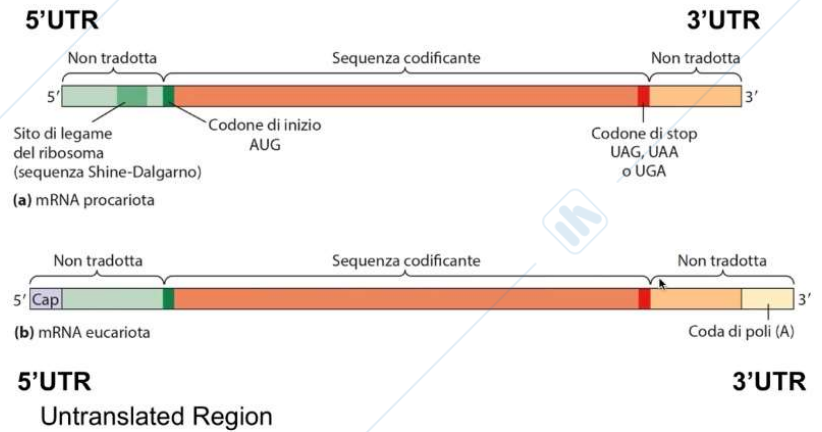


LA TRADUZIONE

L'mRNA maturo negli eucarioti presenta il cap, la coda poli(A) ed infine due distinte regioni posizionate prima e dopo il filamento codificante. Sono regioni che non vengono tradotte, anche se sono pur sempre degli esoni, e prendono il nome di 5'UTR e 3'UTR (untranslated region). L'inizio della traduzione ha sempre bisogno di una regione non codificante per permettere l'unione con il ribosoma.

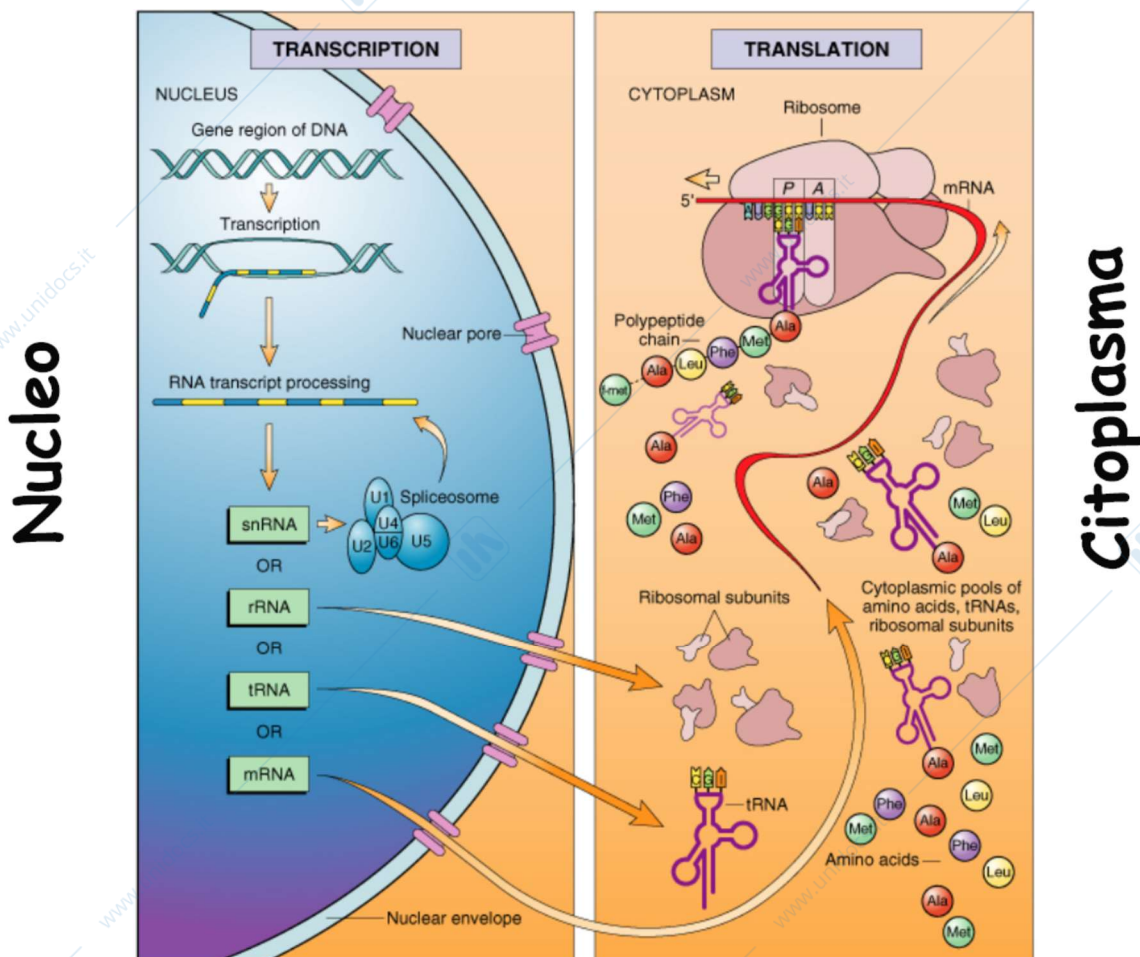


Un neurone e un linfocita hanno:

- Di uguale: stesso dna, medesimo patrimonio genetico, stessa quantità
- Di diverso: quantità di lipidi e zuccheri nel linfocita, espressione genica, geni a tessuto specifico

L'importanza del controllo dell'espressione genica: alcuni geni possono essere trascritti e tradotti in grande quantità, codificando molte proteine, mentre altri geni possono essere trascritti e tradotti in quantità minore, codificando solo poche proteine, in base alla necessità e da ciò che è scritto nel gene stesso.

TRADUZIONE



TRADUZIONE – il codice genetico

La trascrizione ci permette di selezionare particolari regioni del DNA utili per la produzione delle proteine, si seleziona ciò che serve. Durante il processo della traduzione bisogna passare da un codice a quattro lettere (le quattro basi azotate) ad un codice a venti lettere (i venti amminoacidi).

Per codificare tutti e venti gli amminoacidi servono ben 64 triplette (CODONI) di basi azotate:

		Second letter						
		U	C	A	G			
U	UUU	Phenylalanine	UCU UCC UCA UCG Serine	UAU	Tyrosine	UGU	Cysteine	
	UUC			UAC		UGC		
	UUA UUG	Leucine		UAA UAG	Stop codon Stop codon	UGA UGG	Stop codon Tryptophan	
C	CUU CUC CUA CUG	Leucine	CCU CCC CCA CCG	Proline	CAU CAC	Histidine	CGU CGC CGA CGG	Arginine
	A <td rowspan="2">Isoleucine</td> <td rowspan="2">ACU ACC ACA ACG</td> <td rowspan="2">Threonine</td> <td>AAU AAC</td> <td>Asparagine</td> <td>AGU AGC</td> <td>Serine</td>	Isoleucine	ACU ACC ACA ACG	Threonine	AAU AAC	Asparagine	AGU AGC	Serine
					AAA AAG	Lysine	AGA AGG	Arginine
AUG	Methionine; start codon							
G	GUU GUC GUA GUG	Valine	GCU GCC GCA GCG	Alanine	GAU GAC	Aspartic acid	GGU GGC GGA GGG	Glycine
					GAA GAG	Glutamic acid		

Ci sono tre triplette (in rosso) che non codificano per nessun amminoacido e vengono denominati STOP CODON, codoni di stop. Quando sono presenti e vengono letti a livello del ribosoma, definiscono l'interruzione della traduzione di una proteina. All'opposto troviamo la METIONINA, amminoacido codificato da una sola tripletta, conosciuta anche come START CODON o codone di inizio, la quale definisce l'inizio della traduzione. Ogni altra tripletta può codificare per un singolo amminoacido, ma gli amminoacidi possono essere codificati da più triplette (vedi per esempio la SERINA): per questo motivo il codice genetico è detto DEGENERATO

È quindi evidente che la sequenza di amminoacidi deve essere letta nel modo corretto (corretto frame o griglia di lettura) per codificare la giusta proteina. Questo è il compito del ribosoma, identificare la prima tripletta. Ogni tripletta viene inoltre letta una volta sola (codice a triplette non sovrapposte).

AGA	AGG	GGA	GGC	GGU	GAA	GAG	CAA	CAG	CAU	AUA	AUC	AUU	AAA	AAG	AUG	UUA	UUG	CUA	CUC	CUU	CCG	CCC	CCU	CCA	UCA	UCC	UCU	ACG	ACA	ACU	UAG	UAA	UUA	UUG	UAC	UAU	UUG	UUA	UUG	UAG	UAA					
GCA	CGA	GCC	CGC	GCG	CGG	GAC	AAC	AAU	UGU	GAA	GAG	CAA	CAG	CAU	AUA	AUC	AUU	AAA	AAG	AUG	UUA	UUG	CUA	CUC	CUU	CCG	CCC	CCU	CCA	UCA	UCC	UCU	ACG	ACA	ACU	UAG	UAA	UUA	UUG	UAC	UAU	UUG	UUA	UUG	UAG	UAA
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	stop																										
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V																											

Riassumendo, il codice genetico deve essere:

- A triplette
- Universale (con alcune eccezioni molto rare): tutti gli esseri viventi hanno questo codice che segue le stesse leggi
- Degenerato (ridondante), amminoacido codificato da più triplette
- lineare

VACILLAMENTO DELL'APPAIAMENTO CODONE-ANTICODONE: se l'appaiamento codone-anticodone dovesse essere sempre perfetto sarebbero necessari 61 differenti tRNA. Invece, si è osservato che un numero minore di tRNA è in grado di riconoscere tutti i 61 codoni senso → Questo è possibile a causa del **vacillamento dell'interazione codone-anticodone** a livello della terza base del codone (la prima dell'anticodone). Non tutti gli appaiamenti sono però possibili.

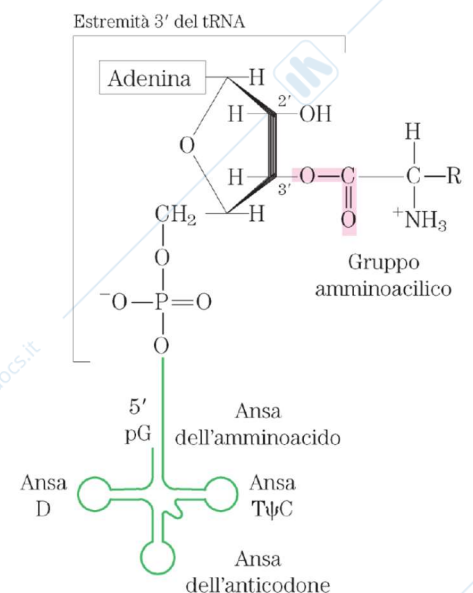
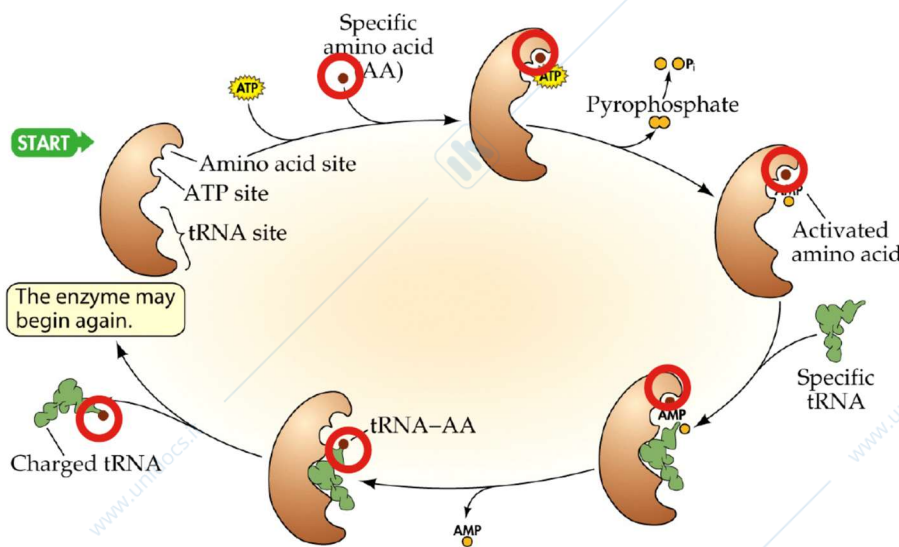
Basi riconosciute in un codone (solo la terza posizione)	Base nell'anticodone
U	A
G	C
A o G	U
C o U	G
U, C o A	I (Inosina)

AAU AAU
mRNA UUA UUG

Due triplette che differiscono per la base nella terza posizione possono essere riconosciute dallo stesso tRNA: questo riduce di molto in numero di tRNA che sono necessari

AMMINOACIL-tRNA SINTETASI

Prima che una molecola di tRNA possa portare il suo appropriato amminoacido al ribosoma, tale amminoacido deve essere legato covalentemente al tRNA. Gli enzimi responsabili di questo legame sono le amminoacil-tRNA sintetasi (le cellule ne contengono venti differenti, uno per ogni amminoacido utilizzato).



1. Questo processo parte dall'enzima amminoacil-tRNA sintetasi, una grossa struttura polipeptidica che presenta numerose tasche: il sito per l'amminoacido, il sito per l'ATP e i siti per il tRNA
2. L'amminoacido e l'ATP entrano nel sito attivo dell'enzima
3. L'amminoacido si attiva, l'AMP si lega ad esso e viene rilasciato pirofosfato
4. L'AMP viene rimosso dal tRNA, il quale rimane legato all'amminoacido, andando a formare l'amminoacil-tRNA

In che modo le amminoacil-tRNA sintetasi riconoscono per ogni amminoacido il corretto tRNA? Durante il processo di selezione dell'amminoacido da legare, le amminoacil-tRNA sintetasi riconoscono i nucleotidi localizzati in almeno due differenti regioni delle molecole di tRNA (tripletta dell'anticodone o del 3' del tRNA).

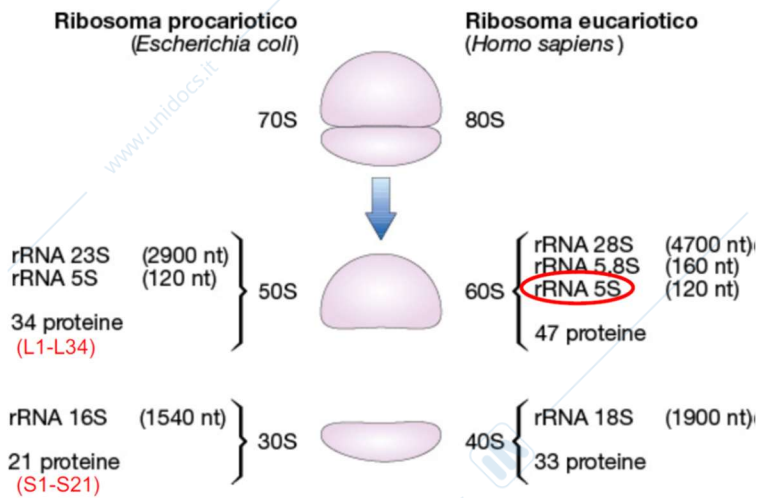
Dopo il legame di un amminoacido a una molecola di tRNA, le amminoacil-tRNA sintetasi controllano il prodotto finale per garantire che sia stato legato l'amminoacido corretto (quelli non corretti vengono rilasciati mediante idrolisi del legame che li teneva uniti ai tRNA).

RIBOSOMI

I ribosomi svolgono un ruolo centrale nella sintesi proteica, orientando in modo reciprocamente corretto gli mRNA e i tRNA che trasportano gli amminoacidi affinché il codice genetico sia letto accuratamente, e catalizzando la formazione dei legami peptidici che uniscono gli amminoacidi nel polipeptide.

I ribosomi vengono SINTETIZZATI NEL NUCLEOLO e sono particelle costituite da quattro molecole di rRNA ribosomiale e da proteine, le quali si associano in due diverse subunità e risiedono nel citoplasma e, nelle cellule eucariote, nella matrice dei mitocondri e nello stroma dei cloroplasti. Nel citoplasma degli eucarioti, i ribosomi sono presenti sia liberi nel citosol sia legati alle membrane del reticolo endoplasmatico e alla membrana esterna dell'involucro nucleare.

Sono costituiti da due subunità dissociabili, chiamati subunità maggiore e subunità minore:

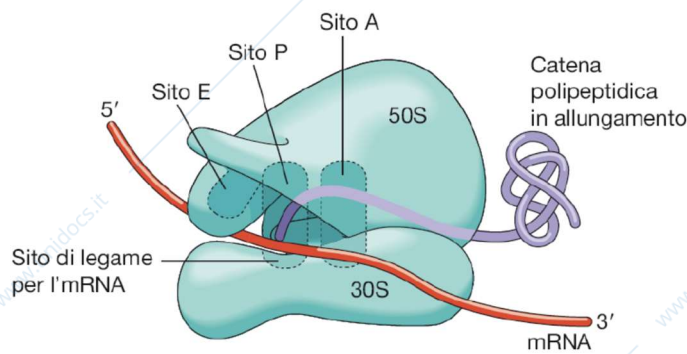
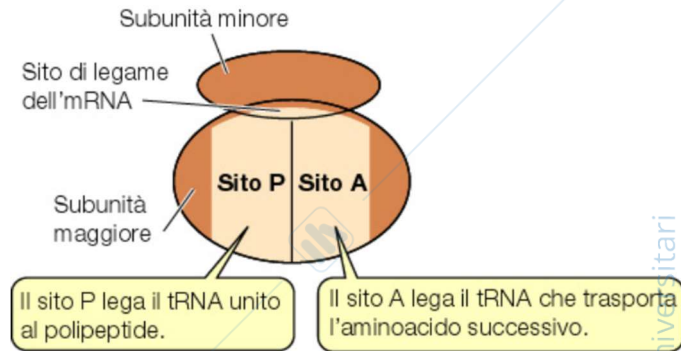
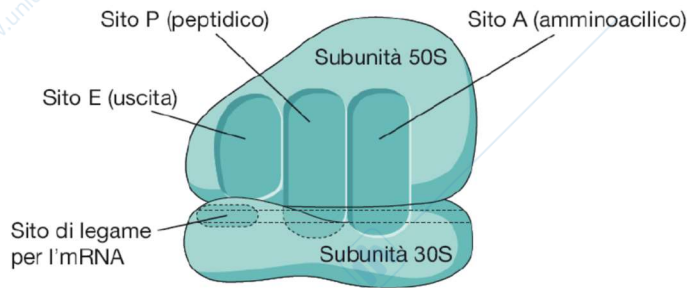


RIBOSOMA EUCARIOTICO ha un coefficiente di sedimentazione di **80S**.

Subunità grande **60 S** ---tre molecole di rRNA (**28S e 5,8S e 5S**),
 Subunità piccola **40 S** ---un rRNA di **18S**
 più di 80 proteine complessivamente

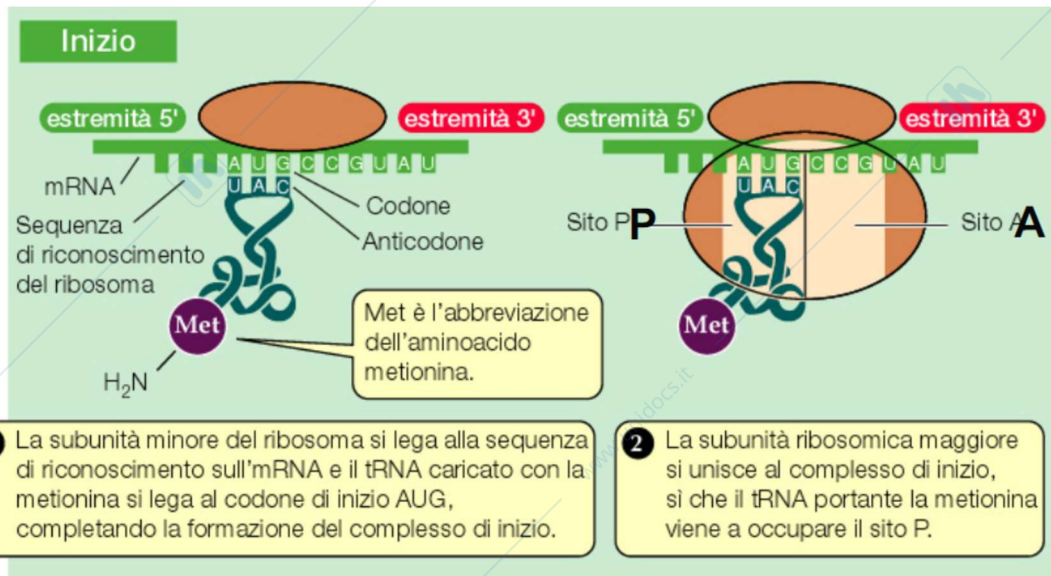
S è un coefficiente che consente di confrontare e misurare delle strutture macromolecolari in base alla struttura e da ciò che sono costituite. La S totale è minore rispetto alla somma delle S delle singole subunità.

Nel ribosoma sono quattro i siti particolarmente importanti per la sintesi proteica, un **sito di legame per le mRNA** e tre siti dove si lega il tRNA: un **sito A amminoacilico** che lega ogni tRNA nuovo con attaccato il suo amminoacido, un **sito P peptidilico** dove risiede il tRNA che porta legata la catena polipeptidica in allungamento, e un **sito E uscita** dal quale i tRNA lasciano il ribosoma dopo che hanno scaricato i loro amminoacidi.



INIZIO DELLA SINTESI PROTEICA

La subunità minore scivola sull'mRNA fino a che non trova il codone di inizio



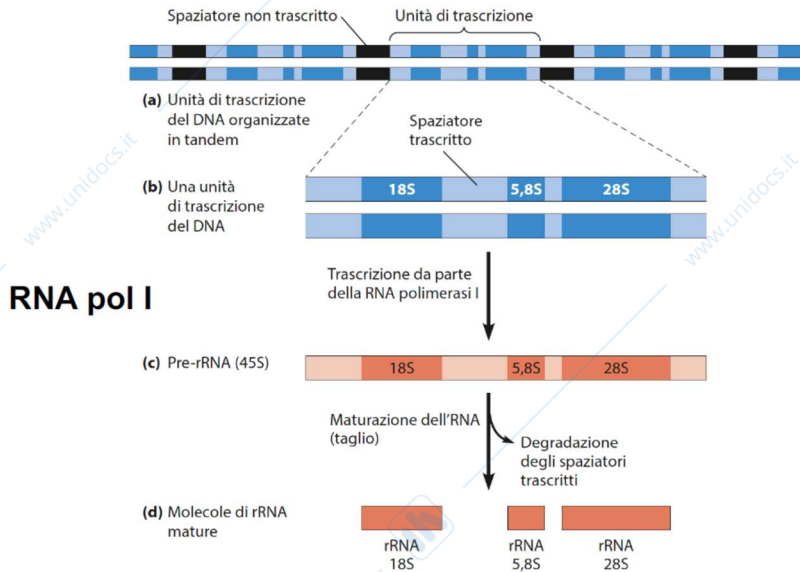
La traduzione inizia con la formazione del COMPLESSO D'INIZIO. Per l'inizio della sintesi proteica è richiesta la partecipazione di proteine, dette FATTORI DI INIZIO. Queste proteine sono chiamate IF (initiation factor) nei procarioti (IF1, IF2 e IF3), eIF negli eucarioti.

L'energia è fornita dal GTP (guanosintrifosfato).

Quando viene riconosciuto il primo codone di stop il sito A rimane libero per un tot di tempo, necessario per far sì che entri il fattore di liberazione/fattori proteici di rilascio (RF, release factor), quali RF1, RF2 e RF3.

GENI

In generale, i geni nella maggior parte dei casi sono presenti un'unica volta nel genoma, ma nel caso degli rRNA non riusciremmo a produrre una quantità sufficiente per costituire i ribosomi. Devono essere presenti in quantità equimolare → i geni sono organizzati in tandem. Se ci dovessimo affidare ad un unico gene non ci sarebbe mai la quantità necessaria per la formazione di ribosomi... dunque...



Questi cromosomi hanno alcune regioni/porzioni che si concentrano nel nucleolo, una sottoarea dove si concentra la rna polimerasi I. l'unica eccezione è la rna 5S, un rna aggiuntivo che si trova su un altro cromosoma, che non si trova nel nucleolo.

Negli esseri umani sono presenti approssimativamente 300-400 ripetizioni di rRNA in cinque gruppi (sui cromosomi 13, 14, 15, 21 e 22).

Ruoli dell'RNA nella sintesi delle proteine

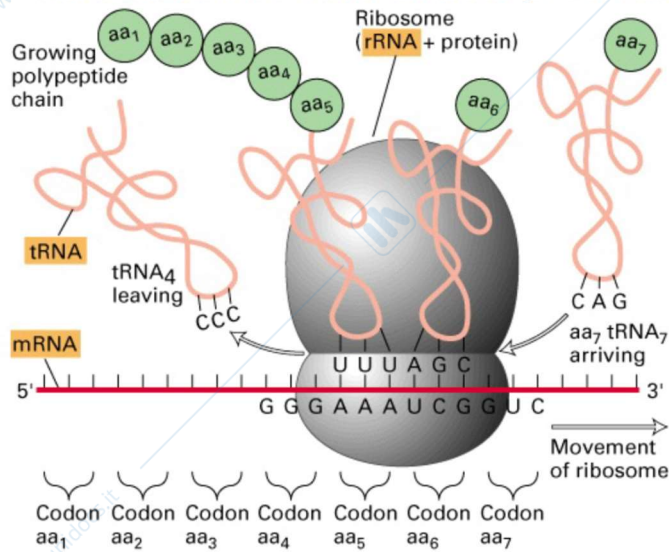
Proofreading a livello del ribosoma richiede GTP, quindi energia. In cosa consiste?

-Controllo interazione codone-anticodone
Avviene nella finestra di tempo che intercorre tra l'entrata dell'aminoacil tRNA nel sito A e la formazione del legame peptidico.

Gli aminoacil tRNA errati si dissociano dal sito A.

- Tre tipi di molecole di RNA svolgono ruoli differenti ma complementari nella sintesi delle proteine (traduzione)
- L'RNA messaggero (mRNA) porta l'informazione copiata dal DNA sotto forma di una serie di "parole" di tre basi dette CODONI
- L'RNA transfer (tRNA) decifra il codice e trasporta lo specifico amino acido
- L'RNA ribosomale (rRNA) si associa con una serie di proteine per formare i ribosomi, strutture che funzionano come macchine che sintetizzano le proteine

Il ruolo dell'RNA nella sintesi proteica



COME BLOCCARE LA SINTESI PROTEICA

La traduzione può essere bloccata in un preciso momento tramite l'azione di antibiotici o farmaci

Solo sui batteri

TETRACICLINA blocca l'attacco dell'aminoacil-tRNA al sito A del ribosoma

STREPTOMICINA impedisce la transizione del ribosoma dal complesso di inizio all'allungamento della catena

ERITROMICINA blocca la reazione di traslocazione sui ribosomi

RIFAMICINA Blocca la sintesi di RNA legandosi alla RNA polimerasi

Su batteri ed eucarioti

ACTINOMICINA D si lega ad DNA e blocca il movimento della RNA polimerasi

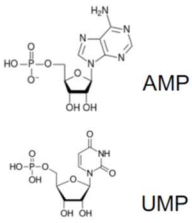
Su eucarioti ma non su batteri

CICLOESIMIDE blocca la reazione di traslocazione sui ribosomi

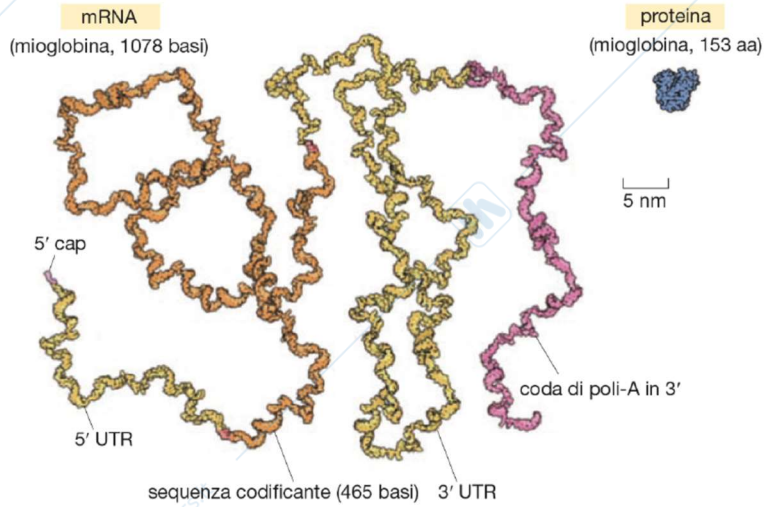
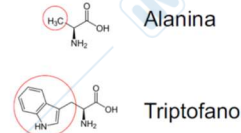
α-AMANITINA blocca sintesi di mRNA legandosi alla RNA pol II

È più grande una proteina o l'mRNA che la codifica?

Struttura di un nucleotide monofosfato



Struttura di un aminoacido



È più veloce la trascrizione o la traduzione?

Tasso di **TRASCRIZIONE** misurato per vari organismi e condizioni
(*E. coli* e *H. sapiens* a 37° C, *D. melanogaster* a 22° C)

ORGANISMO	VELOCITA' (nt/secondo)
<i>E. coli</i>	10-100
<i>D. melanogaster</i>	25
<i>H. sapiens</i>	25



In *E.coli* molto grossolanamente: 60nt/sec e 20aa/sec.
Quindi la trascrizione di un gene e la sua traduzione richiedono tempi simili (att. 5'UTR e 3'UTR)

Tasso di **TRADUZIONE** misurato per vari organismi e condizioni
(*E. coli* e *H. sapiens* a 37° C, *D. melanogaster* a 22° C)

ORGANISMO	VELOCITA' (aa/secondo)
<i>E. coli</i>	10-20
<i>S. cerevisiae</i>	3-10
<i>M. musculus</i>	6

