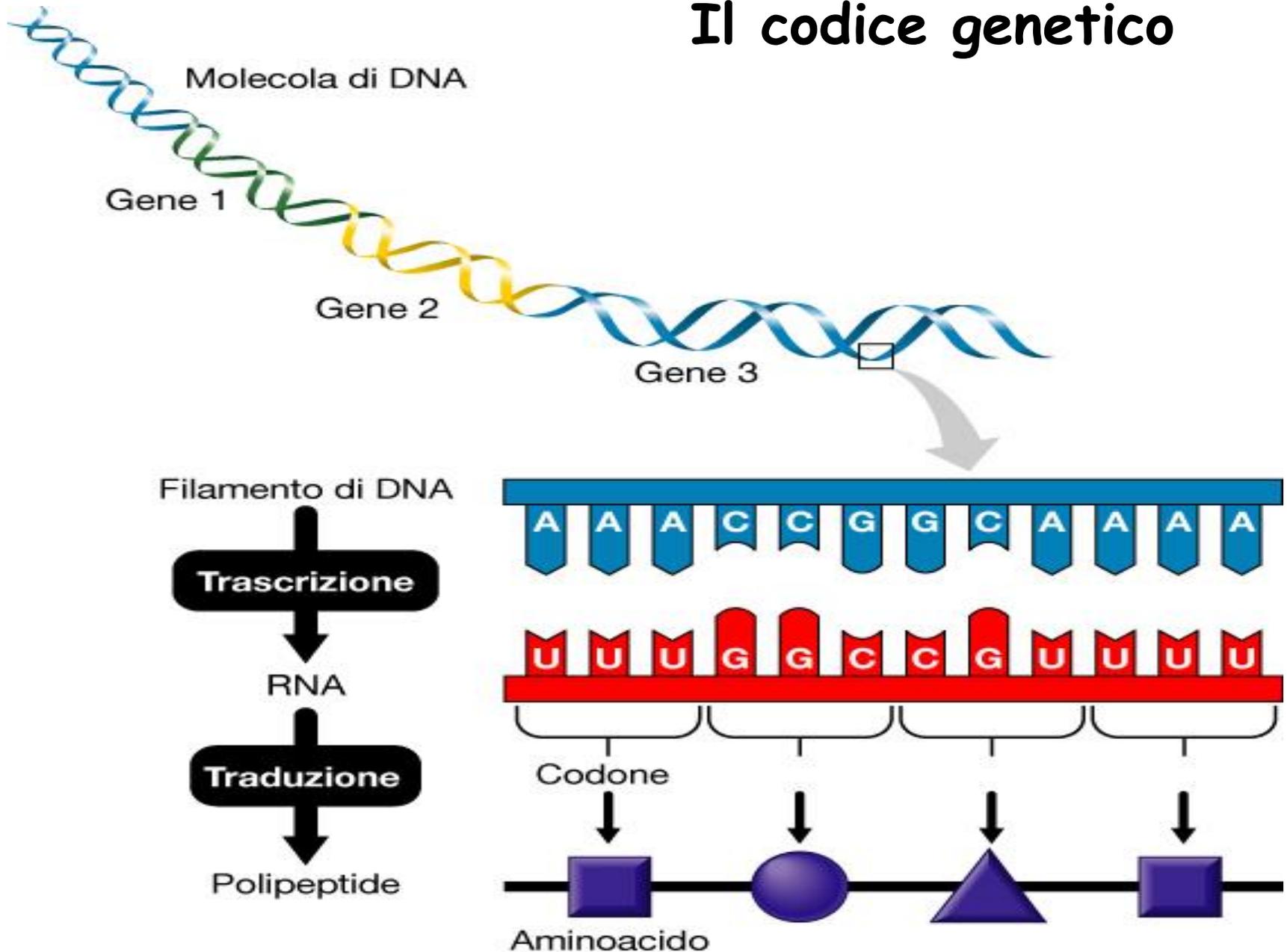


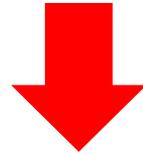
Il codice genetico



20 aminoacidi

RNA alfabeto di 4 lettere (A, C, G, U)

Parole di 1 lettera	4 combinazioni = 4 possibilità
Parole di 2 lettere	4^2 combinazioni = 16 possibilità
Parole di 3 lettere	4^3 combinazioni = 64 possibilità



Il codice di lettura è a triplette

Una tripletta → un aminoacido

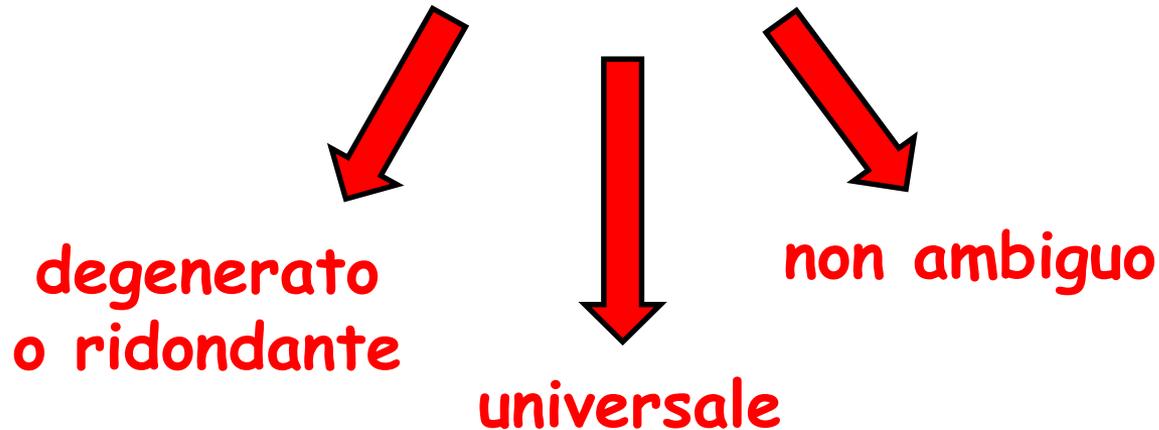
Le 64 combinazioni dei codoni presenti sull'RNA

		Seconda lettera				
		U	C	A	G	
Prima lettera (estremità 5')	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 o start	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

 = Codone di stop (di terminazione)

 = Codone di start (di inizio)

Il codice genetico è costituito dall'insieme dei codoni per gli aminoacidi e per i segnali di inizio e di termine della sintesi proteica



Esperimento di Nirenberg e Matthay (1961)

L'ESPERIMENTO

IPOSTESI: una tripletta basata su codoni contenenti tre basi codifica gli amminoacidi.

METODO

Si prepara un estratto batterico contenente tutte le componenti necessarie per produrre le proteine meno l'mRNA.



+

+

+

Si aggiunge mRNA artificiale formato da una sola base azotata ripetuta.



RISULTATI

Il polipeptide prodotto è formato da un singolo amminoacido.



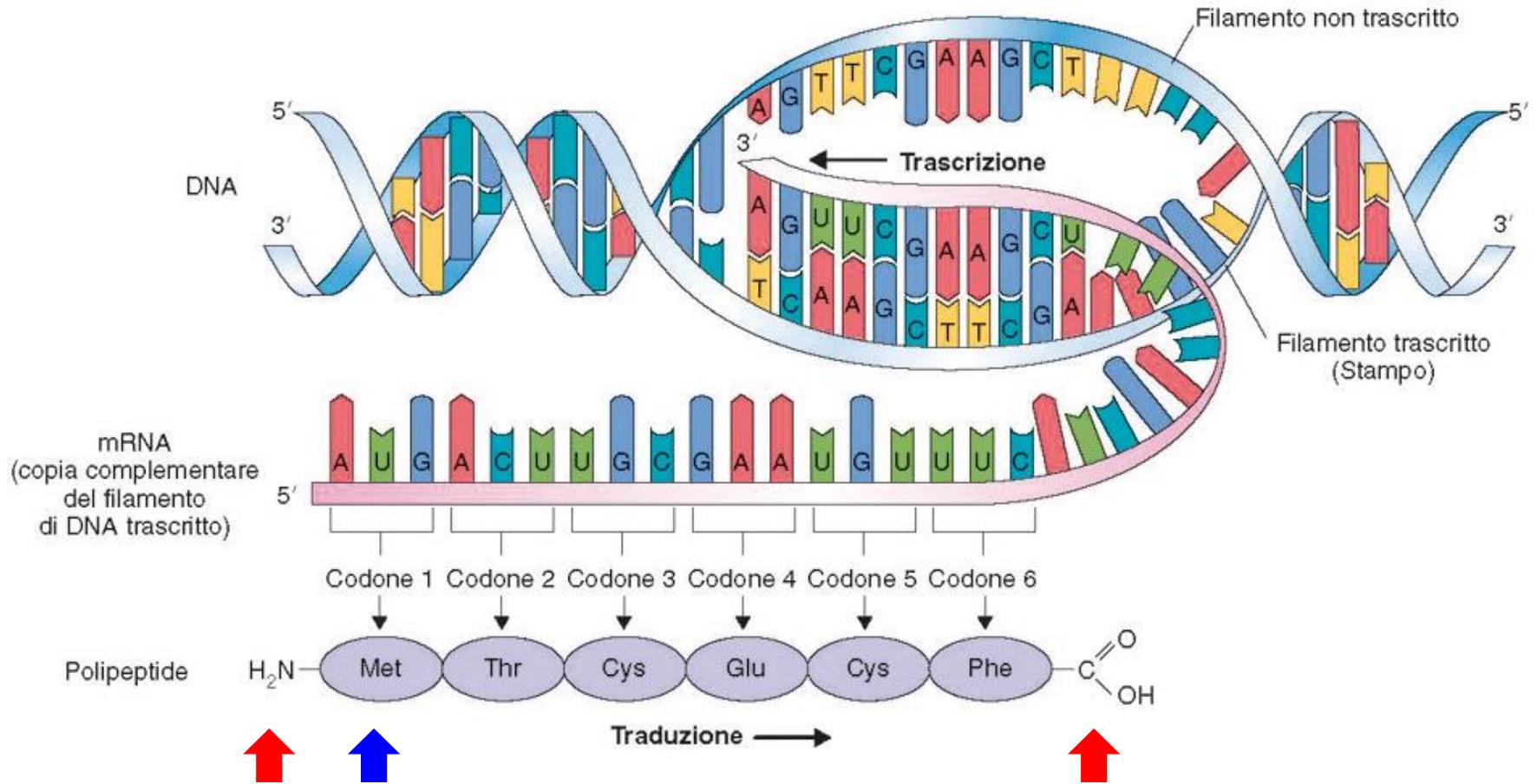
CONCLUSIONI: UUU è un codone di mRNA per la fenilalanina. AAA è un mRNA per la lisina, CCC è un mRNA per la prolina.

Diversi modi di lettura dei codoni



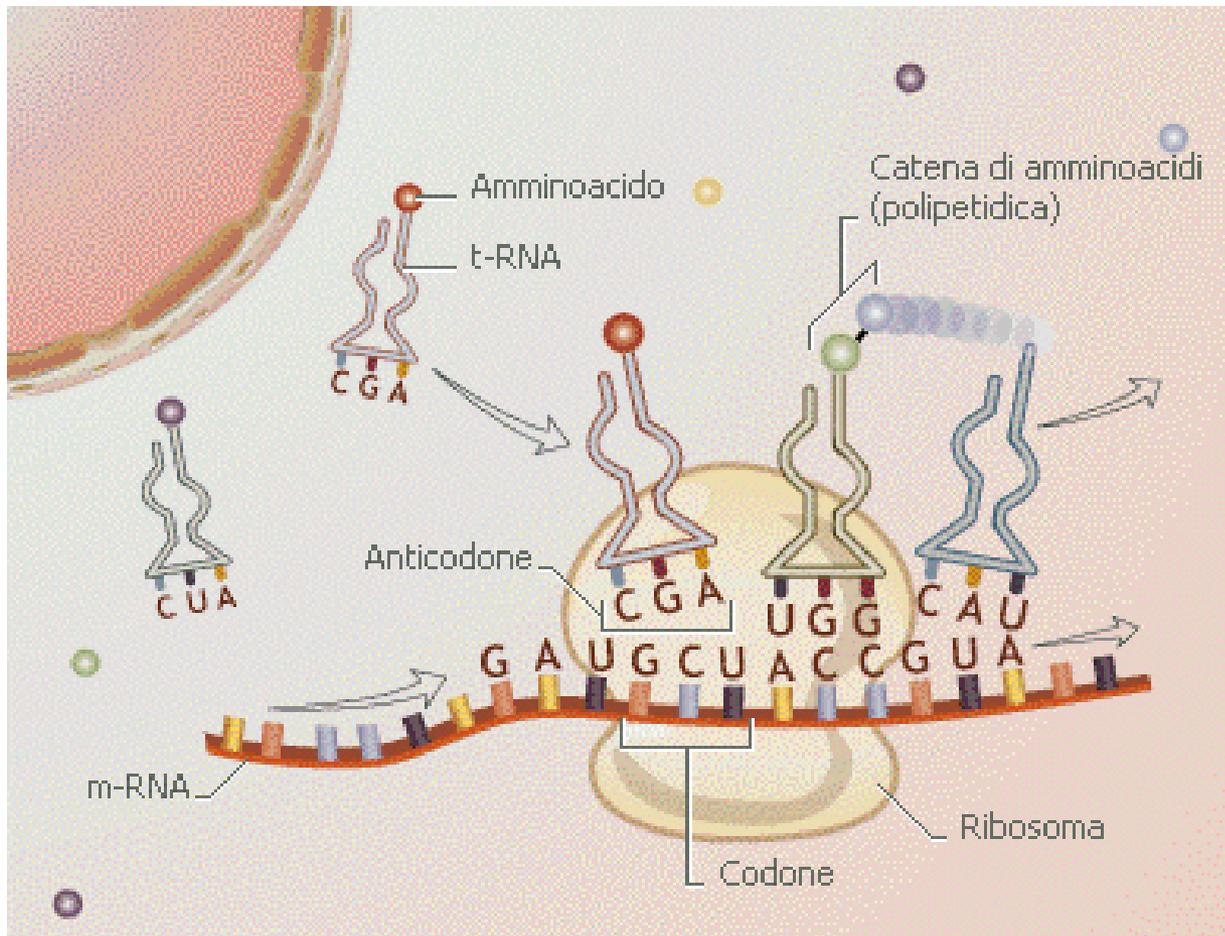
**Sintesi proteica
o
Traduzione**

L' RNA messaggero, **mRNA**, porta il messaggio dal DNA ai ribosomi per formare le proteine ➡ traduzione



I protagonisti della traduzione:

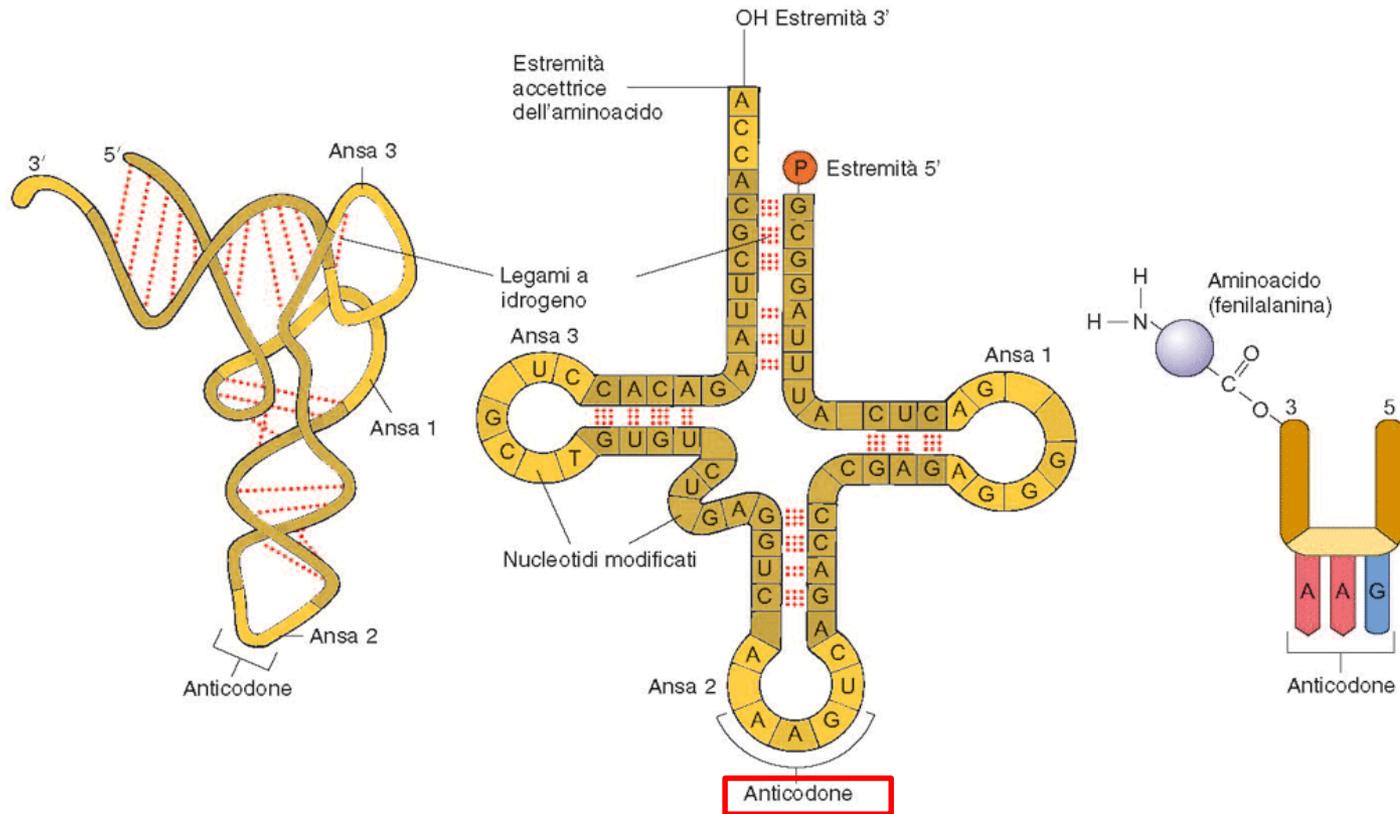
1. mRNA
2. Ribosomi
3. tRNA
4. Numerose proteine (fattori di traduzione)



Struttura generale dei ribosomi degli eucarioti e dei procarioti

	Procarioti	Eucarioti
Ribosomi assemblati	70 S	80 S
Subunita' maggiore	50 S	60 S
Subunita' minore	30 S	40 S
Proteine della subunita' maggiore	31	50
Proteine della subunita' minore	21	33
RNA ribosomiale	23 S 16 S e 5 S	28 S 18 S 5,8S e 5S

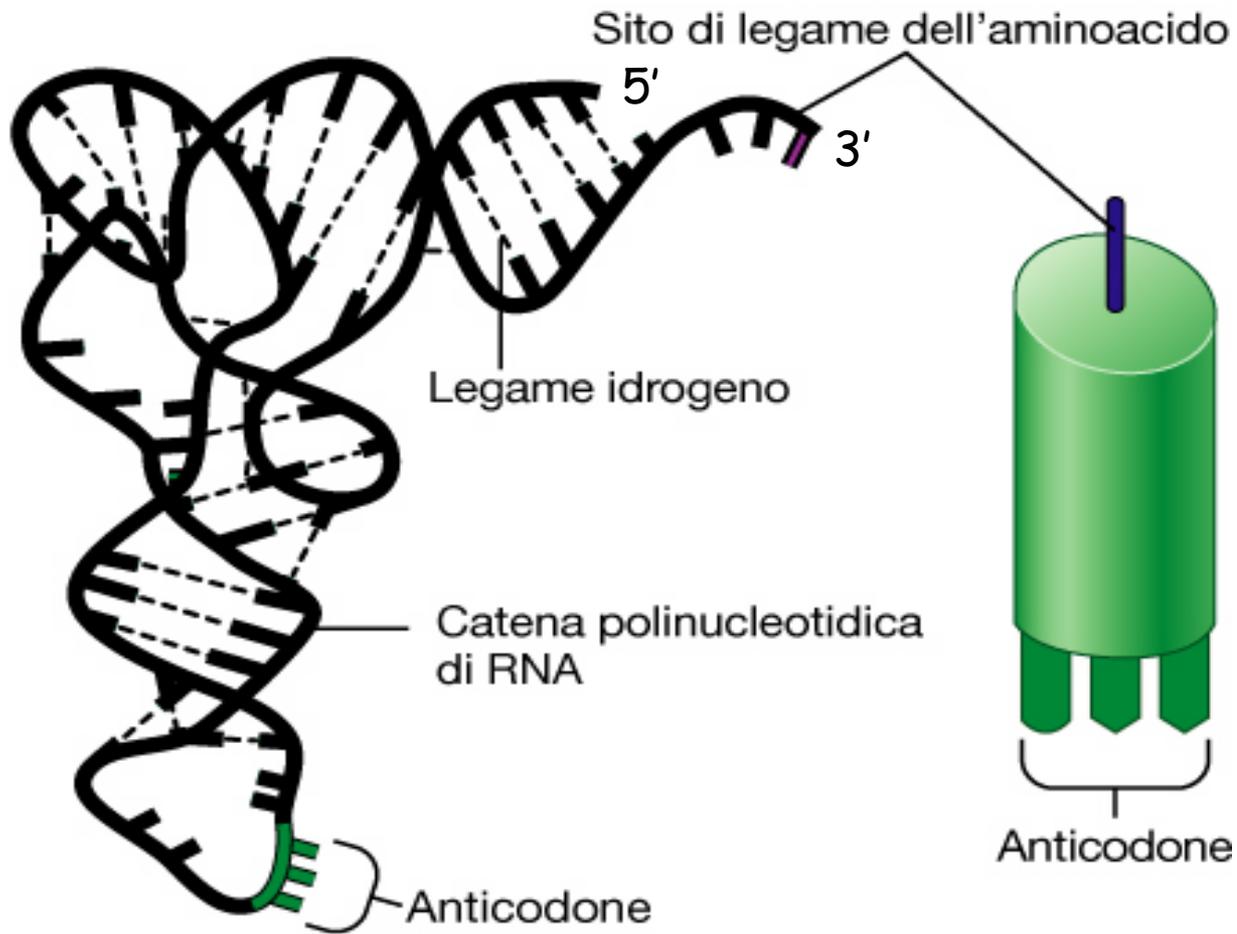
Struttura dell'RNA di trasferimento (tRNA)



(a) La struttura tridimensionale di una molecola di tRNA è determinata dai legami a idrogeno che si formano fra le basi complementari.

(b) Un'ansa contiene l'anticodone, che si appaia in modo specifico con il codone presente sull'mRNA. L'aminoacido viene legato all'estremità 3'-OH del nucleotide terminale.

(c) Disegno schematico di un aminoacil-tRNA che mostra come l'aminoacido è legato al tRNA mediante il suo gruppo carbossilico, lasciando il gruppo amminico disponibile per formare un legame peptidico.



CODONE (mRNA)	5'-GCC-3'
ANTICODONE (tRNA)	3'-CGG-5'

Sintesi dell'aminoacil-tRNA (legame del tRNA al corrispondente aminoacido)

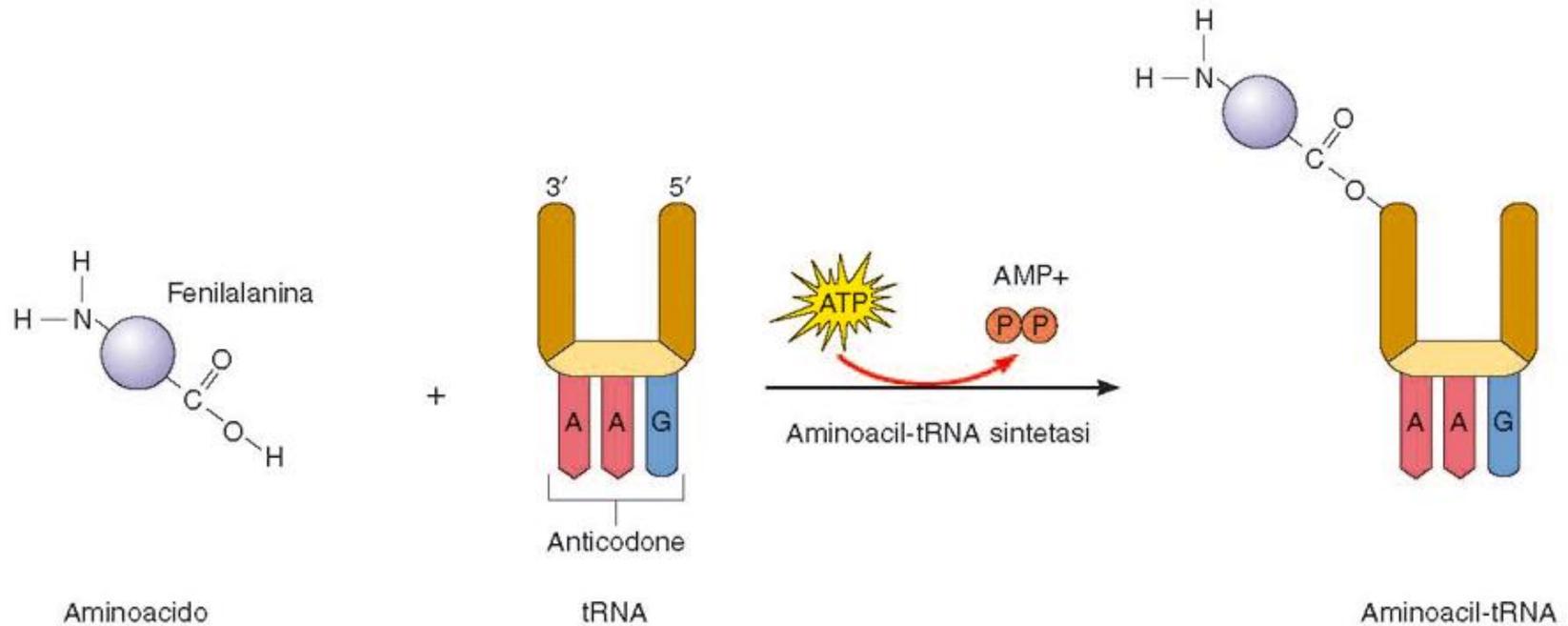
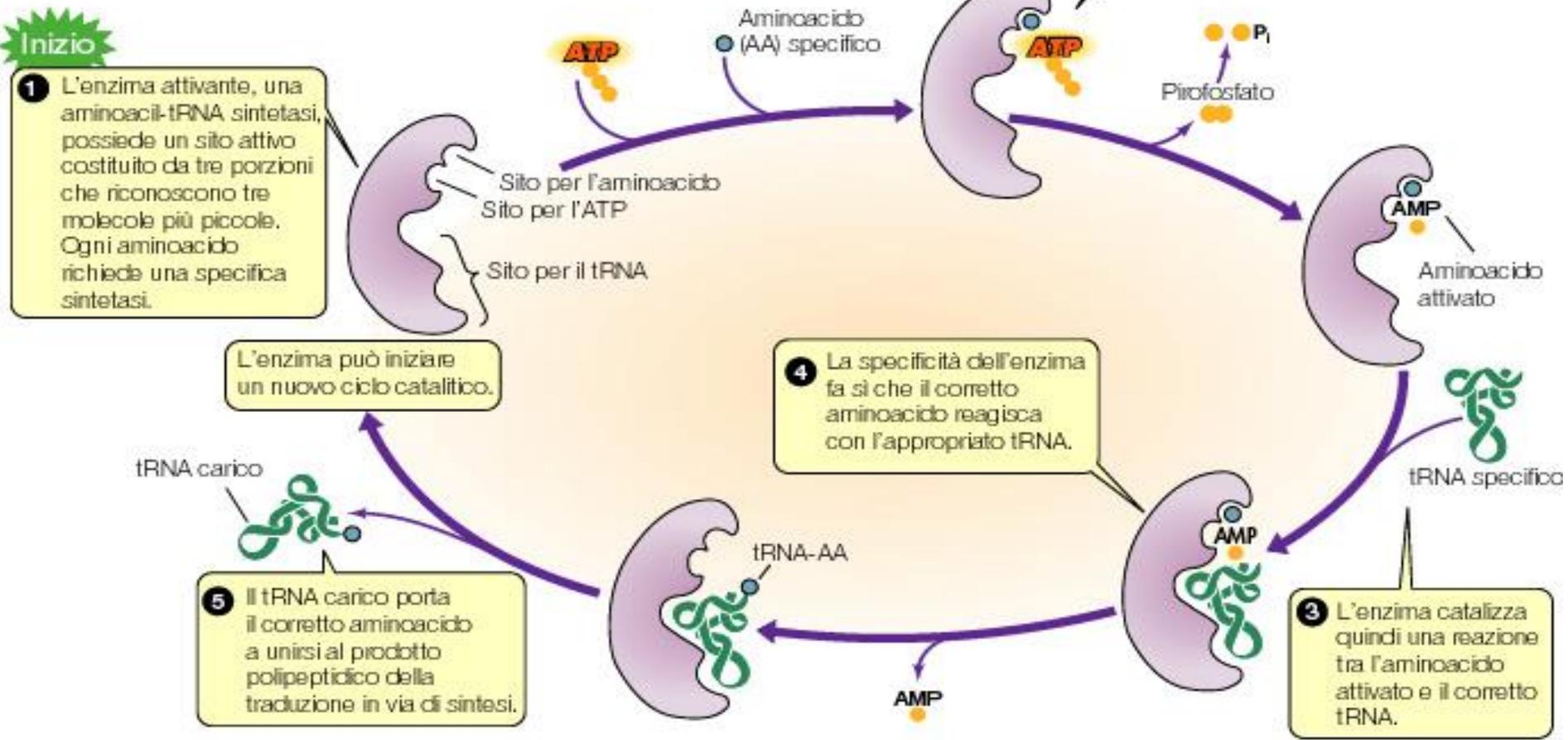


Figura 13-11 Legame di uno specifico aminoacido al tRNA appropriato

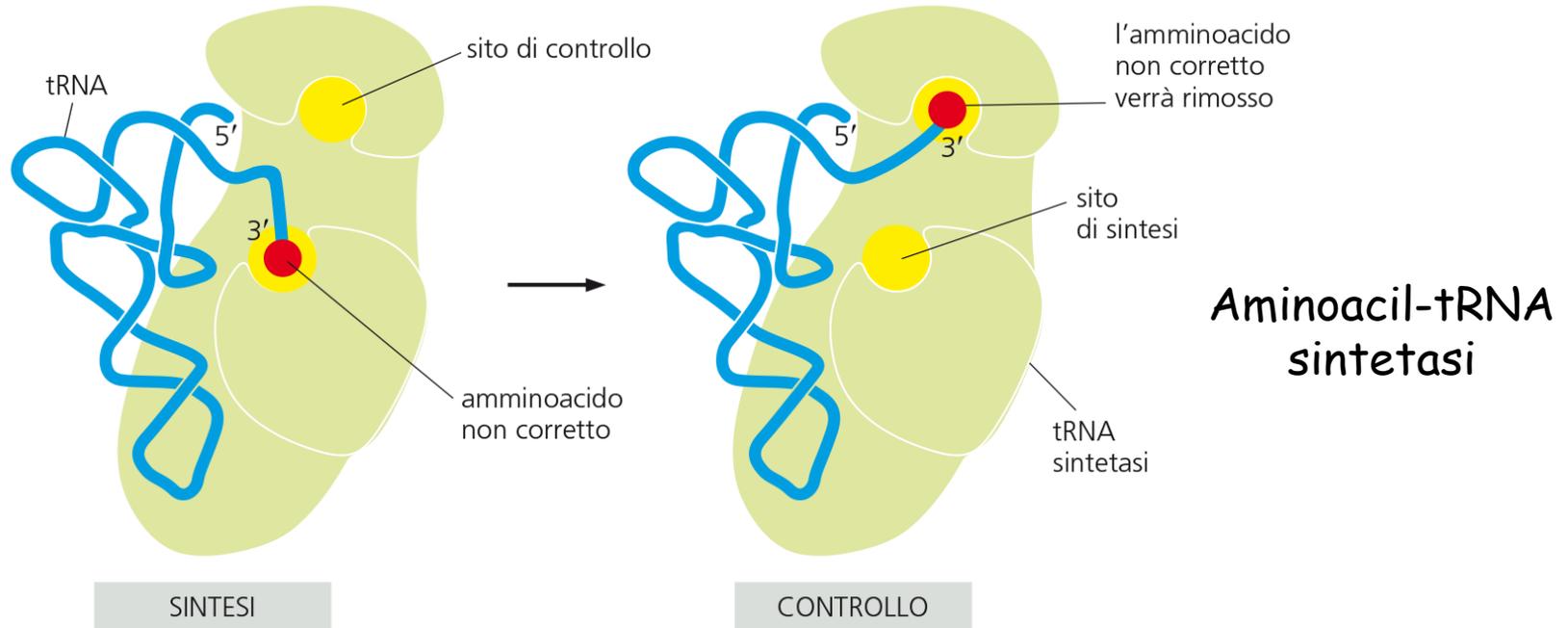
Gli aminoacidi sono legati covalentemente alle loro rispettive molecole di tRNA dalle aminoacil-tRNA sintetasi, che utilizzano ATP come fonte di energia.

Sintesi dell'aminoacil-tRNA (legame del tRNA al corrispondente aminoacido)

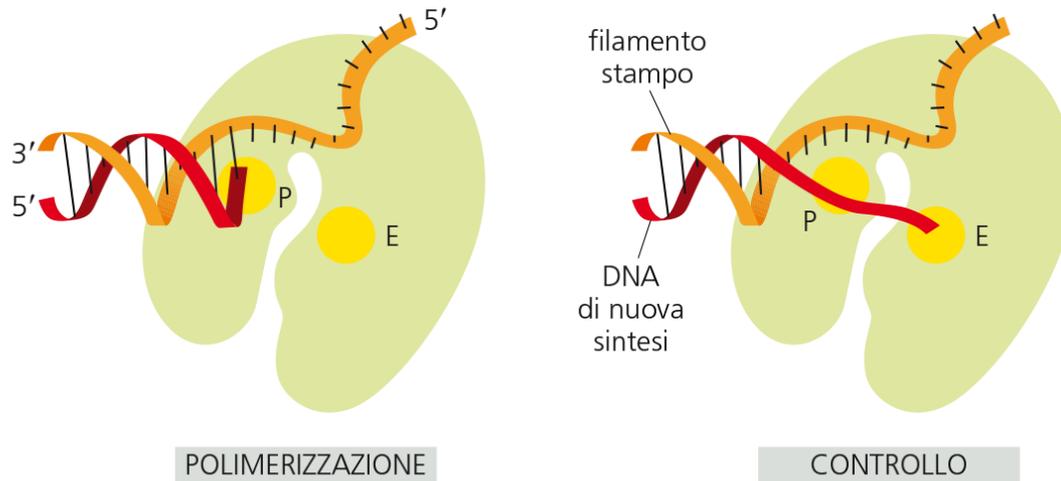
Reazione catalizzata dalla
aminoacil-tRNA sintetasi



Le aminoacil-tRNA sintetasi selezionano il corretto aminoacido



Aminoacil-tRNA sintetasi



DNA polimerasi

IPOTESI DEL VACILLAMENTO DELLA TERZA BASE DEL CODONE

		Seconda lettera				
		U	C	A	G	
Prima lettera (estremità 5')	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 o start	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

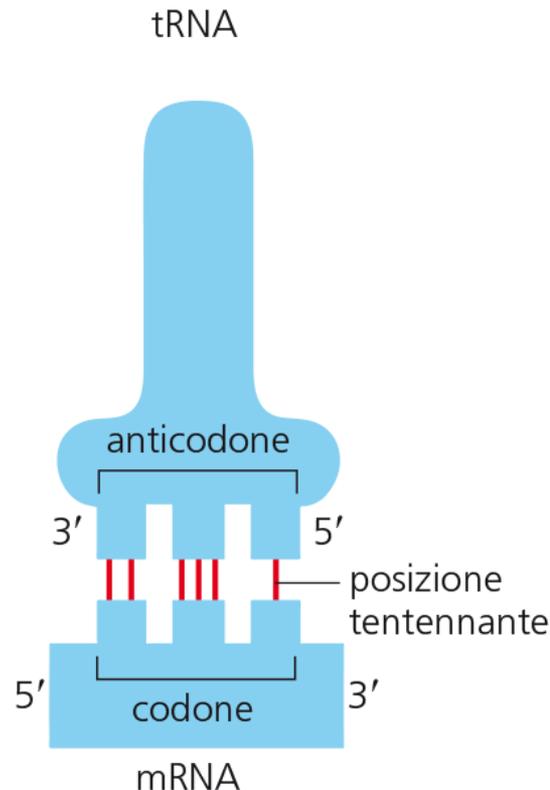
= Codone di stop (di terminazione)

= Codone di start (di inizio)

Vacillamento della terza base

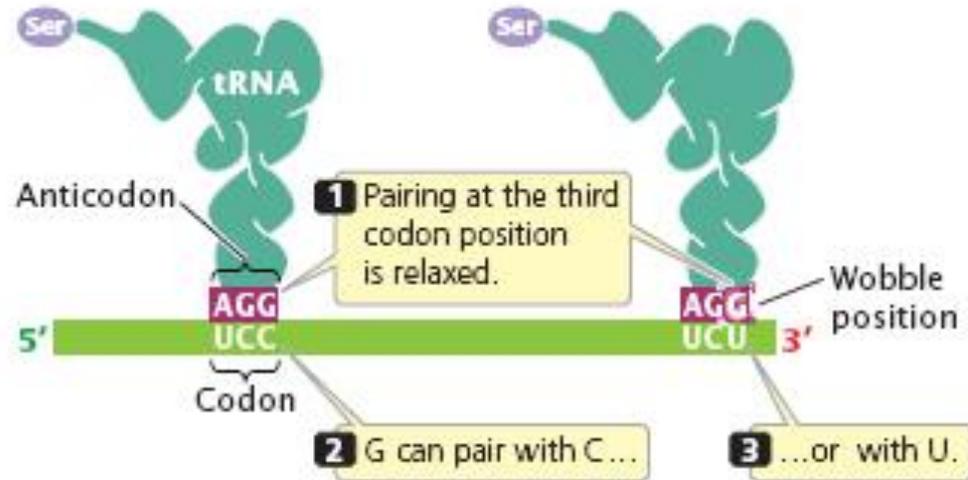
L'ipotesi del vacillamento suggerisce che mentre i requisiti sterici tra l'anticodone e il codone sono molto forti nelle prime due posizioni, essi sono più flessibili per la terza posizione.

Come risultato, due codoni che codificano per lo stesso aminoacido possono essere riconosciuti dallo stesso tRNA



II VACILLAMENTO DELLA TERZA BASE

UCC e UCU codoni per l'aminoacido serina



le basi vacillanti

tRNA	C	A	G	U	I
mRNA	G	U	C	A	C
			U	G	A
					U

Vacillamento della terza base

Stesso tRNA (stesso anticodone) ma diverso codone sull'mRNA

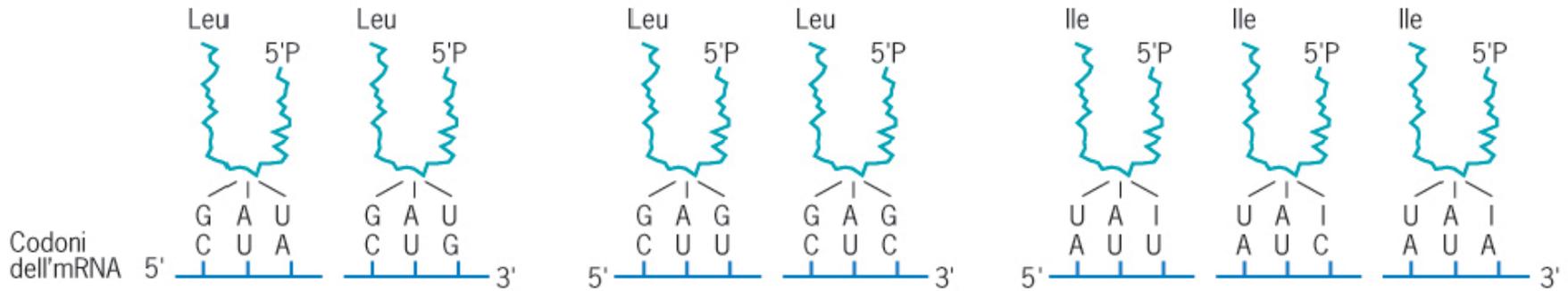


FIGURA 11.44 Il 'vacillamento' (wobble) nell'interazione fra codoni ed anticodoni. In alcuni casi, il nucleotide all'estremità 5' dell'anticodone del tRNA è in grado di appaiarsi con più di un nucleotide all'estremità 3' (terza posizione) del codone dell'mRNA. Di conse-

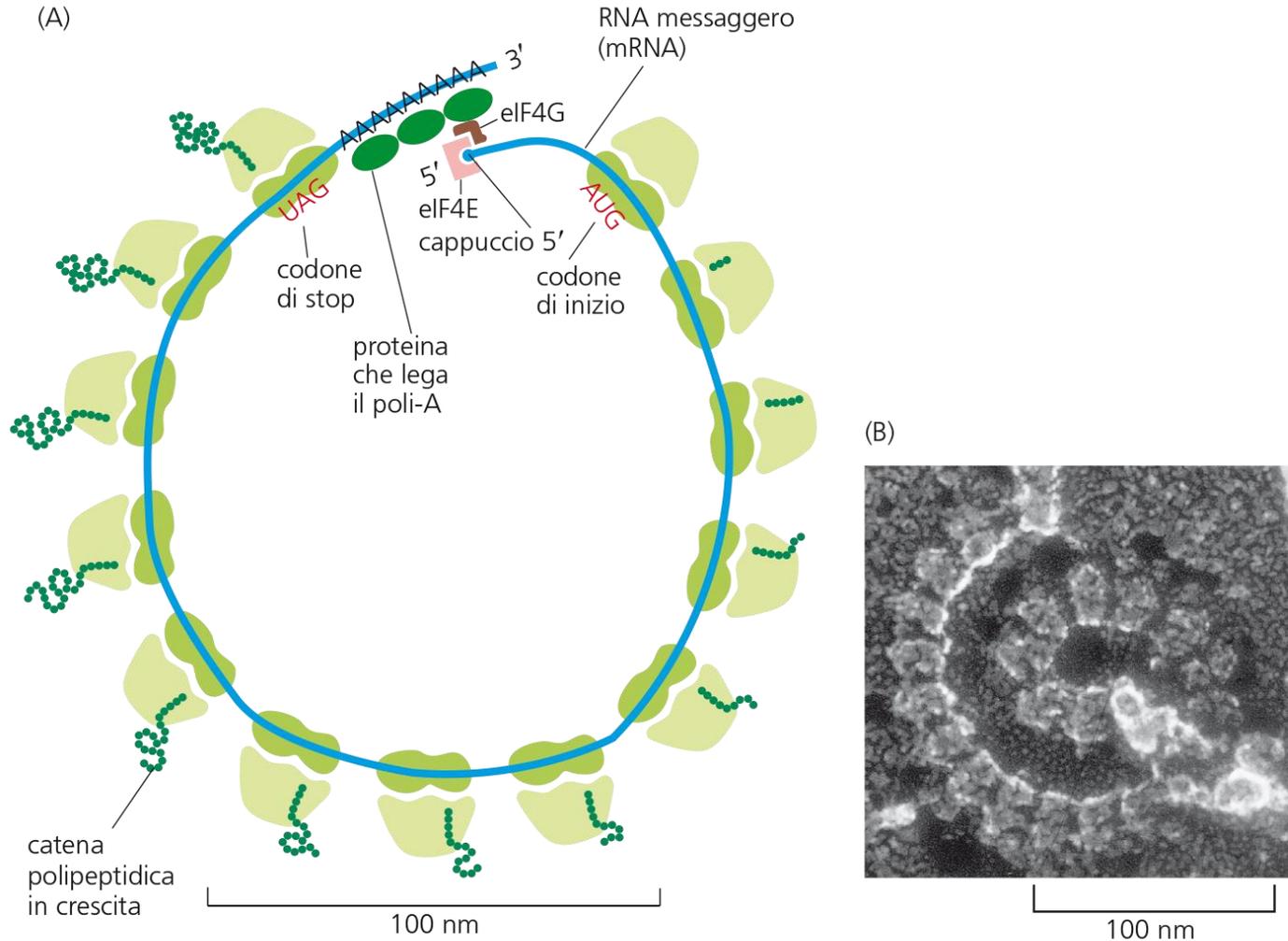
guenza, più codoni possono usare lo stesso tRNA. Le regole per l'appaiamento nel caso del wobble sono indicate nella figura e nel testo.

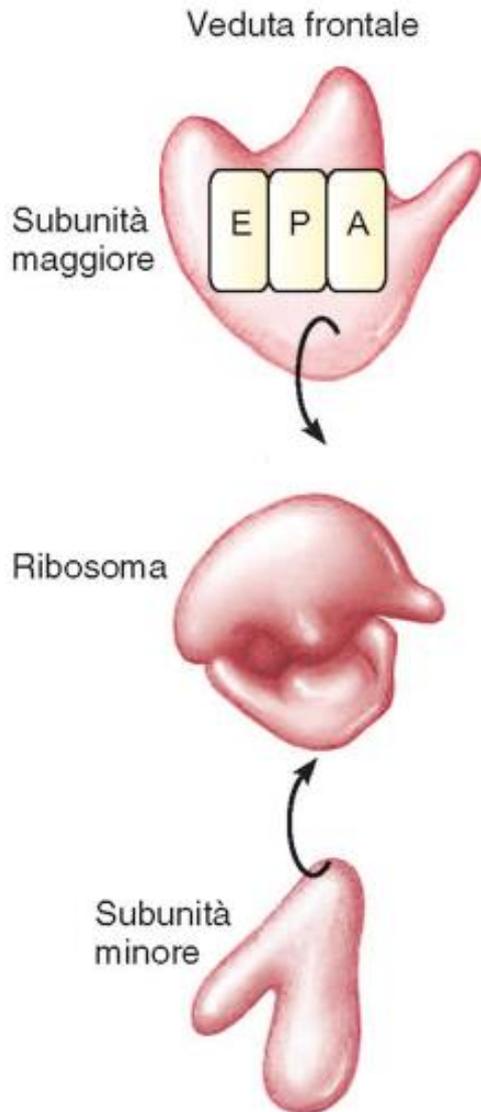
Caratteristiche principali della traduzione

- Direzione di traduzione dell'mRNA 5'- 3'
- Direzione di sintesi della proteina da amminoterminale a carbossiterminale
- più ribosomi possono legarsi all'mRNA ed aumentare l'efficienza di traduzione formando il **POLIRIBOSOMA**

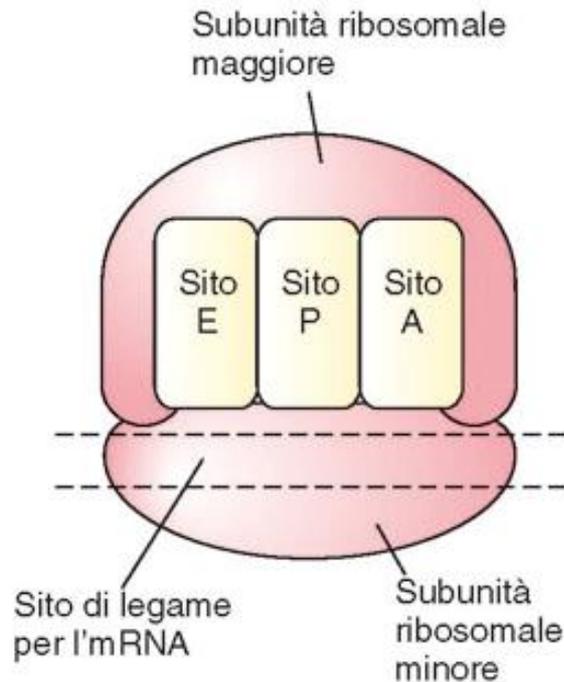
Caratteristiche principali della traduzione

Il poliribosoma



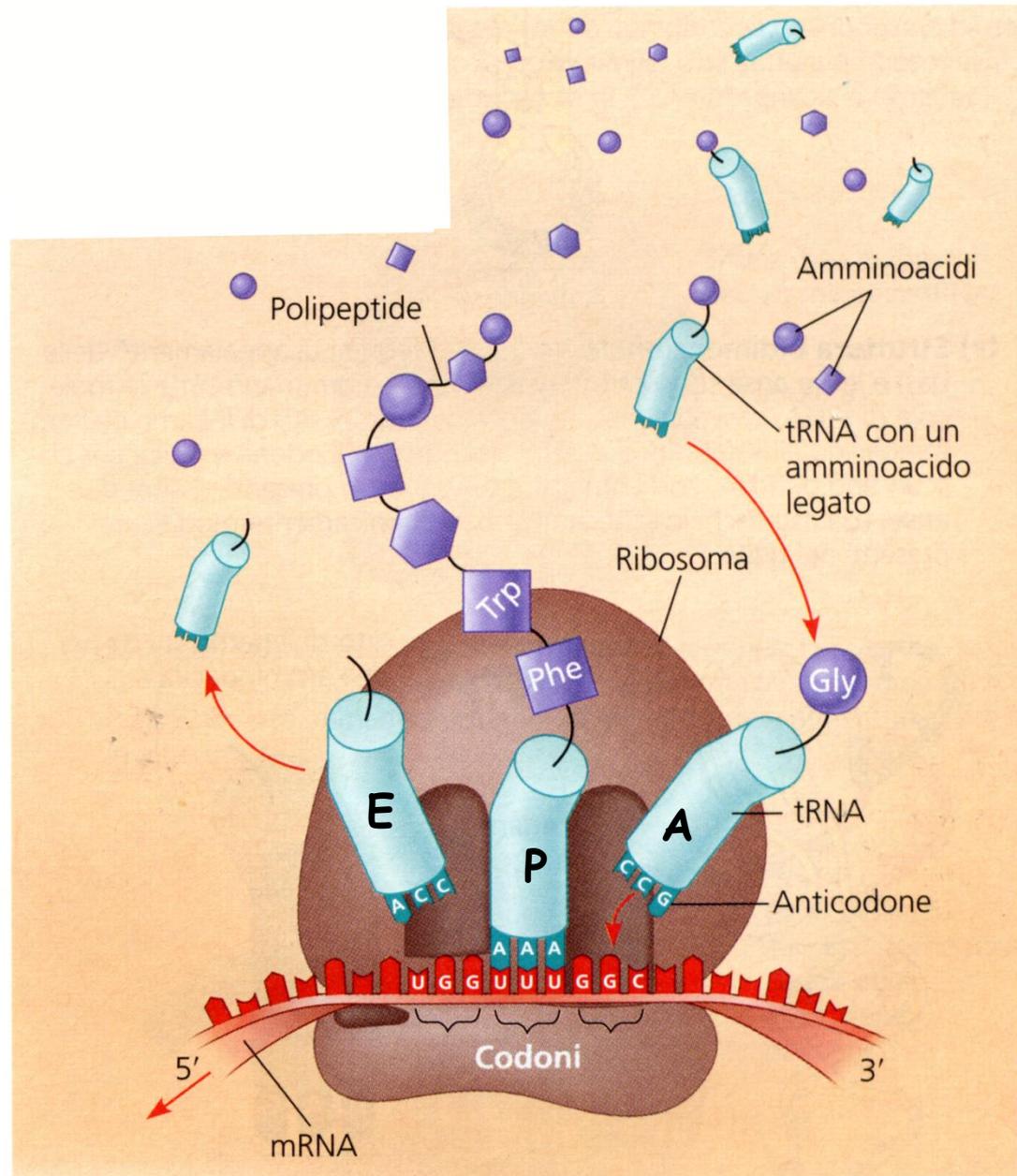


Sito E: sito di uscita
Sito P: sito di legame del peptidil-tRNA
Sito A: sito di legame dell'aminoacil-tRNA



(a) Questo modello di ribosoma è basato su ricostruzioni tridimensionali di immagini al microscopio elettronico.

(b) L'mRNA passa attraverso un solco presente tra le due subunità ribosomali. Ciascun ribosoma contiene tre siti di legame per le molecole di tRNA.



La traduzione inizia quando la subunità minore del ribosoma si lega all'mRNA e vi scorre fino a che non trova una sequenza segnale

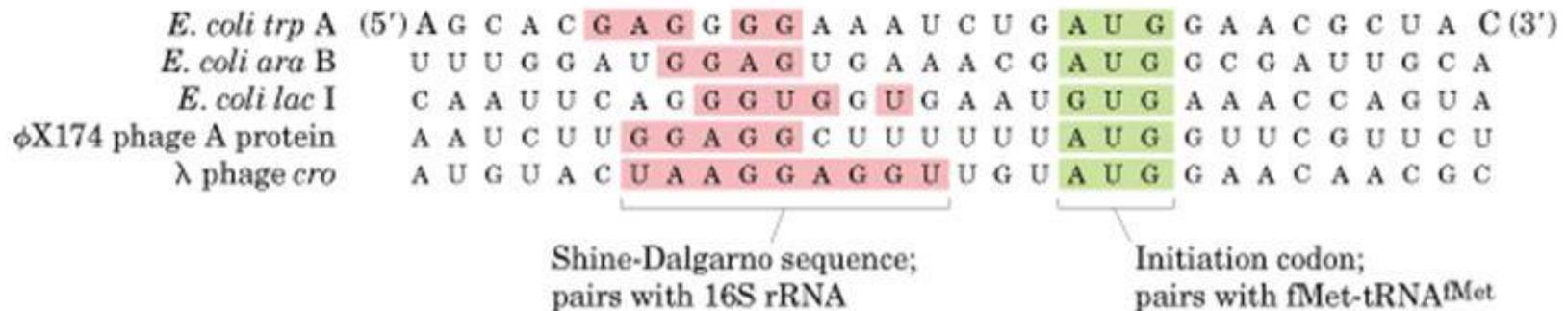
Sequenza Shine-Dalgarno (nei procarioti)

Sequenza Kozak (negli eucarioti)

Sequenza Shine-Dalgarno

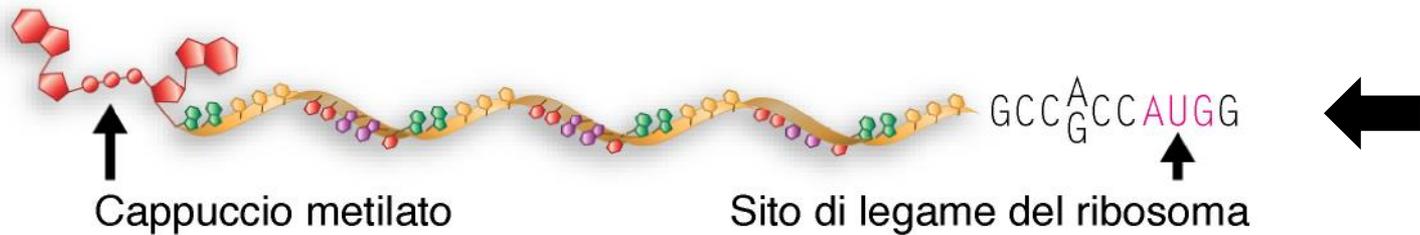
È presente nei procarioti. Si trova massimo 25 nucleotidi prima del codone di inizio AUG. È una regione ricca di purine costituita da 4 a 9 residui. Viene riconosciuta da una sequenza complementare di pirimidine sull'rRNA 16S della subunità ribosomiale minore 30 S.

SEQUENZA DI SHINE-DALGARNO: legame con il 16S della sub. minore del ribosoma



Negli eucarioti il corrispondente della sequenza di Shine-Dalgarno si chiama **sequenza Kozak**

Contiene il codone di inizio AUG e vi si lega la subunità 40S del ribosoma



Le fasi della traduzione negli eucarioti

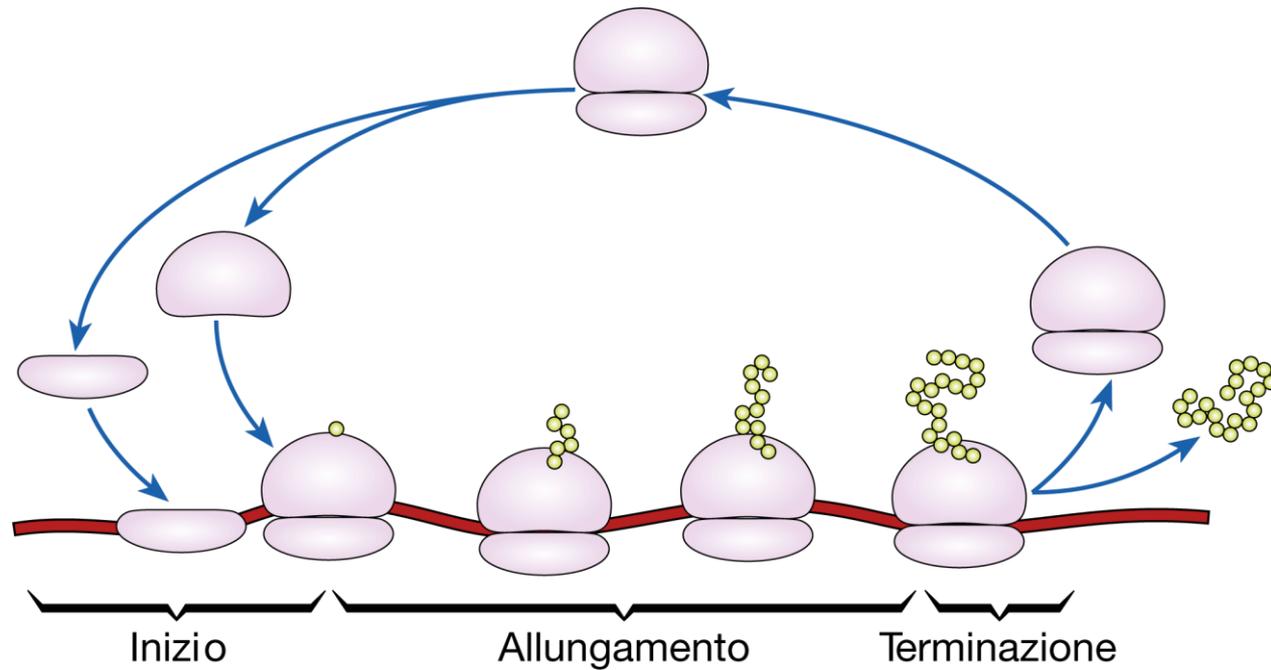
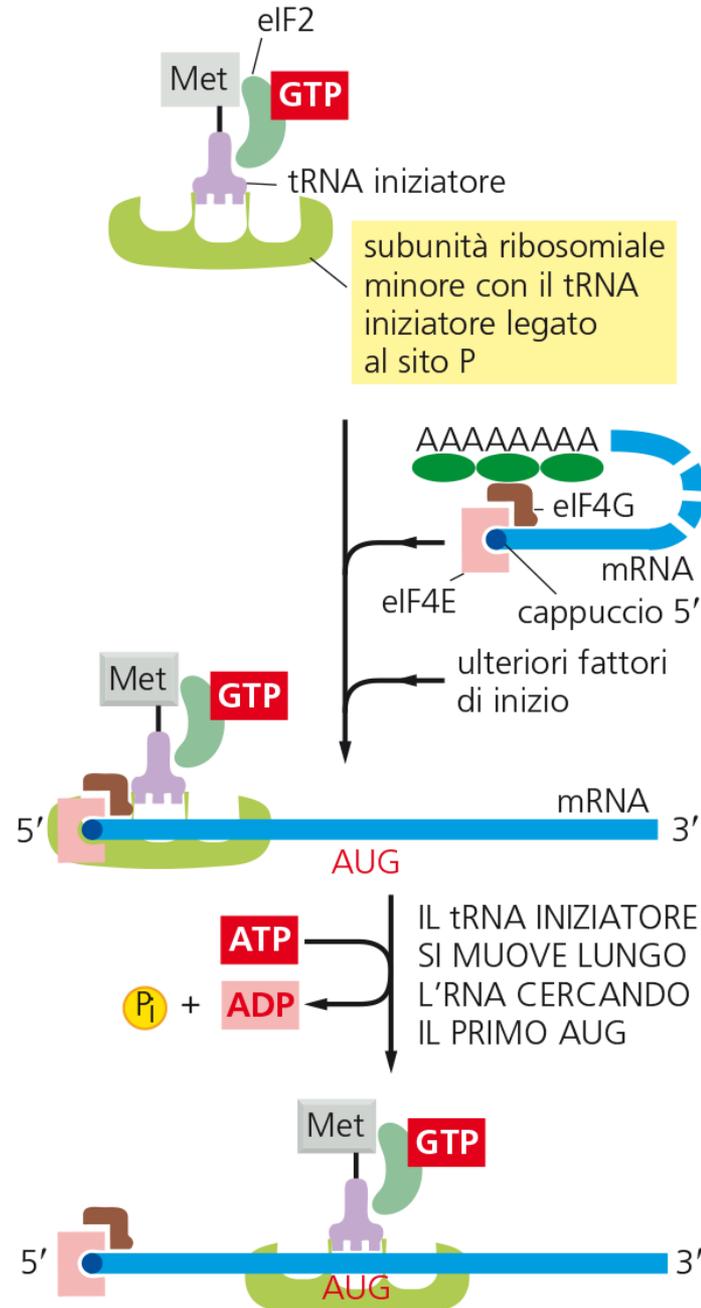
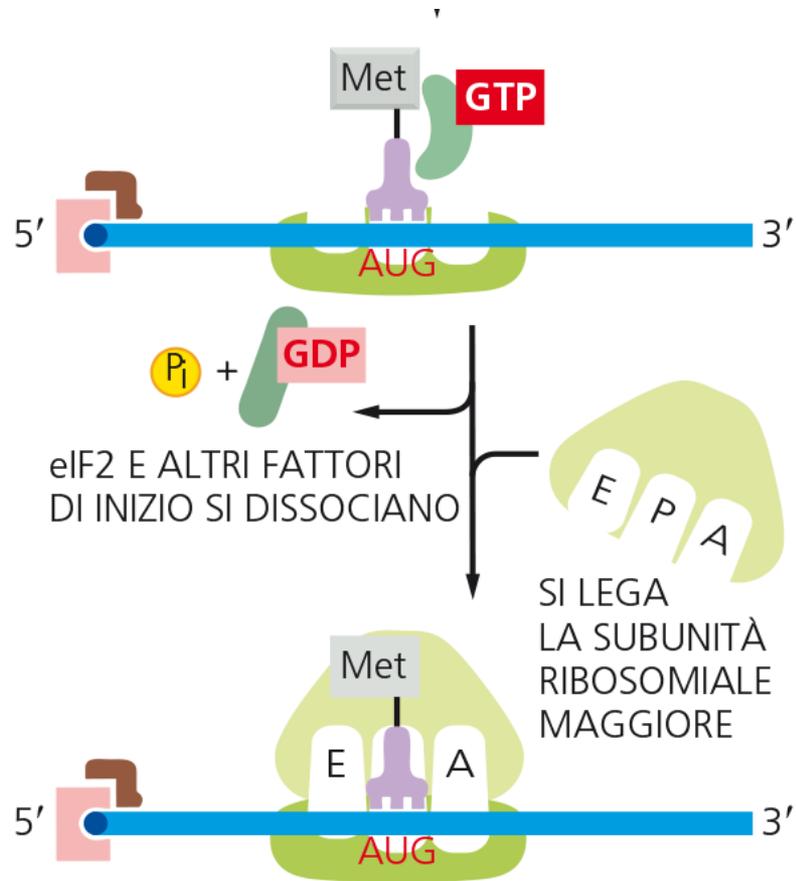
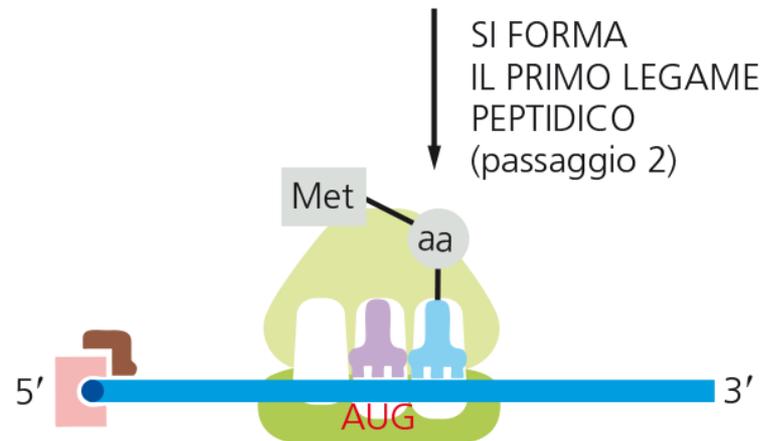
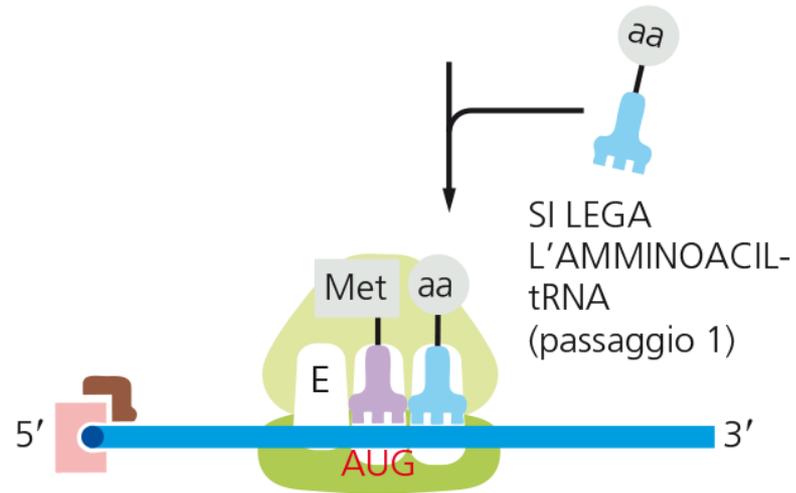


Figura 15.3 Le subunità ribosomali vengono riciclate e riutilizzate per numerosi cicli di traduzione. Nella fase di inizio l'mRNA lega la subunità minore, a cui poi si unisce anche la subunità maggiore. Il ribosoma scorre sull'mRNA decodificando la sequenza nucleotidica e sintetizzando la proteina. Giunto al codone di terminazione il ribosoma rilascia la proteina completata, si dissocia dall'mRNA e rientra nel pool di ribosomi liberi. Questi devono essere dissociati nelle due subunità per potere essere riutilizzati per altri cicli di traduzione.

L'inizio della traduzione negli eucarioti



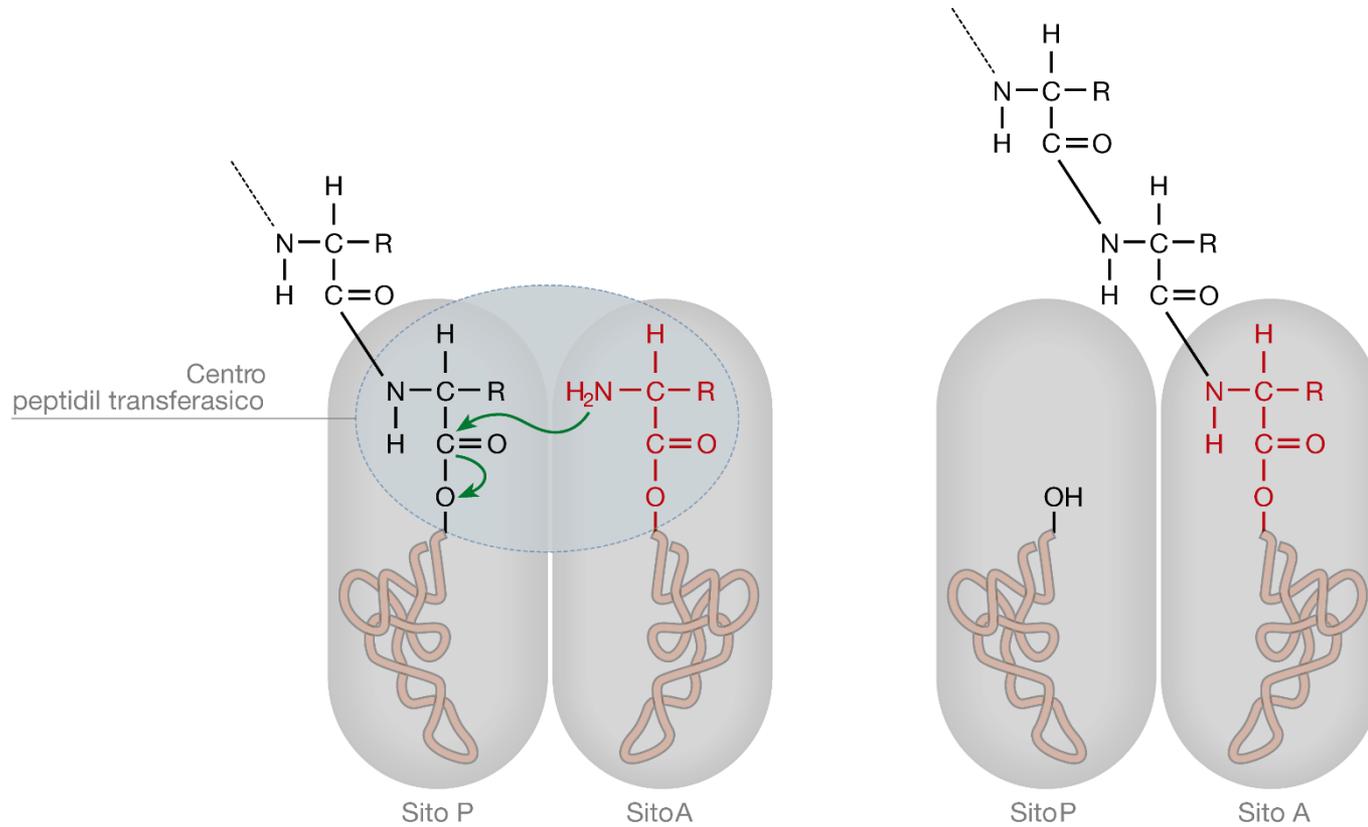




ecc.

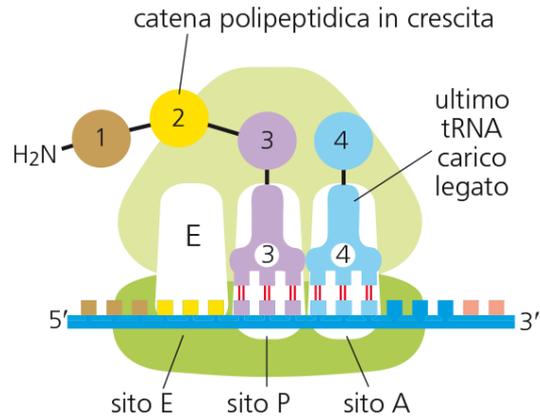
La formazione del legame peptidico

E' catalizzato dalla peptidil transferasi

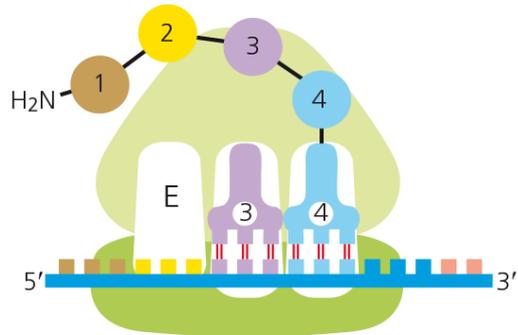


Allungamento della catena polipeptidica

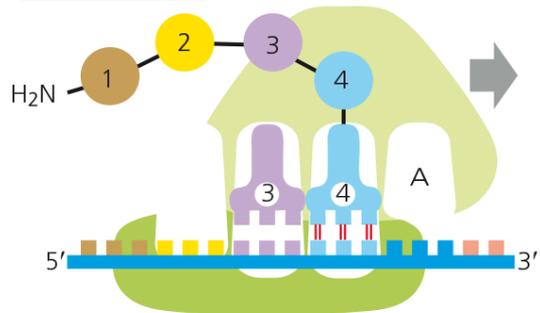
PASSAGGIO 1



PASSAGGIO 2

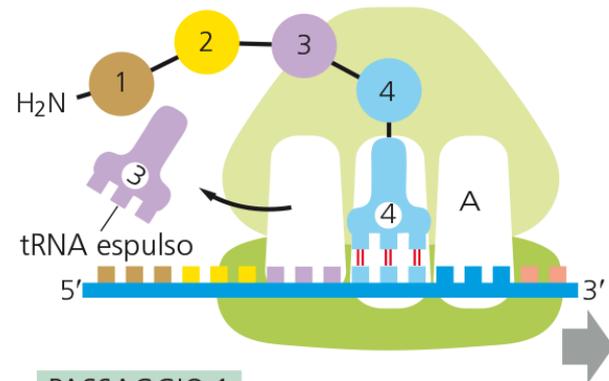


PASSAGGIO 3

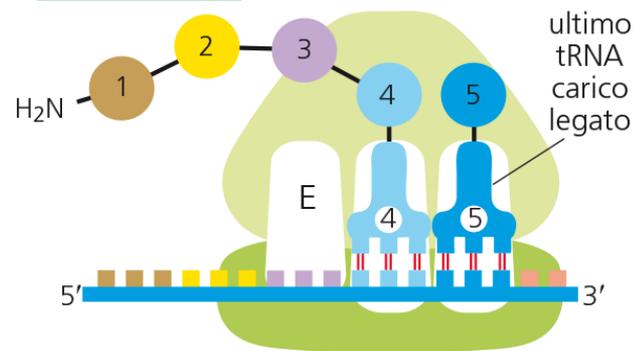


traslocazione

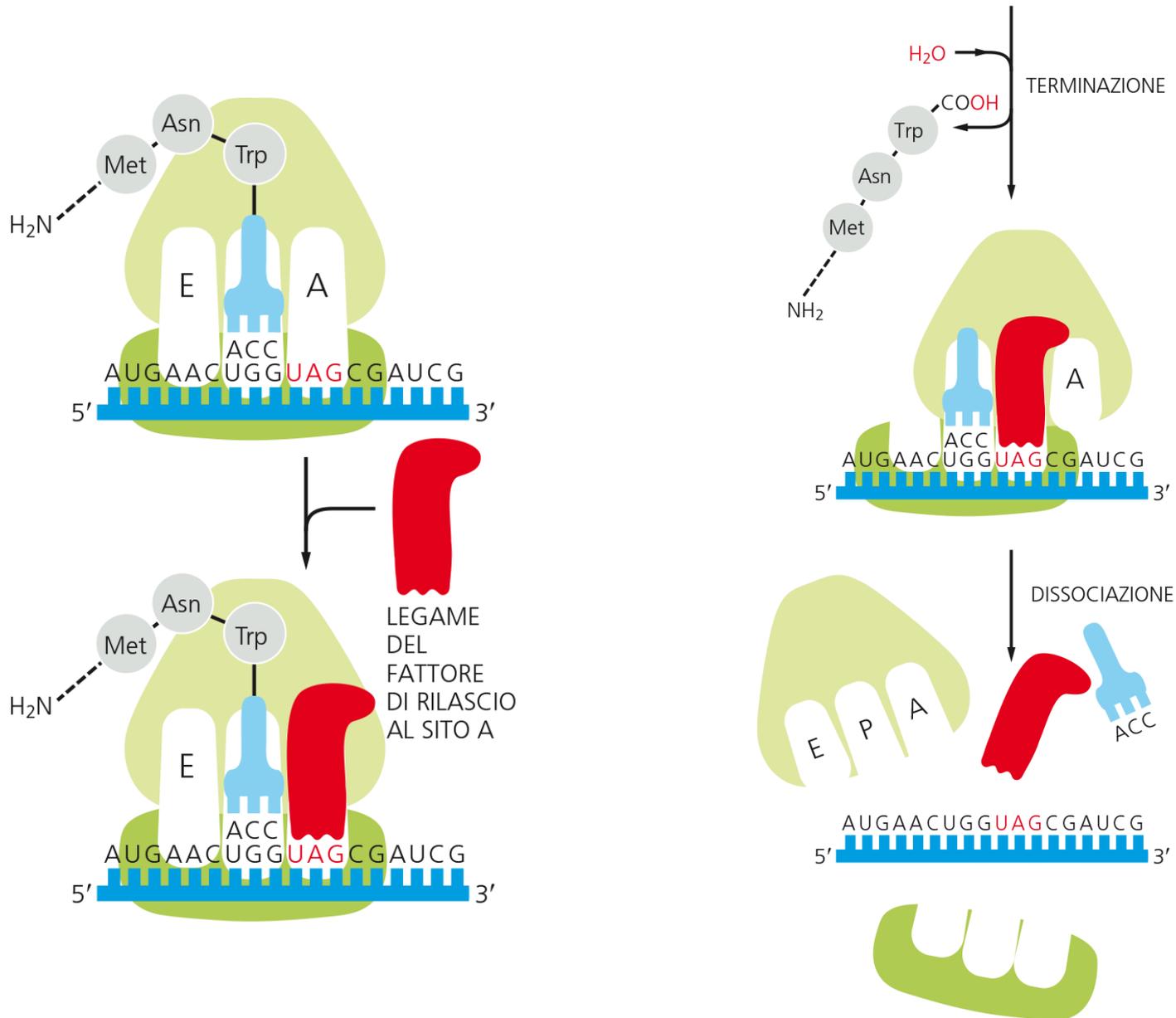
PASSAGGIO 4



PASSAGGIO 1



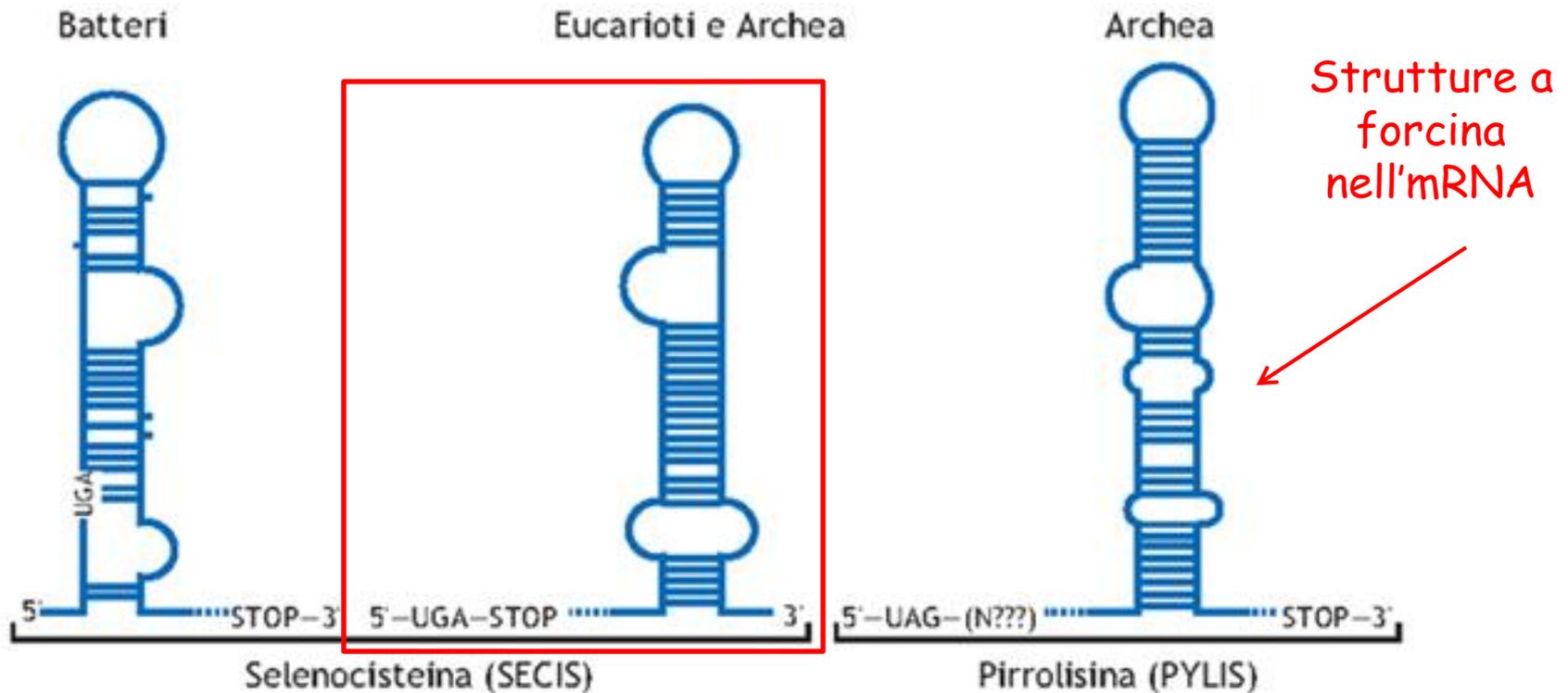
La fase finale della sintesi proteica



Incorporazione della selenocisteina e della pirrolisina nelle proteine

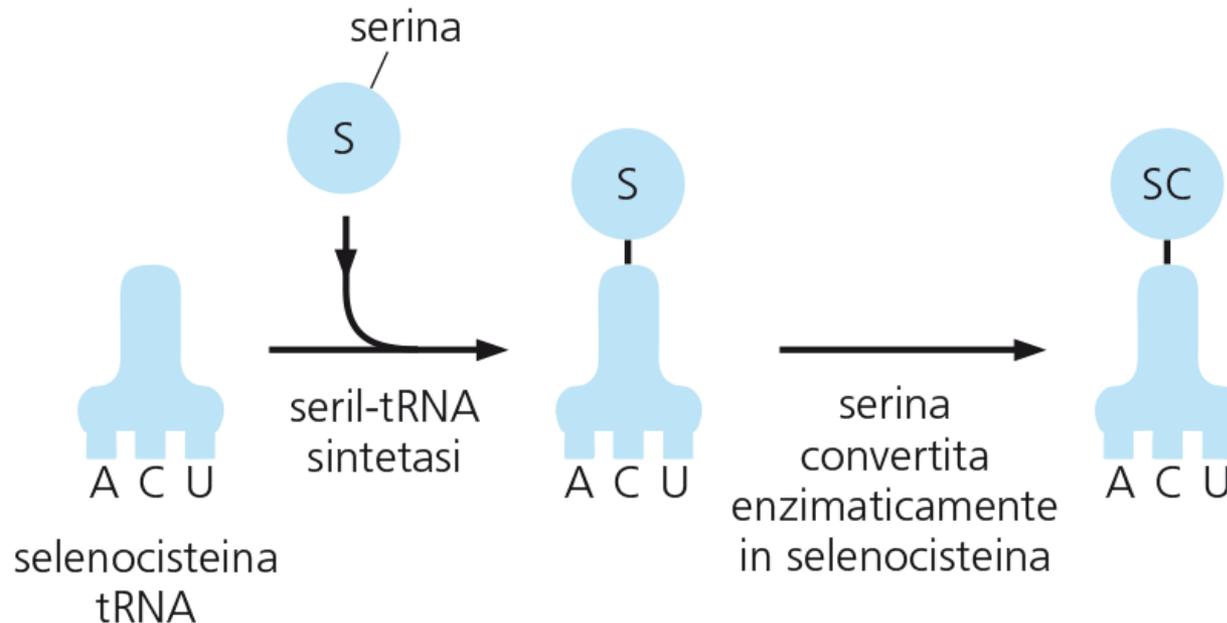
La selenocisteina e la pirrolisina sono due aminoacidi naturali codificati da due codoni che normalmente sono codoni di stop (UGA e UAG rispettivamente).

Perche' la sintesi proteica non si interrompe a livello di questi 2 codoni ma continua inserendo la selenocisteina e la pirrolisina?

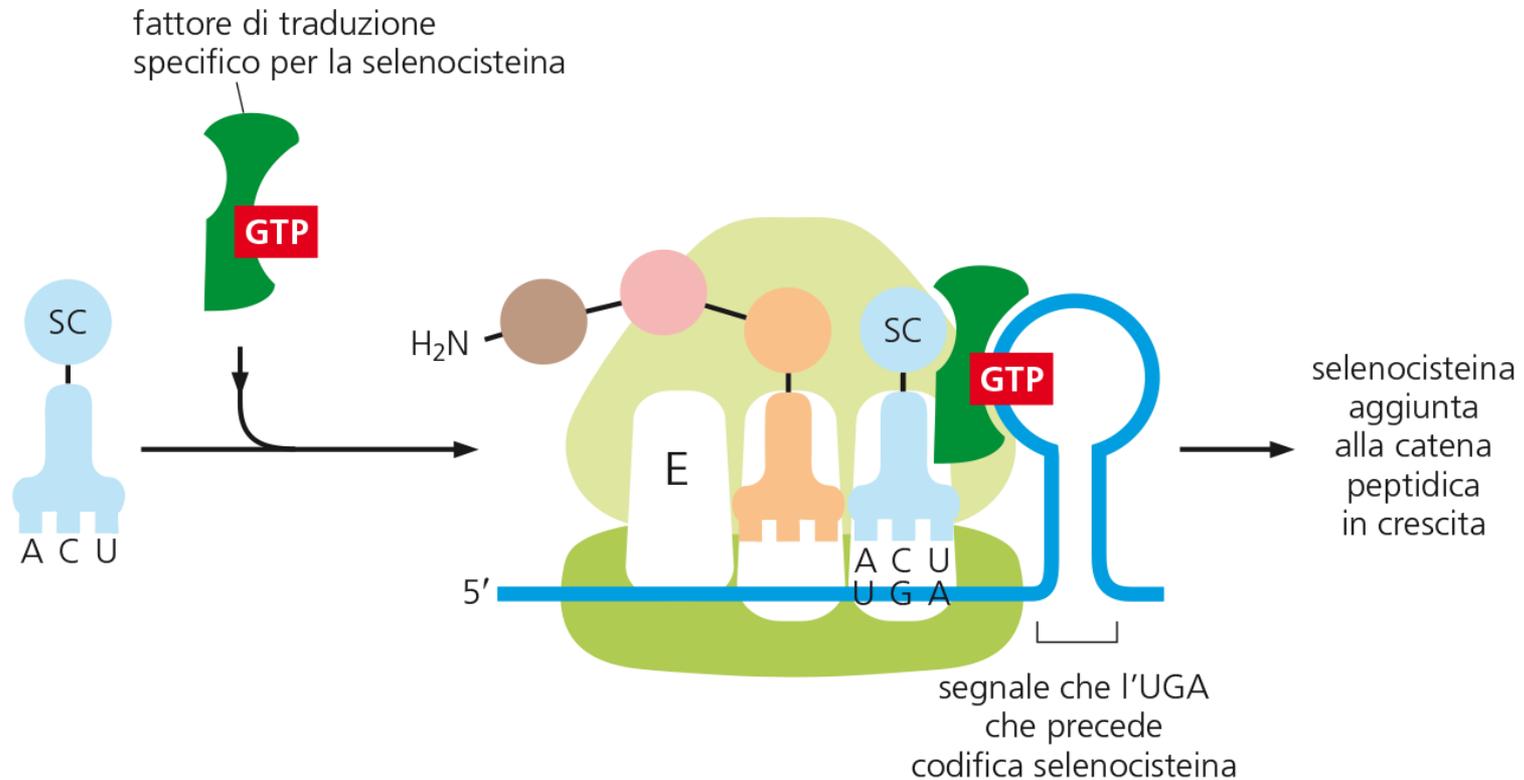


La selenocisteina contiene un atomo di selenio al posto dell'atomo di zolfo della cisteina

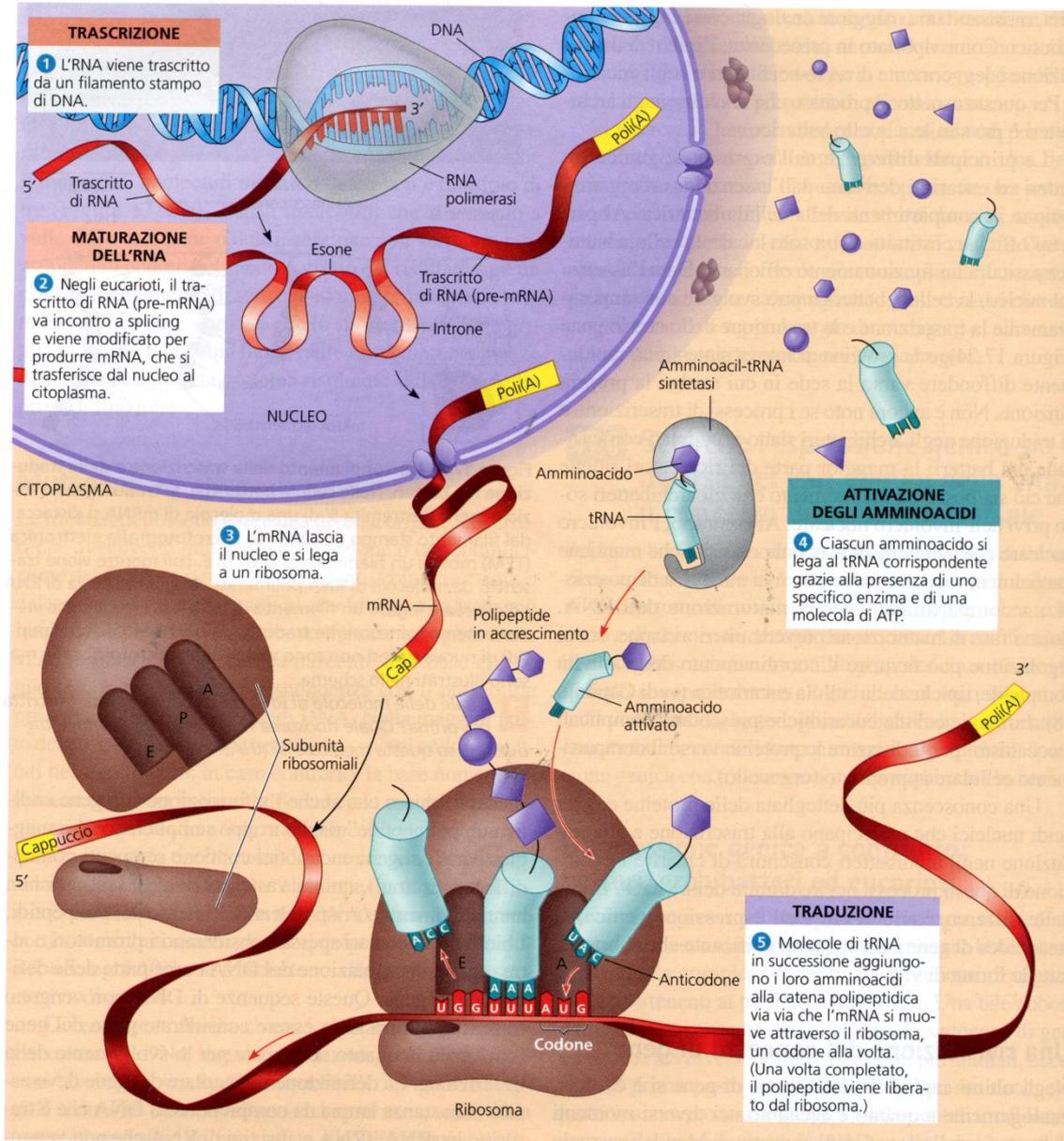
Esiste il tRNA per la selenocisteina, ma non l'aminoacil-tRNA transferasi specifico: la serina viene legata al tRNA della selenocisteina e poi la serina viene modificata in selenocisteina.



Incorporazione di selenocisteina in una catena polipeptidica in crescita



Una panoramica della trascrizione e della traduzione nella cellula eucariotica



Il controllo traduzionale

Meccanismi che indicano quando, quanto frequentemente e per quanto tempo un particolare RNA deve essere tradotto.

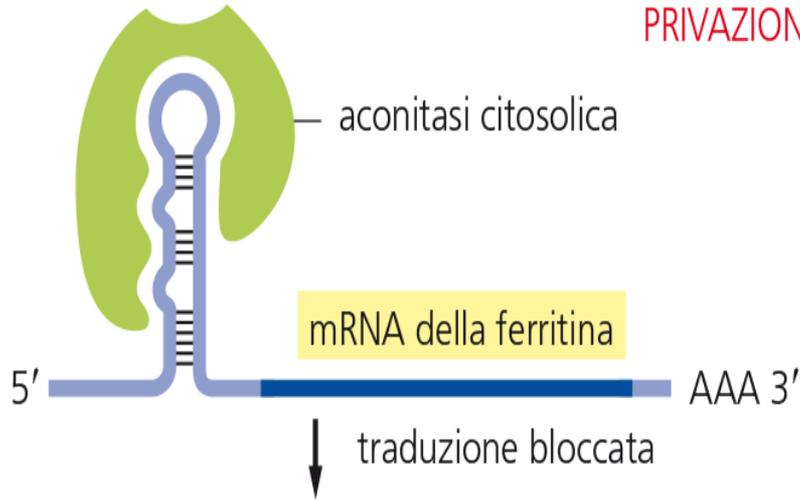
Controllo traduzionale

Esempio:

1. **la sintesi della ferritina.** La ferritina è una proteina globulare che si trova principalmente nel fegato, nella milza, nel midollo osseo e nei tessuti scheletrici. Può legare fino a circa 4.500 ioni di ferro. **La sua sintesi è regolata a livello traduzionale dalla presenza di ferro.**
2. **Il recettore della transferrina.** Si trova sulla membrana plasmatica dove si lega alla transferrina (principale proteina di trasporto del ferro).

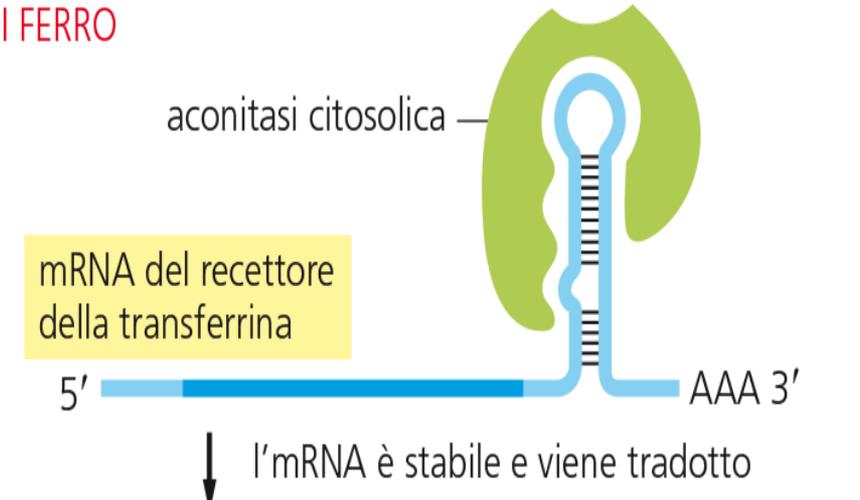
Gli mRNA della ferritina e del recettore della transferrina presentano una regione IRE (Iron Responsive Element): elemento responsivi al ferro. E' una piccola regione a forcina presente sull' mRNA alla quale si legano proteine in maniera dipendente dalla concentrazione di ferro.

PRIVAZIONE DI FERRO

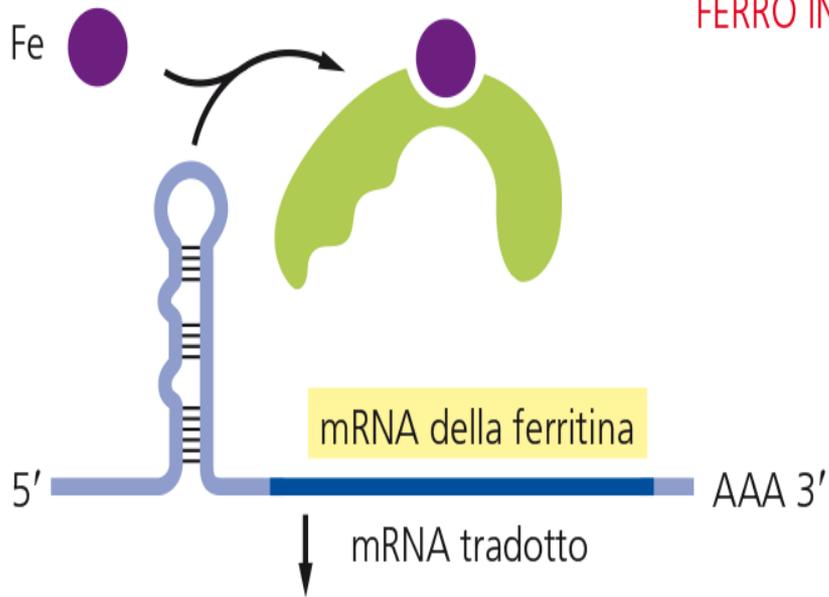


(A)

NON VIENE PRODOTTA FERRITINA

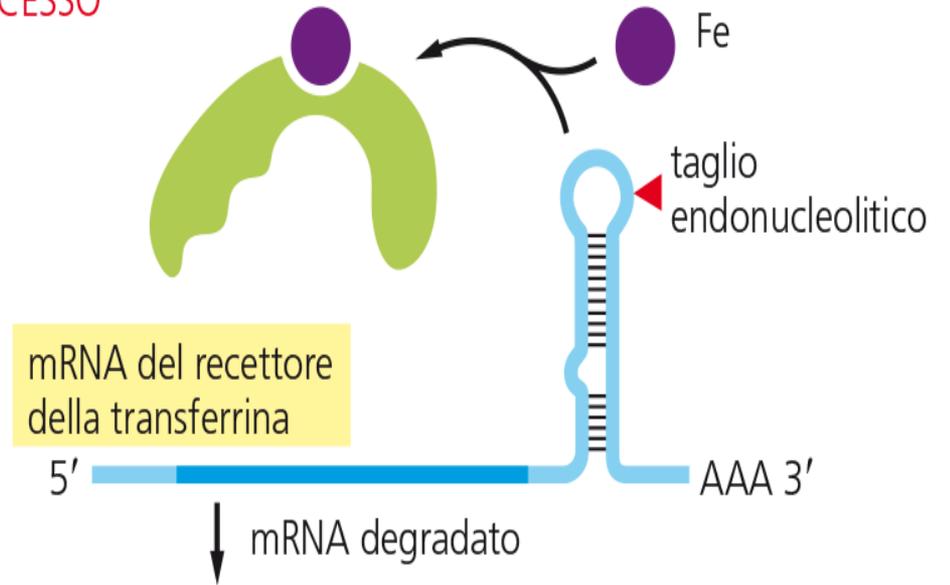


IL RECETTORE DELLA TRANSFERRINA VIENE PRODOTTO



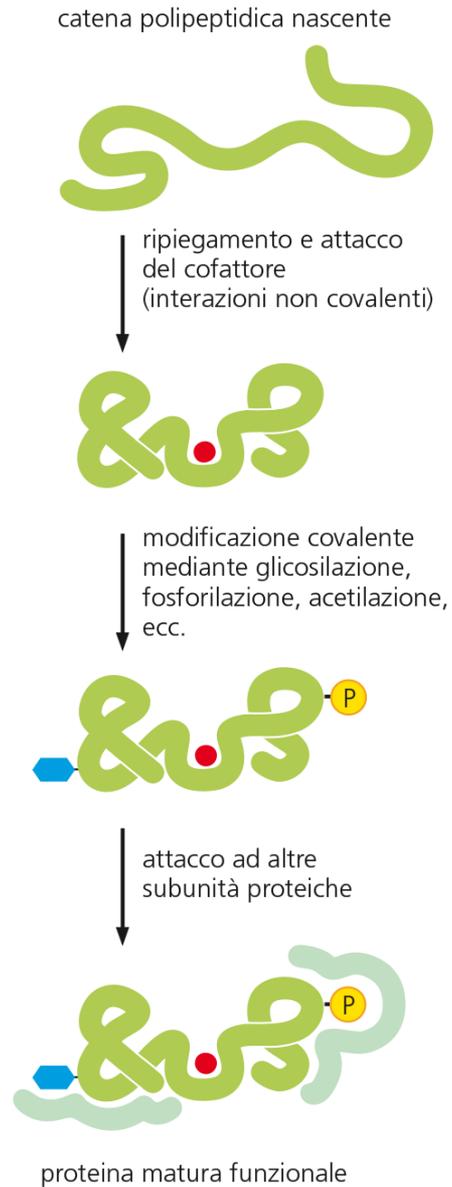
(B) VIENE PRODOTTA FERRITINA

FERRO IN ECCESSO

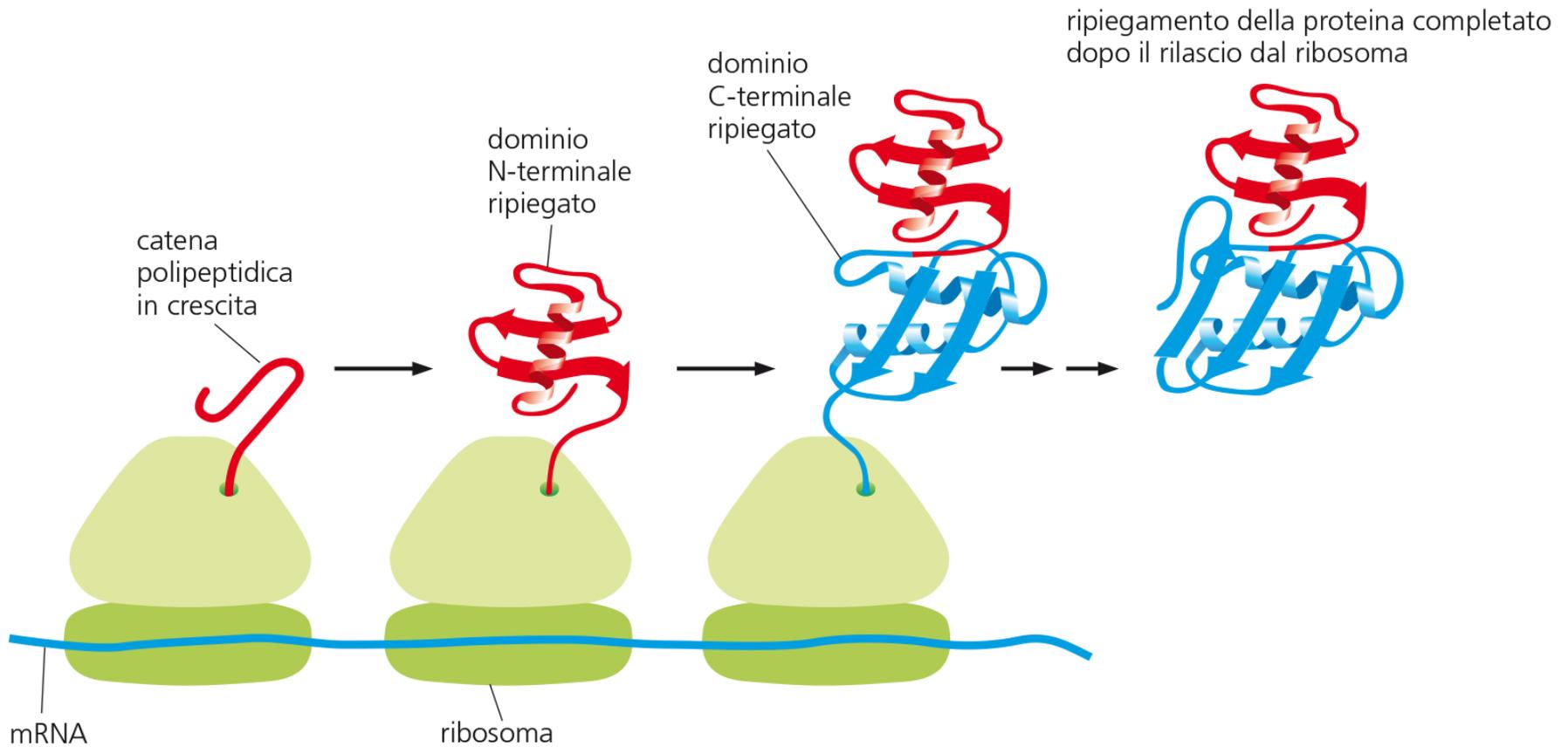


NON VIENE PRODOTTO IL RECETTORE DELLA TRANSFERRINA

Creazione di una proteina funzionale



Ripiegamento cotraduzionale di una proteina



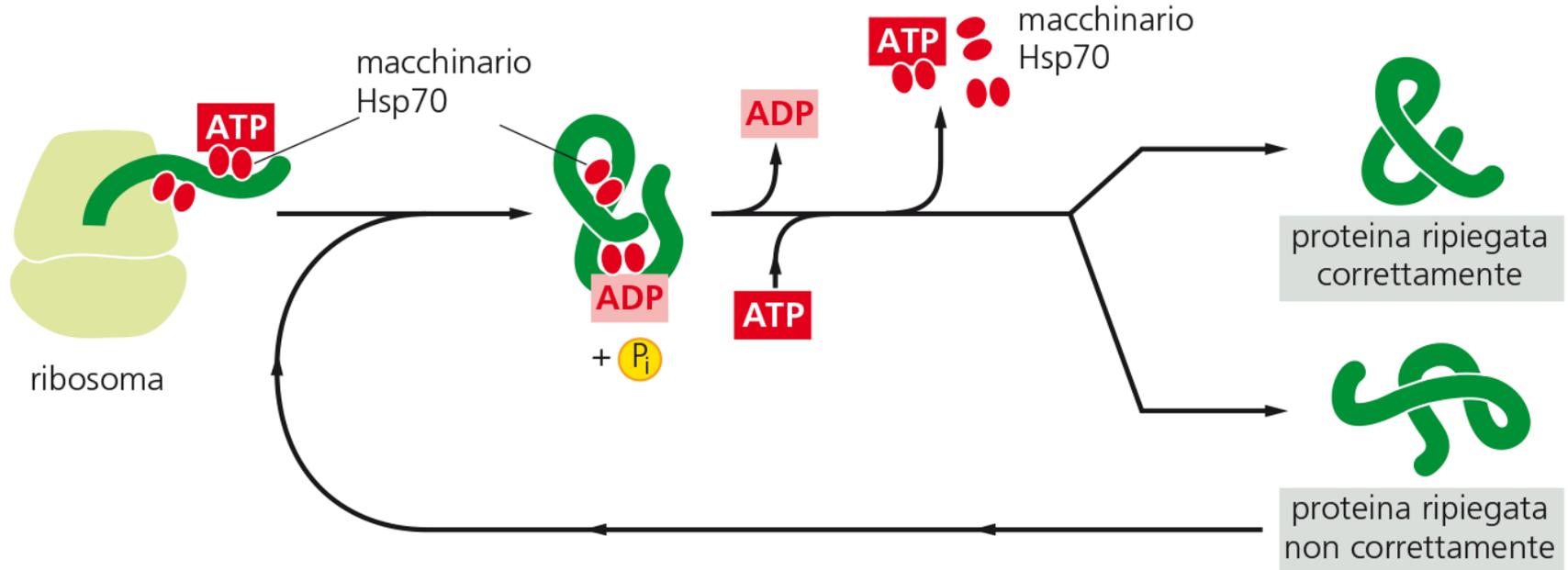
Il ripiegamento di molte proteine avviene grazie a chaperoni molecolari

Gli chaperoni molecolari riconoscono le proteine non ripiegate o ripiegate in modo non corretto.

1. Famiglia degli chaperoni Hsp70
2. Famiglia degli chaperoni Hsp60

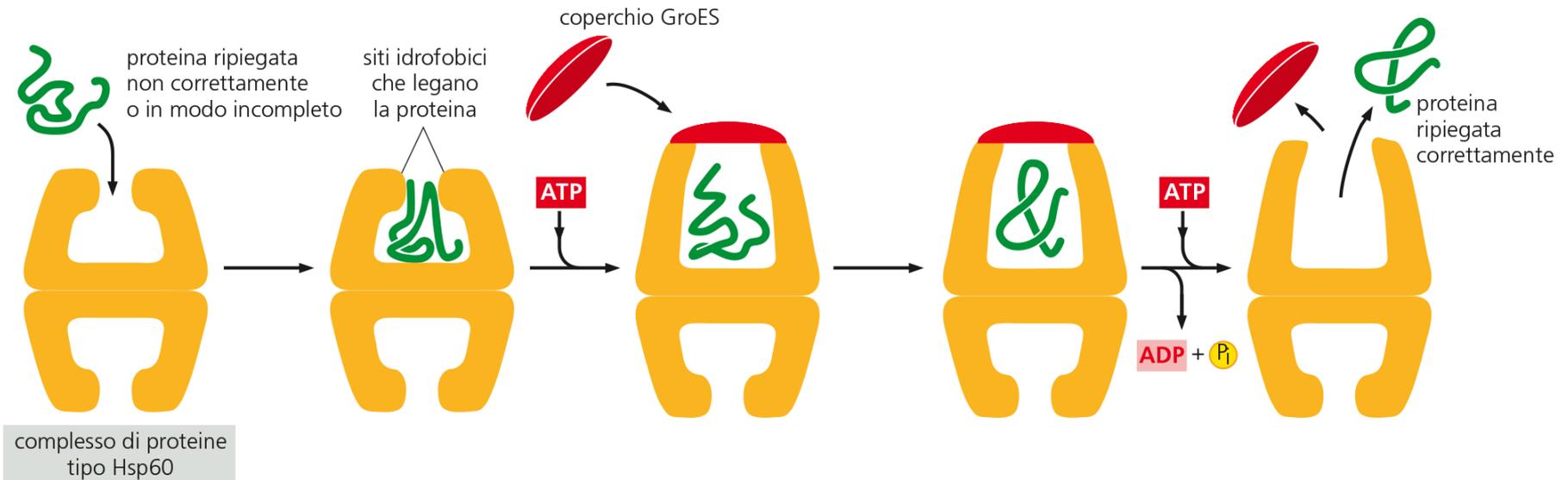
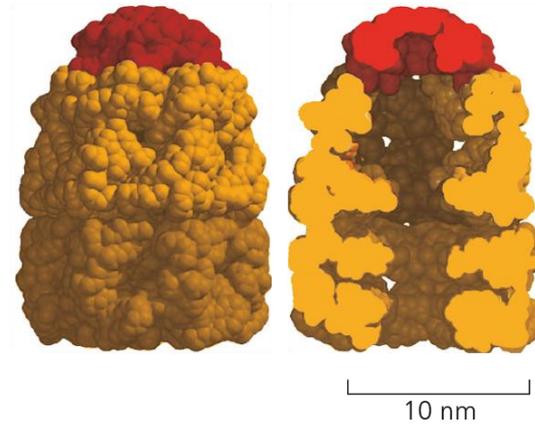
Riconoscono **sequenze idrofobiche esposte** che si trovano rivolte verso l'interno nelle proteine correttamente ripiegate.

1. Famiglia degli chaperoni Hsp70

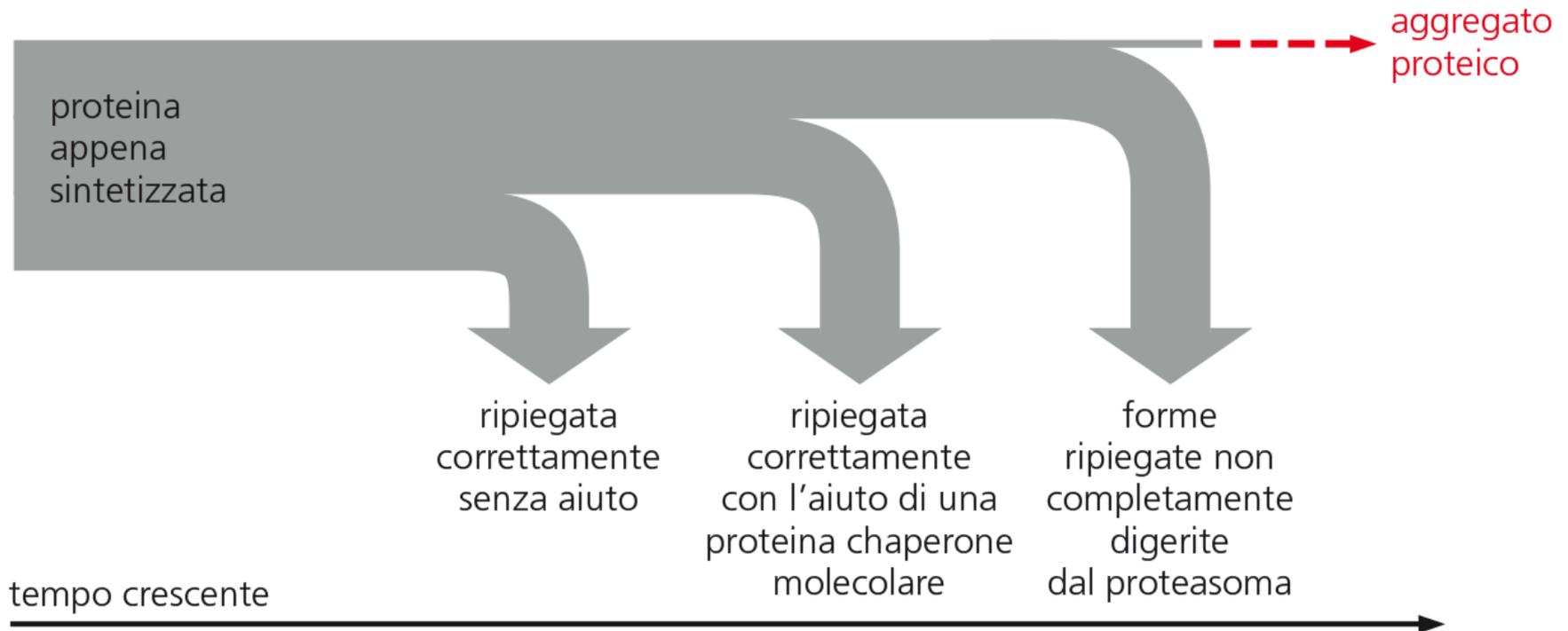


Cicli ripetuti di attacco e distacco di Hsp70 e ATP aiutano il ripiegamento della proteina bersaglio

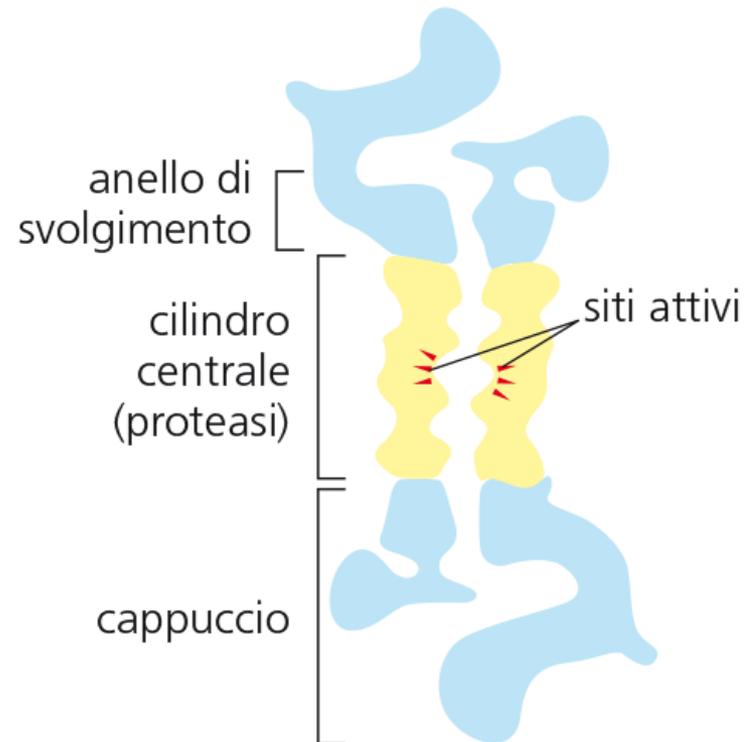
2. Famiglia degli chaperoni Hsp60



Controllo della qualità di una proteina dopo la traduzione



Il proteasoma



Le proteine indirizzate al proteasoma vengono ubiquitinate cioè legate alla proteina ubiquitina

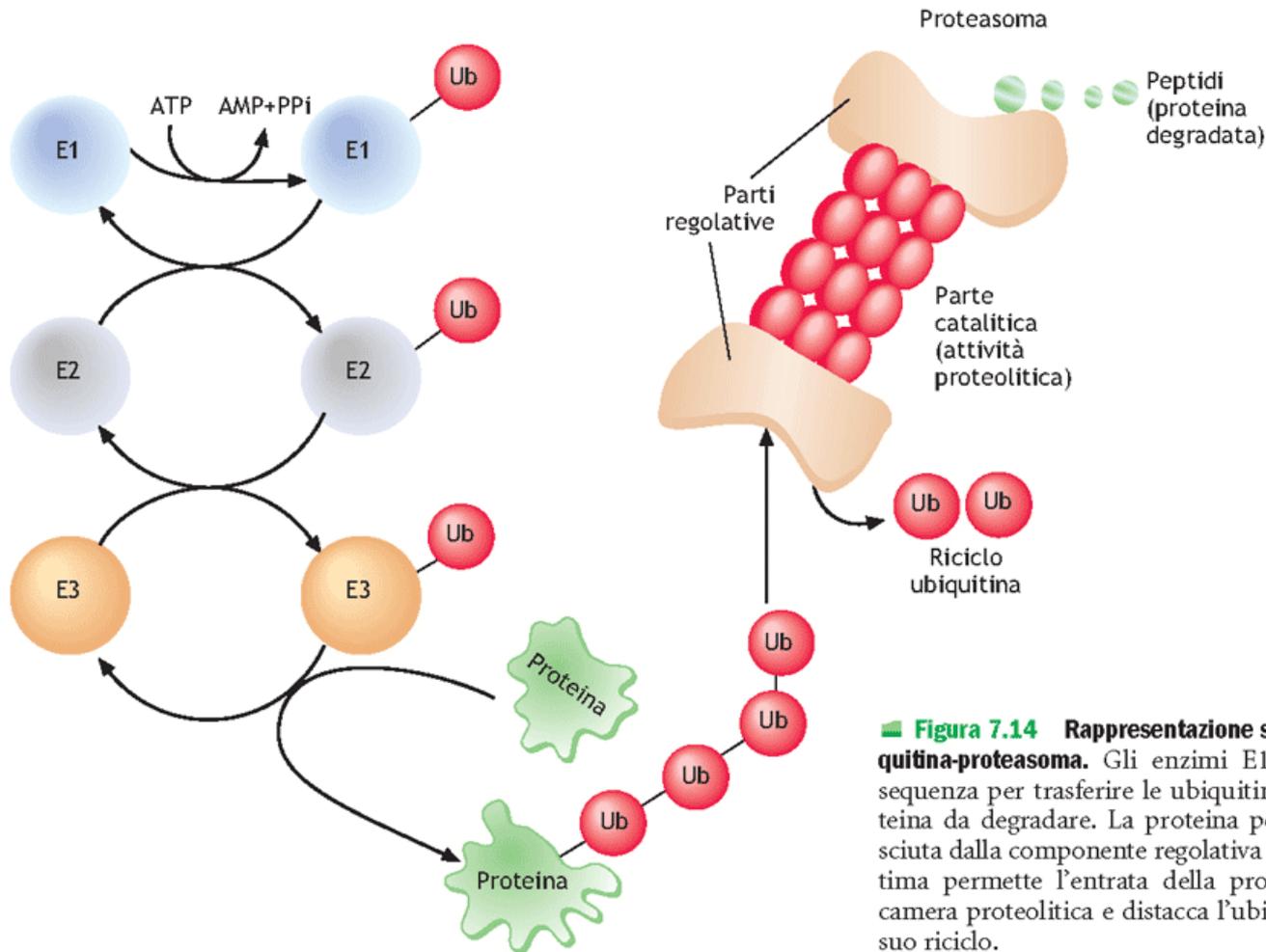
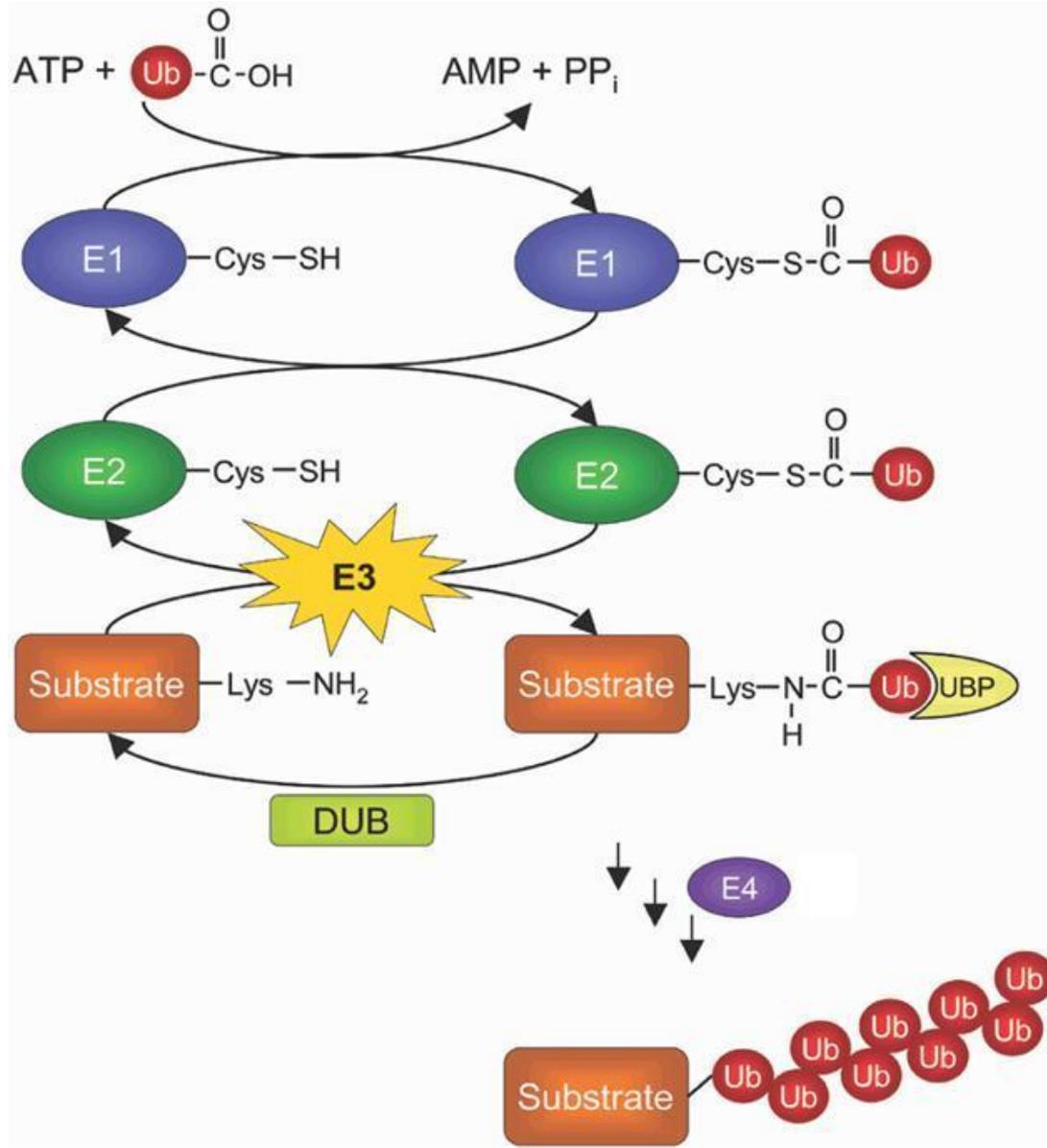
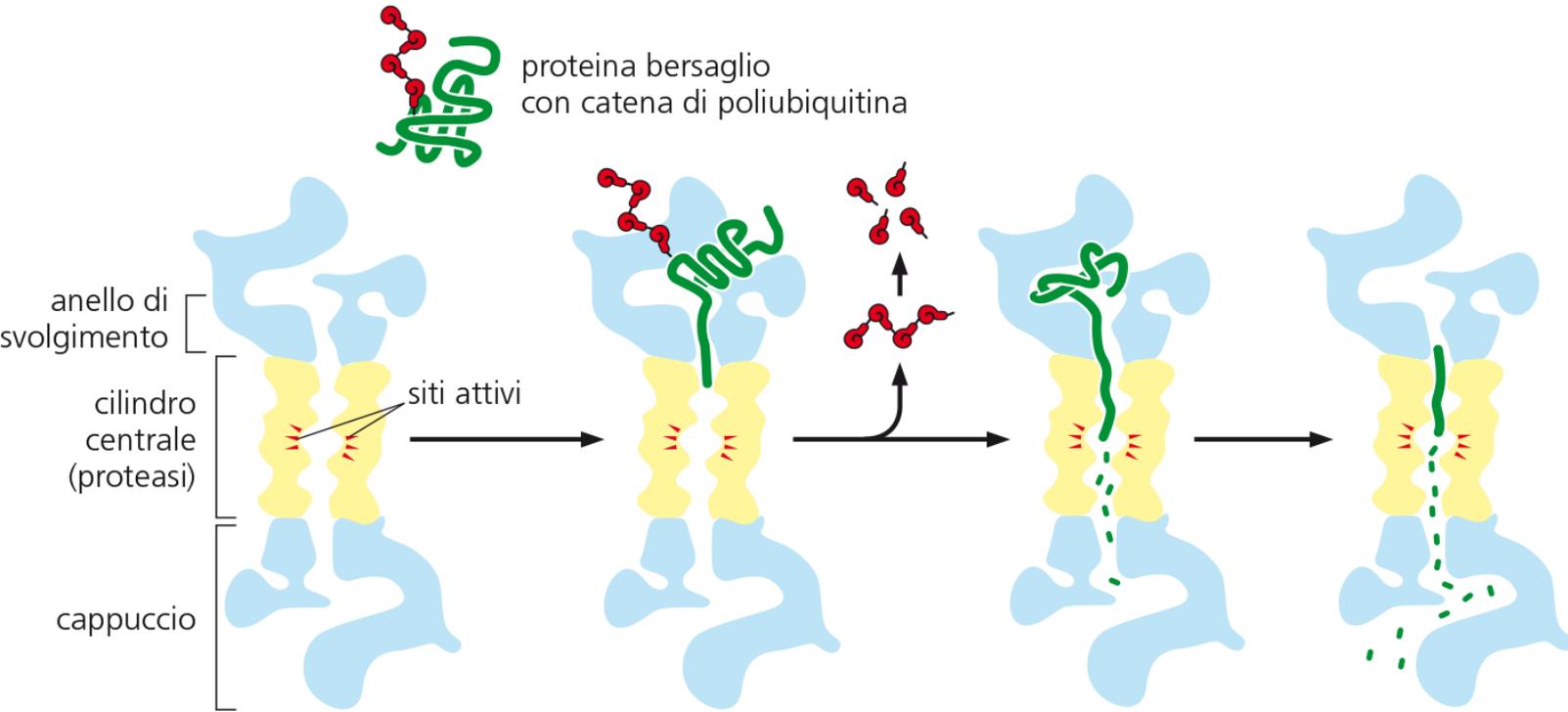


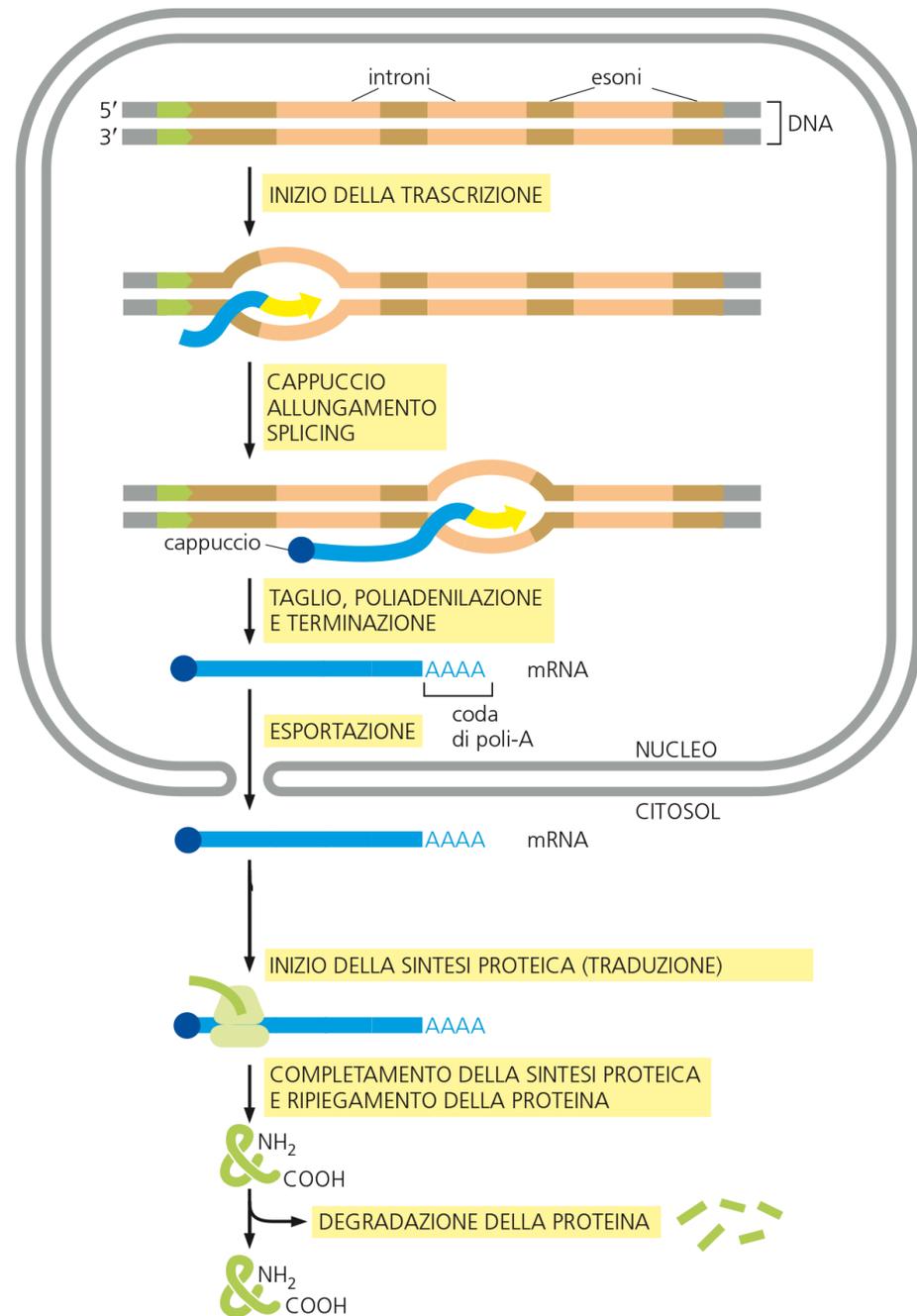
Figura 7.14 Rappresentazione schematica del sistema ubiquitina-proteasoma. Gli enzimi E1, E2 ed E3 agiscono in sequenza per trasferire le ubiquitine sulle lisine di una proteina da degradare. La proteina poli-ubiquitinata è riconosciuta dalla componente regolativa del proteasoma. Quest'ultima permette l'entrata della proteina da degradare nella camera proteolitica e distacca l'ubiquitina garantendo così il suo riciclo.



Il proteasoma



I processi che portano alla produzione di una proteina nella cellula eucariotica



Cosa succede agli istoni legati al DNA durante la replicazione del DNA e durante la trascrizione?

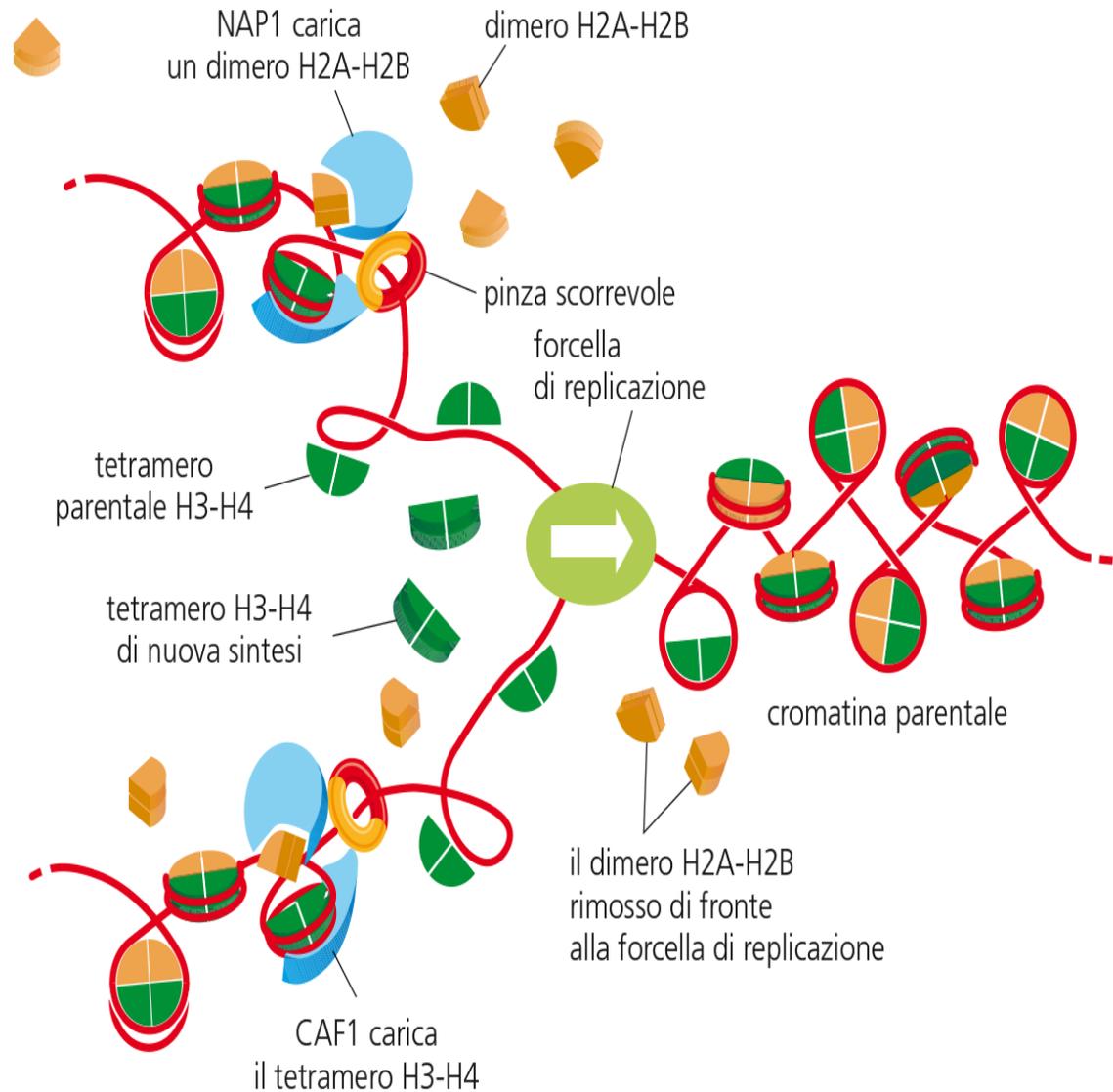
Gli istoni vengono rimossi e poi riaggiunti all'acido nucleico da proteine chiamate chaperoni degli istoni

Dietro la forcella di replicazione del DNA sono assemblati nuovi nucleosomi

NAP-1 e **CAF-1** sono chaperoni degli istoni detti anche fattori di assemblaggio della cromatina

NAP-1 carica i dimeri H2A-H2B

CAF1 carica il tetramero H3-H4



La fase di allungamento della trascrizione necessita della rimozione degli istoni legati al DNA

Il complesso **FACT** è un chaperone degli istoni, formato da **Spt16** e **SSRP1**: agisce sul dimero H2A/H2B
Lo chaperone istonico **Spt6** rimuove il tetramero H3/H4

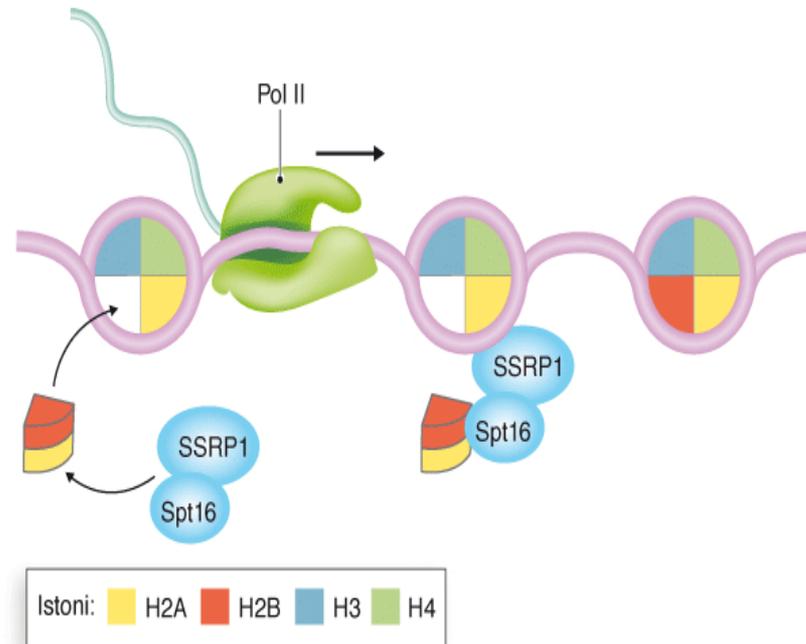


FIGURA 5.37 ▲ Attività del complesso FACT nell'allungamento trascrizionale. Il complesso FACT è formato dalle subunità Spt16 e SSRP1, entrambe dotate di una regione acida verso l'estremità C-terminale per il legame agli eterodimeri H2A/H2B del nucleosoma. Il complesso, che funziona da chaperone degli istoni, rimuove gli eterodimeri H2A/H2B dal nucleosoma al passaggio dell'RNA polimerasi, riposizionandoli dopo il passaggio dell'enzima. A questi processi di disassemblaggio (parziale) del nucleosoma e riassetto partecipa anche il fattore Spt6, un chaperone istonico con attività nei confronti del tetramero H3/H4.

Le mutazioni

1. **Mutazioni geniche (o puntiformi)**, modificano il significato dell'informazione
 2. **Mutazioni cromosomiche**, alterano la struttura dei cromosomi
 3. **Mutazioni genomiche**, modificano il numero dei cromosomi
-
- a. **Mutazioni spontanee**, si generano autonomamente
 - b. **Mutazioni indotte**, prodotte da agenti mutageni

Mutazioni geniche o puntiformi

1. **Sostituzione**, dovute alla sostituzione di una singola base del DNA con un'altra base
2. **Delezione**, perdita di una base nel filamento di DNA
3. **Inserzione**, aggiunta di una base nel filamento di DNA

La sostituzione di una base può avere conseguenze più o meno gravi sul prodotto finale (la proteina specificata da quel gene). Distinguiamo:

1. **mutazioni silenti**, non modificano la sequenza aminoacidica della proteina
2. **mutazioni missenso**, la sequenza aminoacidica della proteina viene modificata
3. **mutazioni non senso**, la sostituzione porta alla formazione di un codone di stop

Mutazioni silenziose

La mutazione di una base nel codone provoca la formazione di un codone diverso che codifica però per lo stesso aminoacido.

Esempio: se si passa dal codone CUA al codone CUG, entrambi i codoni codificano per lo stesso aminoacido, la leucina.

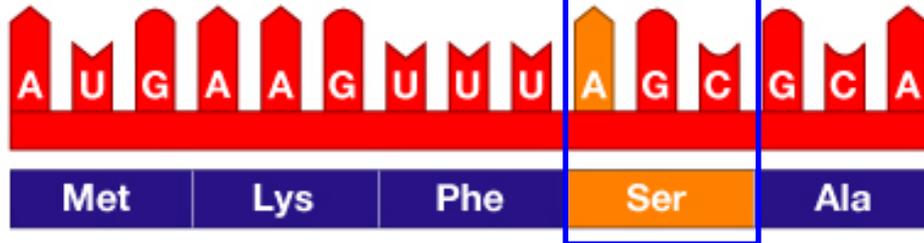
Poiché non cambia l'aminoacido che viene inserito nella proteina, una mutazione silenziosa non ha effetto.

Mutazioni missenso

Gene normale

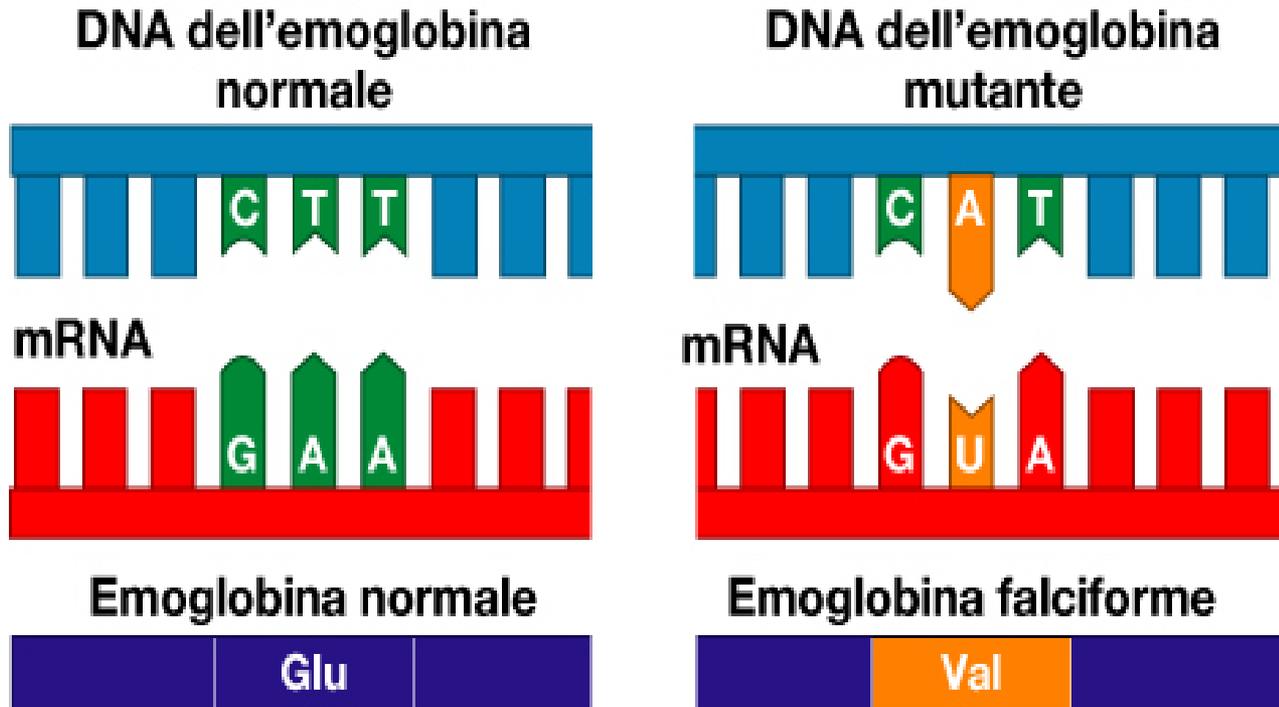


(a) Sostituzione di base



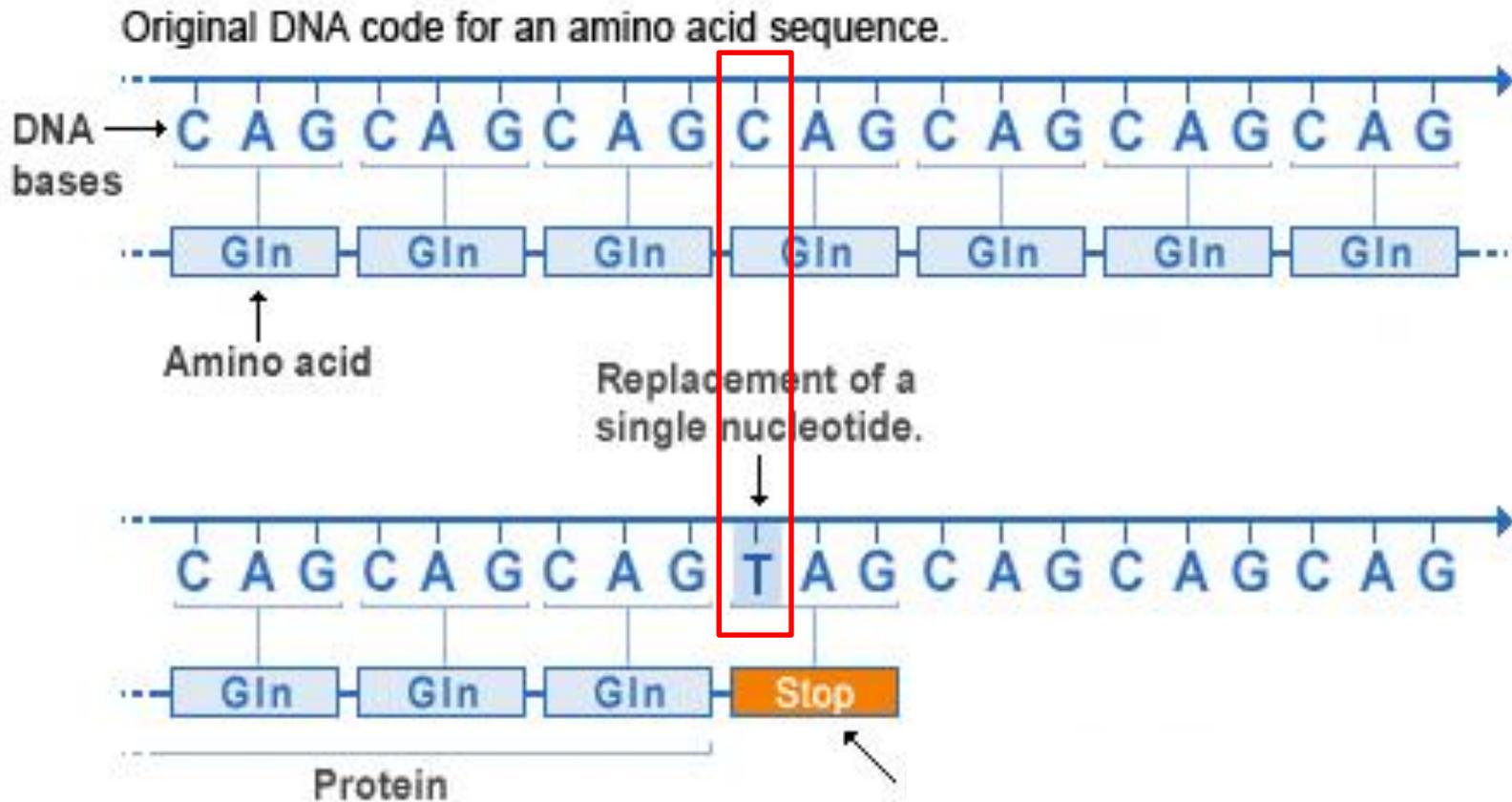
un aminoacido sbagliato al posto di quello giusto

Un esempio di mutazione missenso: l'anemia falciforme

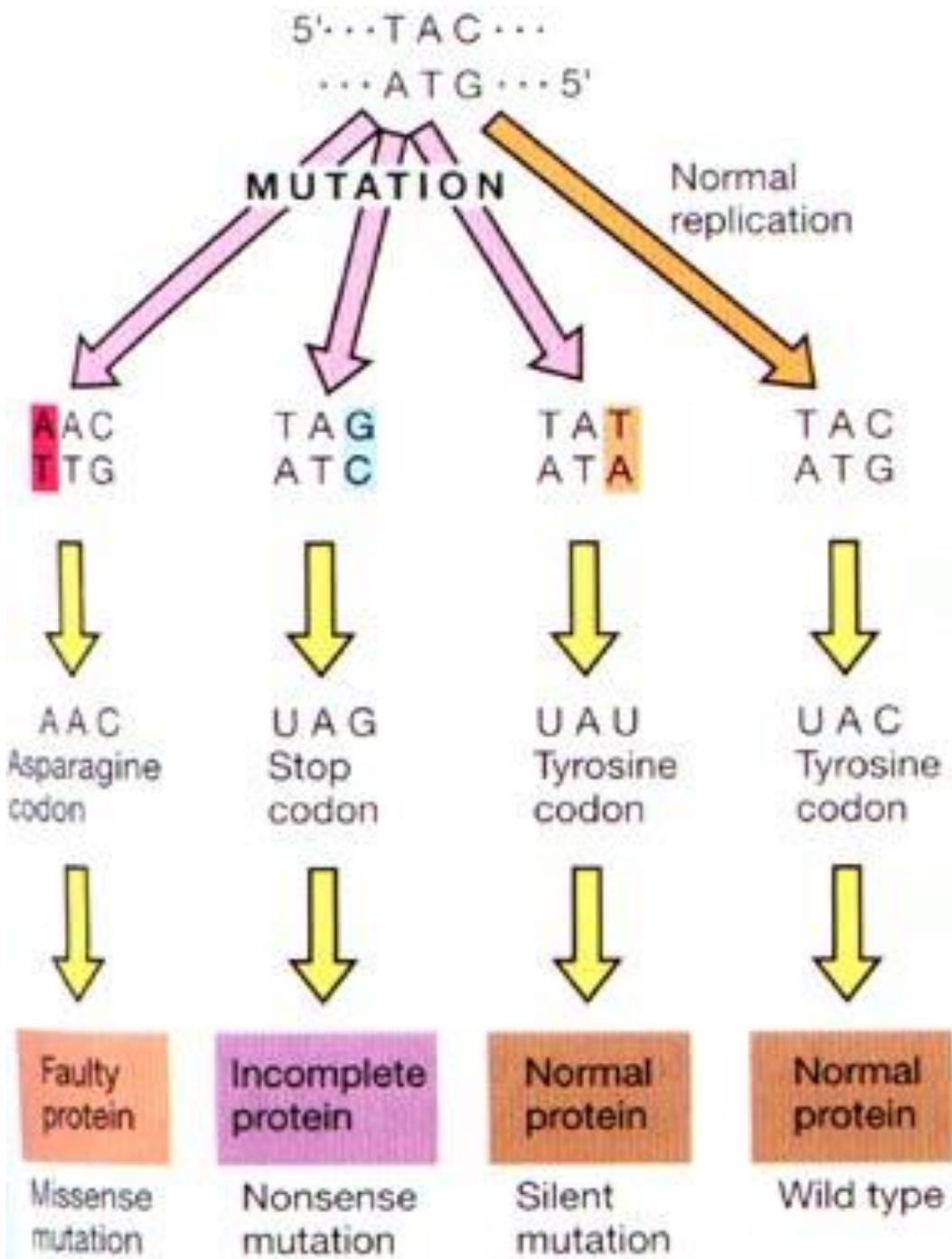


Una mutazione di senso codifica una singola sostituzione aminoacidica che causa la comparsa degli eritrociti falciformi e quindi l'anemia omonima.

La mutazione non senso



Genera un codone di stop e quindi una proteina piu' corta



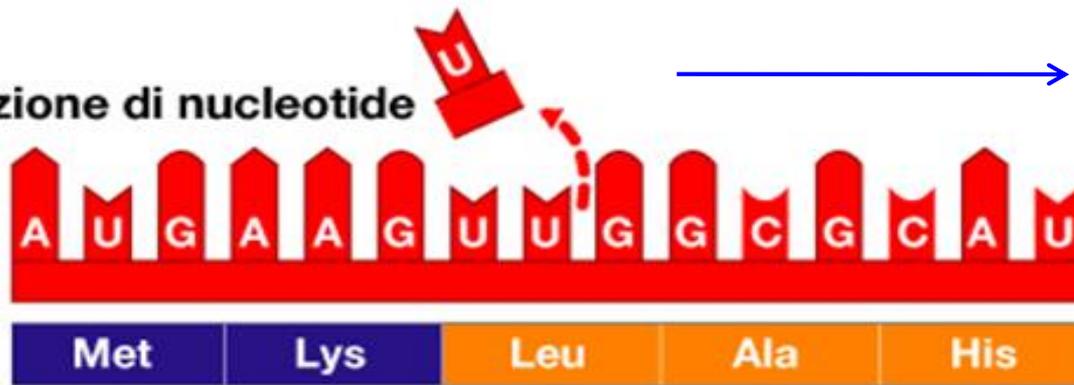
Mutazioni puntiformi

Delezione o inserzione di una base

Gene normale



Delezione di nucleotide



frame-shift
(scivolamento di
lettura)

la proteina avra' da
quel punto in poi una
struttura primaria
totalmente alterata

