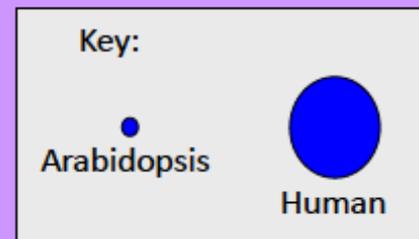
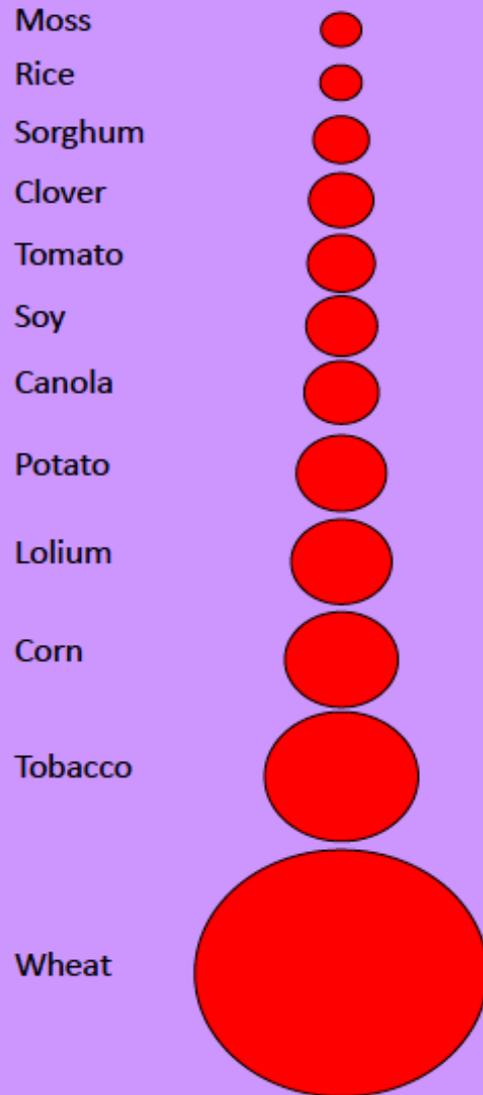


# Il genoma codificante

Una parte del genoma è costituito da sequenze codificanti che sono trascritte in sequenze di RNA di varia tipologia

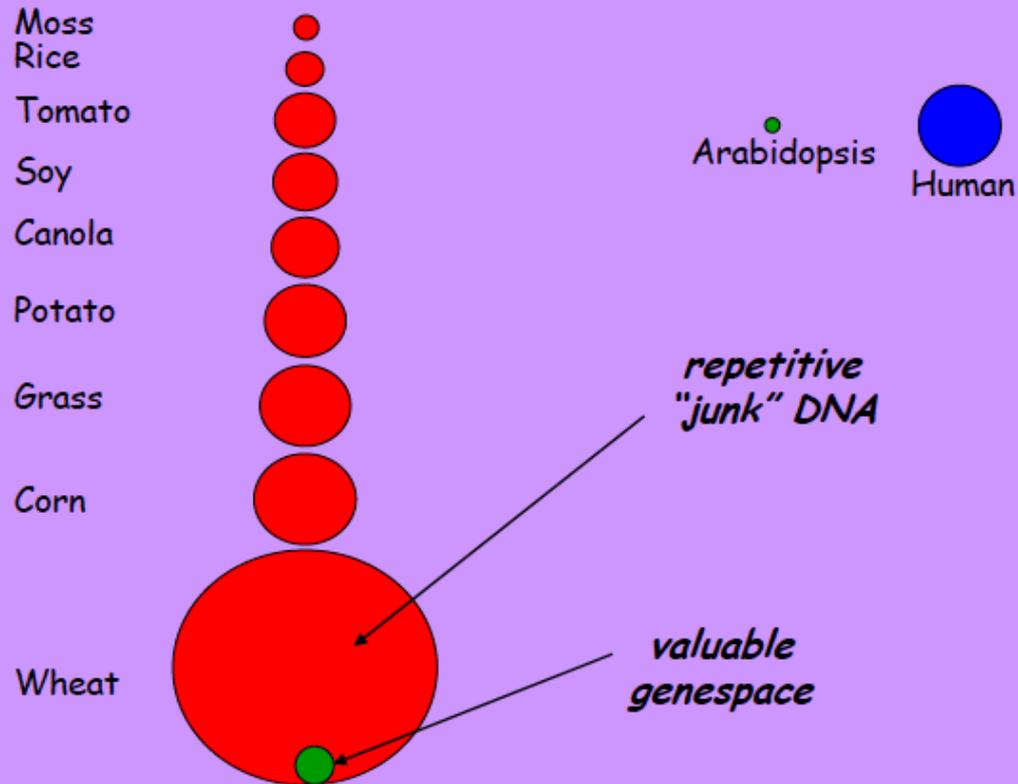
# I genomi della pianta possono essere più grandi del genoma umano

Dimensioni relative dei genomi



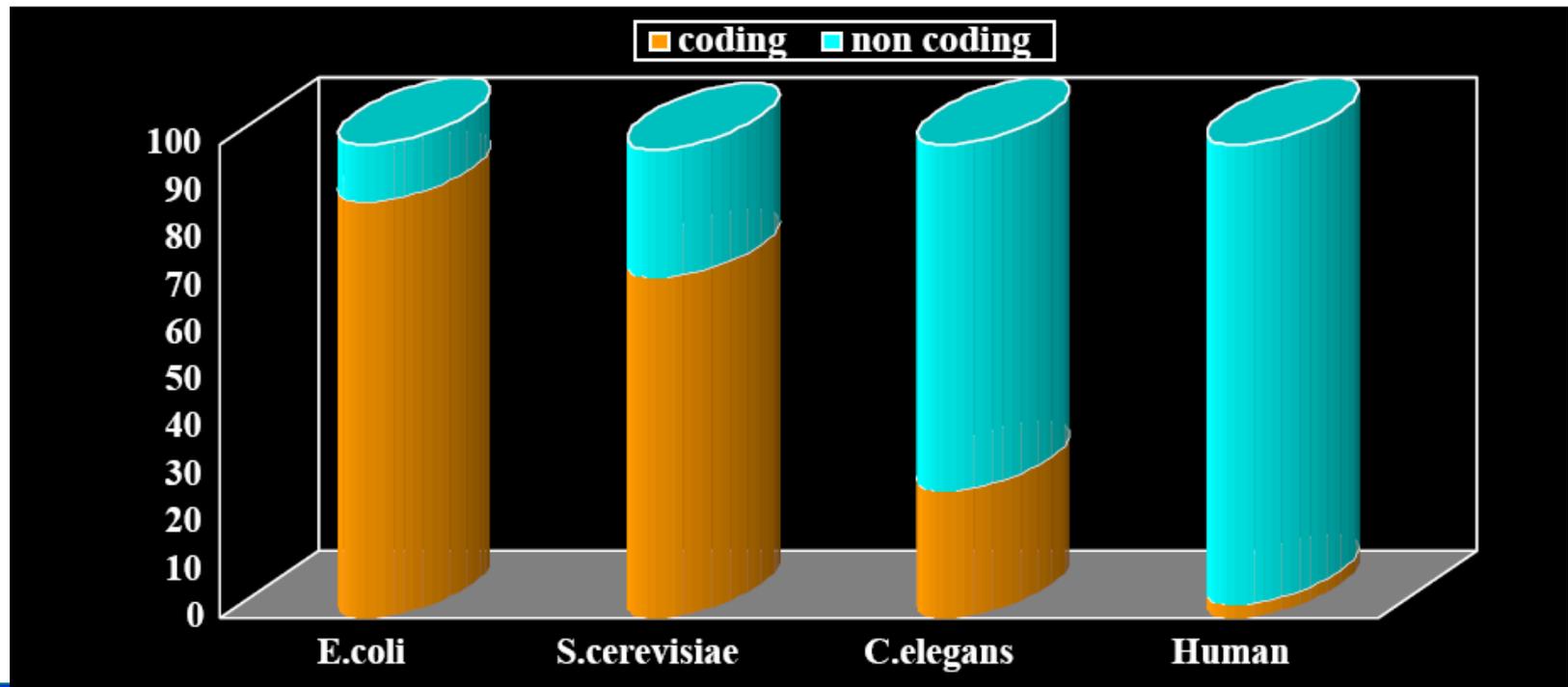
# Solo una piccola parte del genoma contiene geni

## Plant Genome Composition: Junk vs. Genes



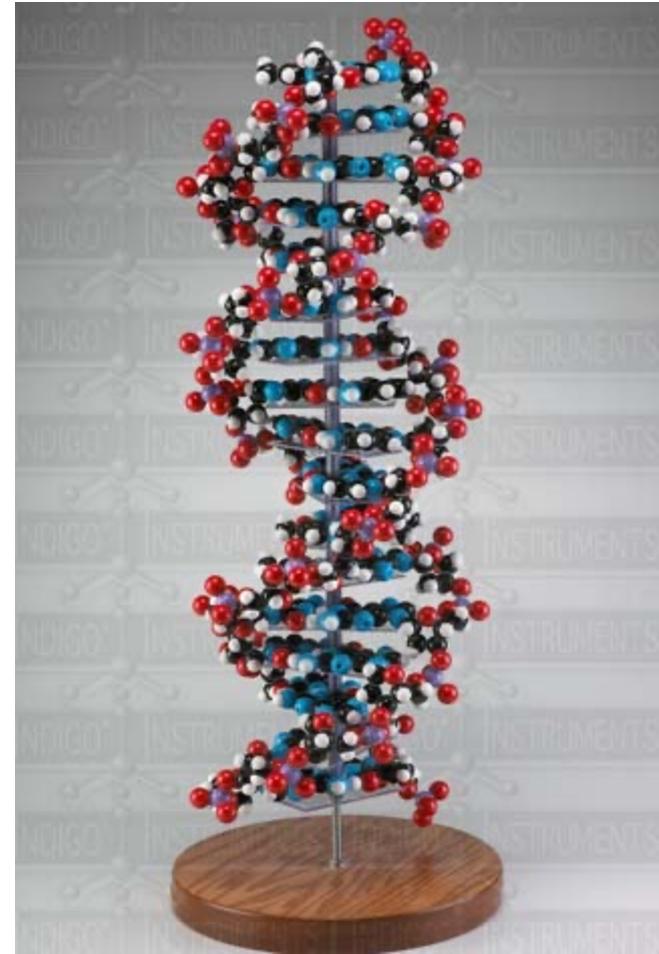
# Genoma codificante e non codificante per trascritti e proteine

Nei genomi degli organismi più complessi una grande porzione del DNA apparentemente non codificante (junk DNA). Questa parte aumenta all'aumentare della complessità dell'organismo.



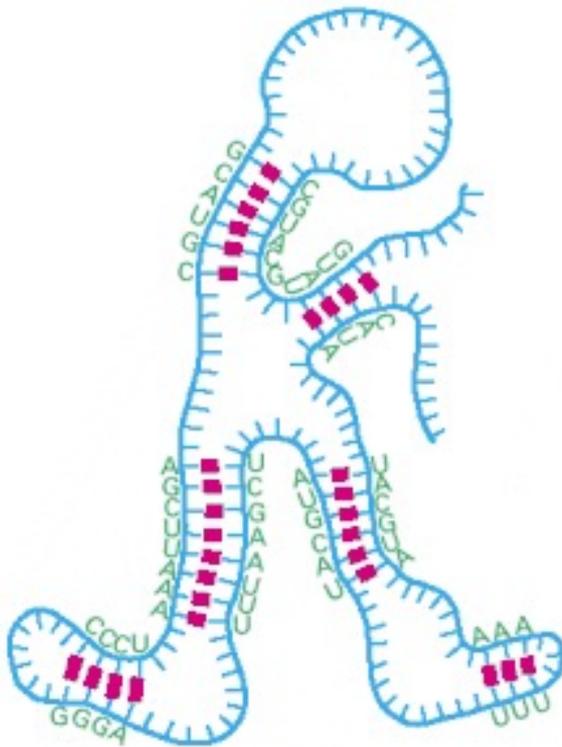
# Gli acidi nucleici (DNA/RNA)

- Gli organismi viventi contengono due tipi di acidi nucleici: DNA e RNA
- Deoxyribonucleic acid (DNA) è l'acido nucleico che contiene le istruzioni genetiche utilizzate nello sviluppo e funzionamento di tutti gli organismi viventi.
- Sia il DNA che l'RNA sono costituiti da nucleotidi legati tra di loro in lunghi polimeri.



RNA è una molecola a singolo filamento non lineare.

La sua forma è molto importante per le funzioni catalitiche che può svolgere

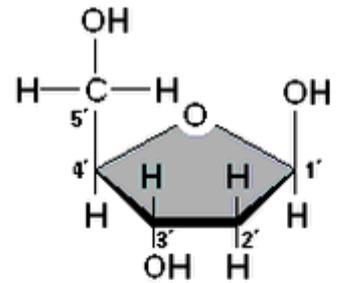
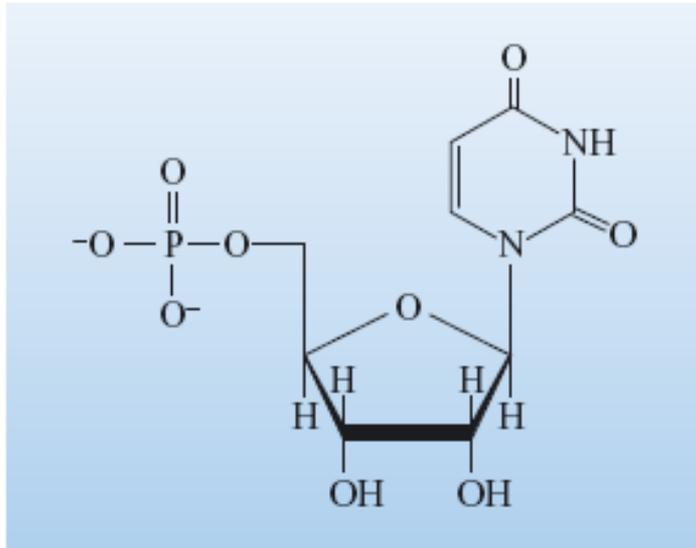


(A)



(B)

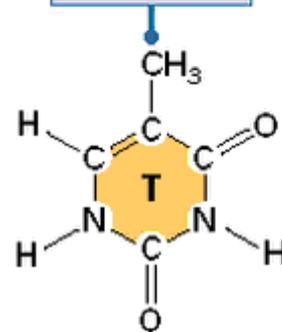
# I componenti dell'RNA



Deoxyribose

OH in ribose  
of RNA

H in uracil



Thymine

# Molecole di RNA prodotte dalla cellula (vegetale)

## Tipi di RNAs

## Funzione

mRNAs

messaggeri RNAs, codif. proteine

rRNAs

componente ribosomale

tRNAs

trasportatore aminoacidico

snRNAs

splicing dei pre-mRNAs

sRNAs

regolazione dell'espressione

A-MicroRNAs

degradazione dell' mRNA

B-Small interfering RNAs

regolazione dell'espressione genica

RNA non-codificanti

funzioni varie

# Le RNA polimerasi

- RNA polimerasi:
  - **Batteri**: una sola RNA polimerasi per tutti i geni
  - **Eucarioti**: tre RNA polimerasi diverse
    - RNA polimerasi I dirige la sintesi degli rRNA 28S, 18S e 5,8S;
    - RNA polimerasi II sintetizza gli mRNA e gli snRNA;
    - RNA polimerasi III sintetizza i tRNA il 5S RNA snRNA

# Le (almeno) 5 RNA Polimerasi dei vegetali

## Tipo di Polimerasi

## Sequenze Trascritte

RNA pol I

5.8S, 18S, and 28S rRNA genes

RNA pol II

protein coding genes, snoRNA genes, some snRNA genes, microRNAs

RNA pol III

tRNA genes, 5S rRNA genes  
some snRNA genes, genes for other small RNAs

RNA pol IV

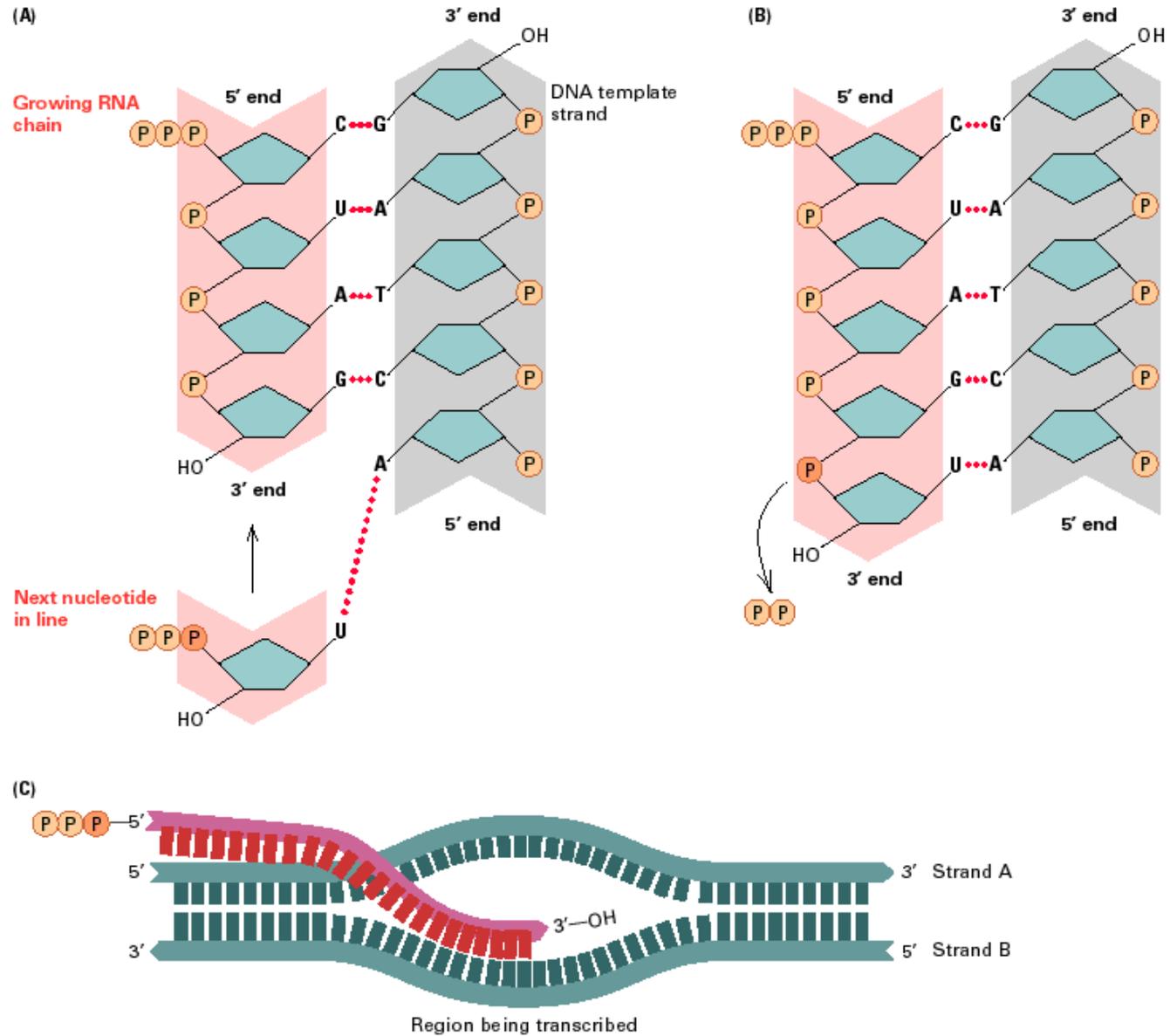
plants only; small interfering RNAs (siRNAs)

RNA pol V

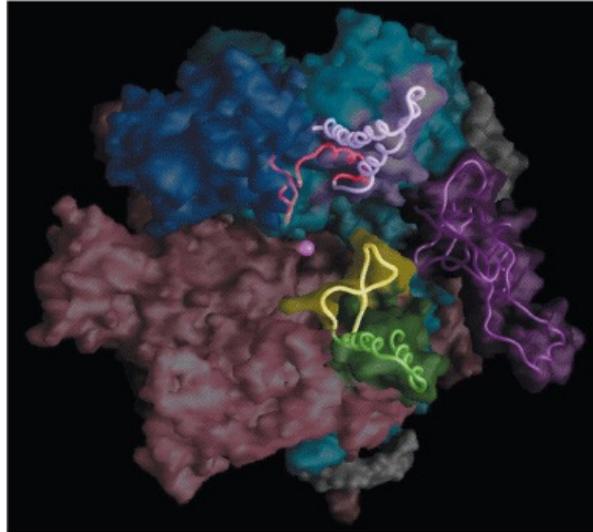


**FIGURA 10.8** Struttura dell'oloenzima Pol II che mostra il solco superiore che termina nel sito attivo, che contiene uno ione magnesio (sfera rosa). I differenti componenti polipeptidici dell'oloenzima sono mostrati in colori differenti. [Cortesia di David A. Bushnell e Roger Kornberg, Stanford University Medical School].

# La trascrizione dell'RNA

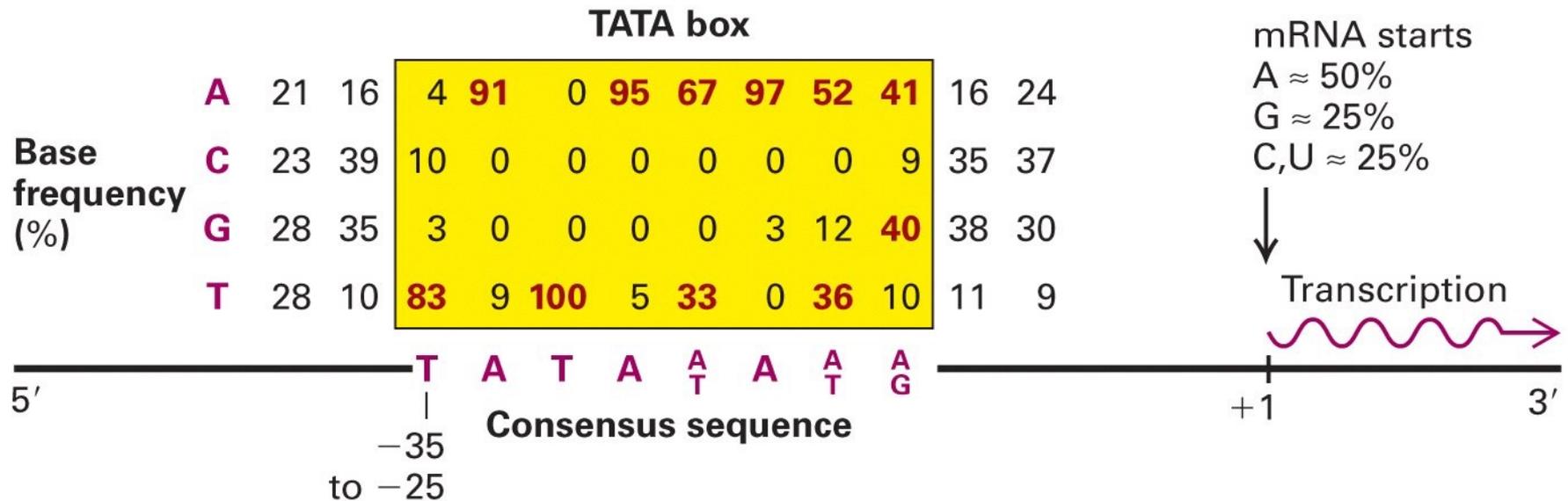


# La RNA polimerasi dei procarioti (oleoenzima)

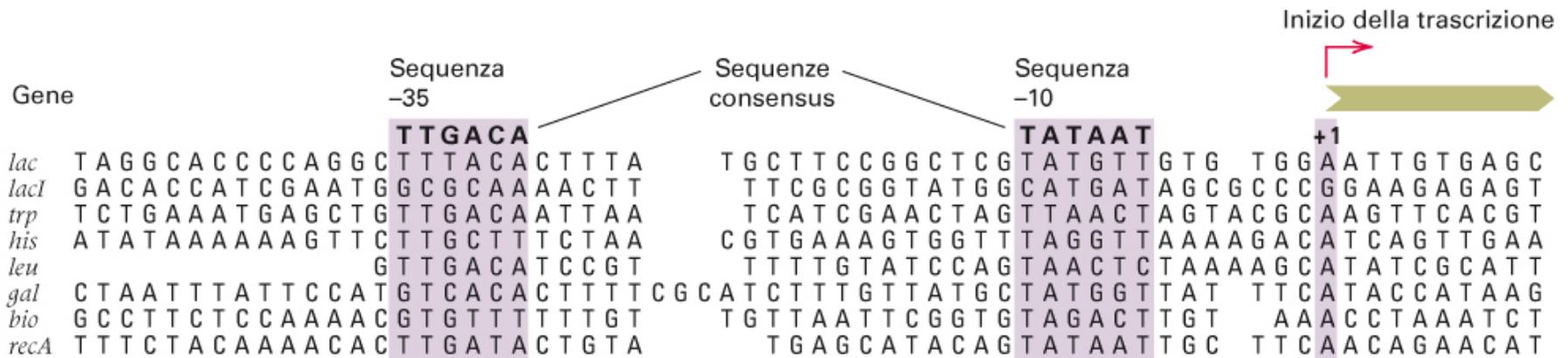


**FIGURA 10.7** Struttura delle subunità dell'RNA polimerasi del batterio *Thermus aquaticus*. Il complesso presenta al suo interno un canale a forma di U. Il DNA che deve essere trascritto passa attraverso questo canale, con la regione del promotore che emerge in basso a destra e si avvolge in alto a destra. Le eliche colorate evidenziano alcune caratteristiche strutturali del complesso. La sfera rosa al centro è lo ione  $Mg^{2+}$  nel sito attivo. [Riprodotta da R. A. Mooney e R. Landick, "RNA polymerase unveiled," *Cell* 98 (1999): 687-690, © 1999, con l'autorizzazione di Elsevier].

# Come riconosce l'RNA polimerasi il sito di inizio della trascrizione? Grazie al TATA Box



Il TATA box è una sequenza consenso nel promotore delle sequenze di DNA che vengono trascritte dalla Polimerasi batterica e dalla POLII Eucariotica

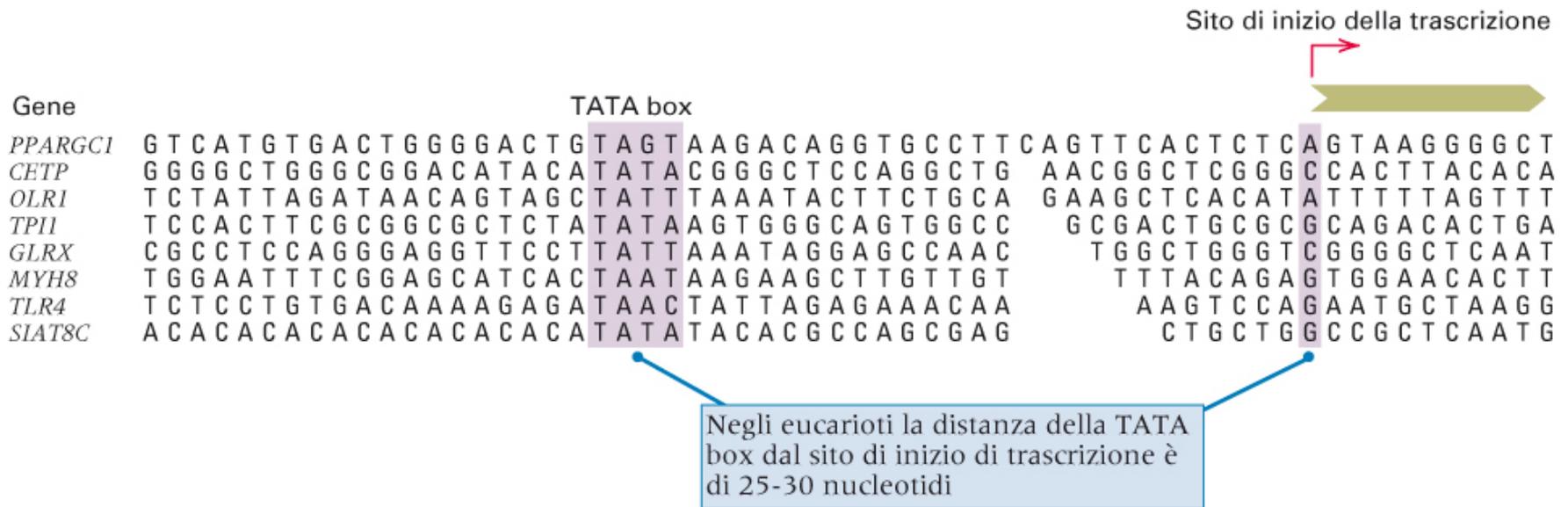


**FIGURA 10.9** Sequenze nucleotidiche della regione promotore di alcuni geni di *E. coli*. Sono indicate le sequenze consensus localizzate 10 e 35 nucleotidi a monte del sito di inizio della trascrizione (+1). I promotori differiscono molto tra loro nella capacità di promuovere la trascrizione. La maggior parte delle variazioni della capacità trascrizionale risiedono nelle differenze tra i promotori e le sequenze consensus a -10 e -35.



Hartl - Jones  
 GENETICA Analisi di geni e genomi  
 Edises

I promotori sono sequenze di DNA che si trovano a monte del sito di inizio della trascrizione. Contengono sequenze che sono riconosciute da proteine dette **fattori di trascrizione**, in grado di legare il DNA. Numerosi fattori di trascrizione sono necessari perché le RNA polimerasi possano eseguire la trascrizione

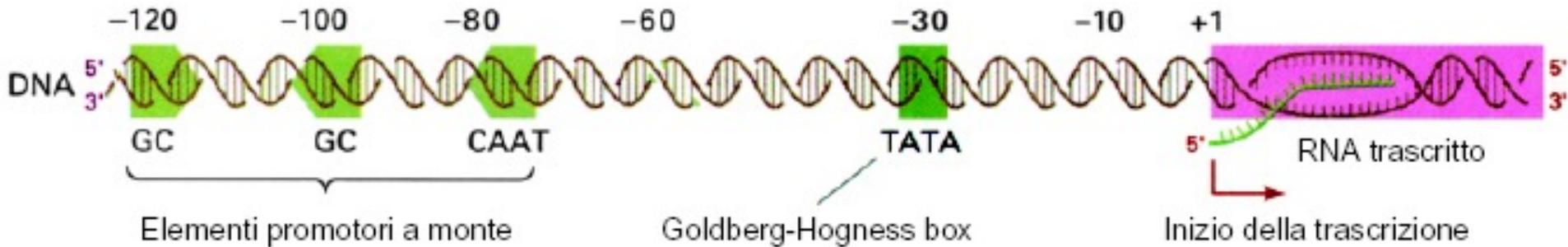


**FIGURA 10.10** Alcuni geni umani contenenti sequenze TATA box nella regione promotrice centrale, vicino al sito di inizio della trascrizione.



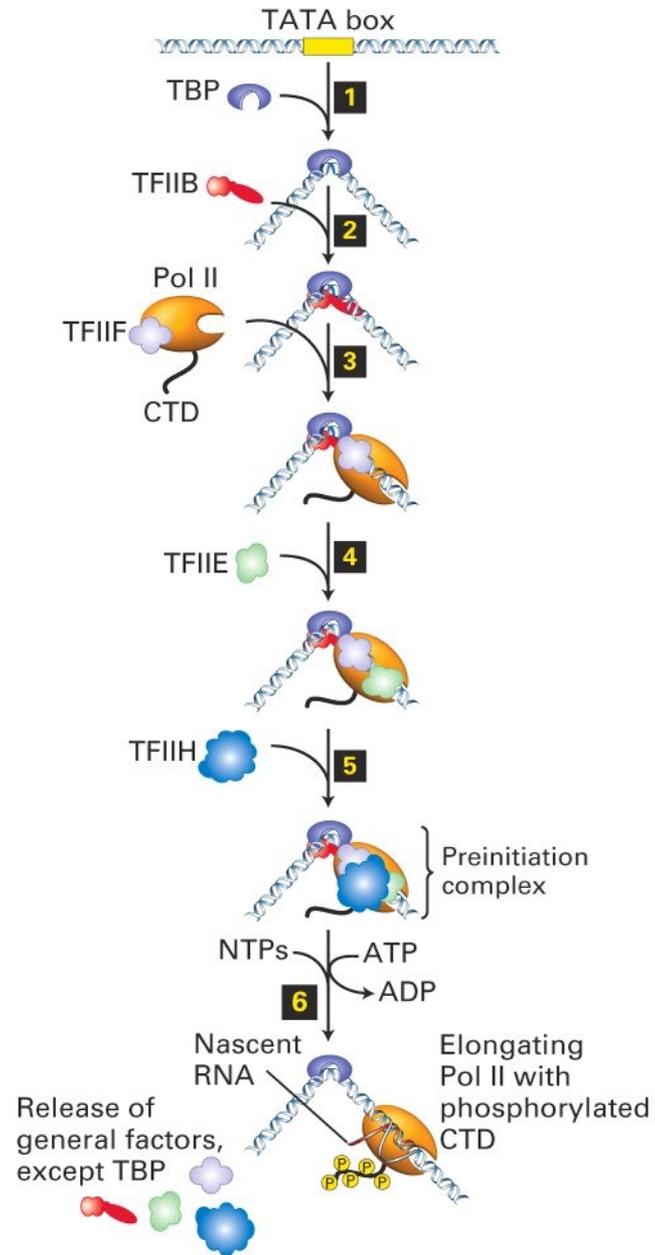
I promotori dei geni eucariotici sono più complessi di quelli procariotici e regolano la trascrizione dei geni nei diversi tessuti, in risposta a stimoli endogeni e/o dell'ambiente esterno. Presentano numerose sequenze consenso che possono essere legate dai fattori di trascrizione quando la trascrizione deve essere attivata.

# Schema di promotore eucariotico



# **L'RNA polimerasi II e l'inizio della trascrizione negli Eucarioti**

# Biochemical Reconstitution Revealed an Ordered Assembly of Factors for Initiation



# TATA box



TBP



1

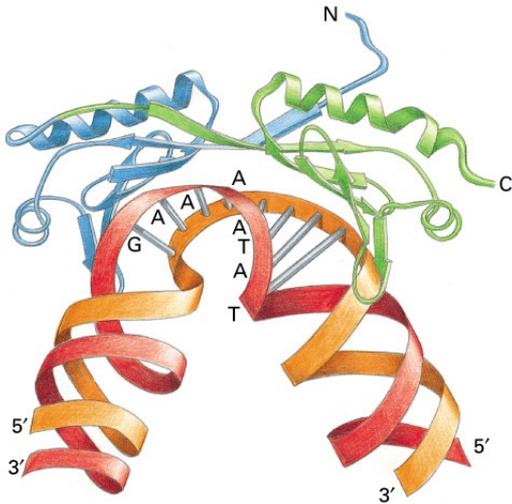
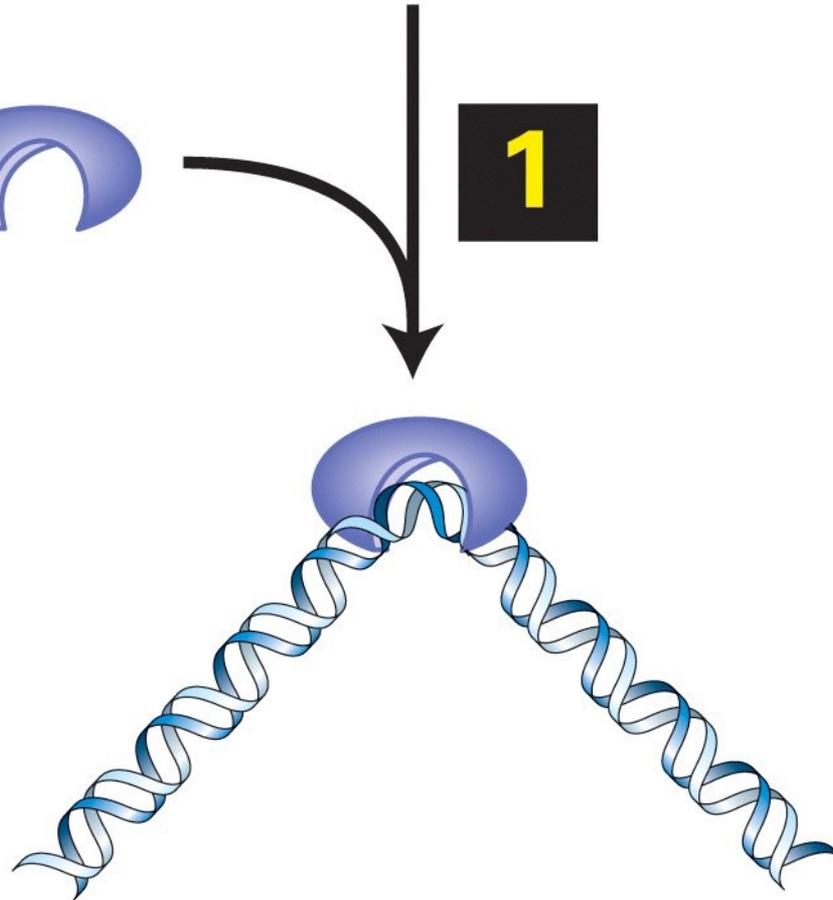
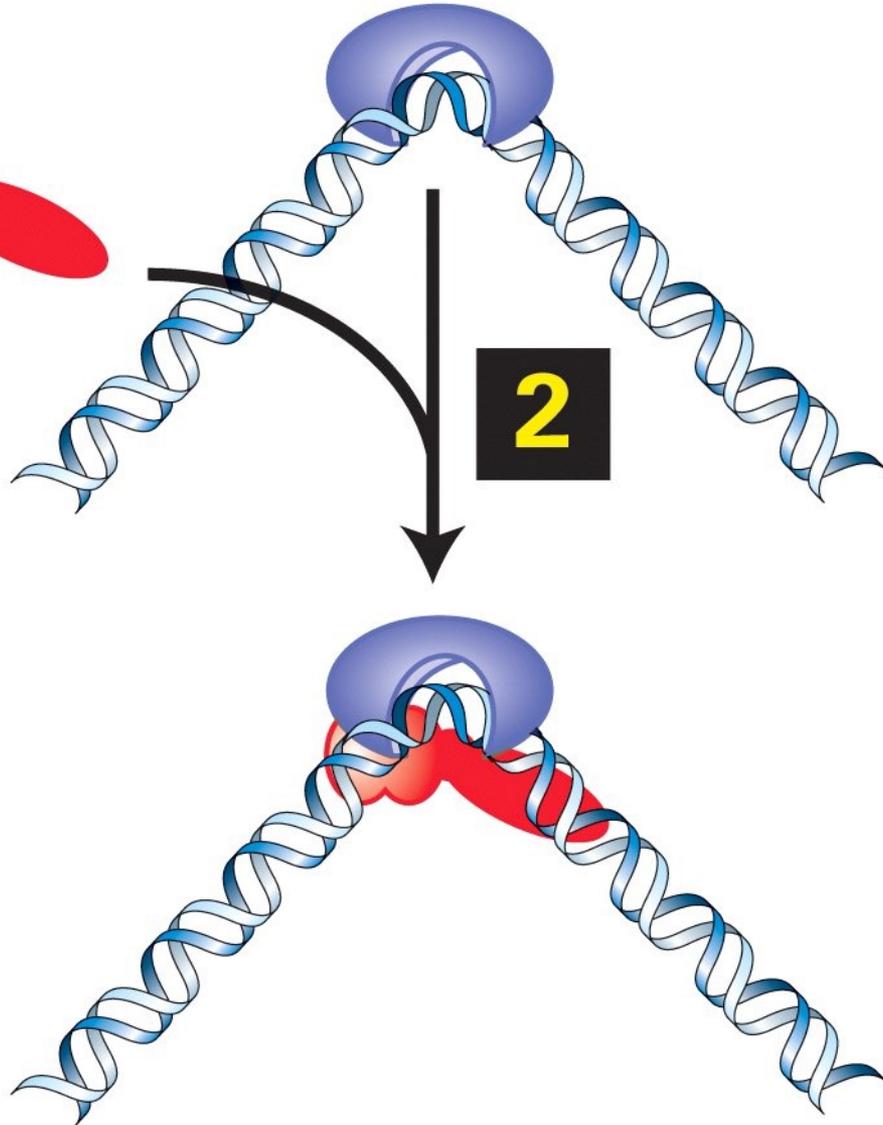
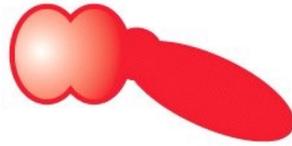
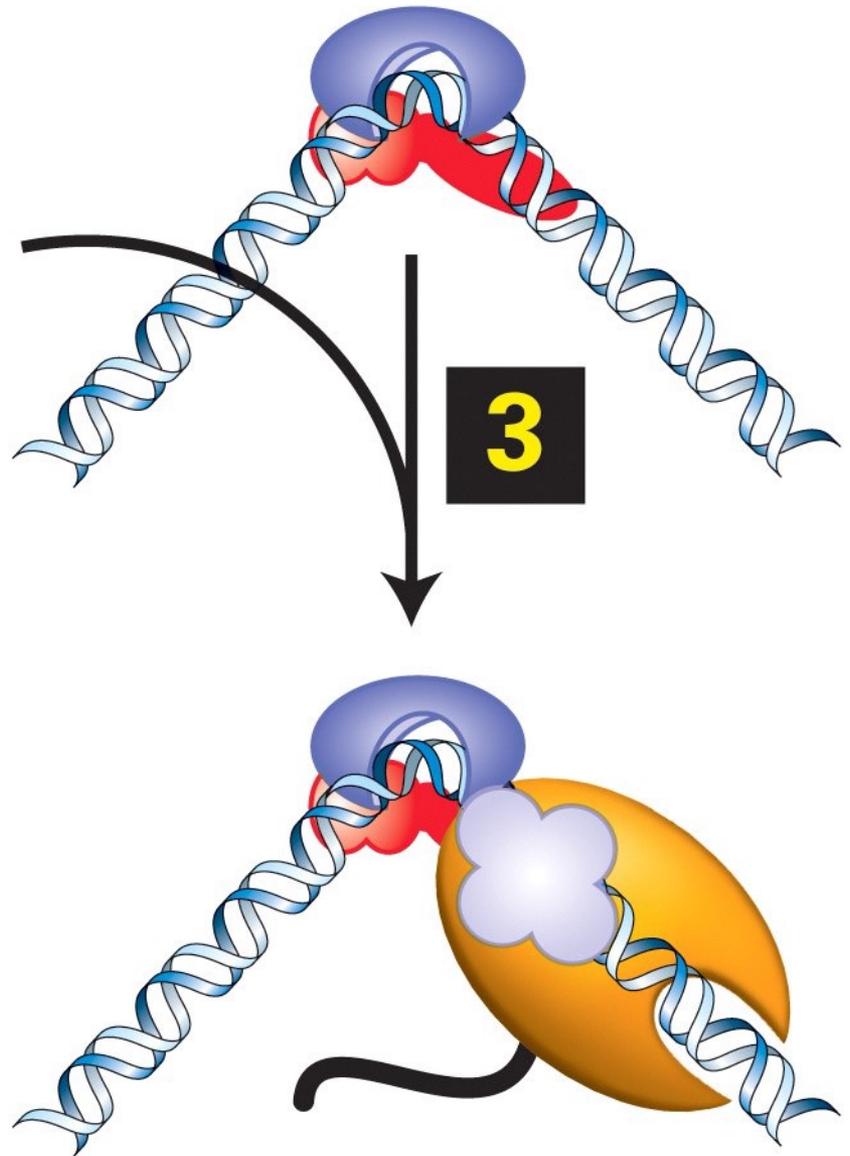
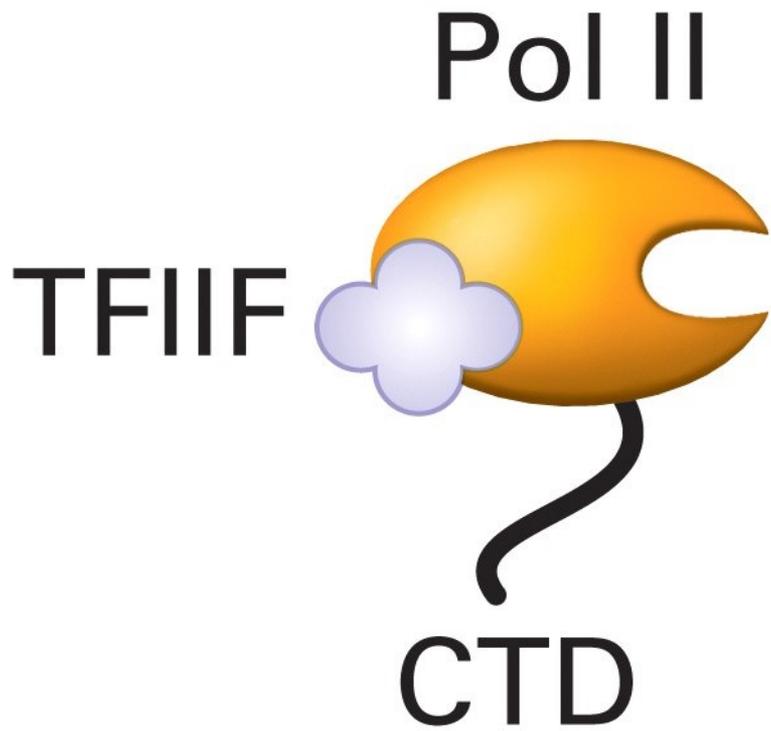
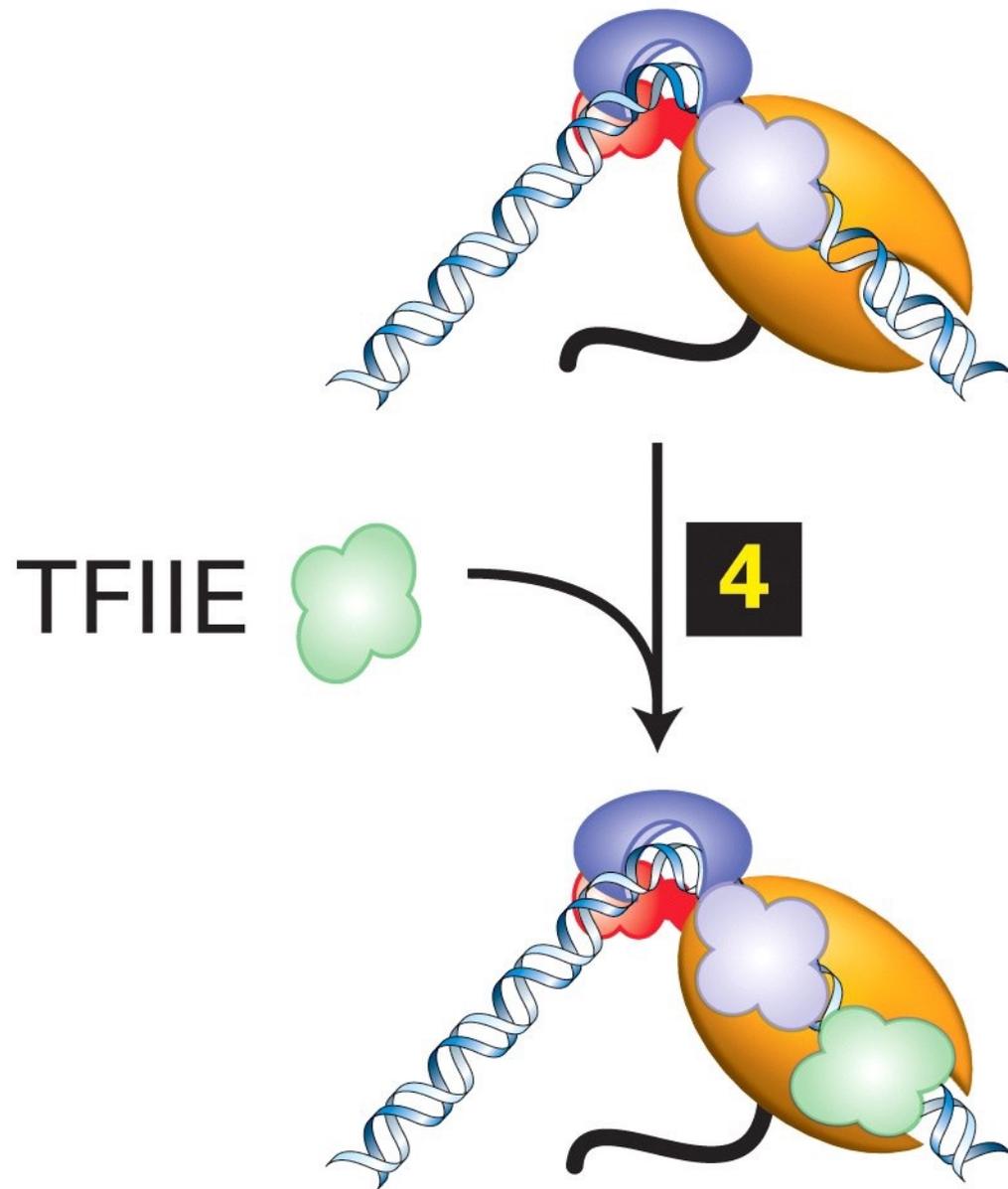


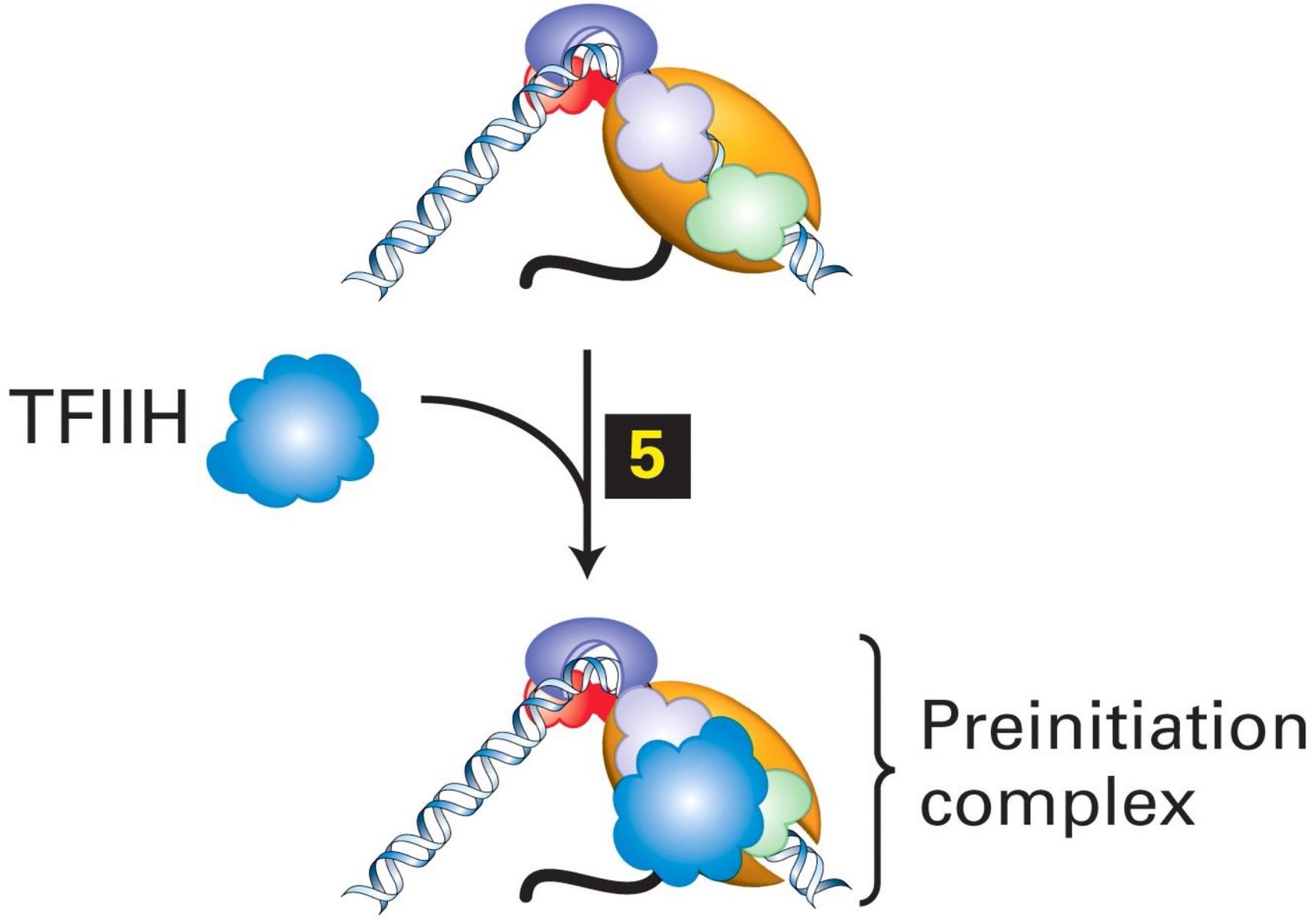
Figure 6-18. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

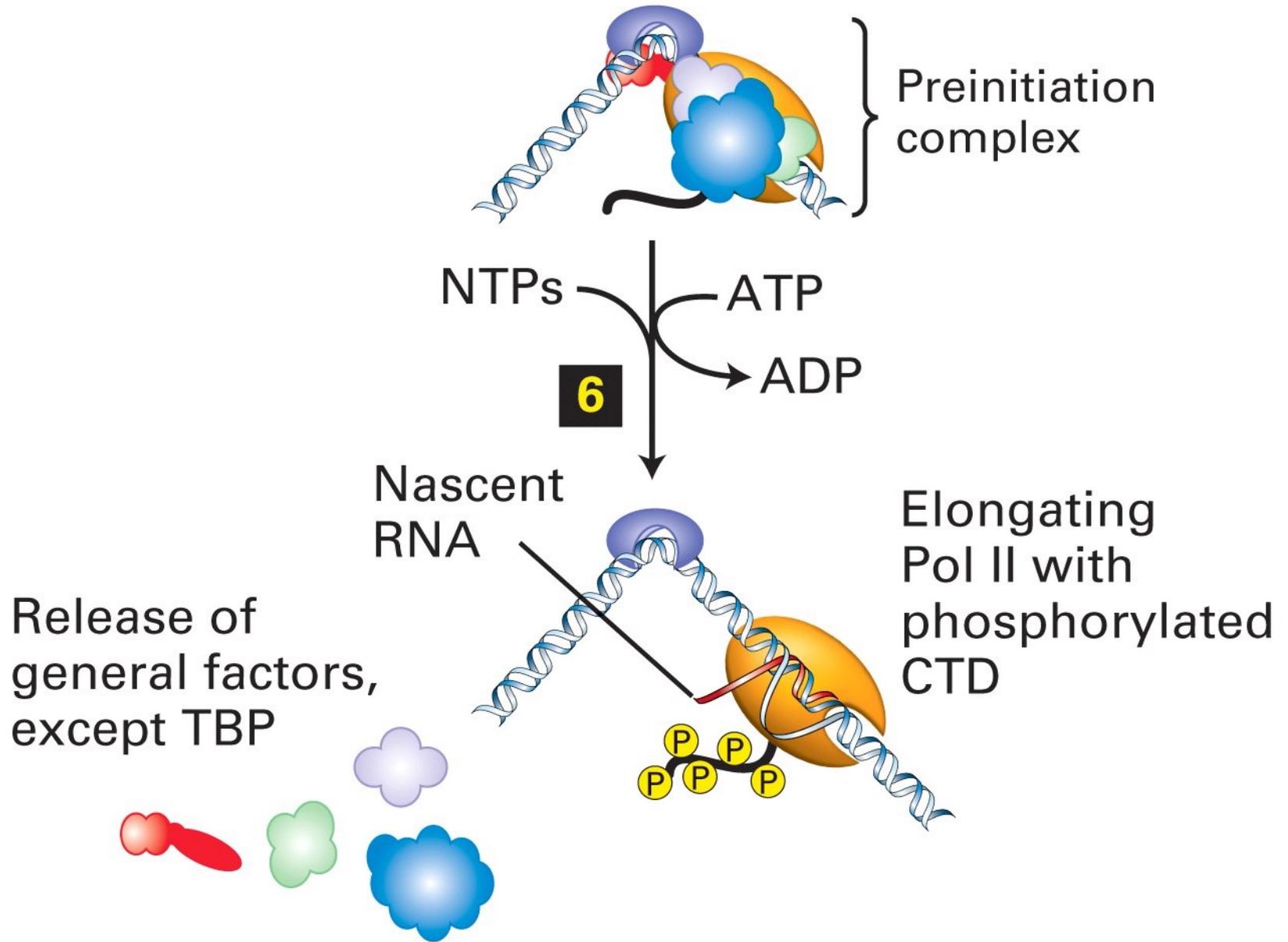
TFIIB













**FIGURA 10.11** Modello mediante il quale la proteina che lega la TATA box causa il piegamento del DNA che permette alla regione del promotore di trovarsi al di sopra dell'RNA polimerasi. [Cortesia di Stephen Burley].



**FIGURA 10.12** Pol II in azione. Il filamento stampo è mostrato in blu e il trascritto di RNA in rosso. Lo ione magnesio nel sito attivo è indicato dalla sfera rosa. Parte del filamento non trascritto è mostrata in verde, accoppiato con il filamento stampo. La bolla di trascrizione è mantenuta in sede da un dominio mobile della Pol II (in arancio, forcina) e le due subunità maggiori della Pol II sono tenute insieme da un ponte ad elica tra di esse (elica verde). Le altre catene polipeptidiche della Pol II sono mostrate in bianco. [Cortesia di David A. Bushnell e Roger Kornberg, Stanford University Medical School].

# Model of RNA PolII Preinitiation Complex

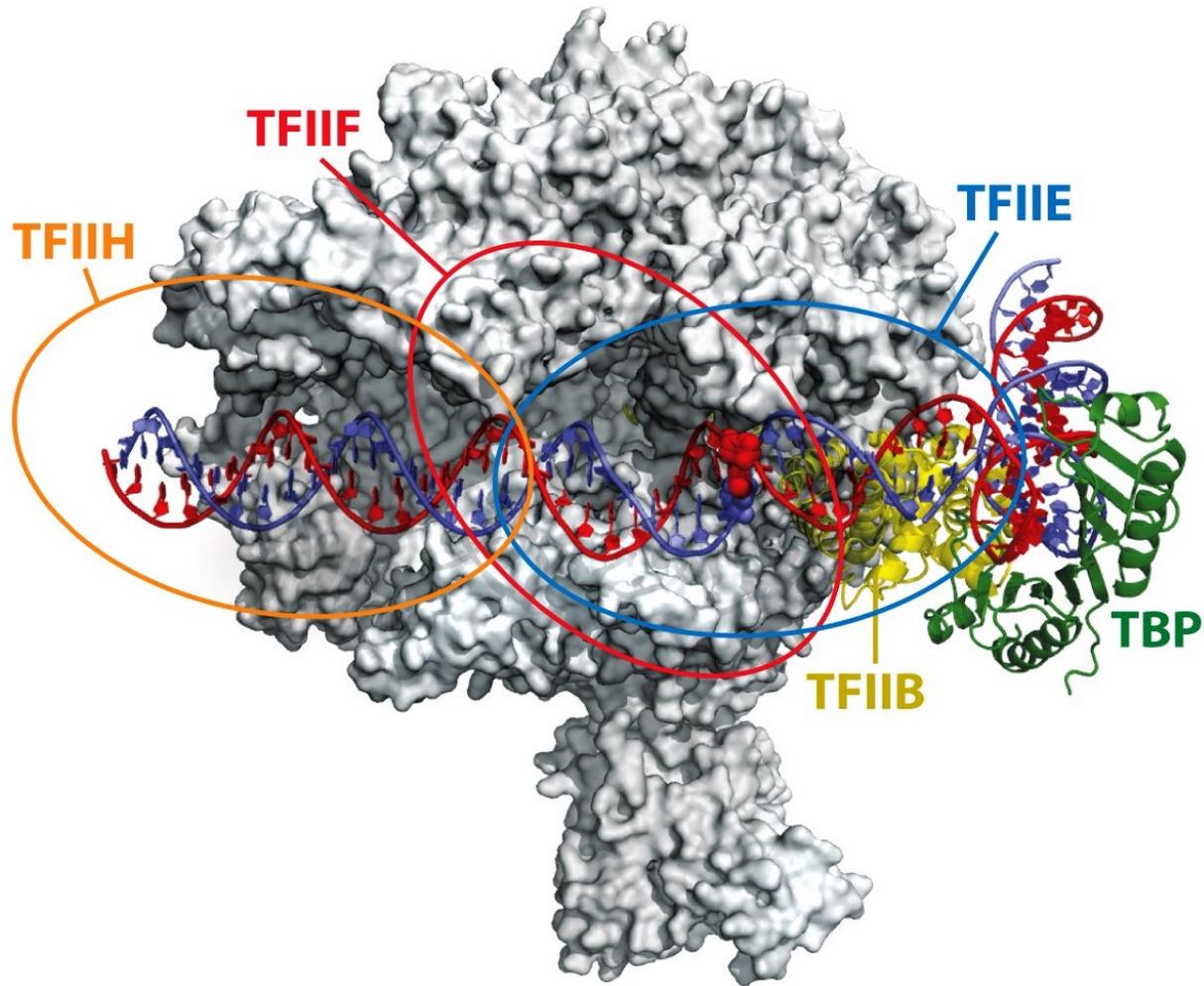
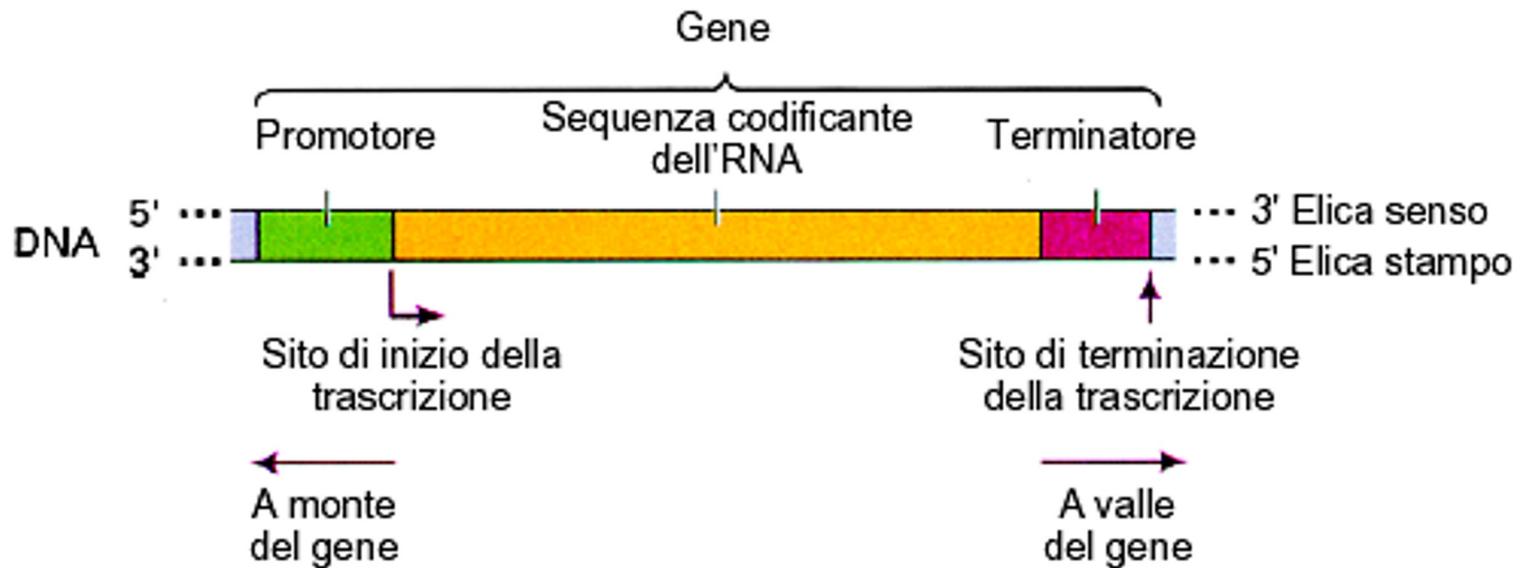
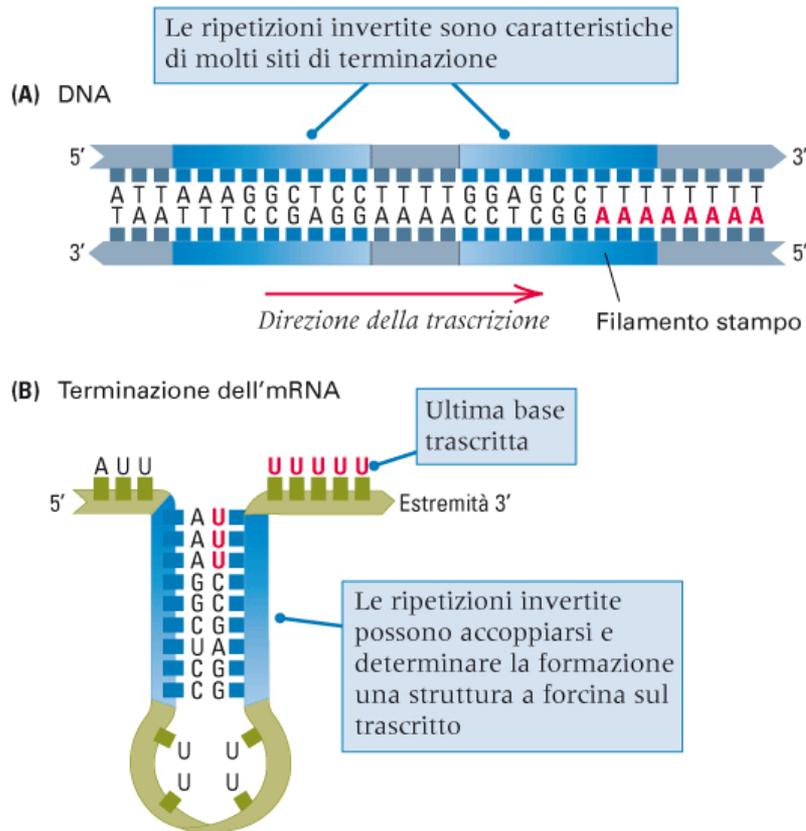


Figure 7-32  
*Molecular Cell Biology, Sixth Edition*  
© 2008 W.H. Freeman and Company

# Trascrizione dei geni strutturali nei procarioti





**FIGURA 10.13** (A) Sequenza nucleotidica della regione di terminazione della trascrizione dei geni codificanti per il triptofano in *E. coli*. (B) L'estremità 3' del trascritto si ripiega a formare una struttura a steli e anse (stem e loop). La sequenza di U all'estremità del trascritto, ritrovata in questo e molti altri geni procariotici, è mostrata in rosso. L'RNA polimerasi, non mostrata, termina la trascrizione quando si forma l'ansa nel trascritto.

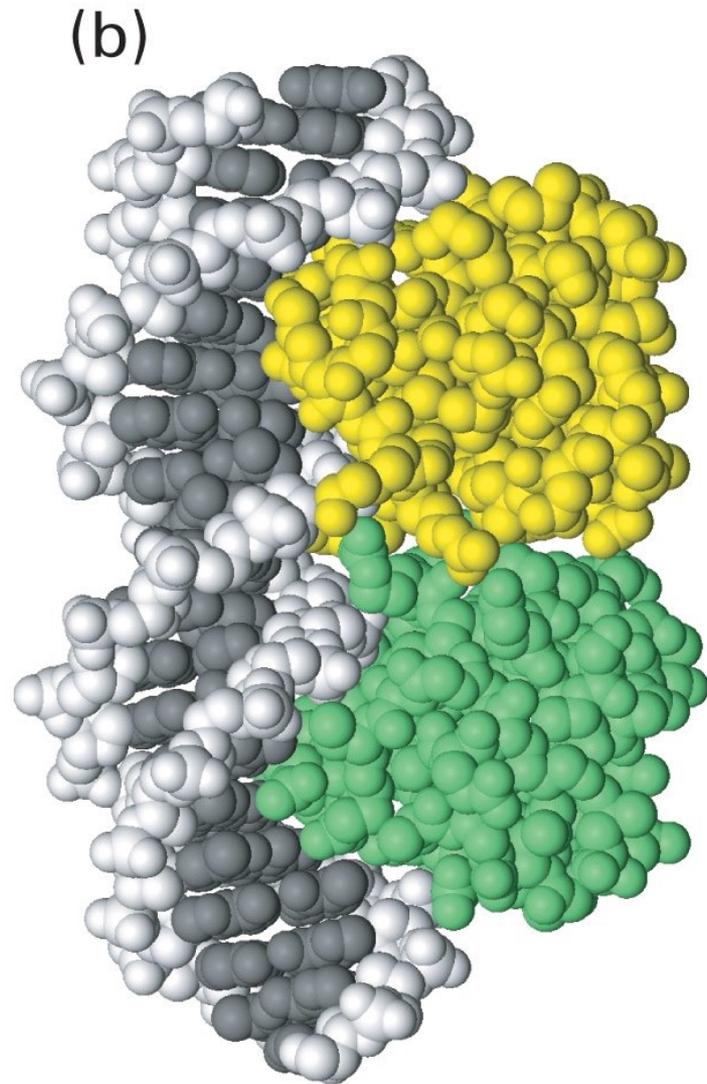
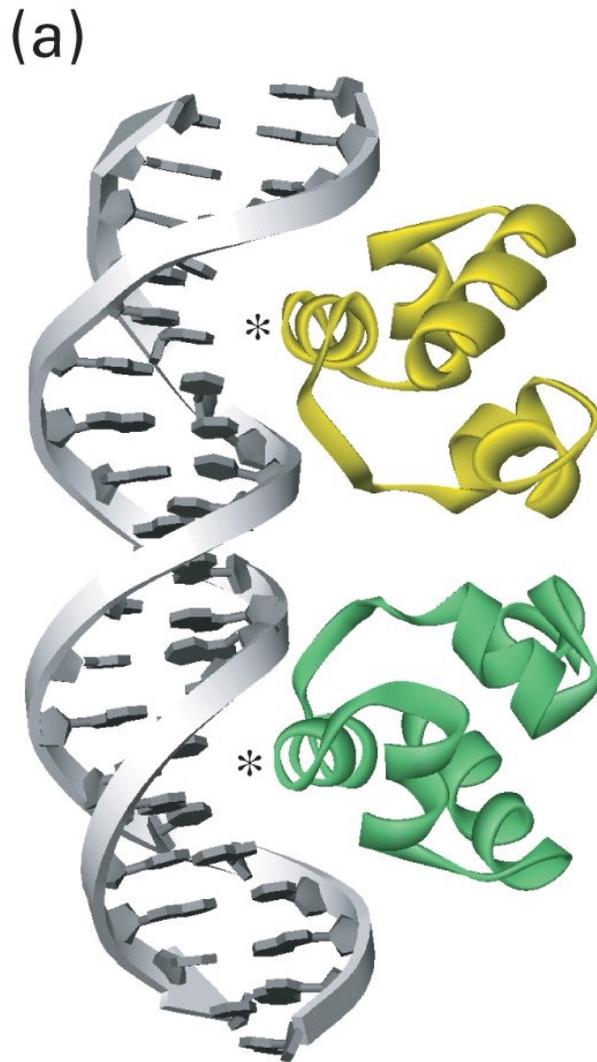
La determinazione della terminazione della trascrizione può avvenire in diversi modi. Per la presenza di sequenze segnale o formazioni di forcine nella sequenza del trascritto nei Procarioti. Negli Eucarioti la terminazione è più complessa e richiede l'intervento di proteine specializzate nella regione del terminatore.

# TRASCRIZIONE DEI GENI STRUTTURALI NEGLI EUCARIOTI

Due tipi di elementi regolatori:

- **PROMOTORE.** Sequenza adiacente al sito d'inizio della trascrizione. Non viene riconosciuto direttamente dalla RNA Polimerasi II, ma da proteine chiamate **FATTORI TRASCRIZIONALI**
- **ENHANCER.** Elemento che intensifica la trascrizione di un gene. E' una sequenza che si trova nella regione del gene, a monte o a valle, anche a distanza considerevole e puo' funzionare in entrambi gli orientamenti. Anch'esso funziona per interazione con fattori proteici di regolazione

Il prodotto della trascrizione e' il trascritto primario (pre-mRNA) che viene poi processato a dare una molecola matura di mRNA

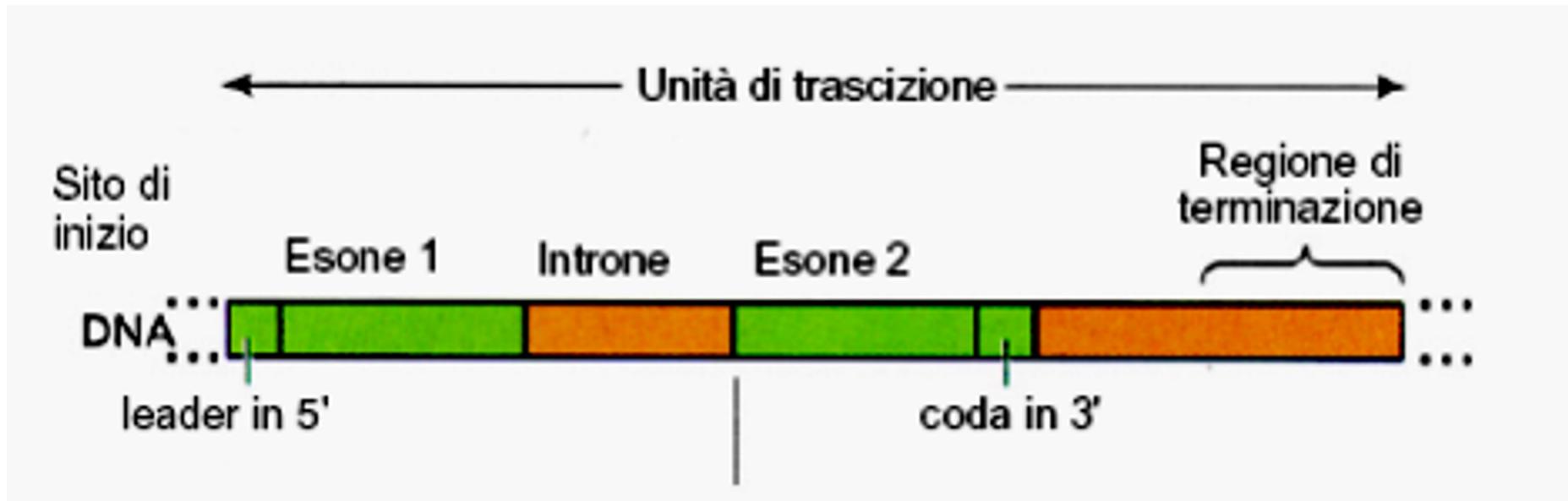


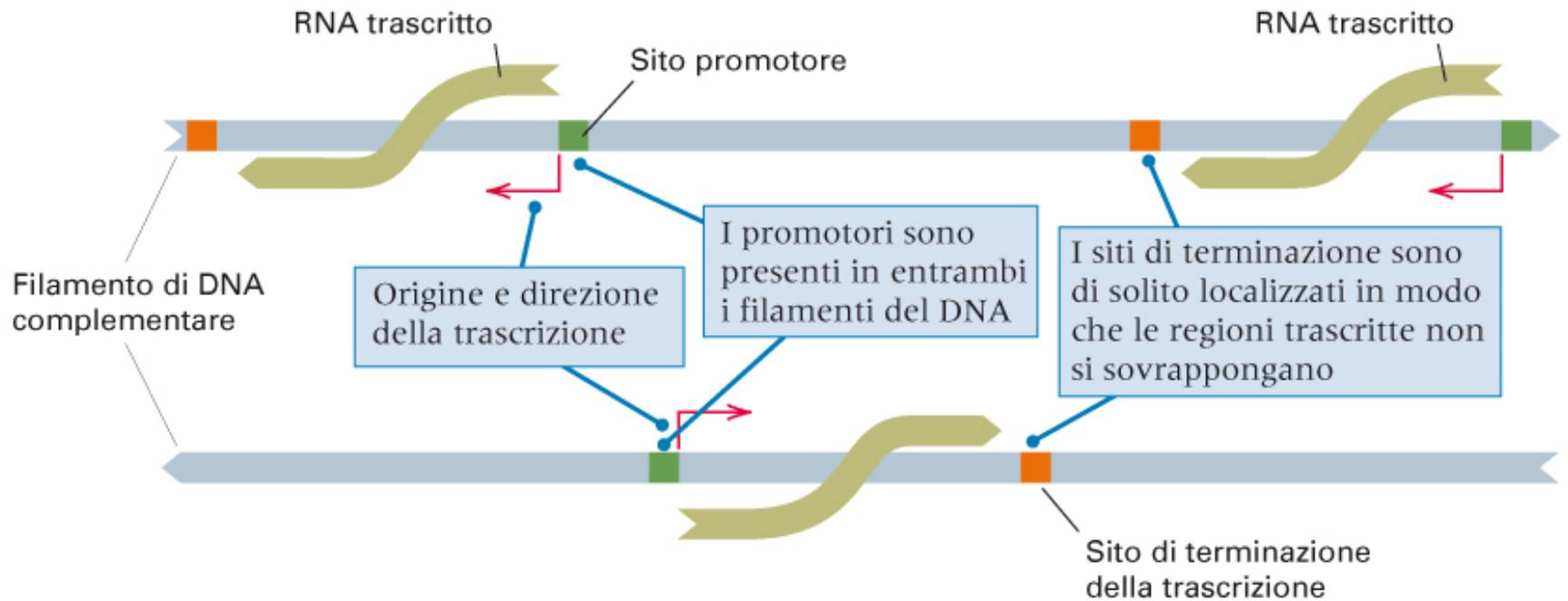
**Le proteine che legano il DNA si posizionano in corrispondenza del solco maggiore della doppia elica**



**FIGURA 10.14** Fotografia al microscopio elettronico di parte del DNA del tritone *Triturus viridescens*, contenente ripetizioni in tandem dei geni che stanno trascrivendo per RNA ribosomali. I filamenti più spessi, che formano strutture simili a delle piume, sono molecole di RNA. Un gradiente di lunghezze può essere osservato per ogni gene per l'rRNA. Le regioni del DNA tra i filamenti spessi sono sequenze di DNA spaziatore che non vengono trascritte. [Cortesia di Oscar Miller].

# Struttura del gene eucariota

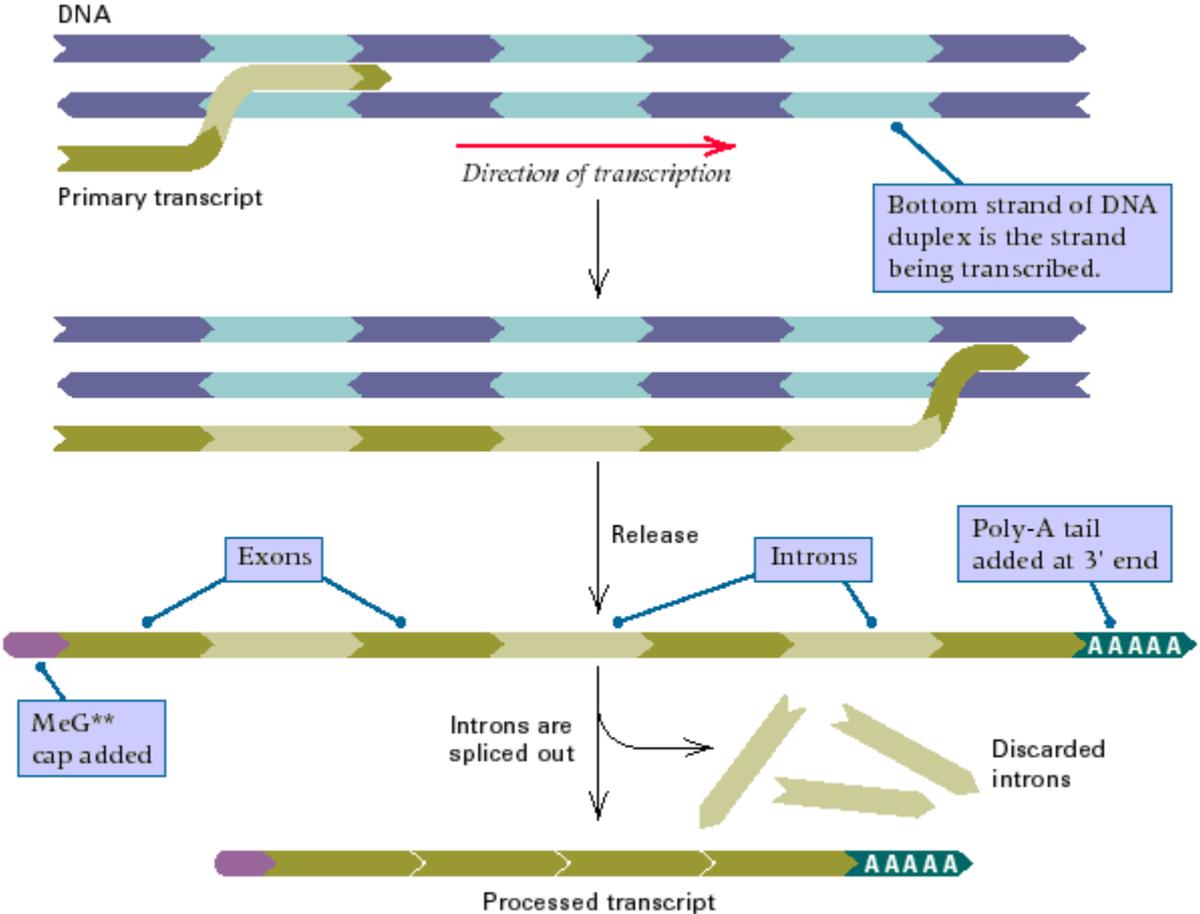




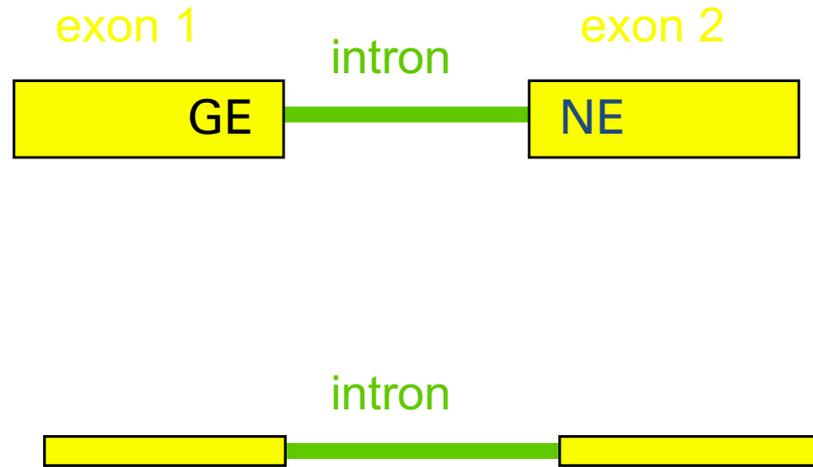
**FIGURA 10.15** Una tipica organizzazione di sequenze: il promotore (verde) e il terminatore (arancio) in un segmento di una molecola di DNA.

I trascritti primari degli Eucarioti sono soggetti a maturazione

# Maturazione di un trascritto primario

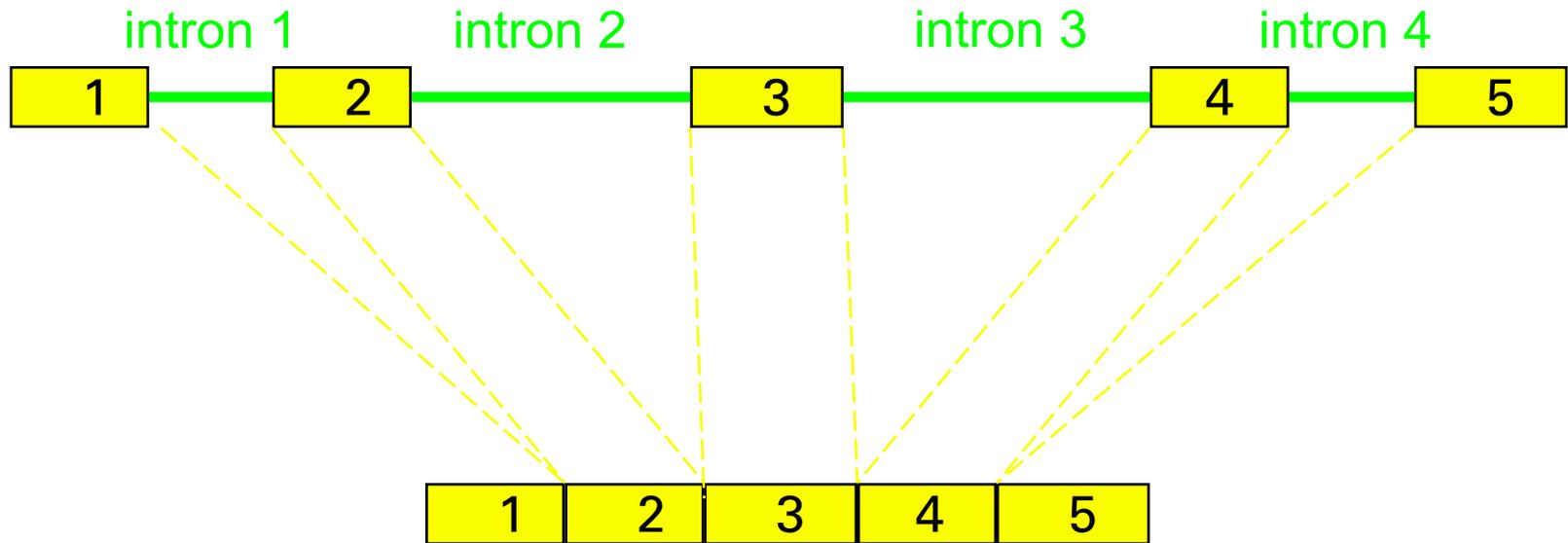


La maggior parte dei geni eucariotici codificanti per proteine è costituita da sequenze codificanti chiamate esoni intervallate da sequenze non codificanti definite introni.

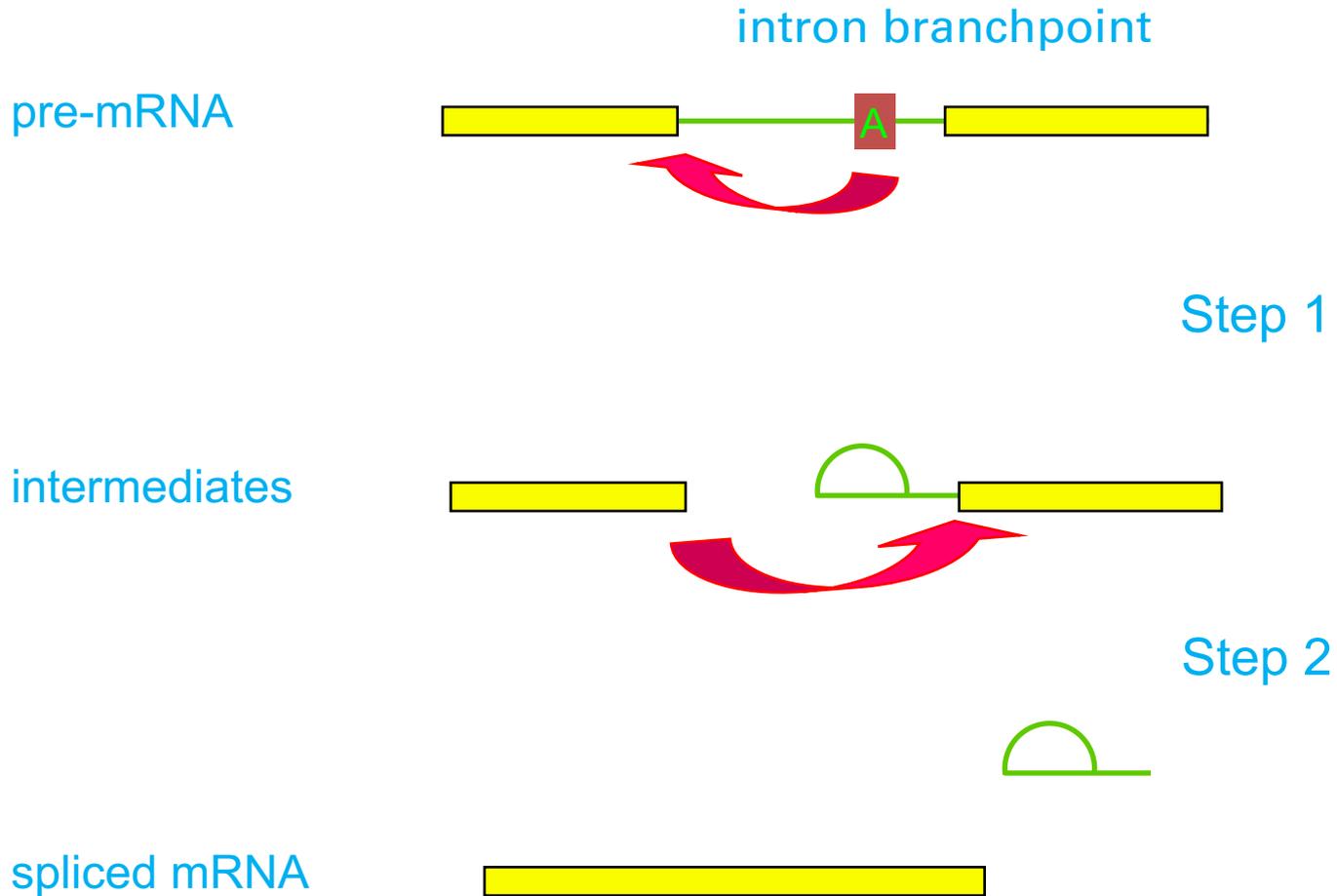


Gli introni sono presenti anche nella sequenza del trascritto primario e debbono essere rimossi

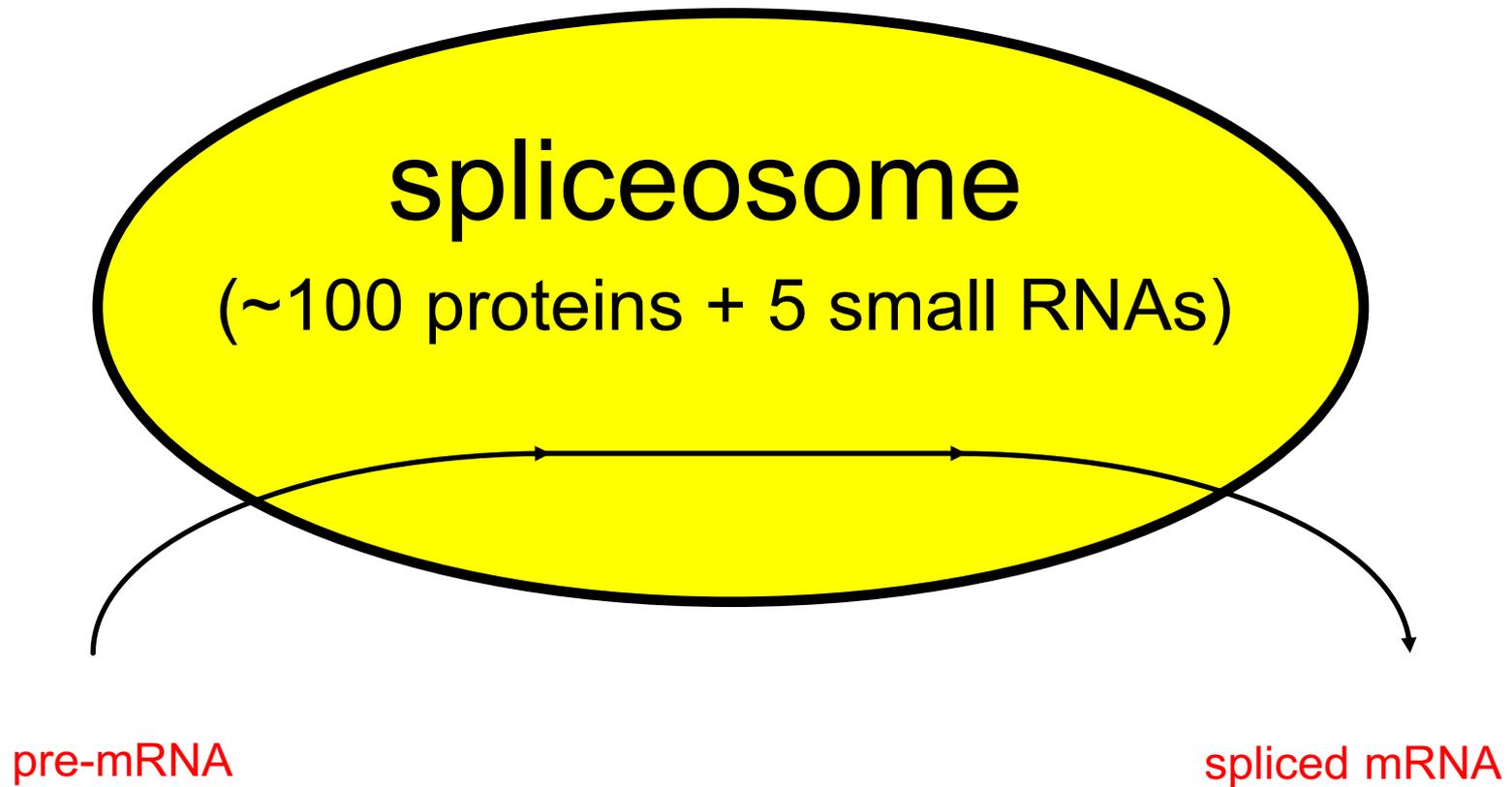
# Molti geni contengono più introni



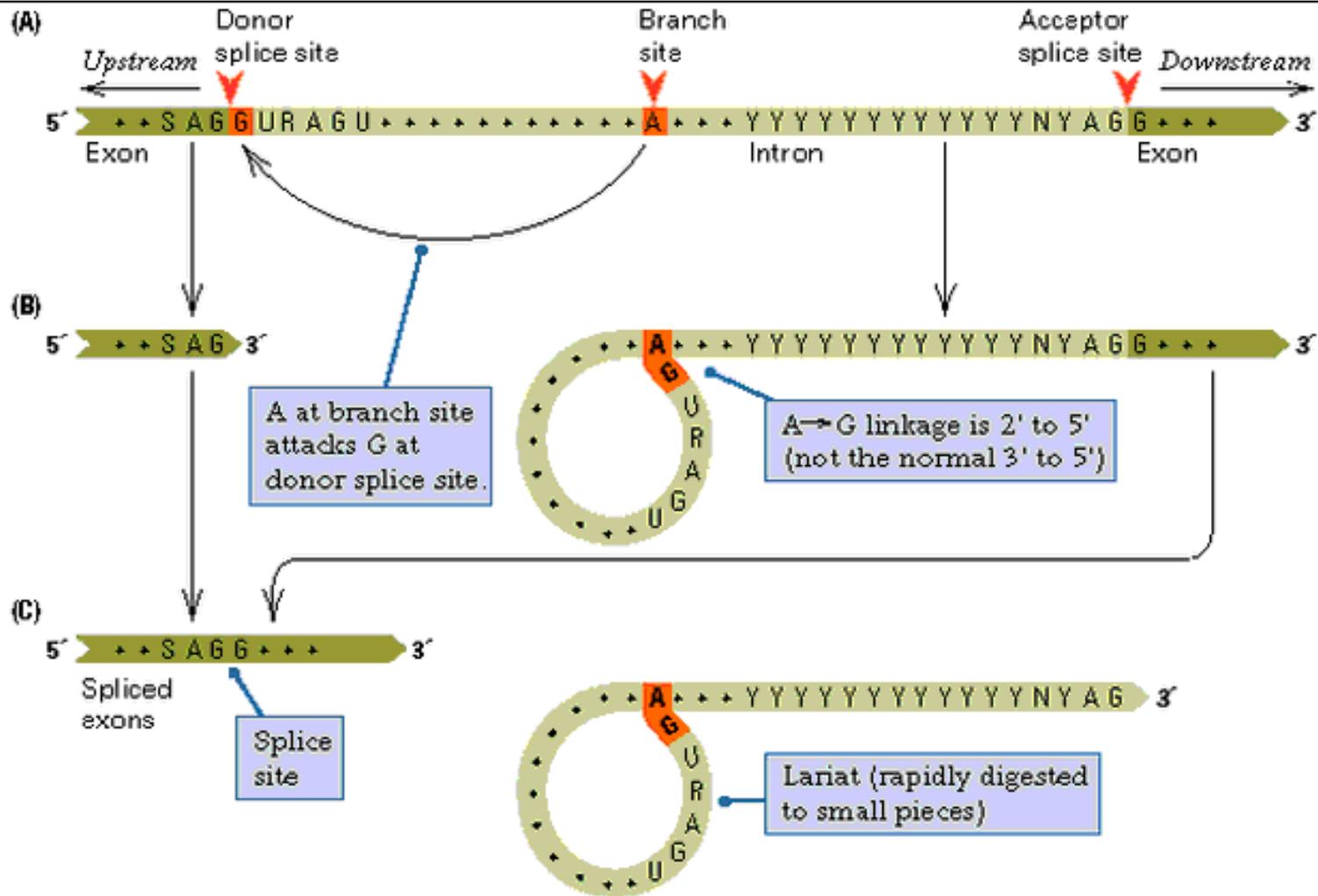
# IL processo di rimozione degli introni dal trascritto è detto Splicing



Lo Splicing ha luogo in strutture nucleari dette "spliceosomi" costituite da proteine e RNA

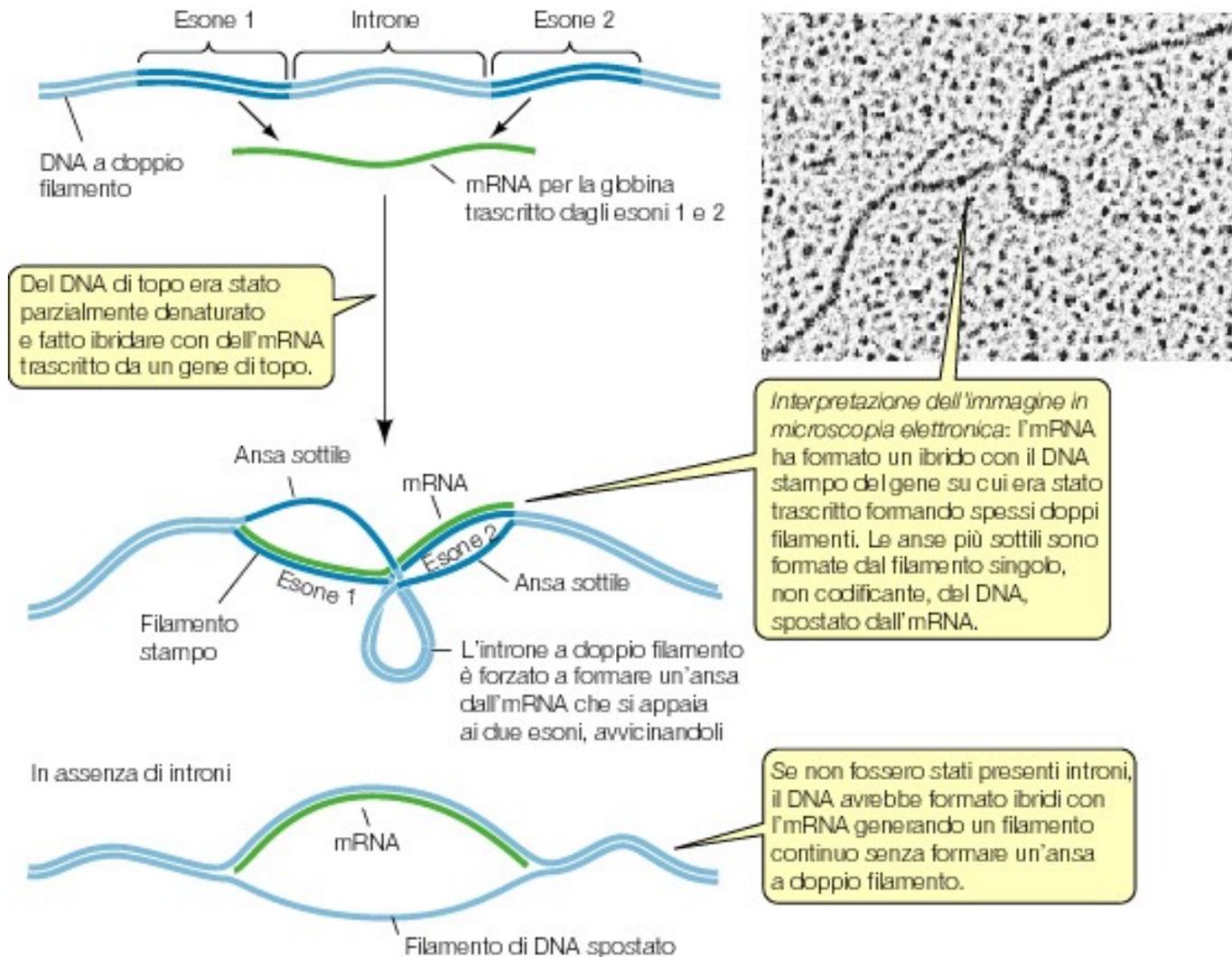


# Splicing



# MATURAZIONE DELL'RNA

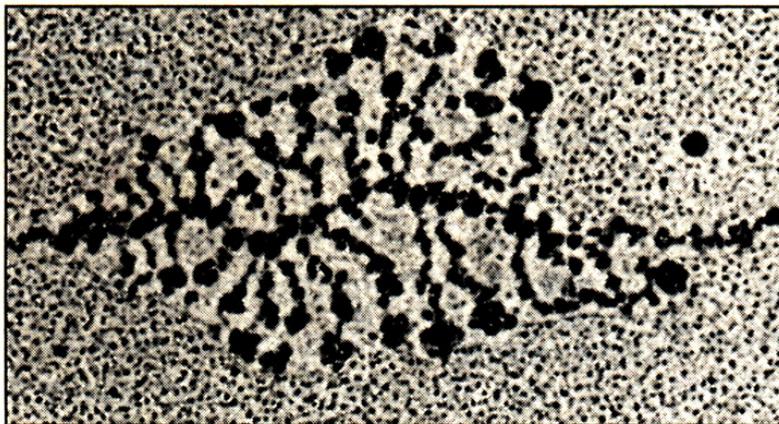
## Identificazione di DNA intronico tra regioni esoniche



# MATURAZIONE DELL'RNA

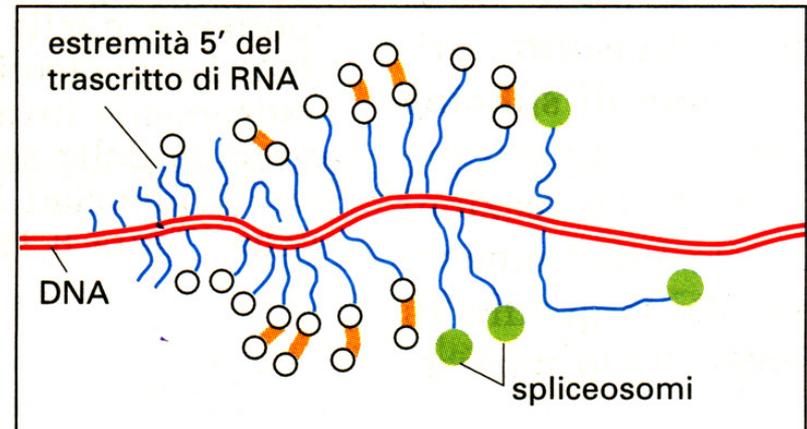
## SPLICING

- Processo di **rimozione degli introni** dal trascritto
  - Avviene grazie a grossi complessi che lo catalizzano detti **SPLICEOSOMI**
  - Gli spliceosomi sono formati da snRNP, particelle ribonucleoproteiche formate dall'associazione fra particolari RNA e specifiche proteine
- snRNA**: classe particolare di RNA, lunghi circa 200 nt; cinque di essi sono coinvolti nello splicing: U1, U2, U4, U5, U6.



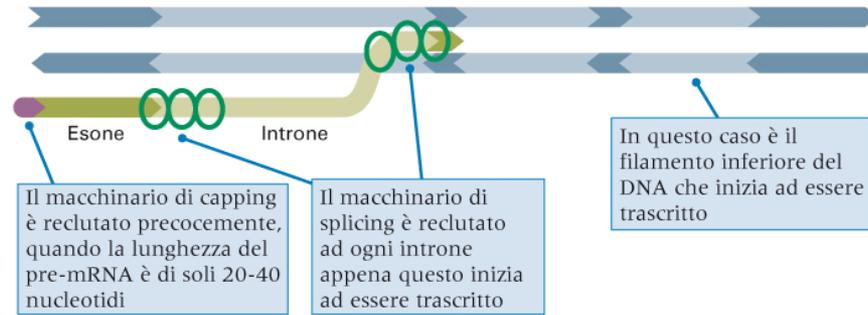
(A)

200 nm

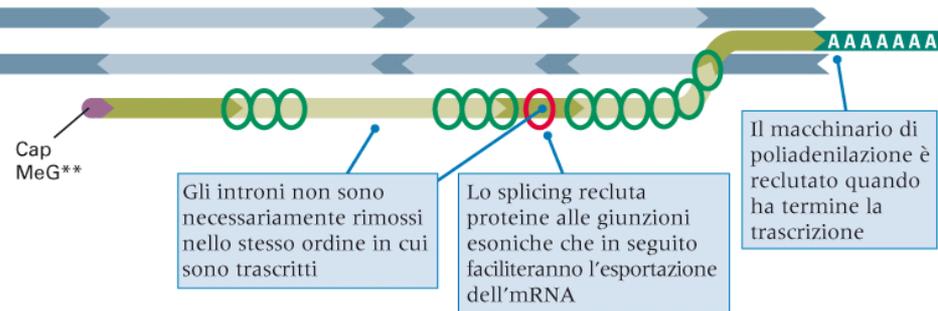


(B) 5'  3' DNA  
esone introne esone

### (A) Inizio della trascrizione e allungamento



### (B) Terminazione

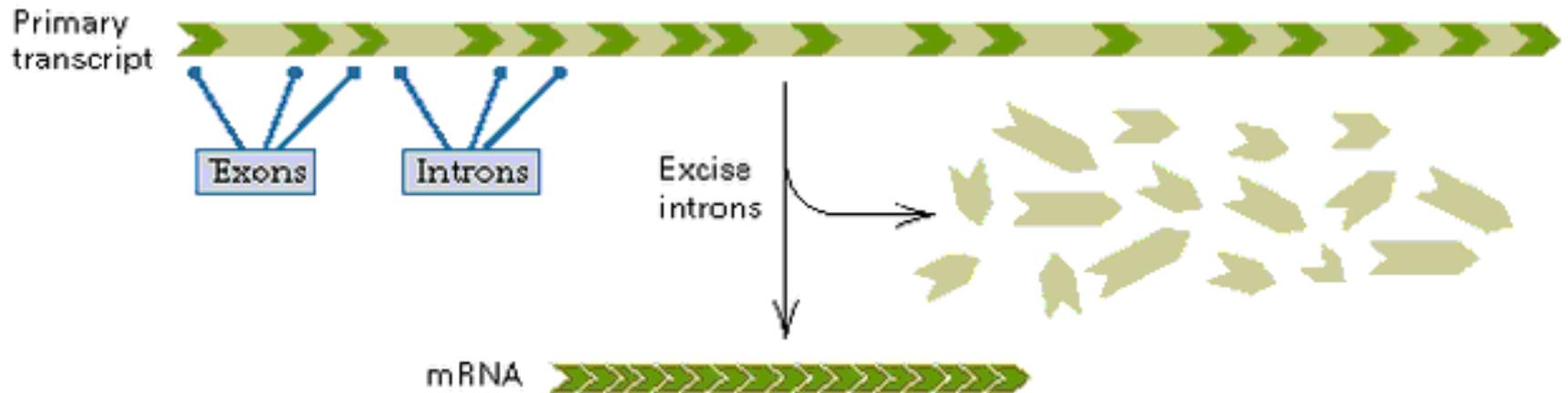


### (C) Rilascio ed esportazione

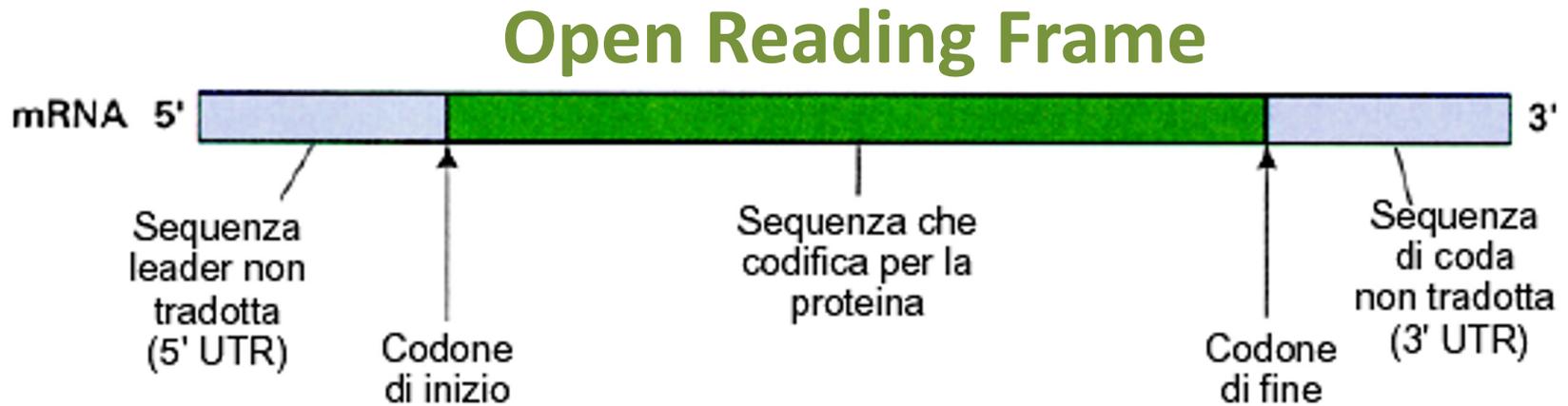


**FIGURA 10.16** Negli eucarioti, la trascrizione e la maturazione dell'RNA sono accoppiati. Ciascun passaggio determina il passaggio al successivo. MeG sta per 7-metilguanosina (una forma modificata di guanosina), e i due asterischi indicano due nucleotidi i cui ribosomi sono metilati.

# Il trascritto maturo negli Eucarioti



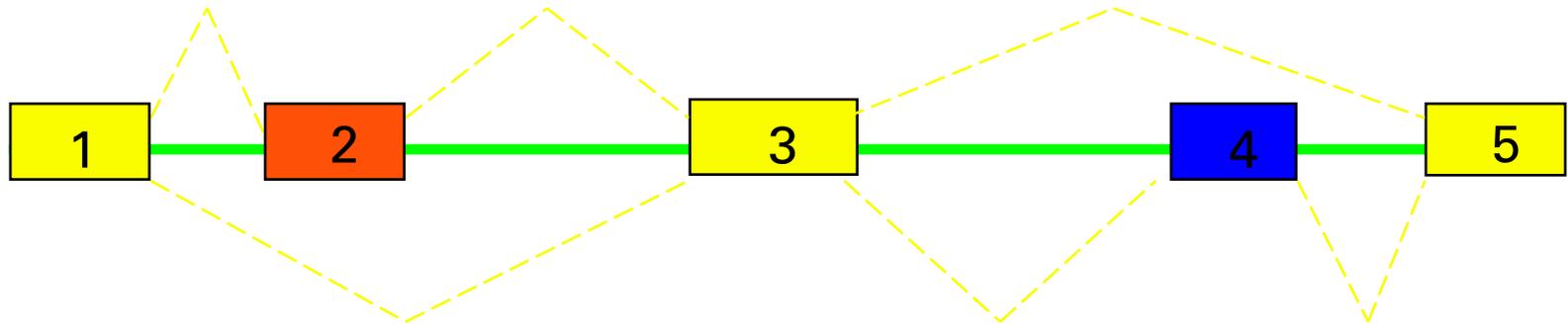
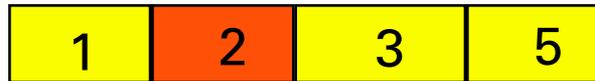
# Struttura dell'mRNA maturo



UTR = untranslated region = regione non tradotta  
prodotto dalla trascrizione di un gene=trascritto primario

# Gli introni multipli in un gene possono essere combinati in maniera diversa in diversi tessuti di un organismo o in diversi stadi di sviluppo

Foglia



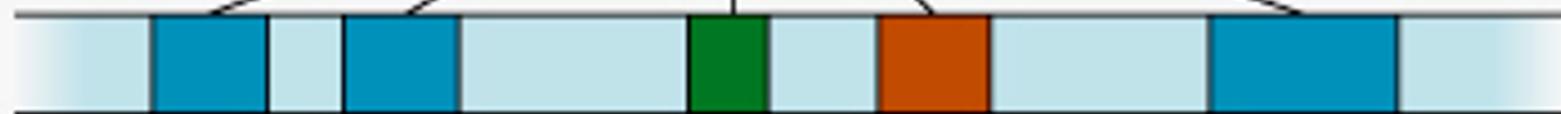
Frutto



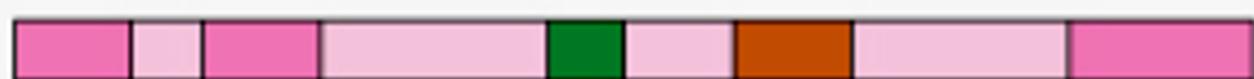
Quindi un gene può codificare per più di un trascritto maturo e quindi per più di una proteina .

Esoni

DNA



Trascritto di RNA



Splicing dell'RNA

o

mRNA



**Tabella 10.2** Caratteristiche dei trascritti umani

<b>Caratteristica genica</b>	<b>Mediana</b>	<b>Media</b>
Grandezza di esoni interni	122 bp	145 bp
Numero di esoni	7	8.8
Grandezza degli introni	1023 bp	3356 bp
Regione 5' non tradotta	240 bp	300 bp
Regione 3' non tradotta	400 bp	770 bp
Lunghezza della sequenza codificante	1101 bp	1341 bp
Numero di amminoacidi (aa)	367	447
Estensione del genoma occupato	14 kb	27 kb

Fonte: Dati da International Human Genome Sequencing Consortium, *Nature* 409 (2001): 860-921.



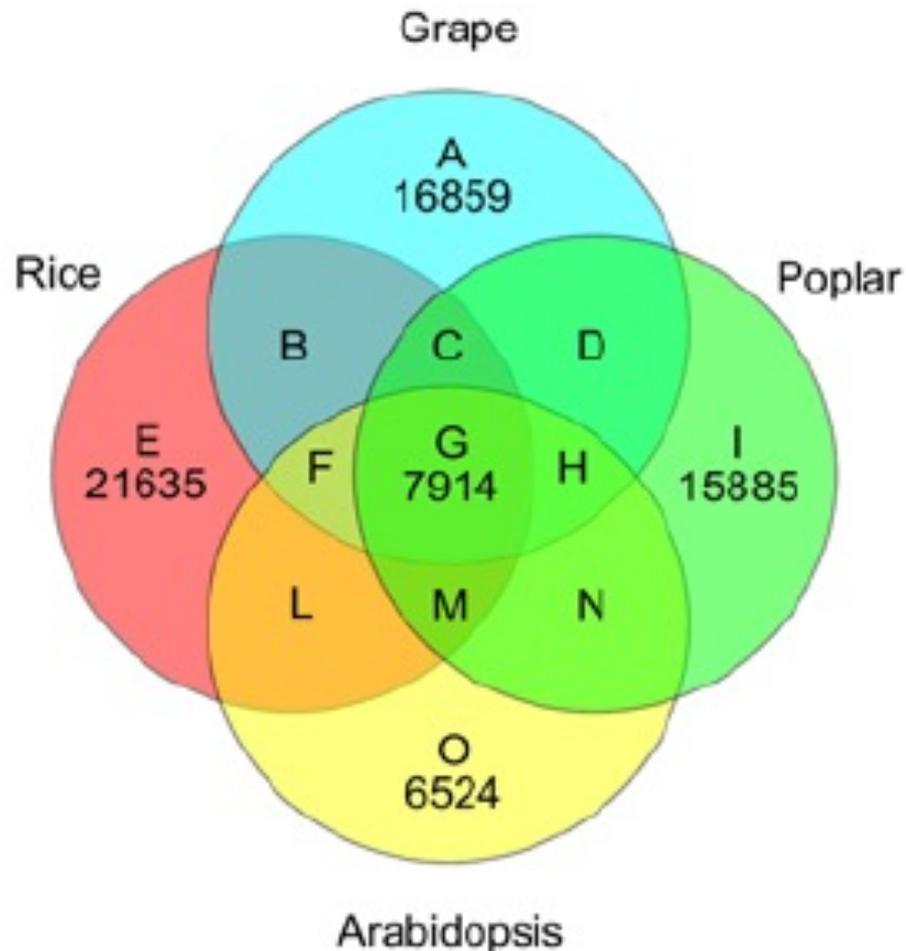
# Consorzio Italo – Francese

## Nature 2007

	Number	Median size (bp)	Total length (Mb)	Percentage of the genome	%GC
Gene	30,434	3,399	225.6	46.3	36.2
Exons CDS	149,351	130	33.6	6.9	44.5
Introns CDS	118,917	213	178.6	36.7	34.7
Intergenic	30,453	3,544	261.5	34.7	33.0
tRNA*	600	73	0.04	NS	43.0
miRNA†	164	103.5	0.002	NS	35.9

### (c) Orthology

	Number of orthologous proteins	Mean identity (%)
<i>P. trichocarpa</i>	12,996	72.7
<i>A. thaliana</i>	11,404	65.5
<i>O. sativa</i>	9,731	59.8
Common to eudicotyledons‡	10,547	
Common to Magnoliophyta§	8,121	



Total genes:

Grape	= 29585
Rice	= 41046
Poplar	= 45555
Arabidopsis	= 26819

Grape genes in common with:

Rice - Poplar - Arabidopsis	G	= 7914
Rice	B+F+C+G	= 9106
Poplar	C+G+D+H	= 11948
Arabidopsis	F+G+H	= 9555

Unique species specific genes

Grape	= 16859
Rice	= 21635
Poplar	= 15885
Arabidopsis	= 6524

S. Michele clone di Pinot nero ENTAV