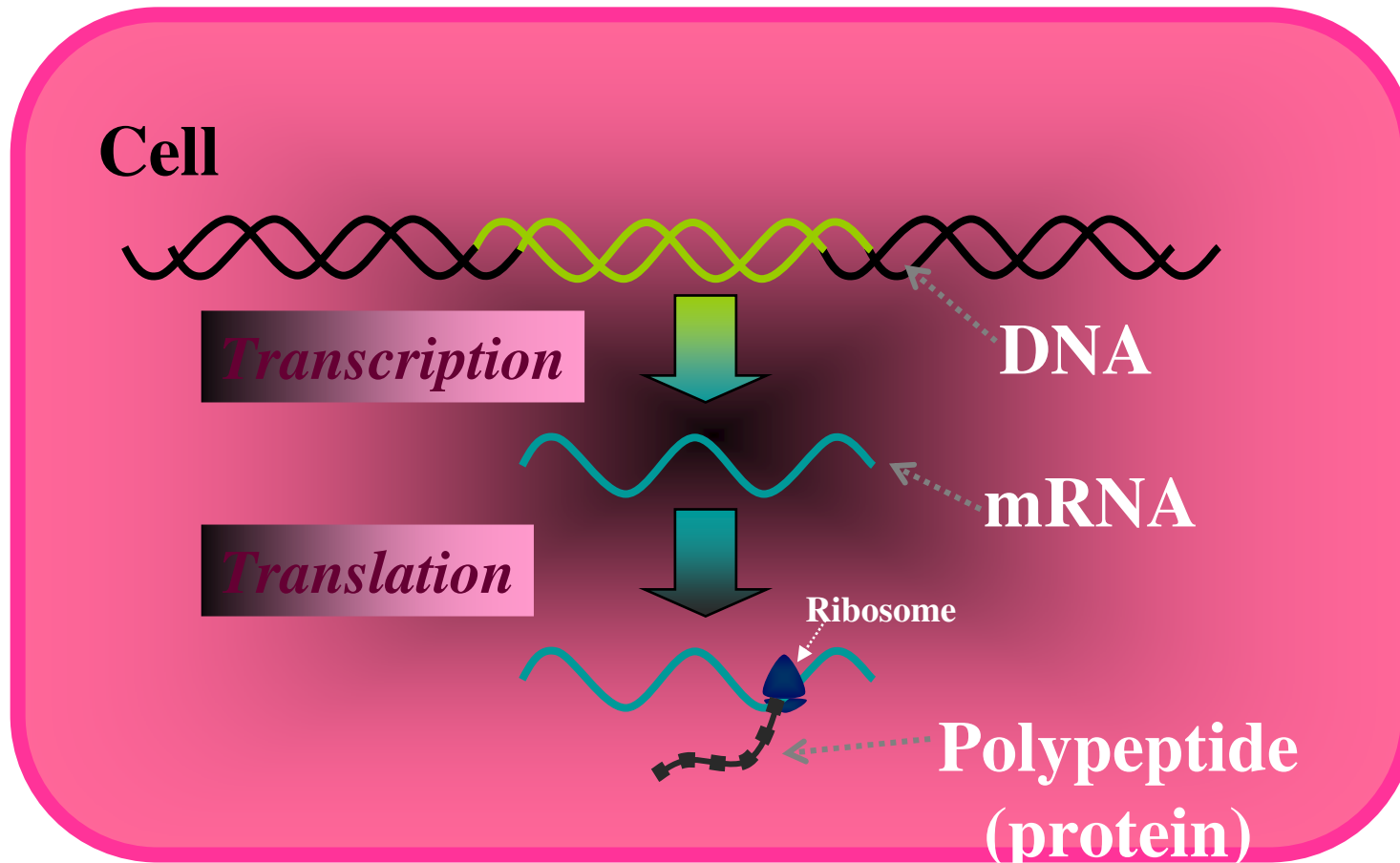
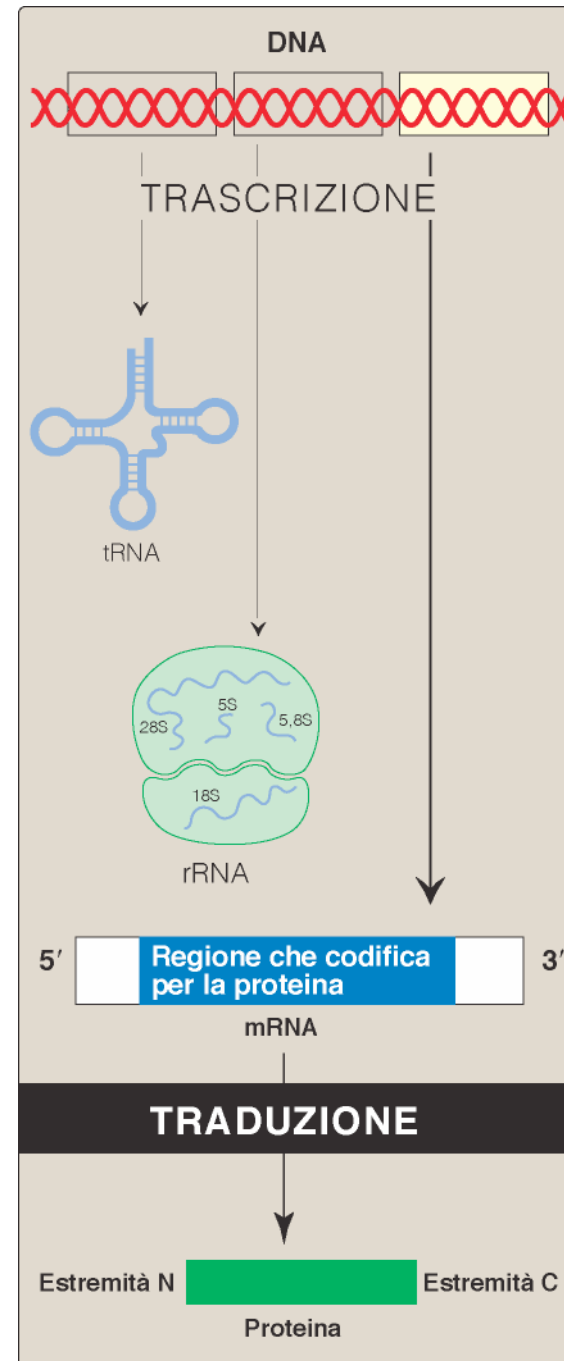


# Il dogma centrale della biologia molecolare



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 aminoacidi sono codificati da gruppi di 3 basi

*3 nucleotidi codificano un aminoacido*

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

**3 basi** codificano per un **aminoacido**.

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

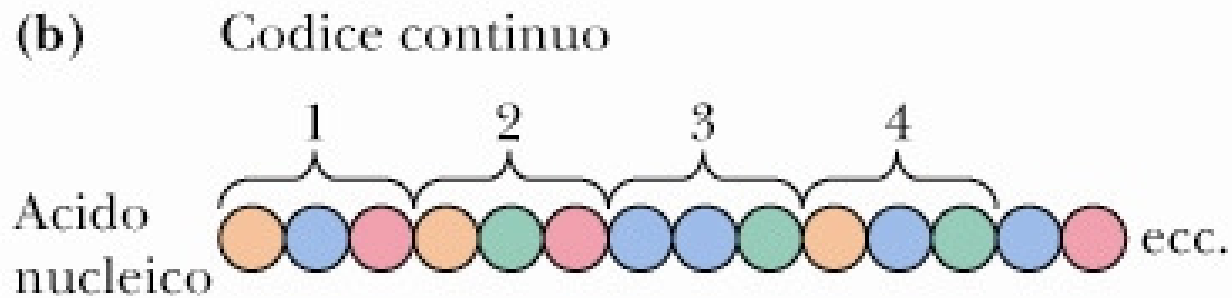
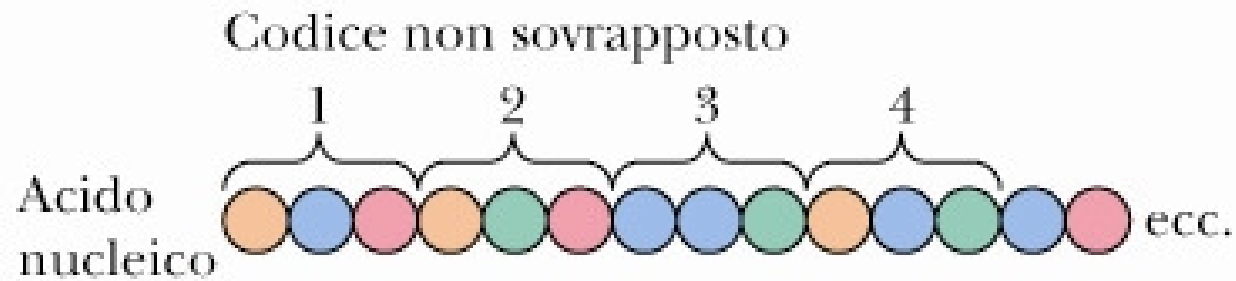
*Il codice genetico non è sovrapposto*

*Il codice non ha punteggiatura*

*Il codice genetico è degenerato*

Esistono **64** ( $4^3$ ) possibili **triplette**. **61** codificano per **aminoacidi**  
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

## Nonoverlapping code

A U A C G A G U C     

1                      2                      3

## Overlapping code

A U A C G A G U C

1

2

3



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

**Codone** = tripletta di nucleotidi codificante per un amminoacido

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

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

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

*filamento non codificante, template strand*

## DNA

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

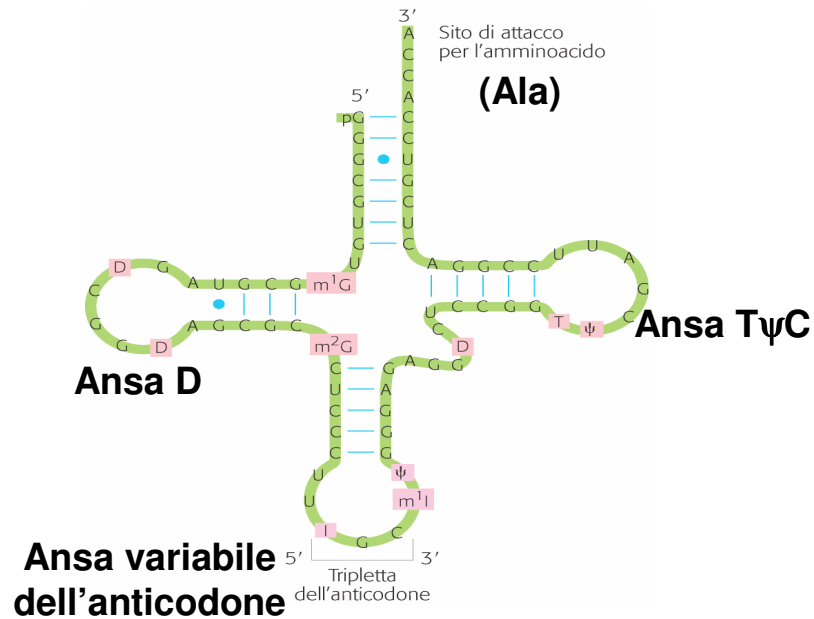
## RNA

5' ..**AUG**UUUACUGAUGGUGGUAAA.....AACAU**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**



## **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

Ψ= pseudouridina

I = inosina

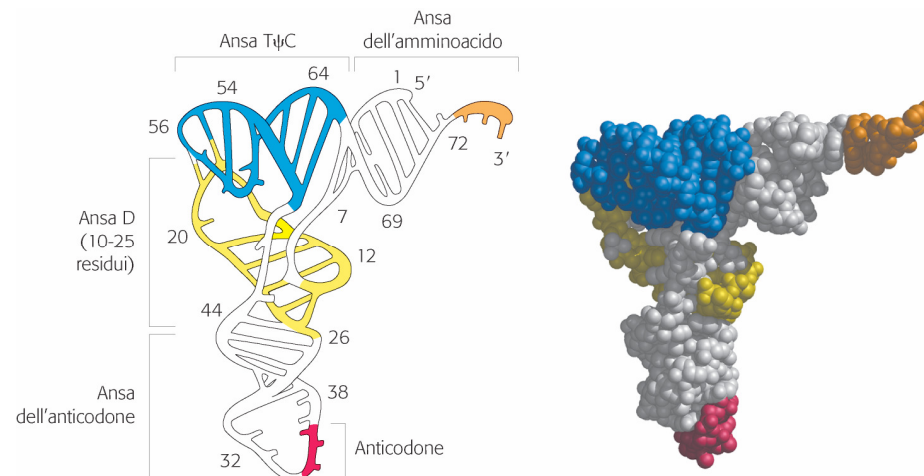
T= ribotimidina

D = 5,6-diidrouridina

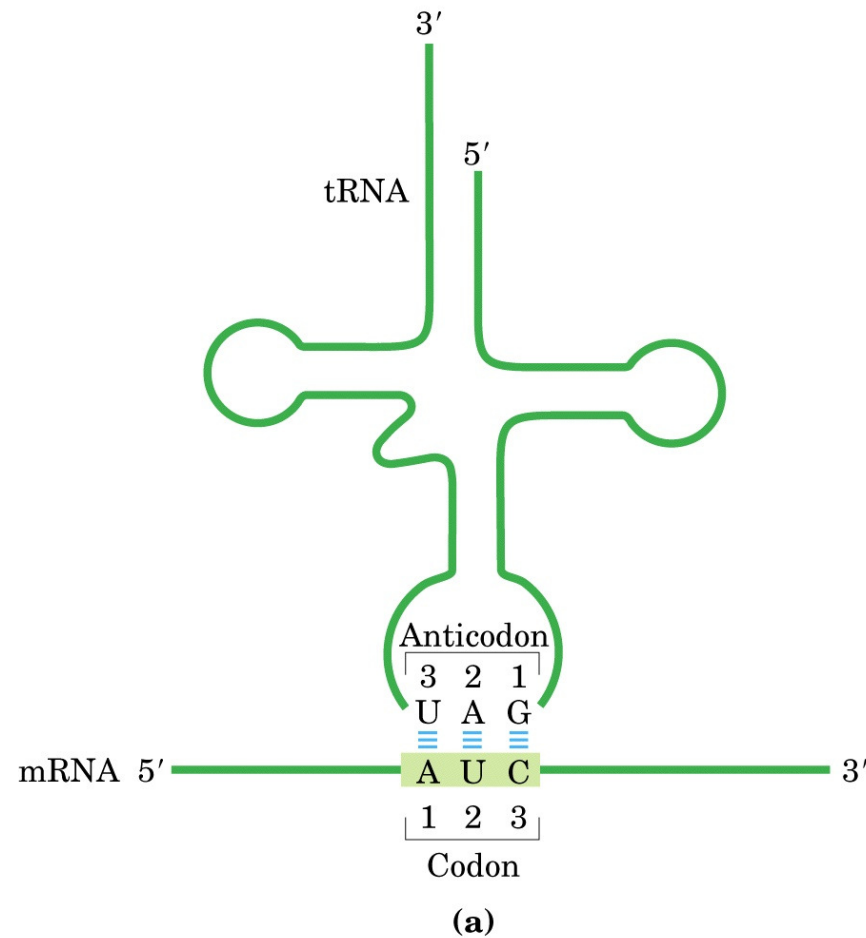
m<sup>1</sup>I= 1-metilinosina

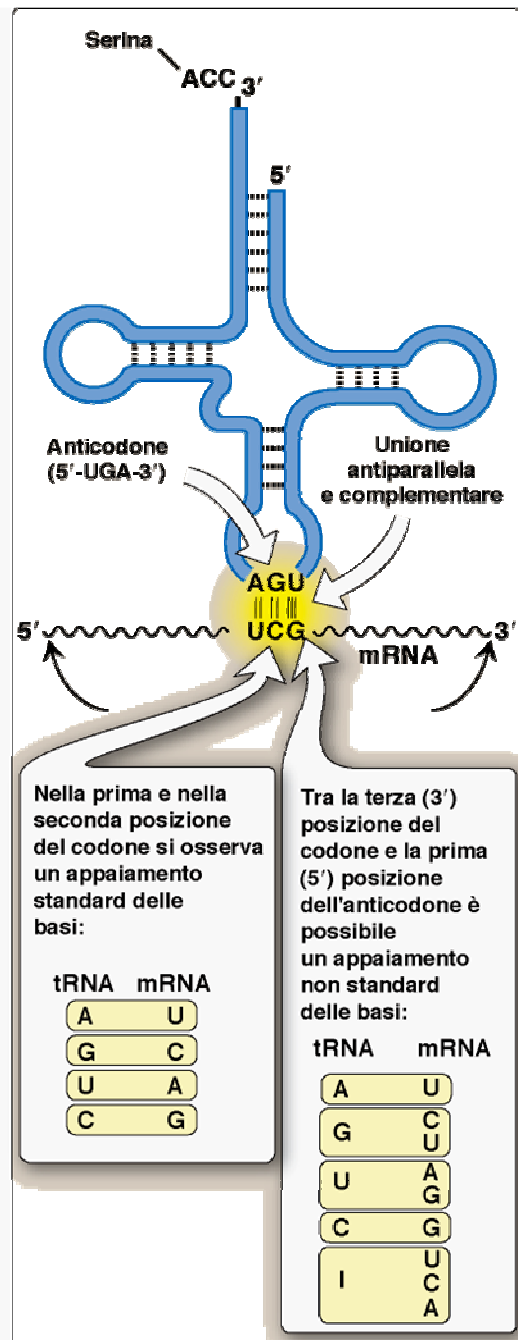
m<sup>1</sup>G= 1-metilguanosina

m<sup>2</sup>G= N2-dimetilguanosina



# Riconoscimento codone-anticodone





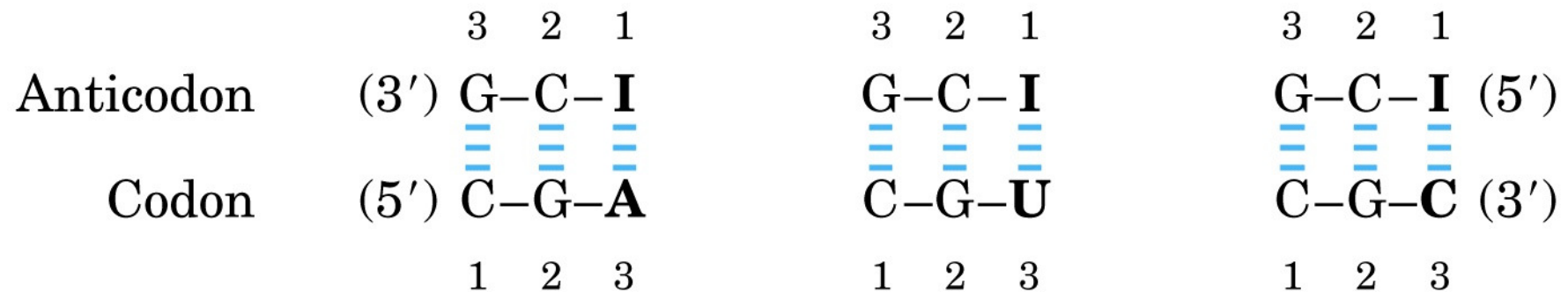
**Il riconoscimento codone-anticodone avviene secondo le regole dell'appaiamento complementare e antiparallelo**

**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**



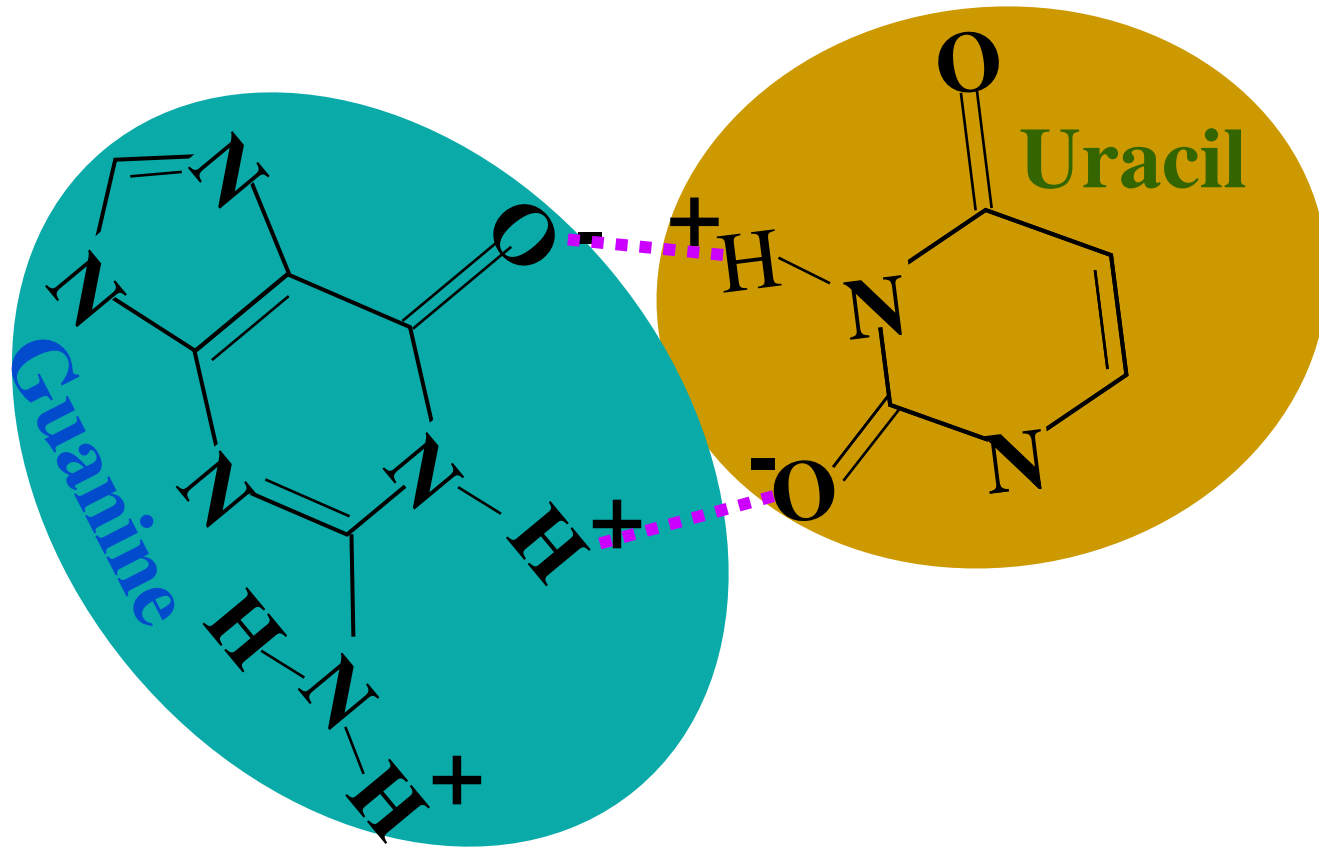
**La possibilità di “oscillare” permette ad alcuni tRNA di riconoscere più di un codone**



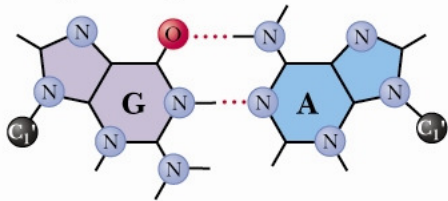
**(b)**

# Wobble Base Pairing

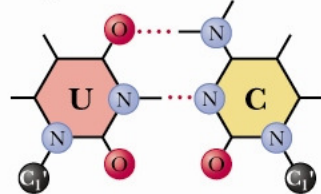
## Guanine And Uracil



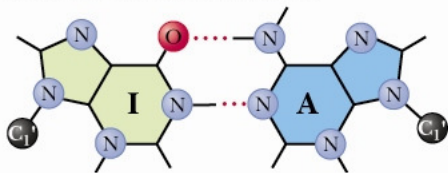
La coppia di basi guanina-adenina



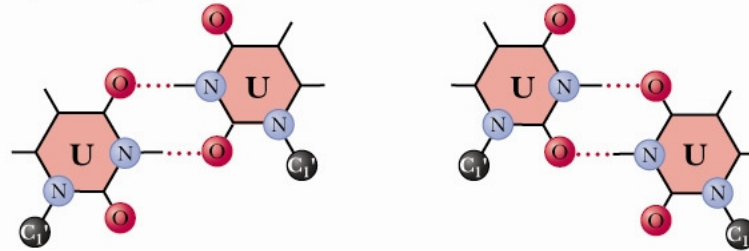
La coppia di basi uracile-citosina



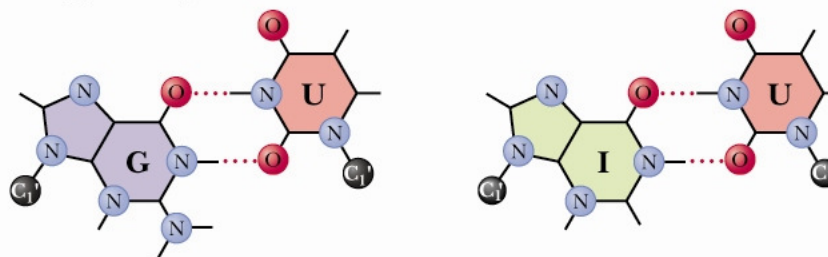
La coppia di basi inosina-adenina



Le due possibili coppie di basi uracile-uracile

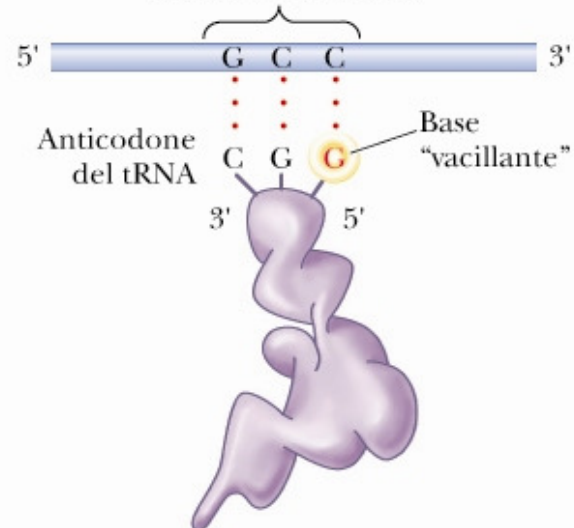


Le coppie di basi guanina-uracile e inosina-uracile sono simili



**I = inosina**  
**Inosina-ribosio = ipoxantina**

Codone dell'mRNA



# 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

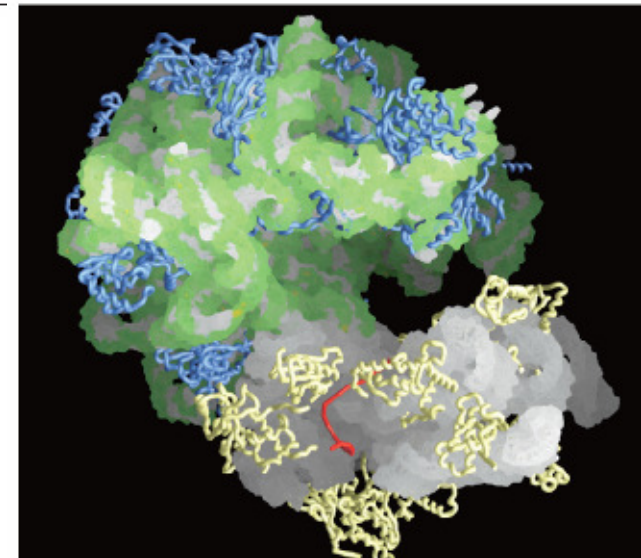
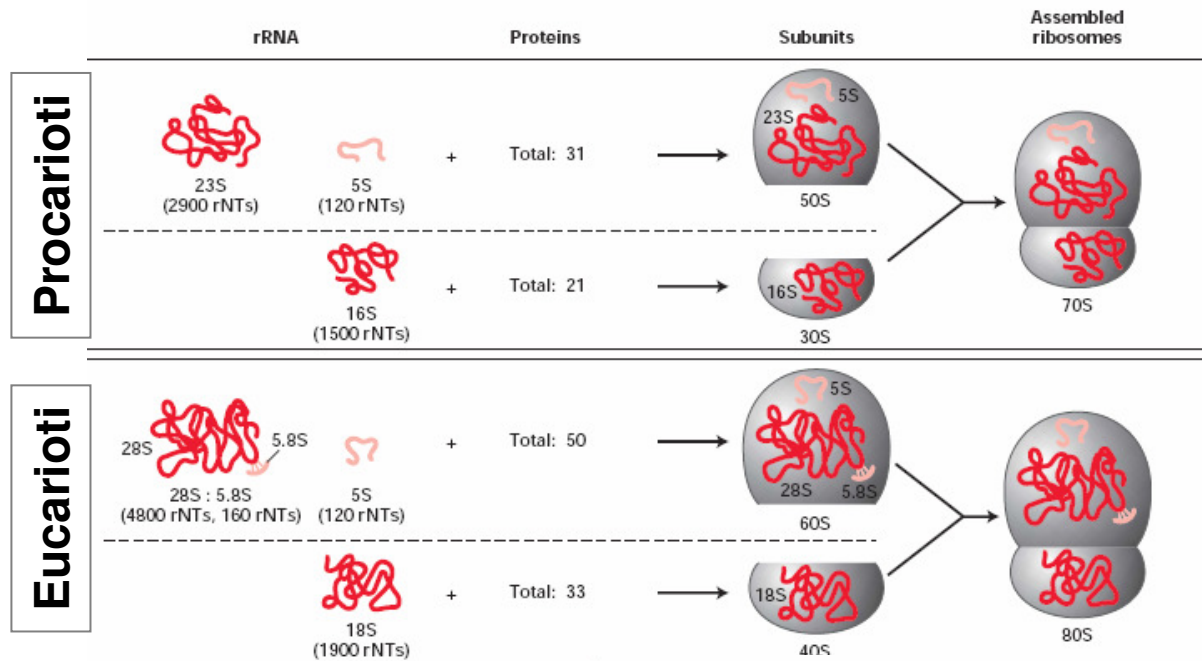
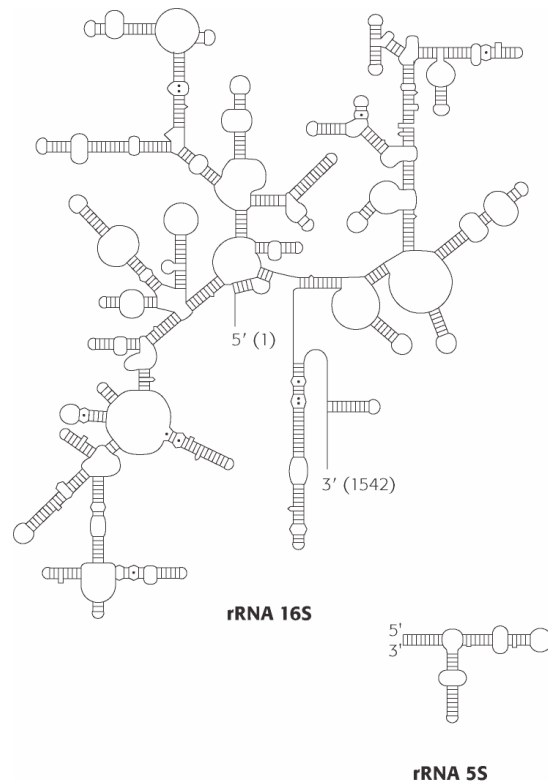
Amminoacidi

tRNA

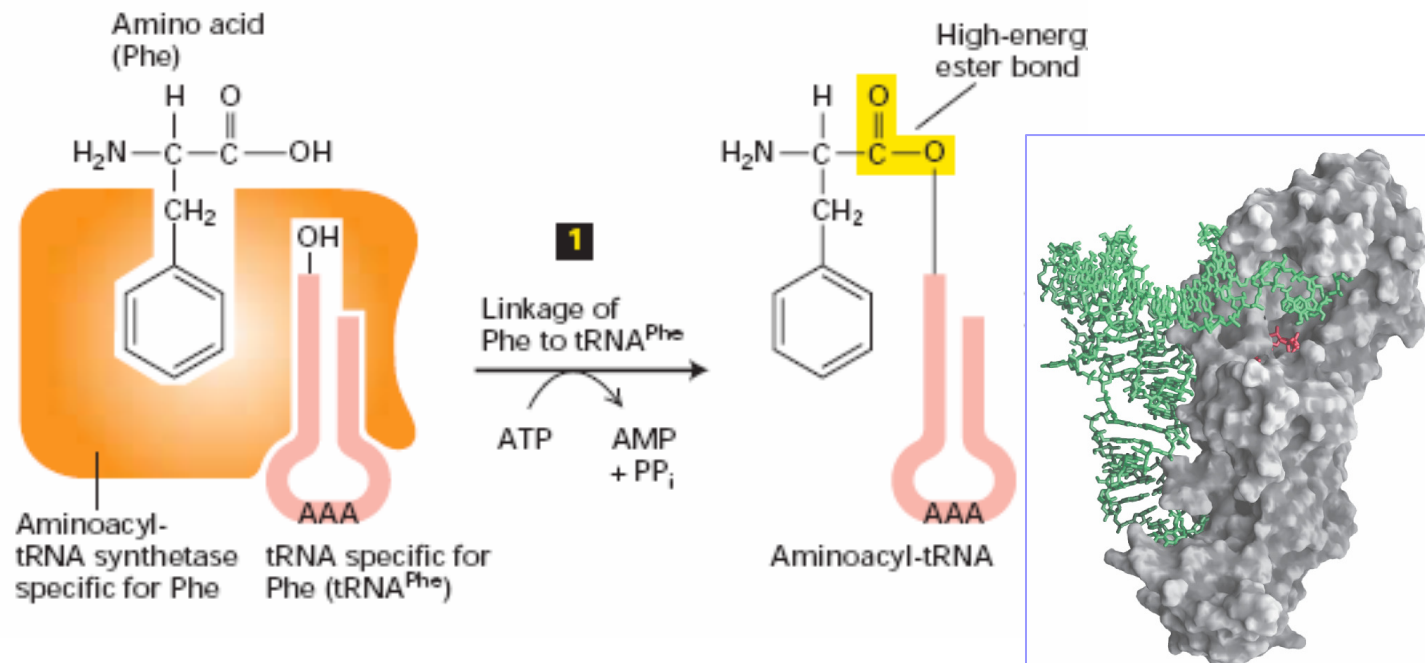
**Ribosomi**

Fattori proteici

ATP e GTP



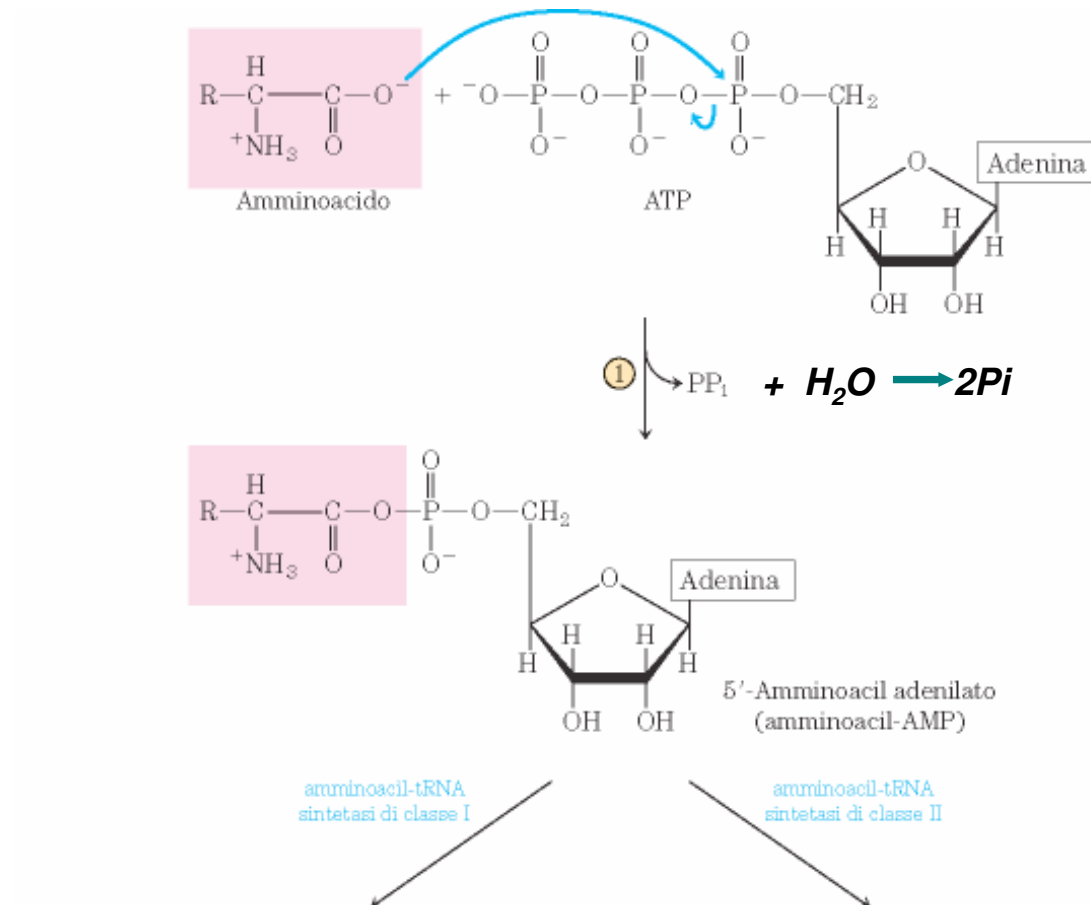
**Il legame tra il t-RNA e l'amminoacido corrispondente è catalizzato dalle amminoacil-tRNA sintetasi**



**Per ogni coppia tRNA-amminoacido esiste una amminoacil-tRNA sintetasi specifica**

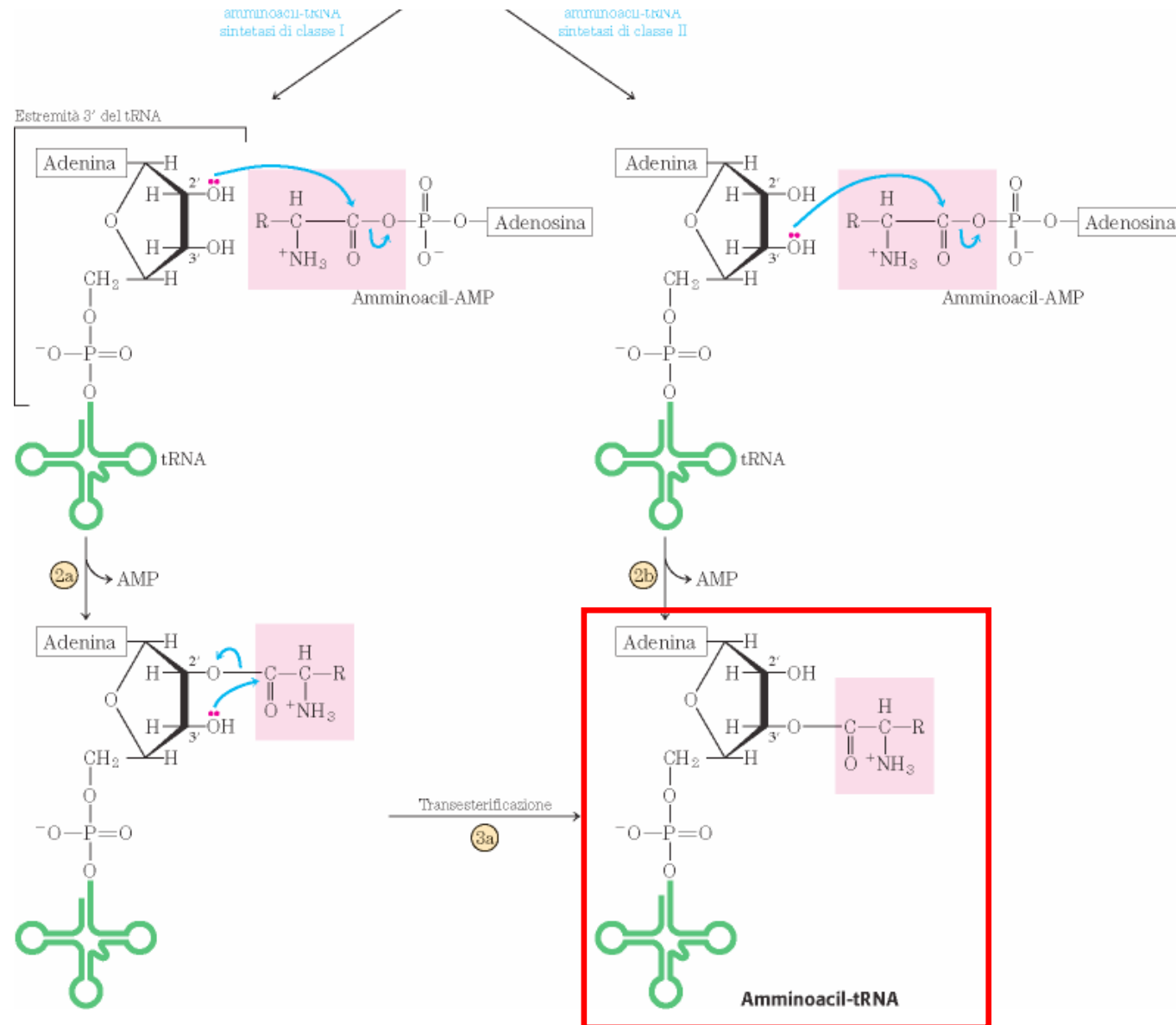
**Le amminoacil-tRNA sintetasi hanno attività di “correzione delle bozze”**

# Step 1: attivazione dell'amminoacido





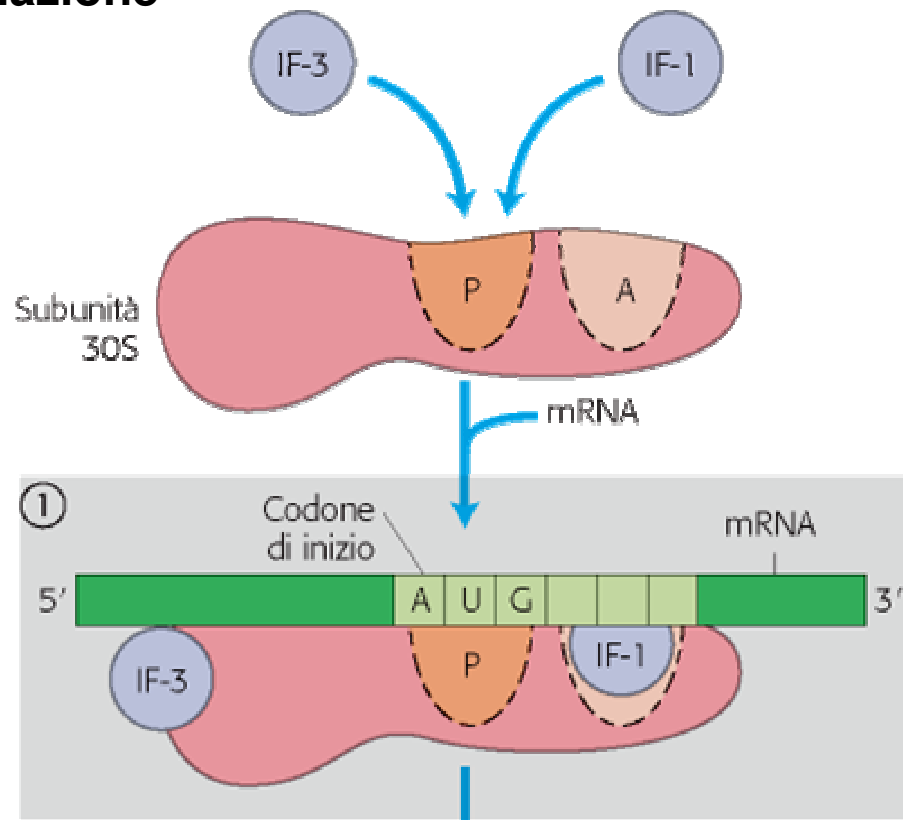
## Step 2: formazione dell'amminoacil-tRNA



## Tappe della sintesi proteica

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

### Assemblaggio dei componenti del sistema di traduzione

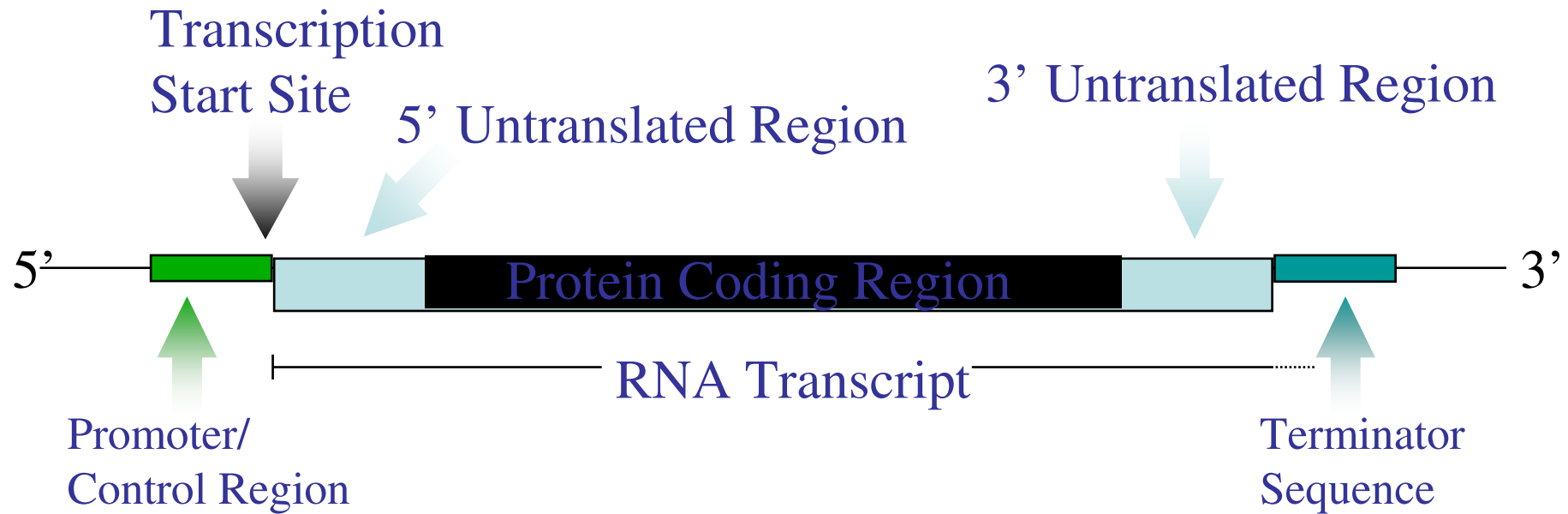


**IF = fattori di inizio**

**P= sito peptidilico**

**A = sito amminoacilico**

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



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

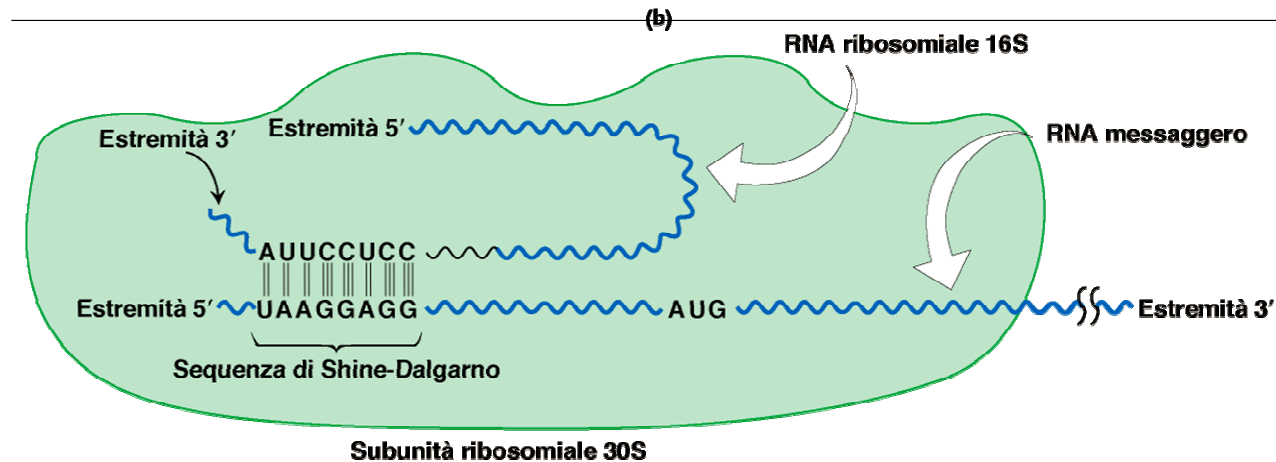
<i>trpA</i> di <i>E. coli</i>	(5') A G C A C G A G G G G A A A U C U G A U G G A A C G C U A C (3')
<i>araB</i> di <i>E. coli</i>	U U U G G A U G G A G U G A A A C G A U G G C G A U U G C A
<i>lacI</i> di <i>E. coli</i>	C A A U U C A G G G U G G U G A A U G U G A A A C C A G U A
Proteina A del fago $\phi$ X174	A A U C U U G G A G G C U U U U U U A U G G U U C G U U C U
<i>cro</i> del fago $\lambda$	A U G U A C U A A G G A G G U U G U A U G G A A C A A C G C

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

Codone di inizio che si accoppia  
con fMet-tRNA<sup>Met</sup>

(a)

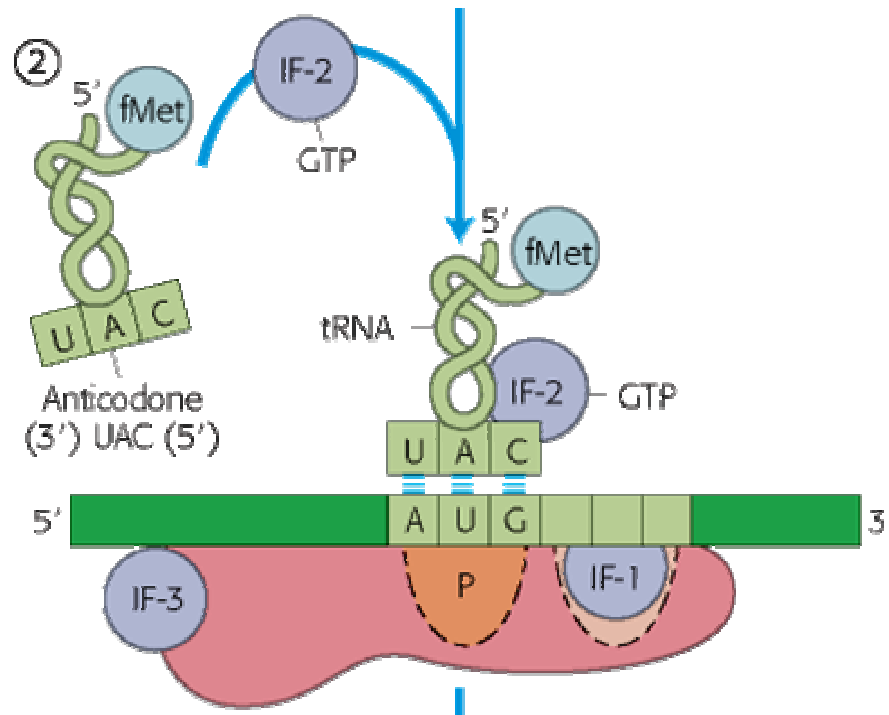
**Nei Procarioti:**  
**Sequenza di Shine-Dalgarno**  
8-13 nucleotidi a monte del codone AUG



## 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**

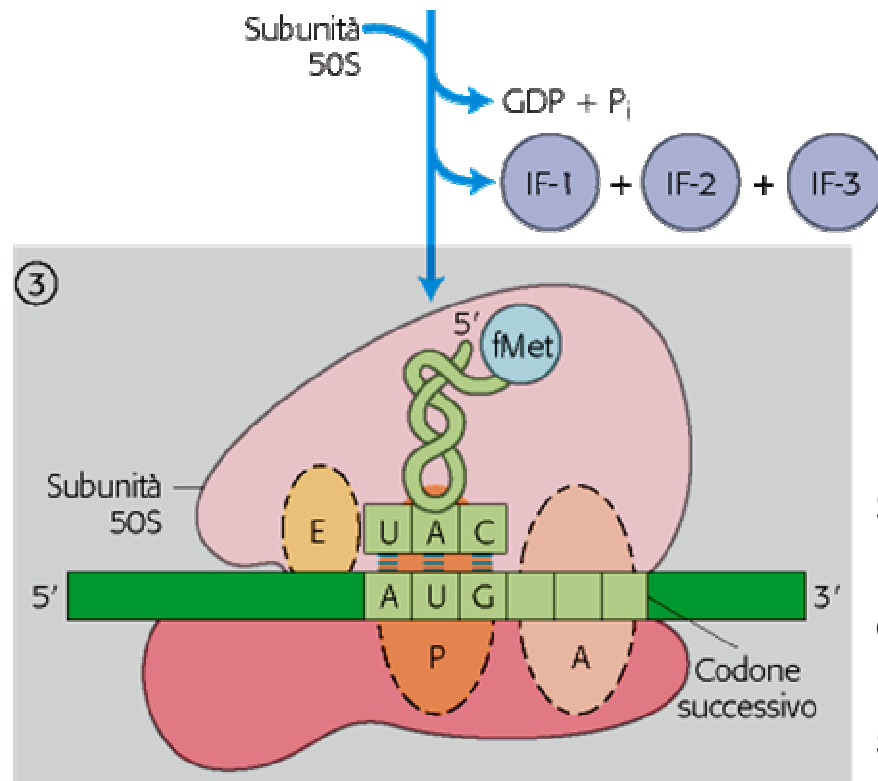
**Negli eucarioti la sintesi comincia con Met.**

**Solo il fMet-tRNA si lega prima al sito P  
Tutti gli altri aminoacil-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

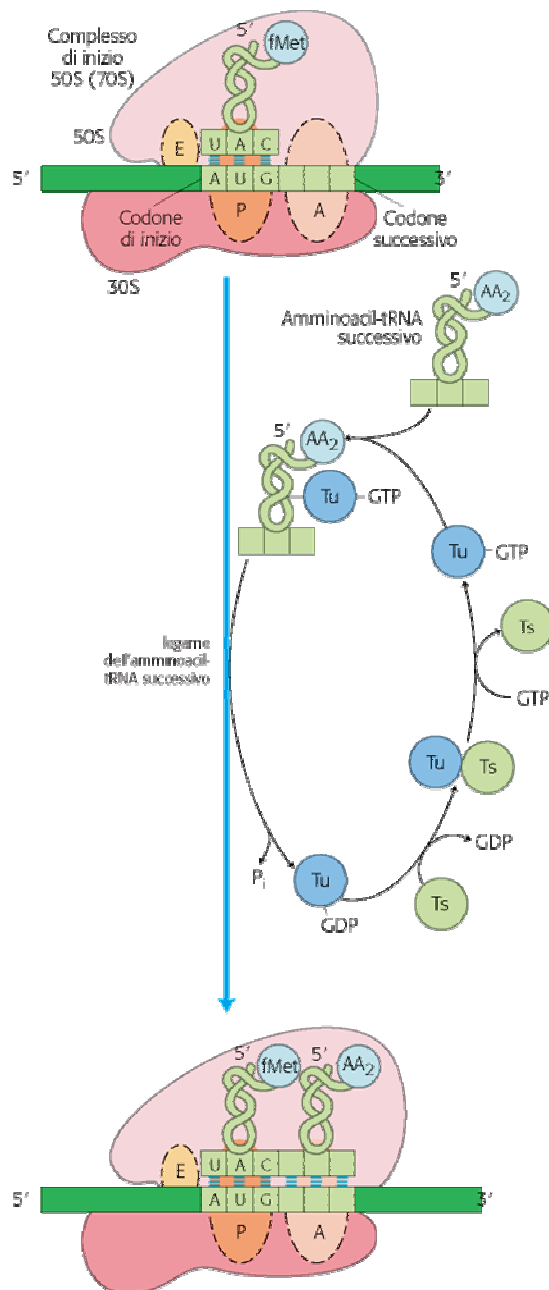
### 2. Allungamento

### 3. Terminazione

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

**Formazione del legame peptidico**

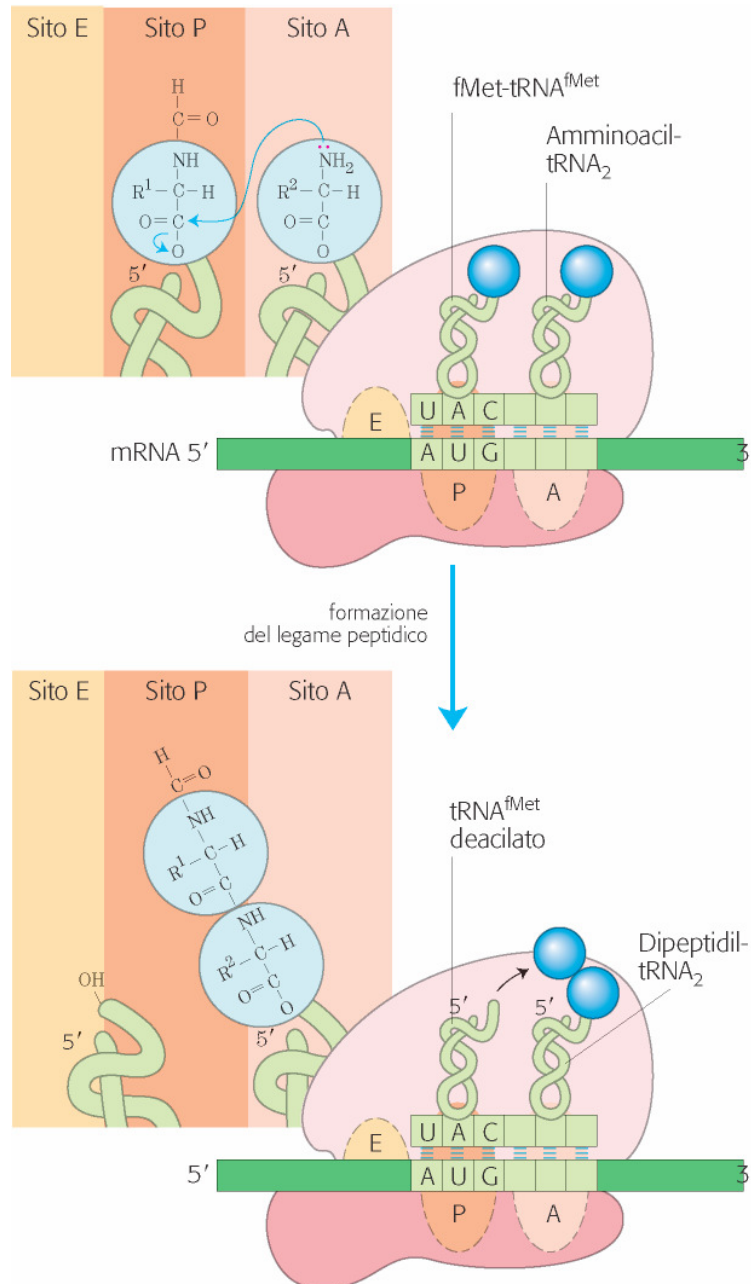
**Traslocazione**



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

Il legame dell' aminoacil-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)**

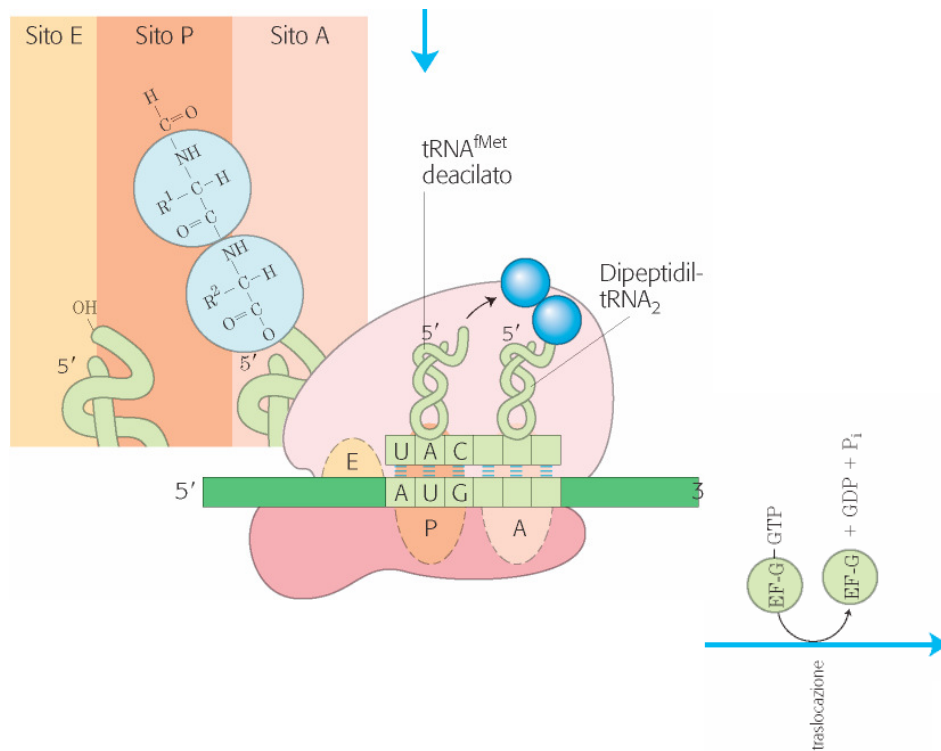
Si forma un dipeptide nel sito A grazie all'azione peptidil transferasica dell'rRNA 23S

$tRNA^{fmet}$  scarico rimane legato al sito P



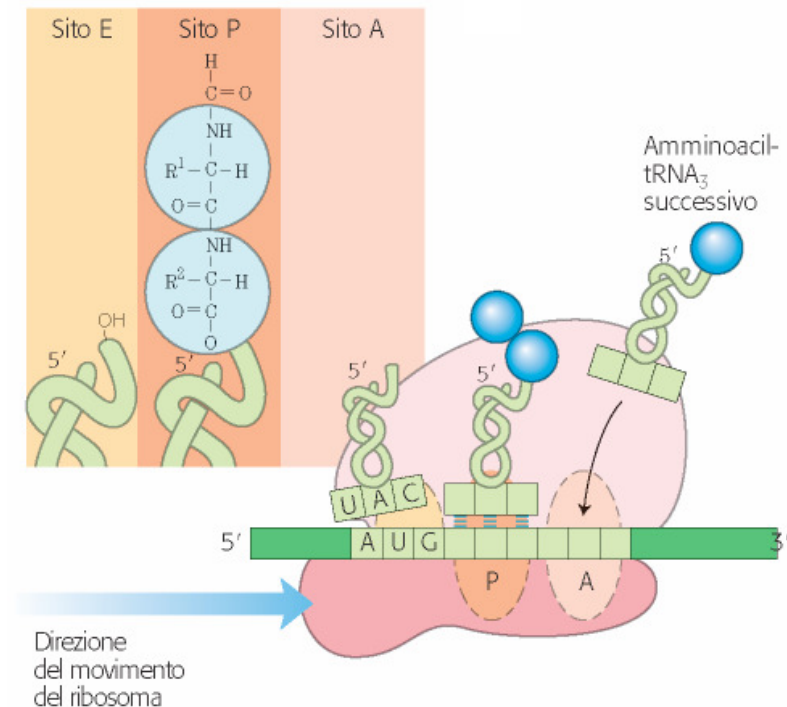
## Tappe della sintesi proteica

1. Inizio
2. Allungamento
3. Terminazione

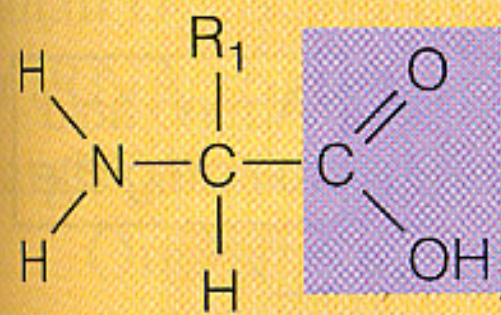


Il ribosoma si sposta di una tripletta verso l'estremità 3', comportando:

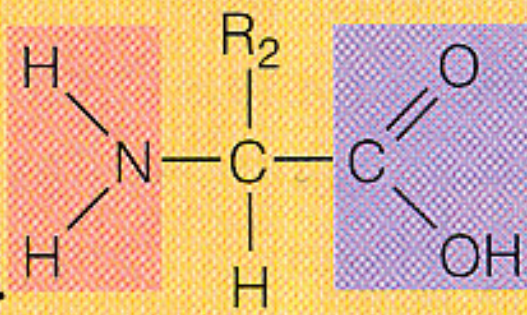
- lo spostamento del dipeptidil-tRNA dal sito A al sito P
- Il tRNA deacilato viene rilasciato al sito E
- Il sito A è libero per accogliere un nuovo Amminoacil-tRNA corrispondente al codone Che ora si trova nel sito A



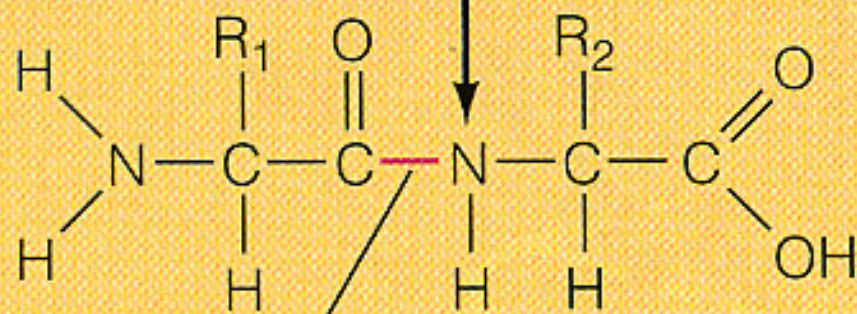
**traslocazione**



Amino acid 1

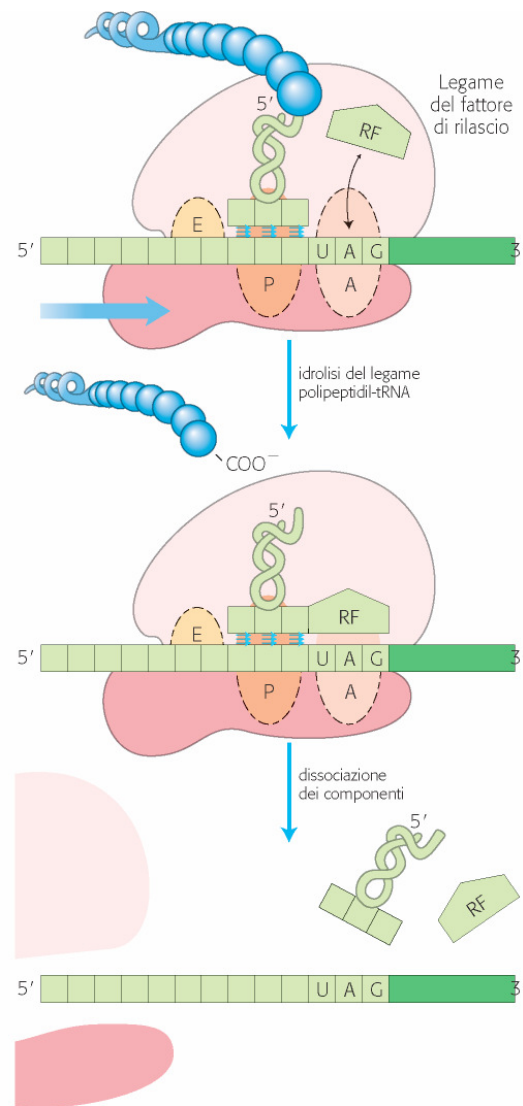


Amino acid 2



Peptide bond

**RF =  
Fattori di rilascio**



## Tappe della sintesi proteica

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

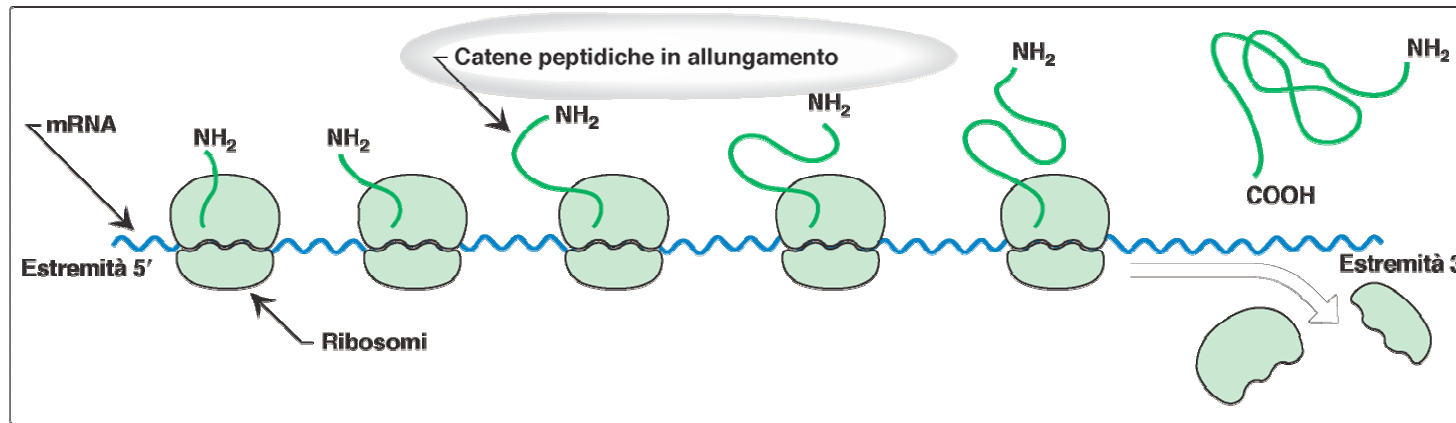
**Si libera la proteina completa**

**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 tradotta 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**

