

Struttura ed espressione del Gene

Relazione tra Geni e Proteine

- 1. Lo studio dei difetti metabolici ha portato alla scoperta che i geni codificano per le proteine**
- 2. La Trascrizione e la Sintesi Proteica sono i due principali processi che legano i geni alle proteine**
- 3. Il Codice Genetico: Legame tra DNA e Amminoacidi**
- 4. Il Codice Genetico deve essersi evoluto molto precocemente nella storia della vita**

Dal Gene alle Proteine

Un Gene-una catena Polipeptidica

Inizialmente è stato ipotizzato “**un gene-un enzima**”.
successivamente quest’ipotesi è stata modificata:

- Gli **enzimi**, sono **proteine**, ma non tutte le **proteine** sono **enzimi** (es. Cheratina, Insulina, etc.....) Le proteine che non sono enzimi sono però prodotti genici. Perciò è più corretto pensare in termini di **un gene-una proteina**.
- Tuttavia, molte proteine sono costituite da due o più catene polipeptidiche, ognuna delle quali codificata da un suo gene specifico (es. catene dell’Emoglobina).

Alla luce di queste informazioni, la precedente ipotesi è stata corretta in **un gene-una catena polipeptidica**.

Il dogma centrale della biologia molecolare: DNA → RNA → Proteina

1. L'informazione Genetica è conservata nel DNA
2. I segmenti di DNA che codificano per le proteine sono definiti geni
3. Le sequenze geniche sono trascritte in RNA messaggero (mRNA)
4. Gli mRNA sono codificati in proteine che svolgono la maggior parte delle funzioni vitali dell'essere vivente

Acidi Nucleici

Sequenza di Nucleotidi

I Nucleotidi sono composti di:

- Basi Azotate:

-Purine

-Pirimidine

Zuccheri

-Ribosio

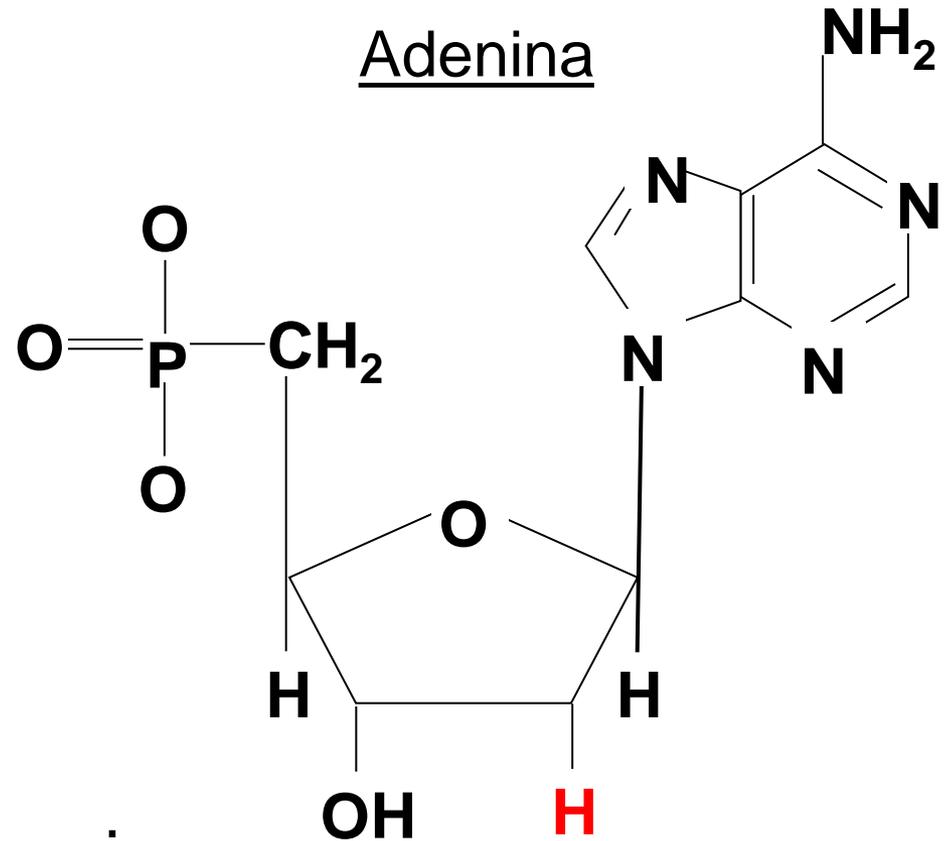
-Deossiribosio

- Fosfato

Acido Deossiribonucleico

4 Basi

- Purine
 - Adenina
 - Guanina
- Pirimidine
 - Citosina
 - Timina

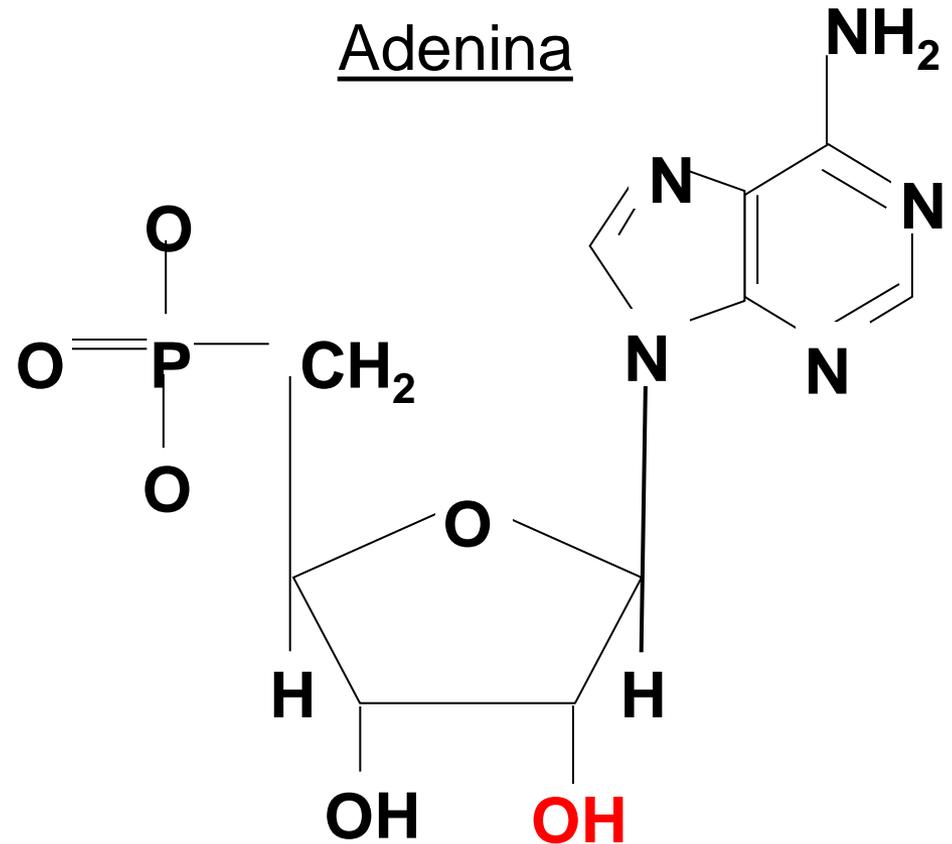


Lo zucchero è il Deossiribosio

Acido Ribonucleico

4 Nucleotidi

- Purine
 - Adenina
 - Guanina
- Pirimidine
 - Cytocina
 - **Uracile***



Lo zucchero è il Ribosio

Proteine

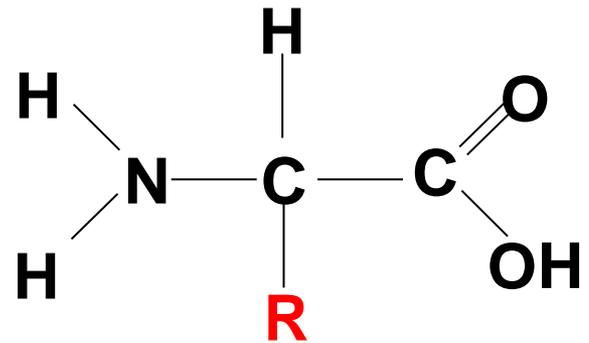
Polimeri costituiti da monomeri di Amminoacidi

20 Amminoacidi naturali

Raggruppati in base alla catena laterale in:

- Idrofobici
- Idrofilici
 - Acidi
 - Basici

Amminoacido



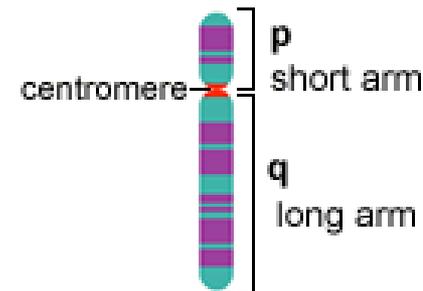
Geni

I geni sono localizzati in particolari regioni di un cromosoma (loci) e hanno una sequenza di basi (nucleotidi) ordinata in modo specifico

Cos'è un locus?

un locus descrive la regione di un cromosoma nel quale è localizzato un gene. **11p15.5** è il locus per il gene dell'insulina umana. **11** è il cromosoma, **p** indica il braccio corto del cromosoma e **15.5** è il numero della banda assegnato a quella particolare regione del cromosoma. Quando i cromosomi sono colorati, essi appaiono come bande chiare e scure, e ogni banda è numerata. Più il numero è alto, più lontana è la banda dal centromero.

Short and Long Arms
of a Chromosome



Esoni e Introni

I geni degli Eucarioti sono costituiti da introni ed esoni. Gli Esoni contengono le sequenze nucleotidiche che codificano per gli amminoacidi delle proteine. Gli Esoni sono separati gli uni dagli altri da segmenti di DNA non codificante definiti introni. Essi devono essere rimossi dopo la sintesi dell'mRNA mediante un processo chiamato splicing. Gli esoni vengono fusi uno dopo l'altro in seguito alla rimozione degli introni; L'mRNA privo di introni è usato come stampo per fare le proteine attraverso un processo definito sintesi proteica.

Splicing

Gli Esoni  sono sequenze di DNA che sono usati per costruire le proteine.

Gli Introni  sono sequenze di DNA che non servono per fare le proteine.



Esoni e Codice Genetico

Come vengono codificate le sequenze esoniche per posizionare correttamente gli amminoacidi in una catena polipeptidica?

La sequenza di DNA esonico codifica per una catena polipeptidica, tuttavia è possibile che alcune sequenze esoniche non siano utilizzate per fare le proteine. Porzioni of esoni o esoni interi possono essere costituiti da sequenze non utilizzate per costruire le proteine, queste regioni vengono definite “untranslated regions or UTRs”. Le UTRs si trovano a monte e a valle della sequenza codificante.

In conclusione, i **geni** programmano la sintesi delle **proteine** attraverso messaggeri genetici definiti **mRNA:**

DNA → **RNA** → Proteina

La scoperta del Codice Genetico

La corrispondenza di un codone con un amminoacido è stata studiata fin dagli inizi degli anni 60 del secolo scorso.

Marshall Nirenberg ha scoperto il primo matching, dove la sequenza **UUU** codifica per l'amminoacido fenilalanina.

- Ha creato un RNA artificiale composto solo da uracile al quale ha aggiunto una mistura di amminoacidi, ribosomi, e altri componenti per la sintesi delle proteine.
- Questo “poli(U)” è stato codificato in una lunga catena polipeptidica costituita interamente da fenilalanine.

Nel Codice Genetico, i gli amminoacidi sono codificati da triplette (codoni) di nucleotidi

Se il codice genetico fosse costituito da un singolo nucleotide o da un paio di nucleotidi per codificare un amminoacido, non ci sarebbero abbastanza combinazioni (rispettivamente 4 e 16 combinazioni), visto che gli amminoacidi sono 20.

Con un codone costituito da triplette ci sarebbero abbastanza combinazioni per codificare tutti gli amminoacidi.

Con il codice in triplette “**triplet code**”, tre basi consecutive codificano per un amminoacido, possedendo 4^3 (64) possibili combinazioni.

Le istruzioni genetiche per costruire una catena polipeptidica sono scritte nel DNA come una serie di tre-nucleotidi definiti triplette.

es. la tripletta AGT sul filamento codificante del DNA corrisponde all'amminoacido Serina.

L'intero codice genetico è stato decifrato già dagli anni 60 del secolo scorso

- 61 of 64 triplette codificano per i 20 amminoacidi.
- Il codone **AUG** non solo codifica per la **metionina**, ma è anche il segnale per L'inizio della traduzione.
- Tre codoni non codificano per amminoacidi ma sono il segnale per lo stop della traduzione (**UAA, UGA e UAG**).

		Second base				
		U	C	A	G	
First base (5' end)	U	UUU	UCU	UAU	UGU	U
		UUC	UCC	UAC	UGC	C
		UUA	UCA	UAA Stop	UGA Stop	A
		UUG	UCG	UAG Stop	UGG Trp	G
	C	CUU	CCU	CAU	CGU	U
		CUC	CCC	CAC	CGC	C
		CUA	CCA	CAA	CGA	A
		CUG	CCG	CAG	CGG	G
	A	AUU	ACU	AAU	AGU	U
		AUC	ACC	AAC	AGC	C
		AUA	ACA	AAA	AGA	A
		AUG Met or start	ACG	AAG	AGG	G
	G	GUU	GCU	GAU	GGU	U
		GUC	GCC	GAC	GGC	C
		GUA	GCA	GAA	GGA	A
		GUG	GCG	GAG	GGG	G

Nel Codice Genetico c'è **rindondanza**, ma non **ambiguità**.

- Più codoni cofificano per uno stesso amminoacido.
- Ma, ogni **codone** è specifico per un solo **amminoacido**.
 - Un codone; un amminoacido. Un amminoacido; più codoni, tranne la metionina ed il triptofano che sono codificati da un solo codone.
 - Es. GAA e GAG codificano per il glutammato, ma non per altri amminoacidi e sono detti codoni sinonimi.
- I Codoni sinonimi spesso differiscono solo nell'ultima base (terzo nucleotide della tripletta).

L'ordine esatto delle triplette di nucleotidi è un linguaggio molecolare della cellula. Questo ordine è definito come fase di lettura o “reading frame”.

Reading Frame: il corretto raggruppamento delle triplette di nucleotidi (sequenza) che codificano per gli amminoacidi di una catena polipeptidica.

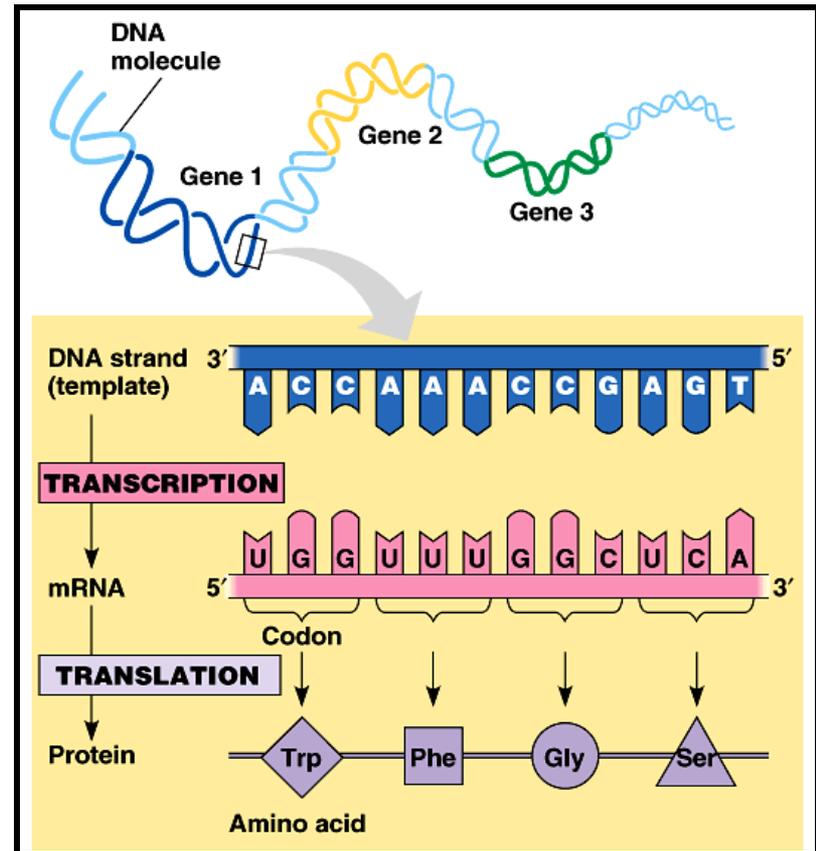
➤ es. la sequenza degli amminoacidi **Trp – Phe – Gly- Arg –Phe**

viene codificata dai codoni **UGG UUU GGC CGU UUU**
dell'mRNA

➤ La cellula legge il messaggio nel corretto “frame” come una serie di triplette non sovrapposte **UGG – UUU- GGC- CGU- UUU**

I Geni del DNA non sono tradotti direttamente in amminoacidi, ma sono prima trascritti come codoni di mRNA.

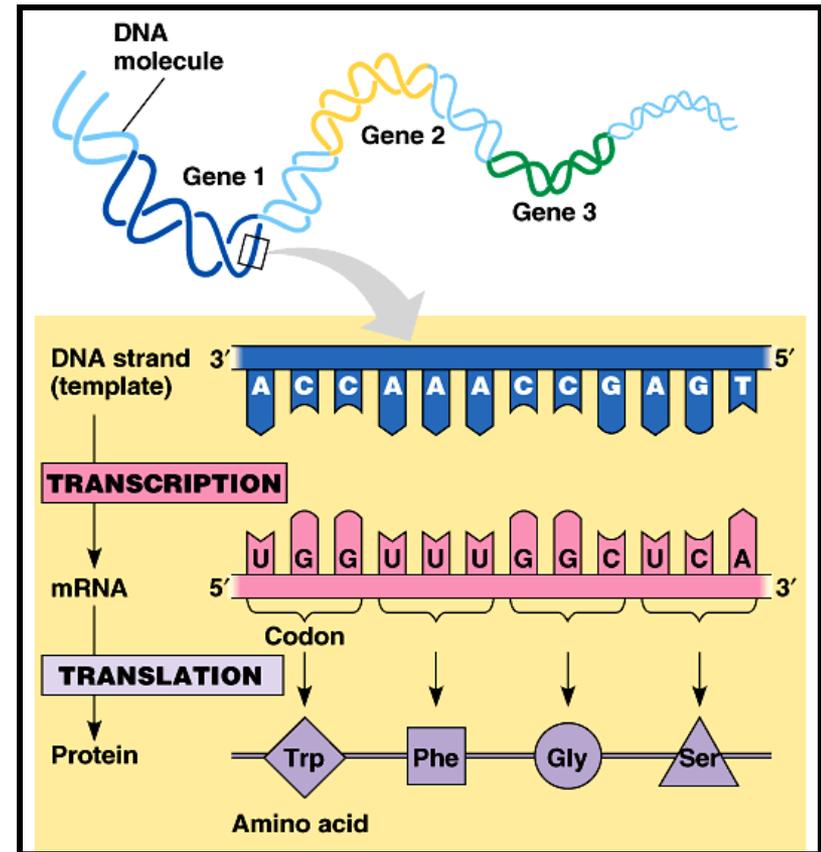
Il Codone è una sequenza di tre-nucleotidi nell'mRNA che codifica per l'amminoacido che verrà incorporato nella catena polipeptidica nascente; Esso è l'unità di base del Codice Genetico.



Durante la **trascrizione**, un filamento di DNA, il “**template strand**” o **filamento stampo**, fa da stampo per comporre la sequenza di nucleotidi dell'mRNA nascente.

La molecola di RNA complementare viene sintetizzata attraverso la complementarità delle basi e l'uracile viene incorporato al posto della timina.

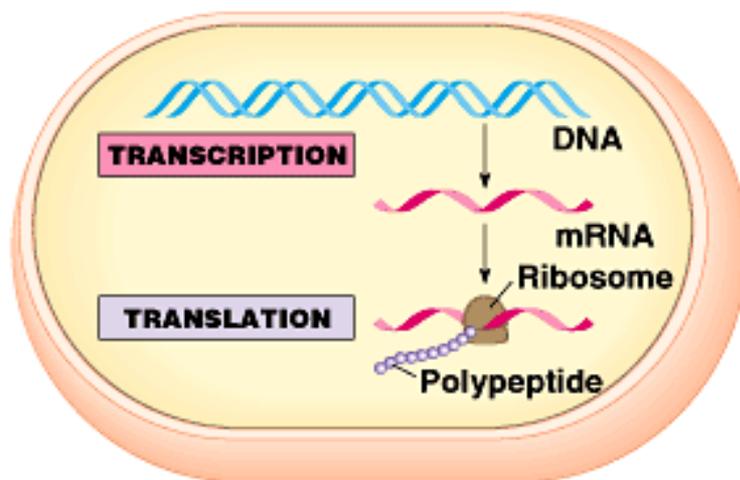
Durante la sintesi proteica i codoni composti dalle triplette sono codificati, nella sequenza di amminoacidi di una catena polipeptidica.



Il meccanismo di base della trascrizione e della traduzione è simile sia negli **eucarioti che nei procarioti**.

Tuttavia i batteri non hanno il nucleo, perciò trascrizione e traduzione sono **accoppiati**.

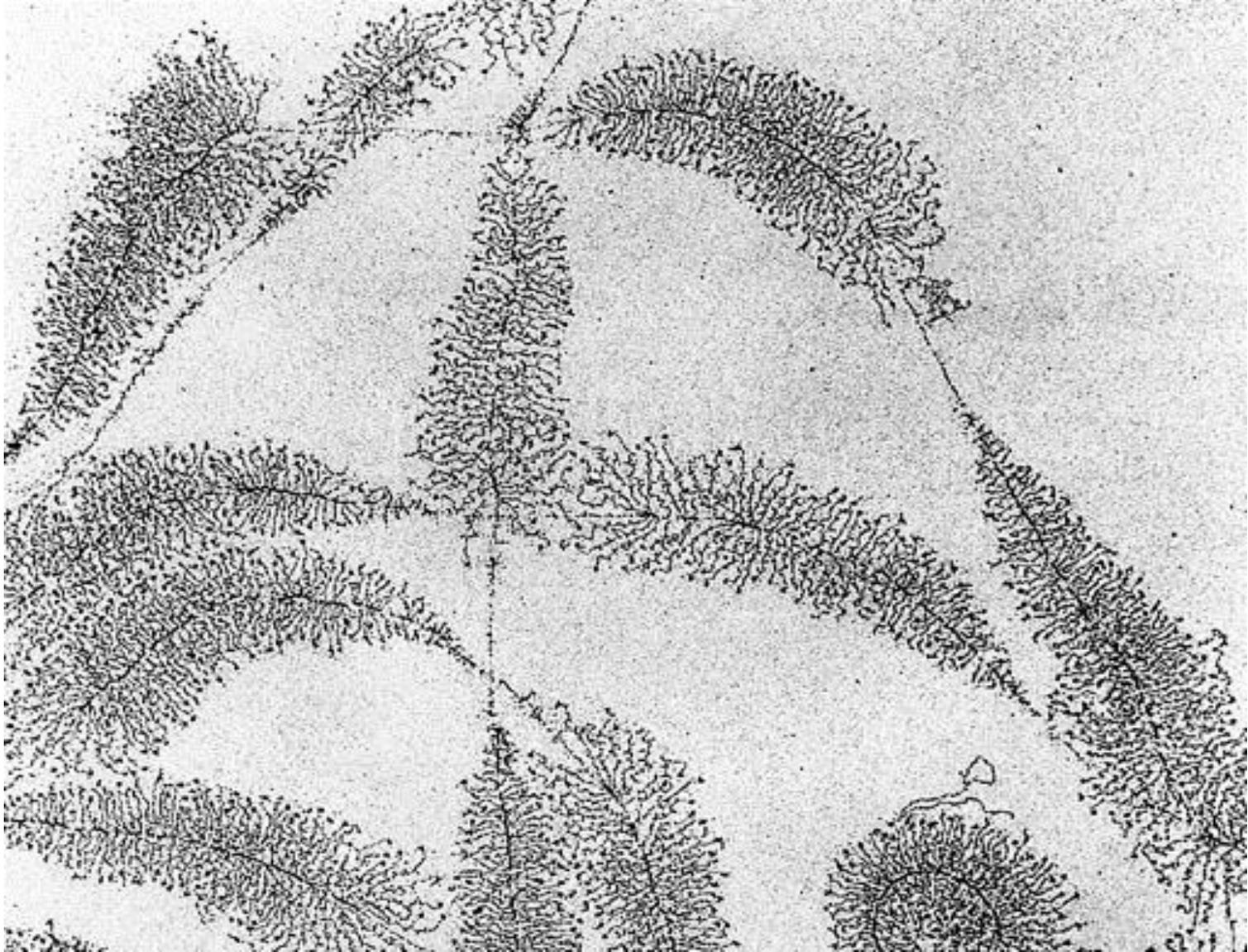
I Ribosomi si attaccano all'mRNA nascente mentre la trascrizione sta ancora funzionando.



(a) Prokaryotic cell

Trascrizione

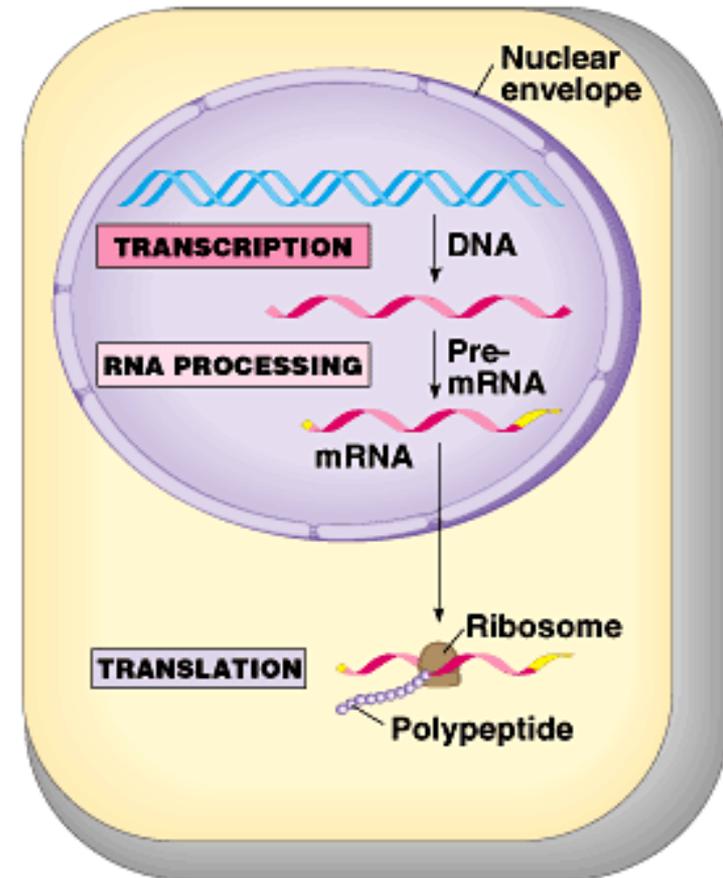
**Gli mRNA
trascritti
dal DNA dei
procarioti**



Gli Eucarioti hanno un nucleo che separa la **trascrizione** dalla **traduzione**;

La trascrizione di un gene eucariotico risulta in un **pre-mRNA** che è chiamato trascritto primario nel nucleo, il quale contiene gli introni.

Il Pre-mRNA è processato nel nucleo e poi viene trasportato nel citoplasma dove avviene la traduzione. Questo è tipico degli eucarioti.



(b) Eukaryotic cell

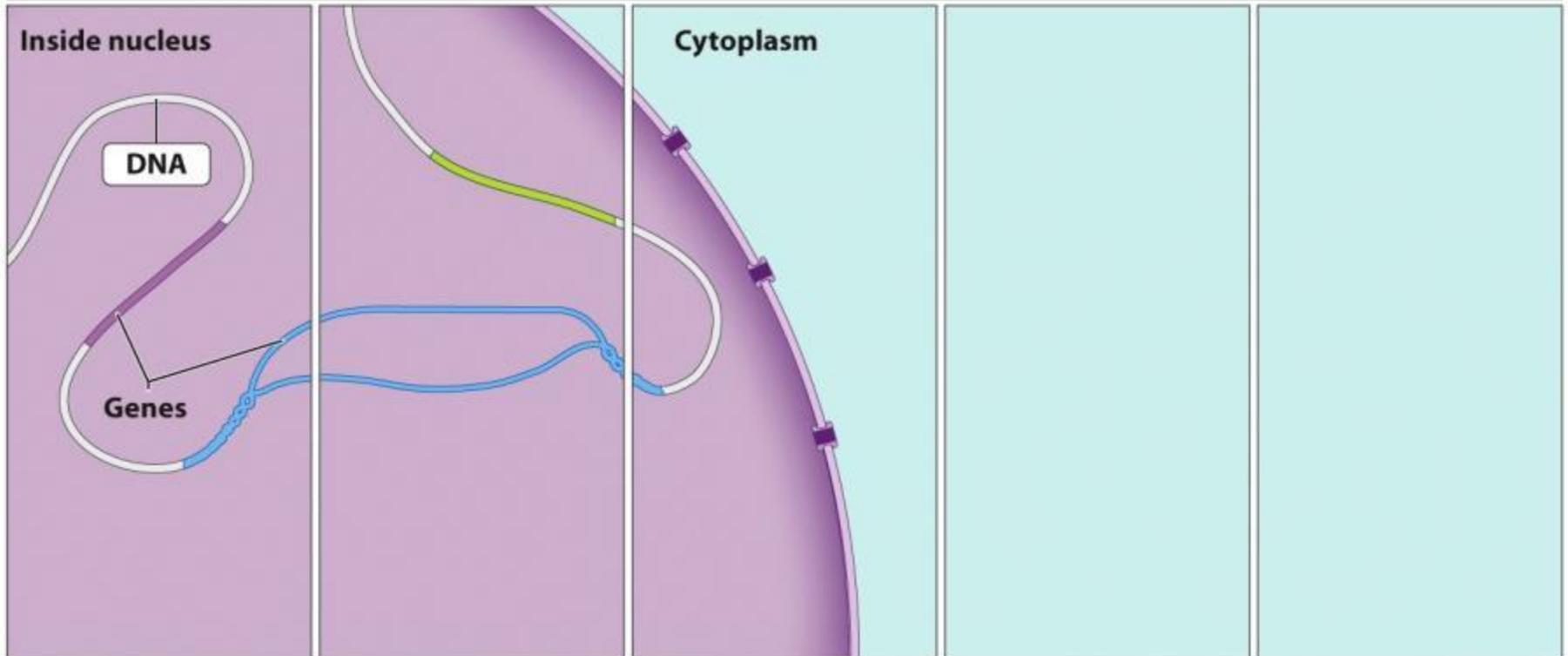
In **conclusione**, **l'informazione genetica** è codificata come **sequenza di triplette non-sovrapposte**, ognuna delle quali è tradotta in uno specifico amminoacido durante la sintesi proteica.

Espressione Genica

- Il **genotipo di un organismo**, è l'insieme dei suoi geni sul DNA.
- Il **fenotipo** rappresenta gli specifici tratti somatici, che sono dovuti all'azione di una varietà di differenti proteine.
- Il **flusso dell'informazione genetica** è dovuto alla conversione del DNA (gene) in mRNA e poi esso viene tradotto in un polipeptide.

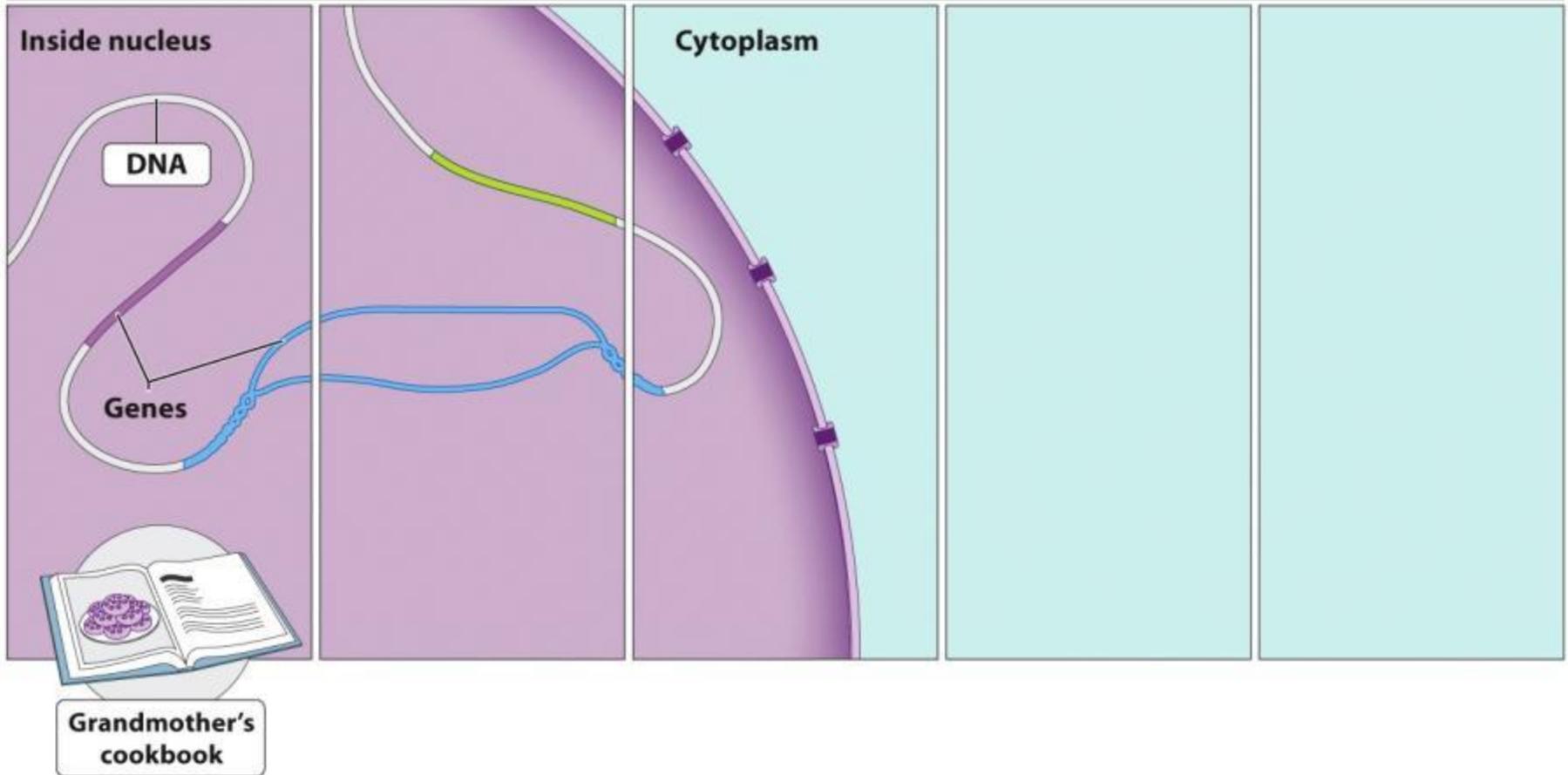
Sommario dei passaggi dell'espressione genica

HOW GENES WORK: AN OVERVIEW

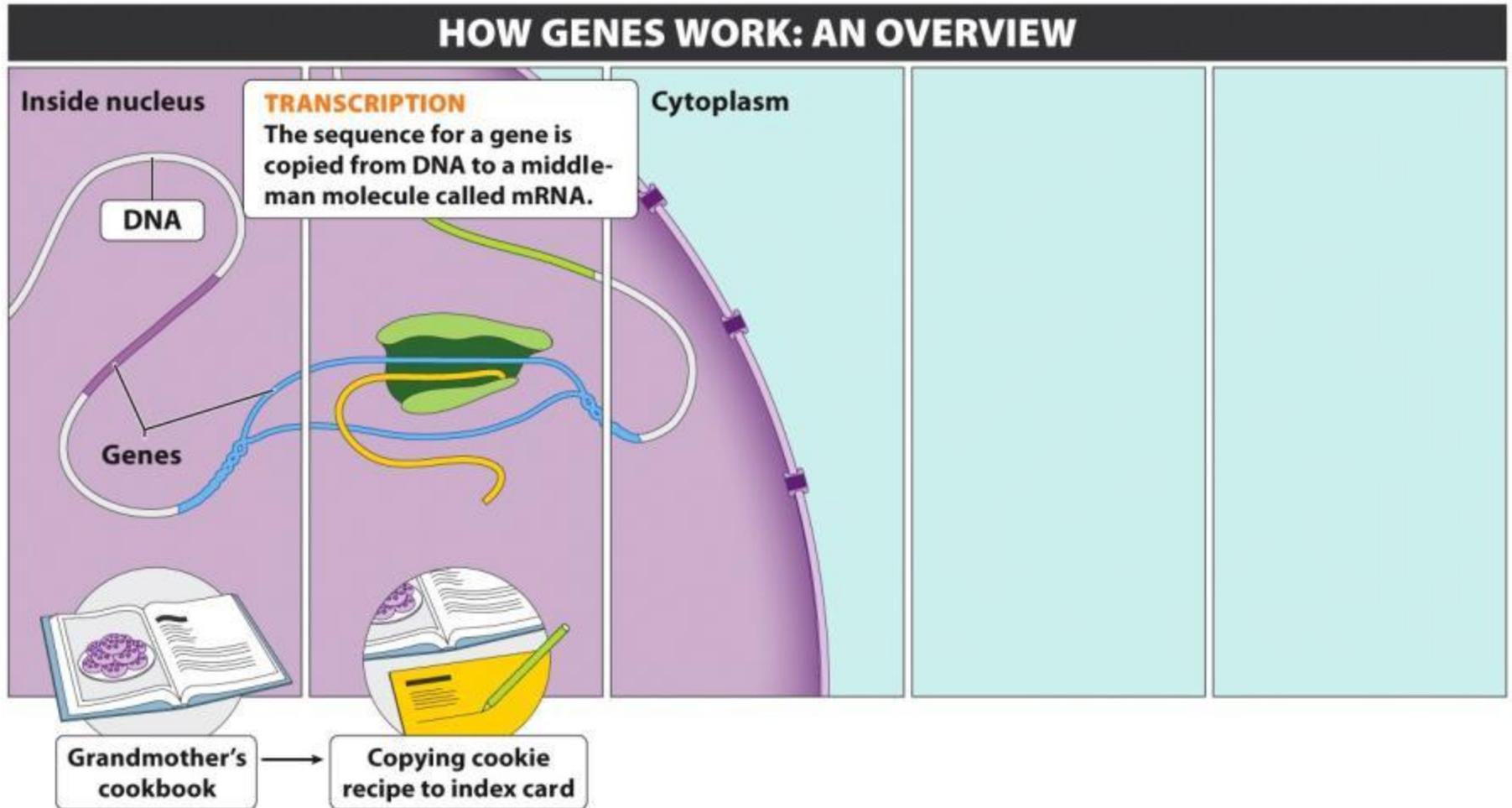


Sommario dei passaggi dell'espressione genica

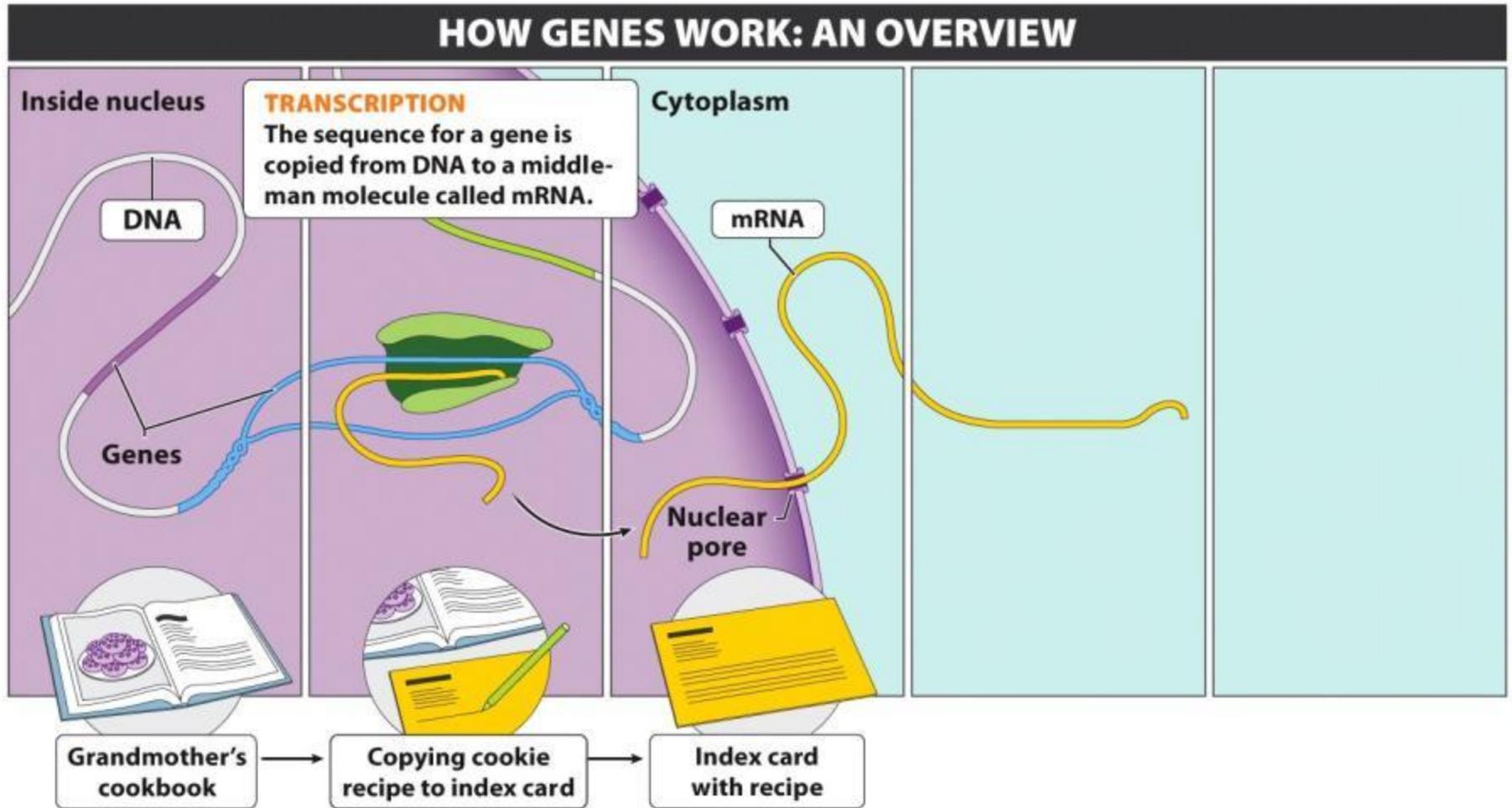
HOW GENES WORK: AN OVERVIEW



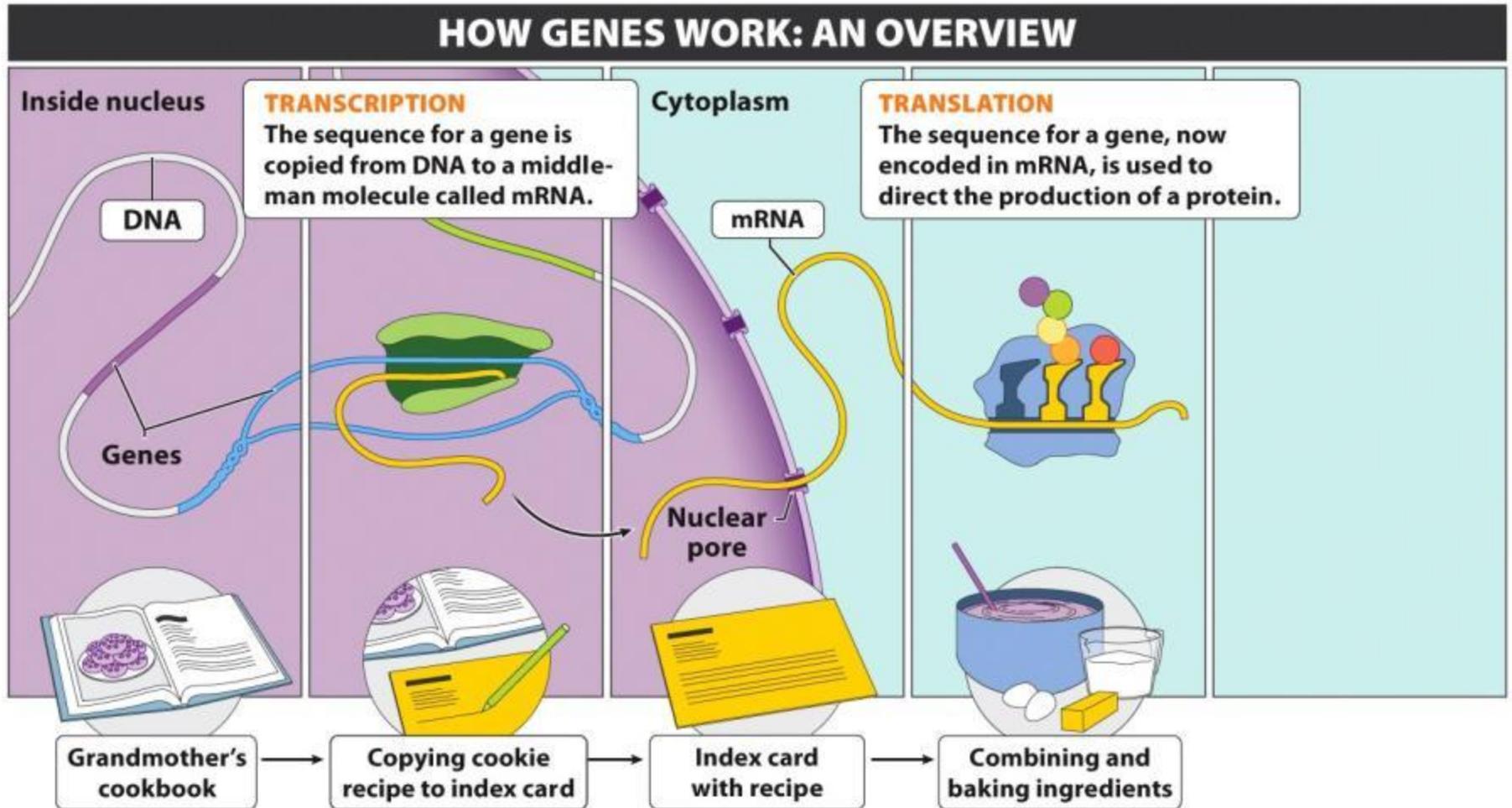
Sommario dei passaggi dell'espressione genica



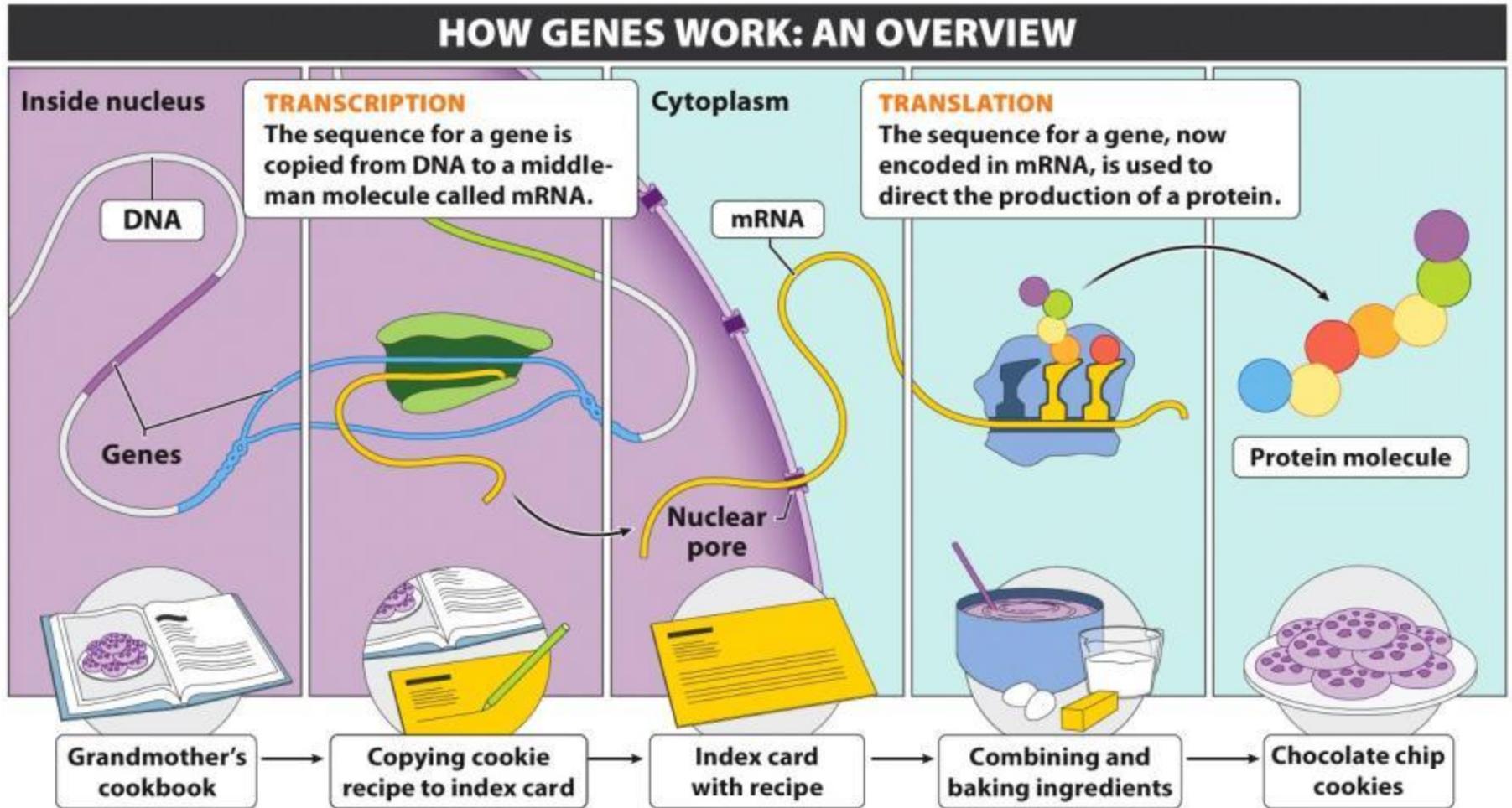
Sommario dei passaggi dell'espressione genica



Sommario dei passaggi dell'espressione genica



Sommario dei passaggi dell'espressione genica

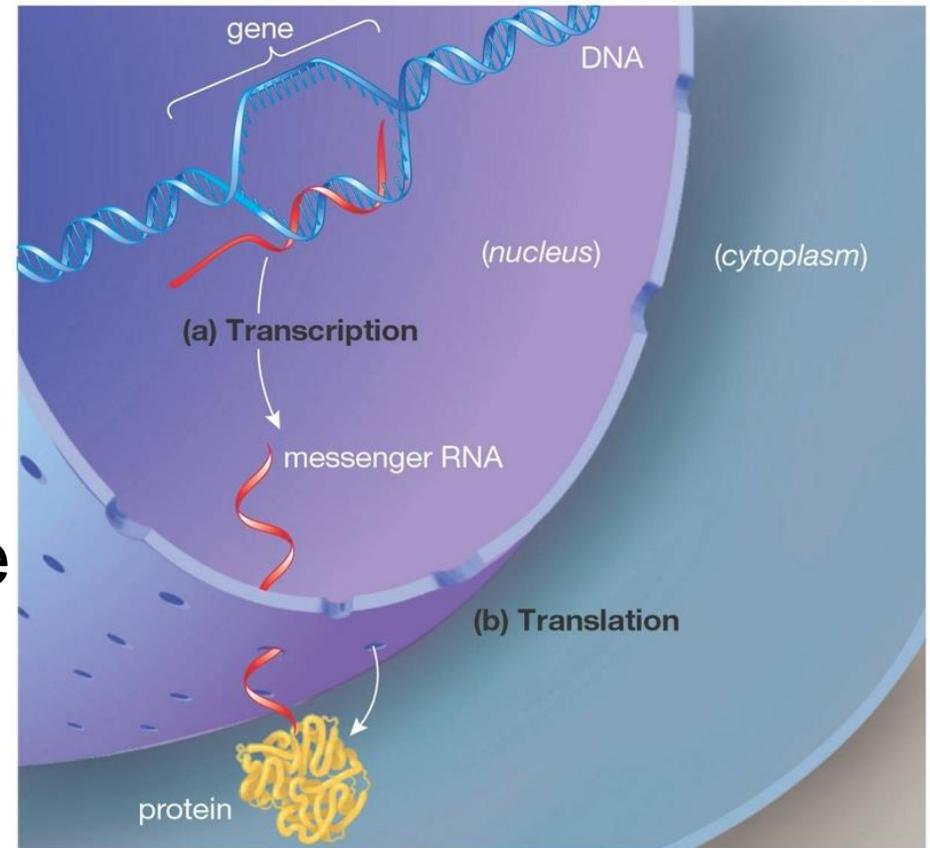


Sommario espressione genica

I Geni nel DNA contengono le informazioni per fare le proteine.

I geni sul DNA vengono copiati in mRNA.

L'mRNA è tradotto sui Ribosomi per produrre le proteine.



Copyright © 2005 Pearson Prentice Hall, Inc.

Tipi di RNA

mRNA Trasporta l'informazione genetica dal DNA e serve per la sintesi proteica. E' sintetizzato nel nucleo.

rRNA rappresenta l'80% di tutti gli RNA della cellula, E' un importante componente dei ribosomi.

tRNA – E' la più piccola classe di RNA. Durante la traduzione, i tRNA trasportano gli amminoacidi sul ribosoma legandosi al codone dell'mRNA mediante un anticodone.

Principali tipi di RNA

Tipo di RNA	Localizzazione	Funzione
RNA Messaggero (mRNA) 	Prodotto nel nucleo, viene processato e spedito nel citoplasma	Contiene l'informazione genetica
RNA Transfer (tRNA) 	Citoplasma	Trasporta gli amminoacidi
RNA Ribosomale (rRNA) 	Citoplasma	Componente strutturale dei ribosomi

RNA Polimerasi

Le RNA polimerasi compiono le stesse reazioni in tutte le cellule

I Batteri hanno una singola RNA polimerasi
Mentre gli eucarioti ne possiedono tre: RNA Pol I, II e III

RNA Polimerasi

- L'RNA Pol II serve per trascrivere l'mRNA nelle cellule eucariotiche.
- L'RNA Pol I trascrive gli RNA precursori ribosomiali.
- L'RNA Pol III trascrive principalmente i geni dei tRNA.

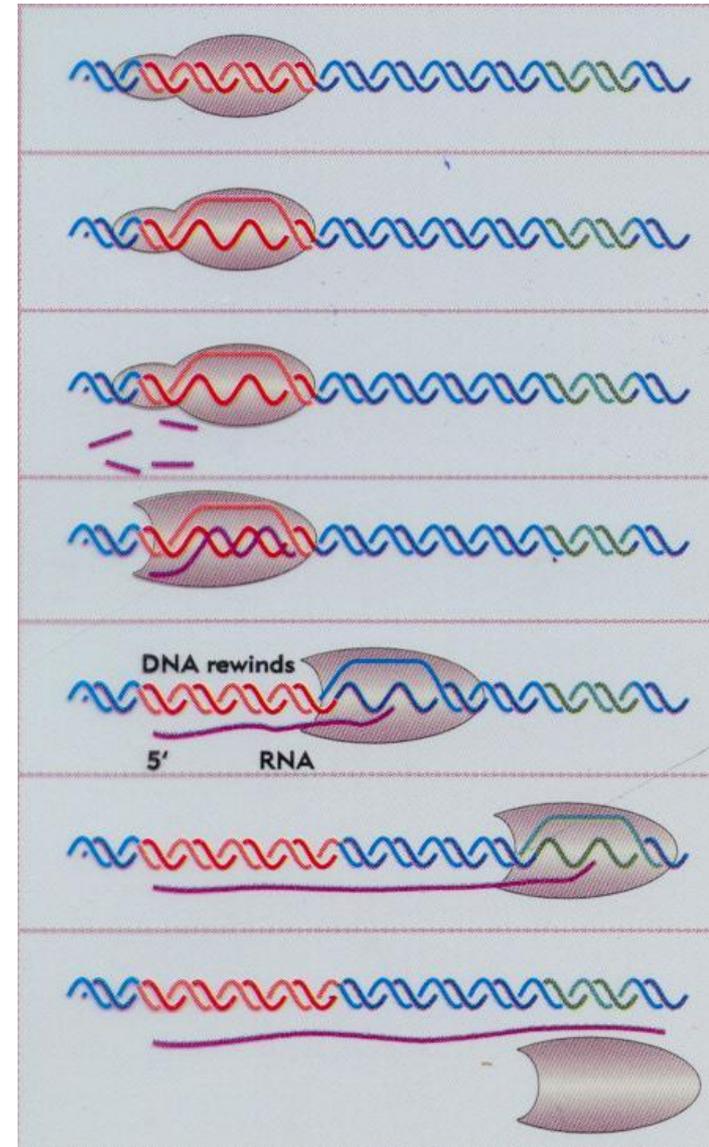
Trascrizione

Reazione di polimerizzazione catalizzata dall'RNA polimerasi

- Necessita di rNTPs
- Necessita di uno stampo
- Srotola e riavvolge il DNA

4 steps

- Riconoscimento e legame al filamento stampo
- Inizio
- Allungamento
- Termine e rilascio



Filamenti stampo e codificante

Filamento codificante (+)

5' – **T**CAGCT**T**CGCT**T**GCT**T**AAT**T**GGCC – 3'

3' – AGTCGAGCGACGATTACCGG – 5'

trascrizione



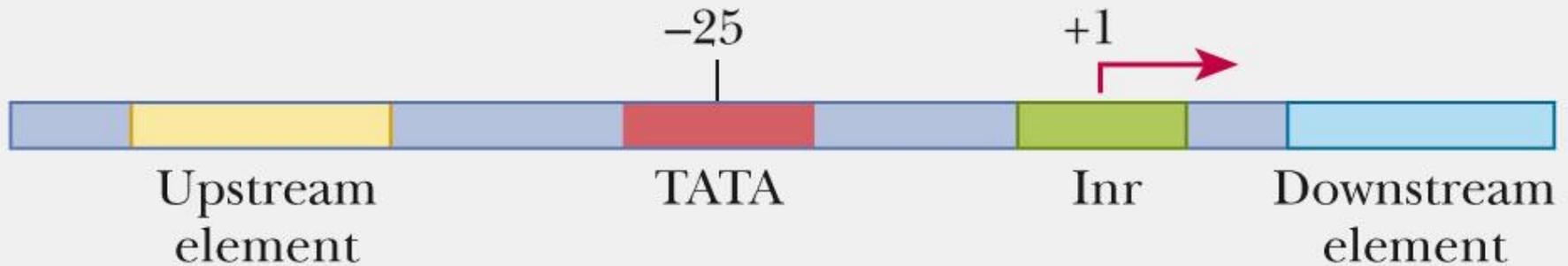
Filamento stampo del DNA
detto anche antisenso (-)

5' – **U**CAGC**U**CGC**U**GC**U**AA**U**GGCC – 3'

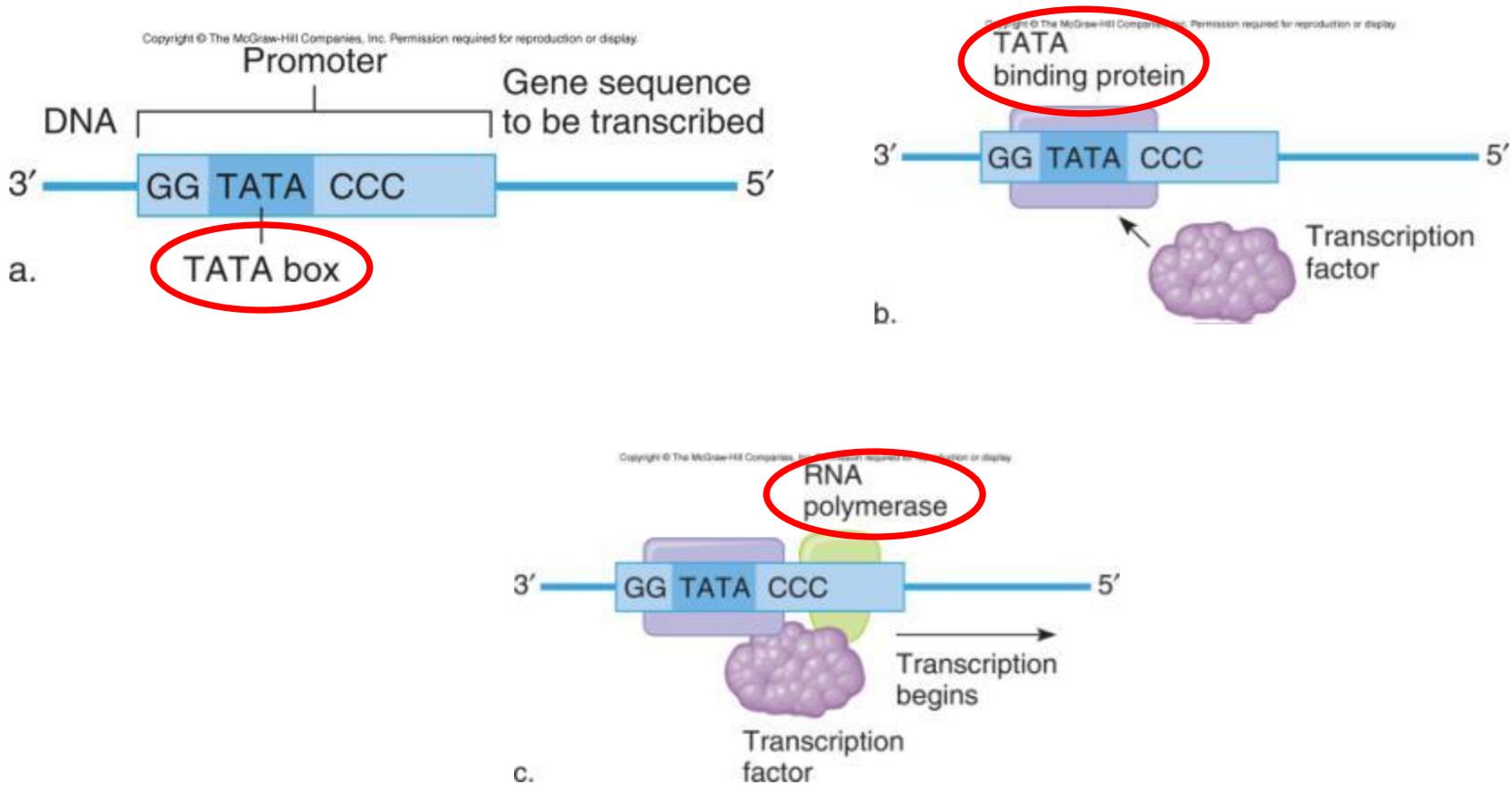
mRNA

In che modo l'RNA Pol II riconosce il sito di inizio della trascrizione?

Quattro elementi sul DNA detti sequenze promotrici permettono questo fenomeno



Trascrizione

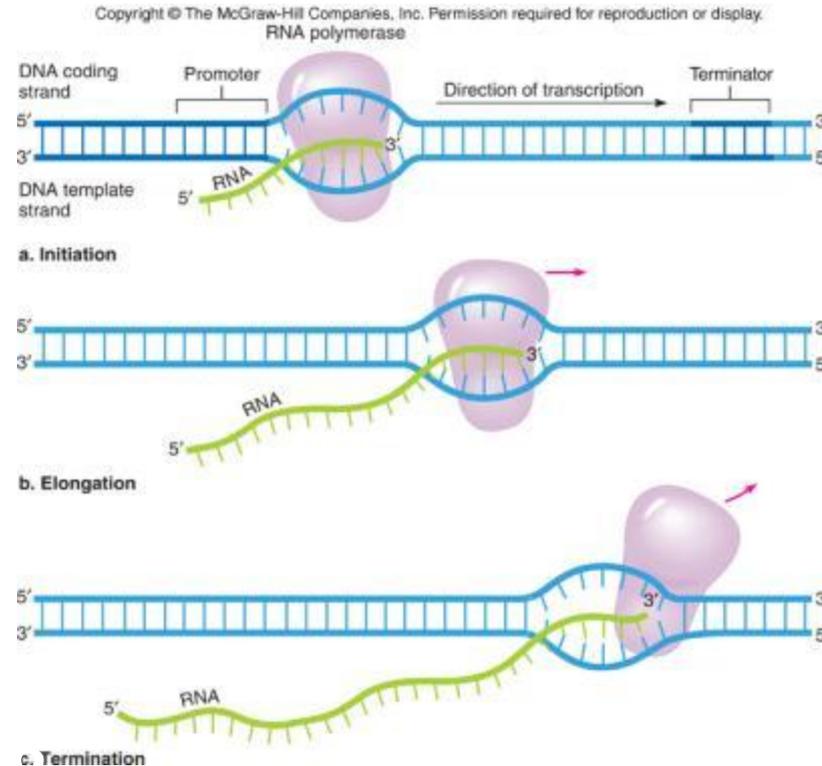


Proteine e RNA polimerasi si legano alla regione promotrice

Trascrizione

- L'inizio della trascrizione è dettata da sequenze nucleotidiche chiamate **promotori**.
- La prima fase della trascrizione è detta **inizio**:
 - L'RNA polimerasi si attacca al promotore.
 - Inizia la sintesi dell'mRNA.
- La seconda fase della trascrizione è **l'allungamento**:
 - L'mRNA si allunga.
- La terza fase della trascrizione è detta **termine**:
 - L'RNA polimerasi riconosce una sequenza sul DNA chiamata terminatore.

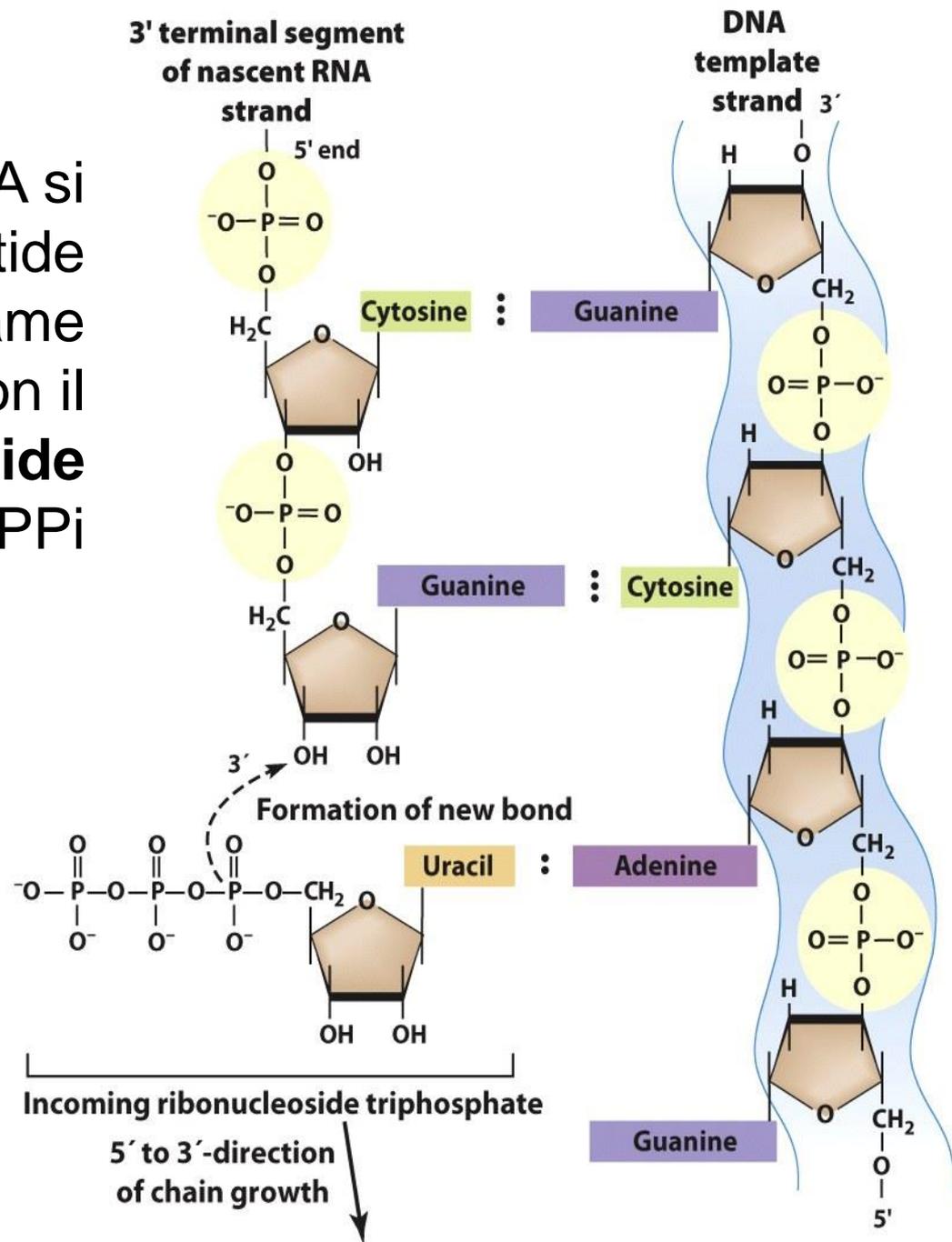
Trascrizione



L'RNA polimerasi incorpora I nucleotidi partendo dal filamento stampo in direzione $5' \rightarrow 3'$ e crea un mRNA con la stessa sequenza nucleotidica del filamento codificante del DNA.

Il gruppo OH al 3' dell'RNA si lega al fosforo sul nucleotide trifosfato formando un legame fosfoestere con il **nucleotide monofosfato**, liberando PPi

Questa reazione è catalizzata **dall'RNA polimerasi**



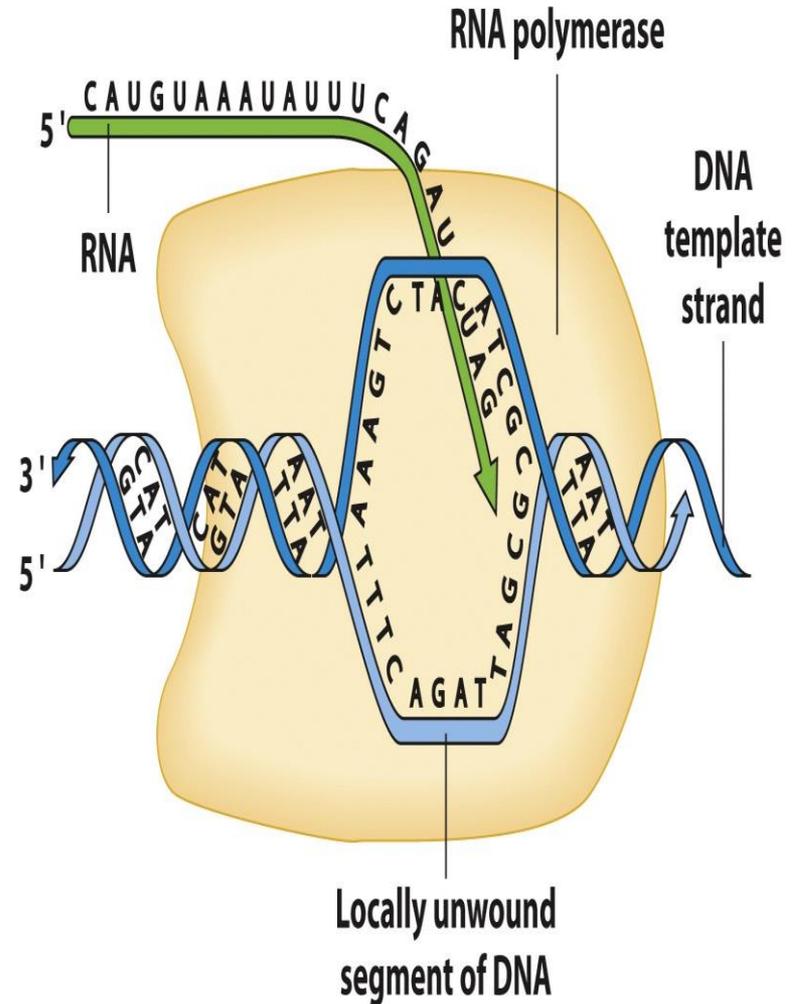
Si forma una bolla di trascrizione

Eucarioti:

Differenti RNA polimerasi

Non c'è un riconoscimento diretto delle sequenze promotrici

Occorrono i fattori di trascrizione



Allungamento e Termine

L'allungamento è controllato da:

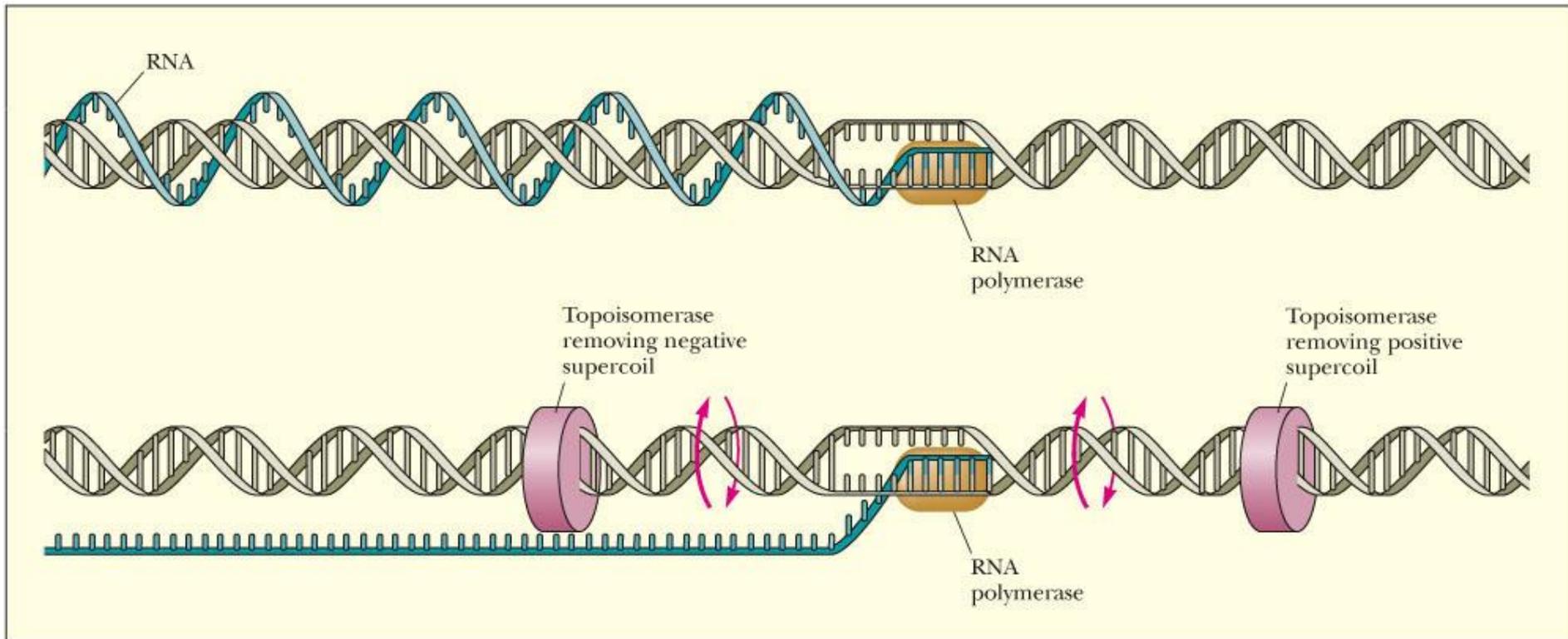
- Siti di pausa, dove l'RNA Pol rallenta
- Fattori di allungamento positivi (P-TEF)
- Fattori di allungamento negativi (N-TEF)

Termine

- Permette la fine della trascrizione; negli eucarioti la sequenza terminatore è “**AAUAAA**”

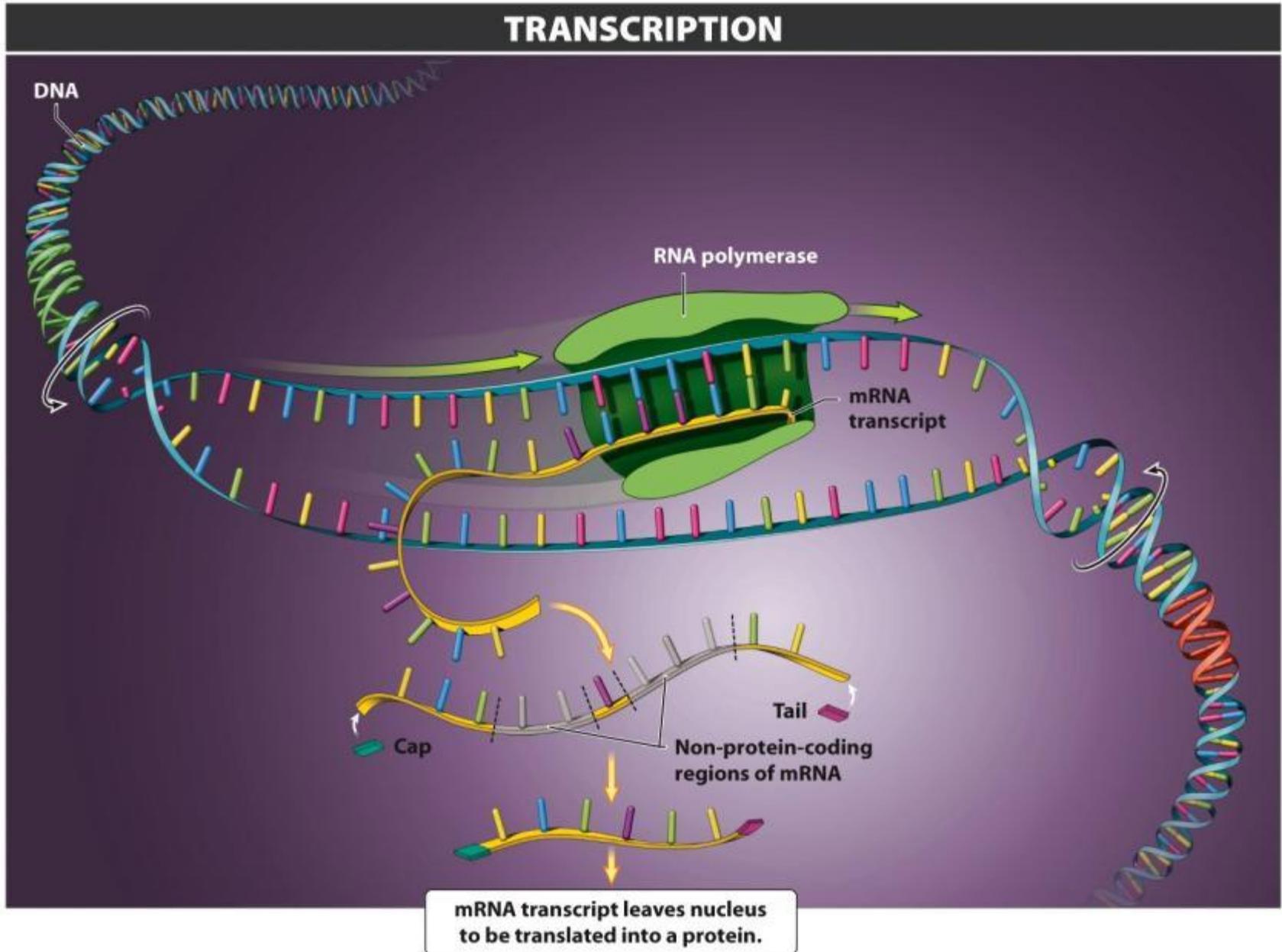
Trascrizione

- A** If the RNA polymerase followed the template strand around the axis of the DNA duplex, there would be no strain, and no supercoiling of the DNA would occur, but the RNA chain would be wrapped around the double helix once every 10 base pairs. This possibility seems unlikely because it would be difficult to disentangle the transcript from the DNA complex.



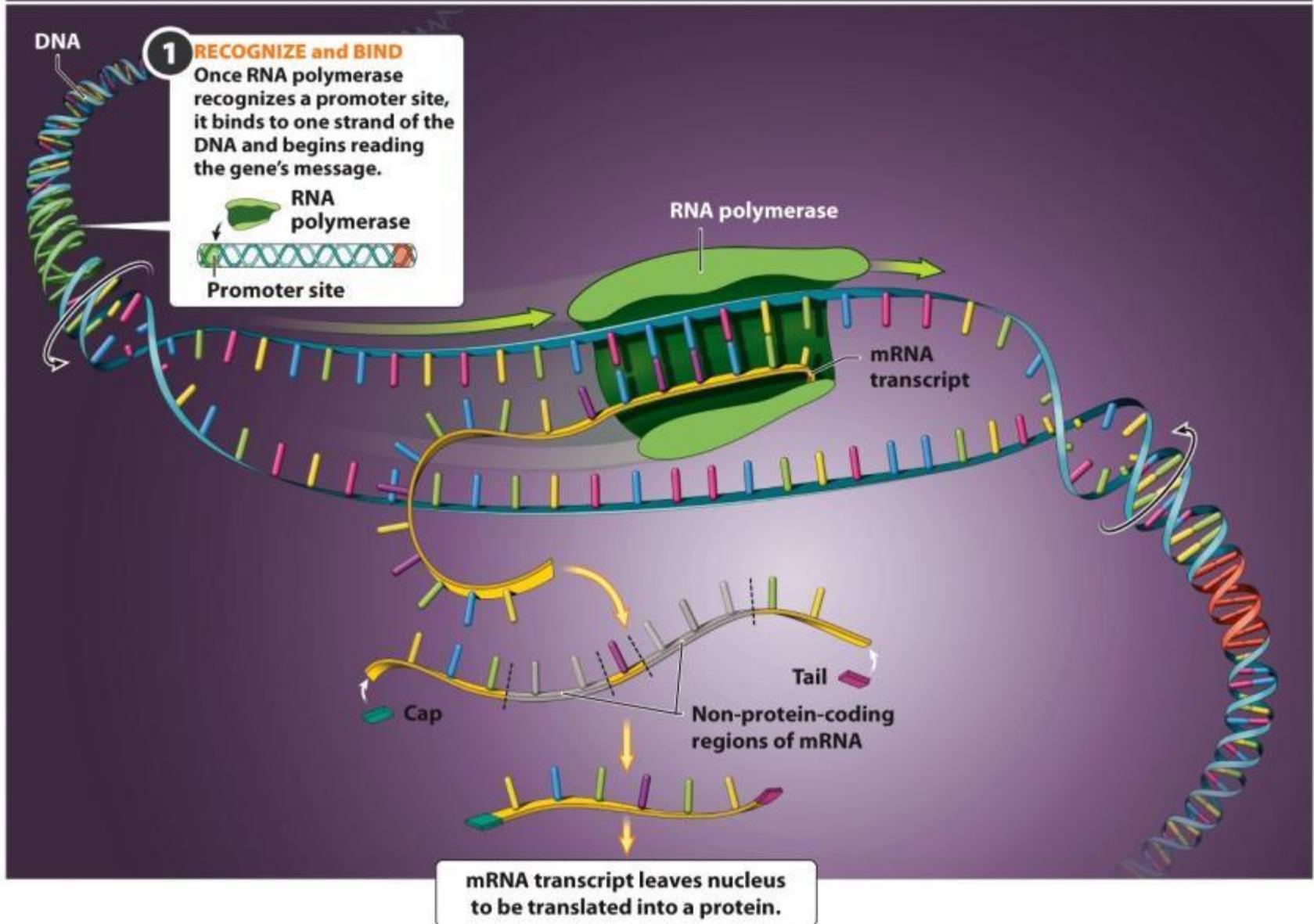
- B** Alternatively, topoisomerases could remove the supercoils. A topoisomerase capable of relaxing positive supercoils situated ahead of the advancing transcription bubble would “relax” the DNA. A second topoisomerase behind the bubble would remove the negative supercoils.

Trascrizione



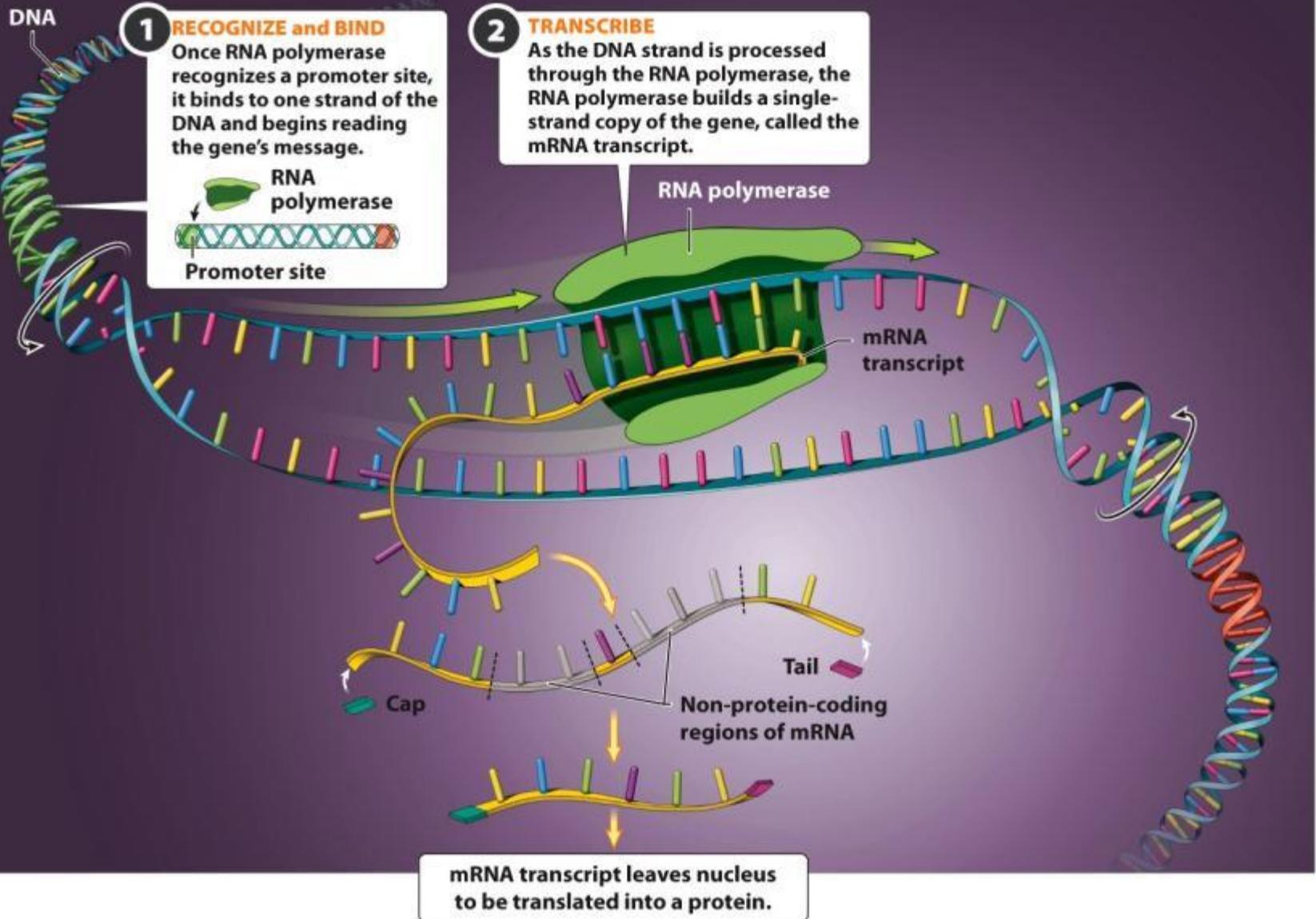
Trascrizione

TRANSCRIPTION



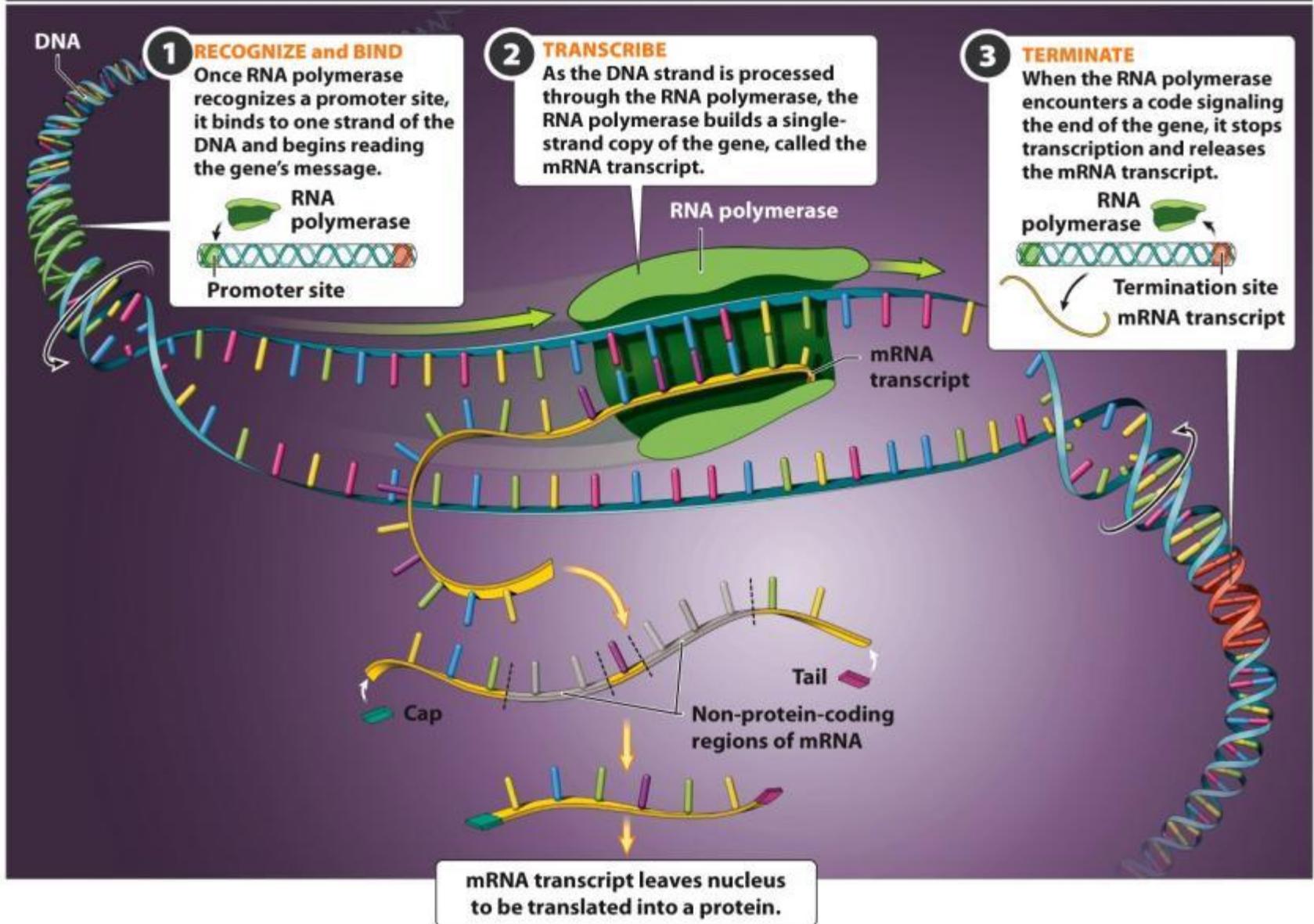
Trascrizione

TRANSCRIPTION



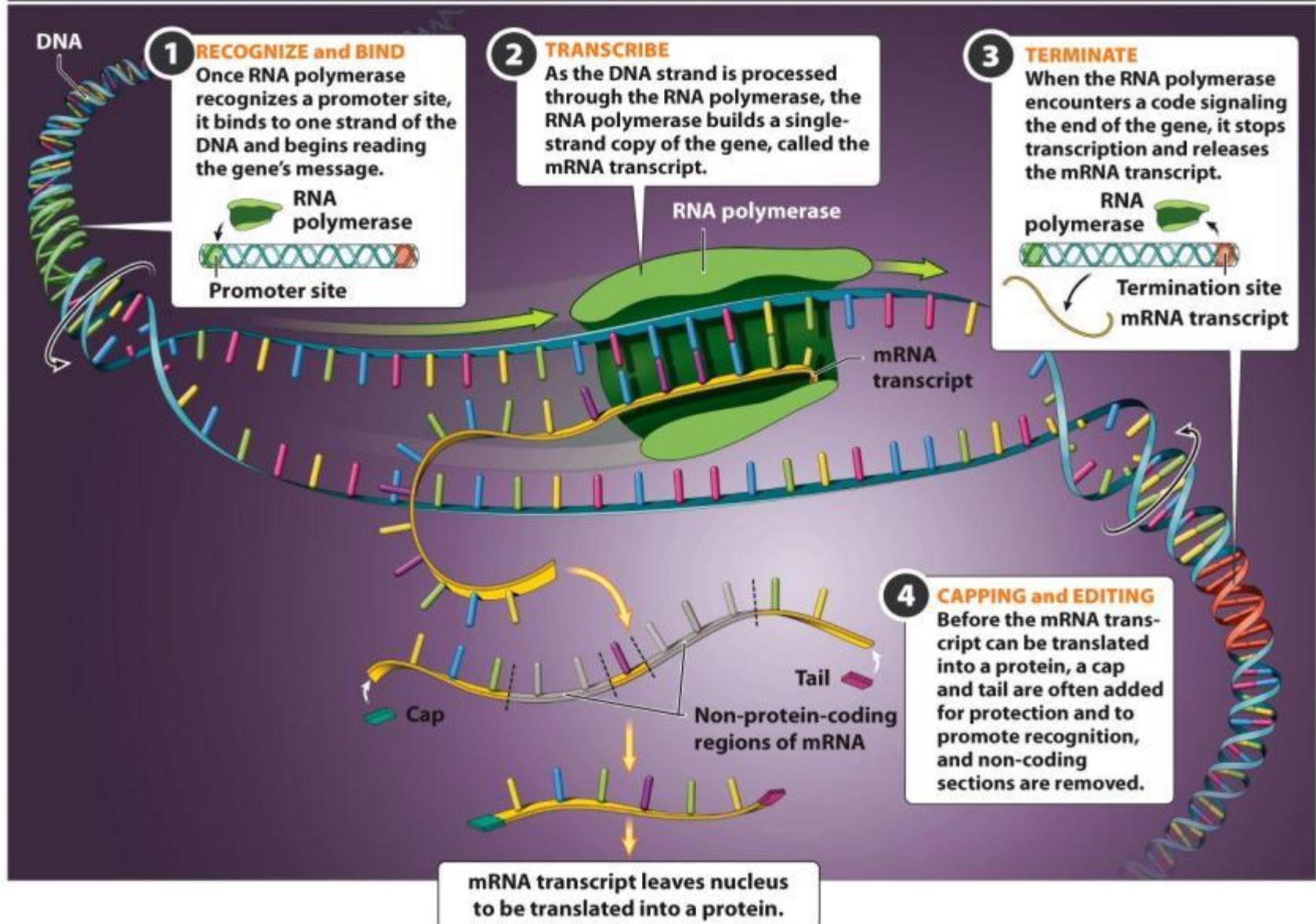
Trascrizione

TRANSCRIPTION



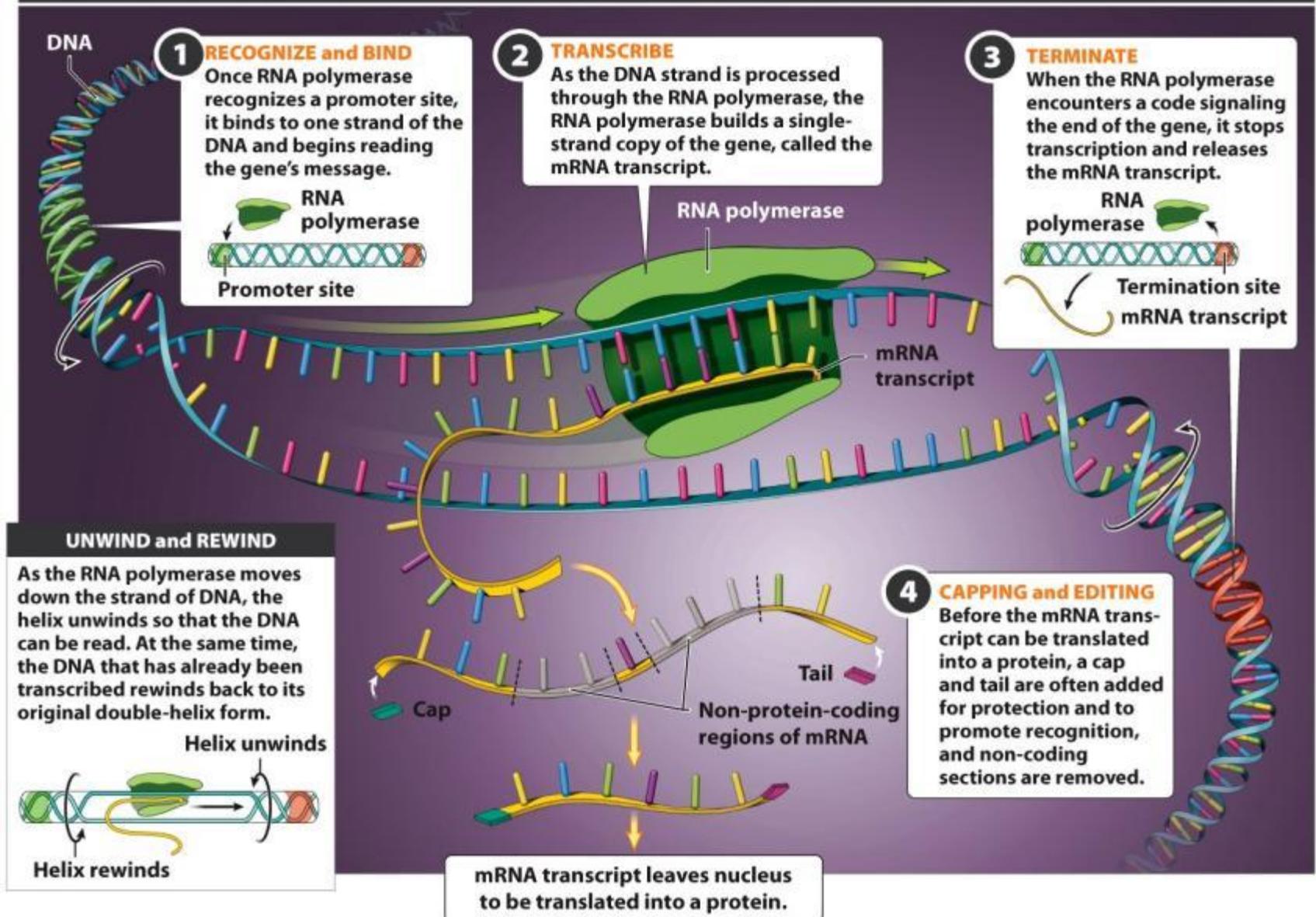
Trascrizione

TRANSCRIPTION



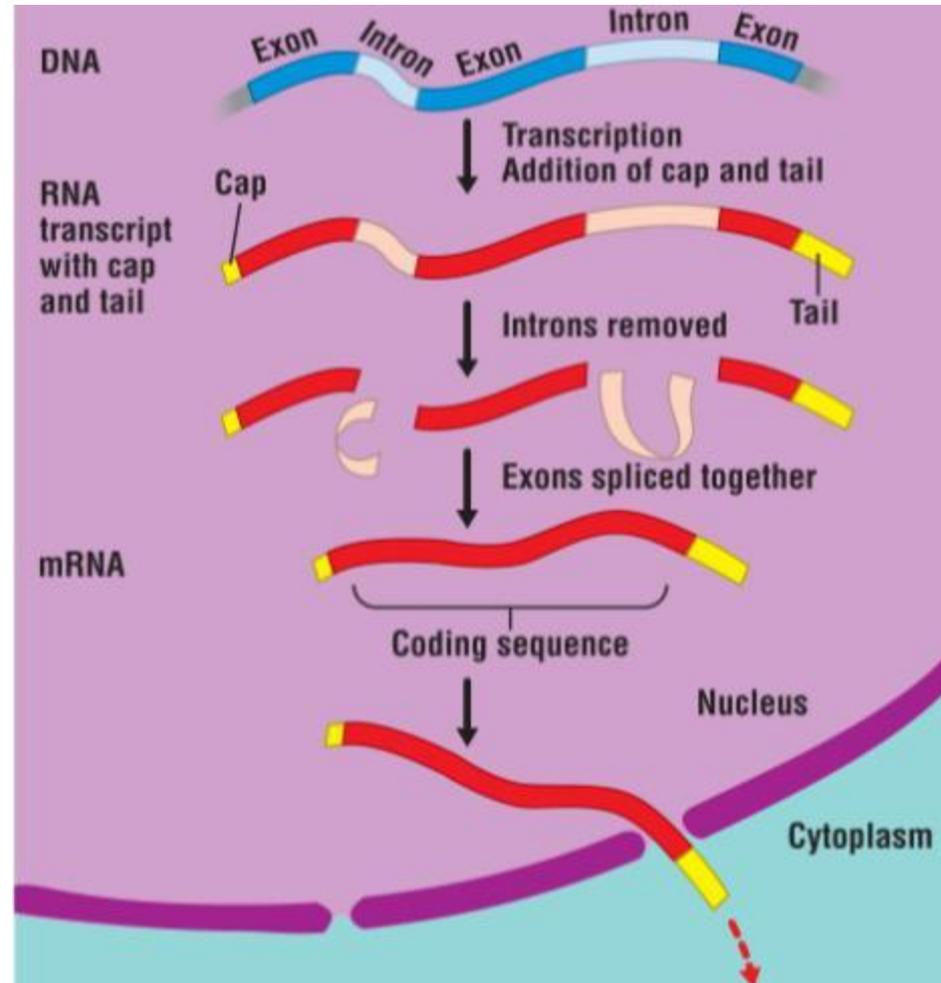
Trascrizione

TRANSCRIPTION



Trascrizione

- La cellula eucariotica processa l'mRNA dopo la trascrizione.
- Il processamento dell'mRNA include:
 - Aggiunta del “**cap site**” e della coda di **poli A**
 - Rimozione degli introni
 - Cucitura degli esoni



Caratteristiche generali della sintesi dell'RNA

Simile alla sintesi del DNA tranne per:

- I precursori sono ribonucleosidi trifosfati. Al posto della Timina viene incorporato l'Uracile.
- Solo un filamento del DNA è usato come stampo.
- Le catene dell'RNA possono essere sintetizzate “*de novo*” (non sono necessari degli inneschi).

La molecola di **RNA è complementare al filamento stampo del DNA (antisenso)** ed è identica (tranne che per l'Uracile) al filamento coding del DNA (**senso**).

La sintesi dell'RNA è catalizzata dall'RNA polimerasi e procede sempre in direzione 5'→3'.