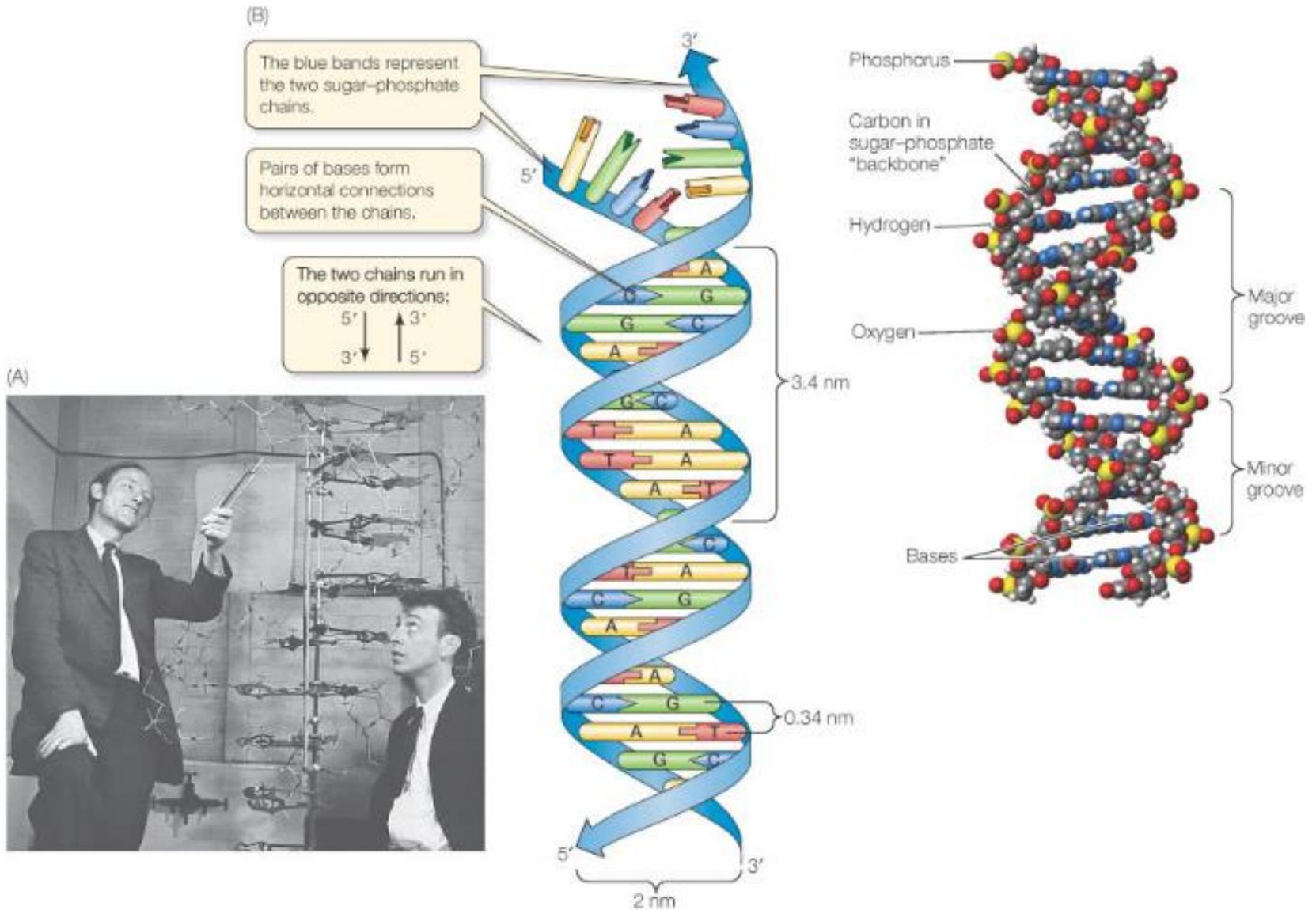


DNA

La sua **struttura** è stata determinata da **Watson e Crick** nel 1953.



NUCLEOTIDI

Componenti fondamentali degli acidi nucleici.

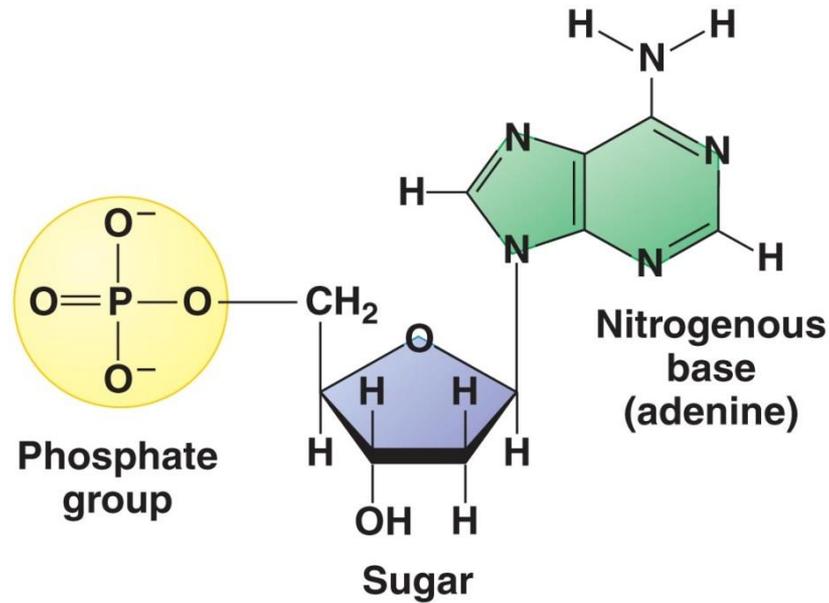
Costituiti da 3 parti:

1. Uno **zucchero** a 5 atomi di C: nel DNA è il deossiribosio; nell'RNA è il ribosio.
2. Uno/due/tre **gruppi fosfato** (PO_4^{2-}).
3. Una **base azotata**

→ Le basi azotate per il DNA sono 4:
Adenina Timina Citosina Guanina.

→ Per l'RNA al posto della Timina c'è l'**Uracile**.

NUCLEOTIDI



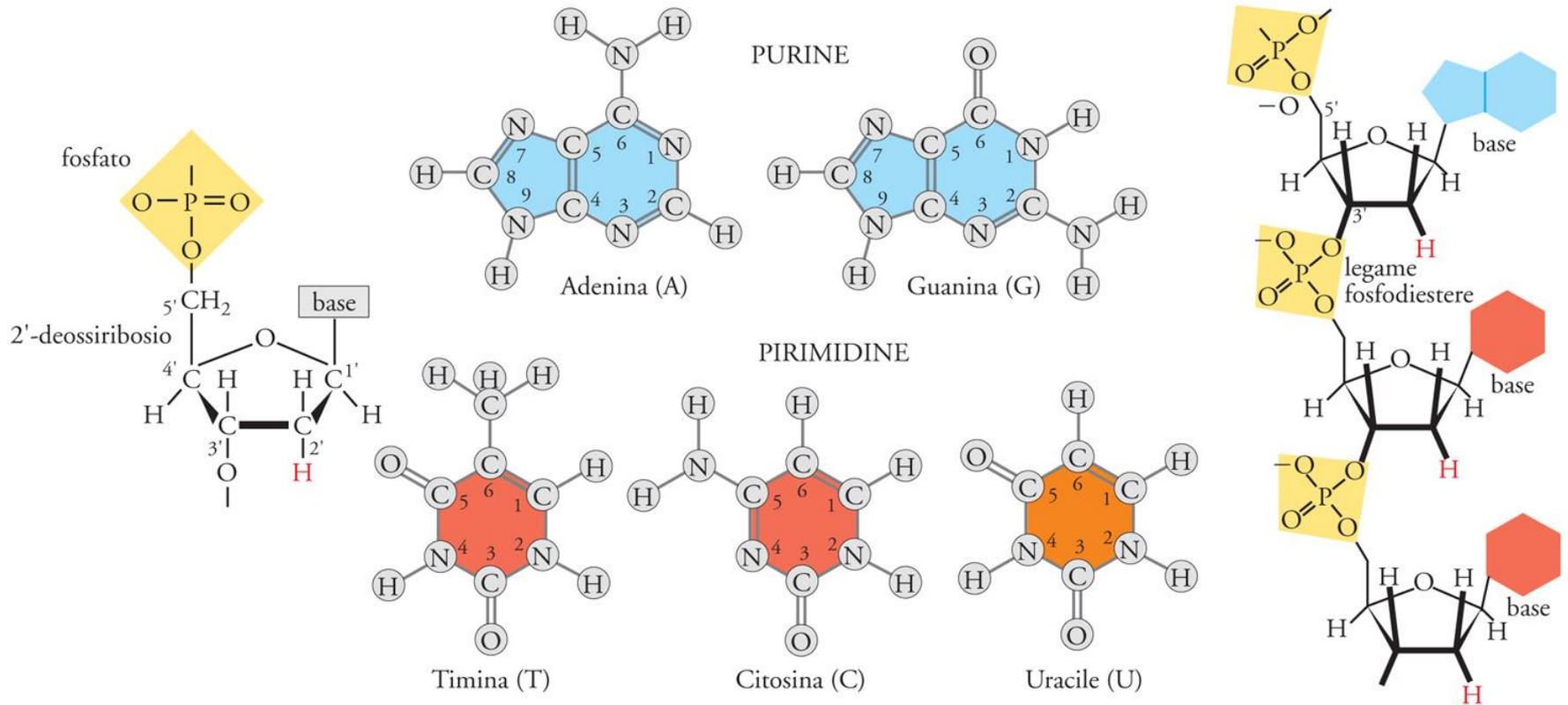
Un gruppo fosfato → Nucleotide Monofosfato

Due gruppi fosfato → Nucleotide Difosfato

Tre gruppi fosfato → Nucleotide Trifosfato

NUCLEOTIDI

Basi azotate



➤ L'RNA è costituito da un unico filamento polinucleotidico.

➤ Il DNA è una doppia elica, nella quale i due polinucleotidi si avvolgono a spirale uno sull'altro
→ Legami a idrogeno

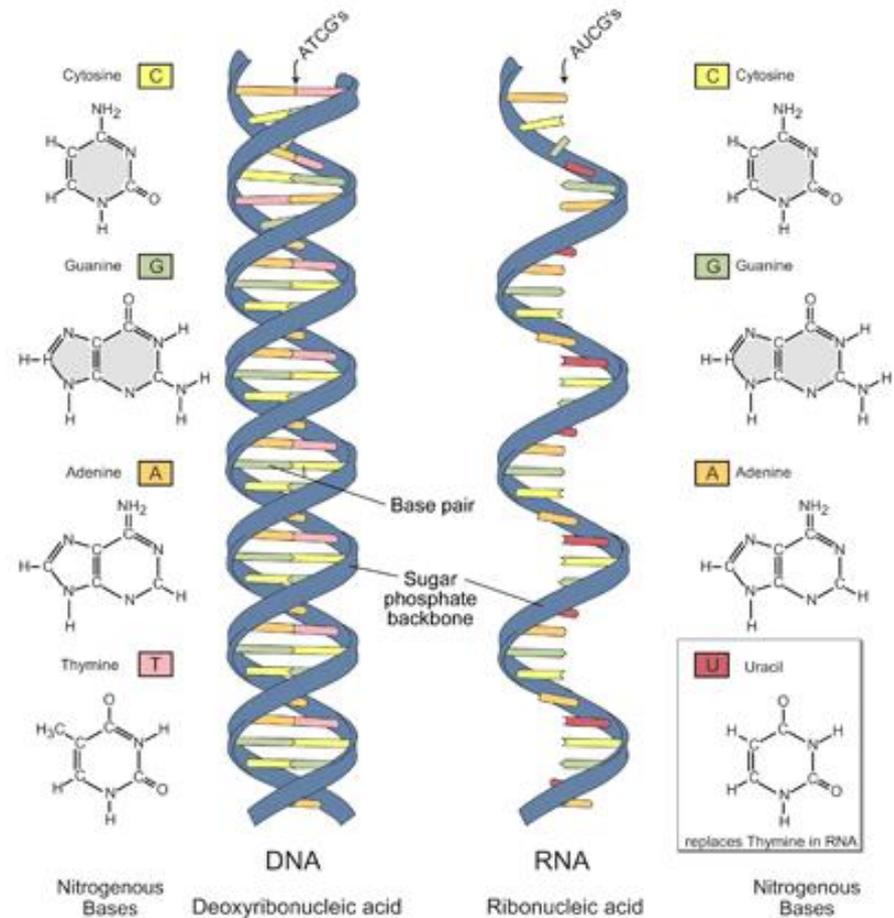


Image adapted from: National Human Genome Research Institute.

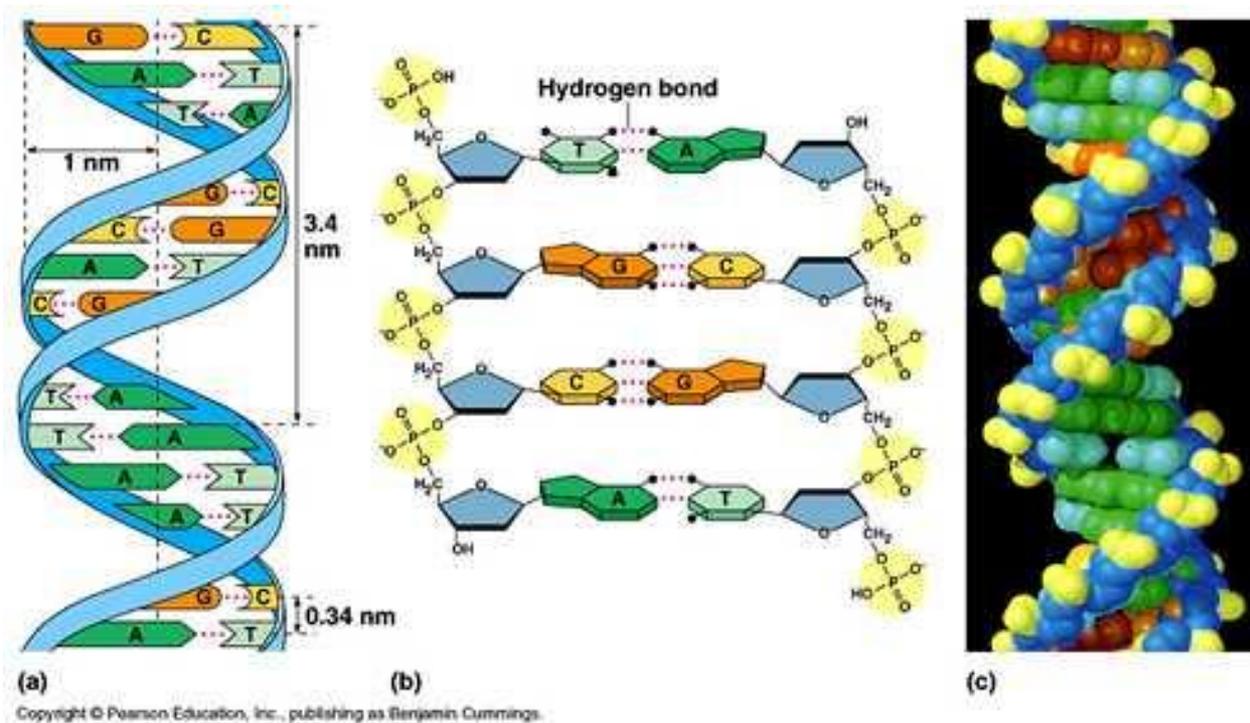
Come i polisaccaridi e i polipeptidi, anche un polimero di acido nucleico (**polinucleotide**) si forma per condensazione dei suoi monomeri: lo zucchero di un nucleotide si lega al gruppo fosfato del nucleotide successivo con un legame fosfodiesterico.



Legame fosfodiesterico. Nella figura è mostrata la reazione di condensazione fra due nucleotidi che porta alla formazione del legame fosfodiesterico.

Polimerizzazione
mediante
condensazione.

In una molecola di **DNA** due filamenti antiparalleli con sequenza nucleotidica **complementare** sono accoppiati in una **doppia elica destrorsa con 10 nucleotidi per giro**.

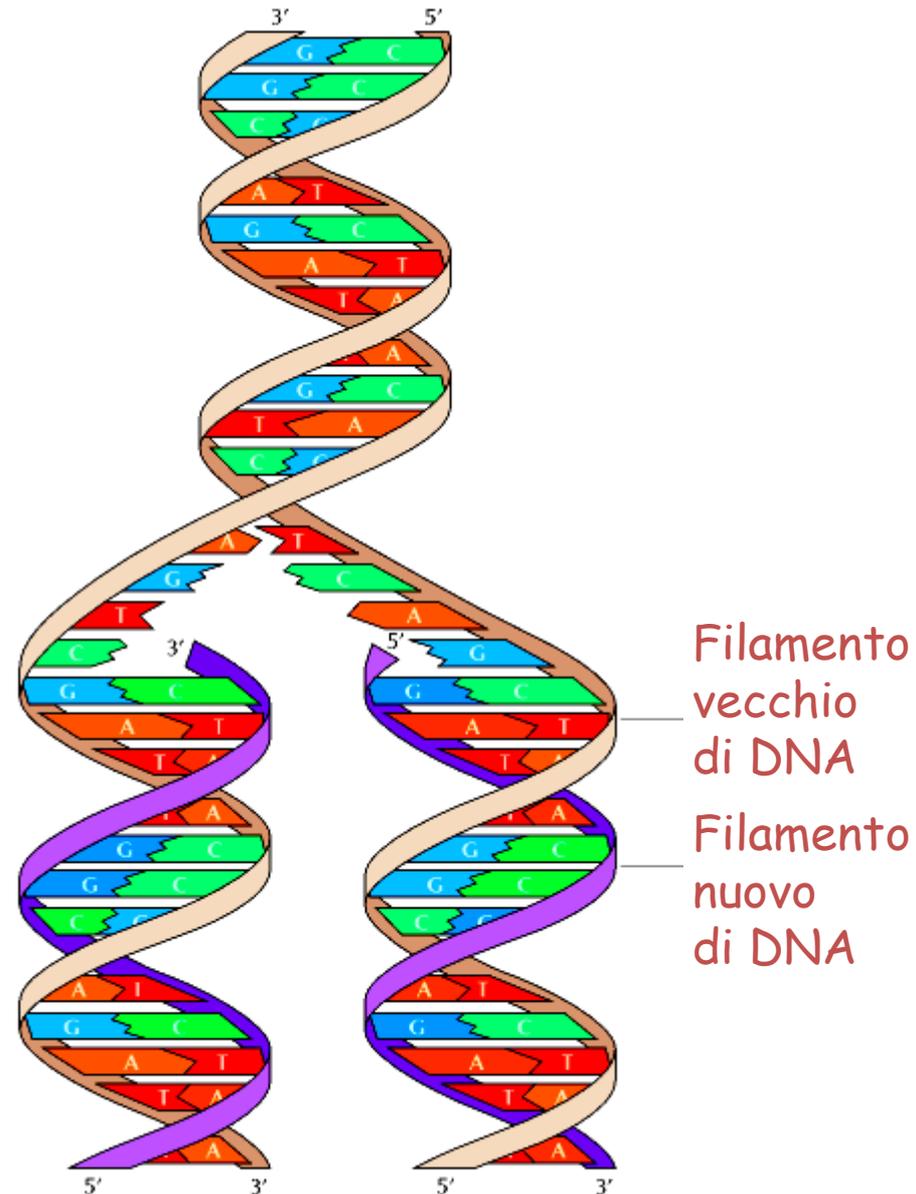


Replicazione semiconservativa

I due filamenti di DNA parentale si **separano** e ciascuno serve da **stampo** per la sintesi di un nuovo filamento **complementare** la cui sequenza è dettata dalla specificità dell'**accoppiamento delle basi**

Replicazione Semiconservativa

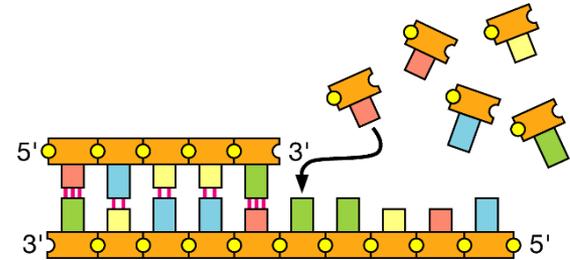
perché un filamento di DNA parentale viene conservato in ogni molecola figlia di DNA



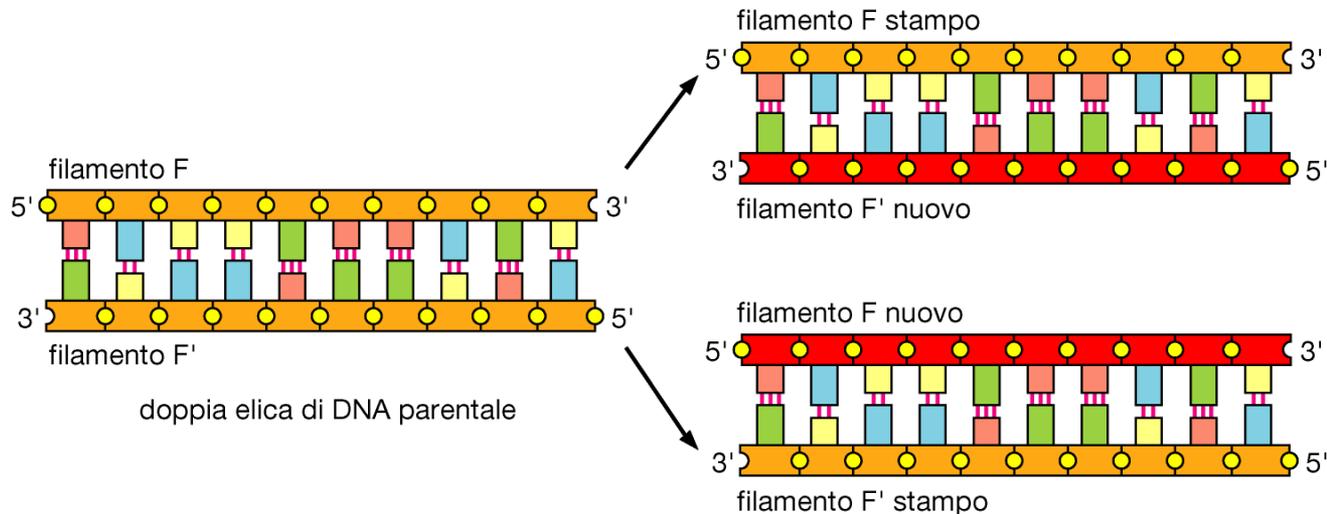
Replicazione nei Procarioti

La replicazione semiconservativa del DNA

Ogni filamento di DNA contiene una sequenza nucleotidica esattamente **complementare** a quella del filamento opposto: per questo ognuno di essi può fare da **stampo** per la sintesi di un altro filamento complementare.

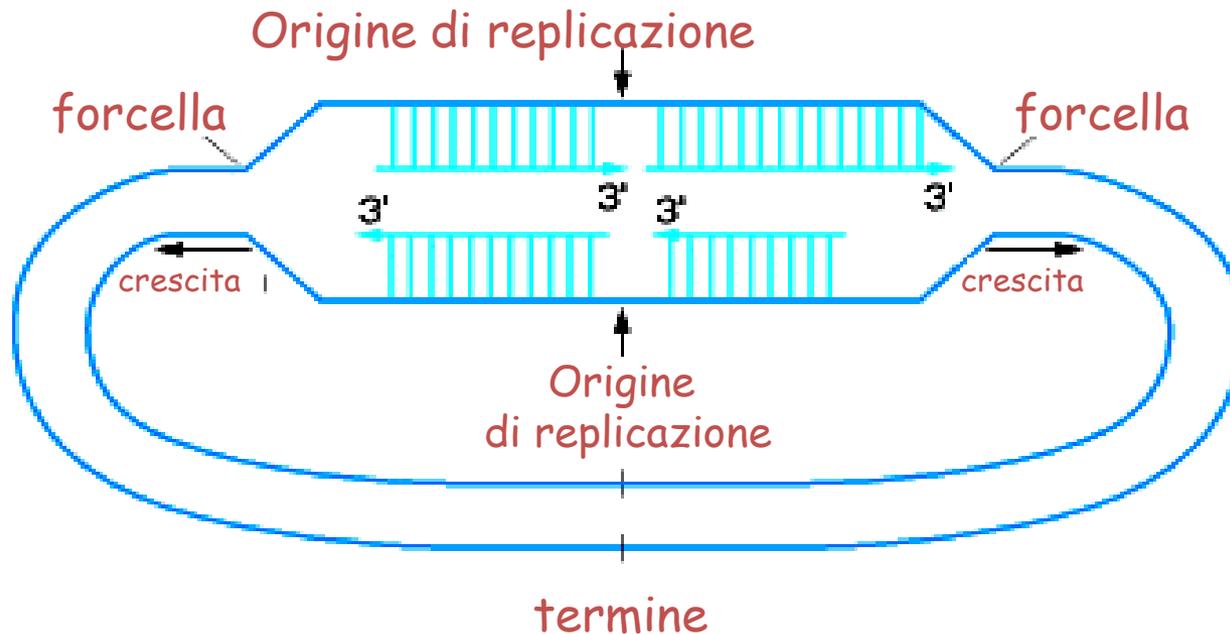


Se si indicano i due filamenti come **F** e **F'**, il filamento **F** funge da stampo per un nuovo filamento **F'**, mentre **F'** fa da stampo per un nuovo filamento **F**.



Origini di replicazione

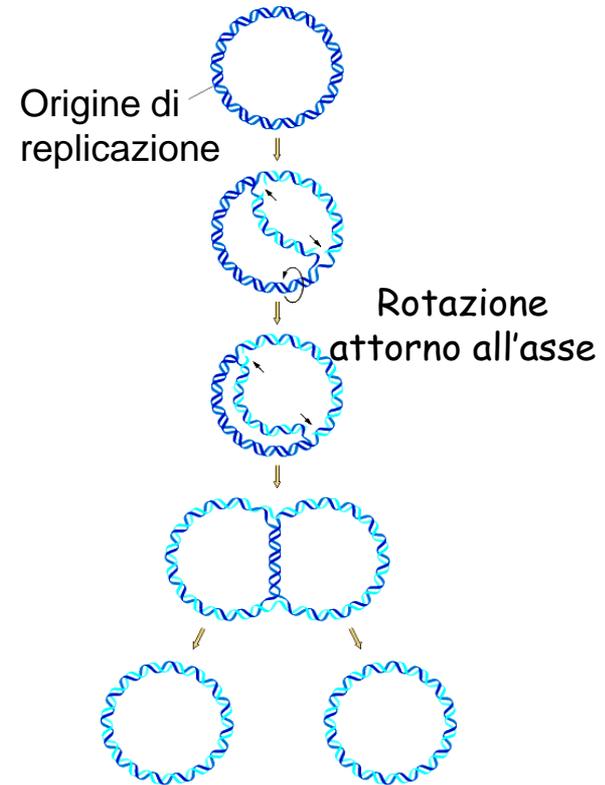
Il processo replicativo del DNA viene innescato da **proteine iniziatrici** che si legano al DNA e distanziano le catene rompendo i legami idrogeno tra le basi in modo che le basi disaccoppiate si possano utilizzare da stampo



Genoma batterico: una molecola circolare: 1 origine di replicazione

Genoma umano: 10 000 origini di replicazione

Origini di replicazione



Il genoma batterico contiene 2 **forcelle di replicazione**, che rappresentano le regioni di sintesi attiva del DNA

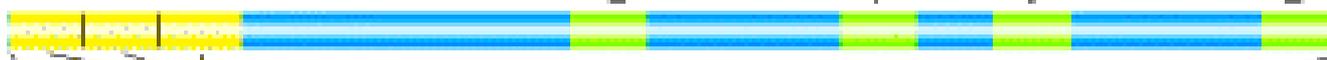
A livello di ciascuna forcella i filamenti parentali del DNA si separano e vengono sintetizzati due filamenti figli

Origini di replicazione

Sono caratterizzate da una particolare seq nt

Siti di legame per la proteina iniziatrice

3 sequenze di 13 nucleotidi allineati in tandem



GATCTNTTNTTTT
Sequenza consenso

OriC

(l'origine di replicazione di *E. coli*)

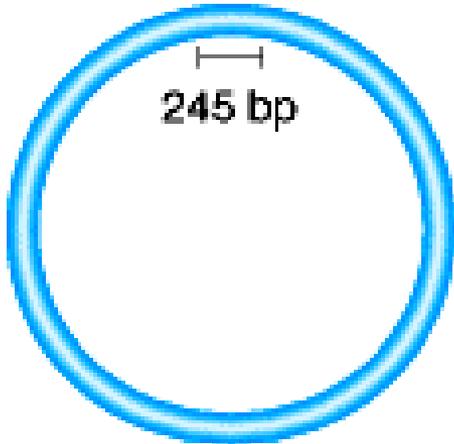
Ha una lunghezza di 245 pb

Contiene 3 sequenze uguali di 13 nucleotidi allineati in tandem

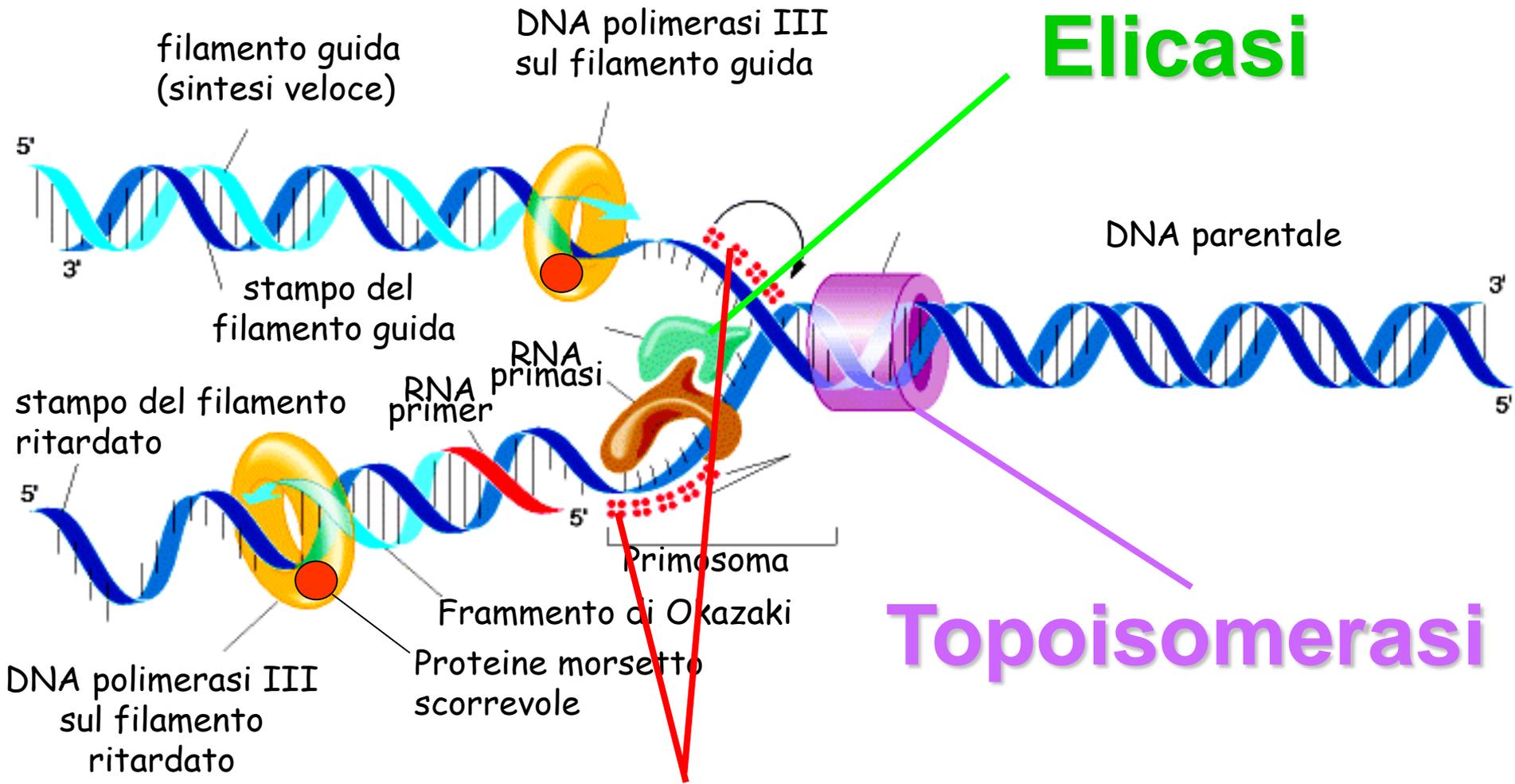
Contiene 4 siti di legame per la proteina iniziatrice (DnaA)

oriC

245 bp



COMPLESSO ENZIMATICO



Proteine che legano il DNA a singolo filamento

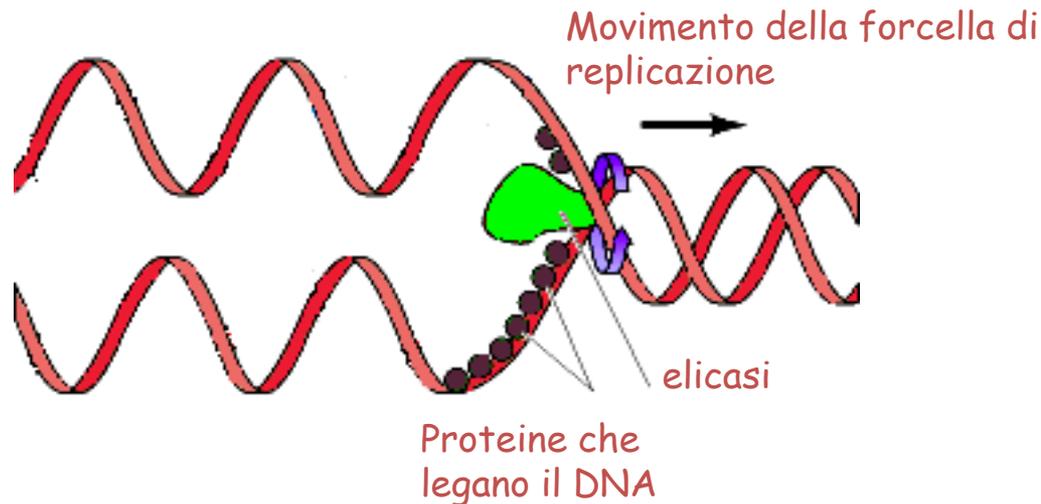
Svolgimento del DNA: le elicasi

Il processo replicativo del DNA prevede che i filamenti della doppia elica vengano slegati e distanziati.

Questo implica che la doppia elica debba subire uno srotolamento.

Lo srotolamento dipende dall'enzima **elicasi** che utilizza una molecola di ATP per ogni giro di elica svolto

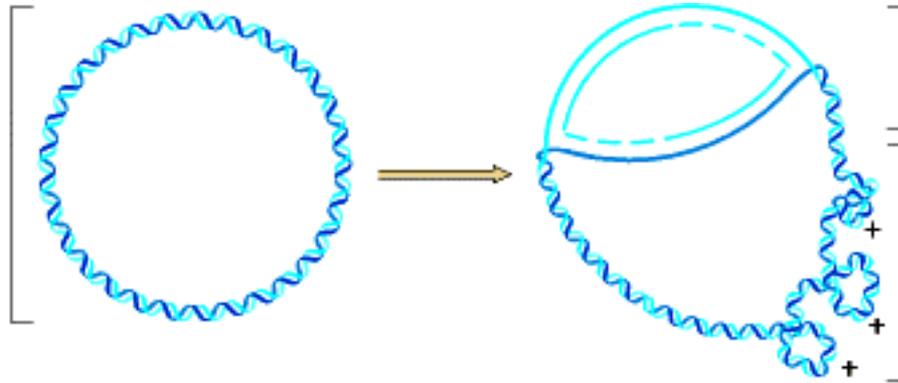
Le **elicasi** catalizzano lo svolgimento del DNA parentale davanti alla forcella di replicazione.



I filamenti nucleotidici separati vengono stabilizzati dalle **proteine che legano il DNA a singolo filamento**

Le TOPOISOMERASI

Stampo di DNA
circolare
saldato
covalentemente



DNA lineare

DNA superavvolto

Esistono 2 tipi di topoisomerasi:

Topoisomerasi di tipo I:

tagliano
solo un filamento di DNA

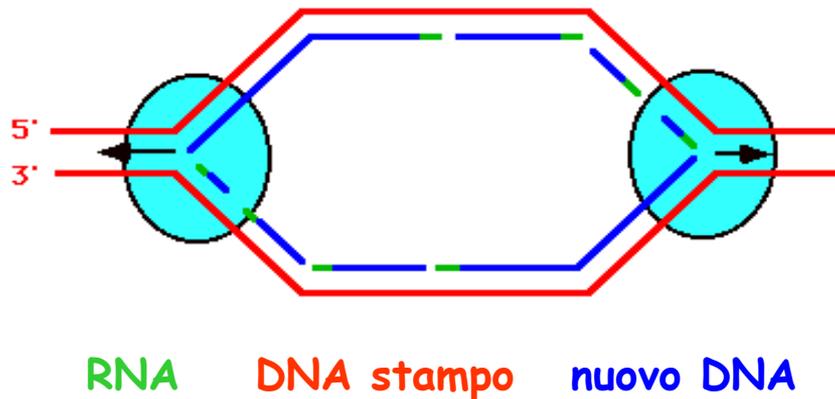
Topoisomerasi di tipo II:

tagliano simultaneamente
entrambi i filamenti di DNA

FORCELLA REPLICATIVA

Forcella di replicazione

Replicazione Bidirezionale



Sul DNA che si replica si distinguono delle **biforcazioni a Y** dette **forcelle di replicazione**

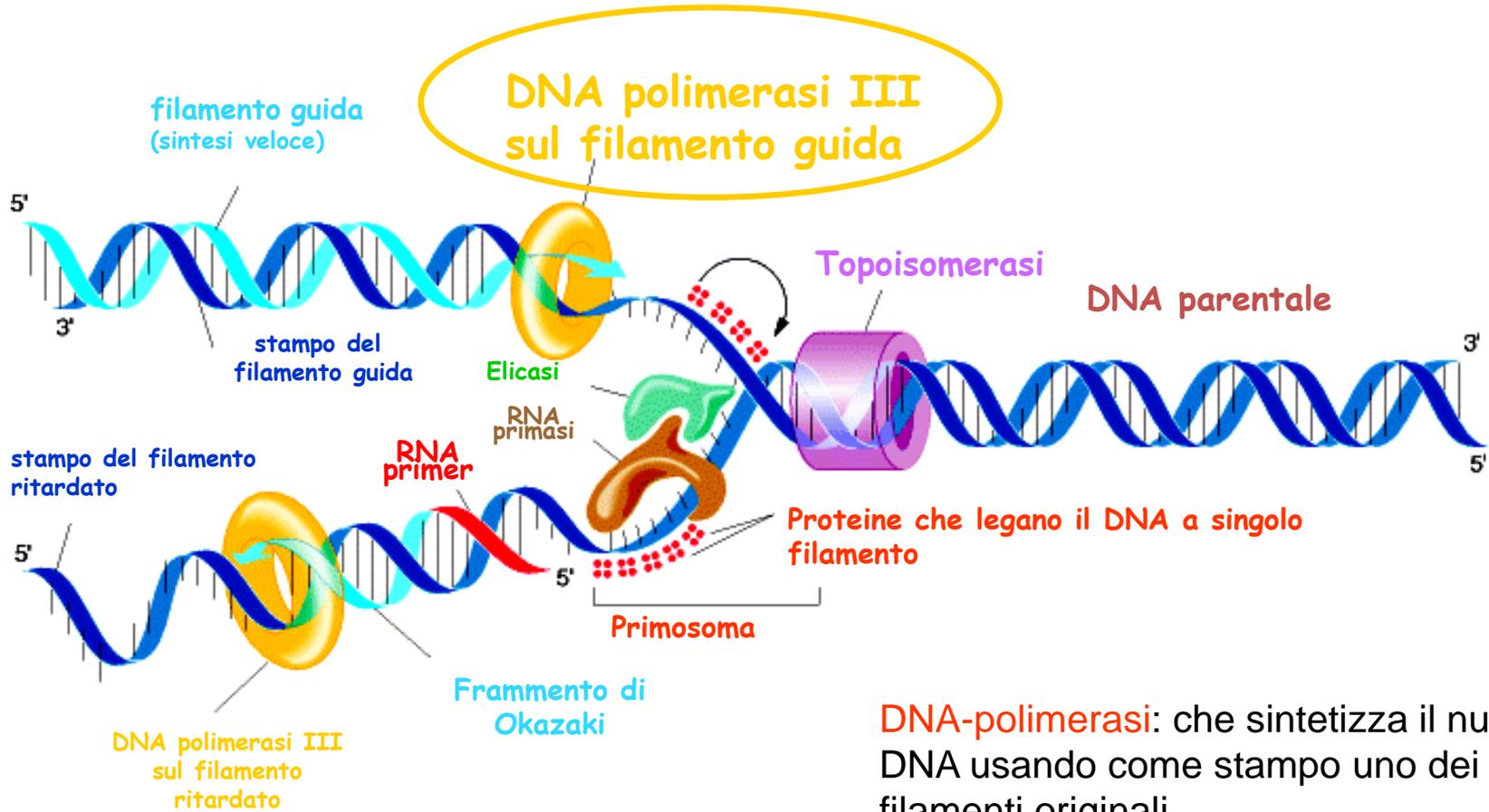
In questi punti la macchina replicatrice si sta muovendo lungo il DNA, aprendo i due filamenti della doppia elica e utilizzando ciascun filamento parentale come stampo per formare un nuovo filamento figlio

Replicazione bidirezionale:

ad ogni origine di replicazione si formano due forcelle replicative che scorrono in direzioni opposte rispetto all'origine aprendo man mano il DNA



Macchina Replicatrice



Una volta legata a una origine di replicazione la proteina iniziatrice comincia ad aprire la doppia elica, attirando un altro gruppo di proteine che costituiscono il **complesso enzimatico** deputato alla replicazione del DNA

POLIMERASI

I procarioti possiedono 5 tipi di DNA polimerasi:

DNA polimerasi I: implicata nella riparazione del DNA e nella rimozione degli inneschi dei frammenti di Okazaki.

DNA polimerasi II: indotta da danni al DNA per riparazione incline all'errore.

DNA polimerasi III: l'enzima principale per la replicazione, con attività polimerasica 5'→3' ed esonucleasica 3'→5' (proofreading). Attiva sia nella sintesi del filamento leading, sia in quella dei frammenti di Okazaki.

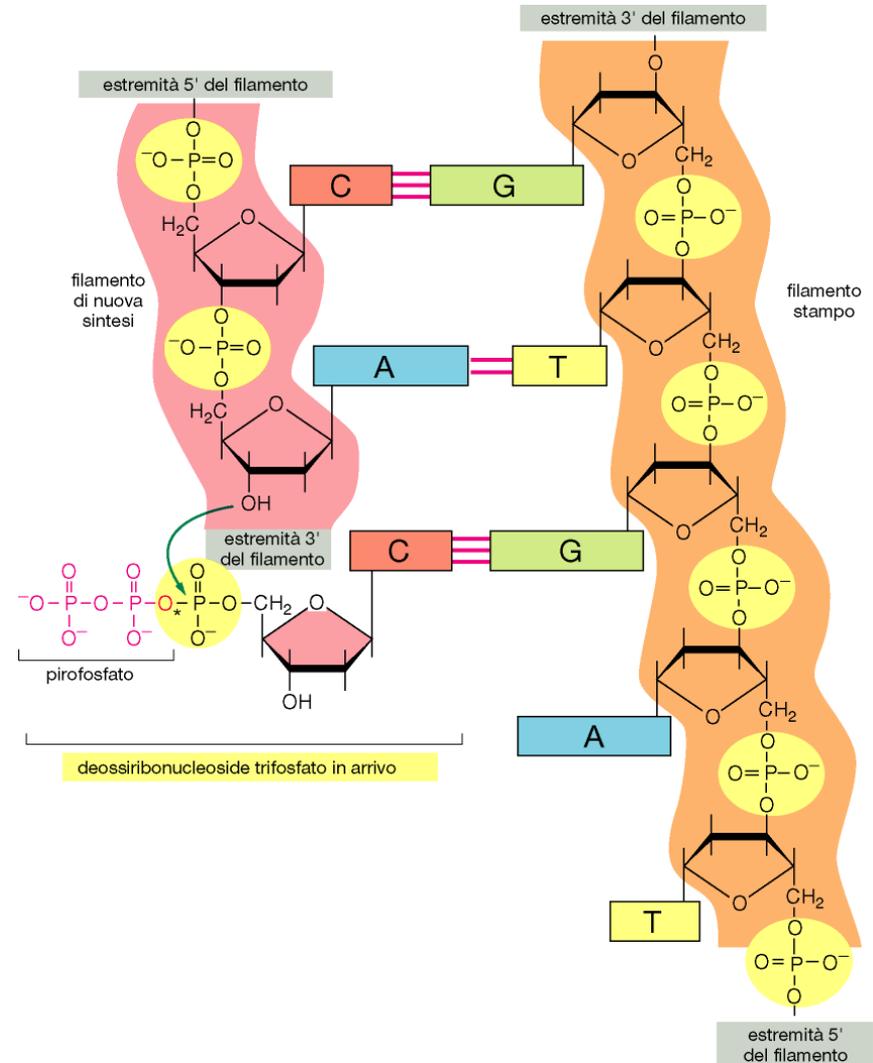
DNA polimerasi IV e DNA polimerasi V: coinvolte nella riparazione incline all'errore

Reazione di allungamento della catena di DNA catalizzata dalla polimerasi

I nucleotidi entrano inizialmente come **nucleotidi trifosfati ricchi di energia**, apportando in questo modo l'energia necessaria per la polimerizzazione.

Infatti l'**idrolisi** di un legame fosfoanidride nel *nucleoside trifosfato*, con liberazione del *pirofosfato P_{pi}*, rende disponibile l'energia e la DNA polimerasi vi accoppia la **condensazione**, legando il monomero nucleotidico alla catena in crescita.

Il pirofosfato viene idrolizzato ulteriormente a fosfato inorganico Pi, il che rende la reazione del tutto irreversibile



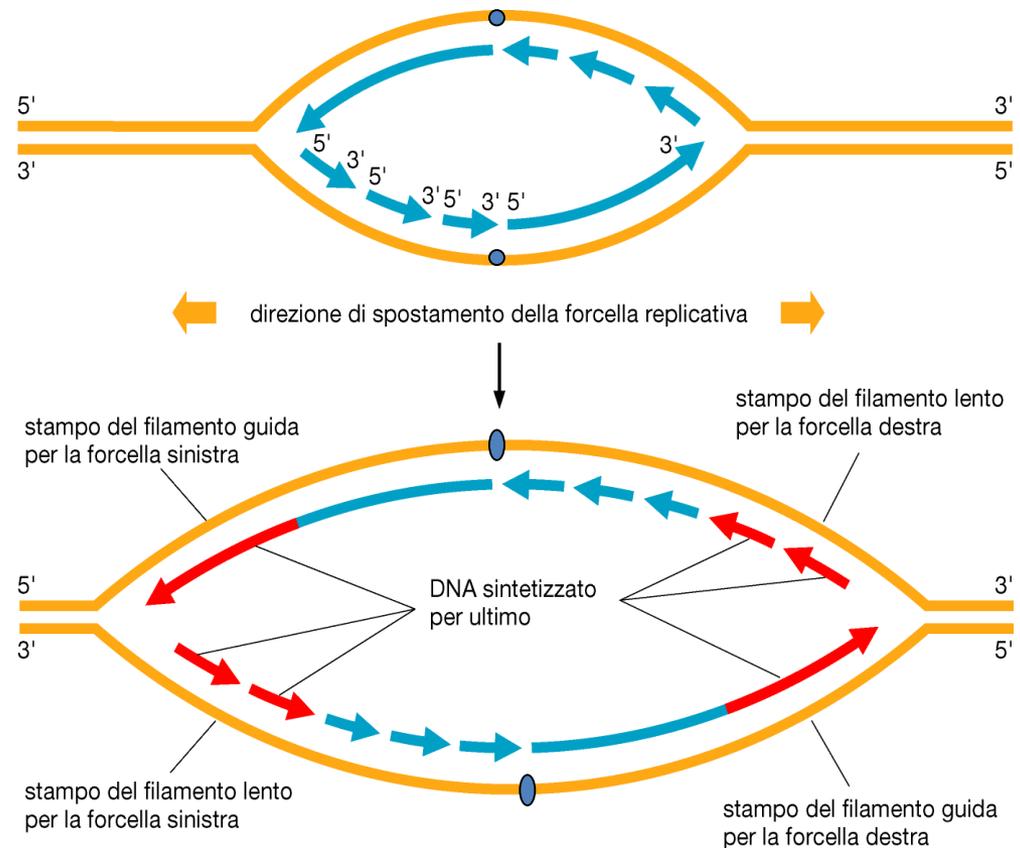
La forcella replicativa è asimmetrica

Il meccanismo di polimerizzazione $5' \rightarrow 3'$ pone un problema alla forcella replicativa.

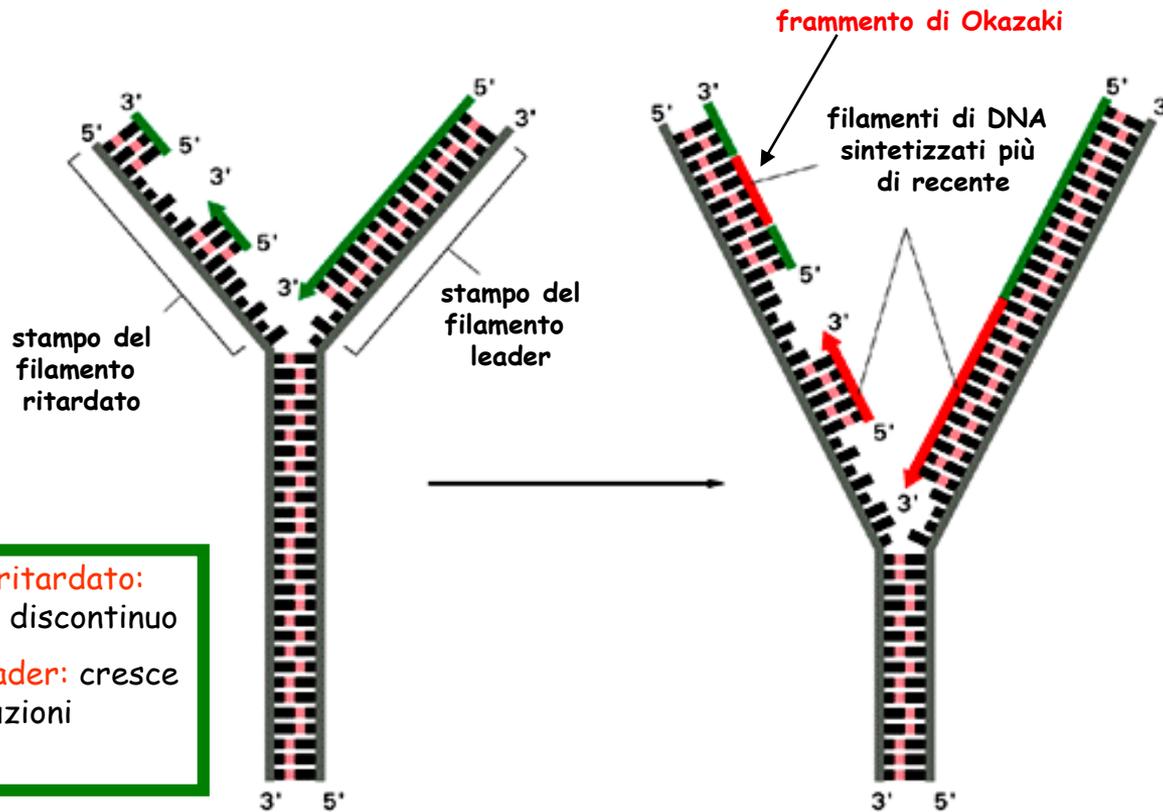
Lo scheletro Z-P di ogni filamento ha una sua **direzionalità**,

dovuta al modo in cui ogni residuo di zucchero si lega al successivo, e che nella doppia elica i due filamenti decorrono con **polarità opposte** con **polarità opposte**

un filamento viene sintetizzato su uno stampo che va **da 3' a 5'**
l'altro filamento si forma su uno stampo che va in verso opposto, **da 5' a 3'**.



Frammenti di Okazaki



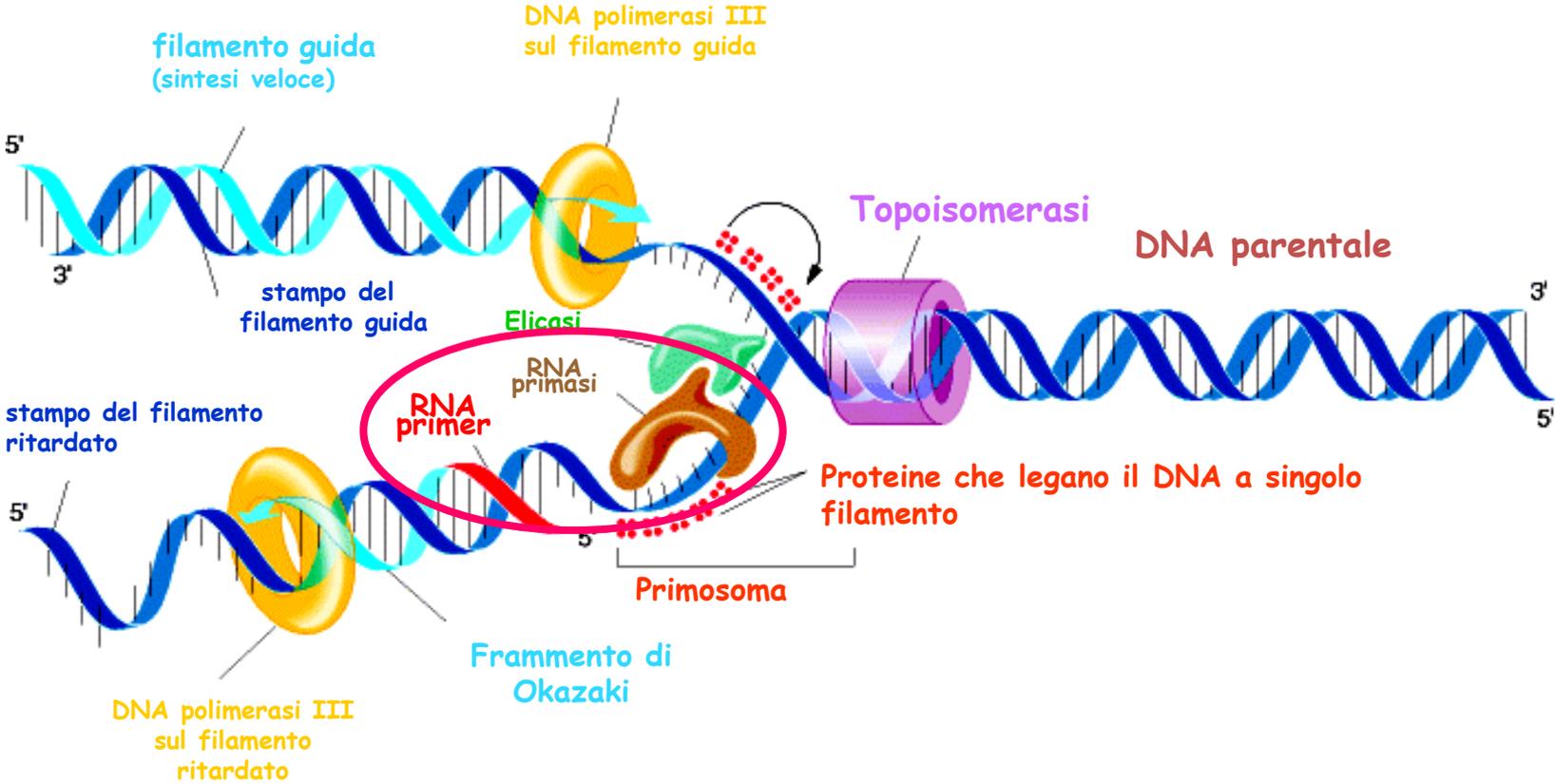
Filamento lento o ritardato:
sintetizzato in modo discontinuo
Filamento guida o leader: cresce
senza interruzioni

In realtà il filamento di DNA che deve allungarsi all'estremità 5' viene **sintetizzato in modo discontinuo**, in brevi tronconi successivi dalla DNA polimerasi che si muove all'indietro rispetto alla forcella, quindi **in direzione 5'-3'** per ogni troncone

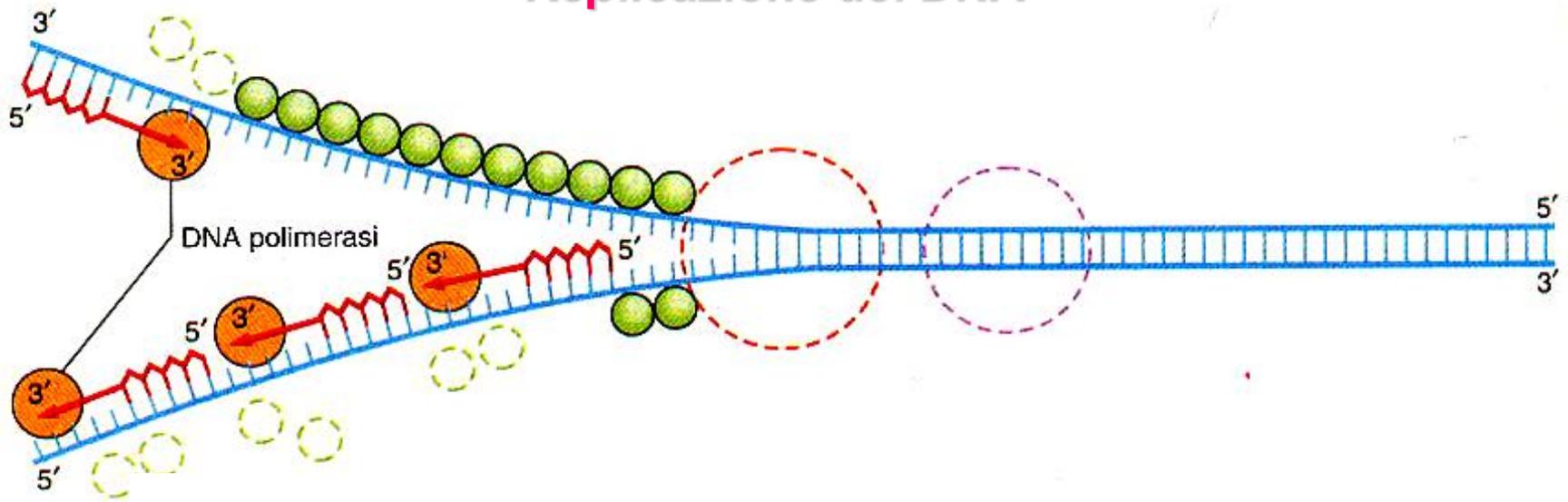
Questi pezzi detti **frammenti di Okazaki**, vengono **ricuciti** in seguito formando un filamento nuovo continuo

PRIMASI e PRIMER

Macchina Replicatrice



Replicazione del DNA



Filamento guida: l'innescio serve solo per cominciare la sintesi all'origine di replicazione

Filamento lento: la sintesi di DNA è discontinua perciò sono continuamente necessari nuovi inneschi

Quando alla forcella replicativa si espone un nuovo tratto di basi libere, vengono sintetizzati **nuovi inneschi** a RNA disseminati lungo il filamento lento; la **DNA polimerasi** aggiunge un deossiribonucleotide all'estremità 3' di questo innesco, dando inizio a un filamento di DNA e **allungandolo finchè non si imbatte nell'innescio a RNA successivo**

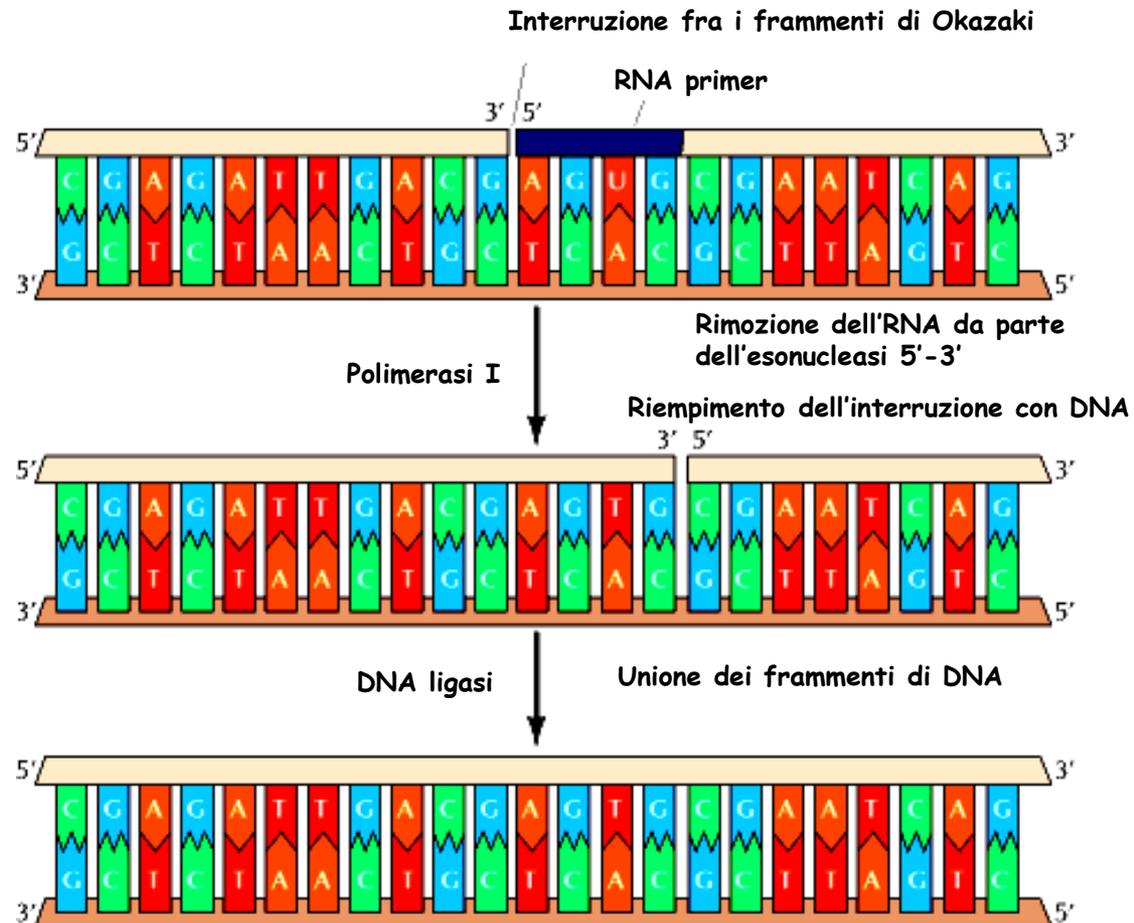
Rimozione del primer e unione dei frammenti di Okazaki

Per trasformare in un filamento continuo tutti i frammenti separati costruiti sul filamento lento, intervengono altri 3 enzimi:

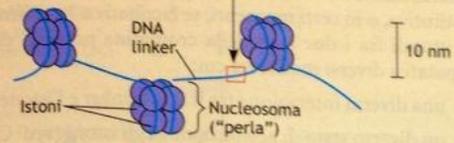
1. **Nucleasi**: degrada gli inneschi a RNA

1. **Polimerasi riparativa**:
sostituisce DNA all'RNA, usando come innesco il frammento di Okazaki adiacente

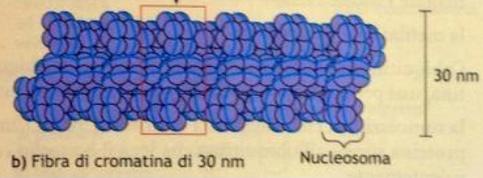
2. **DNA ligasi**: unisce il P in 5' di un frammento con l'OH in 3' del seguente. Richiede ATP o NADH



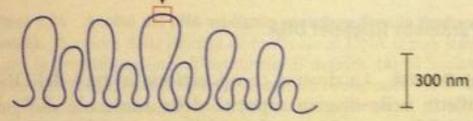
REPLICAZIONE NEGLI EUCARIOTI



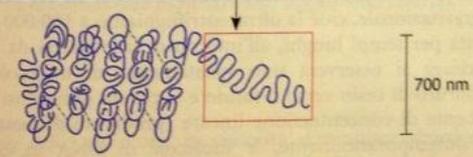
a) Nucleosomi ("collana di perle")



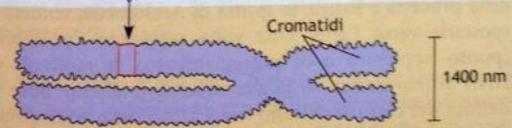
b) Fibra di cromatina di 30 nm



c) Domini ad ansa



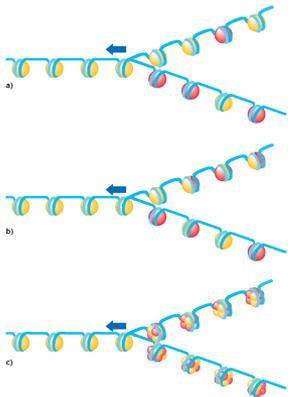
d) Eterocromatina



e) Cromosoma duplicato e altamente condensato delle cellule in divisione

Replicazione negli eucarioti

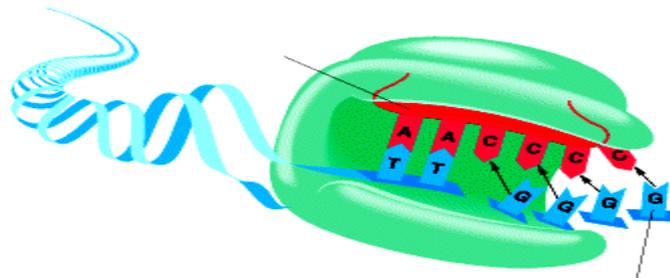
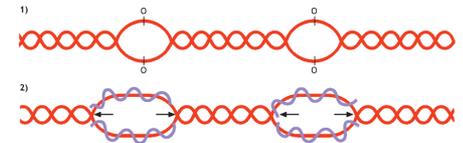
I principi generali che sono alla base del processo di duplicazione del DNA sono rispettati anche per la cellula eucariotica, ma nascono alcune problematiche da risolvere:



2. Presenza dei nucleosomi

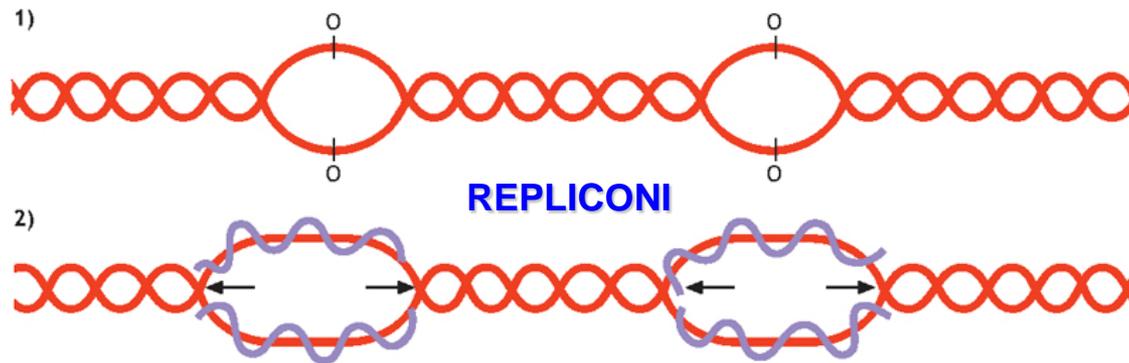
1. Dimensione dei cromosomi

3. Telomeri



1. Dimensione dei cromosomi

I cromosomi presentano una lunghezza ragguardevole:



Cromosoma di E.coli: 2×10^6 bp

Cromosoma 1 umano: $2,5 \times 10^9$ bp

Velocità di duplicazione negli eucarioti è 10 volte inferiore che nei procarioti

Stratagemma: l'apertura della doppia elica avviene in più punti detti **REPLICONI**, lungo il cromosoma

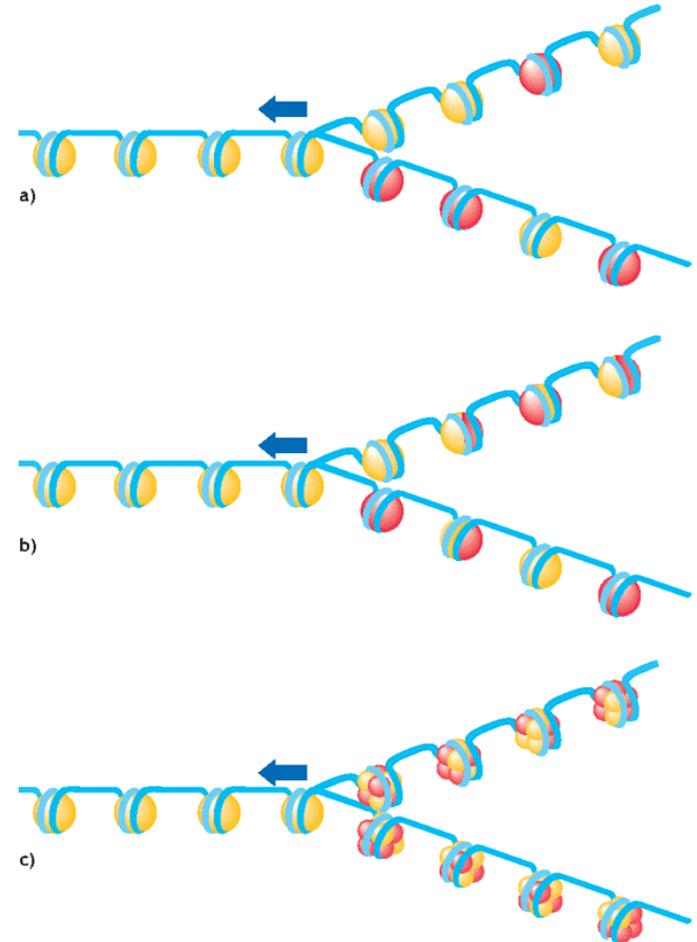
In ciascun replicone le forcelle di replicazione procedono allontanandosi in direzione opposta l'una dall'altra; in tal modo ogni forcella incontrerà le forcelle adiacenti

2. Presenza dei nucleosomi

Durante la replicazione possiamo considerare gli istoni come divisi in 2 categorie: quelli che costituiscono i vecchi ottameri ed istoni di nuova sintesi.

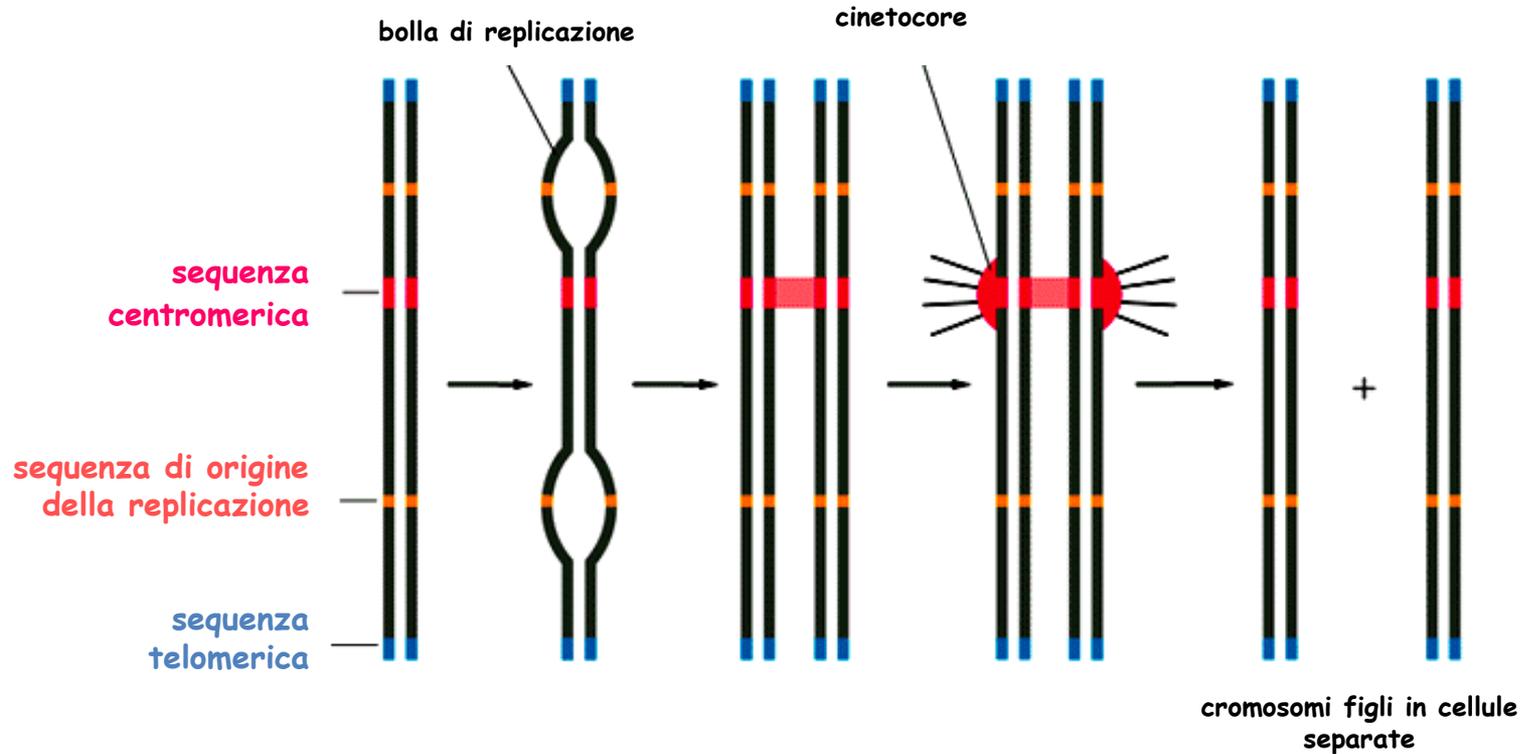
3 ipotesi:

1. **conservativo**: gli ottameri vecchi conservano la loro identità, così ottameri nuovi e vecchi si distribuiscono in modo casuale fra i due doppi filamenti (più accreditata)
2. **semiconservativo**: ogni ottamero è costituito da un tetramero vecchio e da uno nuovo
3. **dispersivo**: gli ottameri sono costituiti da istoni vecchi e nuovi a caso

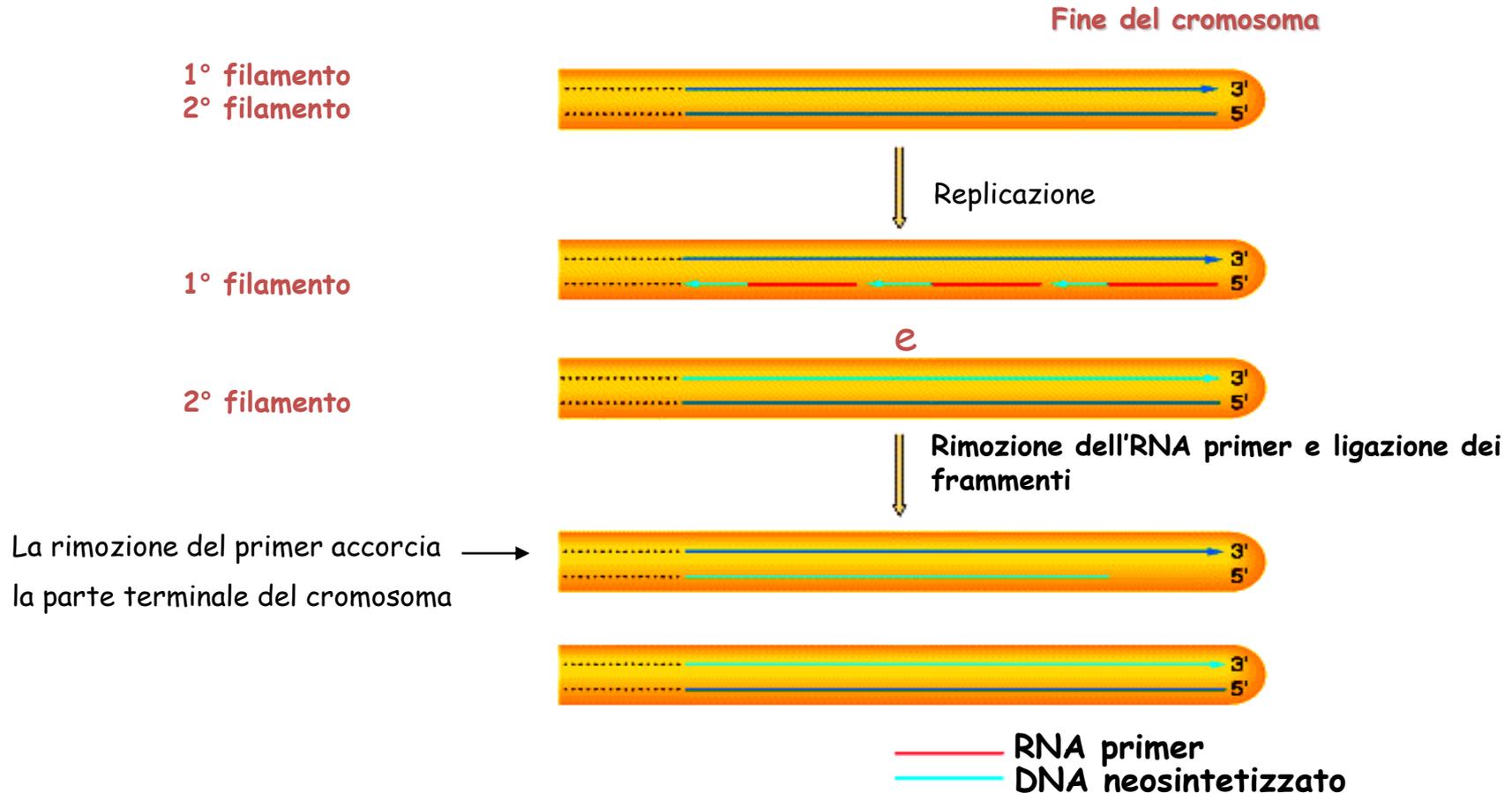


3. Presenza dei Telomeri

Sono sequenze di DNA alle estremità dei cromosomi e consistono in sequenze ripetute di DNA a semplice sequenza.
Nell'uomo la sequenza ripetuta è **AGGGTT**.



Il problema della replicazione alla fine dei cromosomi

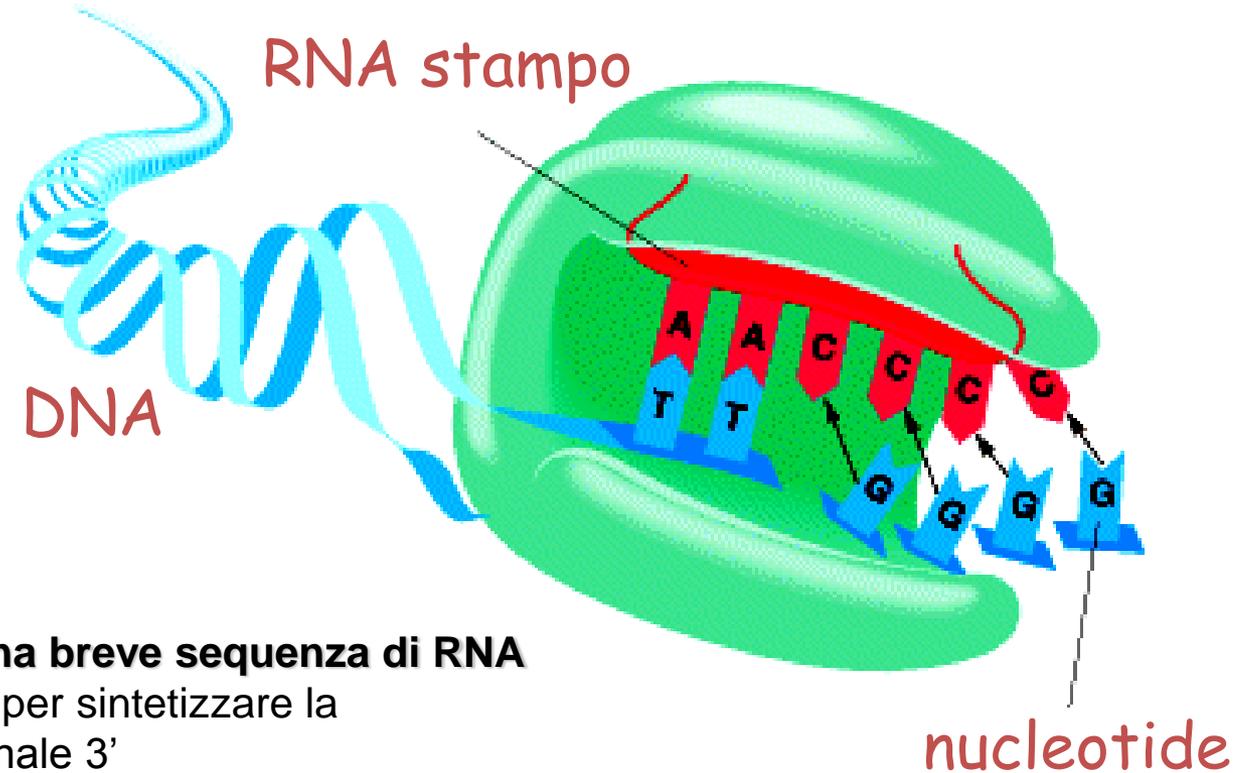


Quando la forcella replicativa raggiunge l'estremità del cromosoma la macchina replicatrice incontra una difficoltà nella sintesi del filamento lento: **non c'è posto per collocare l'innescò** a RNA necessario x iniziare l'ultimo frammento di Okazaki, proprio in cima alla molecola lineare di DNA. Ogni volta che una molecola di DNA si replica potrebbe andarne perduto un pezzetto dall'estremità.

La telomerasi

Nei procarioti il problema non esiste perchè la molecola di DNA è circolare.

Negli eucarioti il problema si risolve grazie a speciali **sequenze terminali**, incorporate nei telomeri. Queste sequenze ripetitive telomeriche richiamano al cromosoma un enzima chiamato **telomerasi**, che aggiunge copie multiple della stessa sequenza di DNA in fondo al cromosoma, producendo un tratto di DNA supplementare e consentendo di completare il filamento lento



La **Telomerasi** contiene **una breve sequenza di RNA** che utilizza come stampo per sintetizzare la sequenza di DNA al terminale 3'

Flusso dell'Informazione Genica

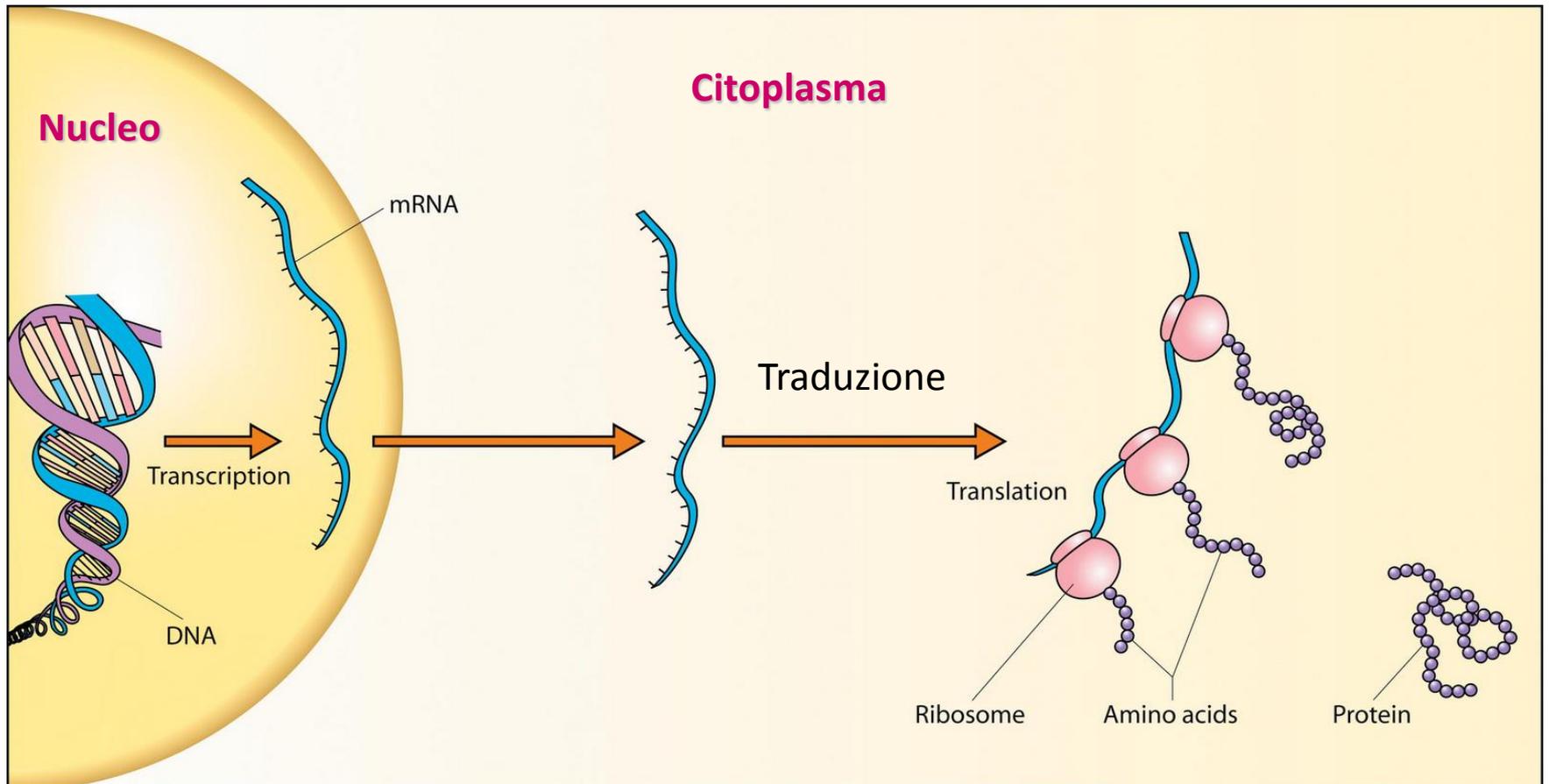
DNA



RNA



PROTEINE



GENOTIPO

(informazione ereditaria
contenuta nel DNA)

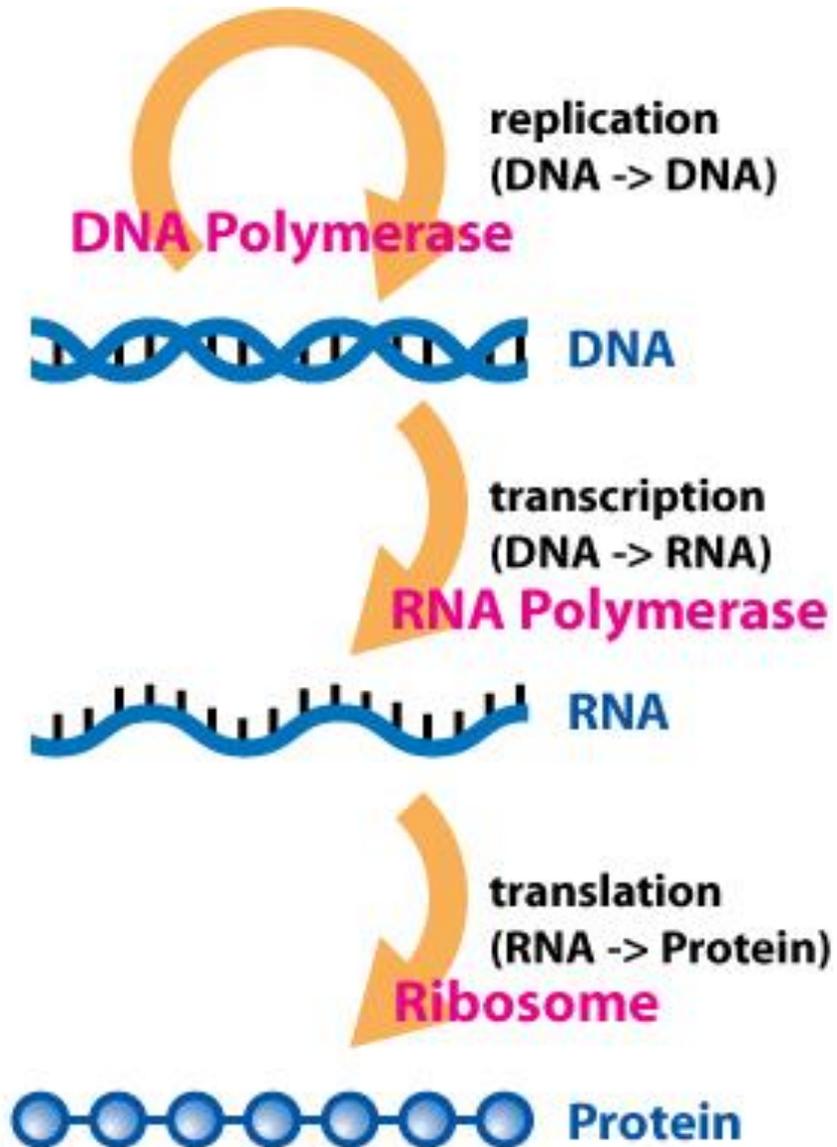


SINTESI PROTEICA

FENOTIPO

(caratteristiche specifiche
dell'organismo)

DOGMA CENTRALE della BIOLOGIA



Le informazioni genetiche sono prima trasferite dal DNA a una molecola di RNA (**trascrizione**) e poi dall'RNA a una proteina (**traduzione**).

*Il genotipo presente a livello di DNA si esprime nella **proteine**, che determinano il fenotipo.*

Quale dei 2 filamenti viene trascritto?

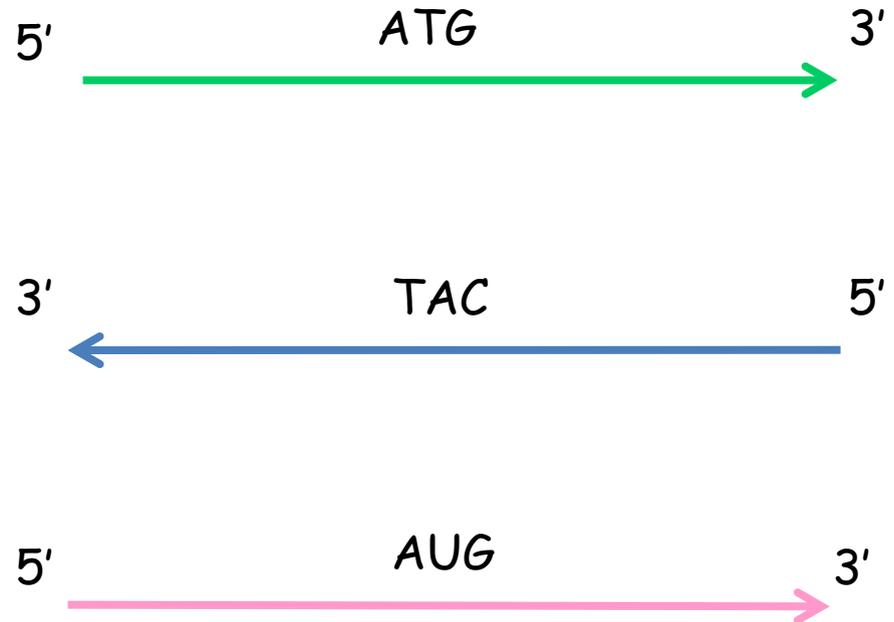
ELICA SENSO

Filamento uguale all'mRNA ma non partecipa alla trascrizione

ELICA ANTISENTO

Filamento stampo: complementare all'mRNA
è quello su cui lavora l'RNA pol

mRNA



Le “parole” più brevi dell’ RNA che rappresentano gli aminoacidi sono le *triplette di basi*: **CODONI**.

Il passaggio di informazioni dal gene alla proteina si basa su un codice di triplette: **CODICE GENETICO**.

Il ***primo codone*** venne decifrato nel 1961 dal biologo americano *Marshall Nirenberg*:



Sintetizzò una molecola di RNA artificiale unendo in sequenza nucleotidi identici (contenenti tutti U); mise poi il *poli-U* in una provetta contenente ribosomi e altre sostanze necessarie alla sintesi proteica. Il *poli-U* venne così tradotto in un polipeptide contenente un unico tipo di aminoacido: la *fenilalanina* (**Phe**).

IL CODICE GENETICO

		Second Letter					
		U	C	A	G		
1st letter	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 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	
						3rd letter	

TRASCRIZIONE

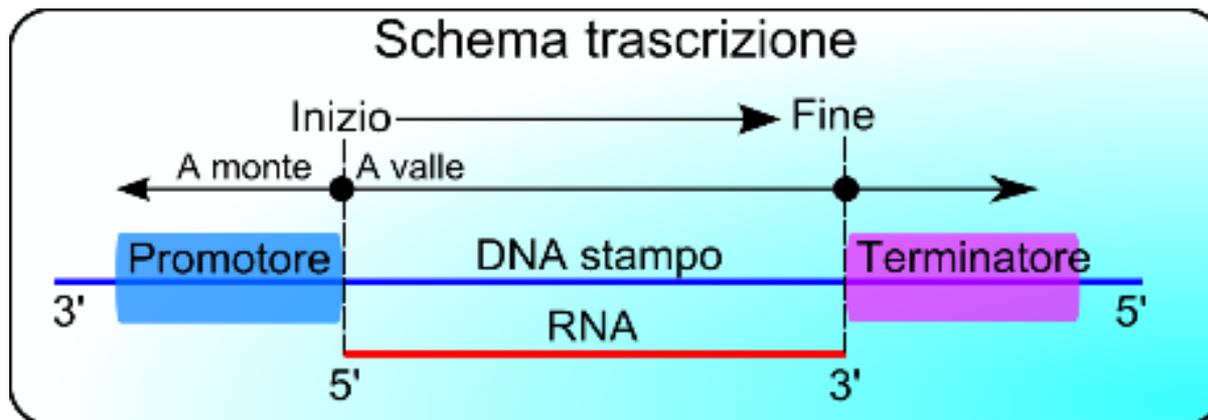
DNA → *mRNA*

La **trascrizione del DNA** avviene nel **nucleo** delle cellule.

Come nella duplicazione i due filamenti di DNA devono essere prima separati in corrispondenza della sequenza da trascrivere.

I nucleotidi della nuova molecola di RNA si appaiono per omologia al filamento stampo di DNA formando *legami idrogeno*; nell'RNA abbiamo però al posto della T la U che si appaia con la A.

I singoli nucleotidi verranno poi uniti dall'enzima **RNA-polimerasi**.



RNA polimerasi

Enzima responsabile della sintesi di RNA.

Catalizza la polimerizzazione di ribonucleotidi-5'-trifosfato diretta da uno stampo di DNA.

La *RNApol* di *E. coli* è un enzima complesso composto da catene polipeptidiche multiple.

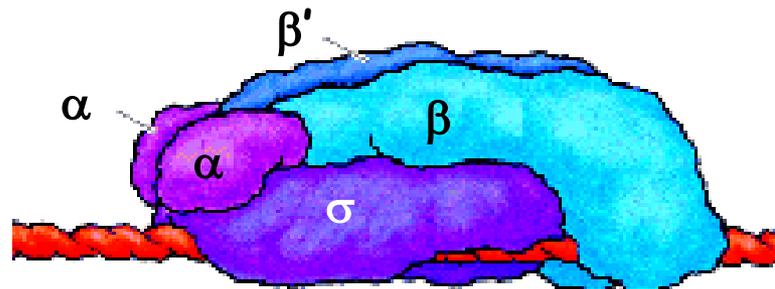
L'enzima intatto consiste di 5 subunità:

2 subunità α

1 subunità β

1 subunità β'

1 subunità σ



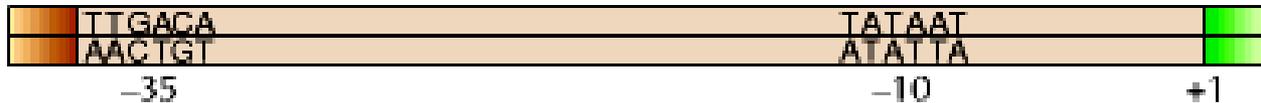
La **subunità σ** è attaccata in modo debole e può essere dissociata dalle altre subunità che costituiscono il nucleo della polimerasi

PROMOTORE e TERMINATORE

Nei procarioti

Esistono siti di inizio e di fine trascrizione

La sequenza di DNA cui si lega la RNA polimerasi per iniziare la trascrizione di un gene si chiama **PROMOTORE**.



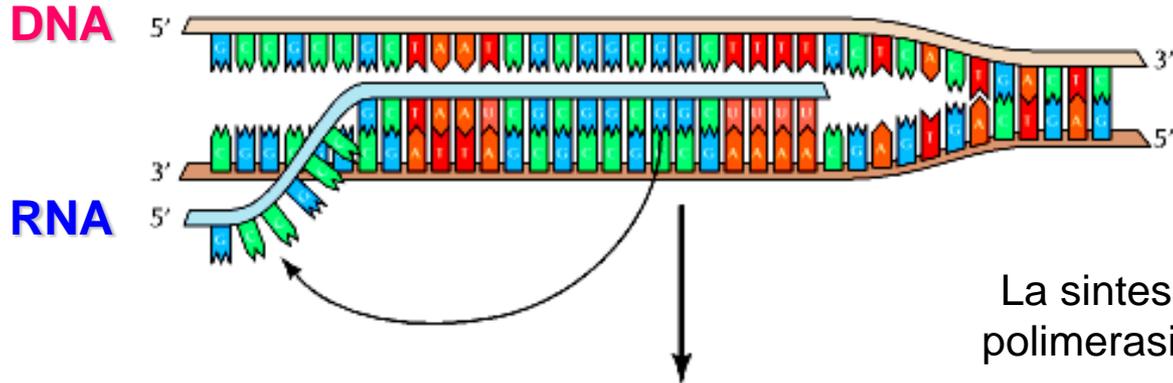
Promotore procariotico

Contiene due serie di sequenze che sono simili in una varietà di geni.

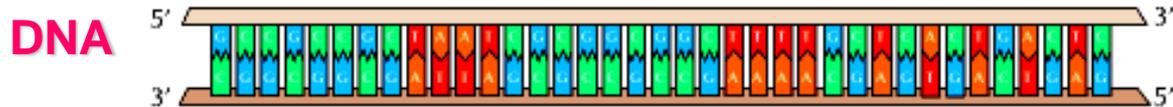
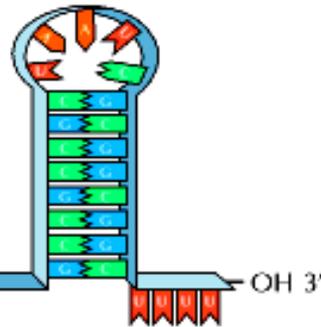
Queste sequenze comuni contengono 6 nt ciascuna e si trovano approssimativamente 10 e 35 basi a monte del sito di inizio della trascrizione e sono chiamate **elementi -10** e **-35**, dalla loro posizione relativa al sito di inizio della trascrizione, che è definito come la posizione +1.

PROMOTORE e TERMINATORE

Nei procarioti



Formazione della struttura a *stelo ed ansa*
Dissociazione dell'RNA dallo stampo di DNA



La sintesi di RNA continua fino a che la polimerasi incontra un **segnale di termine**

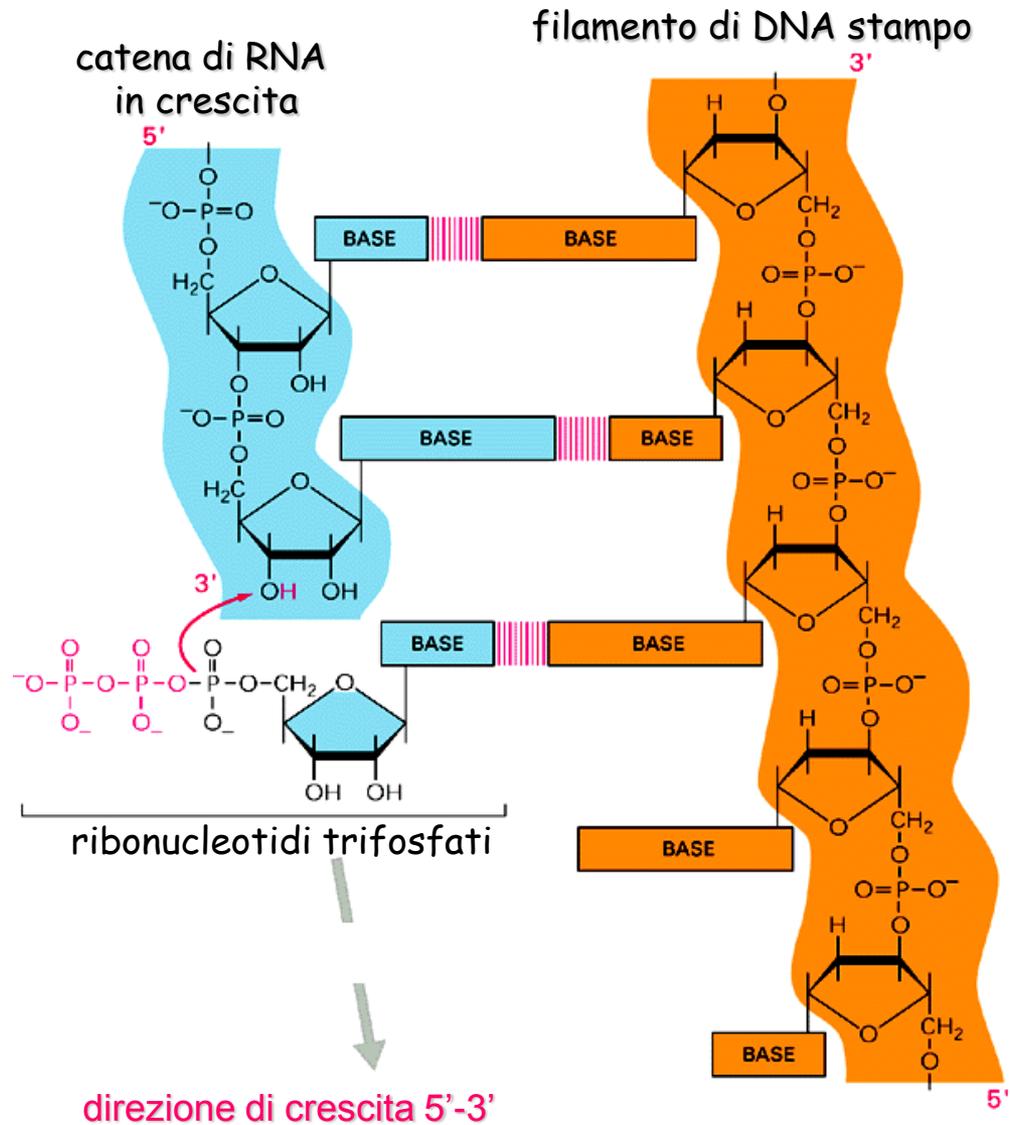
→ l'RNA è rilasciato dalla polimerasi e l'enzima si dissocia dal suo stampo di DNA.

→ Il tipo più semplice e comune di segnale di termine in *E.coli* è una serie di **CG ripetute** seguite da una sequenza di **AAAAA**

STEP della TRASCRIZIONE GENICA:

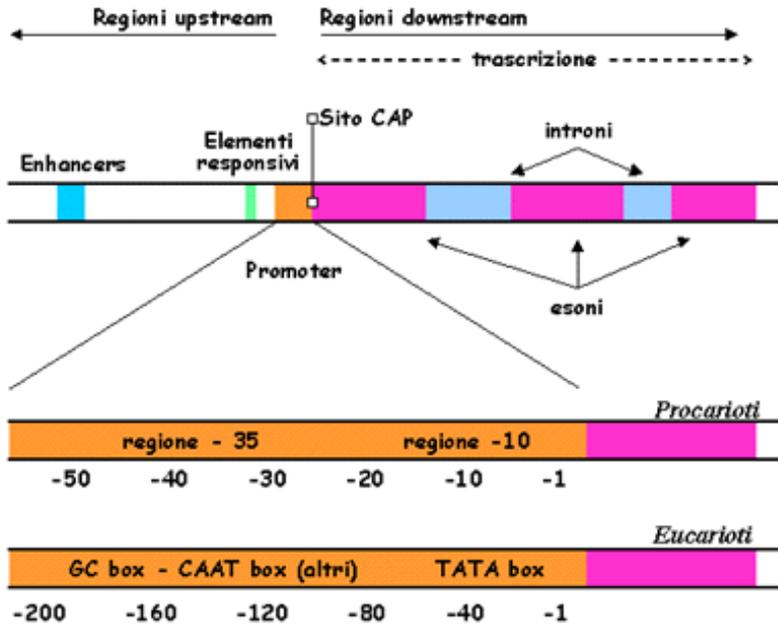
- L'**RNA-polimerasi** riconosce il segnale di inizio della trascrizione: **PROMOTORE** posta all'inizio del gene.
- L'*RNA-pol* si lega al promotore e le due eliche di DNA si separano nel punto in cui si è legato l'enzima; l'*RNA-pol* lega i nucleotidi complementari al DNA stampo producendo il filamento di RNA.
- Man mano che la polimerasi avanza e l'elica di *RNA si allunga*, l'*RNA si stacca* dal suo stampo e la parte di doppia elica di DNA che è già stata trascritta si richiude.
- La trascrizione prosegue finché l'enzima non incontra una particolare sequenza di basi azotate chiamata **TERMINATORE**; questa sequenza segnala la fine del gene, quindi la polimerasi si stacca dal DNA e libera la molecola di DNA.

La reazione di allungamento



Differenze tra procarioti ed eucarioti: Promotore eucariotico

Le sequenze più comuni nei promotori eucariotici sono le seguenti:



TATA box

si trova a $-25-30$ e assomiglia all'elemento -10 dei procarioti

CAAT box

si trova a -80

GC box

(sequenze consenso GGGCGG)

L'espressione dei geni eucariotici è **controllata** soprattutto a livello **dell'inizio della trascrizione** da **proteine che si legano a sequenze regolatrici specifiche** e che modulano l'attività della RNA pol

Esistono specifici **fattori di trascrizione** che riconoscono specificamente queste sequenze e le legano stimolando la trascrizione

Differenze tra procarioti ed eucarioti

Negli eucarioti il meccanismo della trascrizione è simile ai procarioti ma il macchinario è **più complesso**.

- Negli eucarioti ci sono 3 tipi di RNA polimerasi (enzimi complessi costituiti da 8-14 subunità):

RNA polimerasi I: sintetizza rRNA

RNA polimerasi II: sintetizza mRNA (proteine)

RNA polimerasi III: sintetizza rRNA e tRNA

Funzioni diverse → Riconoscono promotori diversi

- L' **RNA polimerasi II** degli eucarioti per iniziare la trascrizione necessita di **proteine di inizio** che devono legarsi al promotore prima che si possa legare l'enzima
- La RNA pol II è coadiuvata da una serie di proteine denominate **Fattori di Trascrizione** per l' **RNA pol II**: **TFIIA – TFIIB – TFIID – TFIIIE – TFIIF – TFIIH**

Controllo della trascrizione

Interazione di proteine regolatrici con sequenze specifiche di DNA

Le sequenze regolatrici sono chiamate **elementi di controllo** che possono agire da **attivatori** o da **inibitori** della trascrizione

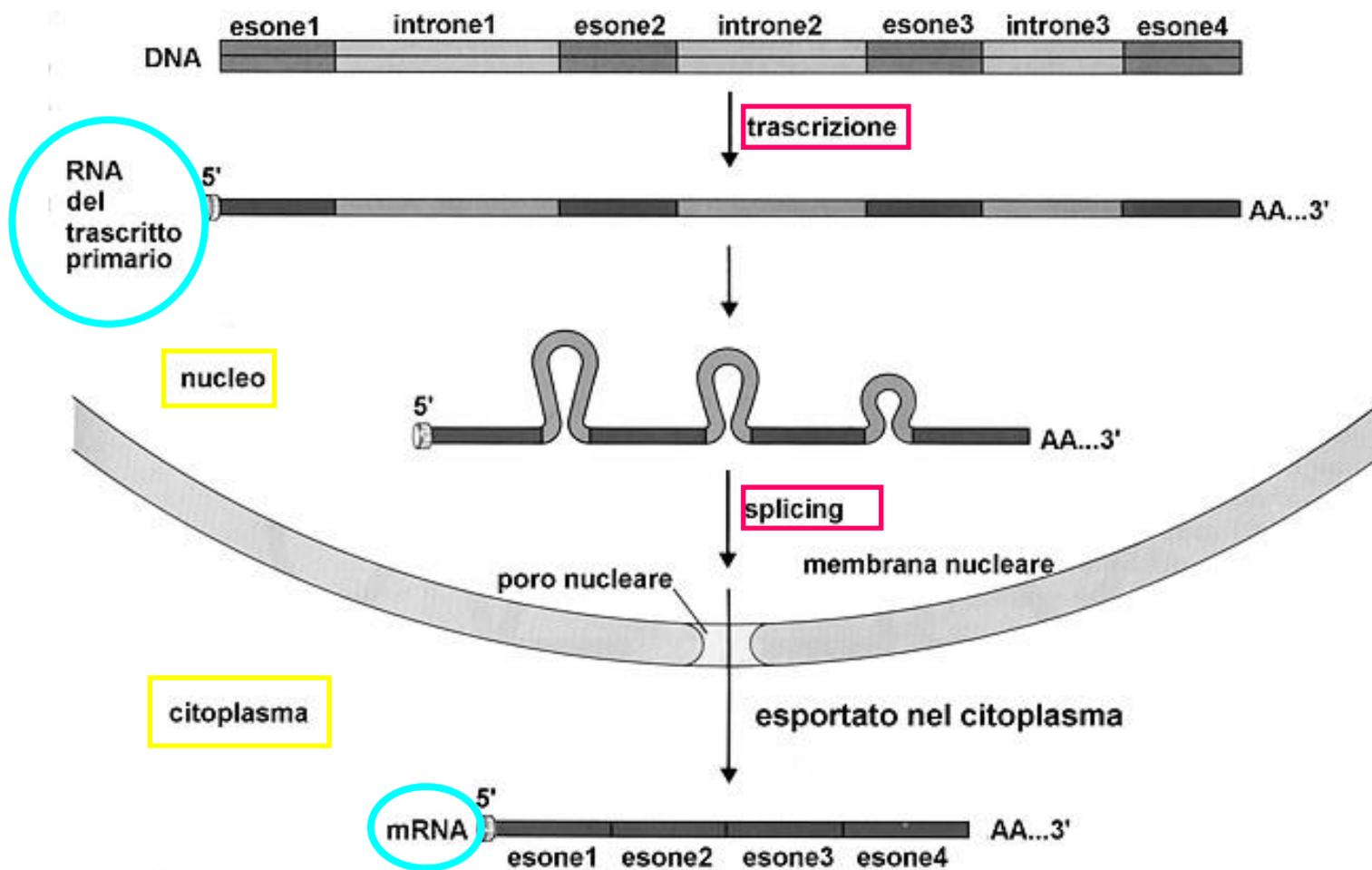
Enhancer:

sequenze regolatrici poste molto più lontano dal sito di inizio della trascrizione.

Come i promotori, gli enhancer *funzionano legando fattori di trascrizione* che regolano poi la RNA pol.

Una funzione degli enhancer è quella di *regolare l'espressione tessuto-specifica* di alcuni particolari geni nei tipi cellulari appropriati:
l'enhancer può essere attivo in alcuni tipi di cellule ed in altri no.

Maturazione dell'RNA



La **maturazione dell'mRNA** è una serie di processi chimici che trasformano una molecola di pre-mRNA (trascritto primario) in mRNA .

La maturazione dell'mRNA differisce molto tra gli eucarioti ed i procarioti.

- L'mRNA procariotico è già maturo dopo la trascrizione e non richiede di essere controllato, tranne che in alcuni casi.
- Il pre-mRNA eucariotico invece richiede diversi passaggi.

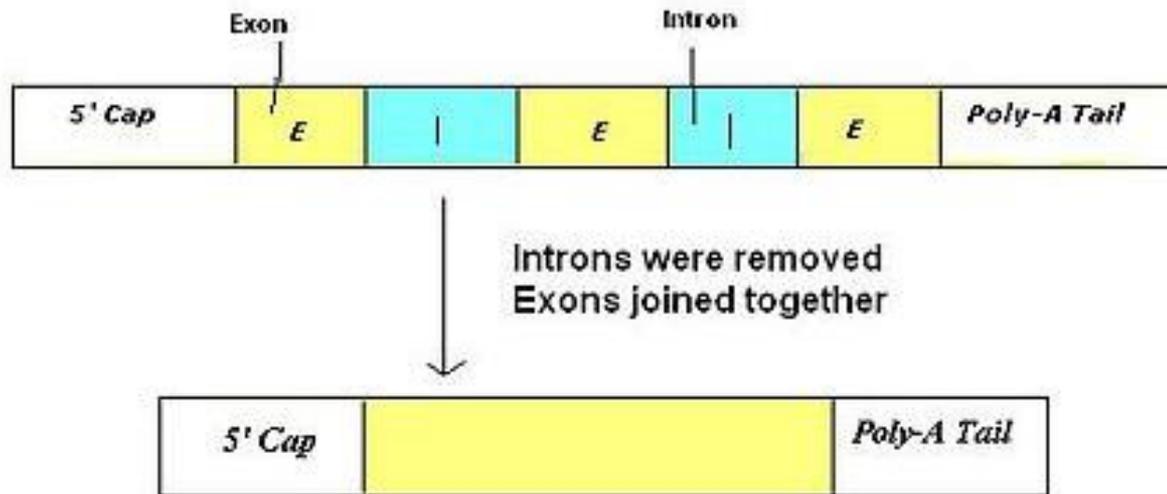
Le tappe della maturazione sono:

- 1. Splicing;**
 - 2. Metilazione;**
 - 3. Capping;**
 - 4. Poli-A.**
-

Splicing

E' il processo mediante il quale il pre-mRNA viene modificato per la rimozione di alcuni tratti di sequenze non codificanti chiamate **introni**; i tratti restanti che includono le sequenze per la codifica delle proteine sono chiamati **esoni**.

Lo splicing è praticato di solito da complessi RNA-proteina chiamati **spliceosomi**.



Capping

Aggiunta di un "cappuccio" di **7-metil guanosina** al residuo **5'-terminale** della catena.

Questa modificazione è importante per:

- riconoscimento e l'aggancio appropriato dell'mRNA al ribosoma
- altri processi essenziali, come lo splicing ed il trasporto
- rende più stabile l'mRNA

Poliadenilazione

È il *legame covalente* di un **filamento di adenina** ad una molecola di mRNA.

La **coda di poli-A all'estremità 3'** terminale aiuta la stabilità dell'mRNA, proteggendolo dalle esonucleasi.

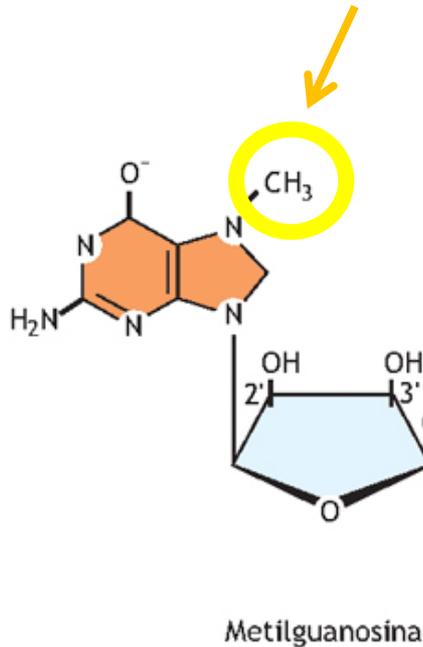
È importante per:

- la terminazione della trascrizione
- il trasporto dell'mRNA fuori dal nucleo cellulare e la traduzione

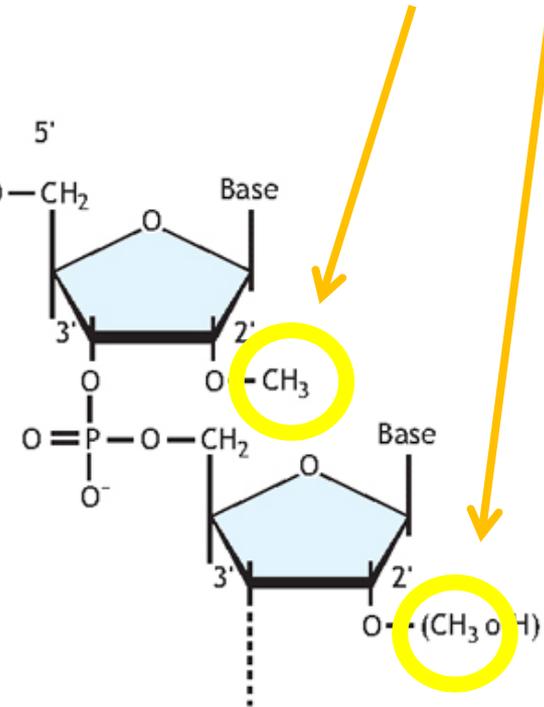
Questa reazione è catalizzata dalla **poli-A polimerasi**.

Metilazione

1. Il cap 5' viene **metilato sull'azoto** in posizione **7**

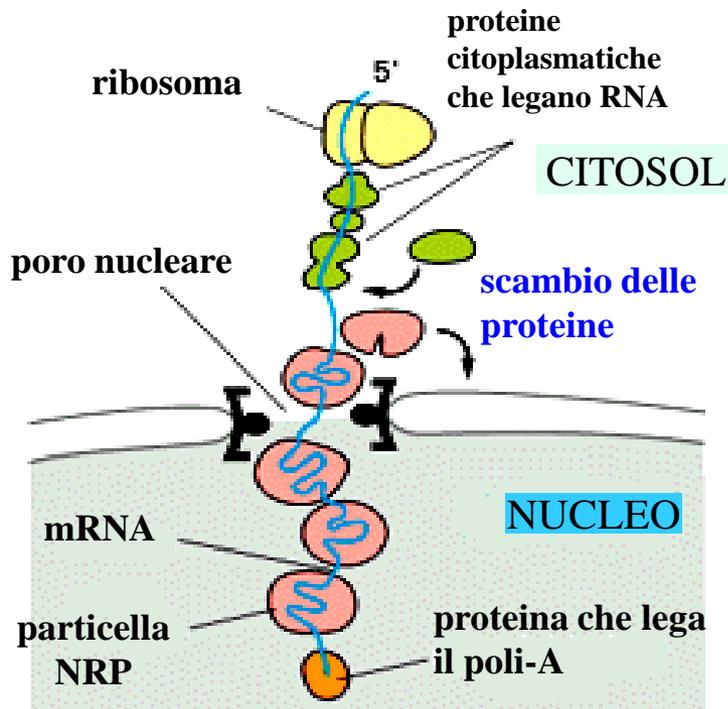


2. I **primi 2 nucleotidi** dell'mRNA vengono metilati sul **carbonio** del ribosio in posizione **2'**

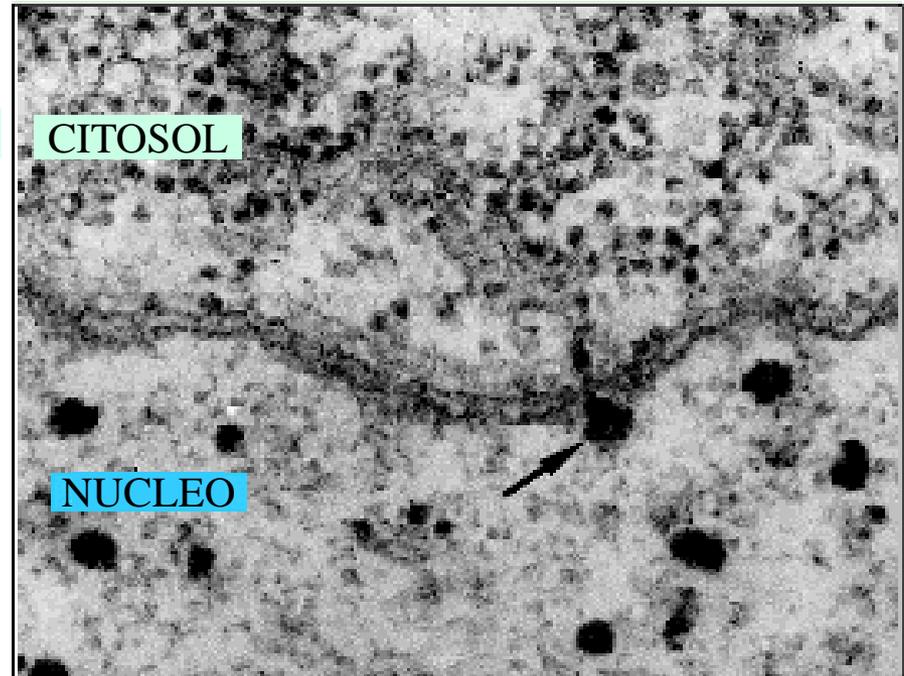


Funzione: conferisce al messaggero ulteriore stabilità

Trasporto dell'mRNA al citoplasma



(A)



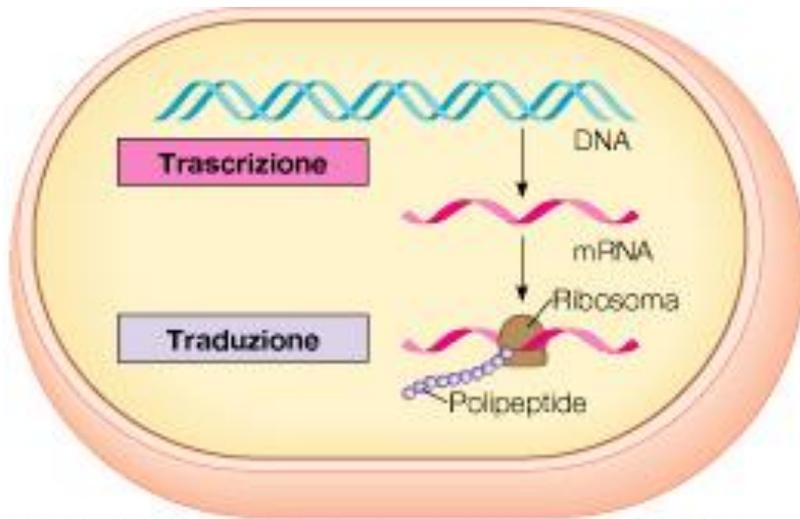
(B)

La sintesi e la maturazione dell'mRNA eucariotico avvengono all'interno del **nucleo**.

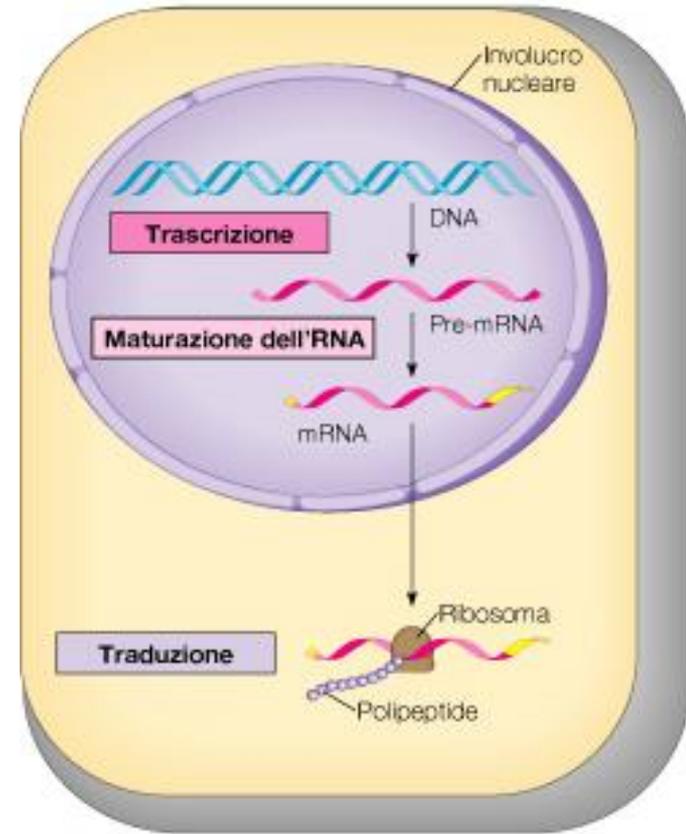
L'**mRNA** maturo viene *ricosciuto da determinate proteine di trasporto*, che lo discriminano da RNA non maturi o danneggiati o frammenti di RNA o introni excisi e lo **traghettano selettivamente** verso il **citosol** attraverso i pori nucleari

TRADUZIONE

Il trasferimento dell'informazione dal DNA alle proteine



CELLULA PROCARIOTICA



CELLULA EUCARIOTICA

La traduzione

Avviene nel citoplasma delle cellule.

È la **conversione dal linguaggio degli acidi nucleici a quello delle proteine** e richiede l'intervento di diverse molecole:

- **mRNA** che porta le istruzioni per la proteina
- RNA di trasporto (**tRNA**) che agisce da “interprete”
- **Ribosomi**: organuli in cui avviene la sintesi proteica
 - **Enzimi** e **fattori proteici**
 - **ATP** e **amminoacidi**

IL CODICE GENETICO

mRNA: 4 tipi di *nucleotidi*

proteine: 20 tipi di *aminoacidi*

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

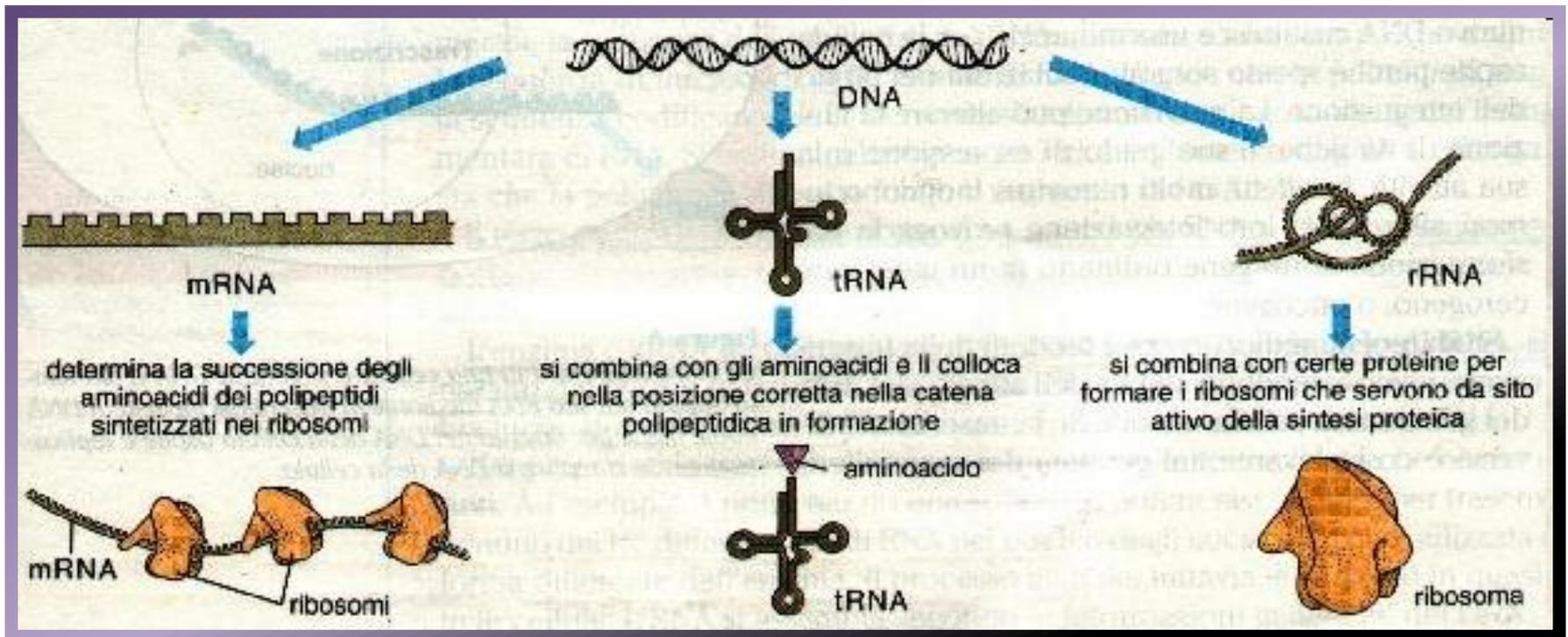
Almeno 3 nt devono essere usati per codificare ciascun aa

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

		Second Letter					
		U	C	A	G		
1st letter	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	3rd letter	U C A G
	C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Pro CCC CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln 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	AGU Ser AGC AGA Arg AGG		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

Diversi tipi di RNA

- RNA informativi che vengono trascritti a partire dai geni e quindi codificano per le sequenze amminoacidiche delle proteine: **mRNA**
- RNA funzionali che non vengono tradotti in polipeptidi ma svolgono la loro funzione come RNA: **tRNA** e **rRNA**

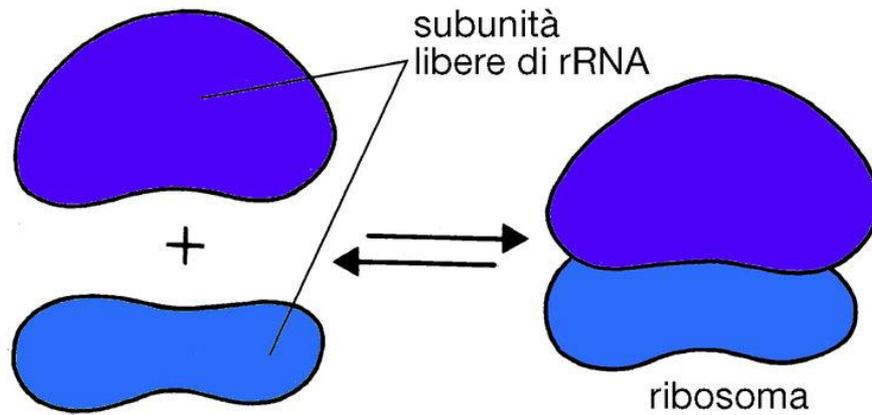


Ribosomi

La traduzione avviene *nei ribosomi*.

I ribosomi sono costituiti da **due subunità** (una grande ed una piccola), ciascuna formata da **proteine e rRNA** (RNA ribosomiale).

Nella subunità minore è presente il sito di legame per l'mRNA;
In quella maggiore i siti di legame per i tRNA.

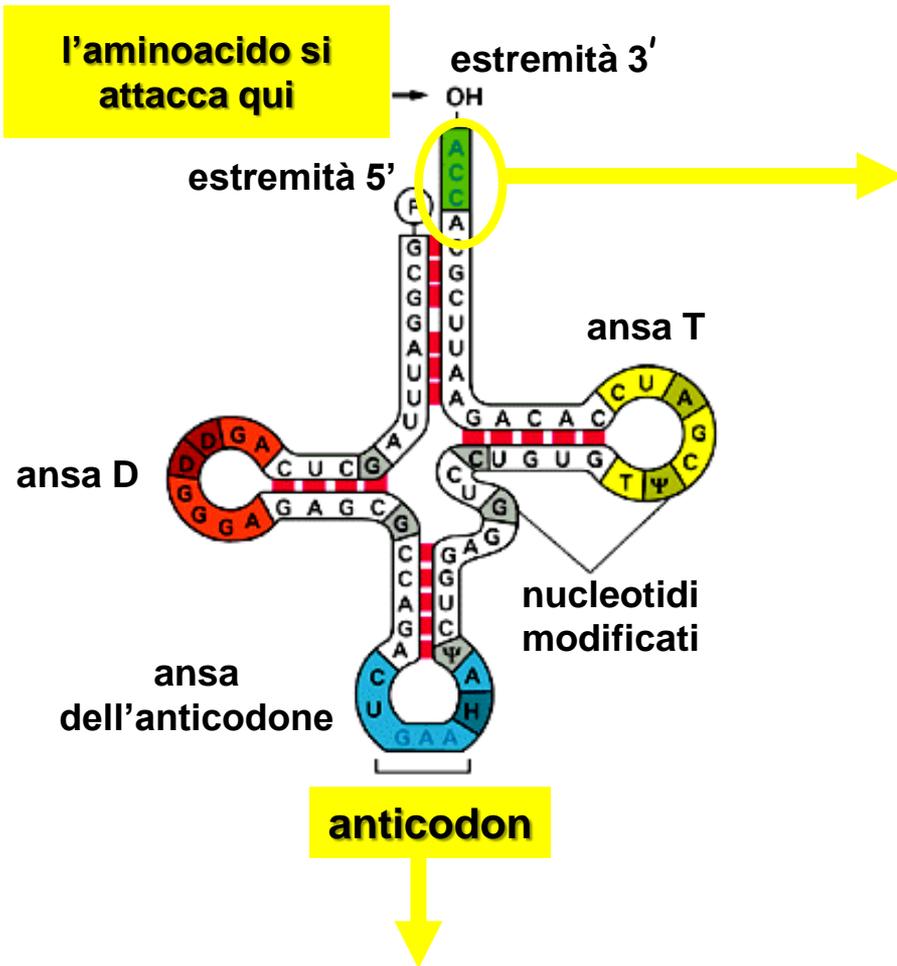


Sito **A**: ospita il tRNA che porta con sé l'aa da aggiungere alla catena.

Sito **P**: ospita il tRNA a cui è legata la catena polipeptidica in crescita.

Sito **E**: ospita il tRNA in uscita.

RNA transfer (tRNA)



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

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

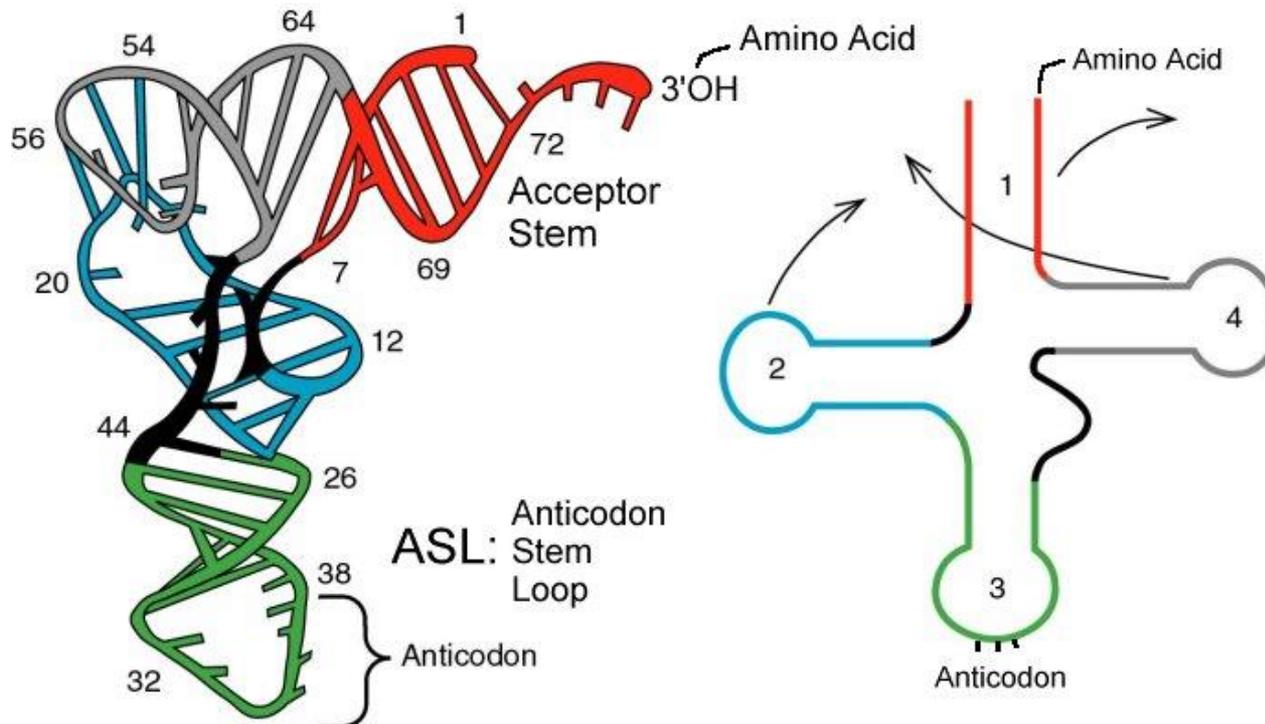
Lo stampo di *mRNA* viene riconosciuto dall'ansa dell'anticodone, posta all'altra estremità del *tRNA* ripiegato, che si lega al codon appropriato per appaiamento complementare delle basi

RNA transfert (tRNA)

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

Durante la traduzione...

L'anticodone del tRNA riconosce il codone dell'mRNA per omologia tra le basi.



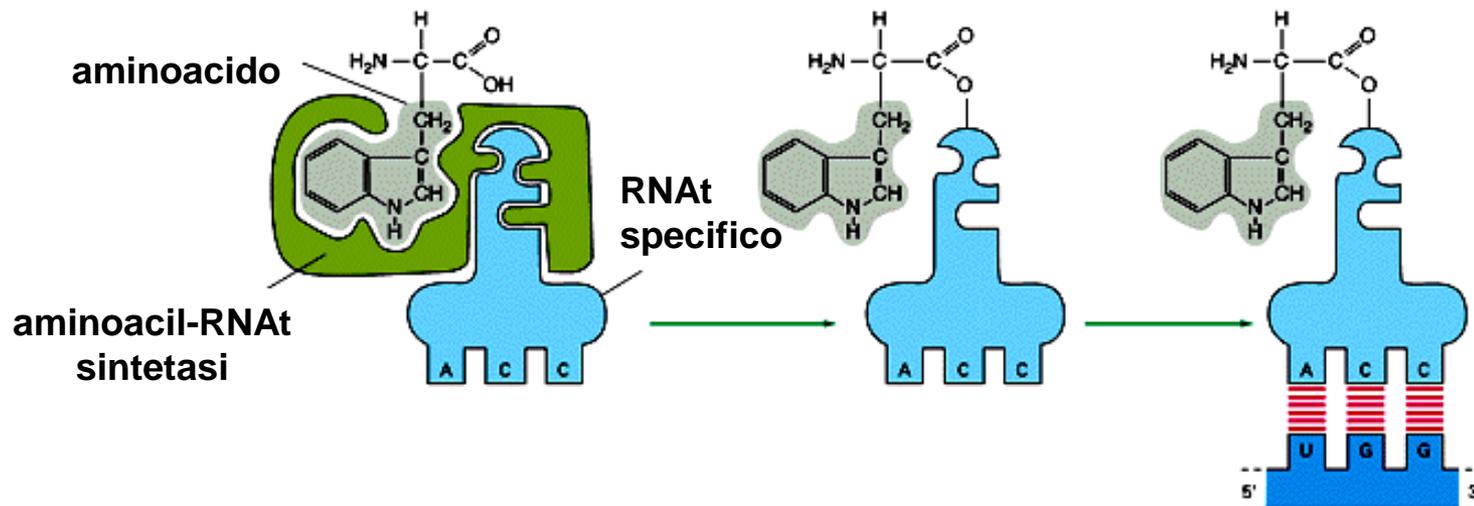
Attacco degli aa ai tRNA

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).

Mediato da un gruppo di enzimi chiamati **aminoacil-tRNA-sintasi**.

Ognuno di essi riconosce il tRNA corretto a cui deve essere attaccato l'aa.

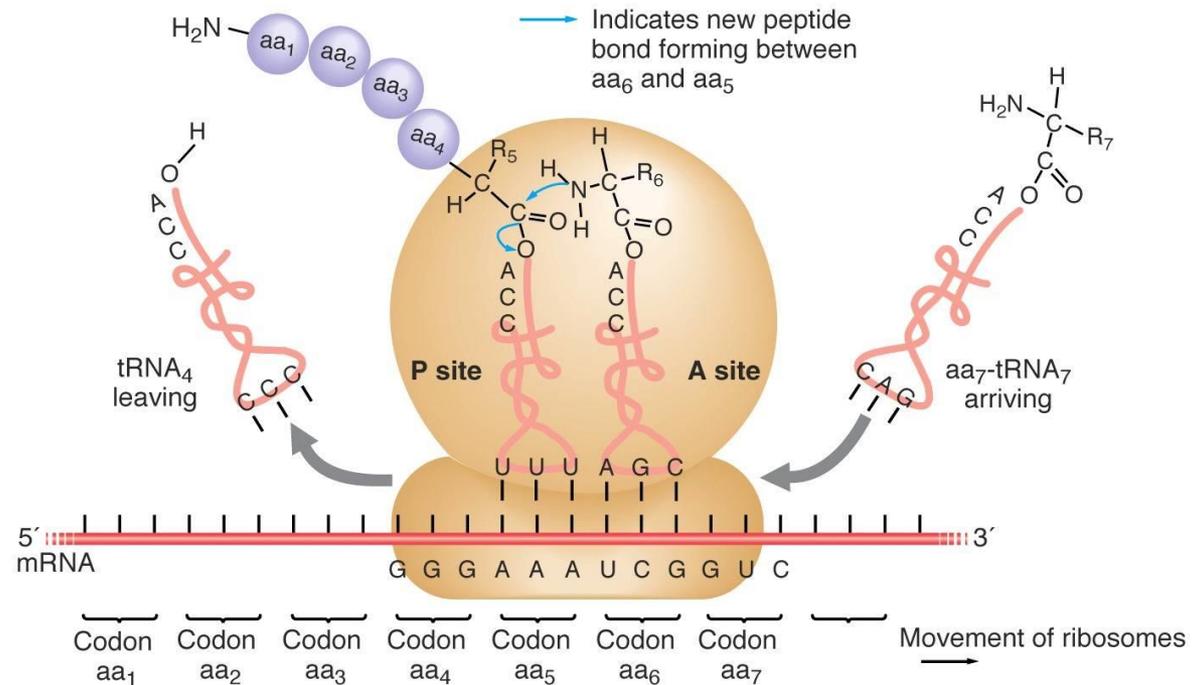


La traduzione: il processo di sintesi proteica

La molecola di mRNA trascritta dal DNA è più lunga del vero e proprio messaggio da tradurre e sequenze di nucleotidi presenti alle due estremità del messaggero non fanno parte del messaggio ma aiutano l'mRNA ad attaccarsi al ribosoma.

- L'mRNA si lega alla subunità minore del ribosoma; uno speciale tRNA di partenza si lega al codone specifico (codone d'inizio); il tRNA di partenza trasporta l'amminoacido **Met** (metionina).

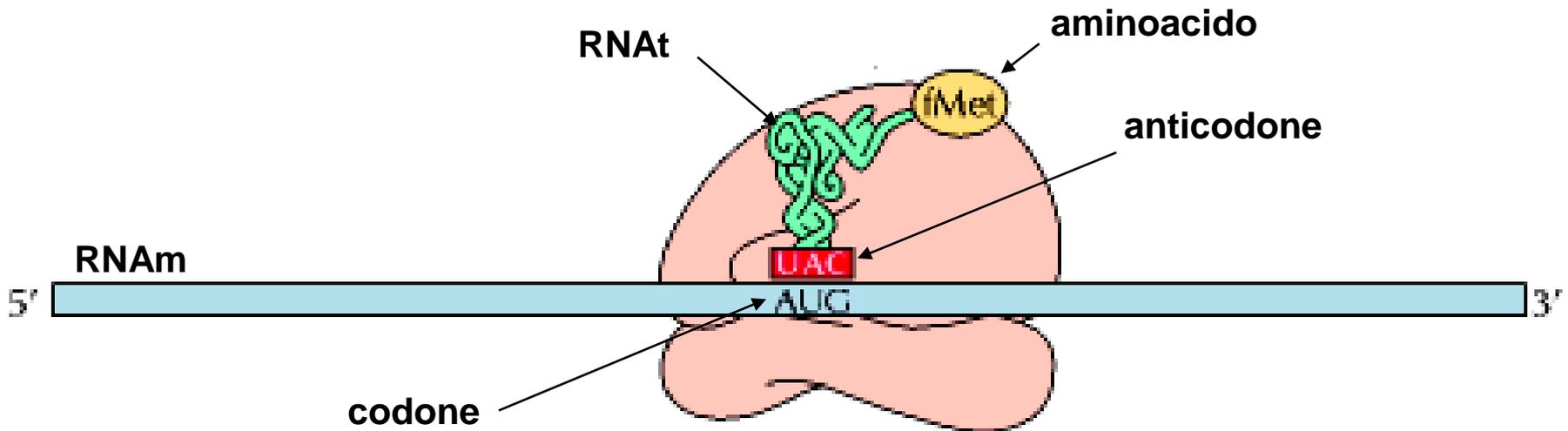
- La subunità maggiore si lega a quella piccola formando il ribosoma funzionale; il tRNA di partenza si colloca nel sito P della subunità maggiore.



La traduzione: il processo di sintesi proteica

Gli *mRNA* sono letti in direzione **5'-3'**

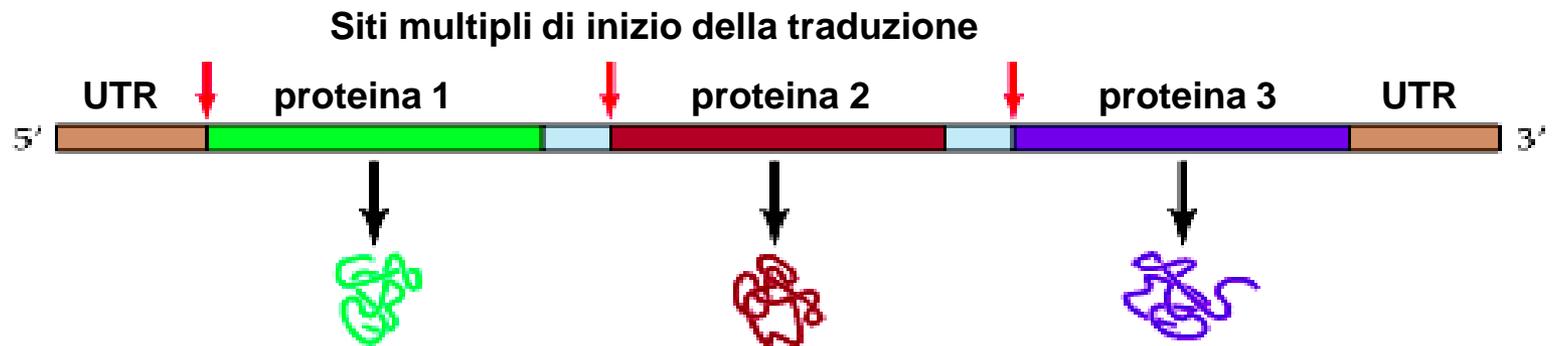
Le *proteine* sono sintetizzate **dall'N-term al C-term**



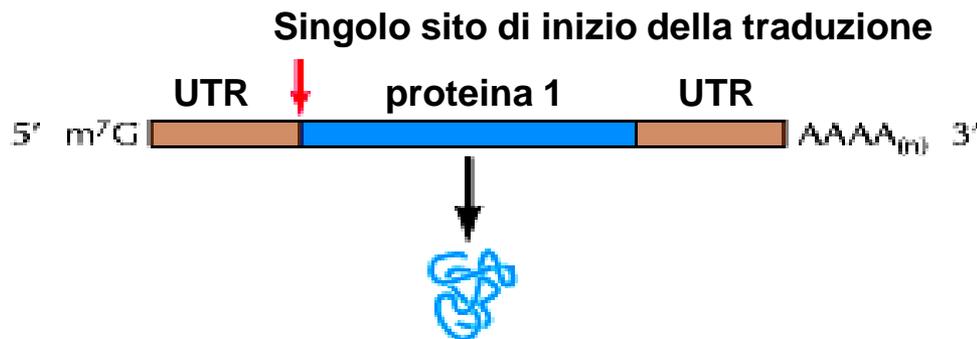
La traduzione: organizzazione mRNA

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

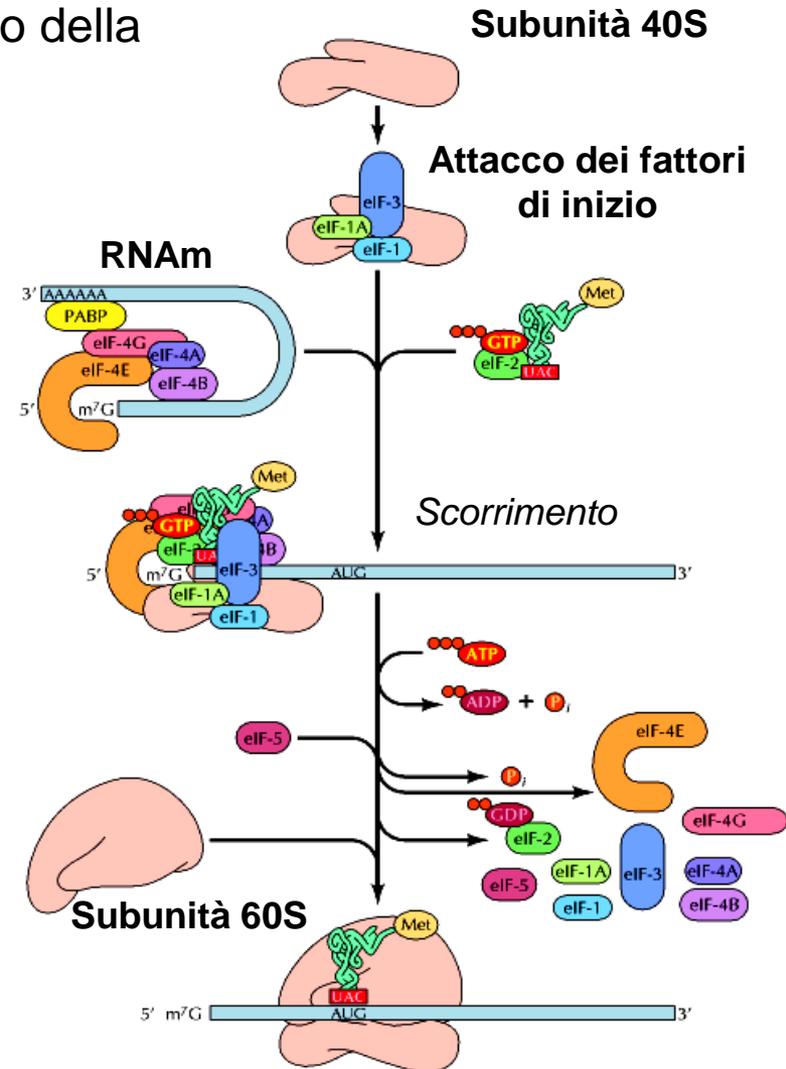


mRNA procariotici: codificano polipeptidi multipli e si chiamano **policistronici**
mRNA eucariotici sono **monocistronici**

Traduzione negli eucarioti

Più complicato e richiede almeno 10 fattori di inizio della traduzione

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

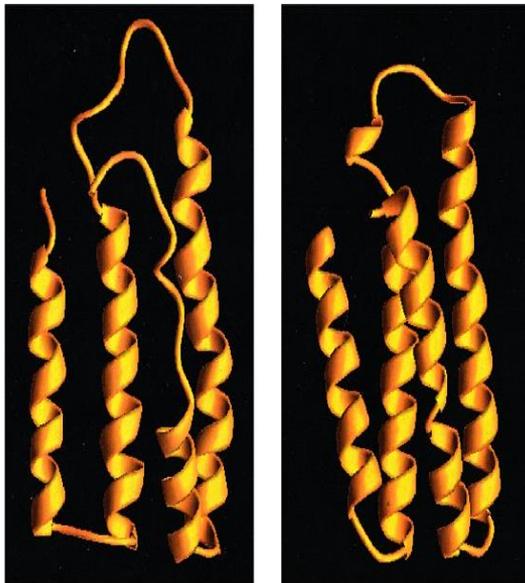


Produzione di una proteina matura funzionale

Una volta che il dominio proteico emerge dal ribosoma, forma una struttura compatta che contiene la maggior parte della struttura secondaria finale (a eliche e β foglietti) allineata più o meno nel modo giusto.

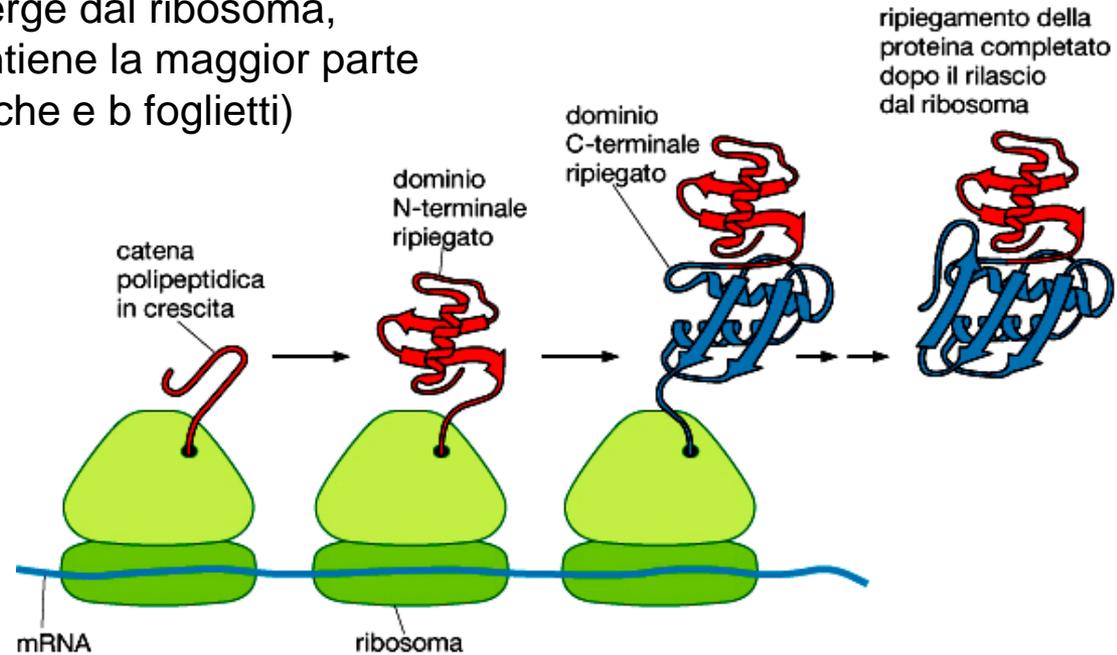
Questa struttura è chiamata

globulo fuso



(A)

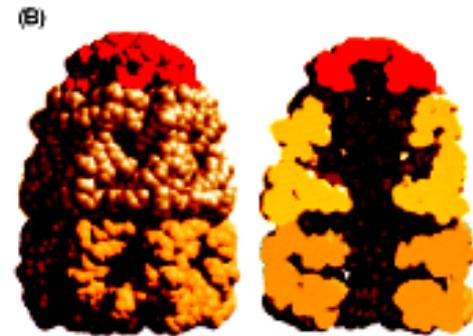
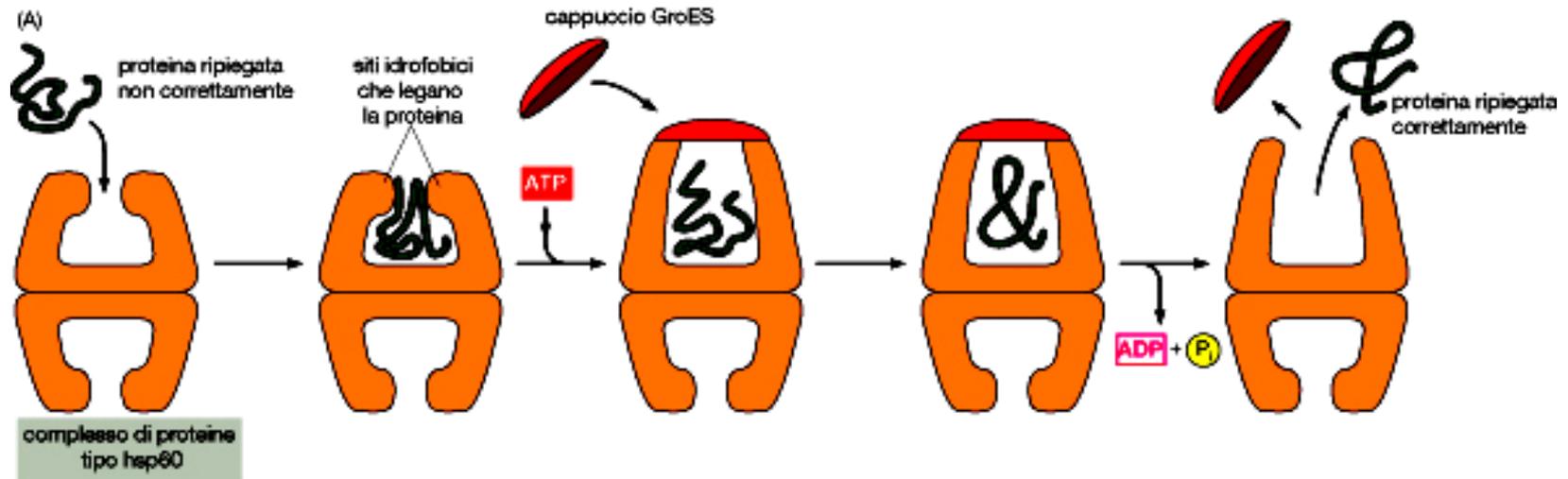
(B)



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

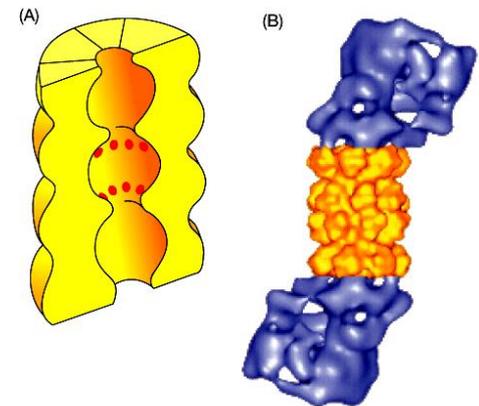
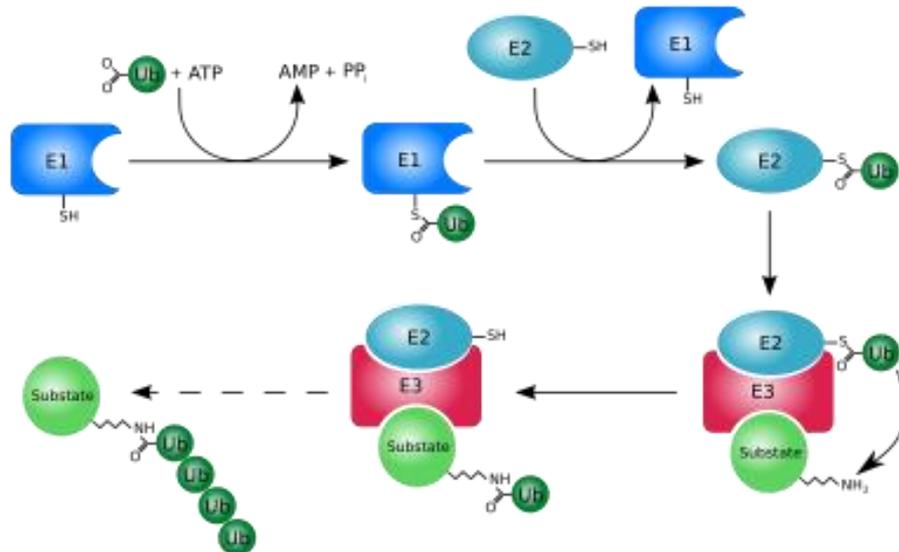
Aiutano a guidare il ripiegamento di molte proteine. Agiscono sulle proteine dopo che sono state completamente sintetizzate e ne impediscono l'aggregazione fornendo loro un ambiente favorevole in cui tentare di ripiegarsi.



Ubiquitinizzazione e Proteosoma

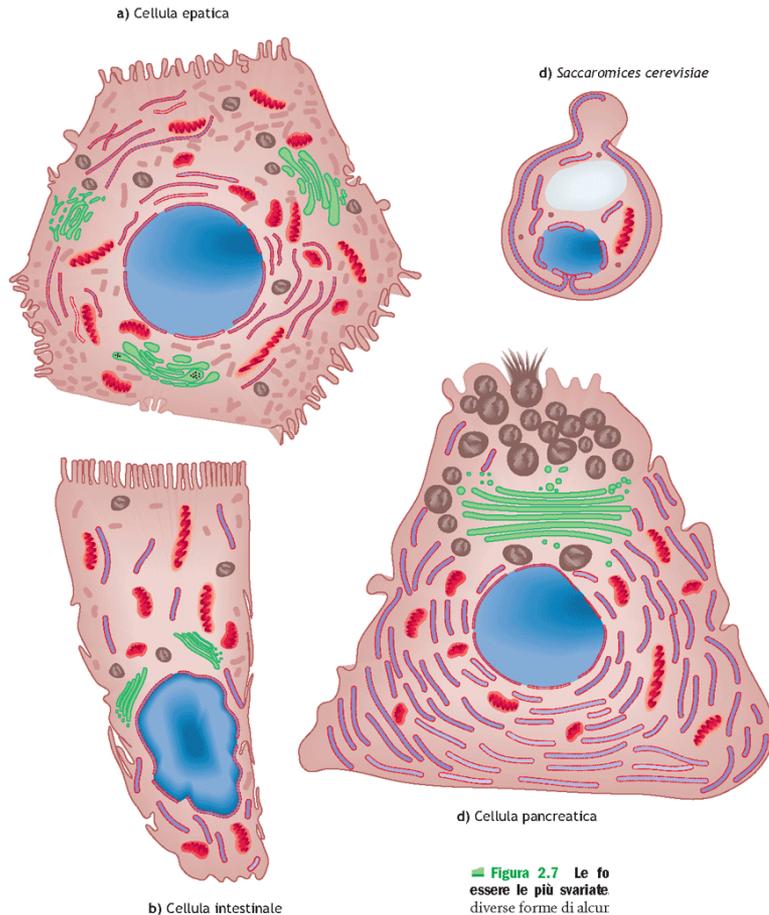
Le proteine che non riescono a ripiegarsi o ad assemblarsi in modo appropriato *vengono marcate* in modo specifico per la distruzione tramite l'attacco covalente di copie multiple di una piccola proteina chiamata **ubiquitina**.

Sulle proteine così marcate agisce il **proteasoma**: l'apparato finale di distruzione delle proteine negli eucarioti



CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE DEI GENI NEGLI EUCARIOTI

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



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

