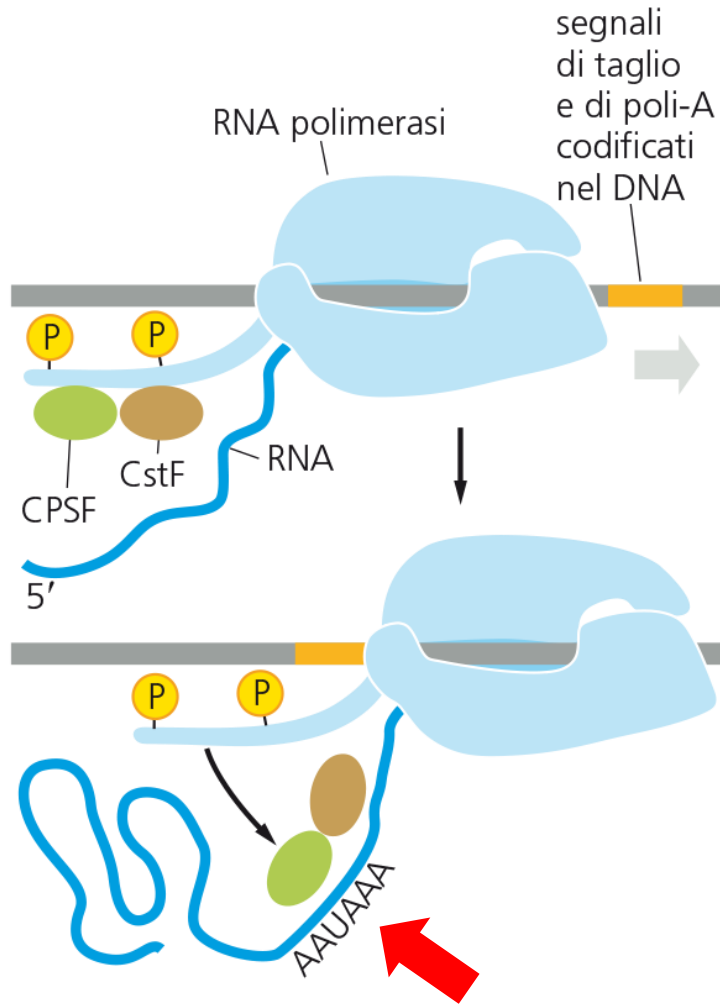




# Lo splicing alternativo

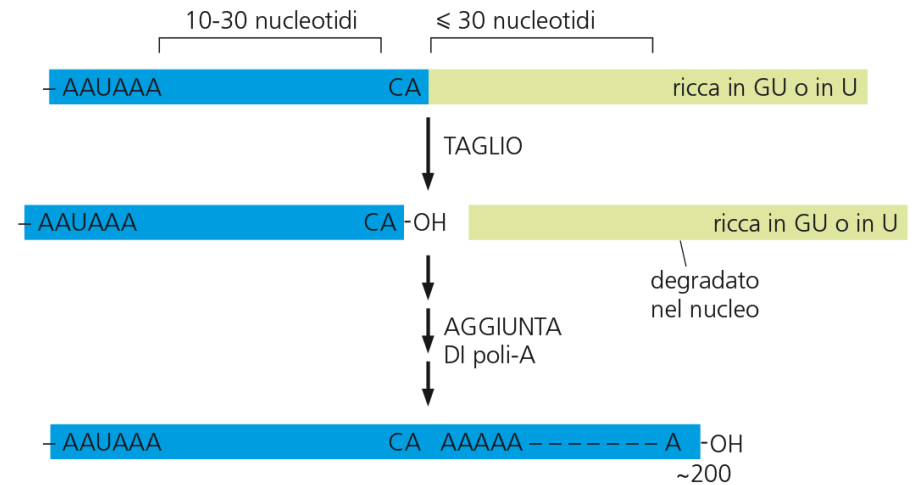
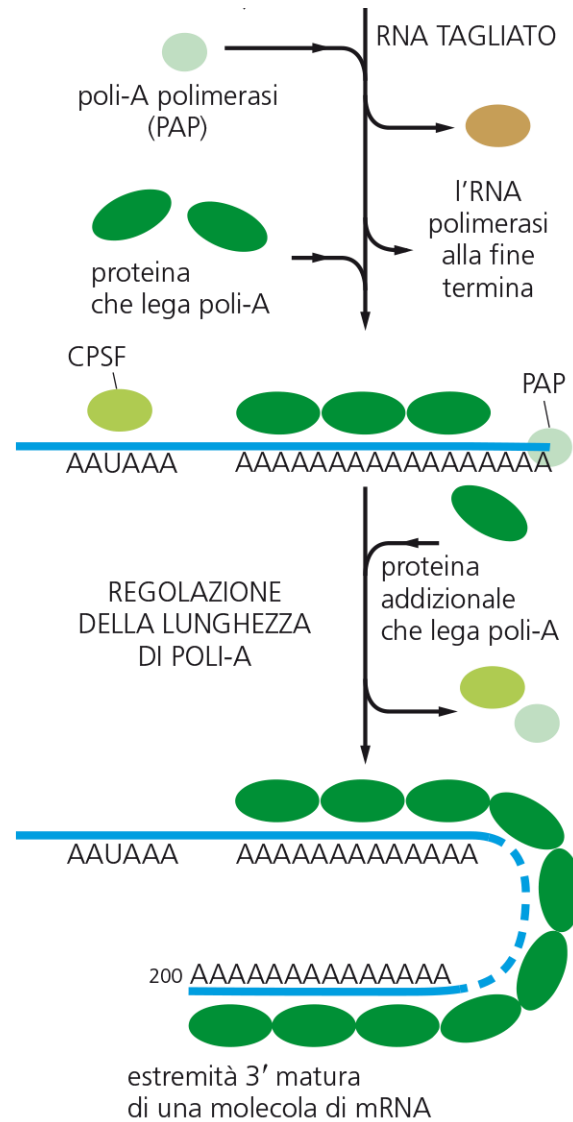


# La modificazione dell'estremità 3' dell'mRNA



CPSF: fattore di specificità del taglio e della poliadenilazione; CstF: fattore di stimolazione del taglio F

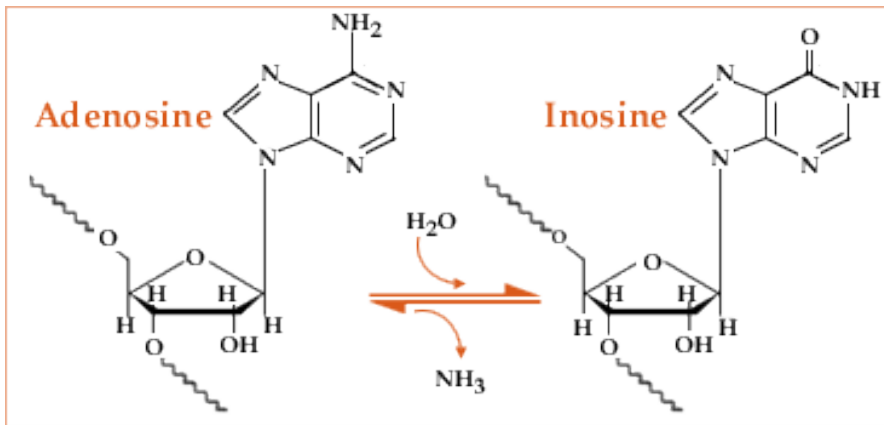
# La modificazione dell'estremità 3' dell'mRNA



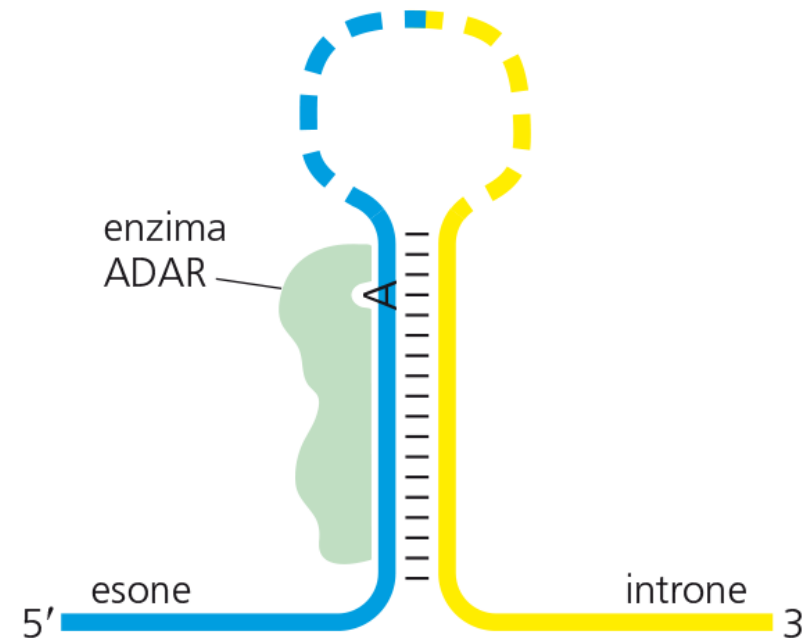
## Editing dell'mRNA

Altera le sequenze nucleotidiche dell'mRNA  
Cambia il significato del messaggio dell'mRNA

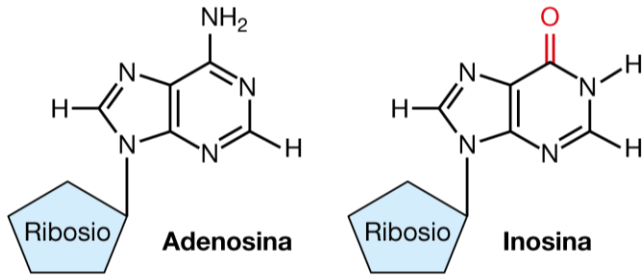
Nei mammiferi:  
Editing da A ad I



Esempio: mRNA che codificano per recettori del glutammato, recettori della serotonina e canali del potassio nei neuroni



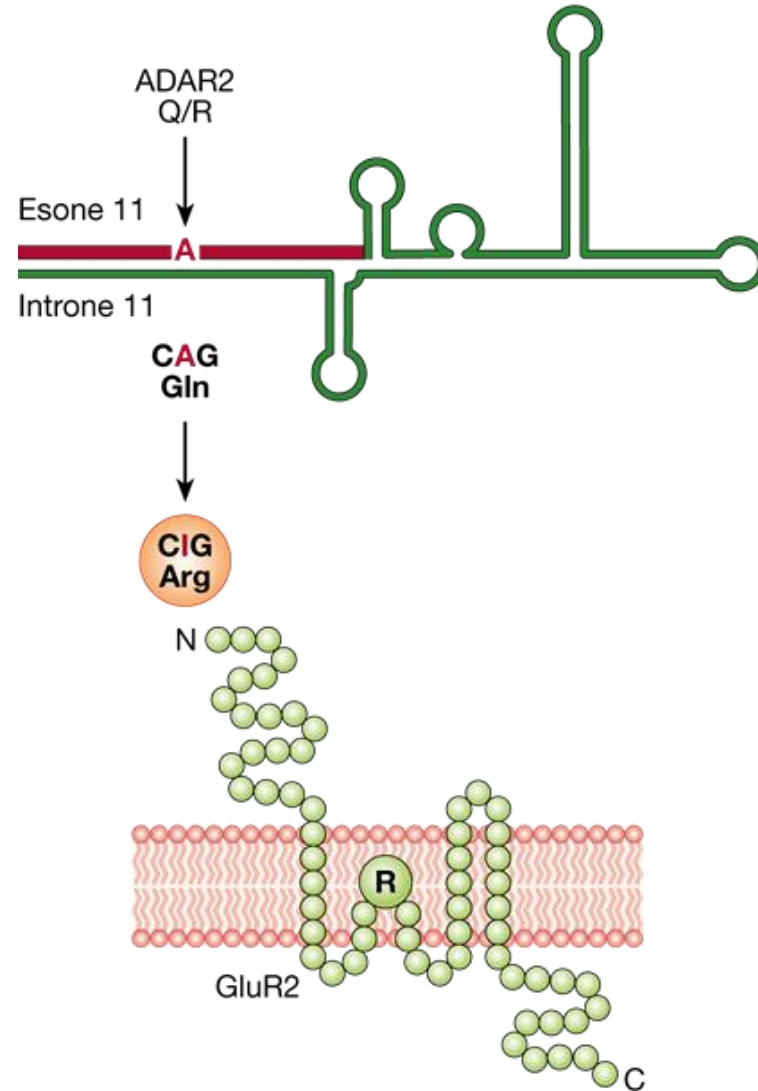
## Editing da A ad I



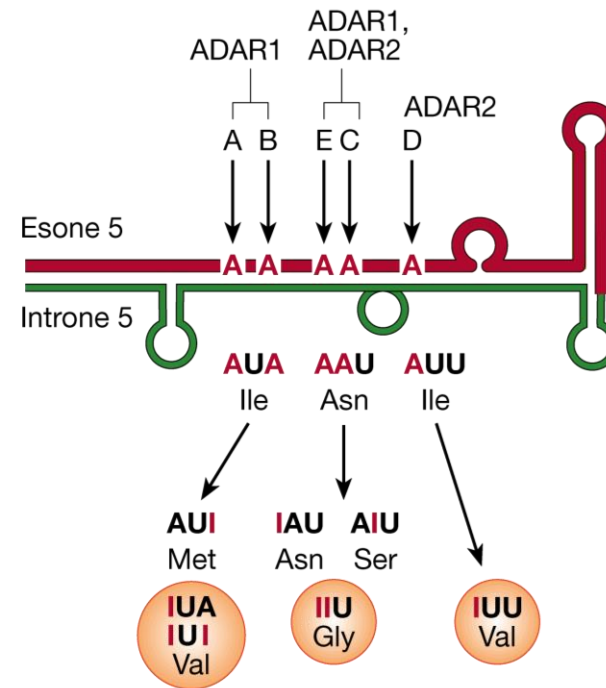
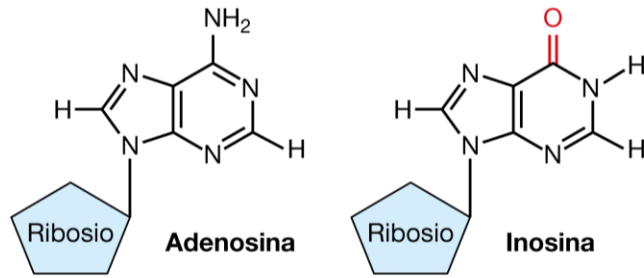
### Subunità B del recettore del glutammato

Arg (R) al posto di Gln

Questa sostituzione altera le proprietà del recettore e la permeabilità al  $\text{Ca}^{2+}$

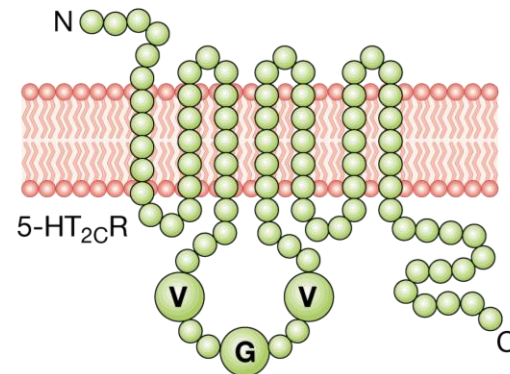


## Editing da A ad I



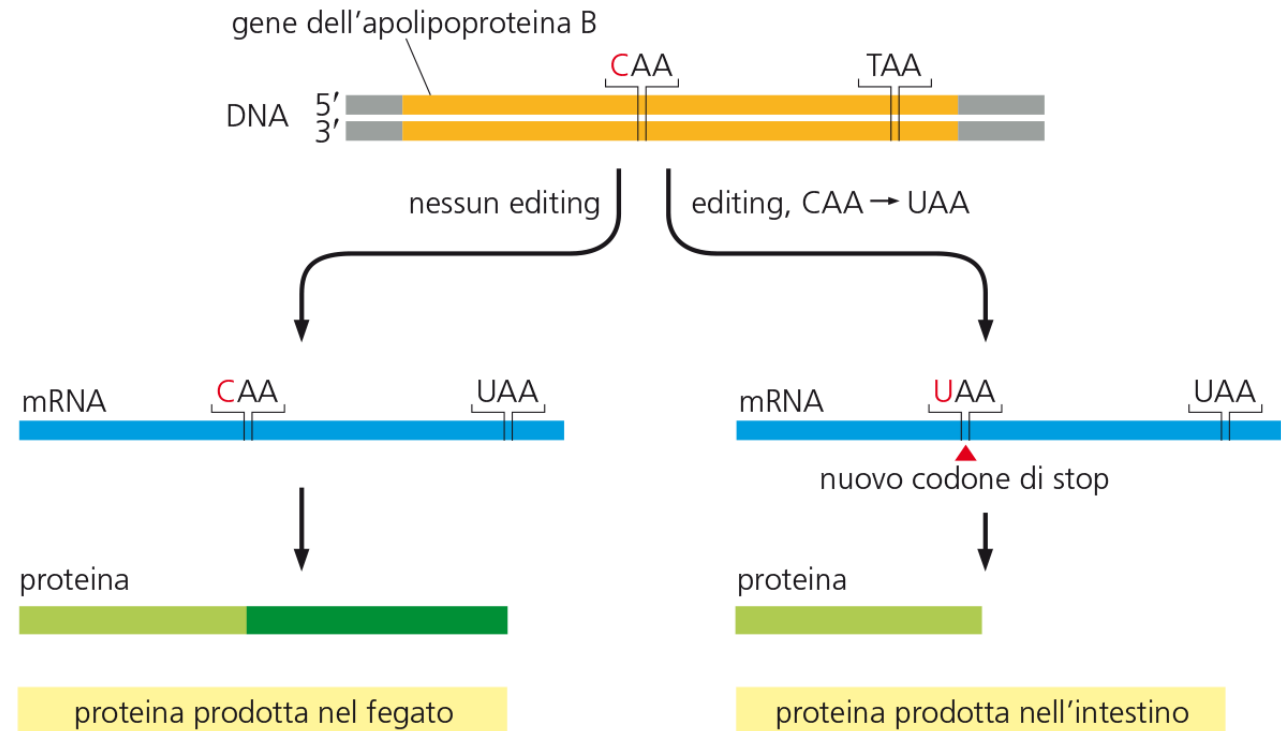
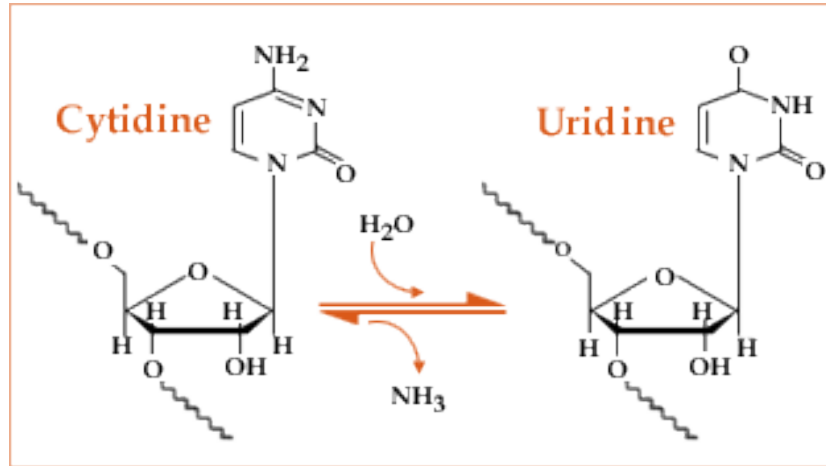
### Recettore della serotonina

Cinque siti di editing, tre sostituzioni aminoacidiche che alterano le proprietà di trasduzione del segnale



# Editing dell'mRNA

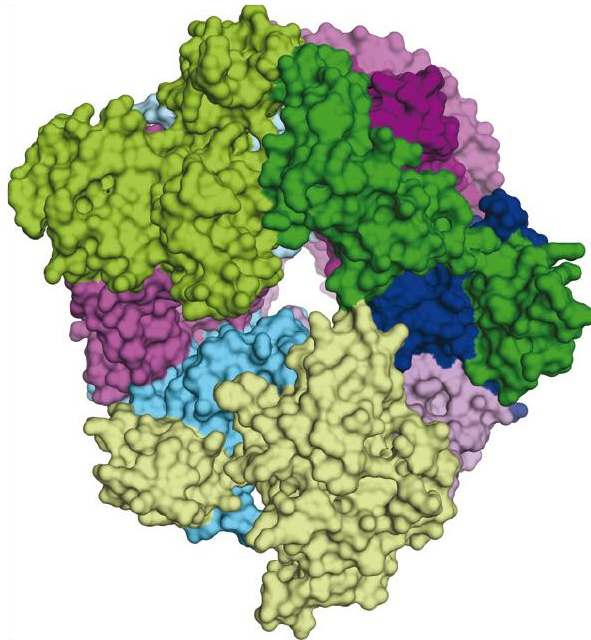
Nei mammiferi:  
Editing da C ad U



## Gli mRNA maturi sono esportati selettivamente dal nucleo

Gli mRNA maturi sono riconosciuti da quelli immaturi (pre-mRNA) grazie alle proteine che vi sono legate.

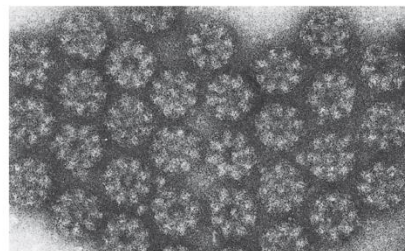
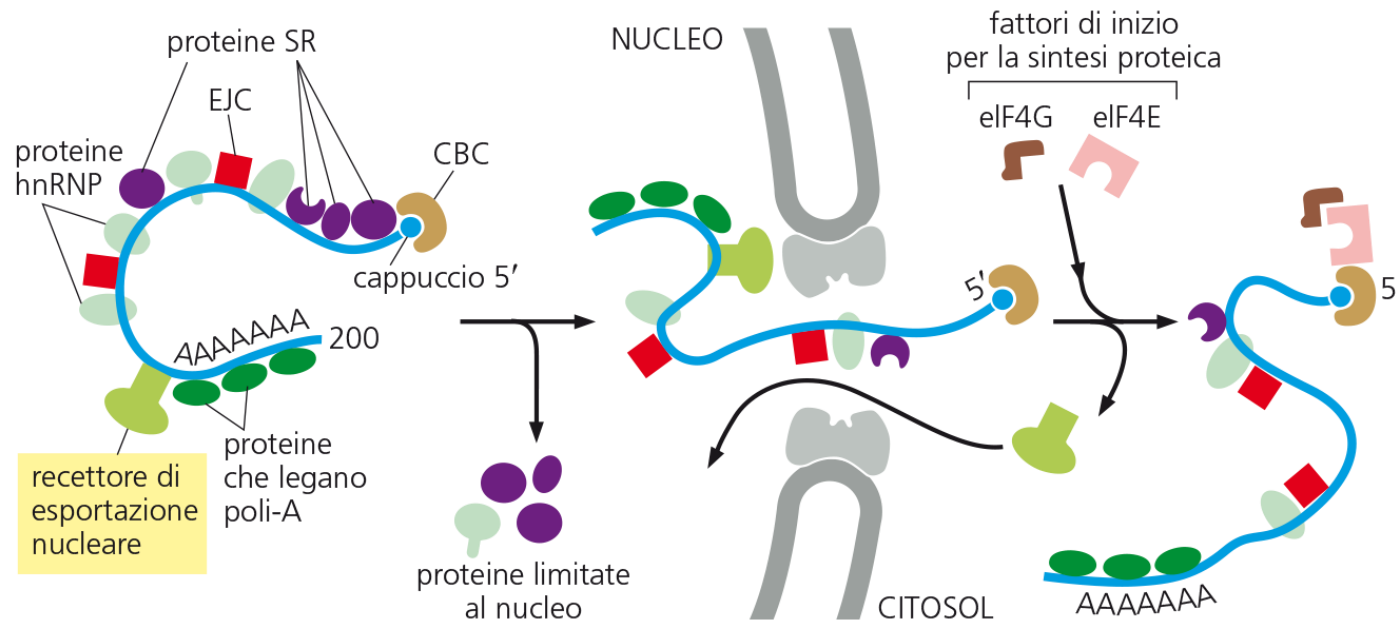
I frammenti di RNA generati dalla maturazione vengono degradati nel nucleo ad opera dell'**esosoma nucleare**



Struttura dell'esosoma nucleare umano



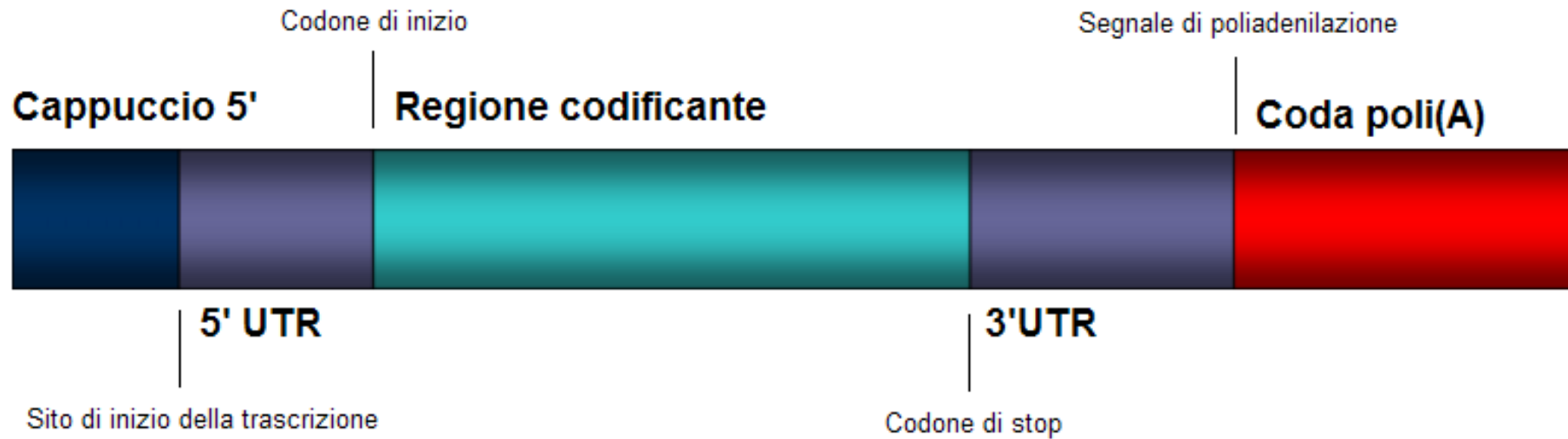
# Una molecola di mRNA matura pronta per l'esportazione



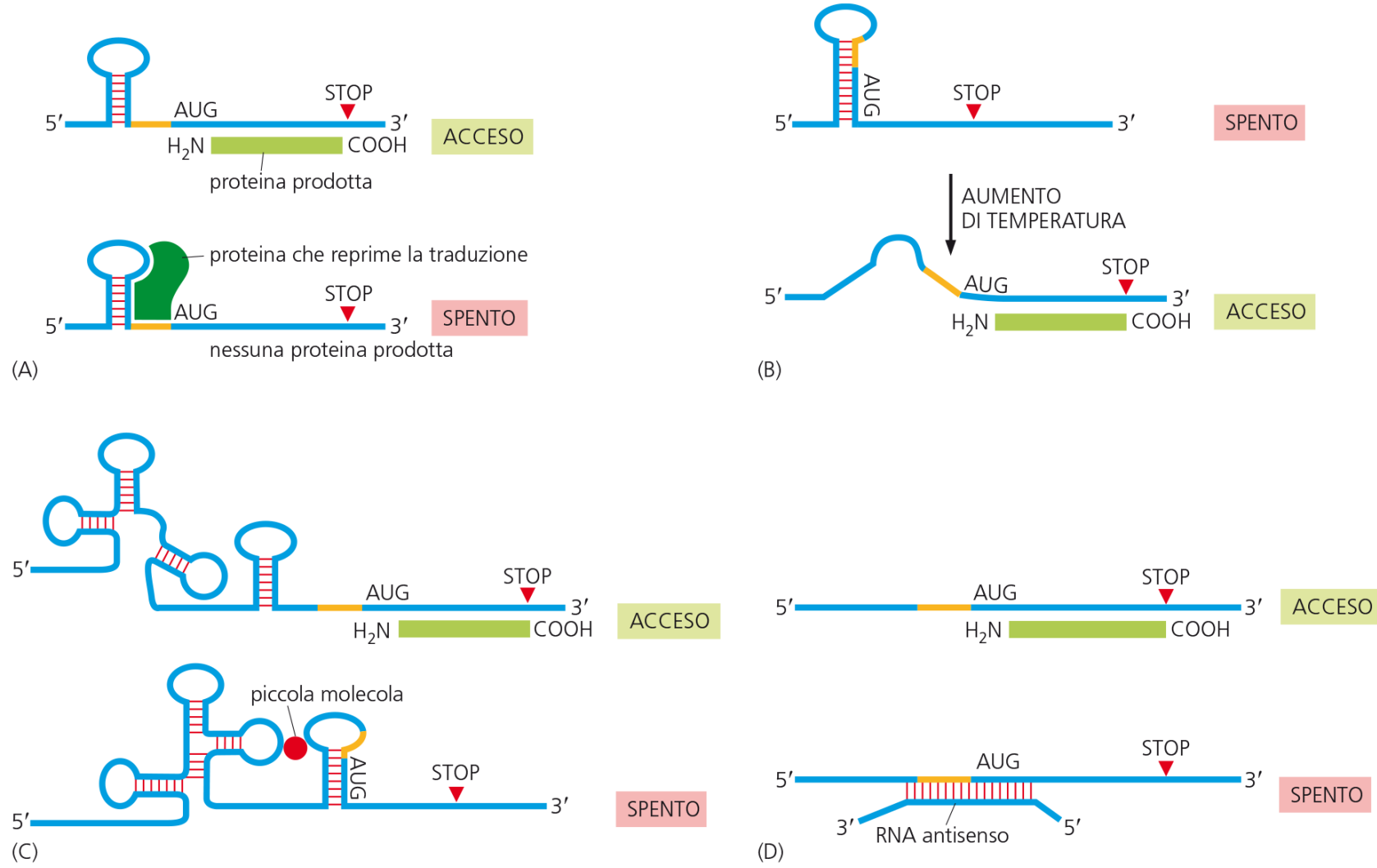
Pori nucleari

0,1  $\mu\text{m}$

# Struttura di un mRNA maturo nel citoplasma



# Le regioni non tradotte 5' e 3' degli mRNA ne controllano la traduzione

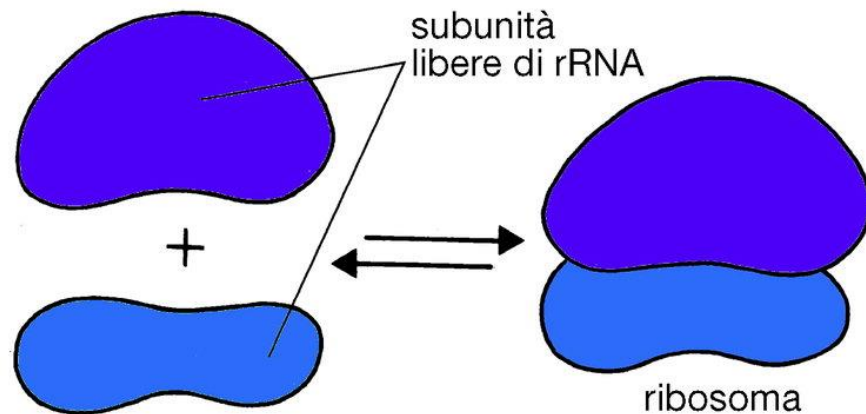


## Maturazione degli RNA ribosomiali (rRNA)

Costituiscono circa l'80% di tutti gli RNA in una cellula.

Vengono trascritti dalla RNA polimerasi I (che non ha una coda C-terminale come l'RNA polimerasi II, quindi niente cappuccio ne' coda poliA)

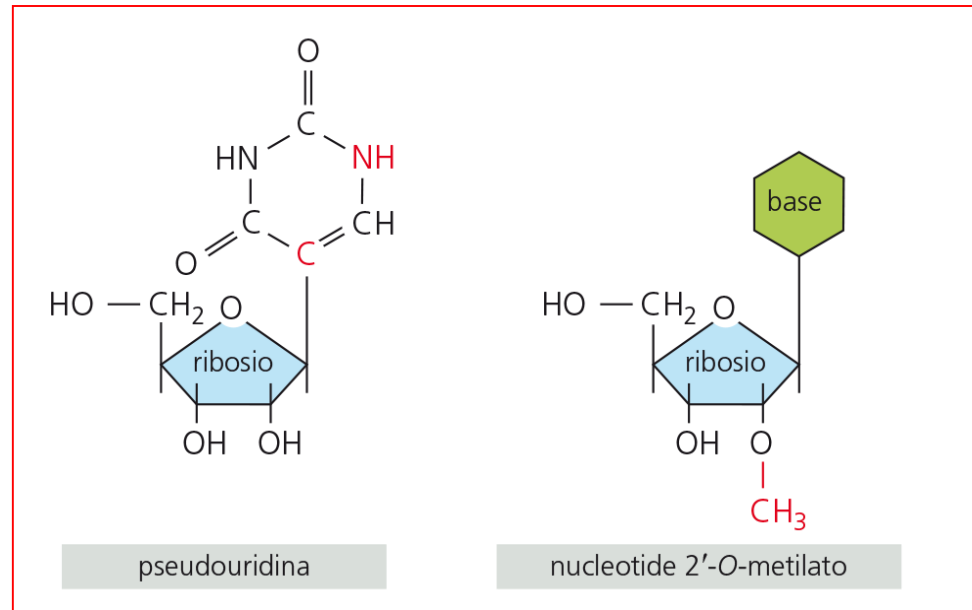
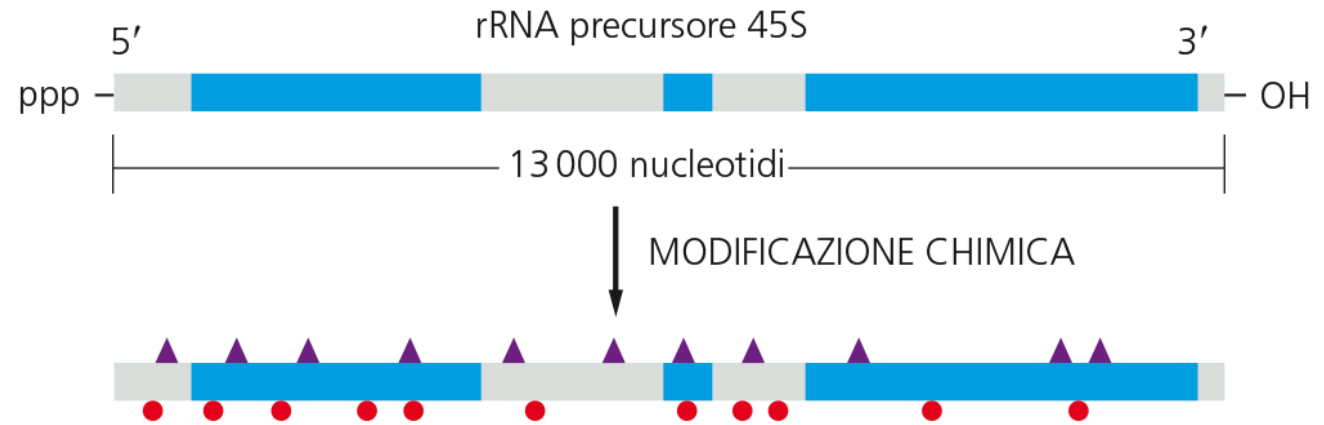
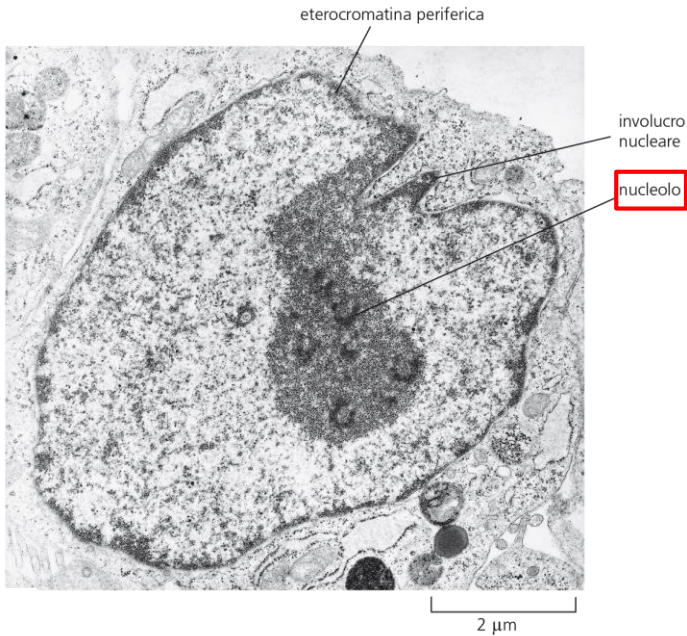
La cellula eucariote contiene copie multiple di geni per l'rRNA



	Eucarioti
Ribosomi assemblati	80 S
Subunita' maggiore	60 S
Subunita' minore	40 S
Proteine della subunita' maggiore	50
Proteine della subunita' minore	33
RNA ribosomiale	28 S 18 S 5,8S e 5S

# Maturazione degli RNA ribosomiali (rRNA)

Avviene nel **nucleolo**



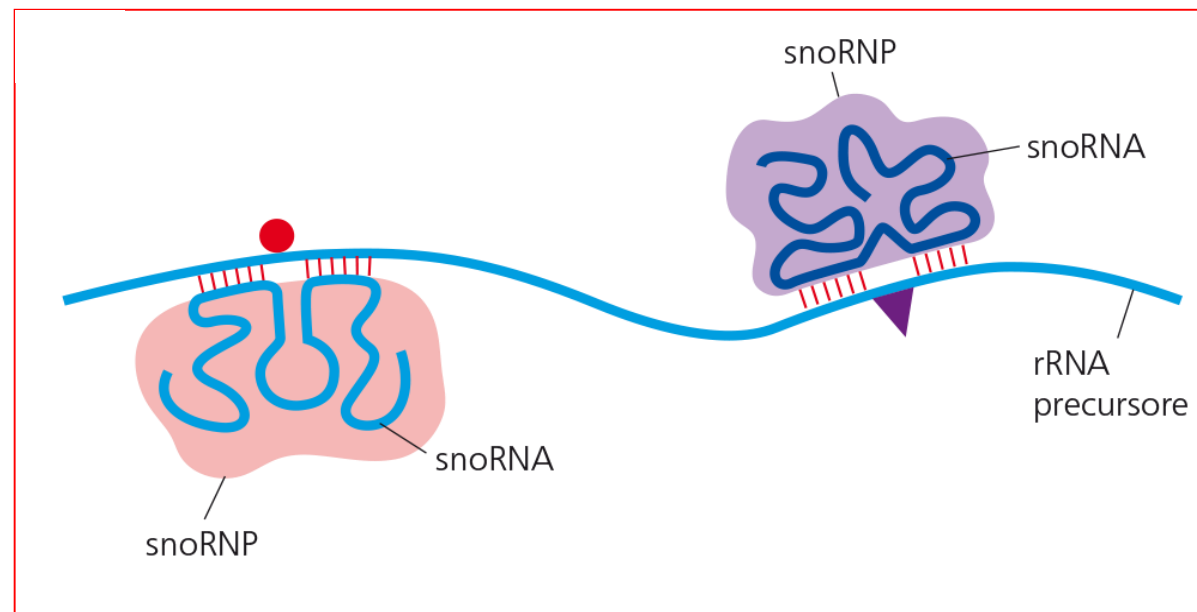
**pseudourilasi**

**metilasi**

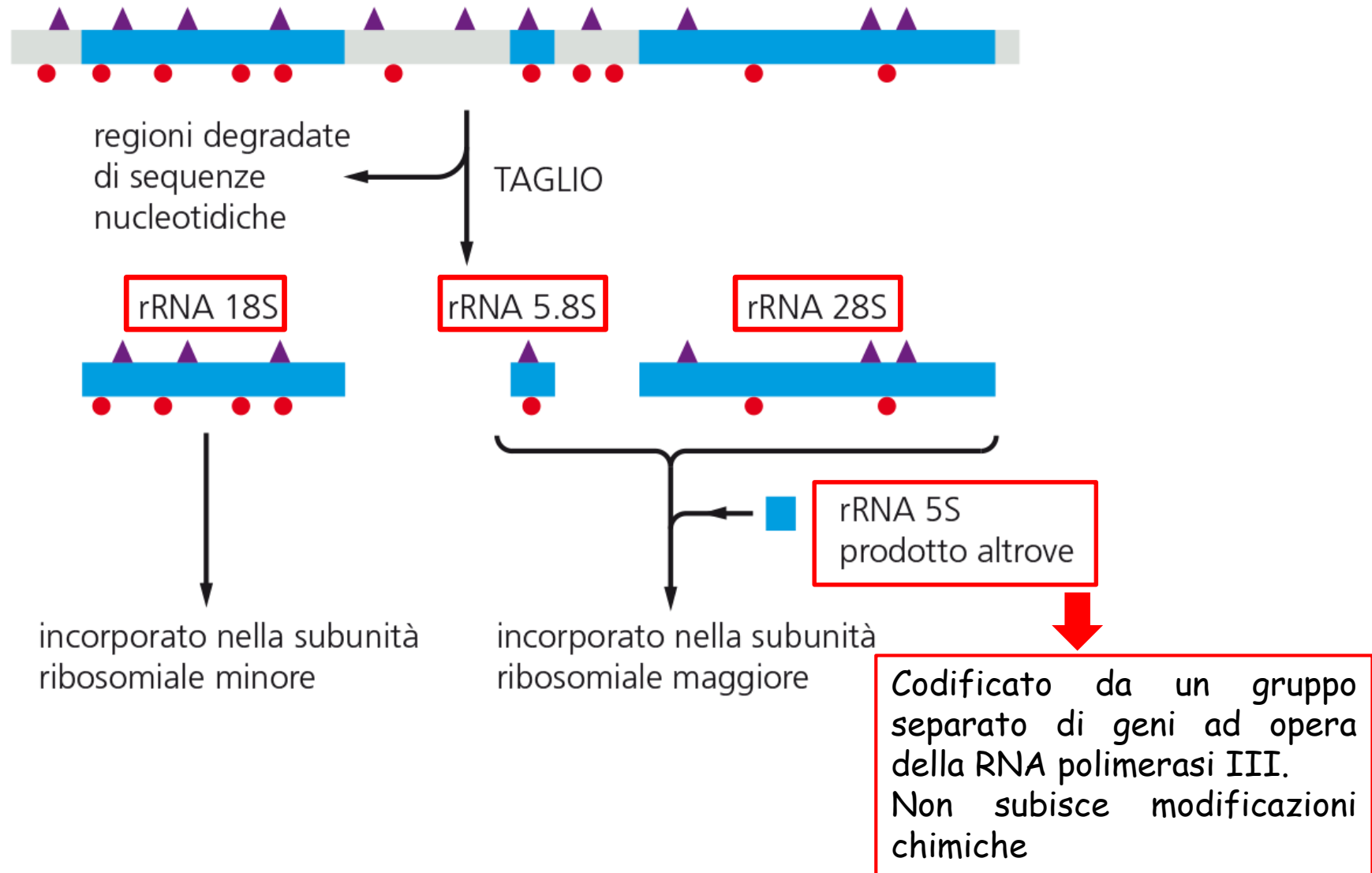
## Maturazione degli RNA ribosomiali (rRNA)

Le modificazioni chimiche avvengono grazie a piccole ribonucleoproteine nucleolari (*snoRNP*) contenenti i cosiddetti «RNA guida», piccoli RNA nucleolari (*snoRNA*) aventi regioni complementari all'rRNA precursore.

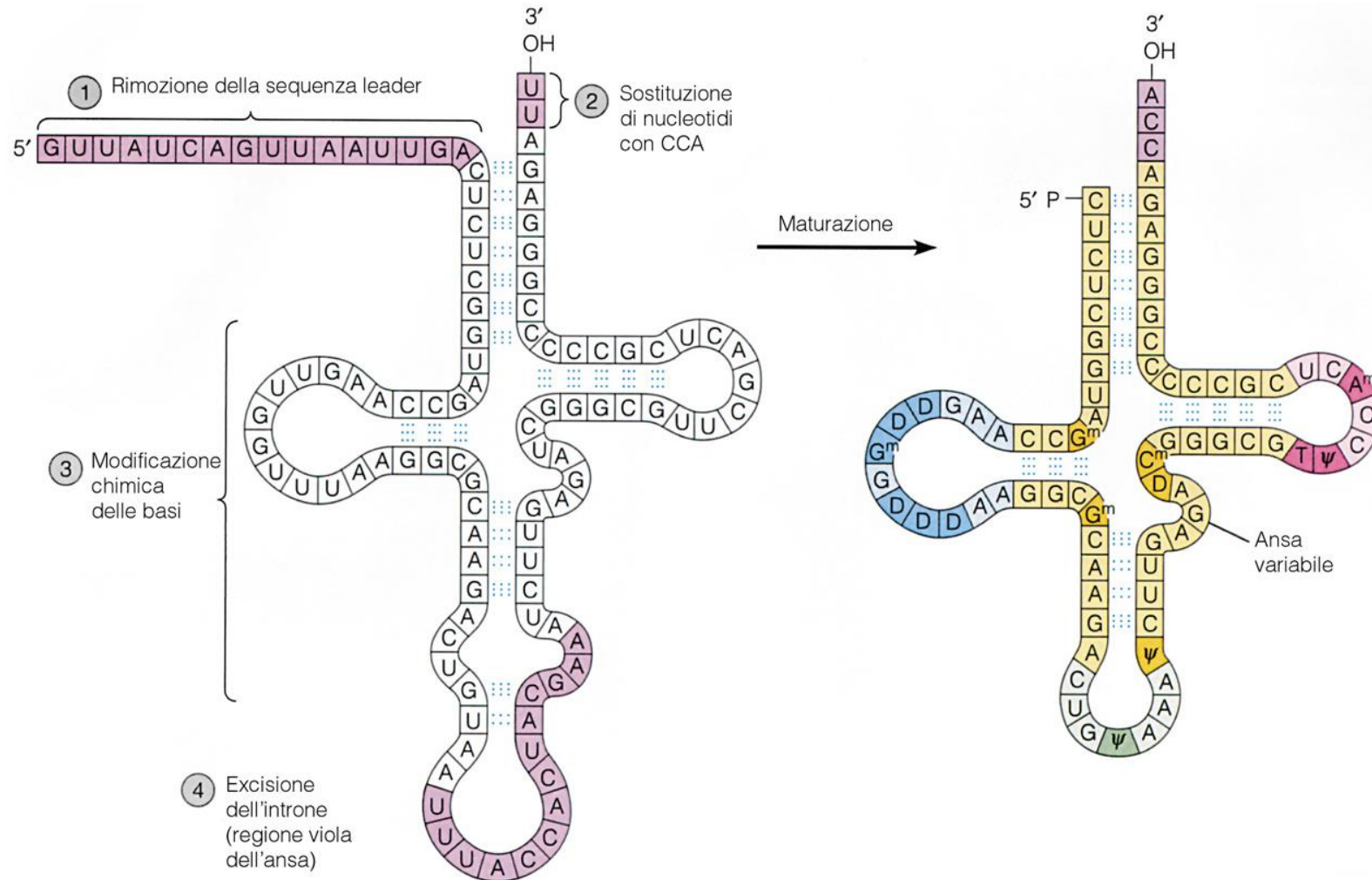
Gli *snoRNA* sono codificati da introni di altri geni, trascritti dalla RNA polimerasi II e maturati mediante escissione di zone introniche. Guidano le *pseudourilasi* o le *metilasi* sui siti specifici dell'rRNA precursore per modificare i nucleotidi



## Maturazione degli RNA ribosomiali (rRNA)



# Maturazione degli RNA di trasferimento (tRNA)





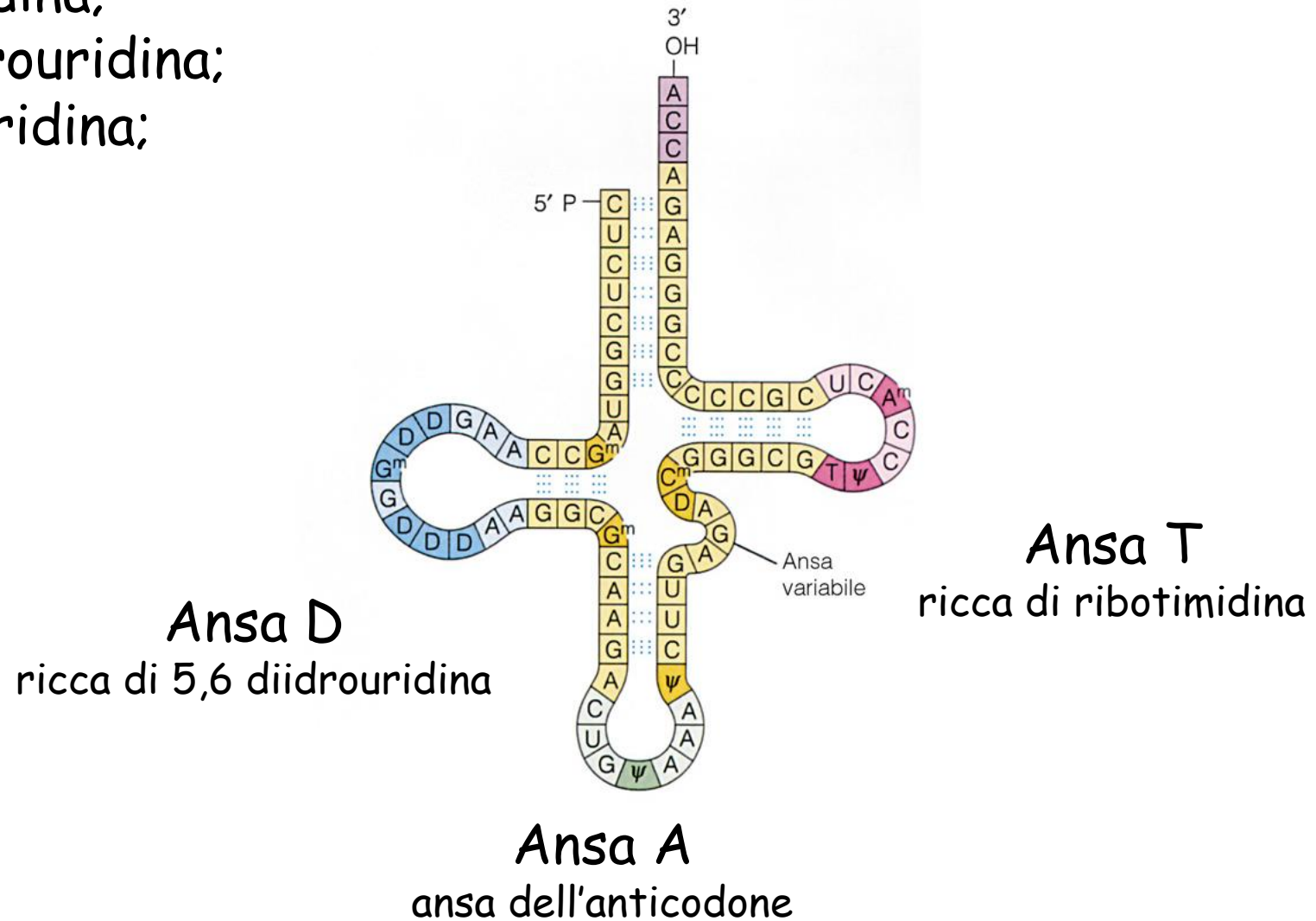
I tRNA contengono basi azotate modificate:

T: ribotimidina;

D: 5,6 diidrouridina;

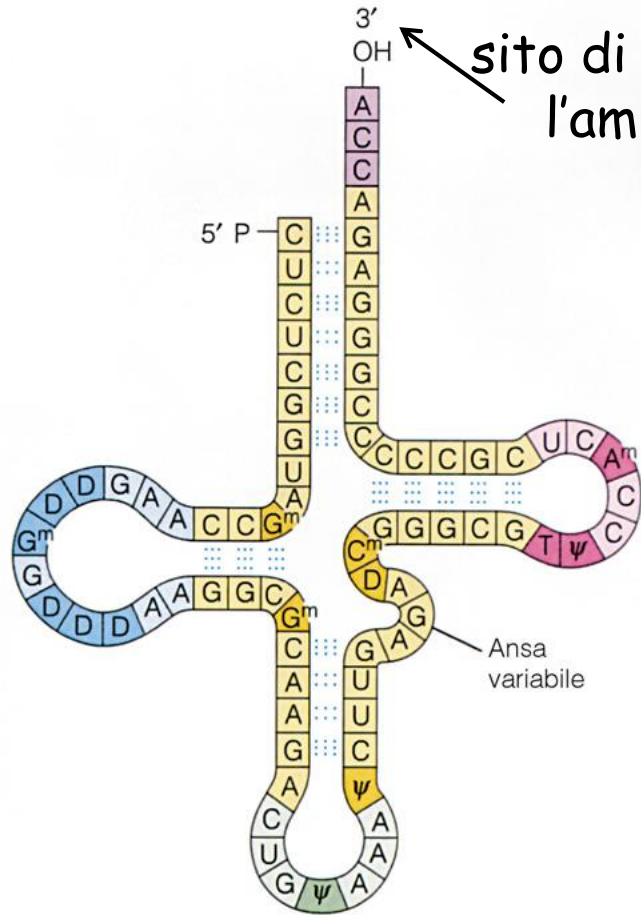
$\psi$ : pseudouridina;

I: inosina;

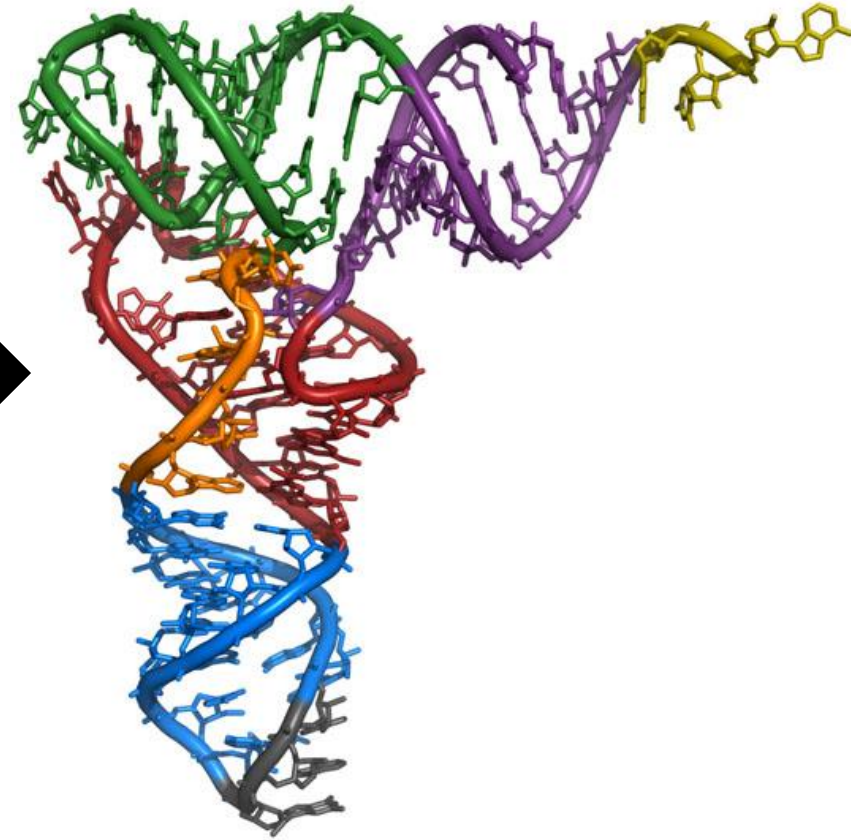


# struttura a trifoglio

# struttura a L



2 D



3 D

Cosa succede agli istoni legati al DNA durante la replicazione del DNA e durante la trascrizione?

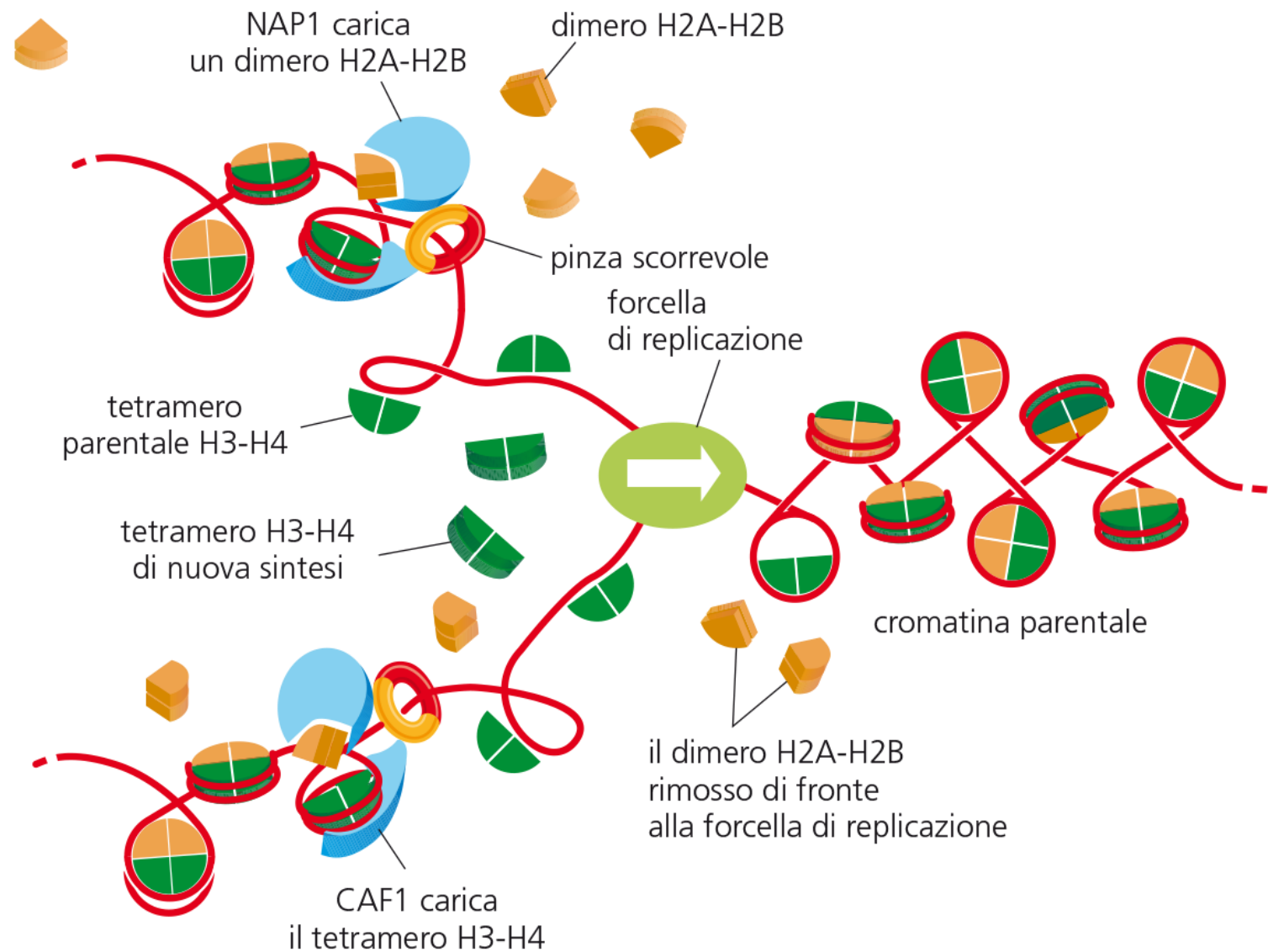
Gli istoni vengono rimossi e poi riaggiunti all'acido nucleico da proteine chiamate chaperoni degli istoni

# Dietro la forcella di replicazione del DNA sono assemblati nuovi nucleosomi

**NAP-1** e **CAF-1** sono chaperoni degli istoni detti anche fattori di assemblaggio della cromatina

**NAP-1** carica i dimeri H2A-H2B

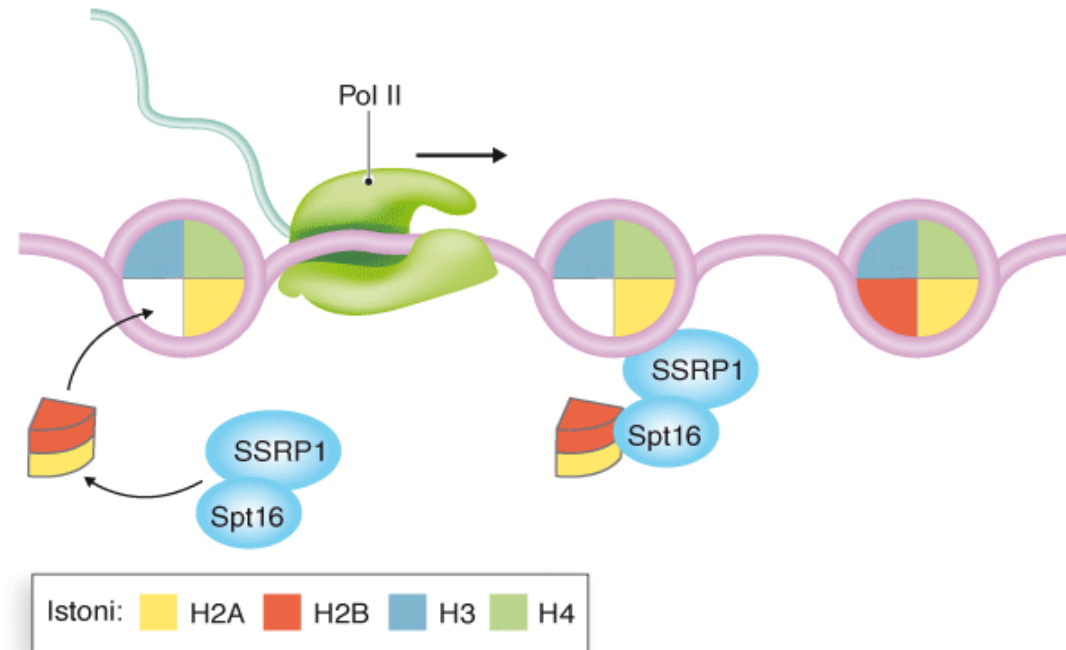
**CAF1** carica il tetramero H3-H4



## La fase di allungamento della trascrizione necessita della rimozione degli istoni legati al DNA

Il complesso **FACT** è un chaperone degli istoni, formato da **SPT16** e **SSRP1**: agisce sul dimero H2A/H2B

Lo chaperone istonico **Spt6** rimuove il tetramero H3/H4



**FIGURA 5.37** ▲ Attività del complesso FACT nell'allungamento trascrizionale. Il complesso FACT è formato dalle subunità Spt16 e SSRP1, entrambe dotate di una regione acida verso l'estremità C-terminale per il legame agli eterodimeri H2A/H2B del nucleosoma. Il complesso, che funziona da chaperone degli istoni, rimuove gli eterodimeri H2A/H2B dal nucleosoma al passaggio dell'RNA polimerasi, riposizionandoli dopo il passaggio dell'enzima. A questi processi di disassemblaggio (parziale) del nucleosoma e riassetto partecipa anche il fattore Spt6, un chaperone istonico con attività nei confronti del tetramero H3/H4.