

La lezione sulla sintesi proteica è dedicata alla memoria di
Francesca Schirinzi, studentessa del II anno di Biotecnologie
presso l'Università di Ferrara



Francesca
(5 giugno 1999 - 23 settembre 2019)

Coinvolta in un terribile incidente stradale nei pressi di Benevento in cui hanno perso la vita il fratello minore ed uno zio, Francesca è deceduta in ospedale, dopo cinque giorni di agonia

I genitori hanno deciso di donare i suoi organi, perché Francesca possa continuare a vivere in altre persone: lei **vivrà sempre** nel commosso ricordo degli amici, dei compagni di corso e dei docenti

Trascrizione e Sintesi proteica: punti fondamentali

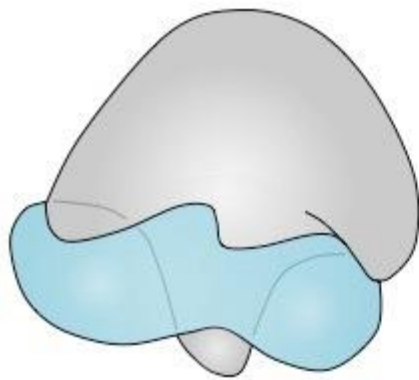
- Trascrizione del DNA in RNA
- Controllo della trascrizione e “**splicing**”
- RNA messaggero (mRNA)

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

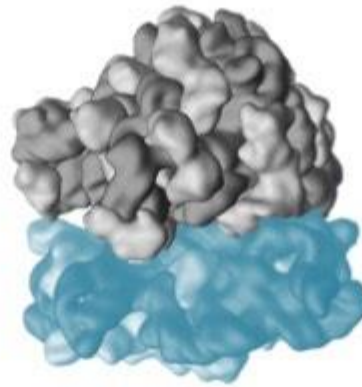
- **Ribosomi e RNA ribosomiale (rRNA)**
- Traduzione del messaggio: dagli acidi nucleici alle proteine
- Controllo pre- e post-traduzionale

Ribosomi

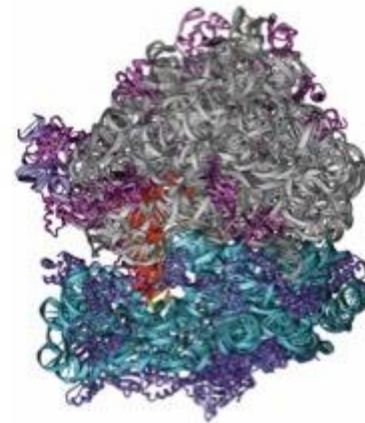
grandi “macchine molecolari” per la sintesi proteica



Simplified



Modeled (3D)



Molecular

Premio Nobel per la Chimica 2009

"for studies of the structure and function of the ribosome"

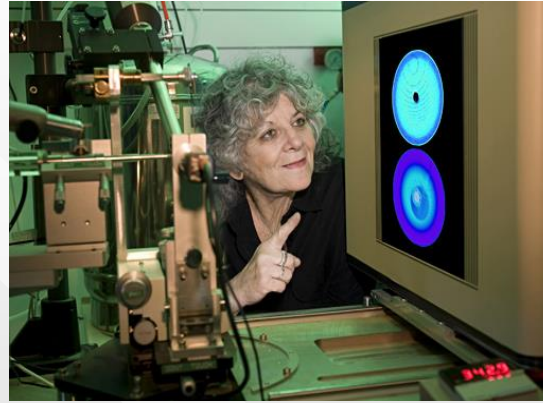


Venkatraman
Ramakrishnan

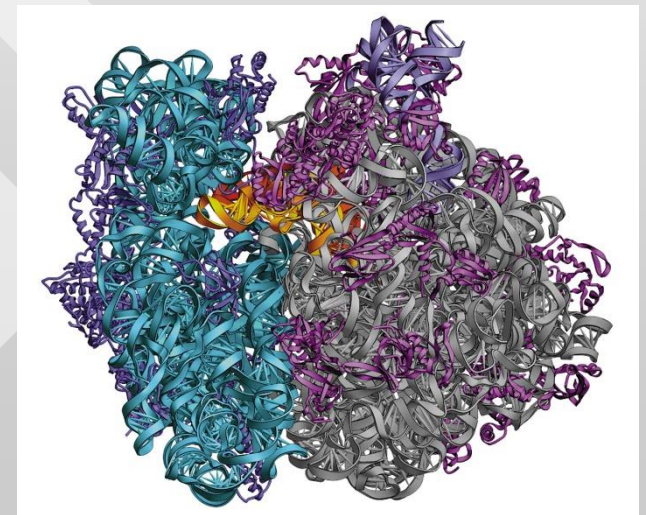
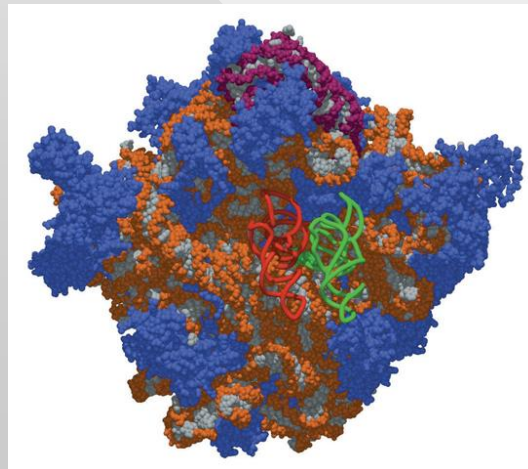
MRC Molecular Biology,
Cambridge, UK



Thomas A. Steitz
Yale University, New Haven

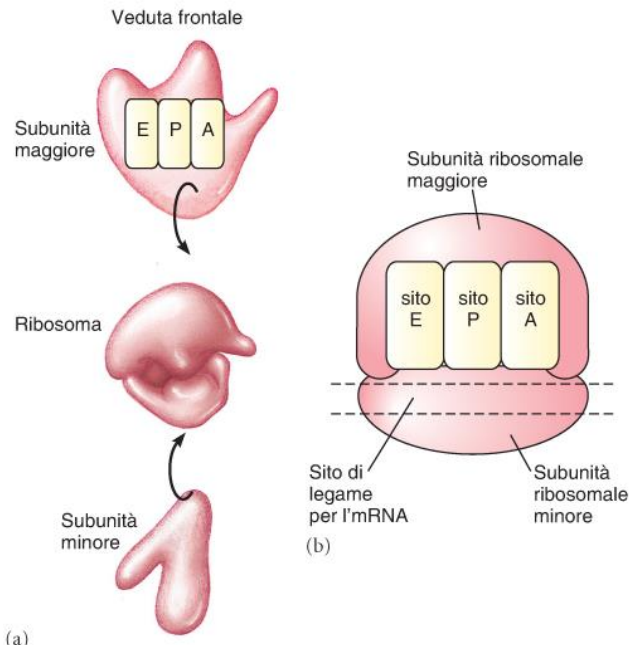
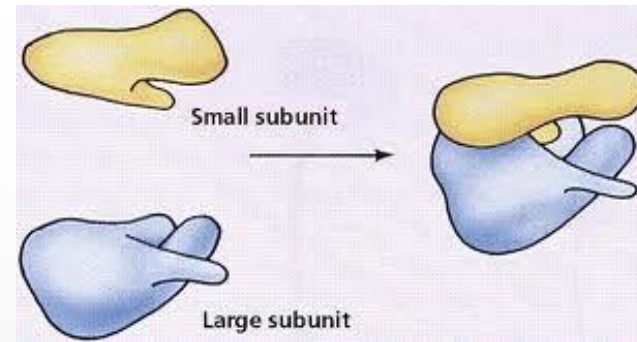


Ada E. Yonath
Weizmann Institute, Israel



Fonte:
<https://www.nobelprize.org>

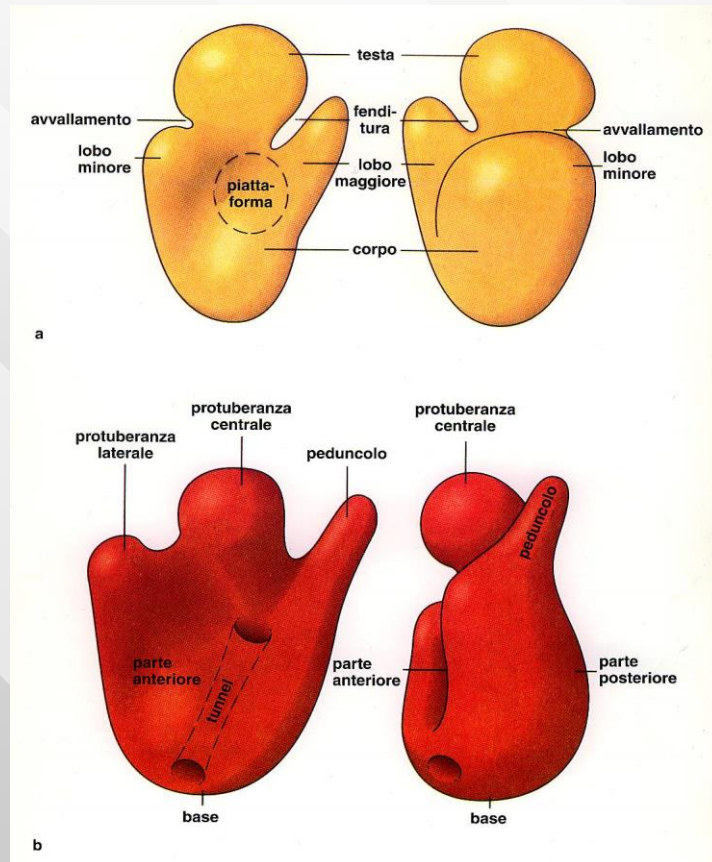
Il ribosoma, grande macchina molecolare per la sintesi proteica



(a)

FIGURA 12-10 Struttura del ribosoma.

(a) Questo modello di ribosoma è basato su ricostruzioni tridimensionali di immagini al microscopio elettronico. Un ribosoma è formato da due subunità, una maggiore ed una minore. (b) L'mRNA passa attraverso uno spazio presente tra le due subunità ribosomali. Ciascun ribosoma contiene tre siti di legame (i siti A, P ed E) che hanno un ruolo importante nella sintesi proteica.

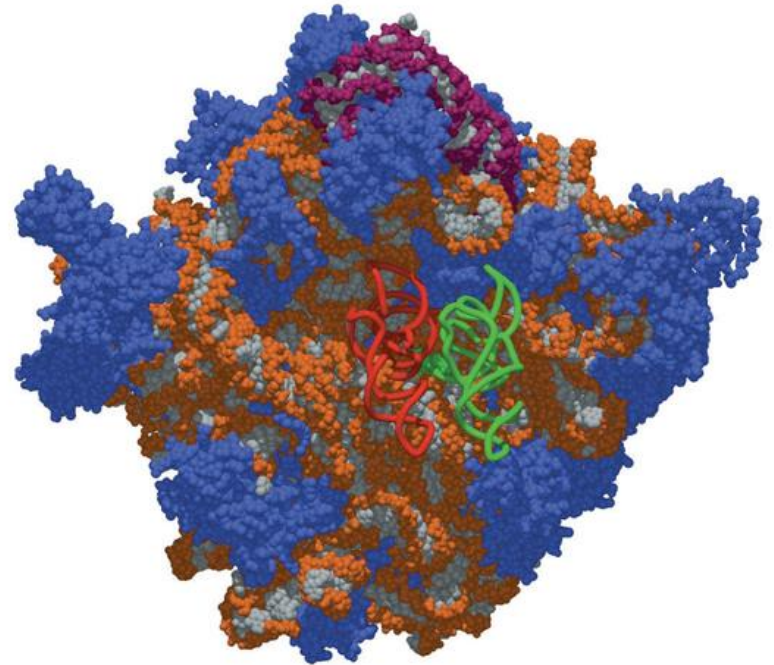
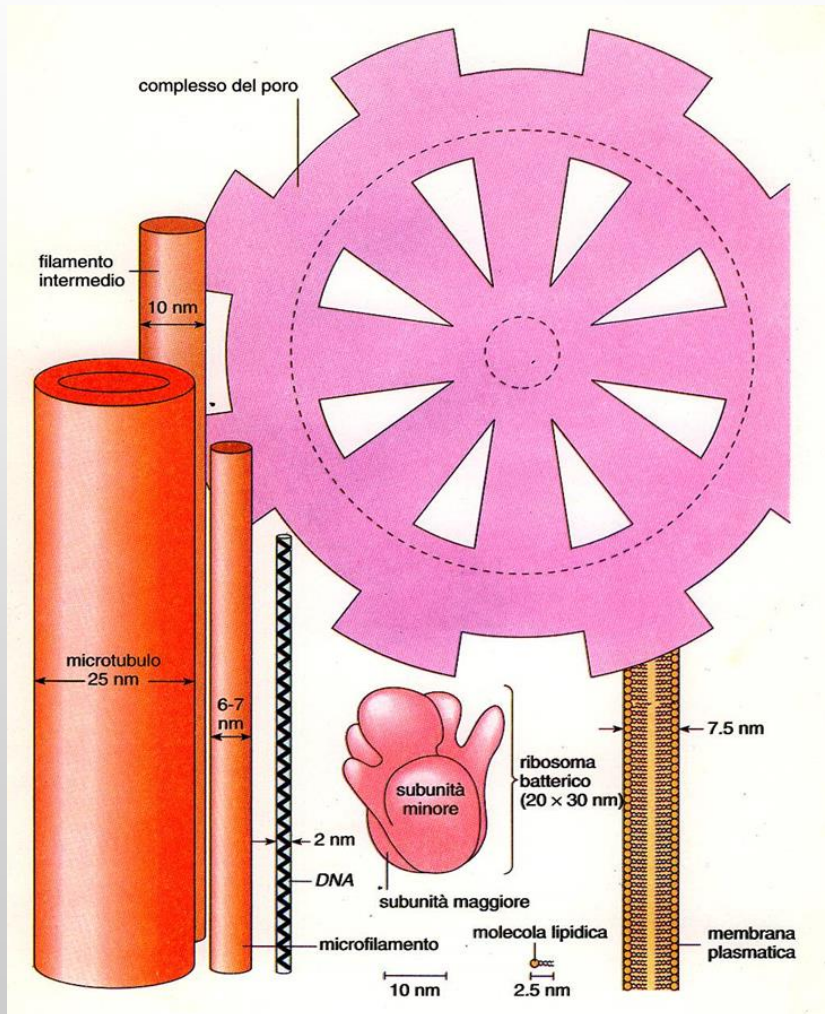


a

b

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

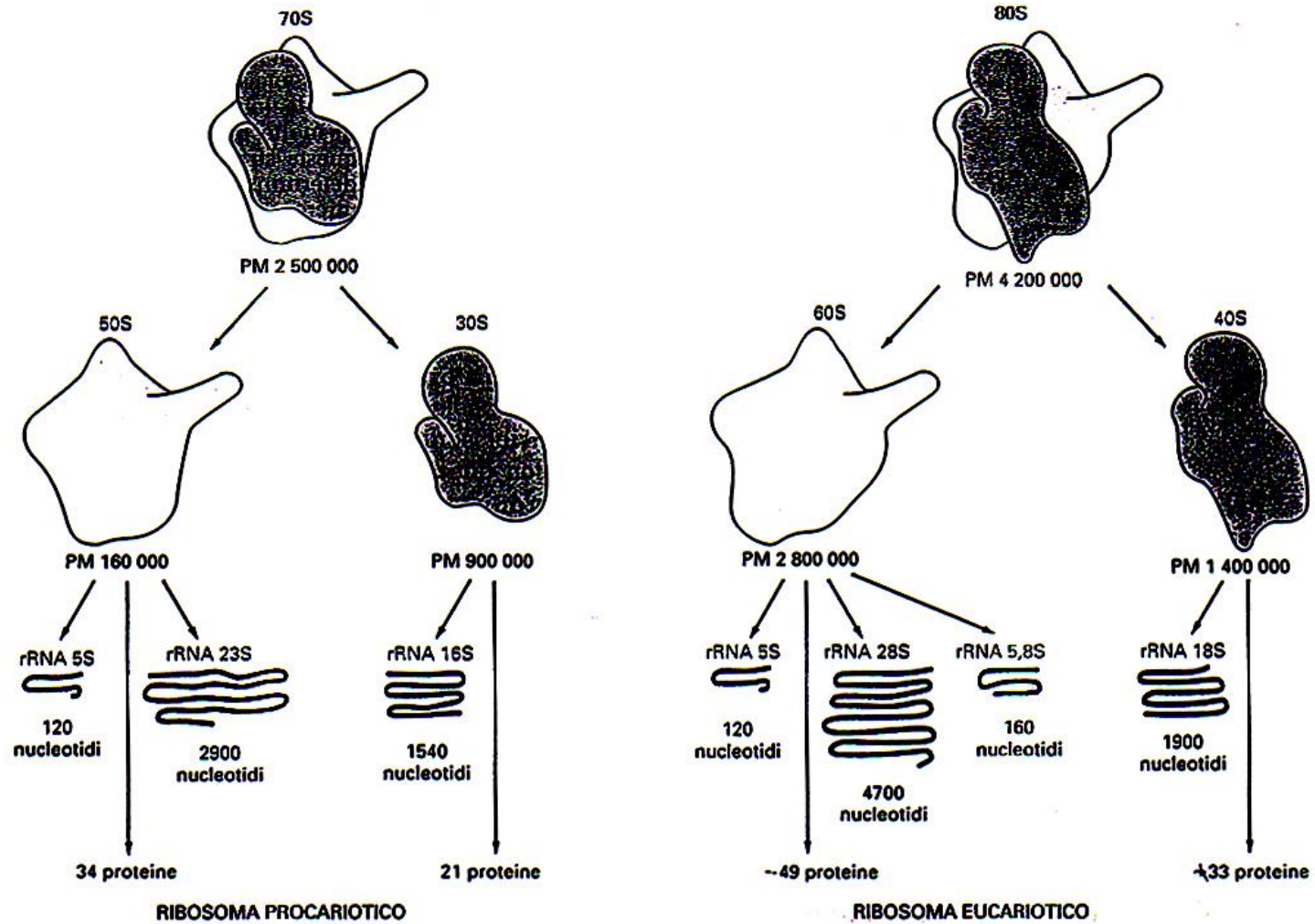
Dimensioni del ribosoma in paragone ad altre strutture cellulari



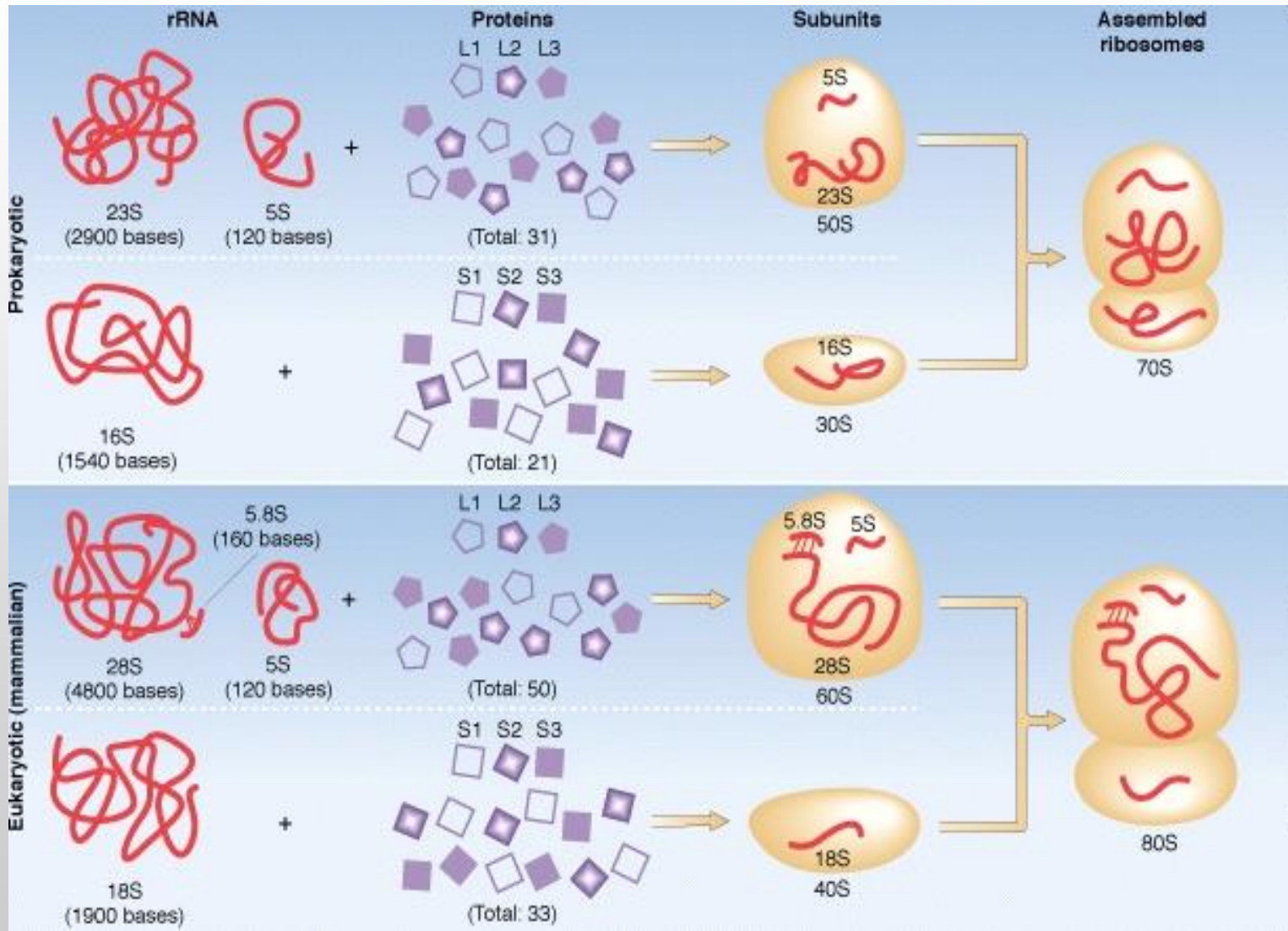
Modello molecolare del ribosoma con tRNA legati nel sito P e nel sito A

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

Ribosomi dei **Procarioti (70 S)** e degli **Eucarioti (80 S)**



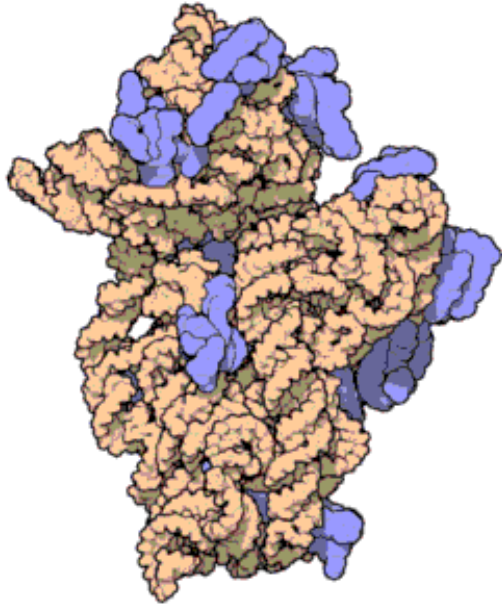
Composizione dettagliata in rRNA e proteine dei ribosomi procariotici ed eucariotici



Procaroti
(70 S)

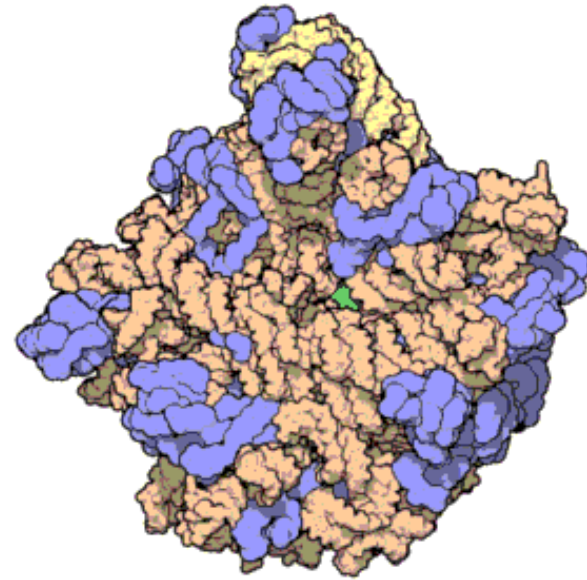
Eucarioti
(80 S)

Relazioni tra rRNA e proteine nel ribosoma batterico 70 S:
gli **rRNA sono indicati in rosa**, le **proteine in blu** e il **sito attivo in verde**



Subunità 30S dell'archeobatterio termofilo *Thermus thermophilus*

Fonte: Wimbley et al., Nature 407: 327-339, 2000



Subunità 50S dell'archeobatterio iperalofilo *Haloarcula marismortui*

Fonte: Ban et al., Science 289: 905-920, 2000



La ricina, un veleno per i ribosomi

- La ricina è una **tossina molto velenosa** estratta dai **semi della pianta di ricino** (*Ricinus communis* L.)
- Se iniettata o inalata, la quantità letale per gli umani è **22 µg / Kg**
- E' una **lectina** (proteina che lega i carboidrati) **dimerica** costituita da una catena A (Ricin Toxin A, RTA), lunga 267 amminoacidi, e da una catena B (Ricin Toxin B, RTB), lunga 262 amminoacidi: **le due proteine sono poco tossiche quando sono separate, ma insieme sono mortali**
- RTB taglia RTA, liberando un sito attivo e trasformando RTA in una **N-glicosilasi che taglia irreversibilmente il 28S rRNA**, bloccando l'attività di allungamento della catena polipeptidica da parte del ribosoma

La ricina è in grado di disattivare **1500 ribosomi al minuto**,
bloccando la sintesi proteica e uccidendo l'individuo esposto in 3-4 giorni

E' stata purtroppo impiegata in omicidi a sfondo politico e in progetti di attentati terroristici (che finora, grazie al Cielo, **non risulta siano mai stati realizzati**)



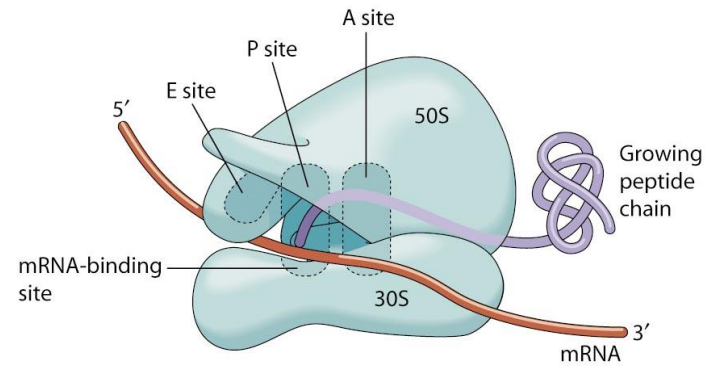
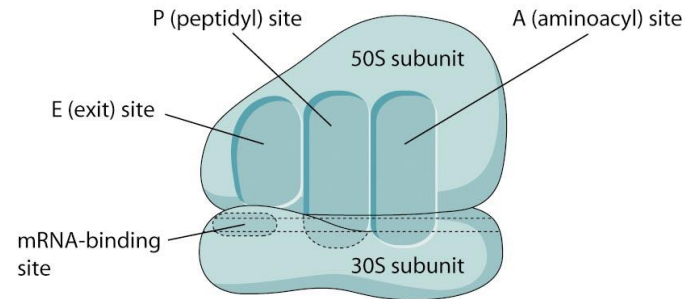
Ricinus communis

Magnoliophyta Euphorbiaceae



Fonte:
<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com>

Ribosoma e mRNA



Copyright © 2009 Pearson Education, Inc.

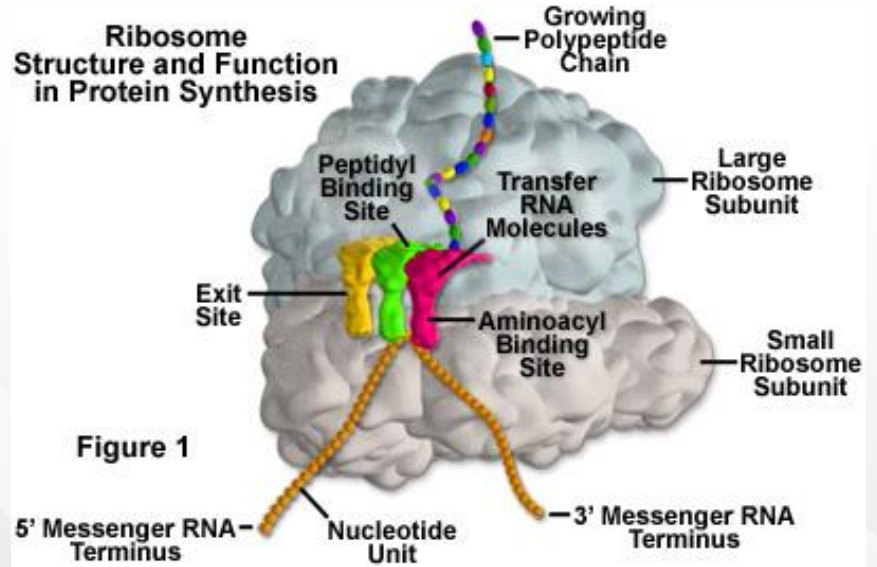
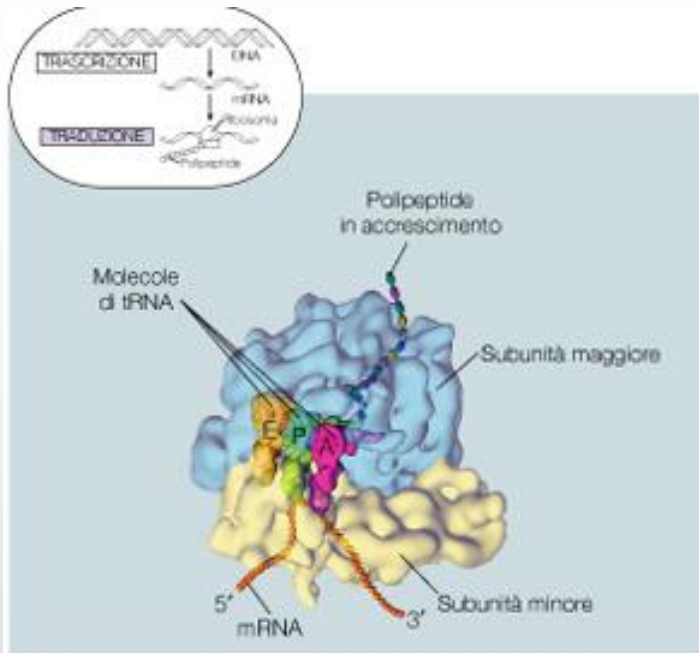


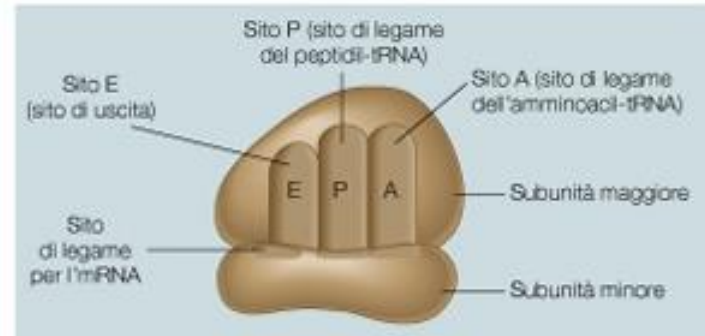
Figure 1



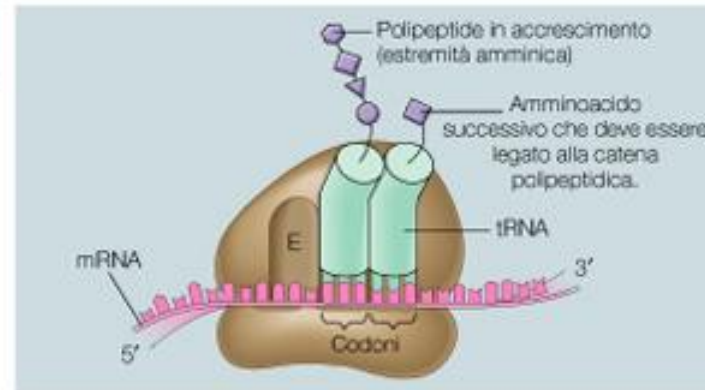
Interazioni tra ribosoma, tRNA e mRNA



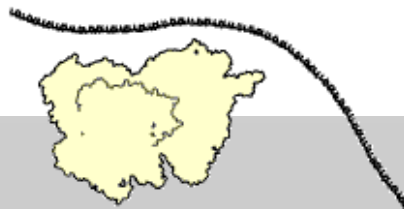
(a) Modello elaborato al computer di un ribosoma funzionale. Questo è un modello del ribosoma batterico che ne mostra la forma complessiva. Il ribosoma eucariotico è molto simile. Un'unità ribosomiale è un aggregato di molecole di RNA e proteine.



(b) Modello schematico che mostra i siti di legame. Un ribosoma possiede un sito di legame per l'mRNA e tre per il tRNA, noti come siti P, A ed E. Questa immagine schematica del ribosoma comparirà più avanti in altri disegni.



(c) Modello schematico con mRNA e tRNA legati. Un tRNA si adatta al proprio sito di legame quando l'anticodone si appaia con un codone di mRNA. Il sito P contiene il tRNA legato al polipeptide in accrescimento. Il sito A contiene il tRNA che trasporta l'amminoacido successivo che deve essere legato alla catena polipeptidica. Il tRNA scaricato abbandona il ribosoma attraverso il sito E.



Trascrizione e Sintesi proteica: punti fondamentali

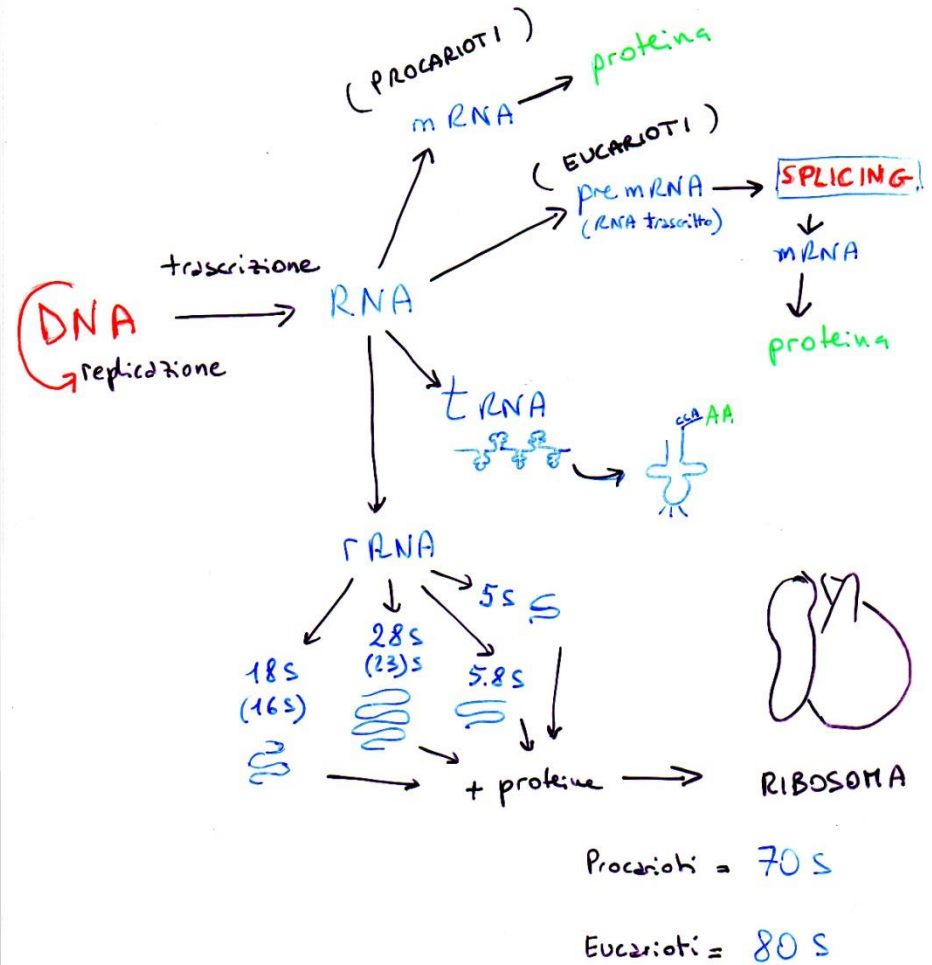
- Trascrizione del DNA in RNA
- Controllo della trascrizione e “**splicing**”
- RNA messaggero (mRNA)

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

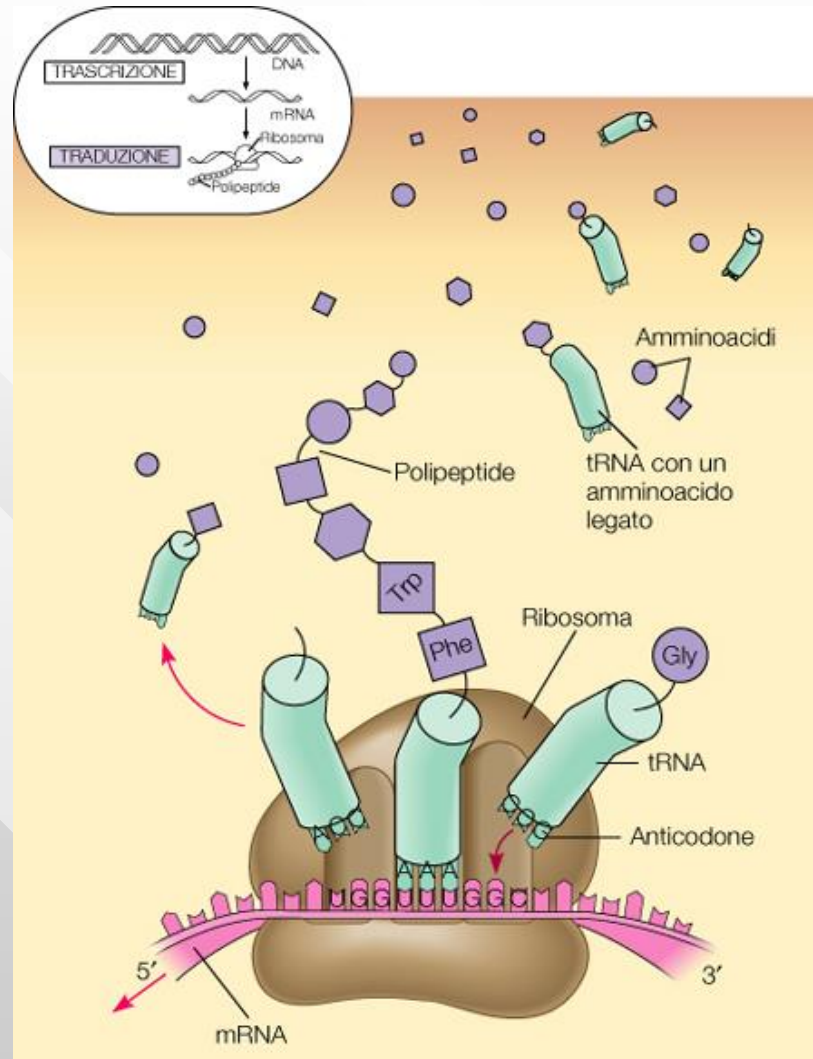
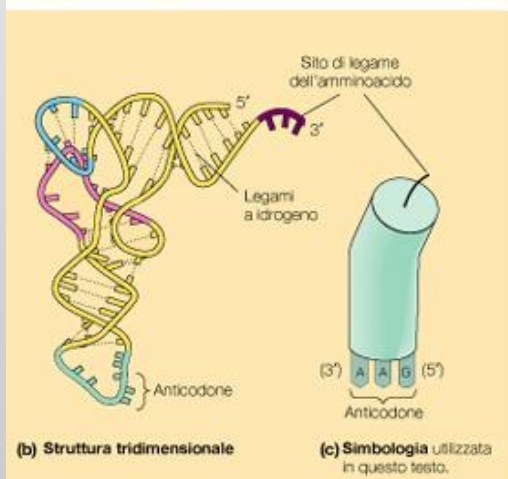
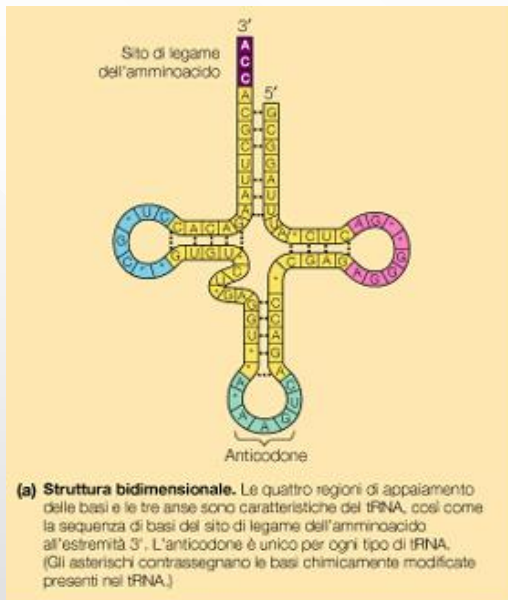
- Ribosomi e RNA ribosomiale (rRNA)
- **Traduzione del messaggio: dagli acidi nucleici alle proteine**
- Controllo pre- e post-traduzionale

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

DNA → RNA → proteina

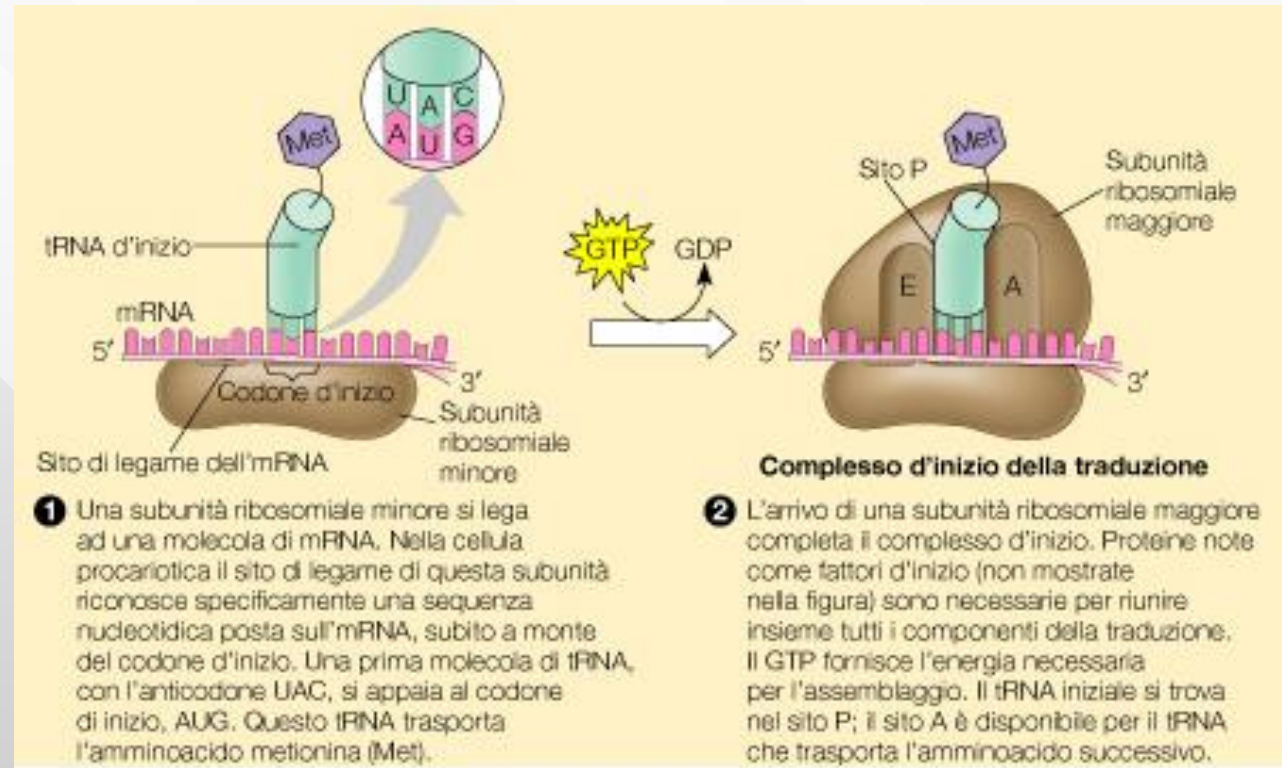
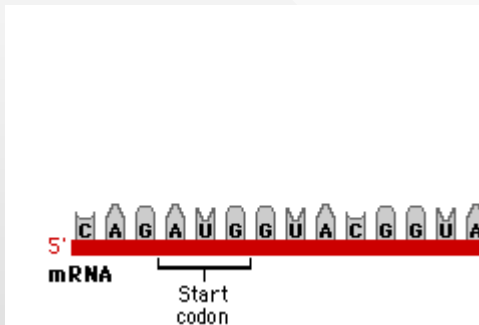


Appaiamento tra l'*anticodon* (anticodone) nel tRNA e il *codon* (codone) nell'mRNA



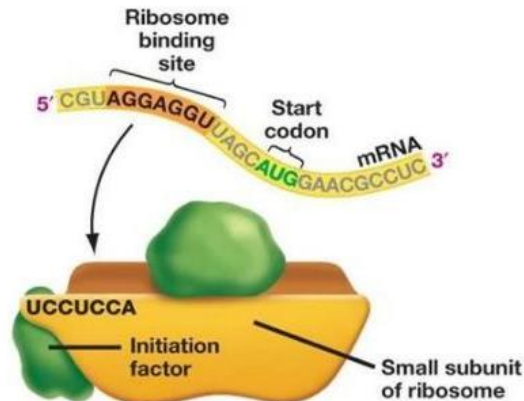
Traduzione del messaggio (“Translation”)

Inizio della sintesi proteica



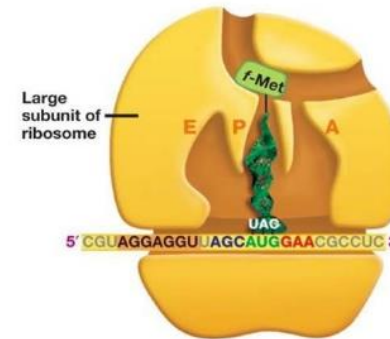
Inizio della traduzione: differenze tra Procarioti ed Eucarioti

Shine-Dalgarno sequence



1. mRNA binds to small subunit of ribosome.

- The initiation factors (IF1 and IF3) gets released and the resulting complex is called **the initiation complex**.



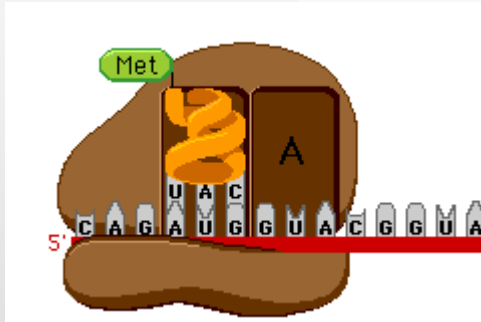
3. Large subunit binds.

Nei Procarioti la subunità minore del ribosoma si lega tramite il proprio 16 S rRNA ad una sequenza AGGAGG dell'mRNA (detta **sequenza di Shine-Dalgarno**), situata da 4 a 7 basi a monte del codon di inizio AUG: l'appaiamento tra le due sequenze (una di rRNA e l'altra di mRNA) allinea il codon AUG al sito P

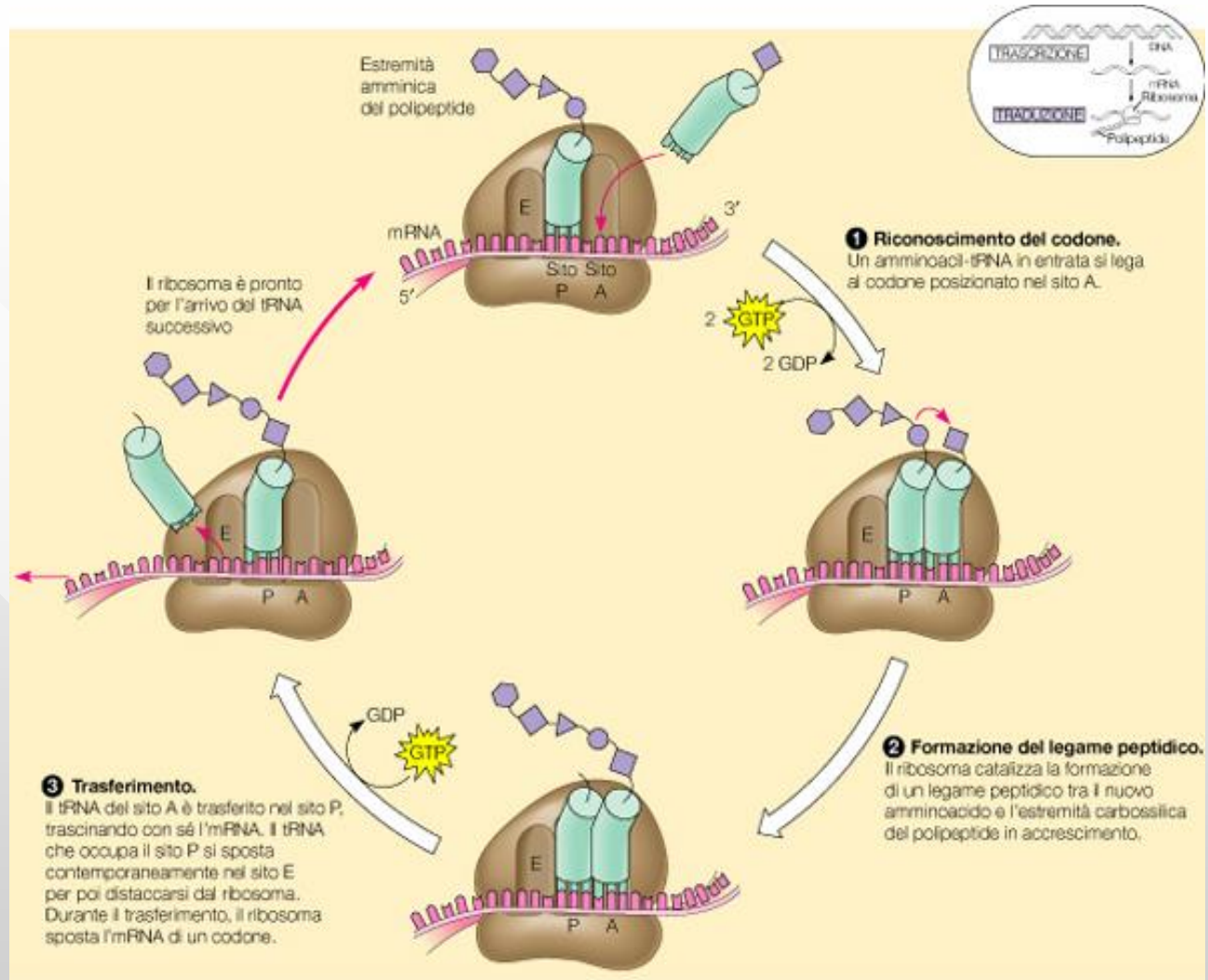
La sequenza fu descritta per la prima volta dagli scienziati australiani John Shine e Lynn Dalgarno nel 1973

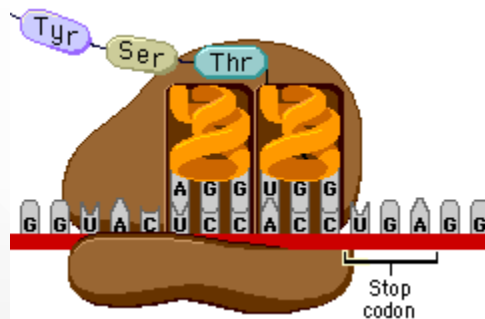
Negli Eucarioti la subunità minore **si lega al "5' cap" dell'mRNA** e si sposta lungo l'mRNA fino ad incontrare il codon AUG di inizio

Fase di allungamento del polipeptide

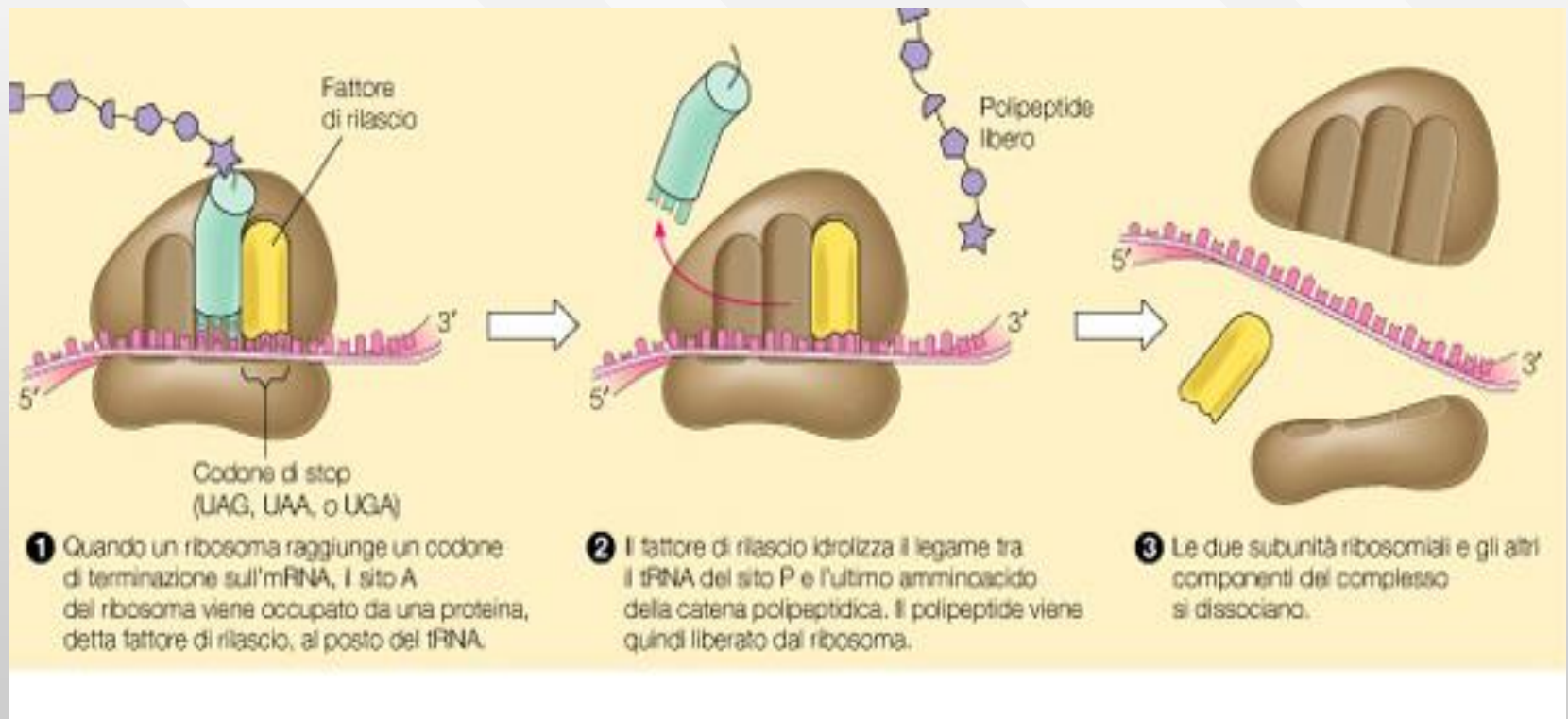


La subunità maggiore del ribosoma catalizza la formazione del legame peptidico tra l'amminoacido nel sito P e l'amminoacido nel sito A (**attività peptidil transferasica**)

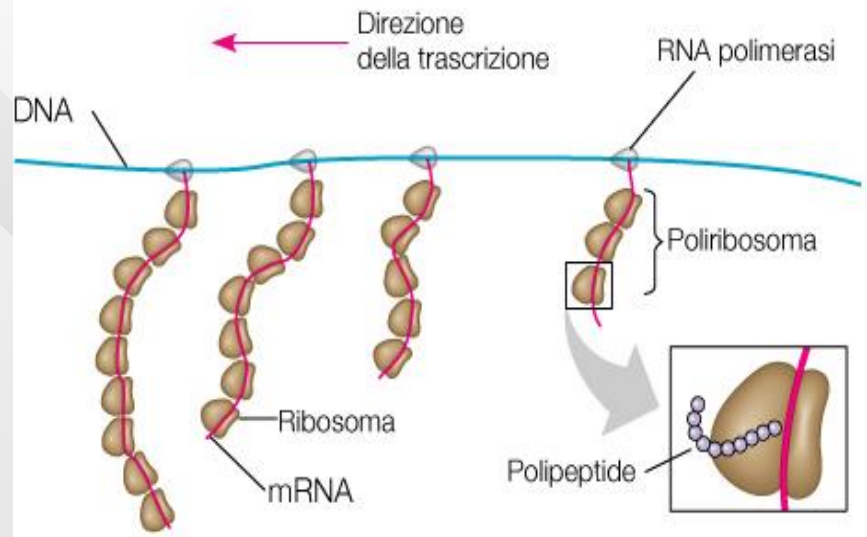
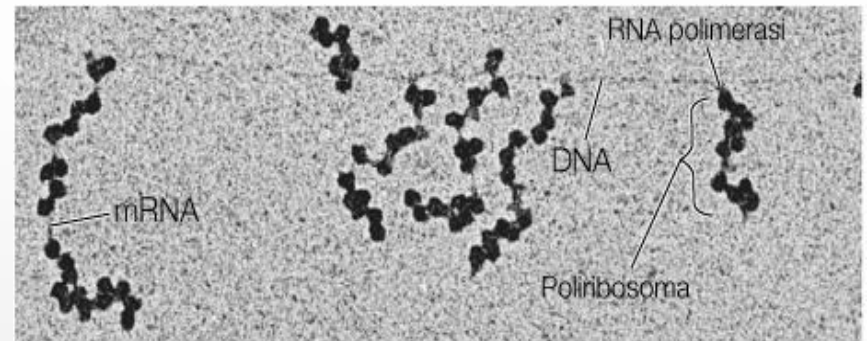
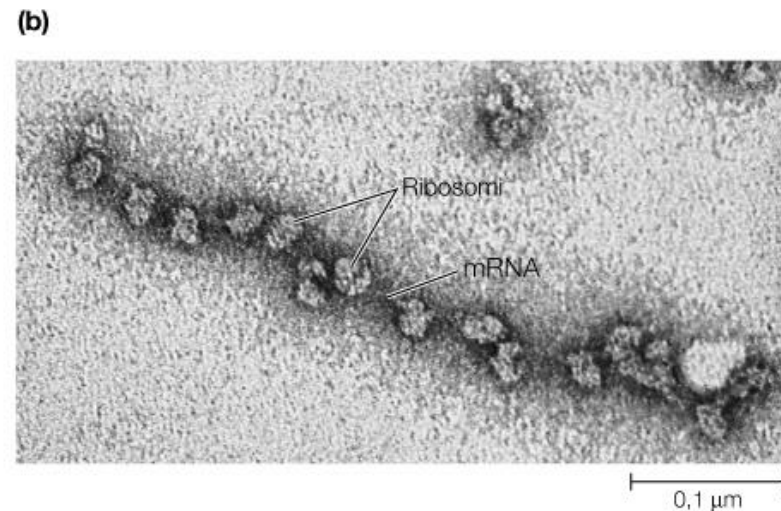
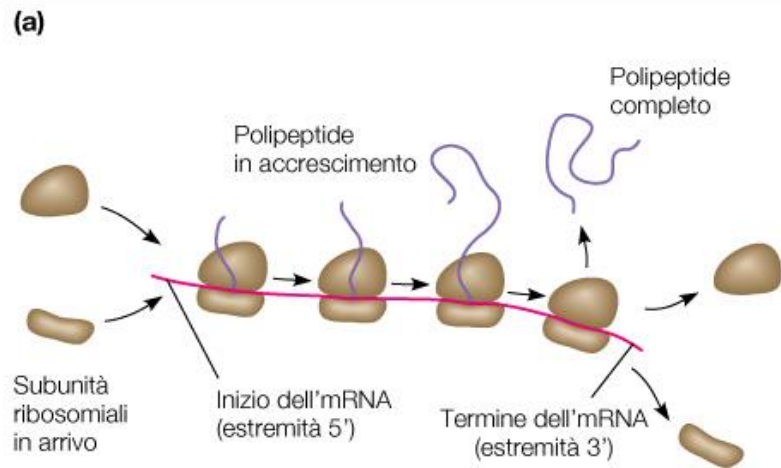




Fase di terminazione della traduzione:
i **codoni di STOP** (UAG, UAA o UGA)



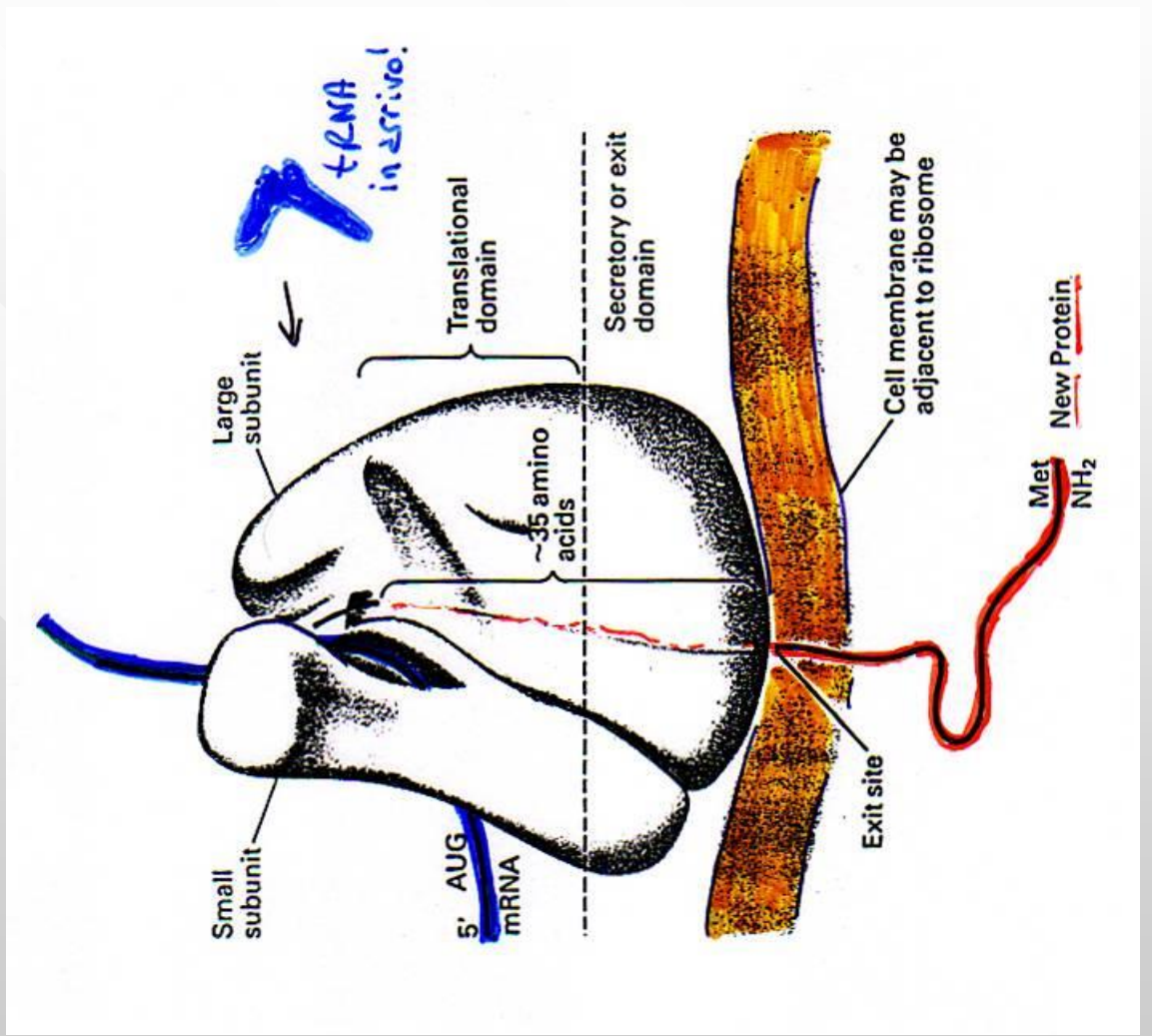
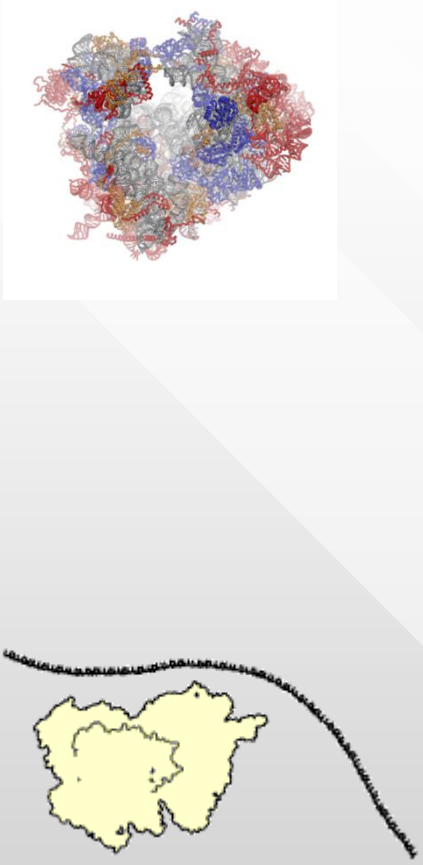
Il ribosoma procariotico al lavoro



Nei Procarioti la trascrizione e la traduzione avvengono simultaneamente nel citoplasma

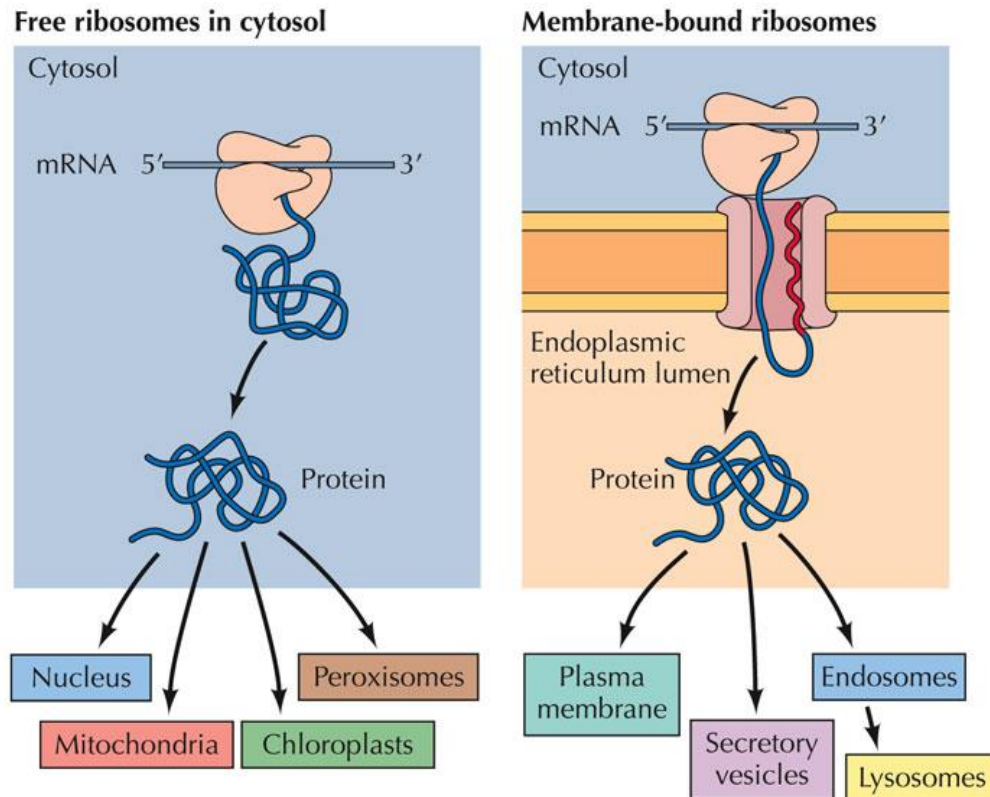
Fonti: Sadava et al., 2014, 2019; Alberts et al., 2002

Il ribosoma eucariotico agganciato al reticolo endoplasmatico



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

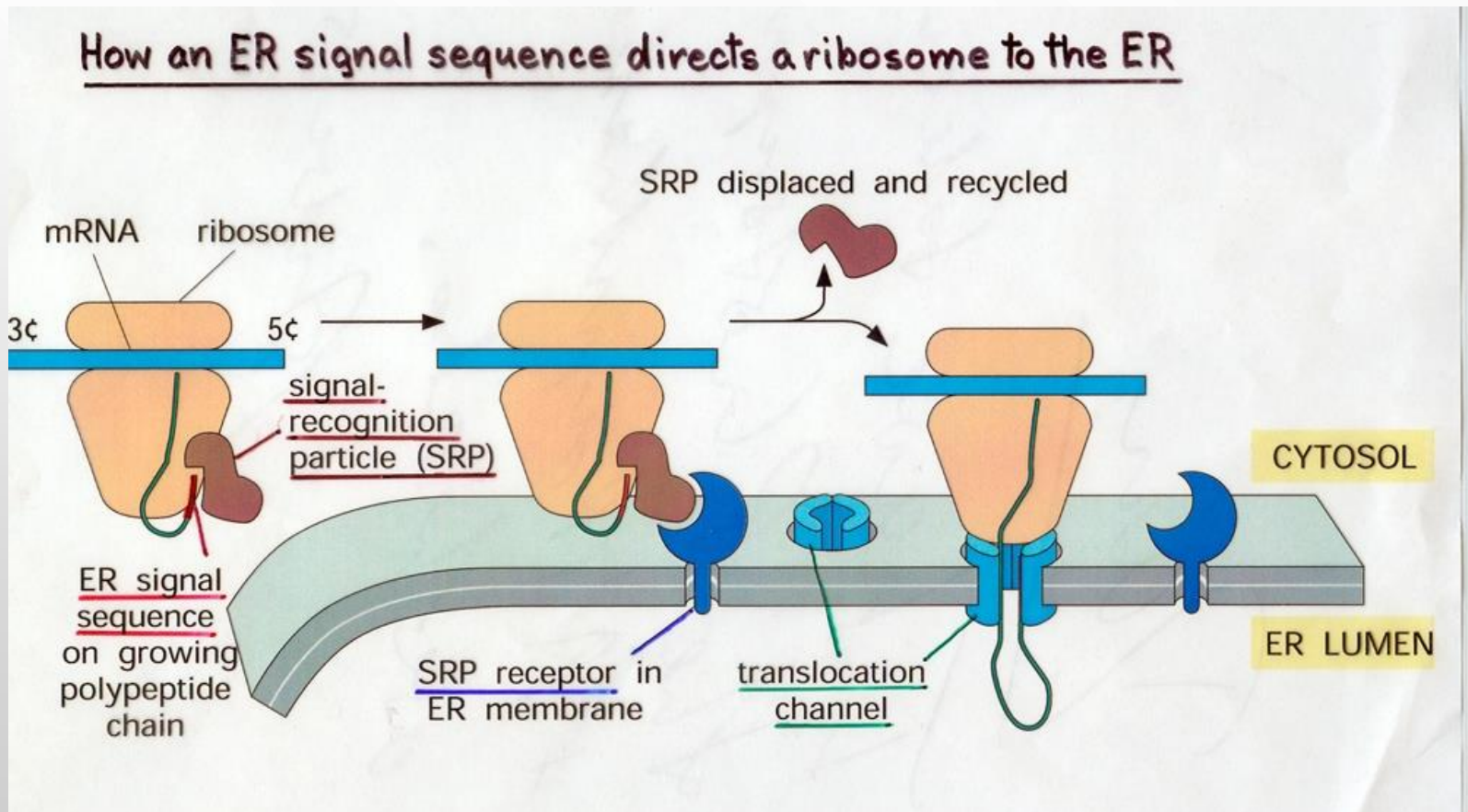
A seconda della destinazione della proteina, il ribosoma eucariotico può funzionare sia libero nel citoplasma, sia in associazione alle membrane del reticolo endoplasmatico



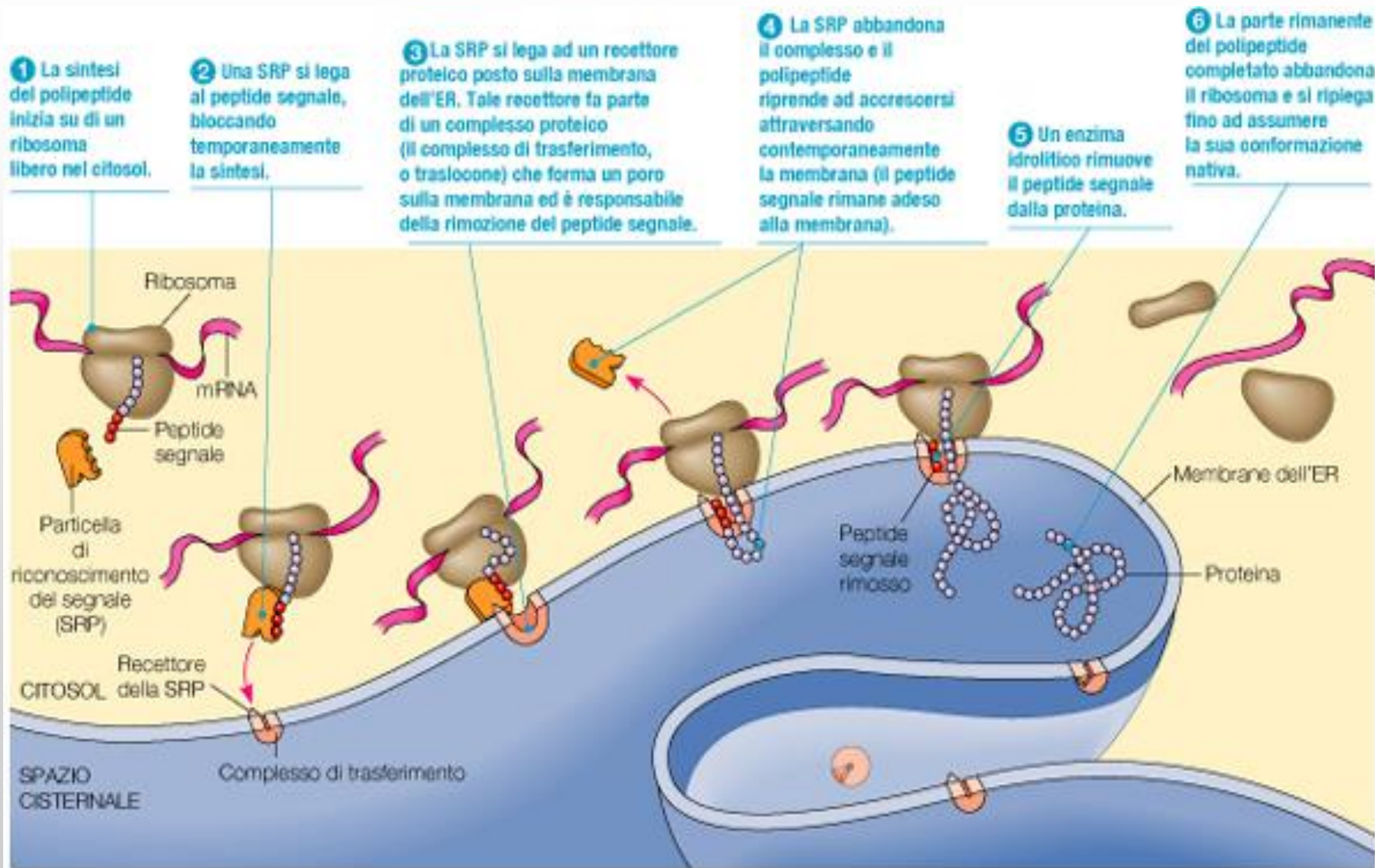
THE CELL, Fourth Edition, Figure 10.3 © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

Quando funziona in stretta associazione con il reticolo endoplasmatico, al termine della sintesi proteica il ribosoma inserisce la proteina neosintetizzata nel lume del reticolo

Il ribosoma si aggancia al reticolo endoplasmatico tramite una **proteina di riconoscimento** (“signal recognition particle”, **SRP**)



Come il ribosoma eucariotico inserisce le proteine neosintetizzate nel reticolo endoplasmatico: il ruolo del **peptide segnale**



Riassunto generale dell'espressione genica negli Eucarioti: trascrizione e traduzione (sintesi proteica)

