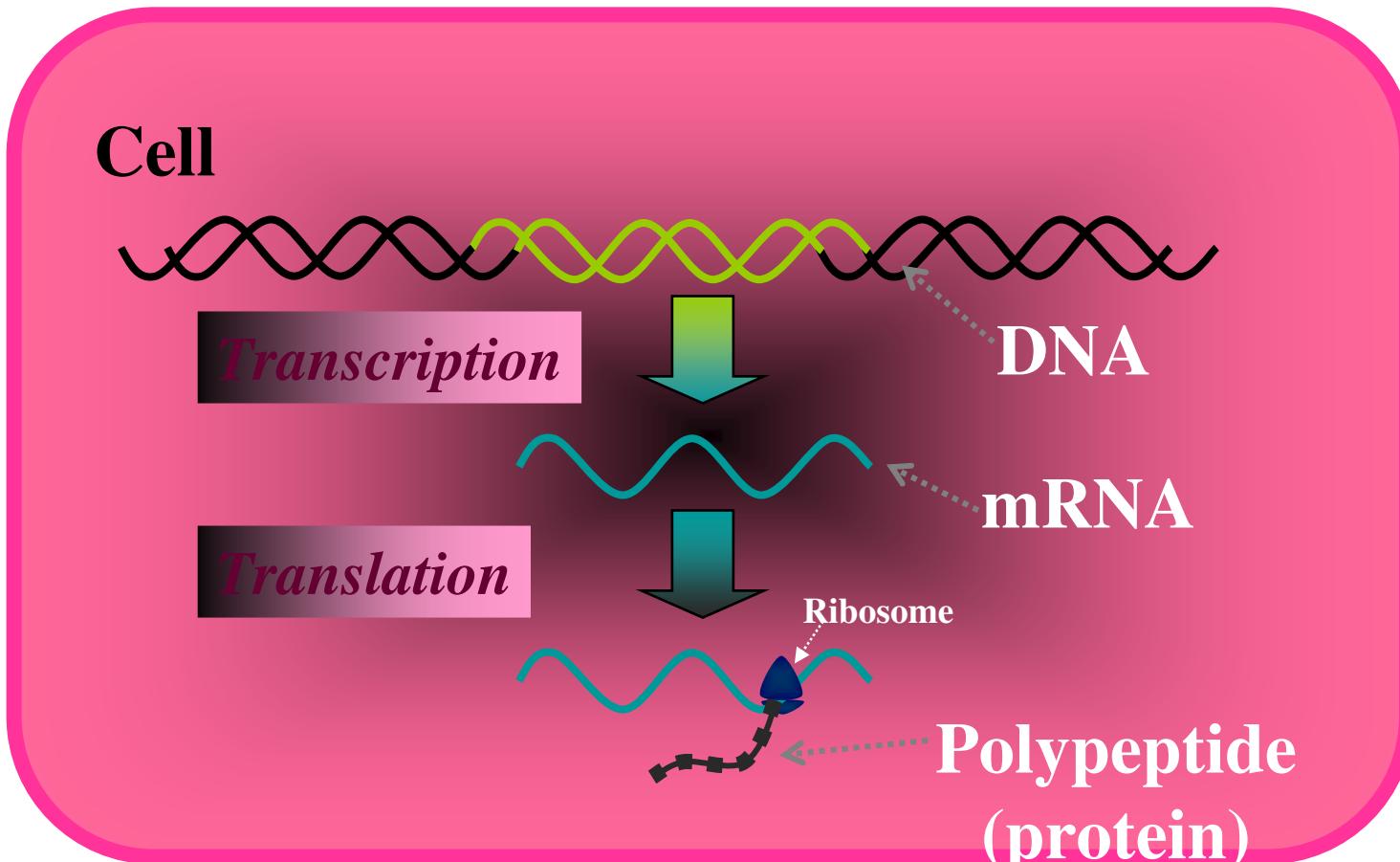
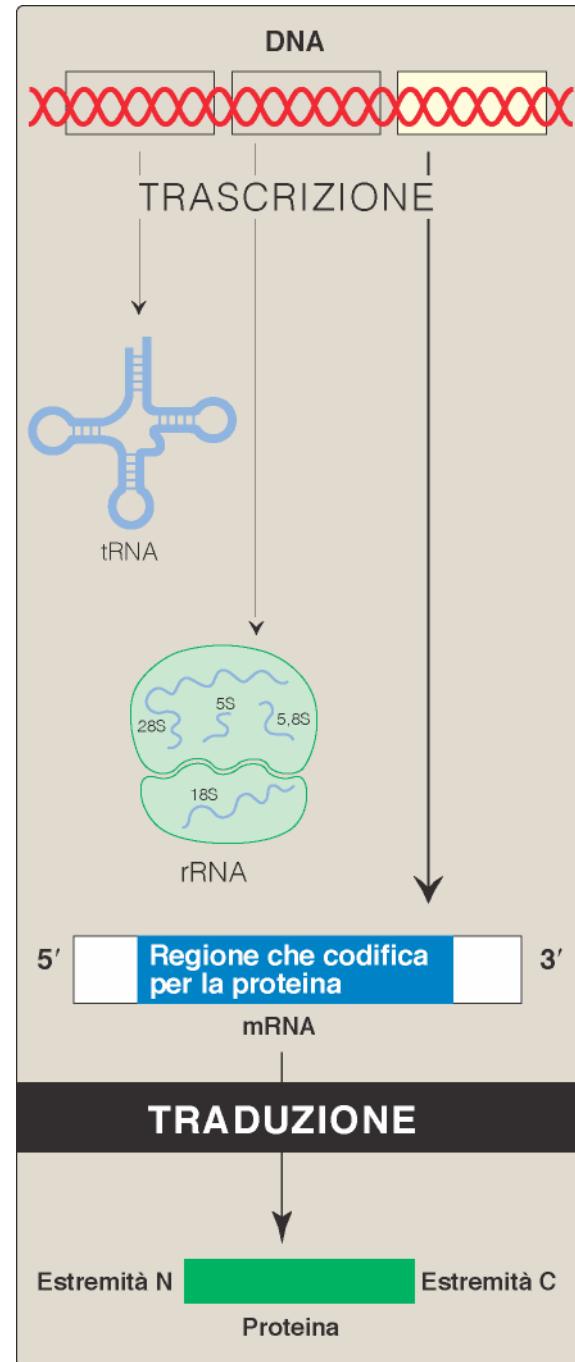


Il dogma centrale della biologia molecolare



L' informazione per la sintesi delle proteine è contenuta nel DNA. La trascrizione e la traduzione sono i processi attraverso cui l' informazione genetica è convertita in proteine. Il flusso dell' informazione genetica è unidirezionale, ovvero non passa mai dalle proteine agli acidi nucleici.

Da RNA alle proteine: Il processo di traduzione



Tre Differenti Classi di RNA

1) rRNA (ribosomale)

- Lunghe molecole di RNA
- Componenti strutturali e funzionali dei ribosomi
- Molto abbondanti

2) mRNA (messaggeri)

- tipicamente di piccole dimensioni
- Codificano per proteine
- Non abbondanti

3) tRNA (transfer) e piccoli RNAs ribosomali

- Molto piccoli
- Importanti nel processo di traduzione

Non tutti i geni codificano per proteine

LA SINTESI PROTEICA NELLE CELLULE EUCARIOTICHE RICHIEDE:

>70 PROTEINE RIBOSOMIALI

>20 ENZIMI CHE ATTIVANO I PRECURSORI DEGLI AMMINOACIDI

**> 10 ENZIMI E FATTORI PROTEICI PER L'INIZIO,
L'ALLUNGAMENTO E LA FINE DELLA SINTESI PROTEICA**

> 40 TIPI DI tRNA E rRNA

TRADUZIONE

Il linguaggio a 4 lettere (basi) del DNA/RNA

viene tradotto

**nel linguaggio a 20 lettere (amminoacidi) delle
proteine**

Gli amminoacidi sono codificati da gruppi di 3 basi

3 nucleotidi codificano un amminoacido

L'alfabeto a **4 basi** del DNA codifica per **20 amminoacidi**.

3 basi codificano per un **amminoacido**.

Le **3 basi** che codificano per un amminoacido costituiscono un **codone**.

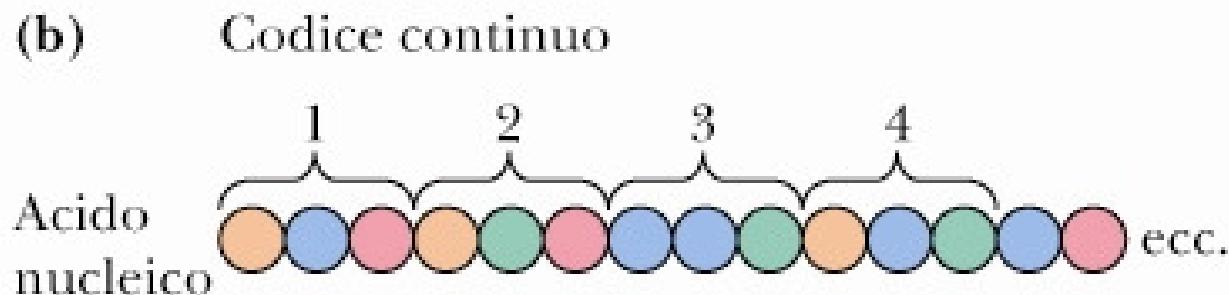
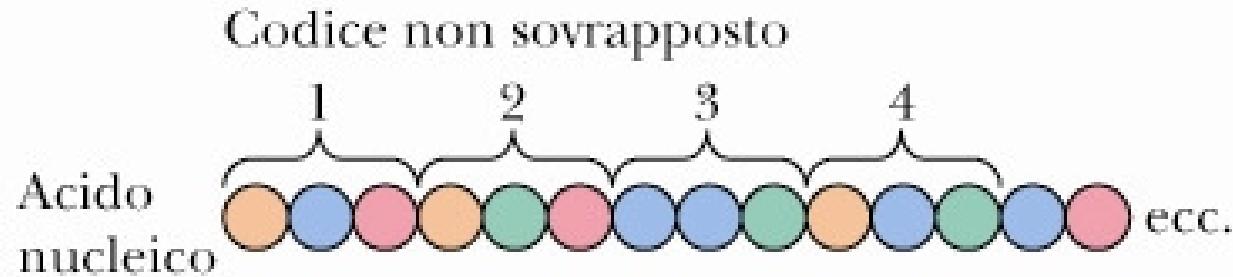
Il codice genetico non è sovrapposto

Il codice non ha punteggiatura

Il codice genetico è degenerato

Esistono **64** (4^3) possibili **triplette**. **61** codificano per **amminoacidi** e **3** sono **codoni di stop**.

La sequenza di una proteina è definita dalla sequenza LINEARE e CONTINUA di codoni adiacenti



Differenza tra codice sovrapposto e non sovrapposto

Overlapping code

The diagram shows a sequence of RNA nucleotides: A-U-A-C-G-A-G-U-C. Three blue brackets above the sequence indicate overlapping reading frames. The first bracket, labeled '1', covers positions 1-3 (A-U-A). The second bracket, labeled '2', covers positions 2-4 (U-A-C). The third bracket, labeled '3', covers positions 3-5 (A-C-G).

Reading frame 1 5' ---[G U A] [A G U] [A A G] [U A A] [G U A] [A G U] A A--- 3'

Reading frame 2 --- G [U A A] [G U A] [A G U] [A A G] [U A A] [G U A] A ---

Reading frame 3 --- G U [A A G] [U A A] [G U A] [A G U] [A A G] [U A A] ---

Prima lettera del codone (in direzione 5')

↓
Seconda lettera
del codone
→

	U	C	A	G			
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys			
C	UUA Leu UUG Leu	UCA Ser UCG Ser	UAA Stop UAG Stop	UGA Stop UGG Trp			
A	CUU Leu CUC Leu	CCU Pro CCC Pro	CAU His CAC His	CGU Arg CGC Arg			
	CUA Leu CUG Leu	CCA Pro CCG Pro	CAA Gln CAG Gln	CGA Arg CGG Arg			
A	AUU Ile AUC Ile	ACU Thr ACC Thr	AAU Asn AAC Asn	AGU Ser AGC Ser			
	AUA Ile AUG Met	ACA Thr ACG Thr	AAA Lys AAG Lys	AGA Arg AGG Arg			
G	GUU Val GUC Val	GCU Ala GCC Ala	GAU Asp GAC Asp	GGU Gly GGC Gly			
	GUA Val GUG Val	GCA Ala GCG Ala	GAA Glu GAG Glu	GGA Gly GGG Gly			

Codone = tripletta di nucleotidi codificante per un amminoacido

Caratteristiche del codice genetico:

• Codice a triplette

• Ridondante (o degenerato)

(diversi codoni codificano per un singolo amminoacido: codoni sinonimi)

• Specifico (*non ambiguo*)

• Universale

• Non sovrapposto

• Continuo o “privo di punteggiatura”

- Stop and start codons:

Start = AUG (codifica per la metionina) – sito in cui inizia la traduzione

Stop = UAA, UAG and UGA – siti dove la traduzione termina

-

table 27–4**Degeneracy of the Genetic Code**

Amino acid	Number of codons
Ala	4
Arg	6
Asn	2
Asp	2
Cys	2
Gln	2
Glu	2
Gly	4
His	2
Ile	3
Leu	6
Lys	2
Met	1
Phe	2
Pro	4
Ser	6
Thr	4
Trp	1
Tyr	2
Val	4

Il codice genetico è la relazione che intercorre tra la sequenza di nucleotidi nella molecola di RNA e la sequenza di amminoacidi nelle proteine.

Una sequenza di tre basi (codone) specifica per un amminoacido. I codoni vengono letti sequenzialmente sull'mRNA da molecole di tRNA, che servono da adattatori nella sintesi proteica.

DNA

filamento codificante, non-template strand

5' ..**ATGTTACTGATGGTGGTAAA**.....**AAACAT****TGA**.. 3'

3' ..TACAAATGACTACCACCATT.....TTTGTAAC.. 5'

filamento non codificante, template strand

DNA

5' ..**ATG**TTTACTGATGGTGGTAAA.....**AAACAT****TGA**.. 3'

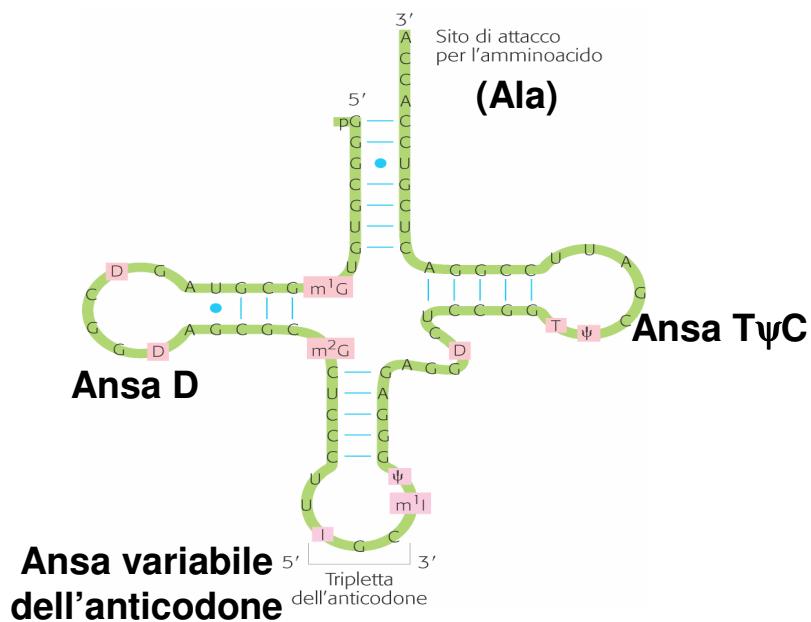
RNA

5' ..**AUG**UUUACUGAUGGUGGUAAA.....**AAACAU****UGA**.. 3'

Nter M F T D G G K..... K H Cter

proteina

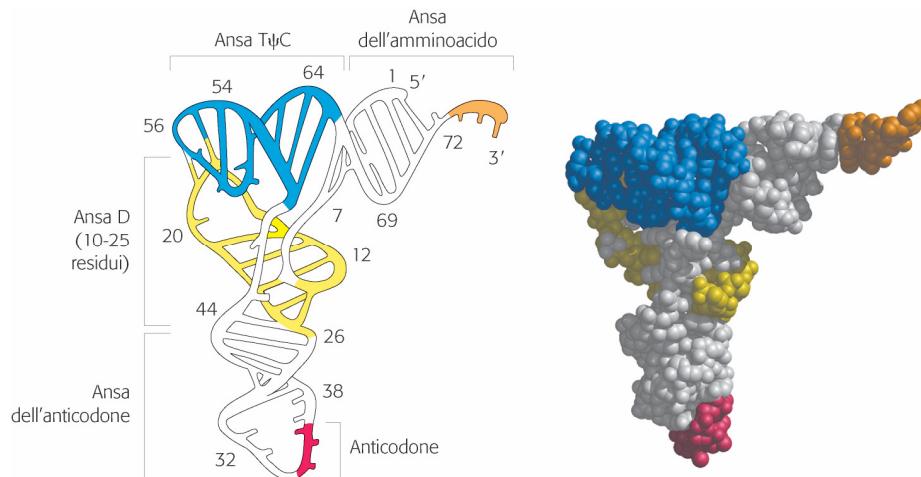
Il tRNA ha la funzione di “traduttore”(o adattatore) ovvero “traduce” la sequenza nucleotidica dell’mRNA nella sequenza amminoacidica della proteina



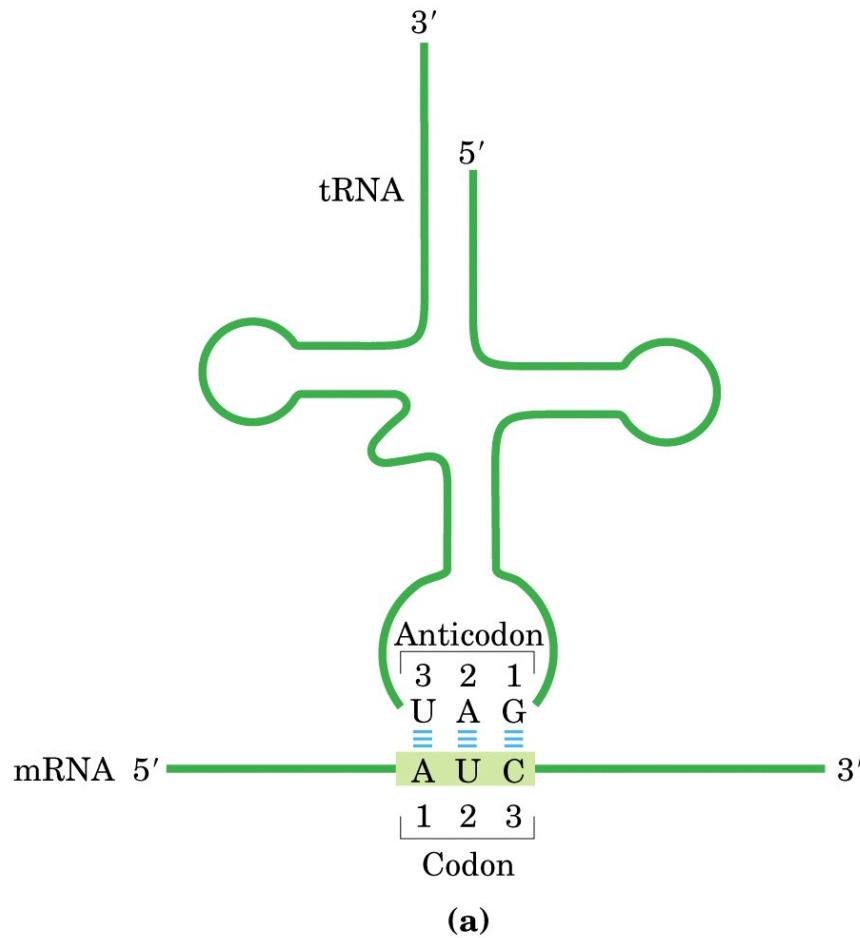
Ψ = pseudouridina
 I = inosina
 T = ribotimidina
 D = 5,6-diidrouridina
 m¹I = 1-metilinosina
 m¹G = 1-metilguanosina
 m²G = N2-dimetilguanosina

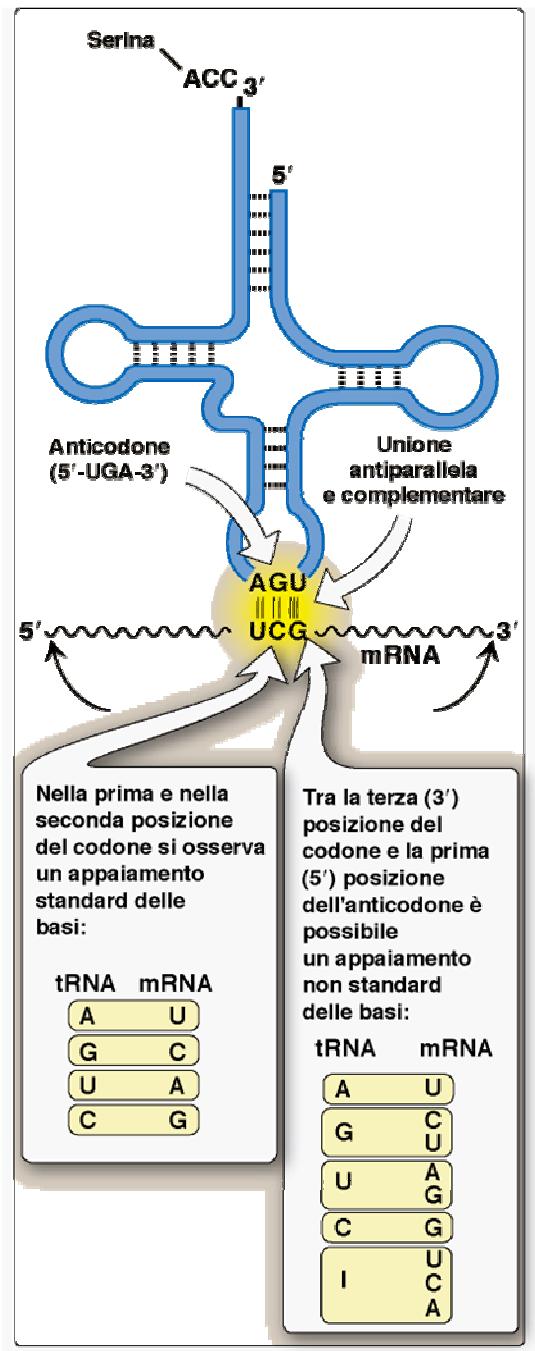
Caratteristiche strutturali del t-RNA

- Lunghezza: 73-93 nucleotidi
- Residuo pG all'estremità 5' (nella maggior parte dei t-RNA)
- Sequenza CCA all'estremità 3'
- Struttura secondaria a trifoglio
- Presenza di basi modificate nelle regioni non appaiate
- Struttura tridimensionale a “L” ribaltata



Riconoscimento codone-anticodone



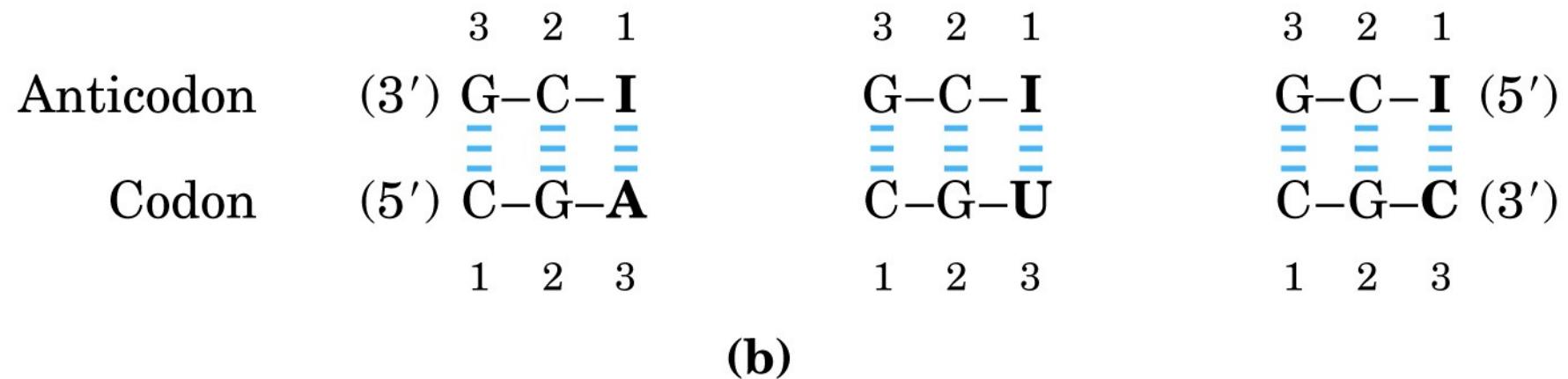


Il riconoscimento codone-anticodone avviene secondo le regole dell'appaiamento complementare e antiparallelo

Le prime due basi dell'anticodone formano sempre appaiamenti stabili, mentre la terza base forma appaiamenti più deboli (base oscillante, wobble).

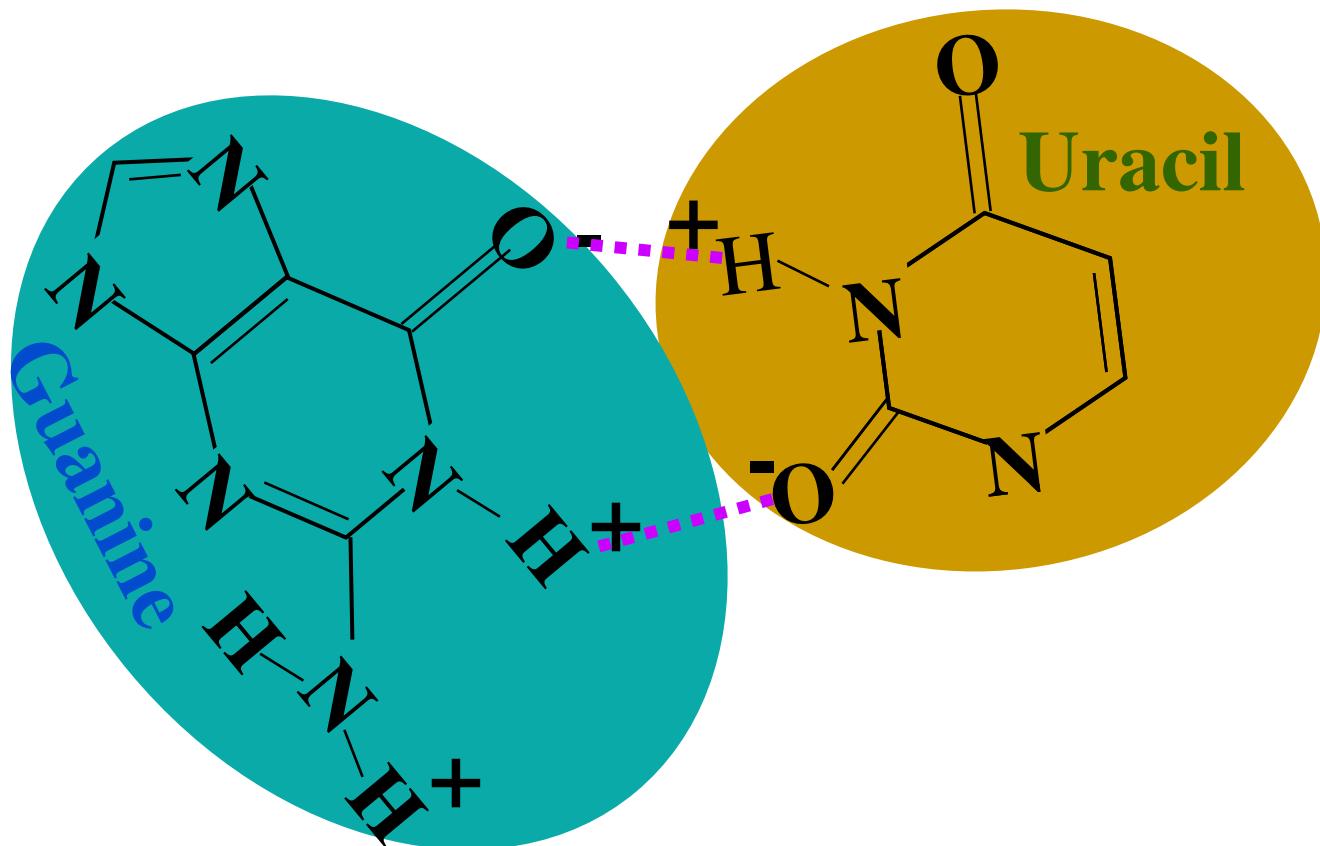
Conseguenza funzionale: un dato tRNA può riconoscere più di un codone

La possibilità di “oscillare” permette ad alcuni tRNA di riconoscere più di un codone

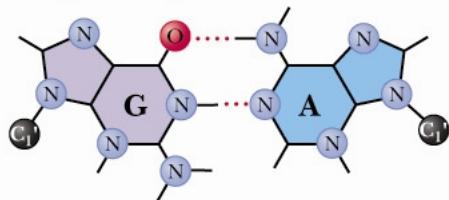


Wobble Base Pairing

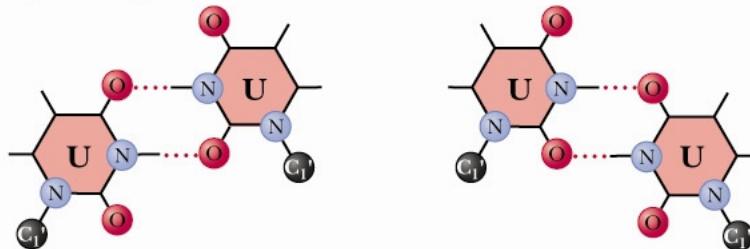
Guanine And Uracil



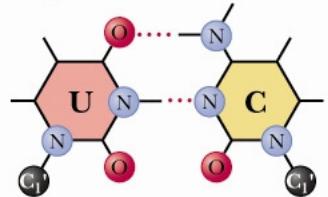
La coppia di basi guanina-adenina



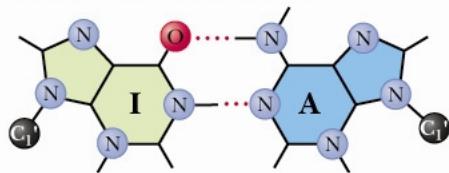
Le due possibili coppie di basi uracile-uracile



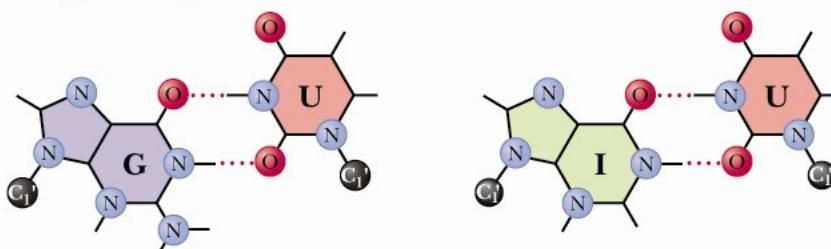
La coppia di basi uracile-citosina



La coppia di basi inosina-adenina



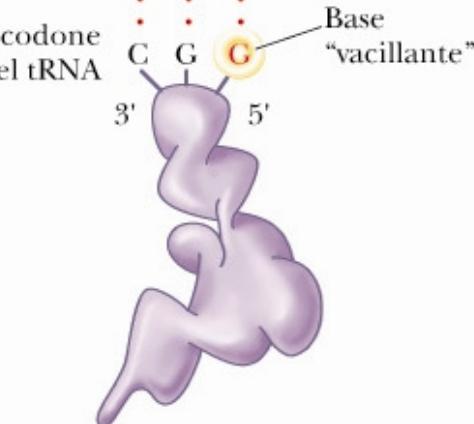
Le coppie di basi guanina-uracile e inosina-uracile sono simili



Codone dell'mRNA

5' 3'

Anticodone
del tRNA
3' C G G 5'



I = inosina

Inosina-ribosio = ipoxantina

Wobbling e Numero di tRNA

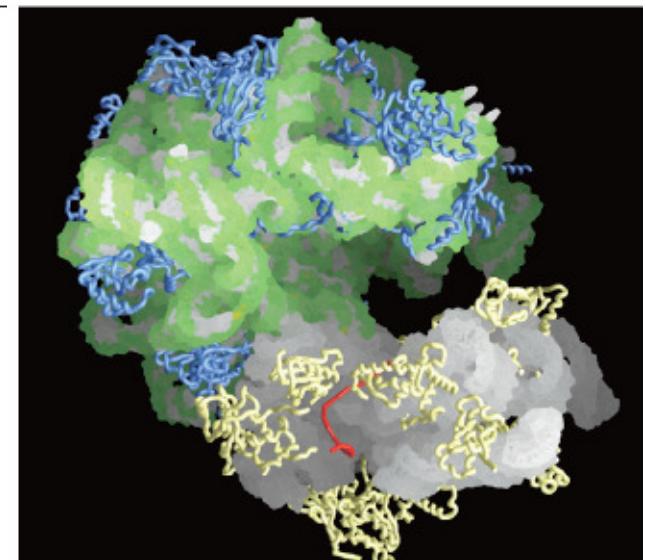
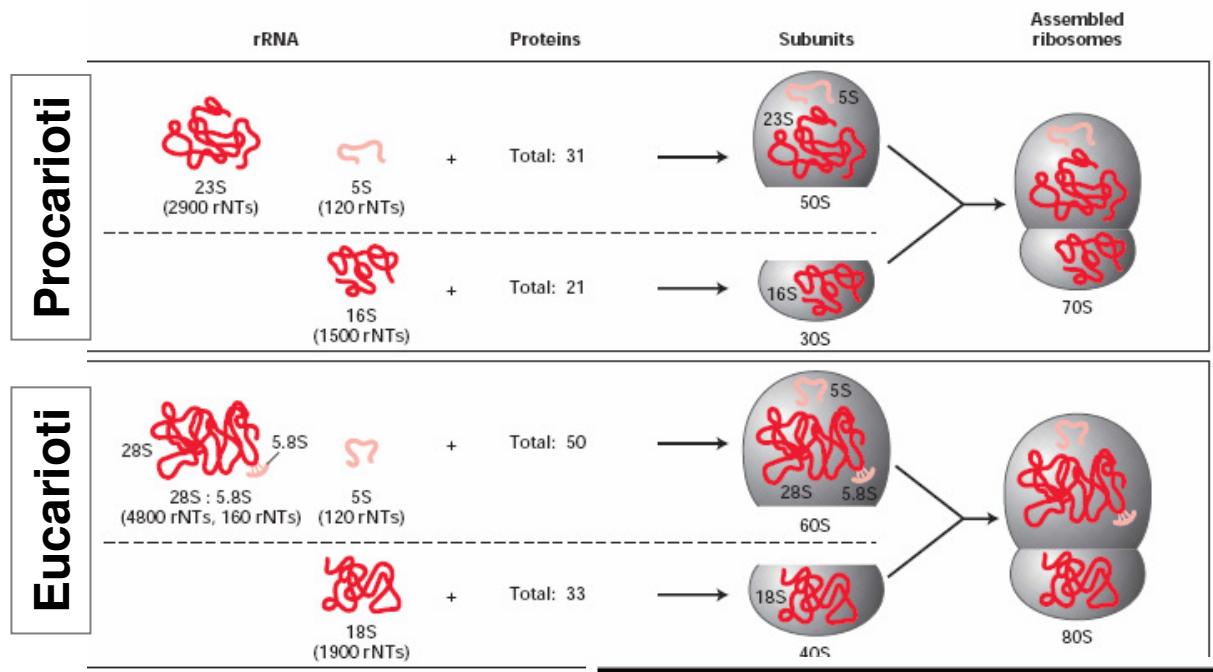
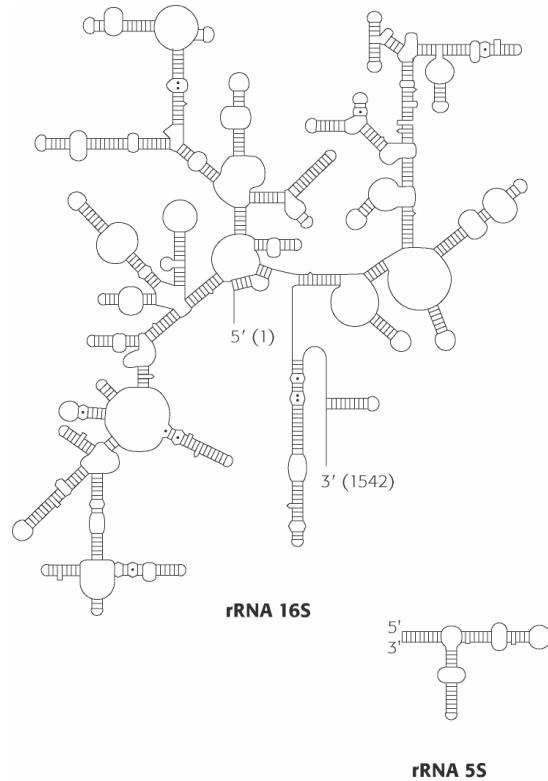
- L'effetto che produce il wobble è:
 1. Ridurre il numero dei tRNAs che devono essere prodotti dalla cellula. Molti tRNAs hanno anticodoni che si appaiano a differenti codoni
 2. Consentire la dissociazione rapida del tRNA dal codone durante la sintesi proteica.

STADI DELLA SINTESI PROTEICA

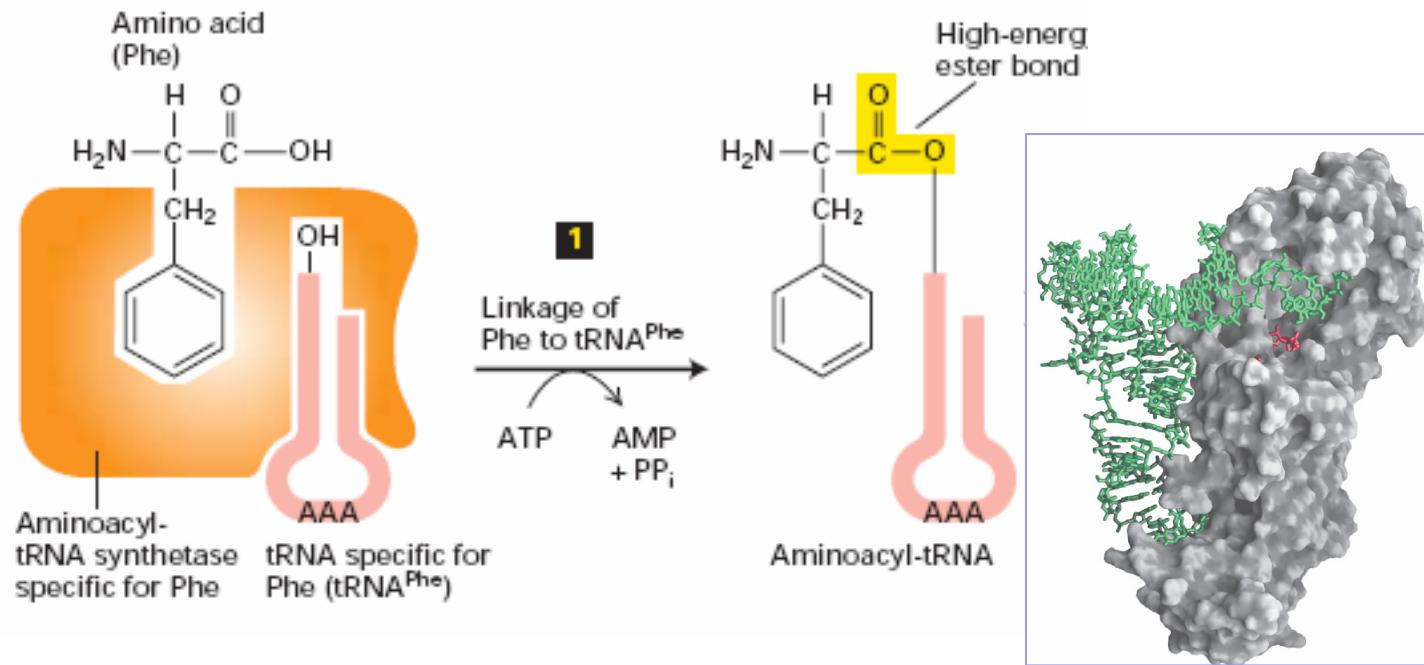
Stadio	Elementi necessari
ATTIVAZIONE DEGLI AMMINOACIDI	20 amminoacidi, 20 amminoacil-tRNA sintetasi, 20 o più tRNA, ATP, Mg ⁺⁺
INIZIO	mRNA, N-Formil-metionina, codone d'inizio, subunità 30S e 50S, fattori d'inizio (IF1, IF2, IF3), GTP, Mg ⁺⁺
ALLUNGAMENTO	Complesso 70S, amminoacil-tRNA, fattori d'allungamento (EF-Tu, EF-ts, EF-G), GTP, Mg ⁺⁺
TERMINAZIONE	Codoni di fine, fattori di rilascio del polipeptide (RF1, RF2, RF3) ATP

Componenti necessari alla traduzione

mRNA
Amminoacidi
tRNA
Ribosomi
Fattori proteici
ATP e GTP



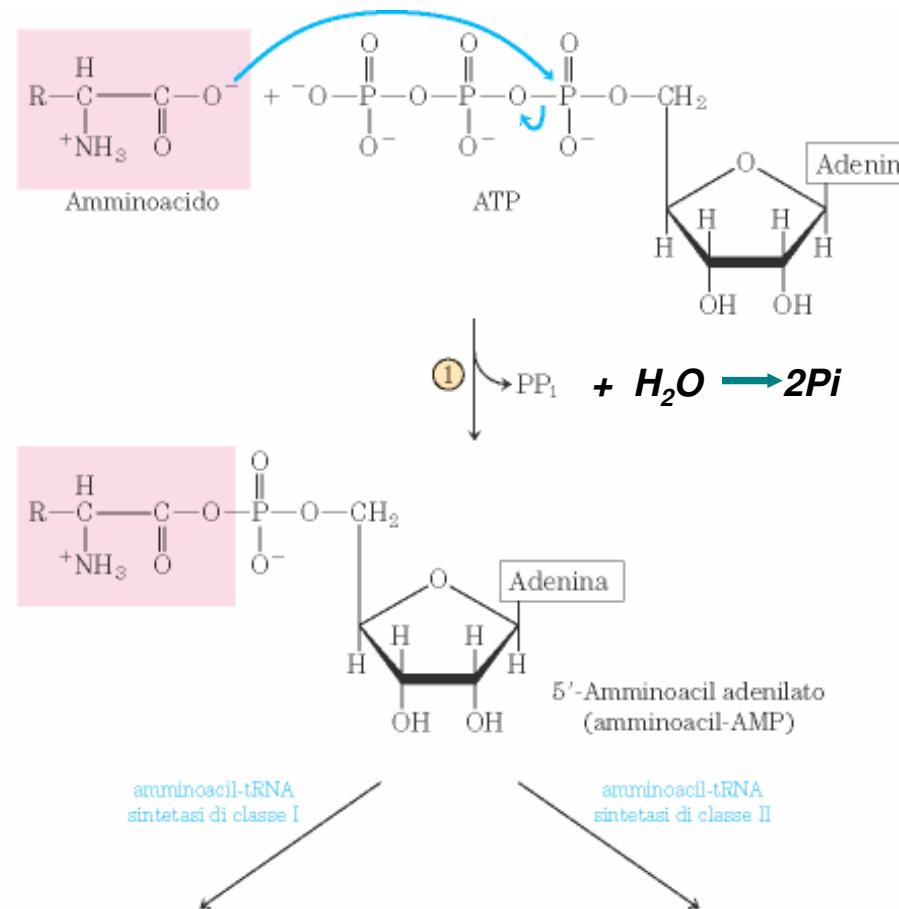
Il legame tra il t-RNA e l'amminoacido corrispondente è catalizzato dalle aminoacil-tRNA sintetasi



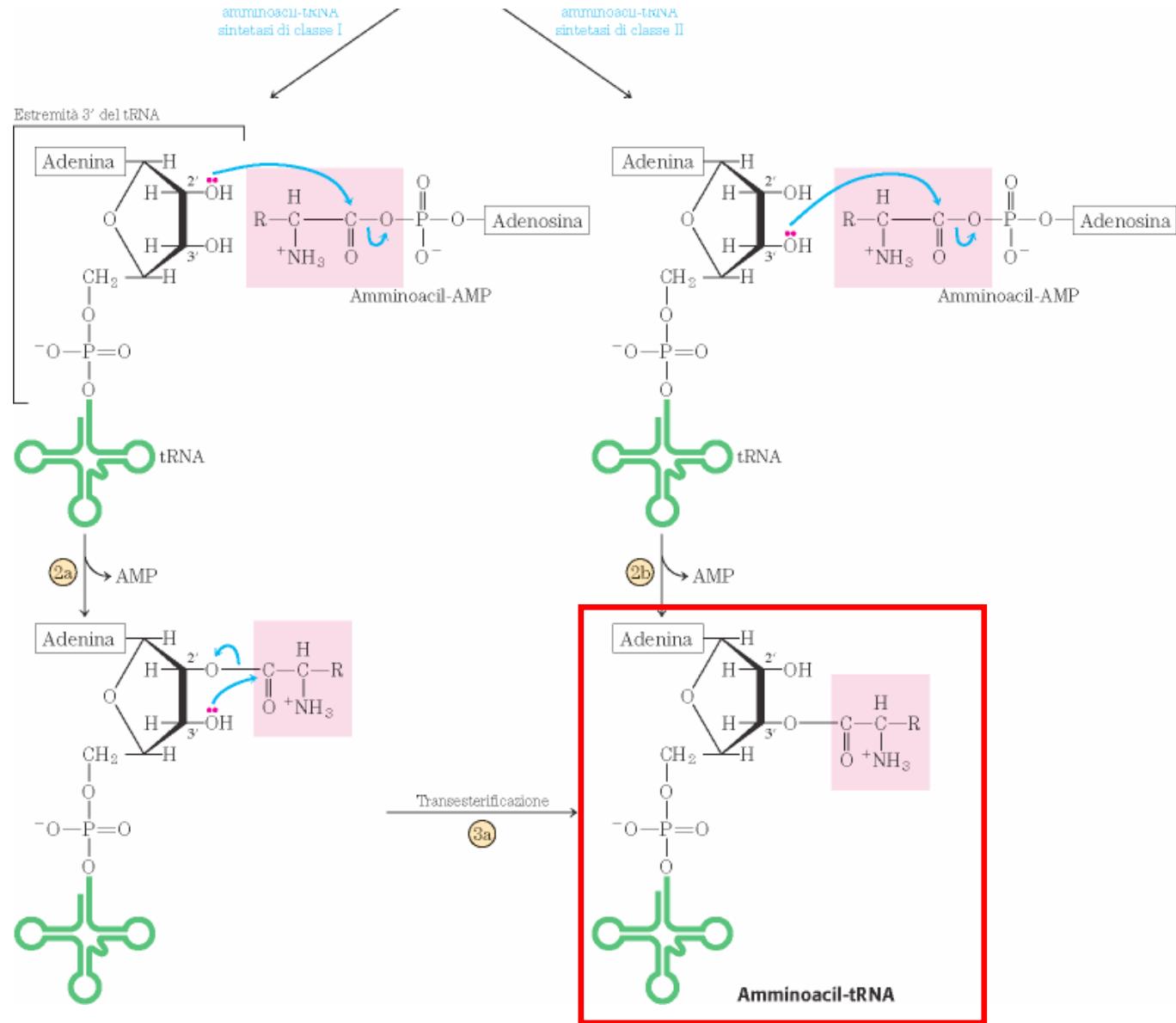
Per ogni coppia tRNA-amminoacido esiste una aminoacil-tRNA sintetasi specifica

Le aminoacil-tRNA sintetasi hanno attività di “correzione delle bozze”

Step 1: attivazione dell'amminoacido



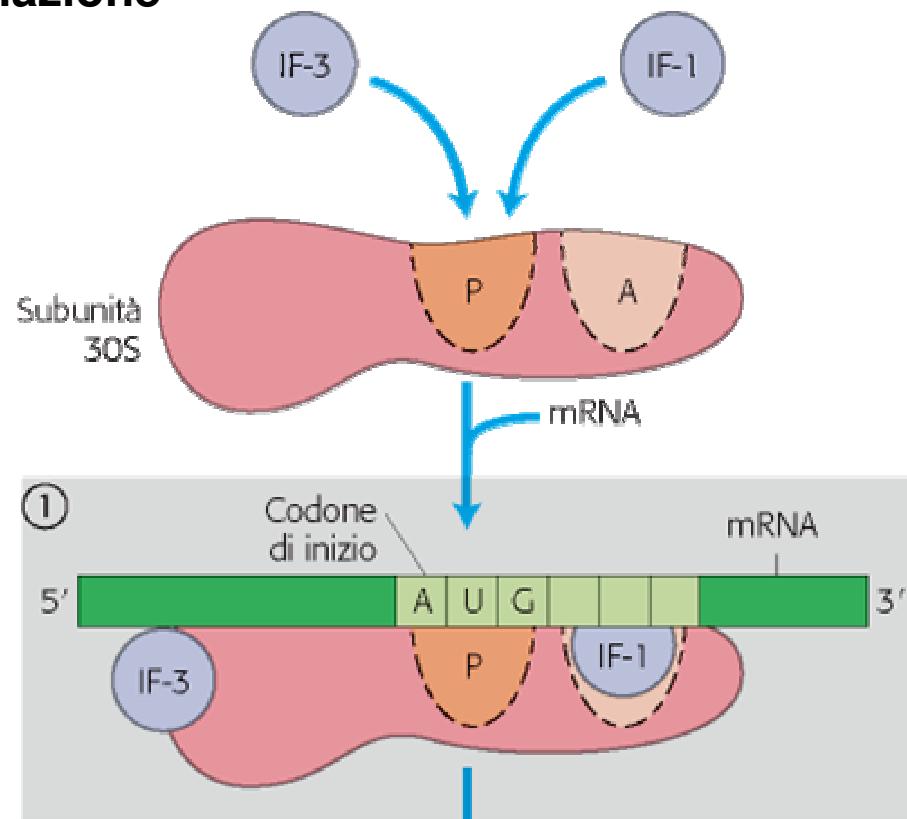
Step 2: formazione dell'amminoacil-tRNA



Tappe della sintesi proteica

1. Inizio
2. Allungamento
3. Terminazione

Assemblaggio dei componenti del sistema di traduzione

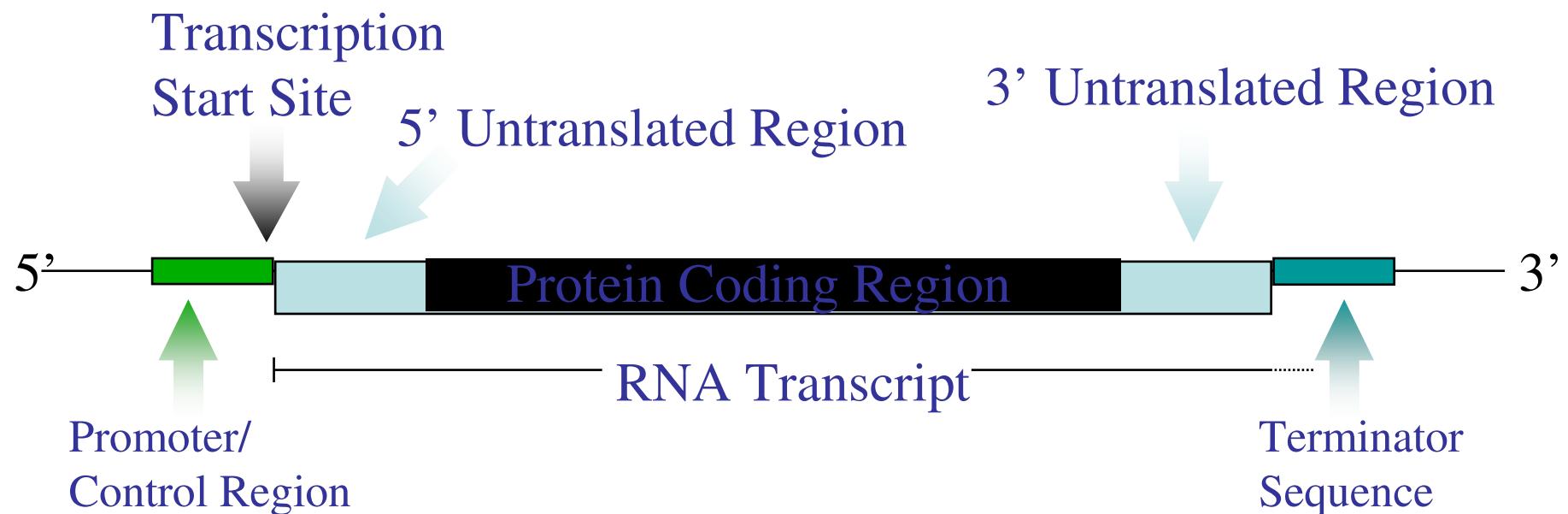


IF = fattori di inizio

P= sito peptidilico

A = sito aminoacilico

Che cosa determina il corretto posizionamento del mRNA sui ribosomi?...



Che cosa determina il corretto posizionamento del mRNA sui ribosomi?...

<i>trpA</i> di <i>E. coli</i>	(5') A G C A C G A G G G A A A U C U G	A U G G A A C G C U A C (3')
<i>araB</i> di <i>E. coli</i>	U U U G G A U G G A G U G A A A C G	A U G G G C G A U U G C A
<i>lac</i> di <i>E. coli</i>	C A A U U C A G G G U G G U G A A U	G U G G A A A A C C A G U A
Proteina A del fago ϕ X174	A A U C U U G G A G G C U U U U U U	A U G G G U U C G U U C U
<i>cro</i> del fago λ	A U G U A C U A A G G A G G U U G U	A U G G G A A C A A C G C

Sequenza di Shine-Dalgarno
che si accoppia con tRNA 16S

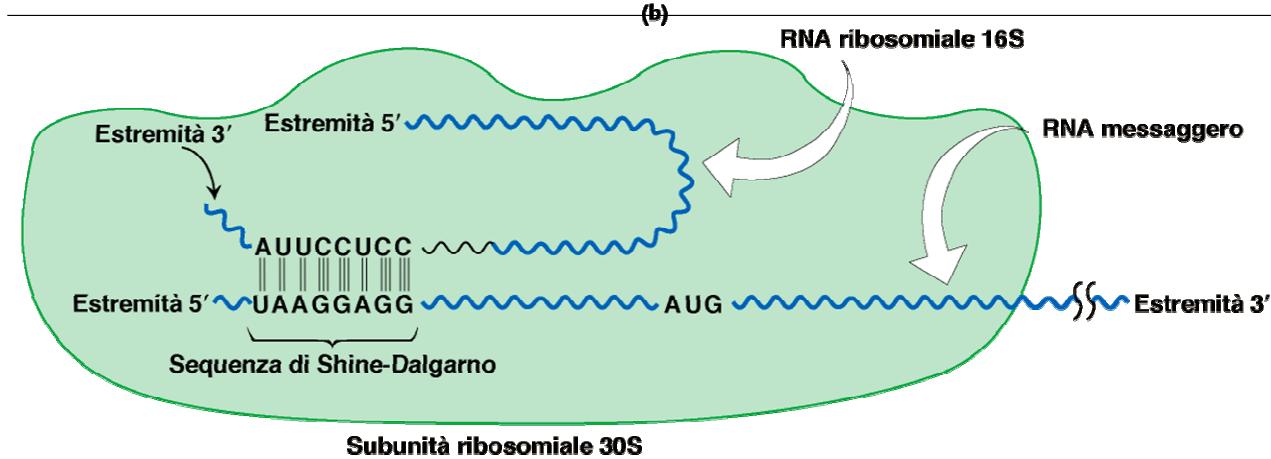
Codone di inizio che si accoppia
con fMet-tRNA^{Met}

Nei Procarioti:
Sequenza di Shine-Dalgarno
8-13 nucleotidi a monte del codone AUG

(a)

|

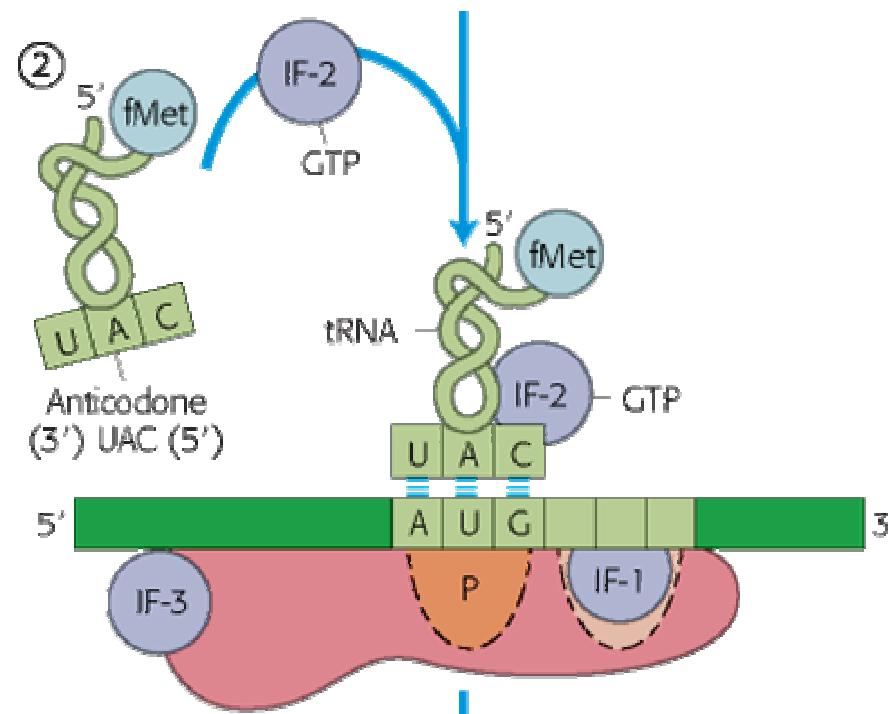
(b)



Tappe della sintesi proteica

1. Inizio
2. Allungamento
3. Terminazione

Assemblaggio dei componenti del sistema di traduzione



Nei procarioti il primo aminoacido è formil-Metionina, trasportato dal formil-Met-tRNA

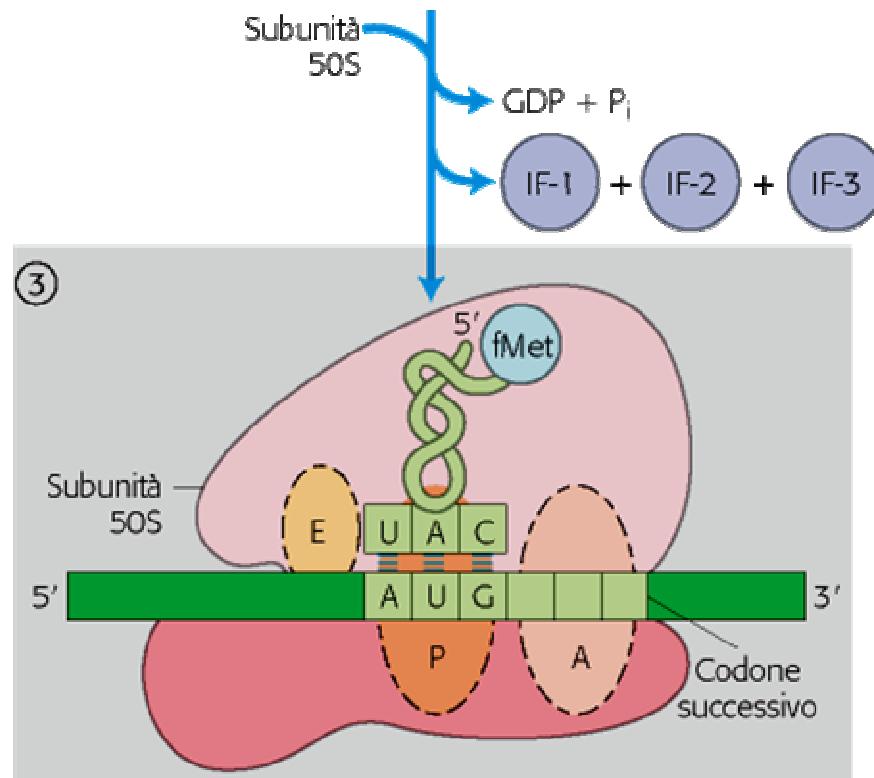
Negli eucarioti la sintesi comincia con Met.

Solo il fMet-tRNA si lega prima al sito P
Tutti gli altri amminoacil-tRNA si posizionano prima nel sito A e solo successivamente nel sito P e nel sito E

Tappe della sintesi proteica

1. Inizio
2. Allungamento
3. Terminazione

Assemblaggio dei componenti del sistema di traduzione



E = sito di uscita (tRNA scarichi)

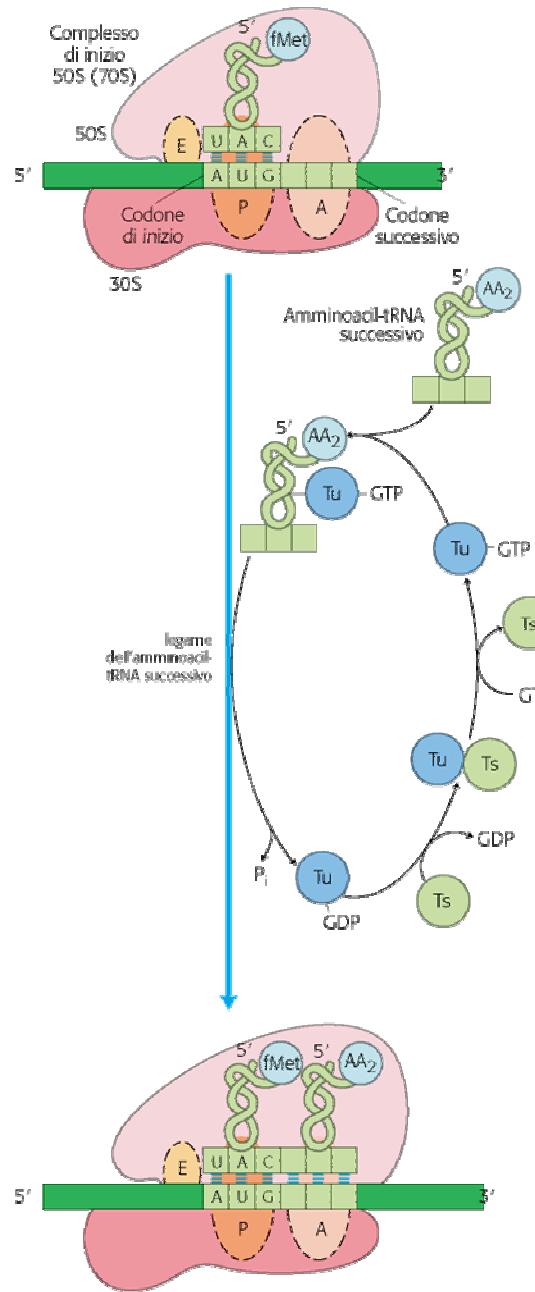
P = sito peptidilico

A = sito amminoacilico

Sia la subunità minore che la subunità maggiore contribuiscono alla formazione dei siti P e A
Il sito E è localizzato completamente sulla subunità maggiore

COMPLESSO DI INIZIO

Tappe della sintesi proteica



1. Inizio

2. Allungamento

3. Terminazione

**Posizionamento del secondo
amminoacil-tRNA nel sito A**

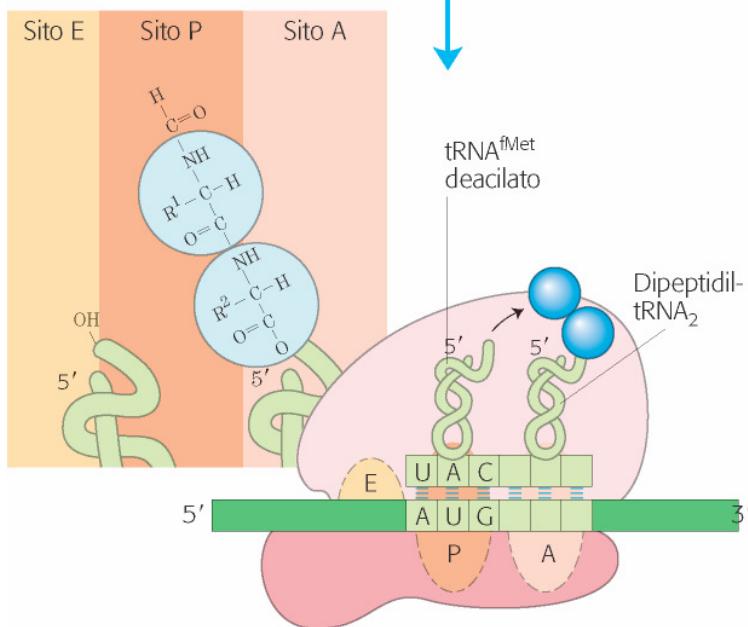
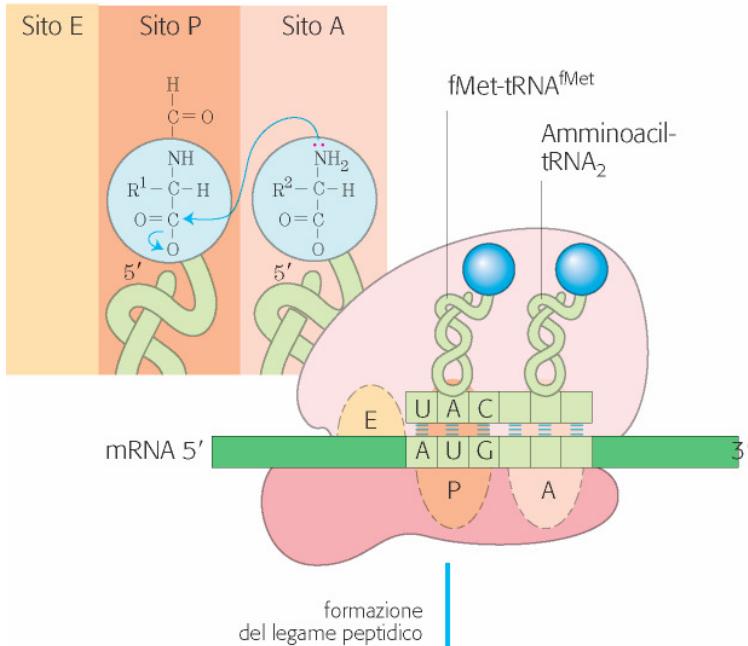
**Formazione del legame
peptidico**

Traslocazione

Il secondo amminoacil-tRNA entra nel sito A legato al fattore di allungamento EF-Tu che è Legato al GTP

Il legame dell' amminoacil-tRNA al sito A è accompagnato dall'idrolisi del GTP seguita dal rilascio del complesso di EF-Tu-GDP dal ribosoma

Il GDP viene liberato quando EF-Tu-GDP si lega all' EF-Ts



Tappe della sintesi proteica

1. Inizio
2. Allungamento
3. Terminazione

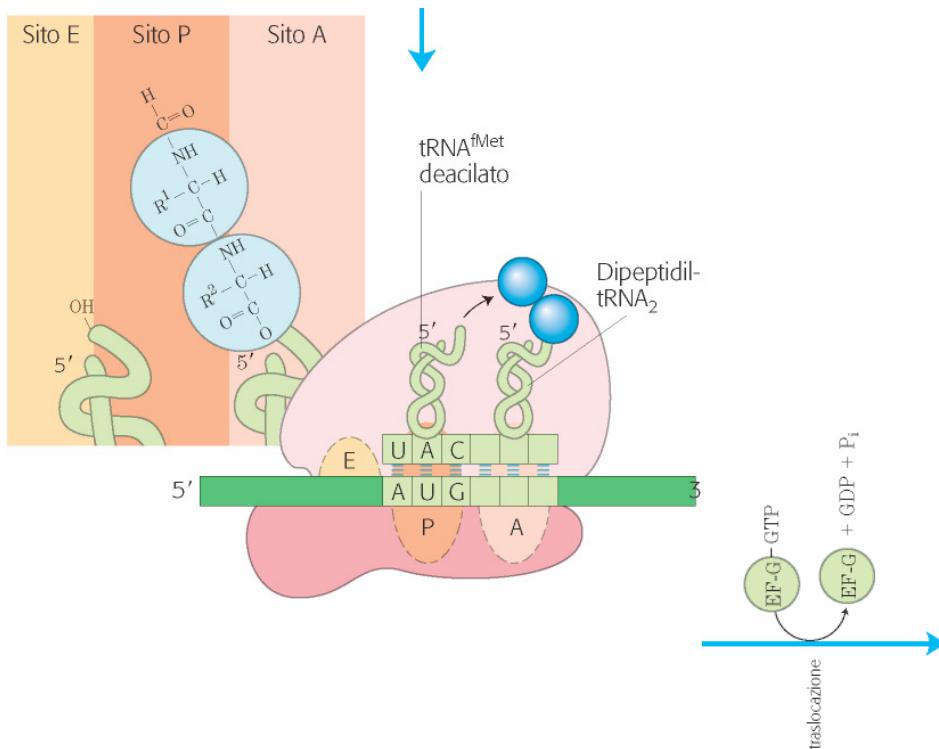
**Formazione del legame peptidico
catalizzata dall'attività
peptidil-transferasica
dell' RNA 23S (ribozima)**

Si forma un dipetide nel sito A grazie all'azione peptidil transferasica dell'rRNA 23S

tRNA^{fmet} scarico rimane legato al sito P

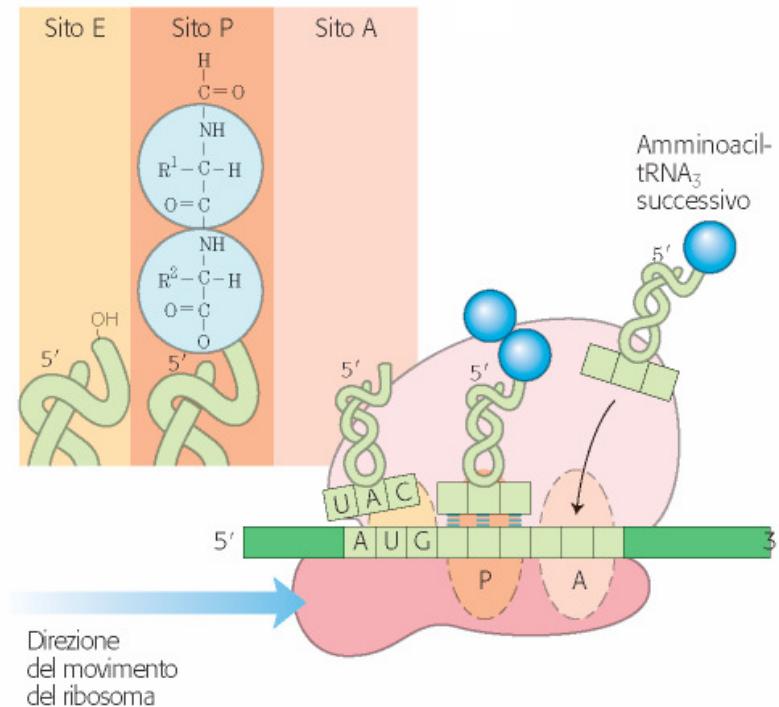
Tappe della sintesi proteica

1. Inizio
2. Allungamento
3. Terminazione

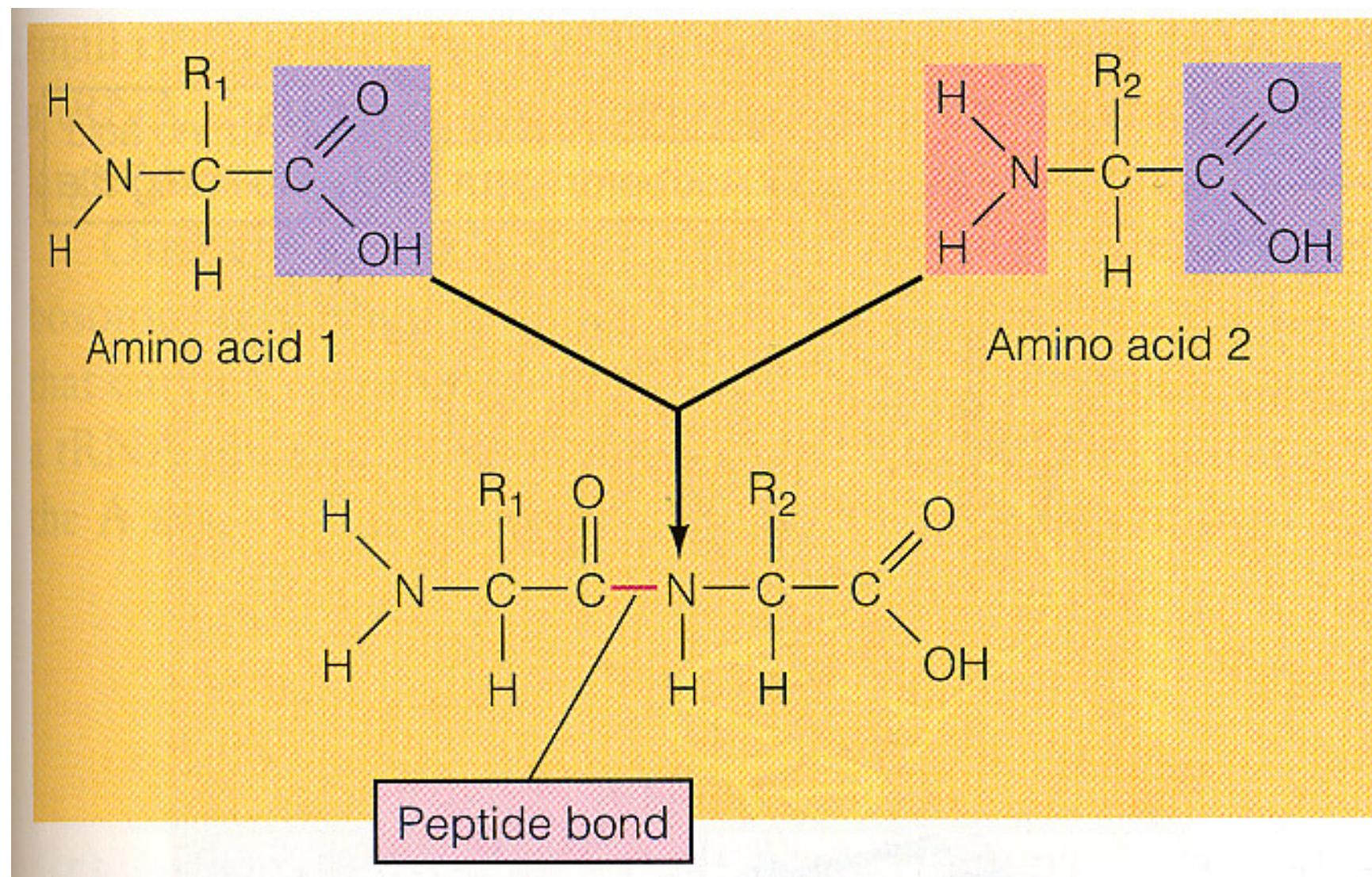


Il ribosoma si sposta di una tripletta verso l'estremità 3', comportando:

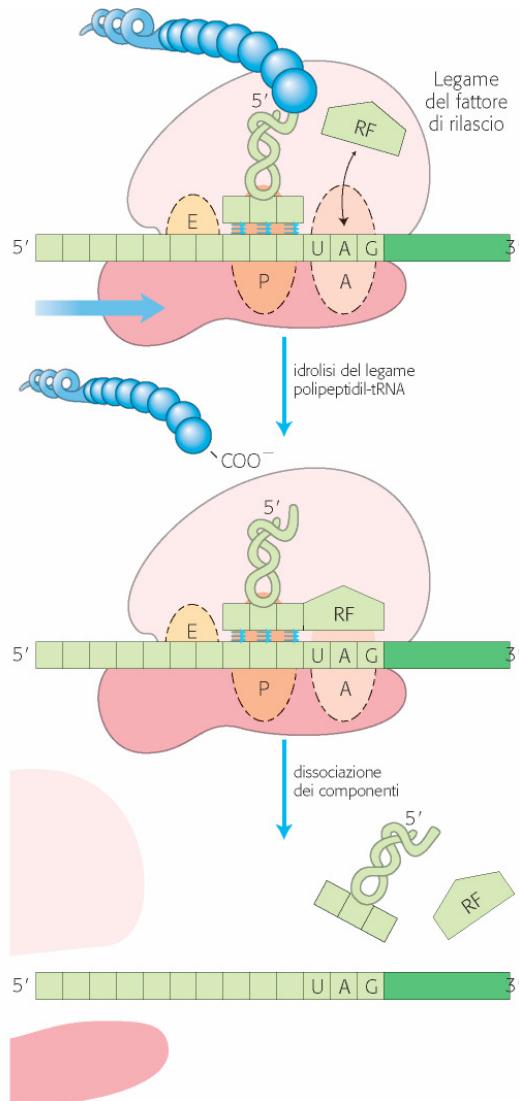
- lo spostamento del dipetidil-tRNA dal sito A al sito P
- il tRNA deacilato viene rilasciato al sito E
- il sito A è libero per accogliere un nuovo Amminoacil-tRNA corrispondente al codone Che ora si trova nel sito A



traslocazione



RF =
Fattori di rilascio



Tappe della sintesi proteica

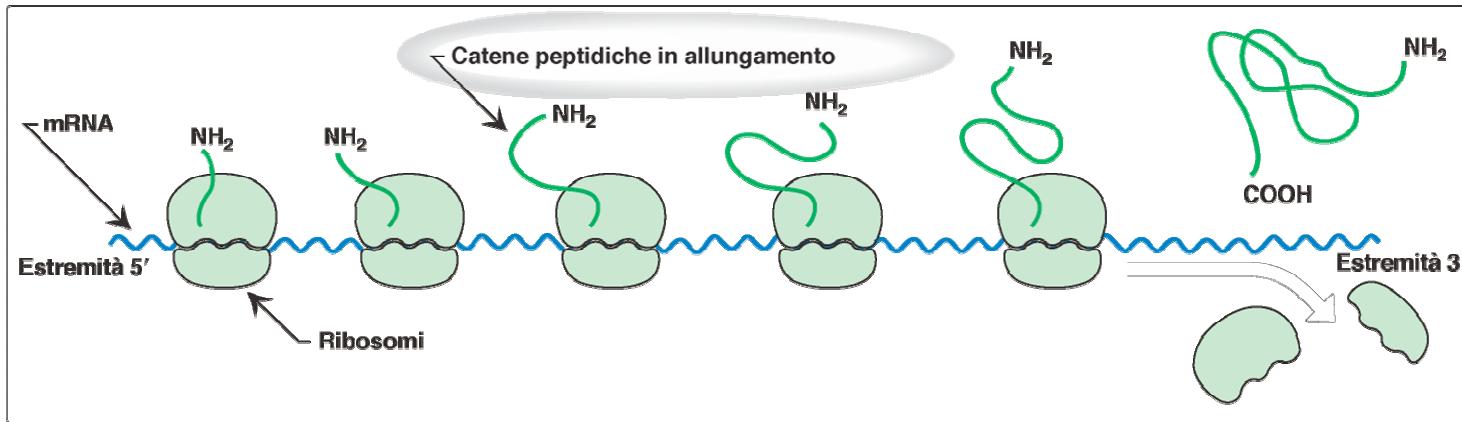
- 1. Inizio**
- 2. Allungamento**
- 3. Terminazione**

Si libera la proteina completa

I ribosomi, l'mRNA, i tRNA, i vari fattori proteici possono essere riutilizzati nella sintesi di un altro polipeptide

Il codone di stop occupa il sito A

I fattori di terminazione RF1, RF2, RF3 idrolizzano il legame terminale del peptidil-tRNA, provocando il rilascio del polipeptide e dell'ultimo tRNA dal sito P e favoriscono la dissociazione del ribosoma



Una molecola di mRNA può essere tradotto simultaneamente da numerosi ribosomi (polisomi**)**

La catena polipeptidica comincia a ripiegarsi già durante la sintesi

Può andare incontro a modificazioni dopo il completamento della sintesi

La proteina finale – ripiegata nella sua conformazione nativa – è biologicamente attiva

