

Lezione 7

I Geni

- Il concetto di gene e l'anatomia del gene procariotico ed eucariotico.
- Geni policistronici e monocistronici.
- Promotori ed elementi regolativi in *cis*.

Cenni sulla Trascrizione nei Procarioti

- Il Modello dell'Operone Lac

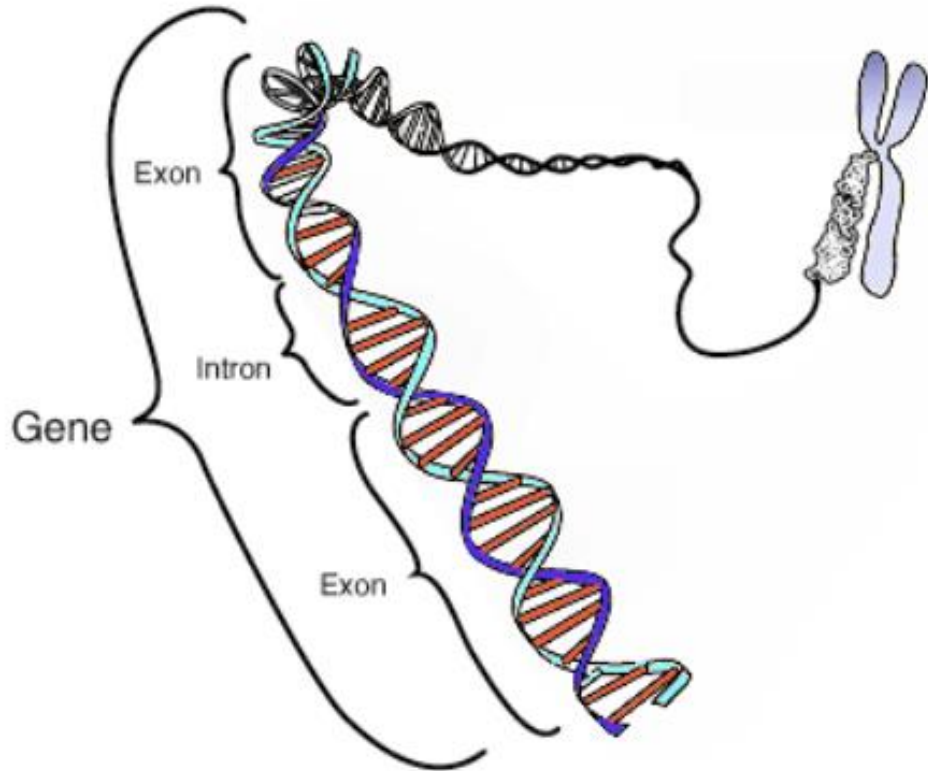
La Trascrizione negli Eucarioti

- Le tre RNA polimerasi (I, II, III).
- I fattori di trascrizione generali.
- La TATA box.
- Promotori prossimali e distali (enhancer e silencer).

I Fattori di Trascrizione Specifici

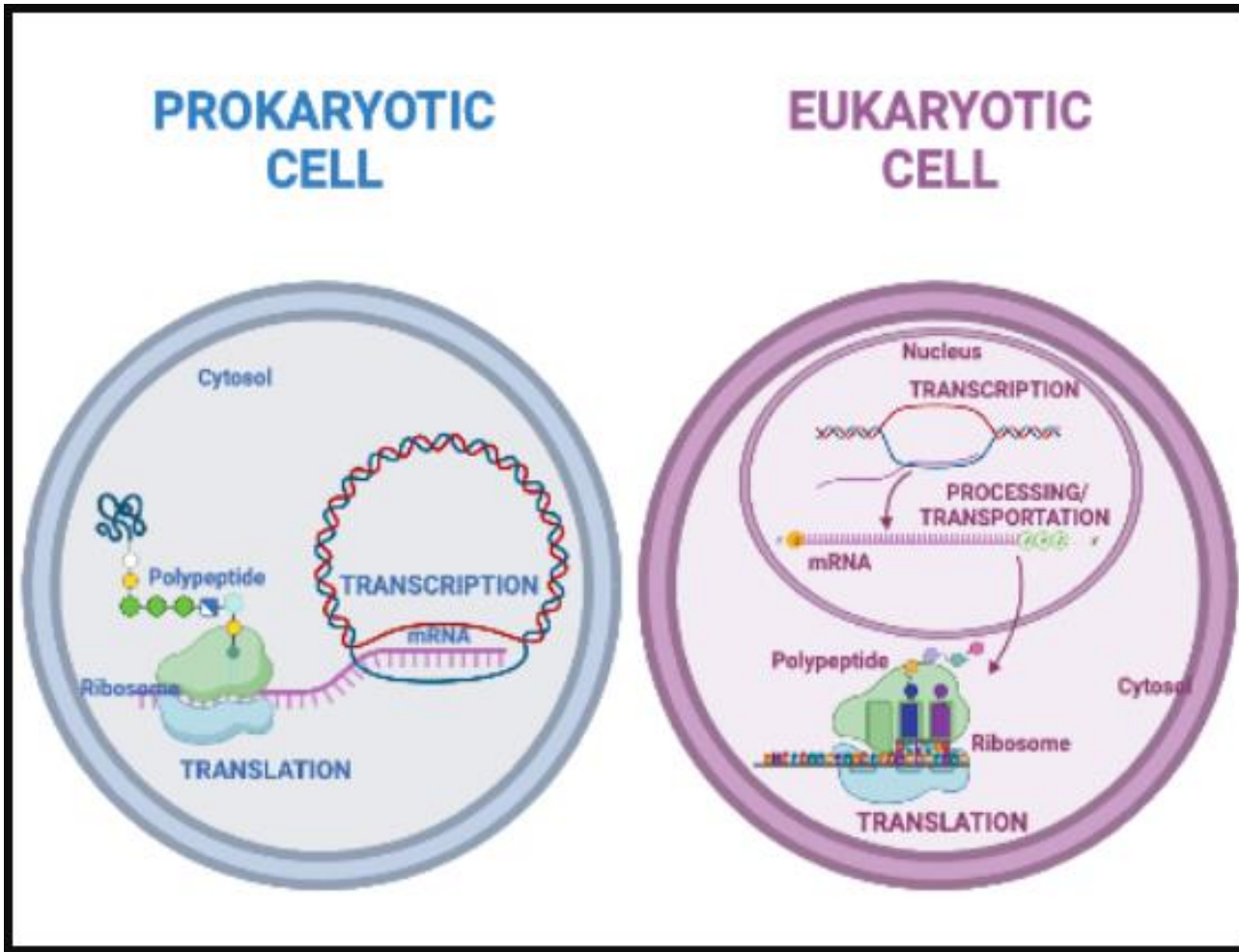
- l'esempio dei recettori degli ormoni steroidei.
- Inizio, elongazione e **terminazione della trascrizione negli eucarioti (Lezione 8)**.

Definizione di Gene: Evoluzione del Concetto



- **Definizione classica (Mendeliana):** unità ereditaria che controlla un carattere fenotipico e si trasmette da una generazione all'altra.
- **Definizione moderna (molecolare):** unità funzionale di DNA che produce elementi necessari alla cellula:
 - **Proteine** (catene polipeptidiche)
 - **RNA funzionali non codificanti** (tRNA, rRNA, RNA interferenti)
- **Struttura funzionale di un gene:**
 - Sequenze regolatorie
 - Sito di inizio trascrizione
 - Sequenza trascritta
 - Segnale di terminazione trascrizione
- I geni occupano **posizioni specifiche** sui cromosomi (**loci**) ed **esistono in diverse forme (alleli)**.
- L'attività genica è modulata da **elementi regolatori** che ne **controllano l'accensione/spegnimento e l'intensità**.

Differenze principali tra geni eucarioti e procarioti



Eucarioti:

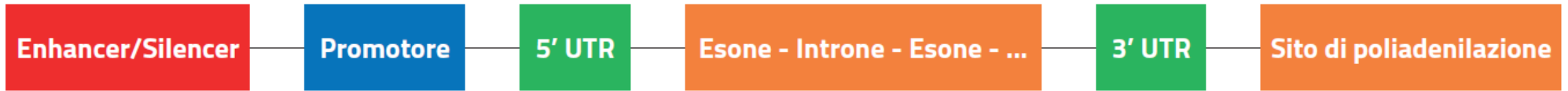
- **Trascritti monocistronici** (un gene → un trascritto).
- Trascrizione nel nucleo, traduzione nel citoplasma.
- **L'mRNA subisce modifiche post-trascrizionali** (capping, splicing, poliadenilazione).

Procarioti:

- **Trascritti policistronici** (più geni trascritti insieme → un unico mRNA).
- **Trascrizione e traduzione simultanee**, senza modifiche post-trascrizionali.

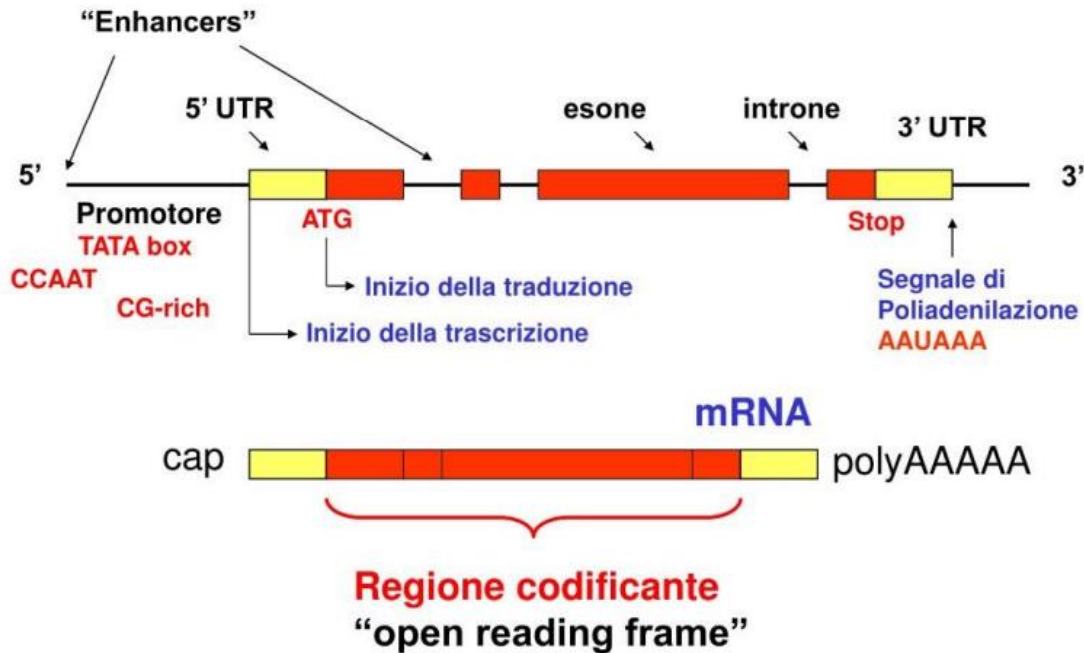
Nota: queste differenze riflettono la diversa organizzazione genomica e cellulare.

Struttura Tipica di un Gene Eucariote



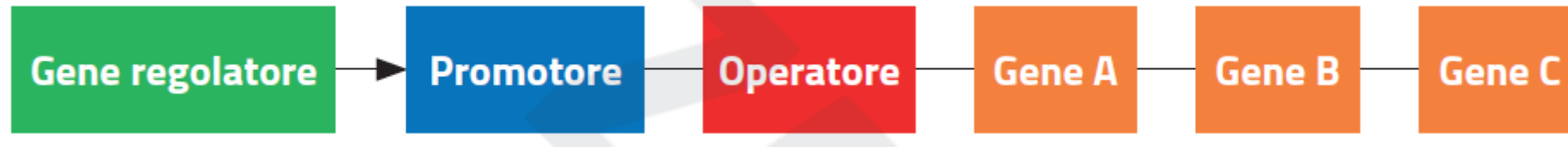
- **Enhancer/Silencer:** sequenze regolatorie che aumentano o riducono la trascrizione; possono trovarsi lontane dal gene ma agire tramite ripiegamenti del DNA.
- **Promotore:** regione di legame per RNA polimerasi e fattori di trascrizione; contiene sequenze caratteristiche (es. **TATA box**, **CAAT box**).
- **UTR (5' e 3'):** regioni trascritte ma non tradotte, fondamentali per regolazione e stabilità dell'mRNA.
- **Esone:** porzioni mantenute nell'RNA maturo → codificano per proteine o sequenze funzionali.
- **Introne:** porzioni trascritte ma rimosse tramite **splicing**; mutazioni qui possono influenzare la maturazione dell'mRNA.
- **Sito di poliadenilazione:** segnale che indica la fine della trascrizione e dove verrà aggiunta la coda poliA

Regolatori in Cis (Sequenze Cis-Regolatrici)



- **Sequenze di DNA non codificanti** sullo **stesso cromosoma** del gene regolato.
- Posizione: possono trovarsi **molto distanti** dal promotore, **dentro introni** o **a valle del gene**.
- Funzione: determinano **quando, dove e con quale intensità** un gene viene trascritto.
- Riconosciute da **fattori di trascrizione/regolatori trascrizionali**, che si legano tramite legami deboli ma stabili.
- Azione: possono promuovere o inibire la trascrizione reclutando:
 - **Coattivatori**
 - **Corepressori**
 - **Complessi che modificano la cromatina.**
- Spesso agiscono come **dimeri** (omodimeri o eterodimeri), aumentando la versatilità del controllo genico.

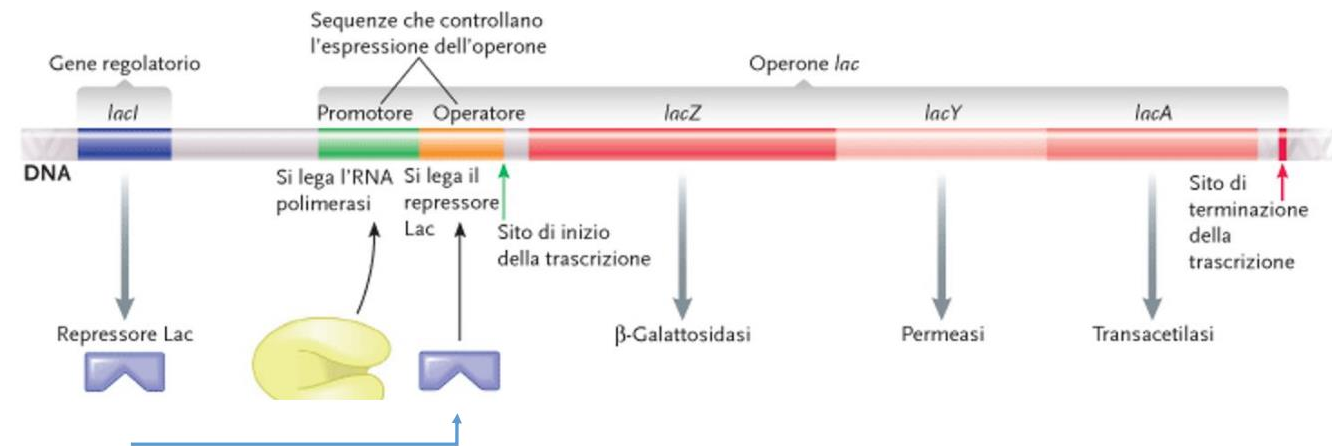
Struttura di un Gene Procariote: L'Operone Procariote



- Struttura:
 - **Promotore:** contiene sito di legame per RNA polimerasi + sequenza consenso.
 - **Operatore:** sequenza a cui si lega un repressore per accendere/spegnere la trascrizione.
 - **Geni strutturali:** codificano proteine spesso coinvolte nello stesso processo biochimico.
- Controllato da un **gene regolatore esterno**, che produce repressori o attivatori.

Principali differenze:

- Diverso sistema di regolazione.
- Nessuna modifica post-trascrizionale del trascritto.
- Assenza di introni.
- Presenza di sequenze specifiche per inizio traduzione (**Shine-Dalgarno**).
- Organizzazione **policistronica** in **operoni**.



PROKARYOTIC GENE EXPRESSION VERSUS EUKARYOTIC GENE EXPRESSION

PROKARYOTIC GENE EXPRESSION

Process by which information from the prokaryotic genes is used in the synthesis of a functional gene product

Occurs in the cytoplasm

Transcription and translation occur simultaneously

Prokaryotic DNA is not in permanently condensed form

Prokaryotes contain three promoter elements: one upstream to the gene, second 10 nucleotides downstream to it, and the third 35 nucleotides downstream to it

EUKARYOTIC GENE EXPRESSION

Process by which information from eukaryotic genes is used in the synthesis of a functional gene product

Transcription occurs inside the nucleus and translation occurs in the cytoplasm

Transcription and translation are temporally segregated

Eukaryotic DNA forms a stable, condensed complex with histones

Eukaryotes contain a much larger set of promoter elements including the TATA box

Transcription initiation factors do not assemble with the initiation complex

Introns do not interrupt the open reading frame

Has a single type of RNA polymerase

Several functionally-related genes occur in clusters called operons

Results in polycistronic mRNA

Does not include post-transcriptional modifications

Prokaryotes contain 70S ribosomes

Regulation occurs at the transcriptional level

Transcription initiation factors assemble with the initiation complex

Introns interrupt the open reading frame

Has three RNA polymerases

Eukaryotic genes occur individually

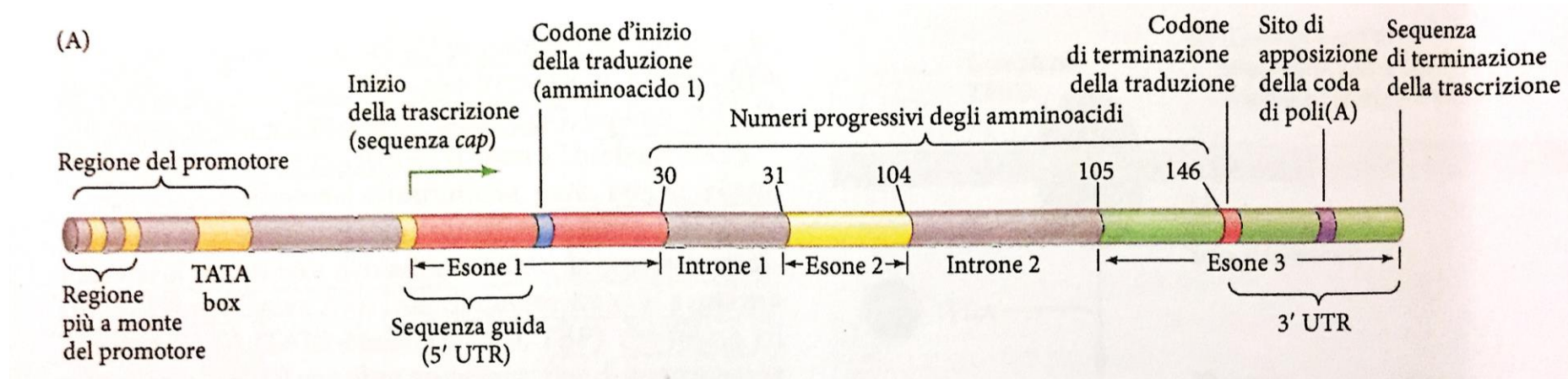
Results in monocistronic mRNA

Includes post-transcriptional modifications

Eukaryotes contain 80S ribosomes

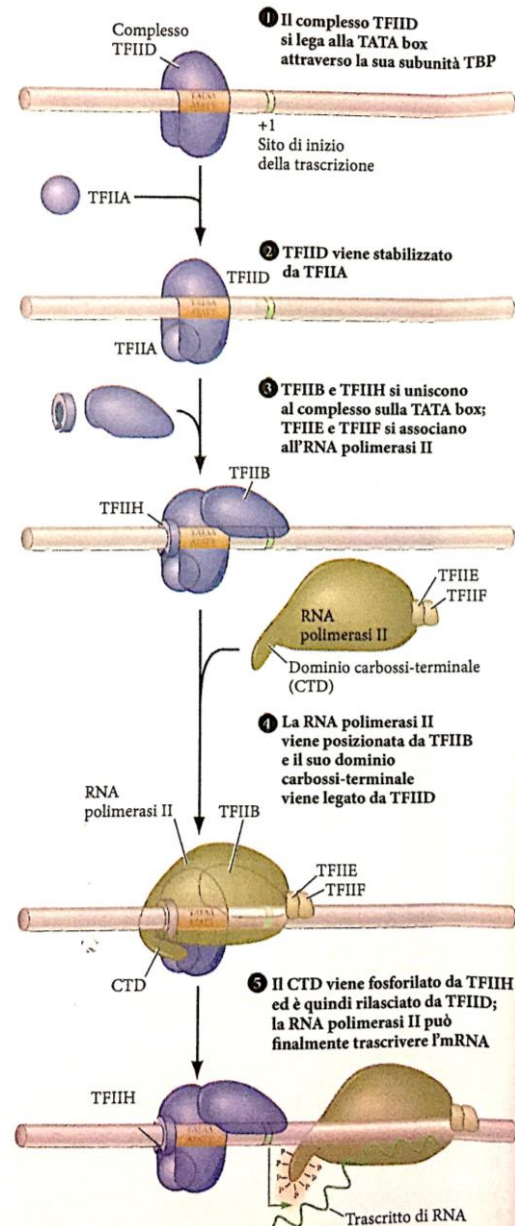
Regulation can occur at epigenetic level, transcriptional level, post-transcriptional level, translational level, and post-translational level

Anatomia dei Geni: Regolatori in Cis



- **Promotore:** responsabile del legame della RNA polimerasi (**TATA box**) e dell'avvio della trascrizione (può trovarsi anche a migliaia di basi a monte del sito di inizio della trascrizione).
- **Sito di inizio della trascrizione:** spesso definita anche **sequenza cappuccio** (cap) perché rappresenta l'estremità 5' dell'RNA alla quale, subito dopo la trascrizione, sarà apposto un "cappuccio" formato da un nucleotide modificato (**7-metil-guanosina**).
- **Sito di inizio della traduzione:** è rappresentato dal **codone ATG** (che nel mRNA diventa AUG) che codifica per la metionina, il primo aminoacido di ogni proteina.
- **5' UTR (5' untranslated region) o sequenza guida (leader)** La regione che intercorre tra il sito di inizio della trascrizione e della traduzione è detto e varia consistentemente da gene a gene.
- **Esoni:** elementi codificanti.
- **Introni:** elementi **generalmente non codificanti** (possono contenere sequenze **codificanti per miRNA**), ma sono **fondamentali per la struttura** e le **sequenze regolatrici** che possono contenere.
- **Codone di terminazione.**
- **3' UTR:** è trascritta ma non tradotta. Ricca in **sequenze regolatrici** come AATAAA necessaria alla **poliadenilazione** (200-300 residui di Adenina) che (1) **conferisce stabilità all'mRNA**, (2) **permette all'mRNA di uscire dal nucleo** e (3) **consente la traduzione in proteina**.
- **Sequenza di terminazione della trascrizione:** può continuare anche per migliaia di basi dopo il sito di poliadenilazione.

Regolatori in Cis: TATA box e TAF



L'RNA polimerasi si lega al DNA mediante la TATA box, una sequenza di circa 30 bp che può trovarsi spesso casualmente ripetuta nel DNA.

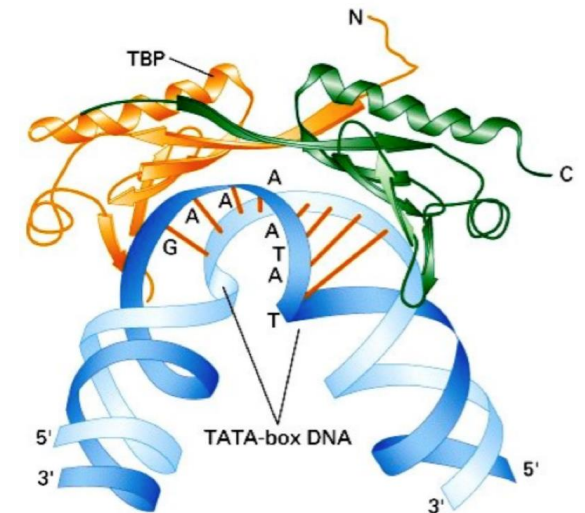
Isole CpG sono sequenze di DNA ricche in C e G. Sono associate a regioni di **DNA attivamente trascritte** e **spesso fiancheggiano le TATA box**.

La **TBP** (TATA box-binding protein) **forma un complesso** con **TFIID** e lega la TATA box, a livello del **solco minore** del DNA.

TFIIB recluta la **RNA pol** sulla **TBP** e la posizione per l'inizio della trascrizione. **TFIIA** e **TFIIH** stabilizzano il complesso.

TFIIH fosforila l'estremità carbossi-terminale (**CTD**) della RNA pol, inducendo l'**inizio della trascrizione**.

Tutti i fattori appena elencati vengono chiamati Transcription-Associated Factors, **TAF**, e legano elementi sul DNA chiamati **siti prossimali del promotore**, i quali si trovano a monte di questo.



Regolatori in Cis : Enhancer

Sequenze di DNA dette **elementi regolativi in cis** poiché regolano l'attivazione di promotori che si trovano sullo stesso cromosoma.

Tuttavia, grazie al **ripiegamento del DNA**, possono regolare promotori distanti anche milioni di basi **a monte**, **a valle** o addirittura **all'interno degli introni** dei geni che controllano.

Possono regolare **l'espressione tessuto- o tempo-specifica** di un determinato gene/promotore.



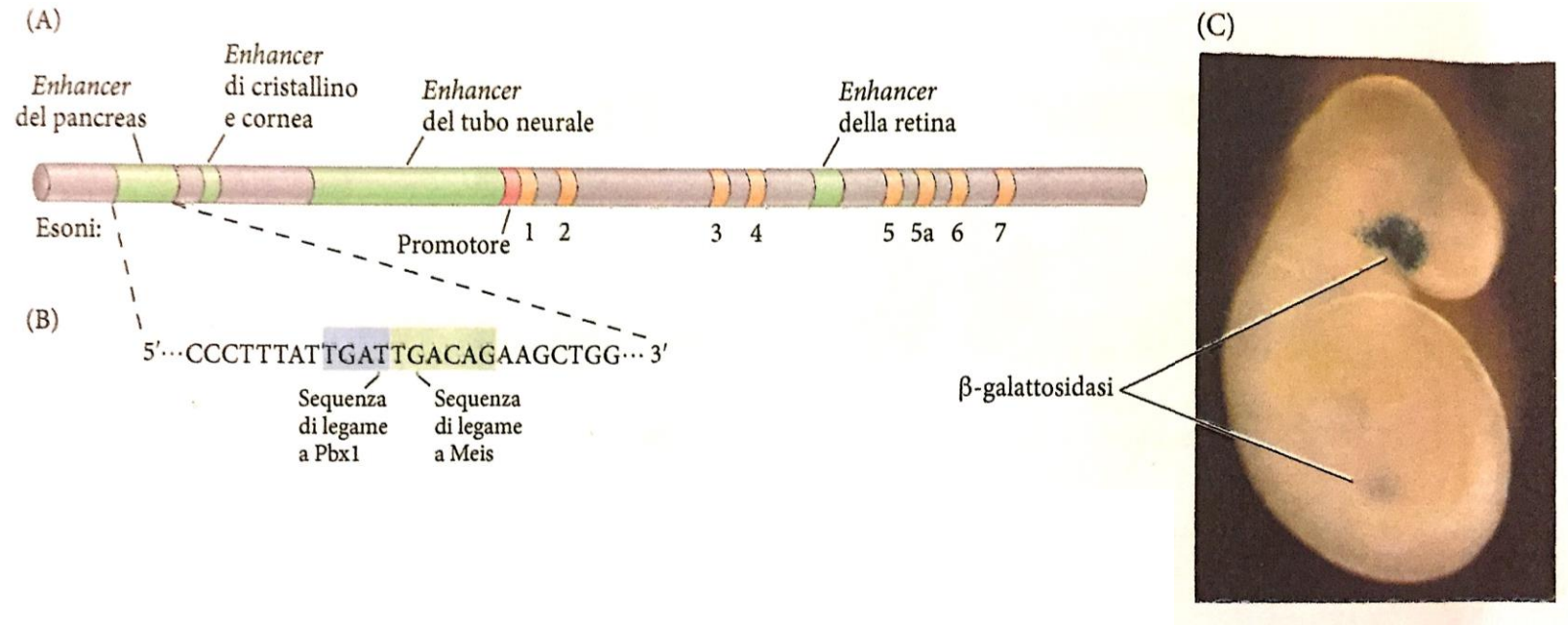
Enhancer Myf5/Lac Z
Embrione di Topo



Enhancer Cristallina/GFP
Embrione di *Xenopus Tropicalis*

Regolatori in Cis: Modularità degli Enhancers

Le **sequenze degli enhancers sono le stesse in ogni cellula**, ciò che cambia è il **modo diverso in cui si combinano i fattori di trascrizione** che li legano.



Il gene **Pax6** è espresso nella **cornea**, nel **pancreas** e nel **tubo neurale** e **possiede diversi enhancers** che ne regolano l'espressione differenziale.

L'identificazione avvenne **clonando i singoli elementi** dalle regioni al 5' di Pax6 e dai suoi introni, e fondendoli individualmente al **gene reporter Lac Z**. I costrutti vennero iniettati in **pronuclei di topo** e colorati per visualizzare l'attività della **β -galattosidasi**.

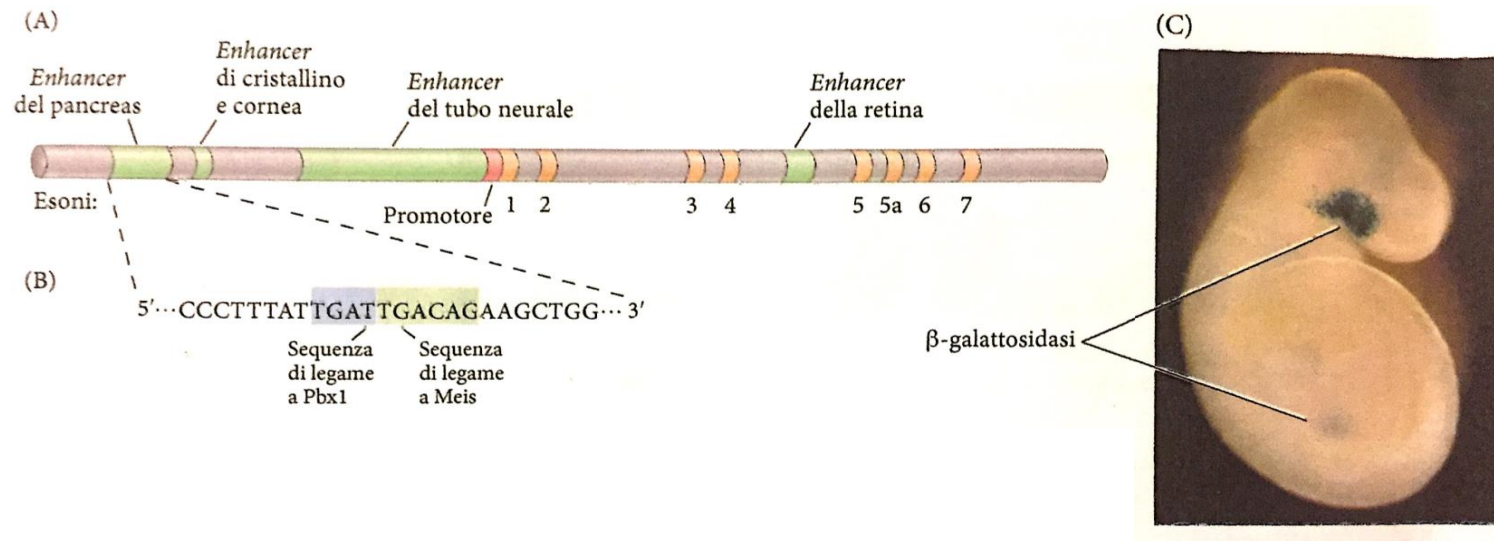
Regolatori in Cis: Associazione Combinatoria (I)

Mentre gli **enhancers** sono modulati **tra loro**, esistono **unità dipendenti l'un l'altra all'interno dello stesso enhancer**.

Queste contengono regioni **che legano i fattori di trascrizione** ed è la **diversa combinazione tra questi che attiva o meno l'espressione del gene**.

Esempio:

1) L'enhancer di Pax6 specifico per il pancreas contiene siti di binding per **Pbx1** e **Meis**. Per attivare l'espressione di Pax6 nel pancreas **entrambi** devono essere presenti.



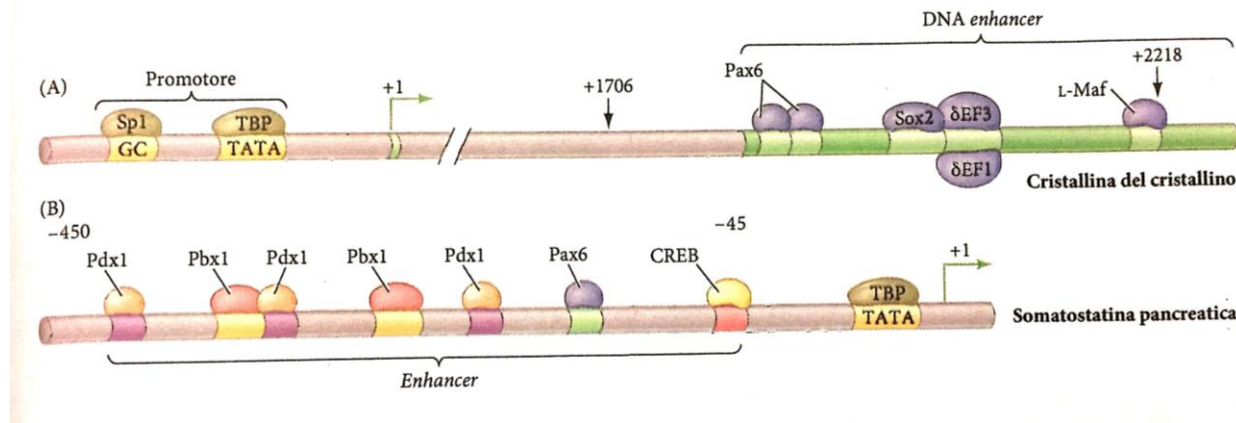
Regolatori in Cis: Associazione Combinatoria (II)

Il prodotto del gene **Pax6** codifica esso stesso per un **fattore di trascrizione**.

- 2) Un **enhancer** che si trova nel terzo introne del gene della **cristallina di pollo**, regola **tempo e luogo di espressione** di questo gene e possiede **due siti di binding per Pax6**.

Pax6 (espresso nell'ectoderma) collabora con **Sox2** (espresso nelle cellule della retina che saranno in contatto con quelle che genereranno gli occhi) e **L-Maf** (espresso nella regione dell'ectoderma destinato agli occhi) per indurre **l'espressione della cristallina** solo nelle cellule della testa che daranno origine al cristallino.

Questo legame **recluta una acetiltransferasi istonica** che rilassa la cromatina e consente la libera trascrizione del gene.

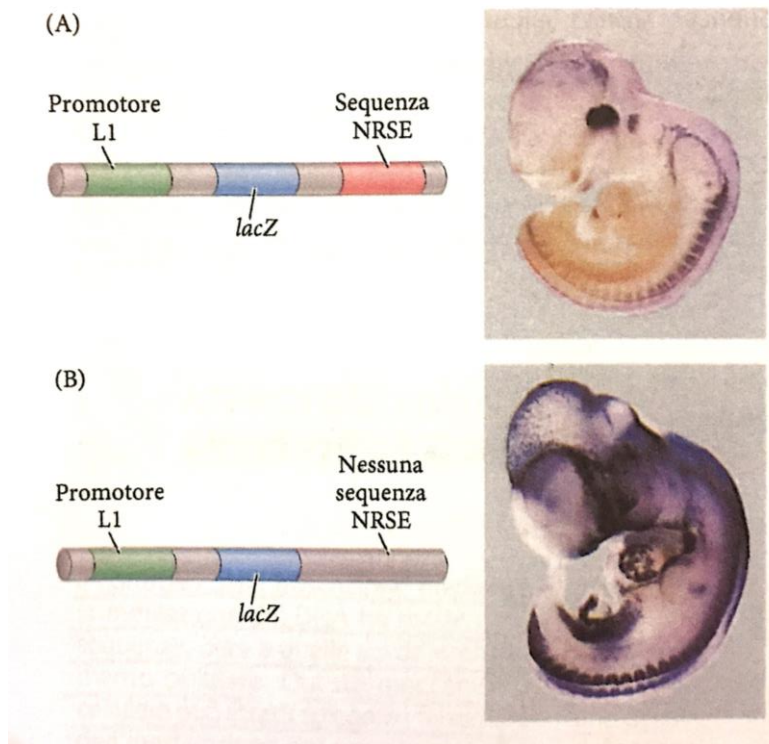


Regolatori in Cis: Silencer

I **silencer** sono elementi regolatori del DNA che **reprimono attivamente la trascrizione**.

Nel topo esiste una sequenza di DNA, **neural restictive silencer element (NRSE)**, che **inibisce** l'attivazione di un **promotore** in tutti i tessuti del corpo **tranne i neuroni**.

Il **fattore silencer a restrizione neuronale (NRFS)**, è un fattore di trascrizione che lega NRSE, ed **è espresso in ogni cellula che non sia un neurone**



L1 è una proteina importante per lo **sviluppo dell'encefalo**.

Costrutto formato da promotore del gene L1, sequenza del gene LacZ, sequenza NRSE.

Costrutto formato da promotore del gene L1 e sequenza del gene LacZ senza la sequenza NRSE.

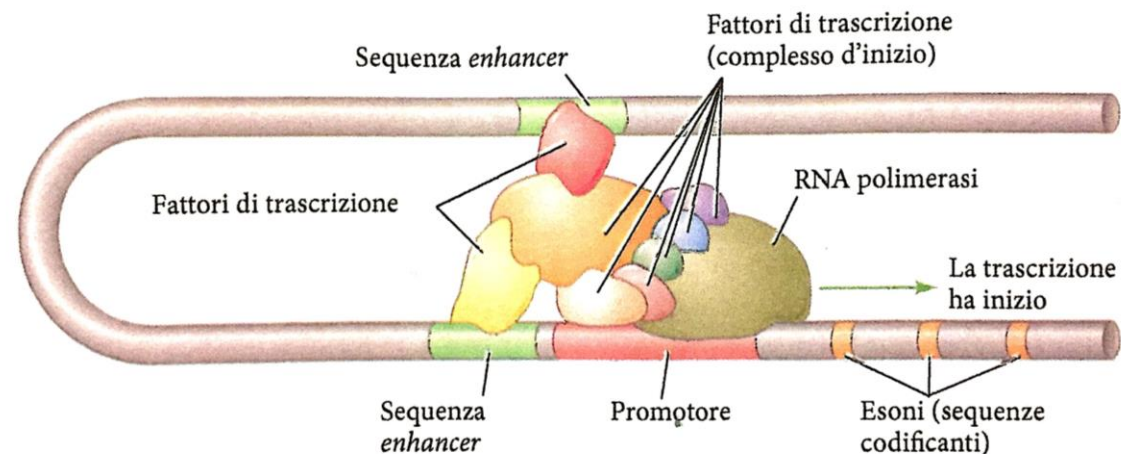
Regolatori in Trans: I Fattori di Trascrizione

Nel 1992 Natalie Angier scrisse: *”Una serie di nuove scoperte suggerisce come il DNA somigli molto a un certo tipo di politico, circondato da un nugolo di manipolatori e consiglieri proteici che devono massaggiarlo energicamente e, all’occorrenza, reinventarlo prima che il grandioso progetto dell’organismo possa davvero acquisire significato”.*

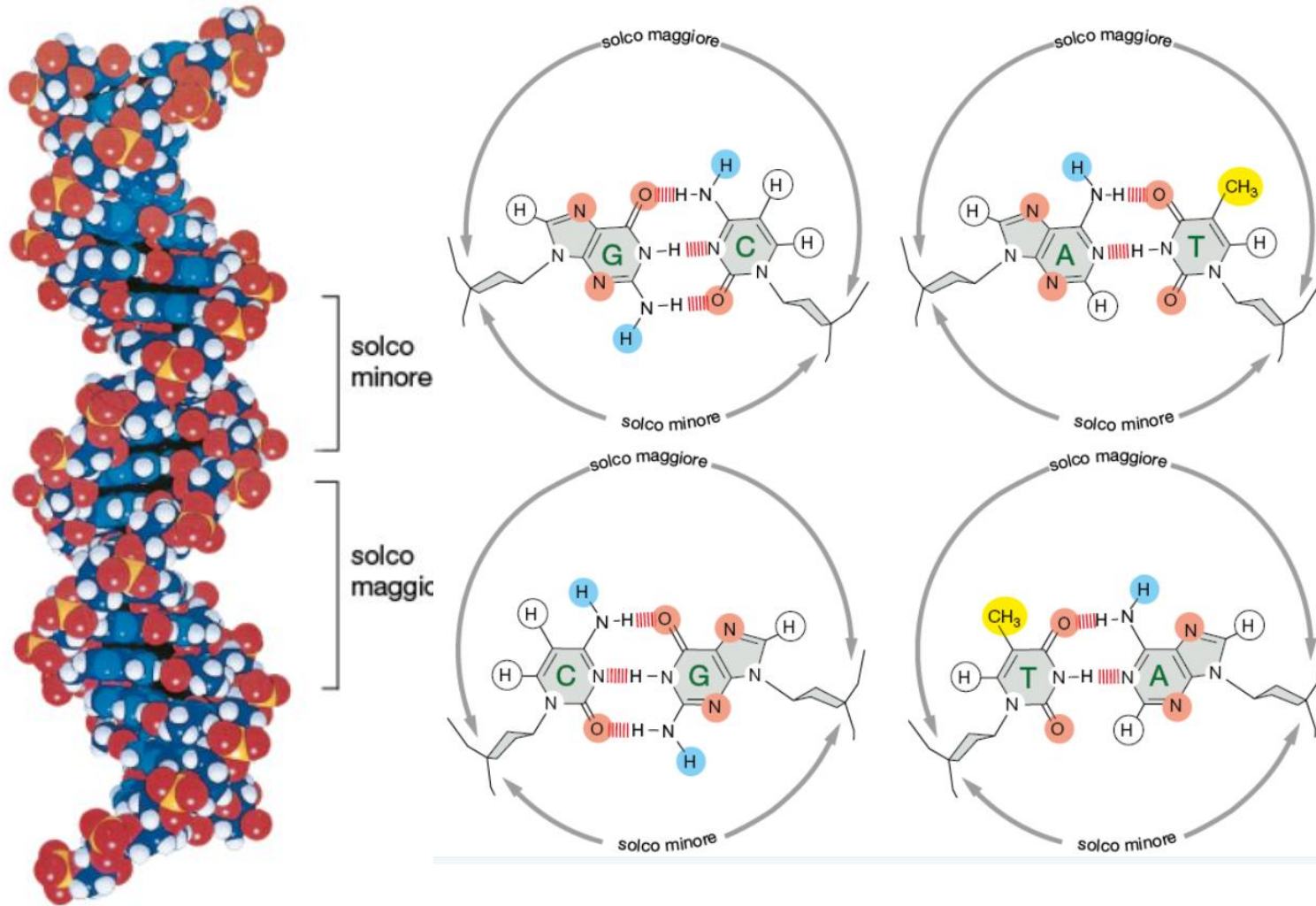
I **fattori di trascrizione** possono presentare fino a **tre domini** differenti:

- **Dominio di legame al DNA;**
- **Dominio di trans-attivazione o trans-inibizione** consente al fattore di trascrizione di interagire con altri attivatori o inibitori trascrizionali oppure con la RNA polimerasi;
- **Dominio di legame proteina-proteina** (es: con altri fattori che modificano gli istoni).

Oltre al reclutamento di **enzimi che modificano i nucleosomi**, i fattori di trascrizione possono agire anche **stabilizzando il complesso di pre-inizio**, consentendo alla RNA polimerasi di legare il promotore



Regolatori in Trans: I Fattori di Trascrizione



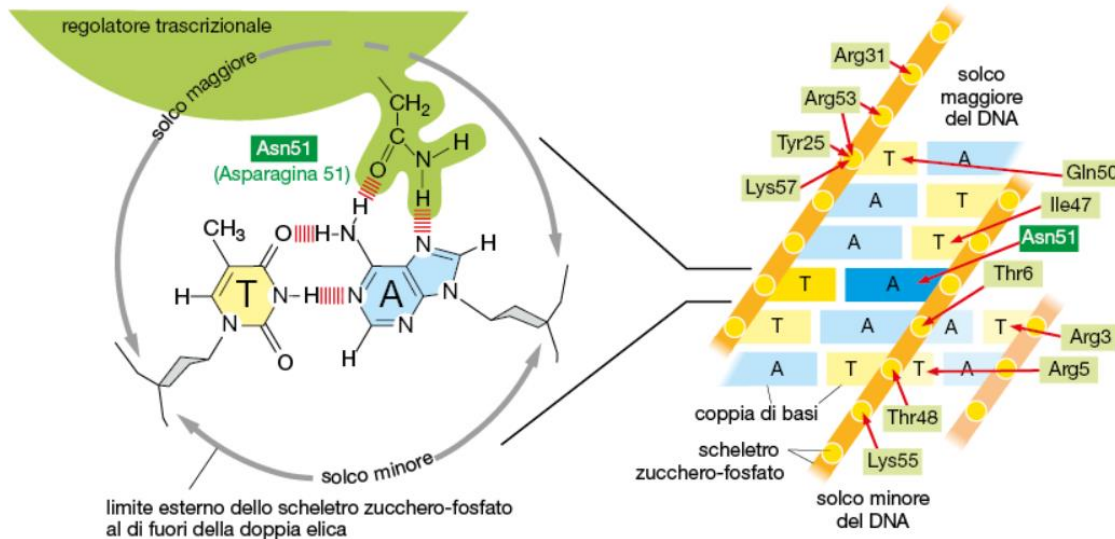
Come coppie diverse di basi nel DNA possono essere riconosciute dai loro bordi senza che sia necessario aprire la doppia elica.

Le quattro configurazioni possibili di coppie di basi sono mostrate con i **donatori potenziali di legami idrogeno** indicati in **blu**, gli **accettori potenziali di legami idrogeno** in **rosso** e i legami idrogeno delle coppie di basi come una serie di brevi linee parallele rosse.

I **gruppi metilici**, che formano **protuberanze idrofobe**, sono mostrati in **giallo**; gli atomi di idrogeno che sono attaccati ai carboni, e perciò non disponibili per la formazione di legami idrogeno, sono **bianchi**.

Dal solco maggiore **ciascuna** delle quattro **configurazioni** di appaiamento di basi **espone uno schema unico di caratteristiche**.

Regolatori in Trans: I Fattori di Trascrizione



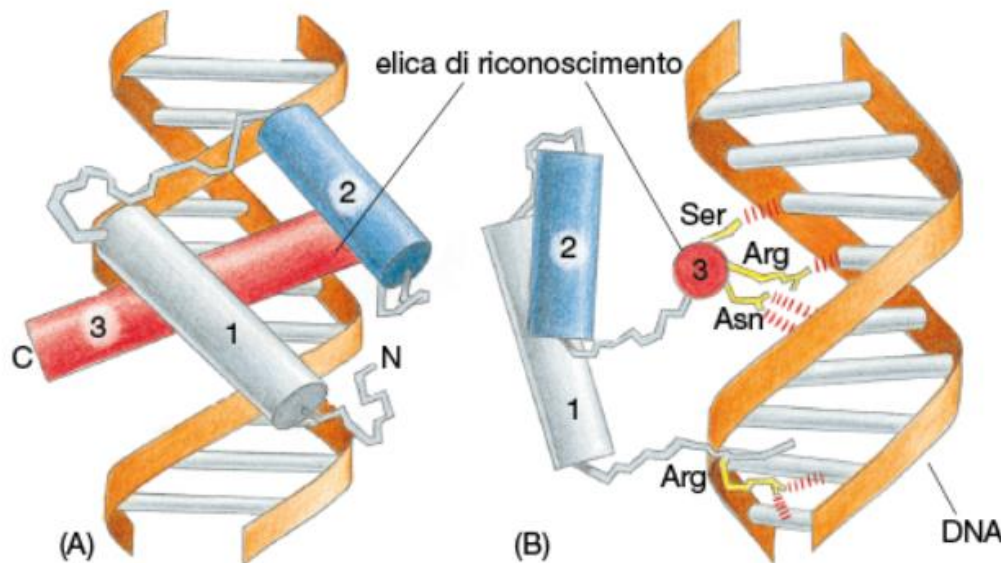
Il legame di un regolatore trascrizionale a una specifica sequenza di DNA.

A *sinistra*, un singolo contatto tra un regolatore trascrizionale e il DNA;

Tali contatti permettono alla proteina di “leggere” la sequenza di DNA.

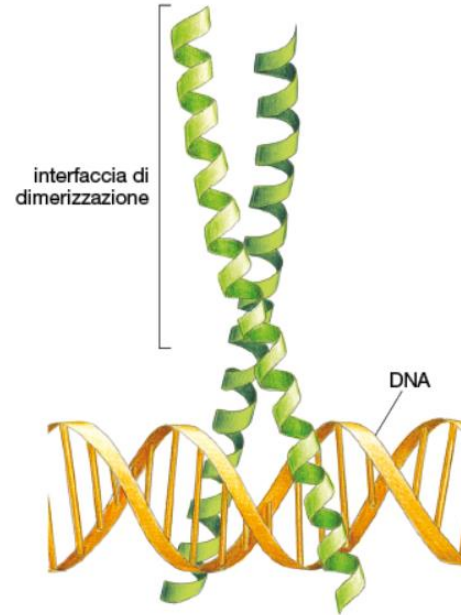
A *destra*, l'insieme completo dei contatti tra un regolatore trascrizionale e la sua sequenza *cis*-regolatrice.

In questo esempio (a destra), la porzione che lega il DNA della proteina è lunga 60 amminoacidi. Sebbene le **interazioni con il solco maggiore siano le più importanti**, si ritiene che la proteina abbia **contatti anche con il solco minore e con i fosfati dello scheletro** zucchero-fosfato del DNA.

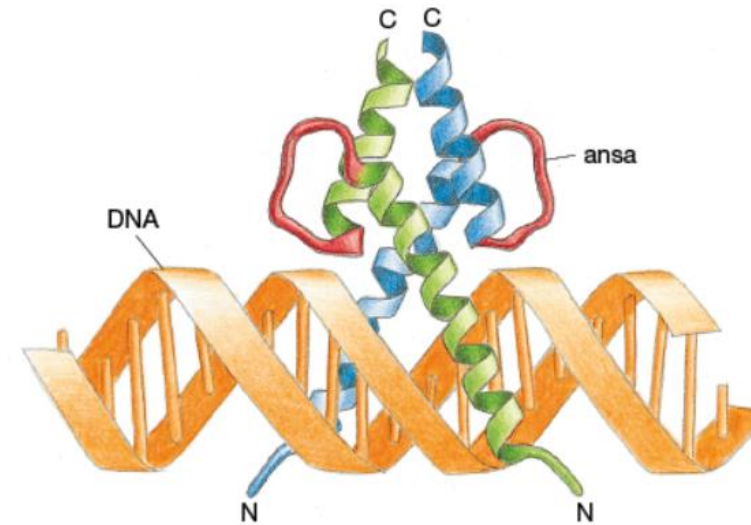


Regolatori in Trans: I Fattori di Trascrizione

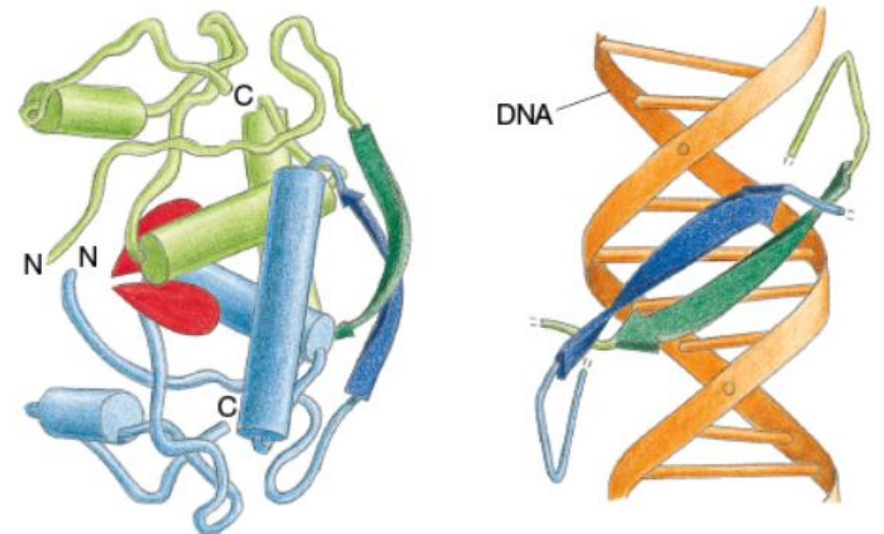
CERNIERA LAMPO DI LEUCINA



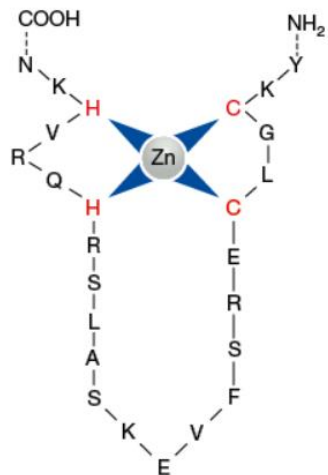
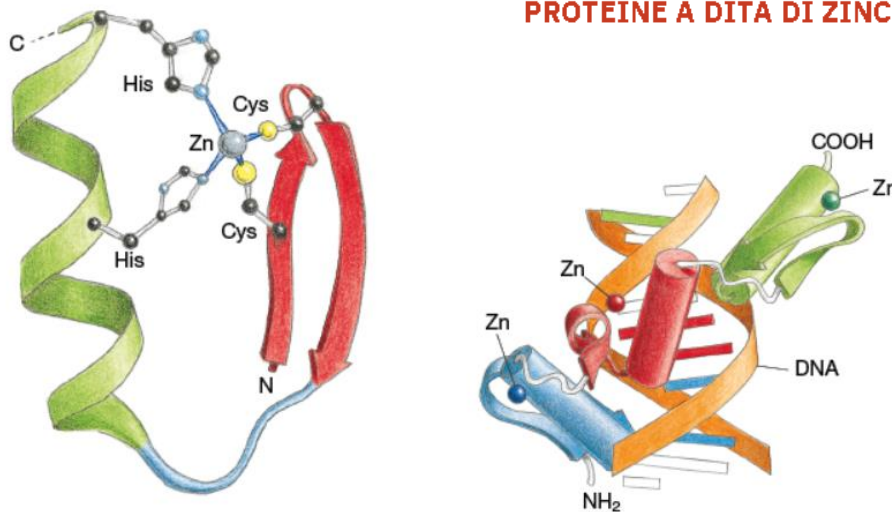
PROTEINE A β -FOGLIETTI DI RICONOSCIMENTO DEL DNA



PROTEINE ELICA-ANSA-ELICA



PROTEINE A DITA DI ZINCO

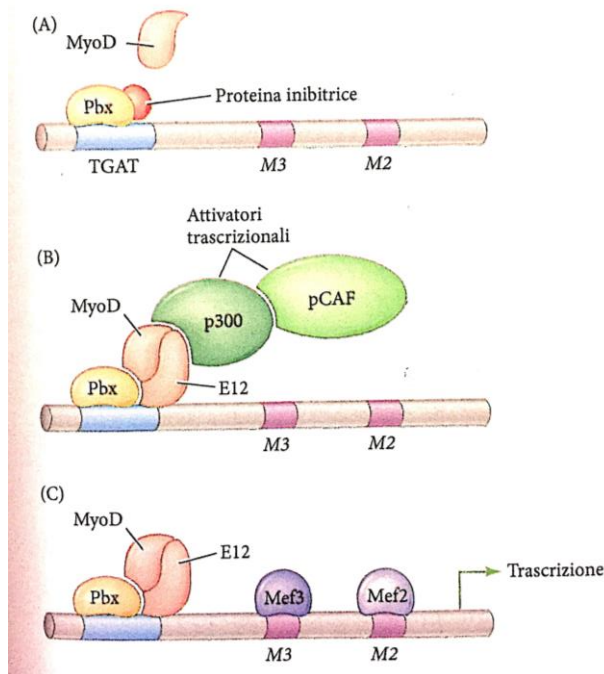


Master Transcription Factor: Break the silence!

I **promotori** sono spesso **inaccessibili** e difficili da trovare a causa dell'**alto grado di impacchettamento** della cromatina. Se si potesse svolgere il DNA di una sola cellula eucariotica questo raggiungerebbe la lunghezza di **2 metri!**

$2\text{ m} = 2 \times 10^9\text{ nm} \rightarrow \text{nt} = 0,33\text{ nm} \rightarrow \text{TATA box (30 nt)} = 9,9\text{ nm} \rightarrow \text{it means } 10\text{ nm in } 2.000.000.000\text{ nm}$

I **master gene regulator** sono fattori di trascrizione **in grado di scovare all'interno di un DNA altamente compattato il loro sito di binding** e dare il via ad una serie di meccanismi in grado di consentire, da quel momento in poi, **l'instaurarsi di discendenze cellulari**.



Pbx è un fattore di trascrizione che svolge un ruolo chiave nello **sviluppo muscolare**.

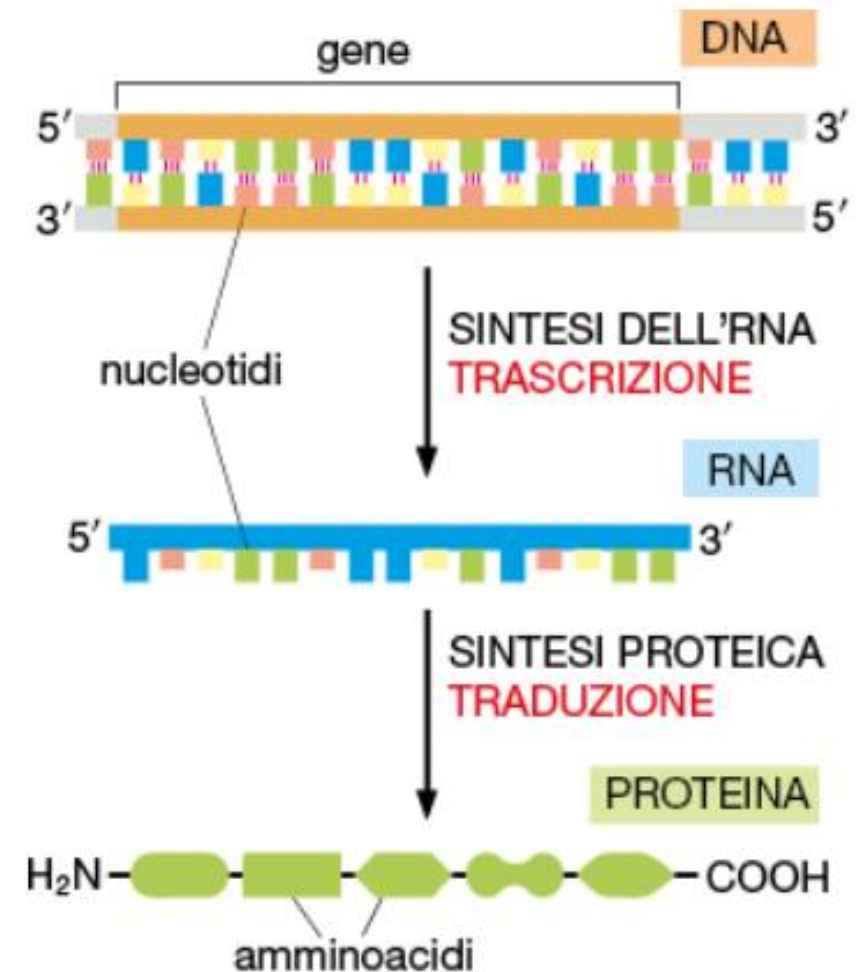
È in grado di scovare il suo binding site e **fungere da segnalatore molecolare** per un altro master regulator della linea muscolare a livello embrionale, **MyoD**.

MyoD quando **si combina con** un altro fattore di trascrizione, **E12**, può **associarsi alla proteina Pbx**. In seguito, E12 **recluta l'acetiltransferasi p300/pCAF** che rilassa la cromatina e dà il via al programma di differenziamento muscolare.

Un uomo non è un'isola, e nemmeno un fattore di trascrizione lo è!!!

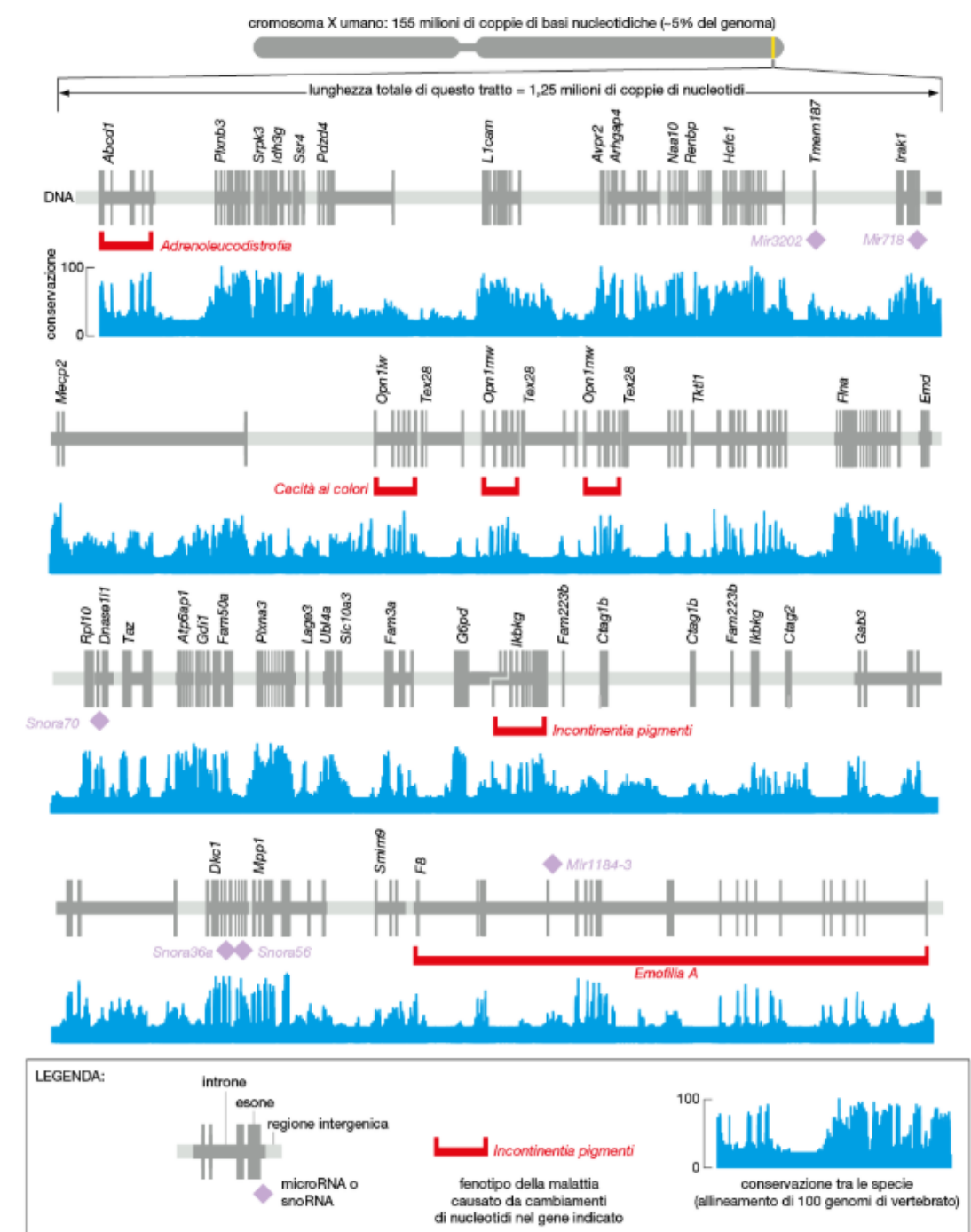
Il Dogma Centrale della Biologia Molecolare

- La maggior parte dell'informazione genetica conservata nel DNA → determina le **sequenze amminoacidiche delle proteine**.
- Il DNA **non dirige direttamente** la sintesi proteica:
 - Viene **trascritto in RNA**.
 - L'RNA funge da **intermediario** per dirigere la **traduzione** in proteine.
- Flusso dell'informazione:
 - **DNA → RNA → Proteina**.
- Principio universale in tutti gli organismi viventi → definito **dogma centrale della biologia molecolare**.
- Nelle cellule eucariote i trascritti subiscono ulteriori passaggi (es. **splicing**) prima di uscire dal nucleo.
- Alcuni geni producono **RNA come prodotto finale**:
 - RNA strutturali, catalitici e regolatori.
 - Molti RNA non codificanti hanno funzioni ancora da chiarire.



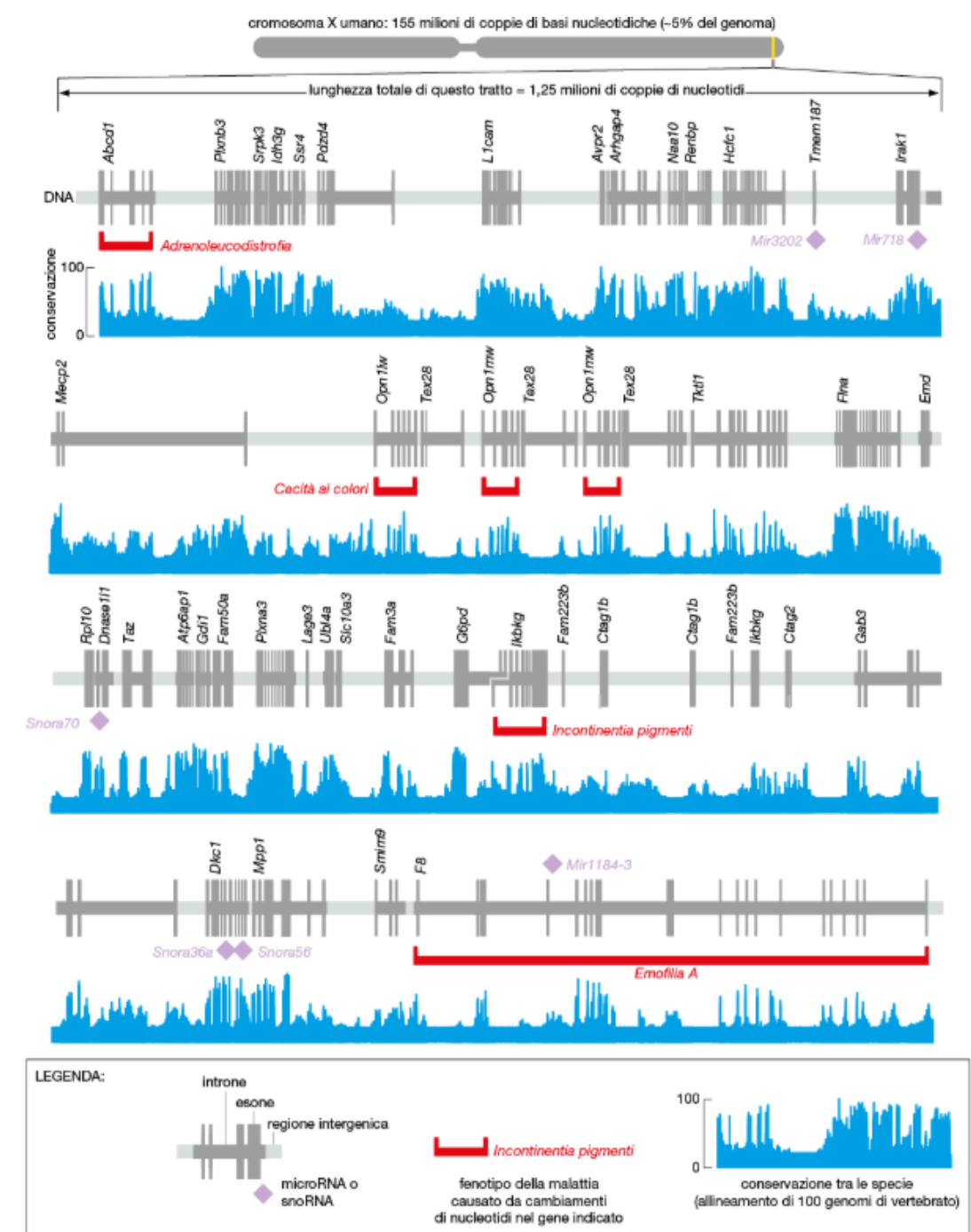
Organizzazione del genoma: caos apparente

- I genomi degli organismi pluricellulari non sono organizzati come un dizionario ordinato:
 - Geni = sequenze composte da **brevi esoni** e **lunghi introni** alternati.
 - Piccoli frammenti codificanti sono immersi in **ampie regioni non codificanti**.
 - Alcune regioni** cromosomiche contengono **molti geni**, altre sono completamente **prive**.
- I geni che codificano proteine funzionalmente correlate → spesso dispersi su **cromosomi diversi**.
- I geni adiacenti **raramente** codificano proteine correlate.
- Decodificare il genoma è difficile:
 - Anche con l'ausilio di computer è complesso stabilire l'inizio e la fine dei geni.
 - Ancora più difficile capire **dove e quando** ciascun gene viene espresso.
- Le cellule, invece, decodificano automaticamente questa complessità **migliaia di volte al secondo**.

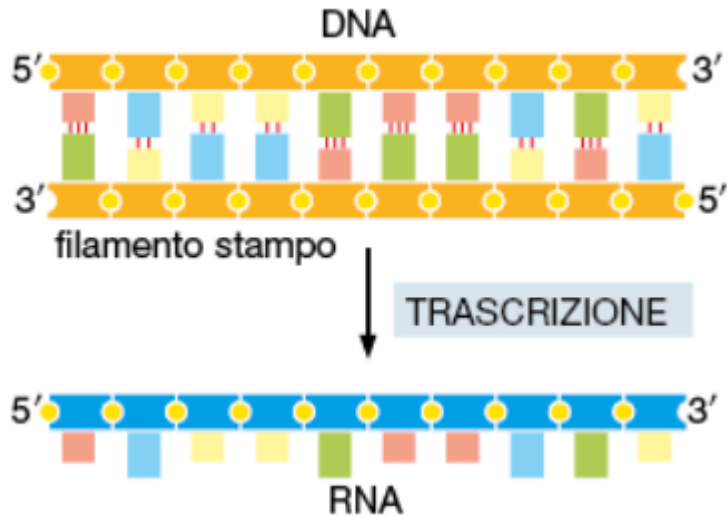


Esempio pratico: un frammento del genoma umano

- Una regione pari a meno di **1/2000** del genoma umano contiene:
 - Almeno **48 geni codificanti proteine**.
 - 6 geni non codificanti**.
- Dimostrazione della **densità e complessità informativa** contenuta in ogni segmento genomico.
- Confronto: l'intero genoma umano contiene circa **20.000–23.000 geni**.
- Sfida scientifica ancora aperta: comprendere **come** queste informazioni generino **organismi complessi**.

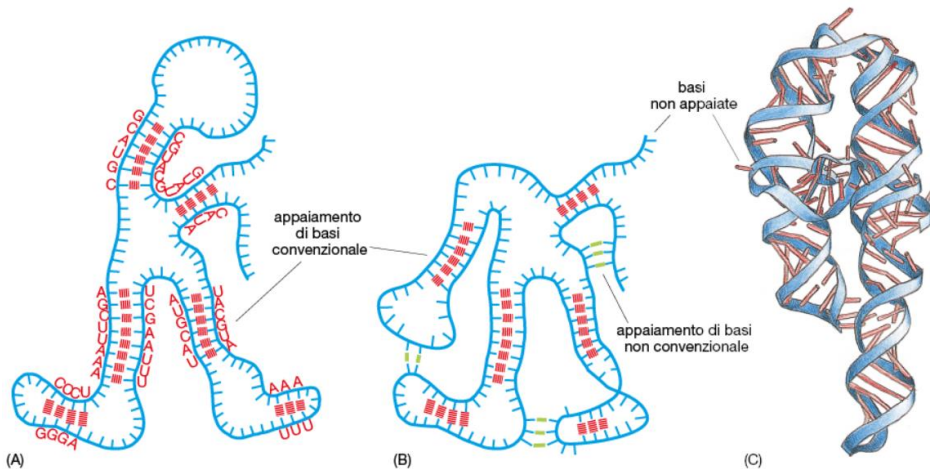


Dal DNA all'RNA: la trascrizione



- **Trascrizione** = primo passaggio per esprimere le istruzioni genetiche.
- Un gene (DNA) → copiato in una sequenza nucleotidica di **RNA**.
- RNA: Chimicamente simile al DNA, ma con differenze:
 - Zucchero = **ribosio** (non deossiribosio).
 - Base **uracile (U)** al posto della **timina (T)**.
 - Struttura: **a singolo filamento** (non doppia elica).
 - Può **ripiegarsi in strutture tridimensionali complesse**.

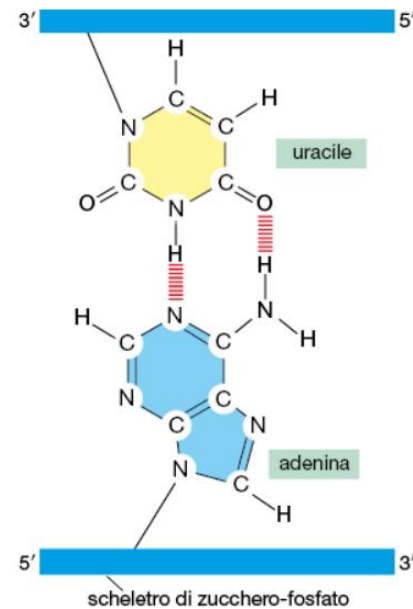
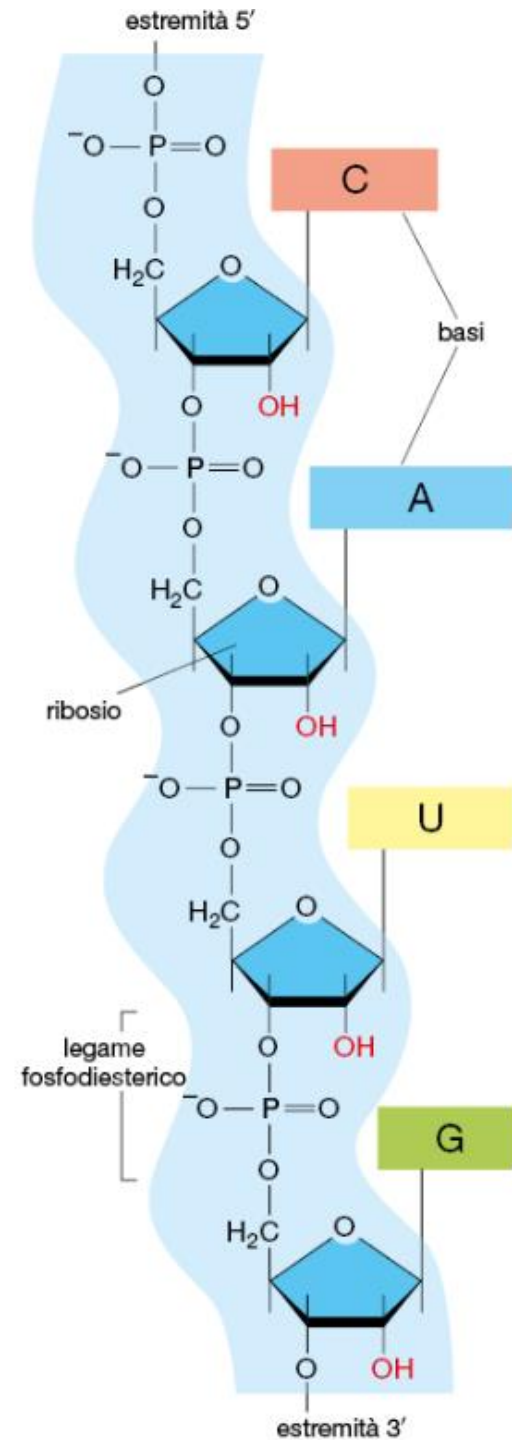
- Produzione di RNA = **meccanismo analogo alla replicazione**:
 - Uso di un filamento di DNA come stampo.
 - Appaiamento complementare: $G \leftrightarrow C$, $A \leftrightarrow U$, $T \leftrightarrow A$.
 - Allungamento catalizzato enzimaticamente, un nucleotide alla volta.
- Differenze dalla replicazione:
 - RNA si **stacca dal DNA** appena sintetizzato.
 - RNA molto più **corto** rispetto alle molecole di DNA.



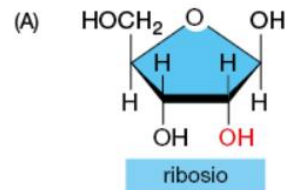
RNA: Principali Caratteristiche

- **Trascrizione** = primo passaggio per esprimere le istruzioni genetiche.
- Un gene (DNA) → copiato in una sequenza nucleotidica di **RNA**.
- RNA: Chimicamente simile al DNA, ma con differenze:
 - Zucchero = **ribosio** (non deossiribosio).
 - Base **uracile (U)** al posto della **timina (T)**.
 - Struttura: **a singolo filamento** (non doppia elica).
 - Può **ripiegarsi in strutture tridimensionali complesse**.

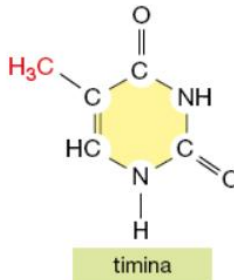
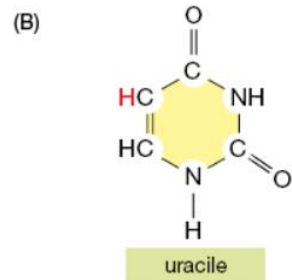
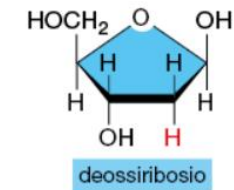
- Produzione di RNA = **meccanismo analogo alla replicazione**:
 - Uso di un filamento di DNA come stampo.
 - Appaiamento complementare: $G \leftrightarrow C$, $A \leftrightarrow U$, $T \leftrightarrow A$.
 - Allungamento catalizzato enzimaticamente, un nucleotide alla volta.
- Differenze dalla replicazione:
 - RNA si **stacca dal DNA** appena sintetizzato.
 - RNA molto più **corto** rispetto alle molecole di DNA.



utilizzato nell'acido ribonucleico (RNA)



utilizzato nell'acido deossiribonucleico (DNA)



Efficienza dell'espressione genica

Da un singolo gene:

- Possono essere prodotte **molte copie** identiche di RNA.
- **Ciascun RNA** → può dirigere la sintesi di **molte copie proteiche**.

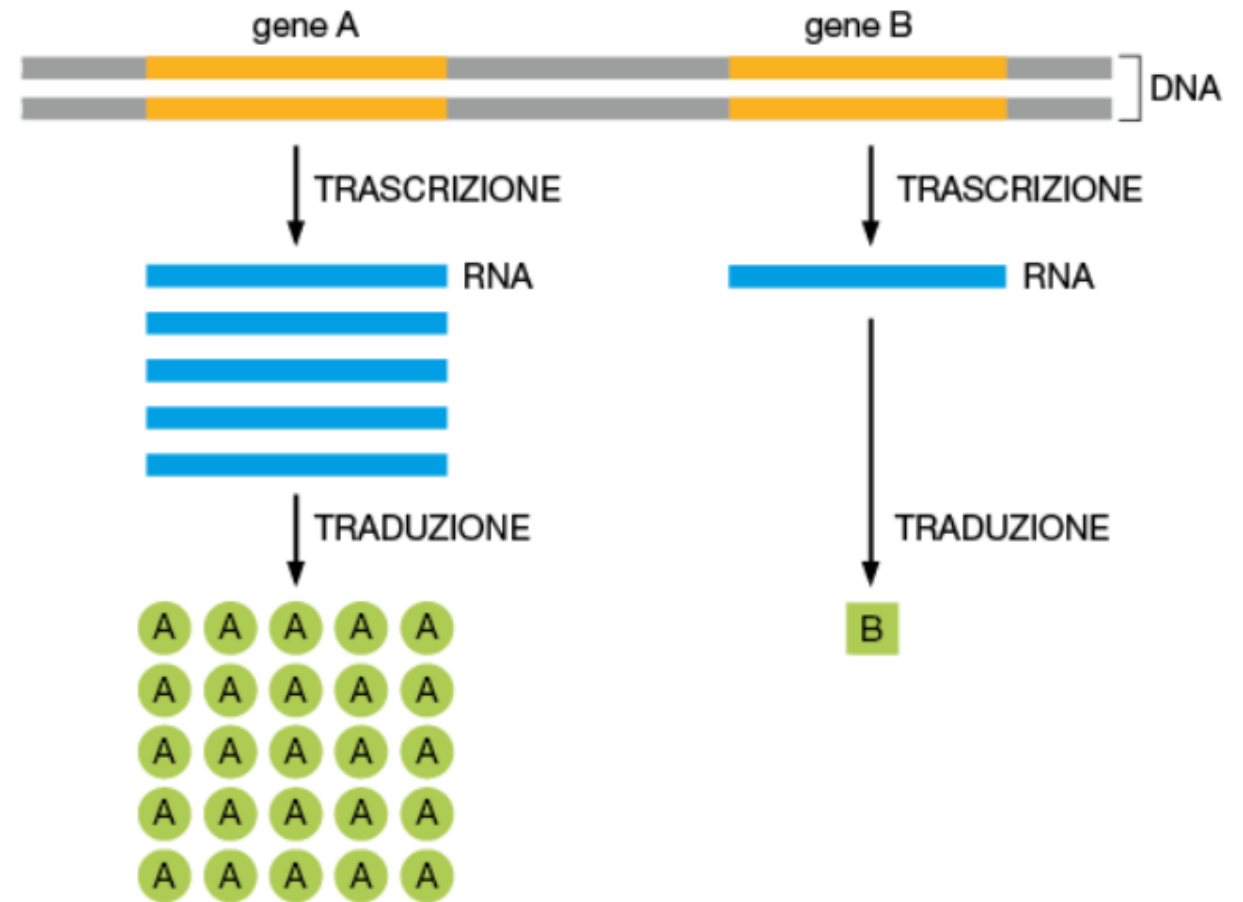
Risultato:

- Una cellula può produrre rapidamente **grandi quantità di proteine da un singolo gene**.

Ogni gene può essere **trascritto con efficienza diversa**:

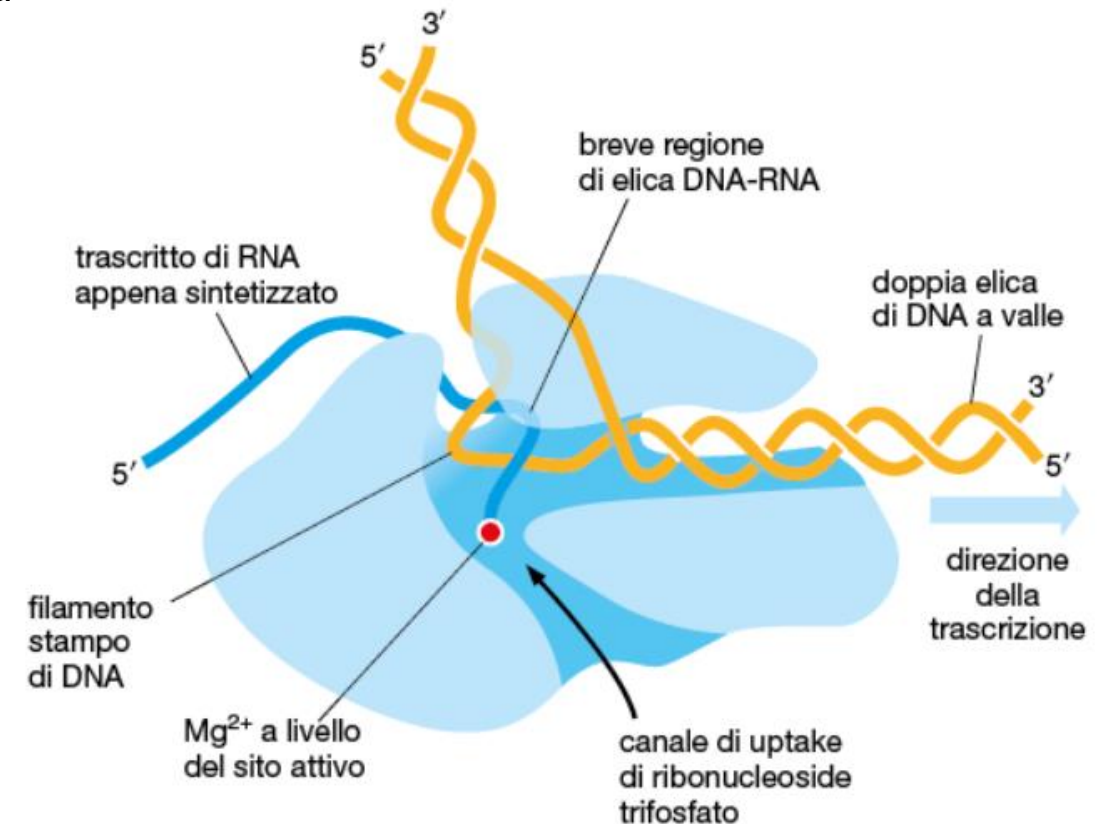
- Alcuni geni → **alta produzione proteica**.
- Altri → **bassissima produzione**.

La cellula regola dinamicamente l'espressione in base alle necessità.



Le RNA polimerasi: enzimi della trascrizione

- **Funzione:** catalizzano la formazione dei legami fosfodiesterici che uniscono i ribonucleotidi in una catena lineare di RNA.
- **Substrati:** ribonucleosidi trifosfato (**ATP, UTP, CTP, GTP**).
- **Energia:** fornita dall'idrolisi dei legami fosfato ad alta energia.
- **Direzione di sintesi:** sempre **5' → 3'**.
- **Ione Mg^{2+} nel sito attivo:** Facilita la reazione di polimerizzazione
- **Meccanismo:**
 - L'enzima **si muove a scatti** lungo il DNA.
 - **Svolge** localmente la **doppia elica**.
 - Forma una breve **regione ibrida DNA-RNA** (~9 nucleotidi).
 - L'RNA **si separa quasi subito dal DNA**, permettendo la **ristrutturazione della doppia elica** dietro la polimerasi.



Le RNA polimerasi: Filamento Senso e Antisense

ELICA SENSO

Filamento uguale all'mRNA ma non partecipa alla trascrizione

5' → ATG → 3'

ELICA ANTISENTO

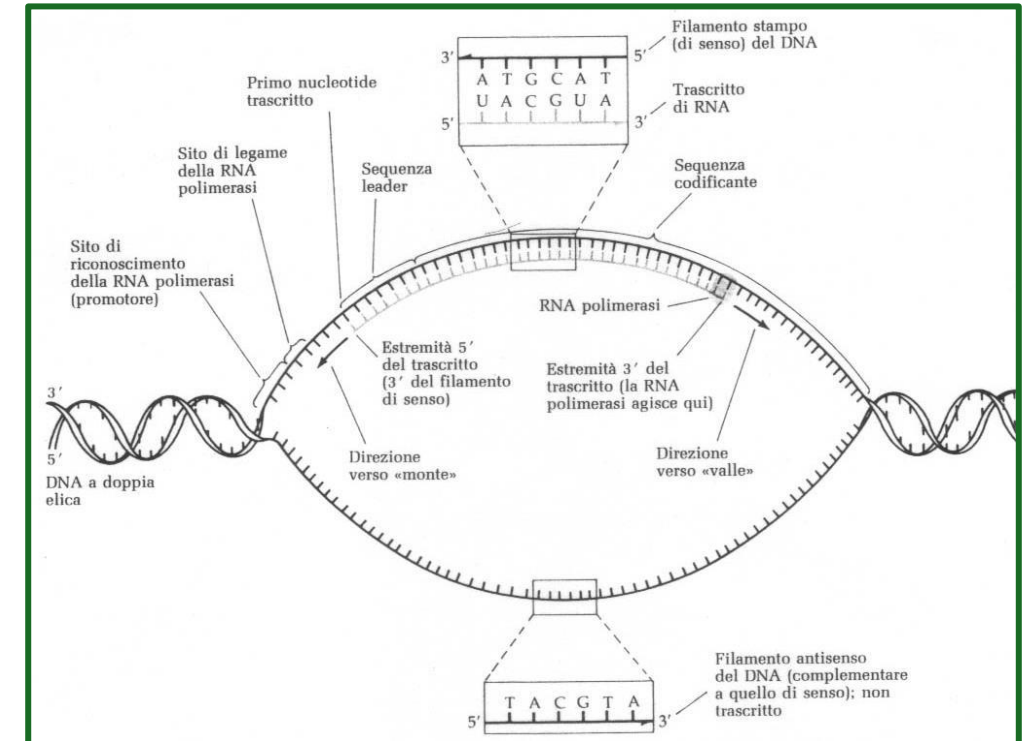
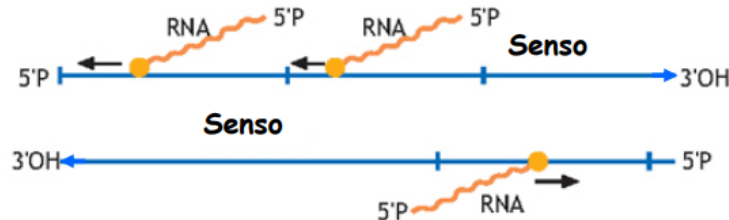
Filamento stampo: complementare all'mRNA ma è quello su cui lavora l'RNA pol

3' ← TAC → 5'

mRNA

5' → AUG → 3'

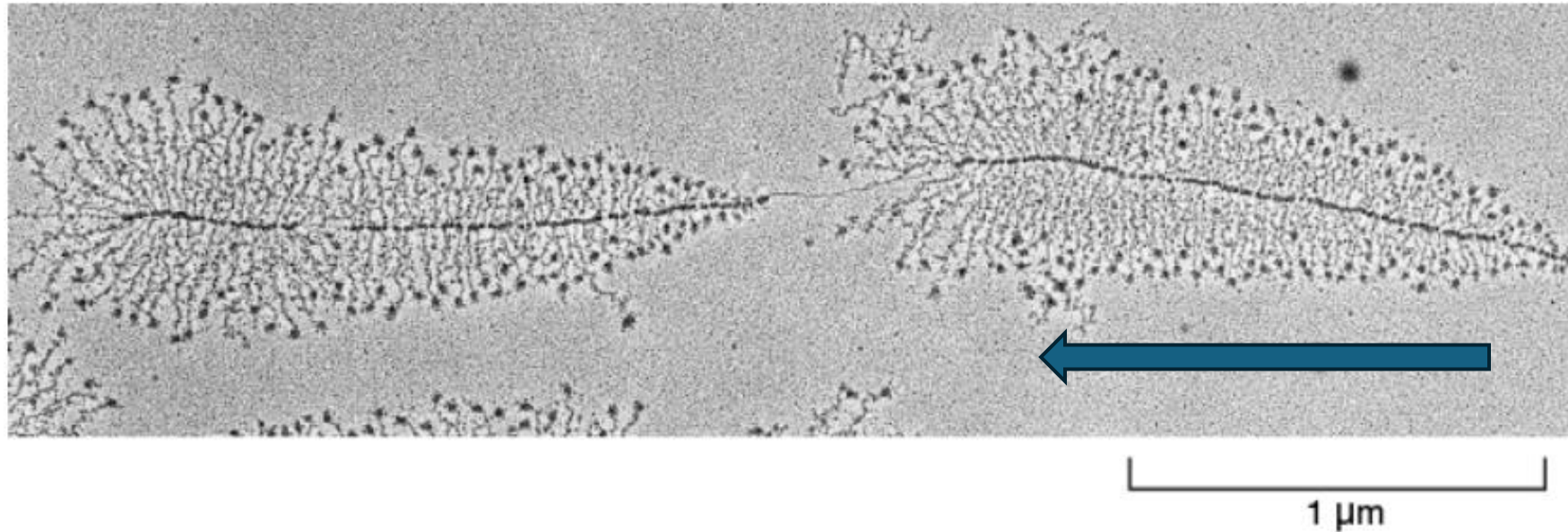
Un dato filamento può essere di senso per alcuni tratti e anti-senso per altri.



Eccezioni alla regola: In alcuni casi entrambi i filamenti possono essere usati come stampo:

- **Fago T4** → usa **alternativamente le due eliche** in diverse fasi dell'infezione.
- **Gene GnRH nei vertebrati** → possibile produzione di RNA complementari.

Dinamica della trascrizione



1. Velocità: fino a **50 nucleotidi al secondo**.

2. Efficienza: più molecole di RNA polimerasi possono trascrivere lo stesso gene simultaneamente → in un'ora si possono produrre oltre **1000 trascritti da un singolo gene**.

3. Processività: la stessa RNA polimerasi che inizia la trascrizione deve anche completarla (**non si stacca come avviene per frammenti nella replicazione del DNA**).

4. Vantaggio: la separazione rapida dell'RNA dal DNA consente **l'avvio di nuove trascrizioni prima che la precedente sia completata**.

Differenze RNA polimerasi vs DNA polimerasi

Tipo di substrato:

- DNA polimerasi → deossiribonucleotidi.
- RNA polimerasi → ribonucleotidi.

Inizio della sintesi:

- DNA polimerasi → richiede un **primer**.
- RNA polimerasi → può iniziare **de novo**, senza primer.

Origine evolutiva

- Struttura delle RNA polimerasi ≠ DNA polimerasi (eccetto lo ione Mg^{2+} nel sito attivo).
- Indica un'origine evolutiva **indipendente**:
 - Una linea → DNA polimerasi, trascrittasi inverse, alcune RNA polimerasi virali.
 - L'altra linea → tutte le RNA polimerasi cellulari moderne.

Accuratezza:

- DNA polimerasi: errori ~1 su 10^7 nucleotidi (con proofreading).
- RNA polimerasi: errori ~1 su 10^4 nucleotidi (Idrolisi con H_2O).

Correzione:

- DNA polimerasi: proofreading 3'→5'.
- RNA polimerasi: meccanismo di correzione modesto, può tornare indietro ed **escindere un nucleotide errato** tramite idrolisi con acqua.

Conseguenze degli errori:

- DNA → mutazioni permanenti.
- RNA → errori temporanei, non ereditati.

Classi principali di RNA

TABELLA 6.1 I tipi principali di RNA prodotti nelle cellule

Tipo di RNA	Funzione
mRNA	RNA messaggeri, che codificano proteine
rRNA	RNA ribosomiali, che formano la struttura base dei ribosomi e catalizzano la sintesi proteica
tRNA	RNA transfer, che hanno un ruolo centrale nella sintesi proteica come adattatori tra mRNA e amminoacidi
RNA della telomerasi	Serve come stampo per l'enzima telomerasi, che estende le estremità dei cromosomi
snRNA	Piccoli RNA nucleari, che intervengono in vari processi nucleari, compreso lo splicing del pre-mRNA
snoRNA	Piccoli RNA nucleolari, usati per processare e modificare chimicamente gli rRNA
lncRNA	Lunghi RNA non codificanti, che non sembrano avere tutti una funzione; alcuni servono da impalcatura e regolano diversi processi cellulari, compresa l'inattivazione del cromosoma X
miRNA	microRNA, che regolano l'espressione genica bloccando la traduzione di specifici mRNA e causandone la degradazione
siRNA	Piccoli RNA interferenti, che spengono l'espressione genica attraverso la degradazione di mRNA specifici e contribuendo alla creazione di strutture cromatiniche repressive
piRNA	RNA che interagiscono con piwi, che si legano alle proteine piwi e proteggono la linea germinale dagli elementi trasponibili

RNA Codificanti:

- **RNA messaggero (mRNA):** Copiati da geni che codificano proteine, dirigono la sintesi proteica.

RNA non codificanti: prodotto finale di molti geni, non tradotti in proteine.

- **rRNA (ribosomiale)** → struttura e funzione del ribosoma.
- **tRNA (transfer)** → adattano gli amminoacidi alla sequenza codon-anticodon durante la traduzione.
- **snRNA (small nuclear RNA)** → guidano lo **splicing** del pre-mRNA.
- **miRNA (microRNA)** e **siRNA (small interfering RNA)** → regolatori chiave dell'espressione genica.
- **piRNA (piwi-interacting RNA)** → protezione delle cellule germinali dai trasposoni.
- **lncRNA (long non-coding RNA)** → funzioni regolatorie, molte scoperte di recente (Es: l'**RNA della telomerasi**).

Trascrizione in Procarioti: Struttura dell'RNA polimerasi batterica

Core enzyme (apoenzima): formato da 4 subunità:

- 2 subunità α (peso 40 kDa)
- 1 subunità β (peso 150 kDa)
- 1 subunità β' (peso 160 kDa)

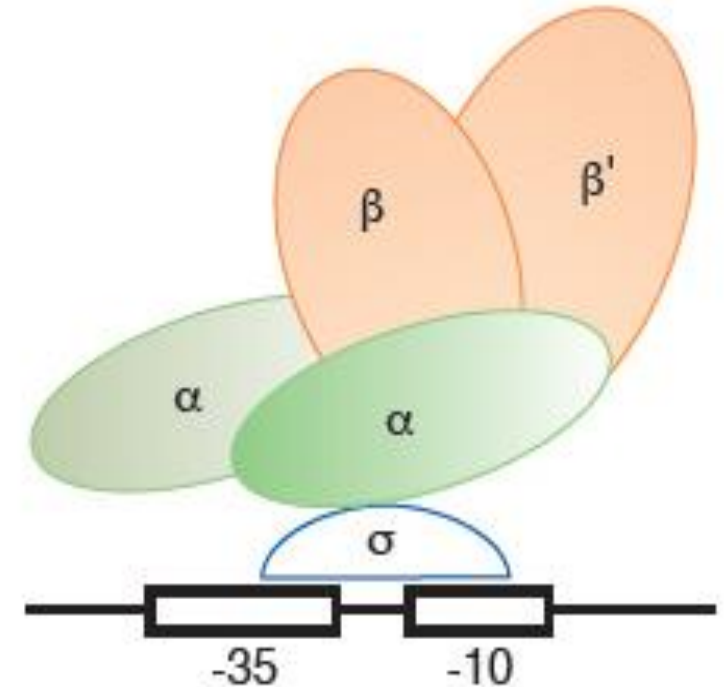
Subunità σ (sigma): essenziale per riconoscere i promotori e avviare la trascrizione.

Specificità della subunità σ :

- Esistono diverse forme di **σ -fattore**, ciascuna con specificità per differenti classi di promotori.
- Ogni σ riconosce sequenze particolari, permettendo la risposta a diversi **segnali regolatori**.
- **Conseguenza:** la cellula può trascrivere selettivamente geni specifici in base alle condizioni ambientali o fisiologiche.

Oloenzima: core + subunità σ $\rightarrow$ forma attiva che inizia la trascrizione.

Subunità ω (omega): identificata ma funzione non completamente chiarita.



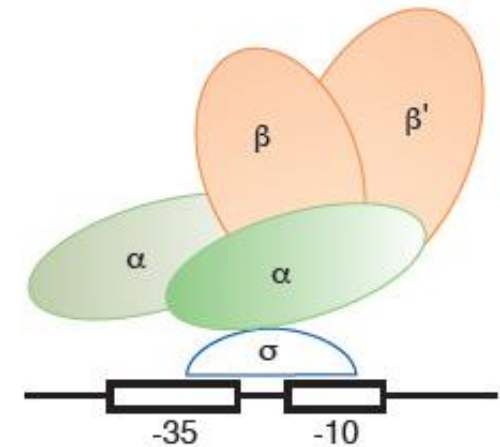
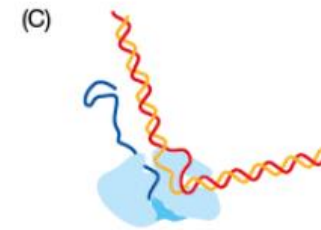
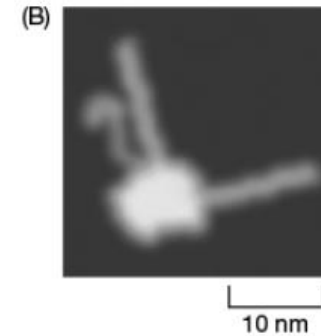
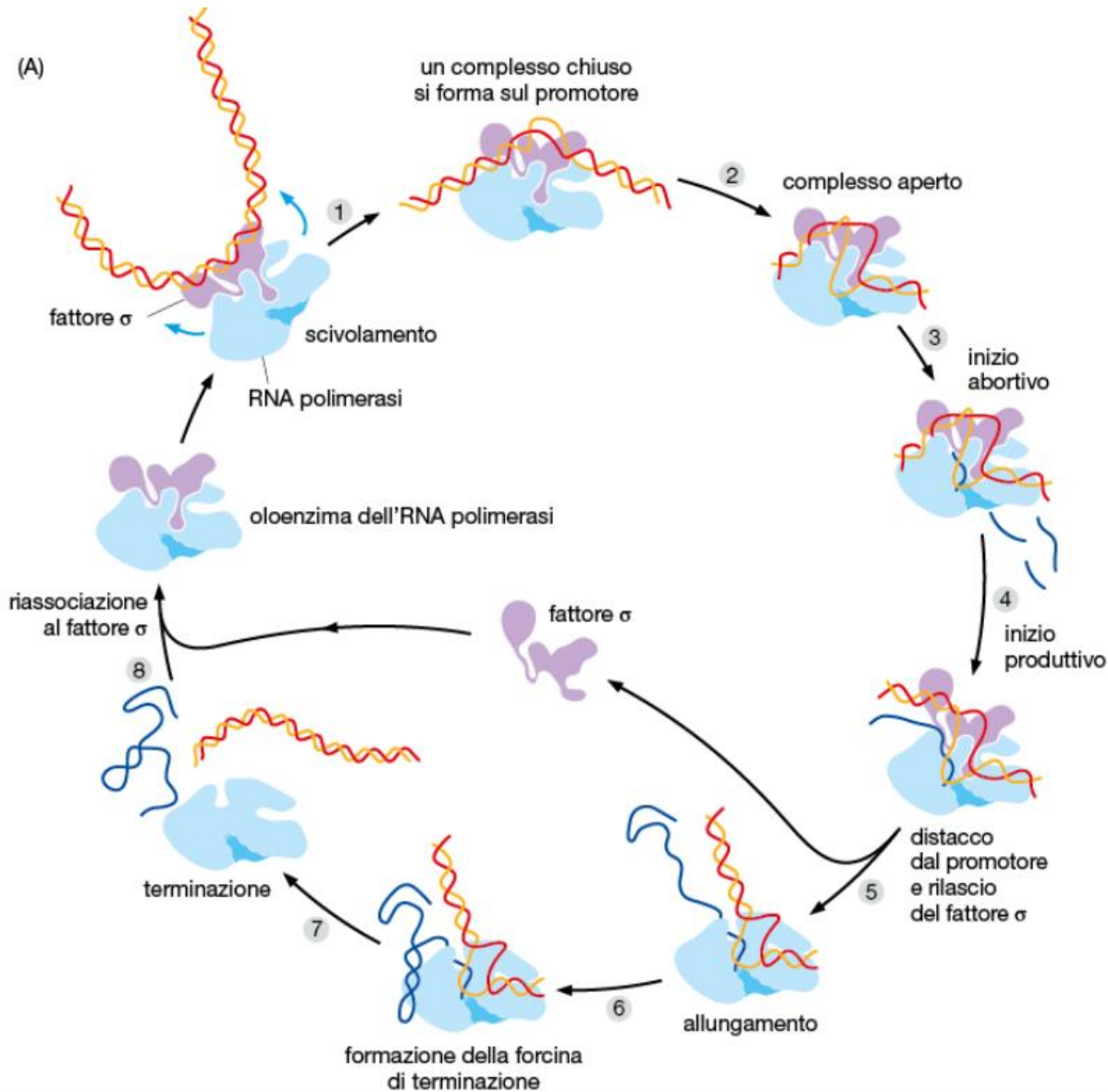
Trascrizione in Procarioti: Promotore

Promotore procariotico



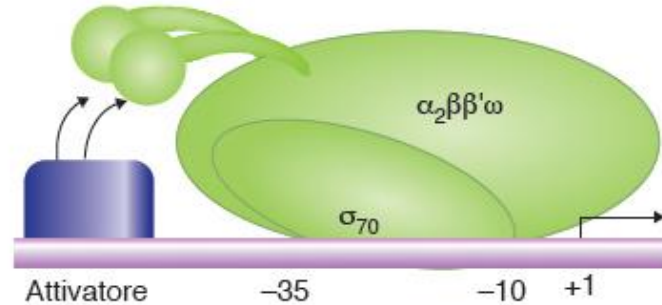
- La **sequenza** di DNA **cui si lega la RNA polimerasi** per iniziare la trascrizione di un gene si chiama promotore.
 - La **regione a monte del sito di inizio** della trascrizione **contiene due serie di sequenze** che sono simili in una varietà di geni.
 - Queste sequenze comuni contengono **6 nt ciascuna** e si trovano approssimativamente **10 e 35 basi a monte del sito di inizio** della trascrizione e sono chiamate elementi **-10 e -35**, dalla loro posizione relativa al sito di inizio della trascrizione, che è definito come la posizione **+1**
1. **Sequenza -35** (posizionata a circa 35 nucleotidi dall'inizio della trascrizione).
 2. **Sequenza -10 o Pribnow box** (*ricca in A-T*, facilita apertura elica).
 3. **Il punto di inizio della trascrizione** è indicato come **+1**.

Trascrizione in Procarioti



1. **Formazione oloenzima e riconoscimento promotore.**
2. **Apertura della doppia elica di DNA** → formazione **bolla trascrizionale** (~10 nucleotidi).
3. **Sintesi iniziale dell'RNA** (fase di **inizio abortivo**: rilascio di brevi RNA non produttivi).
4. **Superata la soglia di ~10 nucleotidi** → la polimerasi rompe le interazioni con il promotore.
5. **Rilascio del fattore σ** → passaggio alla fase di **allungamento**.
6. **Polimerasi avanza sul DNA**, allungando l'RNA a 50 nt/sec.
7. **Arrivo al segnale di terminazione** → rilascio di DNA e RNA.
8. **Il core enzimatico si riassocia a un nuovo fattore σ** e riparte.

Trascrizione in Procarioti



Dinamica della trascrizione

- La trascrizione **non procede a velocità costante**:
 - Pause** in corrispondenza di regioni ricche in **C-G** (più stabili per 3 legami idrogeno).
- RNA polimerasi può necessitare di **attivatori** per stabilizzarsi sul promotore.

Attivatori della trascrizione

- CAP (Catabolite Activator Protein)**: in *E. coli*, potenzia la trascrizione di geni per il catabolismo di lattosio (Lac) e galattosio (Gal).
- Interazioni:
 - Con **Gal**, CAP si lega vicino al promotore e interagisce con entrambe le estremità (N- e C-terminale) della subunità α .
 - Con **Lac**, CAP si lega più a monte del promotore e interagisce solo con il C-terminale di α .
- La subunità α presenta diversi siti di contatto per attivatori multipli.**

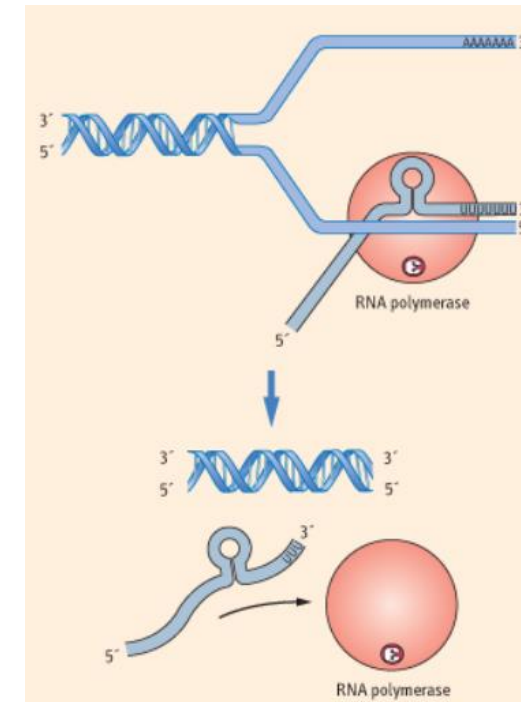
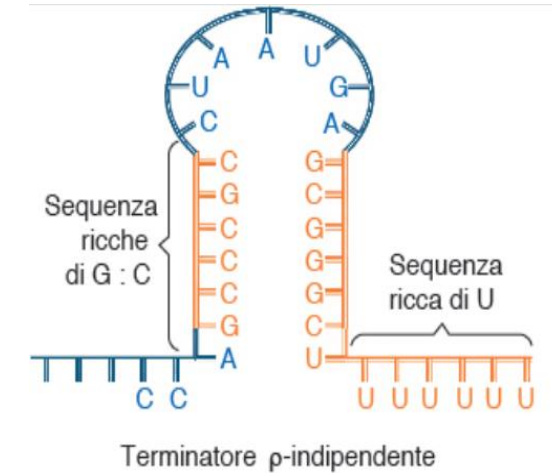
Trascrizione in Procarioti: Terminazione della trascrizione

- La trascrizione **non procede a velocità costante**:
 - Pause** in corrispondenza di regioni ricche in **C-G** (più stabili per 3 legami idrogeno).
- Nei batteri, la terminazione avviene principalmente in due modalità:
 - p-indipendente** (intrinseca)
 - p-dipendente** (proteina accessoria p)

Entrambi i meccanismi sfruttano particolari caratteristiche del DNA/trascritto e le pause fisiologiche della polimerasi.

Terminazione p-indipendente (intrinseca) - È il meccanismo più semplice e diffuso

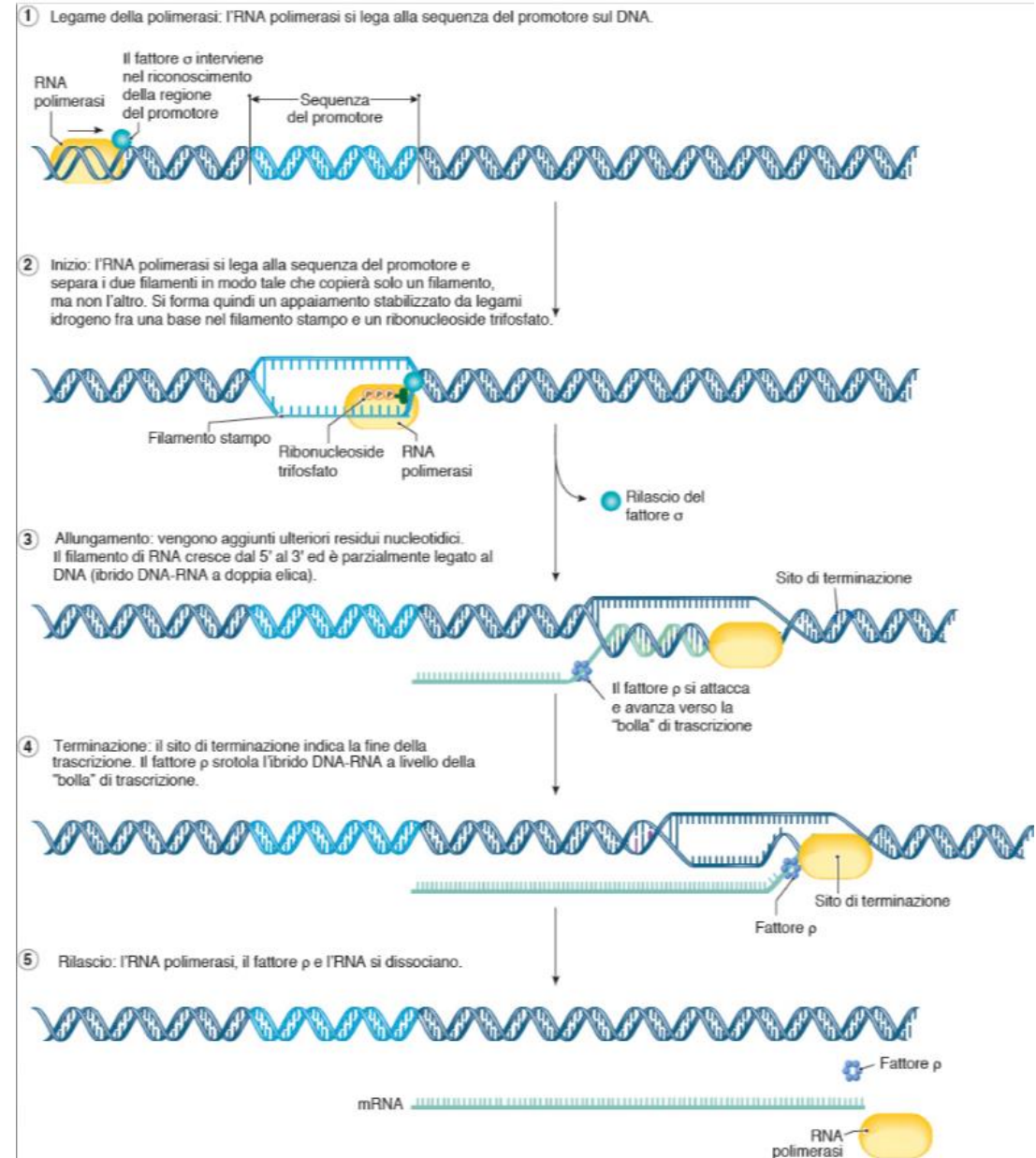
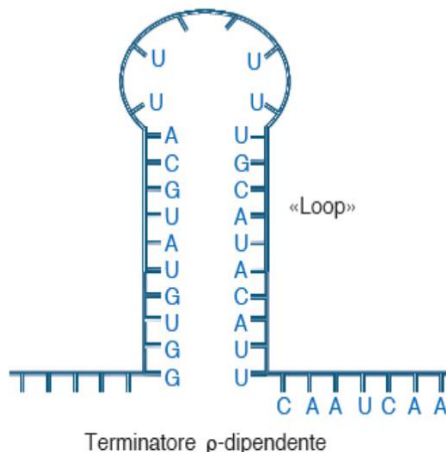
- Presenza di **sequenze ricche in C-G**.
- Struttura **palindromica** → trascritto RNA forma **ansa a forcina (hairpin loop)**.
- La formazione della **forcina destabilizza l'interazione con il DNA** stampo.
- Il **trascritto si stacca spontaneamente** dal complesso trascrizionale.



Trascrizione in Procarioti: Terminazione della trascrizione

Terminazione ρ -dipendente

- **Proteina ρ :** Tetramero con attività **ATPasica** per muoversi.
- **ρ si lega all'RNA nascente** su di una sequenza specifica (**sito rut**).
- **Si sposta lungo l'RNA inseguendo l'RNA polimerasi** a velocità costante.
- Raggiunge la polimerasi **in prossimità di un loop**.
- **Favorisce il distacco del trascritto** e la dissociazione del complesso



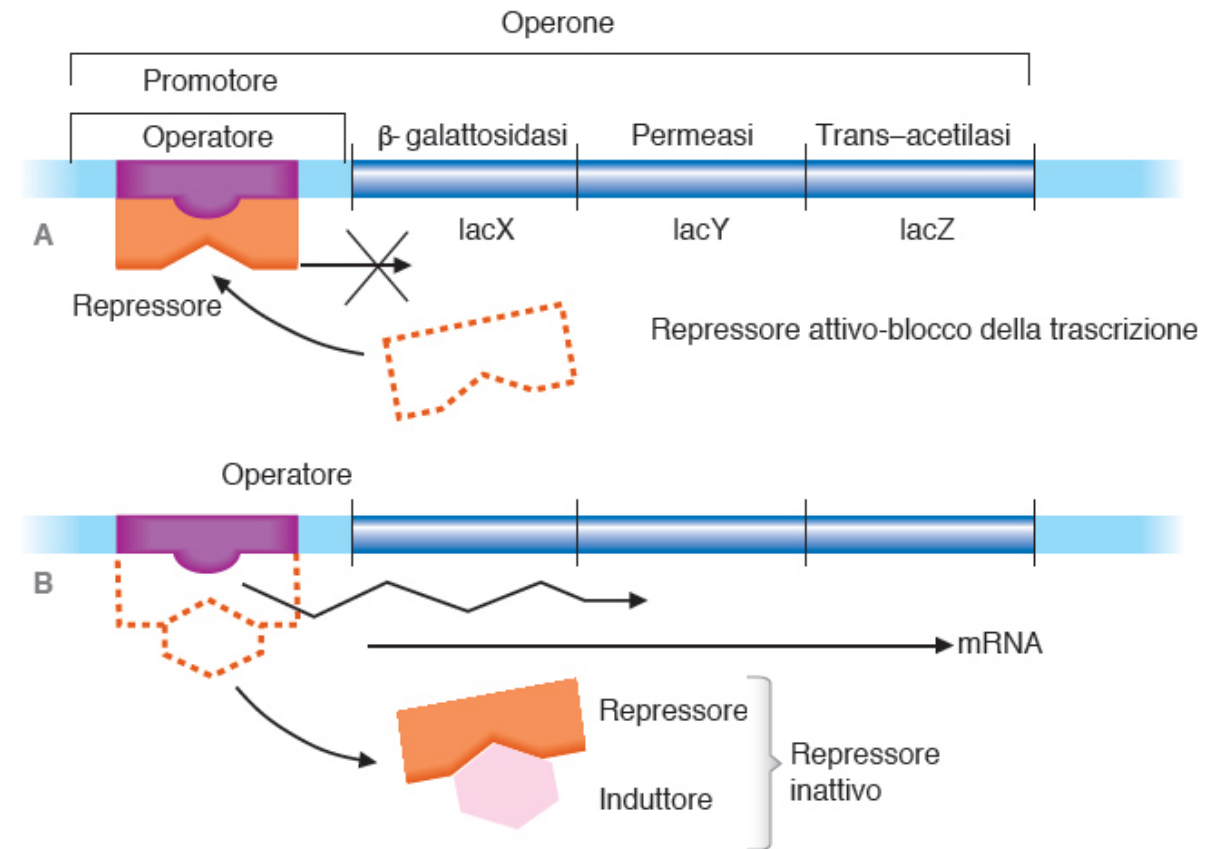
Definizione di operone

- Un **operone** è un tratto di DNA composto da:
 - **Promotore** → sito di legame della RNA polimerasi.
 - **Operatore** → sequenza regolativa dove agiscono repressori/attivatori.
 - **Geni strutturali** → codificano proteine coinvolte in una stessa funzione biologica.
- Trascrizione unica → mRNA **policistronico** → più proteine da un unico trascritto.

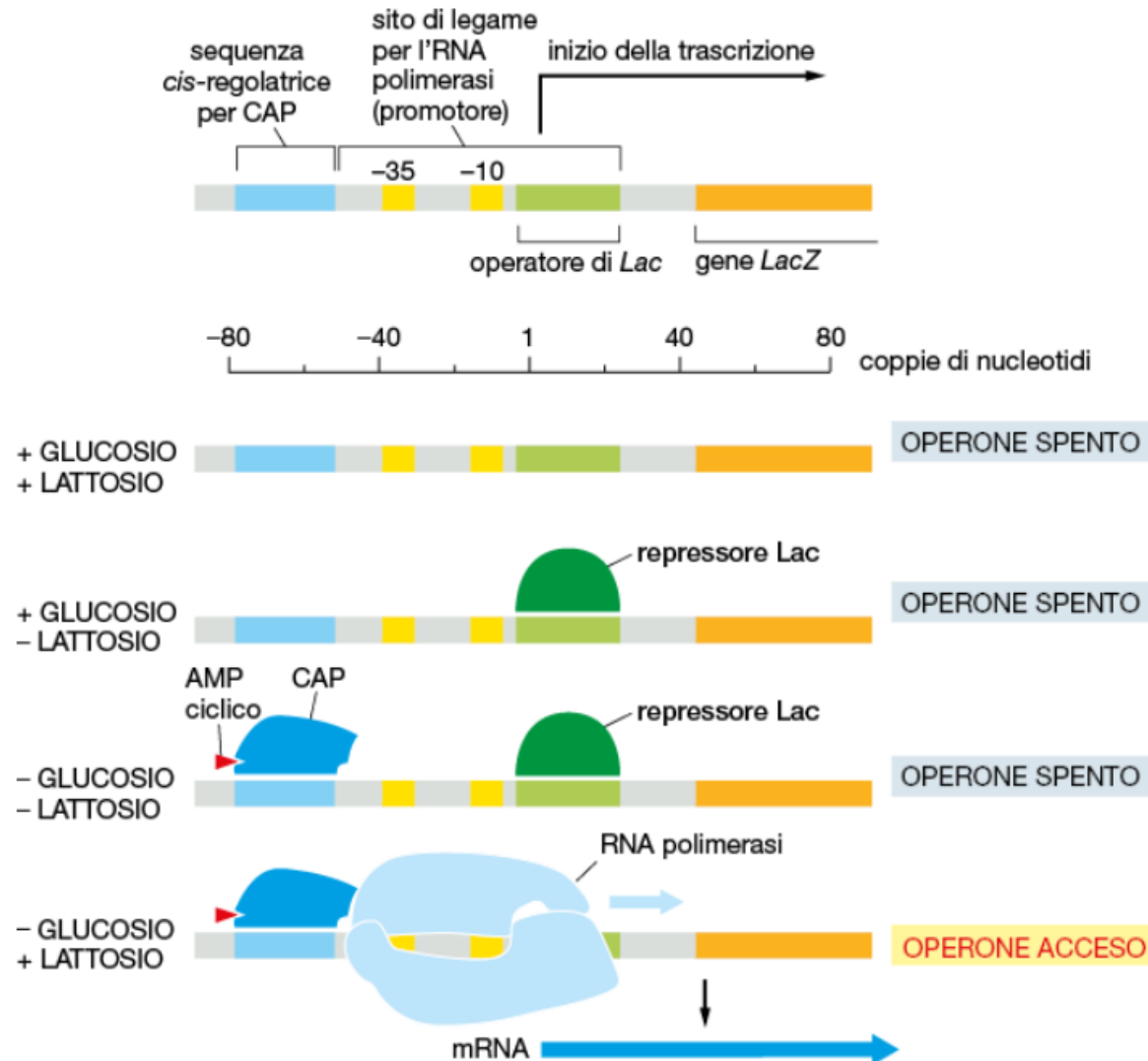
- **Inducibili** → si attivano in presenza del substrato.
 - Generalmente **catabolici** (degradazione).
- **Reprimibili** → si spengono in presenza del prodotto finale.
 - Generalmente **anabolici** (sintesi).
- Il substrato può agire da **induttore** o **corepressore**.

- Geni strutturali:
 - **lacZ** → β -galattosidasi (scinde lattosio in glucosio + galattosio).
 - **lacY** → permeasi (trasporto del lattosio nella cellula).
 - **lacA** → trans-acetilasi (funzione meno chiara).
- Regolazione duplice:
 - **Negativa** → repressore Lac.
 - **Positiva** → complesso cAMP-CAP.

Trascrizione in Procarioti: Operone Lac



Trascrizione in Procarioti: Operone Lac



Logica cellulare → i geni si accendono **solo se serve**.

Il ruolo dell'attivatore CAP (Catabolite Activator Protein)

- Il livello di **cAMP** aumenta quando il **glucosio è assente**.
- CAP + cAMP → si lega al DNA e attiva geni che permettono l'uso di **zuccheri alternativi** (tra cui il lattosio).
- Senza glucosio → la cellula cerca altre fonti di carbonio.

Il ruolo del repressore Lac

L'operone Lac → codifica proteine per importare e digerire il lattosio.

In assenza di lattosio:

- Il **repressore Lac** si lega all'operatore Lac.
- Blocca la trascrizione.

In presenza di lattosio:

- Lattosio → convertito in **allolattosio**.
- L'allolattosio si lega al repressore Lac → cambio conformazionale.
- Il repressore si stacca dal DNA.

Trascrizione negli Eucarioti

Le RNA polimerasi eucariotiche

- Nei batteri → un solo tipo di RNA polimerasi.
- Negli eucarioti → **3 RNA polimerasi nucleari**:
 - **RNA polimerasi I** → trascrive rRNA (eccetto 5S).
 - **RNA polimerasi II** → trascrive la maggioranza dei geni (inclusi quelli proteici).
 - **RNA polimerasi III** → trascrive tRNA, 5S rRNA e piccoli RNA.
- Strutturalmente simili, condividono subunità.
- La **RNA polimerasi II (Pol II)** è il focus principale.

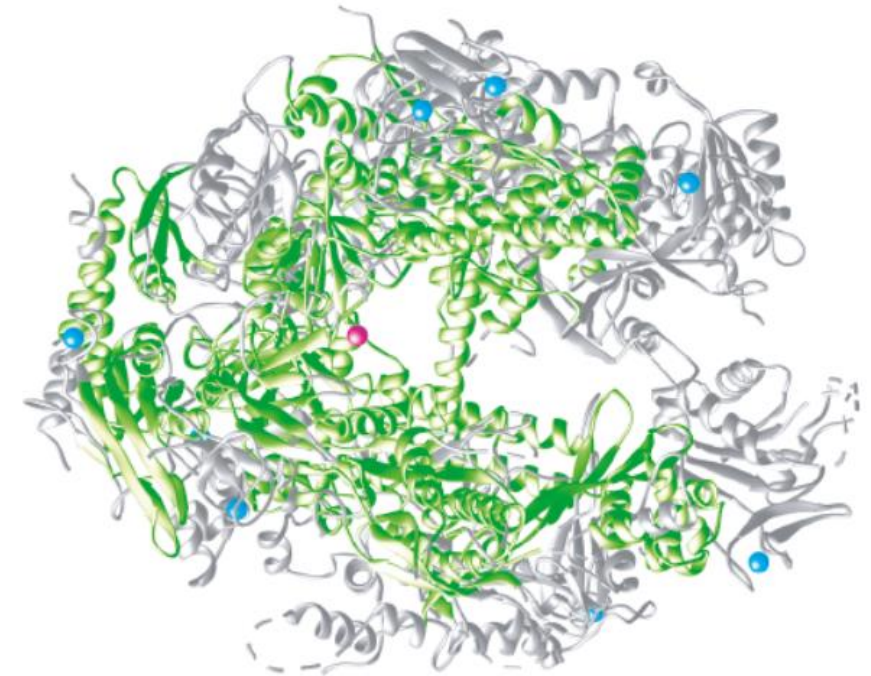


TABELLA 6.2 Le tre RNA polimerasi delle cellule eucariote

Tipo di polimerasi	Geni trascritti
RNA polimerasi I	Geni degli rRNA 5.8S, 18S e 28S
RNA polimerasi II	Tutti i geni che codificano proteine, più i geni di snoRNA, di miRNA, di siRNA, di lncRNA e la maggior parte dei geni di snRNA
RNA polimerasi III	Geni di tRNA, di rRNA 5S, alcuni geni di snRNA e geni per altri piccoli RNA

Gli rRNA vengono definiti in base al loro valore "S", che si riferisce alla loro velocità di sedimentazione in un'ultracentrifuga. Maggiore è il valore S, più grande è l'rRNA.

- **Pol II** e batterica → simili nella struttura di base.
- Differenze:
 - Pol II più grande (12 subunità vs 5).
 - Siti catalitici simili → Mg^{2+} al centro attivo.
 - Zn^{2+} come componenti strutturali.
 - RNA polimerasi in batteri, archei, eucarioti → stretta parentela evolutiva → origini comuni.

Necessità di fattori generali di trascrizione

Mentre l'**RNA polimerasi batterica** per iniziare la trascrizione richiede **un unico fattore di inizio (σ)**, le RNA polimerasi **eucariote hanno bisogno di molte altre proteine**, chiamate ***fattori generali di trascrizione***.

L'inizio della trascrizione negli eucarioti deve tenere conto del **compattamento del DNA nei nucleosomi** e in forme di ordine superiore di struttura della cromatina, caratteristiche assenti nei cromosomi batterici.

- La Pol II **non riconosce da sola i promotori**.
- Servono **fattori generali di trascrizione (GTFs)**:
 - Aiutano a posizionare la polimerasi sul promotore.
 - Separano i filamenti di DNA.
 - Favoriscono la transizione da inizio → allungamento.
- Nomenclatura: **TFII + lettera** (es. TFIID, TFIIIB, TFIIH).
- Funzioni simili al **fattore σ** batterico.

TABELLA 6.3 I fattori generali di trascrizione necessari per l'inizio della trascrizione da parte dell'RNA polimerasi II eucariote

Nome	Numero di subunità	Ruoli nell'inizio della trascrizione
TFIID	12	Riconosce i TATA box e altre sequenze di DNA vicine al punto di inizio della trascrizione
TFIIB	1	Riconosce l'elemento BRE dei promotori; posiziona accuratamente l'RNA polimerasi nel punto di inizio della trascrizione
TFIIA	2	Non è richiesto in tutti i promotori; stabilizza il legame di TFIID
TFIIF	3	Stabilizza l'interazione dell'RNA polimerasi con TFIIB; aiuta ad attrarre TFIIIE e TFIIH
TFIIIE	2	Attrae e regola TFIIH
TFIIH	10	Svolge il DNA nel punto di inizio della trascrizione, fosforila Ser5 del dominio C-terminale dell'RNA polimerasi (CDT), rilascia l'RNA polimerasi dal promotore

TFIID è composto da TBP e da 11 ulteriori subunità chiamate TAF (*TBP-Associated Factor*, fattori associati a TBP).

Sequenze Consensus

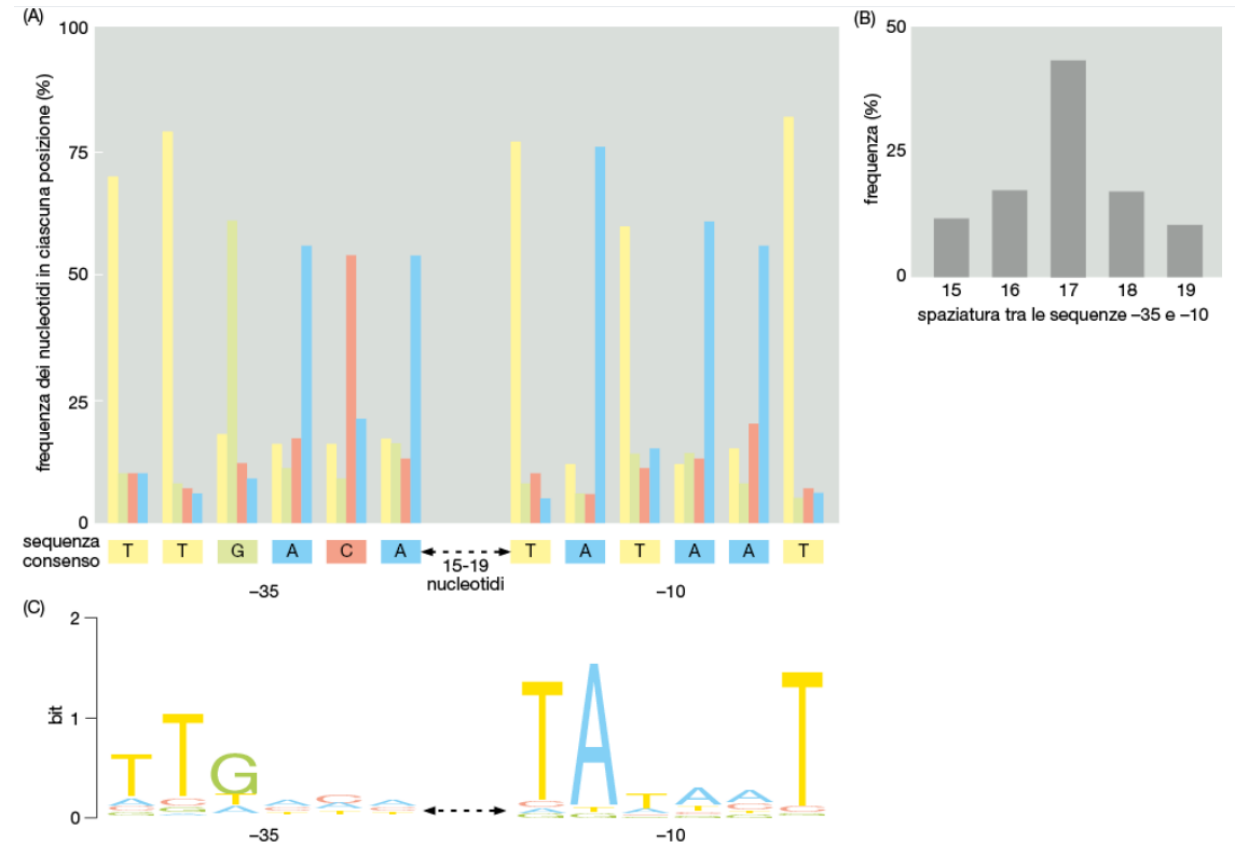
L'RNA polimerasi II riconosce il promotore caratterizzato da una sequenza particolare definita **TATA box** per la sua composizione in **adenine e timine**.

- Questa sequenza è localizzata ad una distanza compresa **fra -30 a -25 nucleotidi** dal sito di inizio.
- **Talvolta è necessaria** anche **un'altra sequenza**, distante circa **-80 nucleotidi** dal sito di inizio, definita **CAAT box**.

I promotori per l'RNA polimerasi I e l'RNA polimerasi III non hanno né TATA box né CAAT box.

L'RNA polimerasi I riconosce **due sequenze**:

- **L'elemento promotore core**, situato da **-35 a +15** rispetto al punto di inizio della trascrizione,
- **L'elemento promotore a monte**, che si trova da **-150 a -50**.

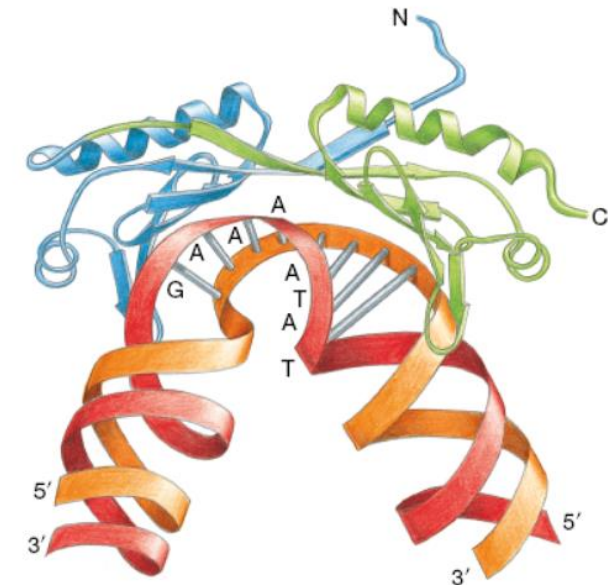


TATA box e TFIID

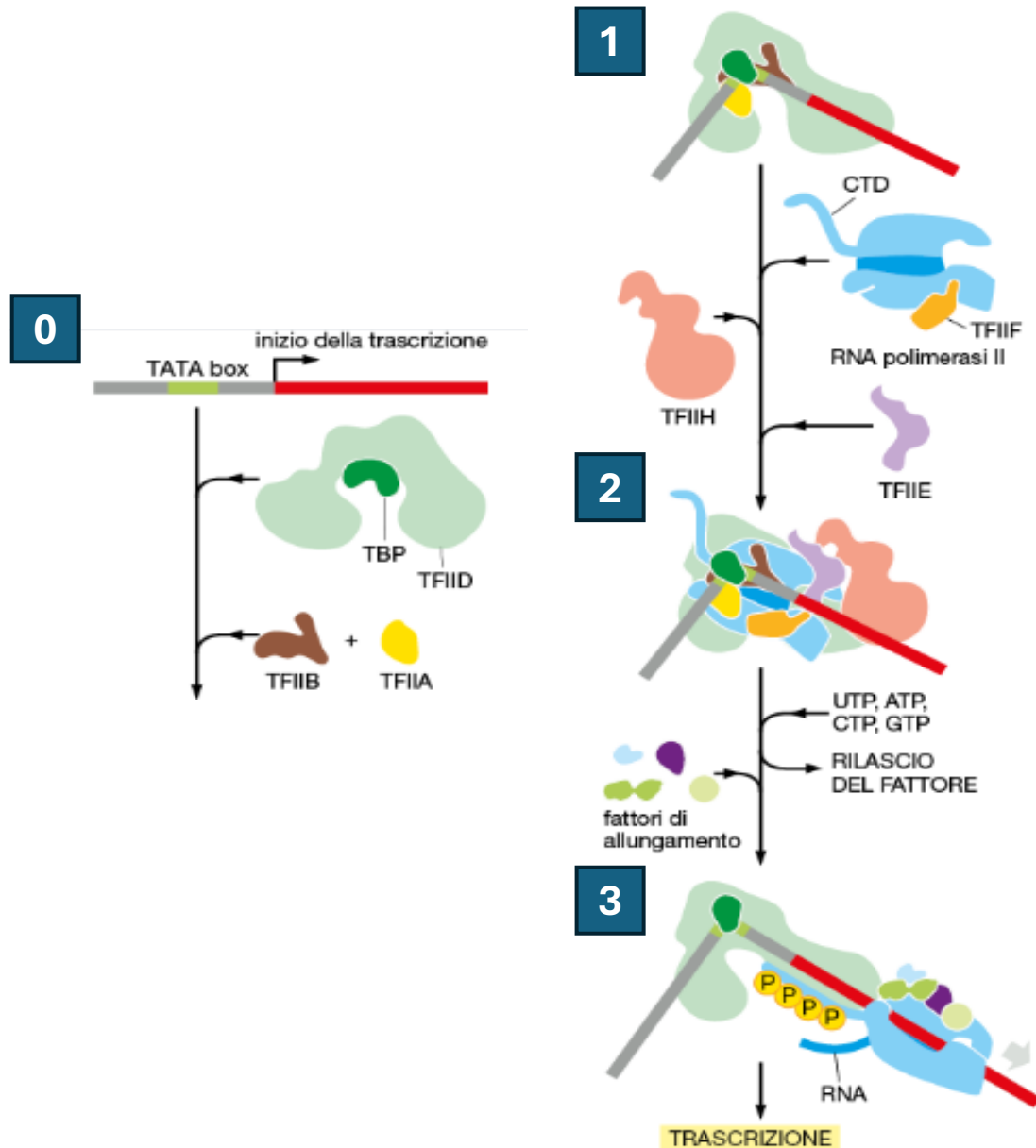
- **TATA box** è riconosciuta dalla subunità **TBP (TATA-Binding Protein)** di TFIID.
- Il momento chiave dell'attività dell'RNA polimerasi II è il **riconoscimento della TATA box** da parte della **TBP** (TATA-Binding Protein), che è una componente di TFIID.
- TBP è **associata** a 8-12 fattori altamente conservati denominati **TAF (TBP Associated Factors)**.
- Il complesso **TBP-TAF** costituisce **TFIID**.
- Legame **TBP** → **distorsione del DNA** (curvatura + apertura locale).
- Questa distorsione:
 - Funziona da **punto di riferimento** nel genoma.
 - **Favorisce l'assemblaggio** di altri fattori di trascrizione.



elemento	sequenza consenso	fattore generale di trascrizione
BRE	G/C G/C G/A C G C C	TFIIB
TATA	T A T A A/T A A/T	TBP subunità di TFIID
INR	C/T C/T A N T/A C/T C/T	TFIID
DPE	A/G G A/T C G T G	TFIID



Assemblaggio del complesso di inizio



1. TFIID (con TBP) si **lega al TATA box**. Attacco di **TFIIB** e **TFIIA**.

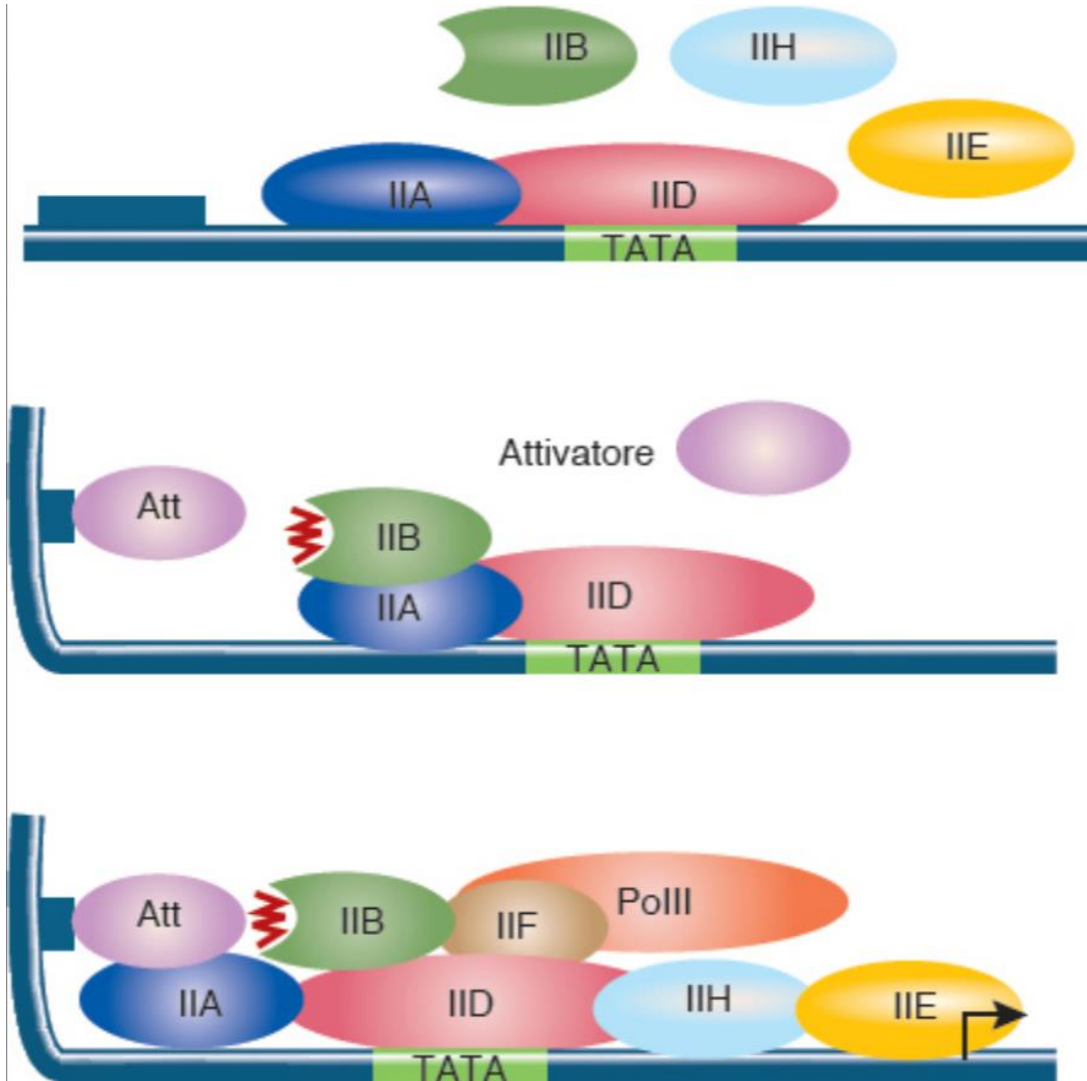
- Questo è un altro momento fondamentale, perché **TFIIB** lega un **attivatore più a monte sul DNA**, direttamente o indirettamente attraverso un coattivatore, **generando la formazione di una curva (bending)** sul DNA che è essenziale per la trascrizione.

2. Reclutamento di RNA polimerasi II + fattori generali addizionali.

3. Formazione del complesso di inizio completo (pre-initiation complex, PIC).

- Si legano, poi, **TFIIE/F**, **TFIIH** e **TFIIJ** ed il core dell'RNA polimerasi II per consentire lo **srotolamento del DNA** e l'inizio della sintesi dell'mRNA

Assemblaggio del complesso di inizio



1. **TFIID (con TBP)** si **lega al TATA box**. Attacco di **TFIIB** e **TFIIA**.

- Questo è un altro momento fondamentale, perché **TFIIB** lega un **attivatore più a monte sul DNA**, direttamente o indirettamente attraverso un coattivatore, **generando la formazione di una curva (bending)** sul DNA che è essenziale per la trascrizione.

2. **Reclutamento di RNA polimerasi II + fattori generali addizionali.**

3. **Formazione del complesso di inizio completo** (pre-initiation complex, PIC).

- Si legano, poi, **TFIIE/F**, **TFIIH** e **TFIIJ** ed il core dell'RNA polimerasi II per consentire lo **srotolamento del DNA** e l'inizio della sintesi dell'mRNA

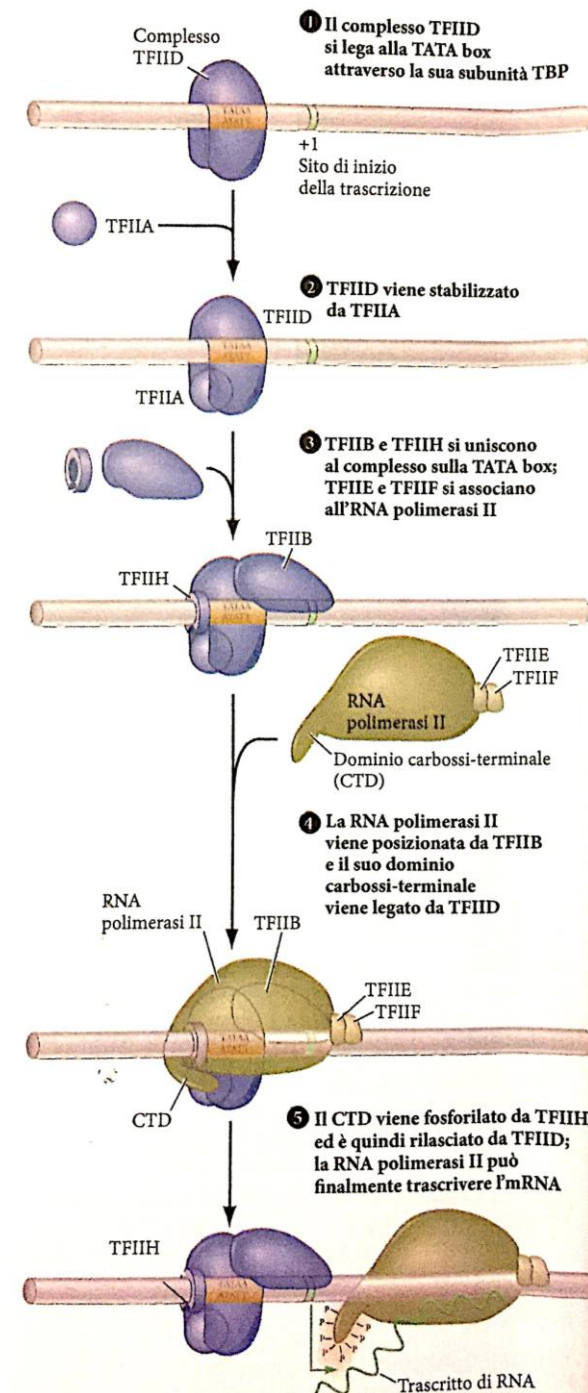
Il ruolo di TFIID e l'inizio della Fase di Allungamento

Fattore generale più complesso (10 subunità).

- **Funzioni:**
 - **Attività elicasi** → usa ATP per **aprire la doppia elica** nel punto di inizio.
 - **Attività chinasi** → fosforila la **coda CTD** (C-Terminal Domain) di Pol II.
- **Fosforilazione CTD** (Ser5 delle ripetizioni eptapeptidiche):
 - **Libera Pol II dal promotore.**
 - **Avvia la fase di allungamento.**
 - **Recluta enzimi per la modifica del trascritto nascente.**

La coda CTD della RNA Pol II

- CTD = **52 ripetizioni** di un motivo di **7 amminoacidi** (nell'uomo).
- Funzioni:
 - **Coordinazione inizio/allungamento.**
 - **Piattaforma per reclutare proteine** che processano l'RNA.
- Durante trascrizione:
 - **Diverse chinasi fosforilano** posizioni specifiche.
 - → Controllo temporale e funzionale della trascrizione.



I Fattori di Trascrizione Specifici: Recettori Nucleari

Struttura dei recettori nucleari 3 domini principali:

- **Dominio di legame al DNA.**
- **Dominio di legame al ligando.**
- **Dominio di attivazione trascrizionale.**

Il **legame del ligando** induce **chiusura conformazionale** del dominio (come un “coperchio”) e **crea il sito** per l'interazione con **co-attivatori**.

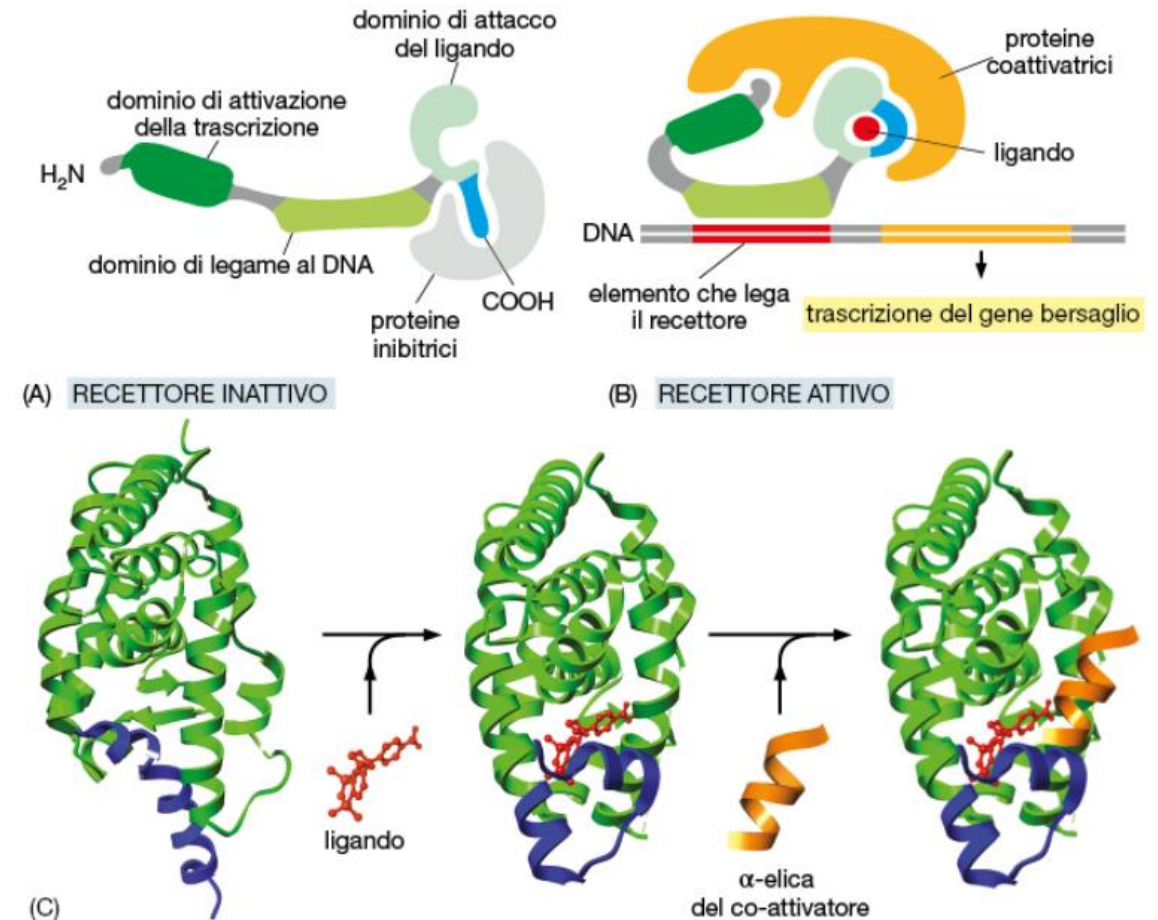
Meccanismo di attivazione

I recettori nucleari si legano a **sequenze specifiche di DNA** (elementi risposta, es. **SRE = Steroid Responsive Element**).

- **Stato inattivo:** legati a **complessi inibitori**.
- **Legame del ligando** → **cambiamento conformazionale**:
 - Dissociazione inibitori.
 - Reclutamento di **co-attivatori** (attivano trascrizione) o **co-repressori** (inibiscono trascrizione).

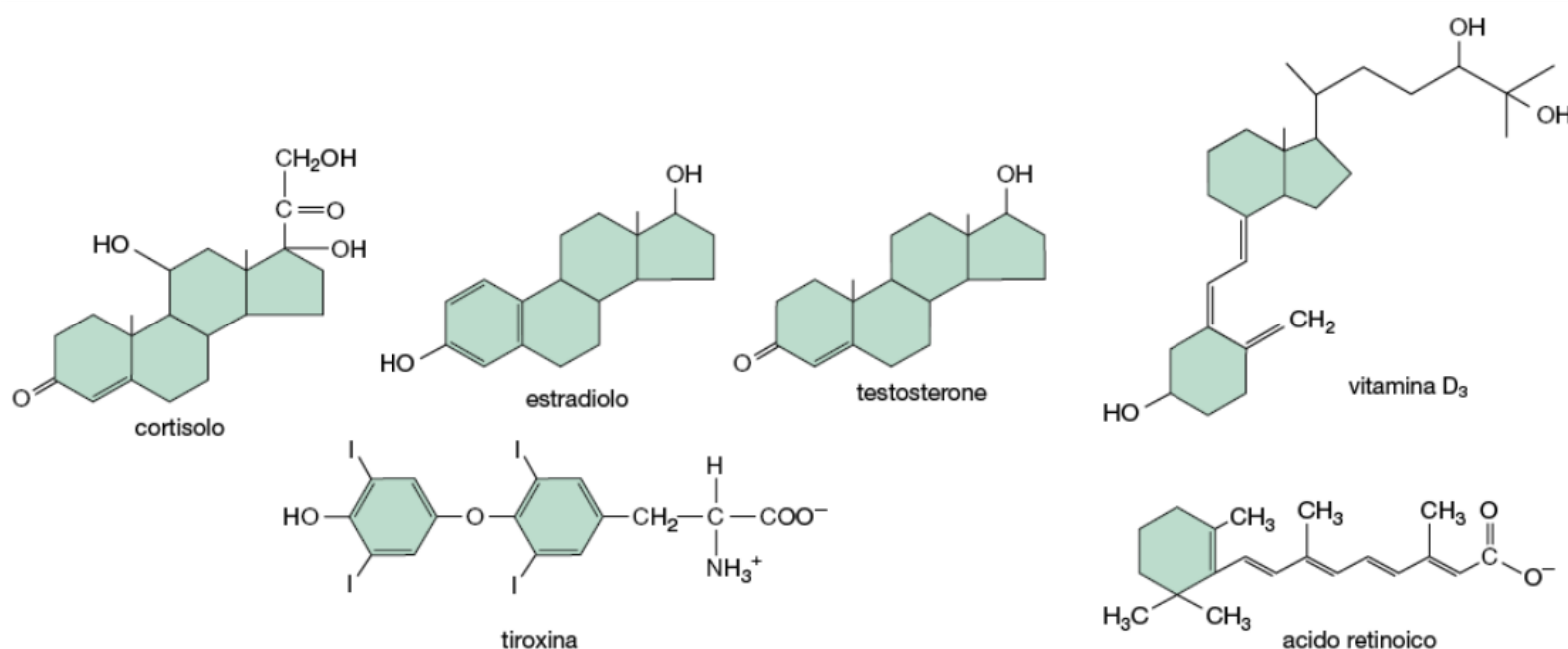
Localizzazione:

- Alcuni (es. recettore del cortisolo) → citosolici, entrano nel nucleo solo dopo legame col ligando.
- Altri (es. recettore tiroideo, retinoidi) → già associati al DNA in assenza di ligando.



I Fattori di Trascrizione Specifici: Recettori Nucleari

- Questi recettori agiscono sia come **recettori del segnale** sia come **effettori trascrizionali**, controllando l'espressione genica.
- Strutturalmente appartengono alla grande **superfamiglia dei recettori nucleari**, comprendente anche i **recettori orfani** (ligandi sconosciuti) e recettori che rispondono a metaboliti intracellulari (es. PPAR → metabolismo lipidico).



Ormoni e Molecole Segnale

- **Ormoni steroidei** (cortisolo, estrogeni, testosterone, progesterone, vitamina D, ecdisone negli insetti): derivano dal colesterolo.
- **Ormoni tiroidei**: derivati della tirosina, aumentano la velocità metabolica.
- **Retinoidi**: derivati dalla vitamina A, regolano lo sviluppo.
- Queste molecole sono poco solubili in acqua, perciò viaggiano nel sangue legate a **proteine trasportatrici** e si liberano prima di entrare nelle cellule bersaglio.

Complessità della trascrizione eucariote in vivo

- Il modello di trascrizione studiato **in vitro** (DNA nudo + proteine purificate) è semplificato.
- Nella cellula, il DNA è compattato in **nucleosomi e cromatina**.
- L'inizio della trascrizione richiede quindi proteine aggiuntive:
 - **Attivatori trascrizionali.**
 - **Complesso Mediatore.**
 - **Enzimi di modifica della cromatina.**

Modifica della cromatina

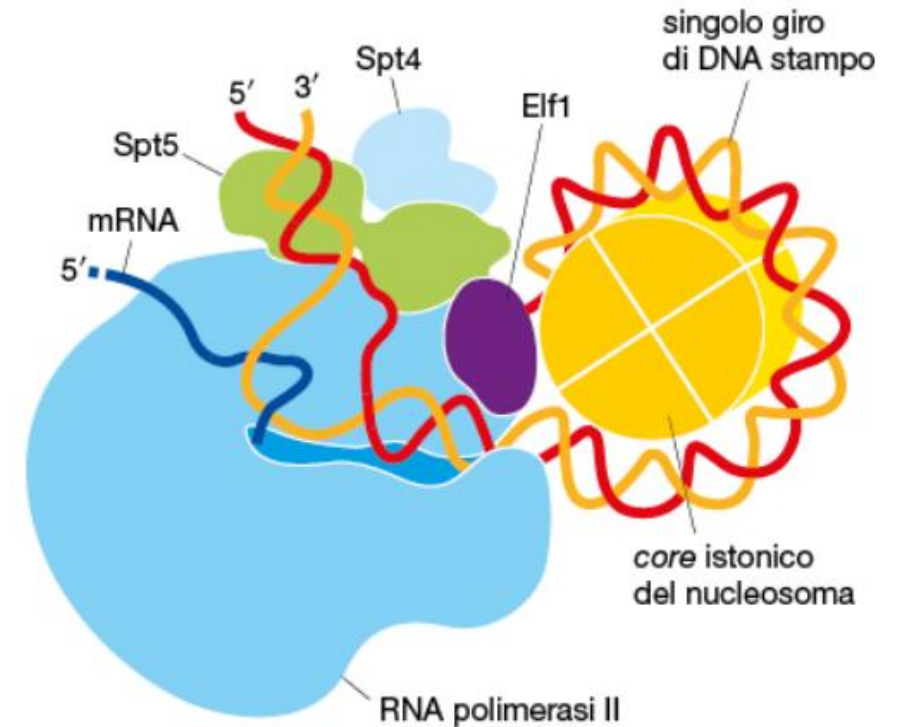
• **Cromatina = stato di default compatto** → ostacolo alla trascrizione.

• Enzimi richiesti:

- **Complessi di rimodellamento della cromatina** (ATP-dipendenti).
- **Enzimi modificatori degli istoni** (es. istone acetilasi).

• Effetti:

- Aumentano l'accessibilità del DNA ai fattori di trascrizione.
- Permettono l'assemblaggio della Pol II sui promotori.

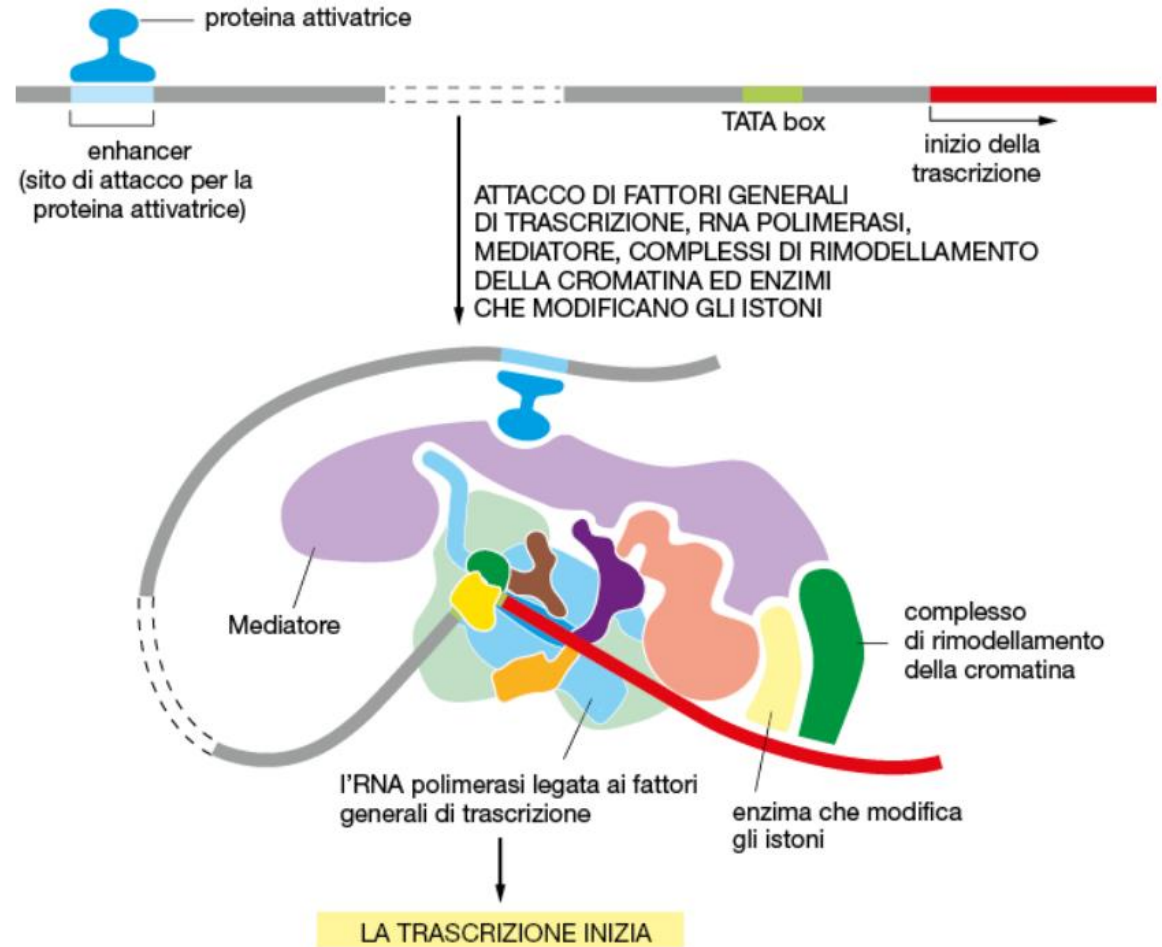


Il complesso Mediatore

- Gigantesco complesso multiproteico (decine di subunità).
- Ponte tra **attivatori** → **Pol II + GTFs**.
- Ruoli principali:
 - Trasmette i segnali regolativi.
 - Posiziona **TFIIH** vicino al CTD della polimerasi II.
 - Favorisce la fosforilazione del CTD → rilascio della Pol II e inizio trascrizione.
- Coordina l'assemblaggio completo del macchinario trascrizionale.

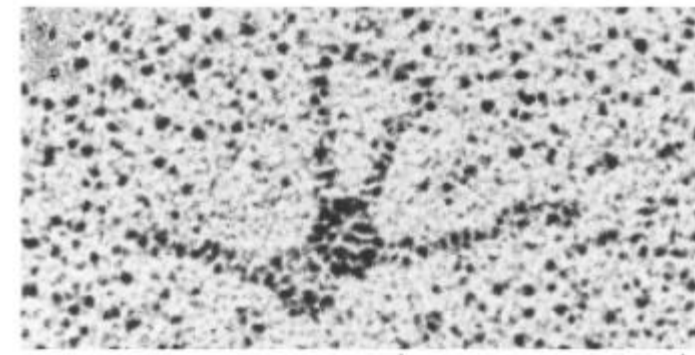
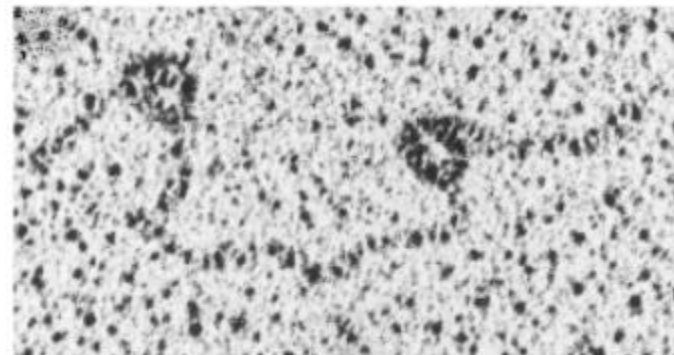
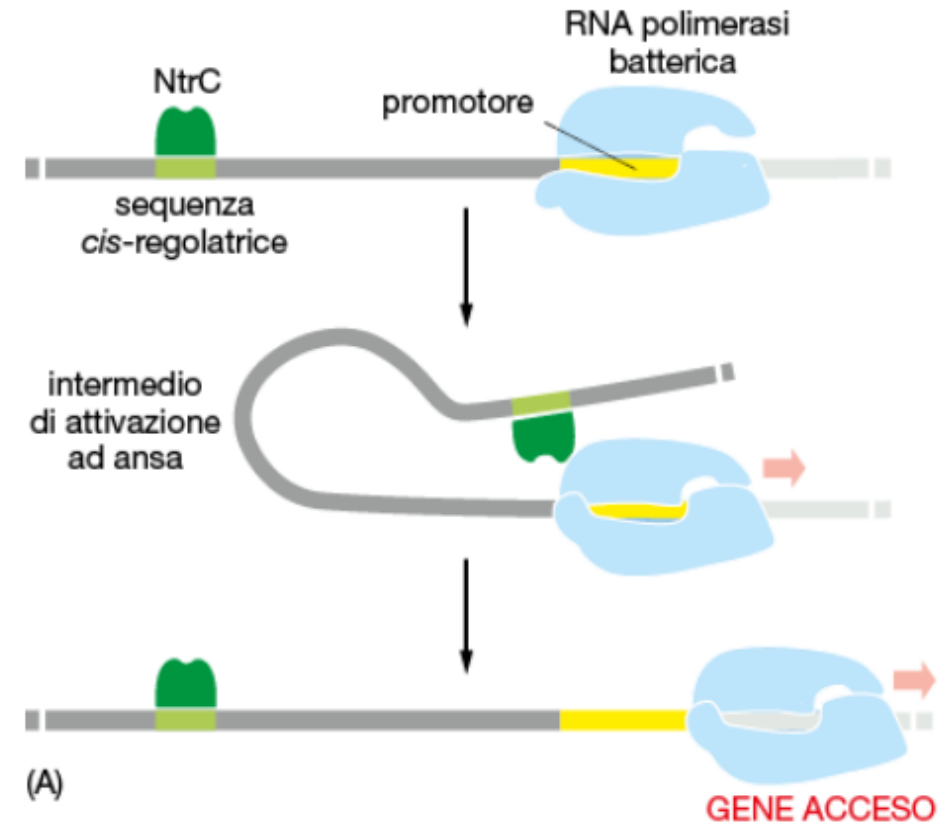
Panoramica dell'inizio della trascrizione in vivo

- Per un tipico gene umano → >100 subunità proteiche coinvolte.
- Richiesti simultaneamente:
 - **Pol II.**
 - **Fattori generali di trascrizione (TFII).**
 - **Attivatori legati agli enhancer.**
 - **Mediatore.**
 - **Complessi di cromatina** (rimodellamento + acetilasi).

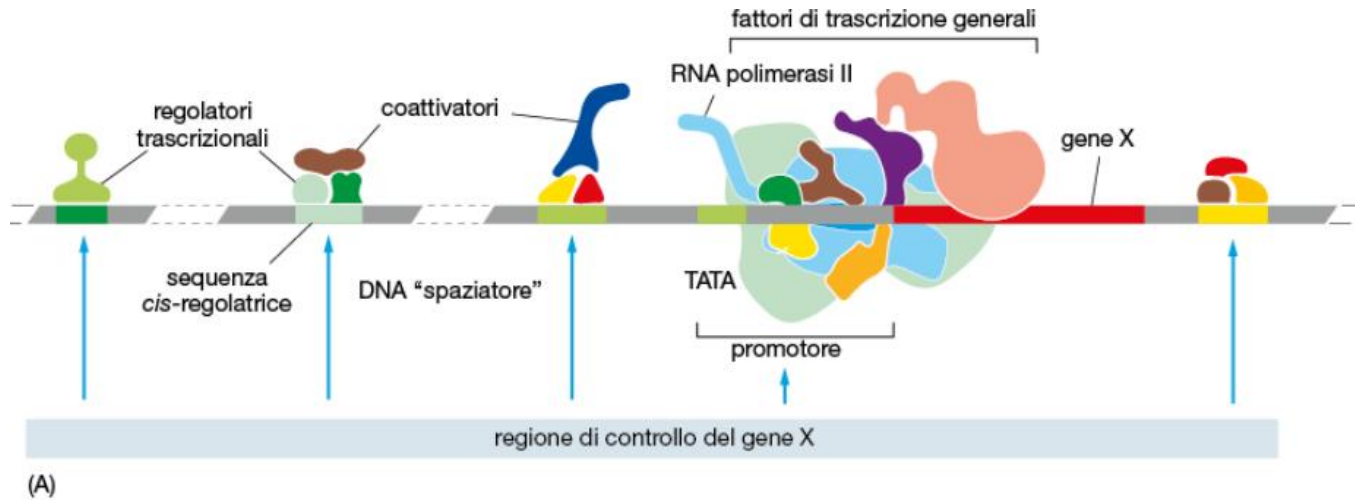


L'Attivazione Trascrizionale a Distanza: Procarioti

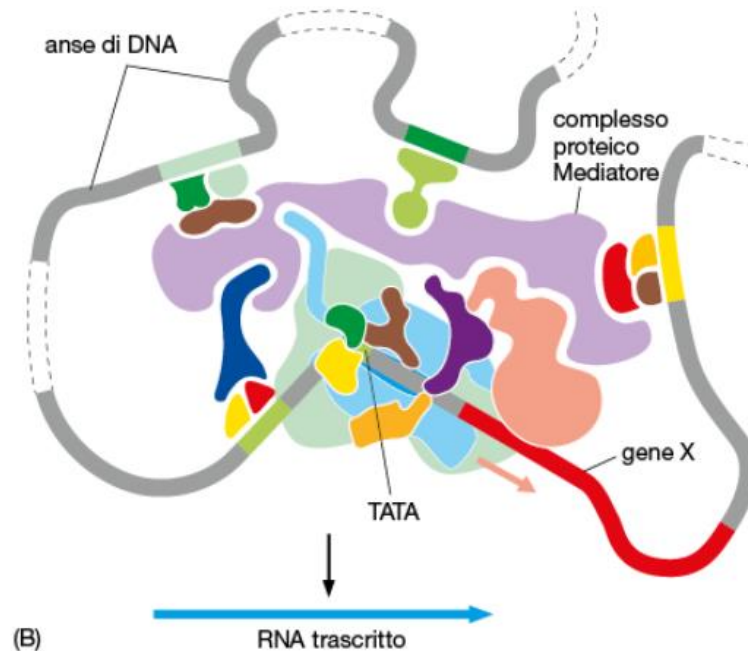
- Una volta legati al DNA, i regolatori trascrizionali positivi (**attivatori**) aiutano l'RNA pol a **iniziare la trascrizione**, mentre i regolatori negativi (**repressori**) lo **impediscono**
- **Nei batteri** le **interazioni** tra i regolatori e l'RNA pol sono per la maggior parte **dirette**
- La **formazione di anse di DNA** permette alle proteine regolatrici di **interagire tra loro** anche a lunga **distanza**



L'Attivazione Trascrizionale a Distanza: Eucarioti



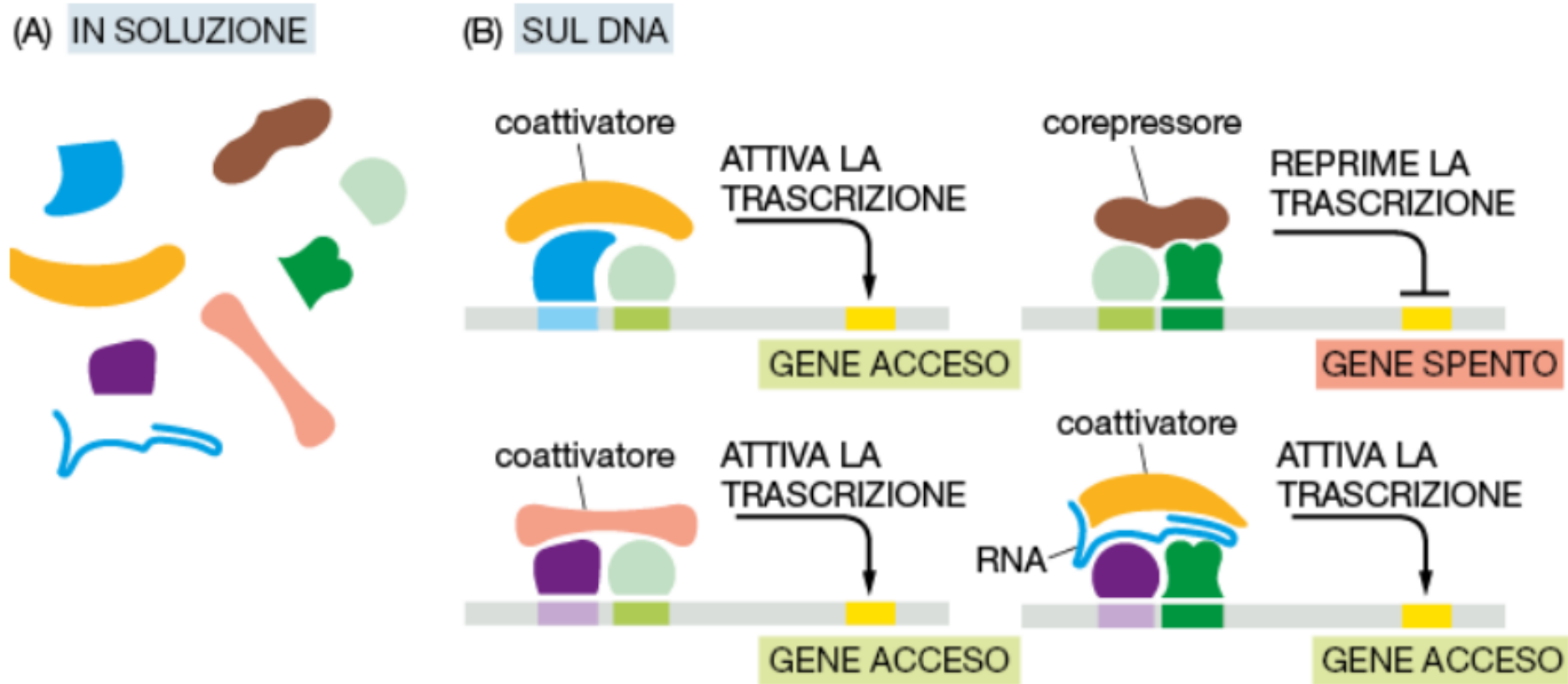
- Al contrario, queste interazioni **negli eucarioti** sono **quasi sempre indirette**: varie proteine intermedie, come gli **istoni** e un grande complesso proteico noto come **Mediatore**, agiscono tra il regolatore trascrizionale legato al DNA e l'RNA pol



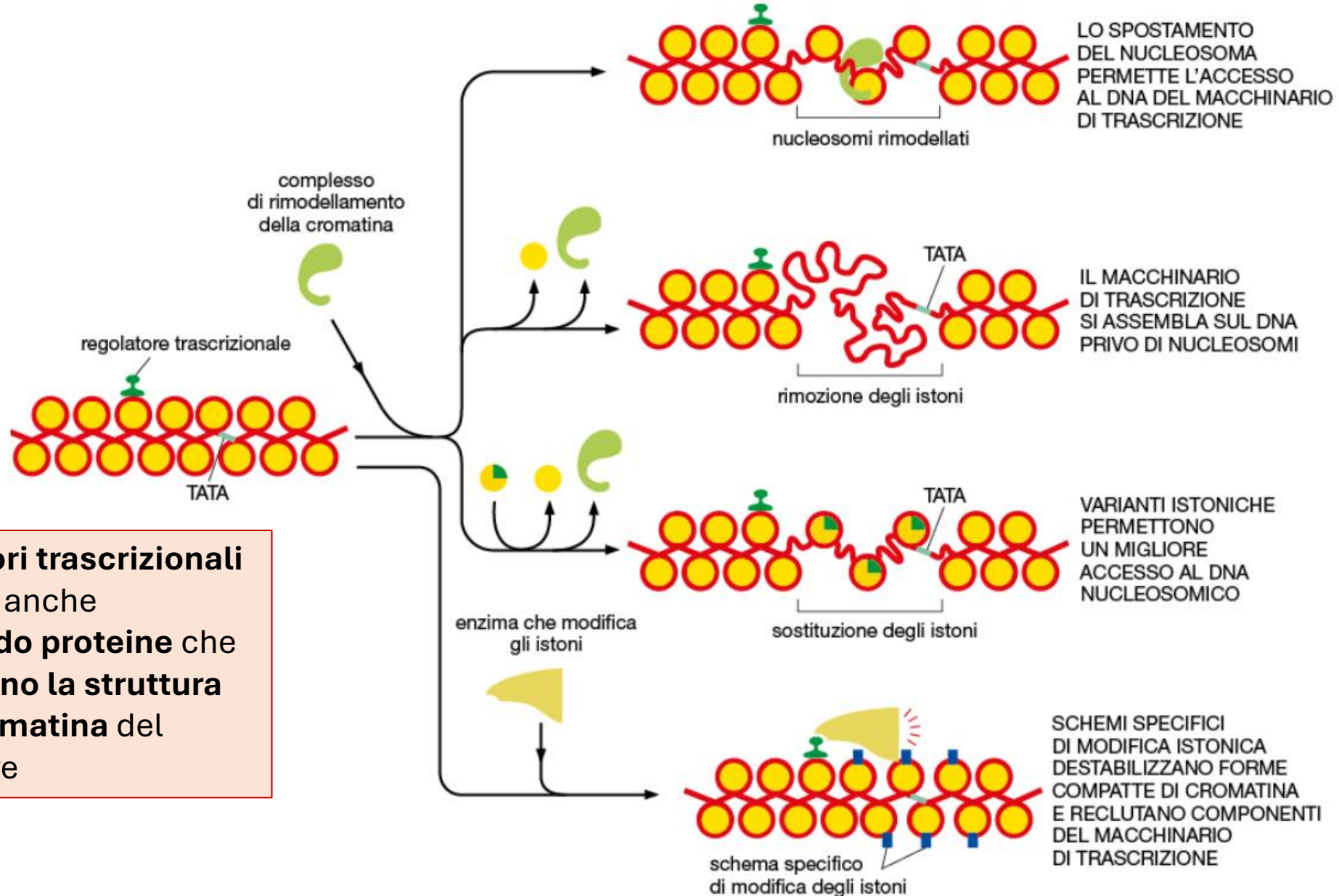
- Le **sequenze cis-regolatrici** possono trovarsi adiacenti al promotore, molto a monte di esso, o persino all'interno degli introni o completamente a valle del gene (anche a decine di migliaia di nt di **distanza**).
- Il **looping del DNA consente** ai regolatori trascrizionali legati in molte posizioni di **"comunicare"** con le proteine che si assemblano al promotore.
- Mentre il **Mediatore** e i **fattori di trascrizione generali** sono gli **stessi per tutti i geni** trascritti dall'**RNA pol II**, i regolatori trascrizionali e le posizioni dei loro siti di legame rispetto al promotore differiscono per ogni gene.

Regolazione Trascrizionale Coordinata

Inoltre, negli **organismi pluricellulari** è piuttosto comune che **decine di regolatori** trascrizionali **controllino un singolo gene**

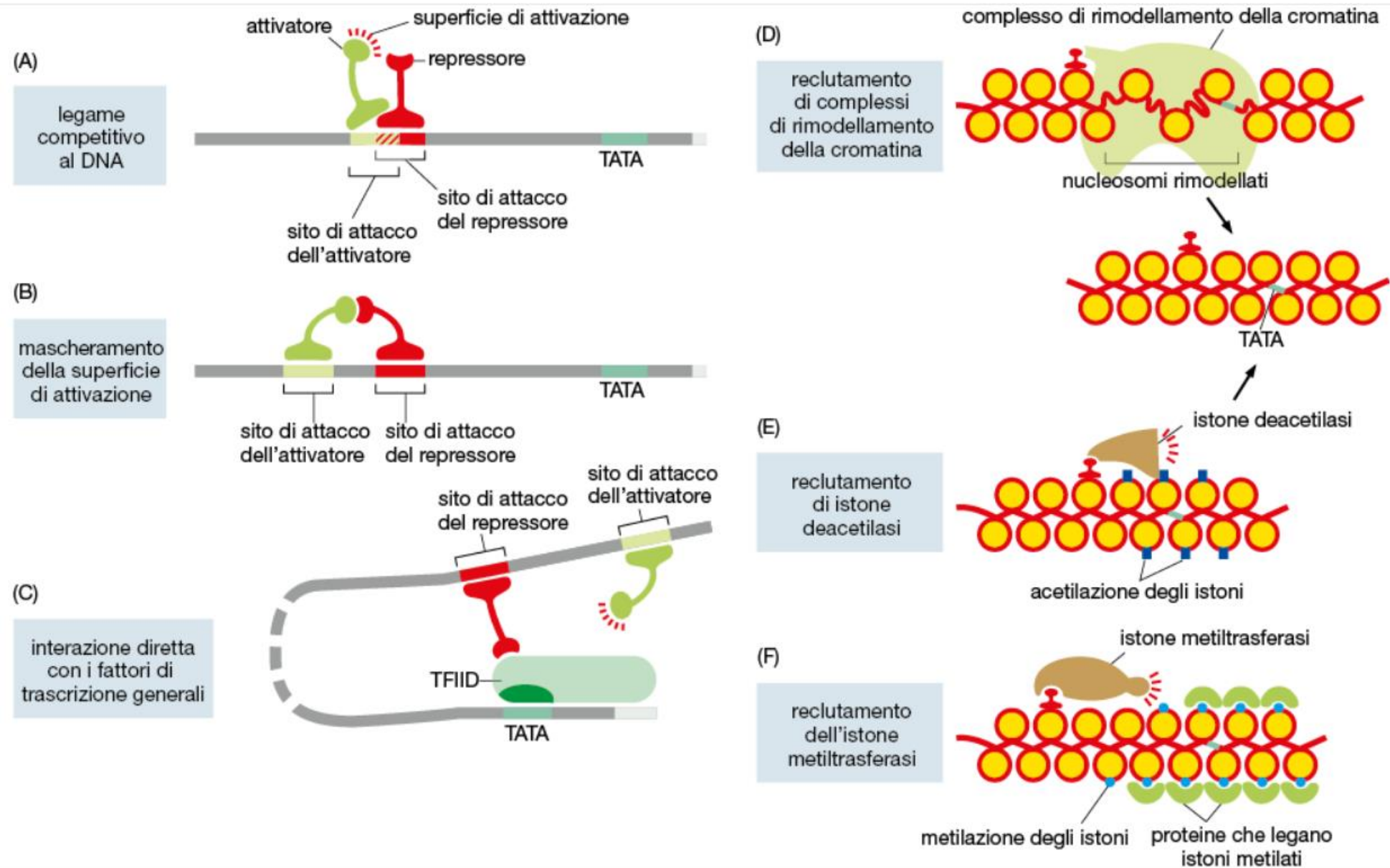


Regolazione Trascrizionale: Rimodellamento della Cromatina



I regolatori trascrizionali agiscono anche reclutando proteine che modificano la struttura della cromatina del promotore

Regolazione Trascrizionale: Rimodellamento della Cromatina



Regolazione Trascrizionale: Gli Isolatori

Gli **isolatori bloccano direzionalmente l'azione delle sequenze *cis*-regolatrici**, mentre **le sequenze barriera impediscono la diffusione dell'eterocromatina**.

Il modo in cui verosimilmente le sequenze barriera funzionano:

- Le **proteine che legano gli isolatori (in viola)** mantengono la **cromatina in anse**, favorendo in questo modo le associazioni corrette tra le sequenze *cis*-regolatrici e i geni.
- Pertanto, il gene B viene correttamente regolato e la sequenza regolatrice di B non può più influenzare la trascrizione del gene A.
- La principale proteina che lega gli isolatori nei mammiferi è denominata CTCF.

