

Come i geni sono espressi:

Trascrizione e Sintesi proteica

Geni e proteine: l'alcaptonuria

Molto tempo prima della scoperta del DNA come materiale genetico, ci si era accorti che alcune gravi malattie avevano una base ereditaria

Ad esempio, il medico inglese Archibald Garrod aveva scoperto nel 1902 che **una grave malattia dei bambini che rendeva scura la loro urina** (“alcaptonuria”) era più frequente se i genitori dei bambini erano imparentati tra loro



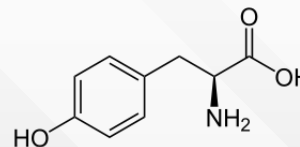
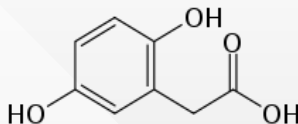
A. Garrod.

Archibald Garrod
(1857-1936)



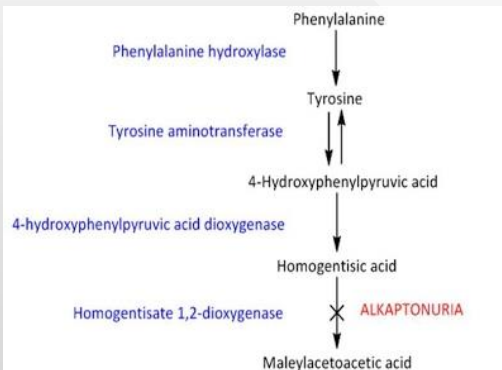
www.medindia.net

HGA



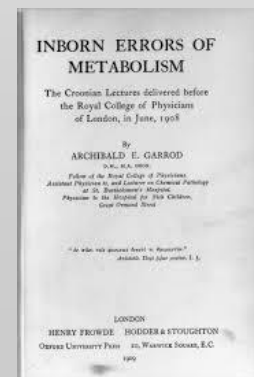
L-tirosina

- La malattia era causata dall'accumulo di **acido omogentisico** (HGA) e del suo **ossido tossico** (“alcaptone”) nel sangue e nelle urine
- Notando la somiglianza tra la struttura di HGA e l'amminoacido **tirosina**, Garrod avanzò l'ipotesi che la malattia fosse causata da un difetto genetico che modificava l'enzima che avrebbe dovuto metabolizzare l'acido omogentisico (derivato dalla tirosina) ad un prodotto innocuo
- **Se l'enzima non funzionava**, nel sangue e nelle urine dei bambini **si accumulava il composto tossico**, che causava altri sintomi come sordità, cardiopatie e fragilità ossea



Fonte: Sadava et al., 2014

- Nel 1923 Garrod pubblicò un libro nel quale formulava l'ipotesi che molte malattie fossero **difetti metabolici di origine genetica** (“**inborn errors of metabolism**”, “errori congeniti del metabolismo”)
- Fu quindi **il primo studioso che mise in relazione l'ereditarietà (i geni) con le attività biochimiche degli enzimi (le proteine)**



“Un gene, un enzima”

L'ipotesi di Garrod fu confermata da una serie di esperimenti eseguiti in California da un gruppo di ricerca della Stanford University diretto da **George Beadle** ed **Edward Tatum**

Beadle e Tatum usarono per i loro esperimenti l'**organismo modello *Neurospora crassa***, o “muffa del pane”, un fungo ascomicete aploide in cui **l'espressione (“fenotipo”) dei geni è osservabile direttamente**



George W. Beadle
(1903-1989)



Edward L. Tatum
(1909-1975)

Growth characteristics of normal and mutant *Neurospora* on simple medium with different supplements show that defects in a single gene lead to defects in a single enzyme.













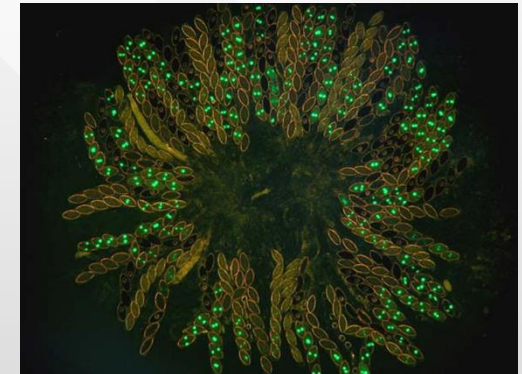
		Supplements Added to Medium				Conclusions
		none	ornithine	citrulline	arginine	
Normal <i>Neurospora</i>						Normal <i>Neurospora</i> can synthesize arginine, citrulline, and ornithine.
Mutants with single gene defect	A					Mutant A grows only if arginine is added. It cannot synthesize arginine because it has a defect in enzyme 2; gene A is needed for synthesis of arginine.
	B					Mutant B grows if either arginine or citrulline are added. It cannot synthesize arginine because it has a defect in enzyme 1. Gene B is needed for synthesis of citrulline.

Figure 10-1a Biology: Life on Earth, 8/e
© 2008 Pearson Prentice Hall, Inc.



Il fungo naturale (“wild type”) era in grado di crescere su tutti i tipi di terreno, ma se il fungo era trattato con raggi X, subiva **mutazioni che non ne permettevano la crescita su terreni privi di determinati aminoacidi**

La conclusione di Beadle e Tatum fu che l'incapacità del fungo mutato di crescere su terreni privi di un determinato amminoacido provava che la mutazione (un danno al **gene**) aveva modificato uno specifico enzima (una **proteina**) indispensabile per il metabolismo dell'amminoacido

La scoperta fu efficacemente sintetizzata dal famoso "slogan" ideato da Norman Horowitz, un loro collaboratore: **"un gene, un enzima"**

*GENETIC CONTROL OF BIOCHEMICAL REACTIONS IN NEUROSPORA**

BY G. W. BEADLE AND E. L. TATUM

BIOLOGICAL DEPARTMENT, STANFORD UNIVERSITY

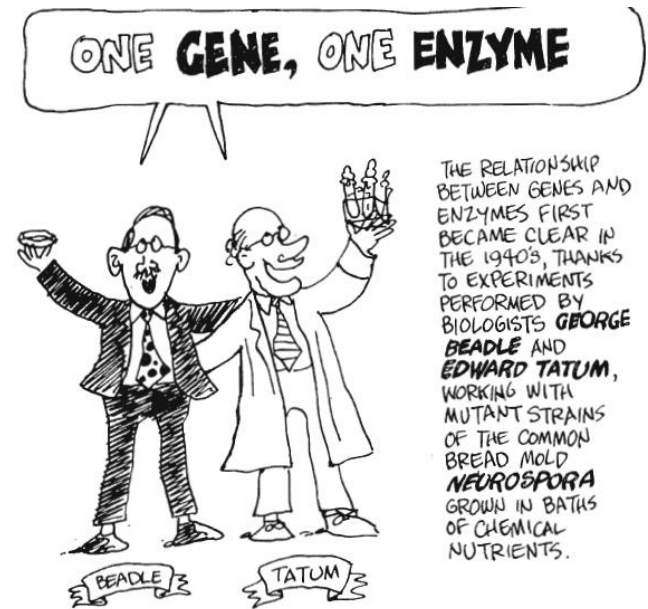
Communicated October 8, 1941

From the standpoint of physiological genetics the development and functioning of an organism consist essentially of an integrated system of chemical reactions controlled in some manner by genes. It is entirely tenable to suppose that these genes which are themselves a part of the system, control or regulate specific reactions in the system either by acting directly as enzymes or by determining the specificities of enzymes.¹

Beadle and Tatum, PNAS 1941

Tuttavia, poiché oggi è noto che molti enzimi non sono costituiti da una singola proteina ma da subunità (**polipeptidi**) che funzionano in modo coordinato (struttura quaternaria delle proteine), l'espressione corretta sarebbe **"un gene, un polipeptide"**

In termini molto generali, **il gene**, costituito da una sequenza di nucleotidi di DNA, **deve quindi dirigere la formazione di una sequenza di amminoacidi** che costituiranno il polipeptide: **vedremo come avviene**

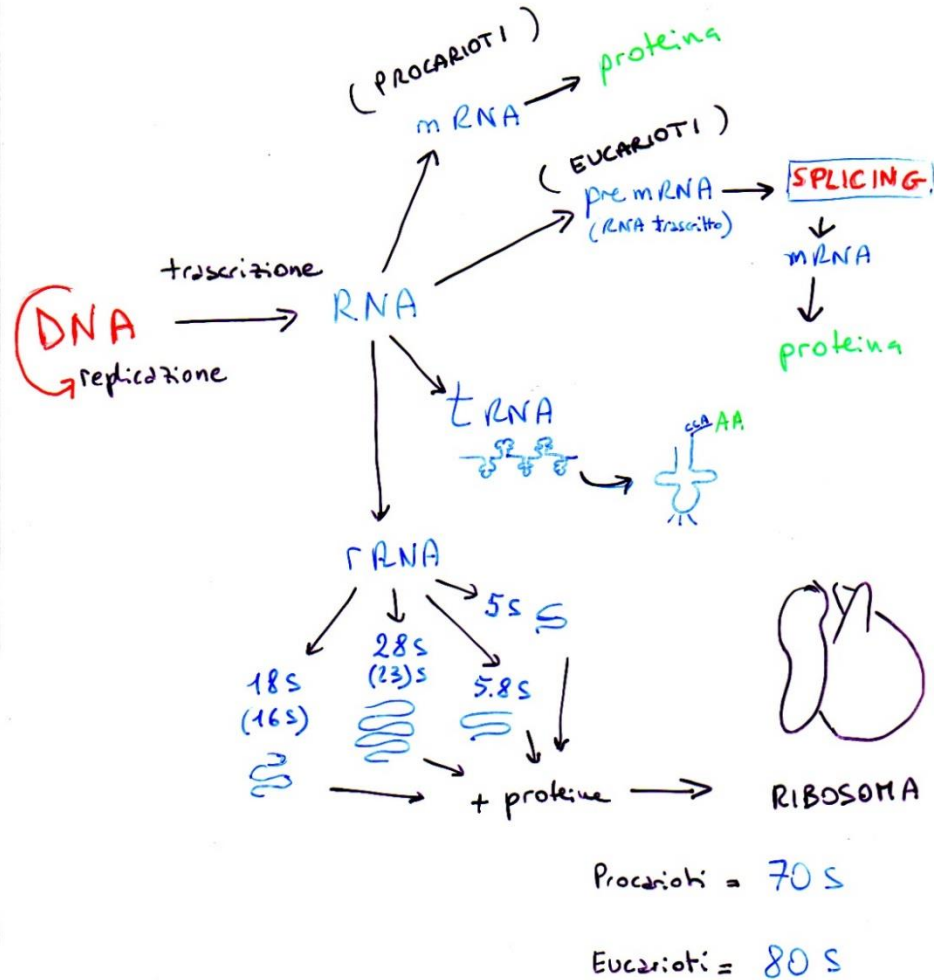


G. Beadle ed E. Tatum ricevettero nel 1958 il Premio Nobel per la Medicina e la Fisiologia

Il genoma di *N. crassa*, un fondamentale organismo modello in genetica, biochimica e biologia molecolare, è stato interamente sequenziato nel 2003

“Mappa di navigazione”
nei labirinti
dell’espressione genica

DNA → RNA → proteina



Trascrizione e Sintesi proteica: punti fondamentali

- **Trascrizione del DNA in RNA**
- Controllo della trascrizione e “splicing”
- RNA messaggero (mRNA)

- Codice genetico
- **Decifrazione del codice**
- RNA di trasferimento (tRNA)
- Amminoacil-tRNA sintetasi

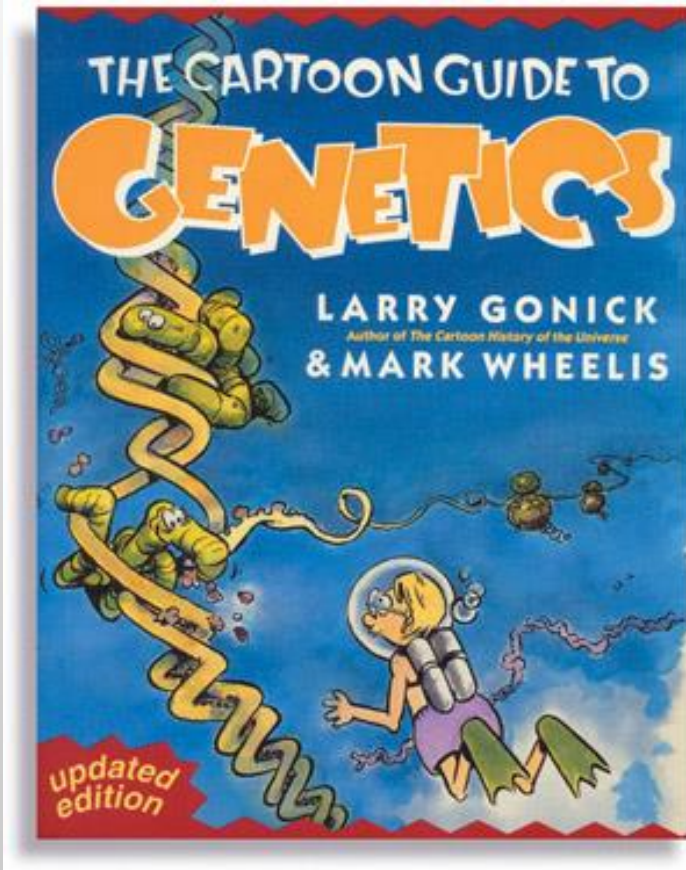
- Ribosomi e RNA ribosomiale (rRNA)
- Traduzione del messaggio: dagli acidi nucleici alle proteine
- **Controllo pre- e post-traduzionale**

Larry Gonick, Mark Wheelis

The Cartoon Guide to Genetics

Barnes & Noble, 1983

(edizione aggiornata nel 2005)



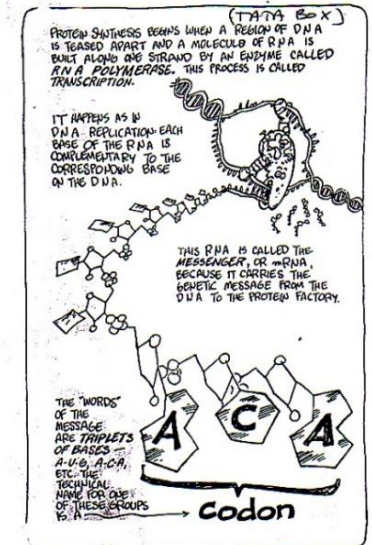
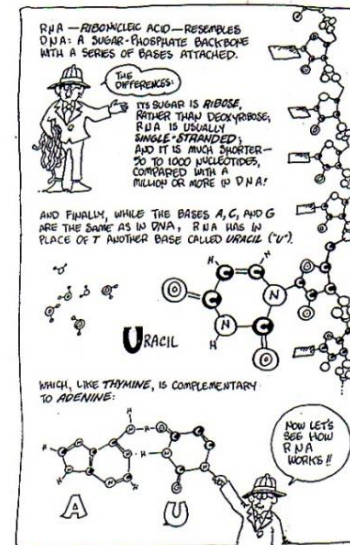
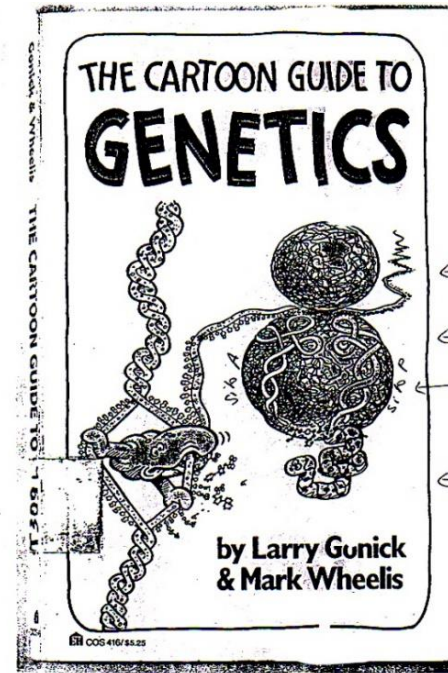
Da:
L. Gonick e M. Wheelis

GUIDA
DELLA GENETICA

A FUMETTI!

(Ed. Barnes e noble
New York, 1983)

L'RNA
POLIMERASI →



R.N.A. : RiboNucleic Acid

- **Primo acido nucleico** apparso sulla Terra
→ “antenato” del DNA
- Macromolecola **a catena singola** (quasi sempre...)
- Polimero di unità (monomeri), i **nucleotidi**
- Come quelli del DNA, anche i **nucleotidi dell'RNA** hanno tre componenti:
 - Un **gruppo fosfato**
 - Uno zucchero a 5 atomi di carbonio (**ribosio**)
 - Una base azotata (adenina, guanina, citosina, **uracile**)

Fonti: Sadava et al., 2014; 2019;
Solomon et al., 2012

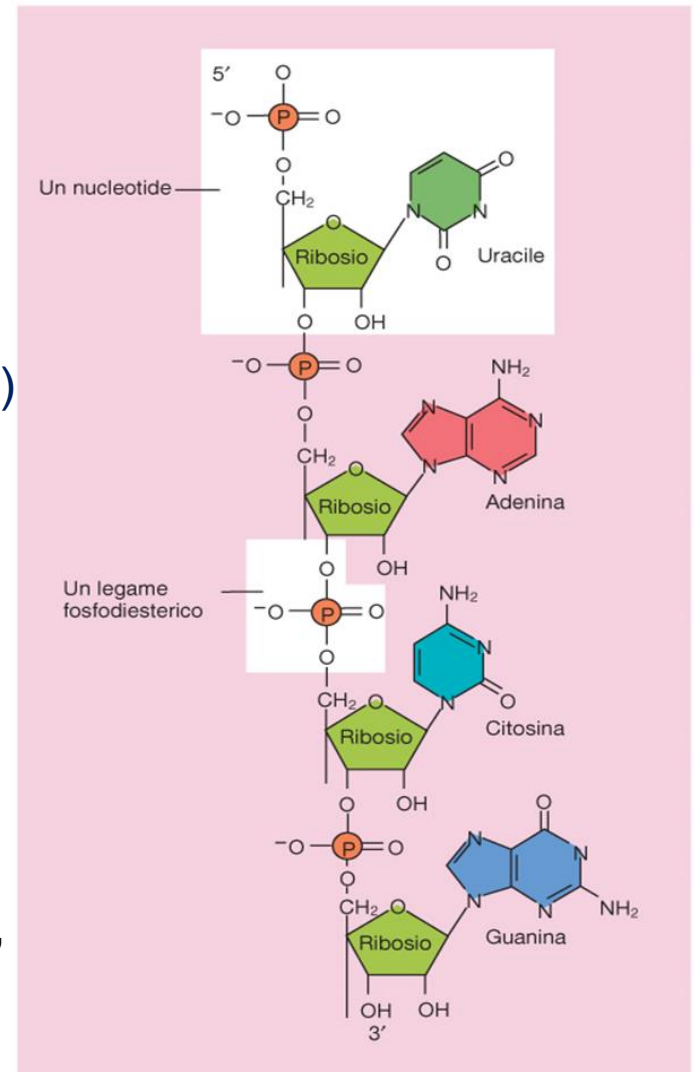
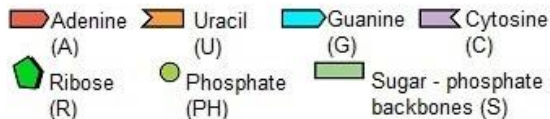
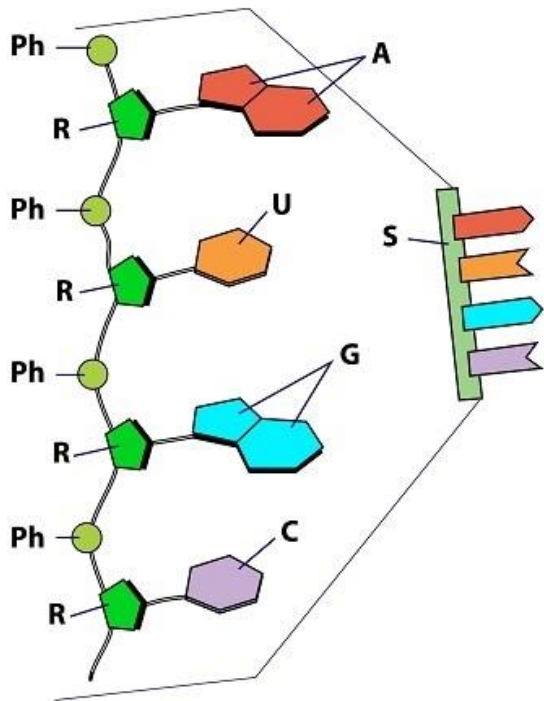


FIGURA 3-24 | L'RNA, un acido nucleico.

I nucleotidi, ciascuno con una specifica base, sono legati tra loro mediante legami fosfodiesterici.

RNA Structure



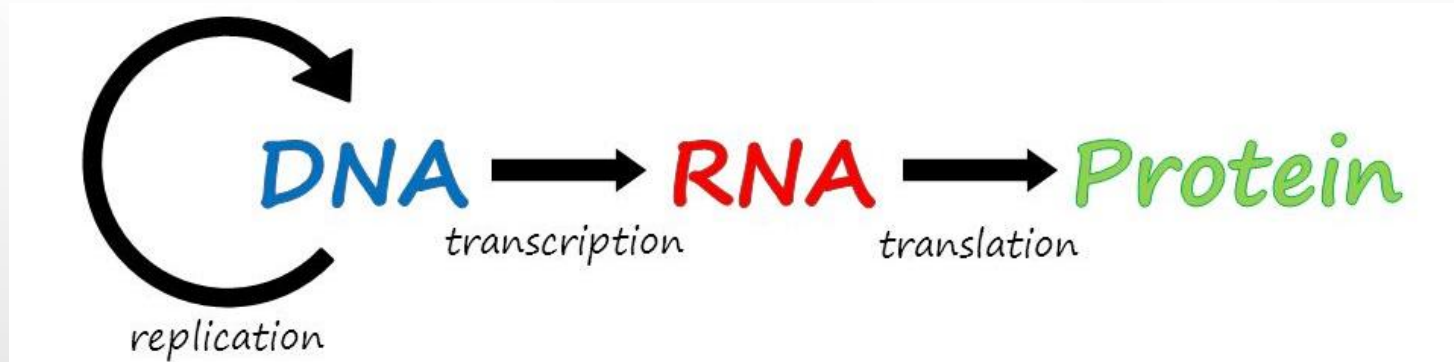
Il “mondo a RNA”

- **L'RNA è l'acido nucleico originario:**
 - Il DNA, derivato dall'RNA, è solo un “magazzino” (deposito stabile) di informazioni genetiche
- **L'RNA ha un ruolo centrale nella costruzione delle proteine** (sintesi proteica)
- **L'RNA ha un ruolo centrale nella trascrizione e traduzione del messaggio**

... cioè nel “dogma centrale”

Il cosiddetto “**dogma centrale**” (formulato da F. Crick nel 1958) indica la **direzione normale** in cui è trasmessa l’**informazione genetica**

DNA → RNA → proteina



Il “**dogma centrale**”...

...non è in effetti un “**dogma**” e non è nemmeno “**centrale**”...

...perché l’informazione genetica può trasferirsi anche **dall’RNA al DNA** (come ad esempio nel caso dei **retrovirus**) e perché esistono **agenti infettivi proteici privi di acidi nucleici** (i **prioni**)

La trasmissione dell'informazione genetica (in generale...)

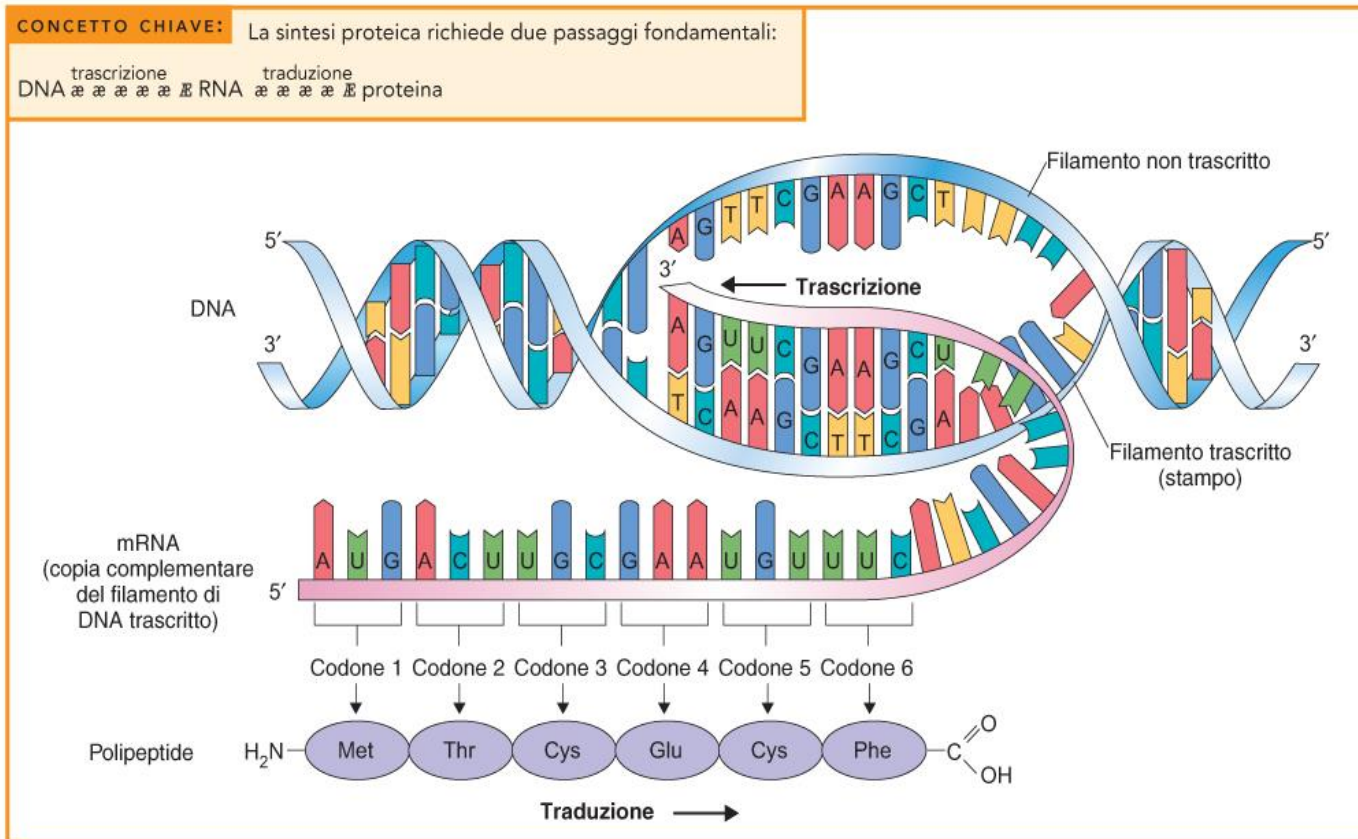


FIGURA 12-4 Visione d'insieme della trascrizione e della traduzione.

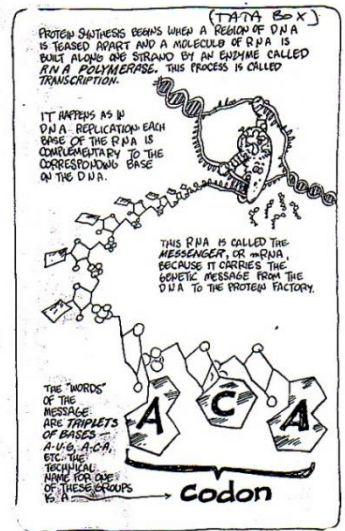
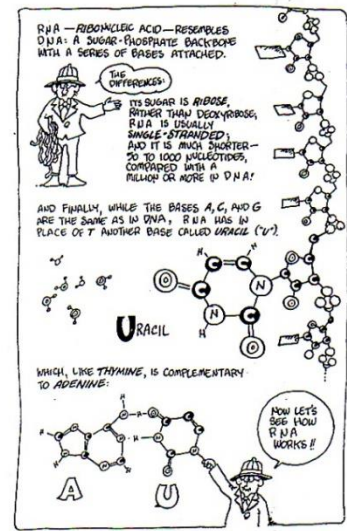
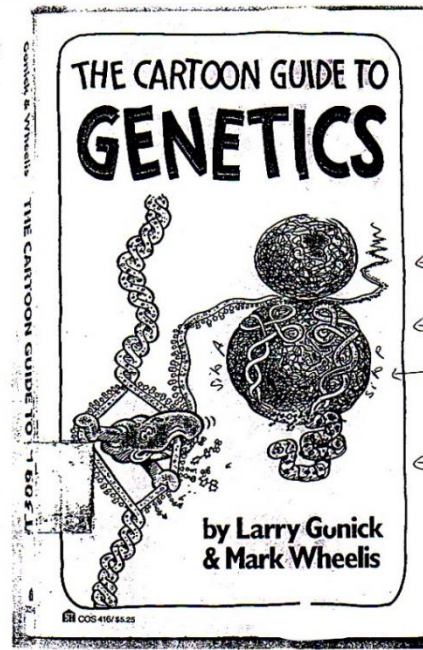
Nella trascrizione viene sintetizzato un RNA messaggero che è la copia complementare di uno dei due filamenti del DNA. L'mRNA porta l'informazione genetica sotto forma di gruppi di tre basi chiamati codoni, ognuno dei quali specifica un aminoacido. I codoni dell'RNA messaggero sono tradotti l'uno dopo l'altro, così da specificare la se-

quenza degli aminoacidi nella catena polipeptidica. La trascrizione richiede anche tRNA e ribosomi (*non mostrati*). La figura rappresenta la trascrizione e la traduzione nei procarioti. Negli eucarioti, la trascrizione avviene nel nucleo, mentre la traduzione si verifica nel citoplasma.

Trascrizione del DNA in RNA

Da:
L. Gonick e M. Wheelis

GUIDA
DELLA GENETICA
A FUMETTI!
(Ed. Barnes e Noble
New York, 1983)
L'RNA
POLIMERASI →



Fonte: Gonick and Wheelis, 1985

La trascrizione del DNA in RNA

I nucleotidi dell'RNA sono aggiunti dall'enzima **RNA polimerasi** **sempre in direzione 5' → 3'**

usando come “stampo” **uno solo dei due filamenti di DNA**

Il filamento di **RNA trascritto** è quindi **complementare ad uno dei due filamenti di DNA**

Fonti: Sadava et al., 2014; 2019;
Solomon et al., 2012

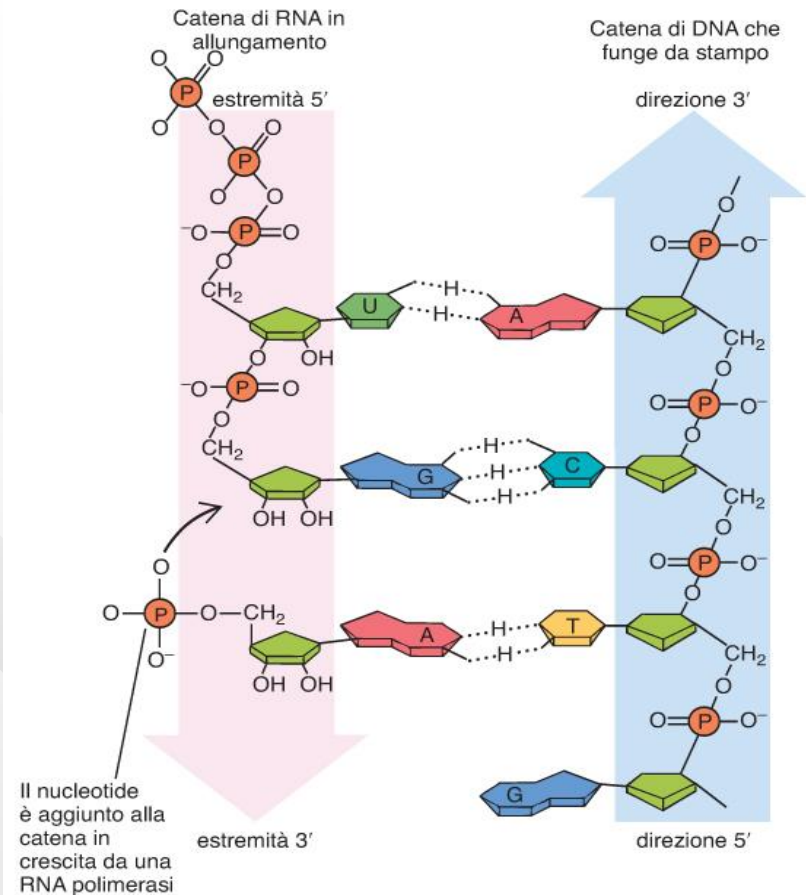
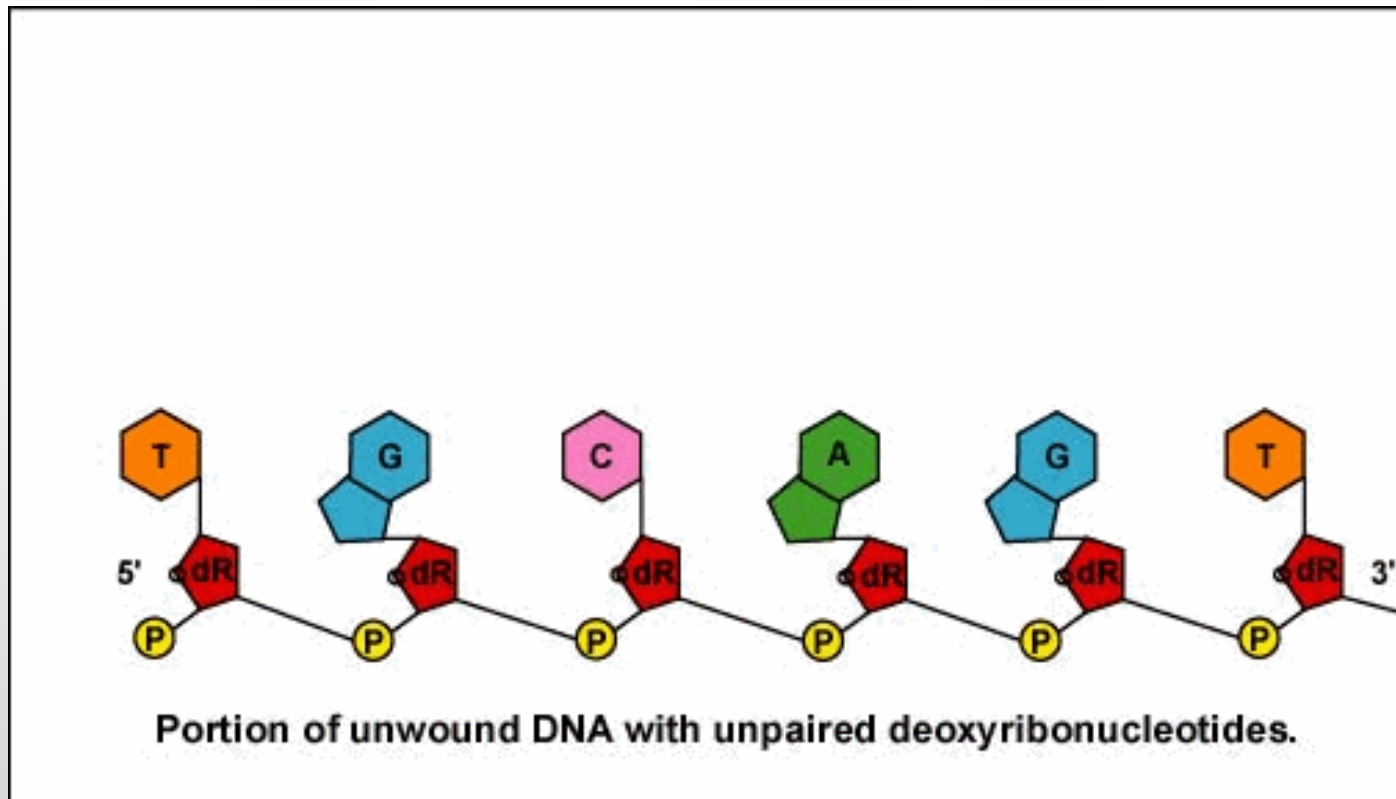


FIGURA 12-6 | **Trascrizione.**

Le basi dei nucleosidi trifosfati entranti si appaiano per complementarità con le basi del filamento di DNA che funge da stampo (a destra nella figura). L'RNA polimerasi taglia due gruppi fosfato (non indicato nella figura) da ciascun nucleoside trifosfato e lega il gruppo fosfato rimasto all'estremità 3' della catena di RNA in allungamento mediante un legame covalente. Così l'RNA, come il DNA, viene sintetizzato in direzione 5' → 3'.

La RNA polimerasi copia in RNA il filamento di DNA...



...sempre in direzione 5' → 3'

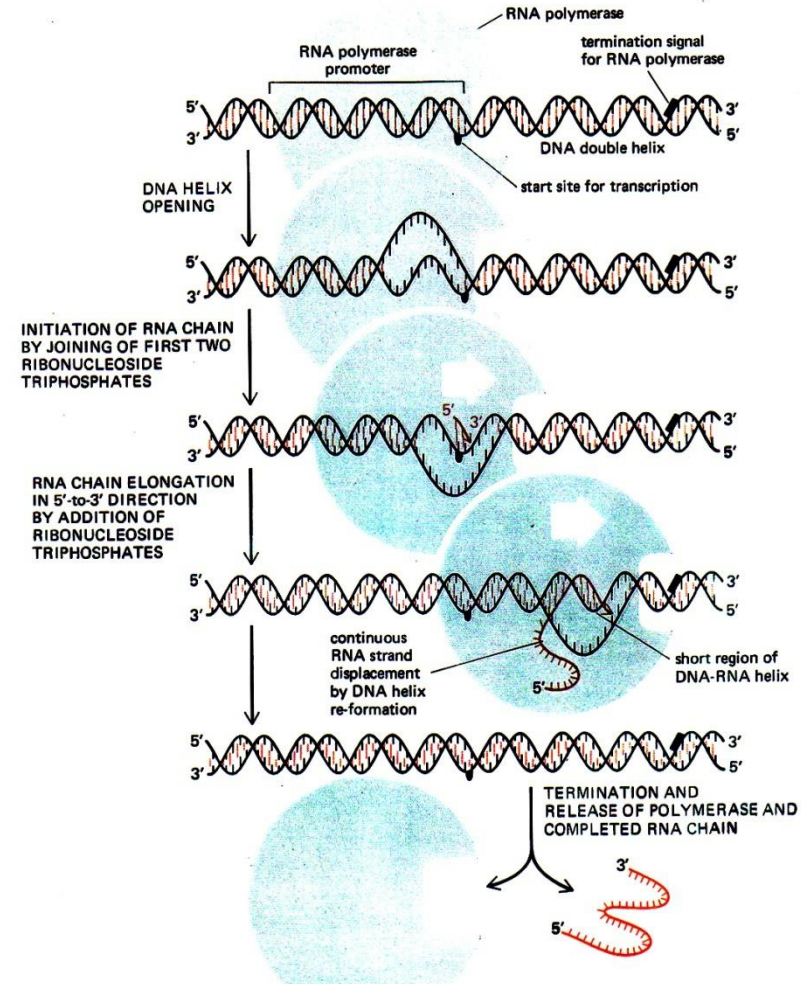
Come funziona la RNA polimerasi ?

La RNA polimerasi si lega ad un sito “promotore” sul DNA e induce l’apertura della doppia elica nella regione “a valle” del promotore

Aggiunge quindi nucleotidi di RNA in direzione $5' \rightarrow 3'$, trascrivendo **uno solo** dei due filamenti di DNA

La RNA polimerasi raggiunge infine una sequenza di DNA che costituisce un “segnale di terminazione” della **trascrizione** e si stacca, rilasciando la molecola di RNA trascritto

Filmato



Fonti: Sadava et al., 2014; 2019;
Alberts et al., 2002

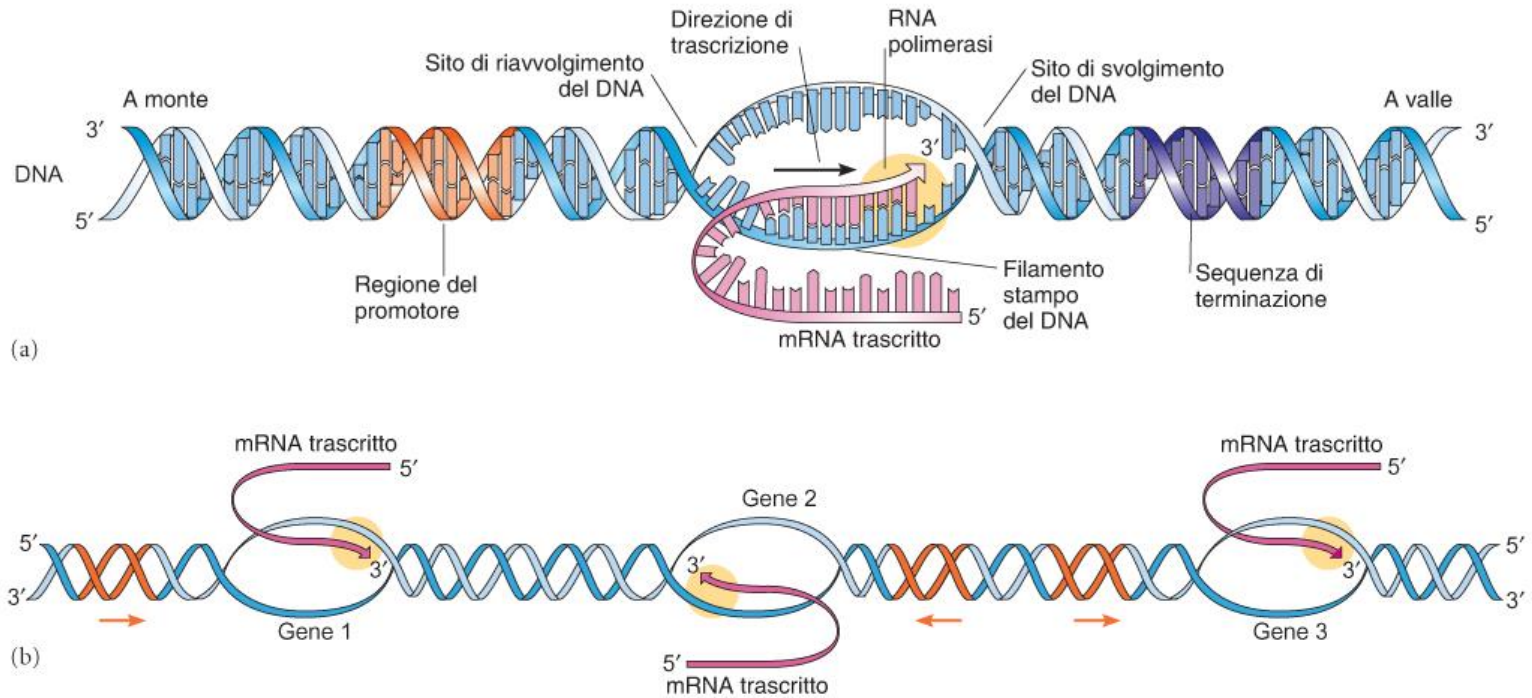
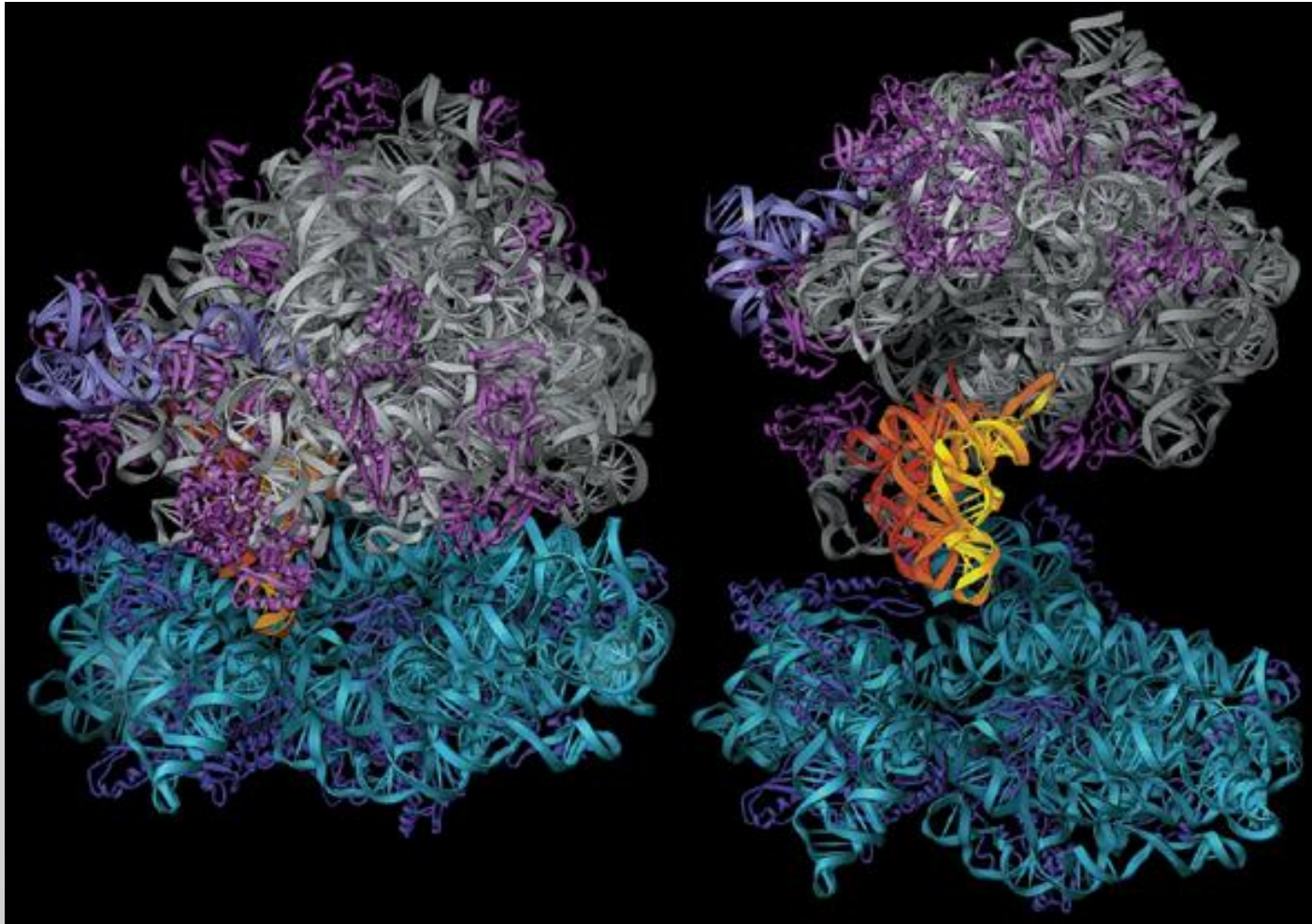


FIGURA 12-7 Sintesi dell'mRNA.

(a) L'mRNA è sintetizzato nella direzione 5' → 3' sul filamento stampo della molecola di DNA. La trascrizione inizia sul DNA a valle della sequenza del promotore a cui la RNA polimerasi si attacca. Le sequenze di terminazione, che si trovano a valle della regione che codifica per le proteine, segnalano alla RNA polimerasi di terminare la

trascrizione e di staccarsi dal DNA. **(b)** Di solito solo uno dei due filamenti è trascritto per un dato gene, ma il filamento opposto può essere trascritto per un altro gene. Ciascun trascritto inizia dal suo promotore (*regione rossa*).

Conformazioni della RNA polimerasi



Fonte: Alberts et al., 2002

Negli Eucarioti vi sono **tre tipi di RNA polimerasi** (identificate dalla loro sensibilità all' **α -amanitina**) che producono rispettivamente **rRNA, mRNA e tRNA**

RNA polimerasi	Localizzazione	Prodotti sintetizzati	Sensibilità alla α -amanitina*
I	Nucleolo	rRNA 28S (o 25S), 18S e 5,8S	Insensibile
II	Nucleo	mRNA e alcuni snRNA	Molto sensibile
III	Nucleo	tRNA, rRNA 5S e alcuni snRNA	Mediamente sensibile

* Tossina del fungo *Amanita falloides* capace di legarsi agli enzimi RNA polimerasi inibendone la funzionalità.

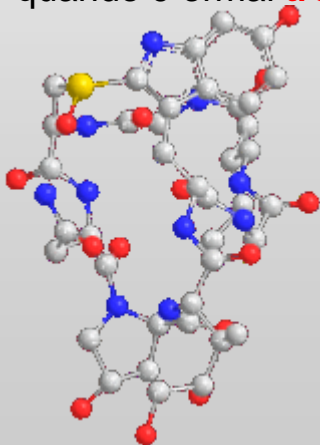
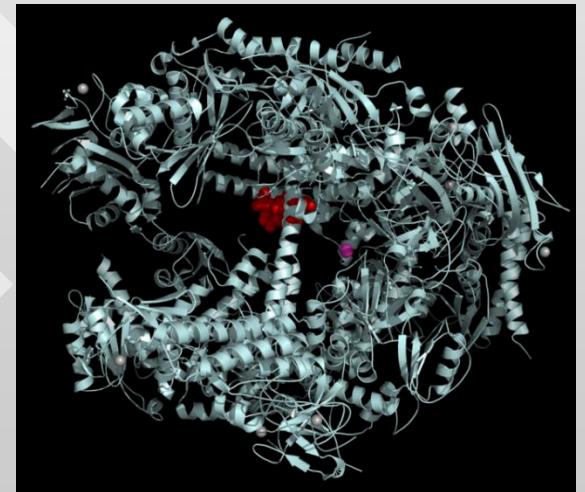
Fonti: Sadava et al., 2014; 2019; Solomon et al., 2012

Le tossine mortali del fungo *Amanita phalloides* (Agaricaceae)

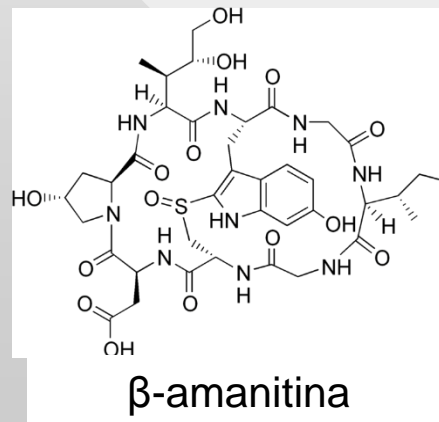
- ***Amanita phalloides*** (“ovolo malefico”, “coppa della morte”) è un fungo **estremamente velenoso**, disfortunatamente **con aspetto molto simile a specie eduli pregiate**
- Due delle sue tossine mortali (“amatossine”), gli octapeptidi ciclici **α -amanitina** e **β -amanitina**, insolubili e stabili al calore, sono **potenti inibitori della RNA polimerasi II**, l'enzima che **trascrive mRNA e snRNA**
- L'avvelenamento da amatossine (ingestione di 0.1 mg/kg, pari a 7 mg in un adulto) **blocca la sintesi proteica**, provocando la **necrosi** delle cellule del fegato, dei reni e del cuore
- I sintomi compaiono con un ritardo di 6-15 ore, generalmente quando è ormai **troppo tardi** per salvare la persona avvelenata

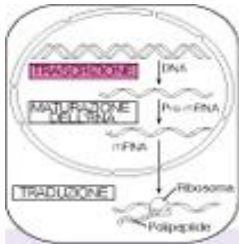


α -amanitina legata alla RNA polimerasi

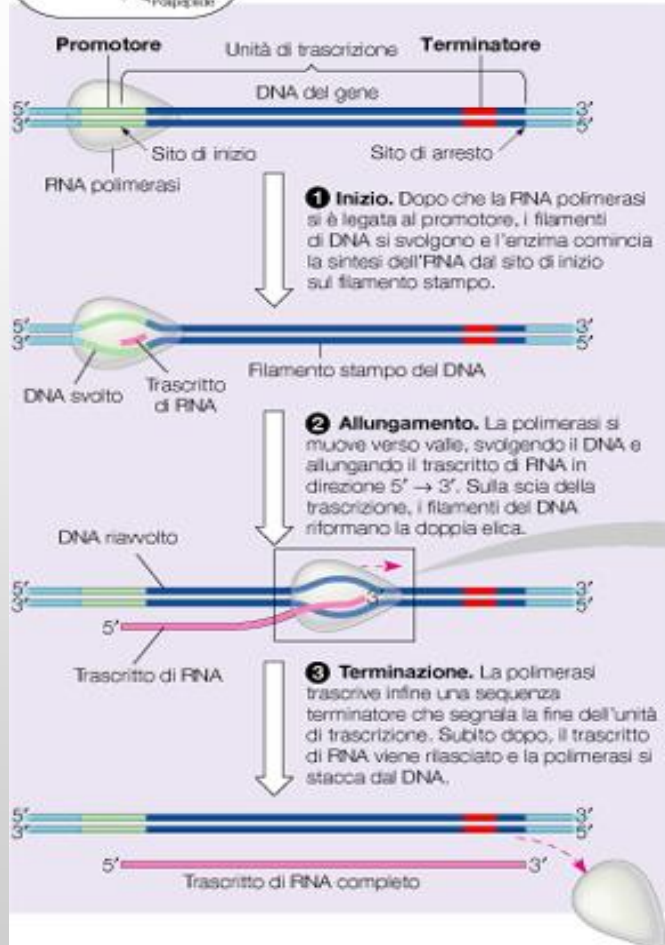


α -amanitina



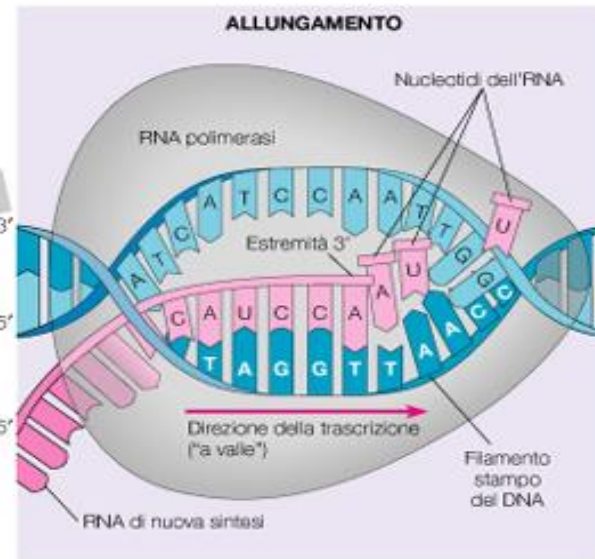


Riassunto degli eventi della trascrizione



La RNA polimerasi trascrive il DNA in RNA, sempre in direzione 5' → 3'

Filmati



Trascrizione e traduzione simultanea nei Procarioti

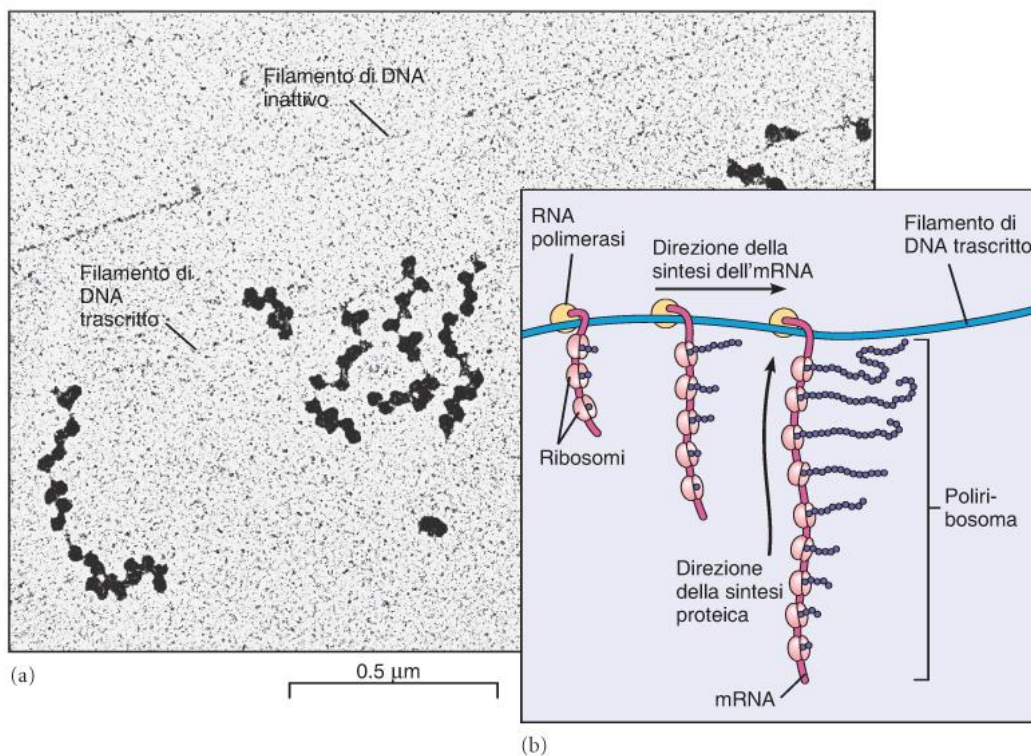


FIGURA 12-14

Trascrizione e traduzione simultanee nei batteri.

(a) Micrografia elettronica di due filamenti di DNA di *E. coli*, uno inattivo e l'altro in fase di attiva trascrizione. La sintesi proteica comincia prima che sia completata la trascrizione, non appena i ribosomi si attaccano all'RNA messaggero per formare un poliribosoma. (b) Processo di trascrizione accoppiato alla traduzione.

Nei **Procarioti** non è presente una membrana nucleare, quindi la trascrizione e la traduzione avvengono simultaneamente nel citoplasma

Struttura di un mRNA e riconoscimento del promotore nei Procarioti

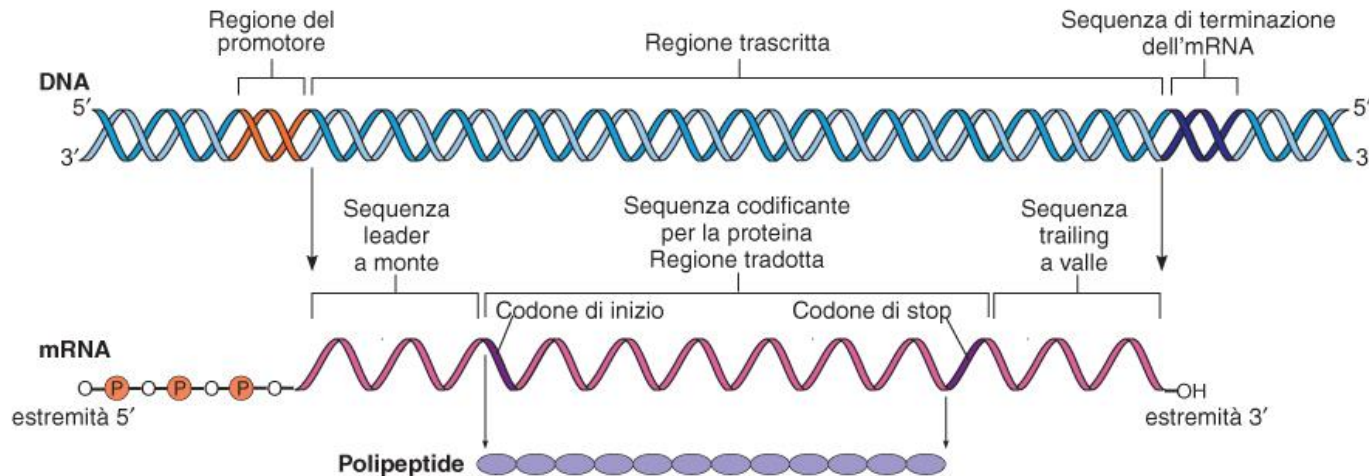


FIGURA 12-8 mRNA batterico.

La figura confronta un mRNA batterico con la regione del DNA da cui è stato trascritto. L'RNA polimerasi riconosce, ma non trascrive, le sequenze che sul DNA costituiscono il promotore. L'inizio della sintesi dell'RNA avviene 5-8 basi a valle del promotore. I siti di riconoscimento del ribosoma sono situati al 5' sulla sequenza leader del-

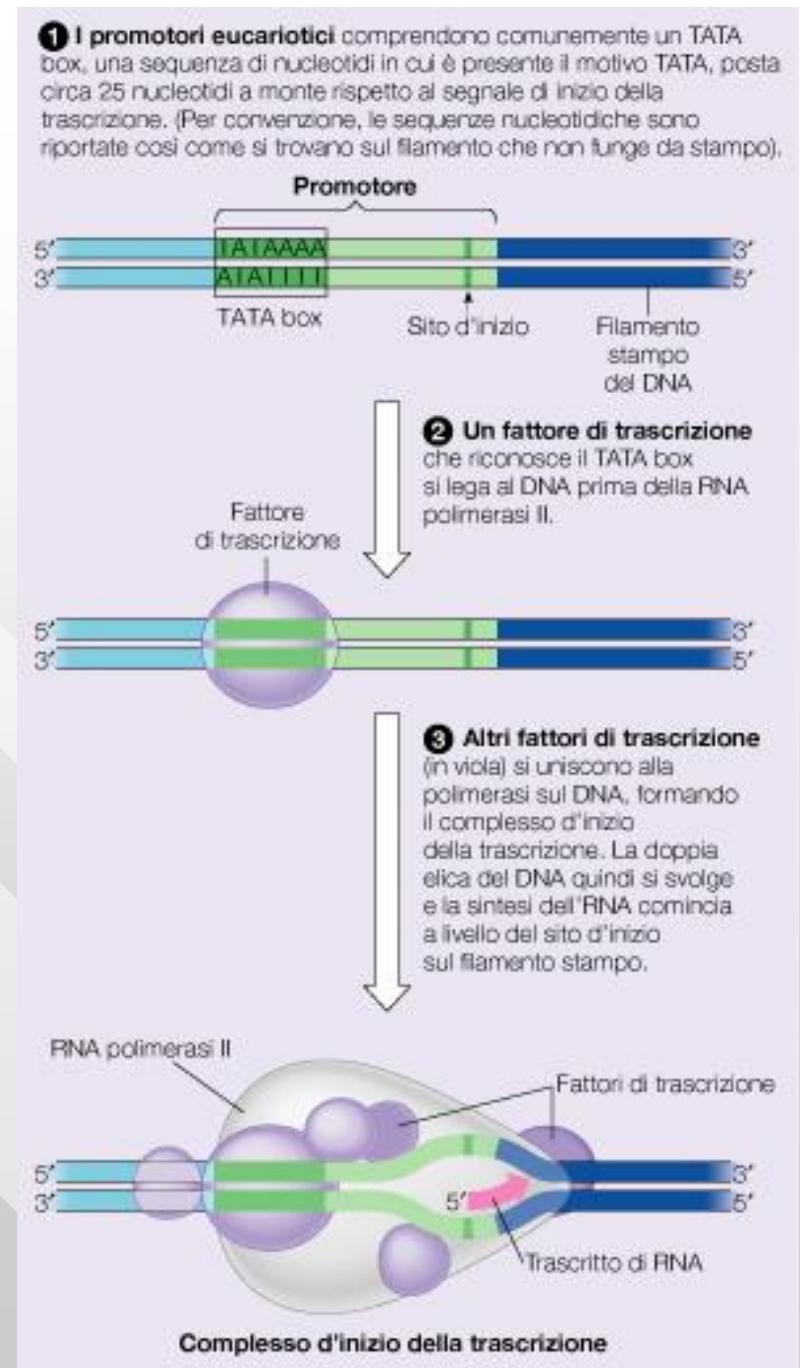
l'mRNA. La sequenza che codifica per la proteina comincia con il codone di inizio e finisce ad un codone di terminazione vicino al 3' della molecola. Sequenze non codificanti "trailing", che variano in lunghezza, seguono le sequenze che codificano per le proteine.

Un promotore procariotico possiede una **breve sequenza di DNA riconosciuta dalla RNA polimerasi** ("sequenza di riconoscimento" o "**sequenza consenso**"), lunga 6 nucleotidi, contenente timina e adenina ("**Pribnow-Schaller box**")

Per iniziare la trascrizione l'RNA polimerasi si lega a questa sequenza, situata 10 nucleotidi prima del punto di inizio della trascrizione

Promotori ed inizio della trascrizione negli Eucarioti

- Negli Eucarioti e negli Archea l'RNA polimerasi si lega al DNA solo in presenza di **proteine regolatrici** (“**fattori di trascrizione**”) che a loro volta si legano ad una “sequenza consenso” ricca di adenina e timina (“**TATA box**” o “Goldberg-Hogness box”)
- La TATA box **precede di circa 25-30 nucleotidi il sito di inizio** della trascrizione
- L'insieme delle proteine regolatrici forma il **complesso di inizio della trascrizione**
- L'espressione genica degli Eucarioti è inoltre controllata da **attivatori e inibitori** (“silenzianti genici”) e dal **rimodellamento della cromatina** ad opera del nucleosoma (Kornberg, 2006)



Trascrizione e Sintesi proteica: punti fondamentali

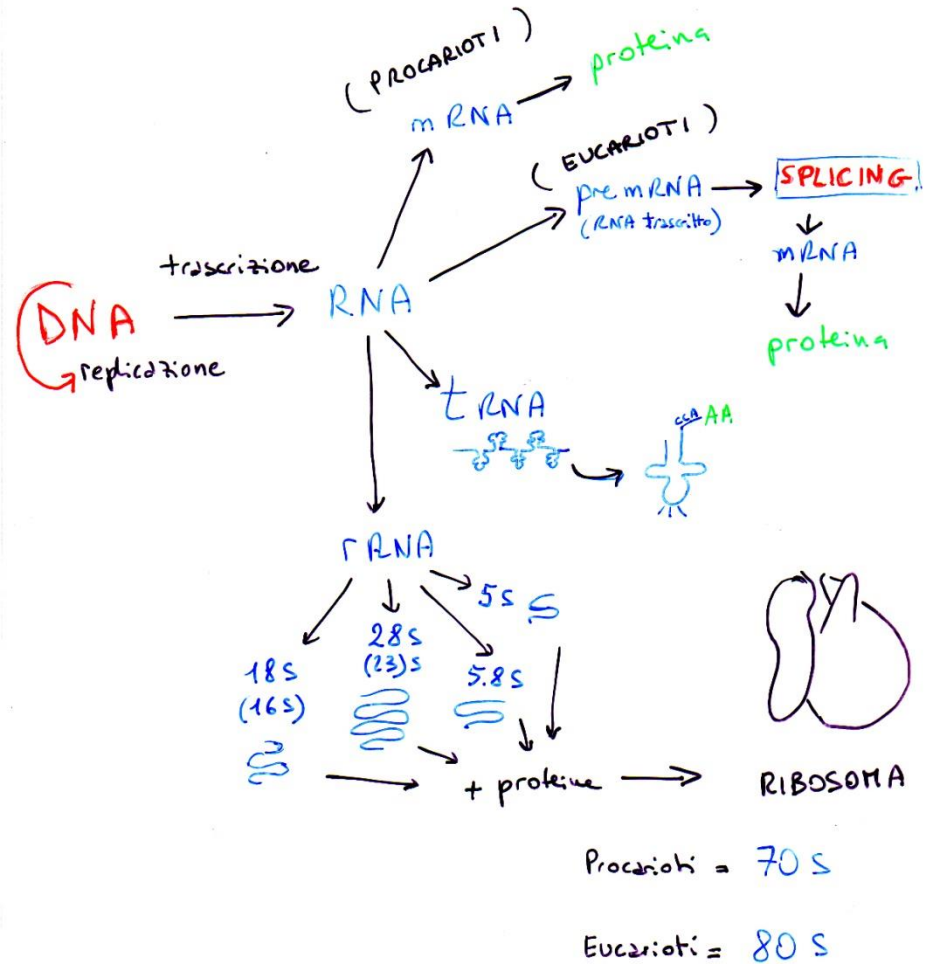
- Trascrizione del DNA in RNA
- **Controllo della trascrizione e “splicing”**
- **RNA messaggero (mRNA)**

- Codice genetico
- Decifrazione del codice
- RNA di trasferimento (tRNA)
- Amminoacil-tRNA sintetasi

- Ribosomi e RNA ribosomiale (rRNA)
- Traduzione del messaggio: dagli acidi nucleici alle proteine
- Controllo pre- e post-traduzionale

Il nostro punto di riferimento è sempre la mappa di navigazione....

DNA → RNA → proteina



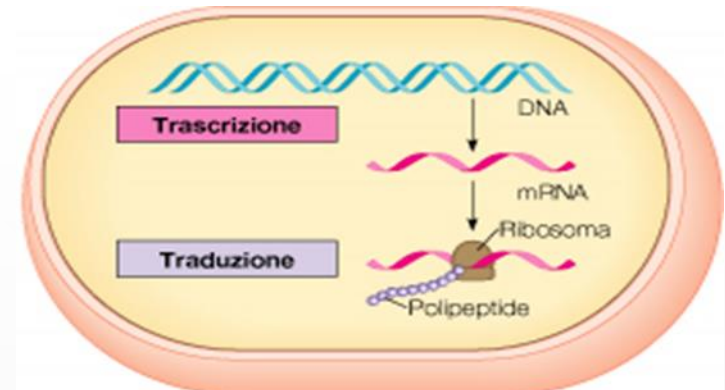
Modificazioni dell'RNA trascritto negli Eucarioti:
lo “**splicing**” (dall'inglese *to splice*: “tagliare e riunire”)

Al contrario dei Procarioti, **negli Eucarioti l'RNA trascritto non è ancora un RNA messaggero (mRNA)** pronto per essere tradotto in proteina

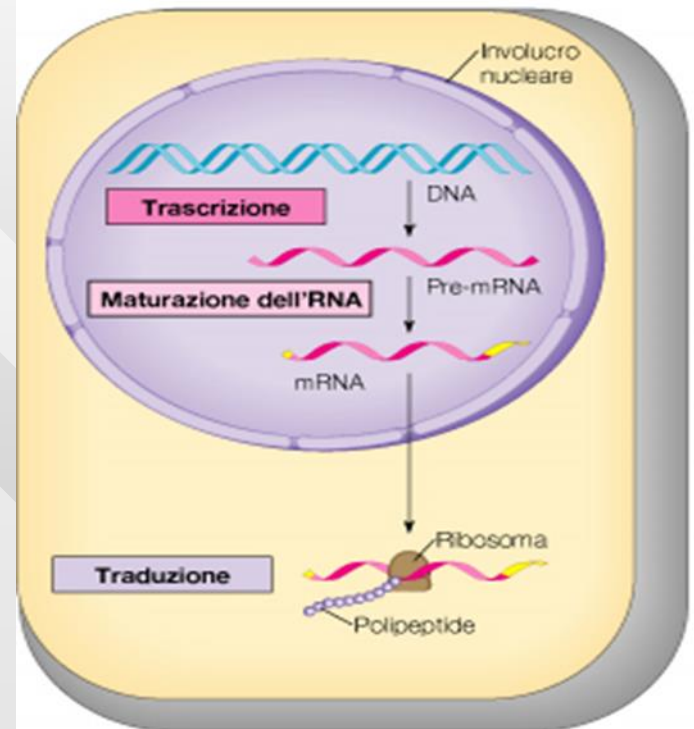
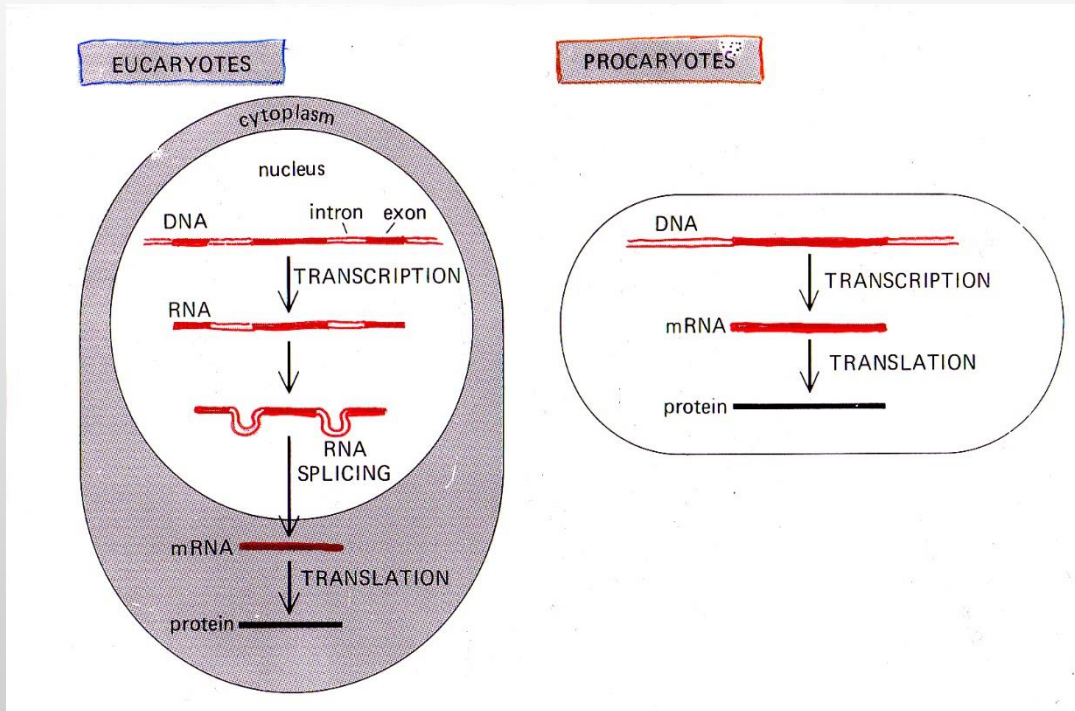
Negli Eucarioti l'RNA trascritto deve essere modificato tramite “tagli” e “giuntature” (“**splicing**”): i segmenti di RNA **asportati** si dicono **introni** e i segmenti **restanti** si dicono **esoni**

Gli **esoni** sono uniti tra loro per formare l'**mRNA degli Eucarioti**

Differenze tra mRNA nei Procarioti e negli Eucarioti

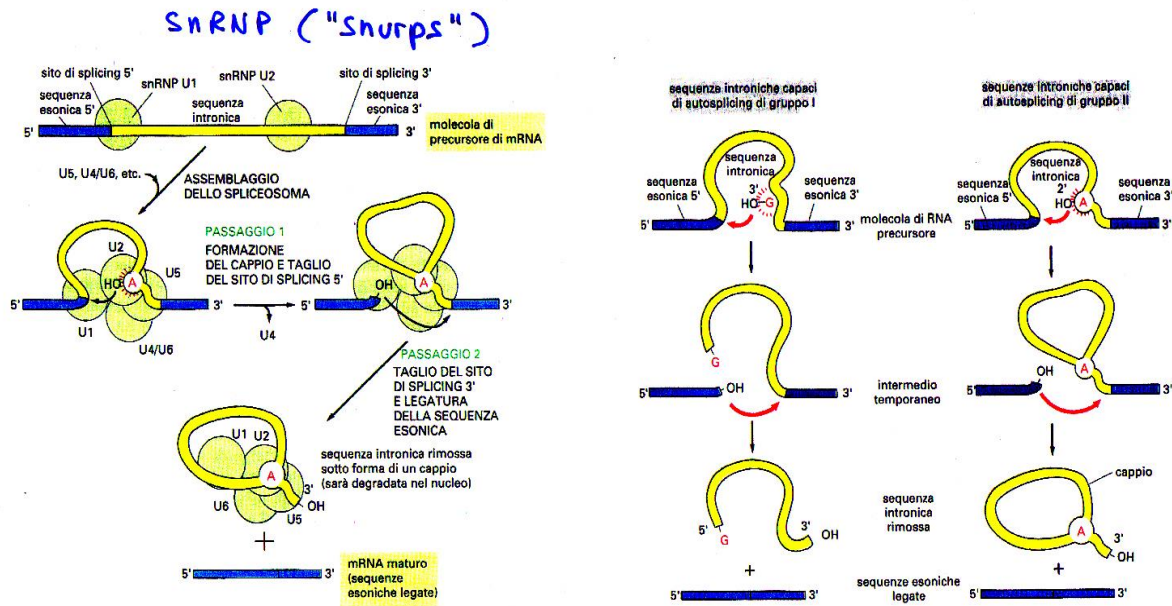


(a) **Cellula procariotica.** In una cellula sprovvista di nucleo, l'mRNA prodotto dalla trascrizione è immediatamente tradotto senza subire ulteriori modificazioni.

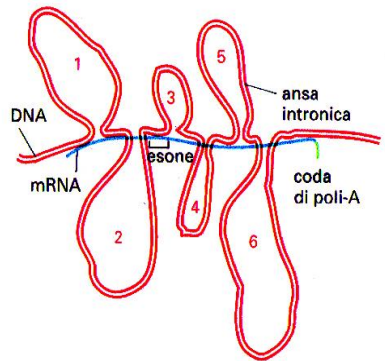


(b) **Cellula eucariotica.** Il nucleo fornisce un compartimento separato per la trascrizione. Il trascritto originale dell'RNA, detto pre-mRNA, subisce una serie di modificazioni prima di abbandonare il nucleo come mRNA.

"Splicing" dell'RNA trascritto



ESPERIMENTO
di
LEDER e collaboratori
1987



Filmati

Lo spliceosoma, il complesso che esegue lo splicing

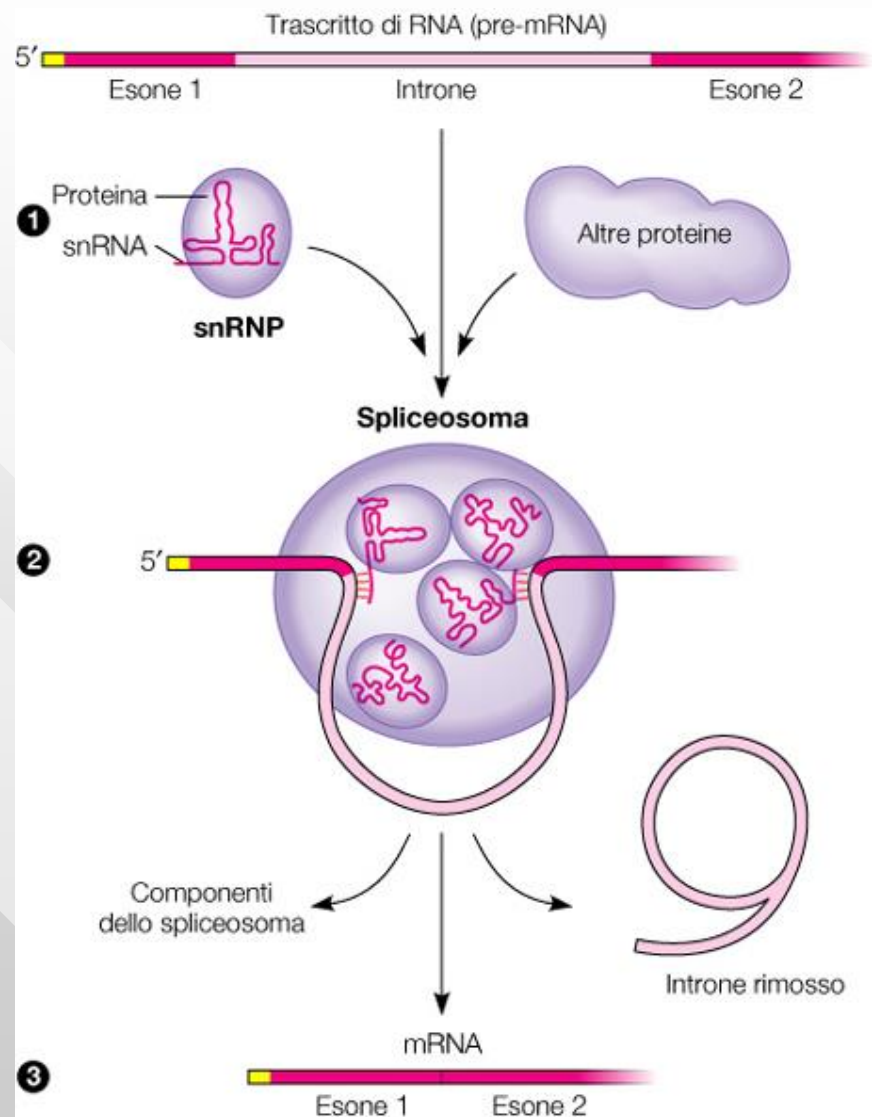
Lo **splicing** è eseguito **nel nucleo** dallo **SPLICEOSOMA**, complesso di **piccole ribonucleoproteine** (snRNP)

“small nuclear **RiboNucleoProteins**” o **snRNP**

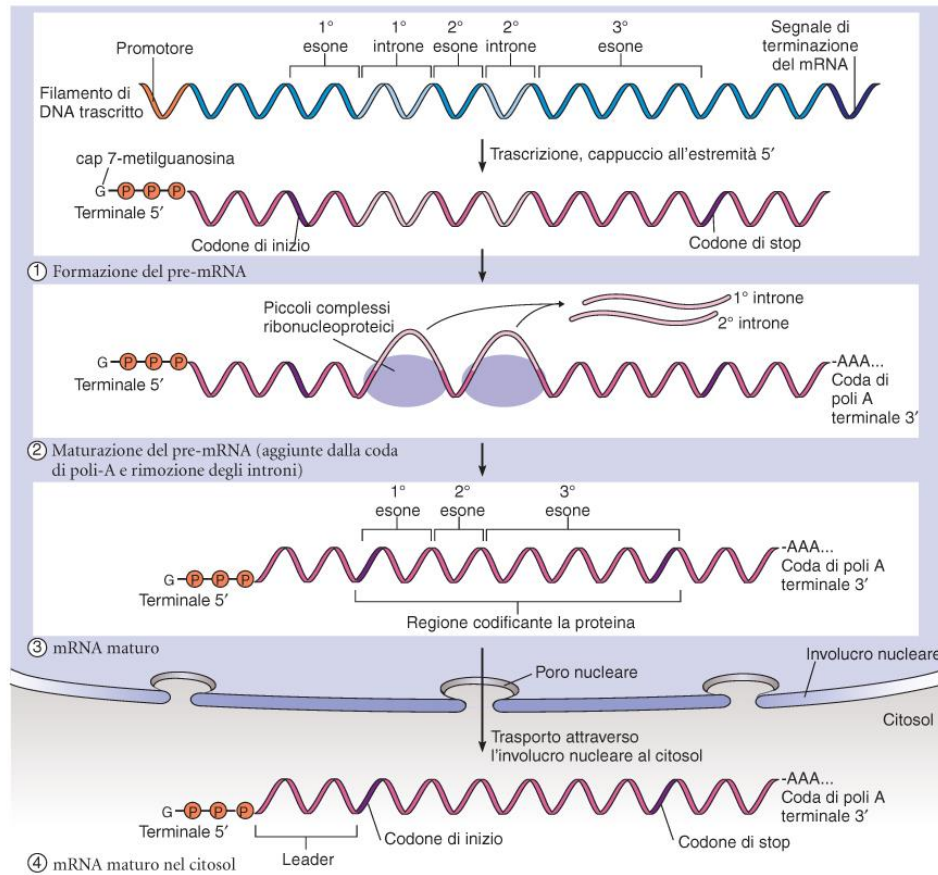
... familiarmente dette “**SNURP**”

Lo spliceosoma **asporta gli introni** e **riunisce tra loro gli esoni**

Fonti: Sadava et al., 2014; 2019; Solomon et al., 2012



Esoni e introni



Filmato

FIGURA 12-15 Modificazioni post-trascrizionali dell'RNA degli eucarioti.

① Una sequenza di DNA che contiene sia esoni che introni è trascritta dalla RNA polimerasi come trascritto primario o mRNA precursore. Alla sua estremità 5' viene aggiunto (mediante un legame 5'-5'), un "cappuccio" costituito da una base modificata. ② All'e-

stremita 3' è aggiunta una coda di poli-A (lunga 100-250 nucleotidi); gli introni sono rimossi e gli esoni sono uniti uno all'altro. ③ L'mRNA maturo è trasportato attraverso l'involucro nucleare ④ nel citosol per essere tradotto dai ribosomi.

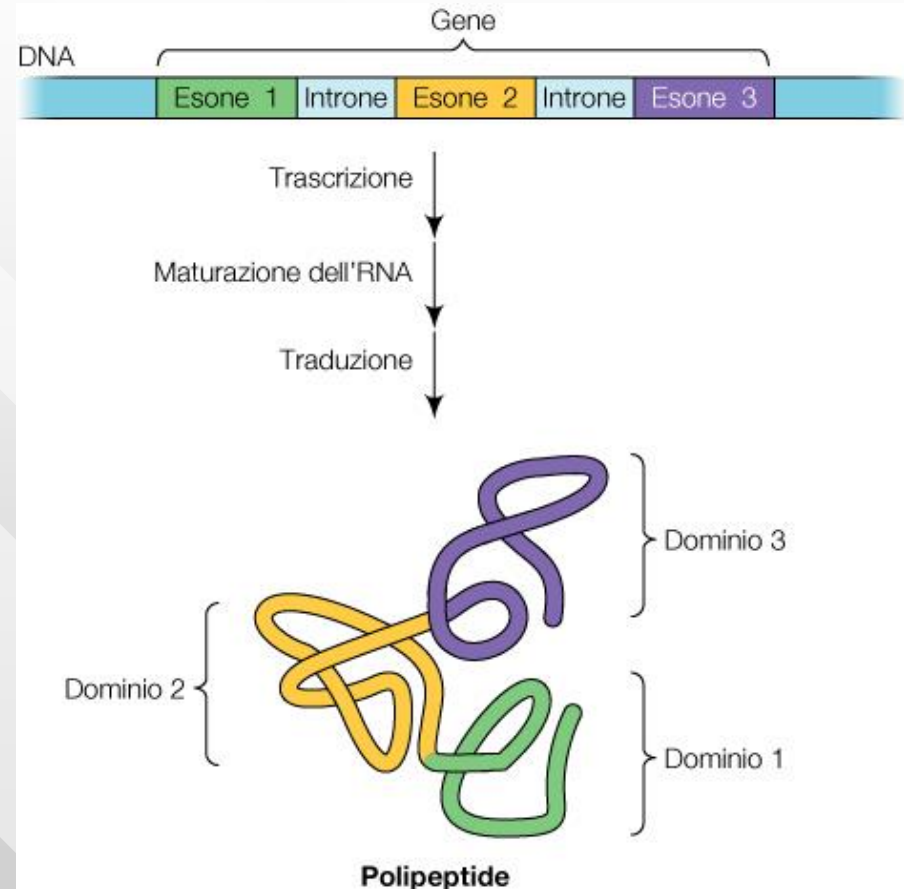
Qual è il **significato** dello “splicing”?

Da un solo RNA trascritto, asportando o no gli introni, negli Eucarioti è possibile ottenere mRNA differenti....

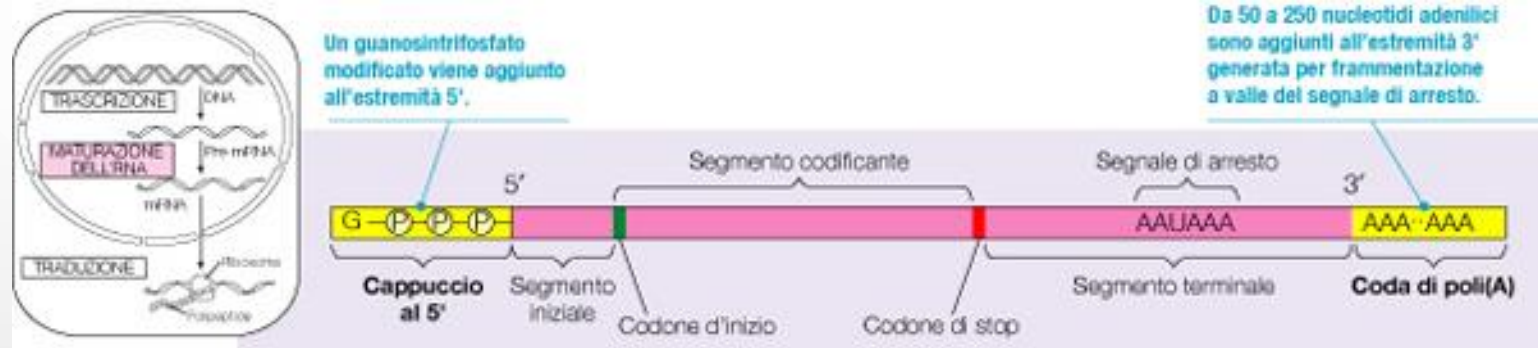
....quindi **proteine diverse**, con strutture e funzioni diverse

→ **È un modo per controllare l'espressione dei geni** (cioè quali parti del genoma debbano essere espresse, producendo proteine)

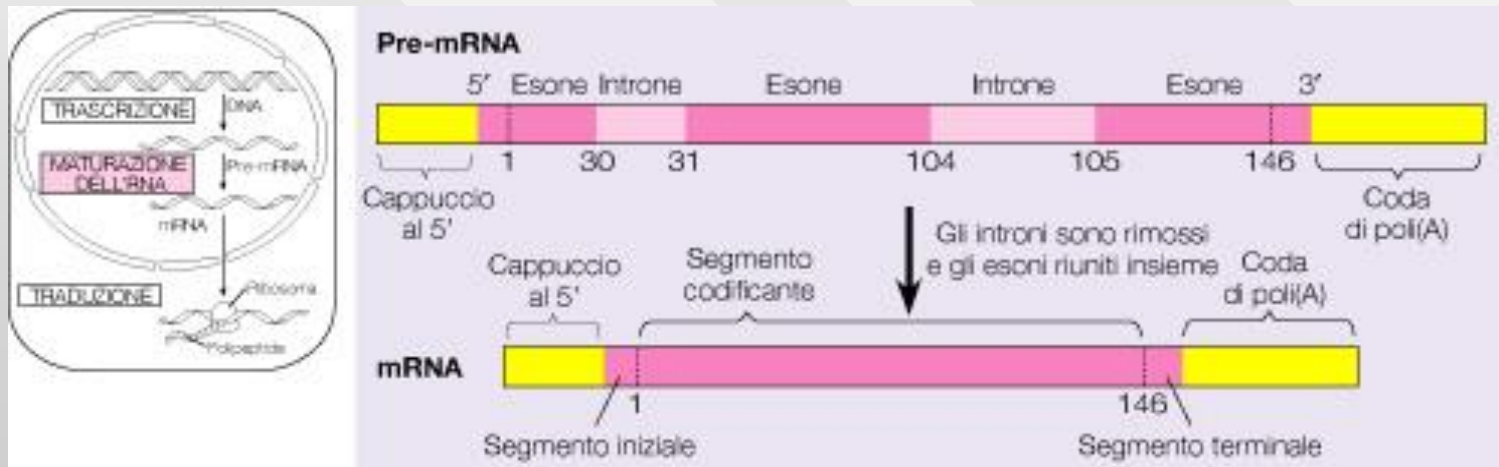
Fonti: Sadava et al., 2014; 2019
Solomon et al., 2012



Modificazioni post-trascrizionali (“**maturazione**”) dell’RNA negli Eucarioti



Aggiunta del “**cappuccio**” (“CAP”) in 5' e della “**coda**” di poli-(A) in 3'



Splicing (rimozione degli introni)

Trascrizione e Sintesi proteica: punti fondamentali

- Trascrizione del DNA in RNA
- Controllo della trascrizione e “**splicing**”
- RNA messaggero (mRNA)
- **Codice genetico**
- **Decifrazione del codice**
- RNA di trasferimento (tRNA)
- Amminoacil-tRNA sintetasi

- Ribosomi e RNA ribosomiale (rRNA)
- Traduzione del messaggio: dagli acidi nucleici alle proteine
- Controllo pre- e post-traduzionale

Codice genetico e **genoma**: **attenzione ai termini!**

- Il **codice genetico** **NON** è il **genoma** di un organismo
- Il “**codice**” **genetico** è un sistema universale (o quasi) di simboli che trasferisce informazioni dal DNA all'RNA e dall'RNA alle proteine

DNA → RNA → proteina

(direzione normale di trasmissione dell'informazione genetica)

- Il **genoma** è l'**insieme delle informazioni genetiche** contenute in un organismo (diverse da individuo a individuo e da specie a specie)

Negli Eucarioti è suddiviso in **genoma nucleare** (organizzato in cromosomi) e **genoma degli organelli** (mitocondri e cloroplasti)

Il codice genetico è a **TRIPLETTE** (= gruppi di tre basi)

Perché ?

- 4 basi, ciascuna che codifica un solo aminoacido = 4^1

Questa combinazione può codificare **solo 4 aminoacidi**

- 4 basi, che a gruppi di 2 codificano un aminoacido = $4^2 = 16$ aminoacidi

Ma sappiamo che i “**magic twenties**” (aminoacidi contenuti nelle proteine) **sono 20....**

Allora... 4 basi a gruppi di 3 = 4^3

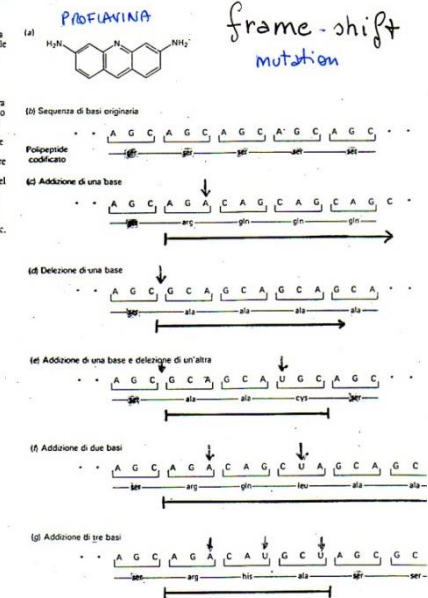
= **64 possibili combinazioni**

...più che abbastanza per codificare 20 aminoacidi → **ecco IL CODICE!**



A Cambridge, F. Crick e S. Brenner studiarono gli effetti dell'addizione e delezione di una base:

Fig. 11-23. (a) Struttura chimica della proflavina. (b) Sequenza delle basi che codificherebbe la poliserina. (3-4) Effetti esercitati sul polipeptide da addizioni o delezioni diverse indotte dalla proflavina. L'addizione (o la delezione) di una o due basi altera totalmente le proprietà di modello del polipeptide. Tuttavia, se si verificano delle modificazioni compensatrici, come un'addizione o una delezione, o se sopravvivono tre addizioni (o tre delezioni), viene ripristinata la proprietà codificante originaria del polinucleotide, una volta superata la sezione alterata. La lunghezza della sequenza amminoacidica alterata è indicata dalla linea tracciata sotto ciascun polipeptide.



TRE PER DUE FAN SEI

Francis Crick e Sydney Brenner idearono nel 1961 un **elegante esperimento per provare che il codice genetico era a triplete, senza segni di interpunzione**

Esempi di “messaggi a tre lettere”

che rappresentano gli esperimenti di alterazione del codice eseguiti da Francis Crick e Sidney Brenner

- THE BIG RED CAT ATE THE FAT RAT

- THE **B**IG RED CAT ATE THE FAT RAT

- THE **I**GR EDC ATA TET HEF ATR AT

- THE **I**RE DCA TAT ETH EFA TRA T

- THE **IR**D **CAT** **ATE** **THE** **FAT** **RAT**

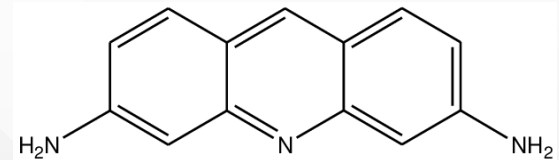
- HAI **S**EI **A**PI **B**LU **P**ER **T**RE **M**IE **Z**IE **P**IE?

- HAI **S**EI **A**PI **B**LU **P**ER **T**RE **M**IE **Z**IE **P**IE?

- HAI **E**IA **P**IB **L**UP **E**RT **R**EM **I**EZ **I**EP **I**E?

- HAI **E**AP **I**BL **U**PE **R**TR **E**MI **E**ZI **E**PI **E**?

- HAI **E**AI **B**LU **P**ER **T**RE **M**IE **Z**IE **P**IE?



Gli esperimenti furono eseguiti sul batteriofago T4, usando come mutageno la **proflavina**, che provocava l'**eliminazione di una base** e quindi delle capacità infettive del batteriofago su *E. coli*

L'eliminazione di **una o due basi impediva il funzionamento del gene** (“frameshift mutation”), ma l'eliminazione di **tre basi** ripristinava la “cornice di lettura” del codice

Crick e Brenner conclusero che **il codice funziona a triplette, senza interruzioni** o segni di interpunzione

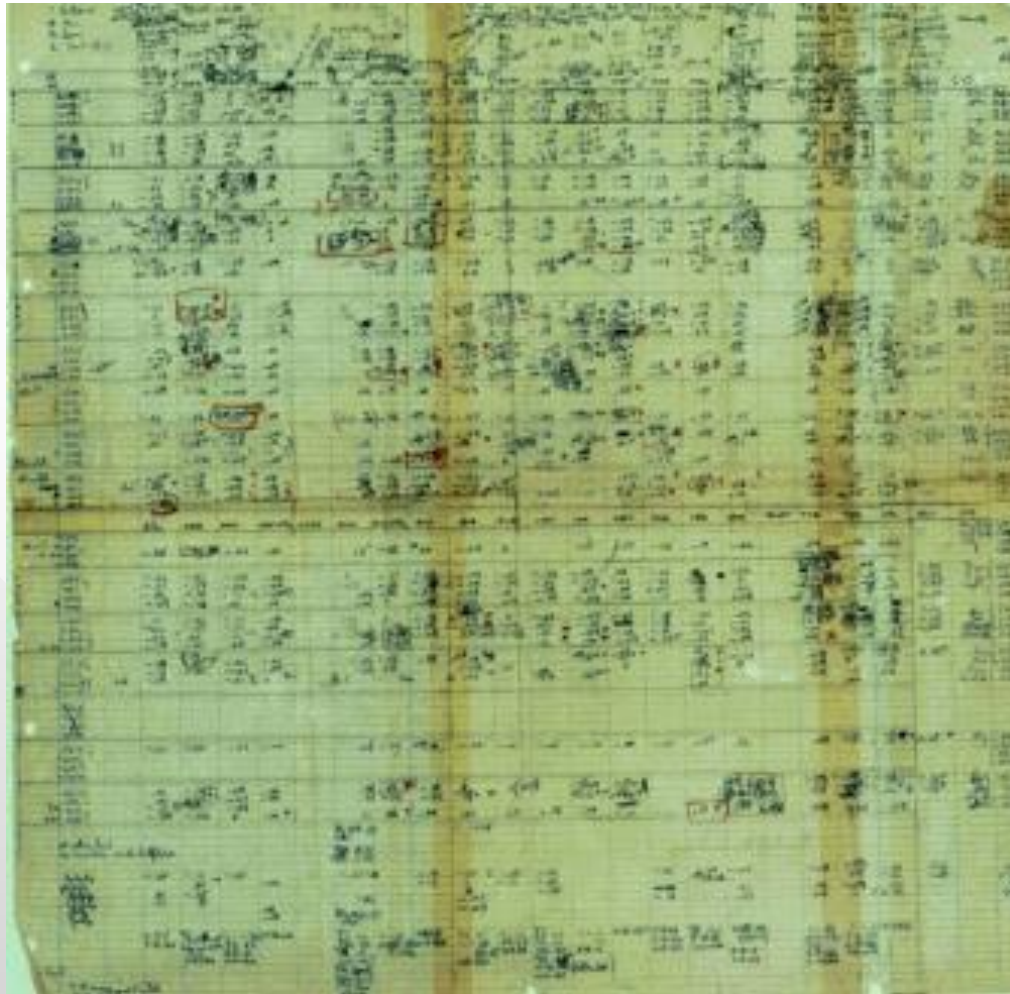
Marshall W. Nirenberg (1927-2010)

Premio Nobel 1968 per la Medicina e la Fisiologia
per la decifrazione del codice genetico, con
Gobindh Khorana e Robert Holley



Celebrazione degli
studenti e del personale
del National Institute of
Health per l'assegnazione
del Nobel a M. Nirenberg





Prima versione del codice genetico scritta da
M. Nirenberg nel 1965

Fonte: National Institute of Health, A Tribute to Marshall Nirenberg, 2015

Il codice genetico (più o meno universale...)

		Seconda lettera				Terza lettera
		U	C	A	G	
U	U	UUU Fenilalanina UUC	UCU Serina UCC UCA UCG	UAU Tirosina UAC	UGU Cisteina UGC	U
	U	UUA Leucina UUG		UAA Codone di stop UAG Codone di stop	UGA Codone di stop UGG Triptofano	A
	C	CUU Leucina CUC CUA CUG	CCU Prolina CCC CCA CCG	CAU Istidina CAC CAA Glutamina CAG	CGU Arginina CGC CGA CGG	G
A	A	AUU Isoleucina AUC AUA	ACU Treonina ACC ACA ACG	AAU Asparagina AAC	AGU Serina AGC	U
	G	AUG Metionina Codone di inizio	AAA Lisina AAG	AGA Arginina AGG		A
G	U	GUU Valina GUC	GCU Alanina GCC GCA GCG	GAU Acido aspartico GAC	GGU Glicina GGC	U
	G	GUA Valina GUG		GAA Acido glutamico GAG	GGA Glicina GGG	A

		Seconda lettera				Terza lettera (estremità 3')
		U	C	A	G	
U	U	UUU Phe UUC	UCU Ser UCC UCA UCG	UAU Tyr UAC	UGU Cys UGC	U
	U	UUA Leu UUG		UAA Stop UAG Stop	UGA Stop UGG Trp	A
	C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Pro CCC CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU Arg CGC CGA CGG	G
A	A	AUU Ile AUC AUA	ACU Thr ACC ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	U
	G	AUG Met o inizio				A
G	U	GUU Val GUC	GCU Ala GCC GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU Gly GGC	U
	G	GUA Val GUG			GGA Gly GGG	A

= Codone di stop
 = Codone di inizio

FIGURA 12-5 Il codice genetico

Il codice genetico specifica tutte le possibili combinazioni di tre basi che costituiscono i codoni dell'mRNA. Dei 64 codoni possibili, 61 specificano aminoacidi (vedi Fig. 3-16 per la spiegazione delle abbreviazioni). Il codone AUG specifica l'aminoacido metionina, ma è anche un segnale di inizio della traduzione per il ribosoma ("start"). Tre codoni (UAA, UGA e UAG) non specificano alcun aminoacido, ma sono invece dei segnali per la terminazione della sintesi proteica ("stop").

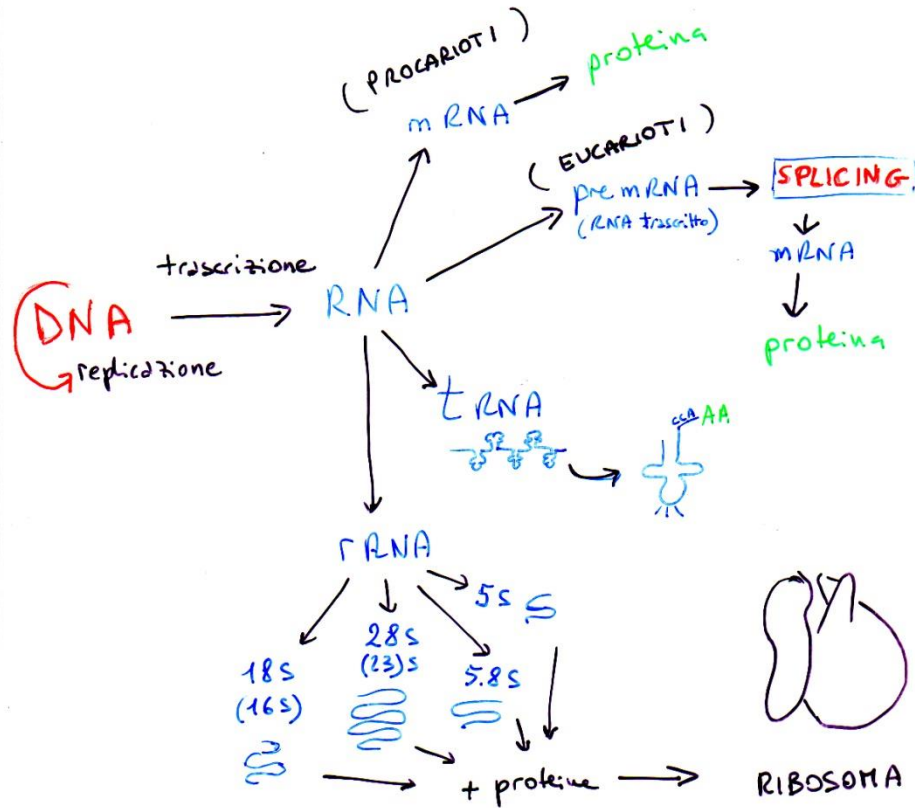
Trascrizione e Sintesi proteica: punti fondamentali

- Trascrizione del DNA in RNA
- Controllo della trascrizione e “**splicing**”
- RNA messaggero (mRNA)

- Codice genetico
- Decifrazione del codice
- RNA di trasferimento (tRNA)
- Amminoacil-tRNA sintetasi

- Ribosomi e RNA ribosomiale (rRNA)
- Traduzione del messaggio: dagli acidi nucleici alle proteine
- Controllo pre- e post-traduzionale

DNA → RNA → proteina

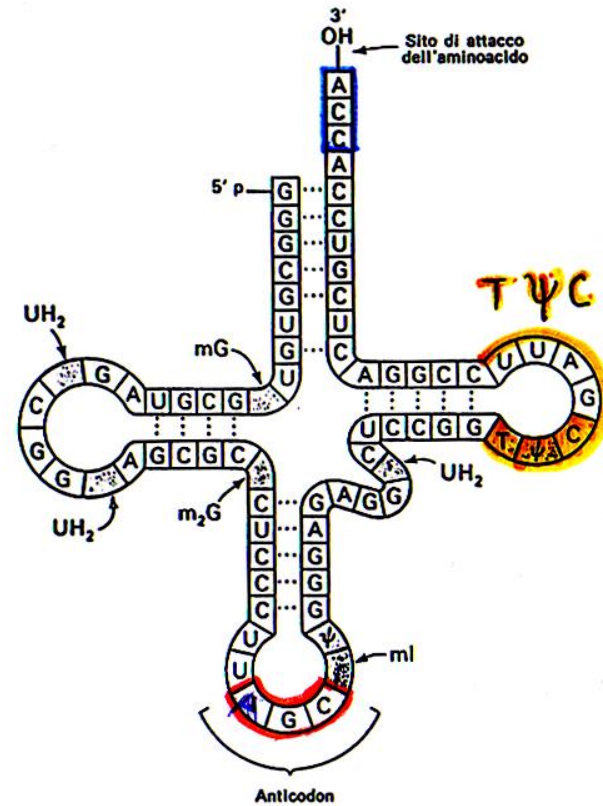
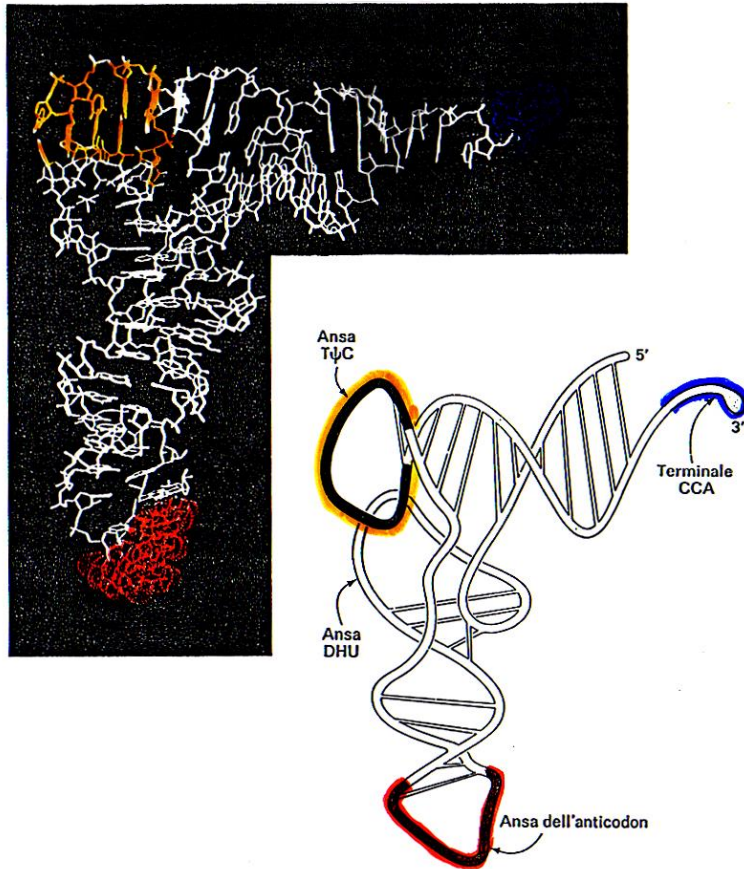


Procarioni = 70 S

Eucarioti = 80 S

Riferiamoci sempre alla
mappa di navigazione...

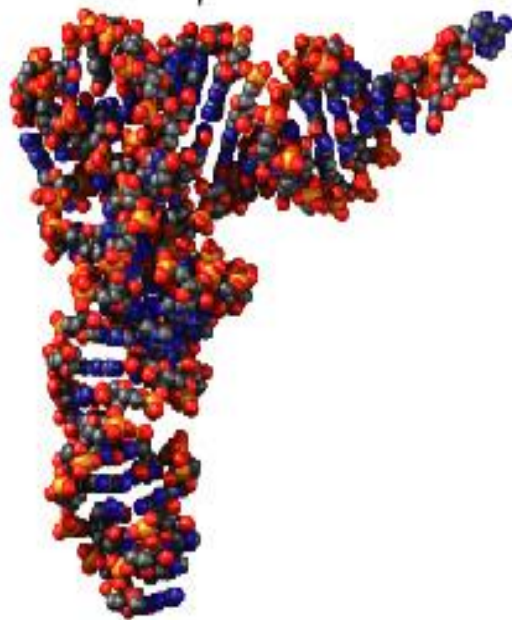
RNA di trasferimento, o RNA transfer (tRNA)



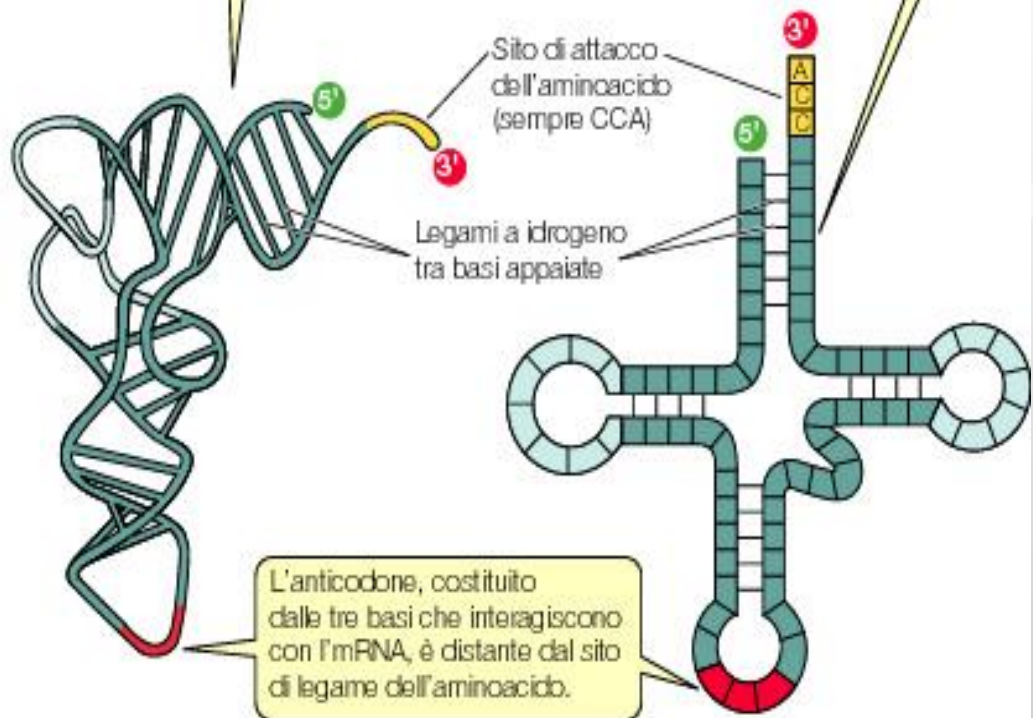
Filmato: ripiegamento del tRNA

Struttura dell'RNA di trasferimento, o RNA transfer (**tRNA**)

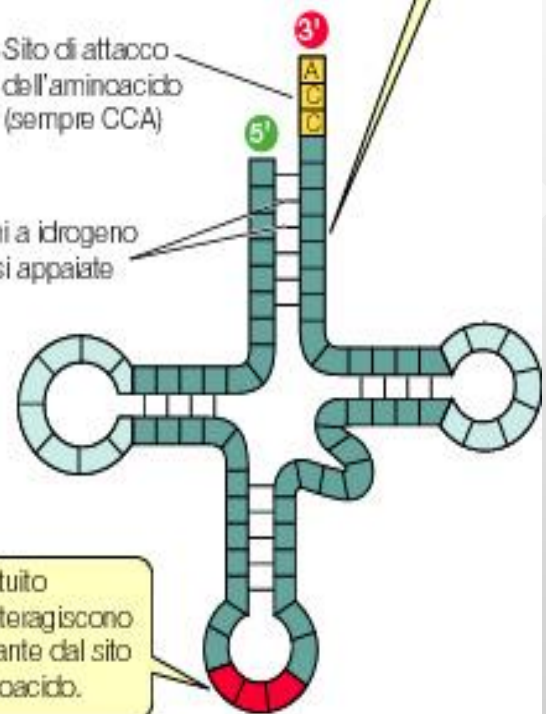
Questo modello compatto elaborato al computer mostra la struttura tridimensionale di un tRNA.



Questa rappresentazione tridimensionale mostra in particolare le regioni interne associate mediante appaiamento delle basi.

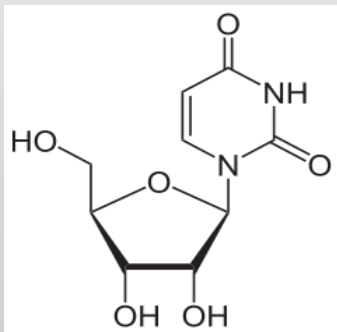


Il modello appiattito "a trifoglio" sottolinea l'appaiamento delle basi tra nucleotidi complementari.

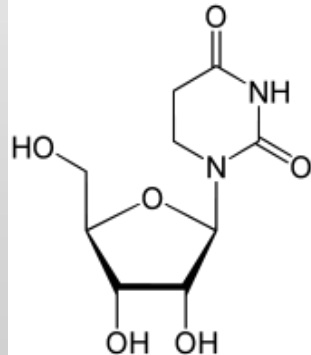


Le basi modificate nelle anse del tRNA

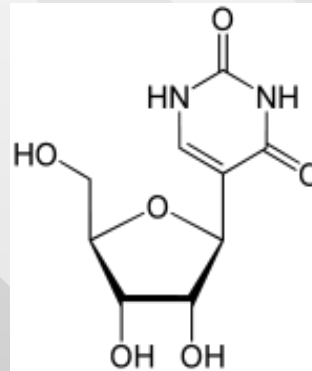
- Due delle “anse” del tRNA contengono **nucleotidi con basi modificate**, derivate dall'**uridina**
- Ansa **DHU**, contenente diidrouridina (DHU, UH₂, D)
- Ansa **TΨC**, contenente pseudouridina (Ψ o Y)
- Il ruolo delle basi modificate riguarda il corretto ripiegamento “a L” del tRNA e la “flessibilità” della struttura: la pseudouridina la stabilizza, mentre la diidrouridina la destabilizza



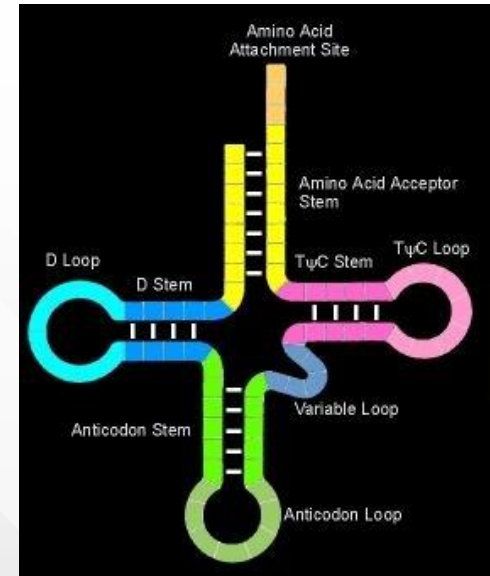
Uridina



Diidrouridina



Pseudouridina



tRNA

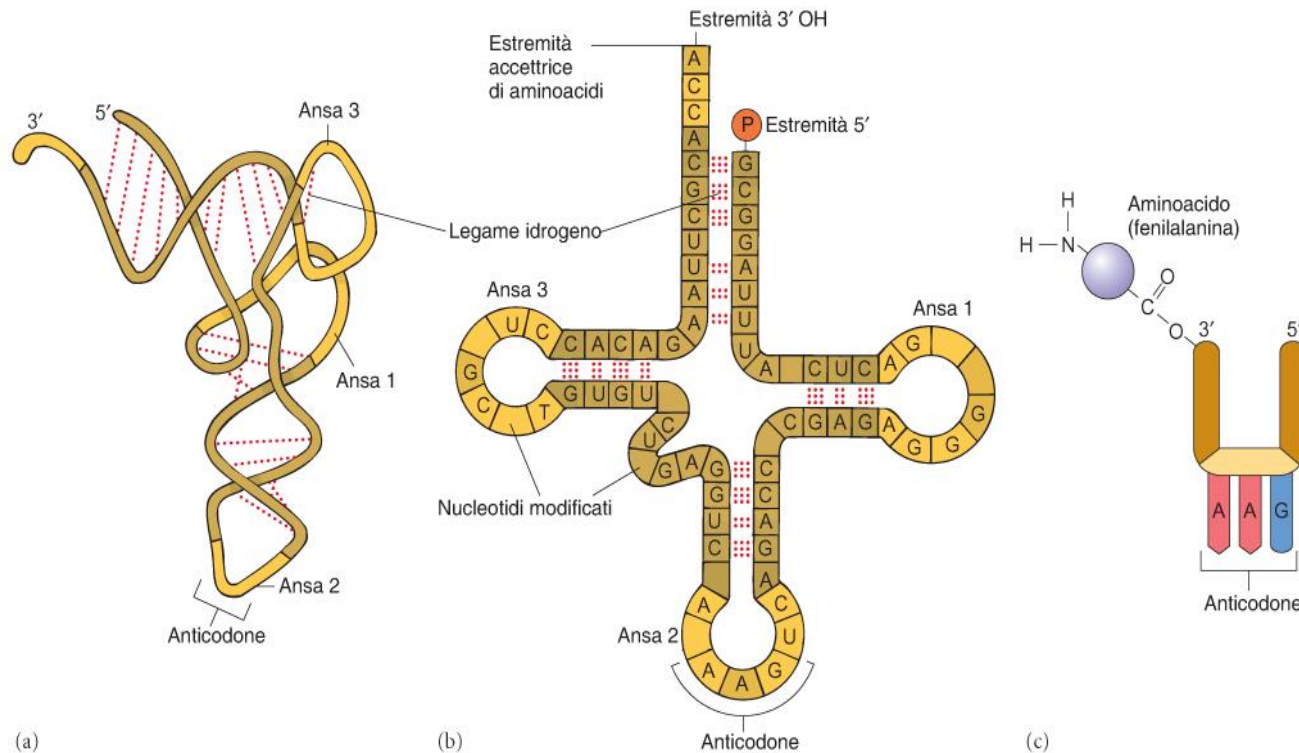


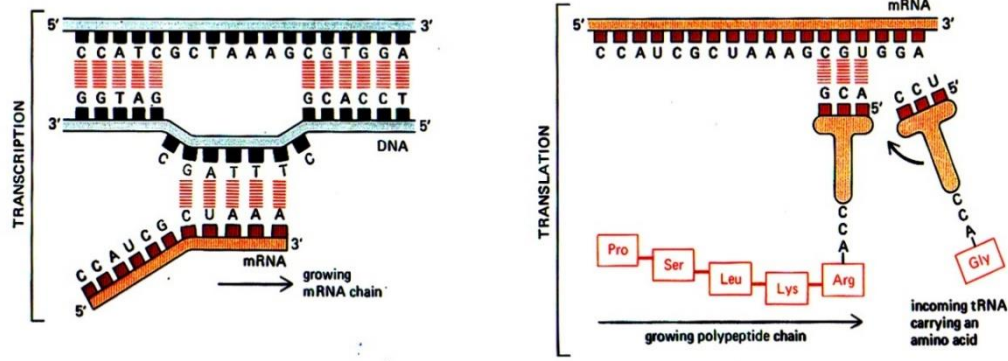
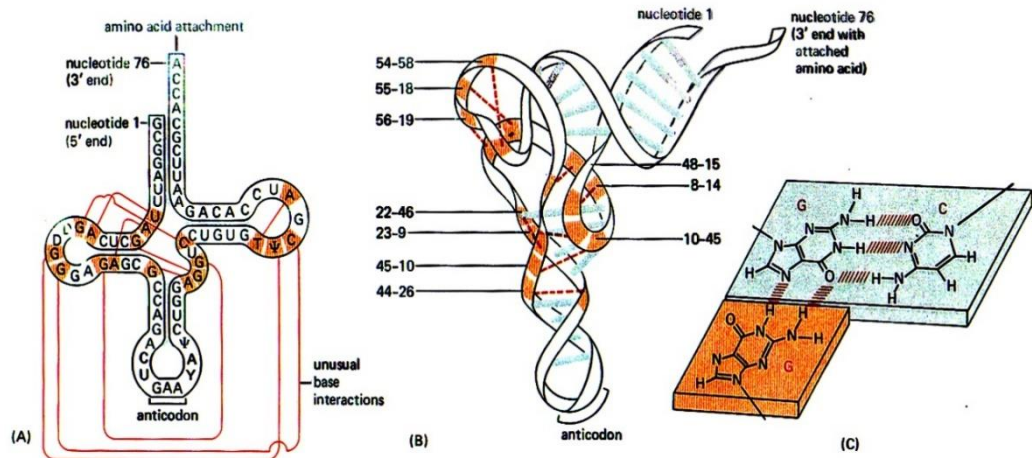
FIGURA 12-9

Tre rappresentazioni di una molecola di tRNA.

- (a) La struttura tridimensionale di una molecola di tRNA è determinata dai legami a idrogeno che si formano fra le basi complementari.
 (b) Un'ansa contiene la tripletta anticodone che si appaia in modo specifico con il codone presente sull'mRNA. L'aminoacido viene legato all'estremità 3'-OH del nucleotide terminale.
 (c) Disegno schematico di un aminoacil-tRNA che mostra come l'aminoacido è legato al suo tRNA mediante il suo gruppo carbossilico, lasciando il gruppo aminico disponibile per formare un legame peptidico.

La molecola di tRNA può essere rappresentata in vari modi, che tuttavia evidenziano sempre le posizioni più importanti: **l'ansa dell'anticodon e l'estremità CCA** a cui è legato l'amminoacido

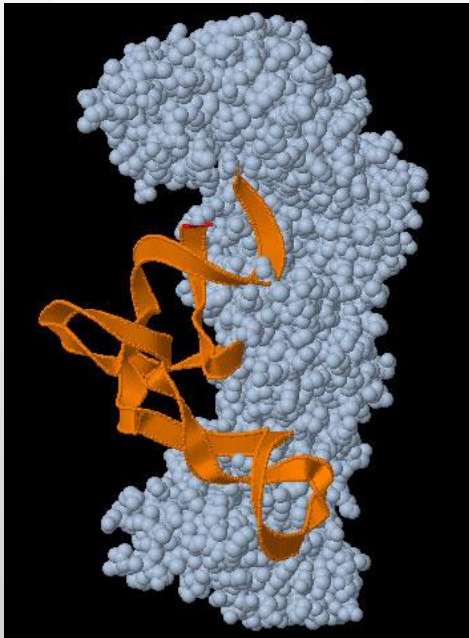
“Codon” (“codone”) e “Anticodon” (“anticodone”)



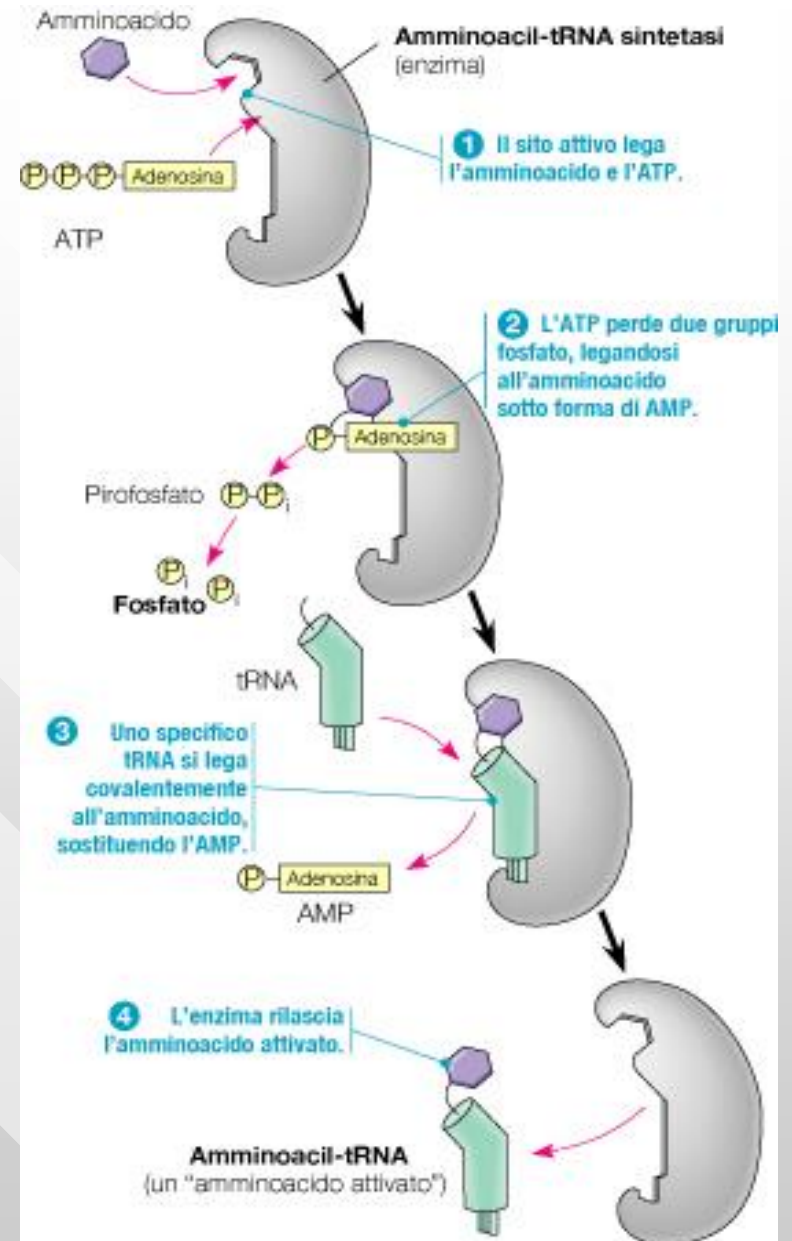
La sequenza di **tre basi dell'anticodon** nel tRNA è **COMPLEMENTARE** alla sequenza di **tre basi** che **codifica per un particolare amminoacido** (“codon”)

“Caricamento” del tRNA con
l'amminoacido:

l'enzima
amminoacil-tRNA sintetasi



Animazione



Come funziona l'amminoacil-tRNA sintetasi

