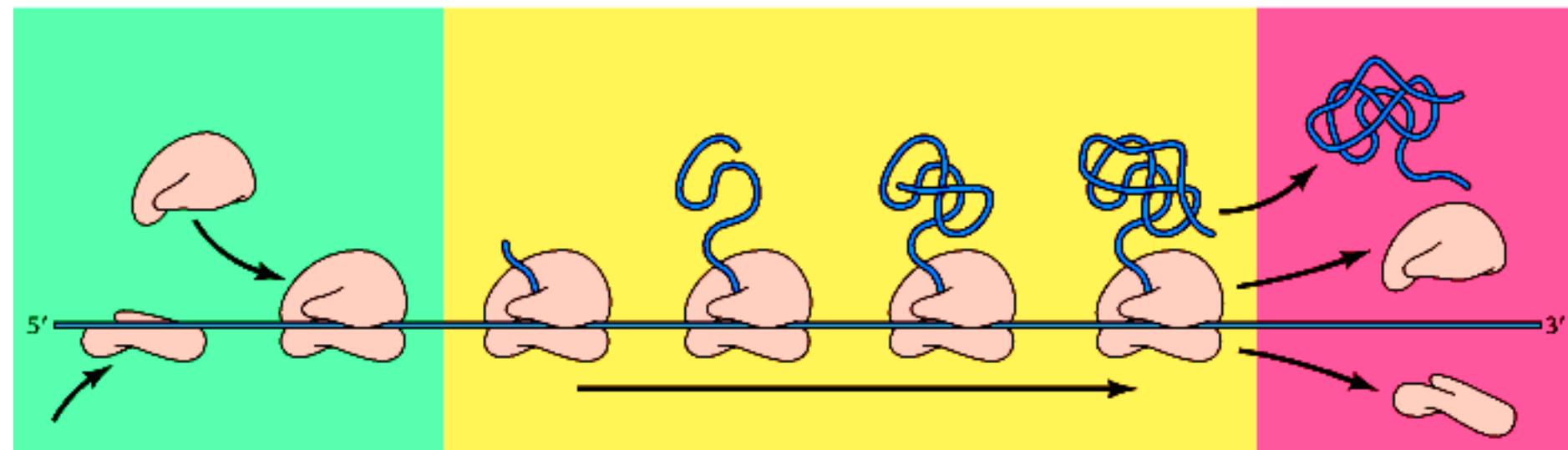


Lezione 5 - TRADUZIONE

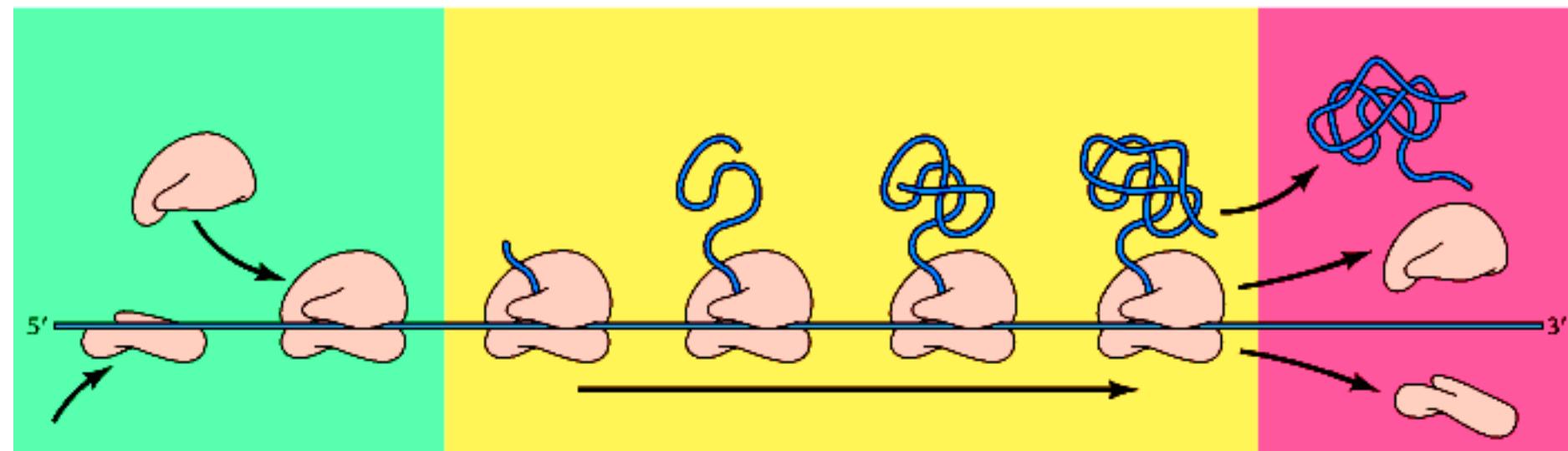
- 1. Flusso dell'informazione genetica
- 2. Codice genetico
- 3. Ribosomi
- 4. Nucleolo ed rRNA
- 5. tRNA

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

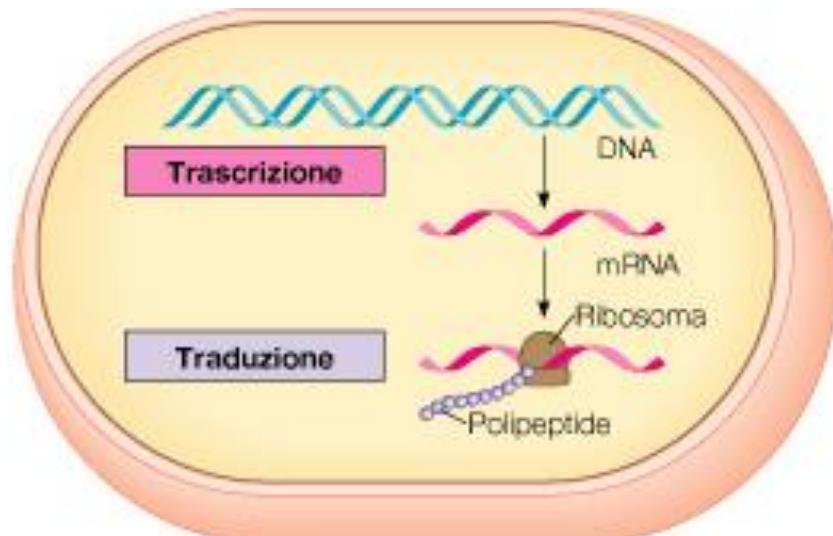


TRADUZIONE

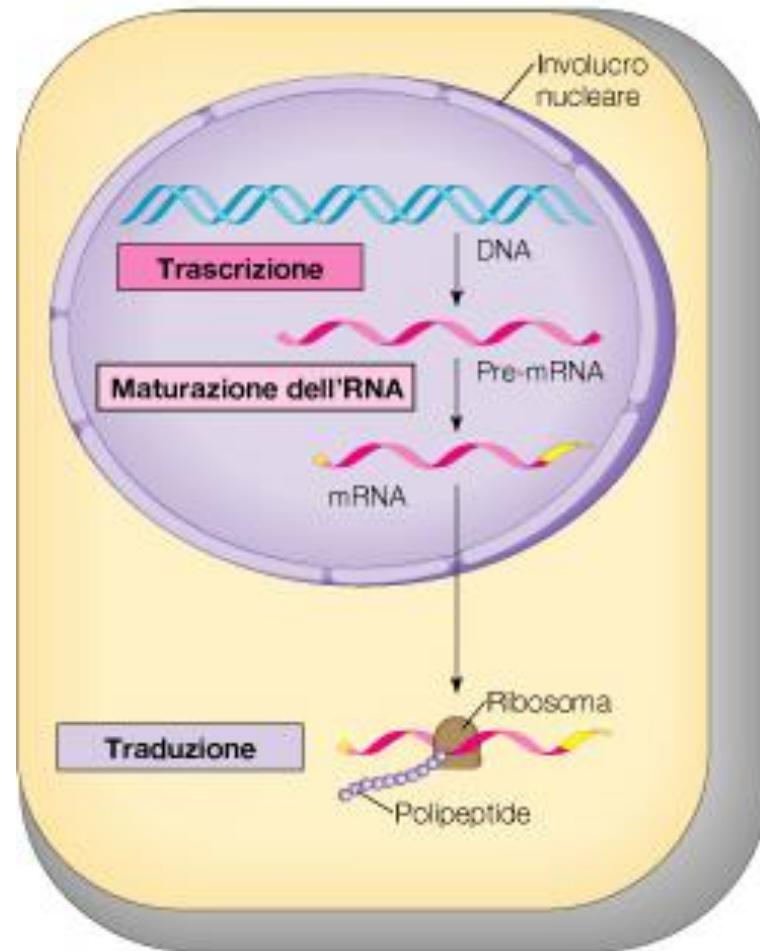
- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Flusso dell'informazione genetica | 6. Ribosomi: sito della sintesi |
| 2. Codice genetico | 7. Sintesi proteica |
| 3. Ribosomi | 8. Mutazioni |
| 4. Nucleolo ed rRNA | 9. Folding |
| 5. tRNA | 10. Controllo dell'espressione genica |



Il trasferimento dell'informazione dal DNA alle proteine

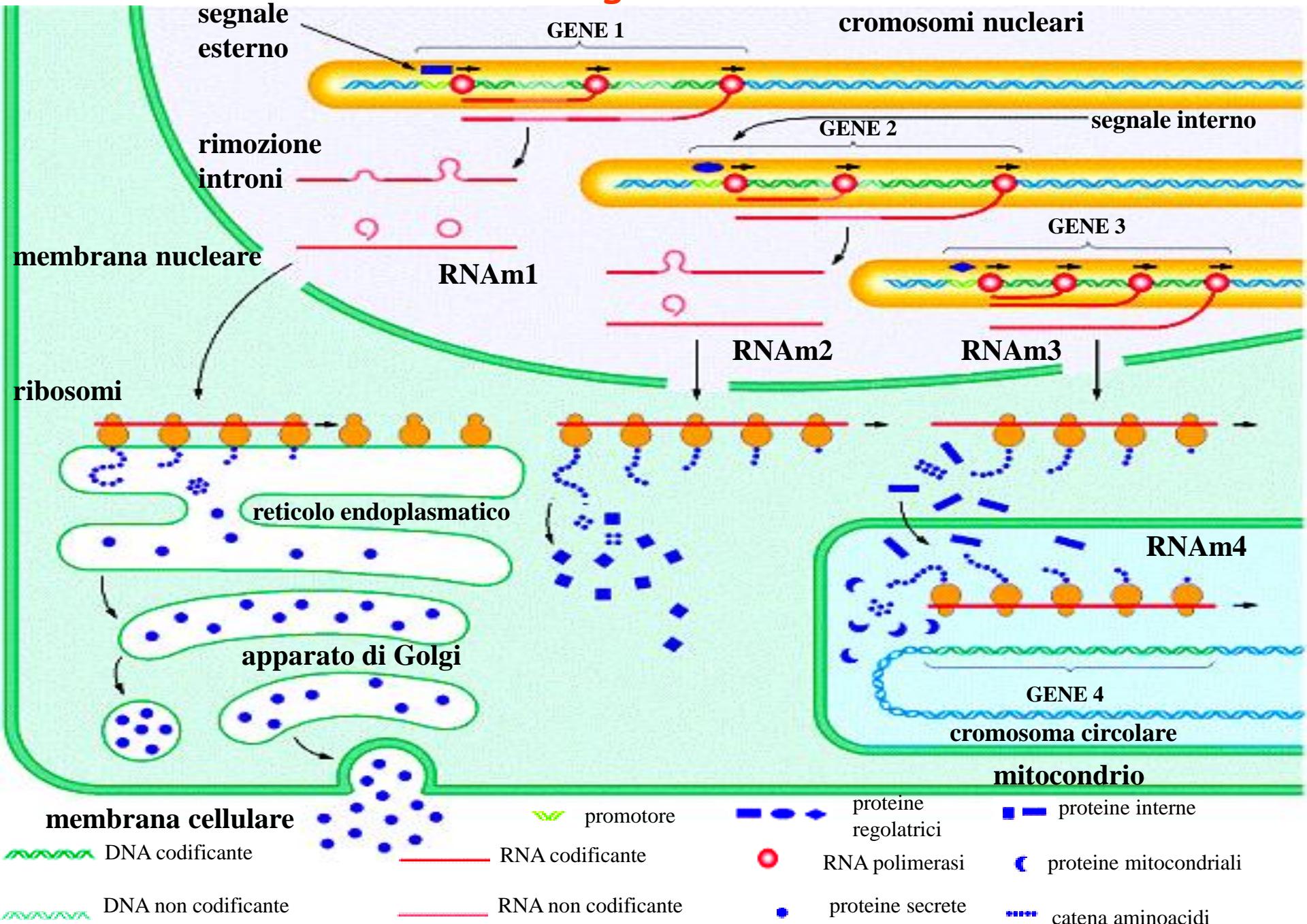


(a) Cellula procariotica. In una cellula sprovvista di nucleo, l'mRNA prodotto dalla trascrizione è immediatamente tradotto senza subire ulteriori modificazioni.



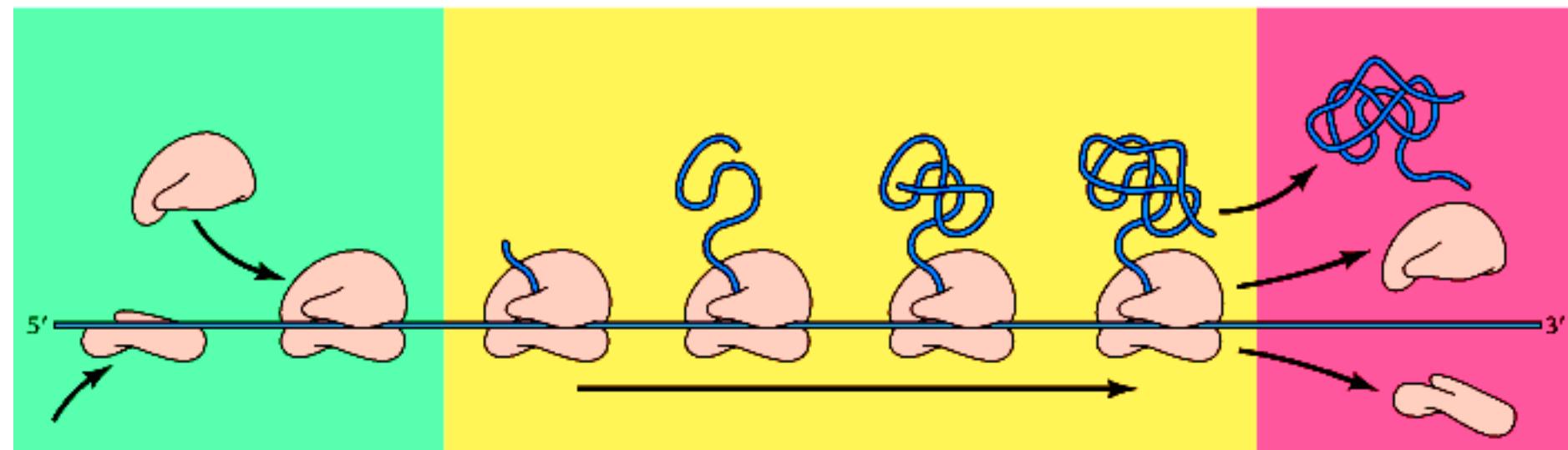
(b) Cellula eucariotica. Il nucleo fornisce un compartimento separato per la trascrizione. Il trascritto originale dell'RNA, detto pre-mRNA, subisce una serie di modificazioni prima di abbandonare il nucleo come mRNA.

Schema dell'azione di un gene in una cellula eucariotica



TRADUZIONE

- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Flusso dell'informazione genetica | 6. Ribosomi: sito della sintesi |
| 2. Codice genetico | 7. Sintesi proteica |
| 3. Ribosomi | 8. Mutazioni |
| 4. Nucleolo ed rRNA | 9. Folding |
| 5. tRNA | 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 Ser UCC UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA STOP UAG STOP	UGU Cys UGC UGA STOP UGG Trp	U C A G
C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Pro CCC CCA CCG	CAU His CAC CAA Gin CAG	CGU Arg CGC CGA CGG	U C A G
A	AUU Ile AUC AUA AUG Met	ACU Thr ACC ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AQU Ser AGC AGA AGG Arg	U C A G
G	GUU Val GUC GUA GUG	GCU Ala GCC GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU Gly GGC 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

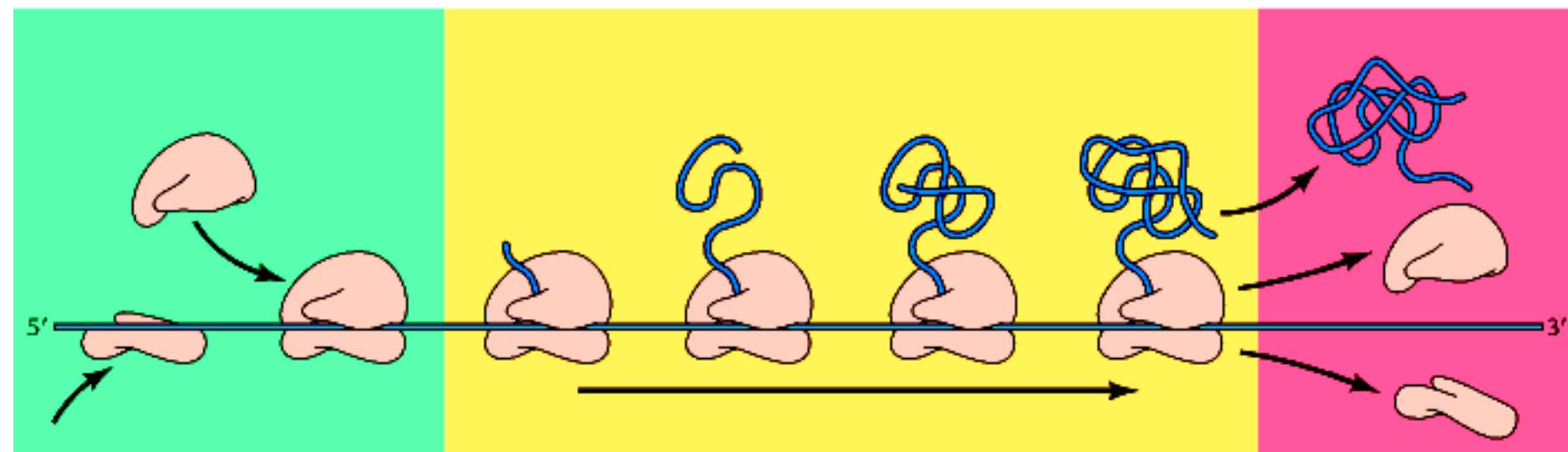
Terza lettera

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

IL CODICE GENETICO E' DEGENERATO

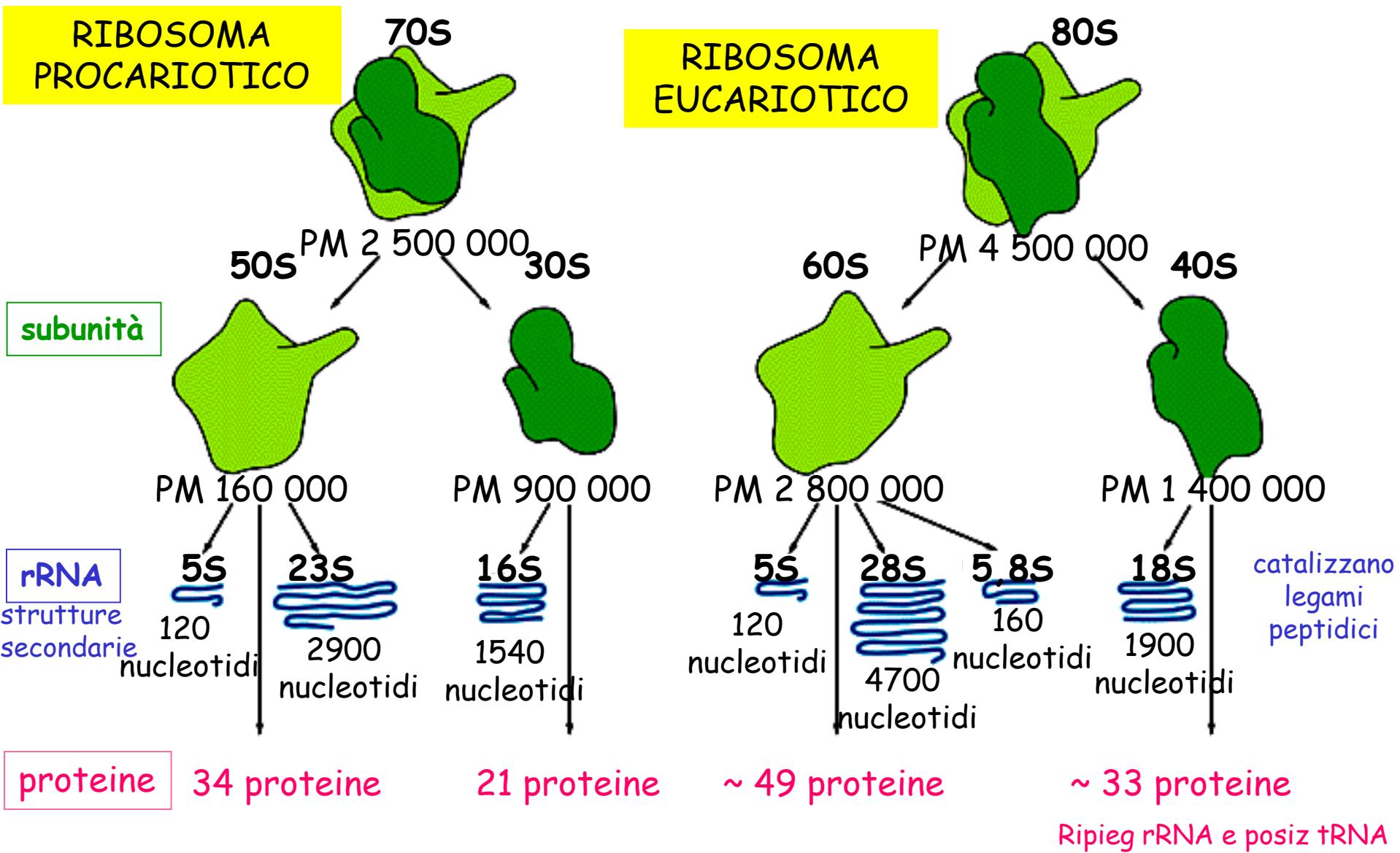
TRADUZIONE

- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Flusso dell'informazione genetica | 6. Ribosomi: sito della sintesi |
| 2. Codice genetico | 7. Sintesi proteica |
| 3. Ribosomi | 8. Mutazioni |
| 4. Nucleolo ed rRNA | 9. Folding |
| 5. tRNA | 10. Controllo dell'espressione genica |



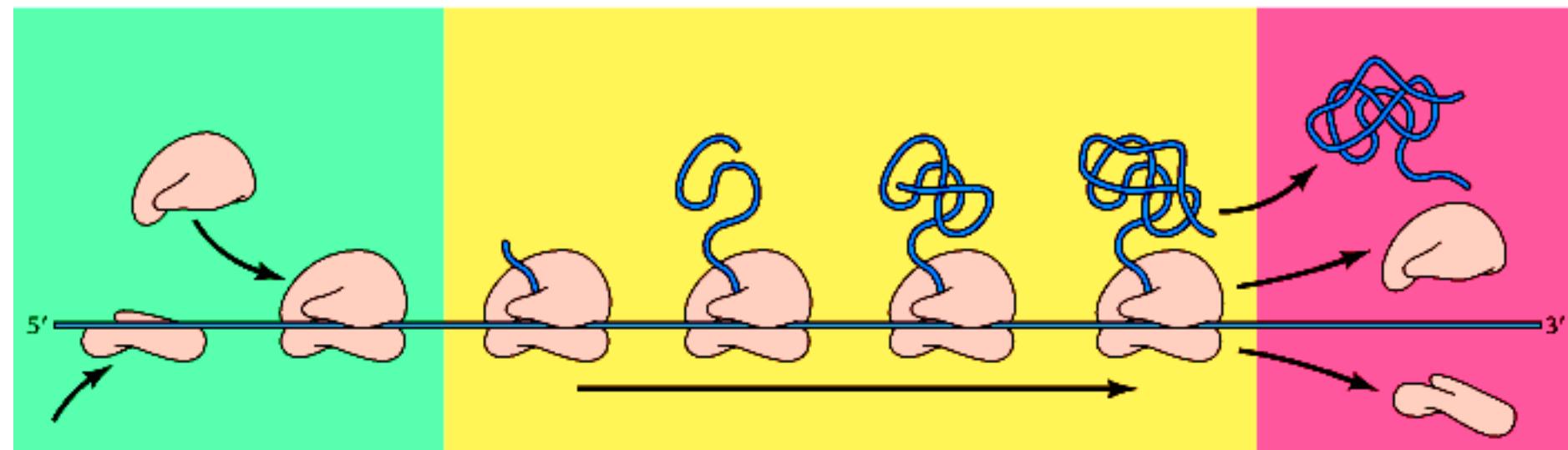
I RIBOSOMI

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



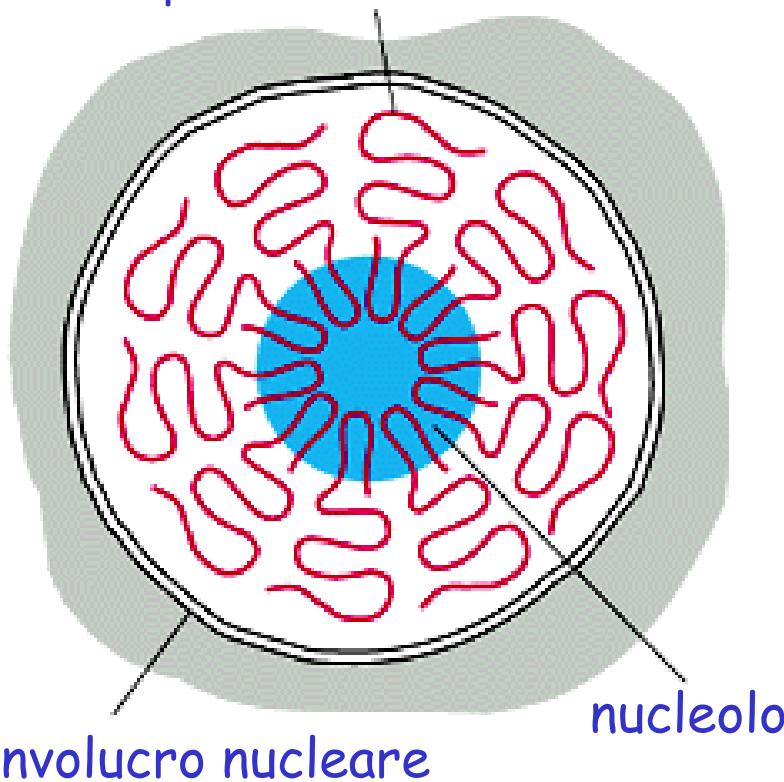
TRADUZIONE

- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Flusso dell'informazione genetica | 6. Ribosomi: sito della sintesi |
| 2. Codice genetico | 7. Sintesi proteica |
| 3. Ribosomi | 8. Mutazioni |
| 4. Nucleolo ed rRNA | 9. Folding |
| 5. tRNA | 10. Controllo dell'espressione genica |



IL NUCLEOLO E' UNA MACCHINA CHE PRODUCE I RIBOSOMI

10 cromosomi interfasici
forniscono al nucleolo le anse
di DNA che producono RNAr



• 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

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

Involucro nucleare

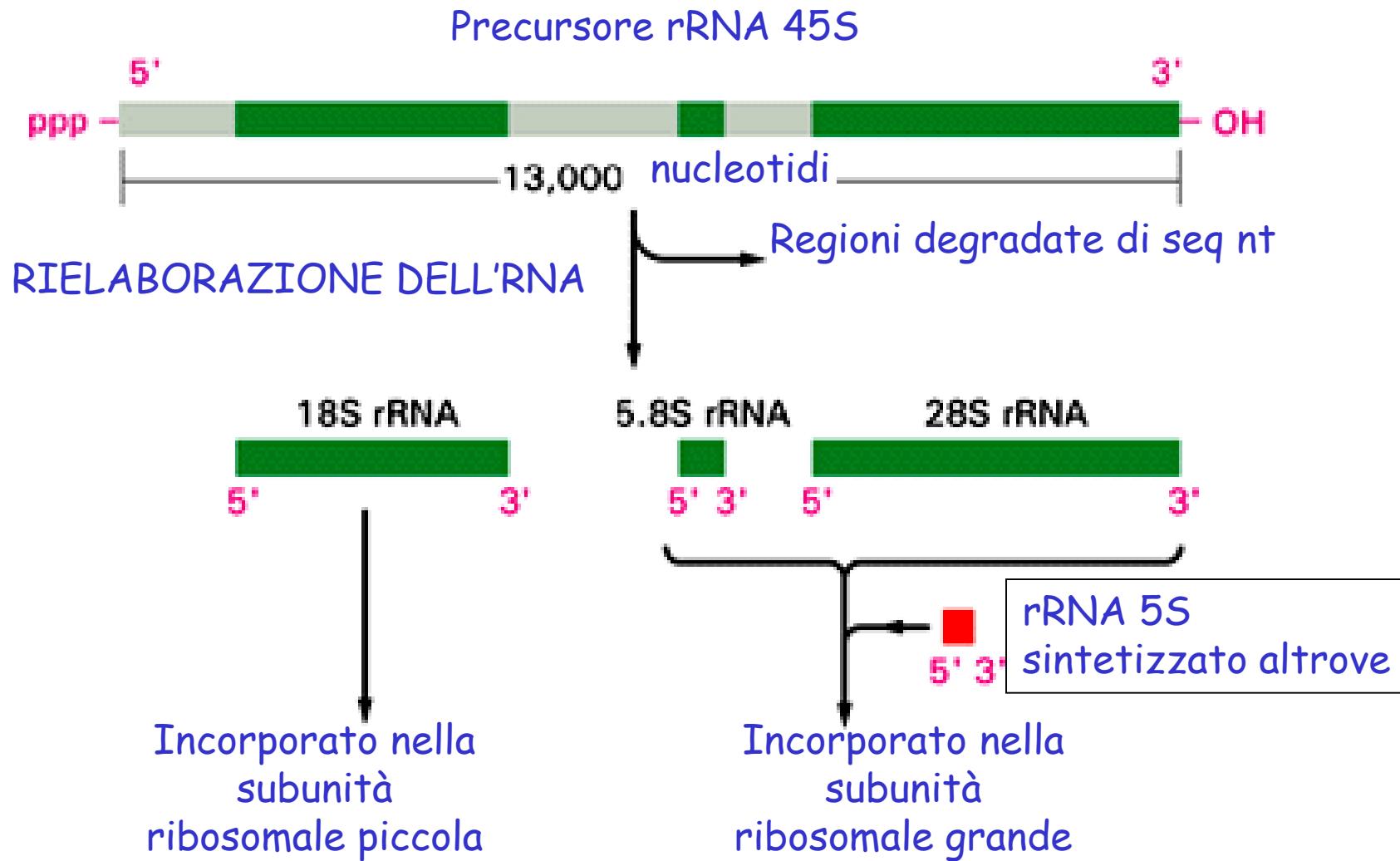
Per soddisfare la necessità di trascrivere grandi quantità di molecole di rRNA, ci sono **copie multiple** dei geni degli rRNA (Uomo: 200 copie)

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'RNA 5S sono presenti in una singola serie in tandem sul cromosoma 1

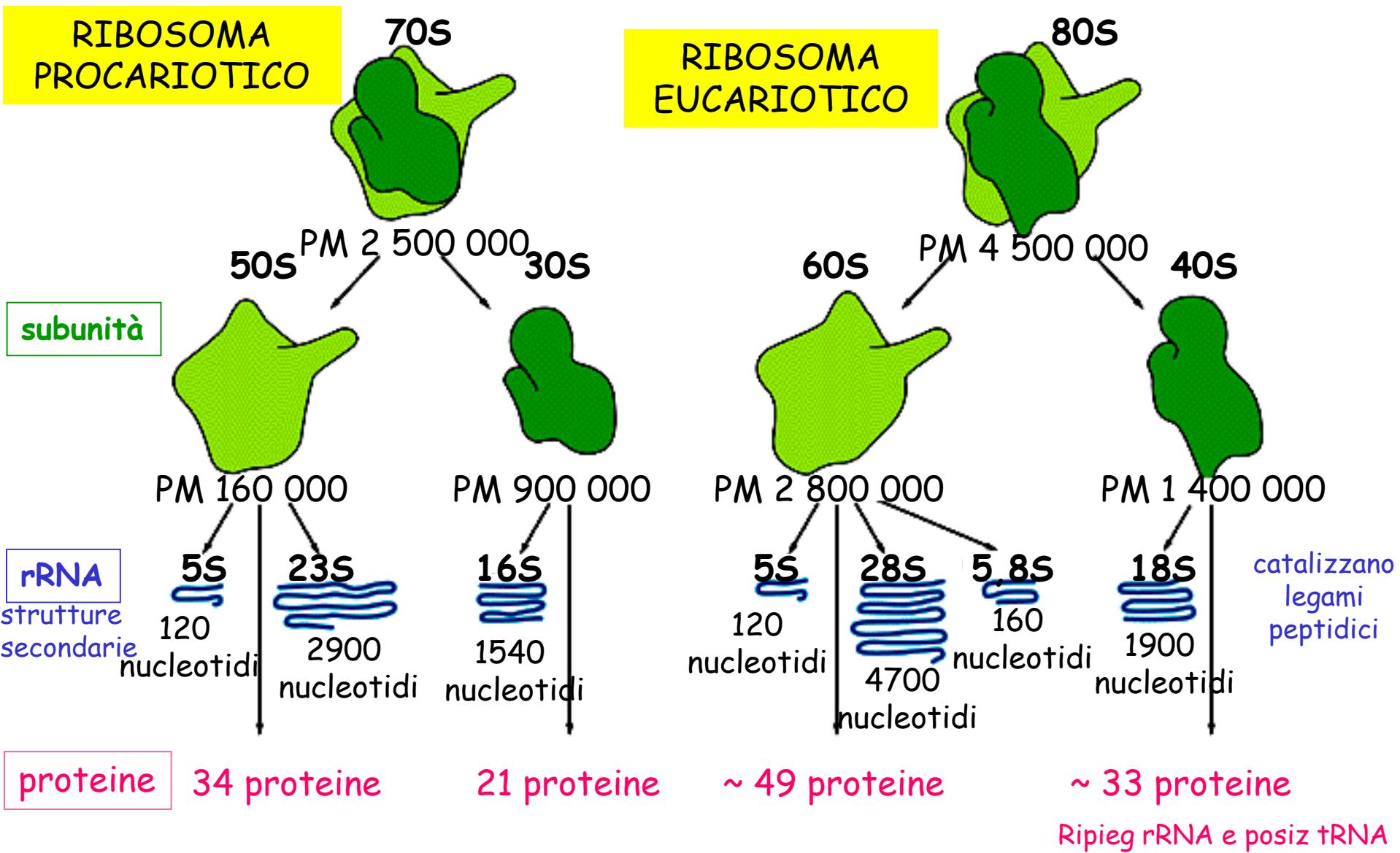
Trascrizione degli RNA ribosomali

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**:

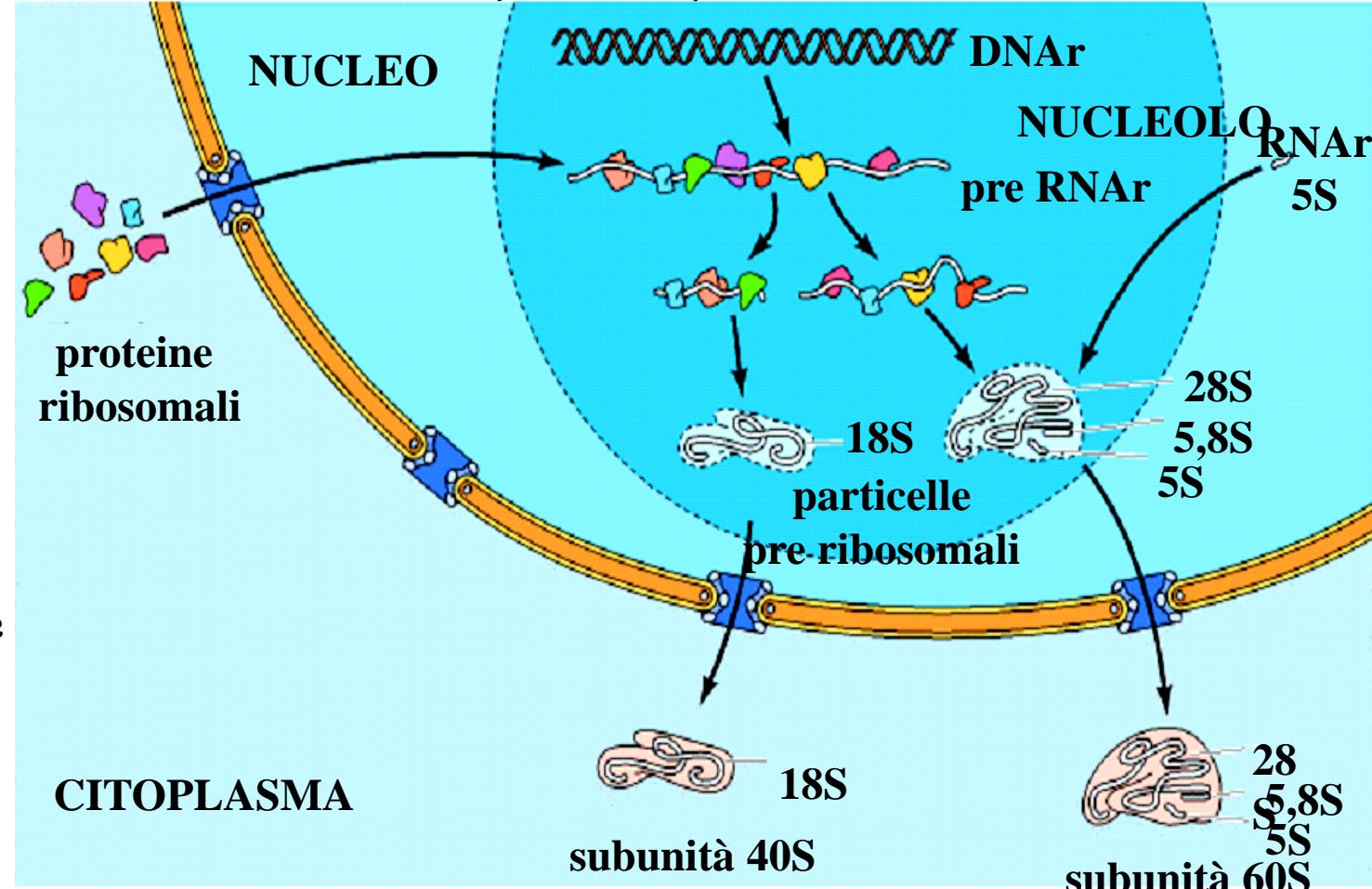


RNA 5S:

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

proteine ribosomali:

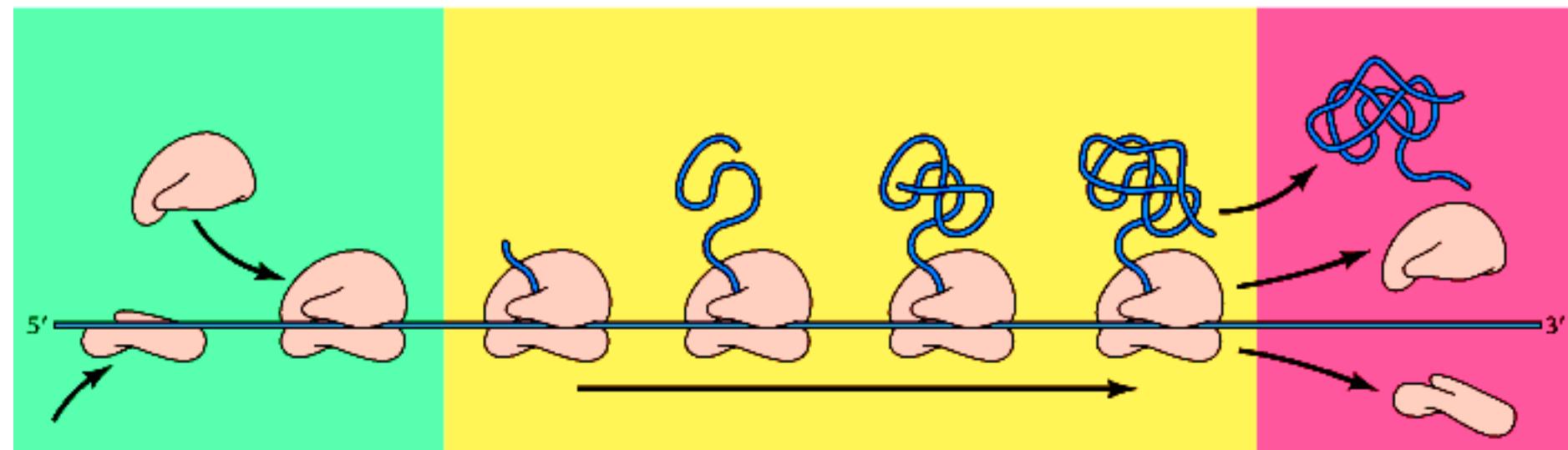
1. trascritte fuori dal nucleolo dalla RNA pol II
2. tradotte dai ribosomi citoplasmatici
3. trasportate dal citoplasma al nucleolo, dove sono assembrate con rRNA per formare particelle preribosomiali.



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

TRADUZIONE

- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Flusso dell'informazione genetica | 6. Ribosomi: sito della sintesi |
| 2. Codice genetico | 7. Sintesi proteica |
| 3. Ribosomi | 8. Mutazioni |
| 4. Nucleolo ed rRNA | 9. Folding |
| 5. tRNA | 10. Controllo dell'espressione genica |



La traduzione: il processo di sintesi proteica

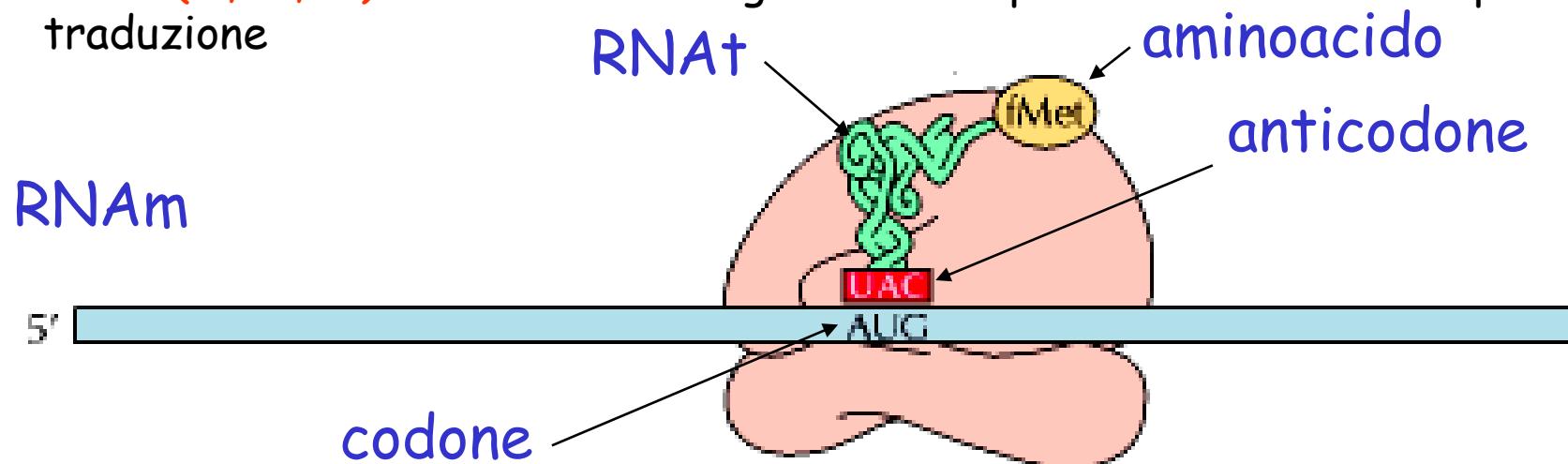
Le proteine sono sintetizzate da stampi di mRNA mediante il processo della **traduzione**

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

Ciascun aa è specificato da 3 basi (un codon) 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



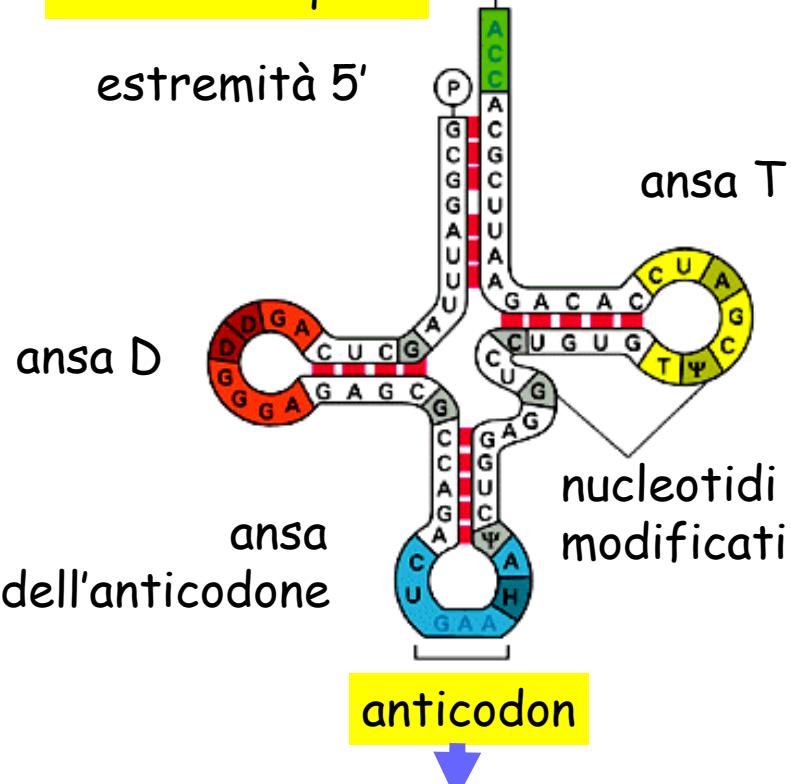
RNA transfert (tRNA)

l'aminoacido si attacca qui

estremità 5'

Tutti i tRNA hanno la sequenza CCA al loro termine 3' e gli aa sono attaccati covalentemente al ribosio dell'adenosina terminale

→ OH estremità 3' →



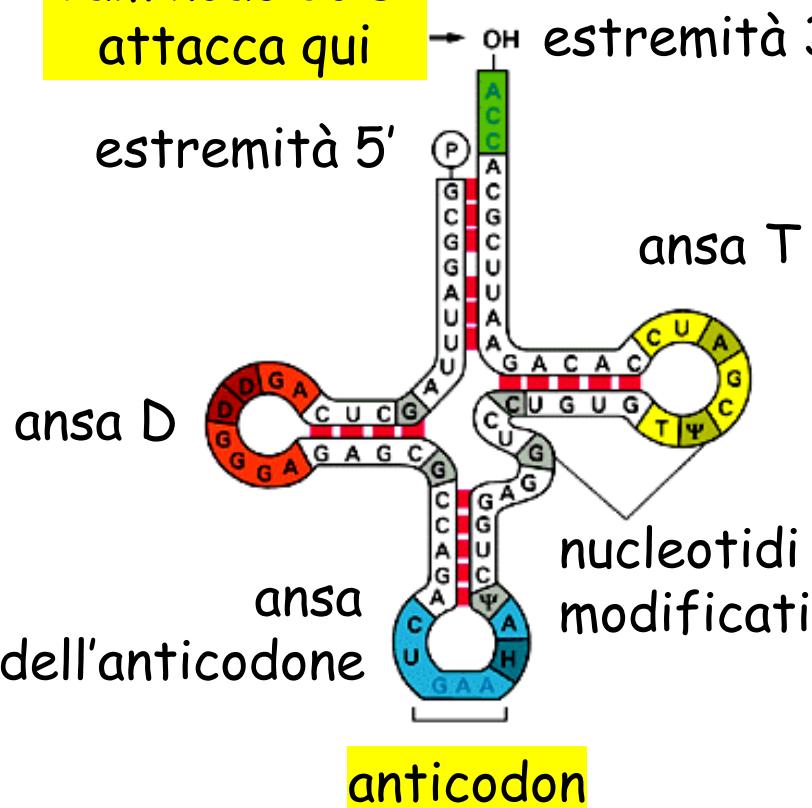
I tRNA sono lunghi approssimativamente 70-80 nt e hanno una caratteristica struttura a trifoglio prodotta dall'accoppiamento complementare di basi fra regioni diverse della molecola.

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

RNA transfert:

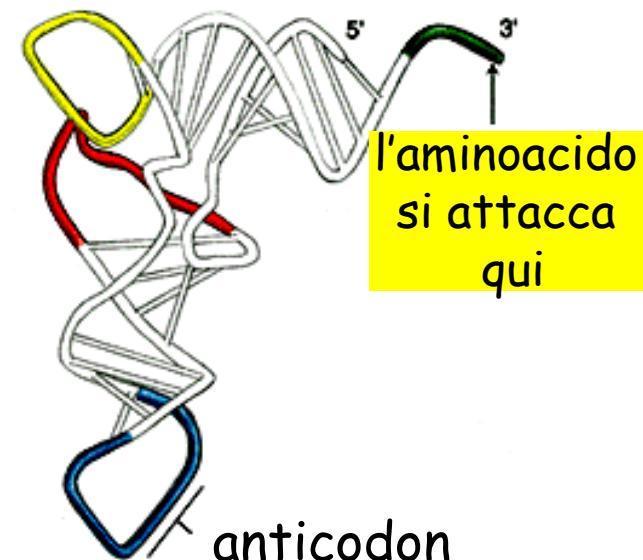
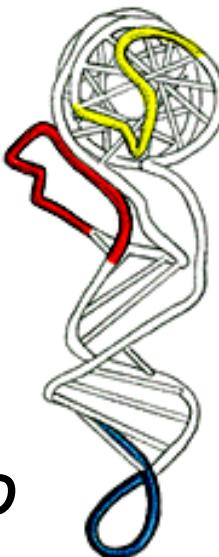
adattatori che allineano ciascun aa con il codon corrispondente sullo stampo di mRNA

l'aminoacido si attacca qui



La cellula contiene vari tRNA che servono da adattatori per questo processo:

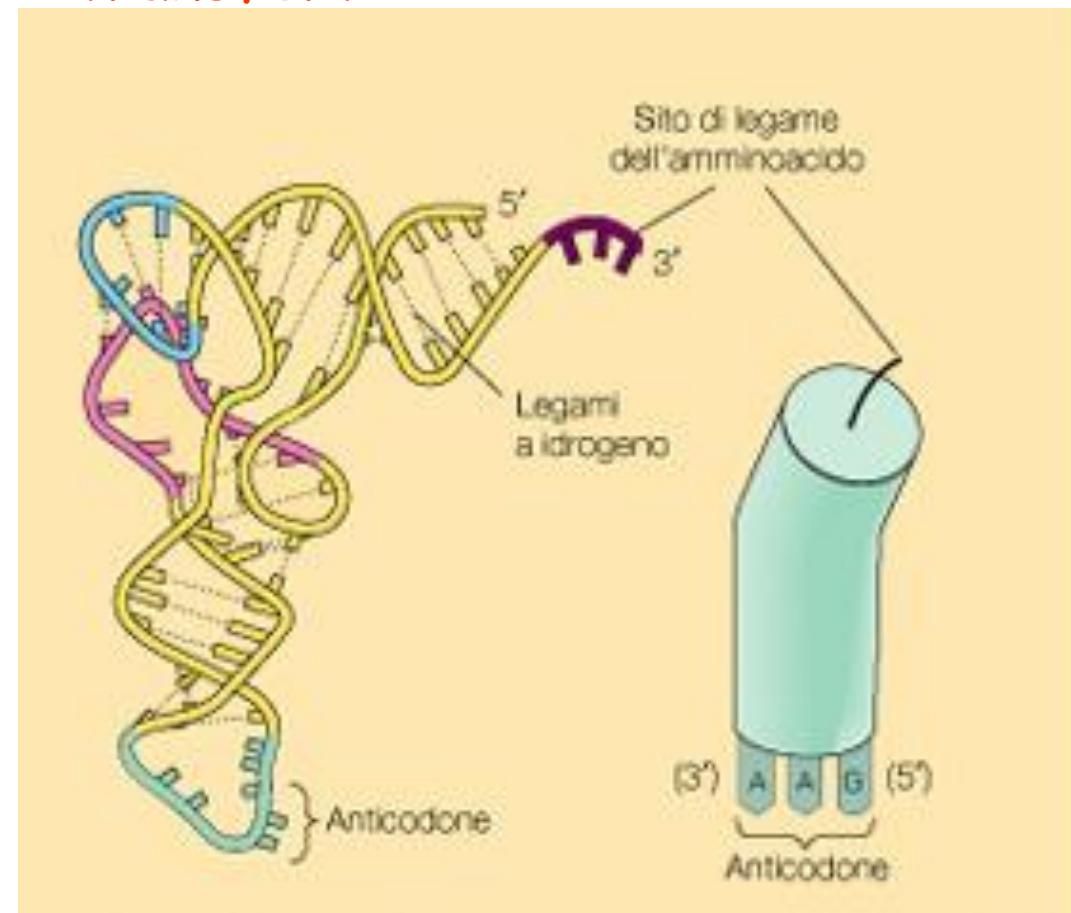
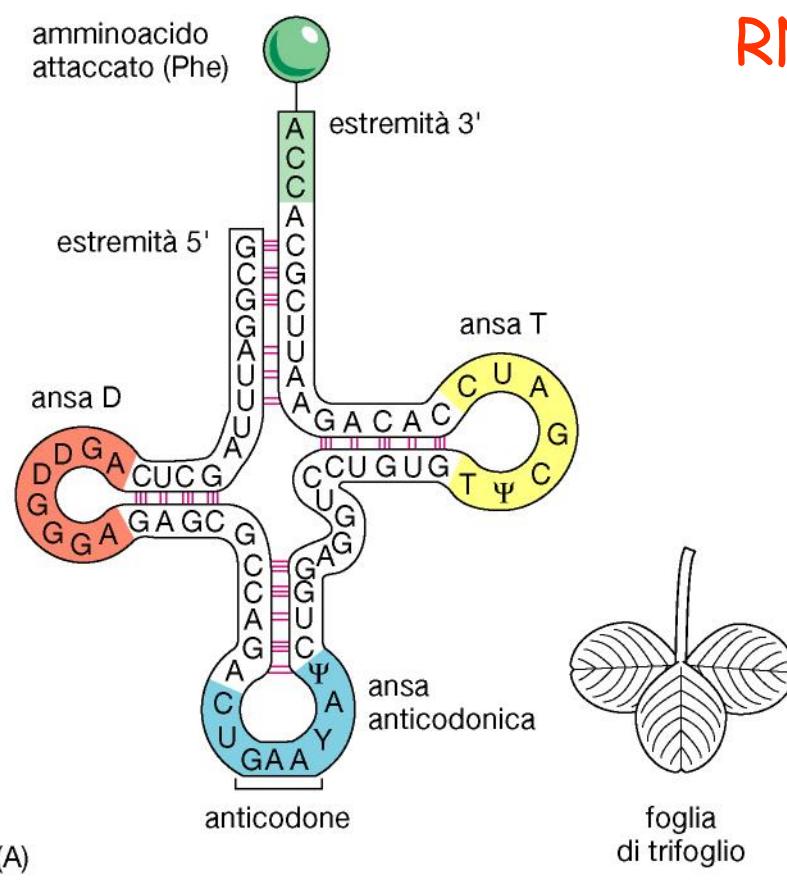
tRNA diversi hanno strutture generali simili, ma hanno anche seq uniche che li identificano e permettono che l'aa corretto venga attaccato e allineato con il codon appropriato dell'mRNA



LA STRUTTURA A TRIFIGLIO

La funzione adattatrice dei tRNA coinvolge due regioni separate della molecola

RNA transfert



5' GC GG AUU UAG CUC AG DD GGG AG AG CG CC AG AC UGA A Y A Y CUG GAG GGU C UG UGT Y CGA UCC AC AG AA U U C G CAC CA 3'
 (D)
 anticodone

L'incorporazione degli aa corretti nelle proteine dipende:

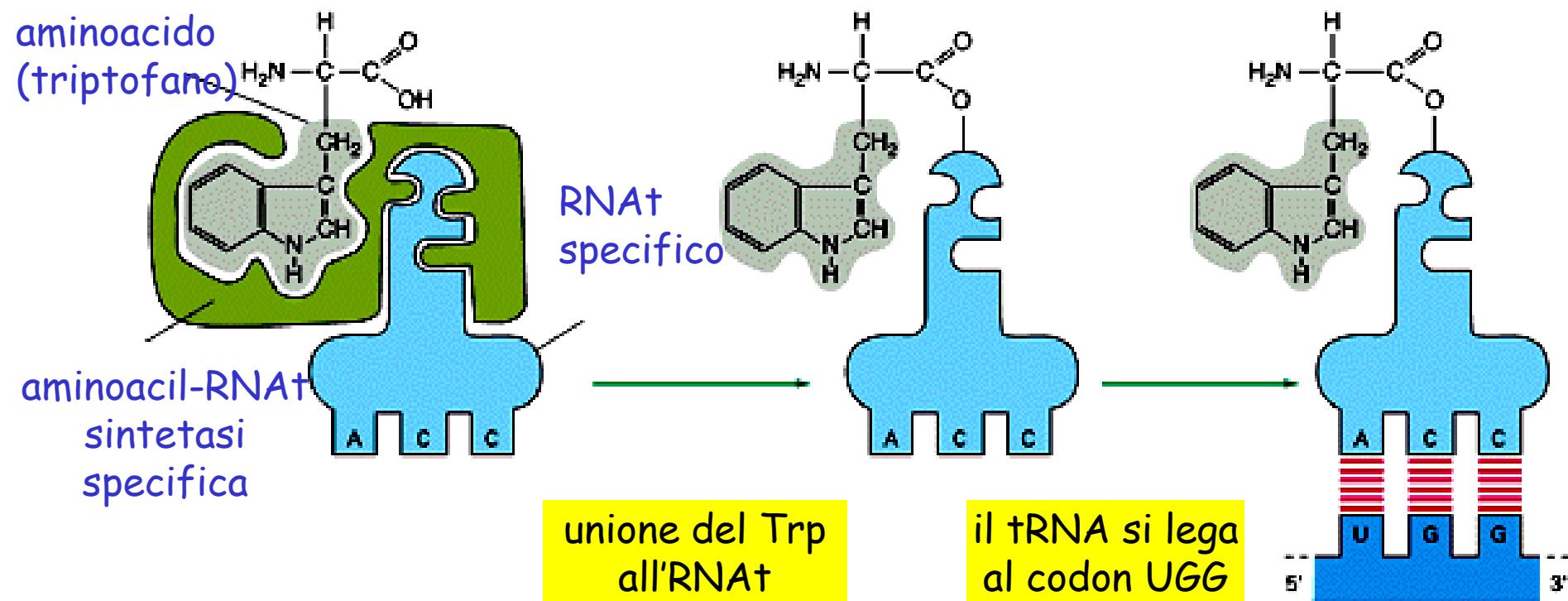
1. Dall'attacco di ciascun aa al tRNA appropriato
2. Dalla specificità dell'accoppiamento delle basi codon-anticodon

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**

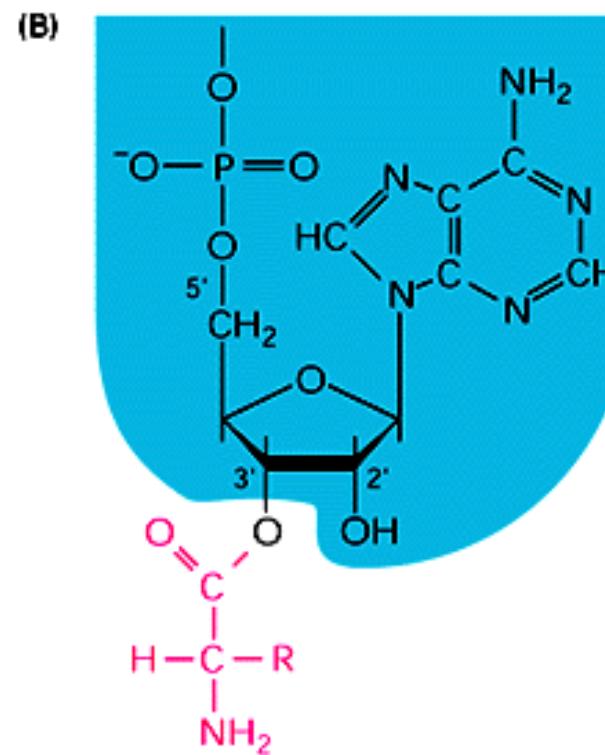
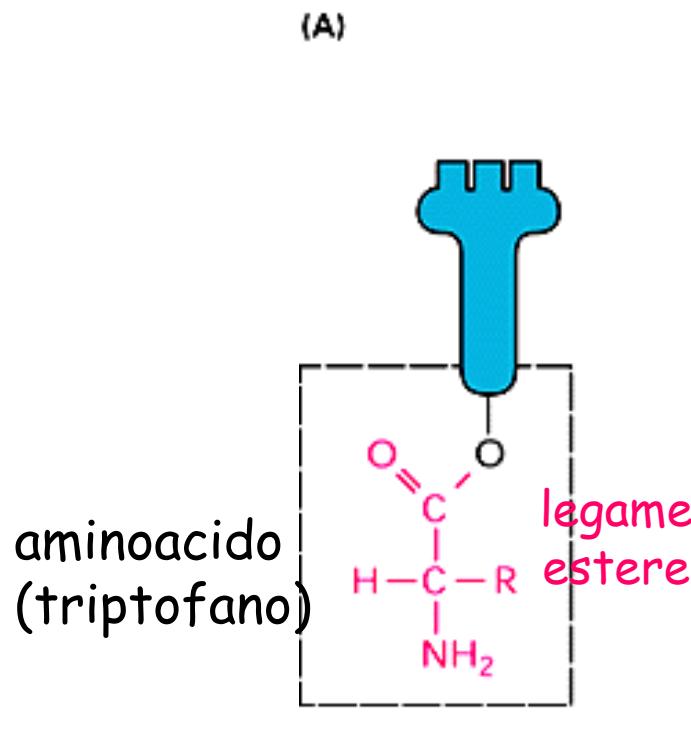


Attacco degli aa ai tRNA

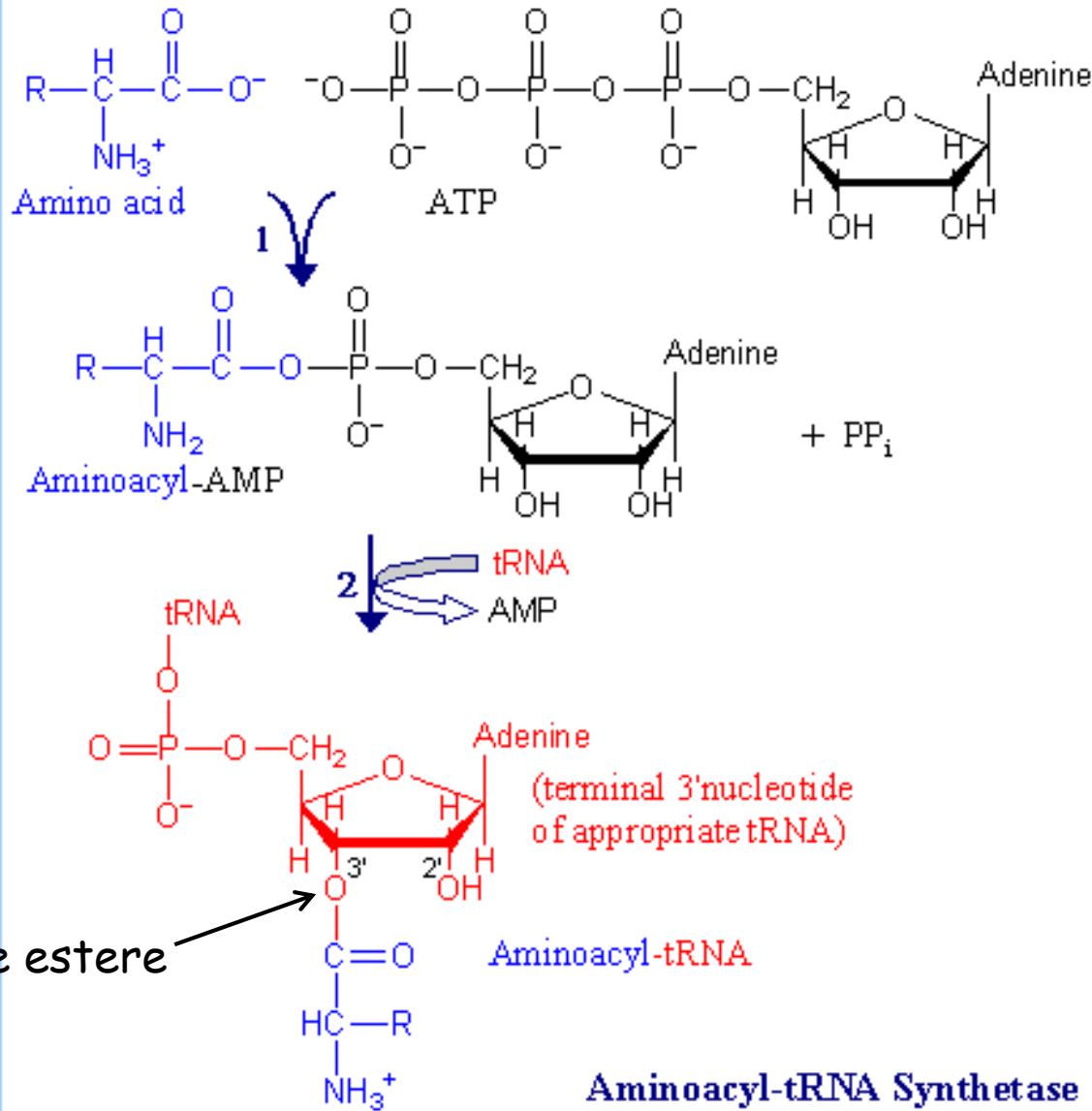
La struttura del legame aminoacil-tRNA:

L'estremità COOH dell'aminoacido forma un legame estere con il 3'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



Adenililazione dell'ATP
(aminoacido adenilato)

Trasferimento
dell'amminoacido
adenilato al tRNA

L'anticodone vacilla

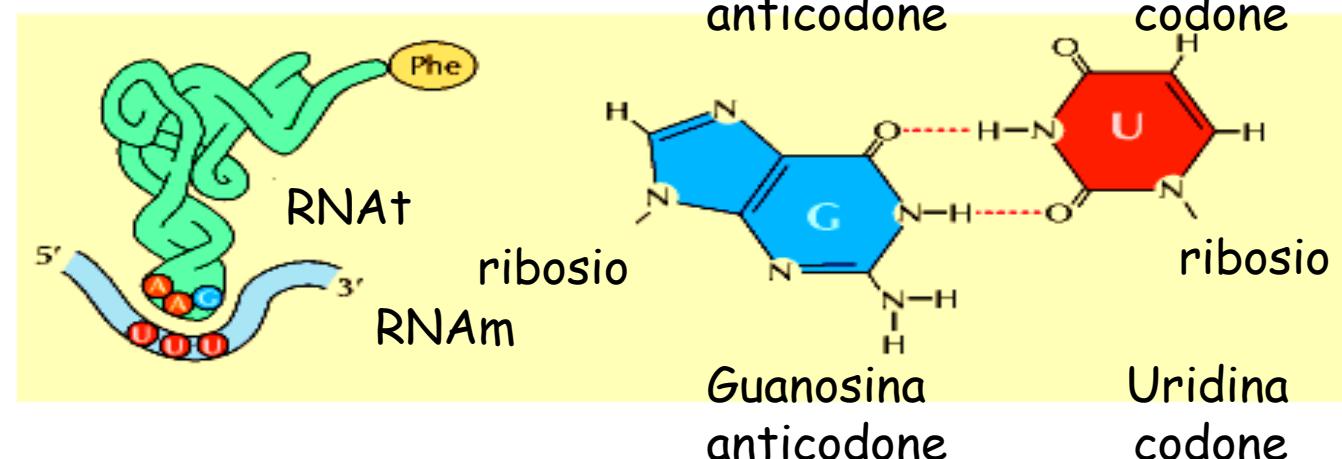
L'appaiamento codon-anticodon è un po' meno preciso dell'appaiamento standard AU e GC. Il significato di questo appaiamento insolito è legato alla **ridondanza** del codice genetico

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

Terza lettera

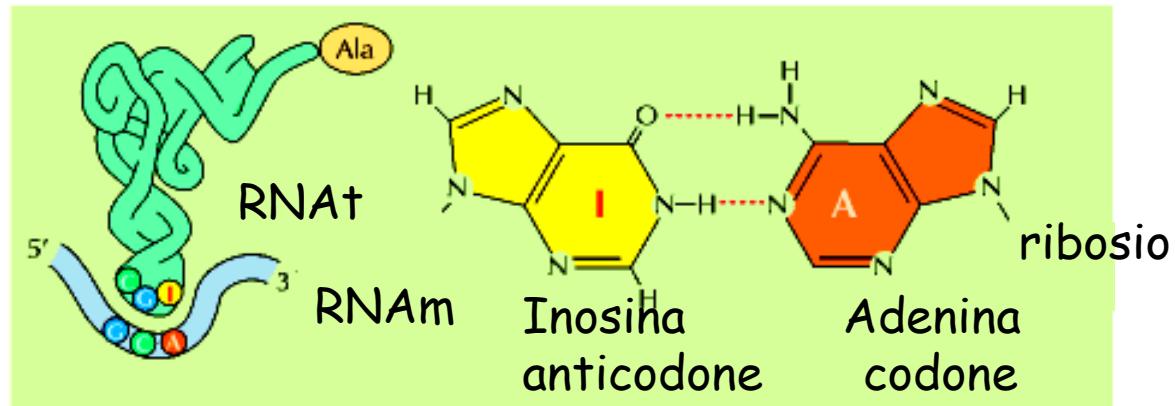
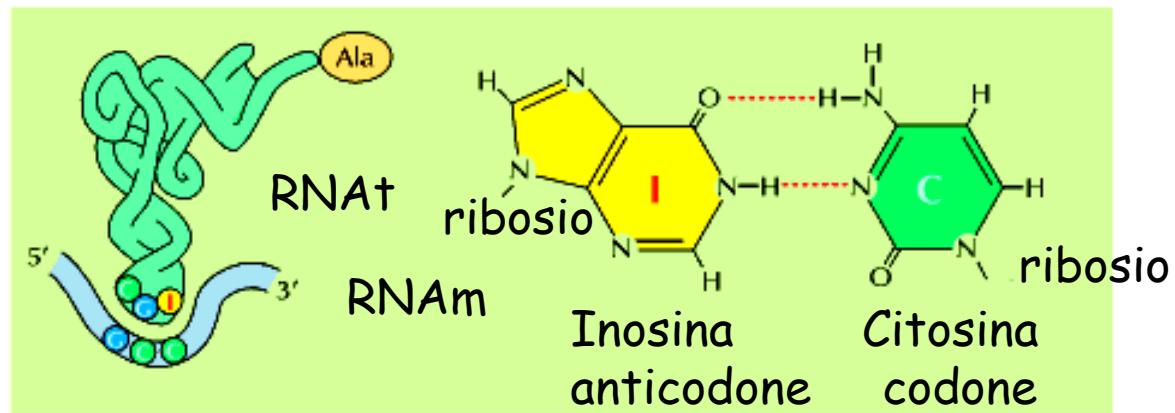
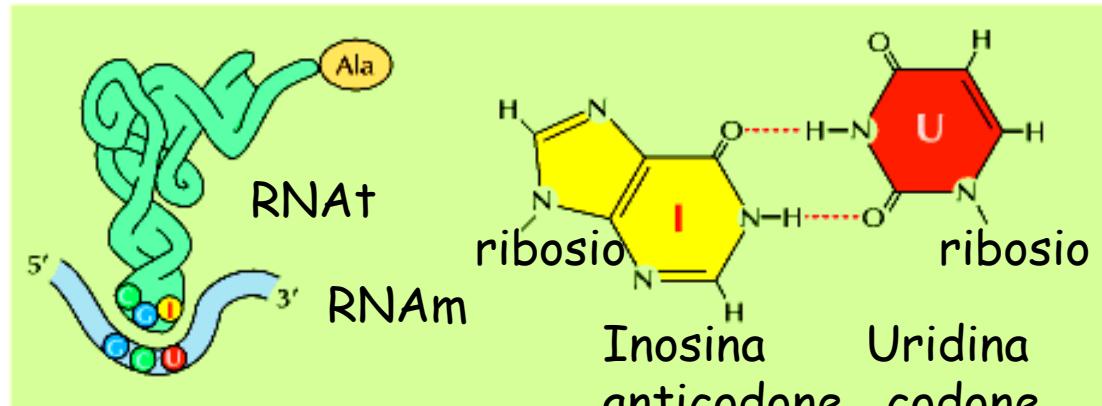
	U	C	A	G			
U	UUU UUC UUA UUG	UCU UCC UCA UCG	UAU UAC UAA UAG	Tyr STOP STOP	UGU UGC UGA UGG	Cys STOP <u>Trp</u>	U C A G
C	CUU CUC CUA CUG	CCU CCC CCA CCG	CAU CAC CAA CAG	His Pro Gin	CGU CGC CGA CGG	Arg	U C A G
A	AUU AUC AUA AUG	ACU ACC ACA ACG	AAU AAC AAA AAG	Asn Thr Lys	AGU AGC AGA AGG	Ser Arg	U C A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

IL CODICE GENETICO E' DEGENERATO

L'anticodone vacilla

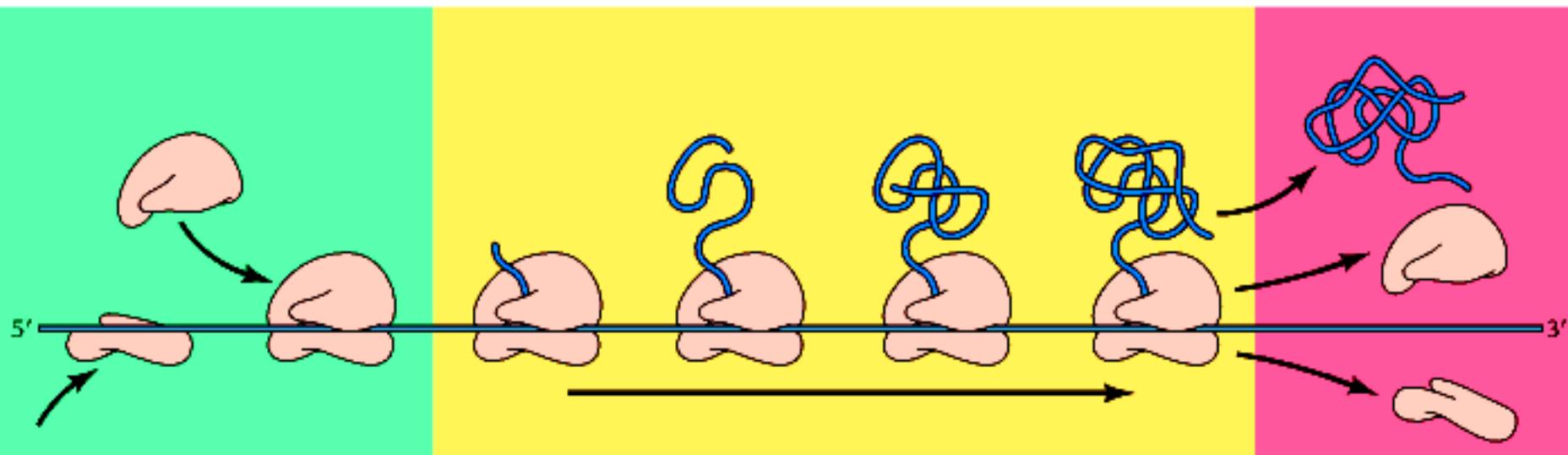
Appaiamento non standard dell'**alanina-tRNA**

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



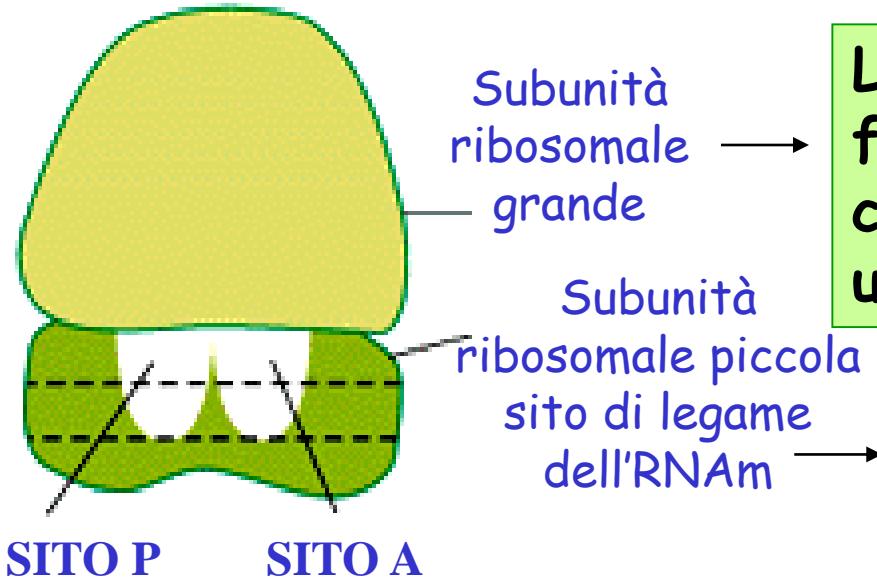
TRADUZIONE

- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Flusso dell'informazione genetica | 6. Ribosomi: sito della sintesi |
| 2. Codice genetico | 7. Sintesi proteica |
| 3. Ribosomi | 8. Mutazioni |
| 4. Nucleolo ed rRNA | 9. Folding |
| 5. tRNA | 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

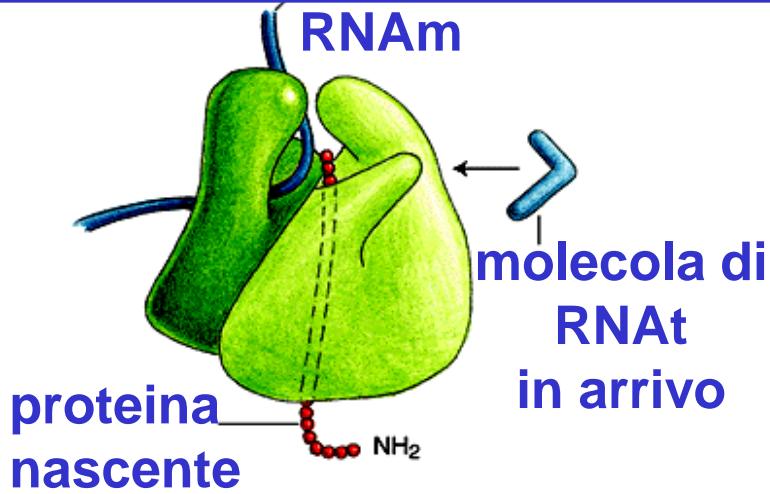
Il ribosoma:

- 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

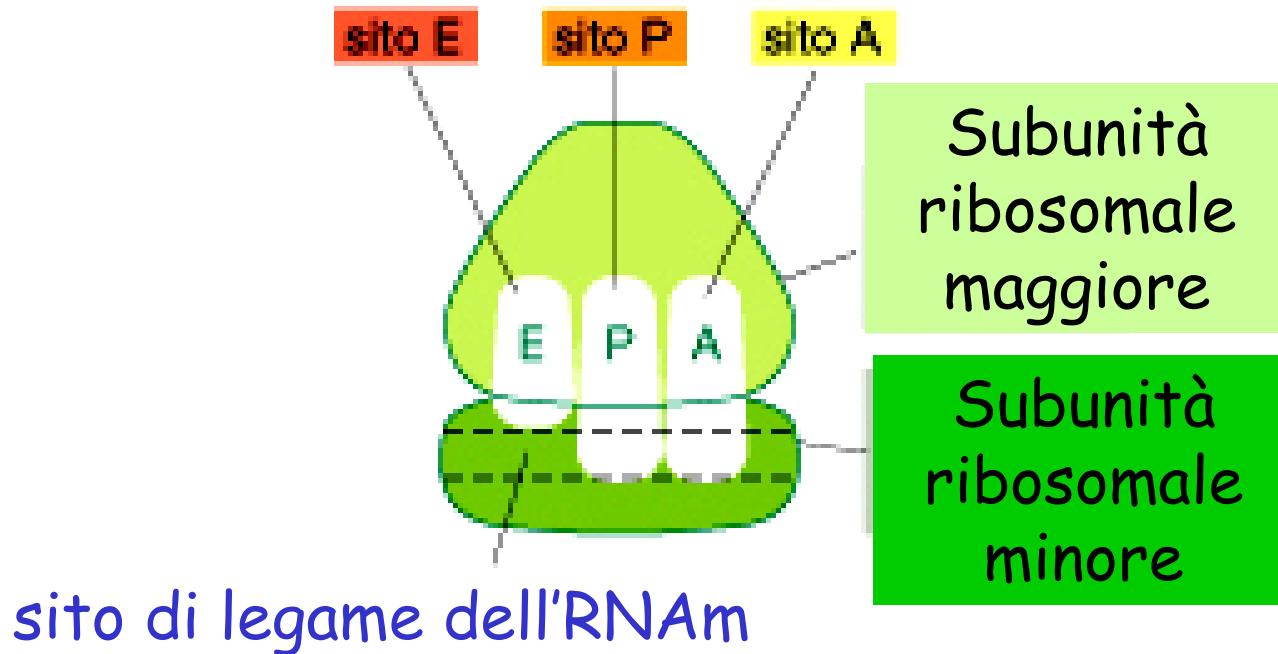
- 1 Le 2 subunità **si associano** su una molecola di mRNA, all'estremità 5' e cominciano a sintetizzare la proteina
- 2 Il **ribosoma scorre** sull'mRNA, traducendo la seq nucleotidica un codone alla volta, usando i tRNA come adattatori per aggiungere ogni aa nel posto che gli compete a un capo della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

Modello di ribosoma funzionante



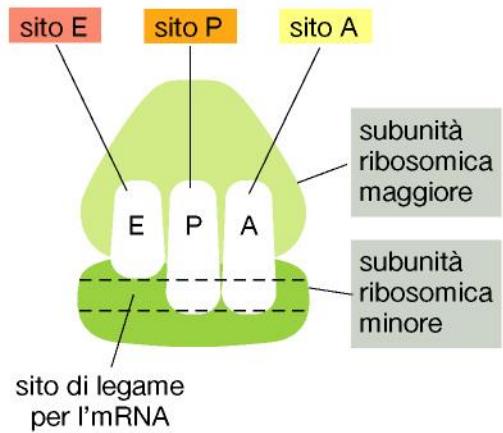
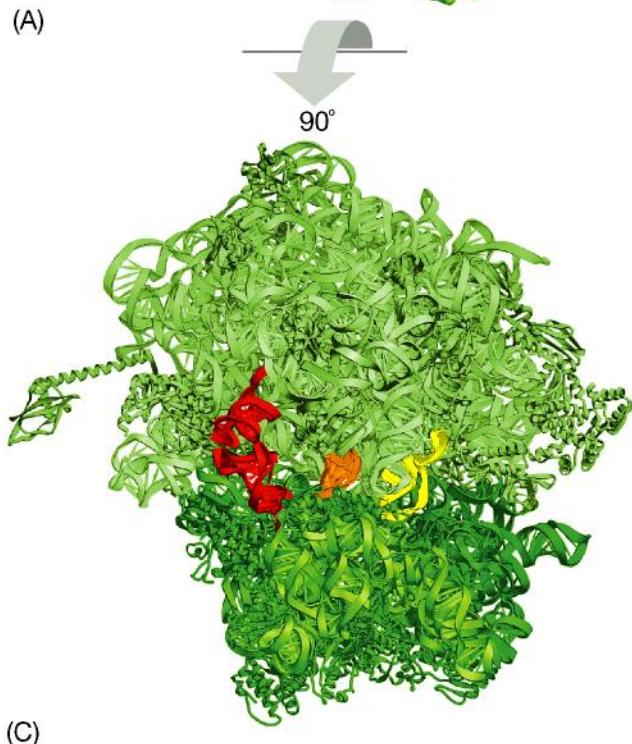
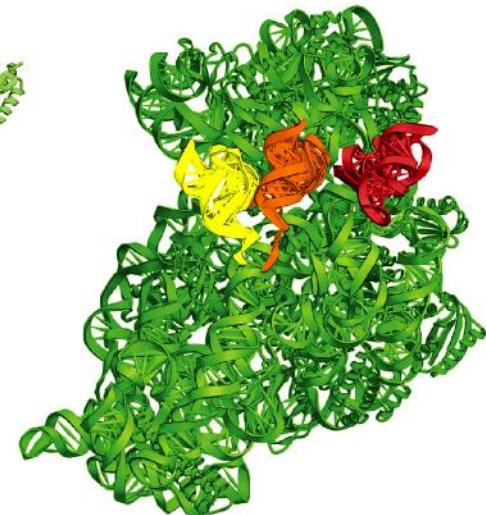
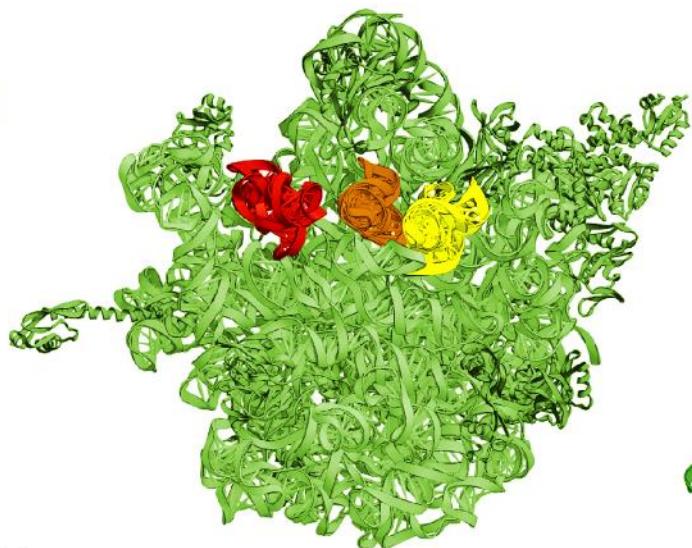
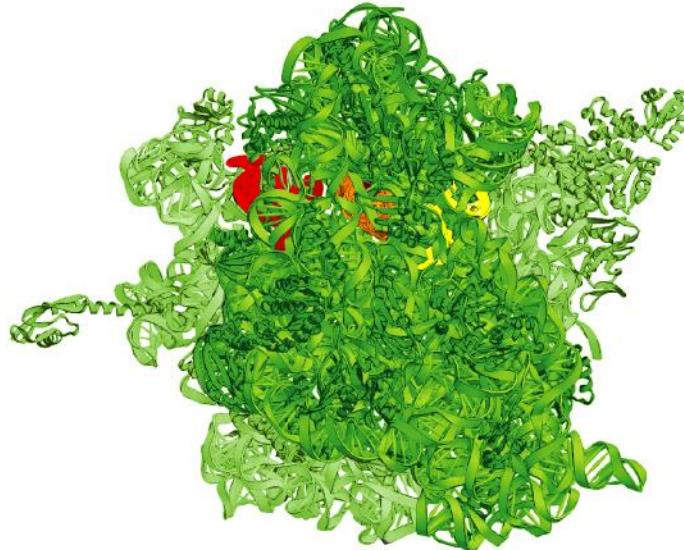
- 3 Le 2 subunità ribosomiche finiscono poi per **separarsi** quando la sintesi della pt è terminata

Ribosoma: i tre siti di legame dei tRNA

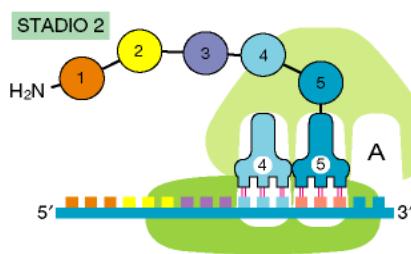
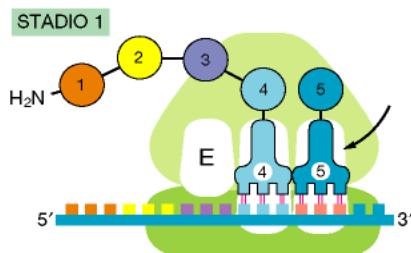
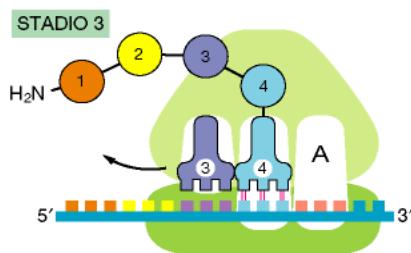
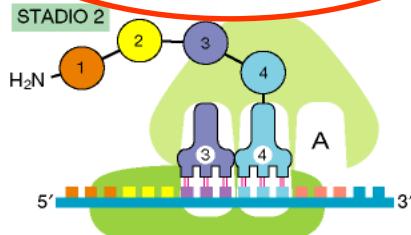
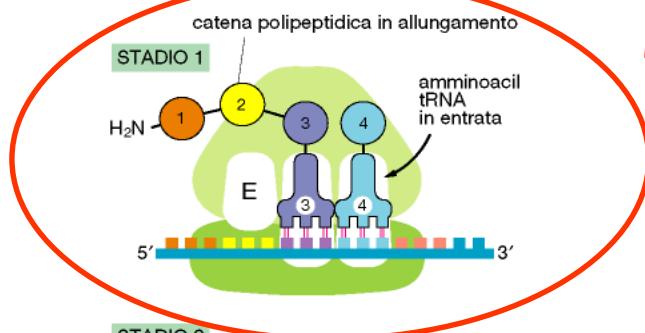


Ogni ribosoma contiene 3 siti di legame per le molecole di tRNA, noti come:

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



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

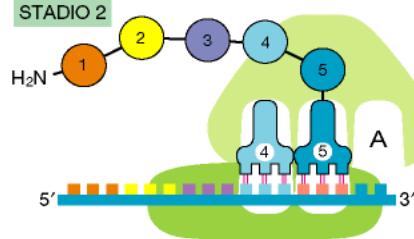
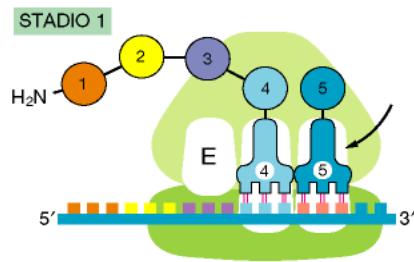
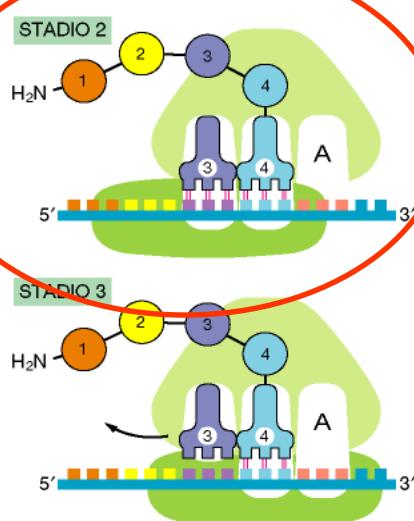
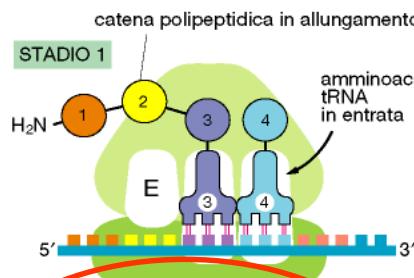
Stadio 2:

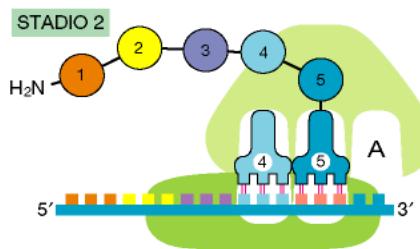
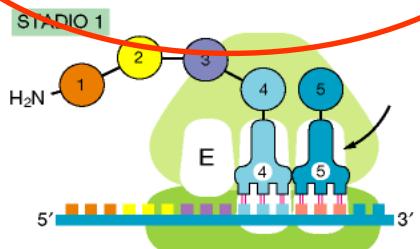
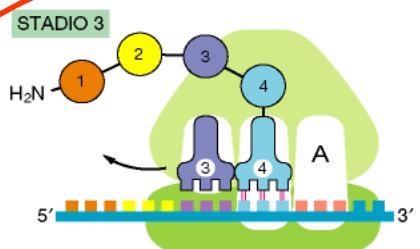
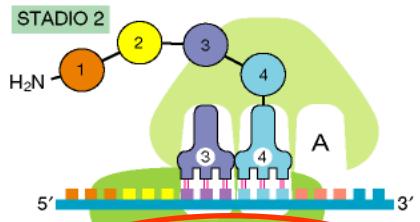
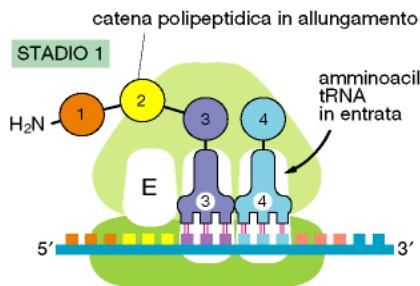
Formazione di un nuovo legame peptidico, grazie all'attività catalitica dell'enzima peptidil transferasi

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





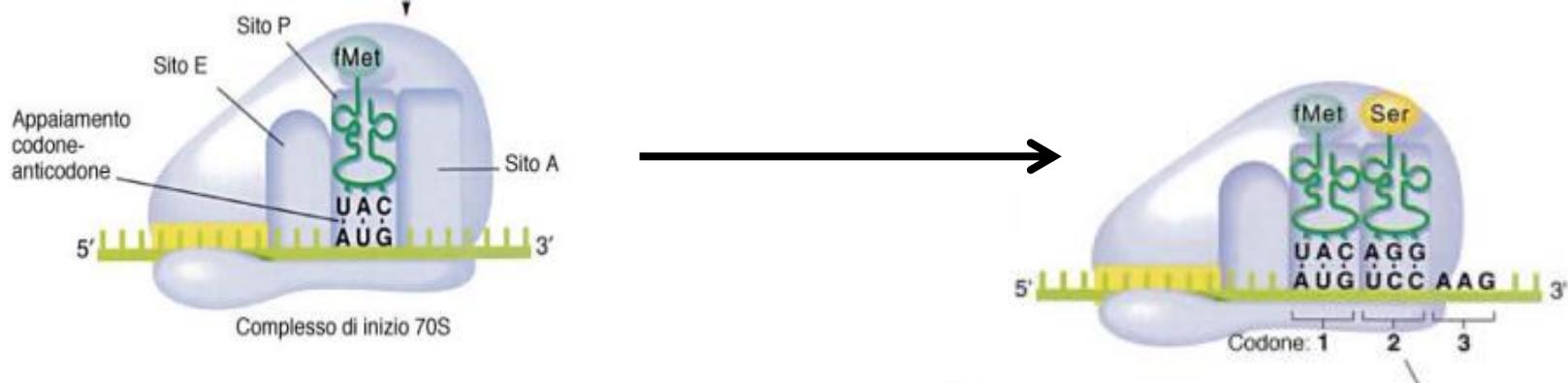
Stadio 3:

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

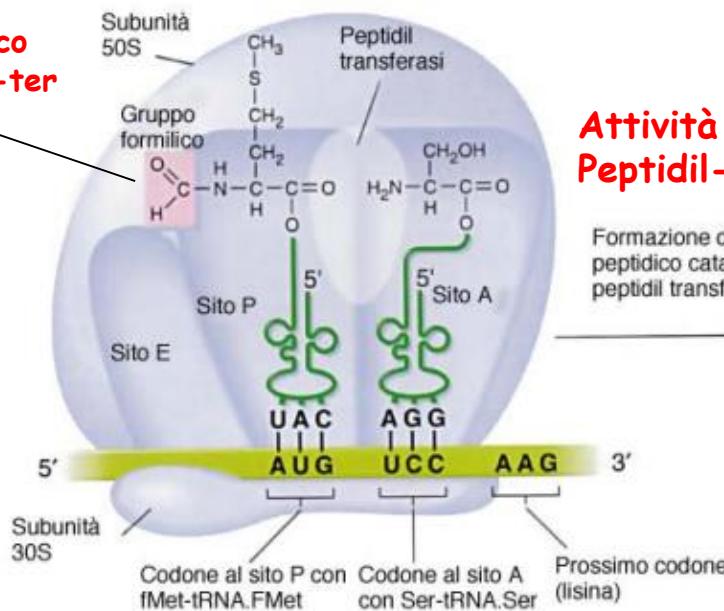
La formazione del legame peptidico tra i primi due aminoacidi (fMet e Ser) di una catena polipeptidica è catalizzata sul ribosoma dalla peptidil-transferasi. (a) Aminoacil-tRNA adiacenti legati all'mRNA sul ribosoma; (b) in seguito alla formazione del legame peptidico, un tRNA scarico si trova al sito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

a) Aminoacil-tRNA adiacenti

b) Dopo la formazione del legame peptidico

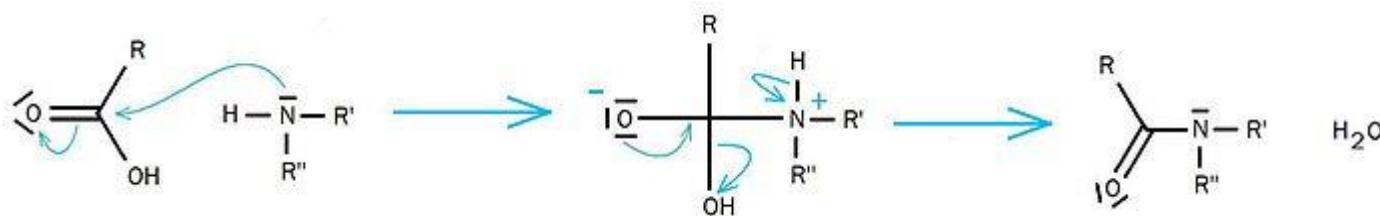
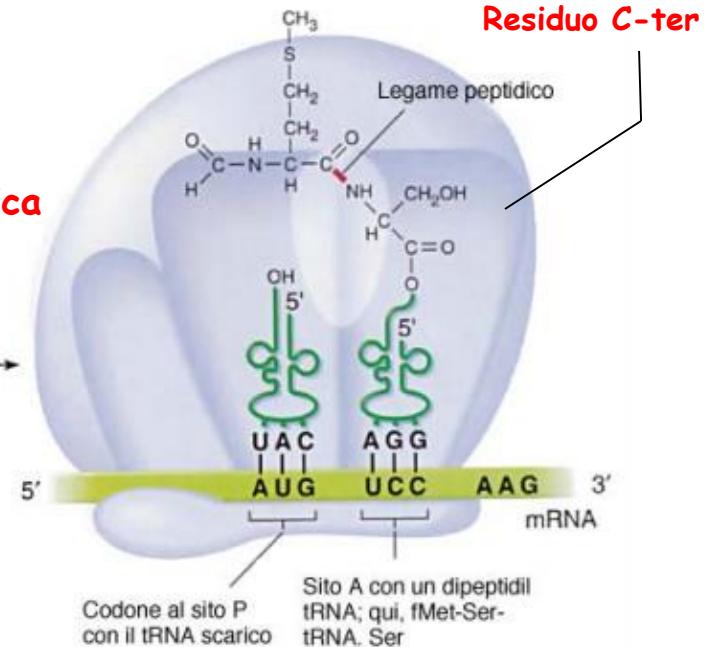
Residuo C-ter

Gruppo formilico
Del residuo N-ter



Attività
Peptidil-transferasica

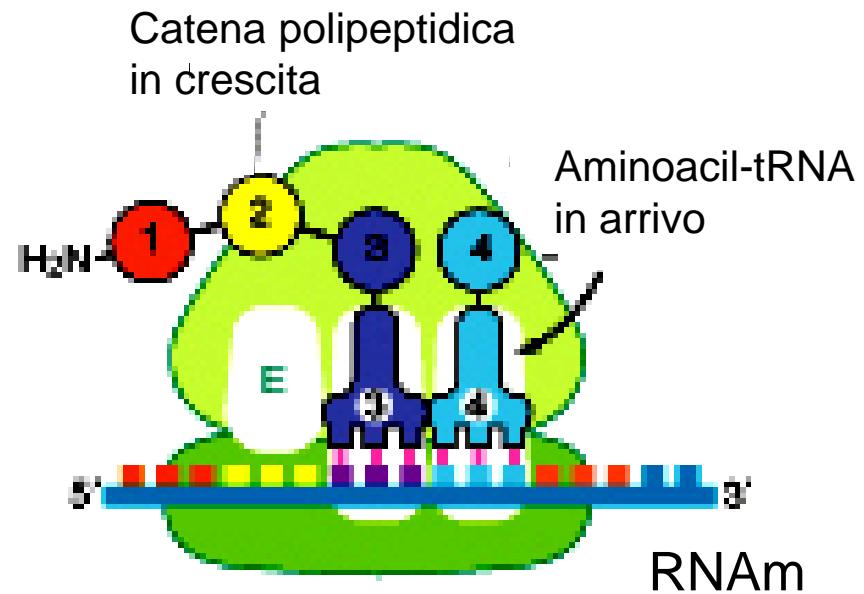
Formazione del legame
peptidico catalizzata dalla
peptidil transferasi



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

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

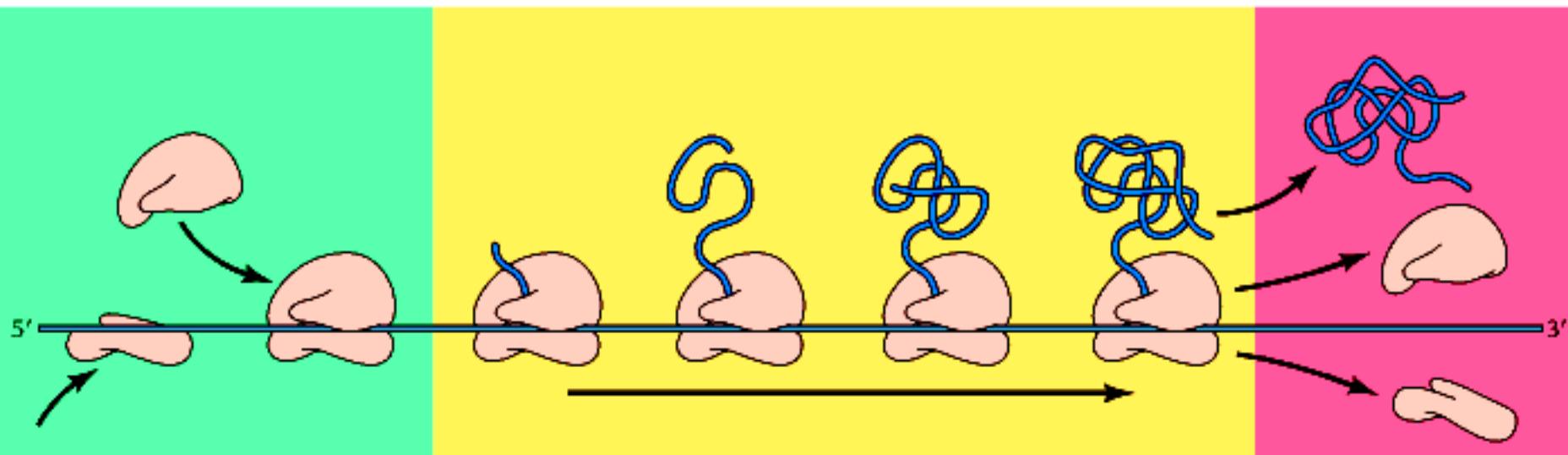
Ogni **ciclo** aggiunge un
amminoacido all'estremità
C-term della catena
polipeptidica



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

TRADUZIONE

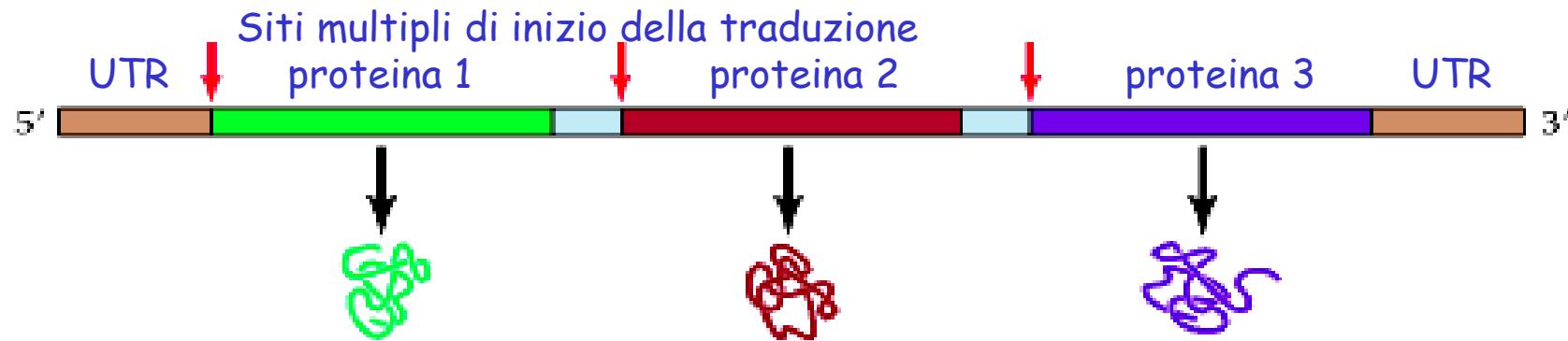
- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Flusso dell'informazione genetica | 6. Ribosomi: sito della sintesi |
| 2. Codice genetico | 7. Sintesi proteica |
| 3. Ribosomi | 8. Mutazioni |
| 4. Nucleolo ed rRNA | 9. Folding |
| 5. tRNA | 10. Controllo dell'espressione genica |



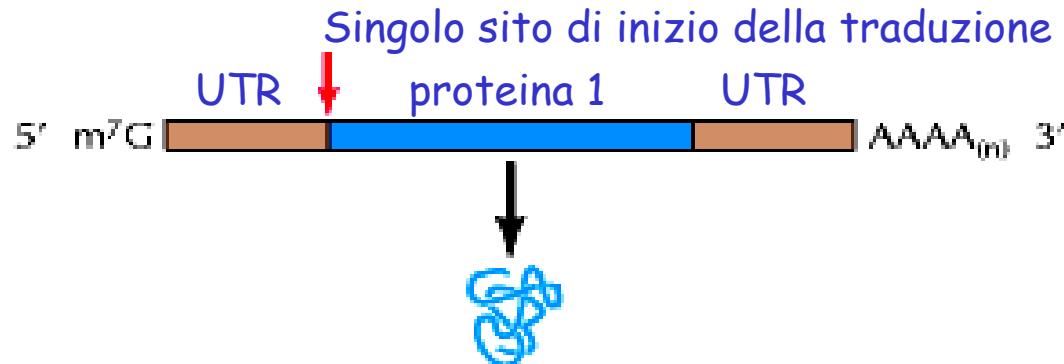
L'organizzazione degli mRNA

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**

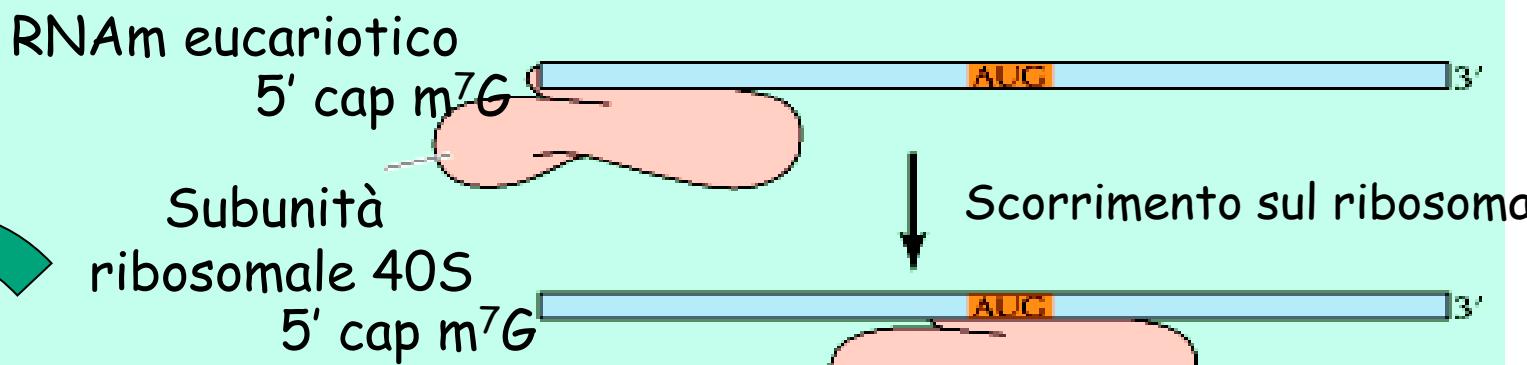
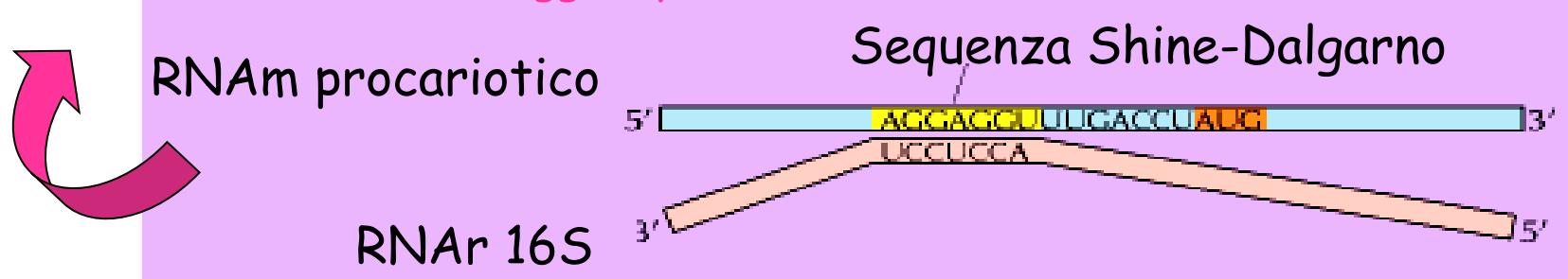
Segnali di inizio della traduzione

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.

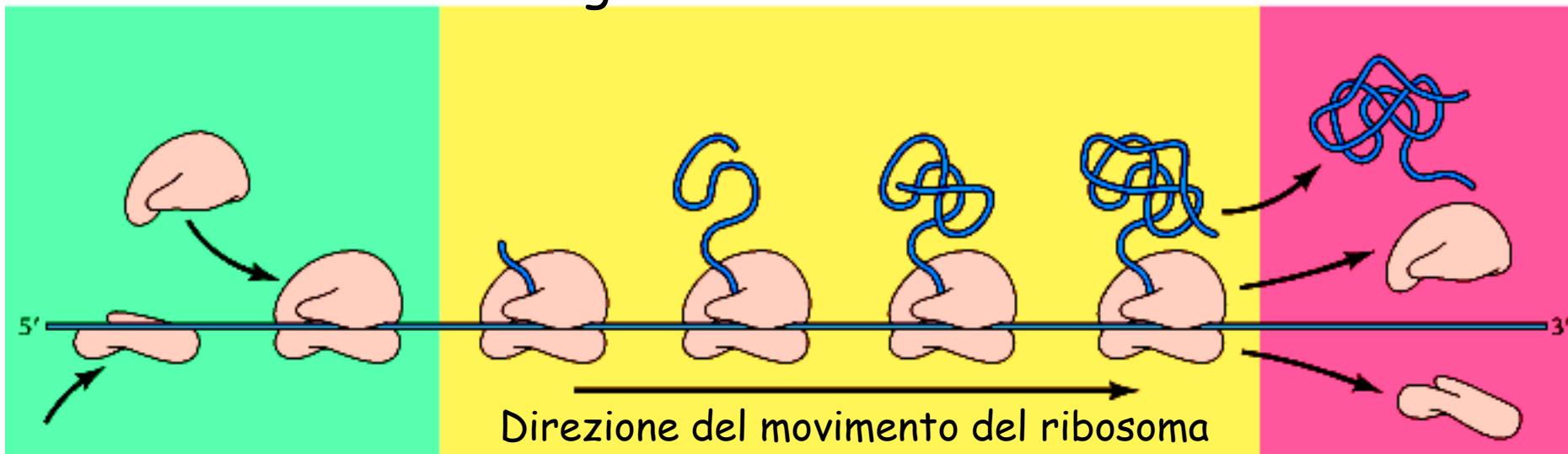
Il processo della traduzione

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

Inizio

Allungamento

Termine



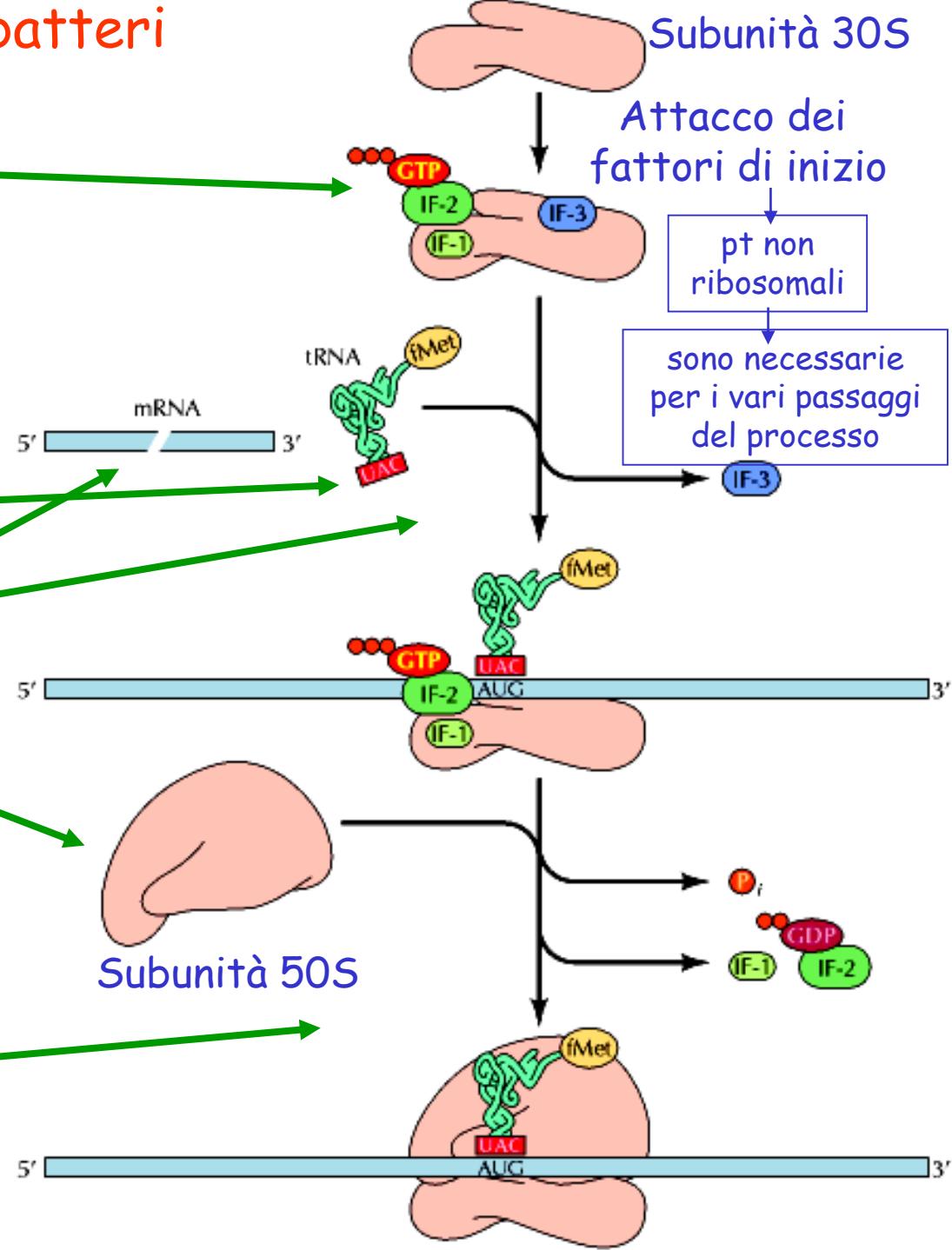
Il ribosoma si lega all'RNAm nel codone di inizio

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 dissocià

Inizio della traduzione nei batteri

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

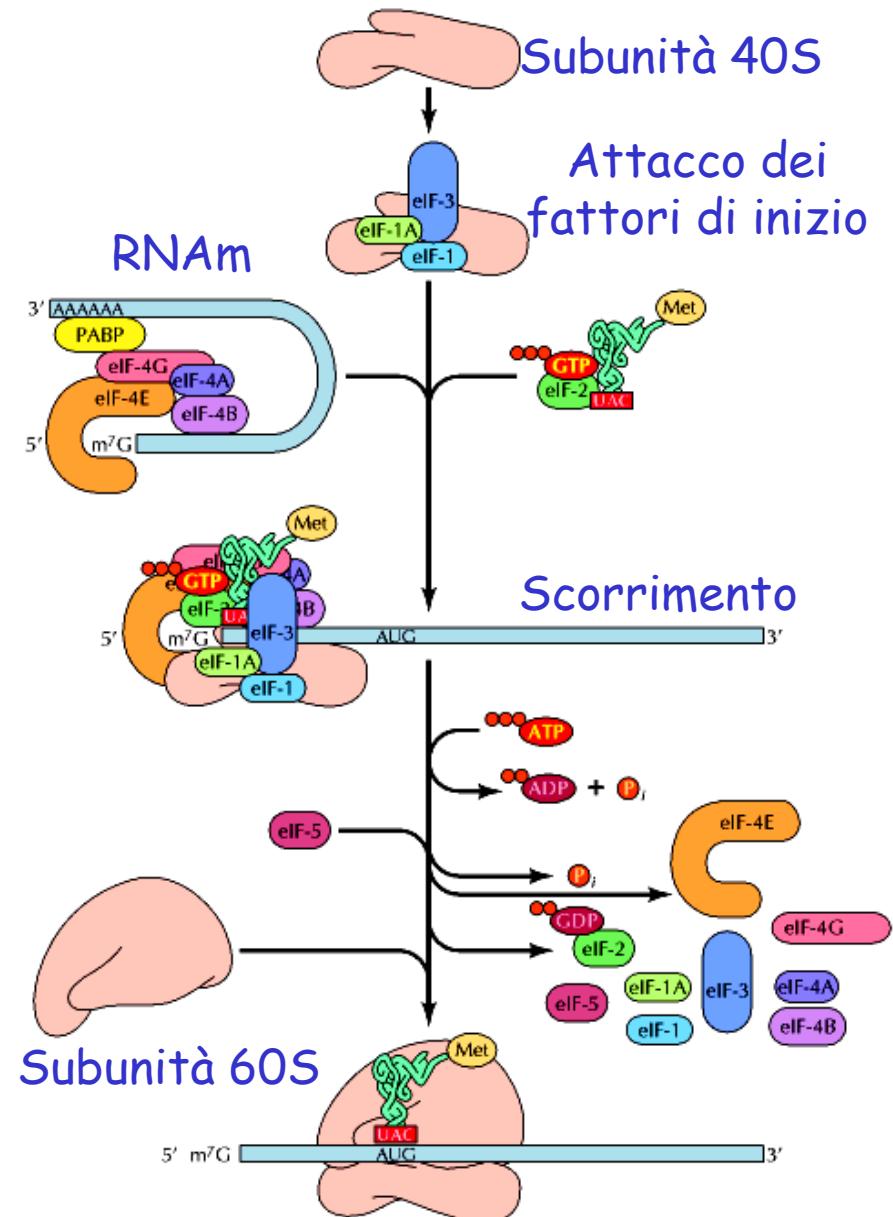


2. A questi si uniscono N-formilmethionil-tRNA specifico di inizio ed mRNA
3. Rilasciato un fattore
4. La subunità maggiore si unisce poi al complesso, formando un ribosoma funzionante su cui procede l'allungamento della catena polipeptidica
5. Idrolisi di GTP e rilascio dei restanti fattori

Inizio della traduzione negli eucarioti

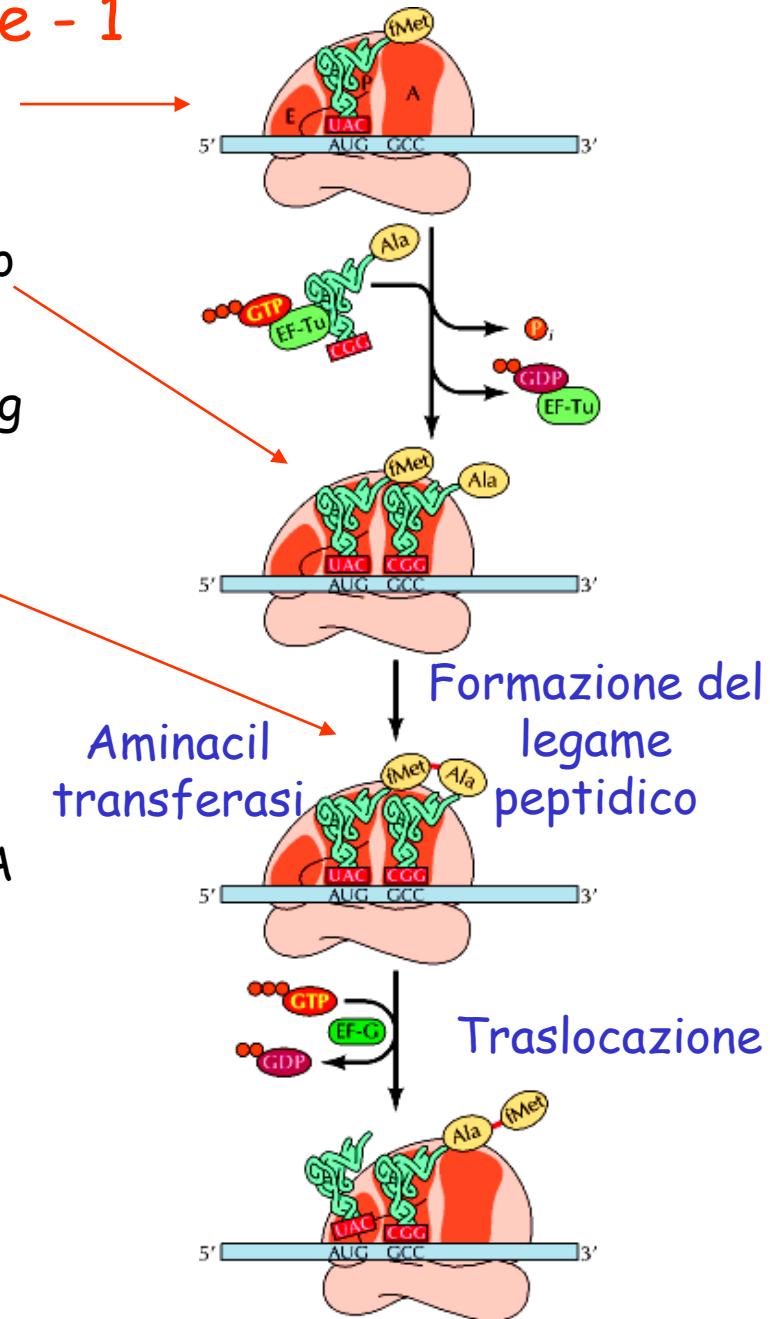
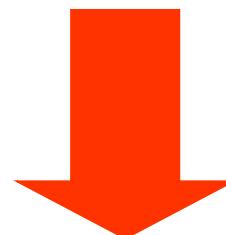
più complicato e richiede almeno 10 fattori di inizio della traduzione

1. 2 fattori si legano alla subunità ribosomale 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

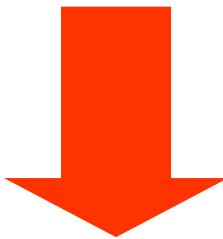


Fase di allungamento della traduzione - 1

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

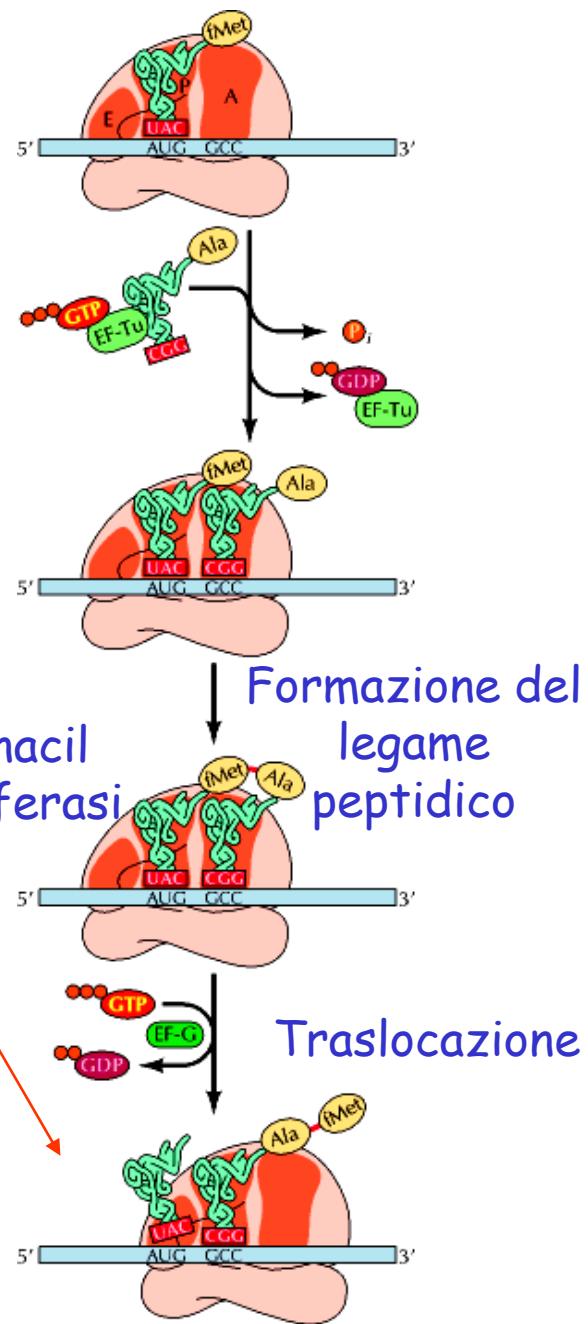


6. Traslocazione:

- 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

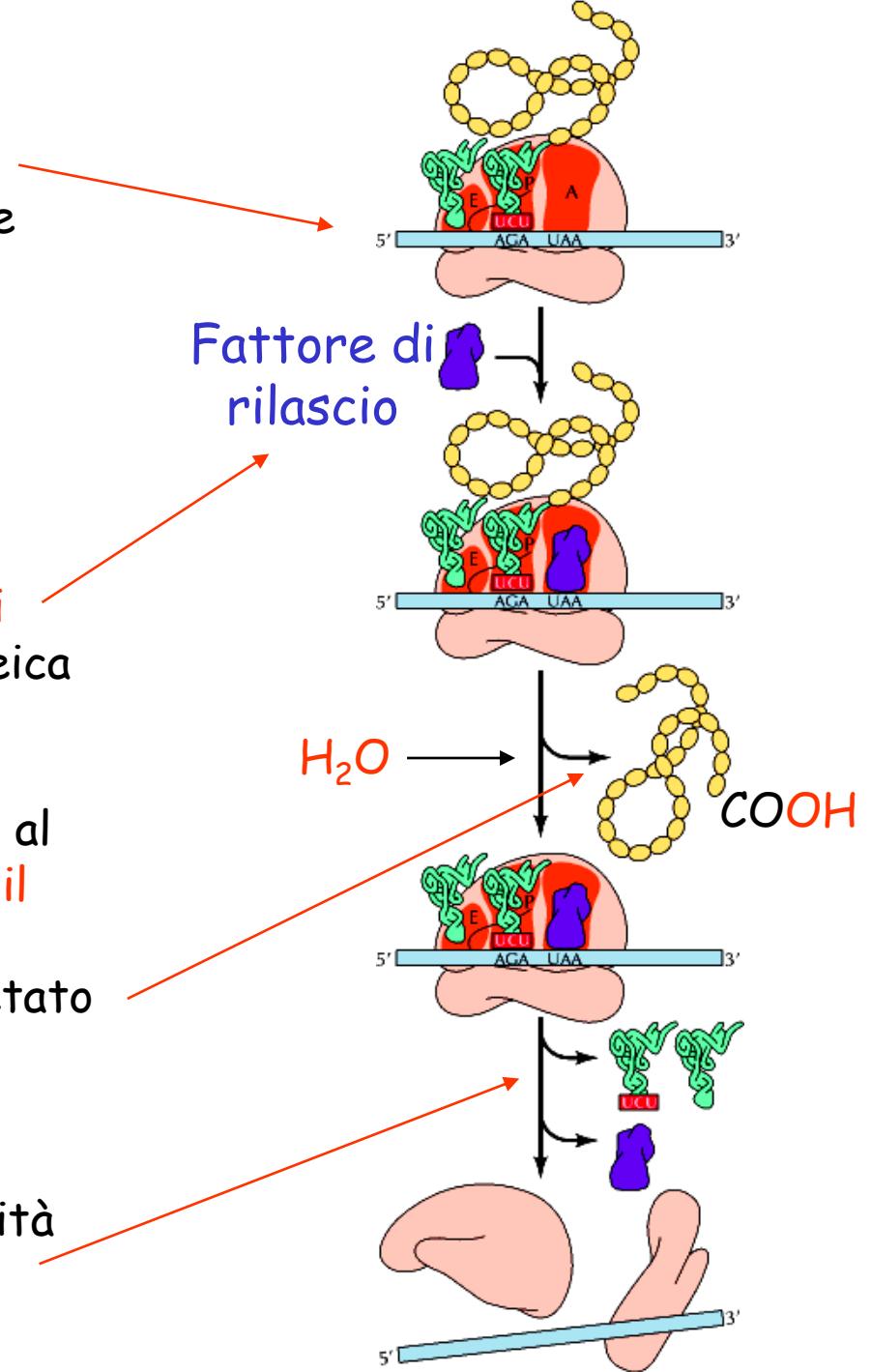
7. L'attacco di un nuovo aminoacil-tRNA nel sito A induce

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

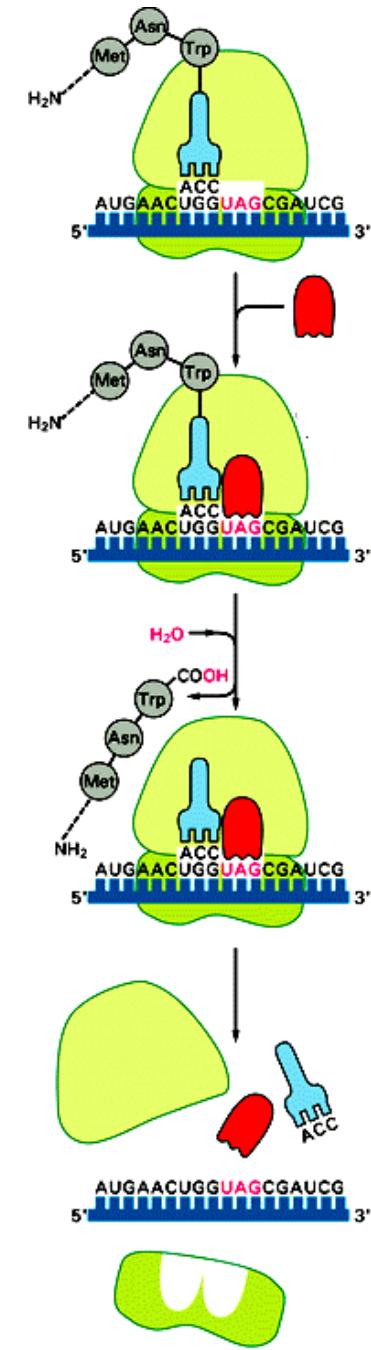
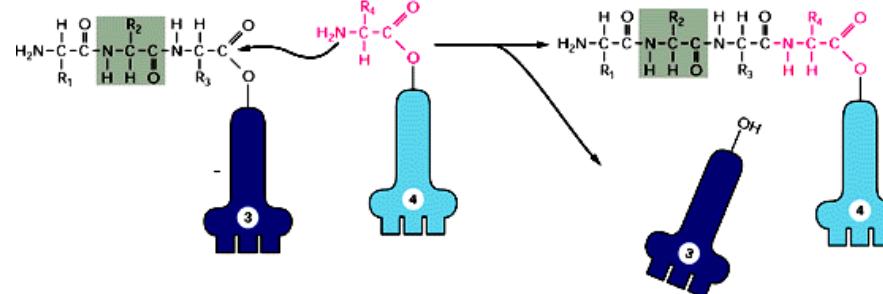
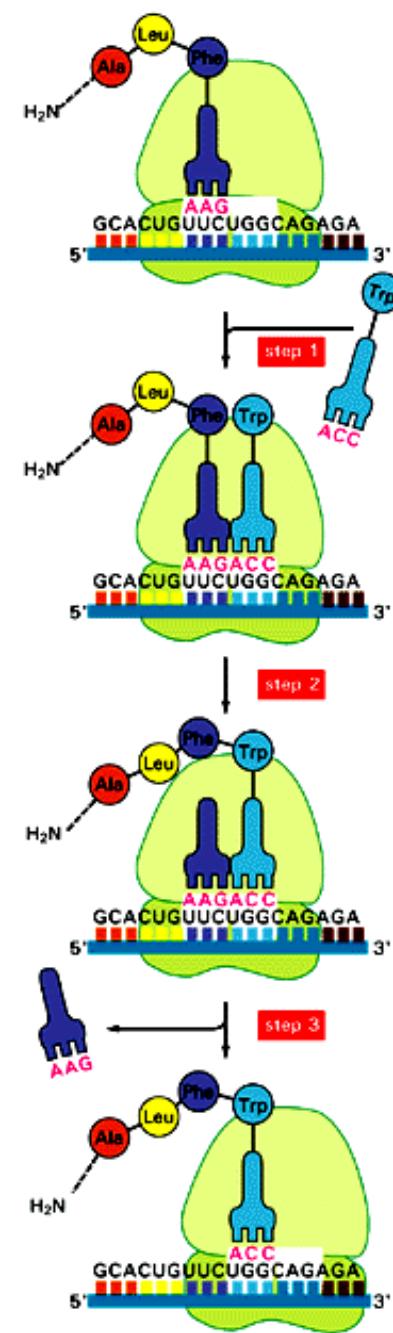
- I tRNA viene quindi rilasciato e le subunità ribosomali si dissociano dall'mRNA stampo

LA FASE DI ALLUNGAMENTO

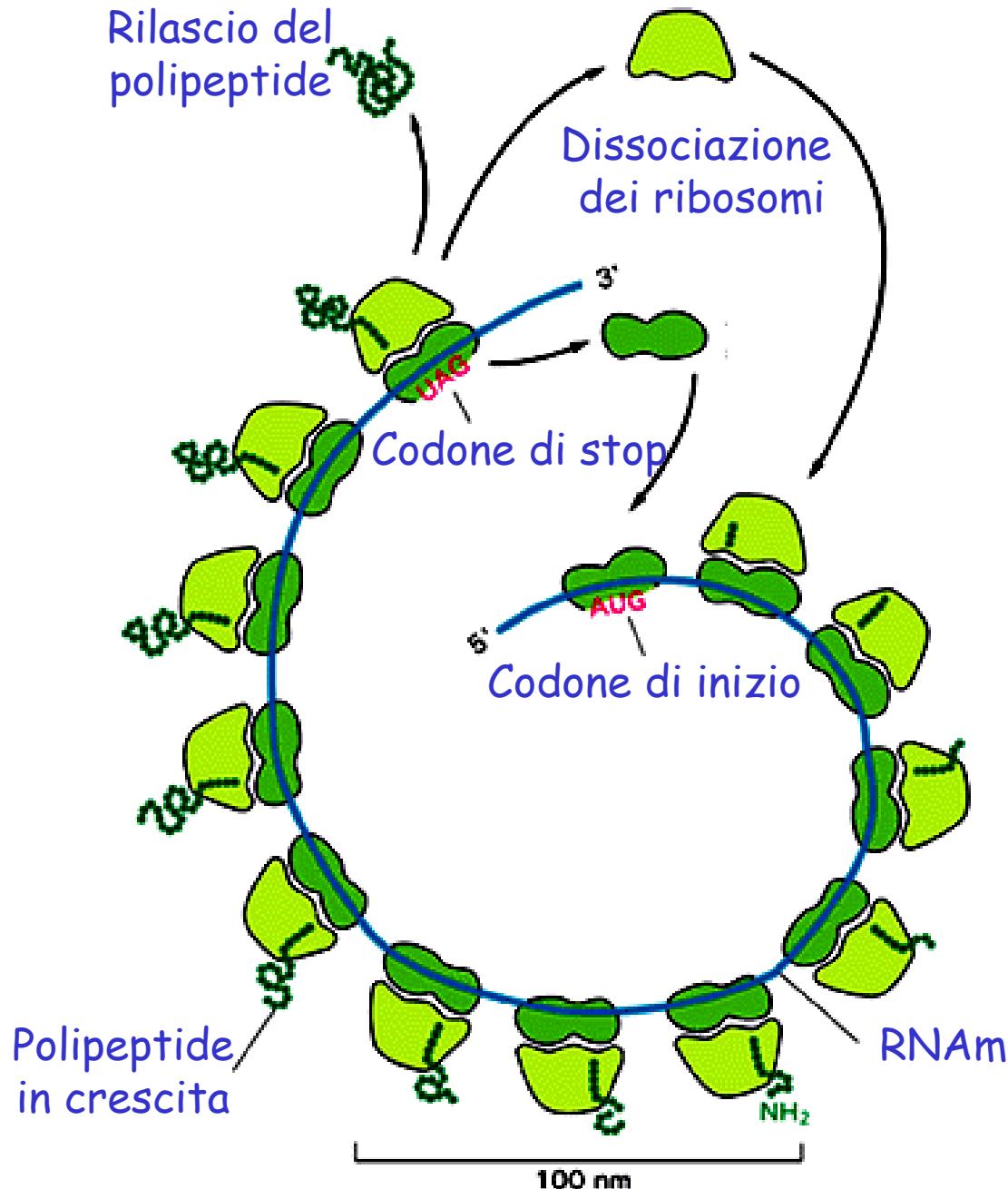
TRADUZIONE DELL'RNAm

LA FASE FINALE

IL LEGAME PEPTIDICO

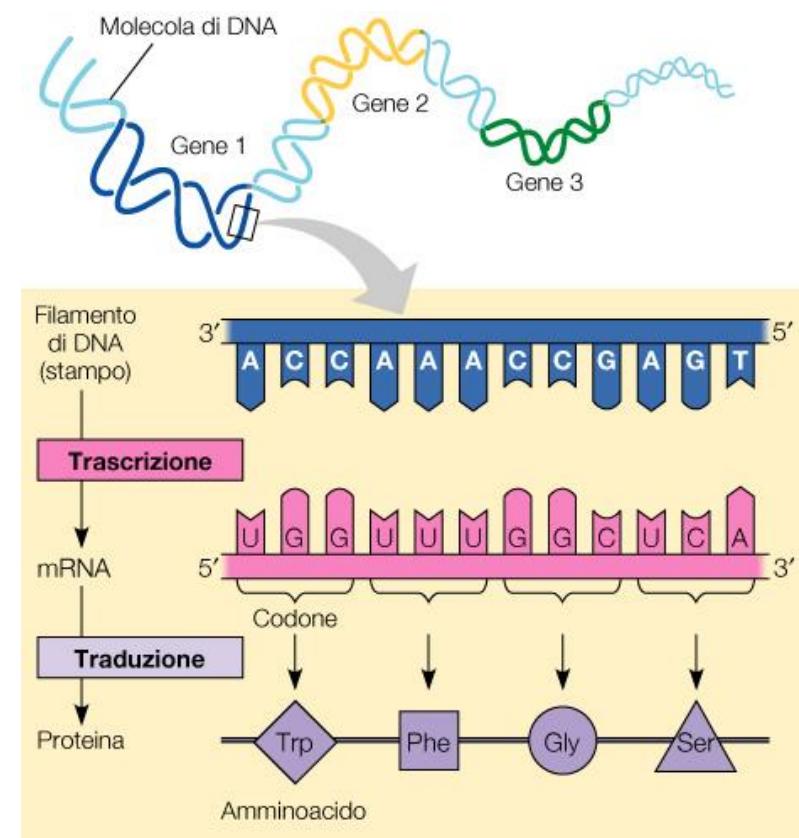
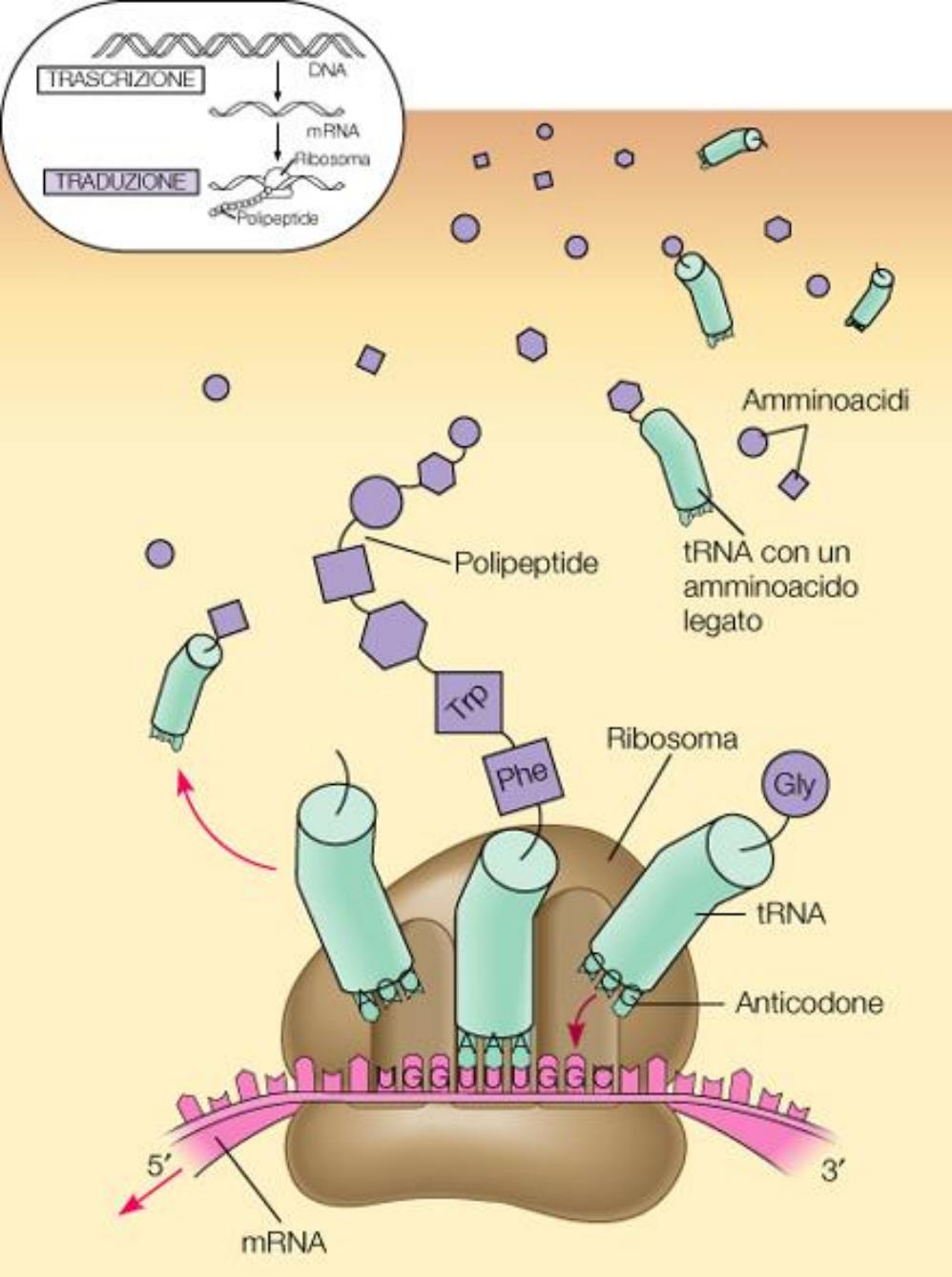


POLIRIBOSOMA



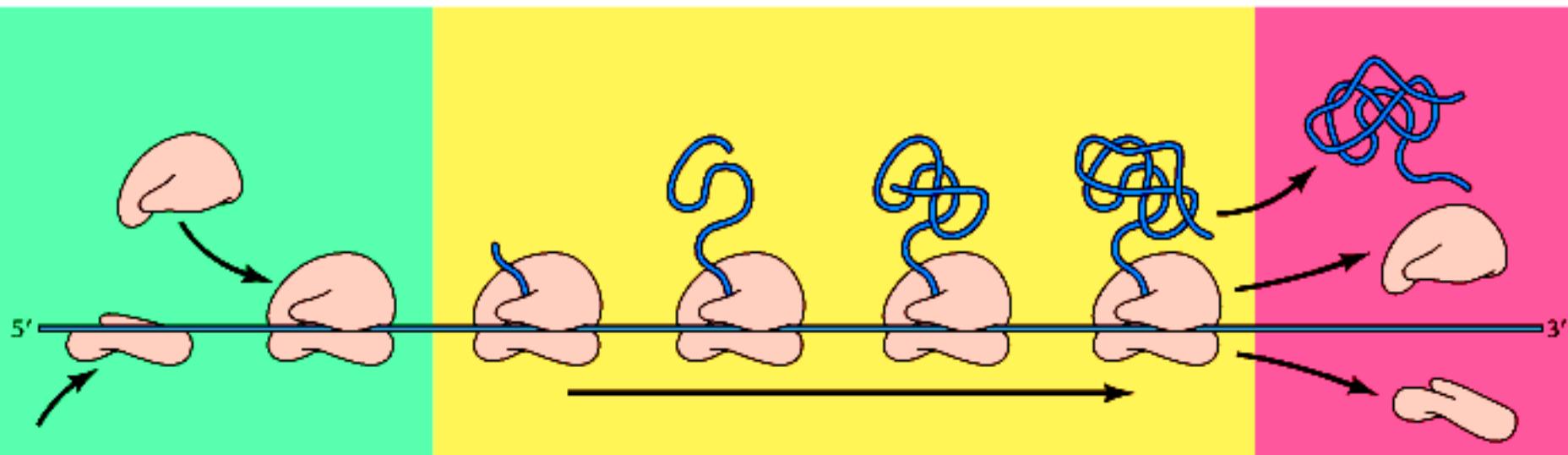
Su ogni molecola di mRNA si verificano **molteplici eventi di inizio**: un nuovo ribosoma si posiziona al 5' terminale di un messaggero non appena il ribosoma precedente ha tradotto un tratto abbastanza lungo della seq nt da fargli posto. Perciò spesso le molecole di mRNA in via di traduzione assumono 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

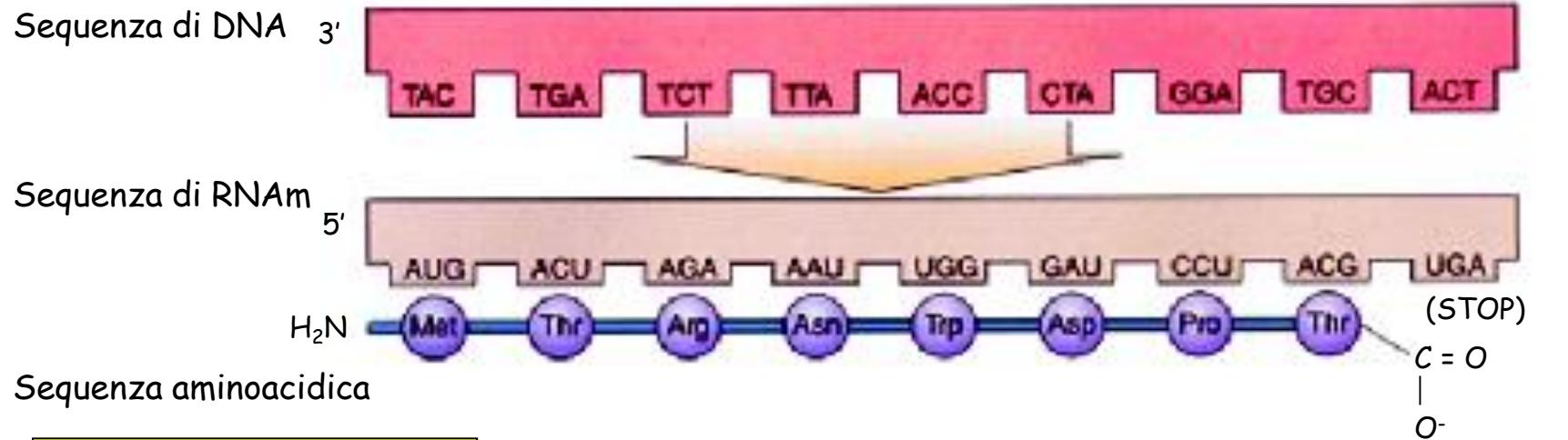


TRADUZIONE

- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Flusso dell'informazione genetica | 6. Ribosomi: sito della sintesi |
| 2. Codice genetico | 7. Sintesi proteica |
| 3. Ribosomi | 8. Mutazioni |
| 4. Nucleolo ed rRNA | 9. Folding |
| 5. tRNA | 10. Controllo dell'espressione genica |

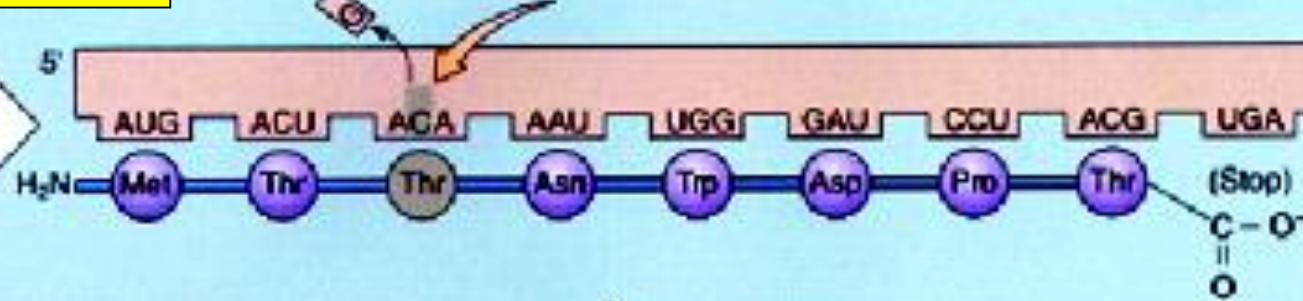


Mutazioni

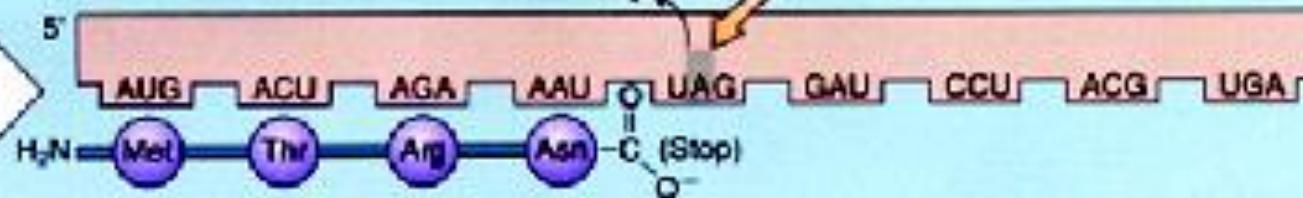


MUTAZIONI PER SOSTITUZIONE DI UNA BASE

Mutazione missenso



Mutazione non senso



Mutazioni

Sequenza di DNA 3'

TAC TGA TCT TTA ACC CTA GGA TGC ACT

Sequenza di RNAm 5'

AUG ACU AGA AAU UGG GAU CCU ACG UGA

H₂N — Met — Thr — Arg — Asn — Tyr — Asp — Pro — Thr — (STOP) — C = O
Sequenza aminoacidica

MUTAZIONI FRAMESHIFT

La delezione produce mutazioni non senso

H₂N — Met — (Stop)

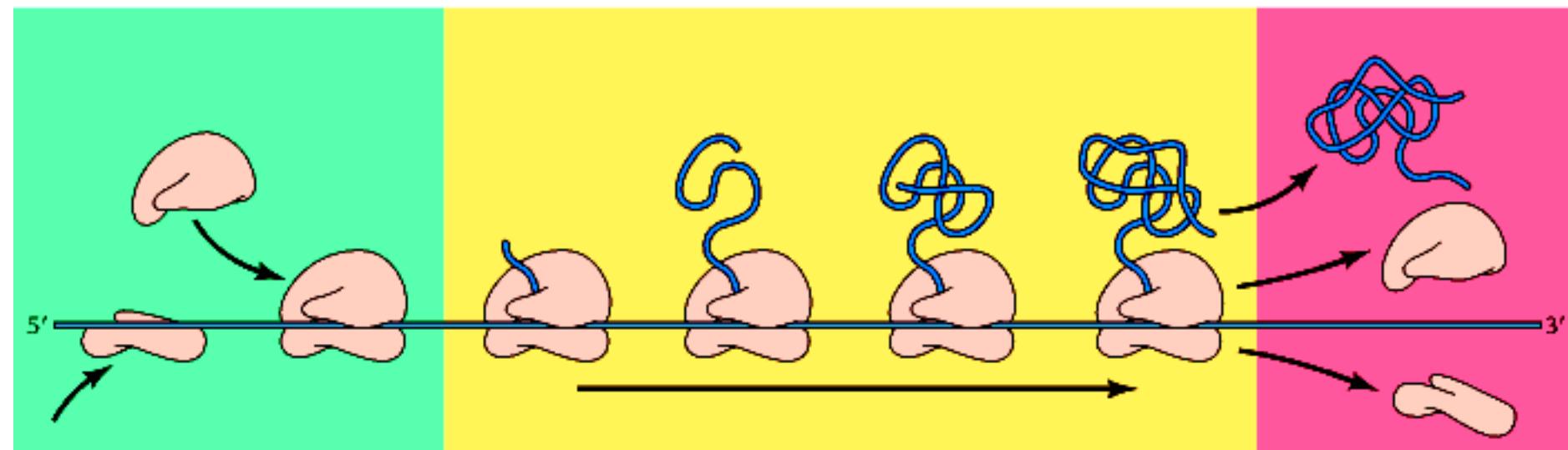
La delezione produce una sequenza aminoacidica alterata

H₂N — Met — Thr — Glu — Ile — Gly — Ile — Leu — Arg — ...

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

TRADUZIONE

- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Flusso dell'informazione genetica | 6. Ribosomi: sito della sintesi |
| 2. Codice genetico | 7. Sintesi proteica |
| 3. Ribosomi | 8. Mutazioni |
| 4. Nucleolo ed rRNA | 9. Folding |
| 5. tRNA | 10. Controllo dell'espressione genica |



catena polipeptidica nascente



↓
riplegamento e
attacco del cofattore
(interazioni
non covalenti)



↓
modificazione
covalente per
glycosilazione,
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**

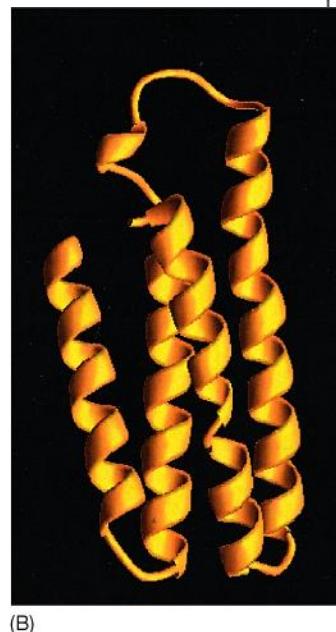
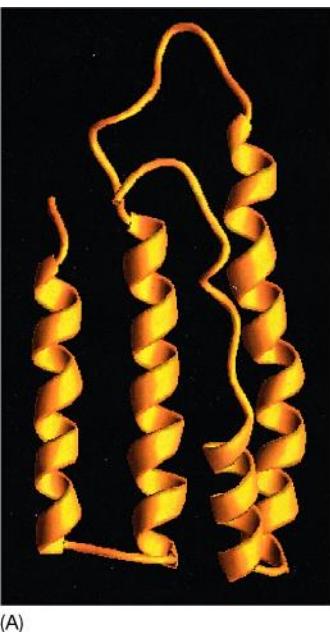
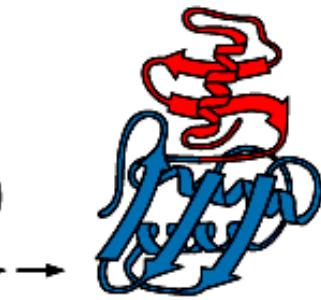
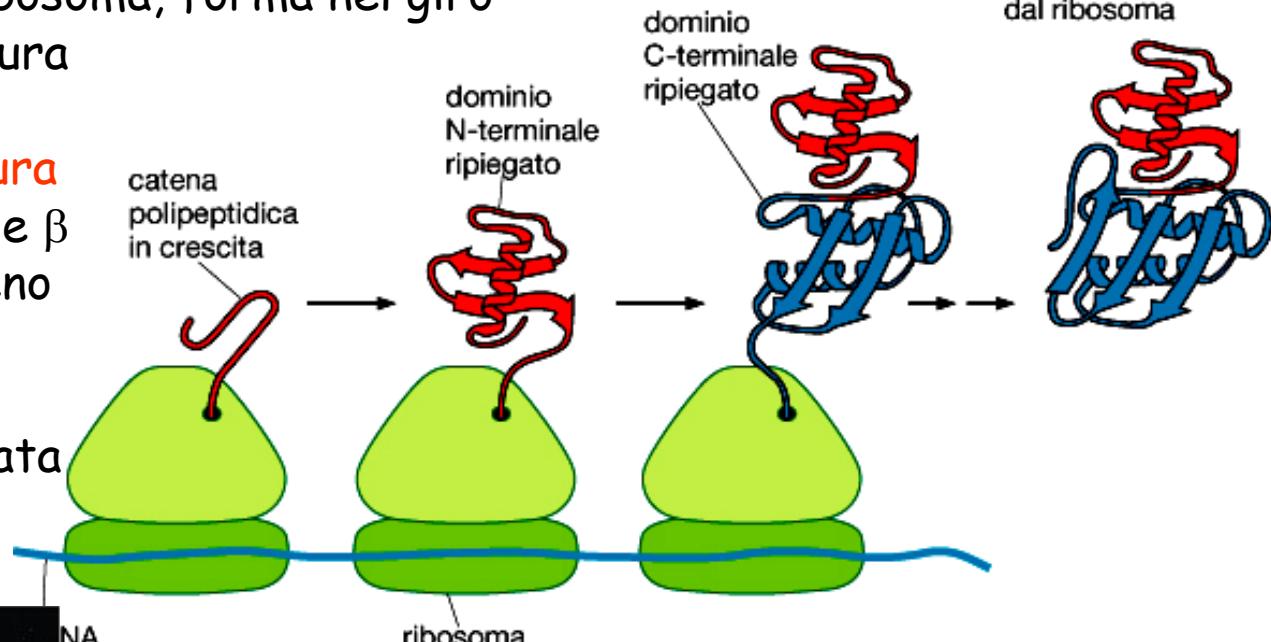
- Molte proteine hanno anche modificazioni covalenti prodotte in aminoacidi selezionati

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**

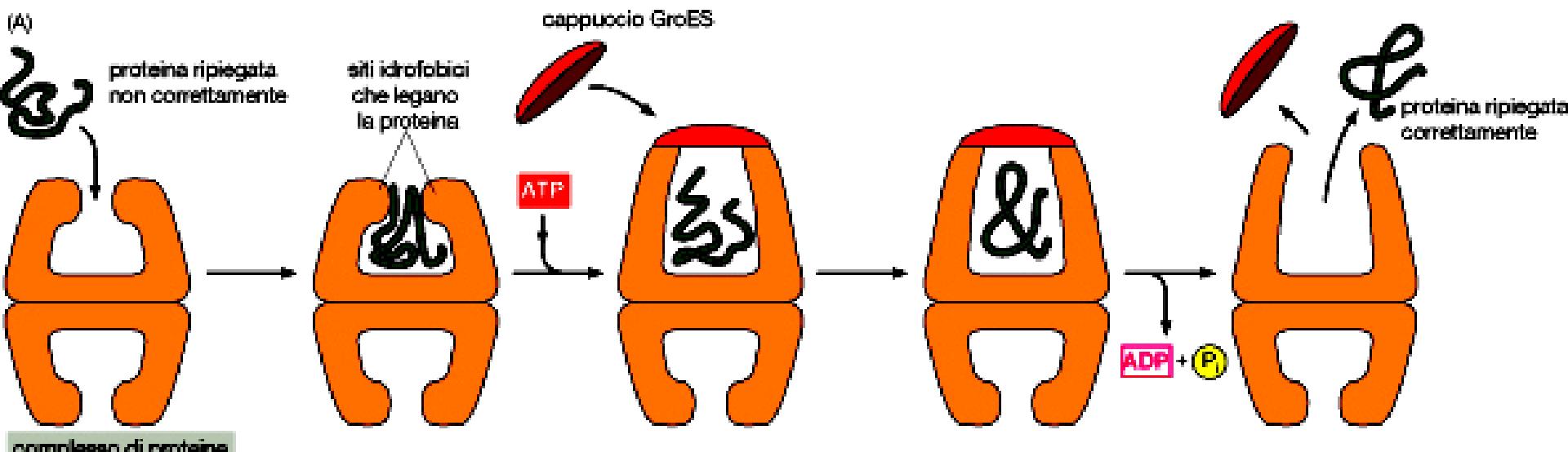
ripiegamento della proteina completato dopo il rilascio dal ribosoma



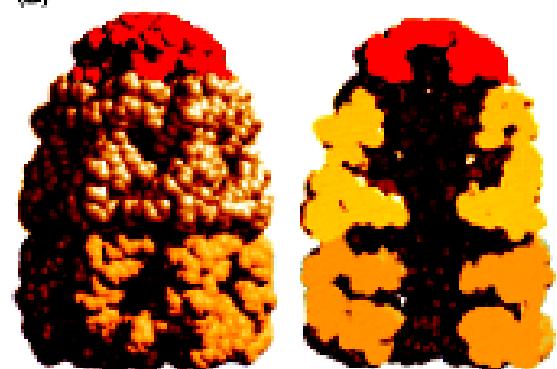
Il completamento del ripiegamento della proteina è molto **più lento** e porta ad aggiustamenti di catene laterali che alla fine formano la **struttura terziaria corretta** ed avviene quando il ribosoma rilascia l'estremità C-terminale della proteina.

Chaperone molecolari

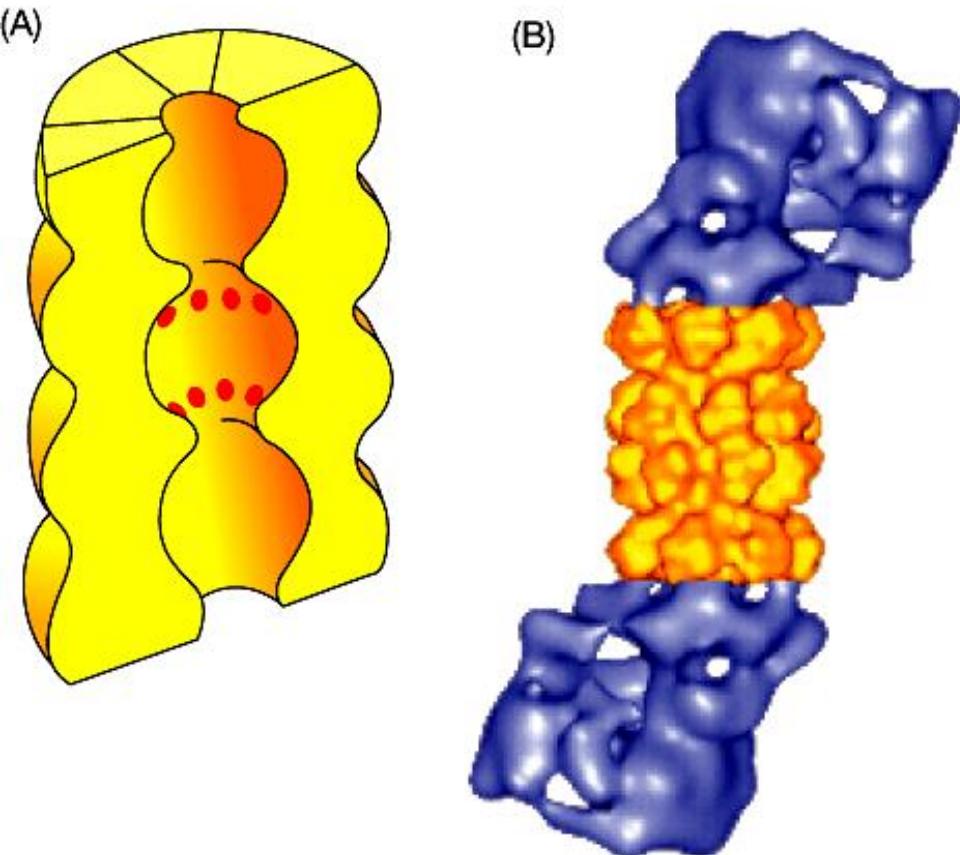
Aiutano a guidare il ripiegamento di molte proteine. Agiscono sulle proteine dopo che sono state completamente sintetizzate e ne impediscono l'aggregazione fornendo loro un ambiente favorevole in cui tentare di ripiegarsi.



(B)



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



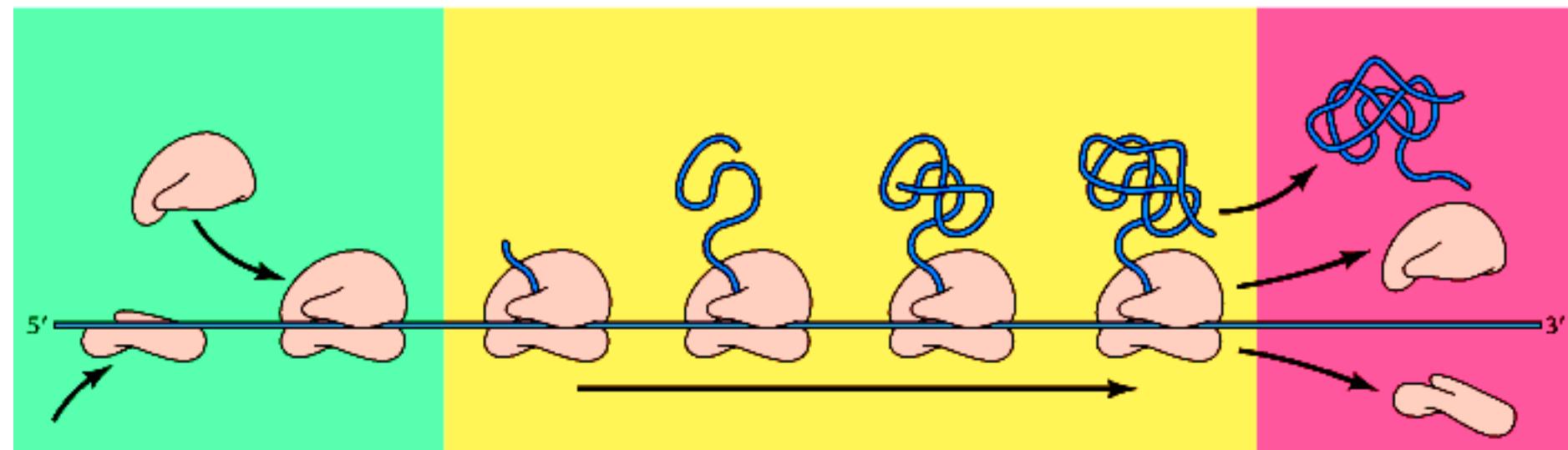
Le proteine che non riescono a ripiegarsi o ad assemblarsi in modo appropriato vengono marcate in modo specifico per la distruzione tramite l'attacco covalente di copie multiple di una piccola proteina chiamata **ubiquitina**.

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

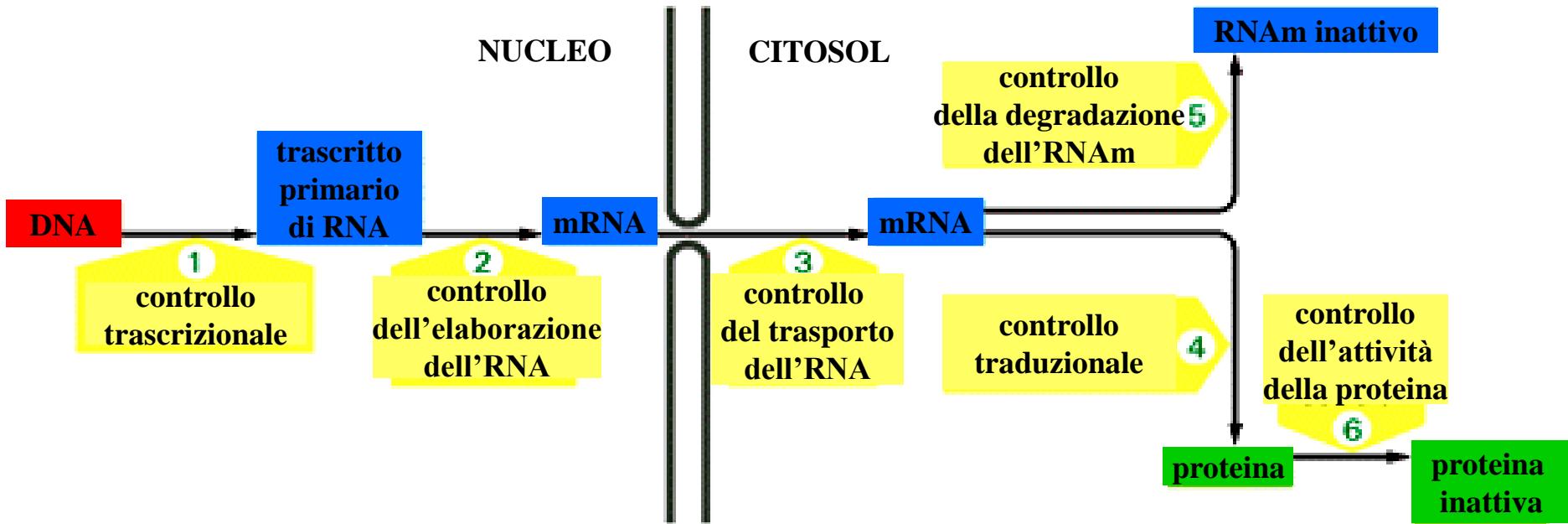
1. l'apparato finale di distruzione delle proteine negli eucarioti
2. una proteasi abbondante dipendente da ATP che costituisce quasi l'1% delle proteine cellulari
3. presente in molte copie disperse nel citosol e nel nucleo

TRADUZIONE

- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Flusso dell'informazione genetica | 6. Ribosomi: sito della sintesi |
| 2. Codice genetico | 7. Sintesi proteica |
| 3. Ribosomi | 8. Mutazioni |
| 4. Nucleolo ed rRNA | 9. Folding |
| 5. tRNA | 10. Controllo dell'espressione genica |

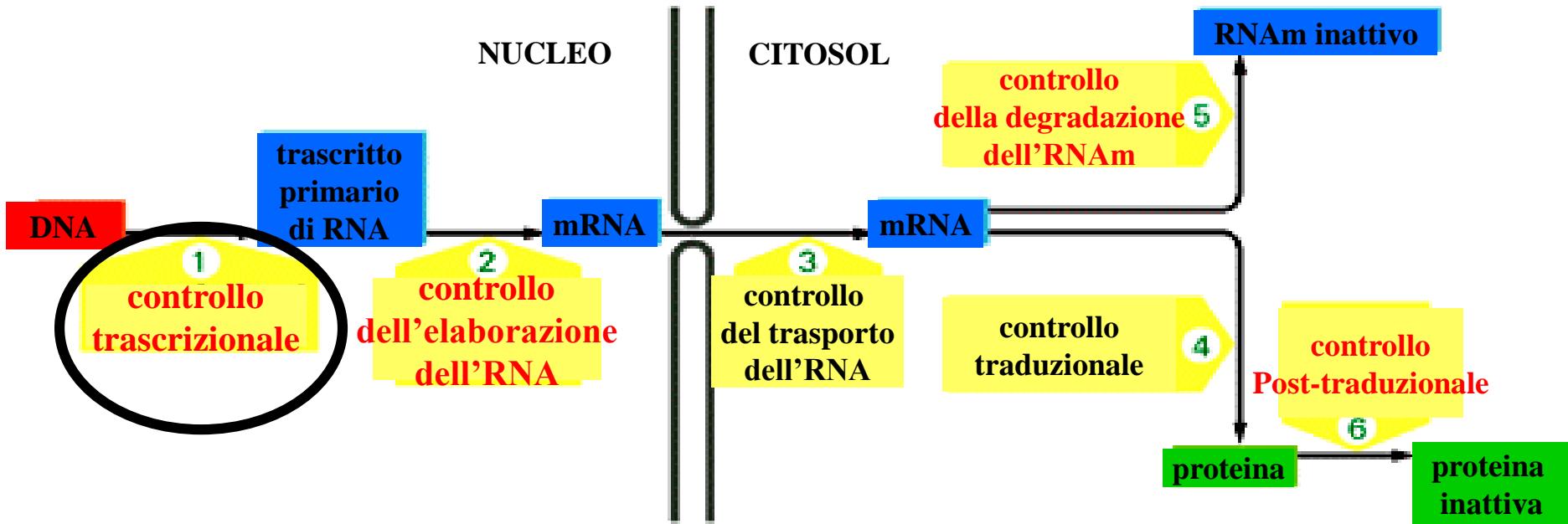


IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCAΡIOTI



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 EUCAΡIOTI



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

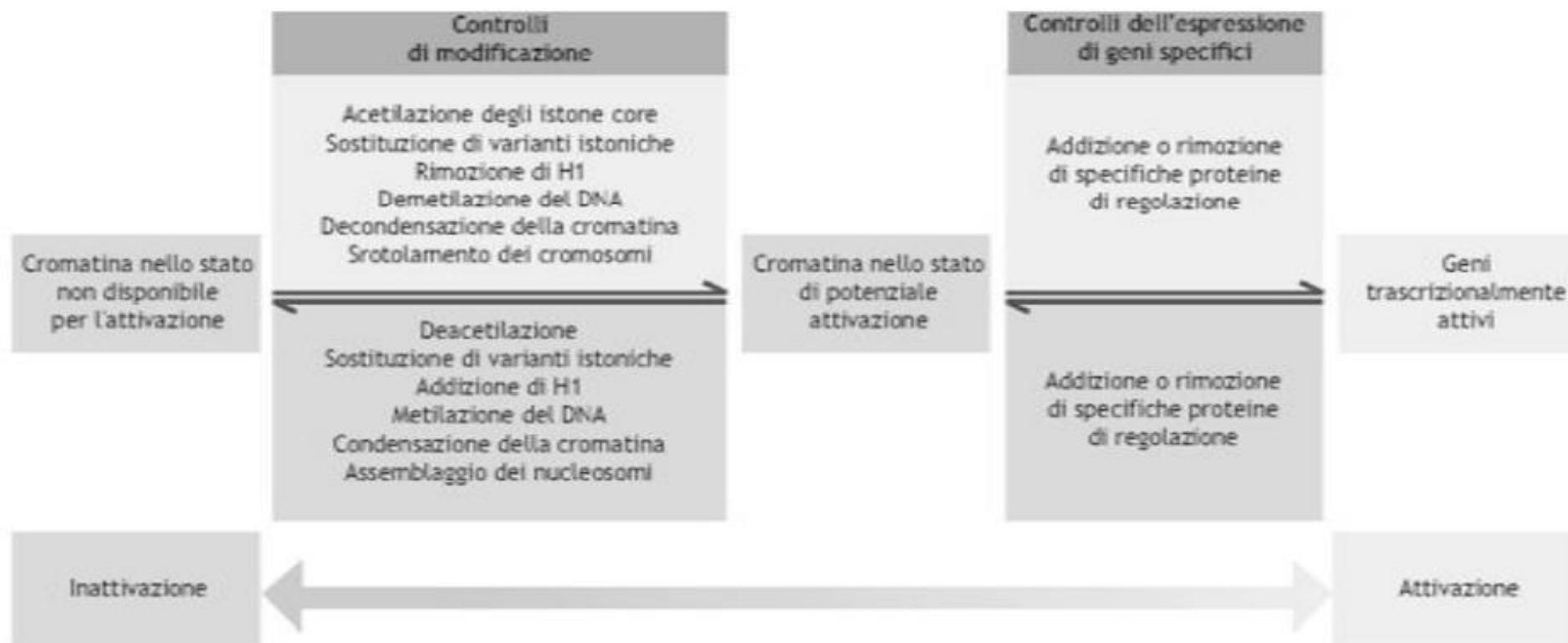
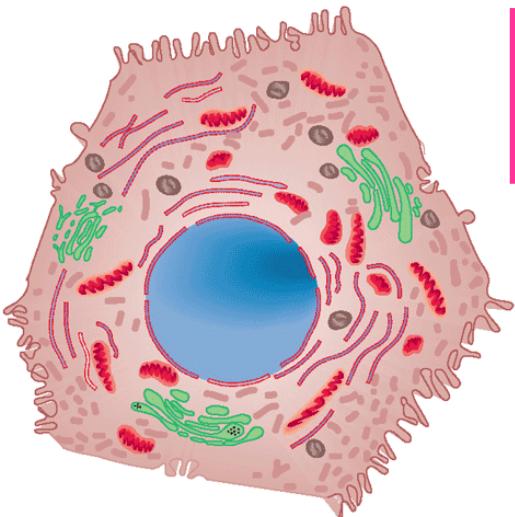


Figura 4.79 Regolazione della trascrizione negli eucarioti.

IL CONTROLLO DELL'ESPRESSONE DEI GENI NEGLI EUCARIOTI

a) Cellula epatica

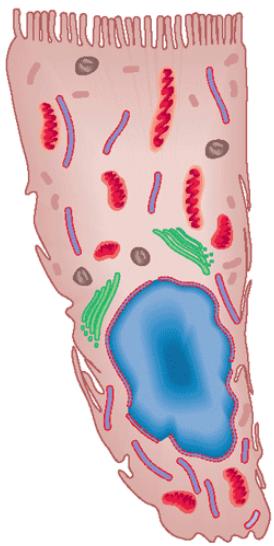


Genoma
cellulare

: 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

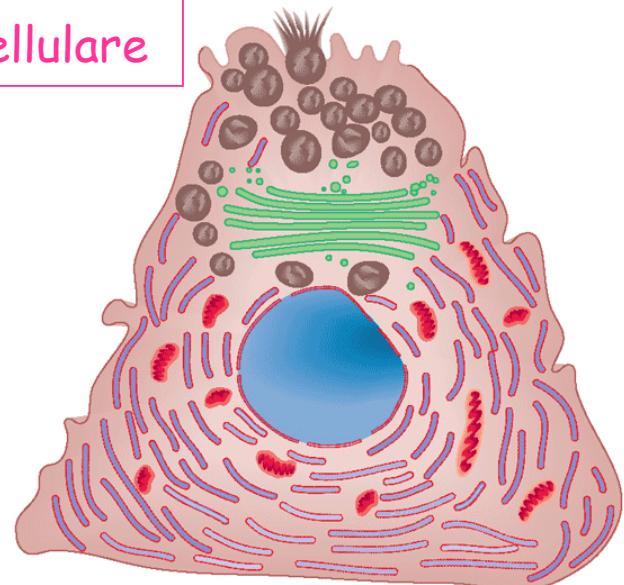
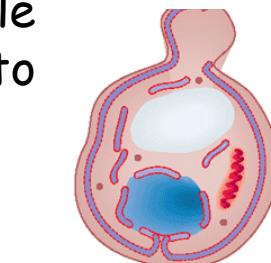


b) Cellula intestinale

● 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 pancreaticia

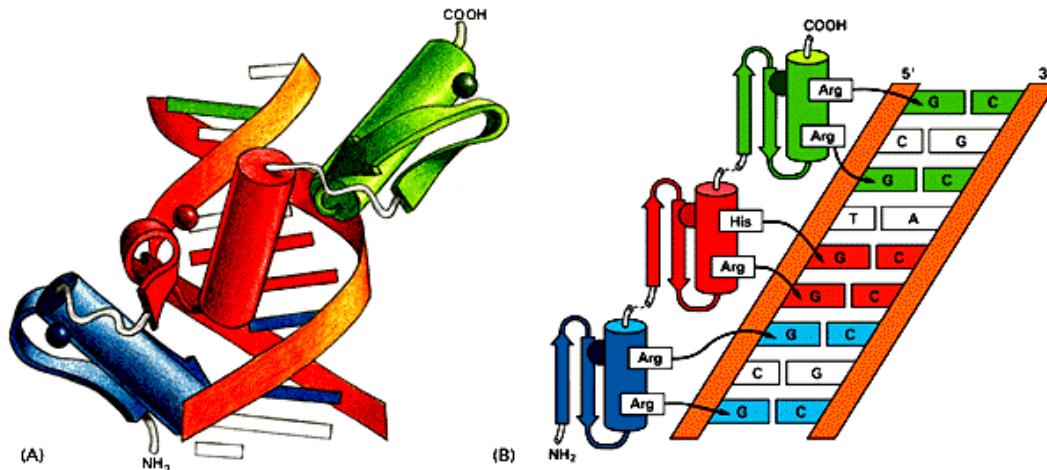
Proteine regolatrici di geni

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

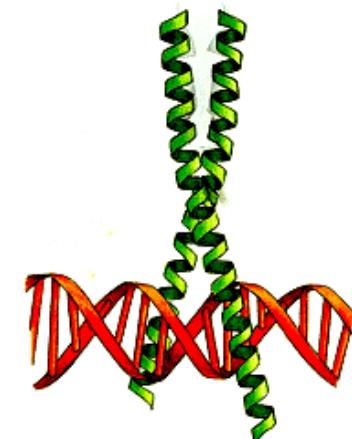
Ci sono seq regolatrici corte che rispondono ad un solo segnale
e seq lunghe che rispondono a segnali molteplici

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

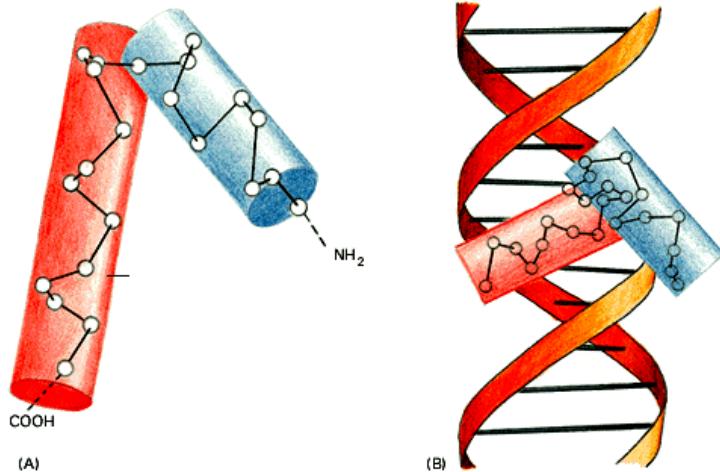
I regolatori genici sono proteine che presentano **configurazioni ricorrenti** (motivi), particolarmente adatte a legare il DNA: in tutti i casi **un α -elica** della proteina interagisce con il **solco maggiore** dell'elica di DNA:

Omeodominio, zinc-finger e leucin-zipper

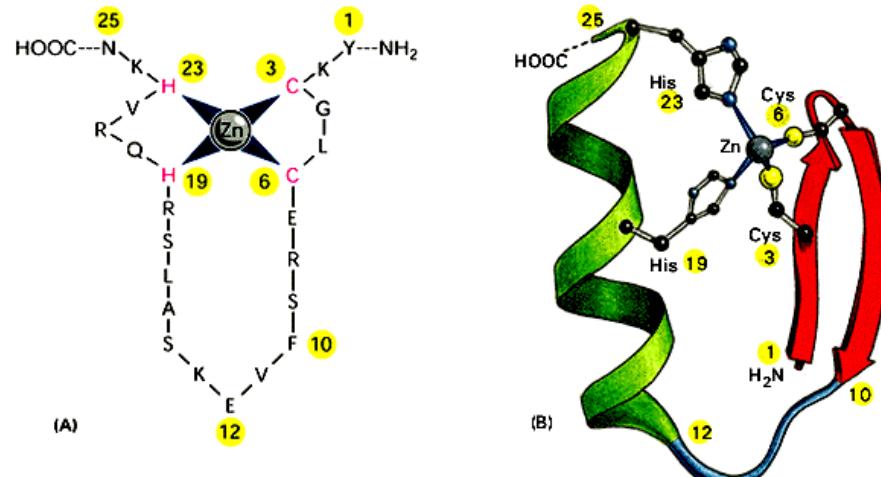
Spesso si associano a formare dei dimeri che legano ancora più specificatamente il DNA

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

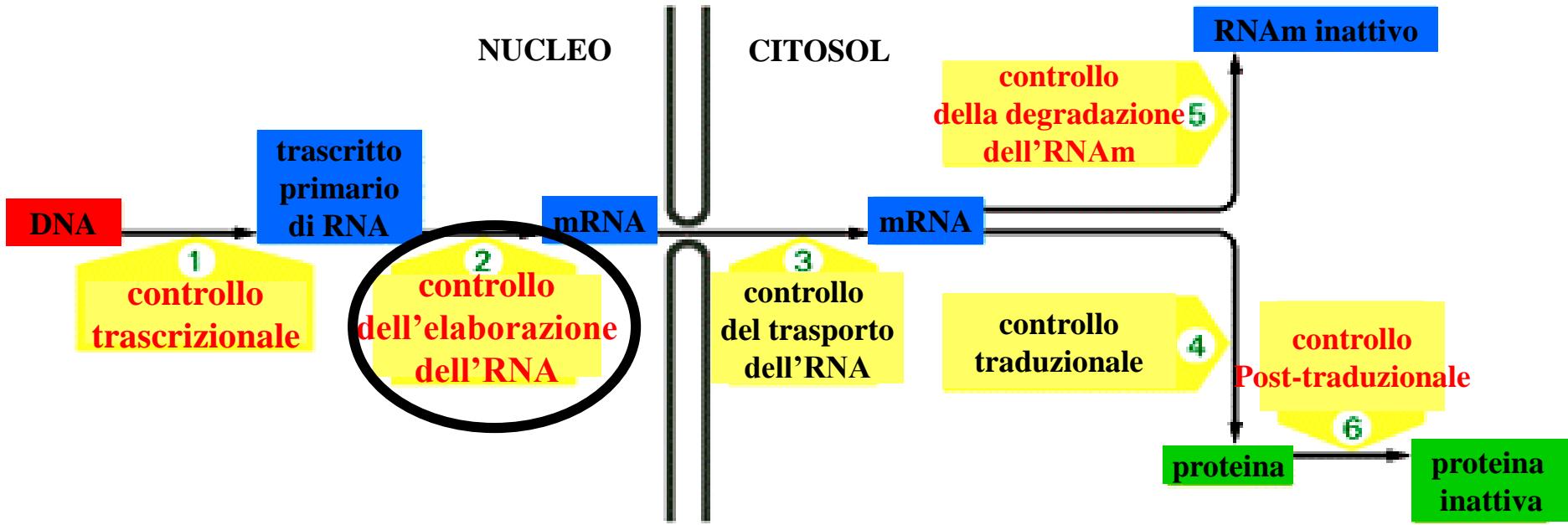
IL MOTIVO CHE LEGA IL DNA ELICA-GIRO-ELICA



UN TIPO DI PROTEINA DITO DI ZINCO



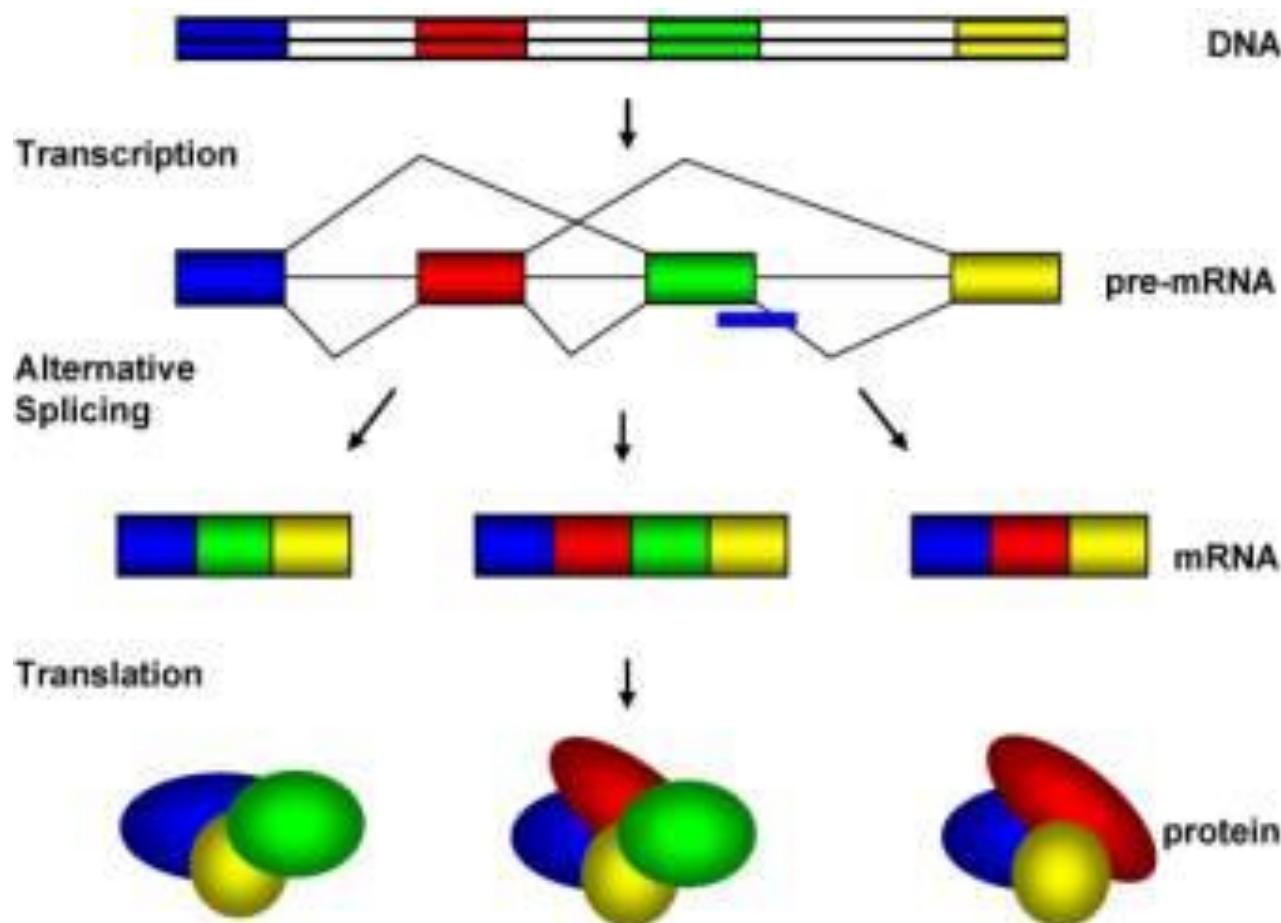
IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCAΡIOTI



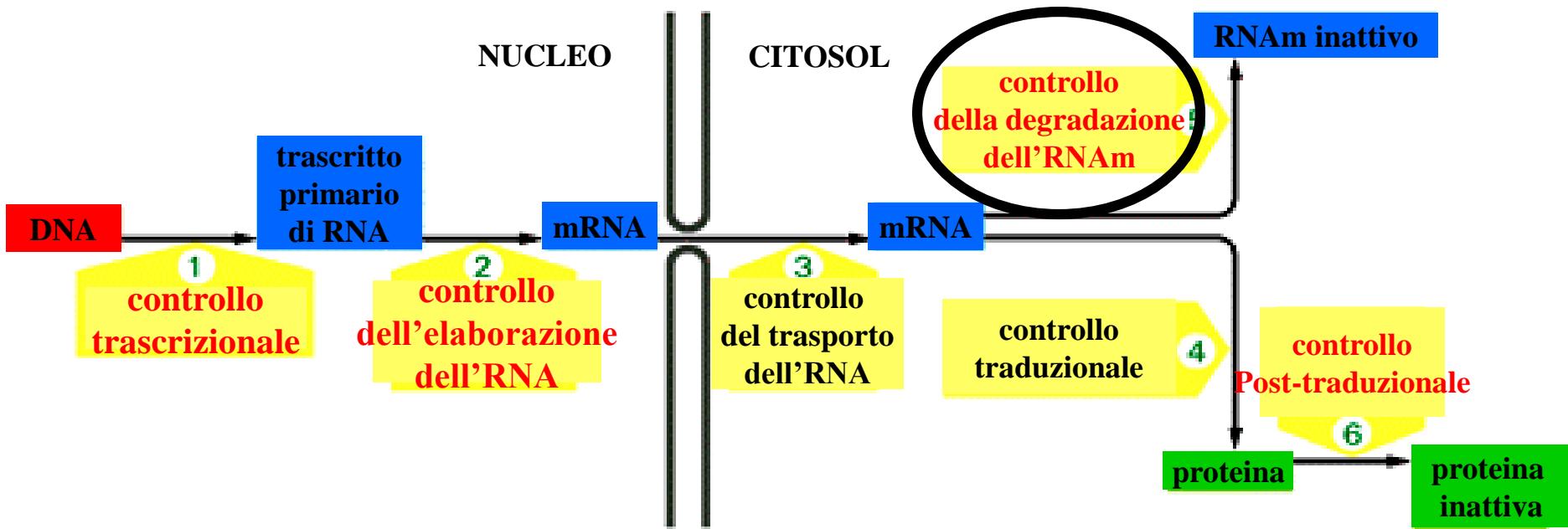
L'espressione genica può essere regolata in più punti del percorso che conduce dal DNA all'RNA e quindi alle proteine, tuttavia quello più utilizzato è il **controllo della trascrizione**

IL CONTROLLO POST-TRASCRIZIONALE 1

Splicing alternativo



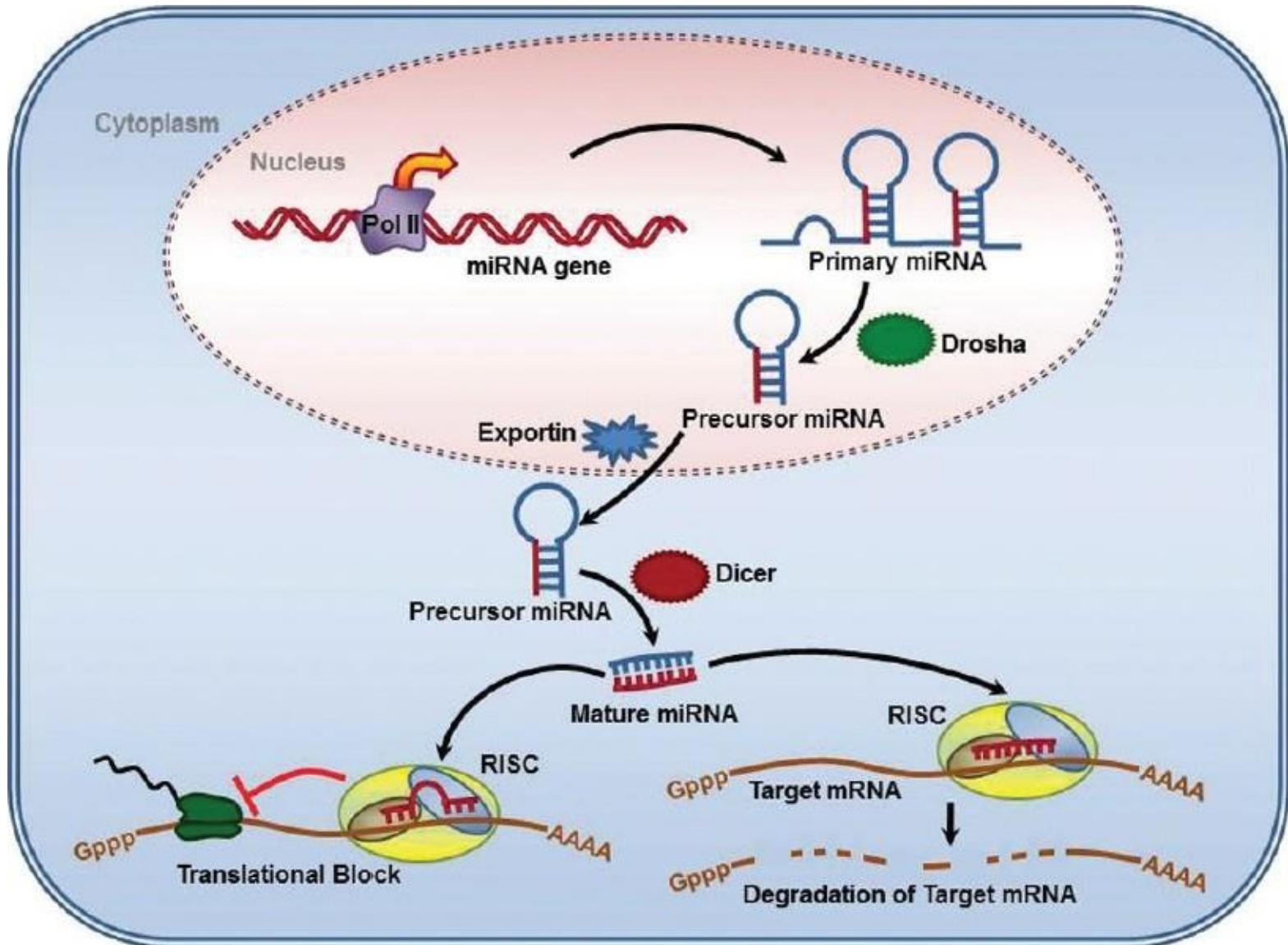
IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCAΡIOTI



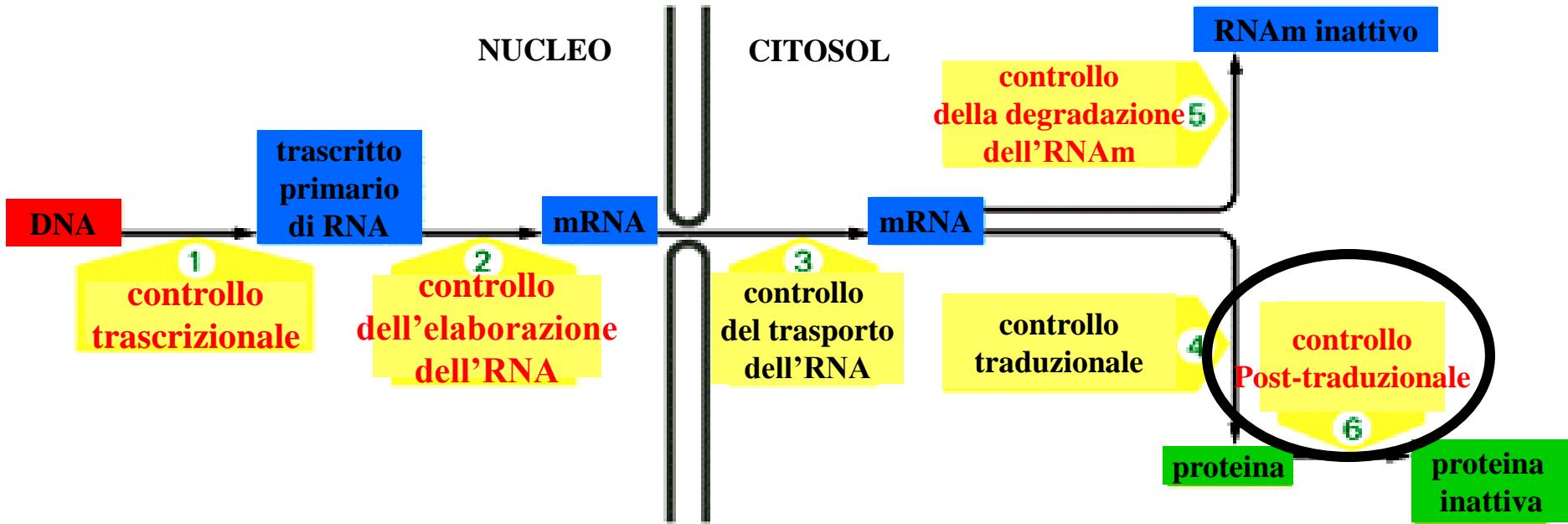
L'espressione genica può essere regolata in più punti del percorso che conduce dal DNA all'RNA e quindi alle proteine, tuttavia quello più utilizzato è il **controllo della trascrizione**

IL CONTROLLO POST-TRASCRIZIONALE 2

MicroRNA



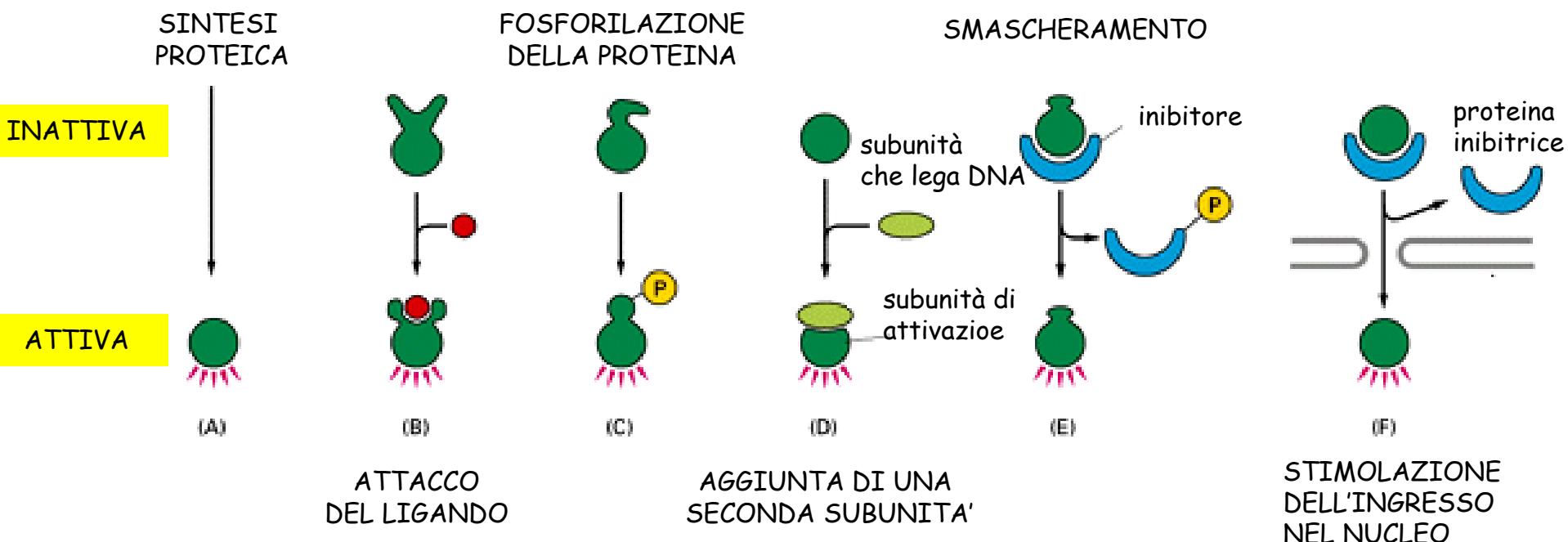
IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCAΡIOTI



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**

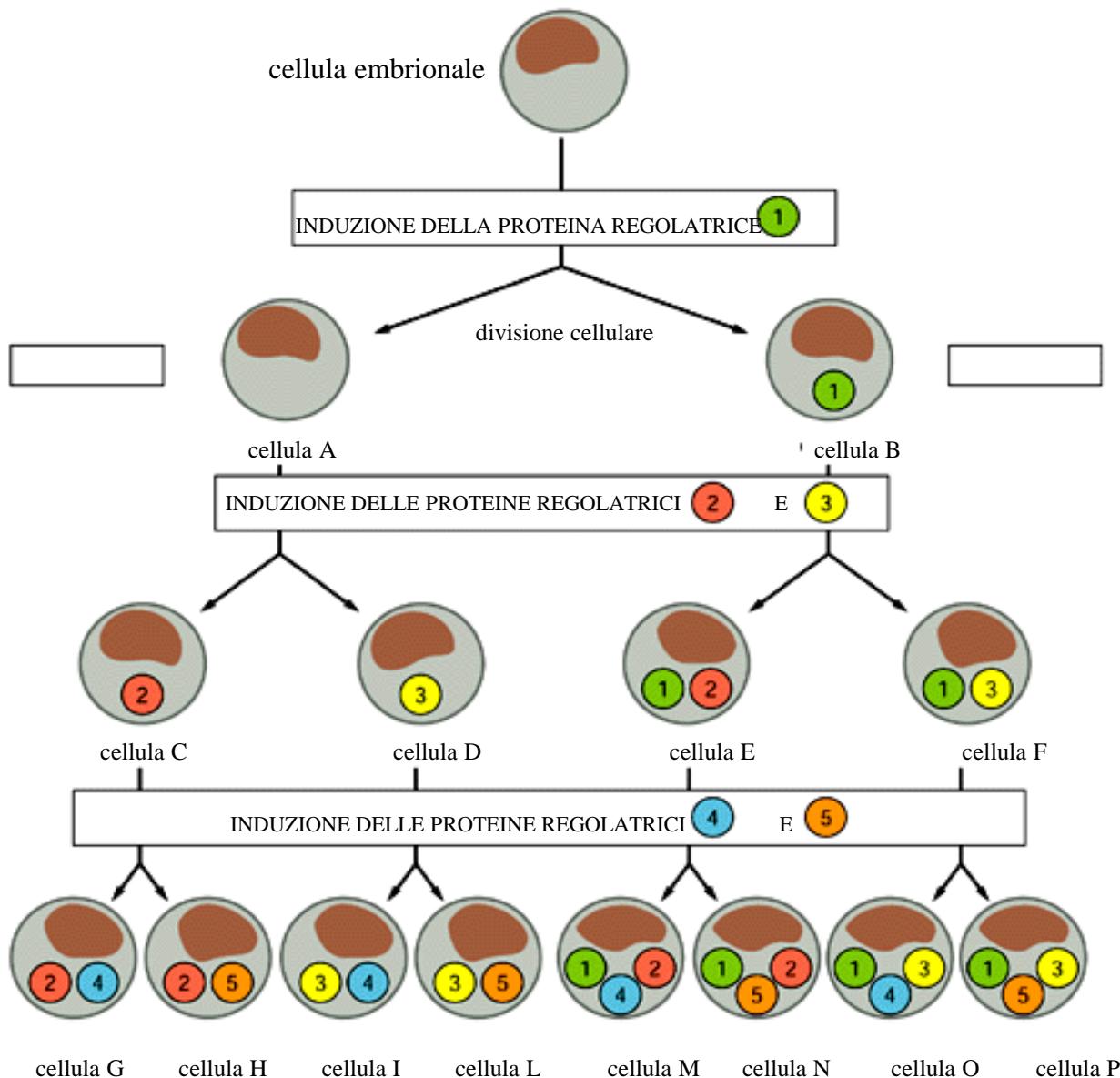
IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCAΡIOTI

Alcuni modi in cui l'attivita' delle proteine regolatrici e' regolata nelle cellule eucariotiche



IL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCAΡIOTI

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

