

Lezione 9

Il Controllo dell'Espressione Genica negli Eucarioti

- trascrizionale, post-trascrizionale, traduzionale e post-traduzionale.
- La Metilazione del DNA
- Editing dell'RNA.
- La regolazione della stabilità del messaggero (Deadenilazione e decapucciamento, miRNA ed RNA interference).

La maturazione delle proteine

- L'importanza del corretto ripiegamento delle proteine.
- Le proteine chaperon.
- Gli errori di ripiegamento delle proteine.
- Cenni sui prioni.

Regolazione dell'attività biologica delle proteine

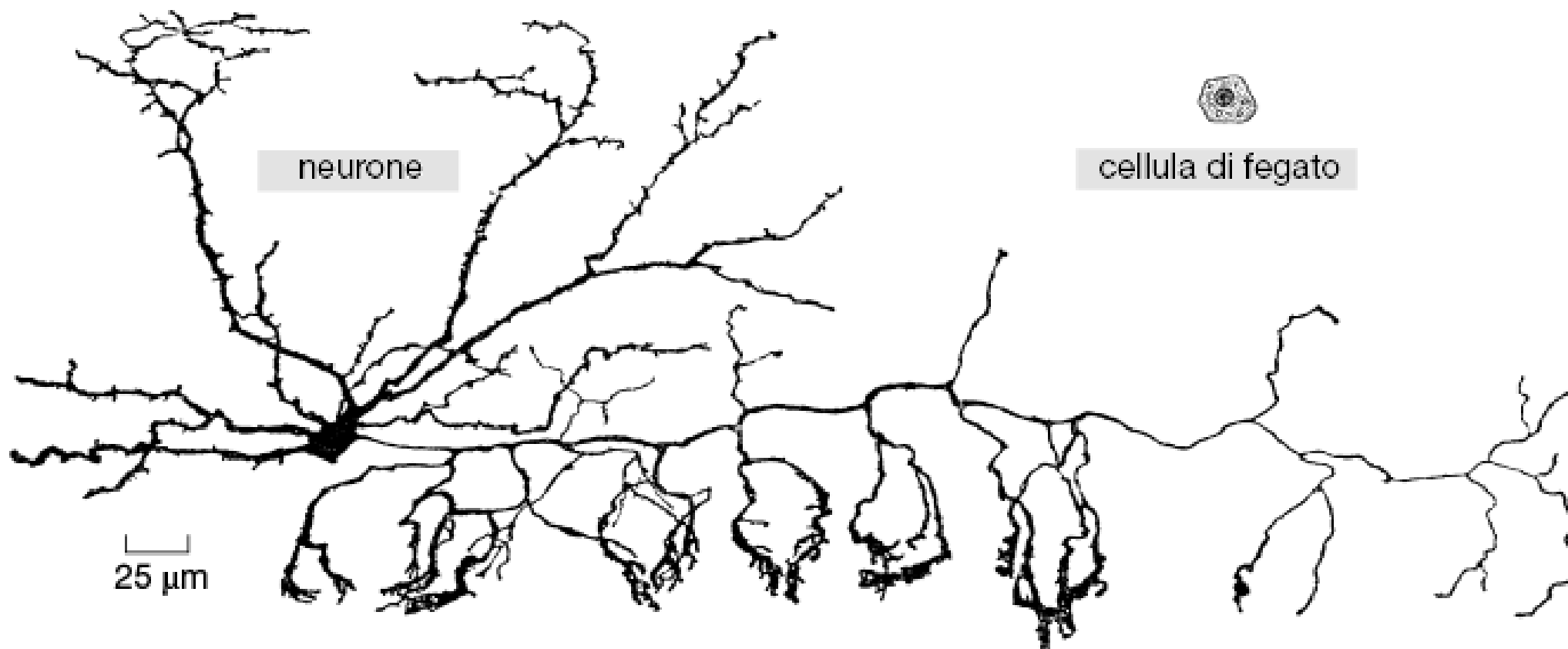
- La degradazione delle proteine.
- Degradazione proteasomica ubiquitina dipendente.
- Proteine simili all'ubiquitina.

Dove non alternativamente riportato le fonti delle immagini sono:

R. Alessandro et al., *Biologia e Genetica*, Edises;

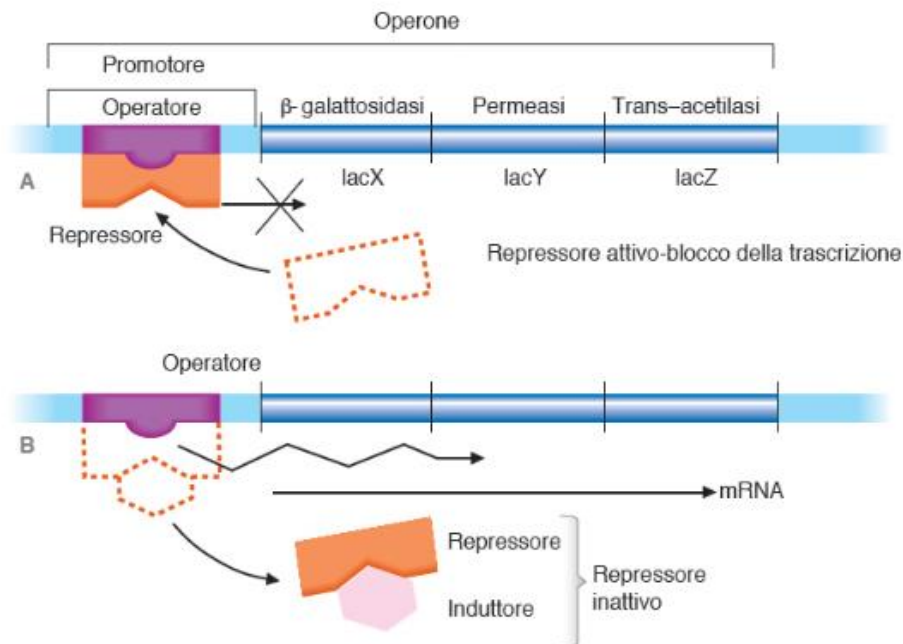
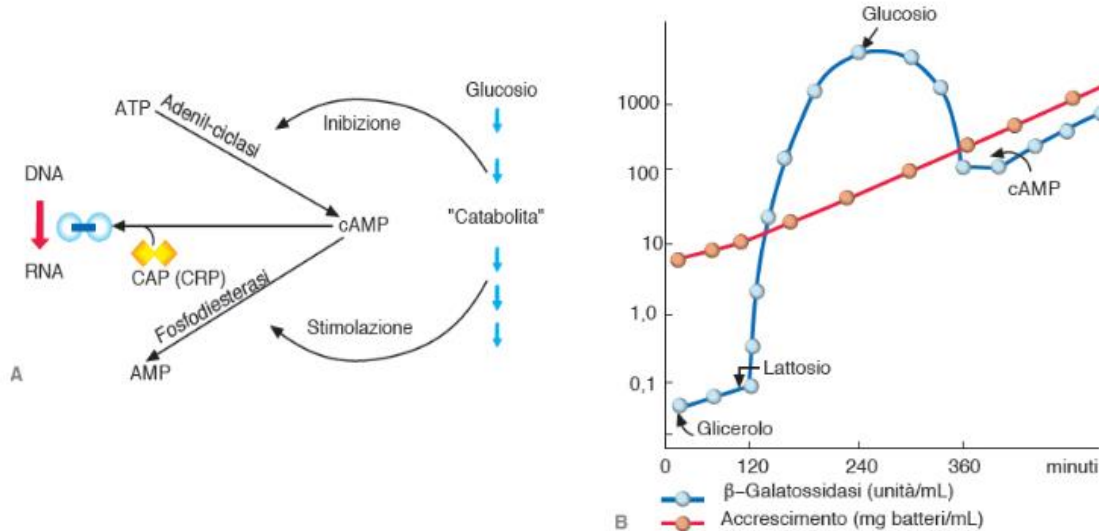
B. Alberts et al., *Biologia molecolare della cellula*, 7e - Zanichelli

Regolazione dell'Espressione Genica Differenziale



Un neurone ed un epatocita (cellula del fegato) hanno esattamente lo stesso genoma ma fenotipicamente esprimono due morfologie estremamente diverse che rispecchiano loro diversità funzionalità

Regolazione dell'Espressione Genica Differenziale: Procarioti

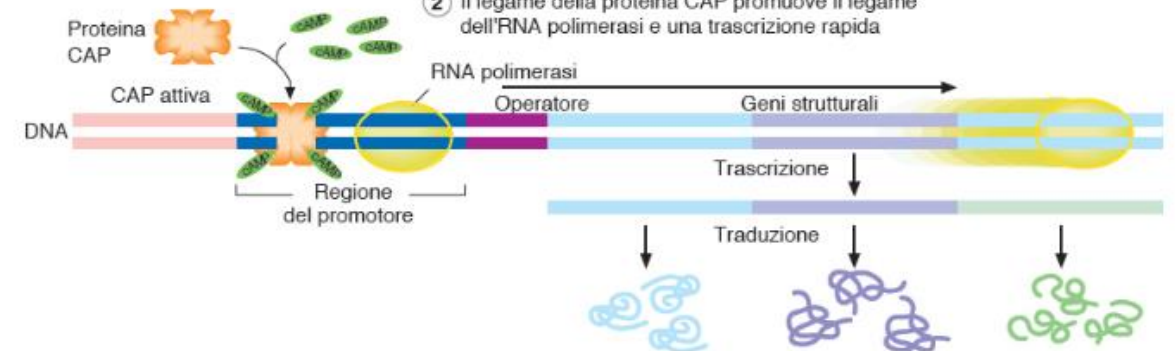


La **Regolazione della trascrizione in Procarioti è transiente** e dipende dallo stato metabolico dell'organismo o dagli stimoli provenienti dall'ambiente esterno.

In assenza di glucosio

① Ad alti livelli di cAMP CAP è attiva e si lega al DNA nella regione del promotore

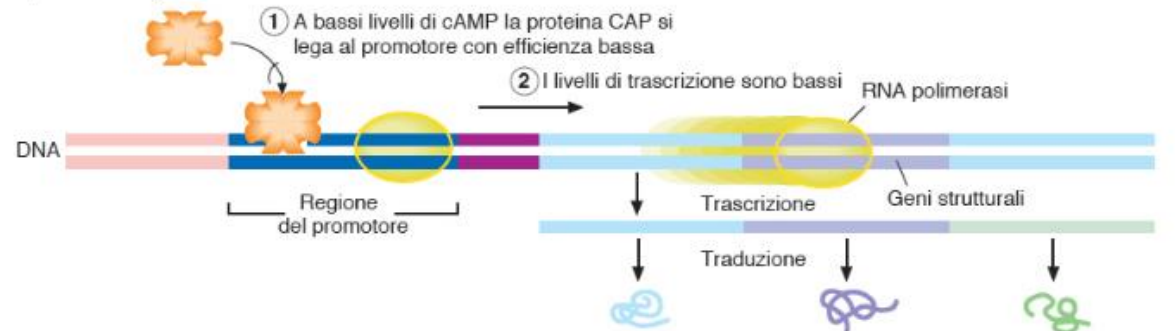
② Il legame della proteina CAP promuove il legame dell'RNA polimerasi e una trascrizione rapida



In presenza del glucosio

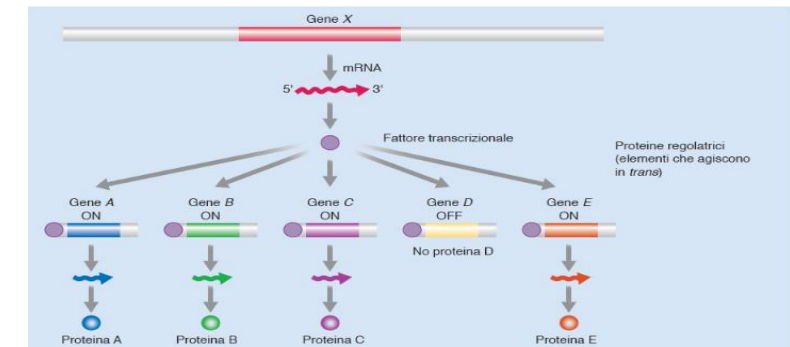
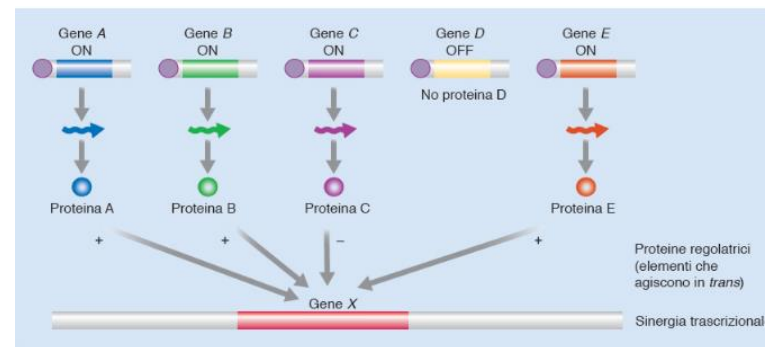
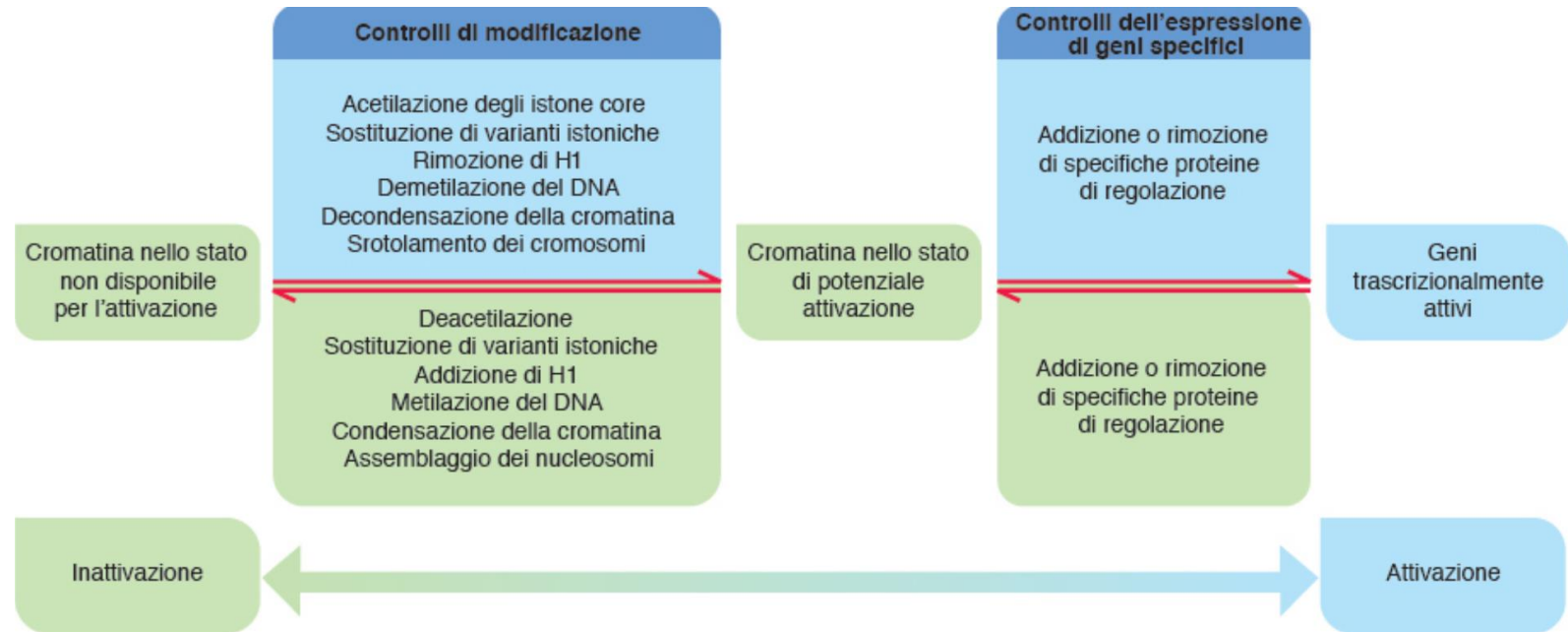
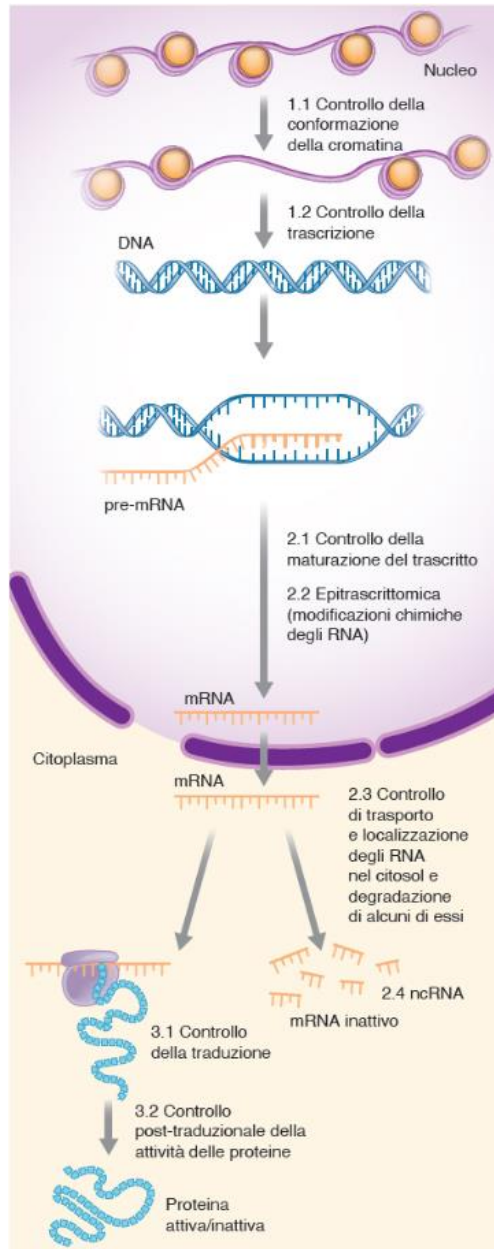
① A bassi livelli di cAMP la proteina CAP si lega al promotore con efficienza bassa

② I livelli di trascrizione sono bassi



Regolazione dell'Espressione Genica Differenziale: Eucarioti

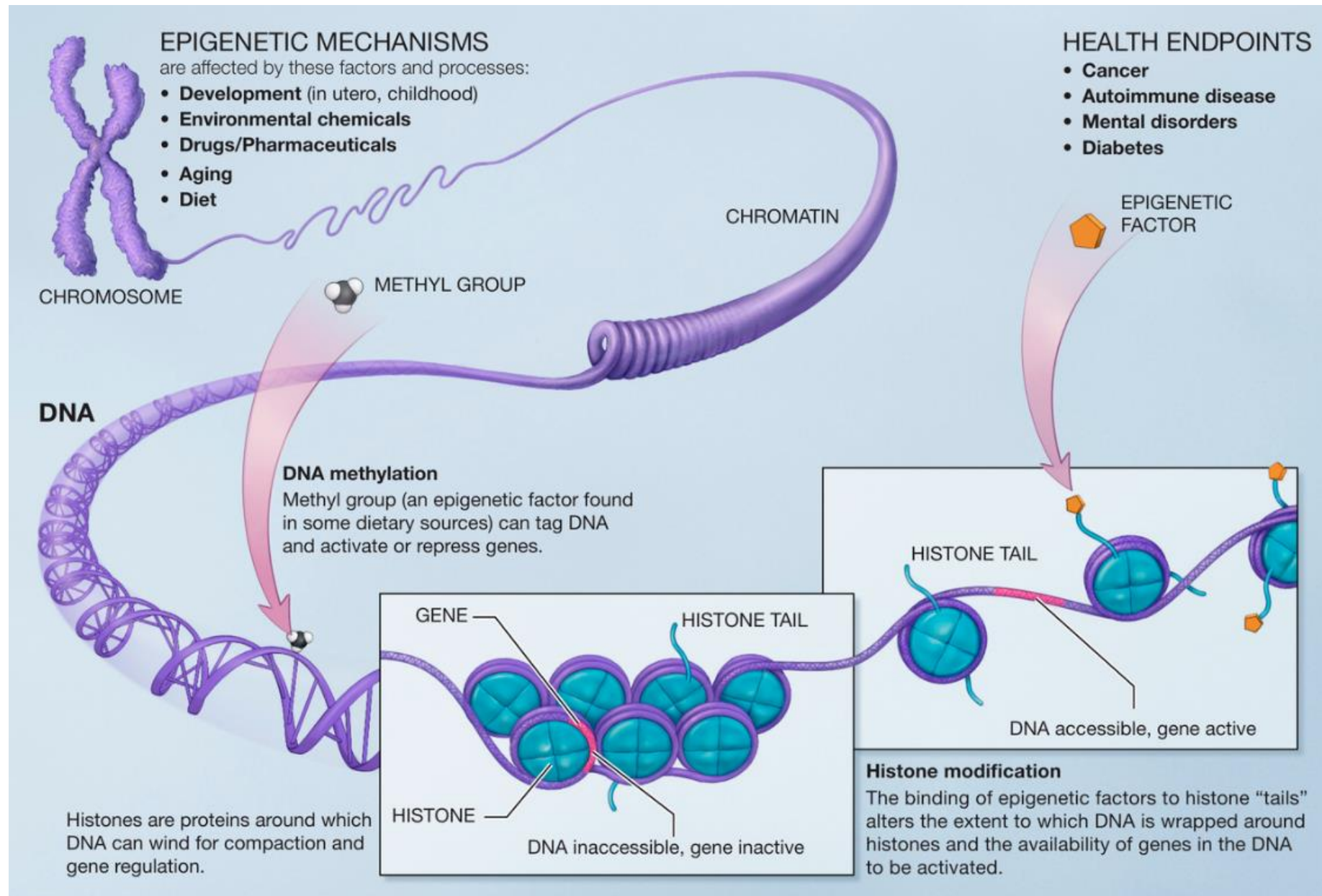
Lo stato di attivazione o spegnimento di alcuni geni negli eucarioti può essere ereditato (**memoria epigenetica**)



Epigenetica

L'**Epigenetica**, cioè riguarda tutti quei processi che **non comportano cambiamenti di quanto è scritto sul DNA**

Bensì, l'**epigenetica** riguarda cambiamenti su tutto quanto vi è intorno al DNA stesso e che **possono avere ripercussioni sul fenotipo** dell'individuo e/o della progenie.



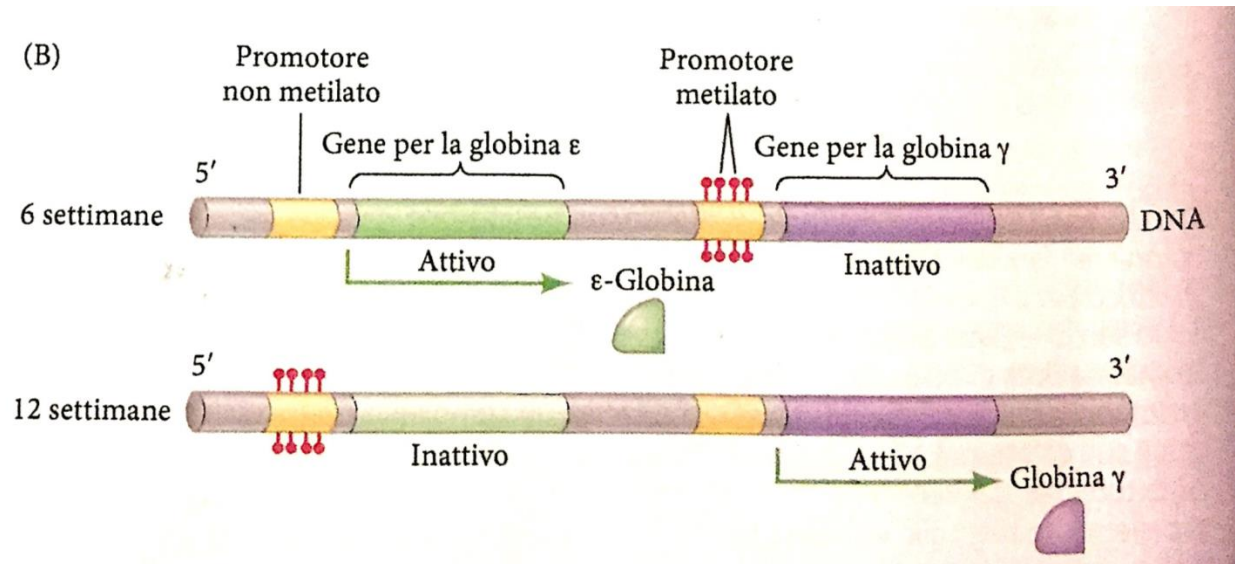
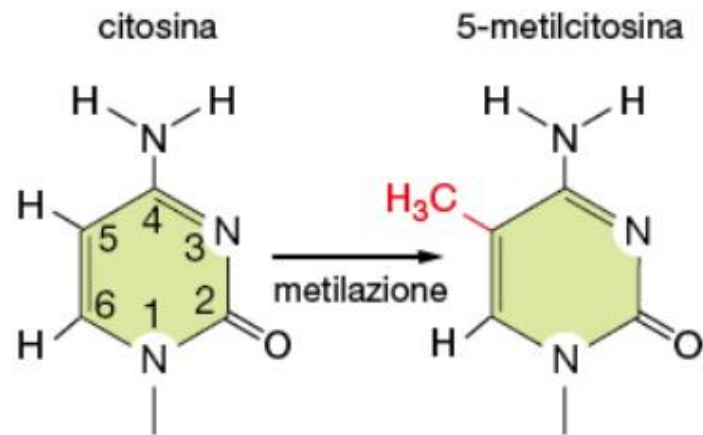
La Metilazione del DNA: La 5meC

Nelle cellule dei vertebrati **la metilazione della citosina** rappresenta **un meccanismo attraverso il quale** gli schemi di **espressione genica possono essere trasmessi** alla progenie di una cellula.

La forma metilata della citosina, **la 5-metilcitosina** (5-metil C), ha con la citosina la stessa relazione che la timina ha con l'uracile e, allo stesso modo, la modifica **non ha effetto sull'appaiamento delle basi**.

La **metilazione del DNA** dei vertebrati **avviene su nucleotidi di citosina (C)** perlopiù **a livello della sequenza CG**, che è appaiata **esattamente alla stessa sequenza (nell'orientamento opposto) sull'altro filamento** dell'elica del DNA.

Di conseguenza, un semplice meccanismo permette allo **schema esistente di metilazione del DNA** di essere **ereditato direttamente** dai filamenti figli di DNA.



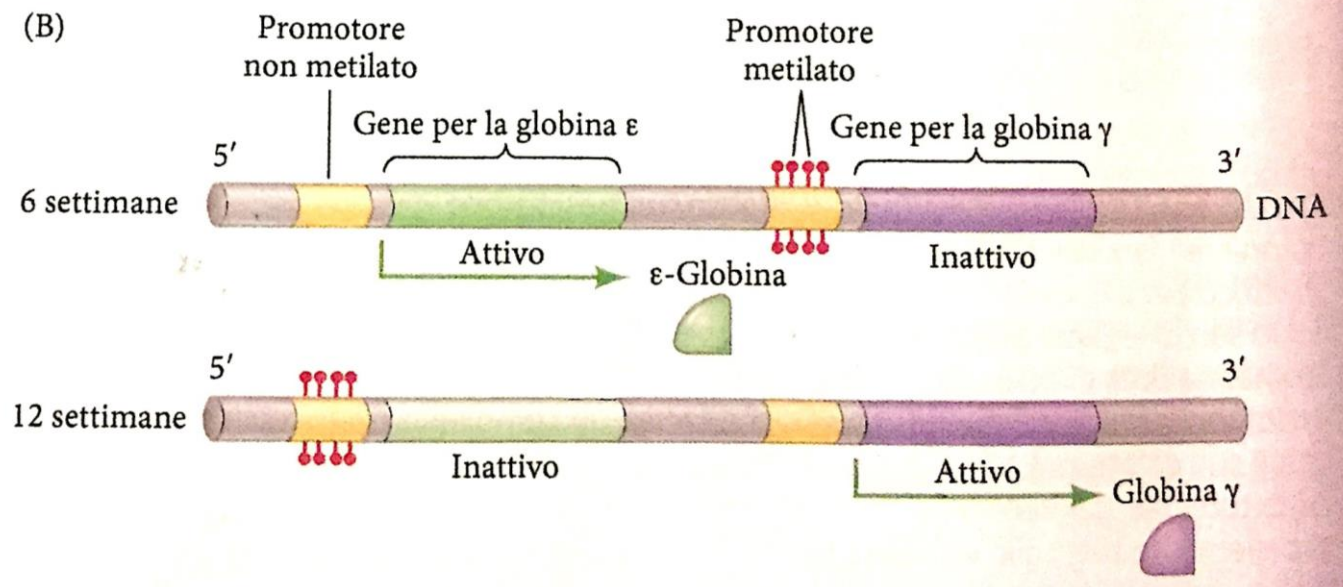
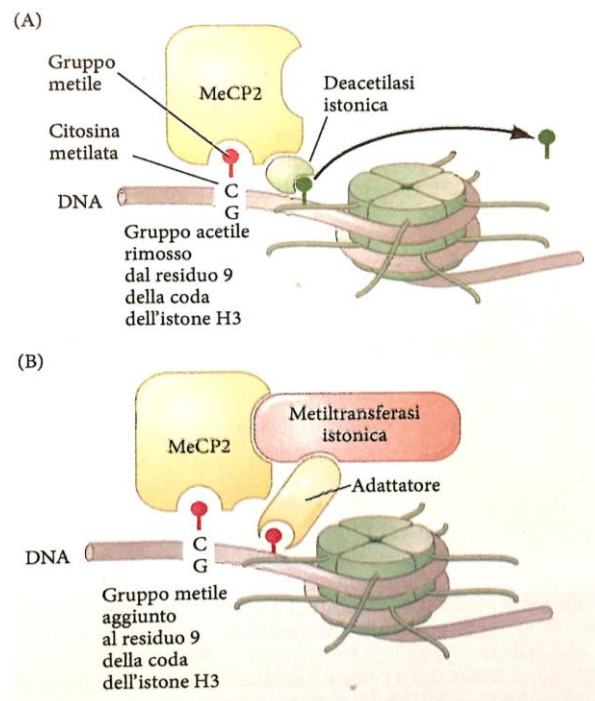
La Metilazione del DNA: Effetto su Trascrizione e Cromatina

La metilazione del DNA è in grado di **inibire la trascrizione attraverso diversi meccanismi**:

- Alcuni **fattori di trascrizione non sono più in grado di legare le sue sequenze regolatrici** in presenza di citosine metilate;
- La **metilcitosina** è in grado di **reclutare a livello dei nucleosomi metiltransferasi o deacetilasi**

In generale, i **promotori di geni inattivi** vengono **metilati** in corrispondenza dei loro residui di **citosina** la quale viene **convertita in metilcitosina**. Tale conversione può avvenire solo in **corrispondenza di un'isola CpG** (dove la «p» indica il legame fosfato) ad opera di enzimi chiamati **DNA metiltransferasi**.

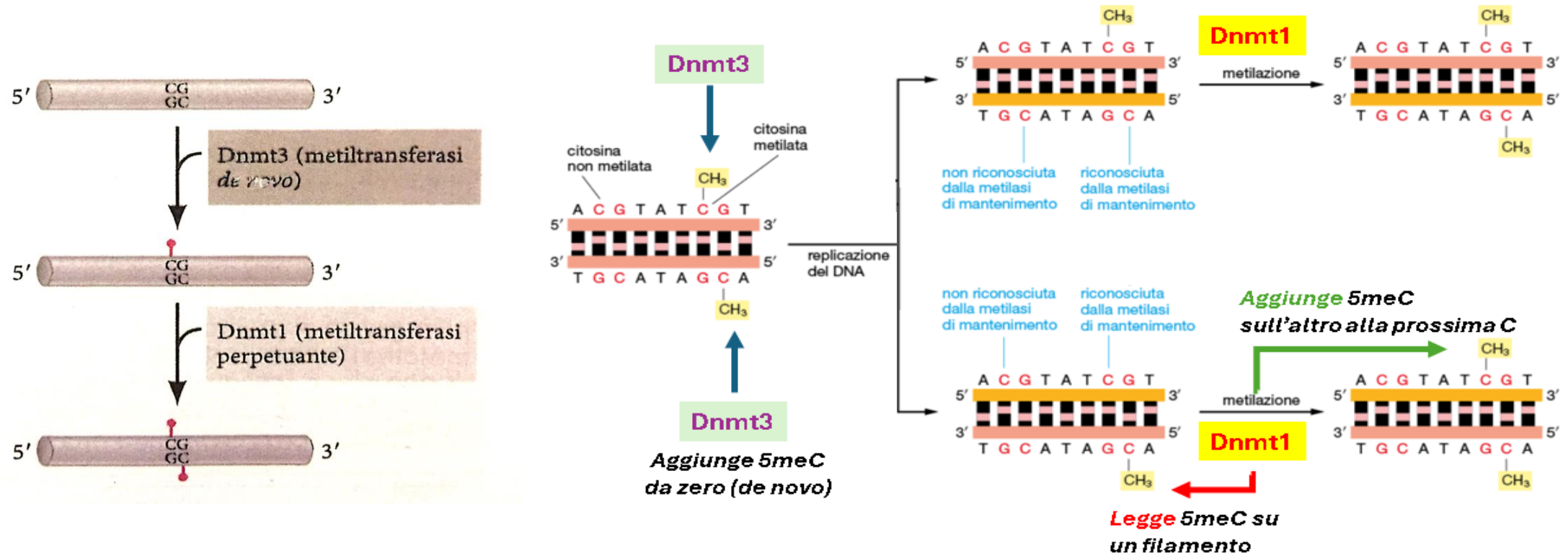
La metilazione del DNA è **reversibile** e **può modificarsi nel corso dello sviluppo**.



La Metilazione del DNA: Meccanismo di Trasmissione

DNA metiltransferasi 3 (Dnmt3) metila le citosine sul DNA che non erano state metilate in precedenza (*de novo*) a livello delle **sequenze CG** (anche dette **isole CpG**).

Tale profilo di metilazione sarà poi **trasmesso alla generazione successiva** tramite la **Dnmt1**. Essa riconosce le metilcitosine su un filamento ed **appone gruppi metilici sulle citosine del filamento opposto di DNA** (per questo le metilazioni avvengono su isole CpG), riuscendo in tal modo a tramandare il messaggio alle cellule figlie.



La Maturazione Differenziale del RNA

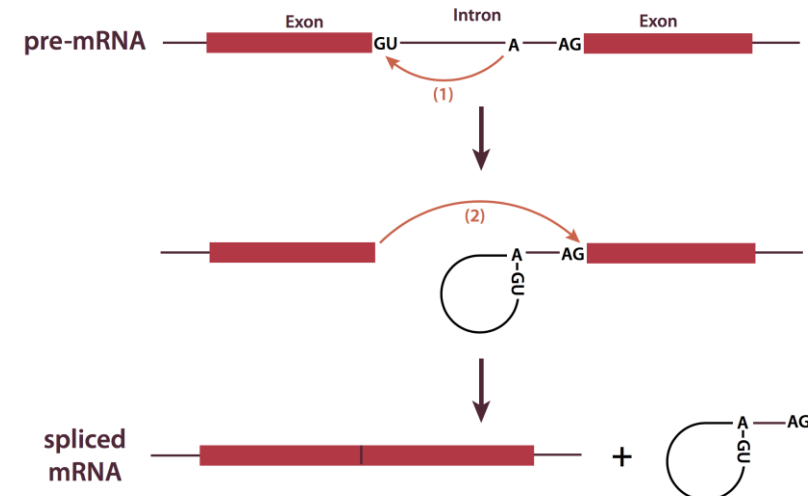
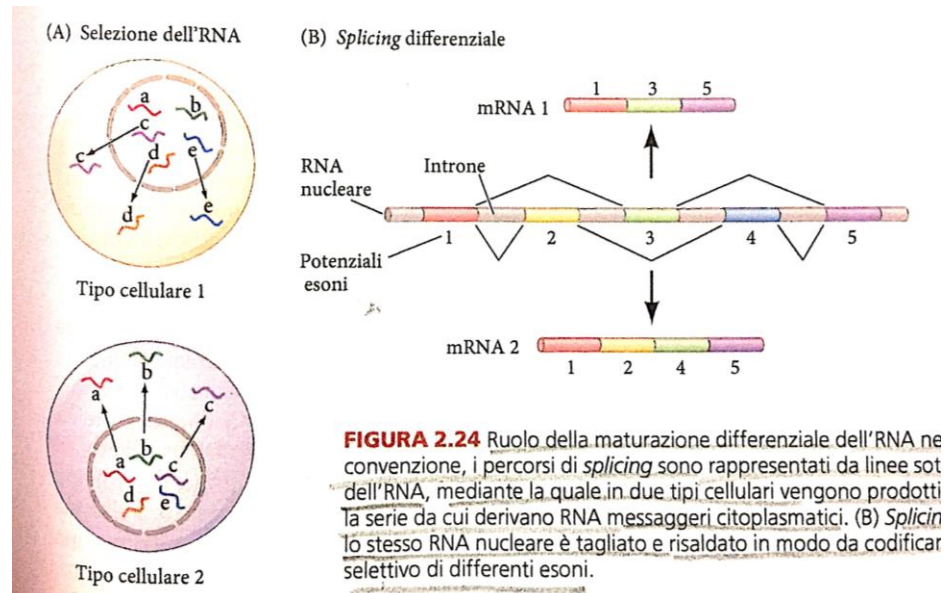
- Rielaborazione dell'RNA nucleare in RNA messaggero (**Splicing**);
- Trasferimento dal nucleo al citoplasma (**Trasporto attivo mRNA**);
- **Traduzione** in proteina;
- Modificazioni **post-traduzionale**.

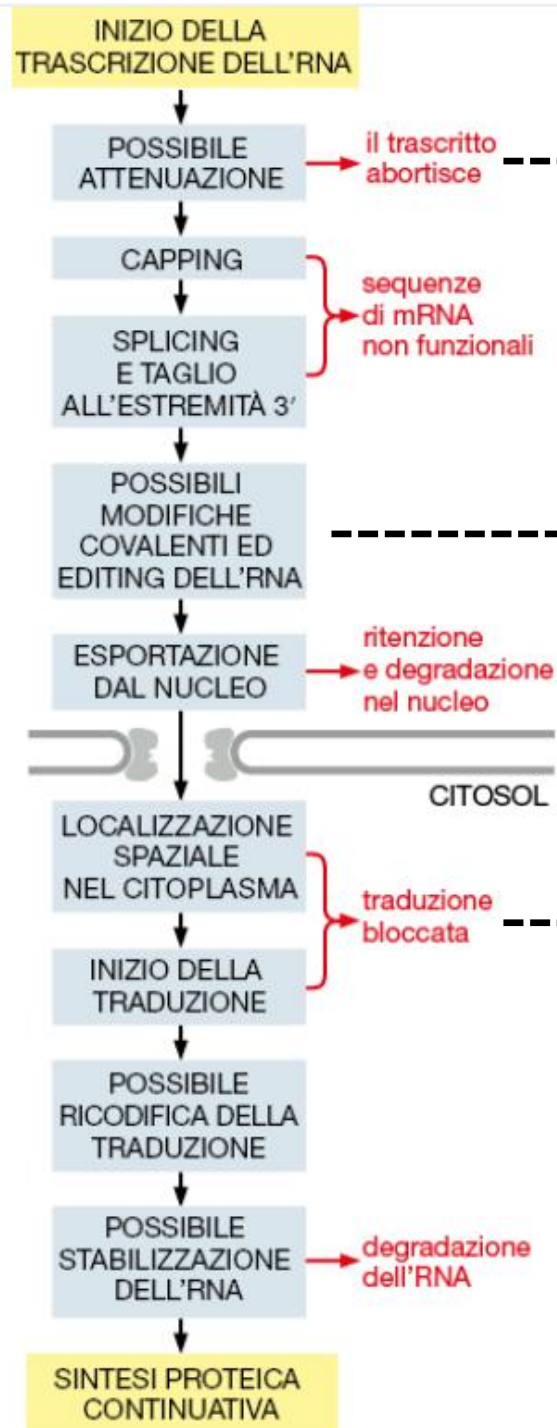
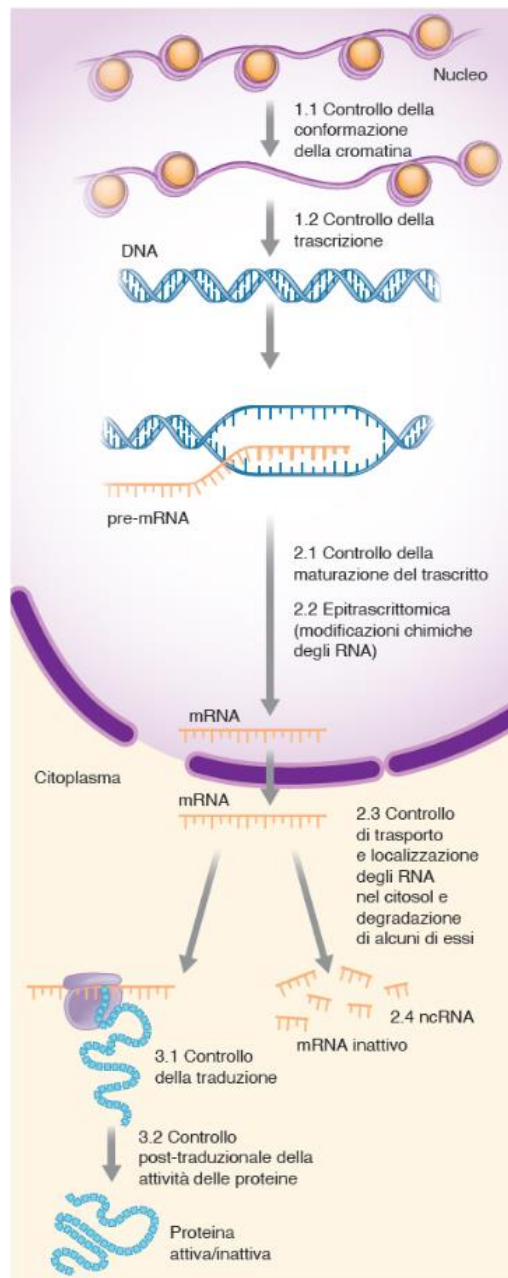
Lo **splicing**, ovvero la **rimozione degli introni** dall'RNA nucleare, rappresenta un passaggio cardine di regolazione dell'espressione differenziale genica.

Lo splicing è un processo messo in atto da una serie di piccoli RNA nucleari e nucleolari (**snRNA e snoRNA**) e proteine dette **fattori di splicing** che insieme formano il complesso chiamato **spliceosoma**.

Queste proteine riconoscono sequenze consensus sull'RNA nucleare tra le quali:

- **Siti di splicing al 5'** (riconosciuta da **snRNA U1**);
- **Siti di splicing al 3'** (riconosciuta da **U2AF**);
- **Branch point (A)**;





Regolazione a livello Post-Trascrizionale

Attenuazione della trascrizione (solo procarioti): inibisce l'espressione di alcuni geni **quando non necessario**. La **catena nascente** di RNA adotta una **struttura a forcina** che **blocca l'RNA polimerasi**. **Proteine regolatrici** possono legare la catena nascente di RNA e **rimuovere l'attenuazione**.

Poliadenilazione alternativa

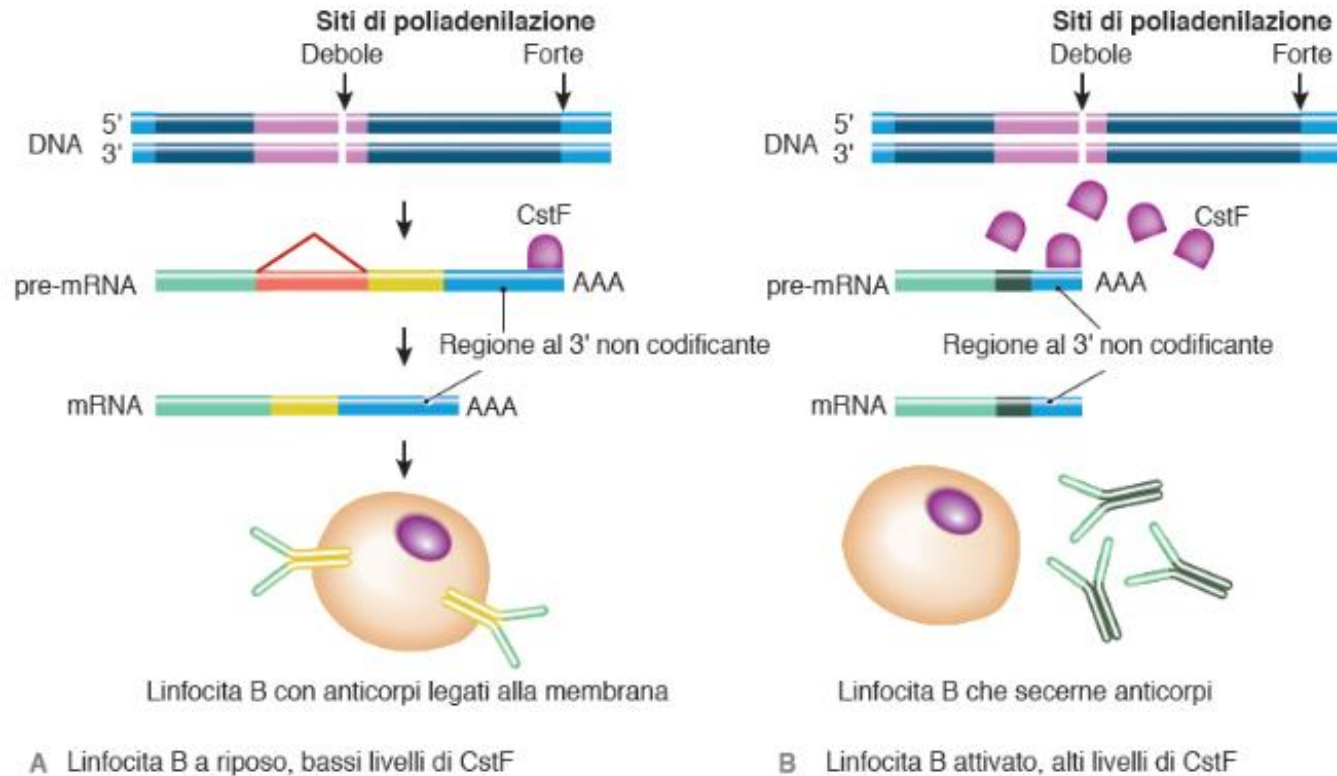
Deadenilazione e Deccapping

Deamminazione

Inibizione della traduzione dovuta a controllo della localizzazione spaziale degli mRNA

Regolazione della Stabilità degli mRNA per localizzazione in P-Bodies

Regolazione a livello Post-Trascrizionale: Poliadenilazione alternativa



Poliadenilazione alternativa: principio

- Avviene mediante **scelta di siti alternativi di scissione al 3'**
- Dopo la scissione viene **aggiunta la coda poli(A)**.
- Come conseguenza, si **possono generare due proteine con proprietà differenti**.

Poliadenilazione alternativa: linfociti B

Linfociti B a riposo:

- **Sito di poliadenilazione “debole” saltato.**
- **Trascritto più lungo** → **proteina con tratto transmembrana** (recettore di membrana).

Linfociti B attivati:

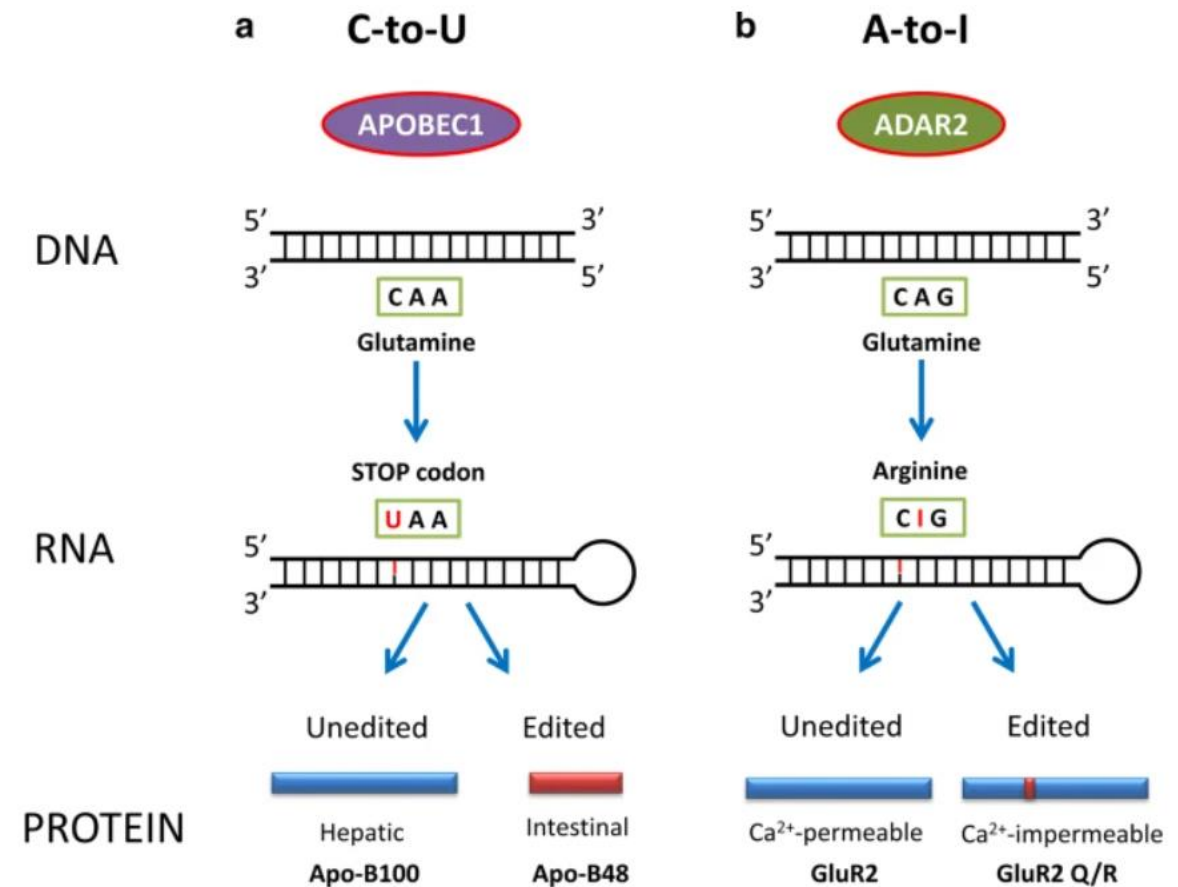
- **Aumenta** la proteina **CstF** → **riconoscimento del sito debole.**
- **Trascritto più corto** → **proteina senza tratto transmembrana, secreta** come anticorpo solubile.

Regolazione a livello Post-Trascrizionale: RNA Editing

L'espressione editing dell'RNA è usata per descrivere una serie di fenomeni mediante i quali le **sequenze degli mRNA, degli rRNA e dei tRNA** vengono **modificate dopo la trascrizione, alterando il messaggio codificato**.

Alterano le proprietà di appaiamento delle basi:

- Se la modifica avviene in **una regione codificante**, può cambiare la sequenza aa o **produrre una proteina tronca** creando un codone di stop prematuro.
- Se avviene **fuori dalle sequenze codificanti** può **influenzare lo splicing**, il **trasporto dell'mRNA**, la **traduzione** o il riconoscimento da parte dei **microRNA (miRNA)**.



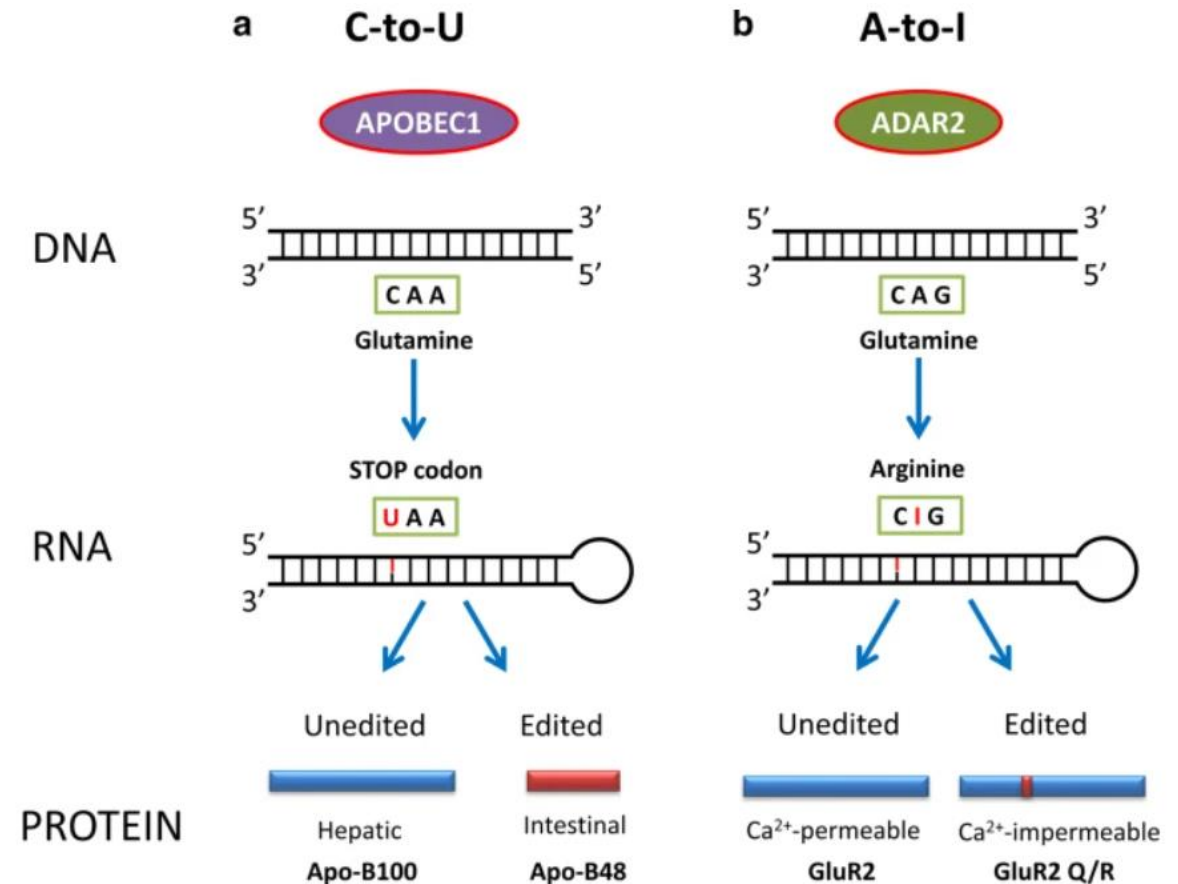
Regolazione a livello Post-Trascrizionale: RNA Editing

Negli animali avvengono **due tipi principali di editing** dell'mRNA:

- la **deamminazione** dell'adenina per produrre inosina (editing da **A a I**) e,
- meno frequentemente, la **deamminazione** della citosina per produrre uracile (editing da **C a U**)

Perché esista l'editing è un mistero.

- Originato durante l'evoluzione **per correggere “errori”** nel genoma?
- Un modo un po' casuale di **produrre proteine con lievi differenze** dallo stesso gene?
- **Meccanismo di difesa contro i retrovirus e i retrotrasposoni** e che sia stato in seguito adattato dalla cellula per cambiare il significato di certi mRNA?

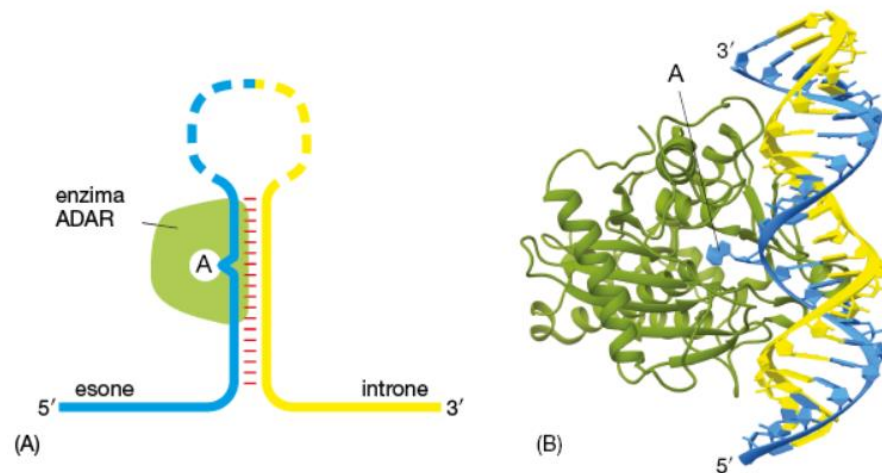


Regolazione a livello Post-Trascrizionale: RNA Editing

Deaminazione A-I (I si appaia con C)

Il processo di editing da A a I è **particolarmente diffuso negli esseri umani**, ed è eseguito da enzimi proteici chiamati **ADAR** (Adenosine Deaminase Acting on RNA) i quali **riconoscono una struttura di RNA a doppio filamento** che segna **dove debba avvenire l'editing**.

Es: l'editing di **un canale ionico** a livello cerebrale cambia una **glutammina in arginina**, modificando **la permeabilità al Ca^{2+}** . Questa modifica è fondamentale per la sopravvivenza.



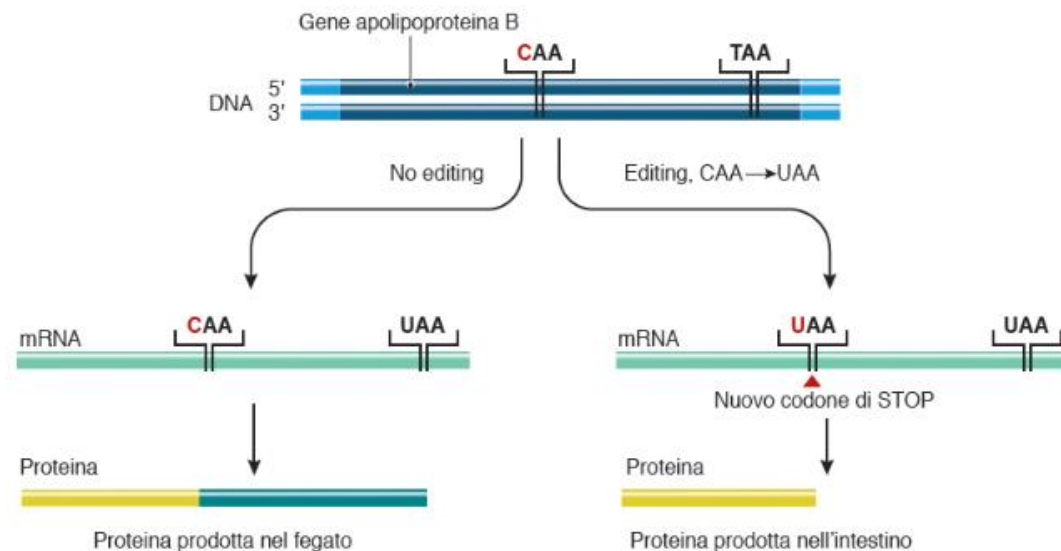
Deaminazione C-U

Apolipoproteina B nelle cellule del **fegato**:

- **La citosina resta invariata** → codone CAA → proteina completa → **metabolismo epatico dei lipidi**.

Apolipoproteina B nelle cellule **intestinali**:

- **C sostituita da U** → **codone UAA (stop)**.
- **Proteina tronca**, con funzione specifica per il metabolismo intestinale.



Regolazione a livello Post-Trascrizionale: Deadenilazione e Decapping

Degradazione regolata degli mRNA

La cellula può regolare la **velocità di degradazione** di mRNA normali. Processo in competizione con la **traduzione**.

Meccanismi principali:

- **Deadenilazione** → accorciamento coda poli(A).

Se coda ≤ 25 nucleotidi → due vie:

1. **Decapping** (rimozione cappuccio 5') → **degradazione 5'→3'**.
2. **Degradazione 3'→5'** a partire dalla poli(A).

Tutti i trascritti umani vanno incontro a questi meccanismi.

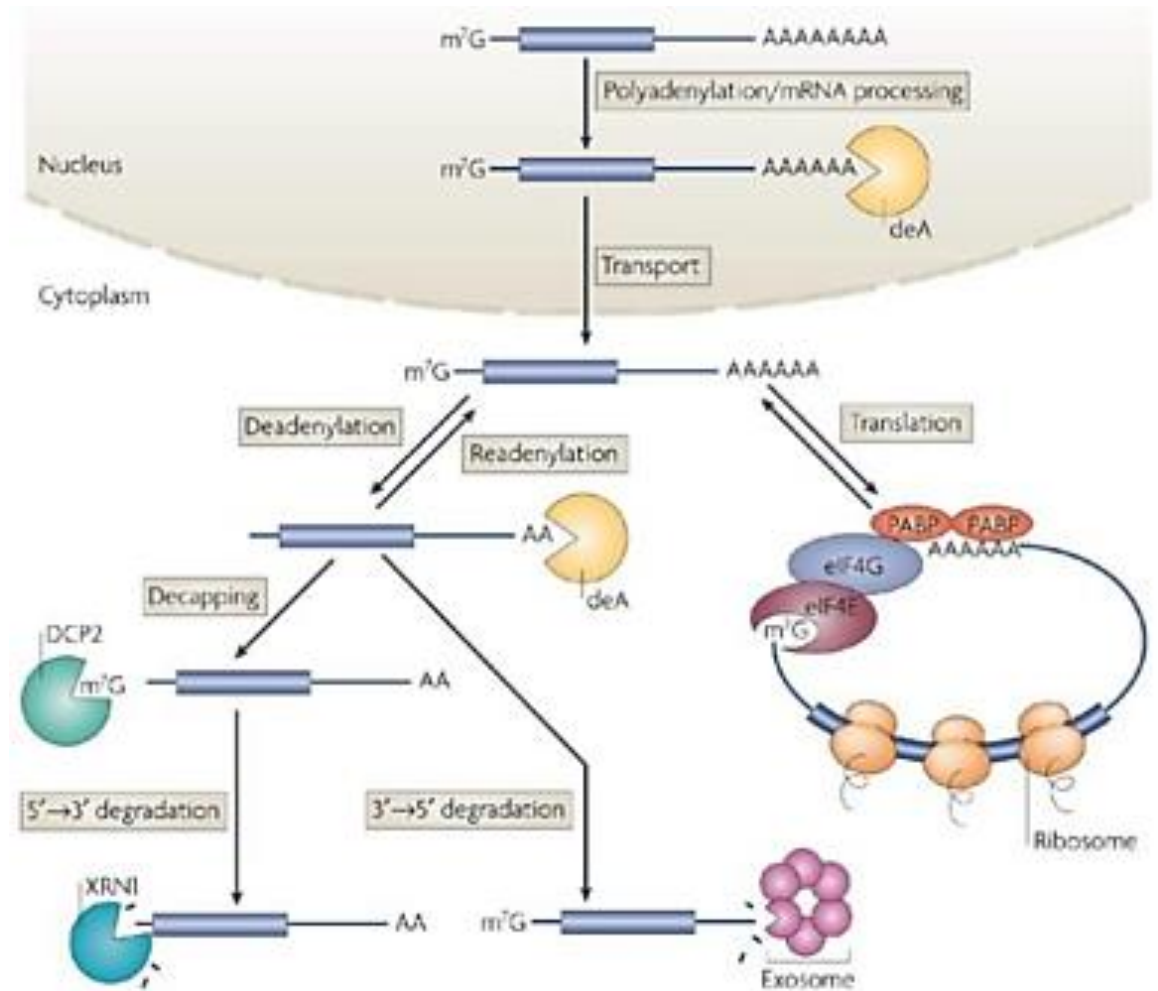
Ruolo delle 3' UTR

Le sequenze 3' UTR **contengono elementi regolatori**.

Possono legare proteine o ncRNA che:

- aumentano o riducono la velocità di **degradazione**;
- **influenzano deadenilazione, decapping** e degradazione 3'→5'.

Concorrono a modulare **stabilità ed efficienza di traduzione** degli mRNA.



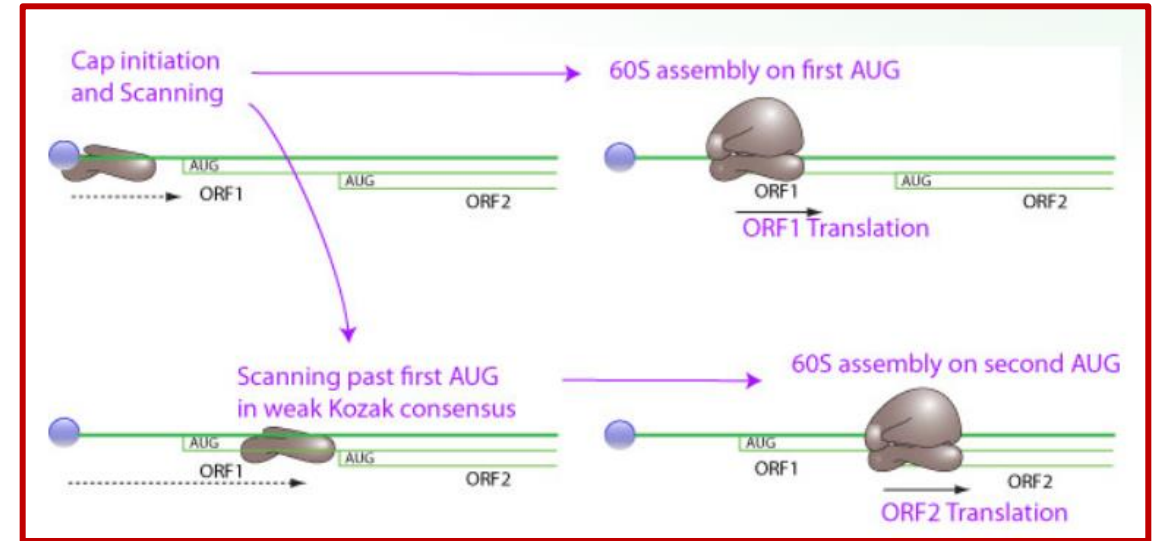
Controllo dell'Inizio della Traduzione

Scansione Leaking

la traduzione eucariote inizia di norma in corrispondenza del primo AUG a valle del cap al 5'.

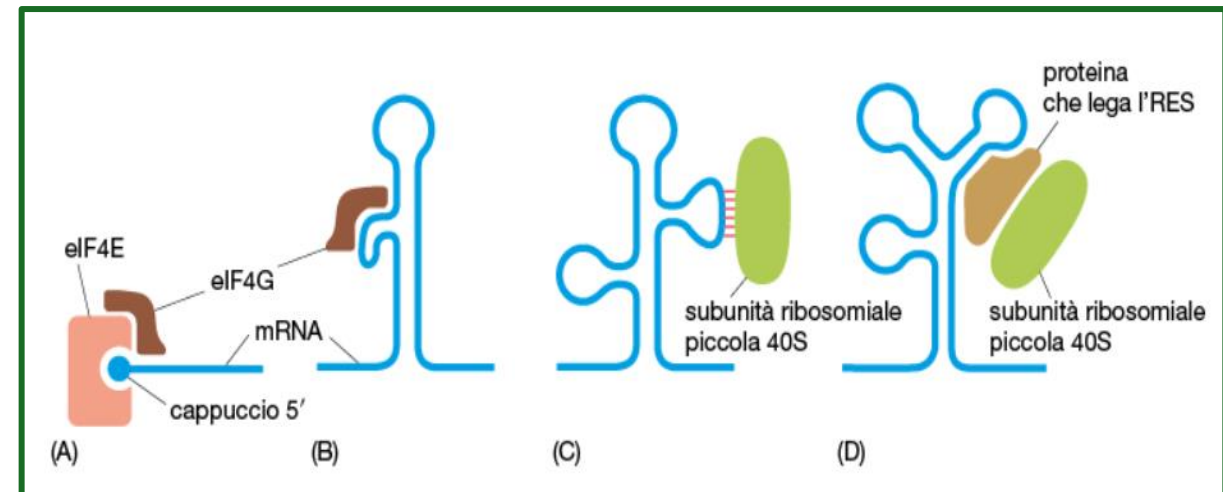
Tuttavia, i **nucleotidi che circondano l'AUG** influiscono anch'essi **sull'efficienza dell'inizio** della traduzione.

Se il sito di riconoscimento non è abbastanza buono, le subunità ribosomiali in scansione ignoreranno talvolta il primo AUG nell'mRNA e **salteranno al secondo o al terzo codone AUG**.



IRES (Internal Ribosome Entry Site) 3 Meccanismi:

1. Il cap al 5' ed eIF4E vengono bypassati dal **legame diretto di eIF4G** a una specifica struttura dell'RNA formata dall'**IRES**.
2. La **subunità ribosomiale piccola** si lega **direttamente all'IRES** attraverso l'appaiamento di basi tra sequenze nell'IRES e l'rRNA 18S.
3. **Proteine specializzate** si legano a un IRES e successivamente reclutano la subunità ribosomiale piccola.



Controllo dell'espressione a livello traduzionale

Lo **splicing dell'RNA** nucleare è intimamente **connesso al suo trasporto nel citoplasma**. Le proteine dello spliceosoma ancorano l'RNA in maturazione ai pori nucleari.

La **traslocazione** nel citosol **non garantisce** ancora **la traduzione** del messaggero.

La **stabilità dell'mRNA** dipende da alcune sue strutture peculiari:

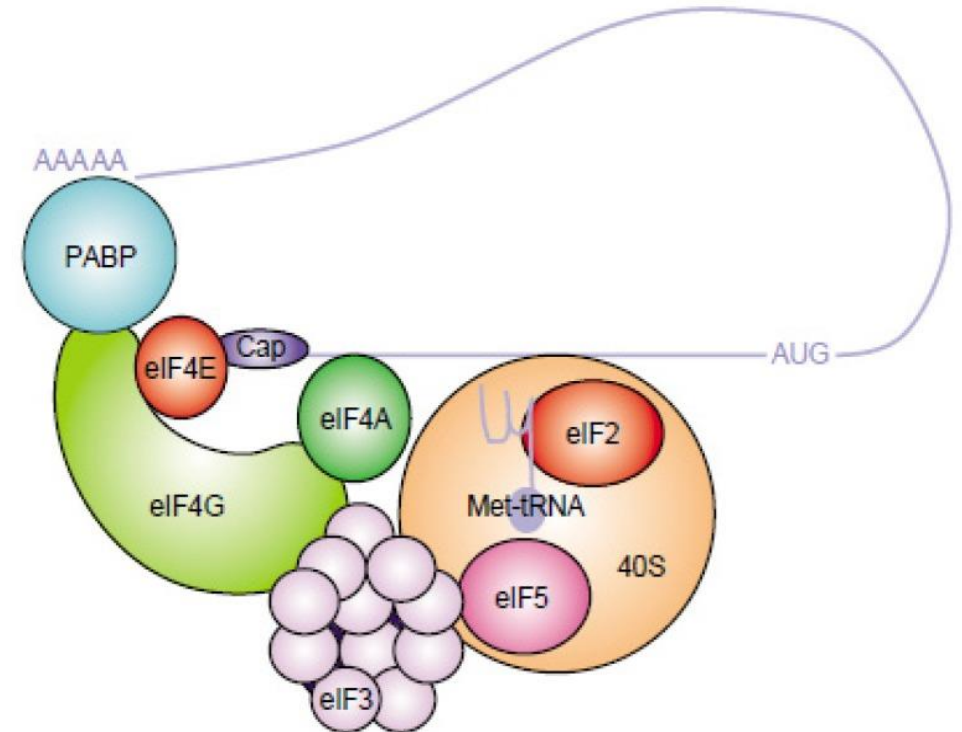
- **La coda di poli(A) al 3' UTR;**
- **Il cap di m⁷G al 5' UTR.**

L'**mRNA** eucariotico può formare **strutture circolari** chiuse.

Il **cap al 5'** si associa al fattore eucariotico di inizio della traduzione 4E (**eIF4E**), una proteina che lega **eIF4A** (una **elicasi**) ed **eIF4G** che consente il **legame** con la subunità ribosomiale minore **40S**.

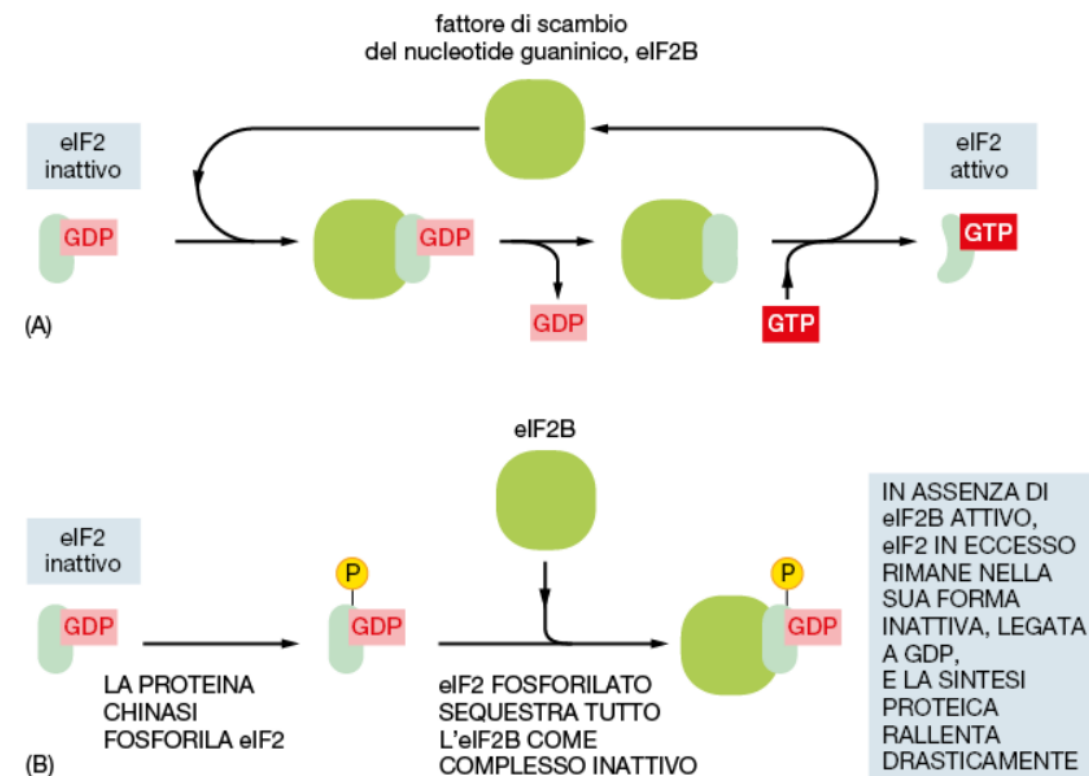
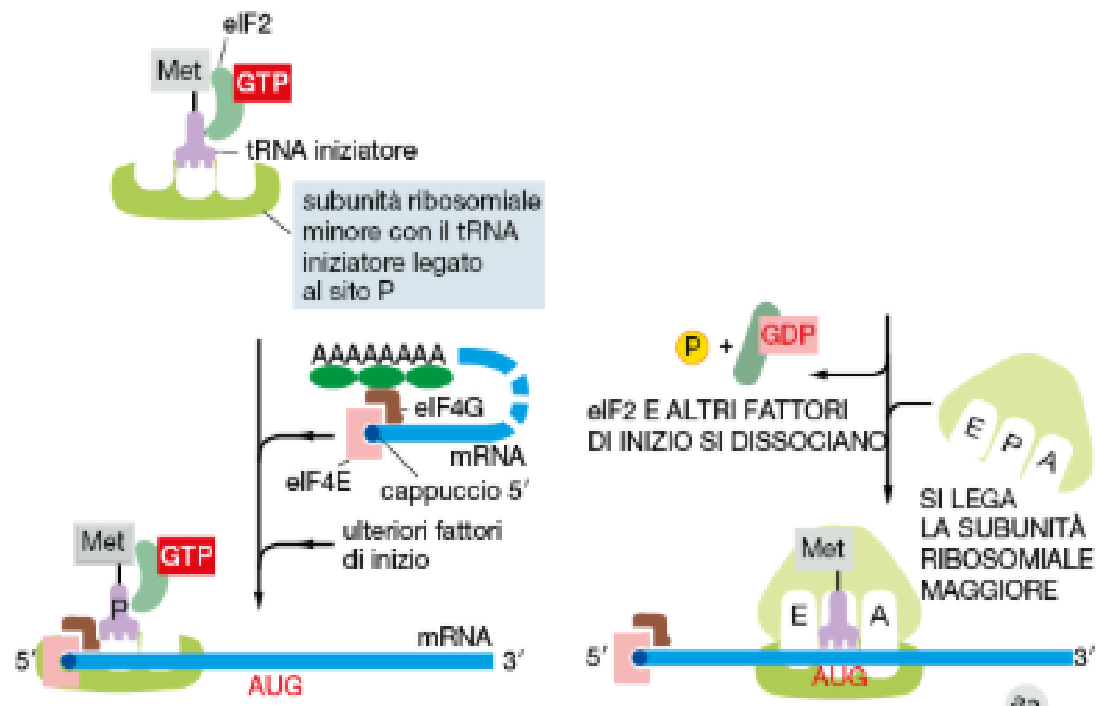
Anche la proteina che legante la coda di poli(A) (**PABP**) si **lega a eIF4G**, consentendo la **circularizzazione**.

Questa struttura **aumenta sensibilmente la stabilità** della moleca di mRNA

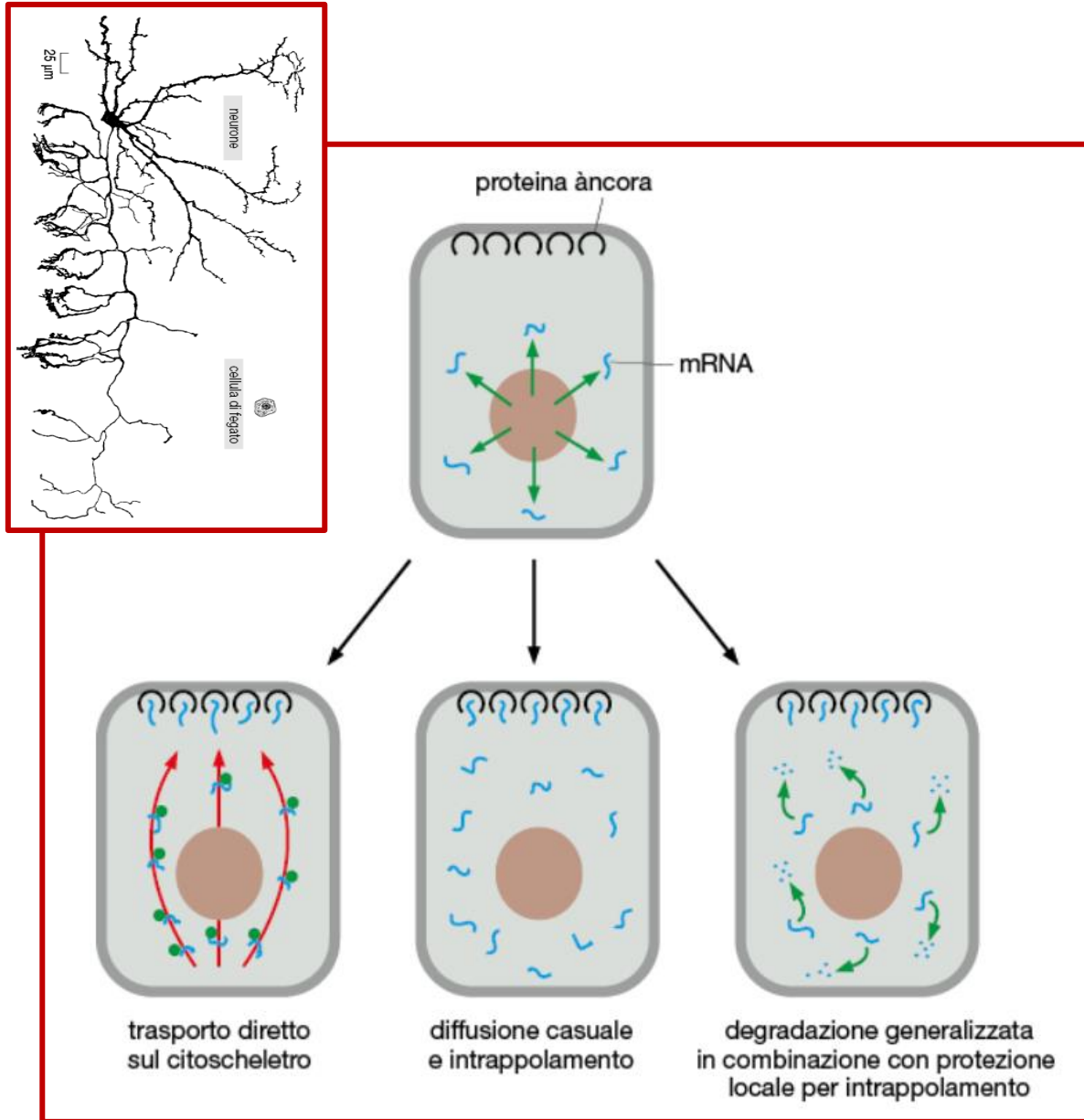


Controllo dell'espressione a livello traduzionale

- Il **riciclo di eIF2** usato, a opera di un fattore di **scambio del nucleotide guaninico (eIF2B)**.
- Quando **eIF2 è fosforilato**, si **lega** in modo insolitamente **forte** a **eIF2B**.
- **Senza questo fattore** di scambio, il GDP rimane legato a quasi tutti i fattori eIF2 non fosforilati, **rallentando di molto la sintesi proteica**



Controllo dell'espressione: Meccanismi per la localizzazione degli mRNA

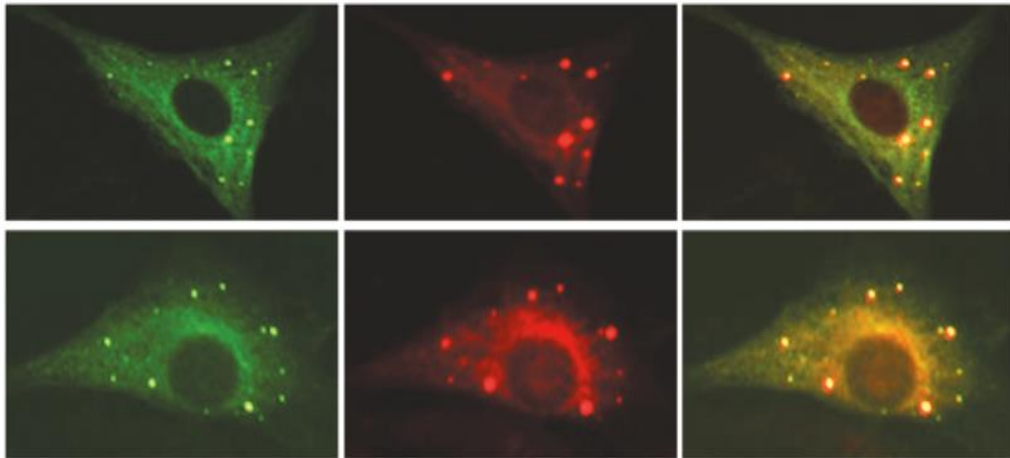
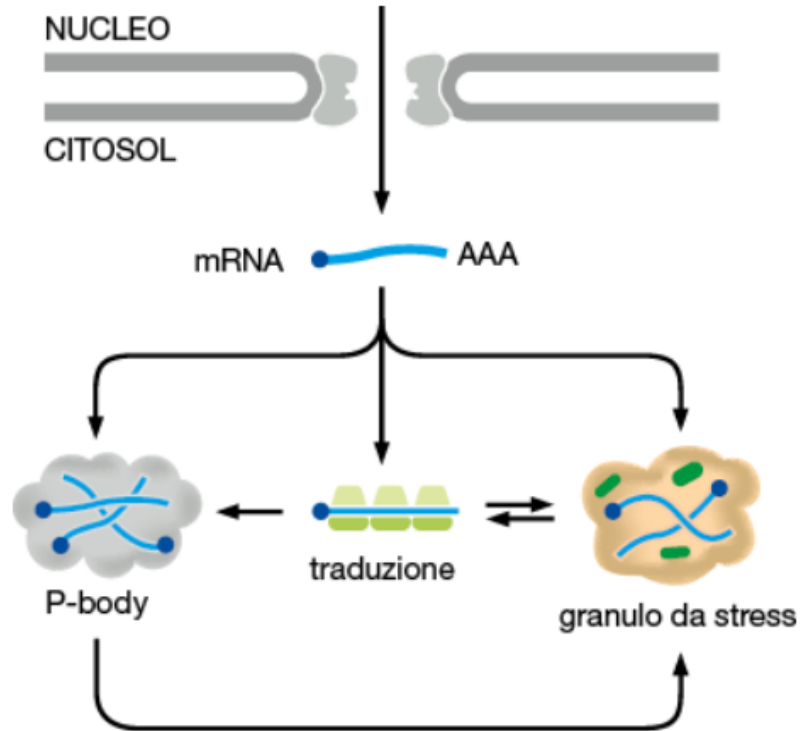


Spesso un dato **mRNA** deve essere **tradotto o localizzato** in una regione specifica della cellula.

1. **Alcuni mRNA** (disegno a sinistra) **viaggiano** verso la loro destinazione associandosi **con motori del citoscheletro**. Raggiunta la loro destinazione, gli mRNA sono **tenuti in posizione** da **proteine àncora**.
2. **Altri mRNA** **diffondono a caso** attraverso il citosol e **sono semplicemente intrappolati** da **proteine ancora** nei loro siti di localizzazione (disegno al centro).
3. **Alcuni mRNA** (disegno a destra) **sono degradati** nel citosol, **a meno che non si siano legati**, per diffusione casuale, **a una proteina ancora** che protegge l'RNA dalla degradazione.

Ciascun meccanismo richiede **segnali specifici** sull'mRNA, che sono **posti di norma nell'UTR 3'**.

Meccanismi di localizzazione degli mRNA : P-Bodies e Granuli da Stress



P-body (o corpi di processamento) – Condensati Biomolecolari

Quando un **mRNA non viene più attivamente tradotto**, spesso si sposta **nei P-body**, dove si trova di fronte diversi possibili destini:

1. I P-body sono ricchi di enzimi che **degradano l'mRNA** parzialmente degradato;
2. Alcuni **mRNA integri** possono essere **immagazzinati** nei P-body in una forma repressa **e, a seconda delle necessità** della cellula, possono essere **spostati nel citosol e “riattivati”**

Gli **mRNA immagazzinati** in questo modo codificano spesso **proteine di cui la cellula ha bisogno rapidamente**

Granuli da Stress – Condensati Biomolecolari

Si formano quando la cellula subisce un **blocco improvviso della traduzione**, che sia causato da **deprivazione di nutrienti**.

Questi trattamenti **permettono di completare la traduzione** in corso ma **bloccano l'inizio di nuovi eventi di traduzione**.

Quando le condizioni di stress cessano liberano gli mRNA immagazzinati.

RNA non codificanti e Regolazione genica: RNA Interference

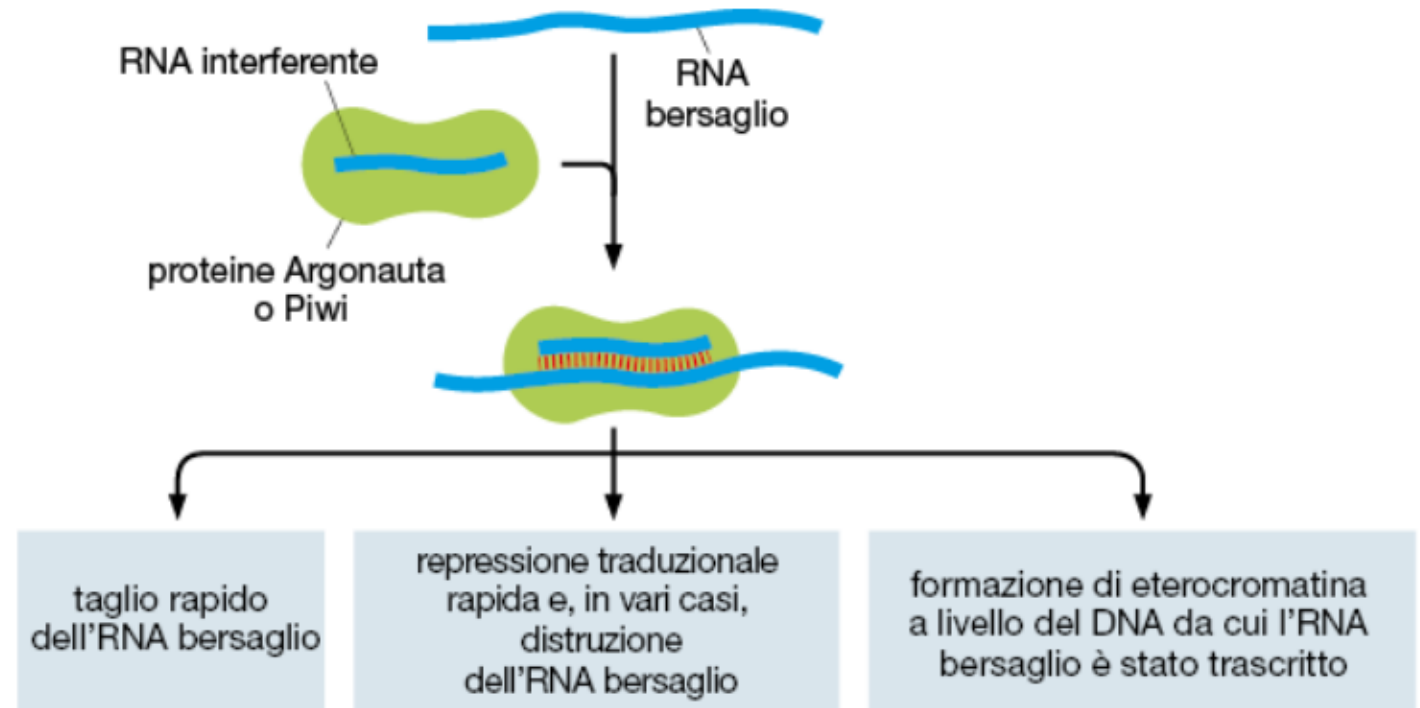
Piccoli RNA a singolo filamento (20–30 nt) agiscono come **guide** per riconoscere RNA bersaglio tramite appaiamento di basi.

Effetti:

- Su **mRNA maturi** → inibizione traduzione o degradazione.
- Su **RNA in trascrizione** → reclutamento cromatina repressiva → blocco trascrizione.

Tre classi principali:

- **miRNA** (microRNA)
- **siRNA** (small interfering RNA)
- **piRNA** (Piwi-interacting RNA).



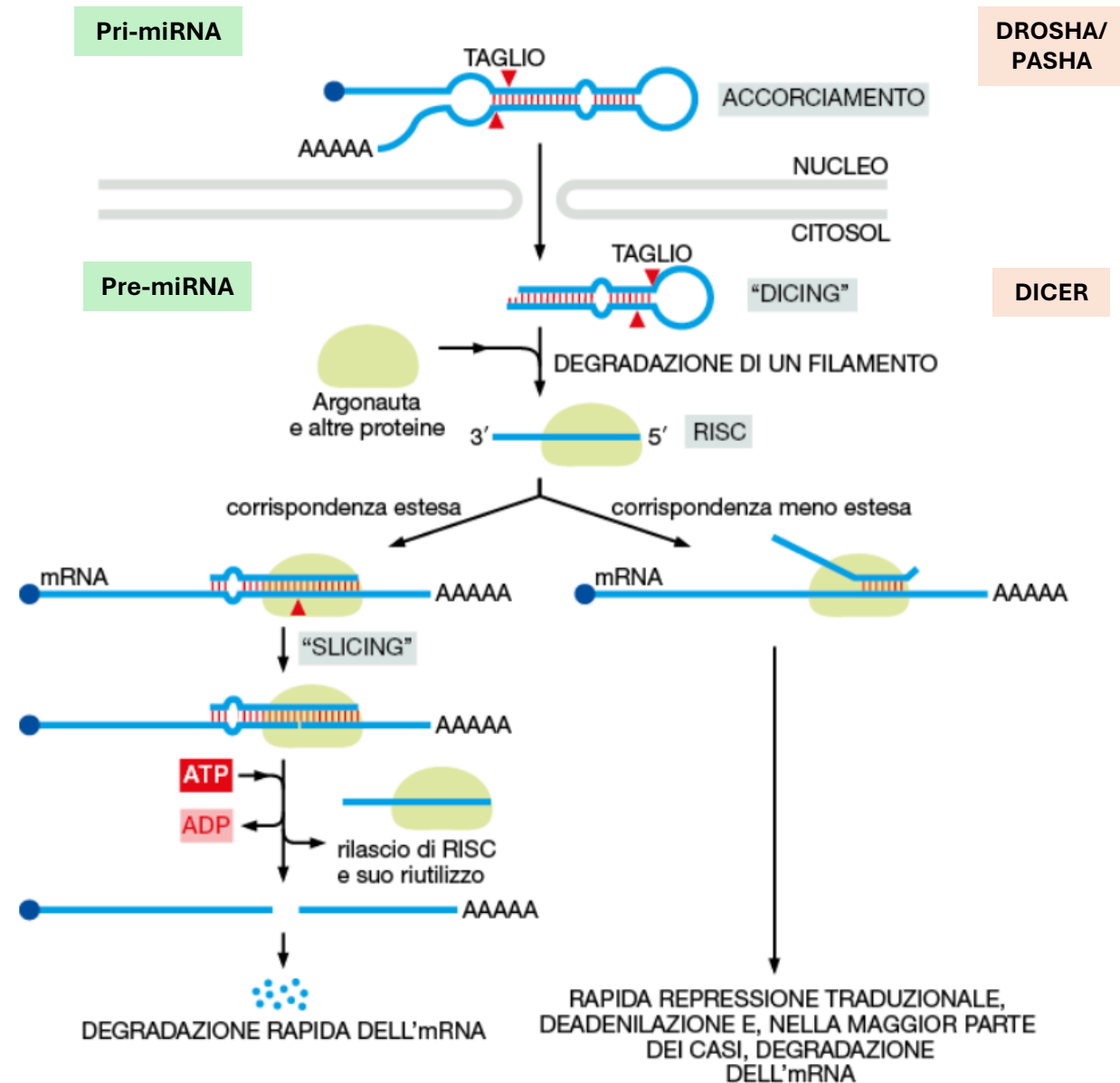
RNA non codificanti e Regolazione genica: miRNA

I microRNA (miRNA)

- Oltre **1000 miRNA** prodotti dal genoma umano.
- Regolano almeno **metà dei geni codificanti proteine**.
- Funzione: controllano **traduzione e stabilità degli mRNA**.
- Biogenesi:
 - Trascritti da RNA pol II → **pri-miRNA (con cap 5' e coda poliA)** → **Processati** → nel citoplasma in **pre-miRNA (~23 nt)**.

Caratteristiche funzionali dei miRNA

- Un singolo miRNA può regolare **centinaia di mRNA diversi**.
- **Controllo combinatorio**: più miRNA cooperano su uno stesso mRNA target.
- Vantaggio:
 - Occupa **poco spazio genomico**.
 - Permette **regolazioni fini e dinamiche**.



RNA non codificanti e Regolazione genica: miRNA

Meccanismo dettagliato del miRNA

- Pre-miRNA forma una **forcina a doppio filamento**.
- Processamento:
 - **Drosha** (nucleo) → taglia pri-miRNA.
 - **Exportina 5** → trasporto citoplasmatico.
 - **Dicer** → genera duplex → uno scartato, l'altro guida RISC.

Nei mammiferi:

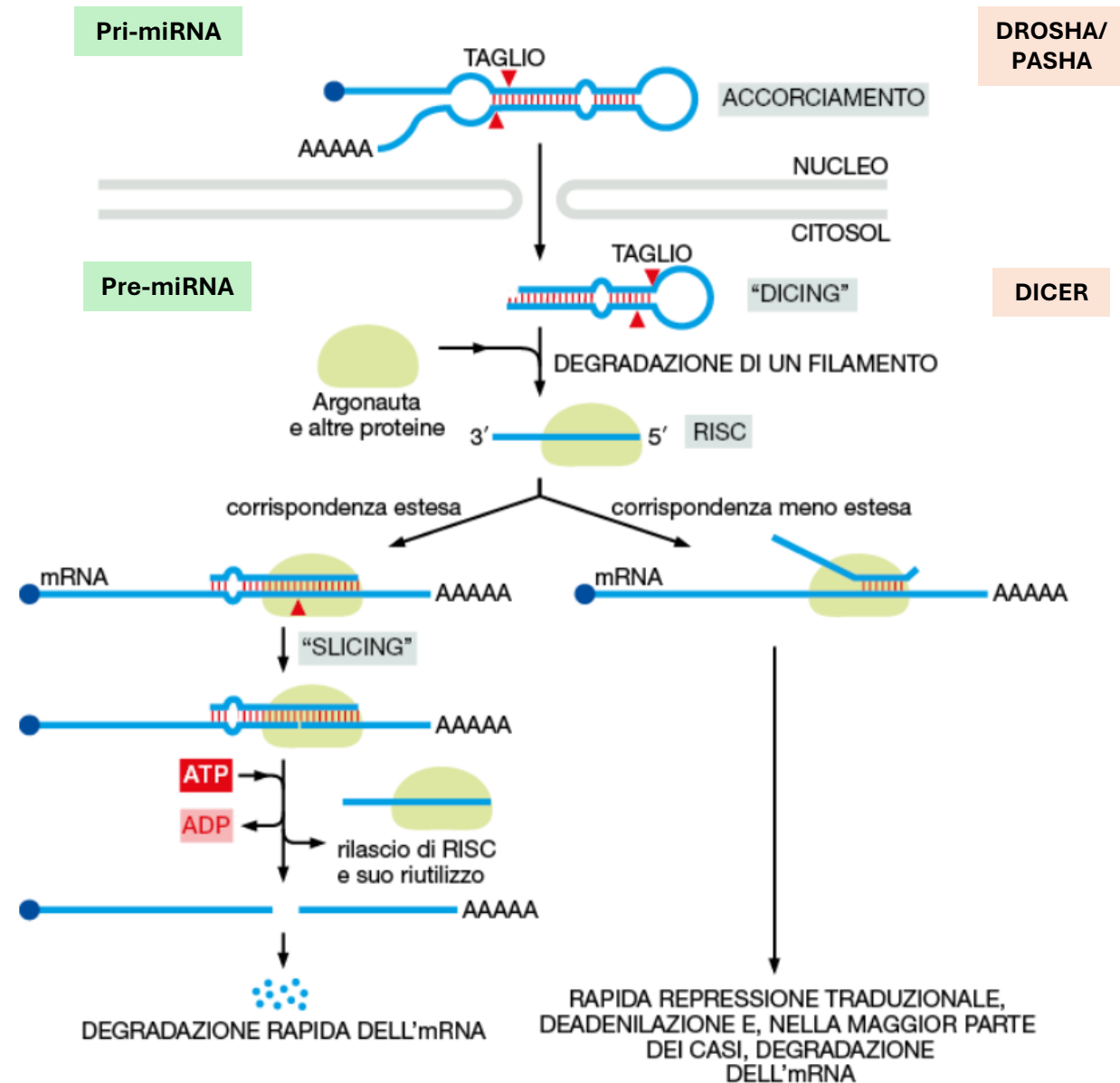
- Regola soprattutto tramite **regione “seme” di 7 nt al 5'**.
- Determina **repressione traduzione + degradazione**.

Il complesso RISC

Il miRNA maturo si associa a proteine formando il complesso **RISC** (RNA-Induced Silencing Complex).

Proteina chiave: **Argonauta (Ago)**:

- **Trattiene** la regione **5'** del **miRNA**.
- **Favorisce l'appaiamento** con sequenze complementari di **mRNA target** (di solito nell'**UTR 3'**)



RNA non codificanti e Regolazione genica: miRNA

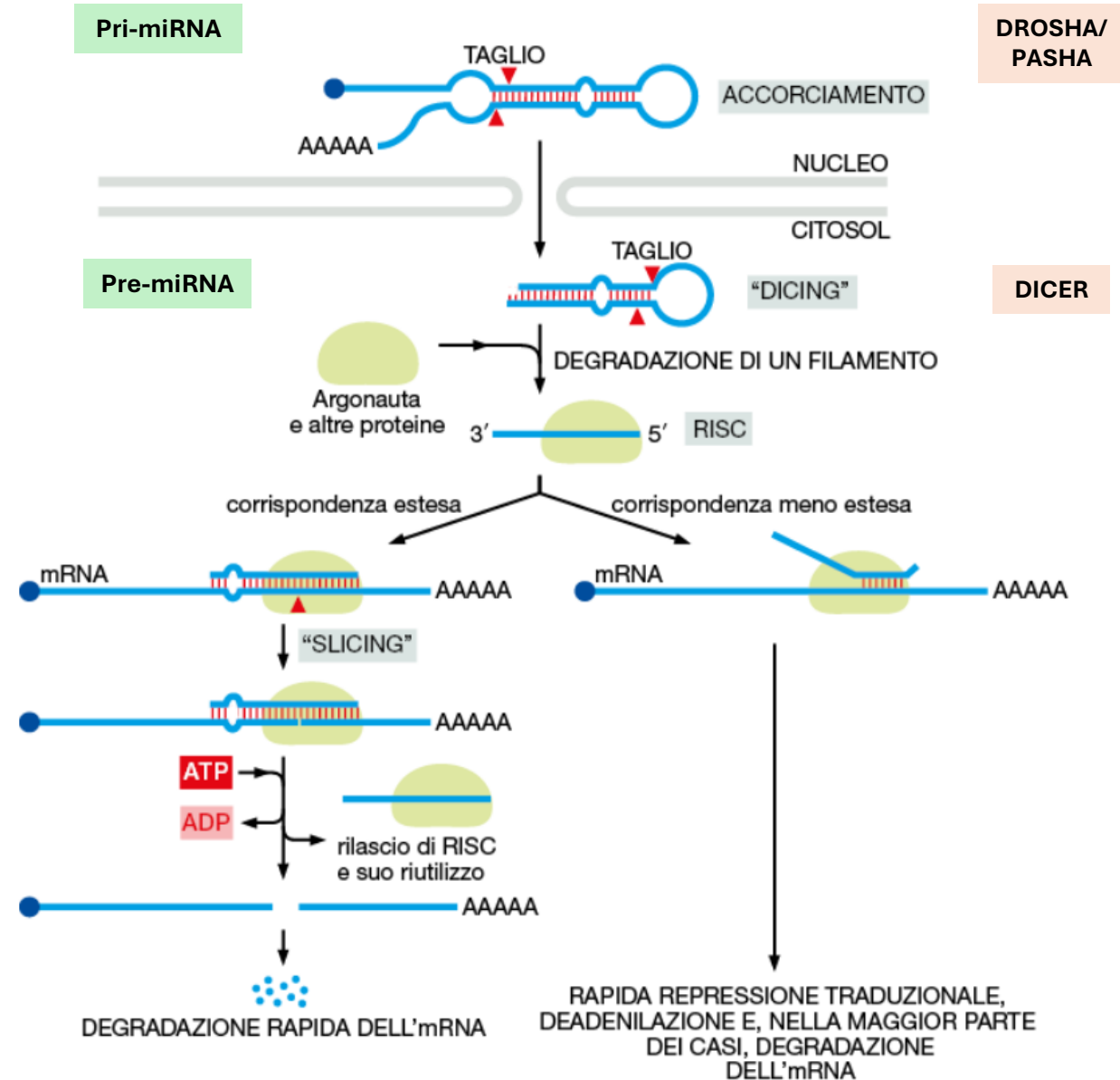
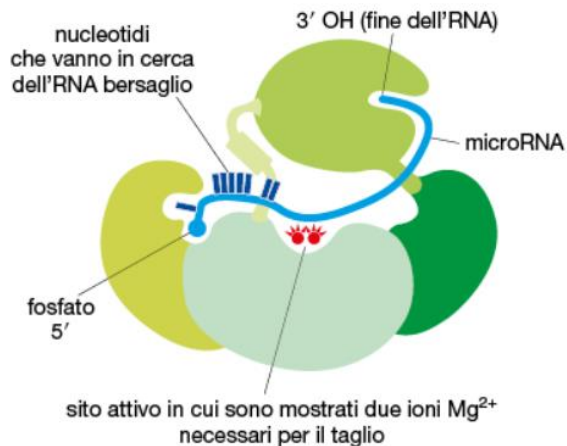
Destini dell'mRNA legato a miRNA

Appaiamento esteso (comune nelle piante, raro negli animali):

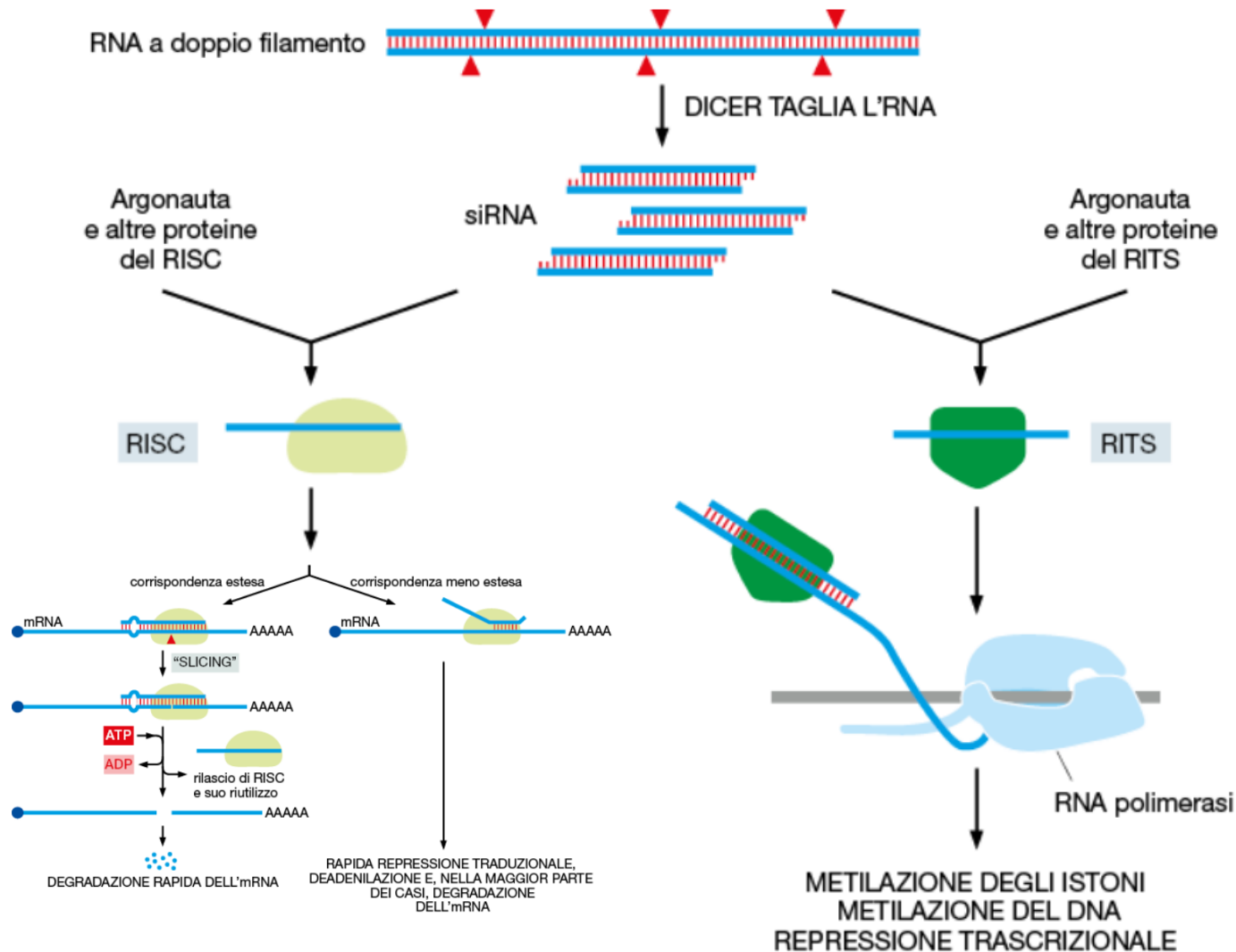
- **Taglio (slicing) dell'mRNA** da parte di Argonauta.
- **Rimozione coda poliA** → degradazione da esonucleasi.
- **RISC/miRNA riciclati** su altri mRNA.

Appaiamento parziale (tipico nei mammiferi):

- **Repressione della traduzione.**
- Reclutamento di **deadenilasi** → accorciamento poliA.
- **Trasporto nei P-bodies** → **degradazione o stoccaggio temporaneo.**



RNA non codificanti e Regolazione genica: siRNA



RNAi come difesa cellulare

- Le proteine che regolano i **miRNA** hanno anche un ruolo difensivo.
- Funzione: **degradazione di RNA estranei**, spesso a **doppio filamento**.
- Fonti di RNA ds (double strand):
 - Virus (durante il ciclo vitale).
 - Elementi trasponibili.
- RNA interference** = meccanismo per **mantenere sotto controllo invasori molecolari**.

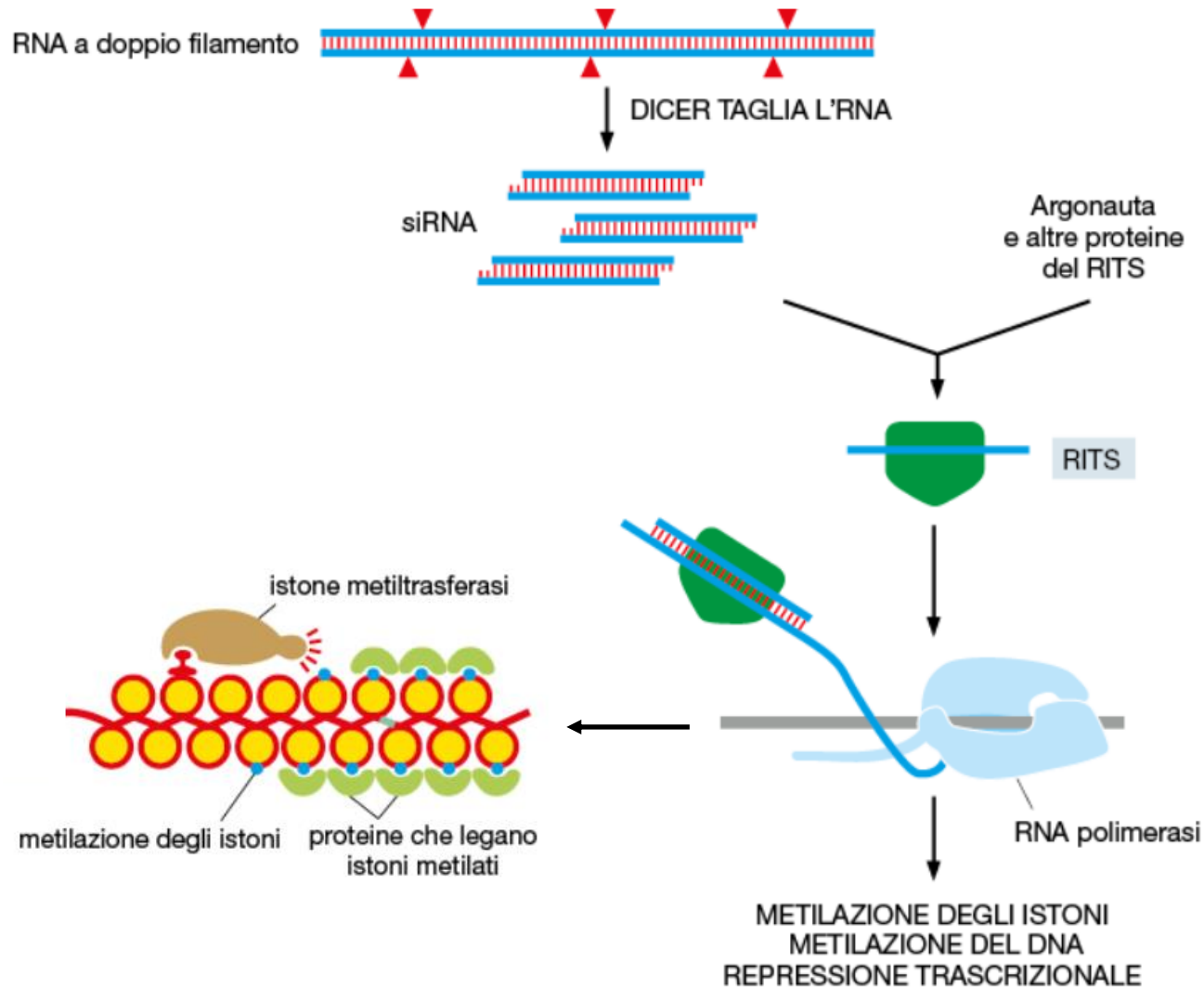
Formazione dei siRNA

- RNA ds attira il complesso con **Dicer**.
- Dicer** taglia l'RNA in frammenti di ~23 coppie di nucleotidi = **siRNA**.

Processo successivo:

- siRNA duplex** legato da **Argonata (Ago) + RISC**.
- Uno dei due filamenti degradato**.
- Filamento guida** rimasto → **indirizza RISC** verso RNA complementari (**virus/trasposoni**).

RNA non codificanti e Regolazione genica: siRNA

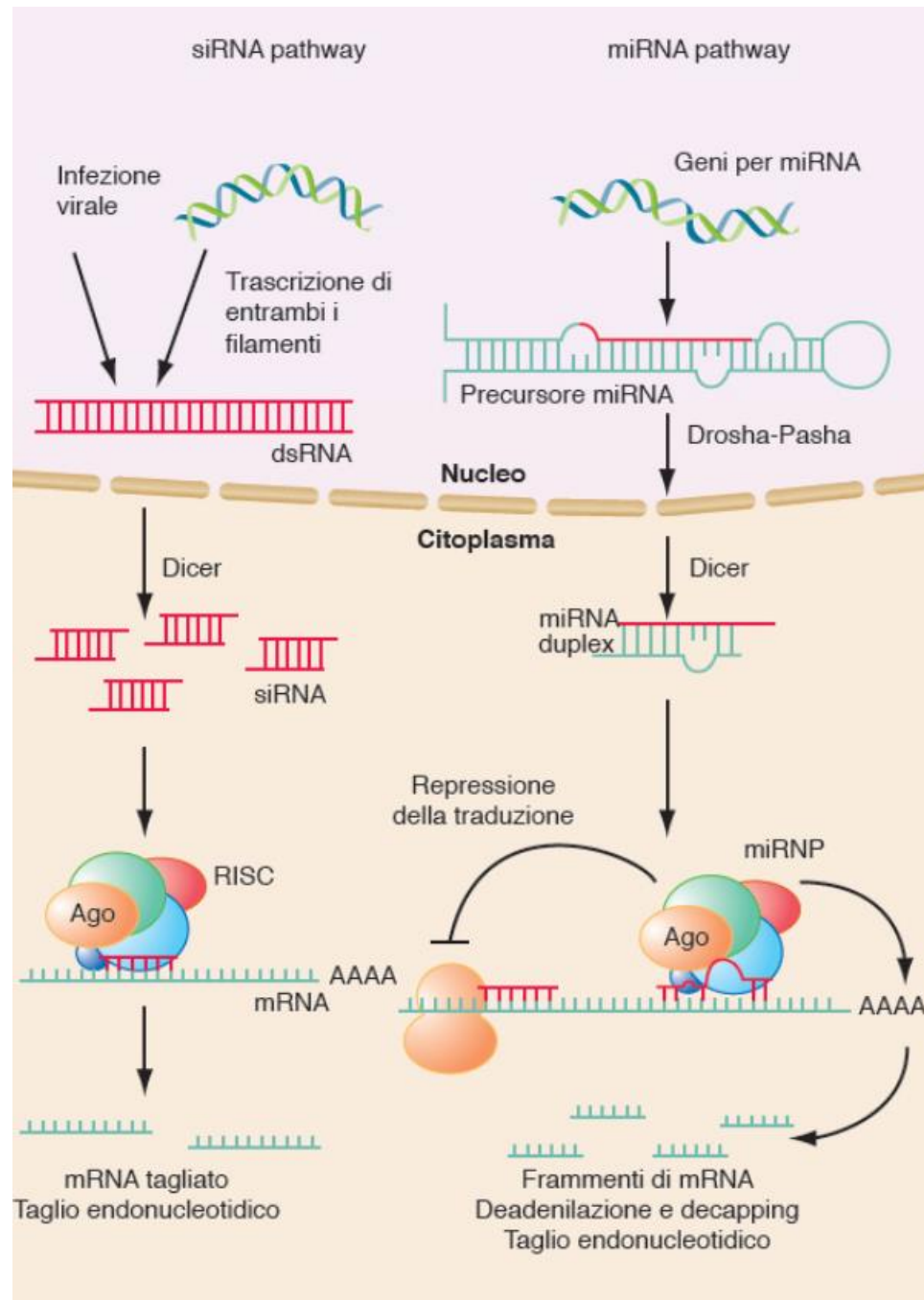


RNAi e silenziamento trascrizionale

- In alcuni casi può **bloccare la trascrizione** stessa del gene.
- Meccanismo: **formazione del complesso RITS** (RNA-Induced Transcriptional Silencing).

Il complesso RITS

- Composizione: siRNA + Argonata + altre proteine.
 - **Riconosce trascritti** complementari emergenti da RNA polimerasi II.
 - RITS recluta proteine che **modificano covalentemente DNA e istoni**.
- Risultato: formazione di **eterocromatina costitutiva**.



RNA non codificanti e Regolazione genica: siRNA

siRNA vs miRNA

Somiglianze:

- Entrambi usano **Dicer, Argonauta, RISC**.
- Entrambi cercano **bersagli tramite appaiamento di basi**.

Differenze:

- **siRNA:** derivano da **RNA ds esogeni** (virus, trasposoni, RNA sintetici).
- **miRNA:** derivano da **geni endogeni** regolatori.

Origine evolutiva:

- **siRNA** = forma **più antica** di RNAi.
- **miRNA** = raffinamento **evolutivo** successivo.

RNA non codificanti e Regolazione genica: piRNA

I piRNA (Piwi-interacting RNA)

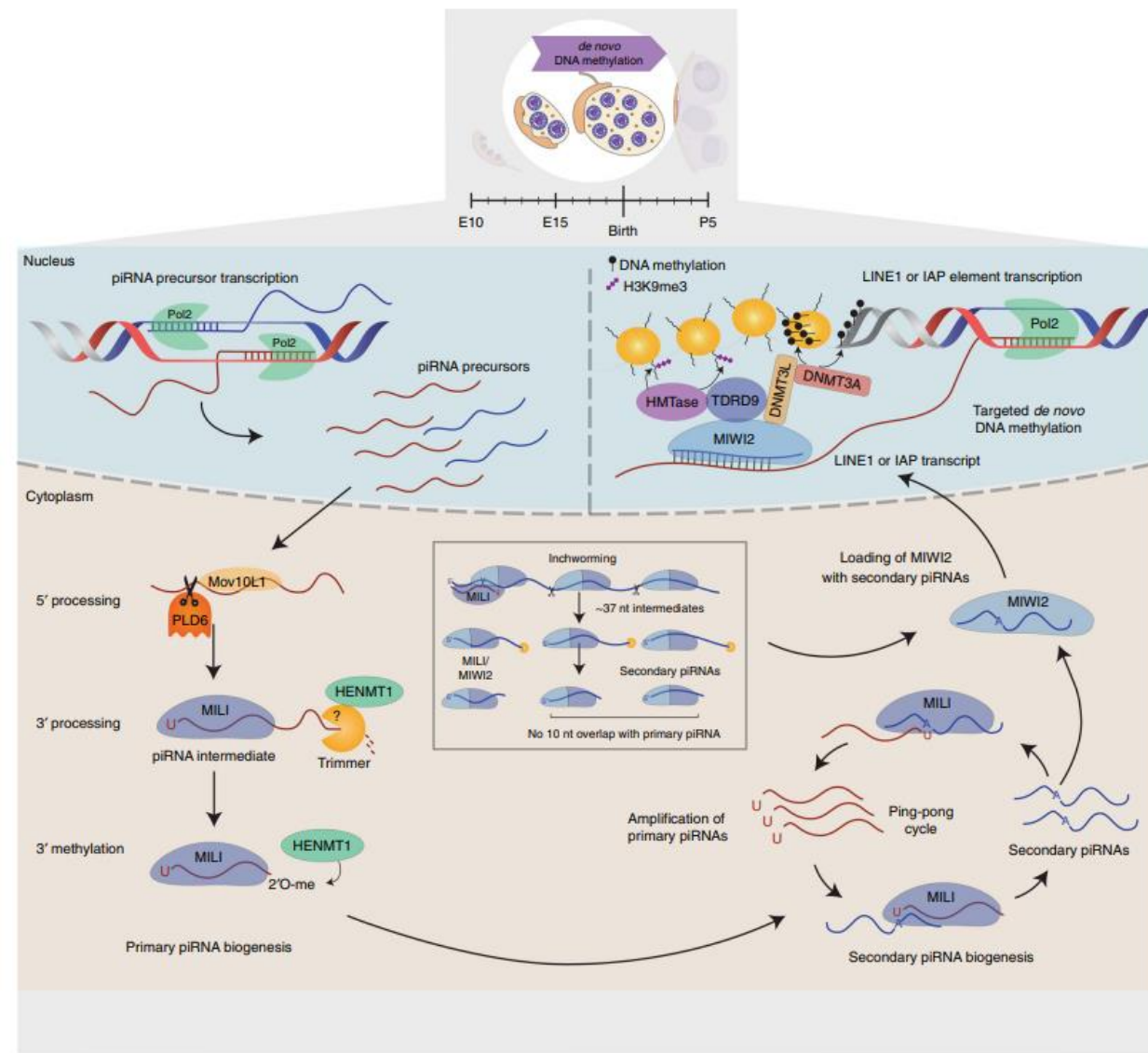
- Associati a proteine **Piwi** (famiglia Argonauta).
- Presenti soprattutto nella **linea germinale**.
- Ruolo principale: **protezione contro i trasposoni**.

Vulnerabilità della linea germinale

- Durante la **gametogenesi**:
 - Molte **modifiche istoniche e metilazioni** del DNA **vengono cancellate**.
 - I **trasposoni** vengono **liberati dai vincoli repressivi**.
- La **linea germinale diventa altamente vulnerabile** al movimento dei trasposoni.
- I piRNA agiscono come **sistema di difesa** specifico.

Meccanismo d'azione dei piRNA

- Appaiamento complementare con RNA trasposonici.
- **Taglio dell'mRNA trasposonico**.
- Reclutamento di **complessi** che compattano il DNA in **eterocromatina repressiva**.



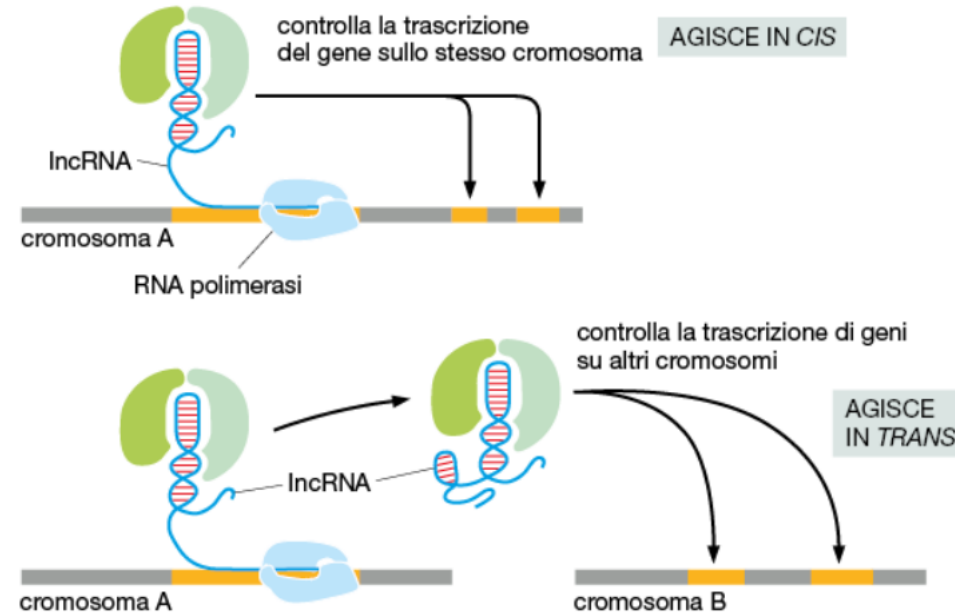
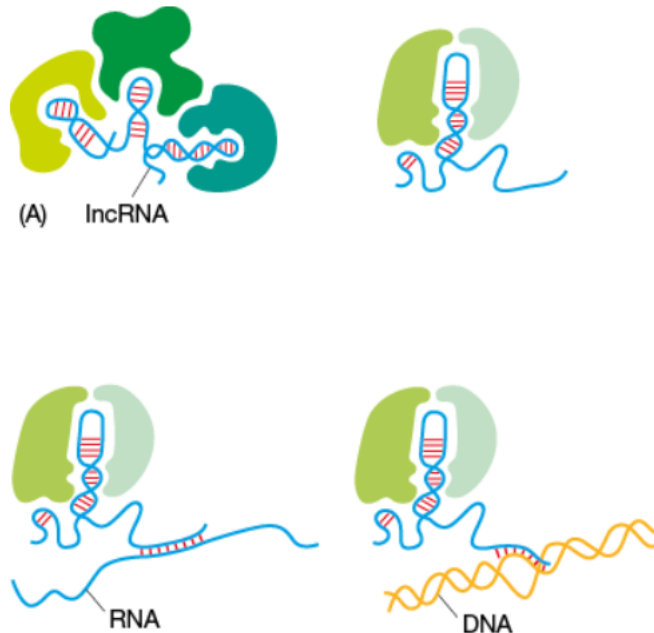
RNA non codificanti e Regolazione genica: LncRNA

lncRNA (long non coding RNA) = RNA > 200 nucleotidi

- Genoma umano: stima di circa **5000 lncRNA**.
- Caratteristiche comuni:
 - Trascritti da **RNA pol II**.
 - Possiedono **cap 5' e coda poli(A)**.
 - Spesso **soggetti a splicing**.

Funzioni note degli lncRNA

- **RNA della telomerasi**
- **RNA Xist**, inattivazione del cromosoma X
- RNA coinvolti nell'**imprinting**
- Altri ruoli descritti:
 - **Controllo dell'attività enzimatica delle proteine.**
 - **Inattivazione** di regolatori trascrizionali.
 - **Modifica dello splicing.**
 - **Blocco della traduzione** di mRNA.



RNA non codificanti e Regolazione genica: LncRNA

Tre caratteristiche unificanti degli lncRNA

1. Scaffold molecolari:

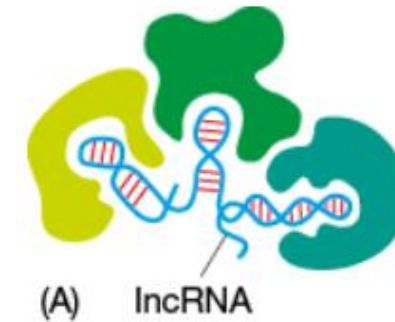
- Riuniscono **più proteine per coordinarne le funzioni.**
- Segmenti **stem-loop dell'RNA = siti di legame proteici.**

2. Sequenze guida:

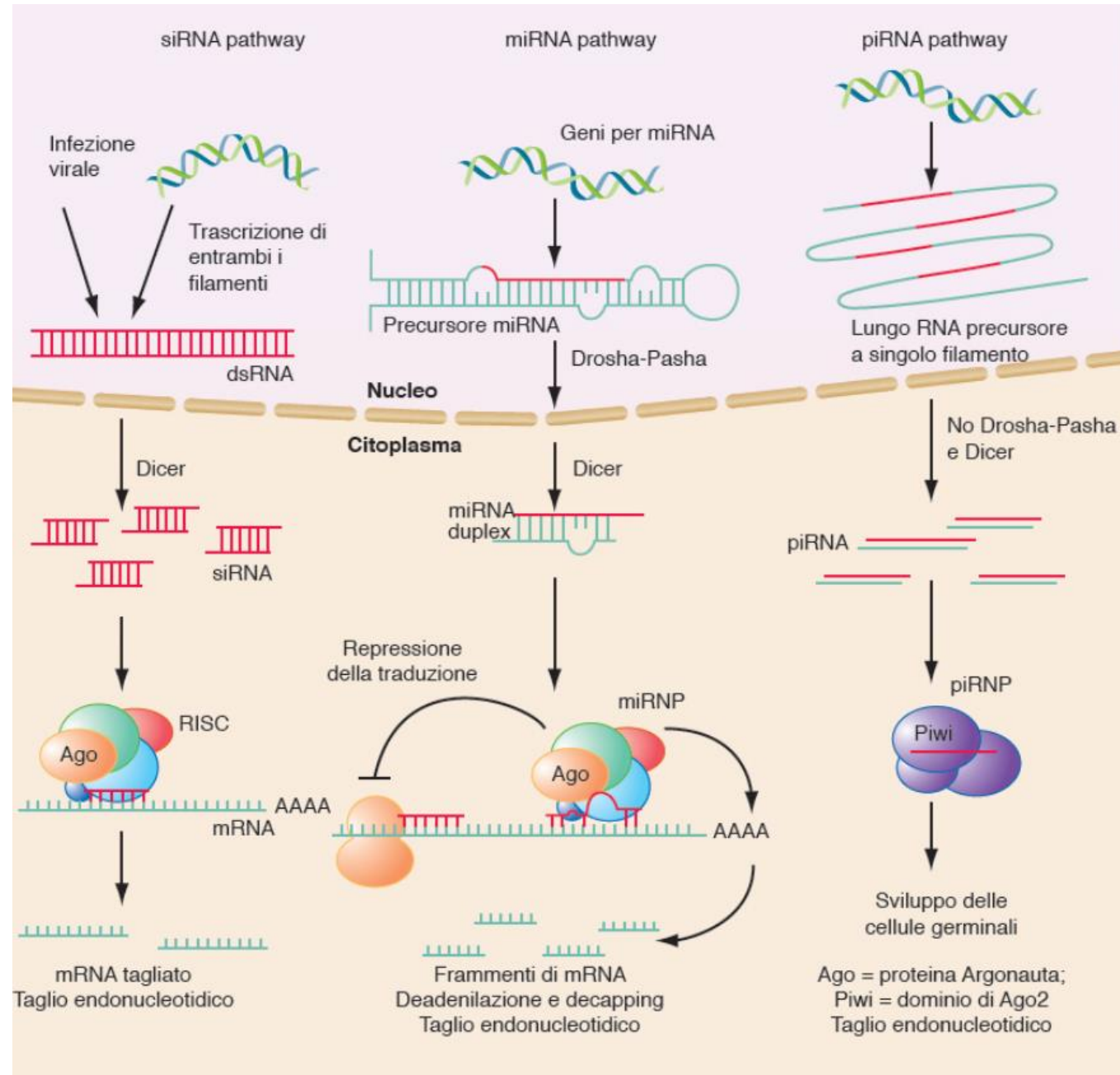
- **Appaiamento con DNA o RNA complementari.**
- Portano con sé **proteine associate in prossimità dei target.**

3. Organizzatori di condensati biomolecolari:

- Es. rRNA (nucleolo), mRNA (P-bodies, granuli da stress).
- Grazie a **molteplici interazioni intramolecolari deboli.**
- Alcuni lncRNA **fungono da “impalcature”** per condensati.



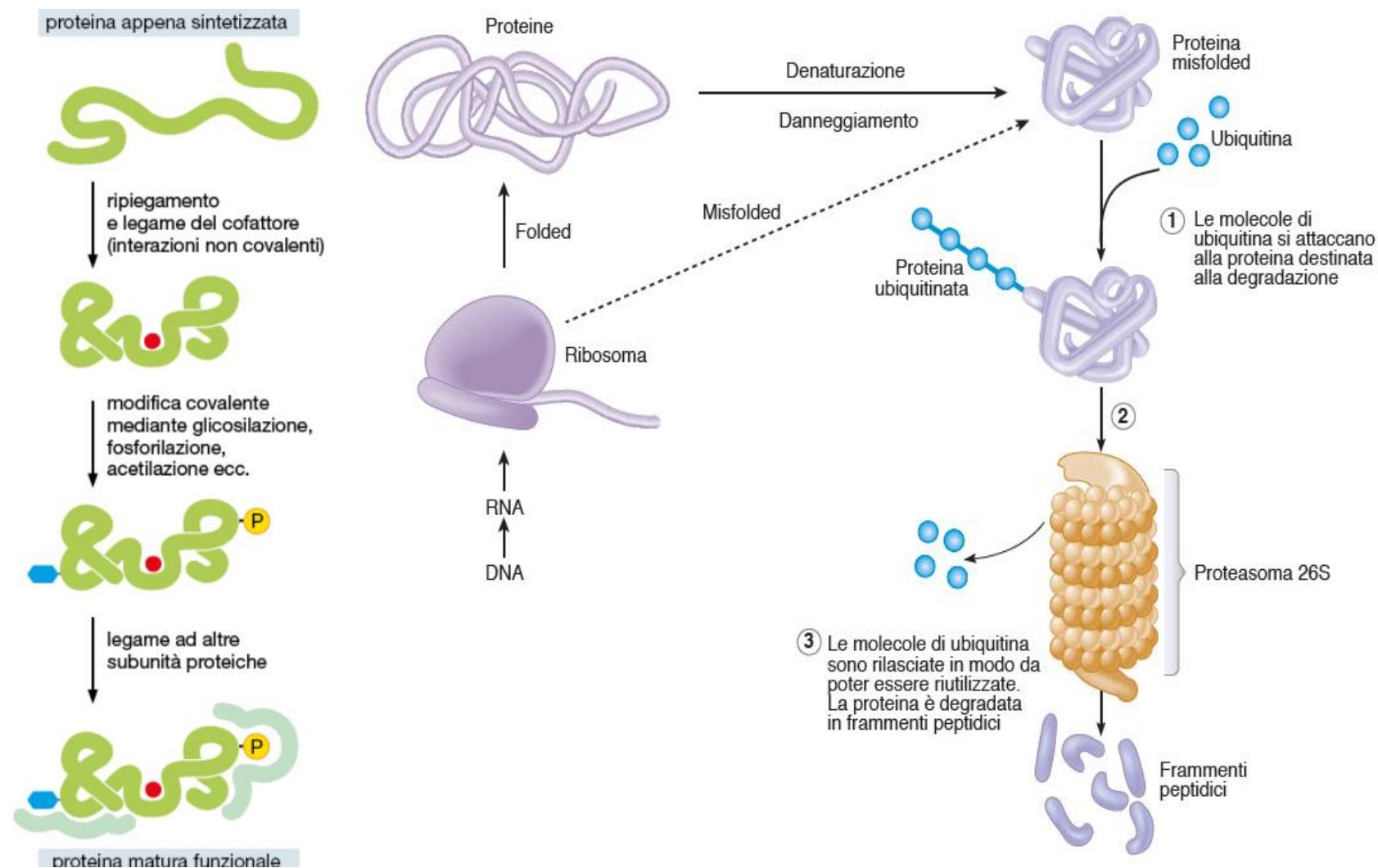
RNA non codificanti e Regolazione genica



Il Folding delle Proteine

Perché servono le chaperon molecolari

- La maggior parte delle proteine non si ripiega correttamente da sola.
- Rischio: **strutture cineticamente intrappolate** o **aggregati proteici** → non funzionali o tossici.
- Soluzione: **Chaperon molecolari**, che:
 - **Legano regioni idrofobe esposte.**
 - **Le rilasciano più volte → nuove possibilità di ripiegamento.**
- Importanza biologica: **aumentano l'accuratezza e l'efficienza** del folding.



Le Chaperon Molecolari: le Heat Shock Proteins (hsp)

Proteine dello shock da calore (hsp)

- Molte chaperon = **proteine da shock termico (hsp)**.
- Prodotte in grandi quantità in risposta a:
 - **Temperature elevate** (es. 42 °C).
 - **Accumulo di proteine mal ripiegate**.

hsp70:

- **Presenti in citosol**, mitocondri, reticolo (BiP).
- **Associano al ribosoma** → guidano proteine durante la sintesi.

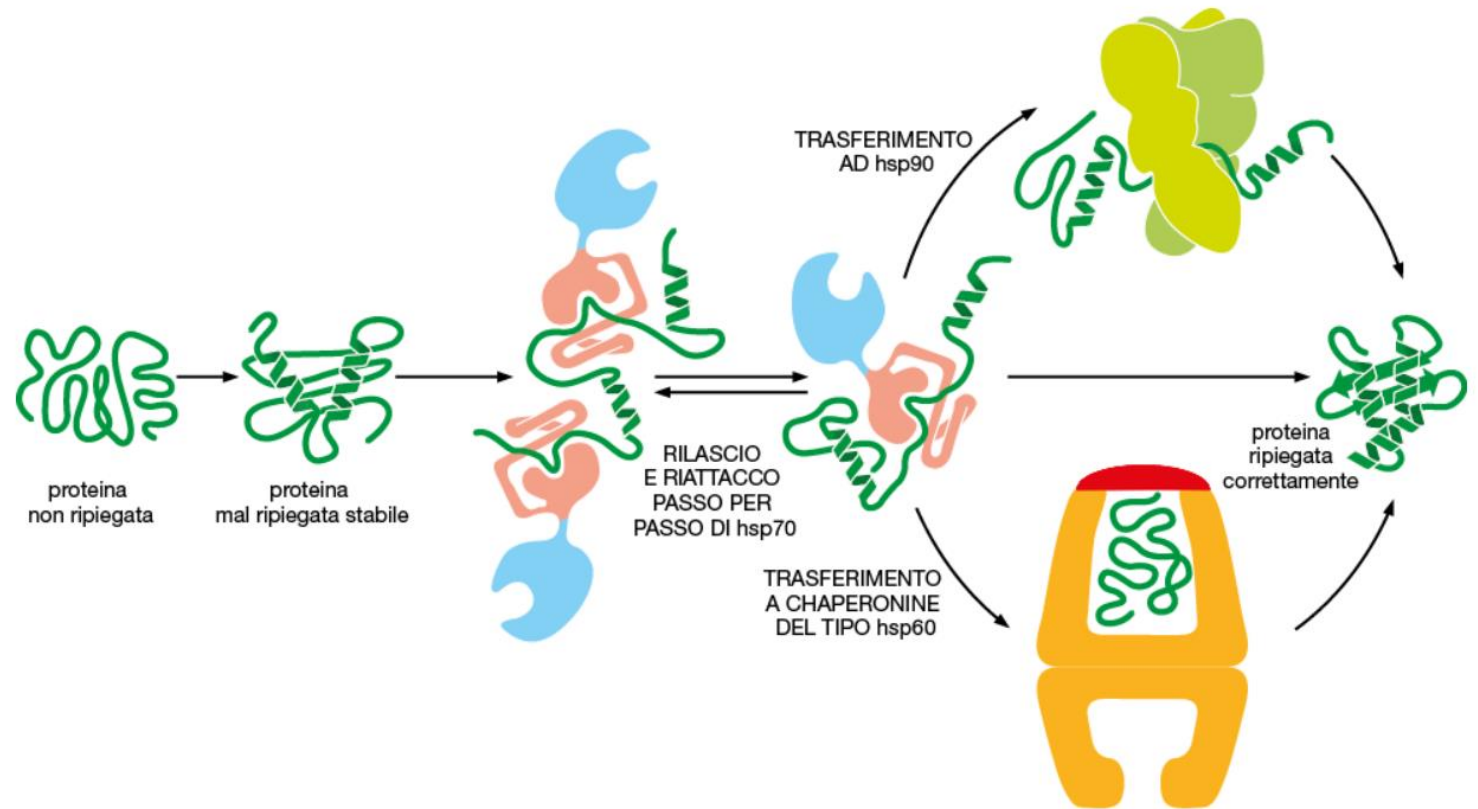
hsp60 (chaperonine):

- **Formano camere a barile** → folding in compartimenti isolati.

hsp90:

- **Forniscono forze meccaniche** per aiutare il ripiegamento.

Tutte consumano **ATP** per cicli di legame e rilascio.



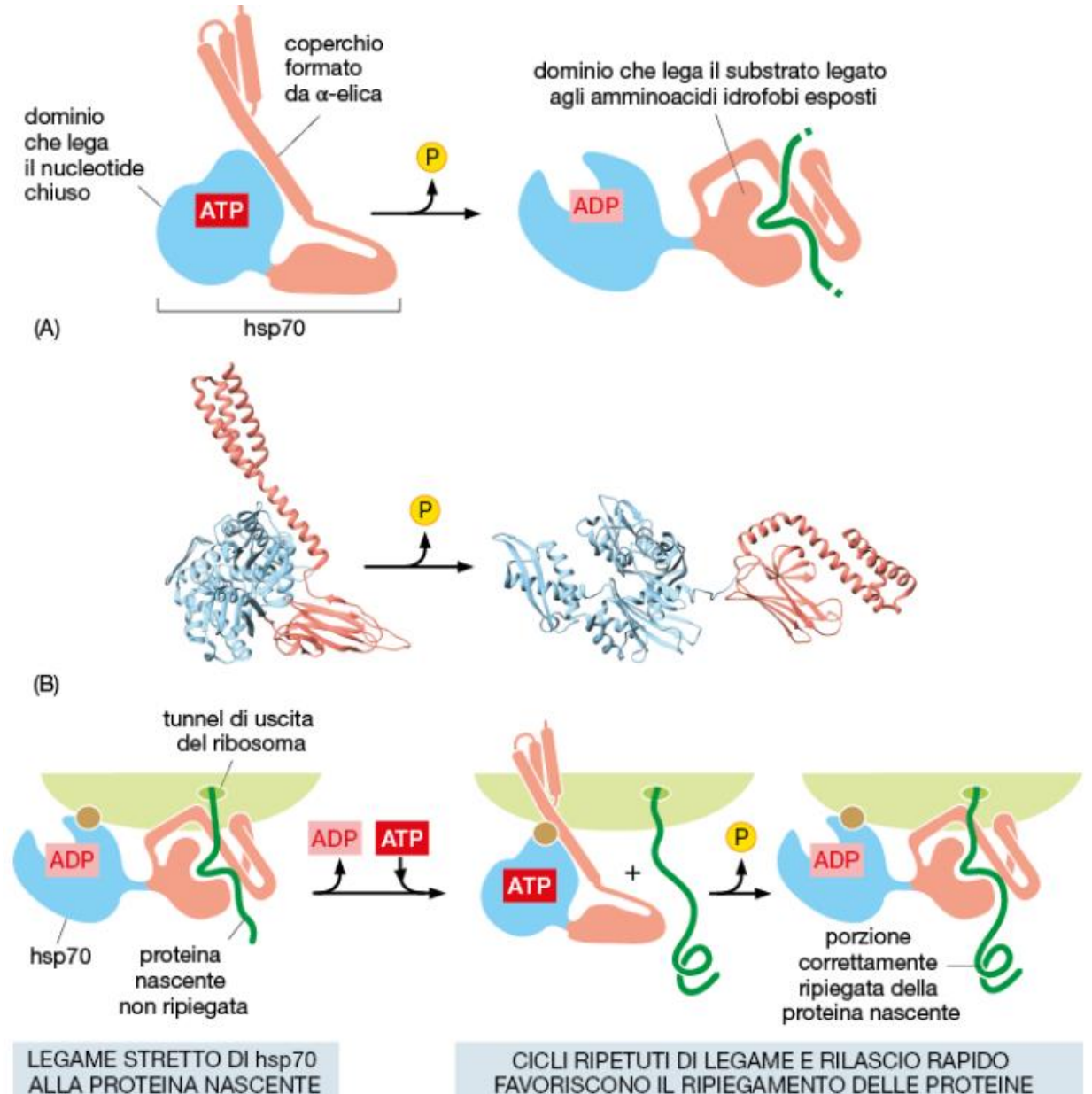
Le Chaperon Molecolari: le hsp70

Il tunnel di uscita del ribosoma

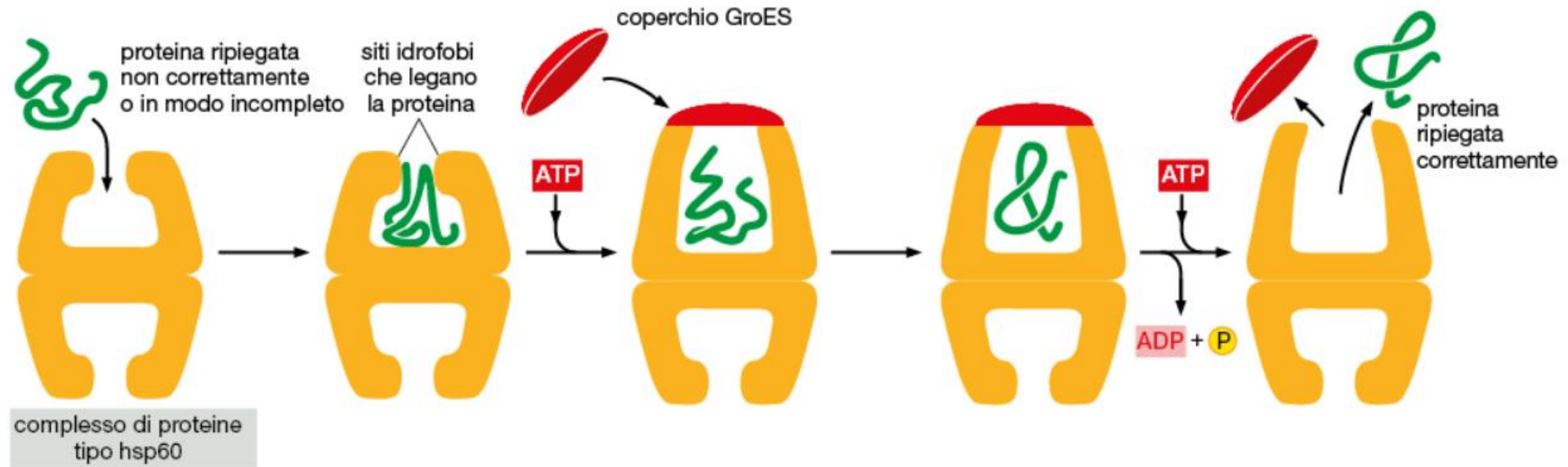
- La maggior parte del **ripiegamento proteico** avviene solo dopo l'emergenza dal tunnel.
- Rivestimento "antiaderente" (rRNA 23S + superfici idrofobe/idrofile).

Meccanismo delle hsp70

- **Legano brevi tratti idrofobi** (≈ 5 aa) mentre emergono dal ribosoma.
- **Bloccano aggregazione prematura.**
- Cicli regolati da:
 - **Idrolisi ATP $\rightarrow$ ADP** $\rightarrow$ chiusura stretta.
 - **Nuovo ATP** $\rightarrow$ apertura e rilascio.
- **Più molecole di hsp70 possono cooperare** sullo stesso substrato.
- Ruolo: **folding precoce e post-ribosomiale.**



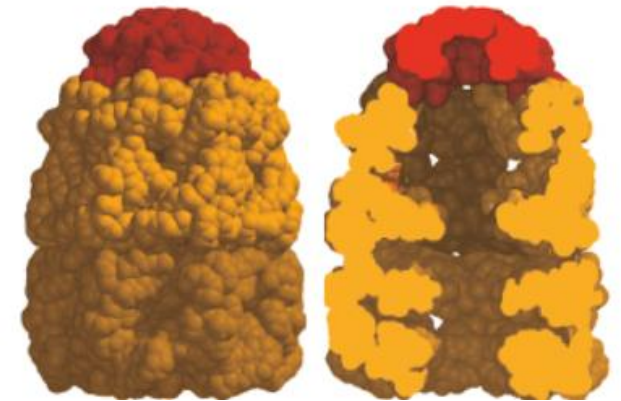
Le Chaperon Molecolari: le hsp70



Meccanismo delle hsp60 (chaperonine)

Struttura a barile con coperchio.

- **Fase 1: ingresso della proteina** mal ripiegata (**zone idrofobe attratte**).
- **Fase 2: chiusura del coperchio** + idrolisi ATP → **interno diventa idrofilo**.
- **Fase 3: proteina ha tempo/spazio per ripiegarsi** correttamente.
- **Fase 4: apertura del coperchio** → rilascio della proteina (corretta o meno).



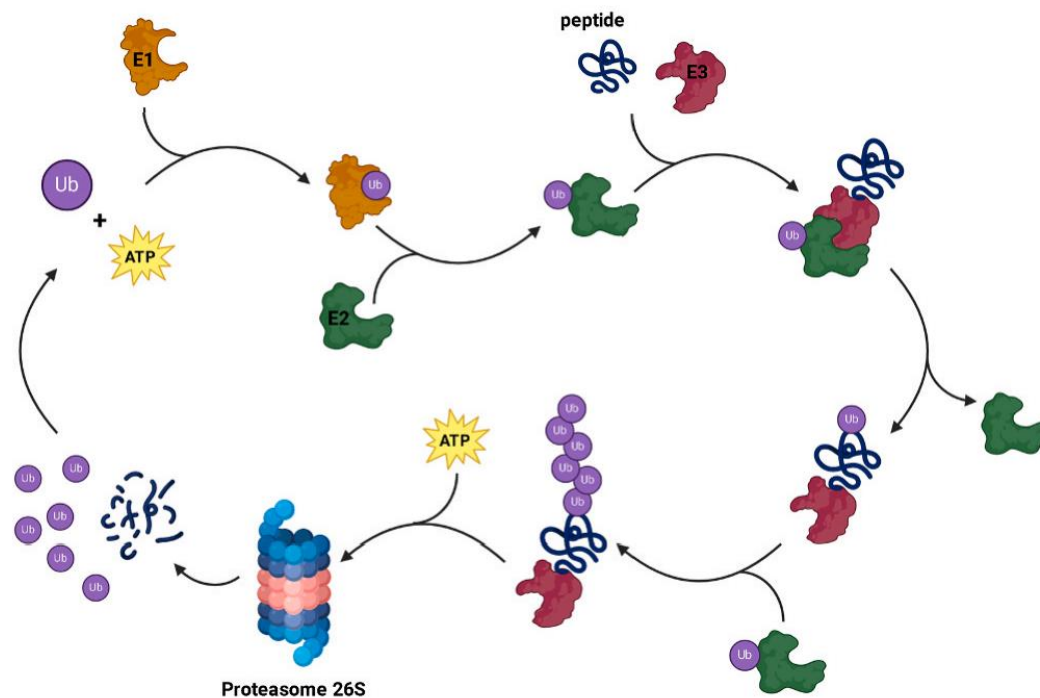
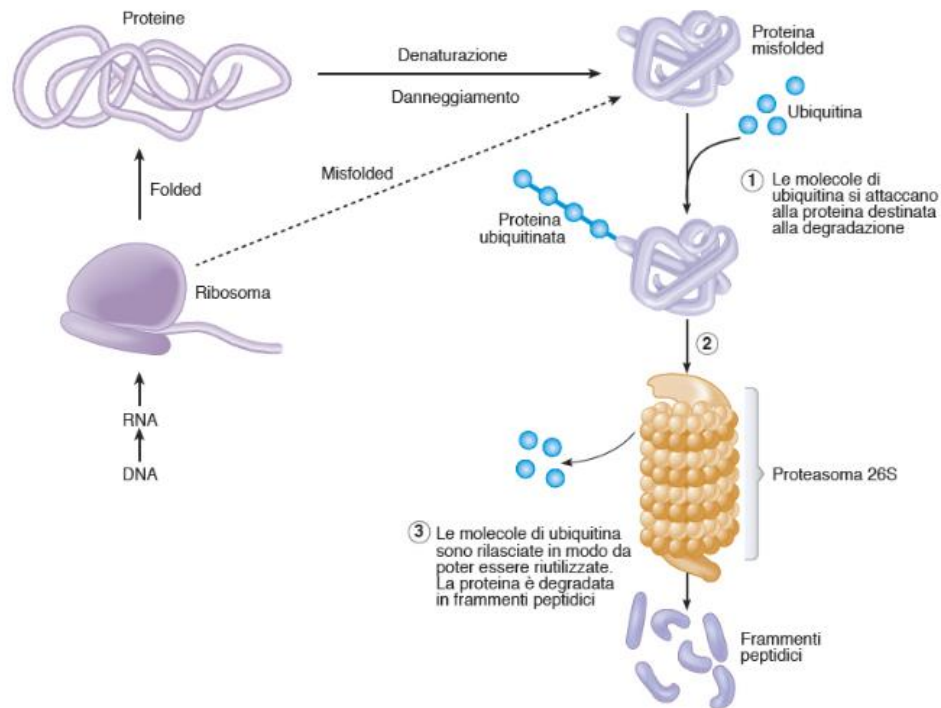
Il Sistema Ubiquitina Proteasoma

Quando le proteine devono essere eliminate

- **Non tutte le proteine** riescono a **ripiegarsi** correttamente.
- **Segnale** principale di errore: **zone idrofobe esposte**.
- Esito: **marcatura con ubiquitina** → **degradazione**.

Il sistema ubiquitina-proteasoma

- **Enzimi specializzati attaccano ubiquitina (Ub)** a una lisina della proteina bersaglio.
- Si forma una **catena di poliubiquitina (K48-linked) = segnale di distruzione.**
- **Destinazione finale: proteasoma**, la “camera di demolizione” cellulare **ricca di proteasi progressive.**



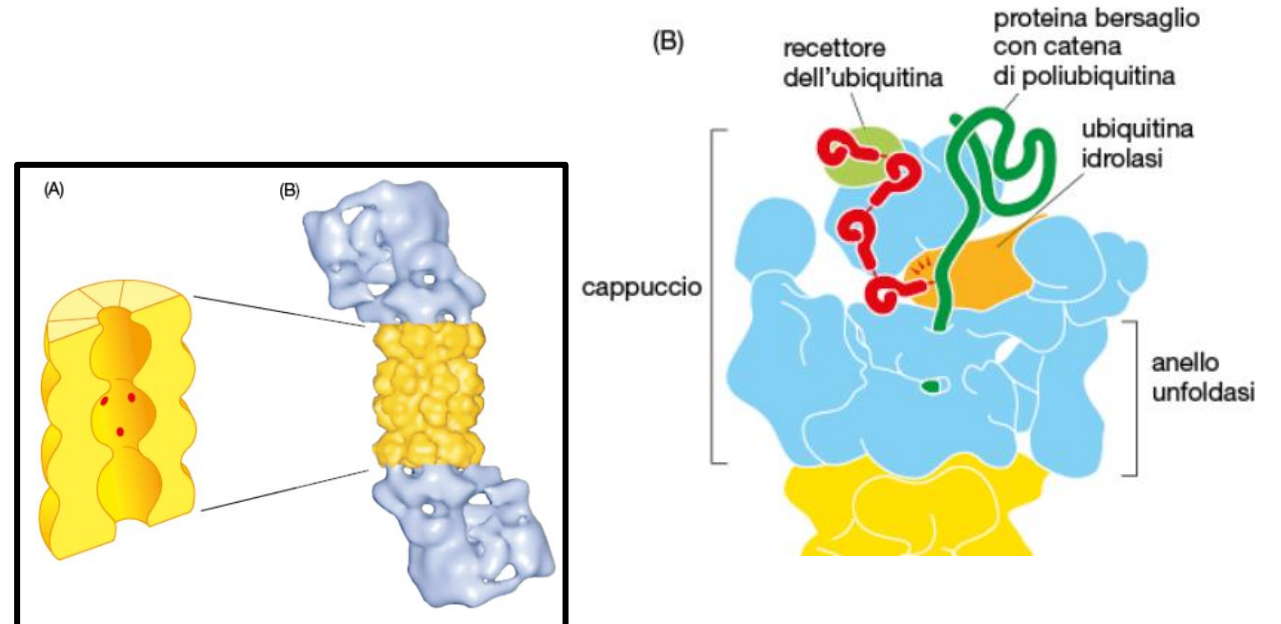
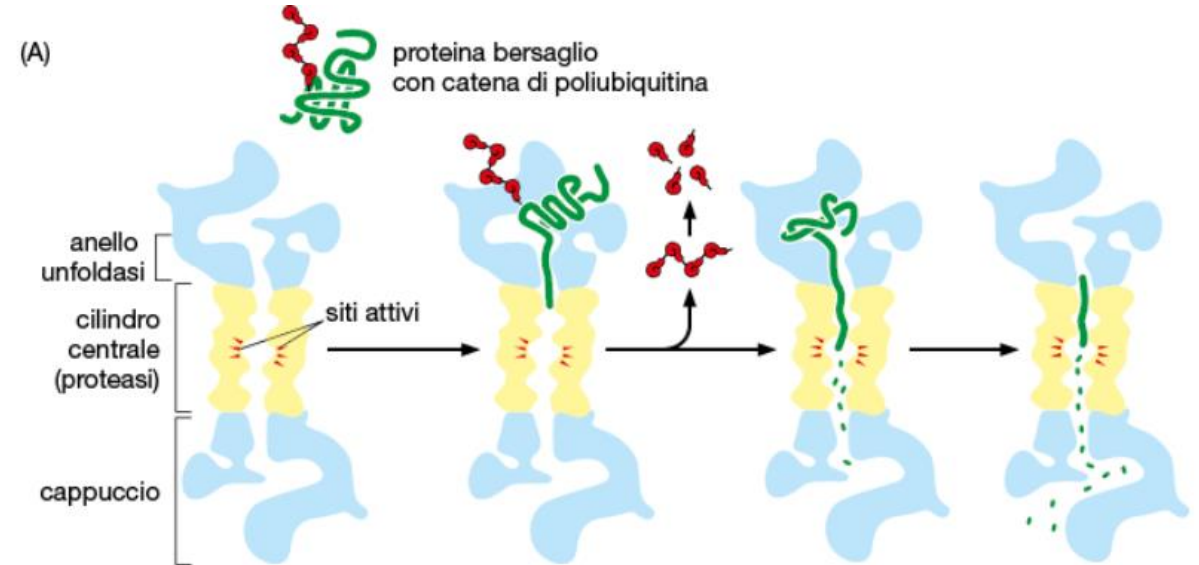
Proteasoma

Struttura del proteasoma

- **Core 20S: cilindro centrale**, 4 anelli eptamerici.
 - Contiene le proteasi → degradazione in peptidi corti.
- **Cappucci 19S:** posti alle estremità.
 - **Riconoscono proteine ubiquitinate.**
 - Contengono proteine AAA (unfoldasi) → svolgono e introducono il substrato.

Meccanismo di azione del proteasoma

1. **Riconoscimento** della catena di poliubiquitina (K48).
2. **Secondo controllo:** la proteina deve avere anche una **regione non ripiegata**.
3. **Deubiquitinazione** → ubiquitina riciclata.
4. **Svolgimento + traslocazione** nel core (ATP-dipendente).
5. **Degradazione completa** in peptidi di 7–9 aa.



Quando l'Assemblaggio va Storto: Le Fibrille Amiloidi

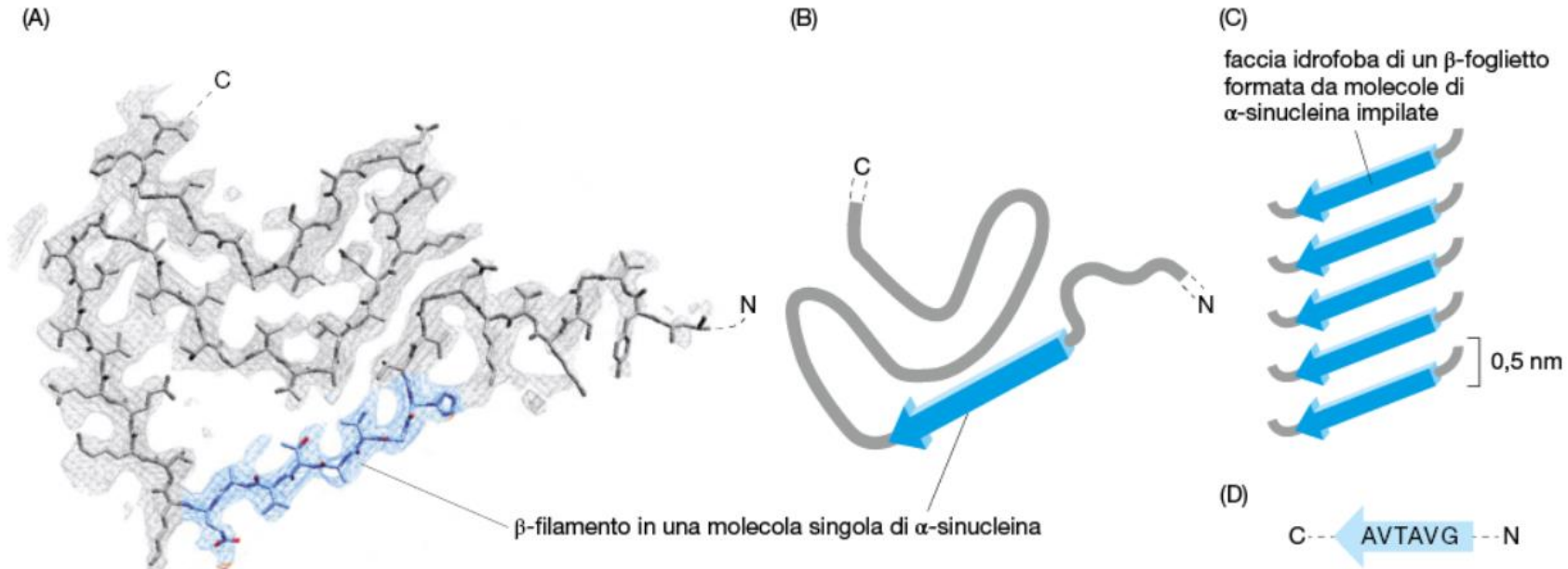
- La **mancata eliminazione** delle proteine non correttamente avvolte genera l'**accumulo di aggregati insolubili di fibrille amiloidi**.
- **Definizione:** aggregati di **β -foglietti stabili e autopropaganti**.
- L'**accumulo di fibre amiloidi** è alla base di alcune patologie che prendono il nome di **amiloidosi** (es: Parkinson, Alzheimer e Diabete)

Struttura:

- **Catene polipeptidiche identiche impilate** → pila continua di **β -foglietti**.
- I β -filamenti sono disposti **perpendicolarmente** all'asse della fibrilla.
- **Due pile si accoppiano** → **motivo a croce- β** .

Proprietà:

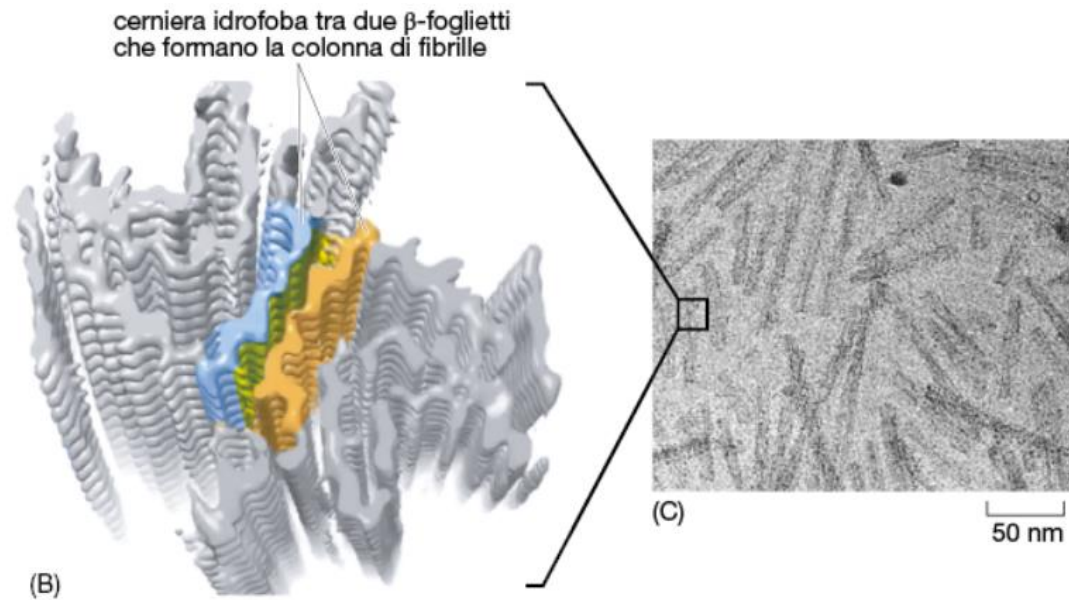
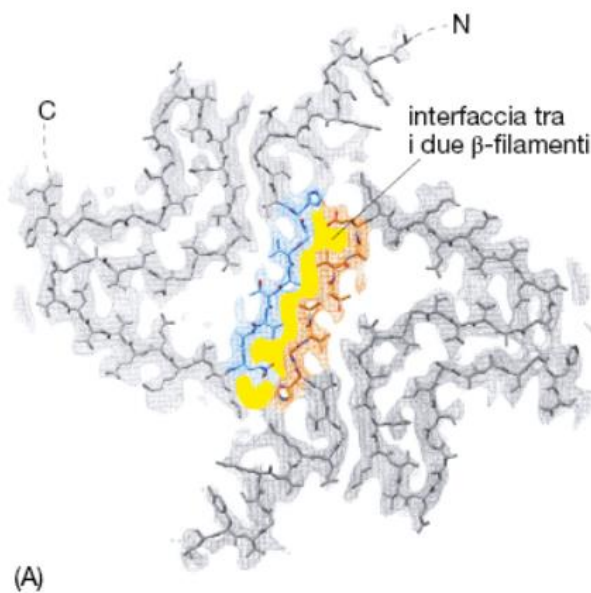
- Struttura fibrosa non ramificata.
- Larghezza: 5–15 nm.



Le Fibrille Amiloidi

- **Molte proteine potrebbero**, in teoria, adottare conformazioni **amiloidi**.
- **Basta un breve segmento polipeptidico** per formare lo scheletro della fibrilla.
- **Fisiologicamente, meccanismi di controllo di qualità** cellulari **impediscono** l'aggregazione.
- **Invecchiamento: i sistemi di controllo decadono**
→ aumentano gli aggregati patologici.

- **Accumulo intracellulare di fibrille:**
 - Può portare a **morte cellulare**.
 - **Danni particolarmente gravi** nei **tessuti non rigenerativi**, come il cervello.
- Patologie correlate:
 - **Malattia di Alzheimer.**
 - **Malattia di Parkinson.**
- Le fibrille amiloidi sono quindi al centro delle principali **malattie neurodegenerative**.



Le Fibrille Amiloidi: α -Sinucleina e Parkinson

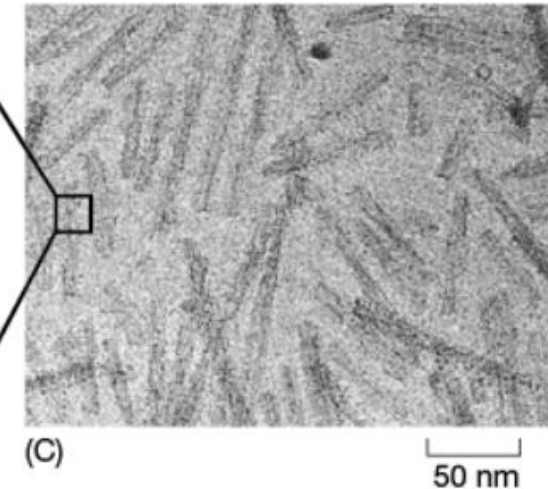
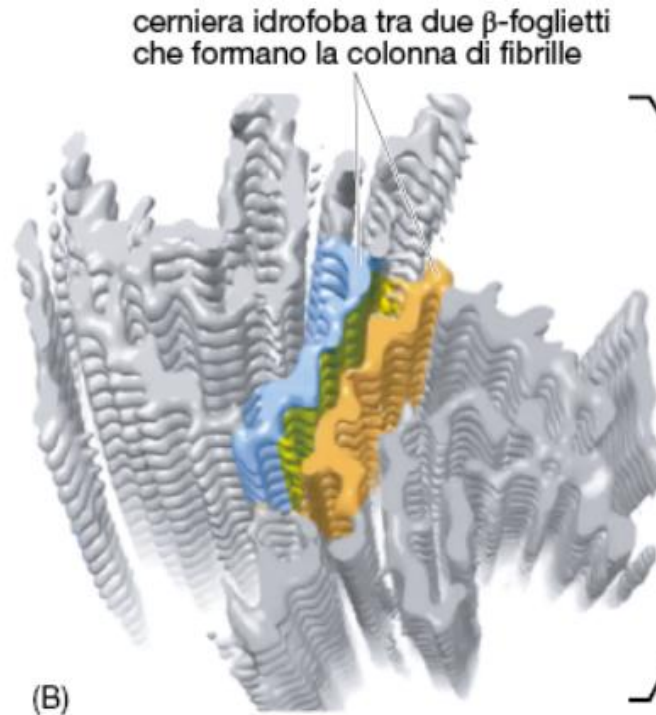
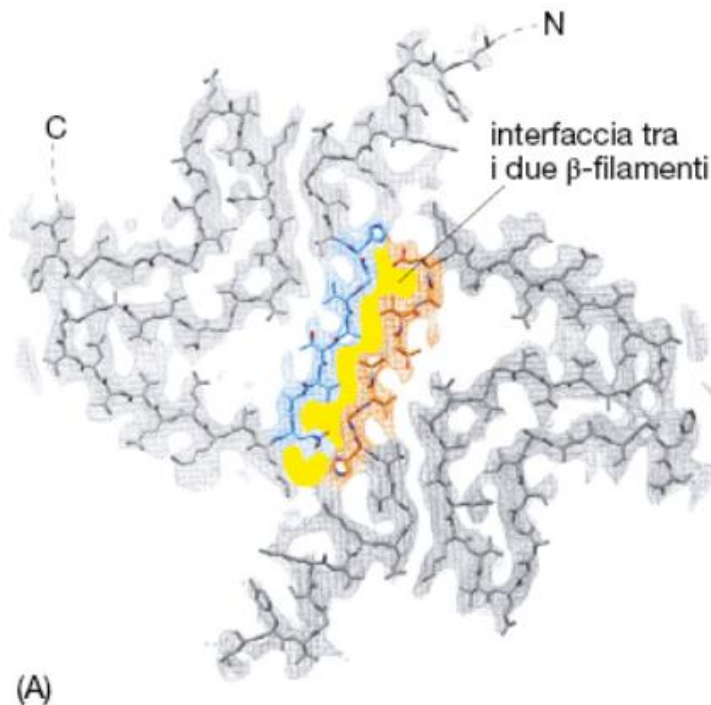
α -Sinucleina: proteina associata alla malattia di Parkinson.

Meccanismo di aggregazione:

- Monomero (140 aa) $\rightarrow$ in parte disordinato.
- Segmento β ($\approx$ 57 aa) $\rightarrow$ si dispone a **foglio β** .

- Fogli β si impilano $\rightarrow$ formazione di fibrille lineari.
- Due fogli identici si accoppiano $\rightarrow$ struttura a **croce- β** .
- Una **cerniera idrofoba** stabilizza l'interazione.

Varianti: **la stessa sequenza di α -sinucleina può produrre fibrille diverse.**



Proteina tau $\rightarrow$ Malattia di Alzheimer.

Malattie da Prioni

Origini del concetto di prione

1967 – J.S. Griffith propone l'ipotesi *protein-only*:

- Agenti infettivi composti **solo da proteine**, privi di acidi nucleici.
- **Responsabili di malattie neurodegenerative fatali.**

1982 – S. Prusiner conia il termine **prione** (*proteinaceous infectious particle*).

Evidenze sperimentali

- Nelle **preparazioni purificate di tessuti nervosi** infetti è stata isolata **solo una proteina, senza acidi nucleici**.
- Ipotesi di Griffith/Prusiner supportata da:
 - **Proprietà di ripiegamento e conformazione** proteica.
 - **Differenti sequenze amminoacidiche** → **differenti conformazioni** e funzioni.

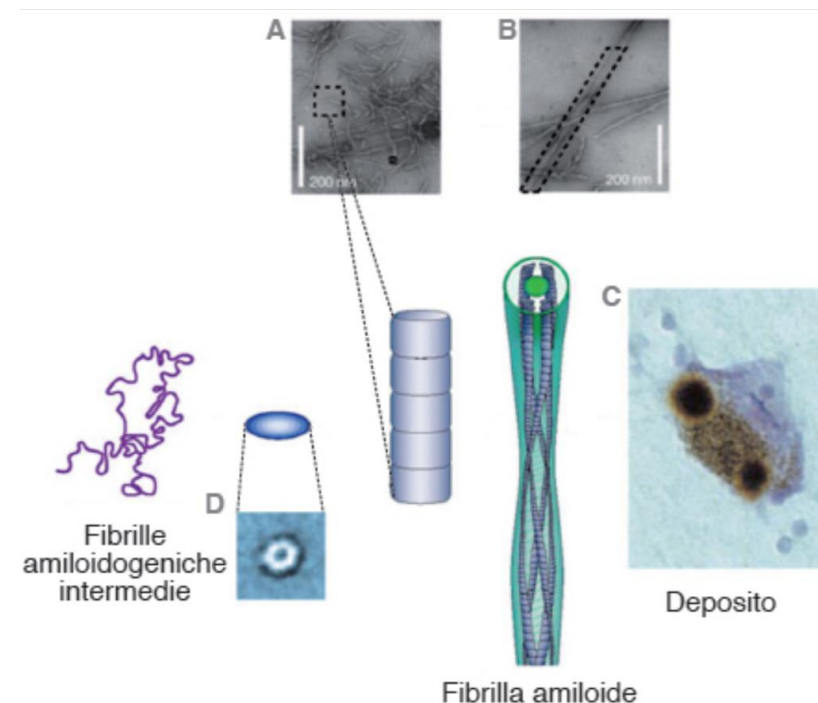
Malattie da prioni: un caso particolare

Diversamente da Alzheimer e Parkinson, le malattie da prioni:

- **Possono diffondersi da un organismo all'altro.**
- Si trasmettono attraverso il consumo di tessuti contenenti proteine prioniche mal ripiegate.

Patologie correlate:

- **Scrapie** → pecore.
- **CJD (Creutzfeldt–Jacob Disease)** → esseri umani.
- **Kuru** → esseri umani.
- **BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy)** → bovini (“mucca pazza”), *trasmissibile anche all'uomo*.



Ma come riusciva a propagarsi senza passare per il genoma?

Malattie da Prioni: La Proteina Prionica

- Proteina **PrP (Prion-related Protein)** codificata dal gene **PRNP** (cromosoma 20p). Due forme principali:

1. PrP

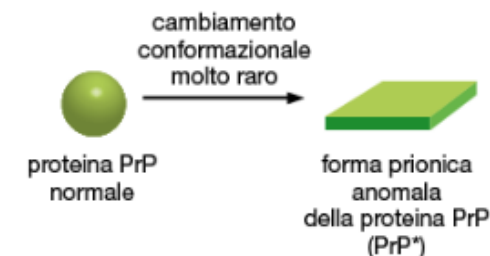
- Presente in **neuroni e altri tessuti**.
- Struttura prevalente ad **α -elica**, con **brevi tratti a foglietto β** .
- Funzioni ipotizzate: **trasporto ioni** (rame), **segnalazione cellulare**, formazione di sinapsi.

2. PrP*

- Riscontrata nei **tessuti infetti**.
- Struttura** con **foglietti β estesi**.
- Resistente alle proteasi** → difficile degradazione.
- Induce la **conversione conformazionale** della **PrP** normale.
- Avvia un **circuito di feedback positivo** → propagazione rapida della forma malata.
- Diffusione cellula a cellula nel cervello → **neurodegenerazione e morte cellulare**.

- La **trasmissione alimentare** è il principale rischio*
- Caso storico: diffusione della **BSE** dagli animali all'uomo.*
- In assenza di PrP*, la conversione spontanea della PrP normale è **estremamente improbabile**.*

(A) la proteina prionica può assumere una forma anomala mal ripiegata



(B) la proteina mal ripiegata può indurre la formazione di aggregati proteici

