

Lezione 8 - TRADUZIONE

1. Flusso dell'informazione genetica

2. Codice genetico

3. Ribosomi

4. Nucleolo ed rRNA

5. tRNA

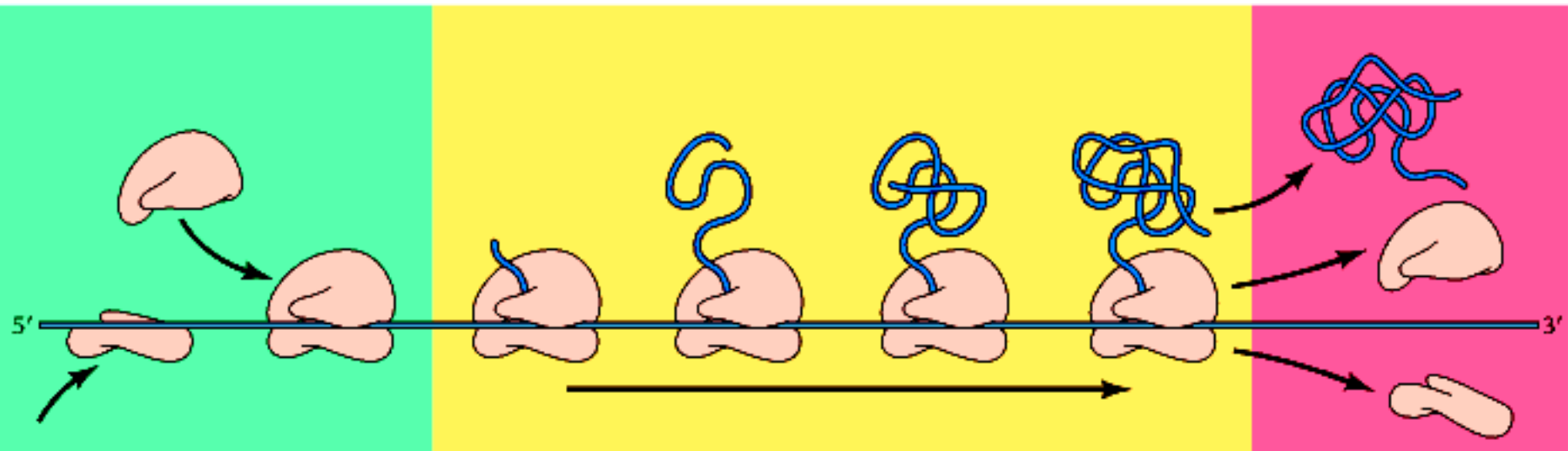
6. Ribosomi: sito della sintesi

7. Sintesi proteica

8. Mutazioni

9. Folding

10. Controllo dell'espressione genica



TRADUZIONE

1. Flusso dell'informazione genetica

2. Codice genetico

3. Ribosomi

4. Nucleolo ed rRNA

5. tRNA

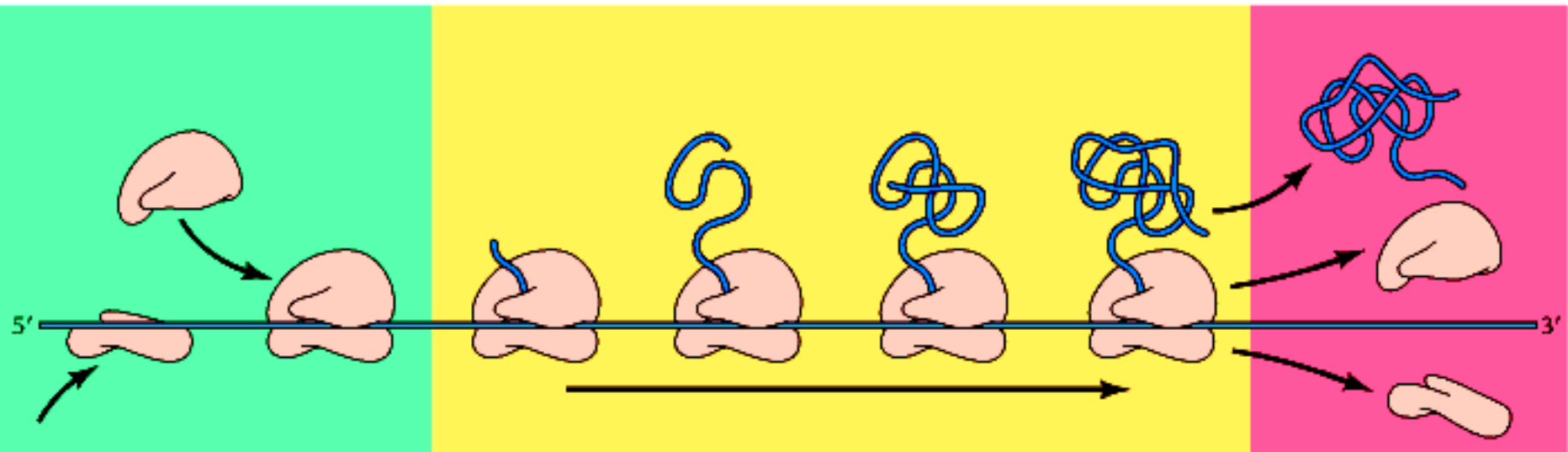
6. Ribosomi: sito della sintesi

7. Sintesi proteica

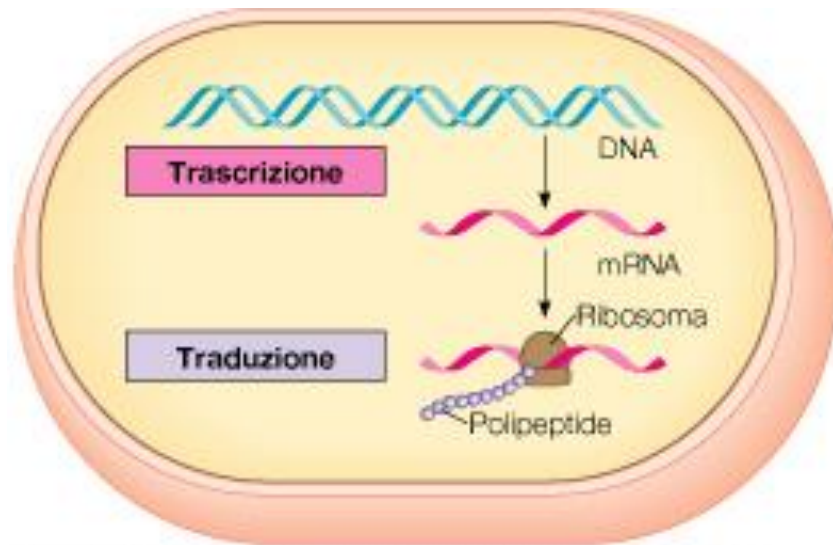
8. Mutazioni

9. Folding

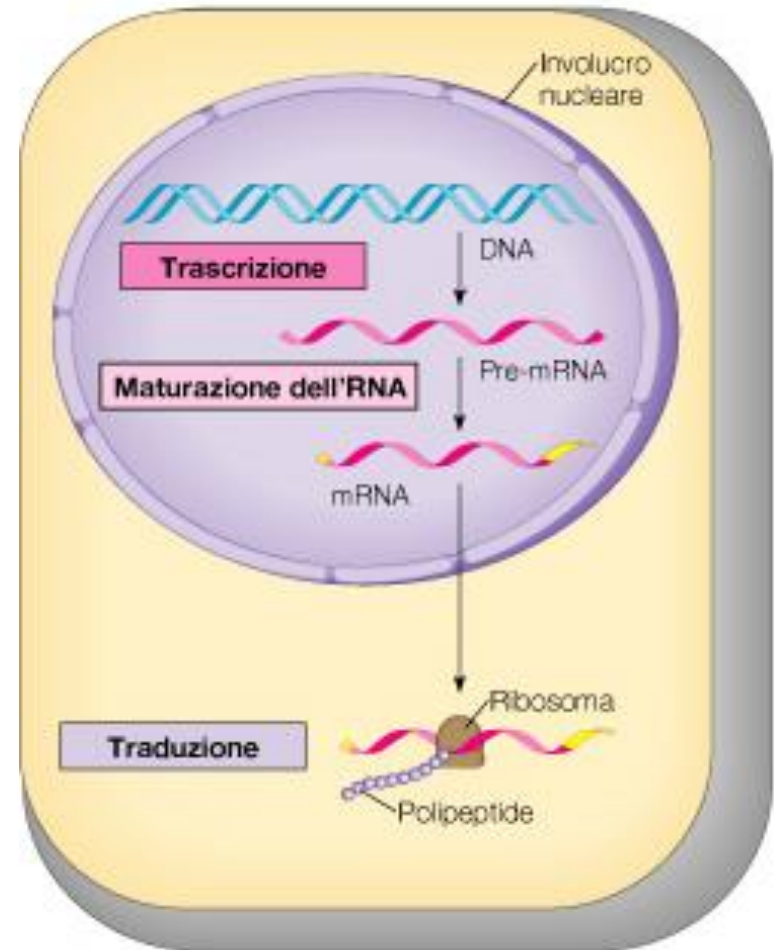
10. Controllo dell'espressione genica



Il trasferimento dell'informazione dal DNA alle proteine

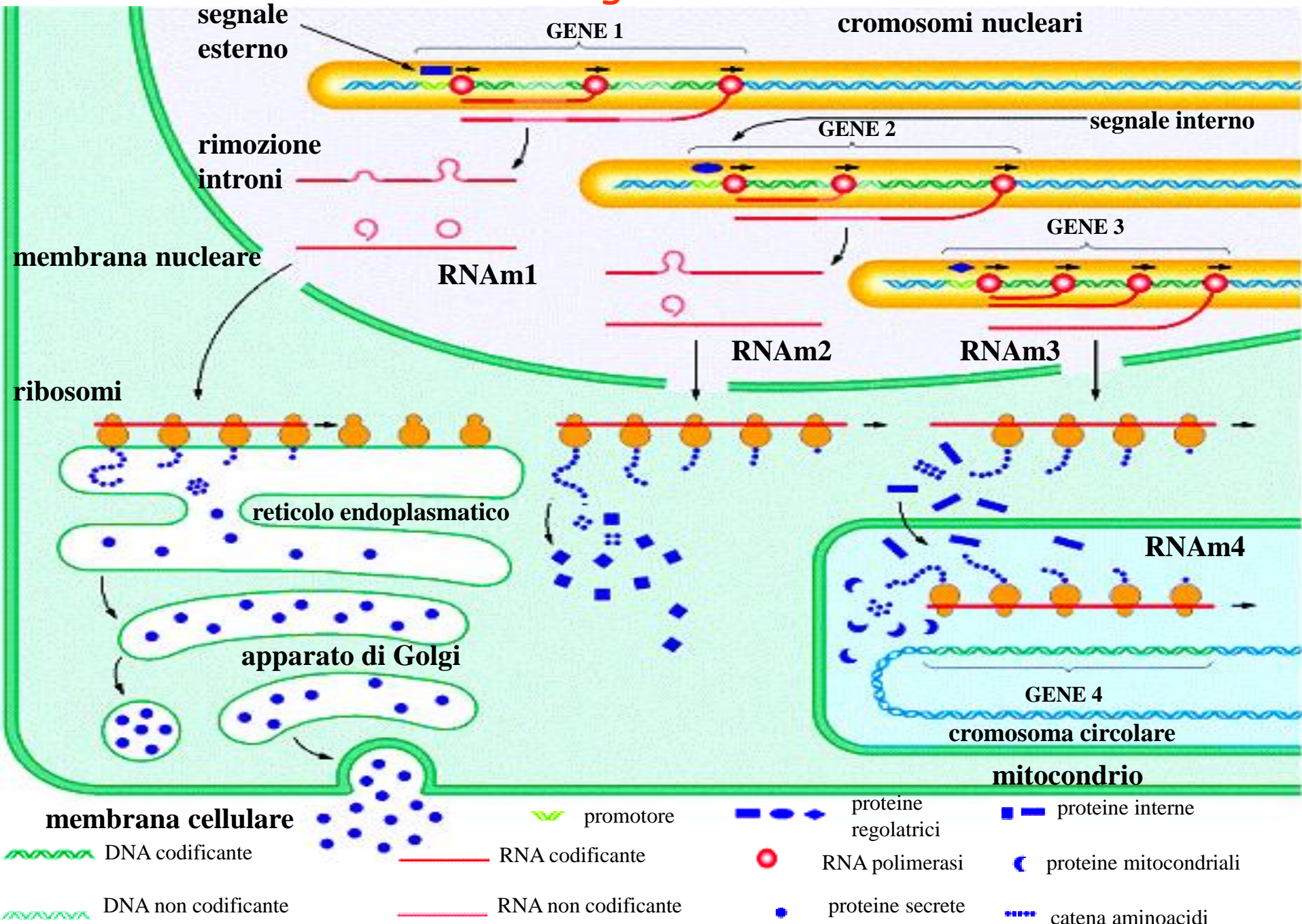


(a) Cellula procariotica. In una cellula sprovvista di nucleo, l'mRNA prodotto dalla trascrizione è immediatamente tradotto senza subire ulteriori modificazioni.



(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.

Schema dell'azione di un gene in una cellula eucariotica



TRADUZIONE

1. Flusso dell'informazione genetica

2. Codice genetico

3. Ribosomi

4. Nucleolo ed rRNA

5. tRNA

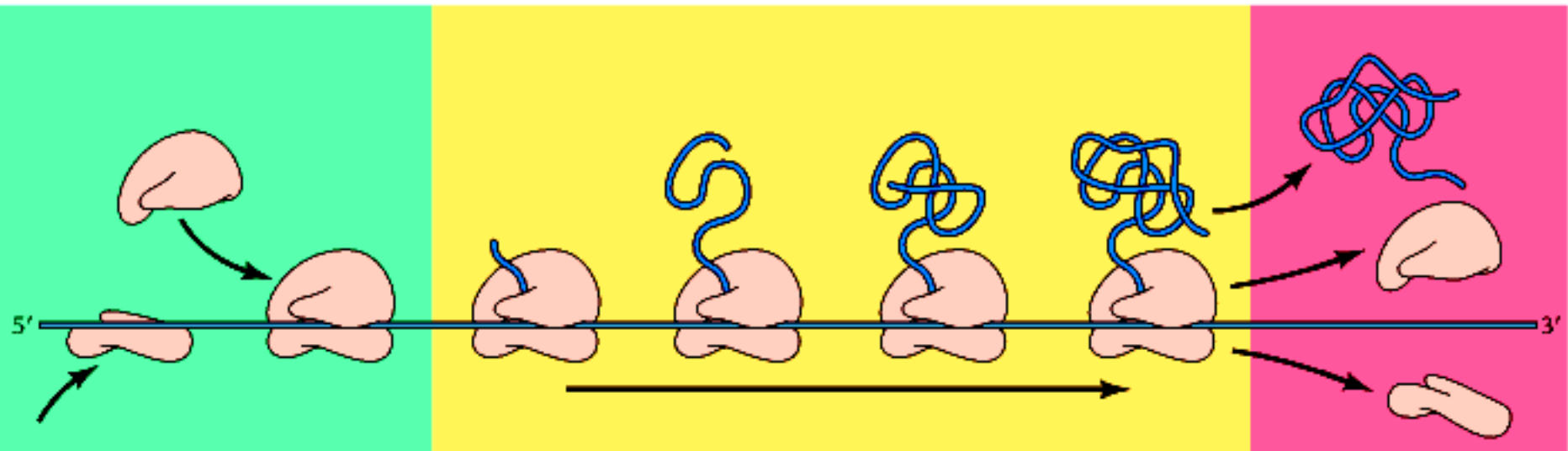
6. Ribosomi: sito della sintesi

7. Sintesi proteica

8. Mutazioni

9. Folding

10. Controllo dell'espressione genica



IL CODICE GENETICO

I linguaggi possono essere di diverso tipo.....

la biologia molecolare è...



• — • — • • • — • — • •

细胞生物学乐趣无穷

TTCGAGCGACCTAACCTATAG

Phe Glu Arg Pro Asn Leu STOP

Le basi A,G,C,T si possono considerare come le **quattro lettere di un alfabeto** utilizzato per scrivere messaggi biologici nella struttura chimica del DNA

TRASCRIZIONE: mezzo per trasferire l'informazione piuttosto semplice da capire: DNA ed RNA sono chimicamente e strutturalmente simili; il DNA fa direttamente da stampo per la sintesi dell'RNA tramite l'appaiamento delle basi complementari. **Linguaggio e forma del messaggio non cambiano.**

TRADUZIONE: per convertire l'informazione dell'RNA in proteina bisogna tradurre l'informazione in **un altro linguaggio** espresso in simboli diversi.

IL CODICE GENETICO

le regole per tradurre la sequenza nt del gene in seq aa di una pt

mRNA: 4 tipi di nucleotidi

proteine: 20 tipi di aminoacidi

Quindi la traduzione non può avvenire facendo corrispondere direttamente 1 nt dell'RNA a 1 aa della pt

Poiché 20 aa devono essere specificati da soli 4 nt, almeno 3 nt devono essere usati per codificare ciascun aa

nt per codone	codoni
1	4
2	$4^2=16$
3	$4^3=64$

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

Il codice genetico è

- Degenerato: molti aa sono specificati da più di un codon.
- Universale: Quasi tutti gli organismi utilizzano lo stesso codice

Dei 64 codon (triplette), 61 specificano un aa, mentre i rimanenti 3 sono codon di stop

IL CODICE GENETICO

Seconda lettera

Prima lettera

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

Terza lettera

IL CODICE GENETICO E' DEGENERATO

TRADUZIONE

1. Flusso dell'informazione genetica

2. Codice genetico

3. Ribosomi

4. Nucleolo ed rRNA

5. tRNA

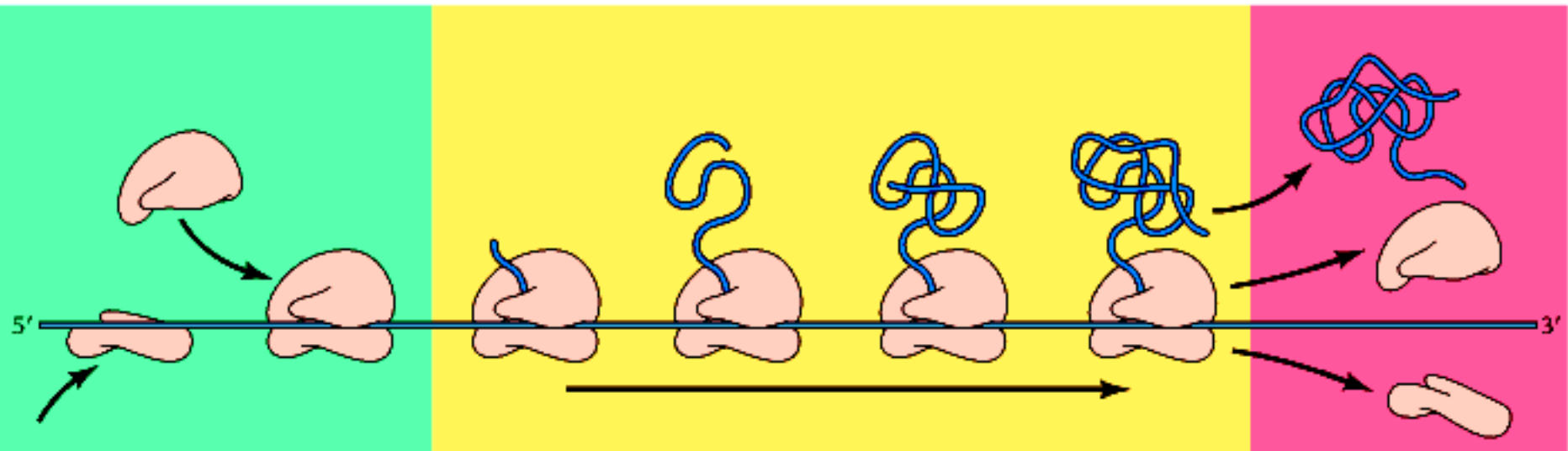
6. Ribosomi: sito della sintesi

7. Sintesi proteica

8. Mutazioni

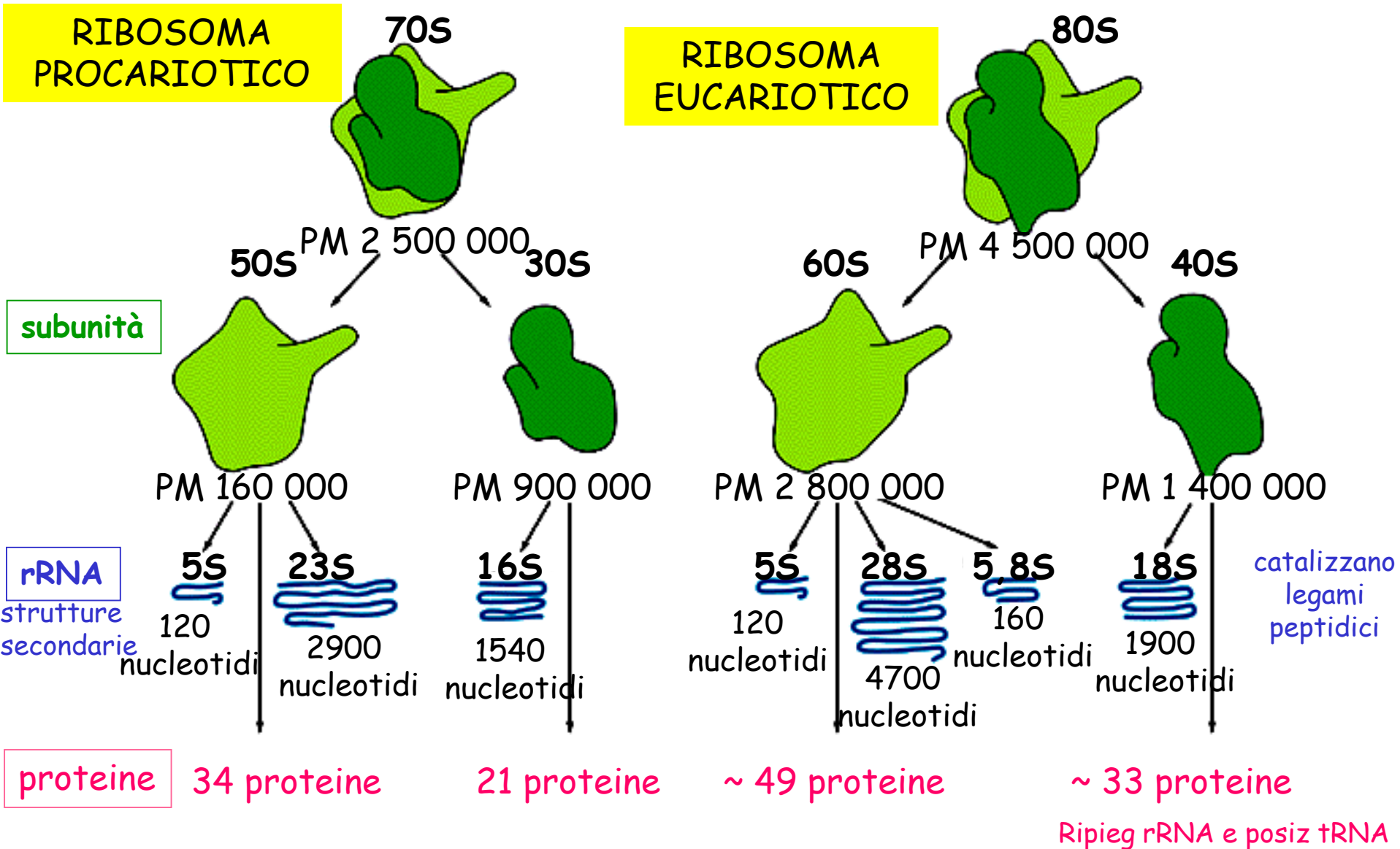
9. Folding

10. Controllo dell'espressione genica



I RIBOSOMI

I ribosomi sono i siti della sintesi proteica. Denominati secondo la loro velocità di sedimentazione: 70S batterici; 80S eucariotici



TRADUZIONE

1. Flusso dell'informazione genetica

2. Codice genetico

3. Ribosomi

4. Nucleolo ed rRNA

5. tRNA

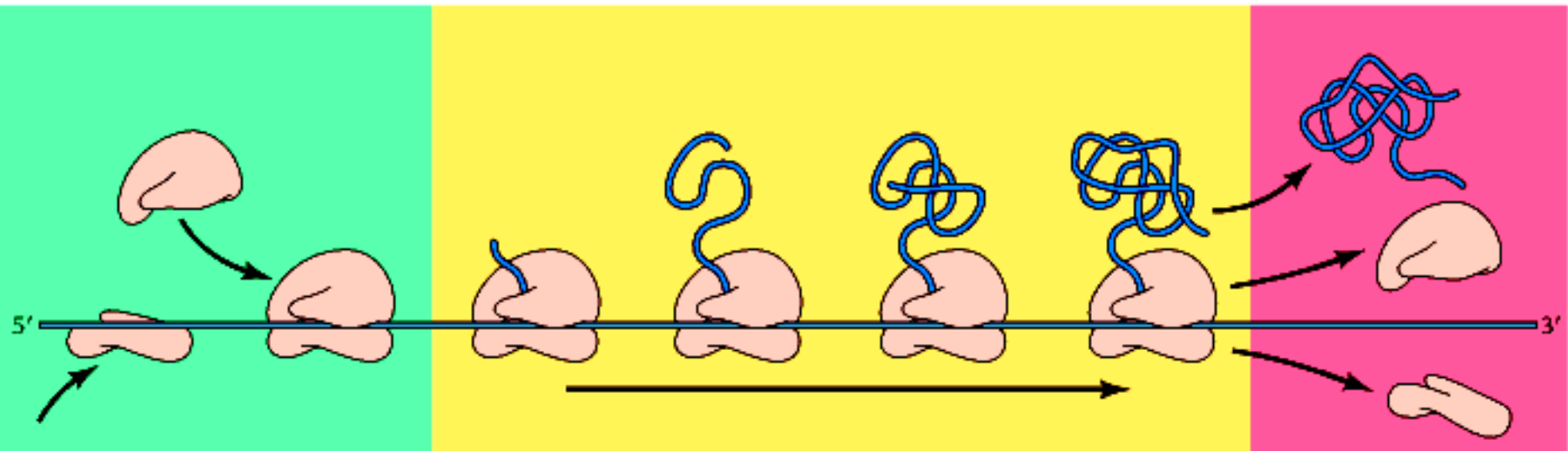
6. Ribosomi: sito della sintesi

7. Sintesi proteica

8. Mutazioni

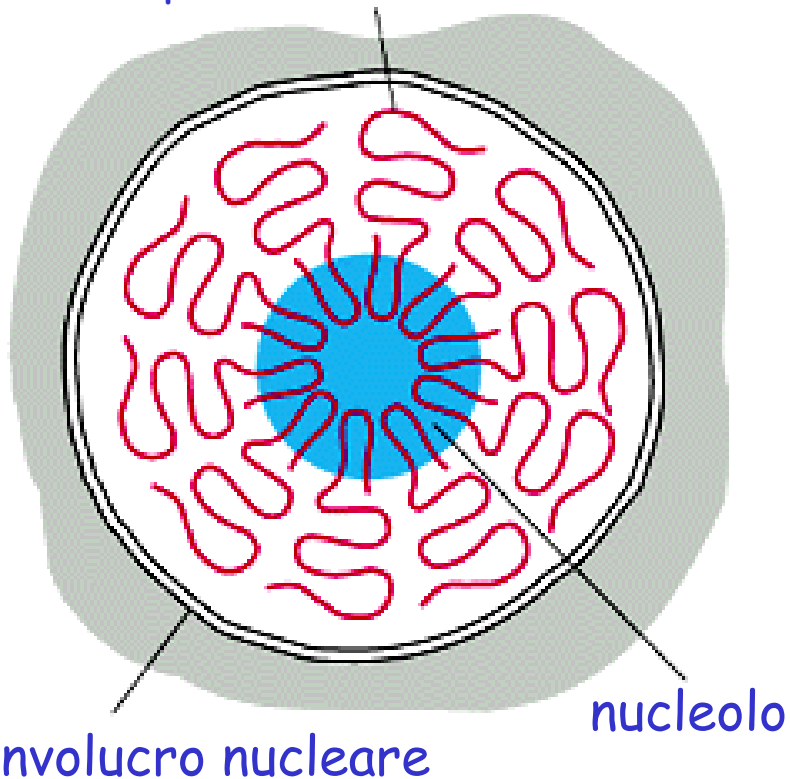
9. Folding

10. Controllo dell'espressione genica



IL NUCLEOLO E' UNA MACCHINA CHE PRODUCE I RIBOSOMI

10 cromosomi interfascici forniscono al nucleolo le anse di DNA che producono rRNA



•La struttura più evidente all'interno del nucleo è il

nucleolo:

il sito di trascrizione e di processazione dell'rRNA e di assemblaggio dei ribosomi

che all'interno della cellula sono necessari in grande quantità

•Il nucleolo non ha membrana

•E' organizzato intorno alle regioni cromosomiche che contengono i geni degli rRNA 5.8S, 18S e 28E.

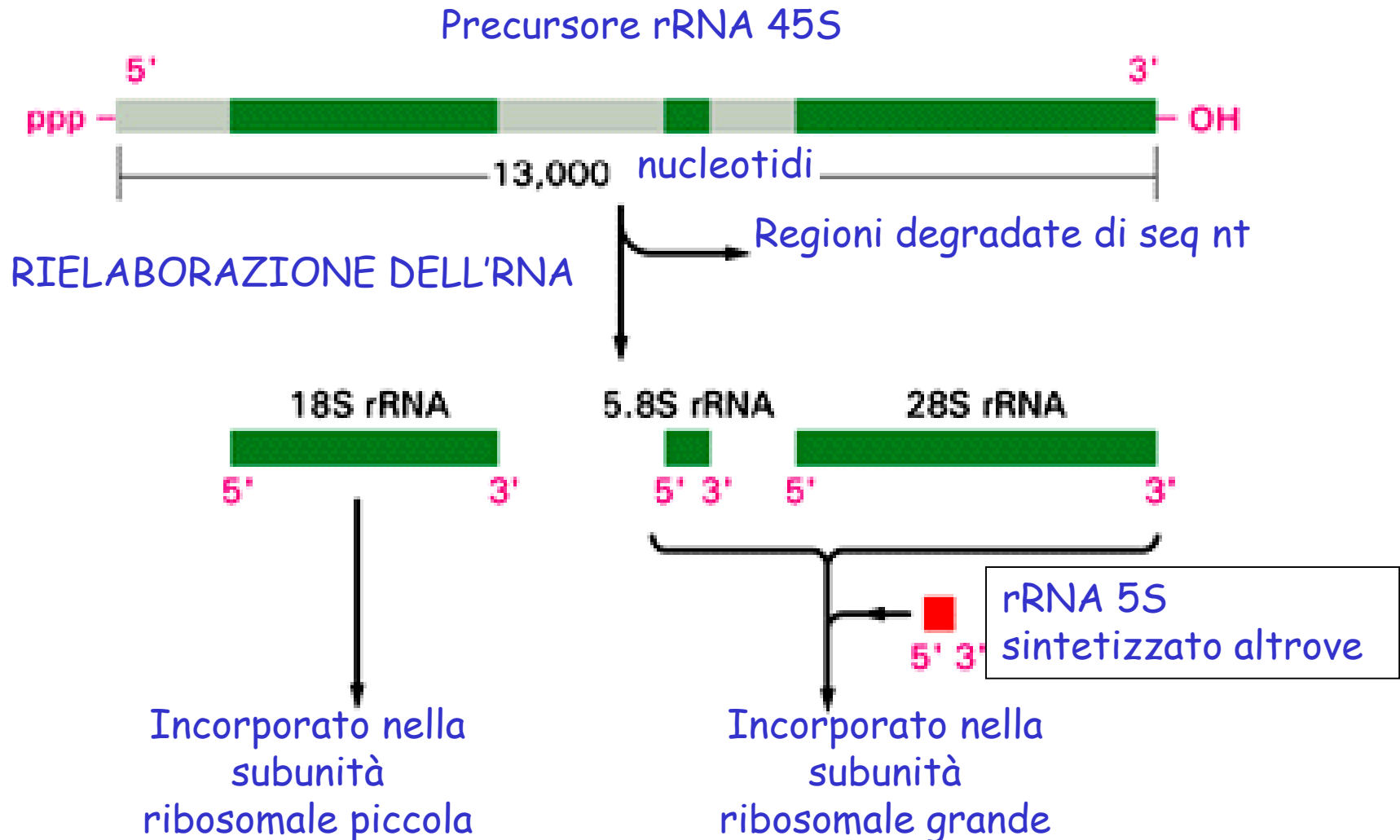
Per soddisfare la necessità di trascrivere grandi quantità di molecole di rRNA, ci sono **copie multiple** dei geni degli rRNA (Uomo: 200 copie)

Geni degli rRNA 5.8S, 18S e 28S: sono raggruppati in serie in tandem su 5 **cromosomi umani diversi** (13,14,15,21,22)

Geni dell'rRNA 5S sono presenti in una singola serie in tandem sul cromosoma 1

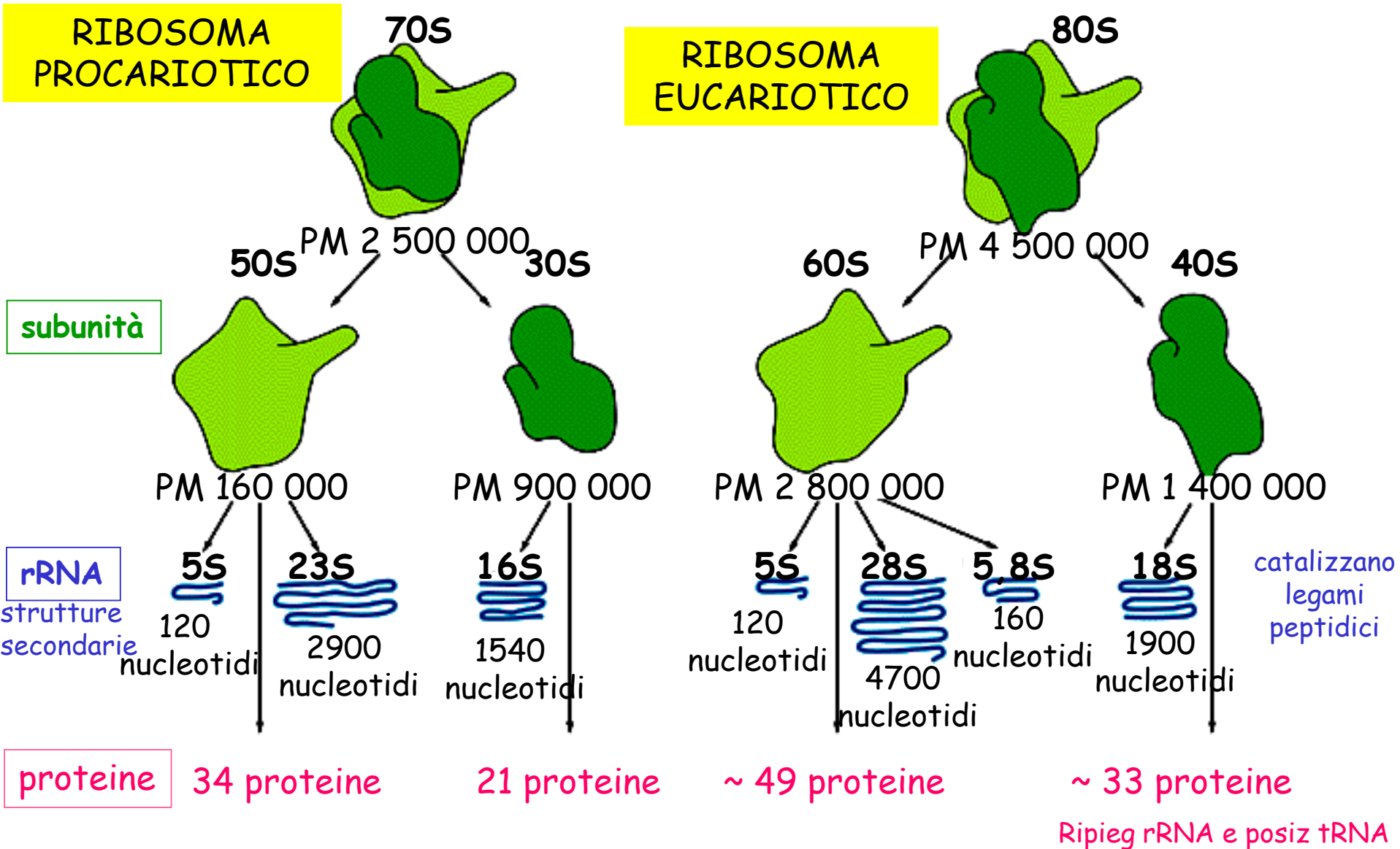
Trascrizione degli RNA ribosomali

Gli rRNA **5.8S**, **18S** e **28S** sono trascritti come una singola unità dentro il nucleolo dalla RNA pol I, producendo un RNA precursore 45S che poi viene processato per dare i 3 rRNA. Nell'assemblaggio del ribosoma mancherebbe il **5S** che viene trascritto al fuori dal nucleolo dalla RNA pol III



I RIBOSOMI

I ribosomi sono i siti della sintesi proteica. Denominati secondo la loro velocità di sedimentazione: 70S batterici; 80S eucariotici



ASSEMBLAGGIO DEI RIBOSOMI

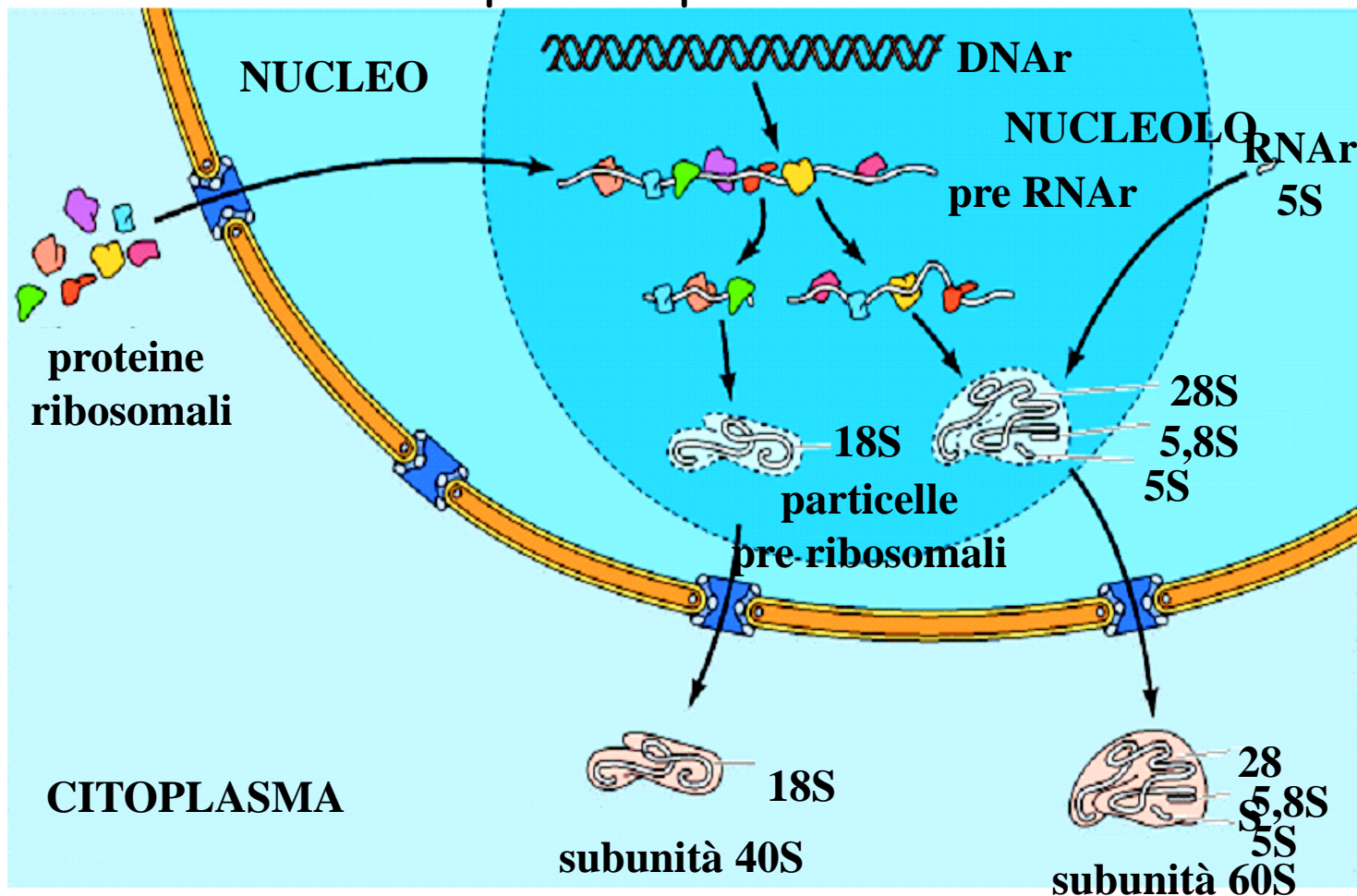
La formazione dei ribosomi coinvolge l'assemblaggio dell'RNA ribosomale precursore sia con **proteine ribosomali** che con **rRNA 5S**:

RNA 5S:

- **trascritti** fuori dal nucleolo dalla RNA pol III
- **assemblato** in particelle preribosomali all'interno del nucleolo

proteine ribosomali:

1. **trascritte** fuori dal nucleolo dalla RNA pol II
2. **tradotte** dai ribosomi citoplasmatici
3. **trasportate** dal citoplasma al nucleolo, dove sono assemblate con rRNA per formare particelle preribosomali.



Le fasi finali della maturazione dei ribosomi seguono l'**esportazione** delle particelle preribosomali nel citoplasma per formare le subunità 40S e 60S attive dei ribosomi eucariotici

TRADUZIONE

1. Flusso dell'informazione genetica

2. Codice genetico

3. Ribosomi

4. Nucleolo ed rRNA

5. tRNA

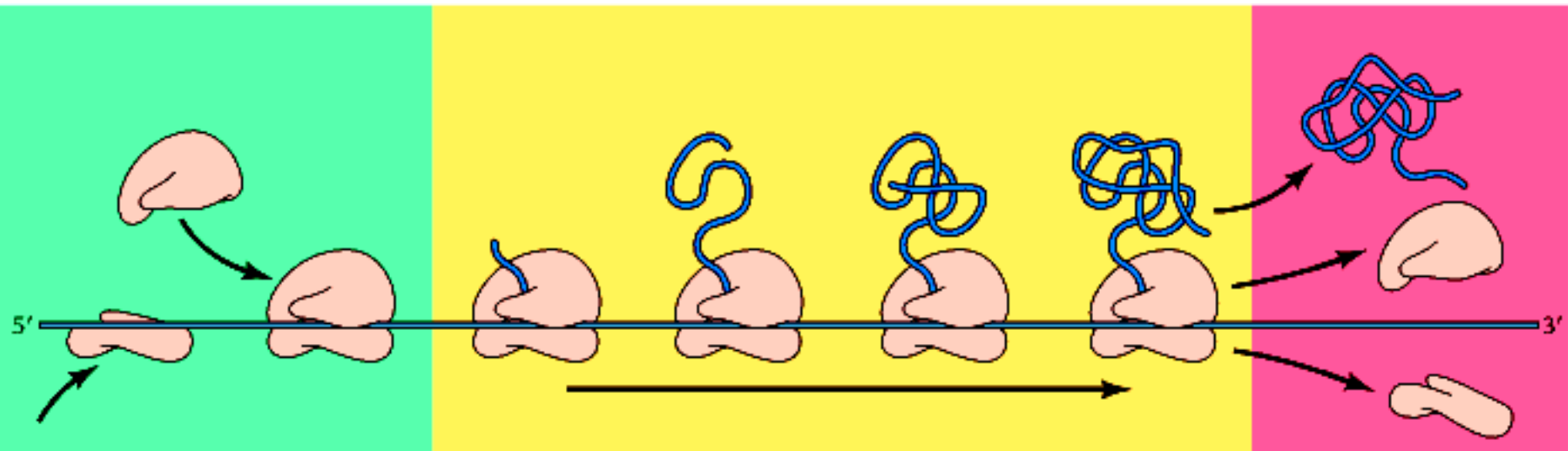
6. Ribosomi: sito della sintesi

7. Sintesi proteica

8. Mutazioni

9. Folding

10. Controllo dell'espressione genica



La traduzione: il processo di sintesi proteica

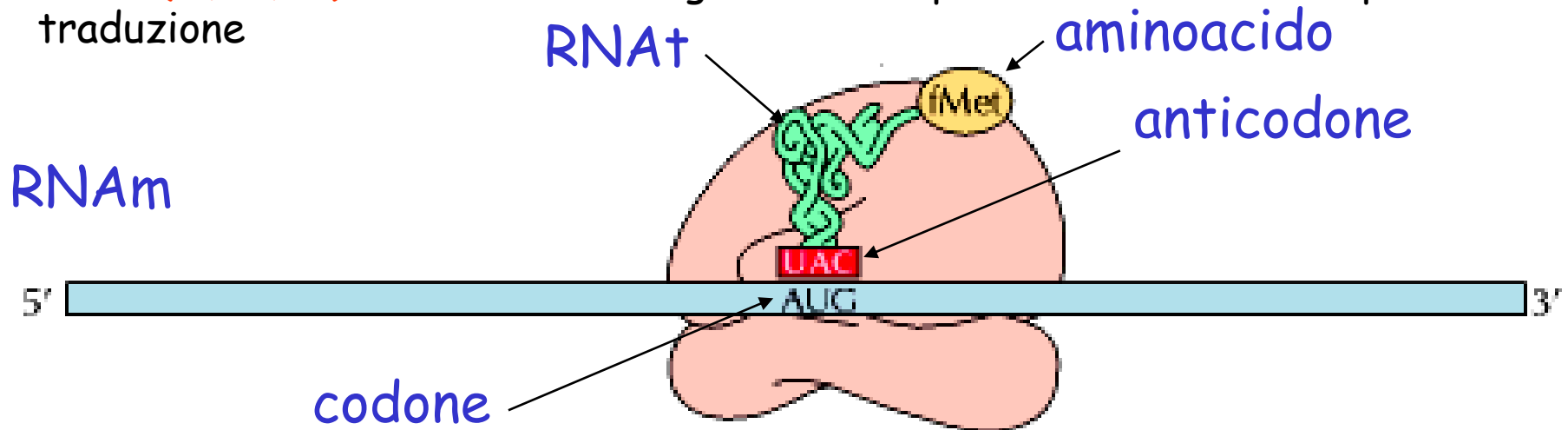
Le proteine sono sintetizzate da stampi di mRNA mediante il processo della **traduzione**

Tutti gli mRNA sono letti in **direzione 5'-3'** e le catene polipeptidiche sono sintetizzate **dall'N-term al C-term**

Ciascun aa è specificato da 3 basi (un codone) dell'mRNA, secondo un codice genetico quasi universale

La traduzione si svolge sui **ribosomi** utilizzando i **tRNA** come adattatori tra lo stampo di mRNA e gli aa che vengono incorporati nella proteina

La sintesi proteica comporta quindi interazioni fra **3 tipi di molecole di RNA (m, r, t)** oltre a coinvolgere varie proteine necessarie per la traduzione



RNA transfert (tRNA)

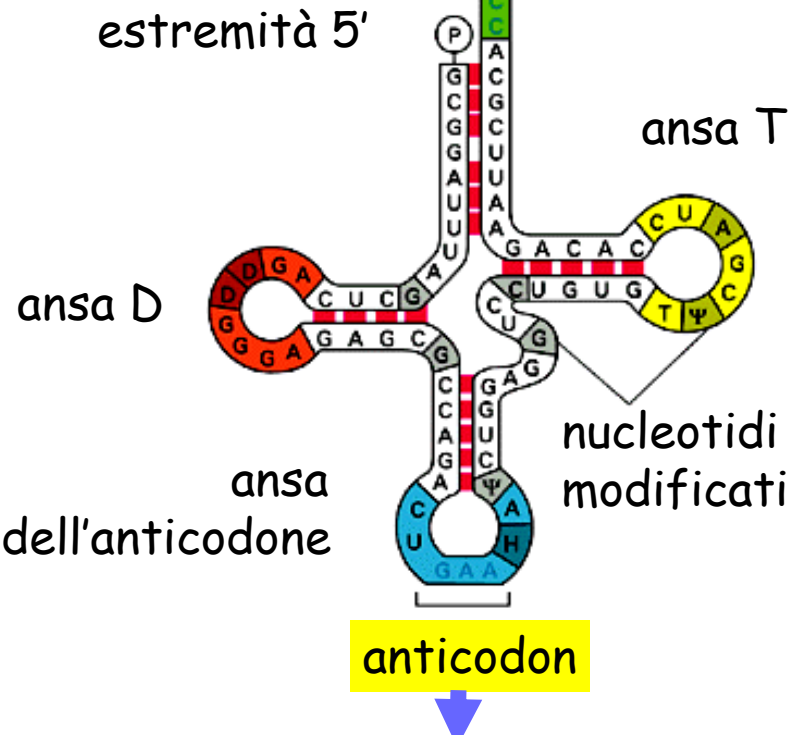
Tutti i tRNA hanno la sequenza CCA al loro terminale 3' e gli aa sono attaccati

l'aminoacido si attacca qui

OH estremità 3' →

covalentemente al ribosio dell'adenosina terminale

I tRNA sono lunghi approssimativamente 70-80 nt e hanno una caratteristica **struttura a trifoglio** prodotta dall'**accoppiamento complementare di basi** fra regioni diverse della molecola.



Lo stampo di mRNA viene quindi riconosciuto dall'ansa dell'anticodon, posta all'altra estremità del tRNA ripiegato, che si lega al codon appropriato per appaiamento complementare delle basi

RNA transfert:

adattatori che allineano ciascun aa con il codon corrispondente sullo stampo di mRNA

l'aminoacido si attacca qui

estremità 5'

OH estremo 3'

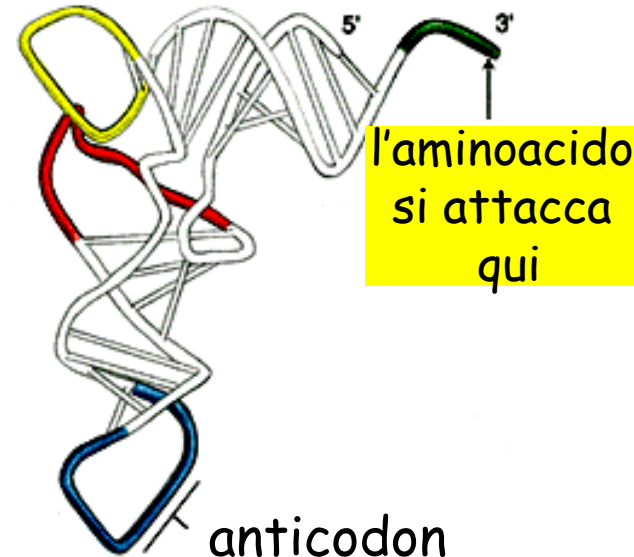
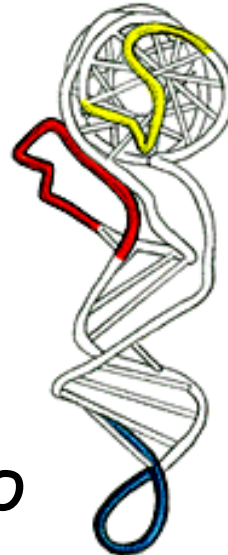
ansa T

ansa D

ansa dell'anticodone

nucleotidi modificati

anticodon



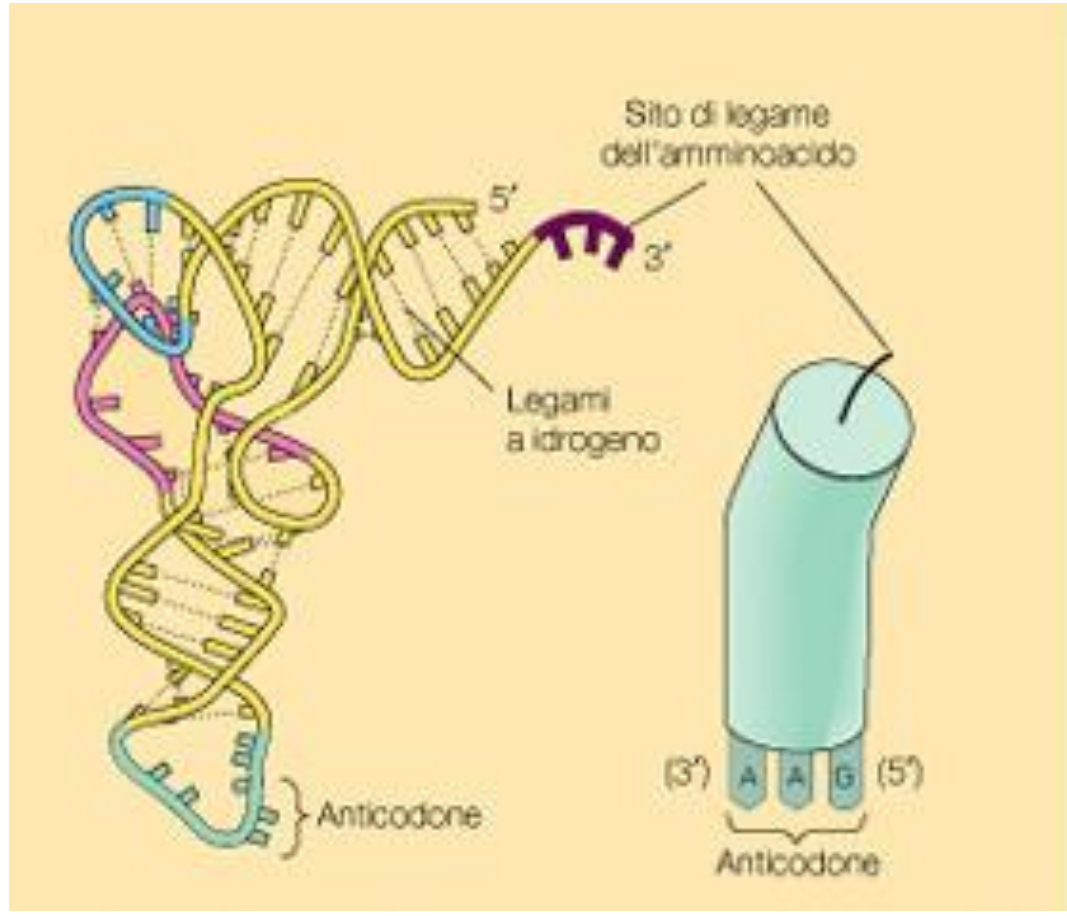
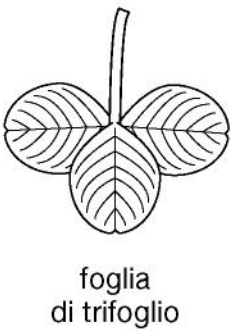
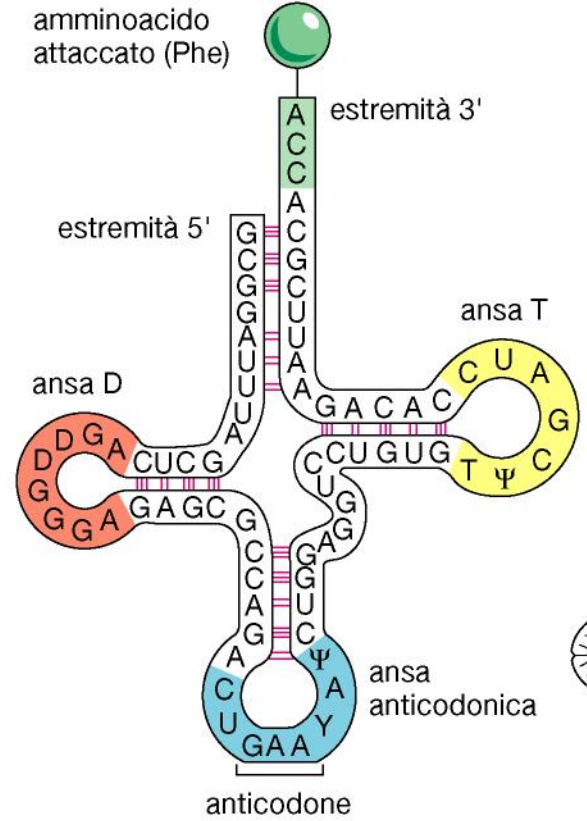
l'aminoacido si attacca qui

anticodon

LA STRUTTURA A TRIFIGLIO

La funzione adattatrice dei tRNA coinvolge due regioni separate della molecola

RNA transfert



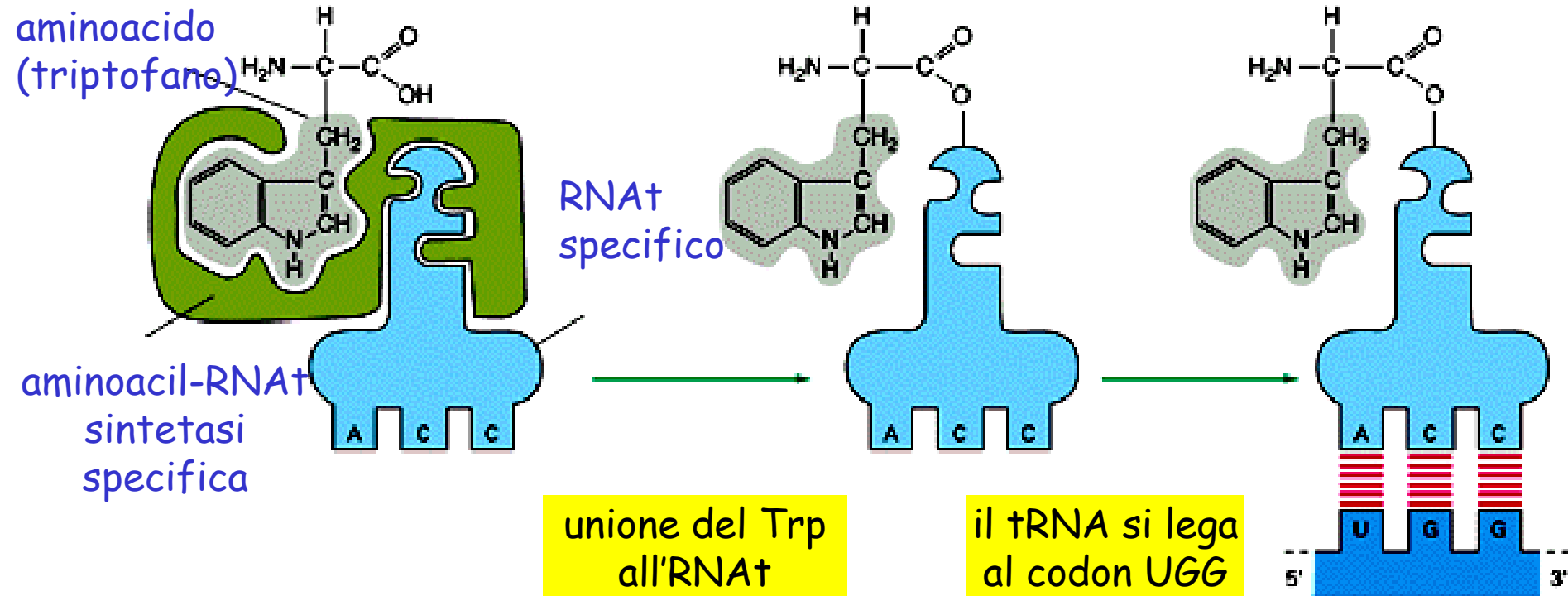
- L'incorporazione degli aa corretti nelle proteine dipende:
1. Dall'attacco di ciascun aa al tRNA appropriato
 2. Dalla specificità dell'accoppiamento delle basi codon-anticodon

Attacco degli aa ai tRNA

L'attacco degli aa a tRNA specifici è mediato da un gruppo di enzimi chiamati **aminoacil-tRNA-sintasi**. Ognuno di essi riconosce il singolo aa e il tRNA corretto (o più tRNA corretti) a cui deve essere attaccato l'aa.

La reazione procede in 2 fasi:

1. L'aa viene attivato dalla reazione con ATP a formare un **intermedio aminoacil-AMP**
2. L'aa attivato viene quindi **unito al terminale 3' del tRNA**

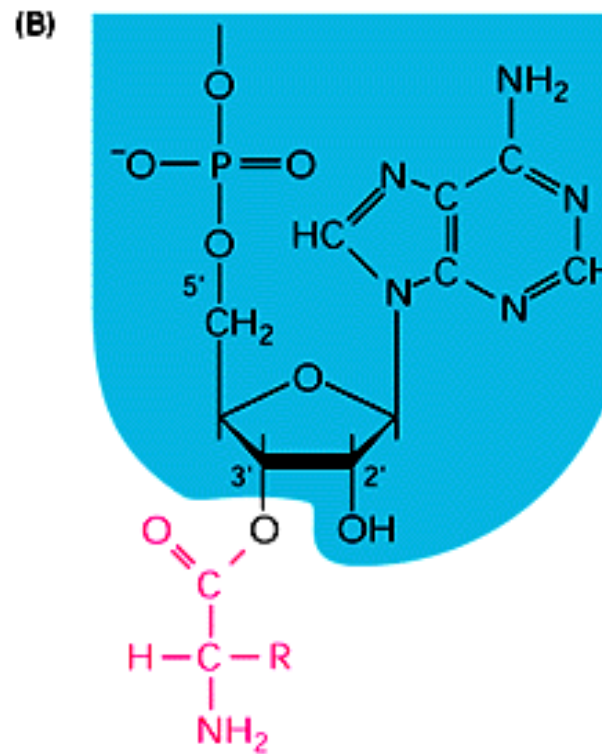
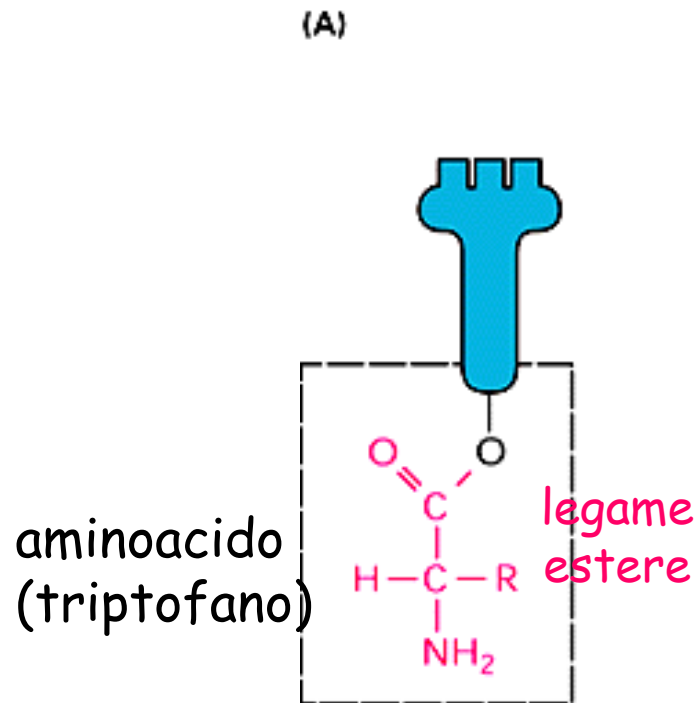


Attacco degli aa ai tRNA

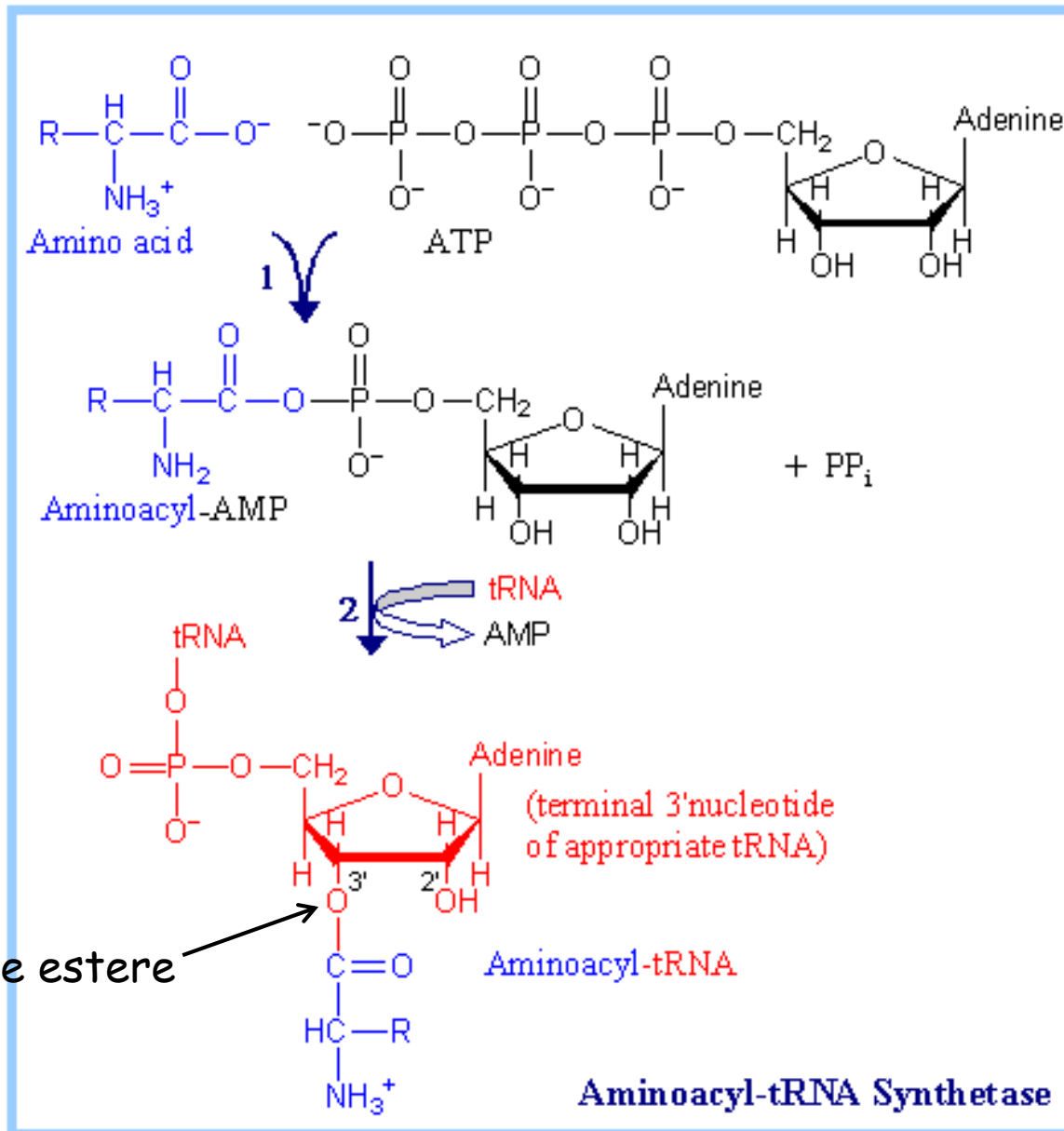
La struttura del legame aminoacil-tRNA:

L'estremità COOH dell'aminoacido forma un legame estere con il $3'\text{OH}$ libero del ribosio dell'adenosina terminale che fa parte del (CCA).

Poiché l'idrolisi di questo legame è associata a una variazione di energia libera molto alta, si dice che un aminoacido legato in questo modo è **attivato**.



Attacco degli aa ai tRNA



Adenilazione dell'ATP
(aminoacido adenilato)

Trasferimento
dell'amminoacido
denilato al tRNA

legame estere

L'anticodone vacilla

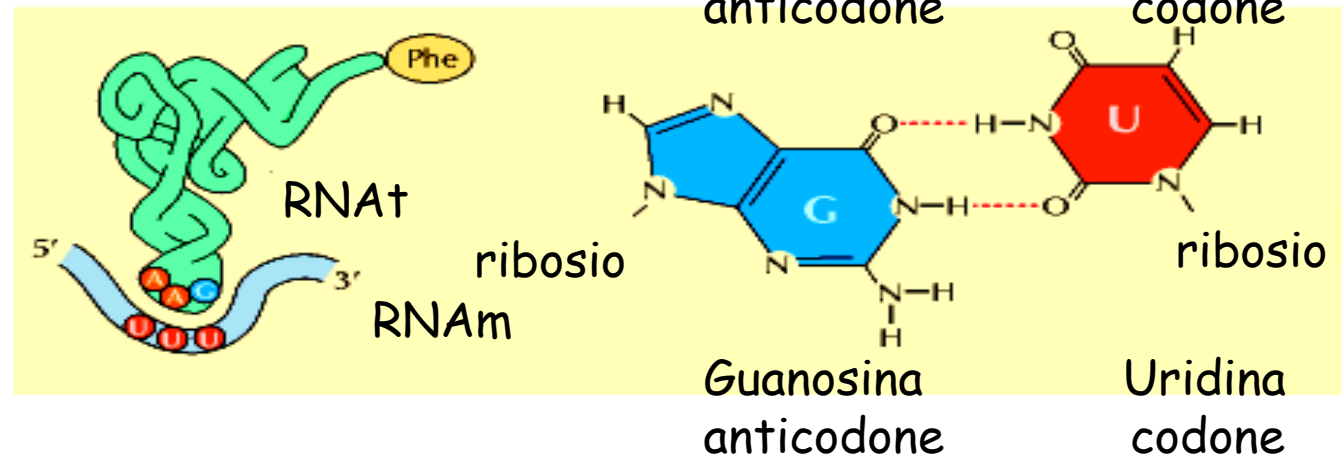
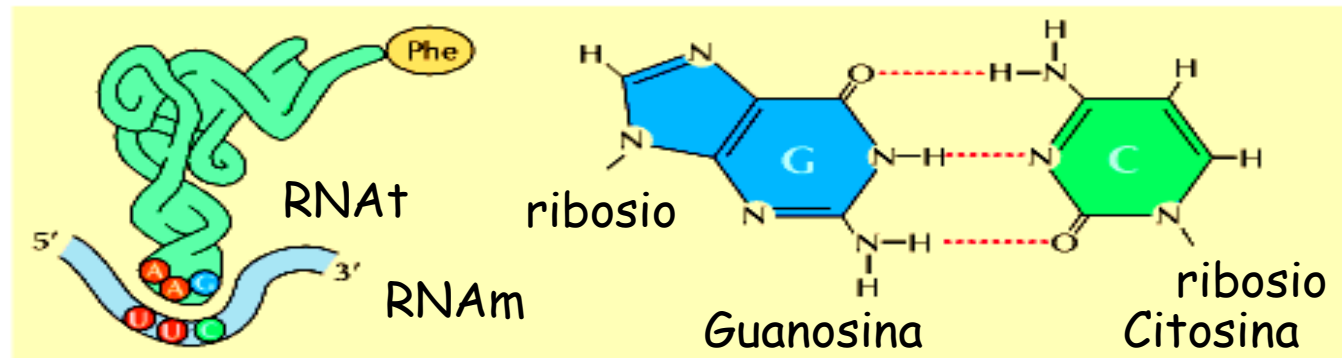
L'appaiamento codon-anticodon è un po' meno preciso dell'appaiamento standard AU e GC. Il significato di questo appaiamento insolito è legato alla **ridondanza** del codice genetico

La maggior parte degli aa è codificata da più di un codon

Alcuni tRNA sono capaci di **riconoscere più di un codon** dell'mRNA come risultato dell'appaiamento non standard delle basi fra l'anticodon del tRNA e la **terza posizione** di alcuni codoni complementari

Appaiamento non standard del **fenilalanina tRNA:**

L'appaiamento rilassato in terza posizione permette a G di appaiarsi con U



IL CODICE GENETICO

Seconda lettera

Prima lettera

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

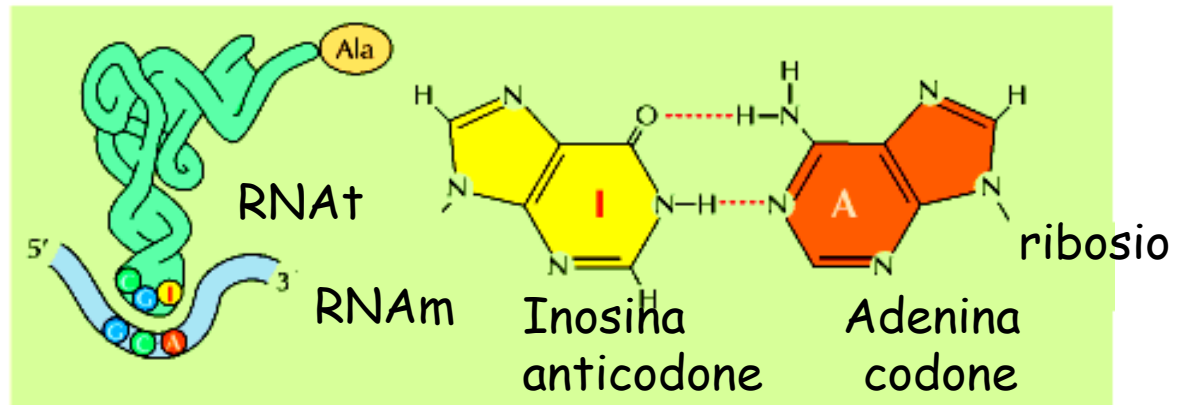
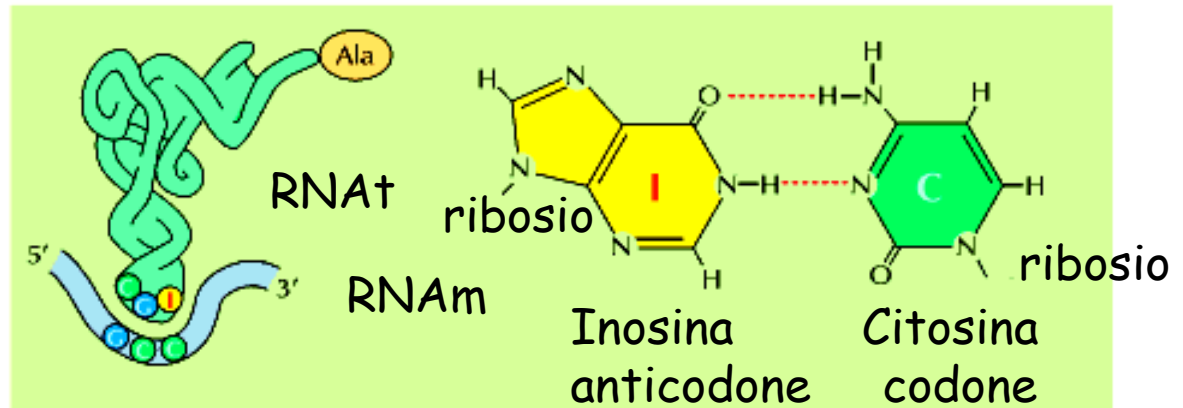
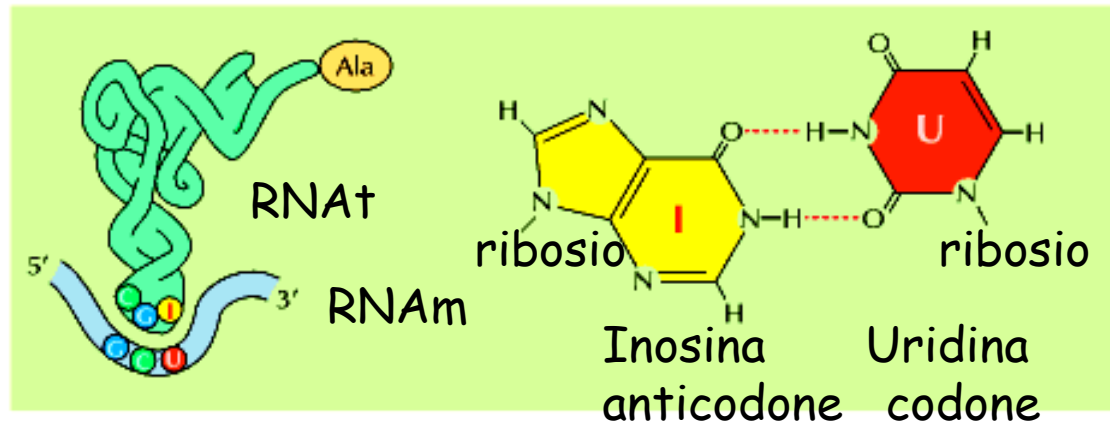
Terza lettera

IL CODICE GENETICO E' DEGENERATO

L'anticodone vacilla

Appaiamento non standard dell'**alanina-tRNA**

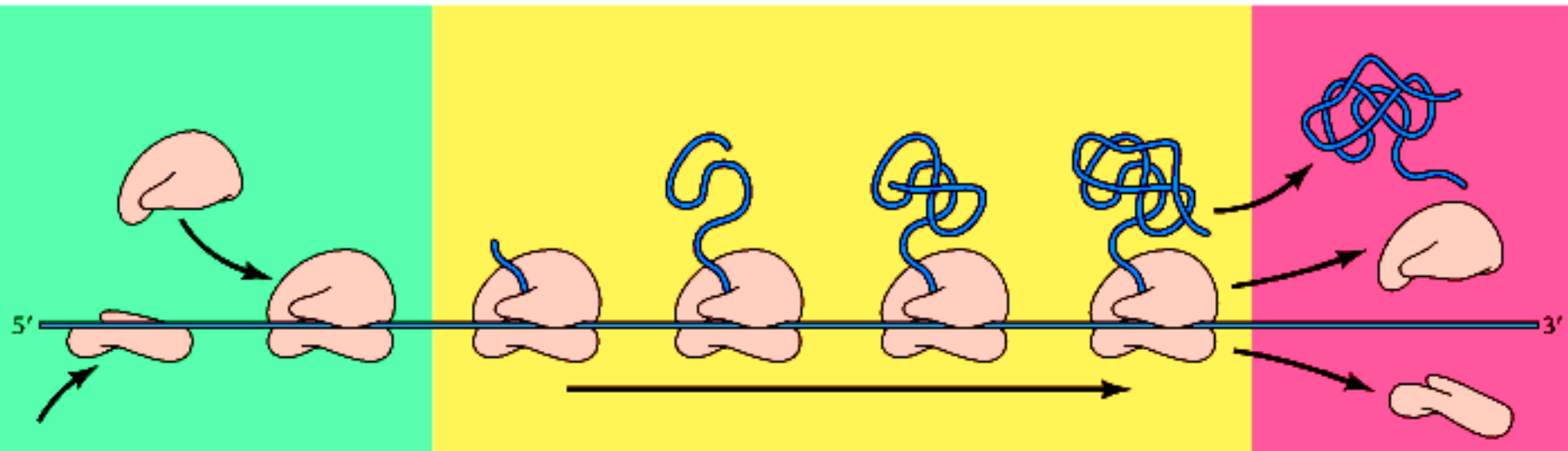
L'appaiamento rilassato in terza posizione permette a I di appaiarsi con U, C, A



TRADUZIONE

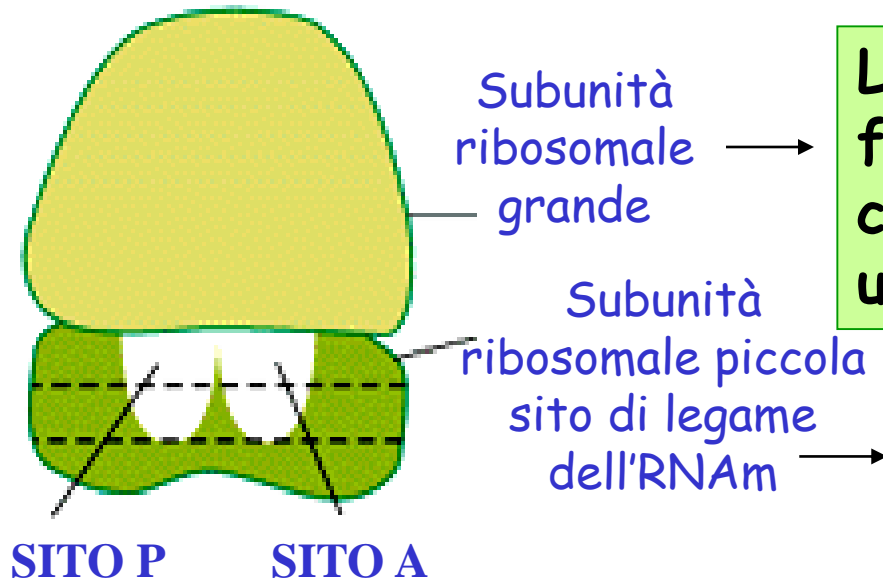
1. Flusso dell'informazione genetica
2. Codice genetico
3. Ribosomi
4. Nucleolo ed rRNA
5. tRNA

6. Ribosomi: sito della sintesi
7. Sintesi proteica
8. Mutazioni
9. Folding
10. Controllo dell'espressione genica



Ribosomi: sito della sintesi proteica

Ribosoma: macchina utensile per la fabbricazione delle proteine



La subunità maggiore catalizza la formazione dei legami peptidici che uniscono gli aa tra di loro in una catena polipeptidica

La subunità minore accoppia i tRNA ai codoni dell'mRNA

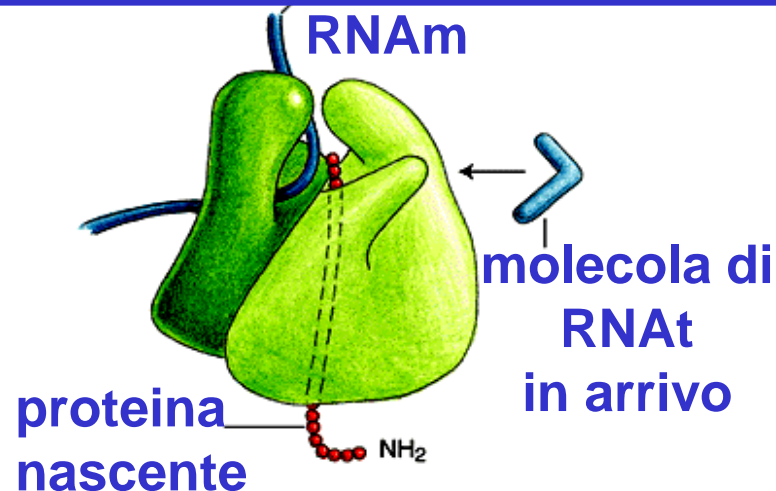
Il ribosoma:

- percorre la catena dell'mRNA
- capta le molecole di tRNA complementari
- le posiziona in modo che gli aa trasportati possano essere uniti covalentemente in una catena proteica

Ribosomi: sito della sintesi proteica

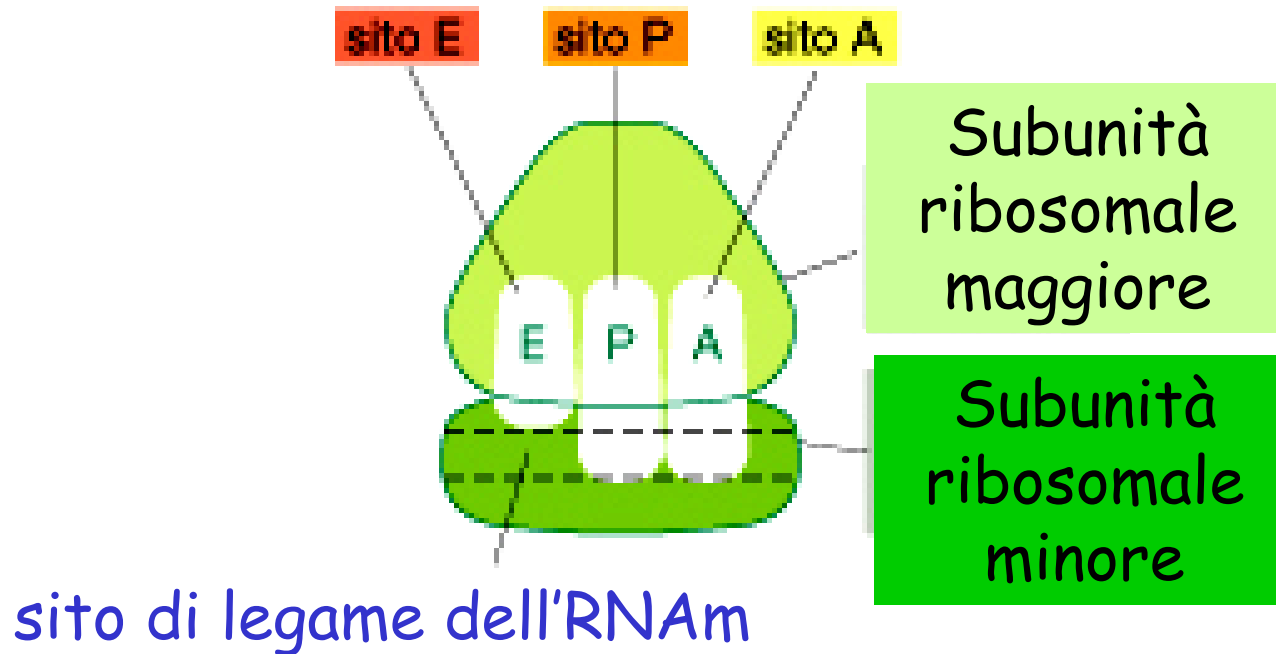
- 1 Le 2 subunità **si associano** su una molecola di mRNA, all'estremità 5' e cominciano a sintetizzare la proteina
- 2 Il **ribosoma scorre** sull'mRNA, traducendo la seq nucleotidica un codone alla volta, usando i tRNA come adattatori per aggiungere ogni aa nel posto che gli compete a un capo della catena polipeptidica in costruzione

Modello di ribosoma funzionante



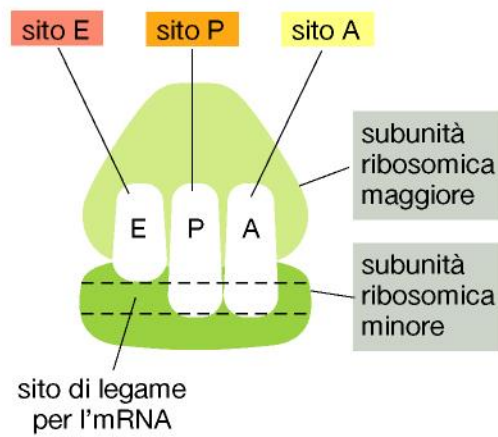
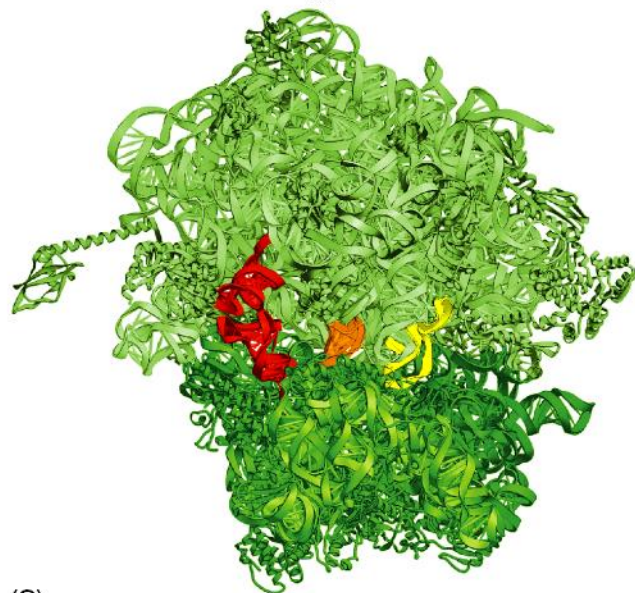
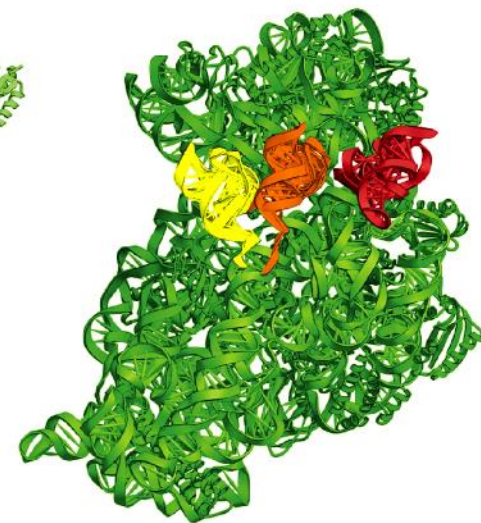
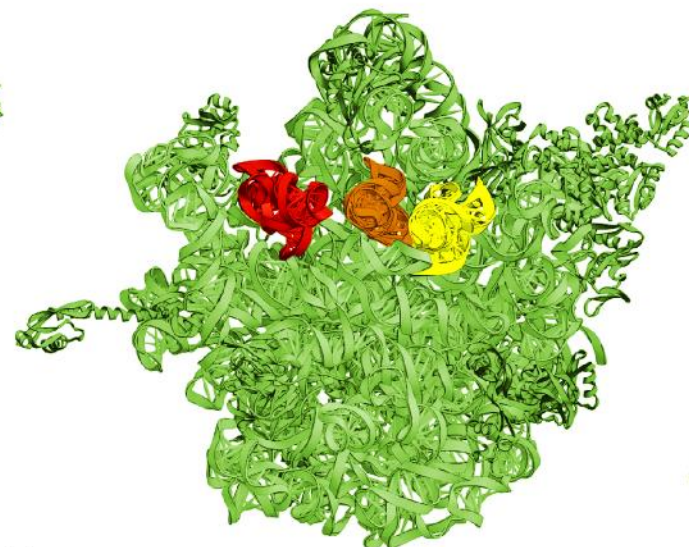
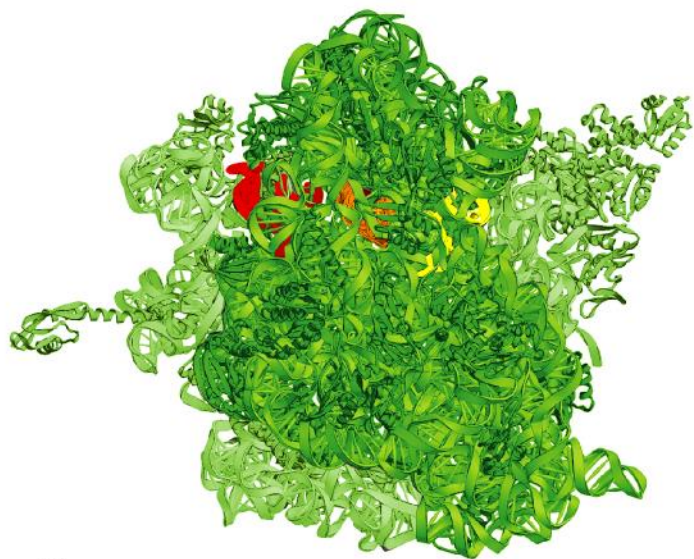
- 3 Le 2 subunità ribosomiche finiscono poi per **separarsi** quando la sintesi della pt è terminata

Ribosoma: i tre siti di legame dei tRNA



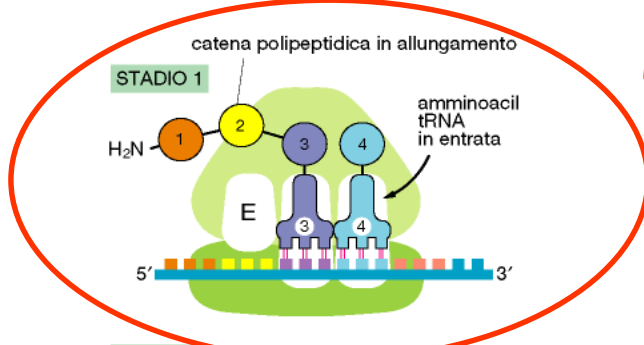
Ogni ribosoma contiene 3 siti di legame per le molecole di tRNA, noti come:

1. **Sito A:** sito dell'aminoacil-tRNA
2. **Sito P:** sito del peptidil t-RNA
3. **sito E:** uscita



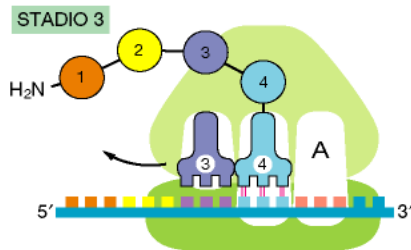
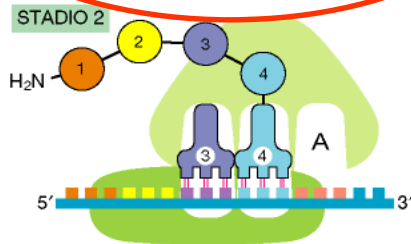
(D)

La molecola di mRNA viene tradotta in un processo ciclico a tre stadi.

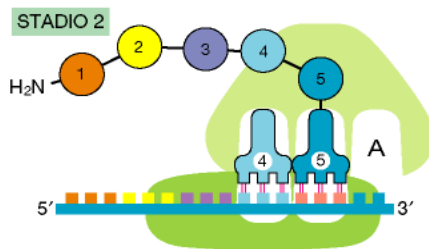
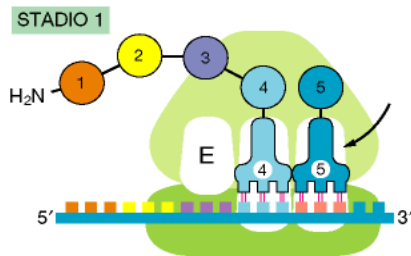


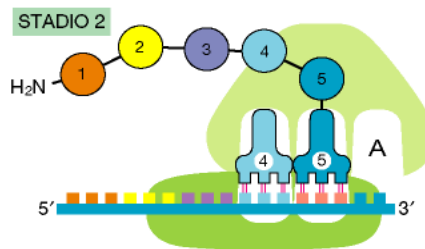
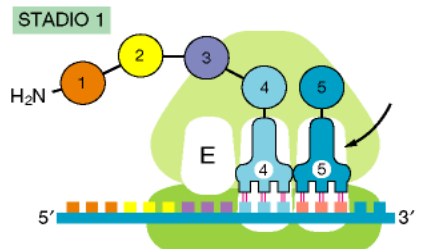
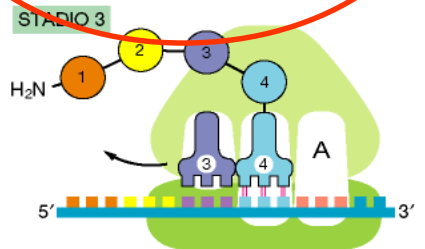
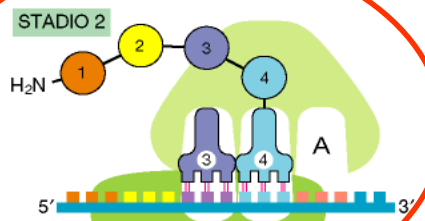
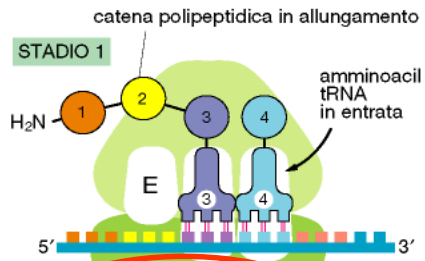
Stadio 1:

Una molecola di amminoacil-tRNA si lega al sito A libero. Riconoscimento codone-anticodone



Un tRNA, caricato con l'aa successivo della catena, si associa al sito A vacante, abbinando le basi del suo anticodone al codone dell'mRNA esposto allo stesso sito A





Stadio 2:

Formazione di un nuovo legame peptidico, grazie all'attività catalitica dell'enzima peptidil transferasi

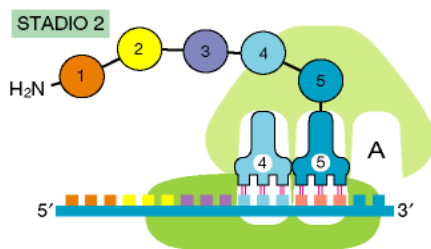
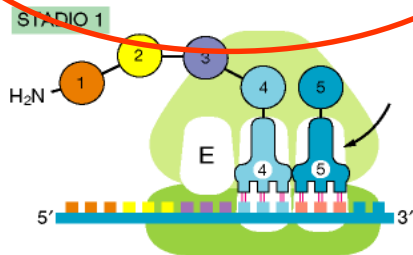
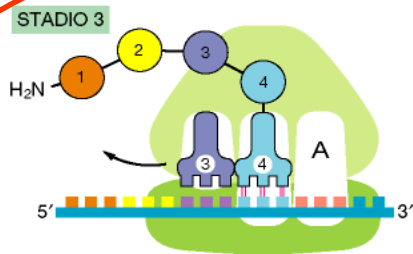
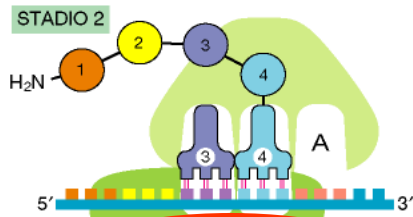
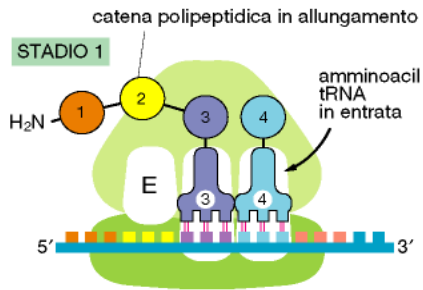
Il C-term della catena polipeptidica **si distacca dal tRNA sul sito P**, per rottura del legame tra il tRNA e il suo aa

e si unisce con un legame peptidico al gruppo amminico libero dell'aa legato al tRNA sul sito A

L'enzima che catalizza questa reazione è la **peptidil-transferasi**, parte integrante del ribosoma

La reazione della peptidil transferasi è accompagnata da uno slittamento della subunità maggiore rispetto a quella minore, che di fatto rimane aderente all'RNA messaggero

Lo **slittamento sposta i 2 tRNA nei siti E e P** della subunità maggiore



Stadio 3:

mRNA slitta di un tratto lungo 3 nucleotidi all'interno della subunità minore

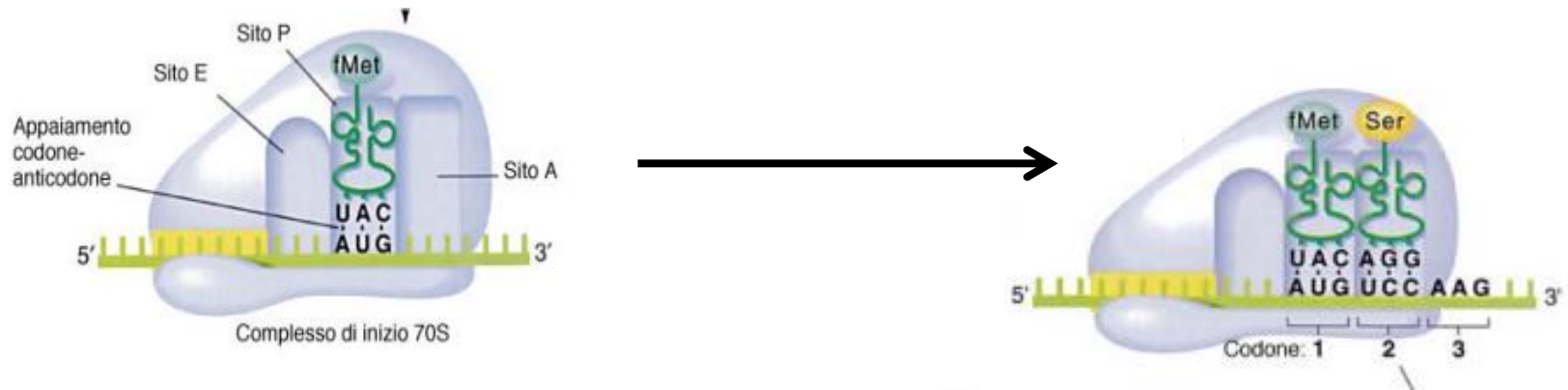
espellendo la molecola di tRNA utilizzata e riposizionando il ribosoma per consentire il legame della molecola successiva di tRNA

La **subunità minore scorre** esattamente di 3 nt lungo la molecola di mRNA, riportandola nella posizione in cui si trovava inizialmente **rispetto alla subunità maggiore**

e il tRNA rimasto al sito E **si dissocia**

L'intero **ciclo si ripete** fino a un codone di stop

La molecola di mRNA viene tradotta in un processo ciclico a tre stadi.



Stadio 1:

A. Una molecola di amminoacil-tRNA si lega al sito **P libero**.
Riconoscimento codone-anticodone

B. Un tRNA, caricato con l'aa successivo della catena, si **associa al sito A vacante**, abbinando le basi del suo anticodone al codone dell'mRNA esposto allo stesso sito A

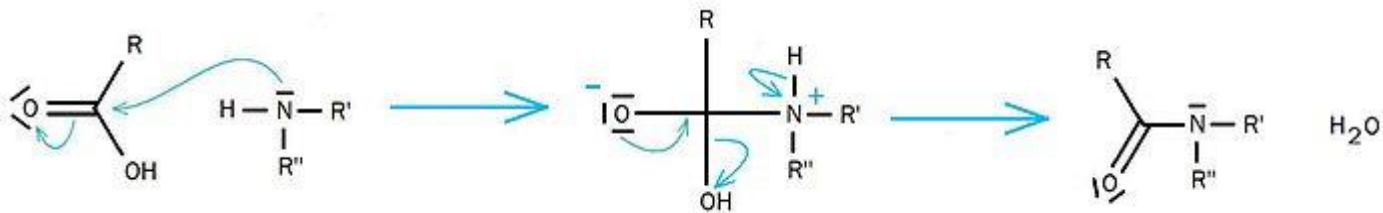
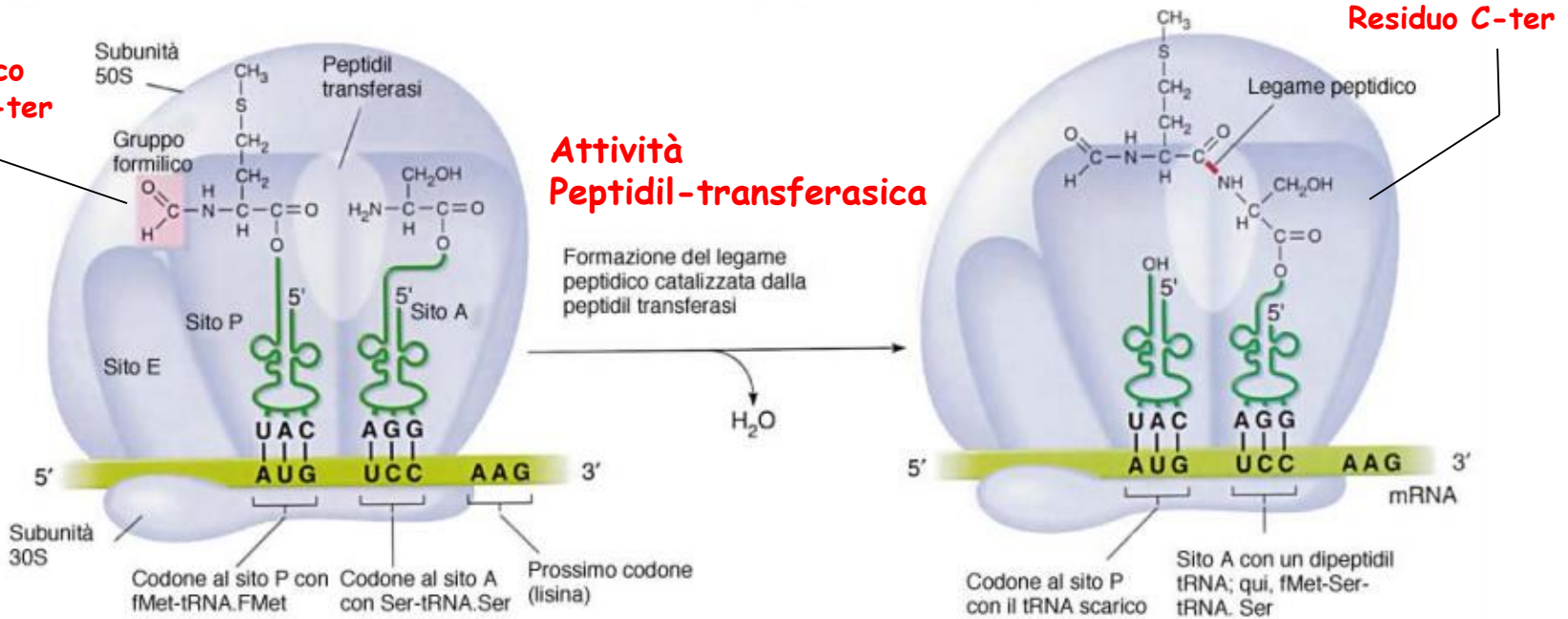
Formazione del legame peptidico

Figura 6.16

La formazione del legame peptidico tra i primi due aminoacidi (fMet e Ser) di una catena polipeptidica è catalizzata sul ribosoma dalla peptidil-transferasi. (a) Aminoacil-tRNA adiacenti legati all'mRNA sul ribosoma; (b) in seguito alla formazione del legame peptidico, un tRNA scarico si trova al sito P ed un dipeptidil-tRNA al sito A.

a) Aminoacil-tRNA adiacenti

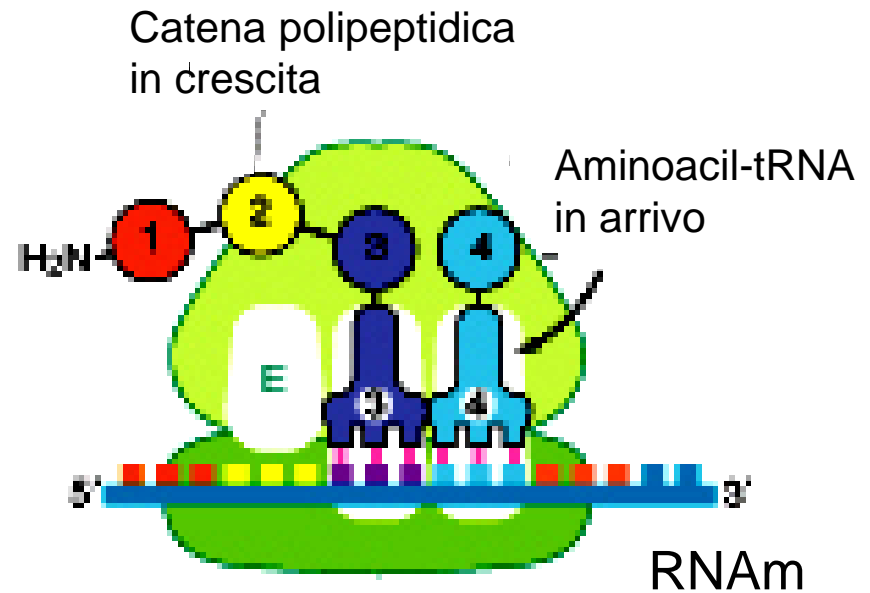
b) Dopo la formazione del legame peptidico



L'mRNA viene tradotto in direzione 5'-3'

L'estremità N-term della pt è quella sintetizzata **per prima**

Ogni **ciclo** aggiunge un aminoacido all'estremità **C-term** della catena polipeptidica



La catena polipeptidica rimane sempre legata al tRNA collocato al **sito P** della subunità ribosomica maggiore

TRADUZIONE

1. Flusso dell'informazione genetica

2. Codice genetico

3. Ribosomi

4. Nucleolo ed rRNA

5. tRNA

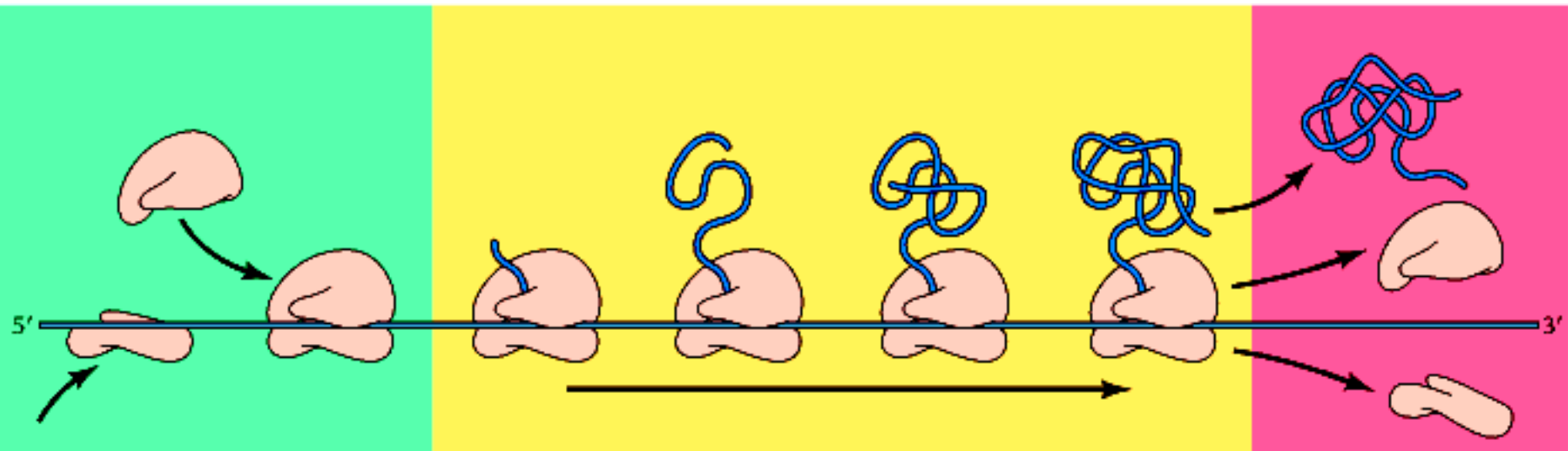
6. Ribosomi: sito della sintesi

7. Sintesi proteica

8. Mutazioni

9. Folding

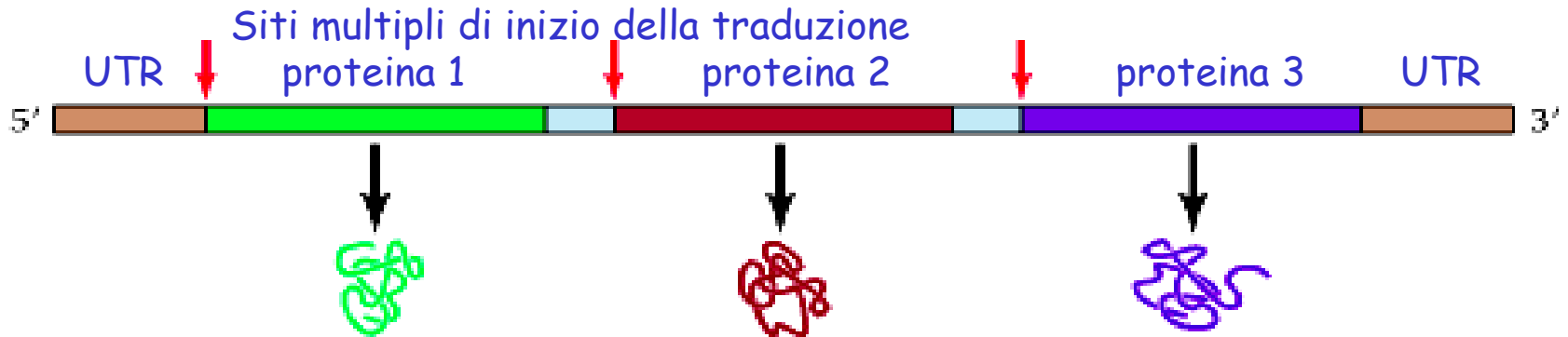
10. Controllo dell'espressione genica



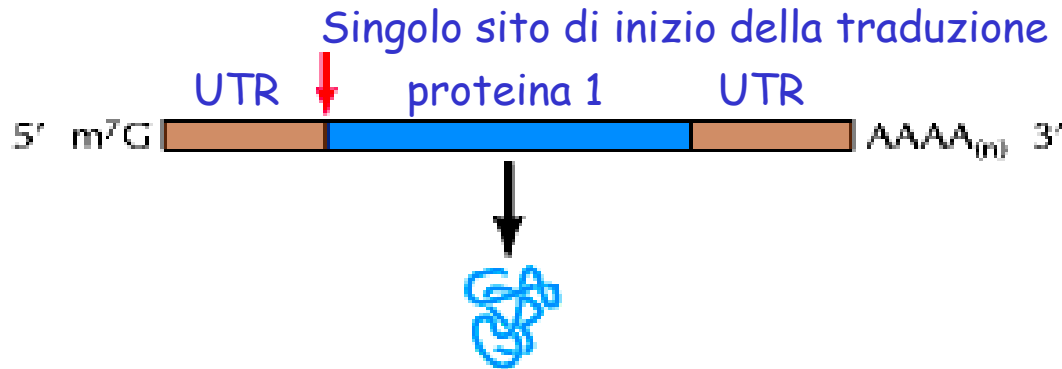
L'organizzazione degli mRNA

La traduzione non inizia semplicemente all'estremità 5' dell'mRNA, ma in siti di inizio specifici. Le porzioni terminali 5' degli mRNA procariotici ed eucariotici sono pertanto sequenze non codificanti, chiamate **5'UTR**. Tutti gli mRNA terminano con seq **3'UTR**

mRNA procariotico



mRNA eucariotico



mRNA procariotici: codificano polipeptidi multipli e si chiamano **policistronici**
mRNA eucariotici sono **monocistronici**

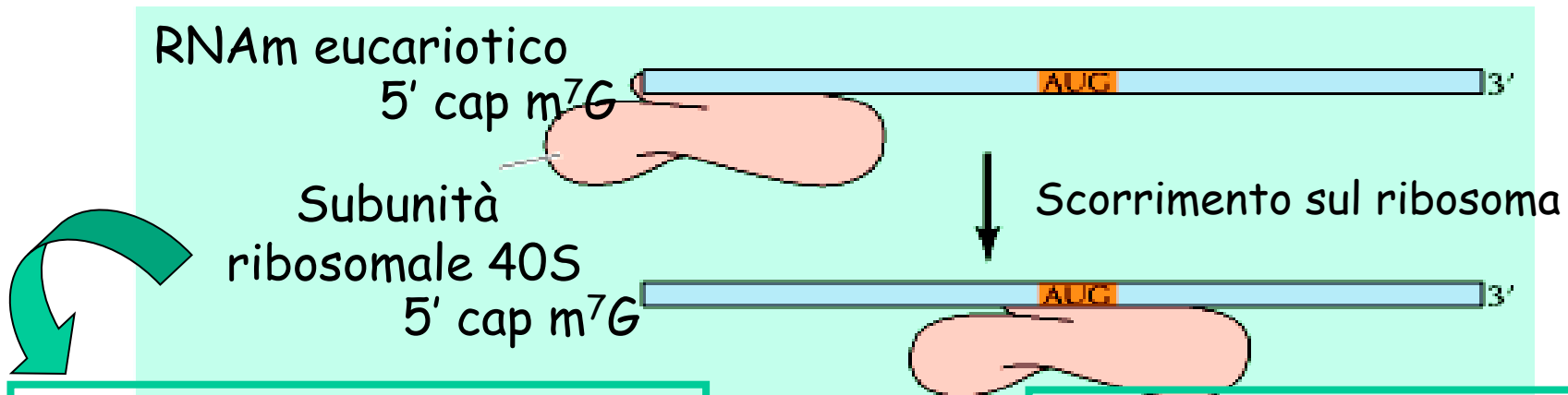
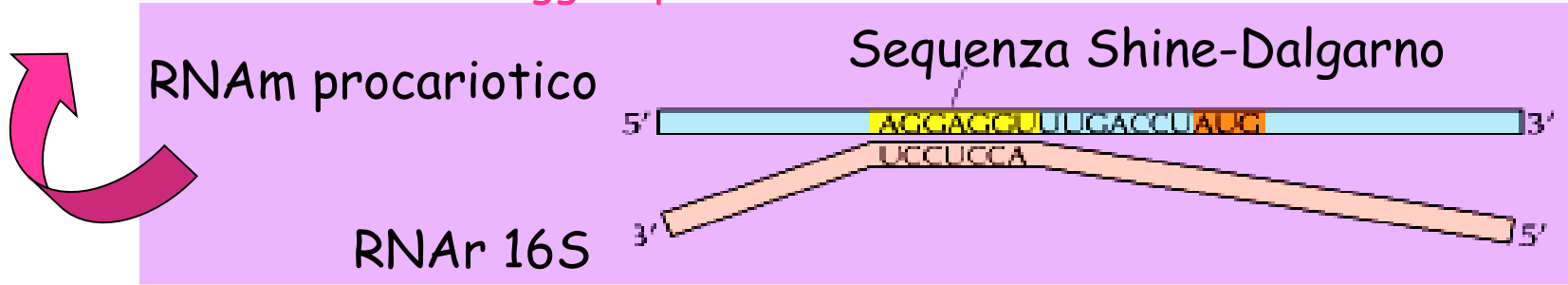
Segnali di inizio della traduzione

Sia nei procarioti che negli eucarioti, la traduzione inizia sempre con l'aa Met, codificata da AUG.

Procarioti: mRNA policistronici

aa iniziatore: Met modificata: N-formil-Met

Codon di inizio: preceduti dalla Seq di Shine-Dalgarno che allinea l'mRNA sul ribosoma mediante appaiamento con una seq complementare dell'rRNA. In questo modo la traduzione può iniziare non solo all'estremità 5' dell'mRNA, ma anche sui siti interni di inizio dei **messaggeri policistronici**.



Eucarioti: mRNA monocistronici

aa iniziatore: Met non modificata

I ribosomi riconoscono gli mRNA attaccandosi al 5' cap, quindi scorrono lungo il messaggero fino all'unico AUG di inizio.

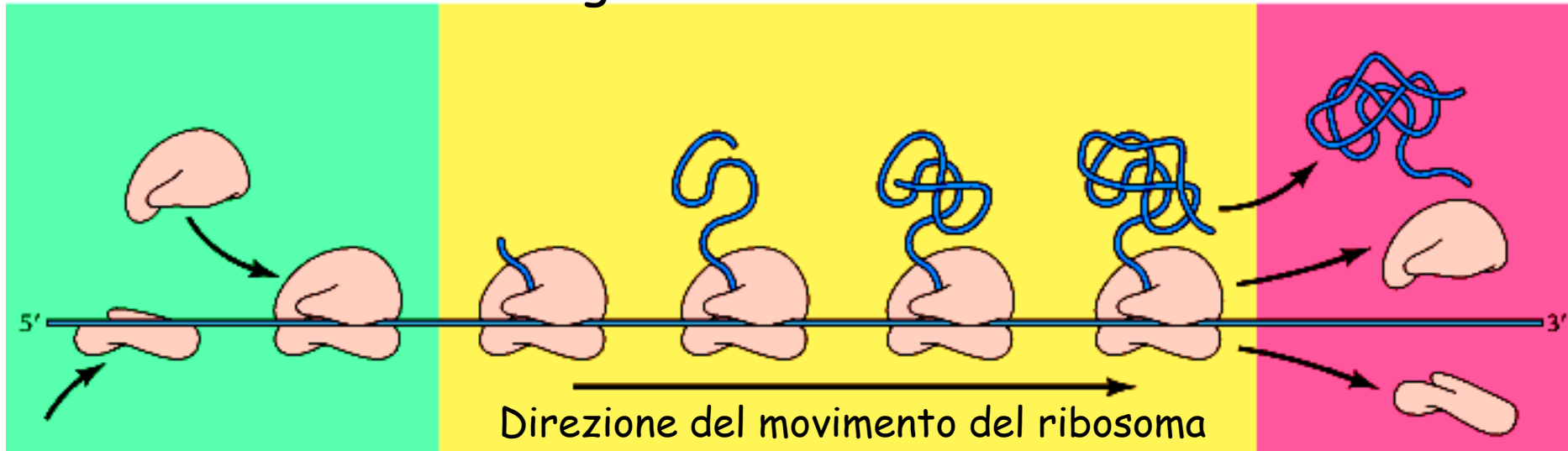
Il processo della traduzione

La traduzione viene divisa in genere in tre fasi: inizio, allungamento e termine.

Inizio

Allungamento

Termine



Il ribosoma si lega all'RNAm nel codone di inizio

La catena polipeptidica si allunga per aggiunta successiva di aminoacidi

Quando si incontra un codone di stop, il polipeptide viene rilasciato e il ribosoma si dissocia

Inizio della traduzione nei batteri

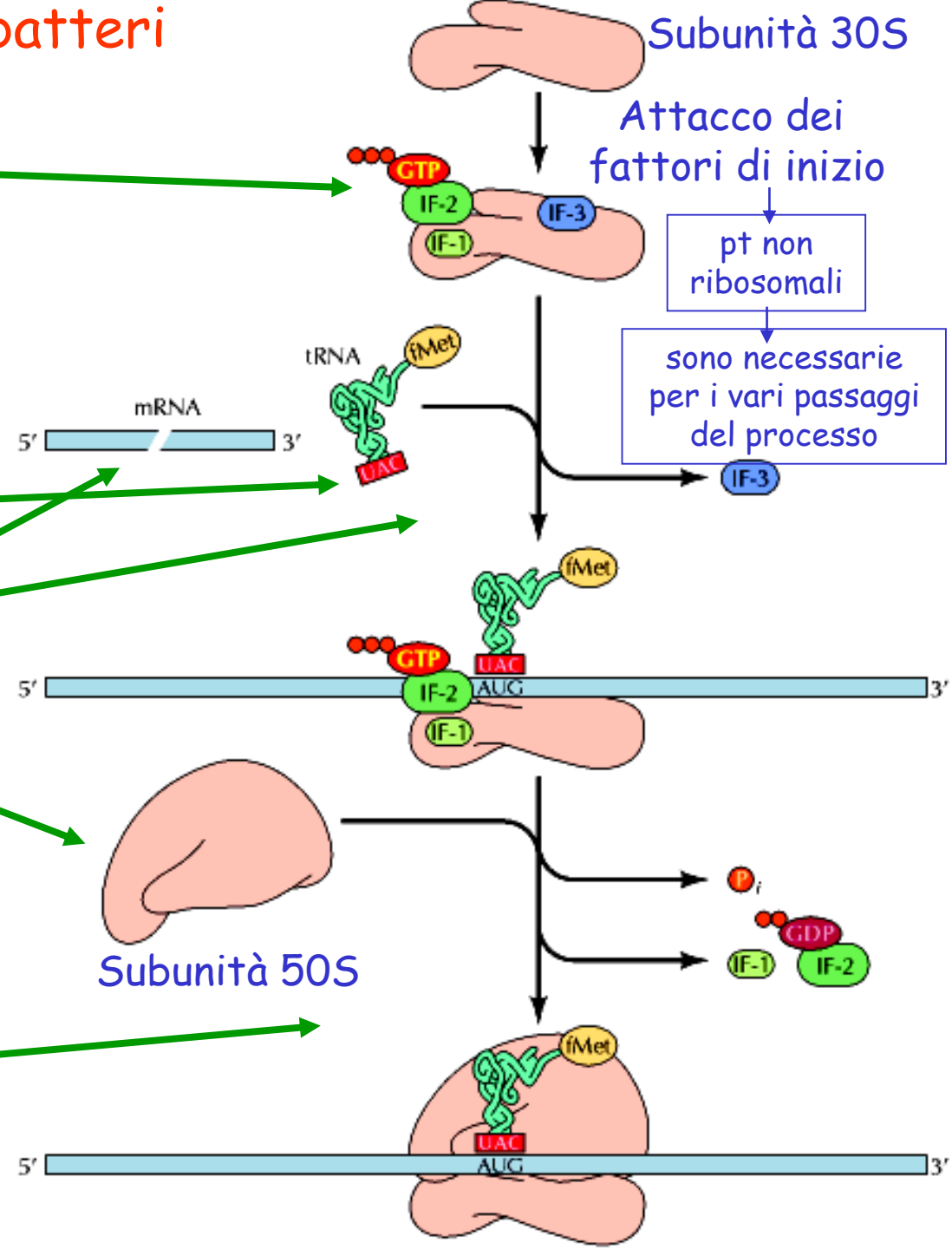
1. Attacco di 3 fattori di inizio della traduzione alla subunità ribosomiale minore

2. A questi si uniscono N-formilmethionil-tRNA specifico di inizio ed mRNA

3. Rilasciato un fattore

4. La subunità maggiore si unisce poi al complesso, formando un ribosoma funzionante su cui procede l'allungamento della catena polipeptidica

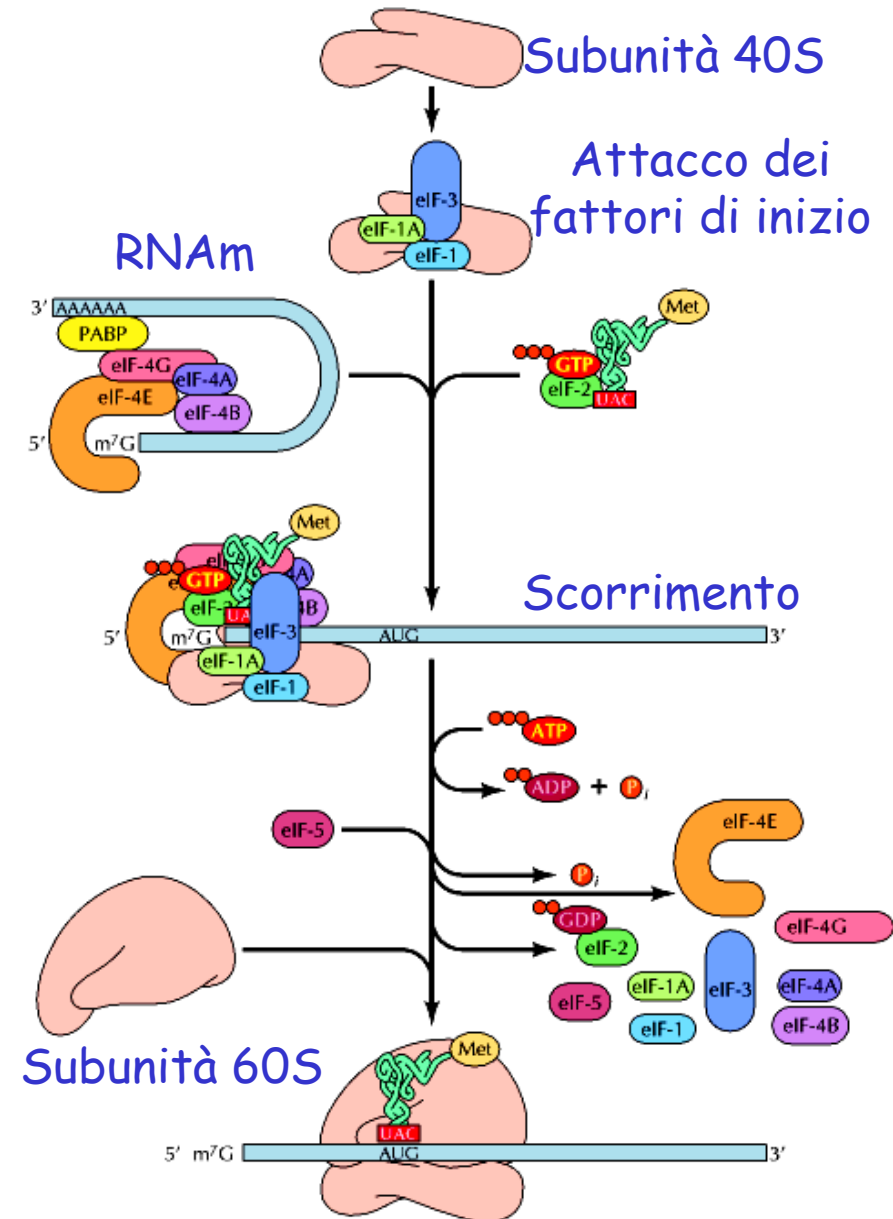
5. Idrolisi di GTP e rilascio dei restanti fattori



Inizio della traduzione negli eucarioti

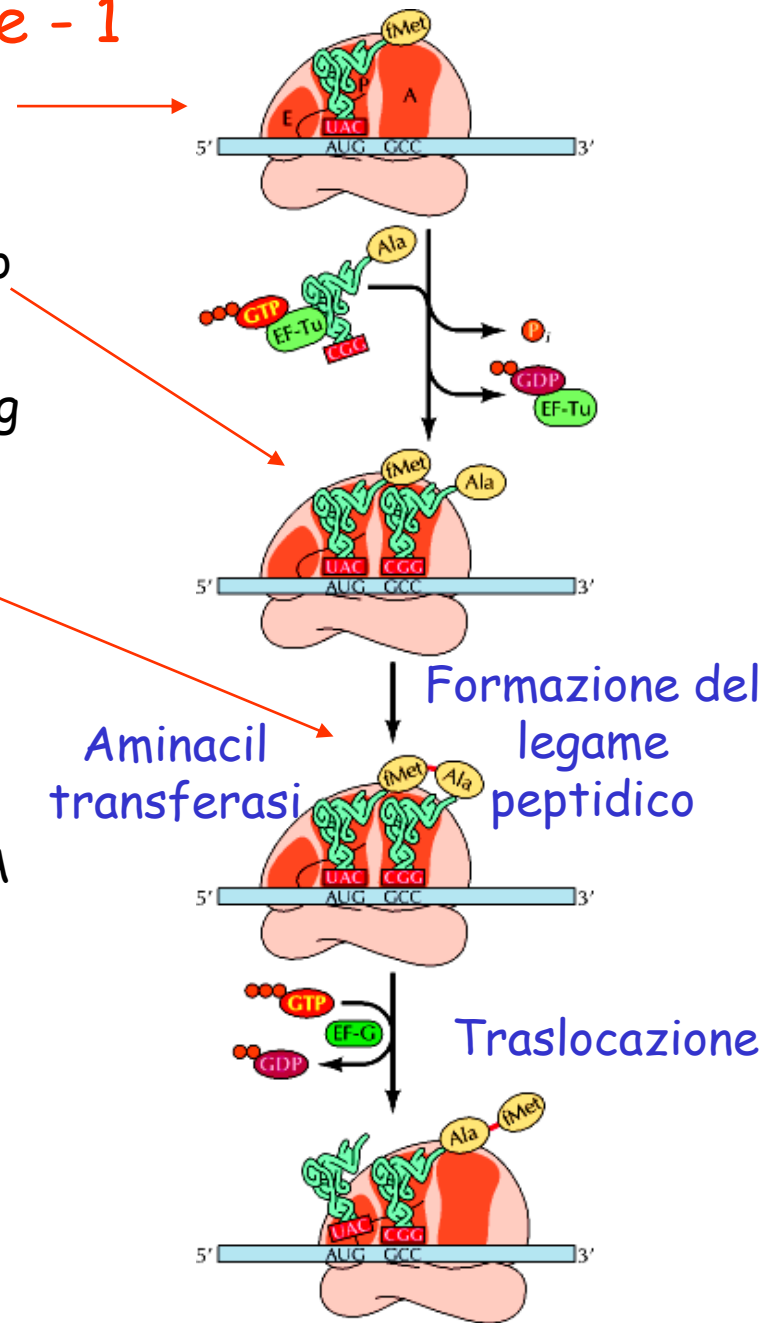
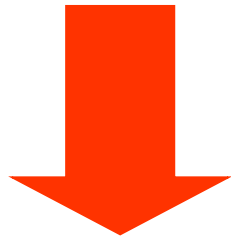
più complicato e richiede almeno 10 fattori di inizio della traduzione

1. 2 fattori si legano alla subunità ribosomiale minore
2. Un fattore si lega al metionil tRNA iniziatore e lo porta alla subunità minore
3. Una serie di fattori riconosce il 5' cap dell'mRNA e lo porta al ribosoma
4. Subunità minore + metionil tRNA + fattori: scorrono sull'mRNA per identificare il codone di inizio AUG
5. Raggiunto l'AUG di inizio, viene idrolizzato il GTP
6. Rilasciati i fattori di inizio
7. La subunità maggiore si lega a quella minore per formare il complesso di inizio

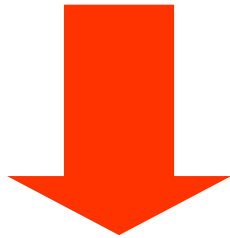


Fase di allungamento della traduzione - 1

1. Metionil tRNA iniziatore si lega al sito P
2. L'aminoacil-tRNA successivo + 1 fattore di allung + GTP, si attacca al sito A (appaiamento codon-anticodon)
3. Idrolisi del GTP e rilascio del fattore di allung
4. Formazione del legame peptidico tra 1°aa al sito P e 2°aa al sito A
5. Il risultato è:
 - a) trasferimento di Met all'aminoacil-tRNA nel sito A
 - b) formazione di un peptidil-tRNA nel sito A
 - c) tRNA iniziatore scarico nel sito P



Fase di allungamento della traduzione - 2

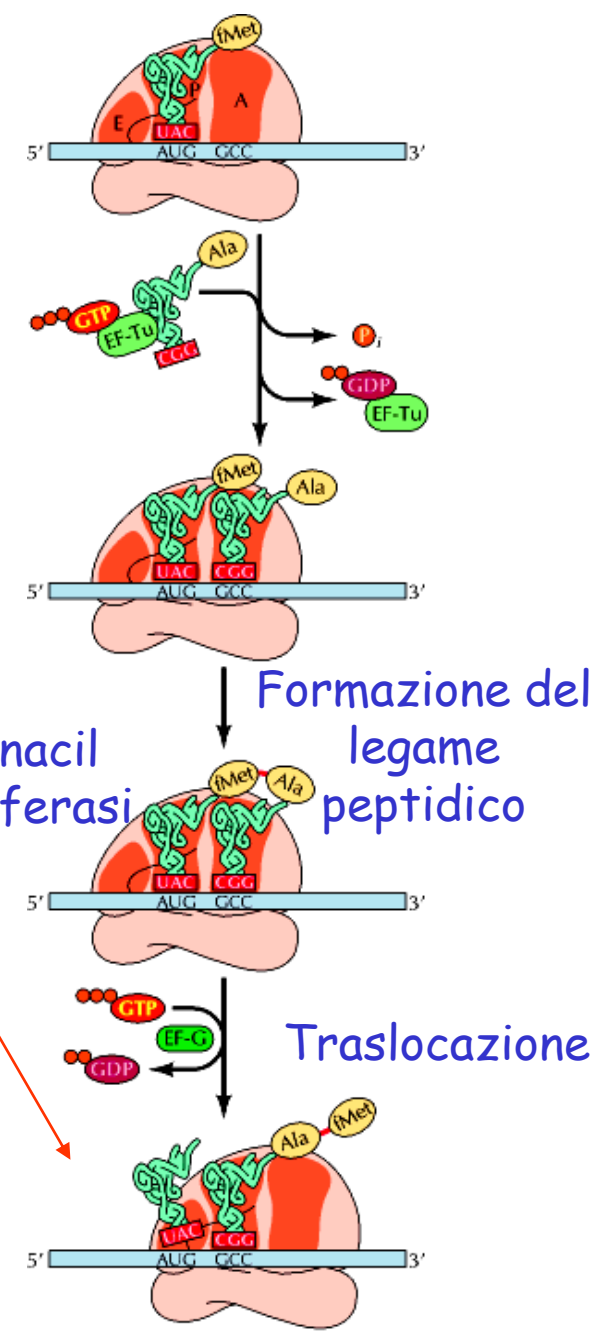


6. Traslocazione:

- a) il ribosoma si muove di 3 nt lungo l'mRNA
- b) il codon successivo si posiziona in un sito A vuoto
- c) il peptidil tRNA trasloca dal sito A al sito P
- d) tRNA scarico trasloca dal sito P al sito E
- e) Il sito A rimane vuoto

7. L'attacco di un nuovo aminoacil-tRNA nel sito A induce

8. Rilascio del tRNA scarico dal sito E, lasciando il ribosoma pronto per l'inserzione dell'aa successivo nella catena polipeptidica in crescita



Terminazione della traduzione

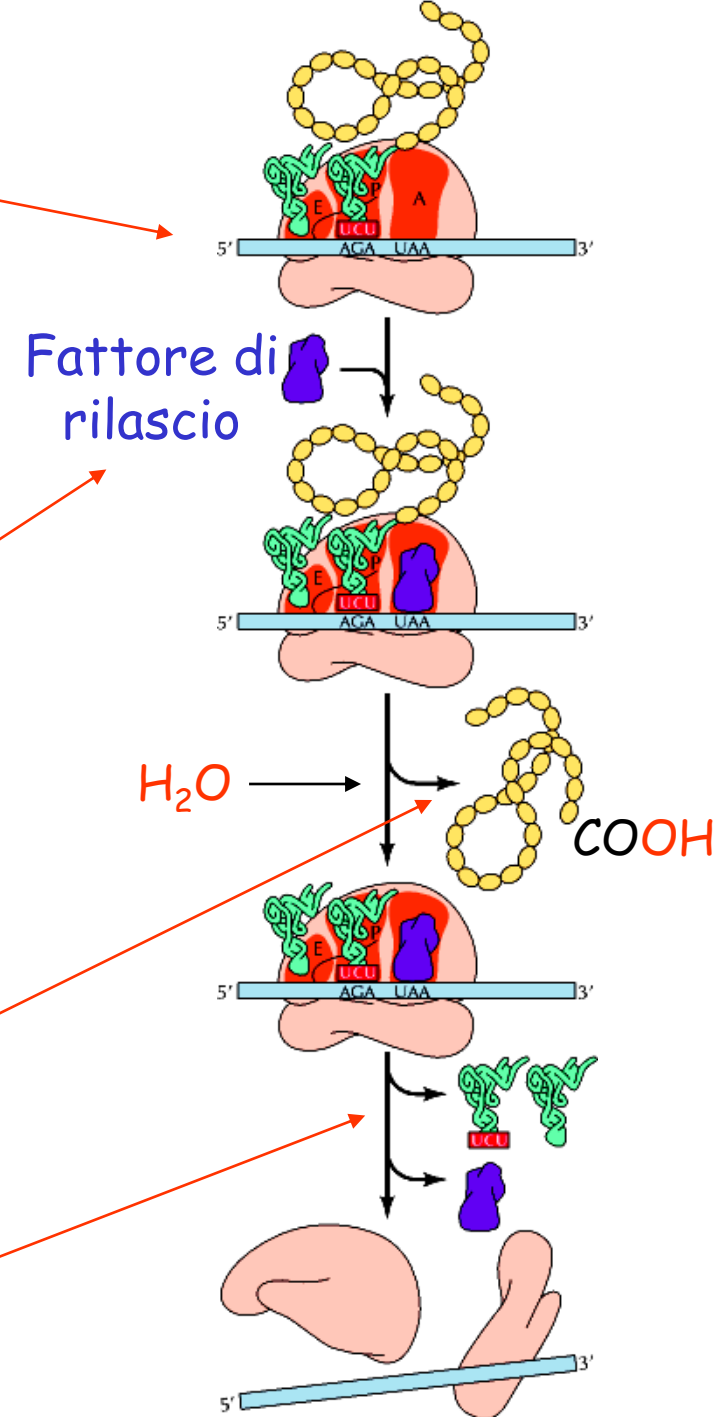
• L'allungamento della catena polipeptidica continua fino a che un **codone di stop** viene traslocato nel sito A del ribosoma.

• Nessun tRNA riconosce questi codoni

• Tali codoni sono riconosciuti da **fattori di rilascio** che mettono fine alla sintesi proteica

• Questi fattori si legano al codone di stop al sito A e stimolano **l'idrolisi del legame tra il tRNA e la catena polipeptidica al sito P**, portando al rilascio del polipeptide completato dal ribosoma

• Il tRNA viene quindi rilasciato e le subunità ribosomali si dissociano dall'mRNA stampo

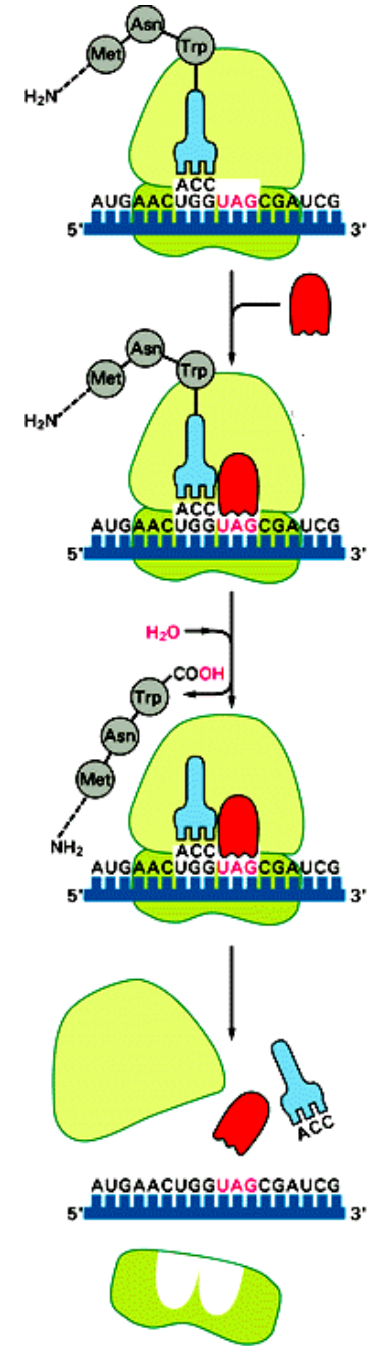
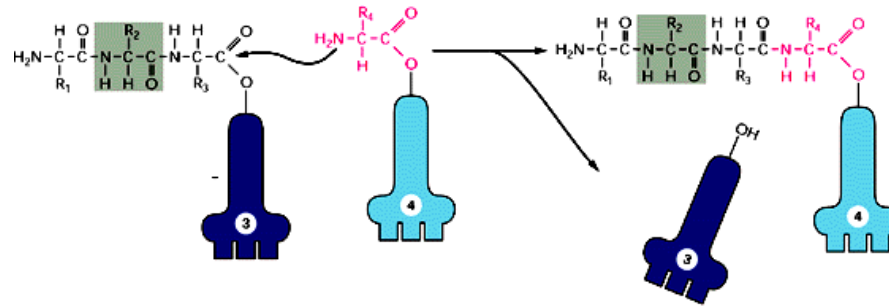
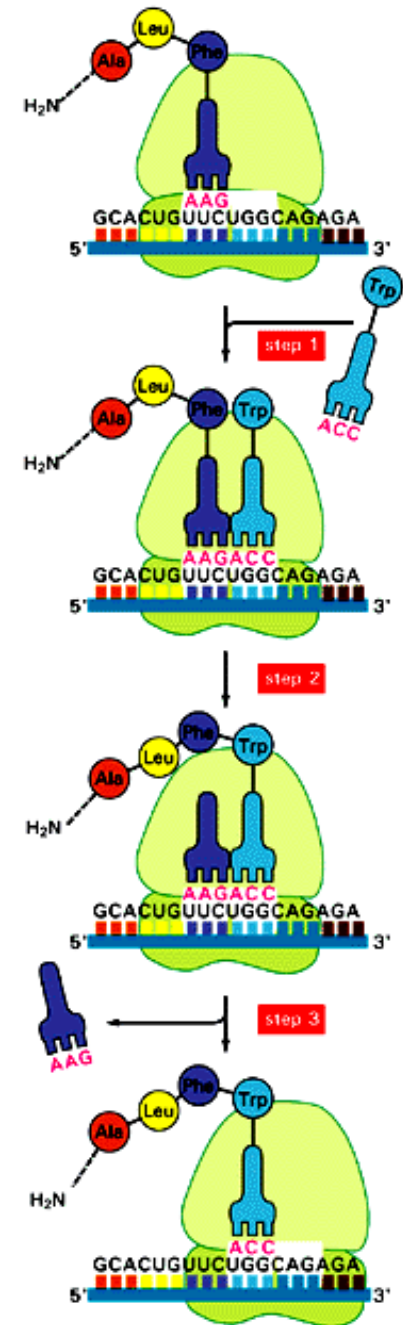


LA FASE DI ALLUNGAMENTO

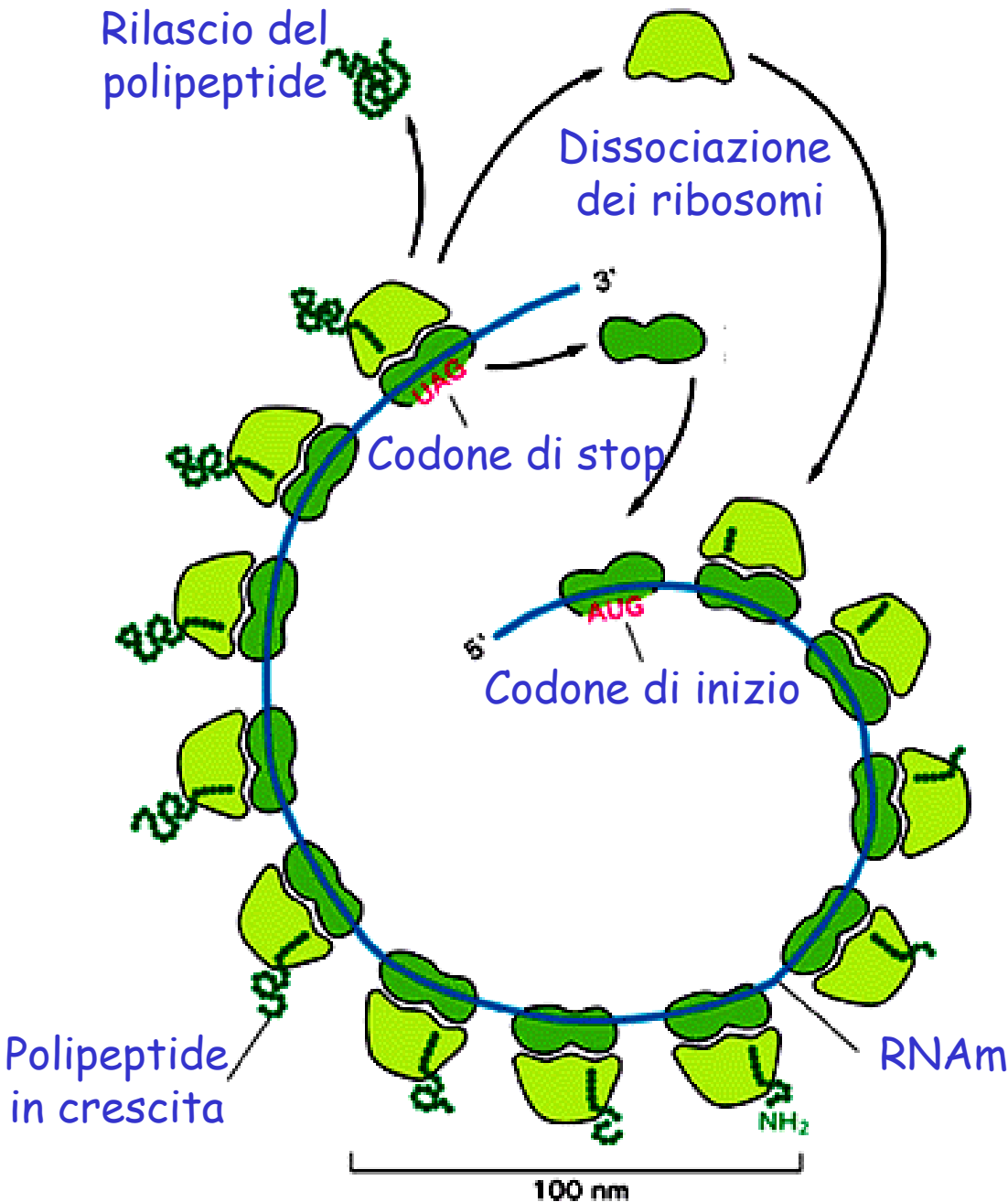
TRADUZIONE DELL'RNA_m

LA FASE FINALE

IL LEGAME PEPTIDICO

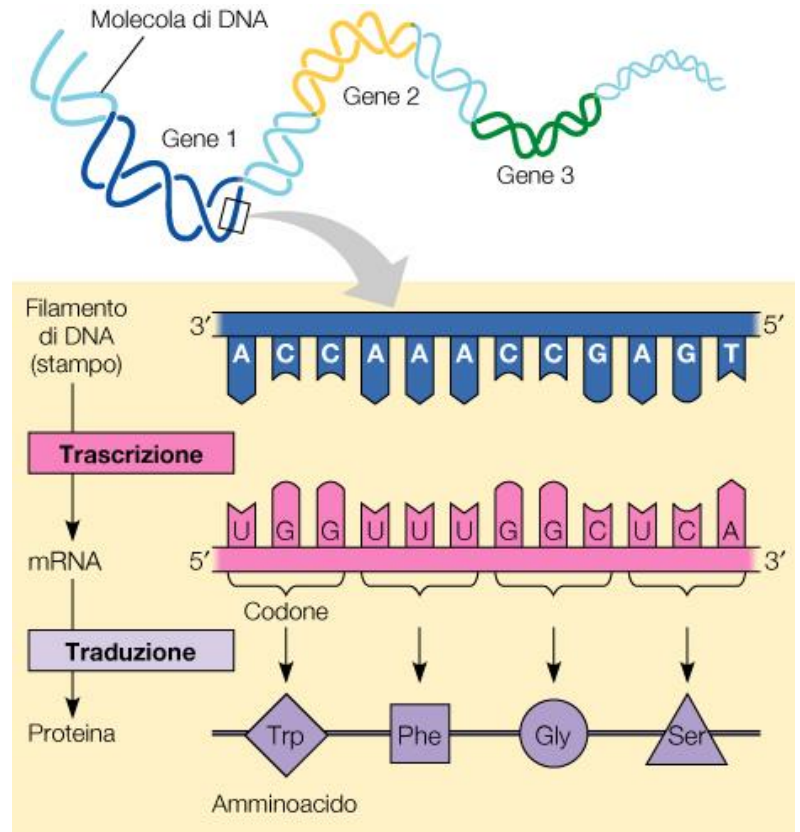
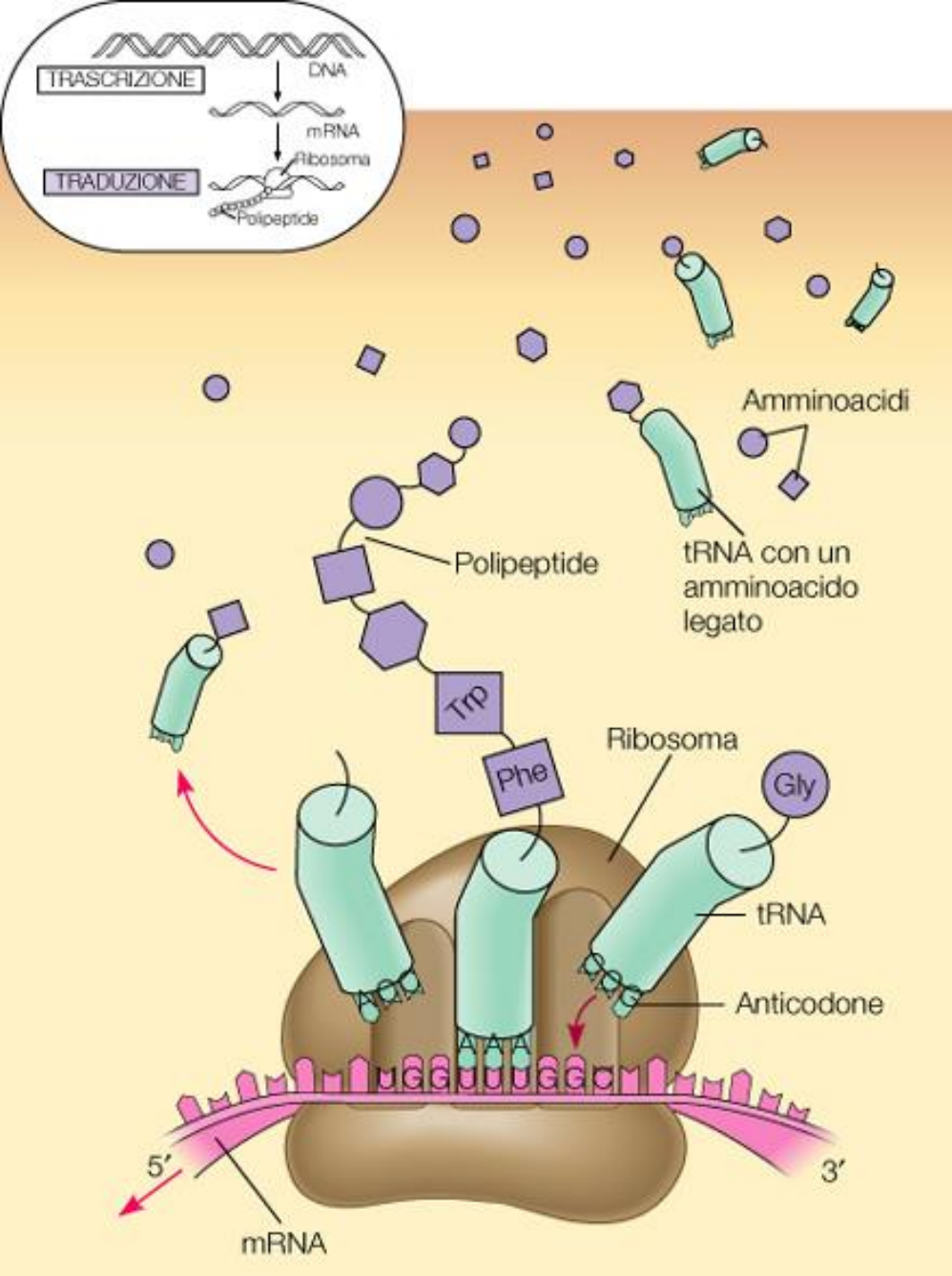


POLIRIBOSOMA



Su ogni molecola di mRNA si verificano **molteplici eventi di inizio**: un nuovo ribosoma si posiziona al 5' terminale di un messaggero non appena il ribosoma precedente ha tradotto un tratto abbastanza lungo della seq nt da fargli posto. Perciò spesso le molecole di mRNA in via di traduzione assumono l'aspetto di **poliribosomi**, grossi aggregati citoplasmatici costituiti da ribosomi disposti su una sola molecola di mRNA, distanti uno dall'altro un minimo di 80 nt. In questo modo la pt viene prodotta in **quantità maggiore e in meno tempo**

La macchina della traduzione



TRADUZIONE

1. Flusso dell'informazione genetica

2. Codice genetico

3. Ribosomi

4. Nucleolo ed rRNA

5. tRNA

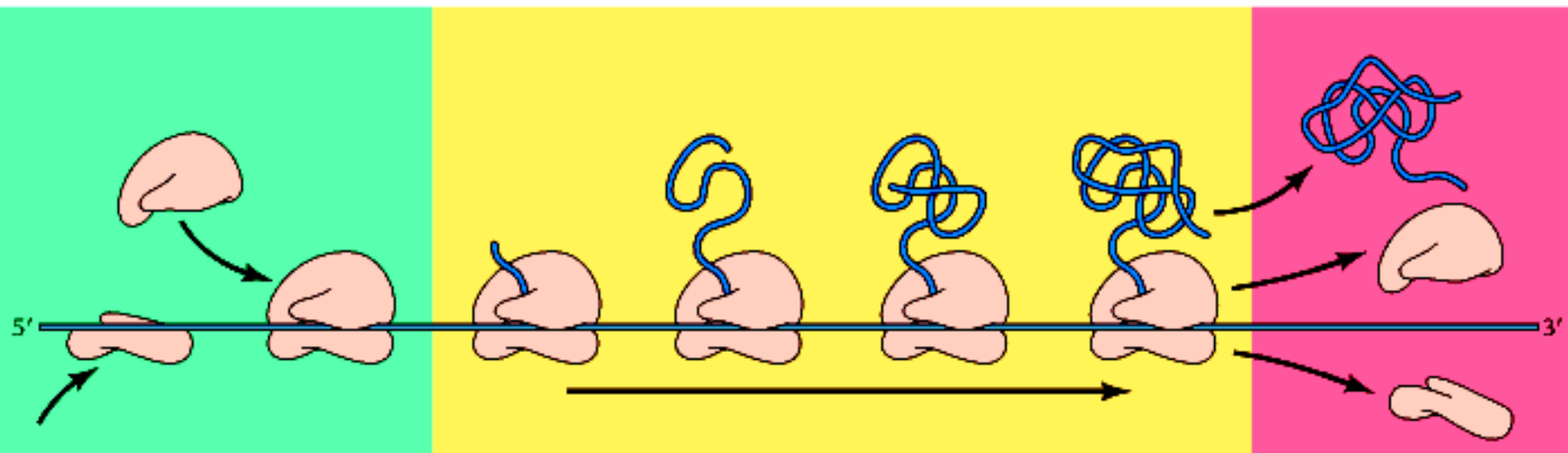
6. Ribosomi: sito della sintesi

7. Sintesi proteica

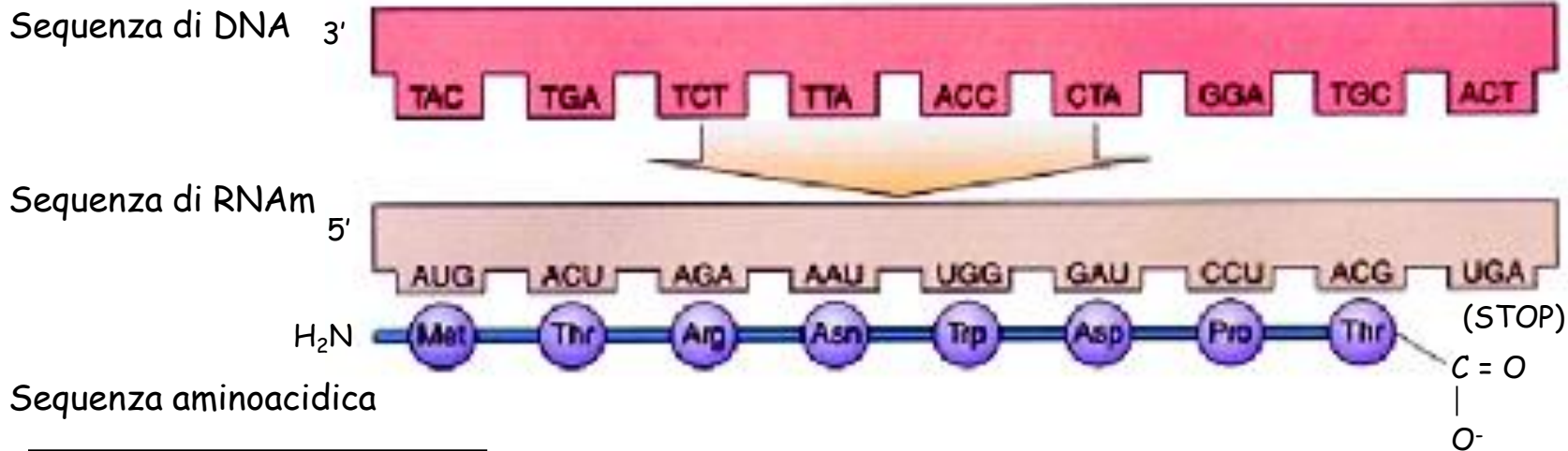
8. Mutazioni

9. Folding

10. Controllo dell'espressione genica

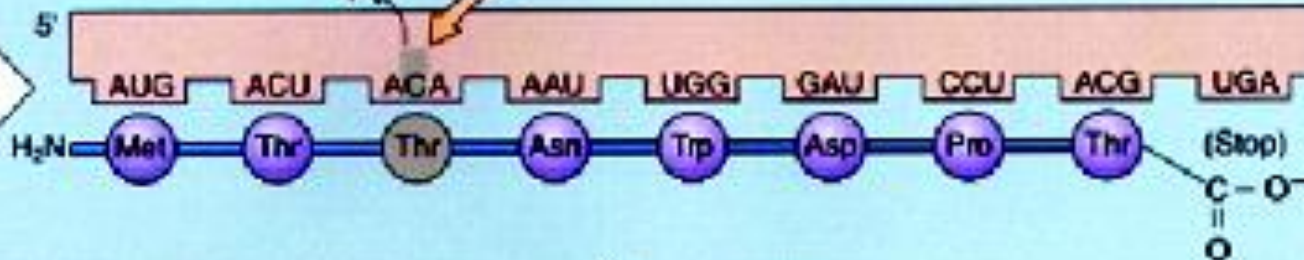


Mutazioni

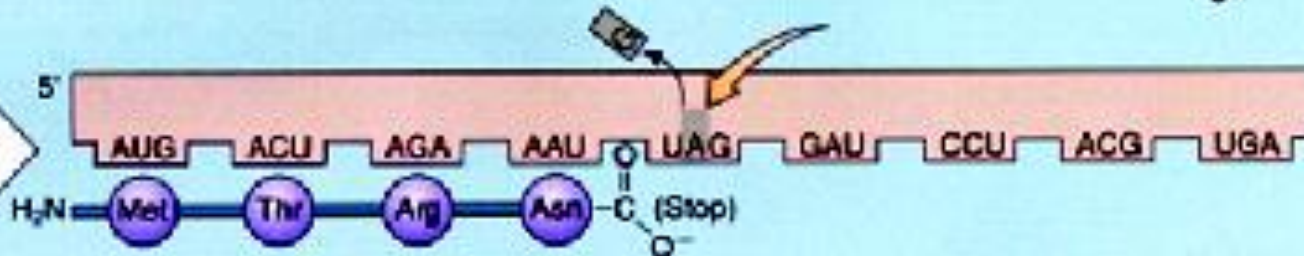


MUTAZIONI PER SOSTITUZIONE DI UNA BASE

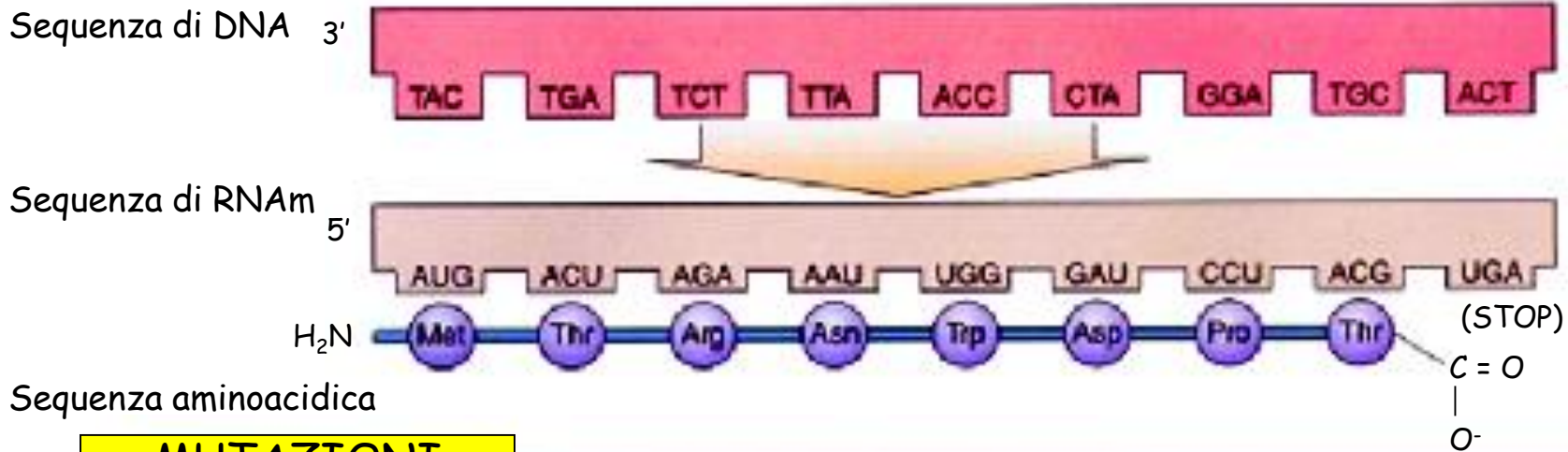
Mutazione missenso



Mutazione non senso

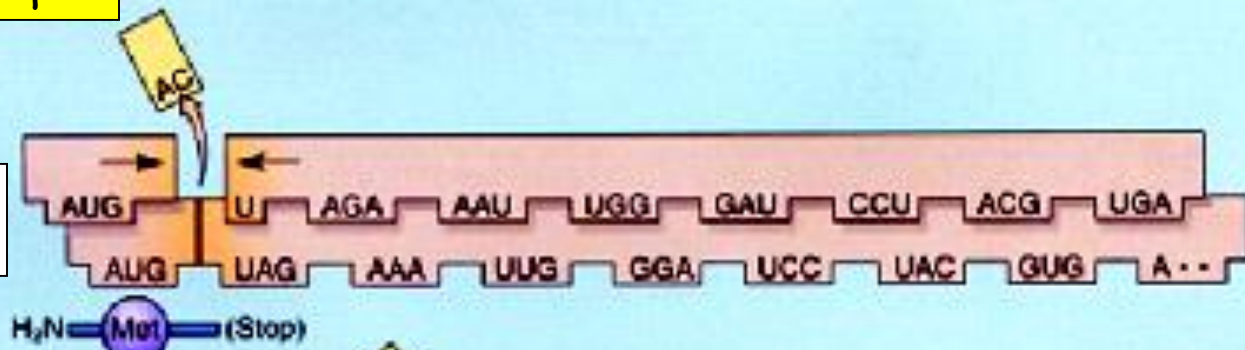


Mutazioni

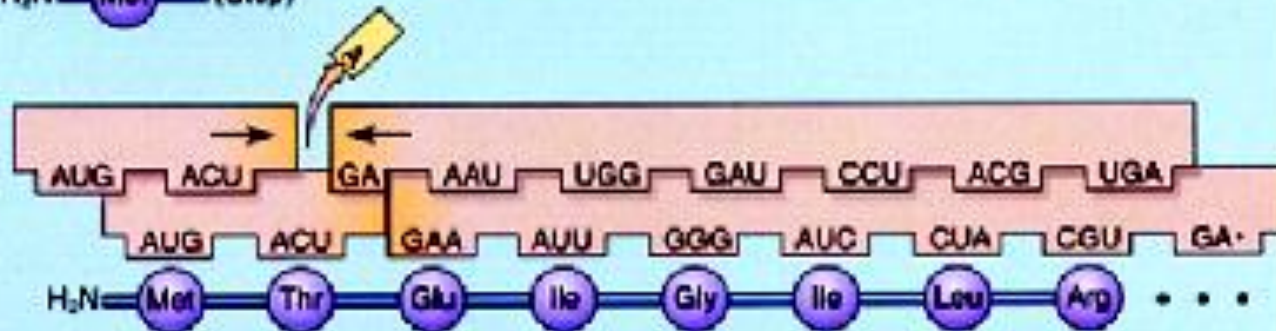


MUTAZIONI FRAMESHIFT

La delezione produce
mutazioni non senso



La delezione produce
una sequenza
aminoacidica alterata



Esistono anche mutazioni silenti: Es. AGA → AGG : Arg

TRADUZIONE

1. Flusso dell'informazione genetica

2. Codice genetico

3. Ribosomi

4. Nucleolo ed rRNA

5. tRNA

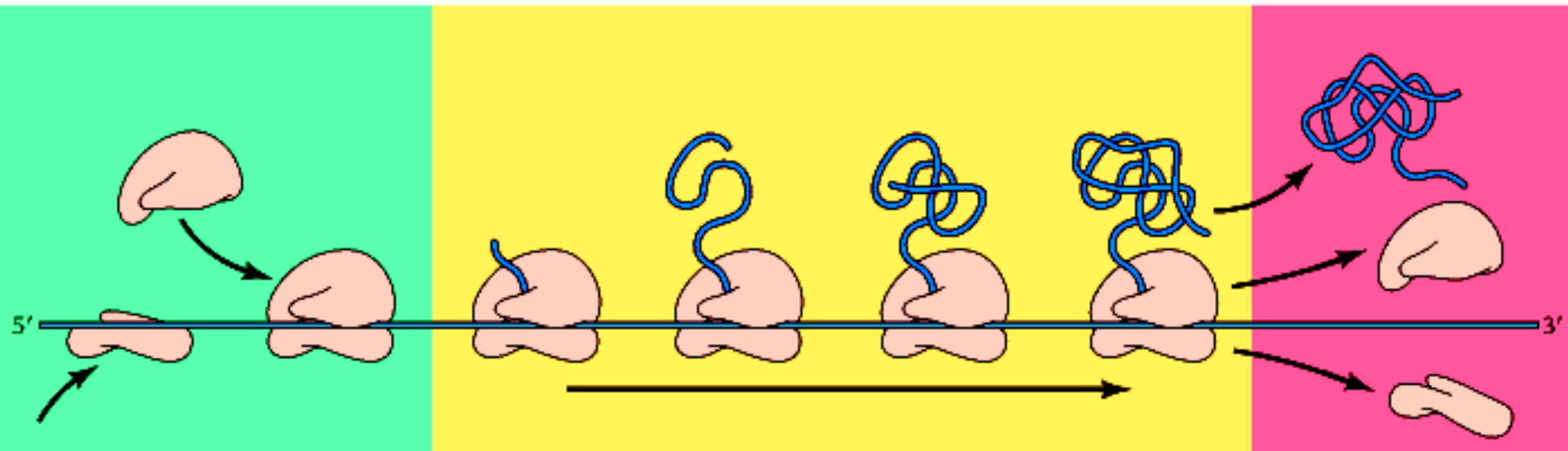
6. Ribosomi: sito della sintesi

7. Sintesi proteica

8. Mutazioni

9. Folding

10. Controllo dell'espressione genica



catena polipeptidica nascente



ripiegamento e attacco del cofattore (interazioni non covalenti)



modificazione covalente per glicosilazione, fosforilazione, acetilazione, ecc.



attacco ad altre subunità proteiche



proteina matura funzionale

Produzione di una proteina matura funzionale

Per essere utile alla cellula, la catena polipeptidica completata deve:

- ripiegarsi correttamente nella sua **conformazione tridimensionale**: la pt inizia a ripiegarsi mentre viene ancora sintetizzata
- legare i **cofattori** richiesti
- assemblarsi con i suoi **partner proteici** (se ce ne sono)

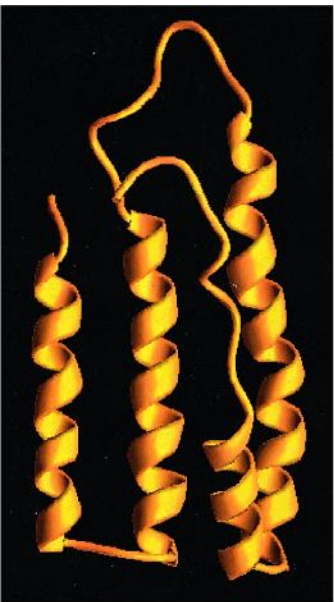
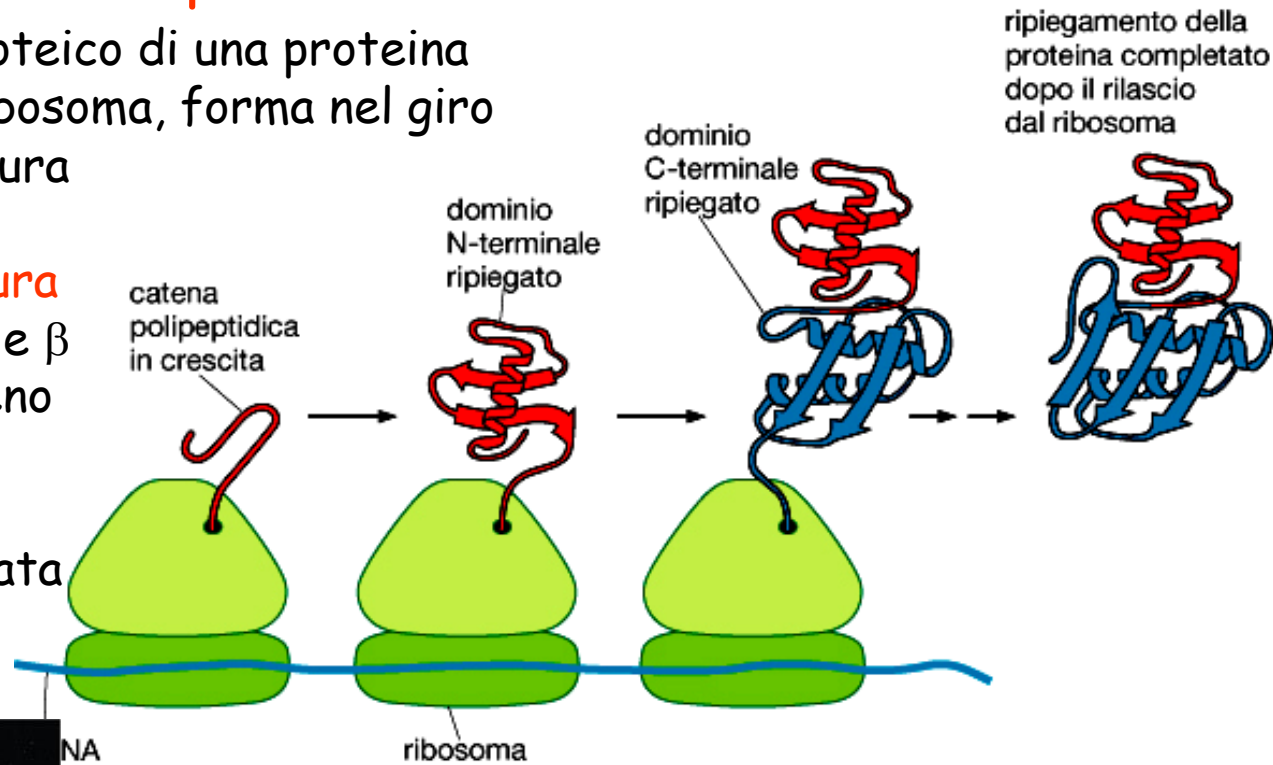
Questi cambiamenti sono guidati dalla formazione di **legami non covalenti**

- Molte proteine hanno anche modificazioni covalenti prodotte in aminoacidi selezionati

L'informazione necessaria per tutti questi stadi di maturazione è contenuta nella sequenza di aminoacidica della proteina stessa appena sintetizzata

Produzione di una proteina matura funzionale

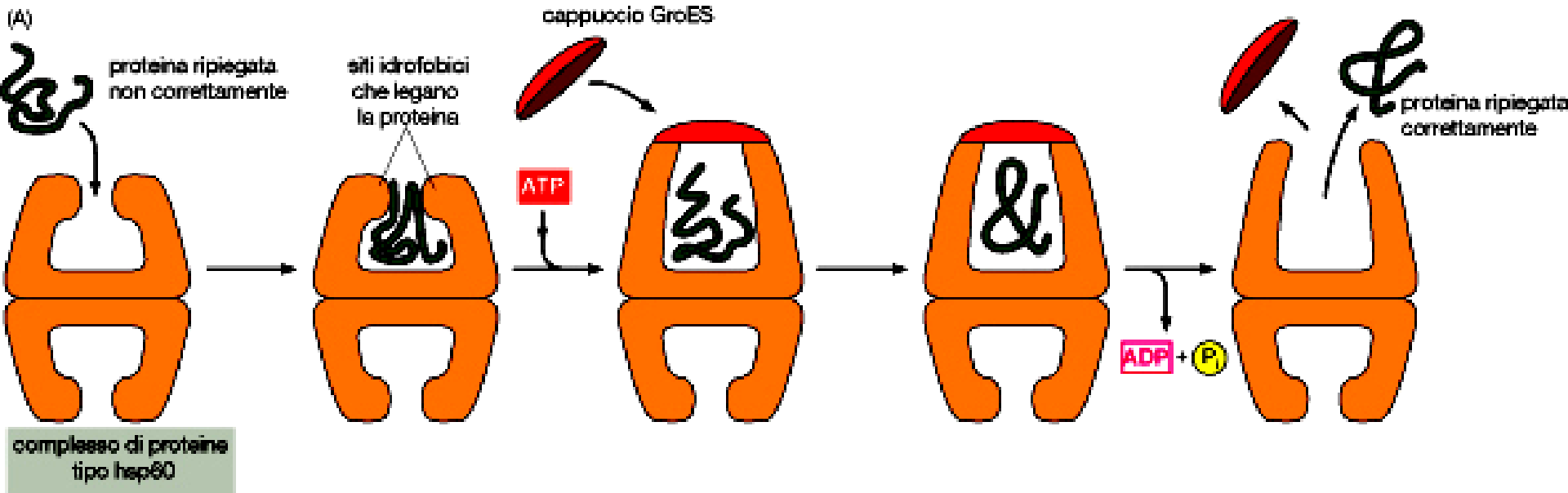
Una volta che il dominio proteico di una proteina multidominio emerge dal ribosoma, forma nel giro di pochi secondi una struttura compatta che contiene **la maggior parte della struttura secondaria finale** (α eliche e β foglietti) allineata più o meno nel modo giusto. Questa struttura insolitamente aperta e flessibile è chiamata **globulo fuso**



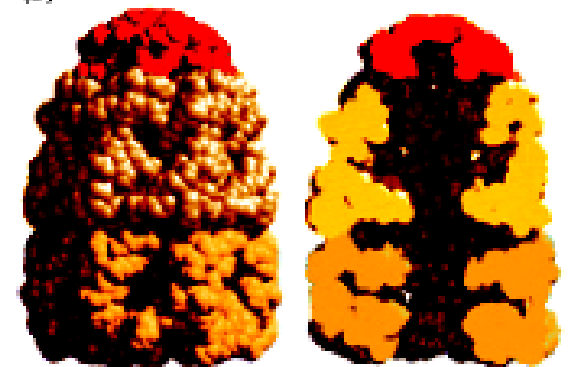
Il completamento del ripiegamento della proteina è molto **più lento** e porta ad aggiustamenti di catene laterali che alla fine formano la **struttura terziaria corretta** ed avviene quando il ribosoma rilascia l'estremità C-terminale della proteina.

Chaperone molecolari

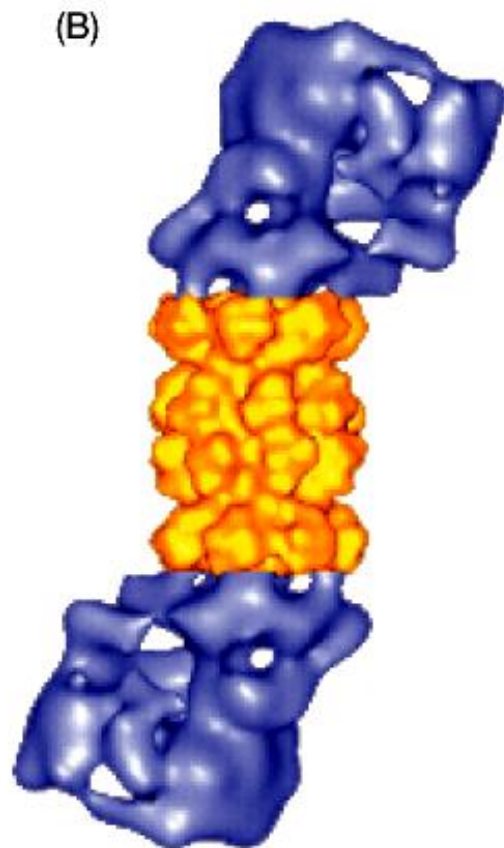
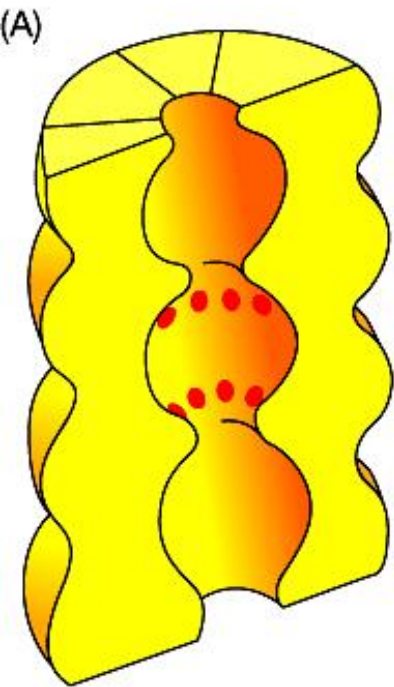
Aiutano a guidare il ripiegamento di molte proteine. Agiscono sulle proteine dopo che sono state completamente sintetizzate e ne impediscono l'aggregazione fornendo loro un ambiente favorevole in cui tentare di ripiegarsi.



(B)



Il proteasoma degrada una frazione sostanziale delle proteine di nuova sintesi nelle cellule



Le **proteine che non riescono a ripiegarsi o ad assemblarsi** in modo appropriato vengono marcate in modo specifico per la distruzione tramite l'attacco covalente di copie multiple di una piccola proteina chiamata **ubiquitina**.

Sulle proteine così marcate agisce il **proteasoma**:

1. l'apparato finale di distruzione delle proteine negli eucarioti
2. una proteasi abbondante dipendente da ATP che costituisce quasi l'1% delle proteine cellulari
3. presente in molte copie disperse nel citosol e nel nucleo

TRADUZIONE

1. Flusso dell'informazione genetica

2. Codice genetico

3. Ribosomi

4. Nucleolo ed rRNA

5. tRNA

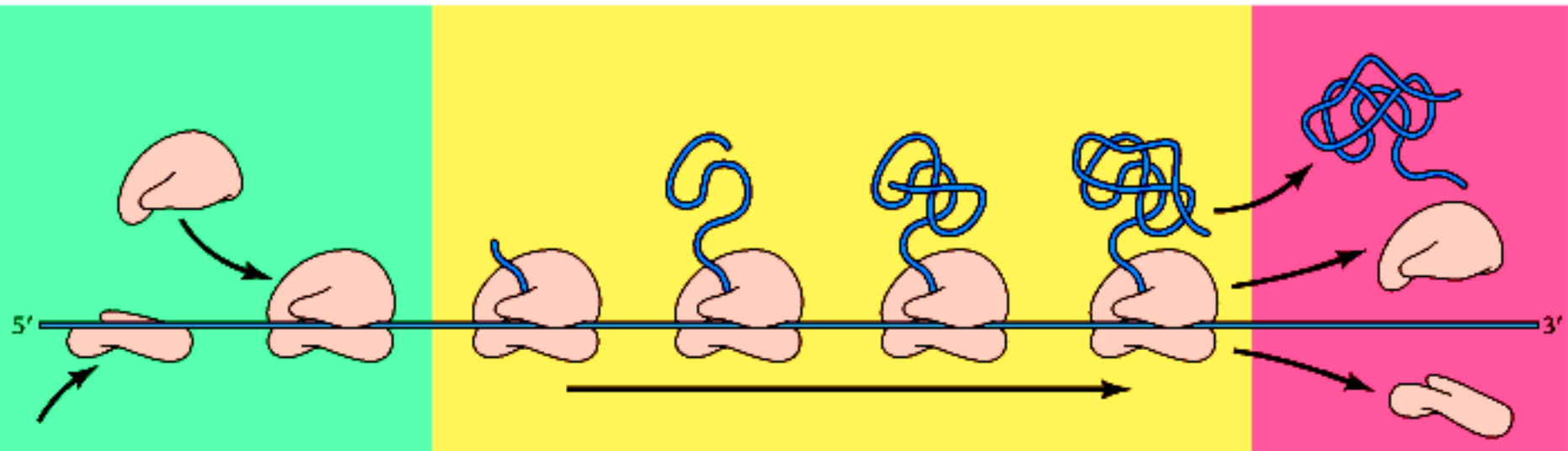
6. Ribosomi: sito della sintesi

7. Sintesi proteica

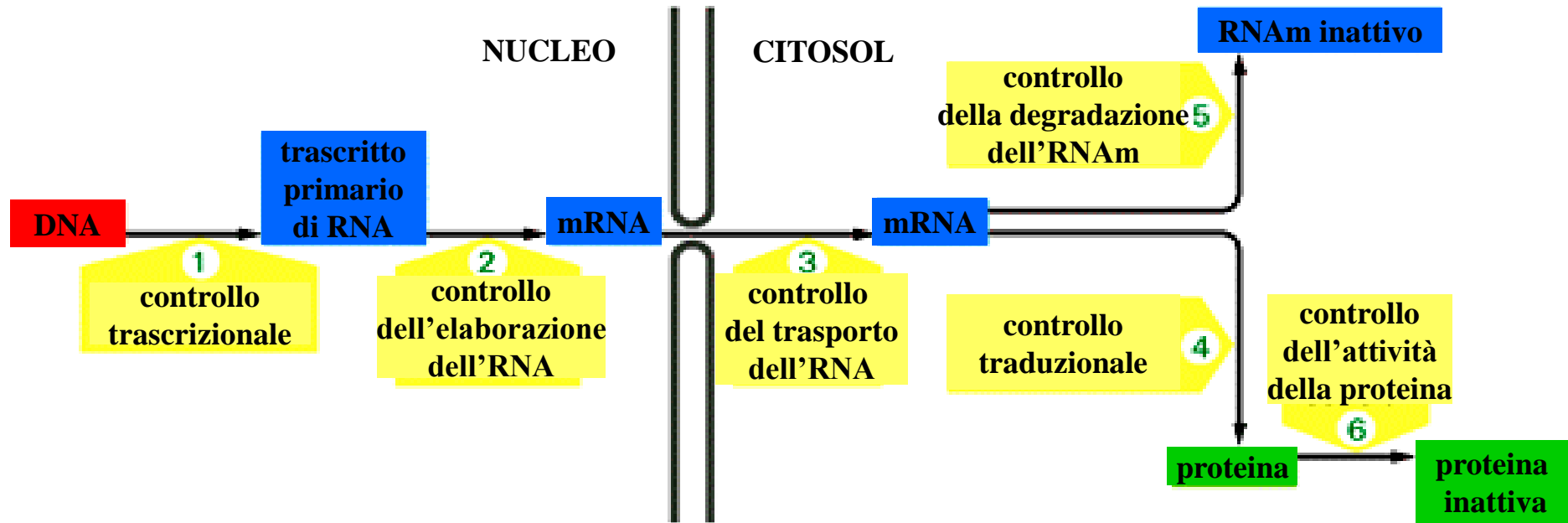
8. Mutazioni

9. Folding

10. Controllo dell'espressione genica

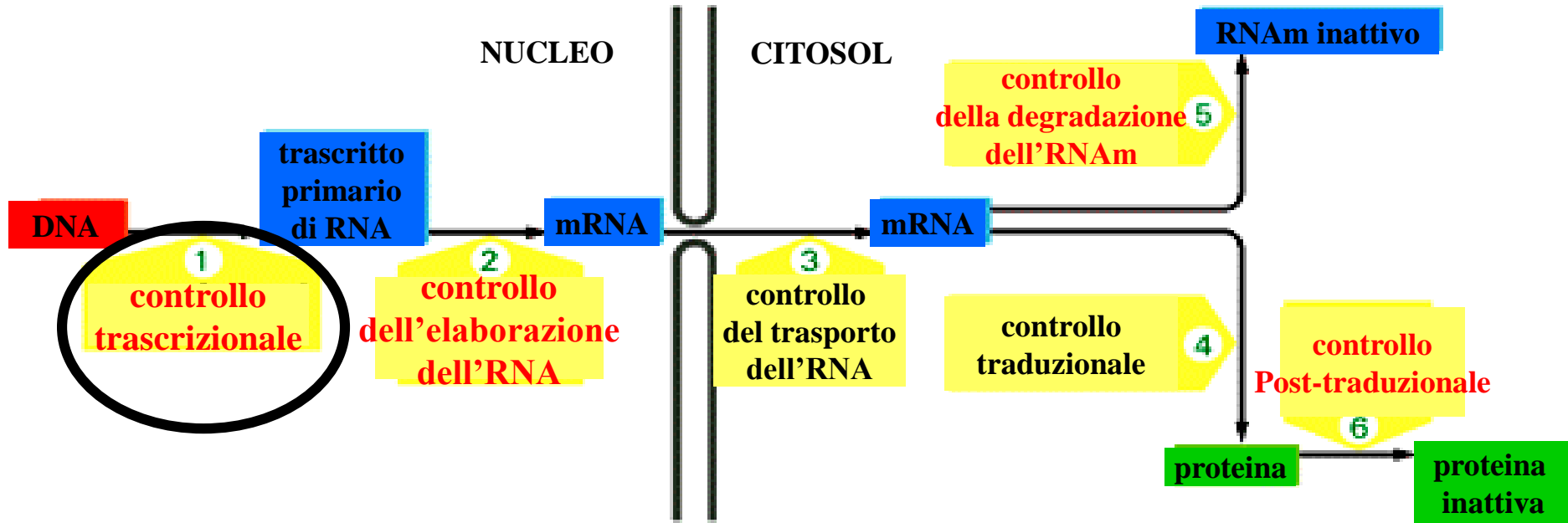


IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCARIOTI



L'espressione genica può essere regolata in più punti del percorso che conduce dal DNA all'RNA e quindi alle proteine, tuttavia quello più utilizzato è il controllo della trascrizione

IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCARIOTI



L'espressione genica può essere regolata in più punti del percorso che conduce dal DNA all'RNA e quindi alle proteine, tuttavia quello più utilizzato è il controllo della trascrizione

IL CONTROLLO TRASCRIZIONALE

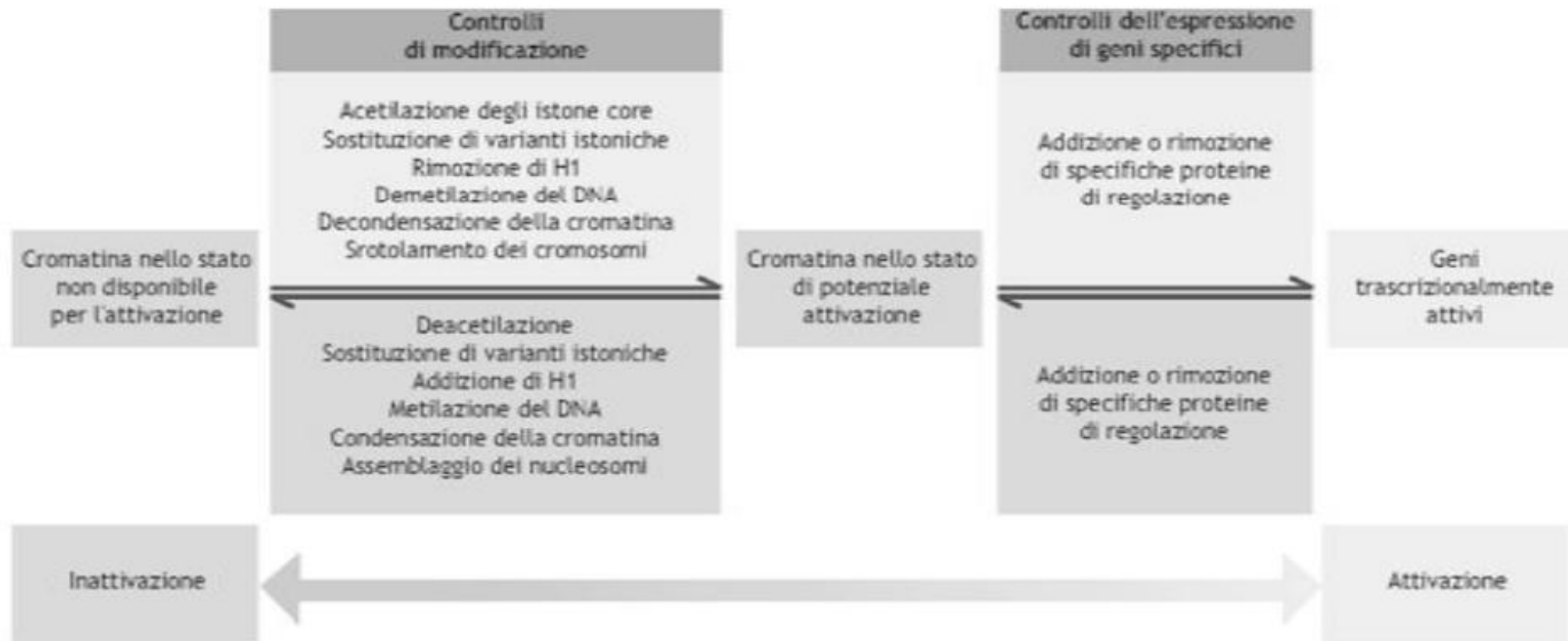
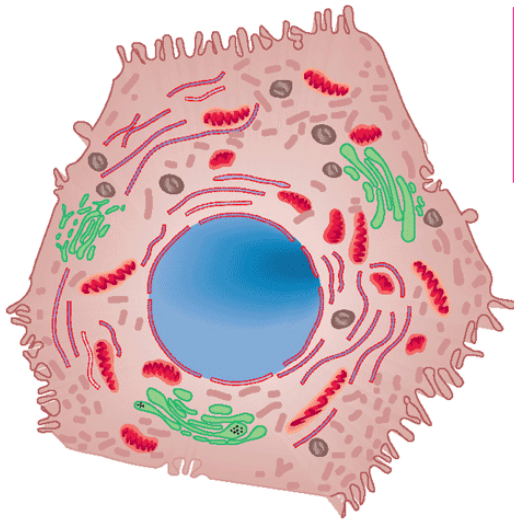


Figura 4.79 Regolazione della trascrizione negli eucarioti.

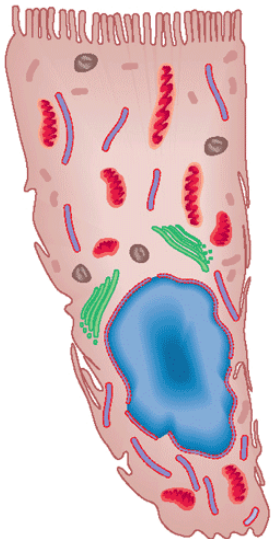
IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUKARIOTI

a) Cellula epatica



Genoma cellulare : Cellula = Dizionario : Divina Commedia

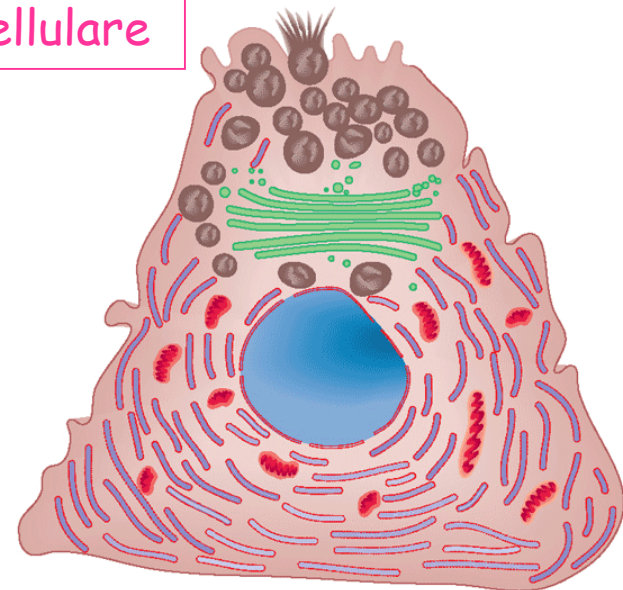
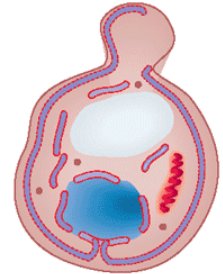
In un organismo tutte le cellule contengono lo stesso DNA, ma le differenze tra le diverse cellule differenziate dipende da un sofisticato controllo dell'espressione genica



b) Cellula intestinale

- Proteine housekeeping
- Proteine specifiche di ciascun tipo cellulare

Quasi tutte le cellule specializzate di un organismo pluricellulare hanno la capacità di modificare il quadro di espressione genica in risposta a messaggi extracellulari
Tuttavia ogni tipo di cellula risponde a suo modo allo stesso segnale extracellulare



d) Cellula pancreatica

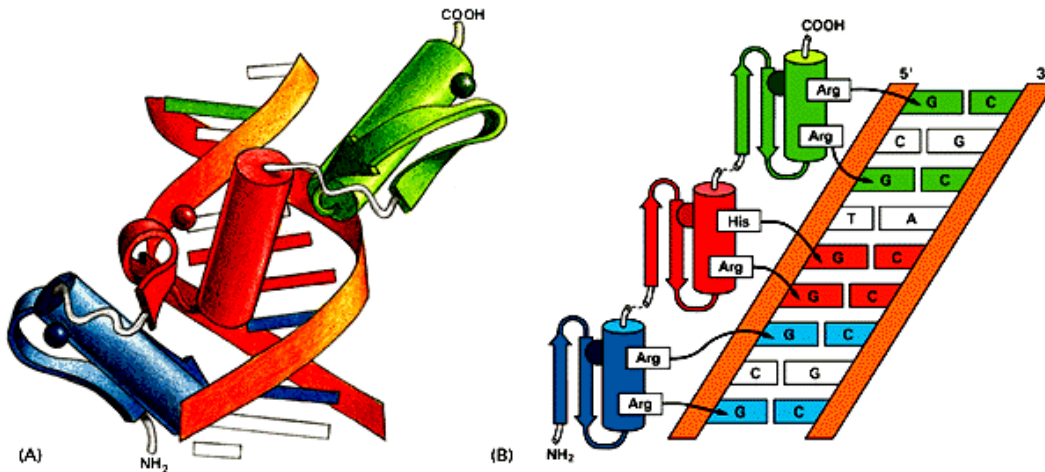
Proteine regolatrici di geni

Oltre al promotore quasi tutti i geni hanno **sequenze regolatrici** del DNA per **accendere e spegnere i geni**

Ci sono seq regolatrici **corte** che rispondono ad un solo segnale e seq **lunghe** che rispondono a segnali molteplici

Le seq regolatrici vengono **riconosciute dalle proteine regolatrici** dei geni che si legano al DNA. Queste pt **interagiscono con il DNA** tramite legami deboli, ma queste interazioni sono molto **stabili e specifiche**

ATTACCO AL DNA DI UNA PROTEINA DITO DI ZINCO



UN DIMERO A CERNIERA LAMPO DI LEUCINA ATTACCATO AL DNA



Proteine regolatrici di geni

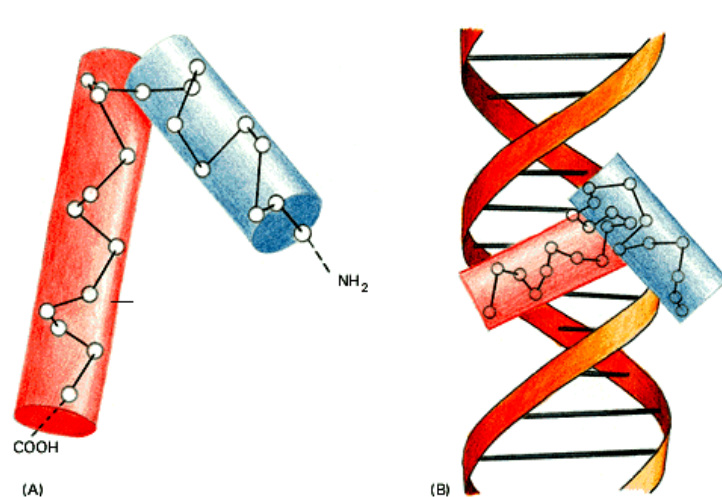
I regolatori genici sono proteine che presentano **configurazioni ricorrenti (motivi)**, particolarmente adatte a legare il DNA: in tutti i casi **un α -elica della proteina interagisce con il solco maggiore** dell'elica di DNA:

Omeodominio, zinc-finger e leucin-zipper

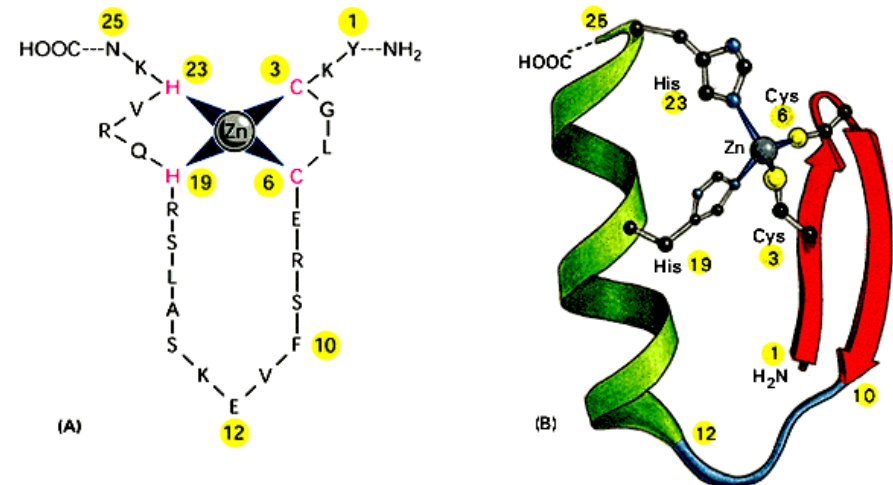
Spesso si associano a formare dei dimeri che legano ancora piú specificatamente il DNA

I fattori di trascrizione possono agire sia da attivatori che da repressori

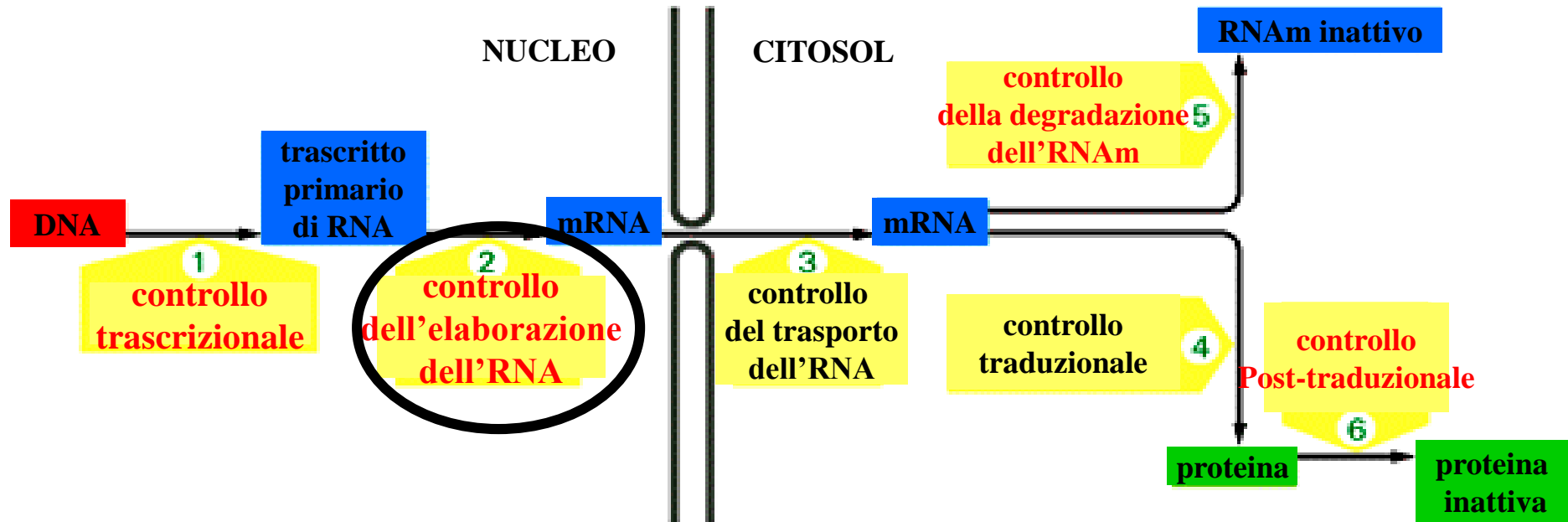
IL MOTIVO CHE LEGA IL DNA ELICA-GIRO-ELICA



UN TIPO DI PROTEINA DITO DI ZINCO



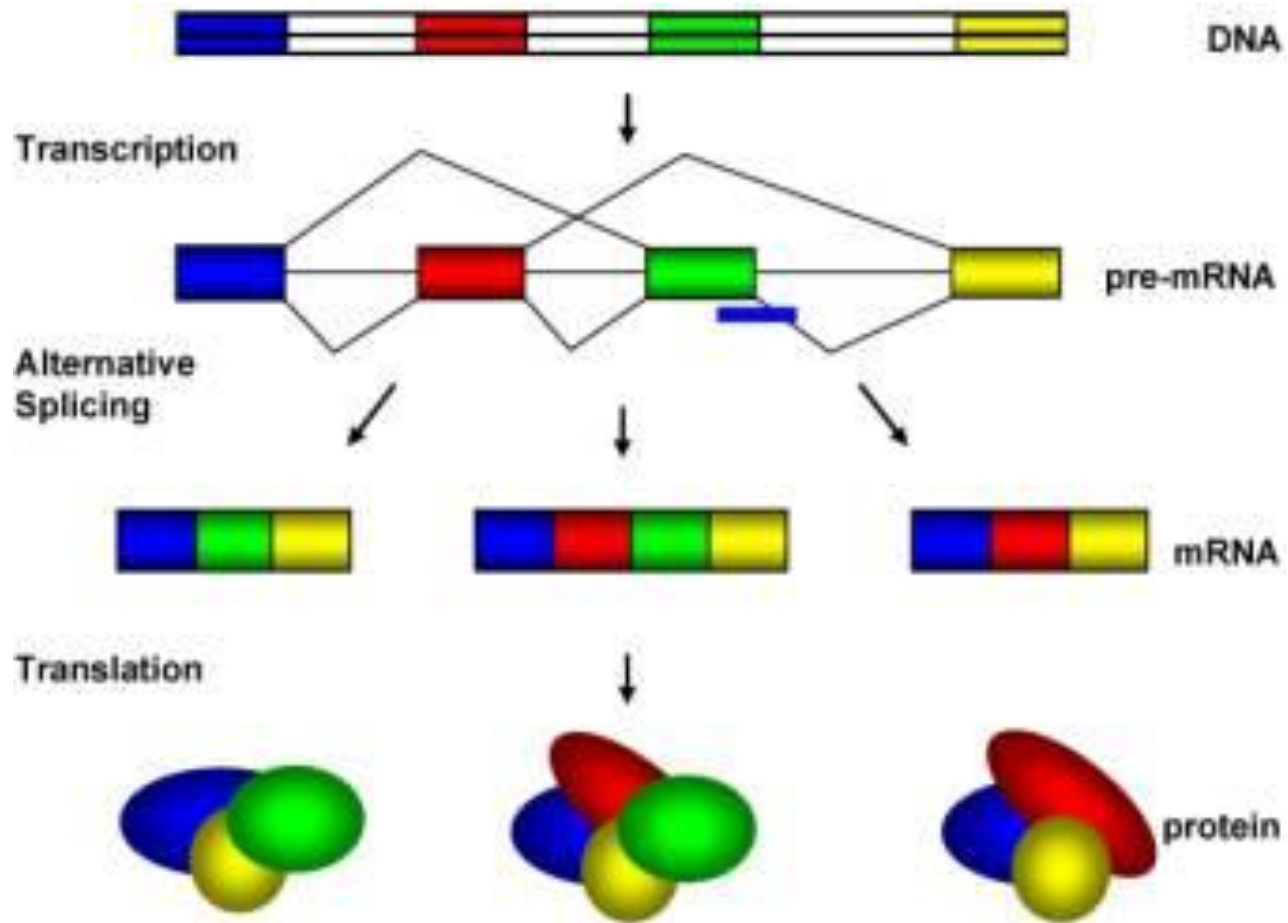
IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCARIOTI



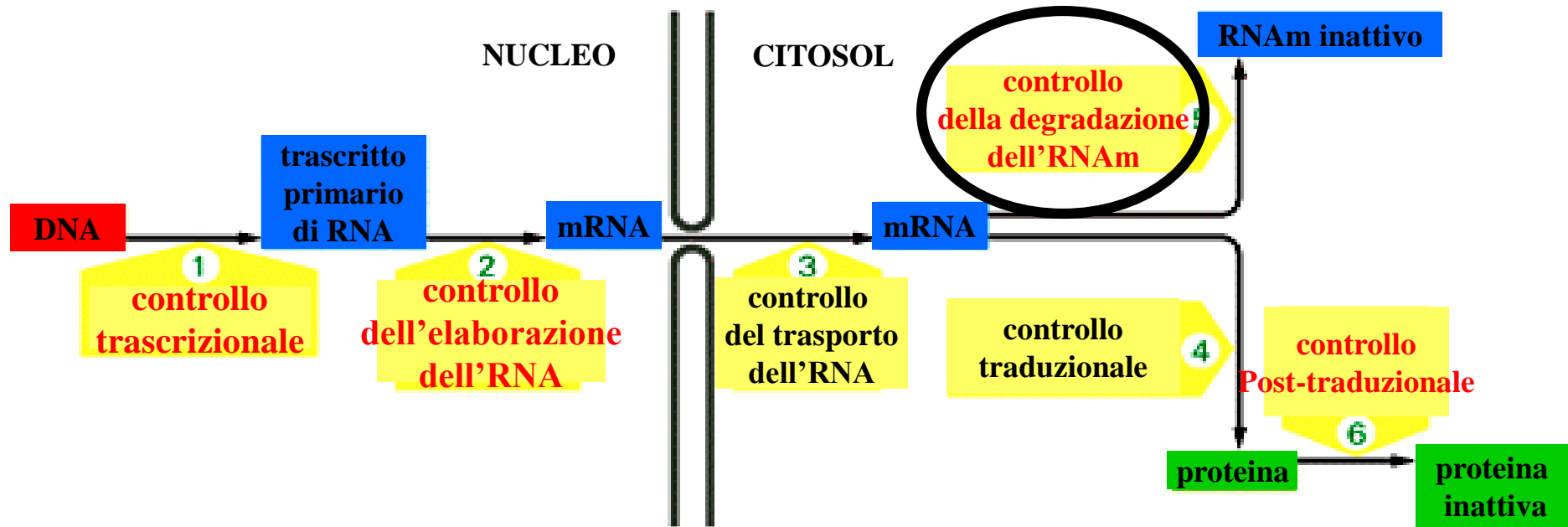
L'espressione genica può essere regolata in più punti del percorso che conduce dal DNA all'RNA e quindi alle proteine, tuttavia quello più utilizzato è il controllo della trascrizione

IL CONTROLLO POST-TRASCRIZIONALE 1

Splicing alternativo



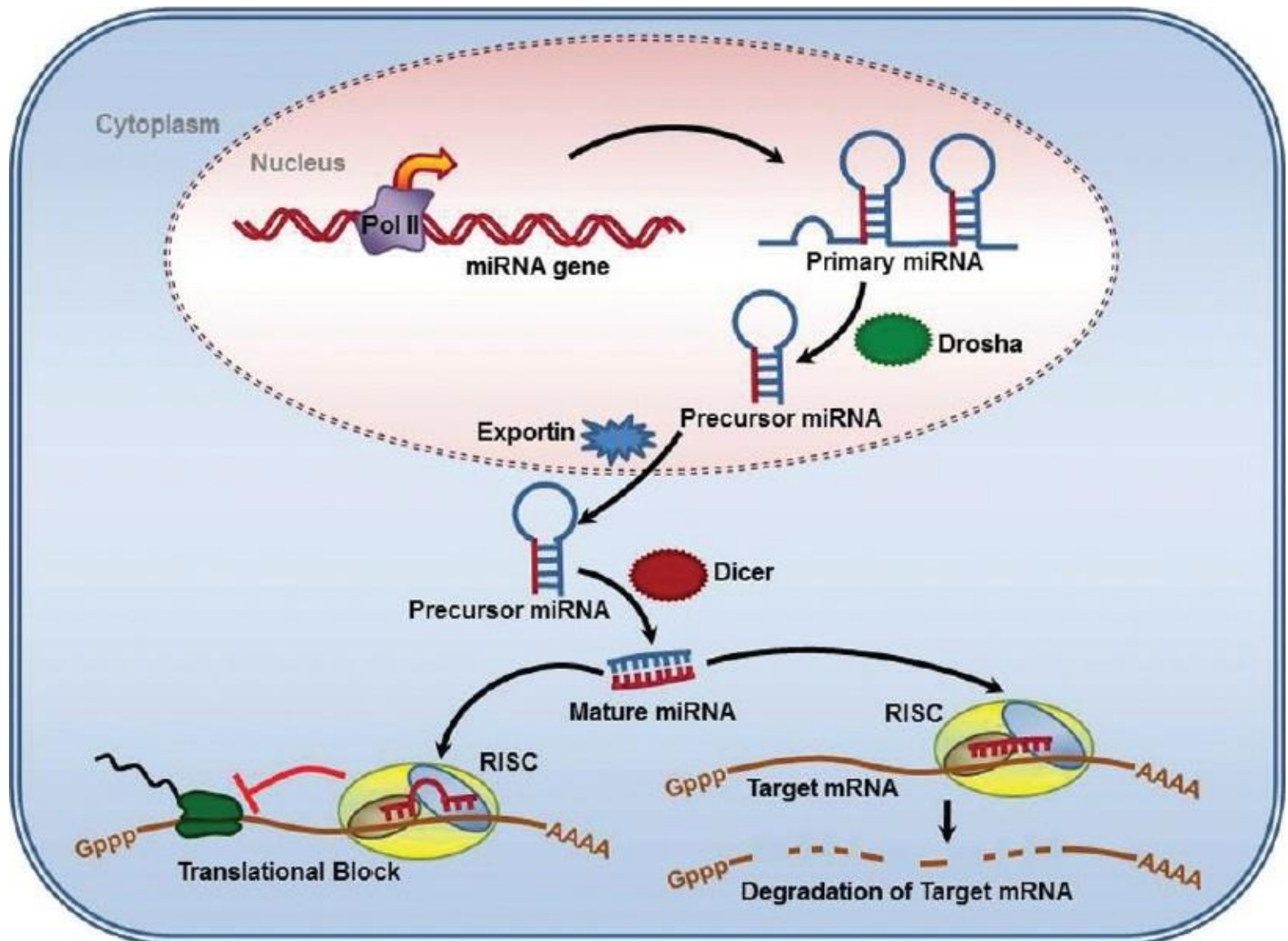
IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCARIOTI



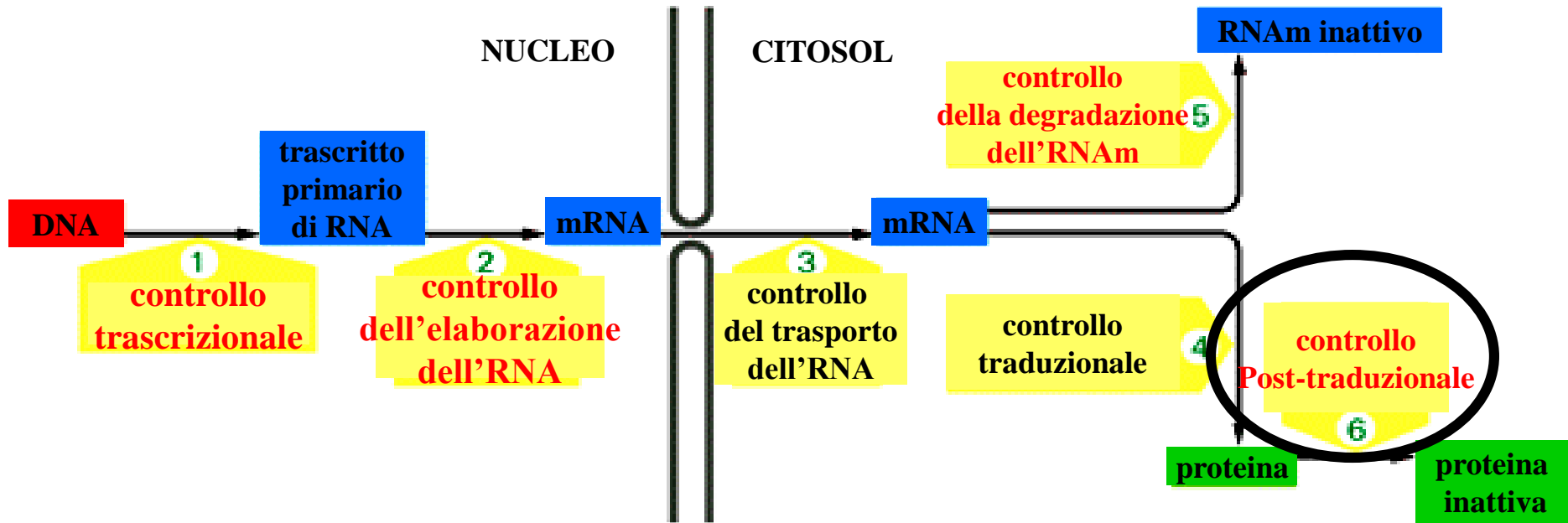
L'espressione genica può essere regolata in più punti del percorso che conduce dal DNA all'RNA e quindi alle proteine, tuttavia quello più utilizzato è il controllo della trascrizione

IL CONTROLLO POST-TRASCRIZIONALE 2

MicroRNA



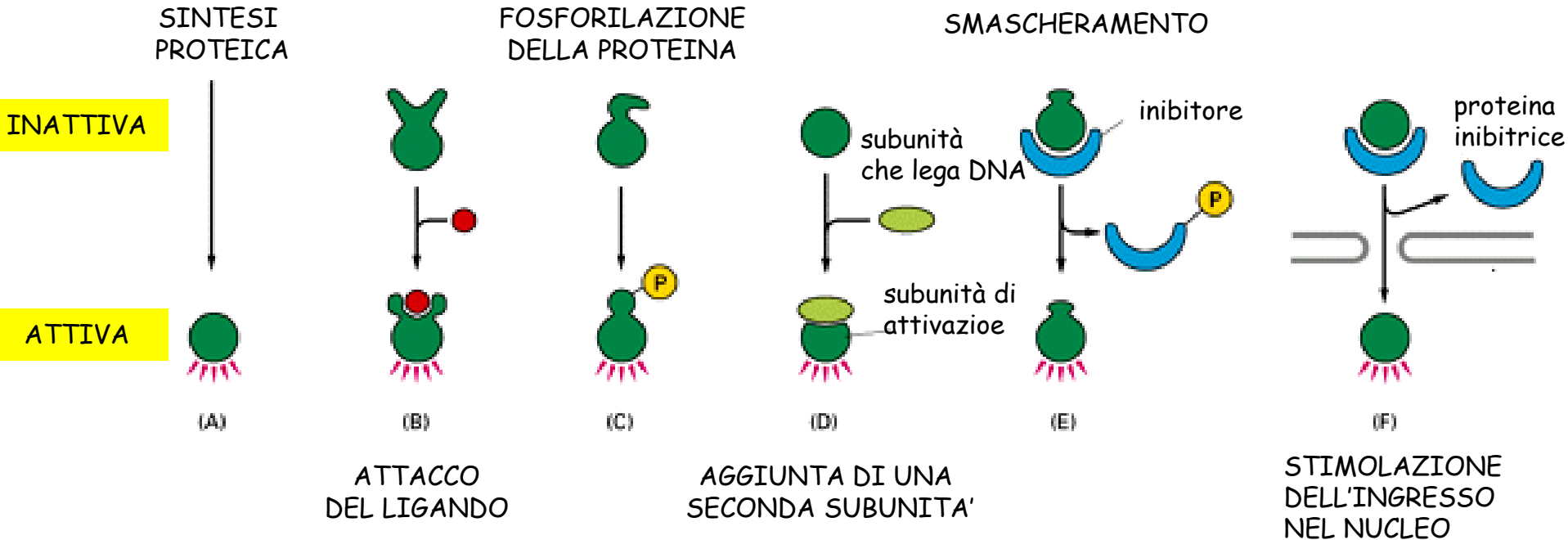
IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCARIOTI



L'espressione genica può essere regolata in più punti del percorso che conduce dal DNA all'RNA e quindi alle proteine, tuttavia quello più utilizzato è il controllo della trascrizione

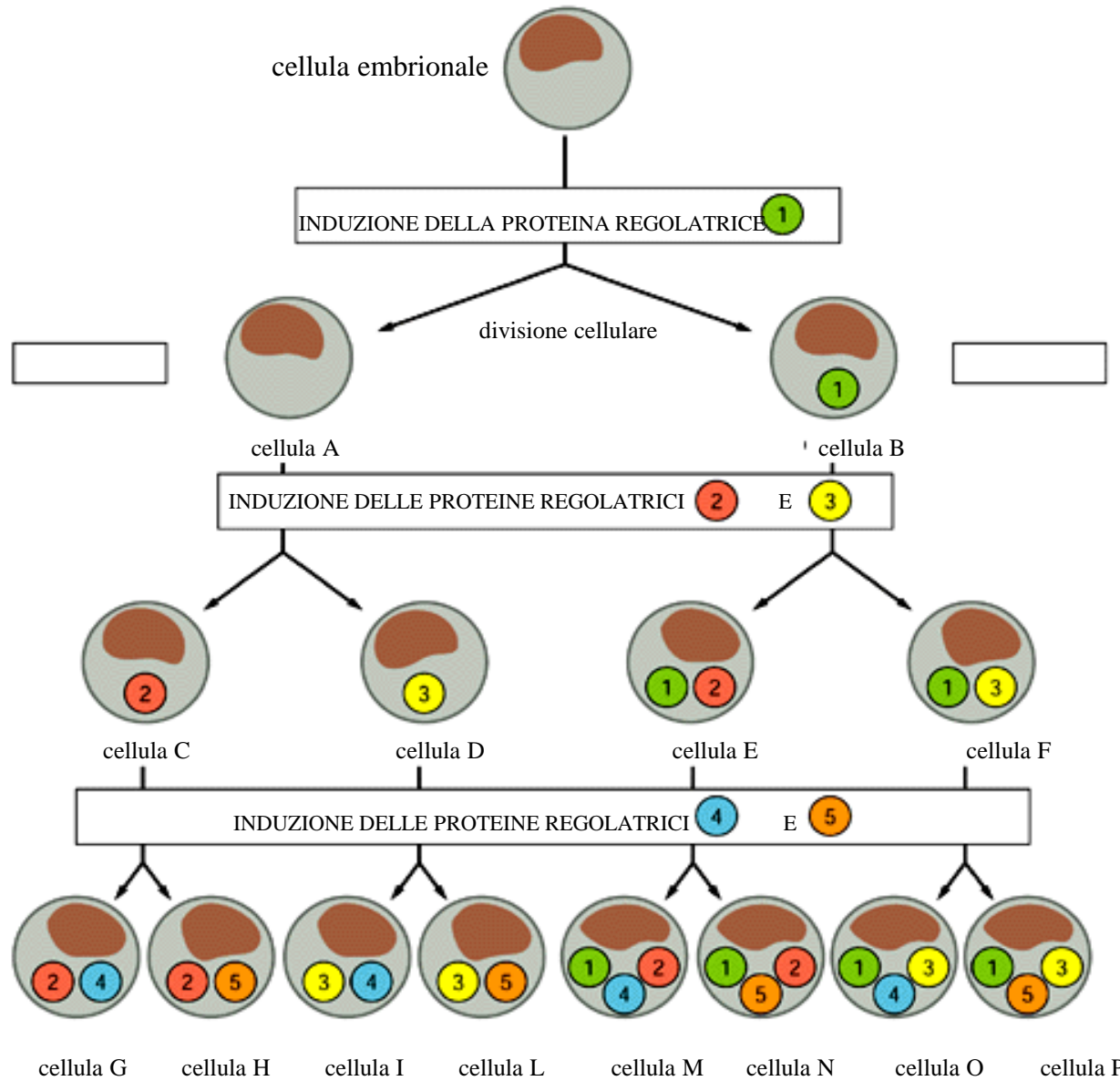
IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUKARIOTI

Alcuni modi in cui l'attività delle proteine regolatrici è regolata nelle cellule eucariotiche



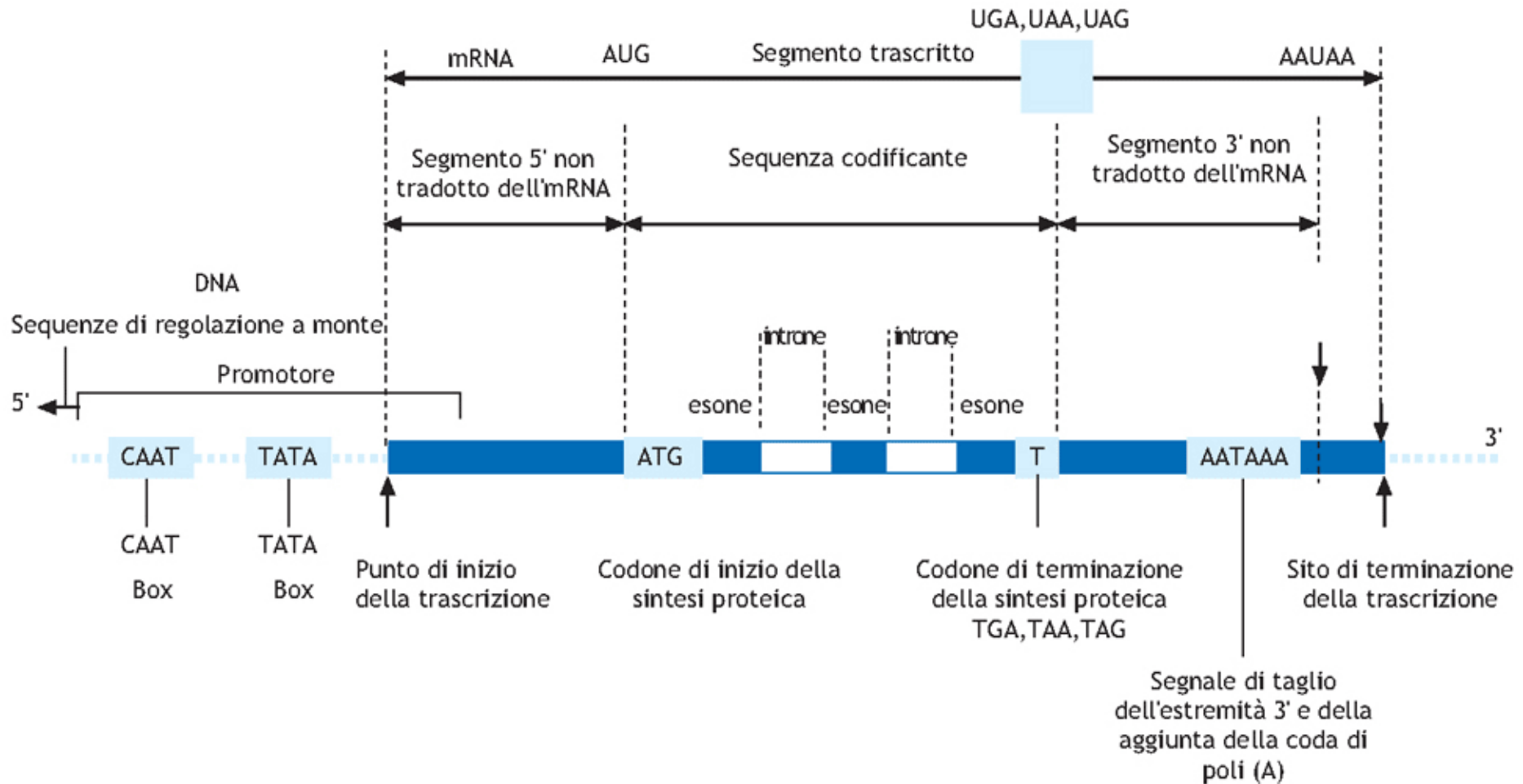
IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCARIOTI

L'IMPORTANZA DEL CONTROLLO COMBINATORIO DEI GENI PER LO SVILUPPO



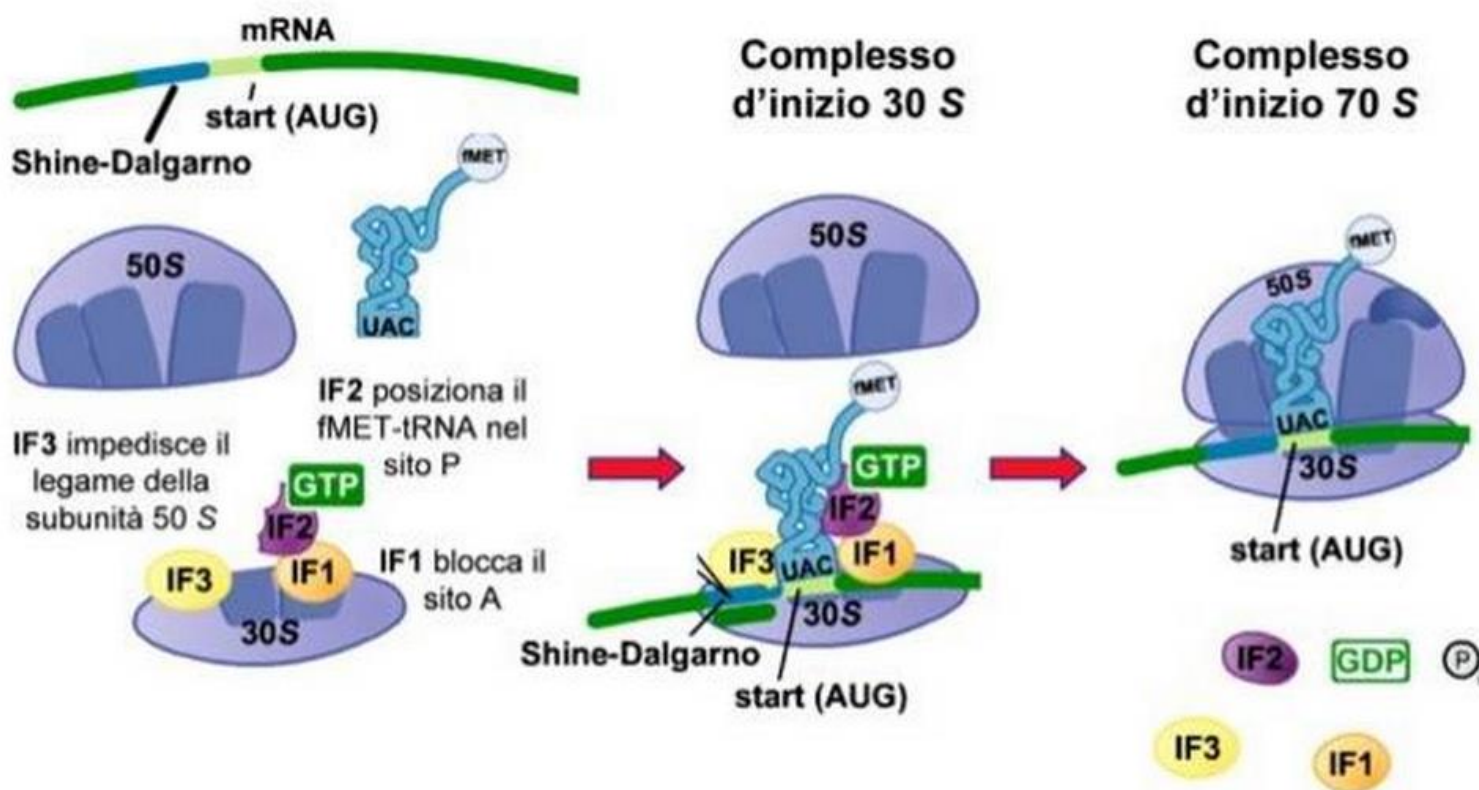
Combinazioni di pochi regolatori genici possono dar luogo a molti tipi cellulari diversi nel corso dello sviluppo

Come si legge un gene

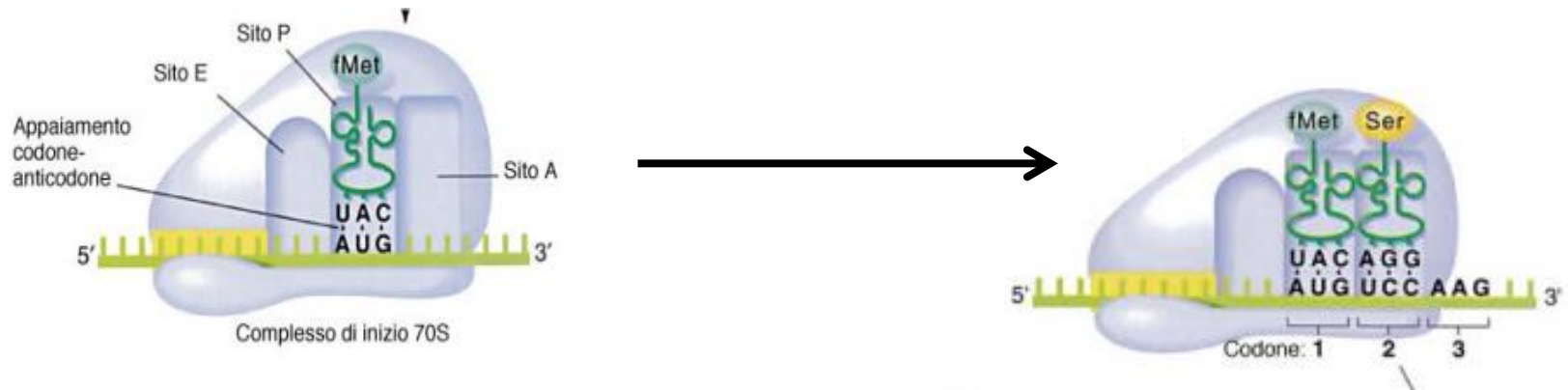


Inizio della traduzione nei batteri

- Attacco di 3 fattori di inizio della traduzione alla subunità ribosomiale minore
- A questi si uniscono N-formilmethionil-tRNA di inizio ed mRNA
- Rilasciato un fattore
- La subunità maggiore si unisce poi al complesso, formando un ribosoma funzionante su cui procede l'allungamento della catena polipeptidica
- Idrolisi di GTP e rilascio dei restanti fattori



La molecola di mRNA viene tradotta in un processo ciclico a tre stadi.



Stadio 1:

A. Una molecola di amminoacil-tRNA si lega al sito **P libero**.
Riconoscimento codone-anticodone

B. Un tRNA, caricato con l'aa successivo della catena, si **associa al sito A vacante**, abbinando le basi del suo anticodone al codone dell'mRNA esposto allo stesso sito A

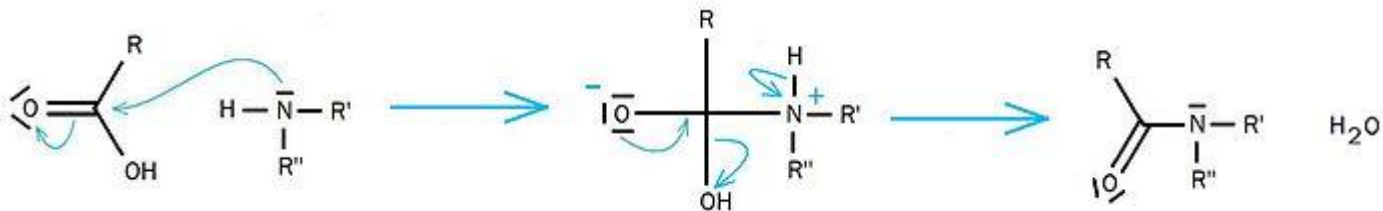
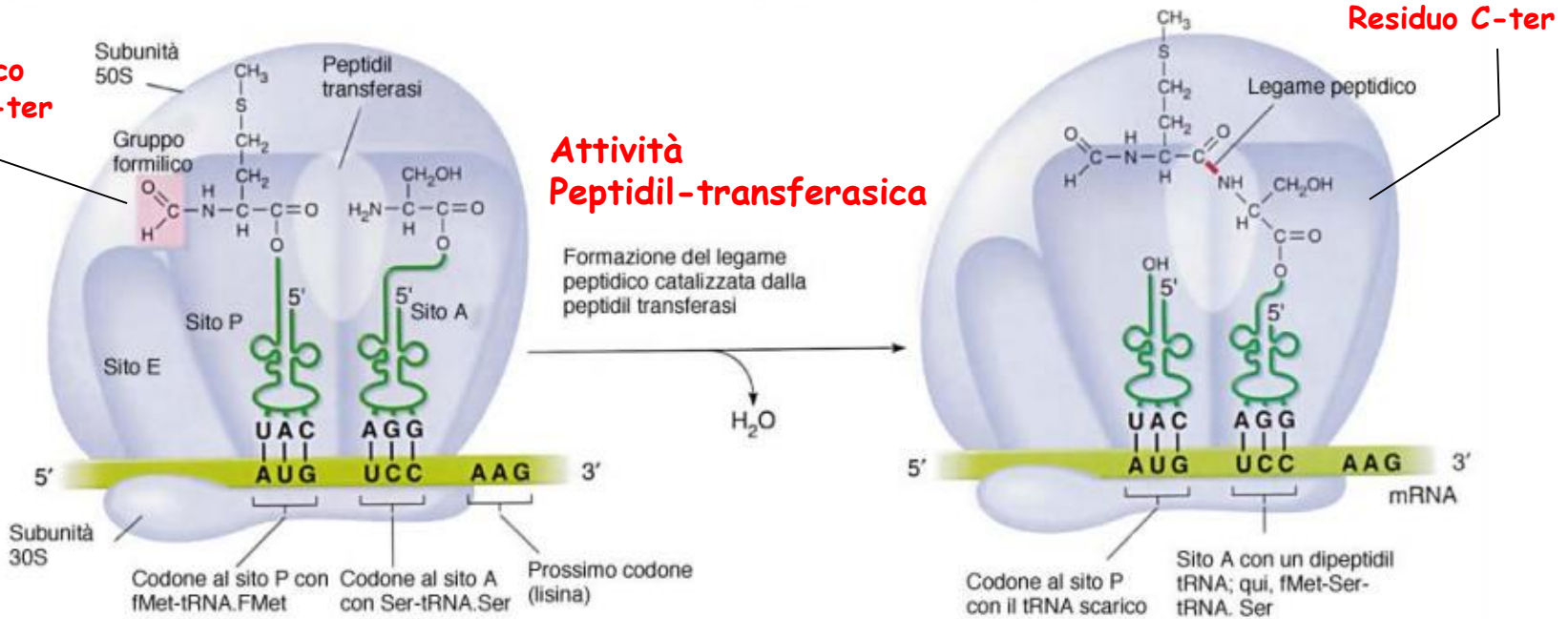
Formazione del legame peptidico

Figura 6.16

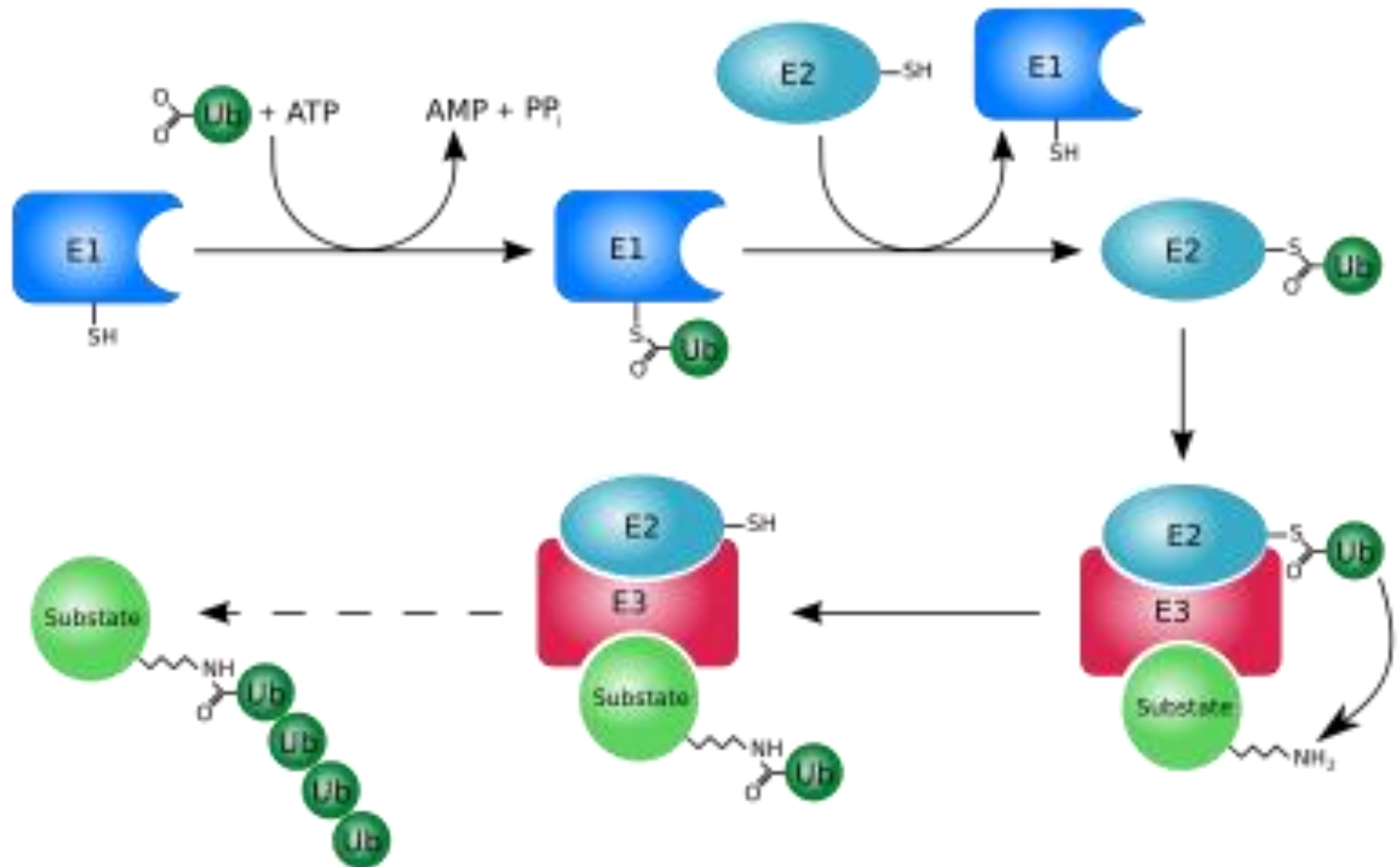
La formazione del legame peptidico tra i primi due aminoacidi (fMet e Ser) di una catena polipeptidica è catalizzata sul ribosoma dalla peptidil-transferasi. (a) Aminoacil-tRNA adiacenti legati all'mRNA sul ribosoma; (b) in seguito alla formazione del legame peptidico, un tRNA scarico si trova al sito P ed un dipeptidil-tRNA al sito A.

a) Aminoacil-tRNA adiacenti

b) Dopo la formazione del legame peptidico



Ubiquitinizzazione



Il proteasoma

