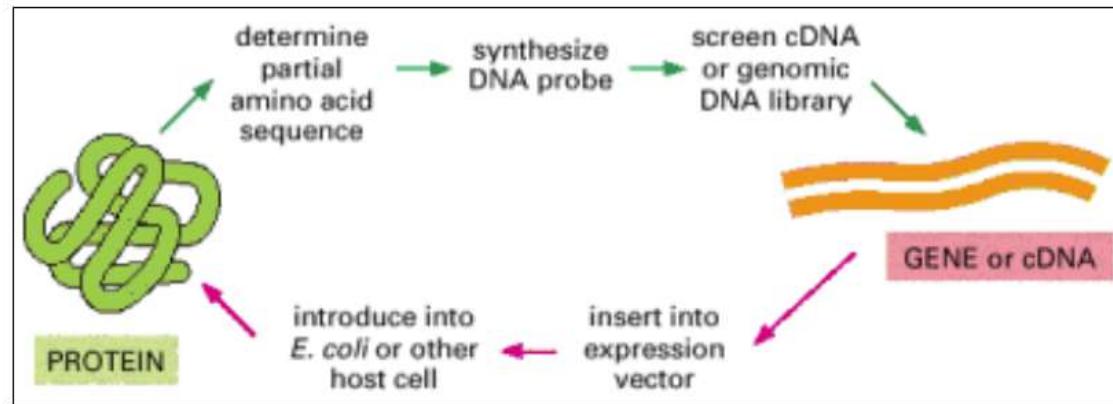


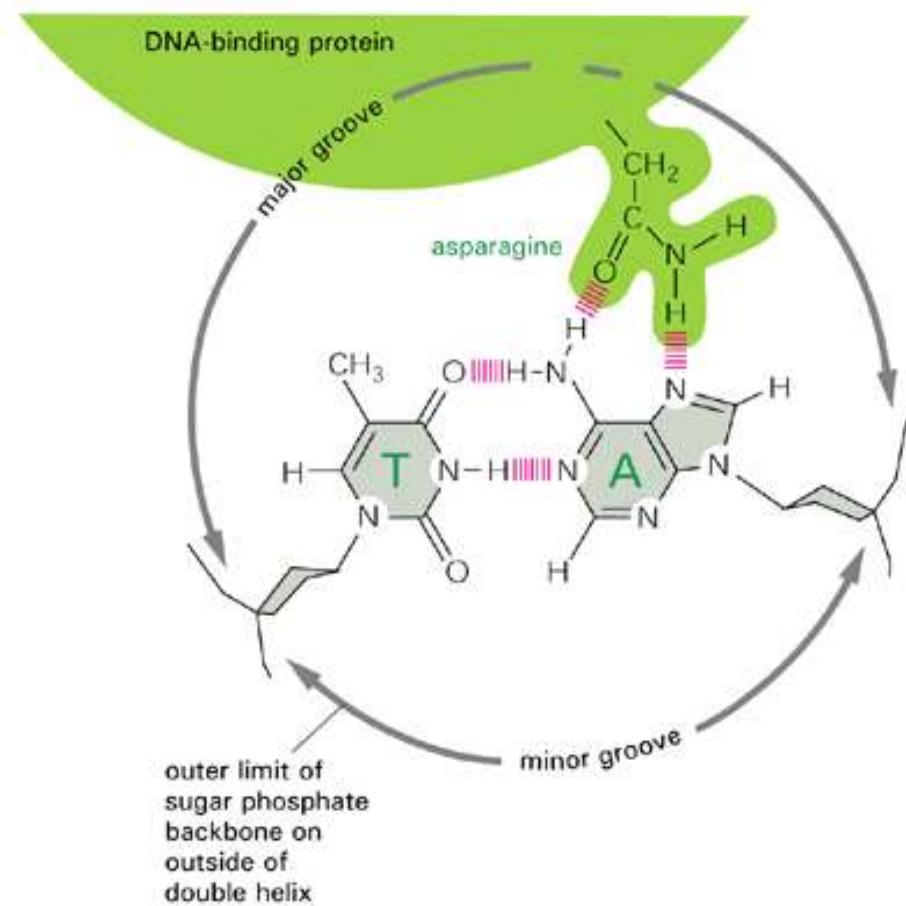
# Dal gene alla proteina e ...viceversa !

ch8f44[1] - Visualizzatore immagini e fax per Windows



# Riconoscimento fra un fattore di trascrizione ed il DNA

**Legame di una  
proteina  
regolatrice al  
solco maggiore  
del DNA**

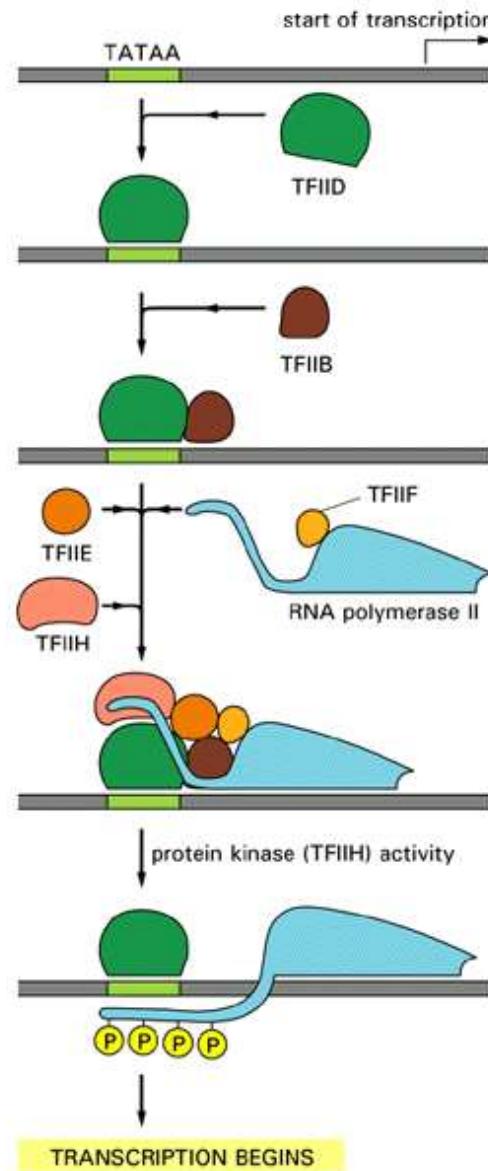


**La trascrizione negli eucarioti  
differisce per due importanti  
caratteristiche rispetto ai procarioti:**

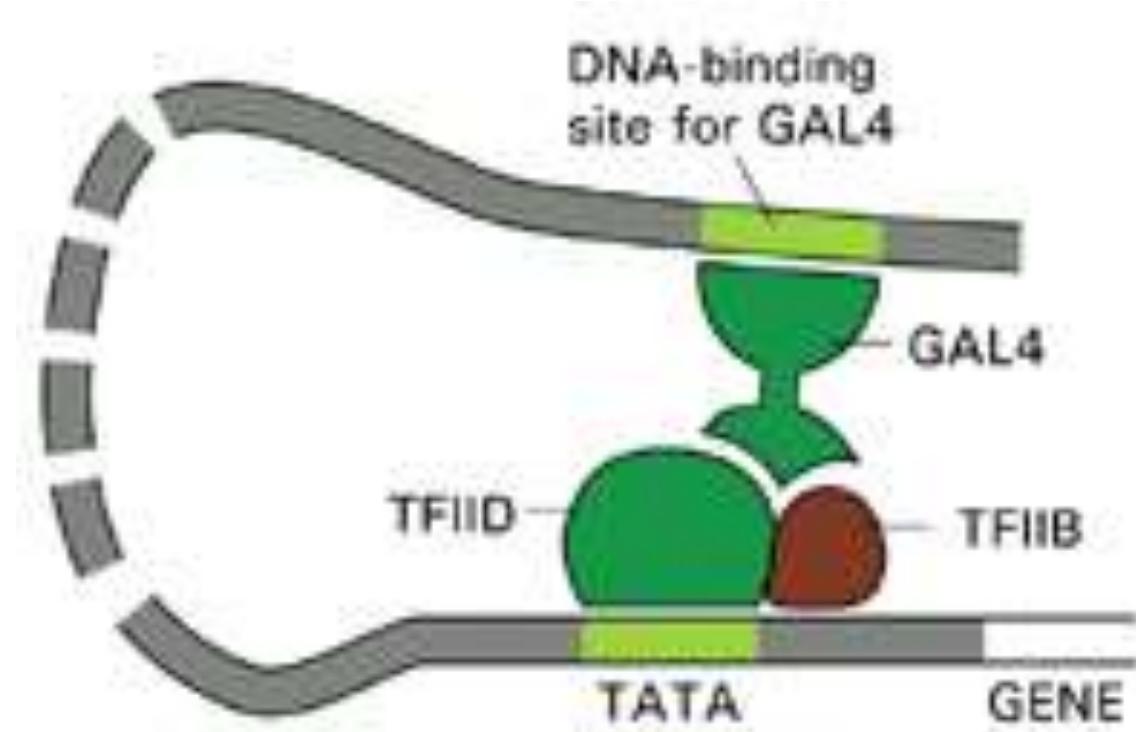
- le RNA polimerasi necessitano di fattori generali di trascrizione;**
- i fattori di trascrizione possono legarsi a grande distanza dal promotore che essi controllano**

# La trascrizione negli Eucarioti

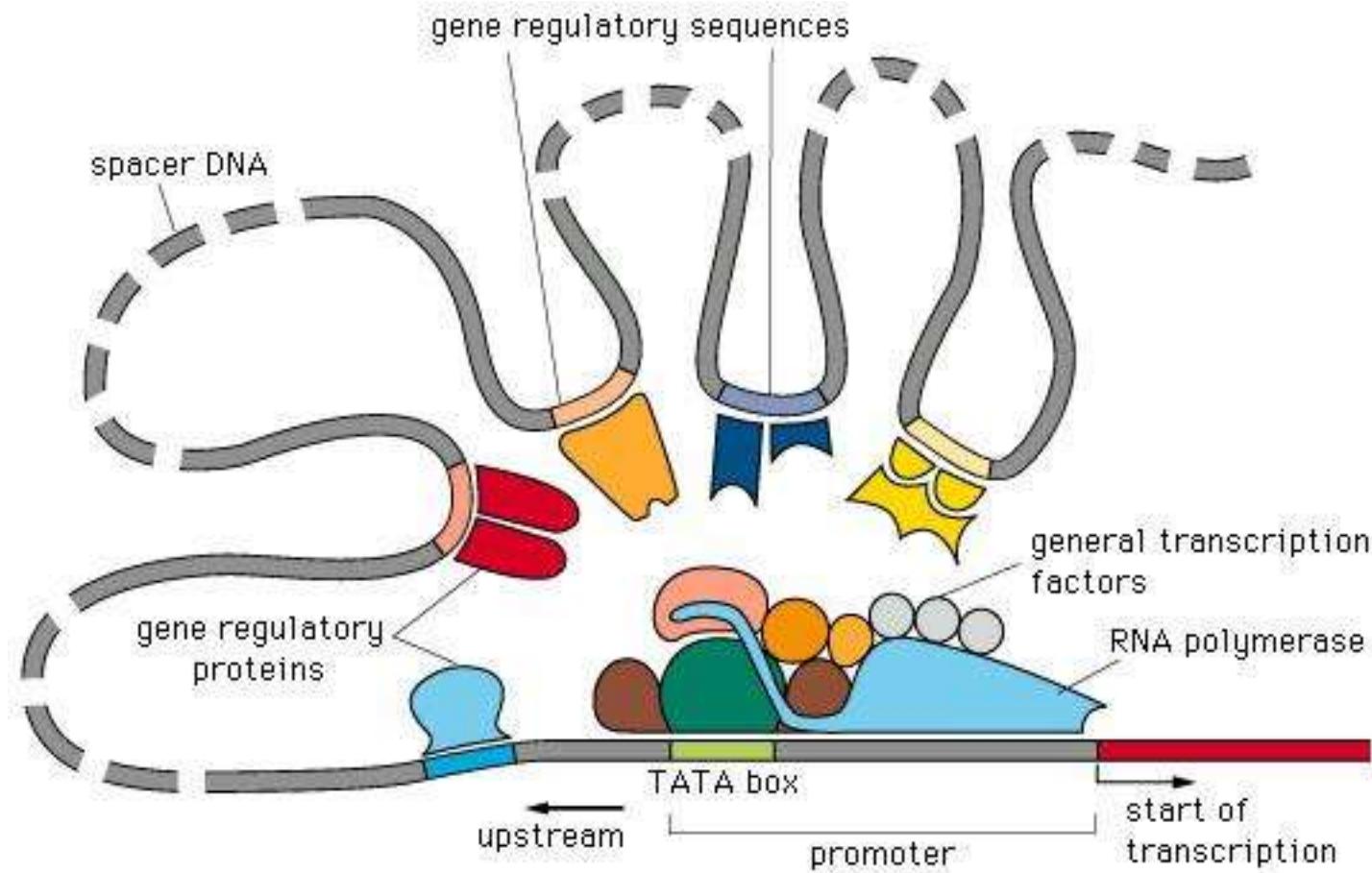
Assemblaggio  
del complesso  
d' inizio per  
la trascrizione  
di un gene  
eucariotico



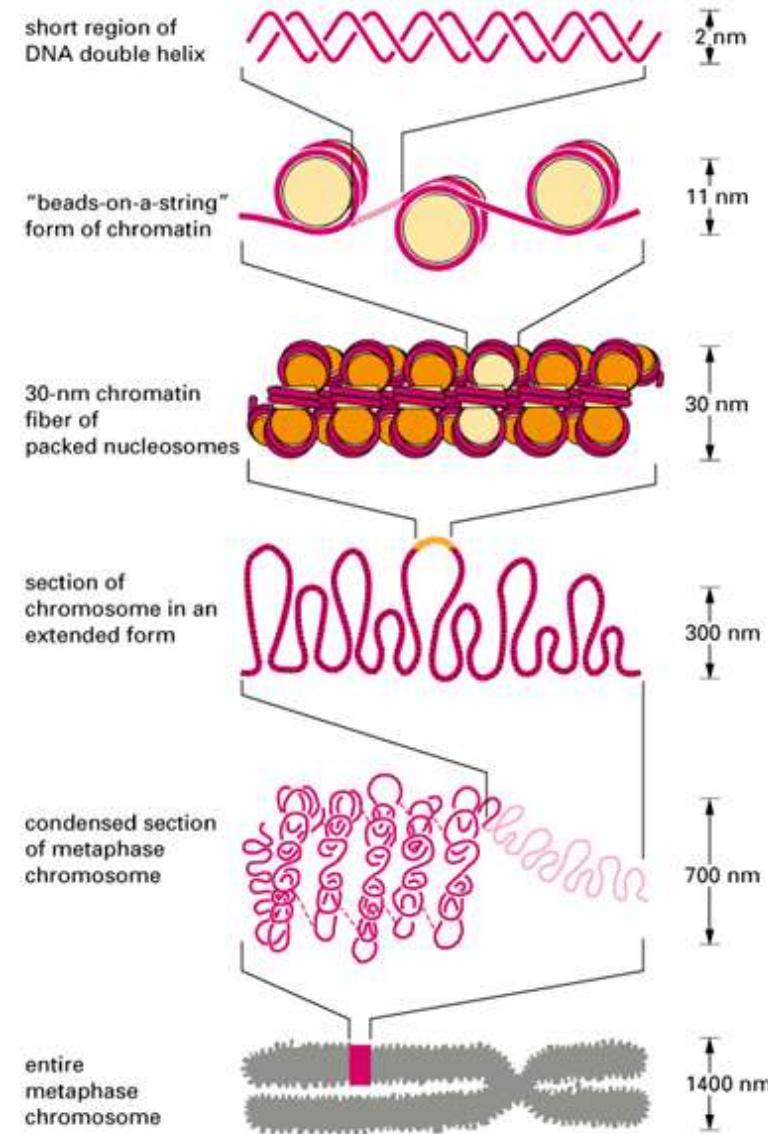
# Modello per spiegare il meccanismo d'azione di una proteina attivatrice della trascrizione



# Modello per spiegare il meccanismo d'azione di una proteina attivatrice della trascrizione



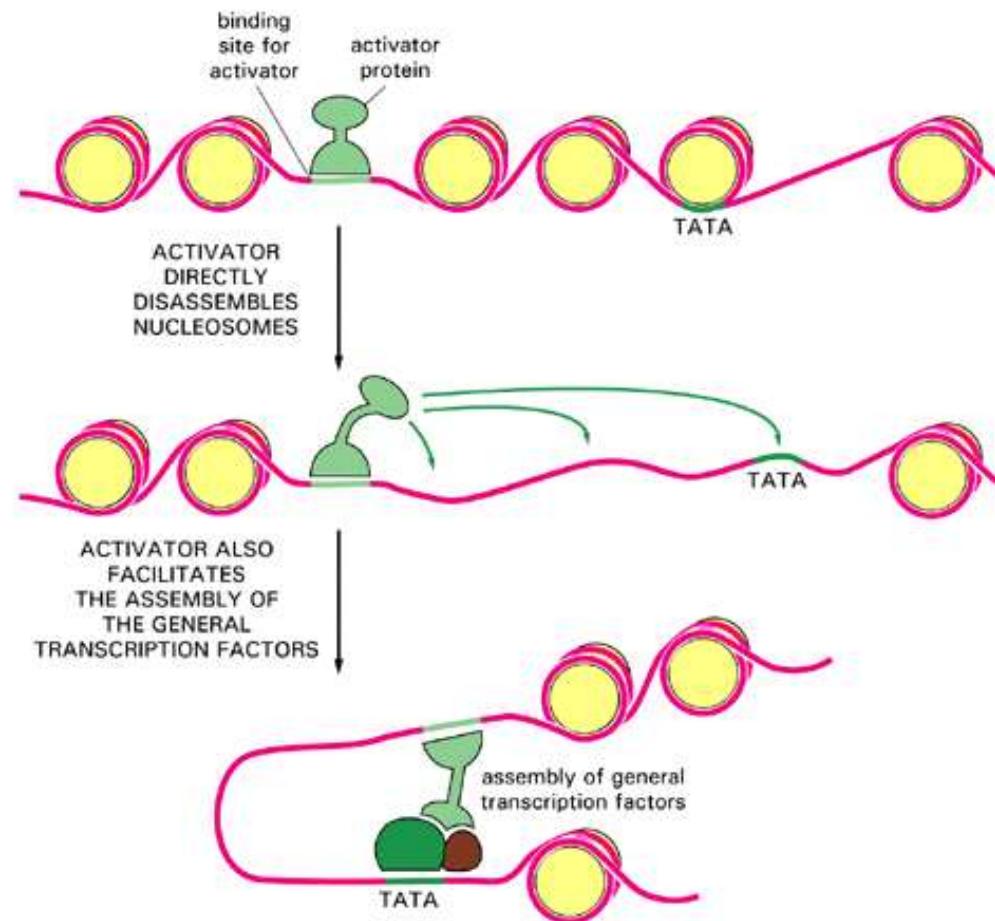
# Modello di impaccamento della cromatina



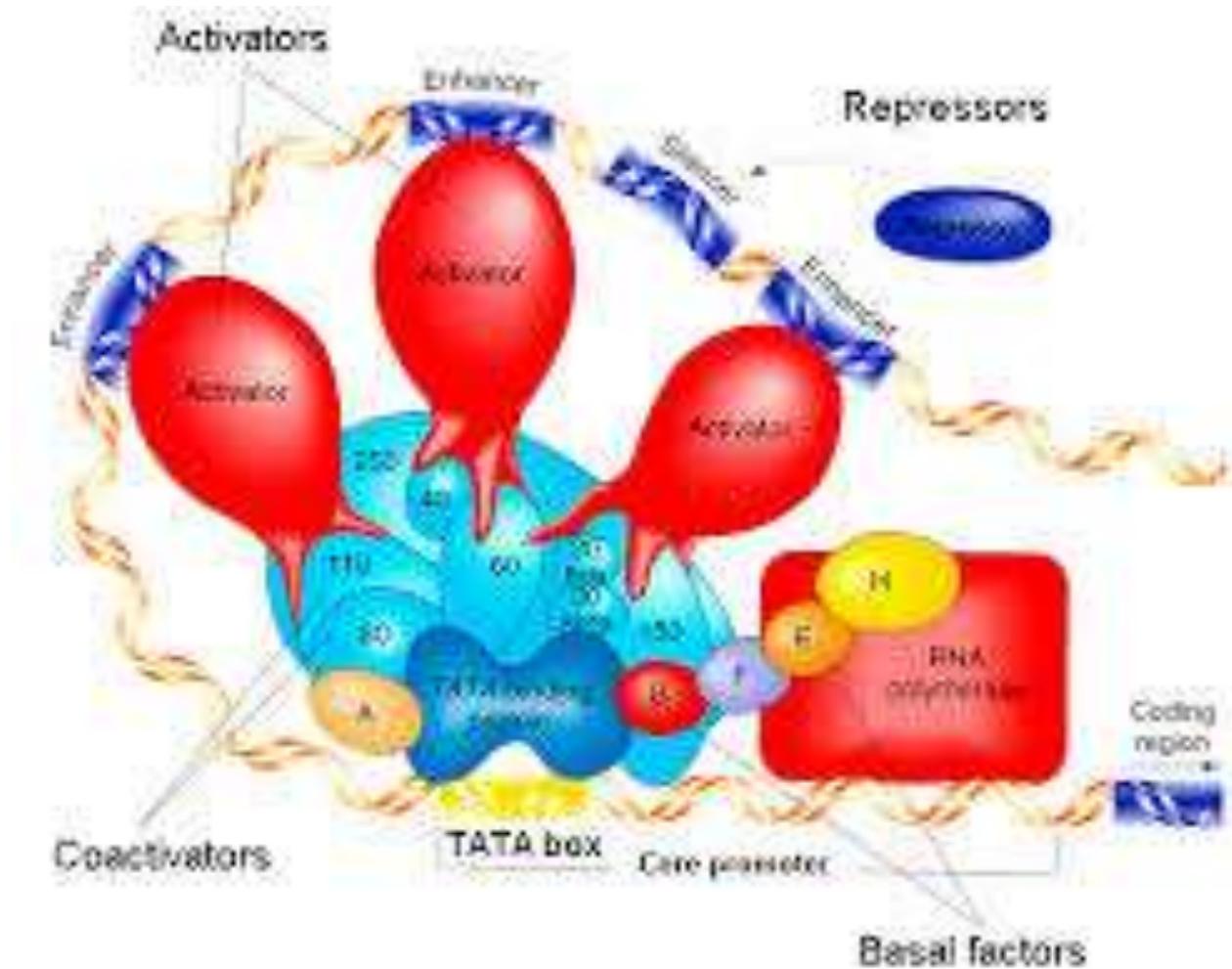
**Nei Procarionti il DNA è sempre in uno stato permissivo all' RNA polimerasi per la mancanza di strutture cromatiniche.**

**Negli Eucarioti il DNA fortemente impaccato in complessi nucleoproteici impedisce l' accesso dell' RNA-polimerasi e dei fattori di trascrizione.**

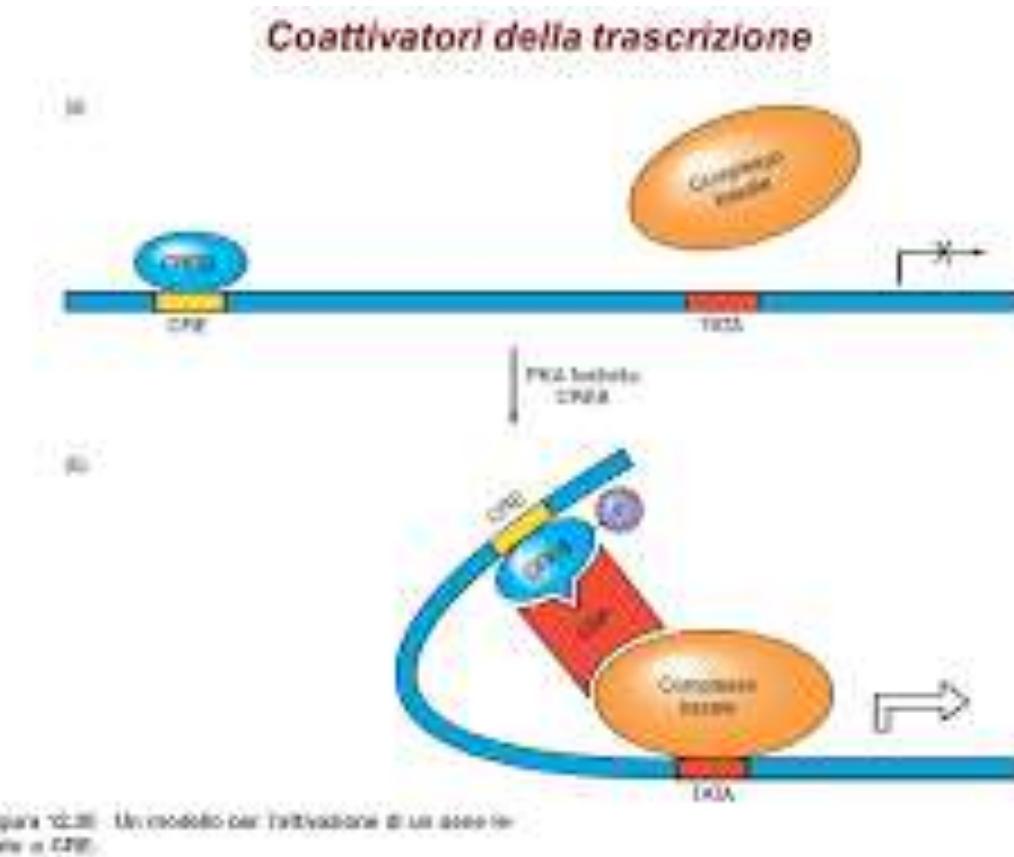
# Disassemblaggio dei nucleosomi durante l' inizio della trascrizione



# Disassemblaggio dei nucleosomi durante l' inizio della trascrizione

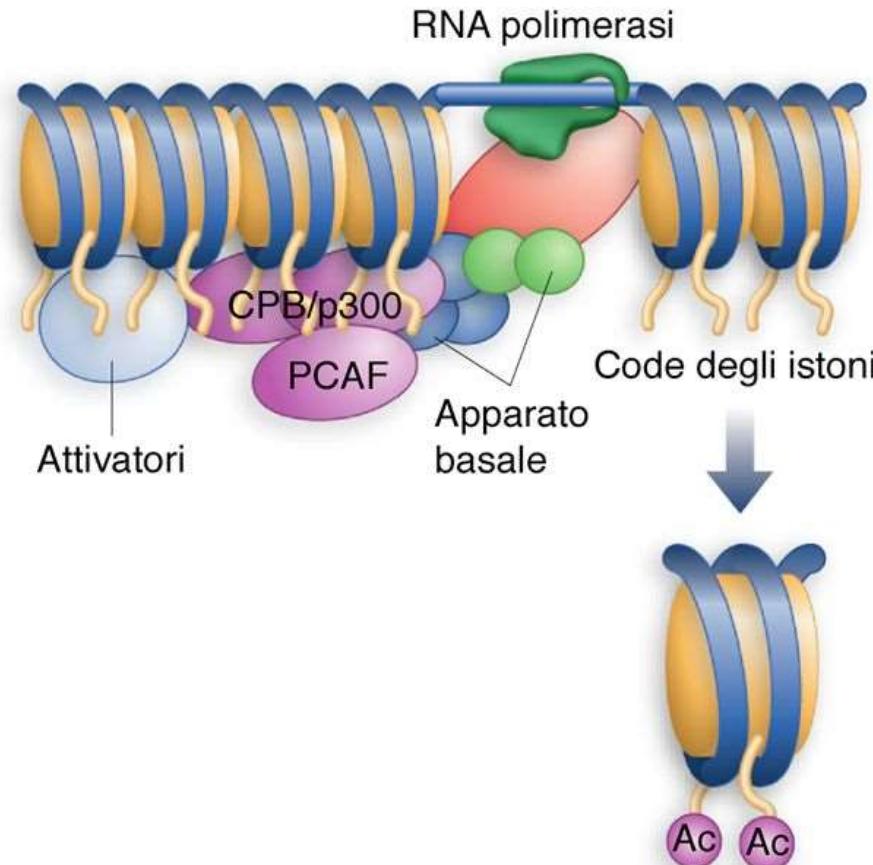


# Disassemblaggio dei nucleosomi durante l' inizio della trascrizione



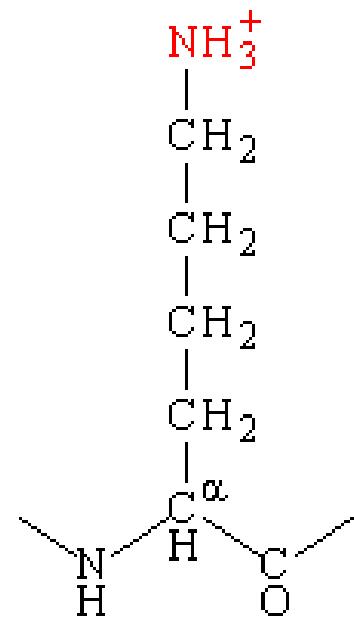
# Disassemblaggio dei nucleosomi durante l' inizio della trascrizione

Alcuni coattivatori sono acetilasi



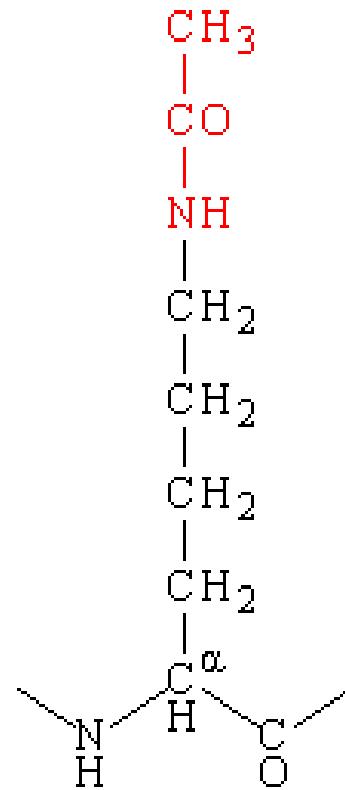
# Acetilazione e deacetilazione dei residui di lisina

Lysine



Acetylation  
by HATs

Deacetylation  
by HDs



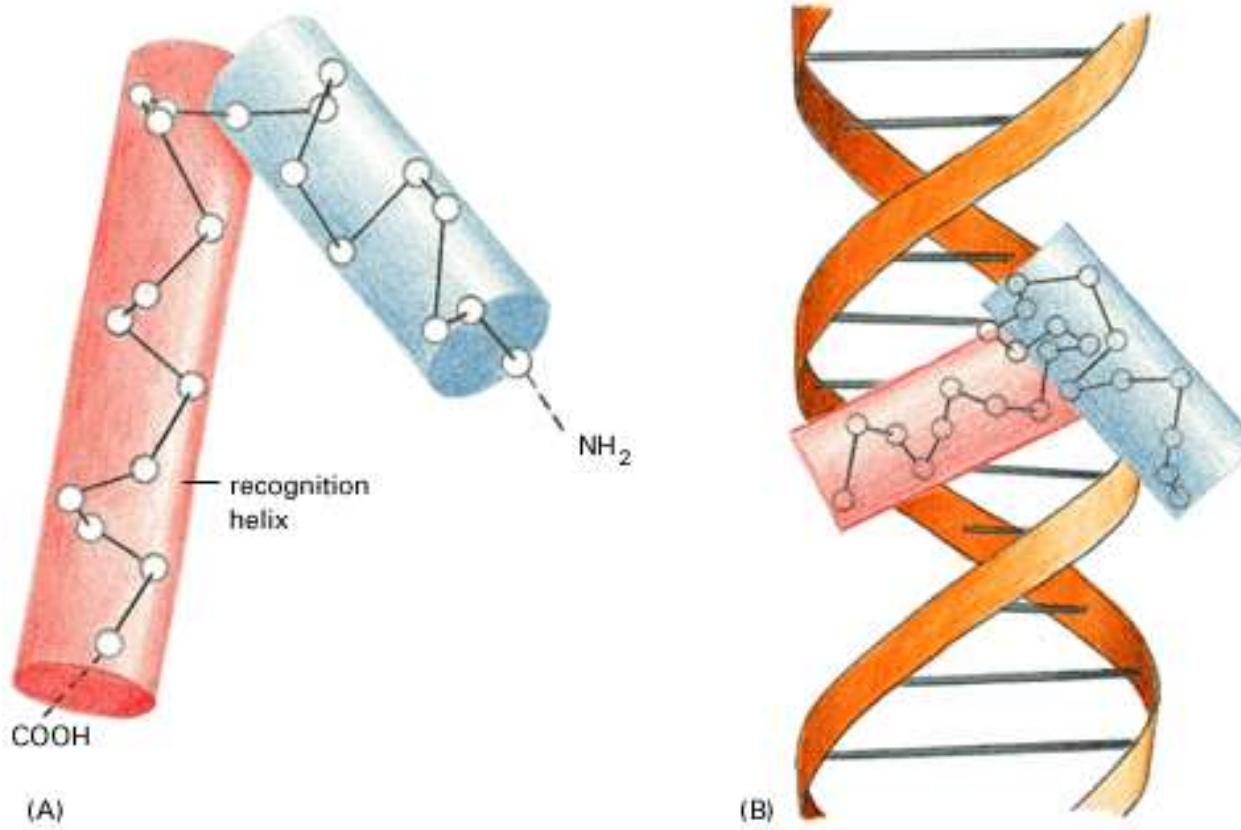
# Principali motivi proteici che riconoscono e legano il DNA:

- elica-giro-elica**
- omeodominio**
- a dito di zinco**
- a cerniera di leucine**
- elica-ansa-elica**

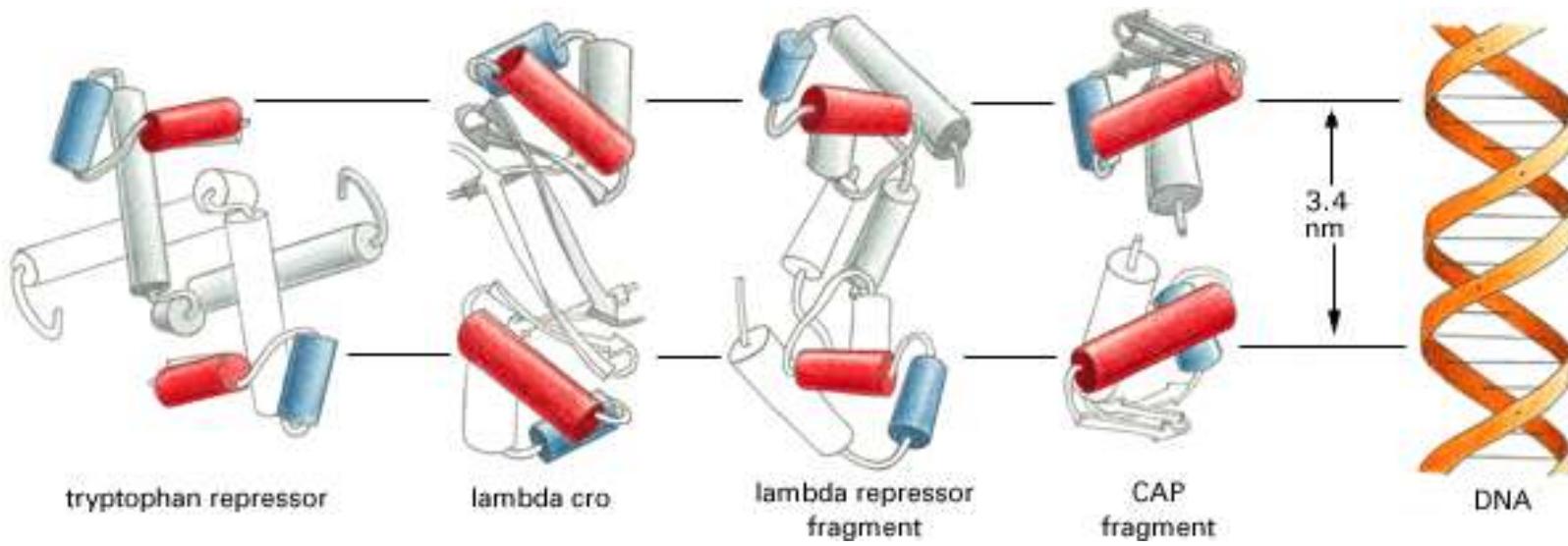
# **Il motivo elica-giro-elica di legame al DNA**

**Il motivo elica-giro-elica è  
costituito da due  $\alpha$ -eliche unite  
da una corta catena di amminoacidi**

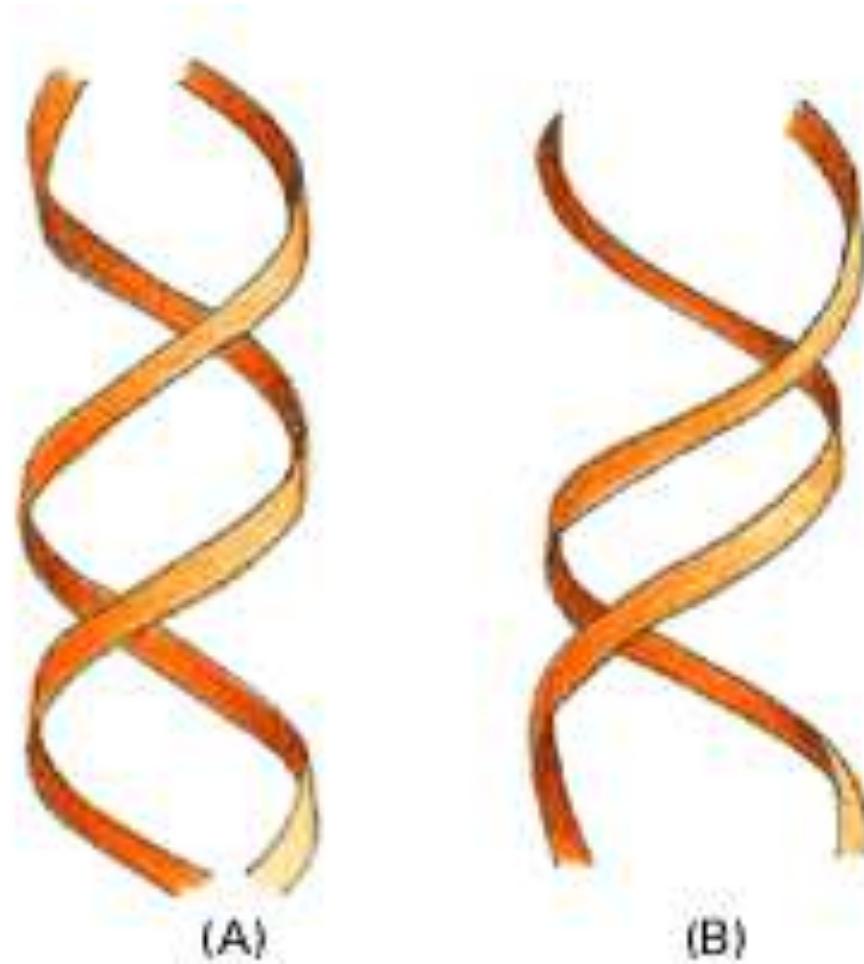
# Il motivo elica-giro-elica di legame al DNA



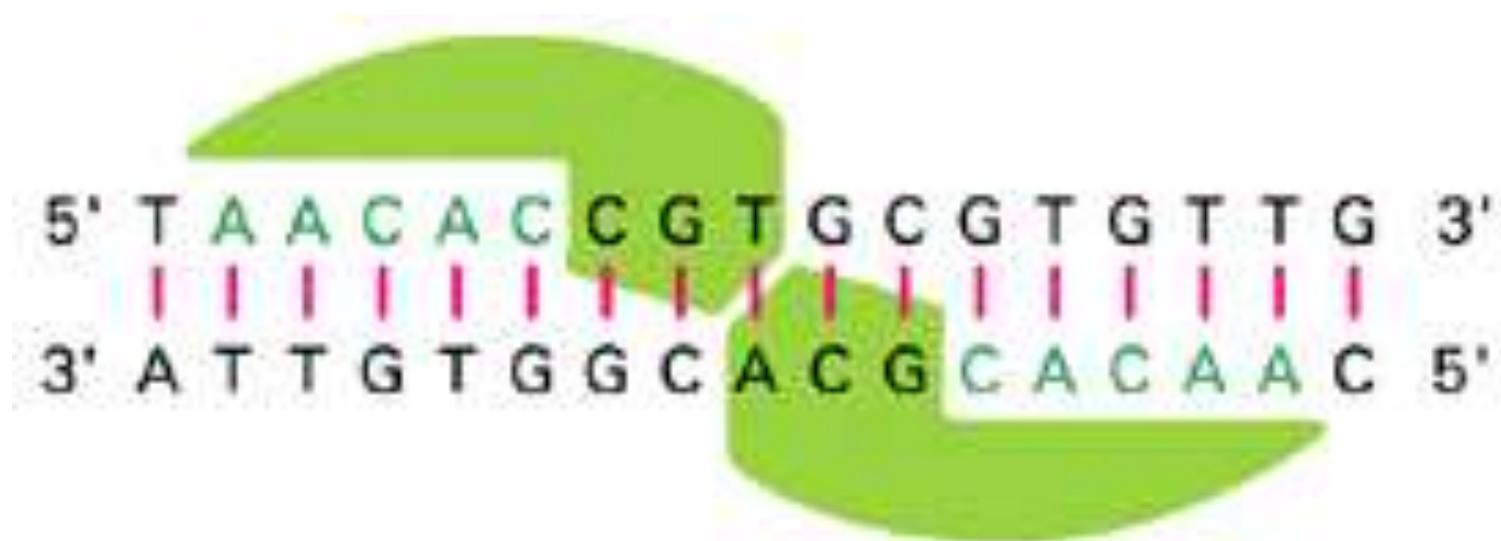
# Esempi di proteine leganti il DNA tramite il motivo elica-giro-elica



# Deformazione della struttura del DNA indotta dal legame con una proteina

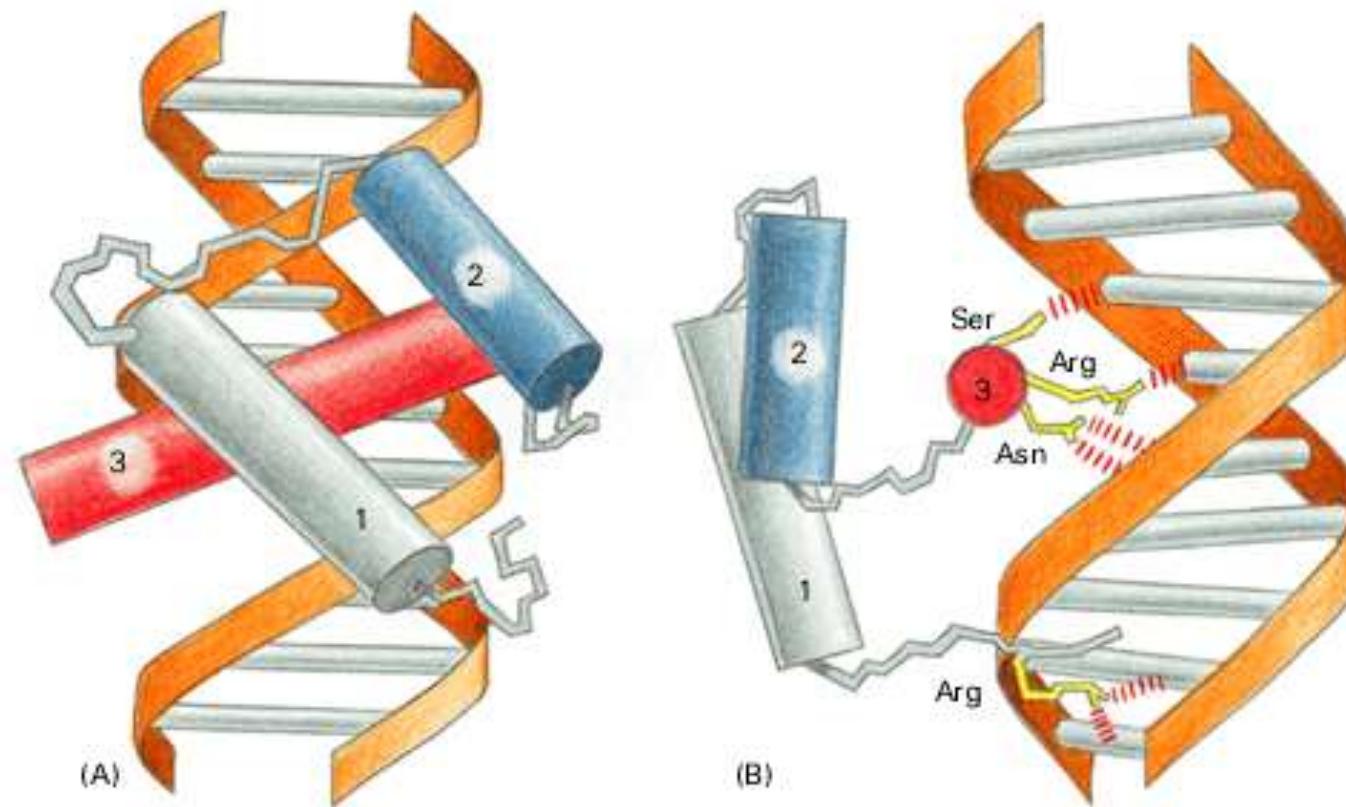


# Sequenza di DNA riconosciuta dalla proteina *cro* del fago $\lambda$



**L'omeodominio è una sequenza  
di circa 60 amminoacidi contenente  
un motivo elica-giro-elica**

# Struttura di un omeodominio e legame al DNA

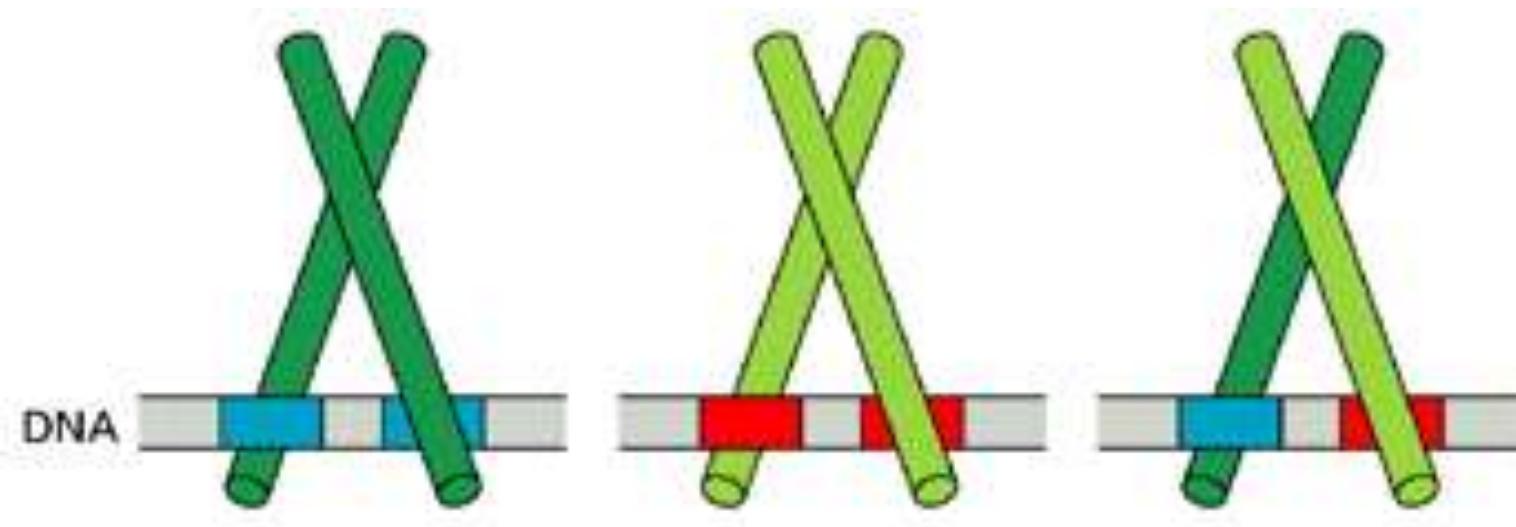


**Il motivo a cerniera di leucine è costituito  
da due  $\alpha$ -eliche che interagiscono  
attraverso residui di leucina**

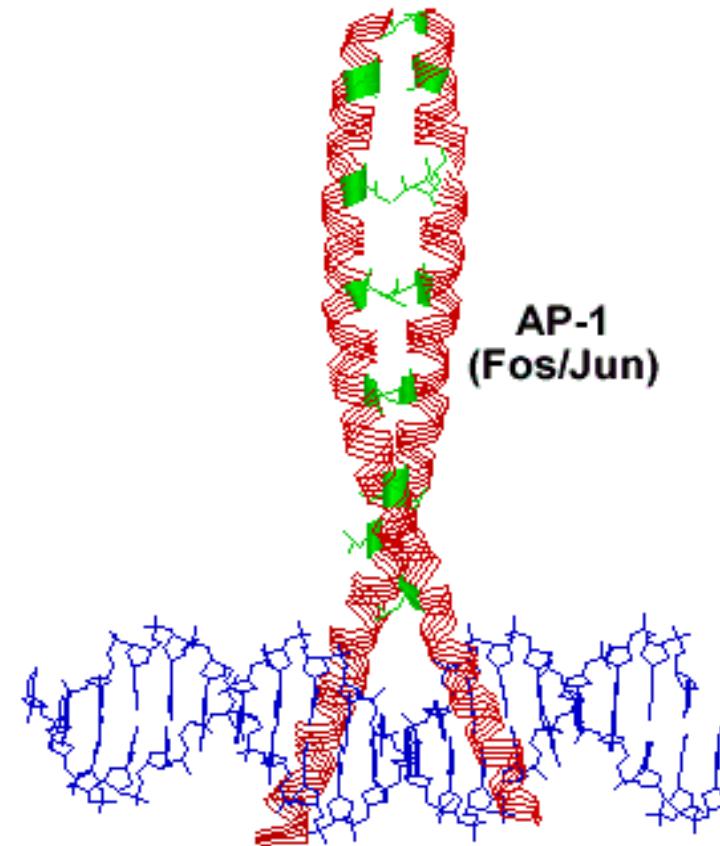
# Struttura di un dominio a cerniera di leucine legato al DNA



# Omo- ed eterodimerizzazione di domini a cerniera di leucine

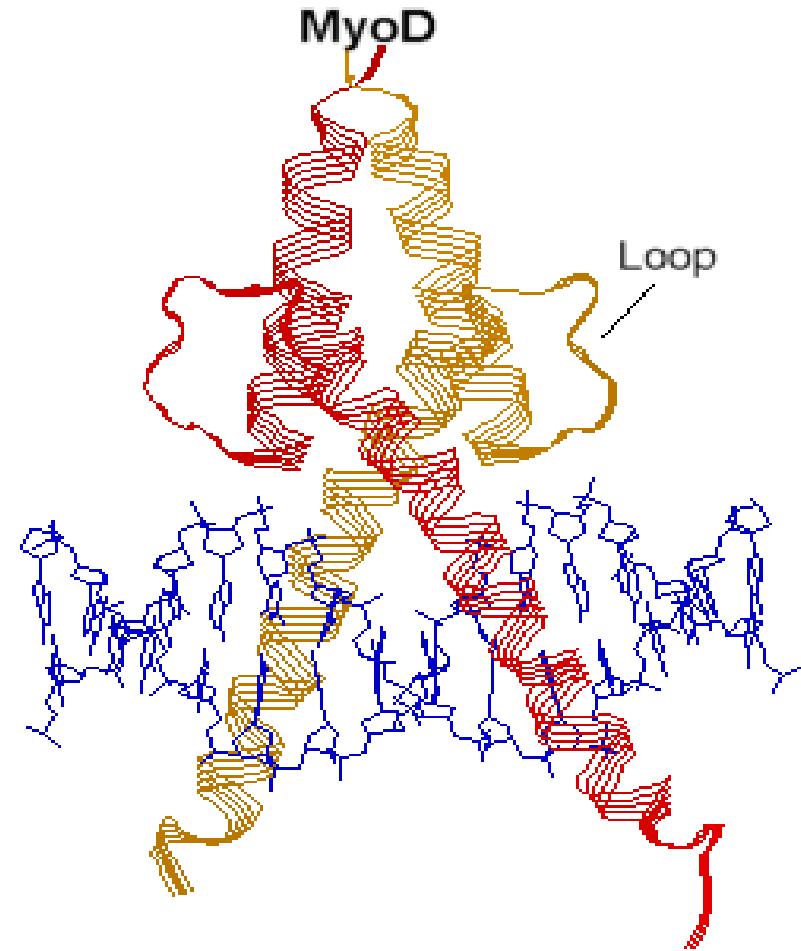


# Struttura del fattore di trascrizione AP-1

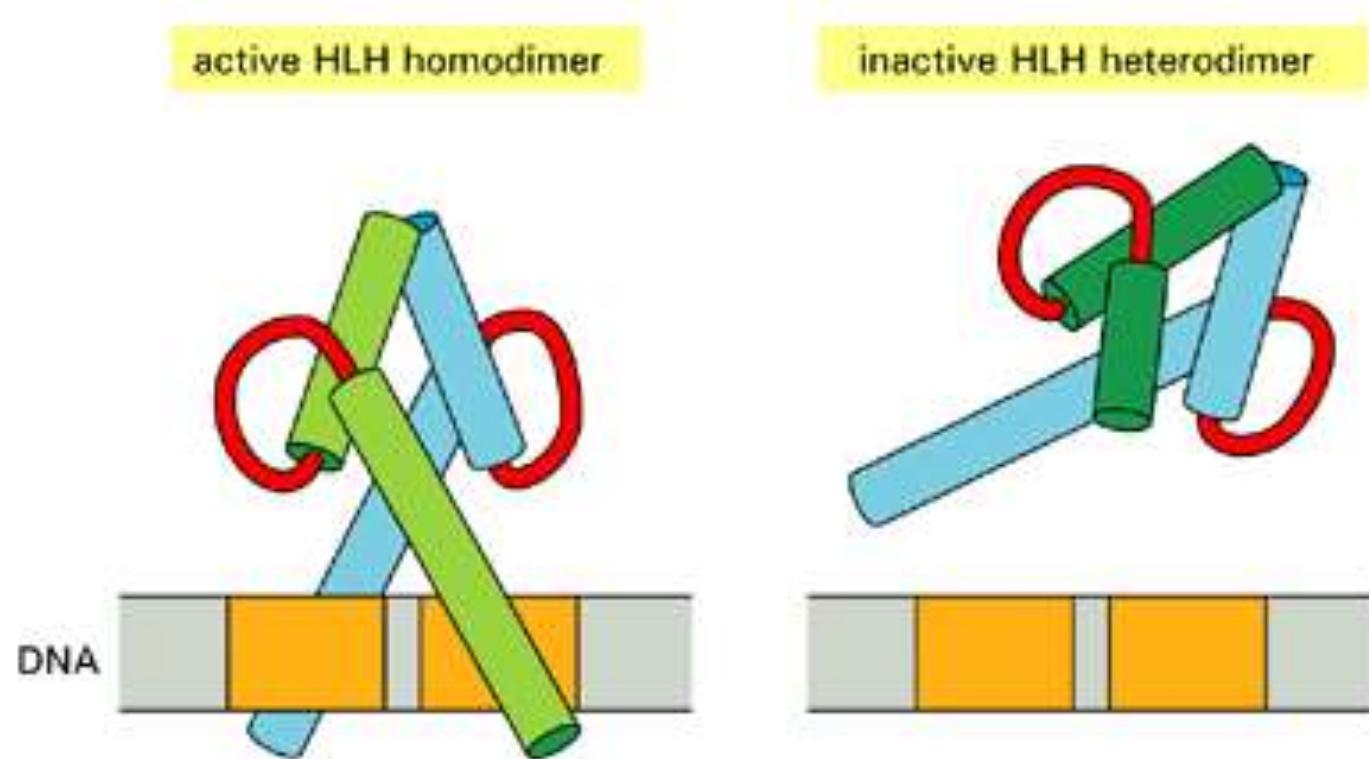


**Il motivo b-HLH è costituito da due  
corte  $\alpha$ -eliche unite da  
una regione ad ansa**

# Struttura del fattore di trascrizione **MyoD** del tipo elica-ansa-elica (HLH)



# Regolazione inibitoria ottenuta tramite proteine HLH tronche

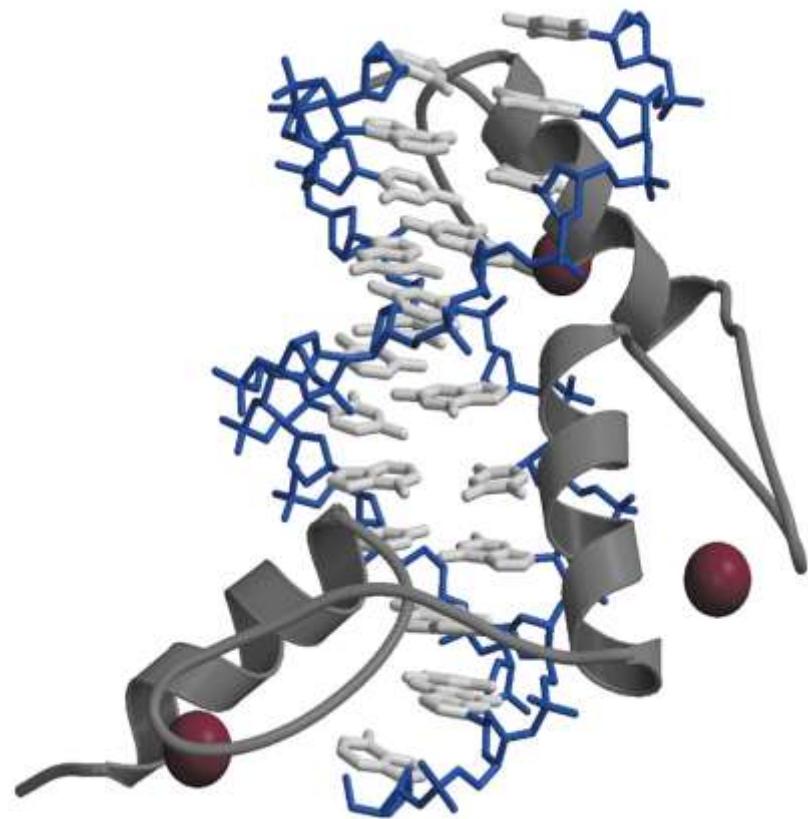




## ZNF224 cDNA sequence

1 GAGTCCAAACATTGGAGTCGGACACTTCCGCTCGGGACTGAGGTTGCTGCAGTTTCCGCGATAGTTG  
 101 CCTTCTGAATTCTGGACCTACGCATTGGATCCTCAAAGAACTGCTGAATACCACTAGAAACATACTGTAACCAG  
 201 CAGCAAGGAAGCCCACGTACCAAGGGGCTGTCTGGCACAACTCTGCTTCCAGGAACCTGCATCACTCAGGACTCTG  
 301 AAATGACCACGTTCAAGGAGGCAATGACCACTCAAGGACGTTGCTGTGGCTTCACTGAGGAAGAGCTGGGGCTGCTG  
 M T T F K E A M T F K D V A V F T E E E L G L L  
 401 TCGAGATGTGATGCTGGAGAACCTCAGGAACCTGCTCTCAGTGGACATCAAGCATTCCACAGGGATACTTCCACT  
 R D V M L E N F R N L L S V G H Q A F H R D T F H I  
 501 ATGATGAAGACAGCAATCCAAGGGAAAGGAATTCAAGGAGACAAGATCCAACACTGAGATGGAGACTGTTCAGAACGC  
 M M K T A I Q R E G N S G D K I Q T E M E T V S E A  
 601 TCCAGCAAATCTGGGAAAAAAATTGCAAGTGATTIAACCAGGTCTCAAGAAGACTGGTGATAAAATAGCTCTCAGTTCTCC  
 Q Q I W E K I A S D L T R S Q D L V I N S S S Q F S  
 701 GACTGAGGCAGGACTATCTGTAATTCACACAAGACAGAAATCTCCAGGGCAATGGATATAAACCATCCTCAGTG  
 T E A G L S V I H T R Q K S S Q G N G Y K P S F S I  
 801 CAACAATTACACTCAGGAGAGAAATCTCATACGTGTGATGAGTGTGGAAAGAACCTTTGTTACATCTCAGGCCCTCG  
 Q Q L H S G E K S H T C D E C G K N F C Y I S A L R  
 901 GAGAGAAAATGCTATAAGTGTGACGTGTGGTAAGGAATTCAAGTCAGAGTTCACATCTGCAAACATCATCAGAGAGTC  
 E K C Y K C D V C G K E F S Q S S H I L Q T H Q R V  
 1001 ATGTGTGGAATGTGGGAAAGGCTTCAGTCGTAGATCAGCACTTAATGTTCATCACAAATTACACACAGGAGAGAAC  
 C V E C G K G F S R S A L N V H H K L H T G E K I  
 1101 AAGGCCTTCATTCAACGATTCCAGCTCAAGAACATCAGAGAACATCCATACGGGGAGAACGCCATTCAAATGTGATAT  
 K A F I H D S O L O E H O R I H T G E K P F K C D I  
 1201 GATCAAGACTTAATAGGCATTCCATGGTCACACGGCAGAGAACCATTCGGATGTGATACGTGTGATAAGAGCTTT  
 S R L N R H S M V H T A E K P F R C D T C D K S F  
 1301 TCATCGCATGATCCACACAGGAGAGAACCATACAAATGTGAGGAGTGTGGAAAAGGCTTATTGTAGGCAGAGAC  
 H E M I H T G E K P Y K C E E C G K G F I C R R D I  
 1401 ACGGGAGAAAAGCCATATAATTGTAAGAGTGTGGGAAGAGCTTCAGATGGCCTCGTGTCTTGAAACATCAGCG  
 T G E K P Y N C K E C G K S F R W A S C L L K H Q R  
 1501 TCAAATGTGAAGAACATGTGGGAAGGGATTACACAAATTCAACATGCTATTCCACCAAGAGATCCCATAAGTGGAGAA  
 K C E E C G K G F Y T N S Q C Y S H Q R S H S G E  
 1601 TGGGAAGGGCTACAAAAGGAGGTTGGATCTTGACCTTCACAGCGCGTCATACAGGAGAGAACACTGTATAATTGTA  
 G K G Y K R R L D L D F H Q R V H T G E K L Y N C I  
 1701 CGGGCCCCATGTCTTTGAAACATGAGAGACTCCACAGTGGAGAAAACCATTCAAATGTGAAGAGTGTGGGAAGAG  
 R A P C L L K H E B L H S G E K P F Q C E E C G K R  
 1801 ATTCCCATCAGAGAGTTCACACTGGAGAAAAGCCATACAAATGTGAGAAGTGTGGAAAAGGGCTACAATAGTAAGTT  
 S H Q R V H T G E K P Y K C E K C G K G Y N S K F  
 1901 CCACACAGGAGAGAGACCATACAATTGTAAGGAATGTGGGAAGAGTTTGGCTGGCCTCGTGTCTTTGAAACATC  
 H T G E R P Y N C K E C G K S F G W A S C L L K H C  
 2001 CCTTTCAAATGTGAAGAGTGTGGAAAAGATTACTCAGAATTCAACAGCTTCATTCTCATCAAAGAGTGCACACTGG  
 P F K C E E C G K R F T Q N S Q L H S H Q R V H T G  
 2101 AGTGTGGGAAGGGCTTCAGCTGGCCCTCAACTCGTCTGACCCATCAGAGACGCCACAGCAGAGAACACCTCTCAA  
 C G K G F S W S S T R L T H Q R R H S R E T P L K  
 2201 TGTACAGAATTCTCATCAAAGTGCAGAGAAAAAGTTCAAGTGTAGAAAAGCCATACAAATGTGAGGAGACTGTGGGA  
 V O N S F S K V Q E K V H S V E K P Y K C E D C G I  
 2301 CTTGATATGCATCAGAGGGTCCACATGGGAGAGAAAACATGGAAGTGTAGGGAGTGTGATATGTGCTTTAGTCAGGC  
 L D M H Q R V H M G E K T W K C R E C D M C F S Q A  
 2401 ATGTTCATGTTGGAGAAAACCTTAGTGTGATGGTGCAATAAGTCTTCACTCAGTCTTCATG 2466  
 V H V G E K P \*

**Nel genoma umano vi sono circa 800 differenti geni che codificano per proteine aventi i motivi ripetuti a dito di zinco del tipo C2-H2 o del tipo C2-C2.**



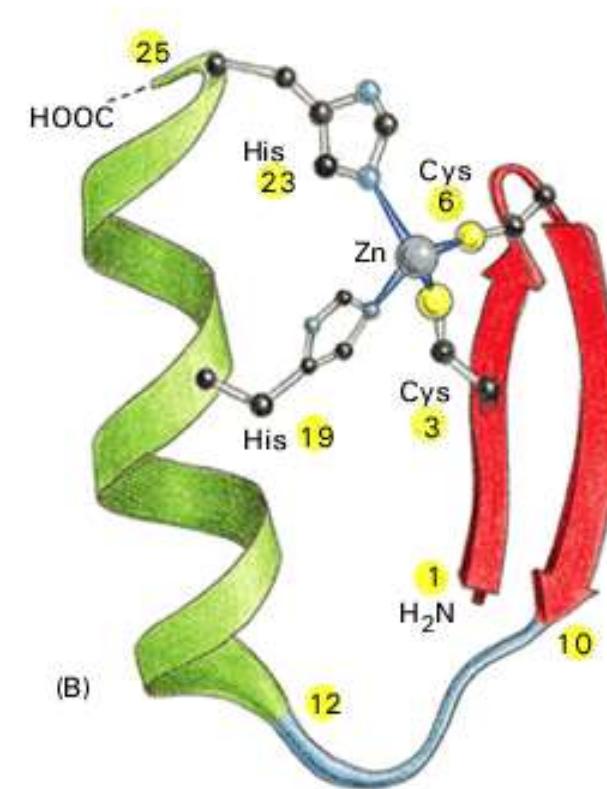
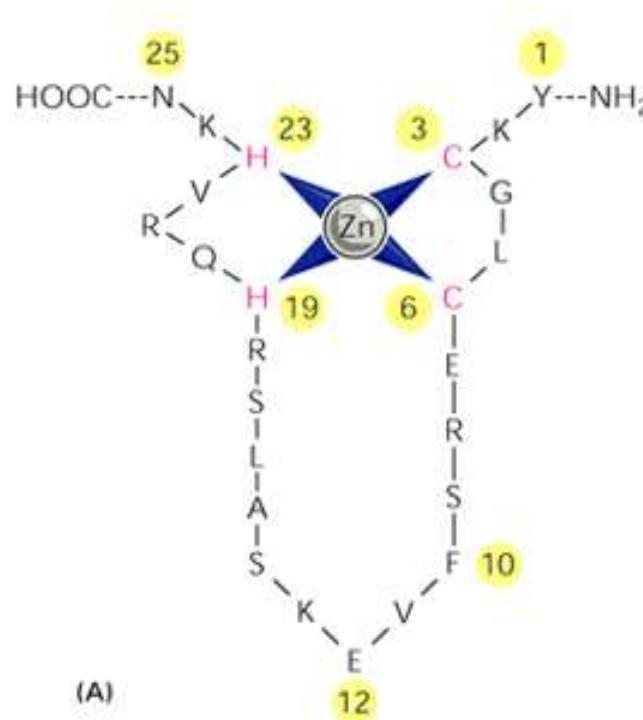
La “consensus sequence” del dominio a dito di zinco C2-H2 è data da:

Cys – X<sub>2</sub> – Cys – X<sub>12</sub>-His - X<sub>2</sub> – His

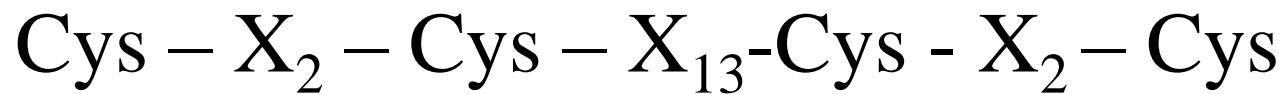
TFIIIA ha 9 domini ripetuti del tipo C2H2

Sp1 ha 3 domini ripetuti del tipo C2H2

# Motivo di legame al DNA a dito di zinco



La “consensus sequence” del dominio a dito di zinco C2-C2 (o Cx) è data da:



Questo motivo è tipico dei recettori nucleari, quali quello degli estrogeni, dei glucorticoidi, degli ormoni tiroidei, acido retinoico...

La consenso del motivo a dito di zinco del tipo C2C2 o Cx può essere differente in alcuni casi.

Per esempio in:

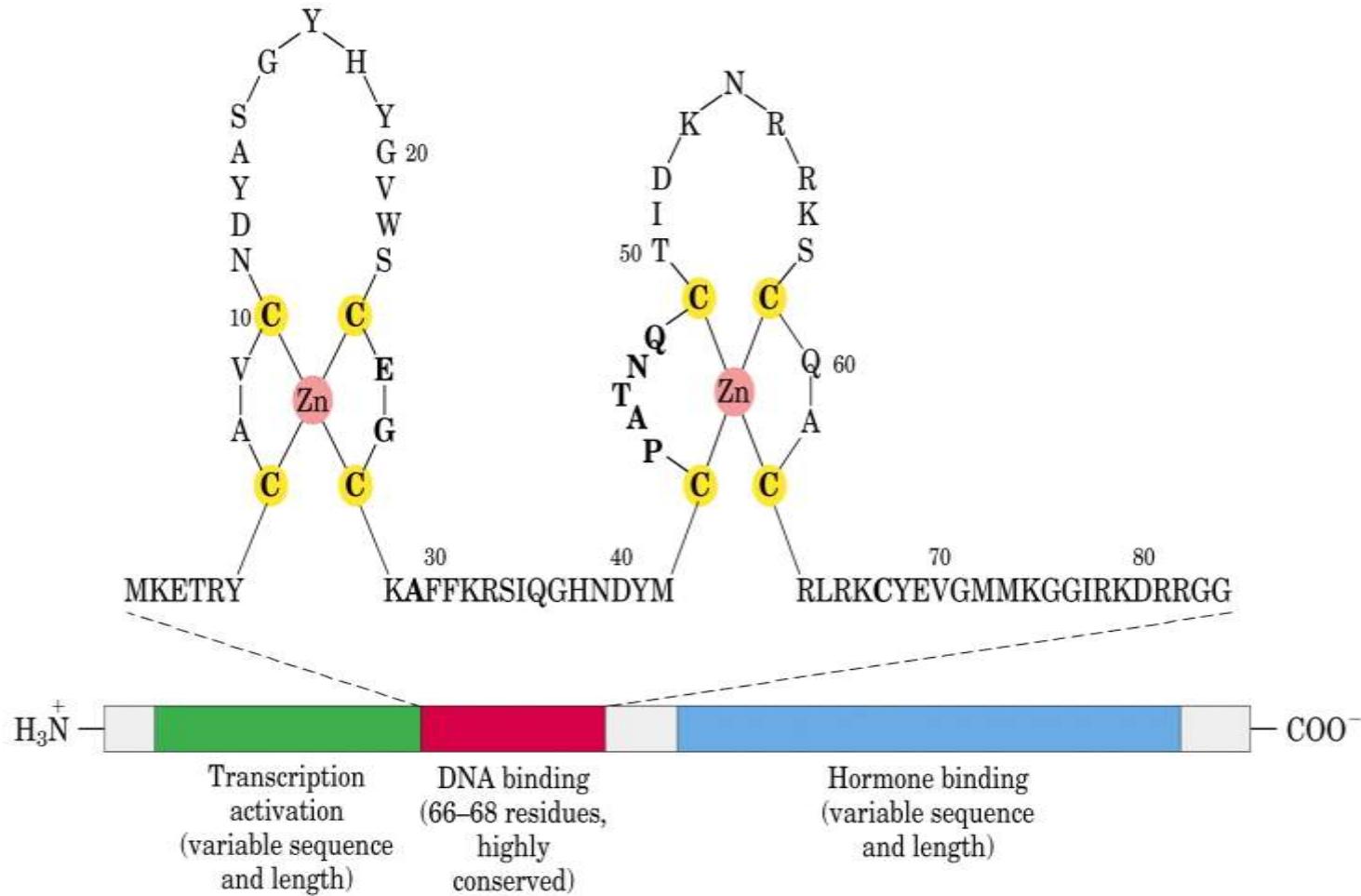
GAL4 è di tipo C6 :

**Cys – X<sub>2</sub> – Cys – X<sub>6</sub>-Cys – X<sub>6</sub>– Cys- X<sub>2</sub> -Cys – X<sub>6</sub> - Cys**

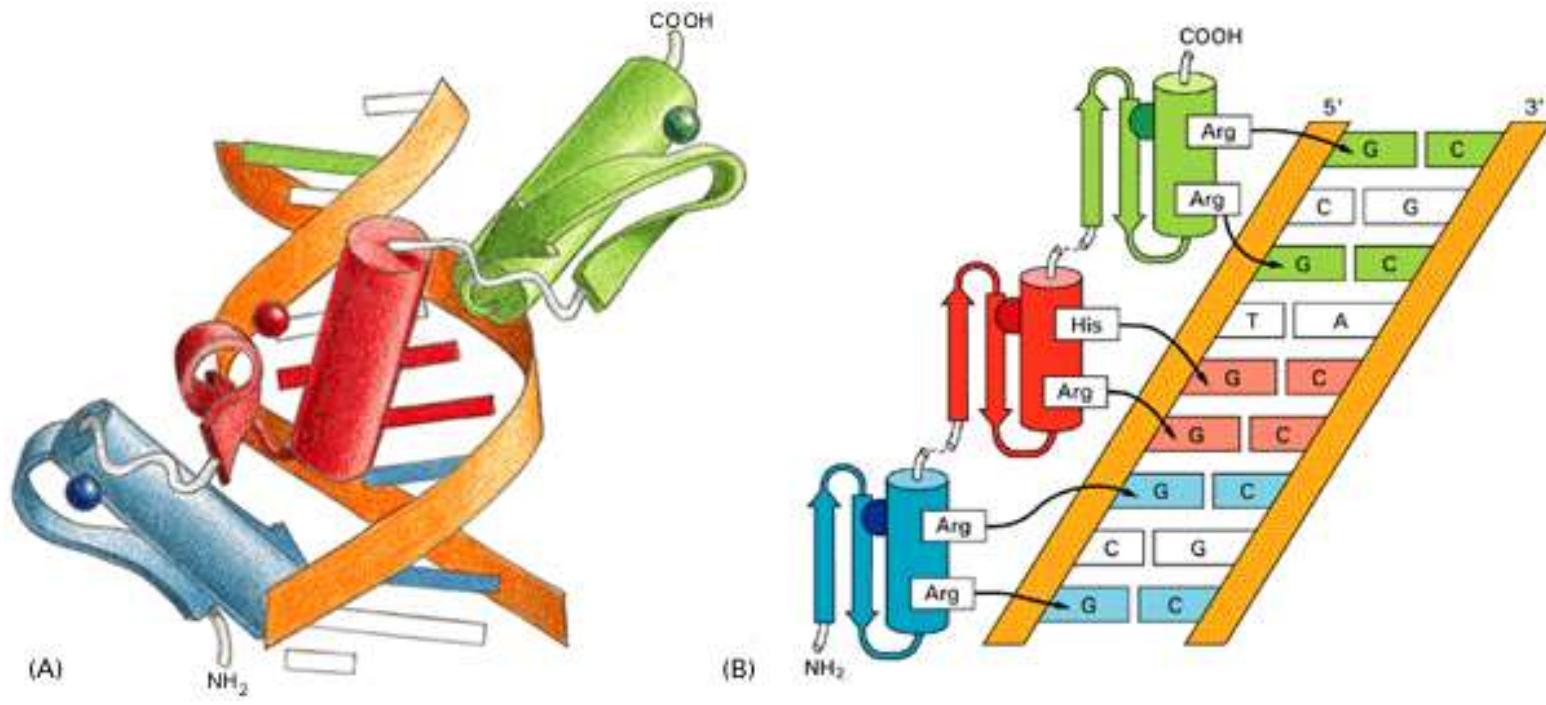
Nei recettori degli steroidi di tipo 4 e 5:

**Cys - X<sub>5</sub> – Cys – X<sub>9</sub>- Cys – X<sub>2</sub> - Cys – X<sub>4</sub> - Cys**

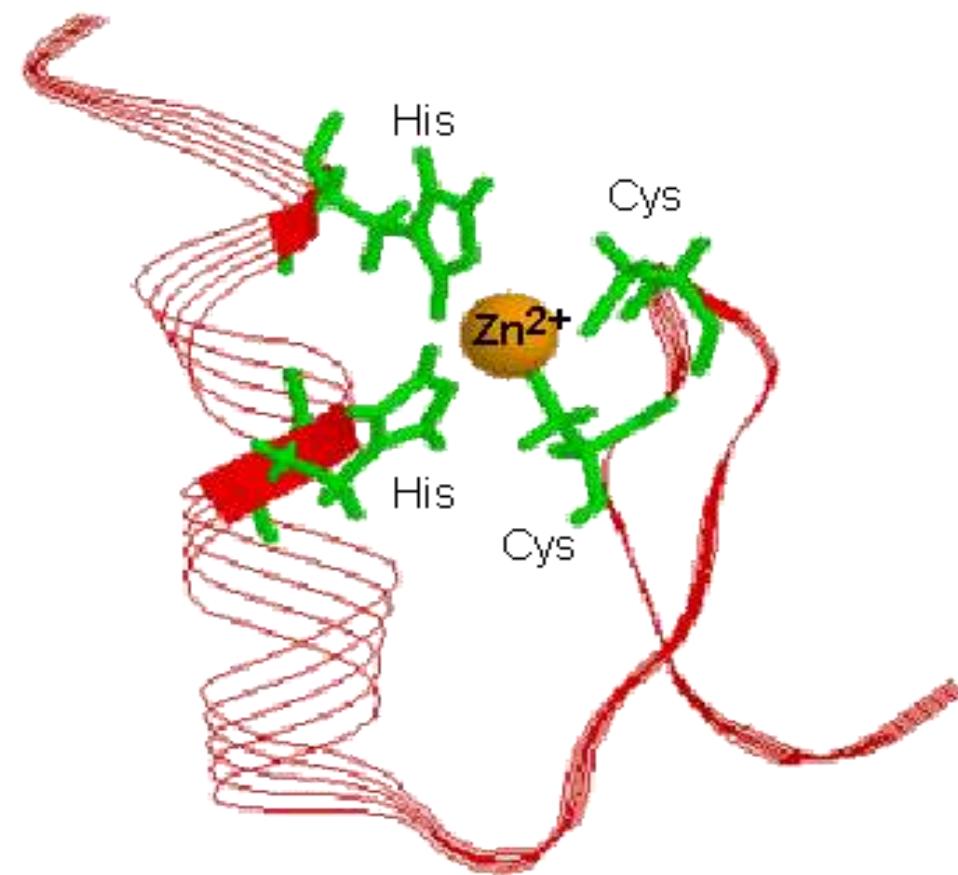
# Il legame di coordinazione tra l' atomo di zinco e residui di cisteina stabilizza il dominio di legame al DNA



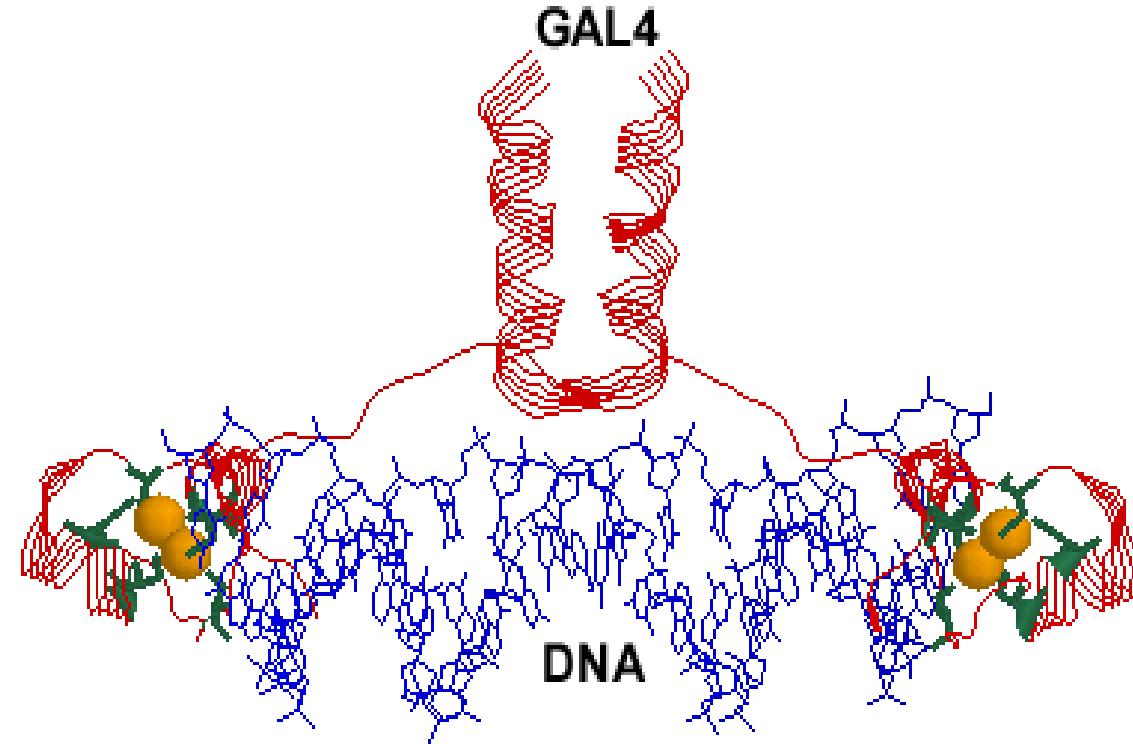
# Legame al DNA di una proteina a dita di zinco del tipo C2-H2



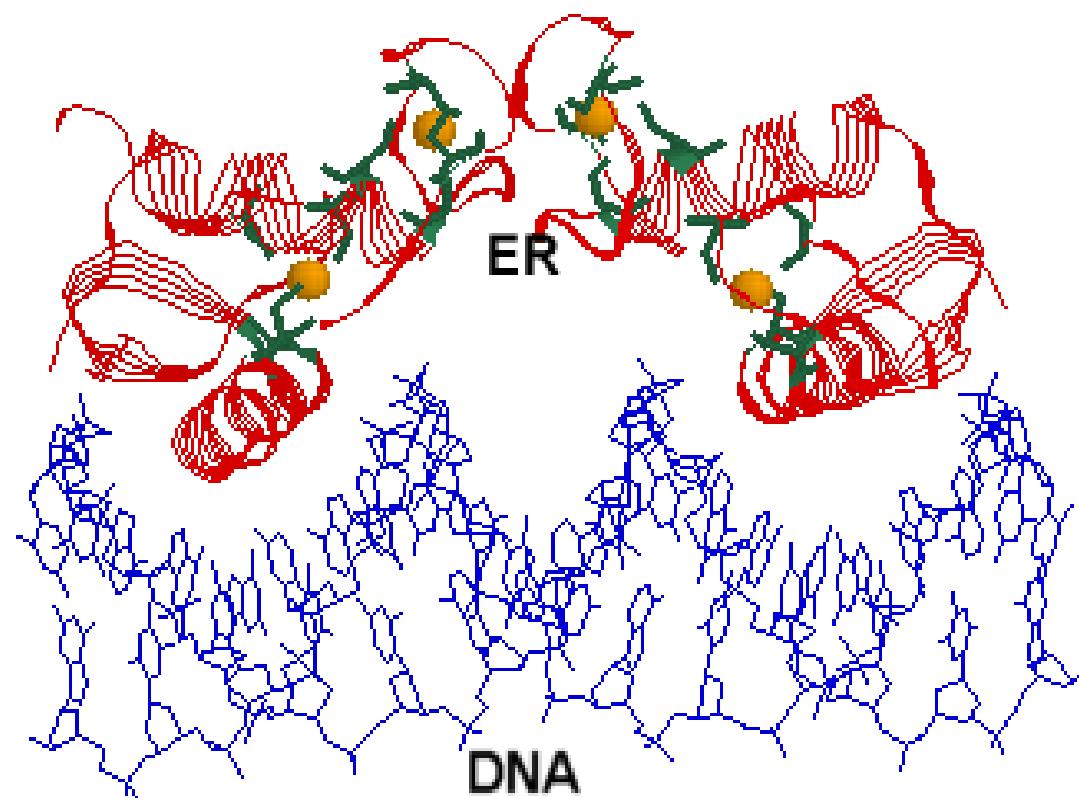
# Struttura di una regione a dito di zinco del fattore di trascrizione Sp1



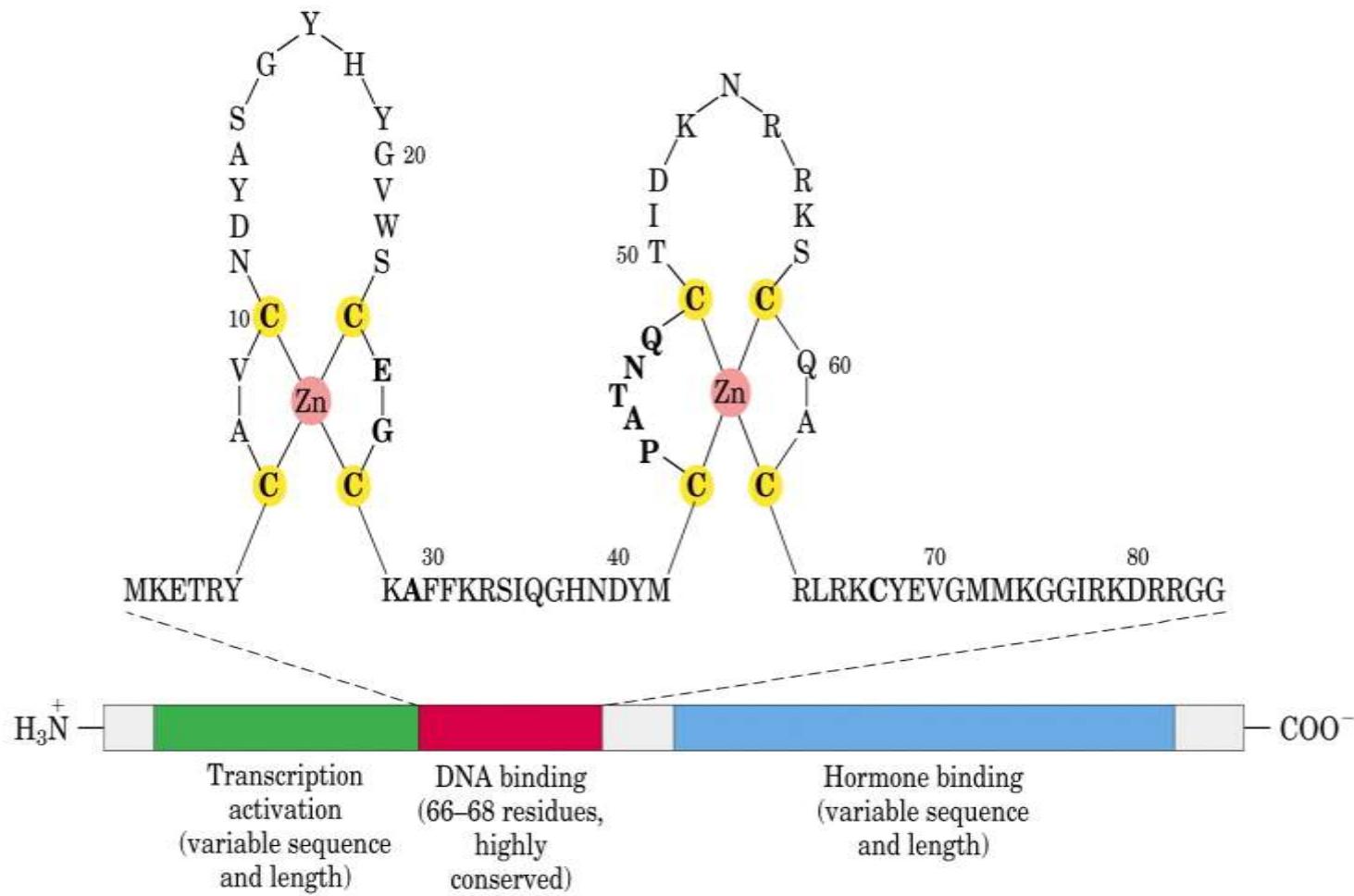
# Struttura del fattore di trascrizione Gal4



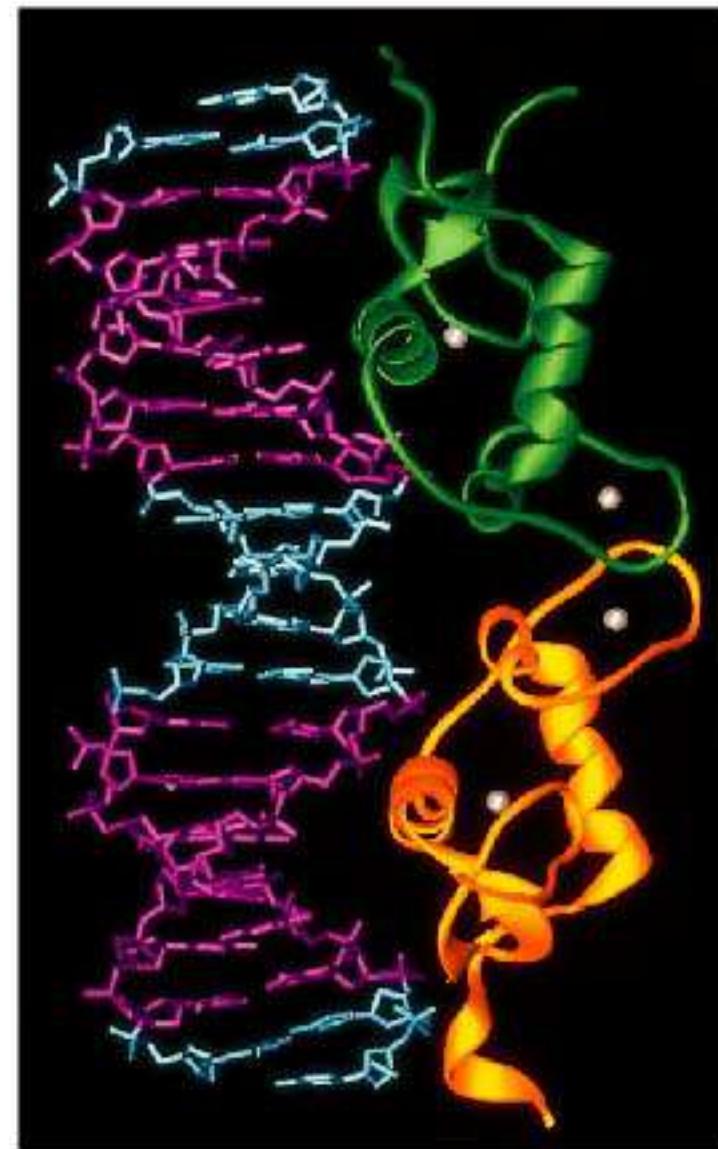
# Struttura del recettore per gli estrogeni



# Struttura secondaria del recettore degli estrogeni

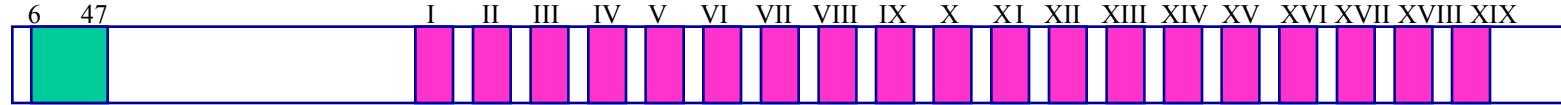


# Il legame al DNA del recettore dei glucocorticoidi



**Nel genoma umano circa 300 geni codificanti per proteine zinc finger del tipo C2-H2 contengono un dominio definito KRAB**

**KRAB  
domain**



**ZNF224**

# Le proteine zinc-finger Kruppel-associated box (KRAB-ZFPs) :

- 1) costituiscono una famiglia omogenea di regolatori trascrizionali ( repressori );
- 2) sono codificati da geni arrangiati strutturalmente in clusters ( il più studiato e conosciuto è quello presente sul cromosoma 19q);
- 3) contengono da quattro a trenta motivi zinc finger del tipo Cys2-His2;
- 4) contengono un dominio KRAB all'NH<sub>2</sub> terminus che può essere composto da due sottodomini definiti KRAB A e KRAB B.



# Le proteine zinc-finger Kruppel-associated box (KRAB-ZFPs)

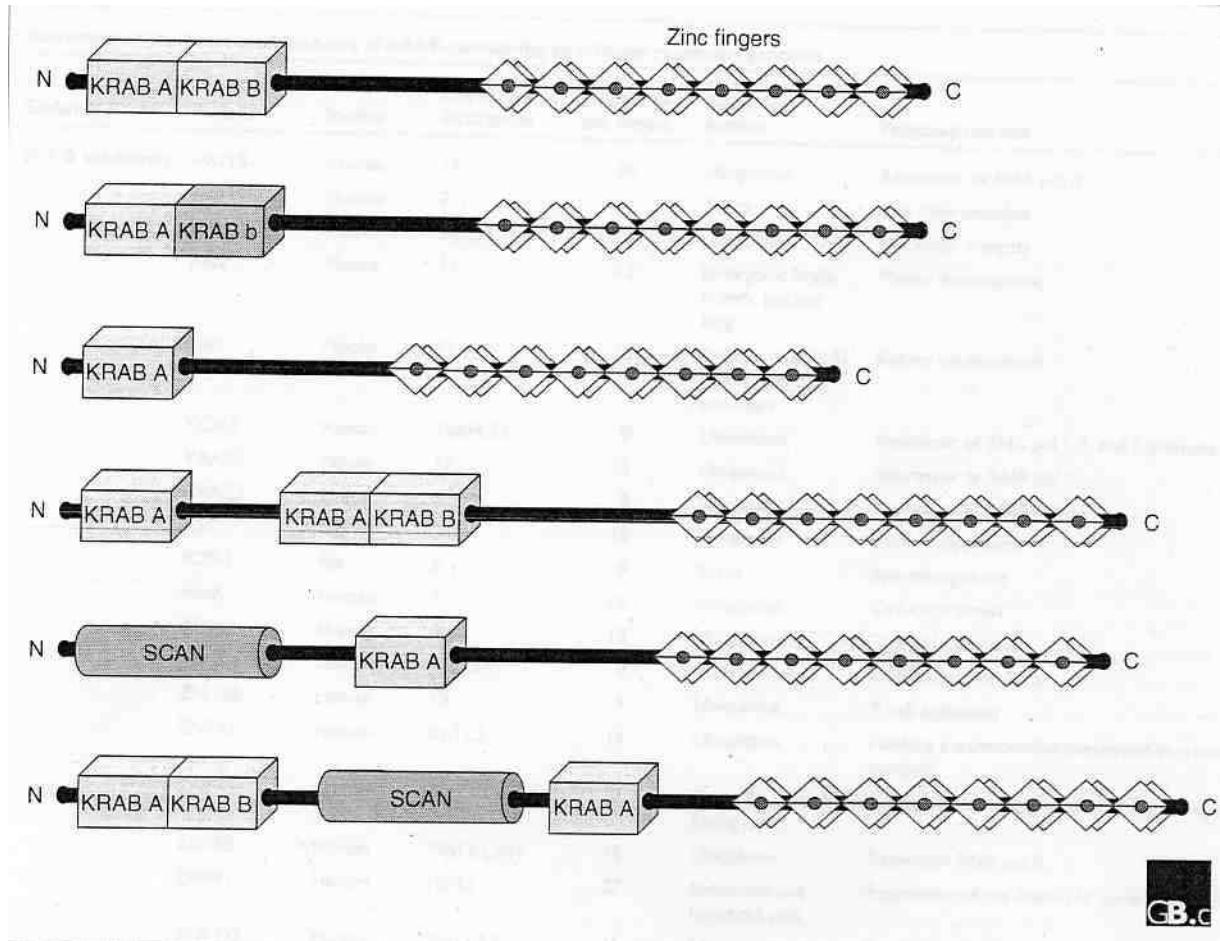
Table I

Summary of the functional features of KRAB-containing zinc-finger repressor proteins

Subfamily	Protein	Species	Chromosomal localization	Number of zinc fingers	Expression pattern	Proposed function
<b>A + B subfamily</b>	HKr18	Human	19	20	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II
	HKr19	Human	7	11	Testis	Cell differentiation
	KID-1	Human	5q35.3	13	Ubiquitous	Nucleolar integrity
	Kid2	Mouse	11	13	Embryonic brain, kidney, gut and lung	Mouse development
	Kid3	Mouse	11	11	Embryonic (E16.5) kidney, gut, lung and heart	Kidney development
	KOXI	Human	12q24.33	9	Ubiquitous	Repressor of RNA pol I, II, and III promoters
	KRAZ1	Mouse	17	15	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II
	KRAZ2	Mouse	5	9	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II
	KSI	Rat		10	Ubiquitous	Tumor suppressor
	KZF-1	Rat	6	9	Testis	Spermatogenesis
	RbaK	Human	7	16	Ubiquitous	Cell cycle arrest
	RITA	Human	9q13	12	Ubiquitous	Thyroid carcinoma
	ZBRK1	Human	19q13.41	8	Skeletal muscle	Interaction with Brca1
	ZF5128	Human	19	9	Ubiquitous	T cell activation
<b>A subfamily</b>	ZNF41	Human	Xp11.2	18	Ubiquitous	Flanking a translocation breakpoint in synovial sarcoma
	ZNF43	Human	19p13.1-p12	22	T cell, B cell, and Ewing cells	Differentiation and growth arrest in Ewing cells
	ZNF85	Human	19p13.1-p12	15	Ubiquitous	Repressor RNA pol II
	ZNF91	Human	19p12	27	Seminoma and lymphoid cells	Repression of the human Fc gamma RIIIB gene
	ZNF133	Human	20p11.23	15	Ubiquitous	Repressor RNA pol II
	ZNF140	Human	12q24	9	Lymphoid cells	Repression of the human Fc gamma RIIIB gene
	ZNF141	Human	4p16.3	10	Ubiquitous	Candidate for the Wolf-Hirschhorn syndrome
	ZNF157	Human	Xp11.2	12	Blood vessels	Potential hotspot for neurogenetic disorders
	HZF12	Human	19	9	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II
	MZF3I	Mouse	2	9	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II
<b>A + b subfamily</b>	pMLZ-8	Mouse	4	15	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II
	ZKI	Human	19p13.2	15	Hematopoietic and various cancer cells	Radiation-induced apoptotic cell death
	ZNF136	Human	19p13.1-p12	13	Ubiquitous	Weak repressor of RNA pol II
	HZF4	Human	19p13.32	18	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II
	Zfp93	Human	19p13.1-p12	15	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II
	rKr2	Rat	1	19	Central nervous system and testis	Maturation of neurons and oligodendrocyte
	ZNF45	Human	19p13.2	11	Ubiquitous	Potential hotspot for malignant disorders
	ZNF155	Human	19q13.2	11	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II
	ZNF221	Human	19q13.2	15	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II
	ZNF222	Human	19	7	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II
	ZNF224	Human	19	16	Ubiquitous	Repressor of RNA pol II



# KRAB-containing zinc finger proteins



## KRAB-A

ZNF224	5	KEAMT FKDVAVV FT EEEELGLLD LAQRK LYRDV M LEN FR NLL SVG
GIO Ti	1	M DAVTYEDVYV SFT QEE WALLN PSQKN LYKDVM MMQ TCRNLIAIG
DBP	11	NAVTY YDVLV SFT QE EWA L LDPSQK SLYKDVM LETY RNL TAIG
ZNF136	1	MDSVA FED VDVN FTQE EWA L DPSQKN LY RDVM WETMRNLA SIG
ZNT141	1	MELLTFRDVA IEF SPP EE WKCLDPDQQN LY RDVML ENY RNL V SLG
ZNF177	12	NSVTFQEVAVD FS QEEW ALLD PAQKN LY XDVML ENFRNL ASVG
Zim1	48	E PVIF KDVAV Y FSQK E WQ LLE PAQKD LY KDVML ENY ENL IS VE
KS1	9	G PVSF KDTVVD FT QEEW QRL DPA Q KALY RDVML ENY CH FIS VG
Kid-1	21	V SVTFEDVAVL FT RD E WKK LDL SQRSL YR EVML ENY SNLA SMA
Kzf-1	3	M EQLT FR DVAVD FSP DE W ECLD PP QQ SLY RDVM VENY RNL V SVA

**consensus**      **VTF**    **DVAV**    **F**    **EEW**    **LD**    **QR**    **LYR**    **VMLENY**    **NLVS**    **G**

La “consensus sequence” del dominio a dito di zinco C2-H2 è data da:

Cys – X<sub>2</sub> – Cys – X<sub>12</sub>-His - X<sub>2</sub> – His

Nelle proteine zinc finger contenenti il motivo KRAB il motivo di sequenza è :

Φ-X-Cys – X<sub>(2-4)</sub> – Cys – X<sub>3</sub>- Φ-X<sub>5</sub> - Φ- X<sub>2</sub> - His–Φ-X<sub>(3-4)</sub> – His

Dove Φ= un amminoacido idrofobico  
X=un qualsiasi amminoacido

I motivi zinc finger sono separati da un distanziatore ripetuto la cui sequenza è :

TGEKPYX

# L'interazione KRAB-KAP1 è centrale nel “silencing” dei geni target delle KRAB-ZFPs.

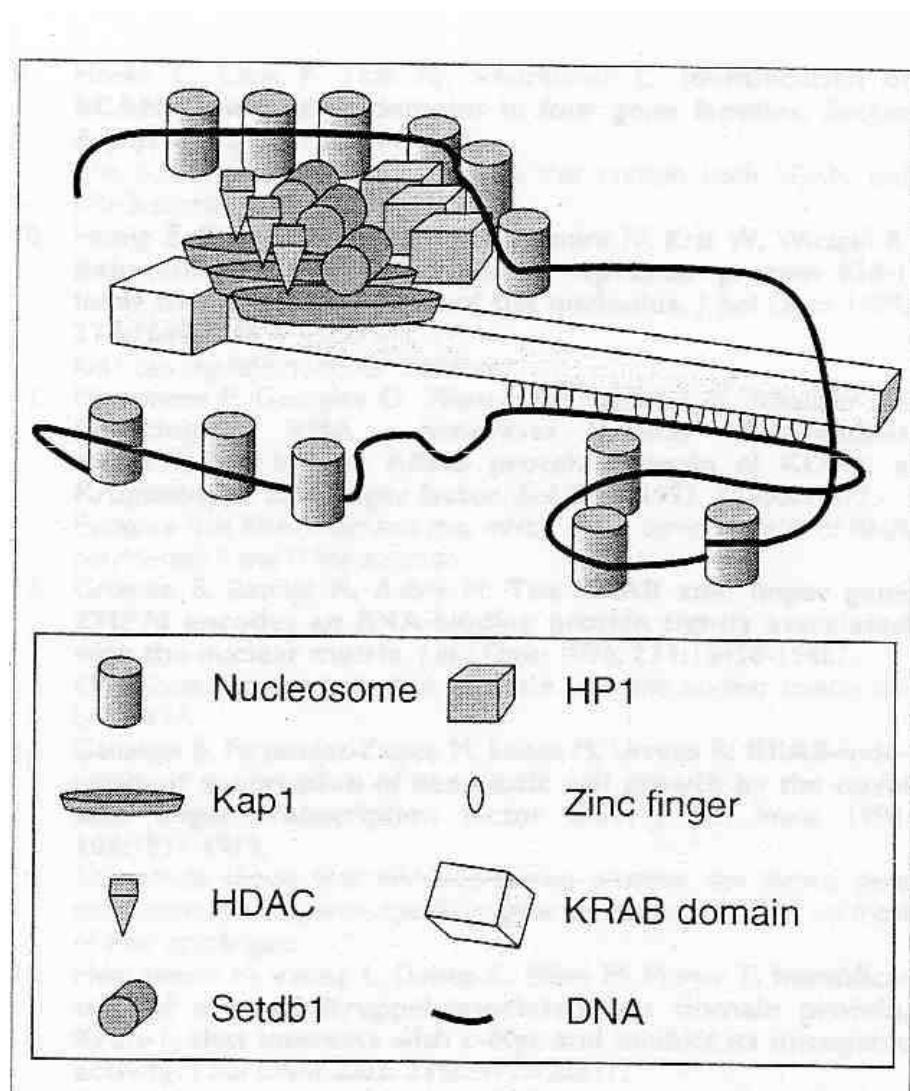
Le proteine zinc finger contenenti KRAB interagiscono con il corepressore KAP1 (Tif1-beta o Krip1).

L'interazione KRAB-KAP1 costituisce l'evento centrale che determina la repressione trascrizionale attraverso tre meccanismi principali:

- 1) istone deacetilazione
- 2) metilazione
- 3) interazione con HP1

Questi meccanismi indirizzano verso “il silencing” del promotore che è il target delle zinc finger protein contenenti il motivo KRAB.

# L'interazione KRAB-KAP1 è centrale nel “silencing” dei geni target delle KRAB-ZFPs.



# Model of KRAB-ZNFs binding to DNA and induction of heterochromatin formation

