

TRADUZIONE



Principi di Biologia e Genetica
Scienze Motorie
a.a 2021-22
Dott. ssa Mazzoni Elisa, PhD



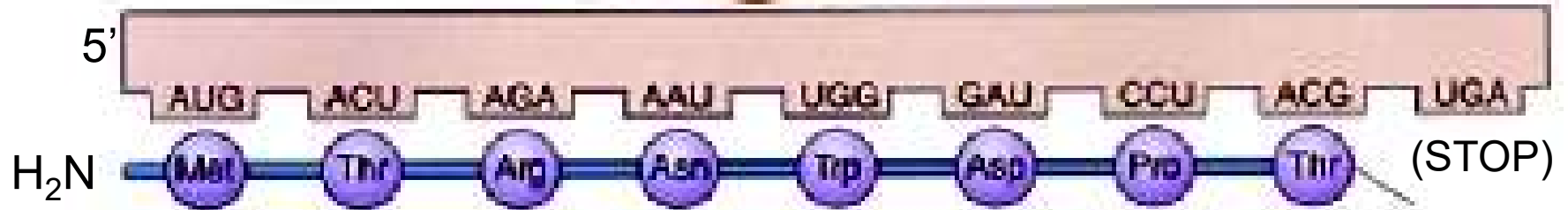
Il codice genetico

Il codice genetico è un codice a triplette, ovvero un gruppo di tre nucleotidi (**codone**) dell'mRNA che codifica per un aminoacido della catena polipeptidica.

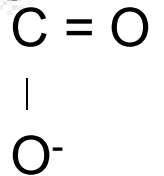
Sequenza di DNA



Sequenza di mRNA



Sequenza aminoacidica



		Seconda lettera				
		U	C	A	G	
Prima lettera	U	UUU Fenilalanina UUC	UCU Serina UCC UCA UCG	UAU Tirosina UAC	UGU Cisteina UGC	U C A G
		UUA Leucina UUG		UAA Codone di stop UAG Codone di stop	UGA Codone di stop UGG Triptofano	
	C	CUU Leucina CUC CUA CUG	CCU Prolina CCC CCA CCG	CAU Istidina CAC	CGU Arginina CGC CGA CGG	U C A G
		CAA Glutammina CAG				
A	AUU Isoleucina AUC AUA	ACU Treonina ACC ACA ACG	AAU Asparagina AAC	AGU Serina AGC	U C A G	
	AUG Metionina; codone d'inizio		AAA Lisina AAG	AGA Arginina AGG		
G	GUU Valina GUC GUA GUG	GCU Alanina GCC GCA GCG	GAU Acido aspartico GAC	GGU Glicina GGC GGA GGG	U C A G	

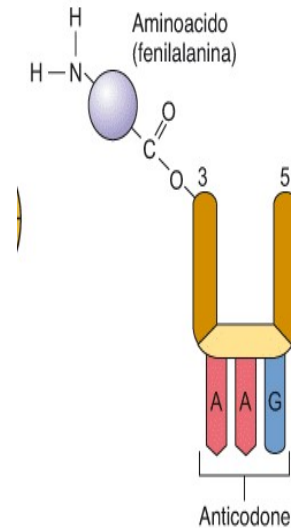
Figura 14.5 Il codice genetico L'informazione genetica è codificata in unità di tre lettere, i codoni – formati dai nucleosidi monofosfato con le basi uracile (U), citosina (C), adenina (A) e guanina (G) – che vengono letti nell'mRNA in direzione 5' → 3'. Per trovare il significato di un codone mediante questa tabella, occorre leggere la prima lettera nella colonna di sinistra, quindi leggere la seconda orizzontalmente, infine leggere la terza lettera nella colonna di destra. L'amminoacido specificato da ciascun codone è scritto di fianco alla/e tripletta/e corrispondente/i. Per esempio, AUG codifica per la metionina e GUA per la valina.

 **Attività 14.2 Il codice genetico**
The Genetic Code

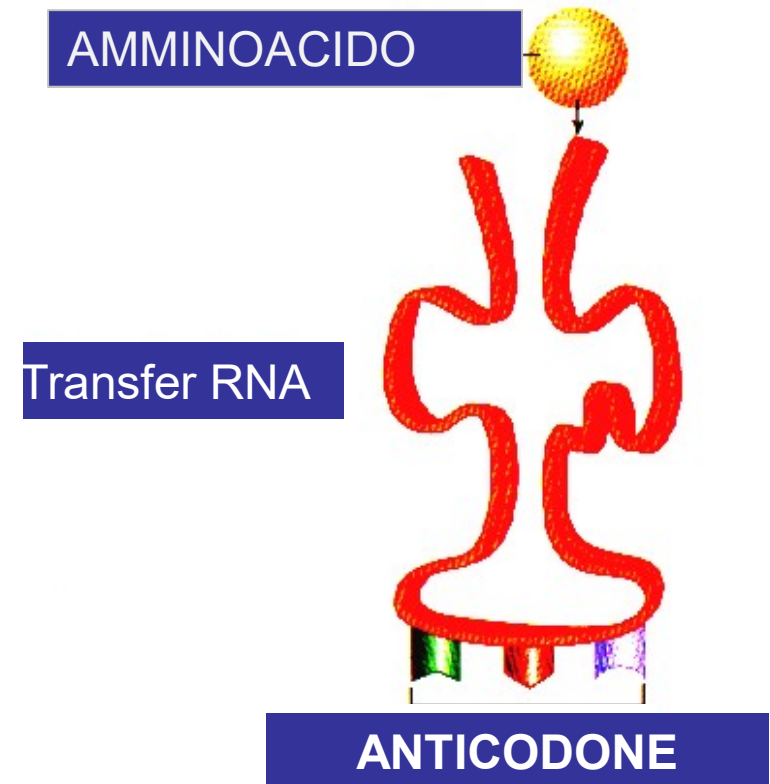


tRNA o RNA transfert

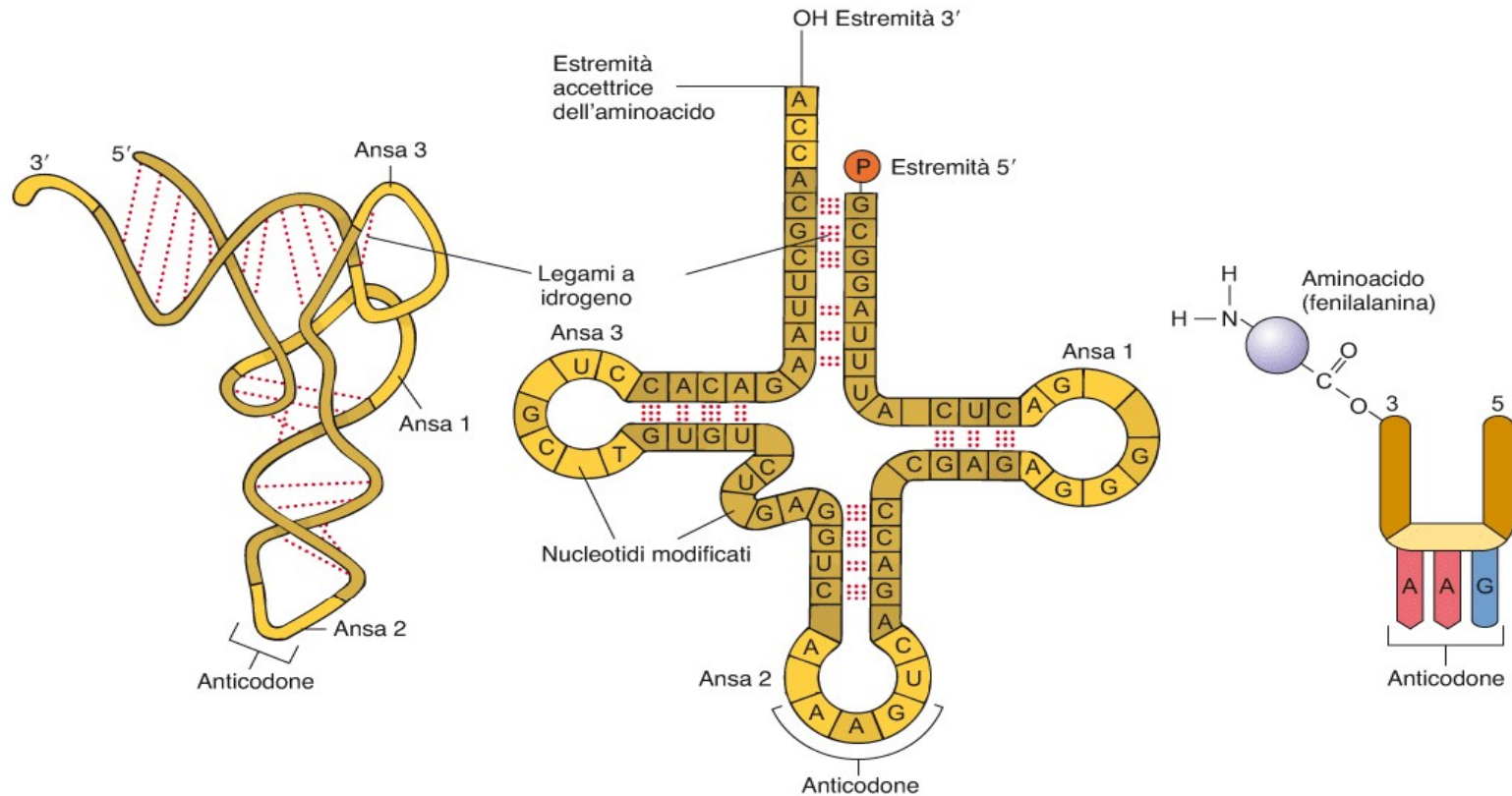
- a una specifica molecola di RNA (tripletta di basi) corrisponde una molecola di aminoacido che viene legata nel citoplasma dal tRNA
- Il tRNA ha una corta catena di nucleotidi (anticodone) ed 1 aminoacido.
- Il tRNA ha la forma di trifoglio
- la "foglia" centrale è formata da 3 nucleotidi → **anticodone**
- c'è una esatta corrispondenza tra l'aminoacido e l'anticodone del tRNA cui viene legato



(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.



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.

FIGURA 13-6 Tre rappresentazioni di una molecola di tRNA

La struttura tridimensionale della molecola di tRNA è determinata dai legami idrogeno che si formano tra basi complementari. Un'ansa del tRNA contiene l'anticodone in grado di appaiarsi con il codone complementare presente sull'mRNA. L'aminoacido è legato al gruppo idrossile presente in posizione 3' del nucleotide terminale. Il diagramma stilizzato dell'aminoacil-tRNA mostra l'aminoacido legato al trasportatore attraverso il suo gruppo carbossilico, con esposizione dell'aminogruppo per la formazione del legame peptidico.



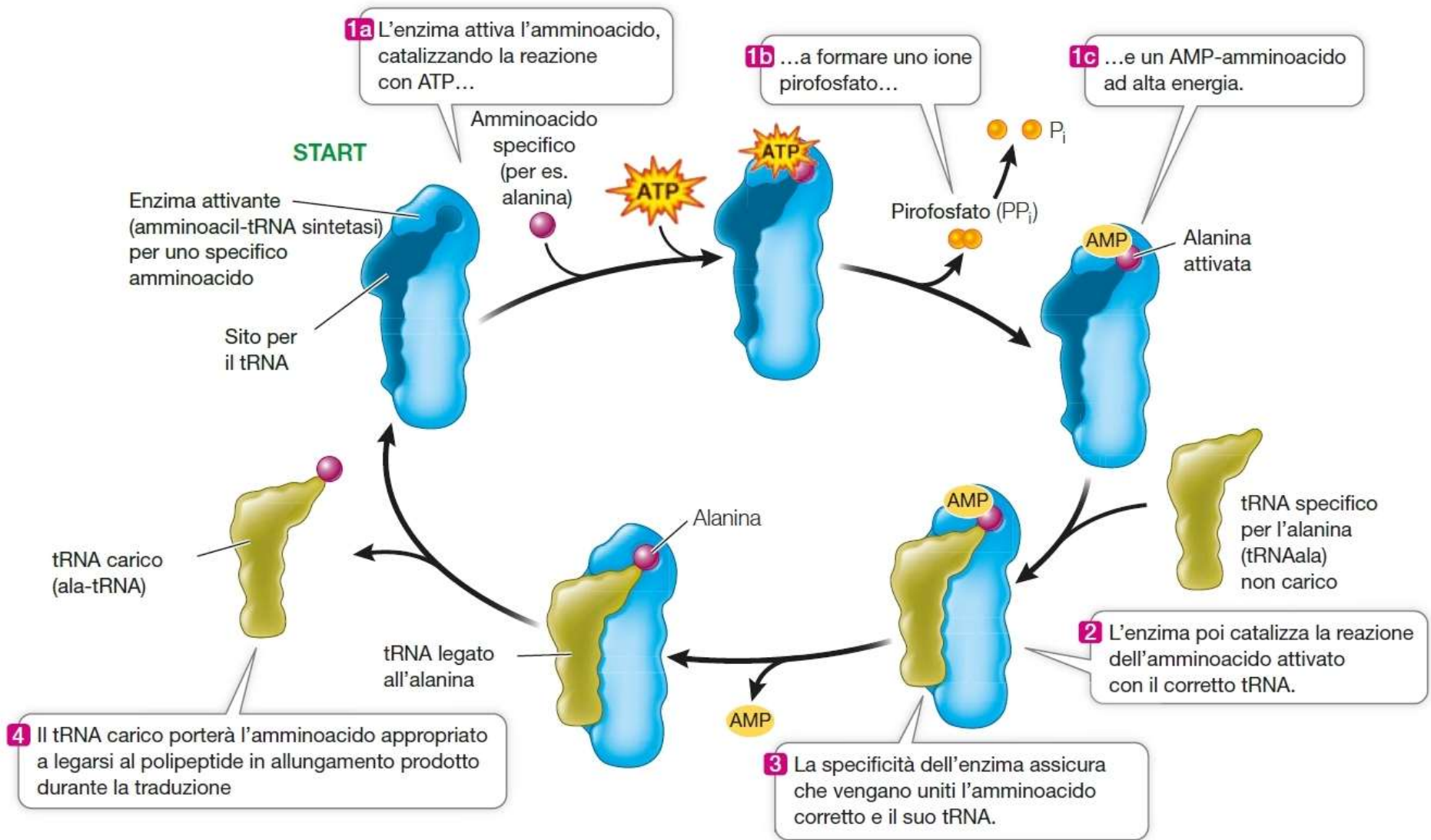
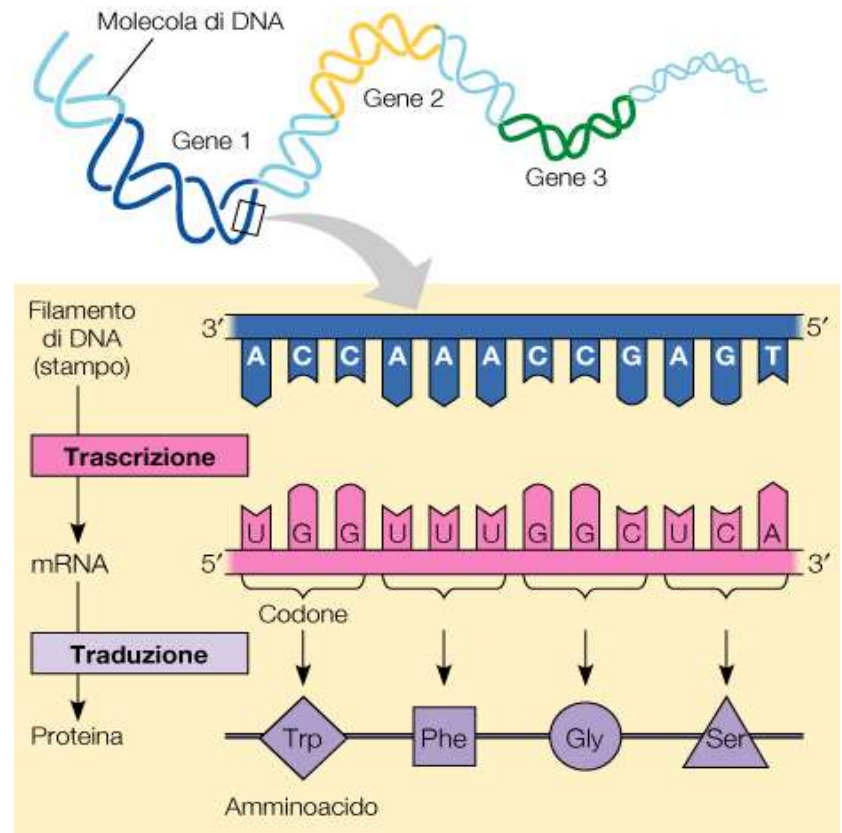
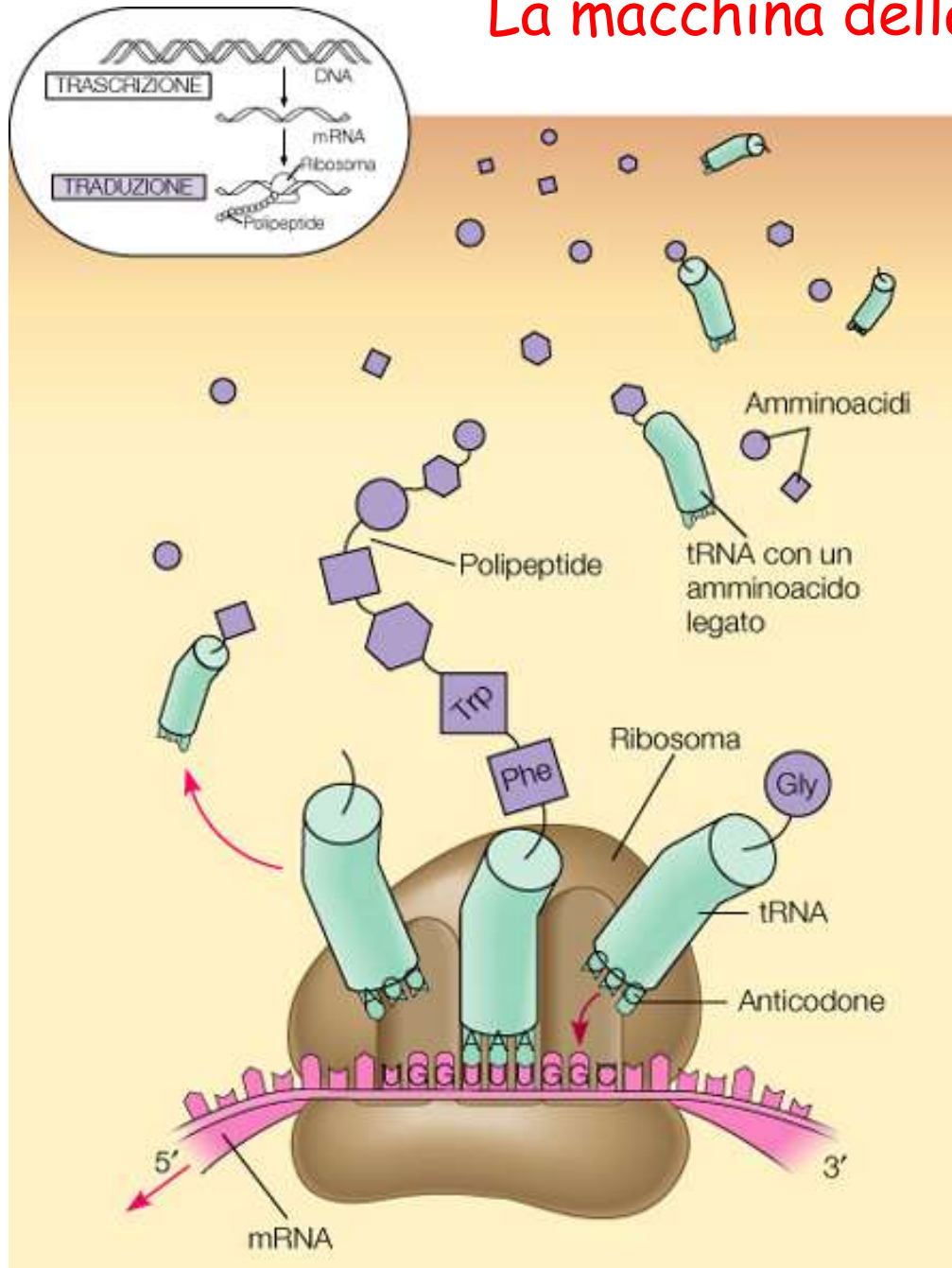


Figura 14.11 Caricamento della molecola del tRNA L'amminoacil-tRNA sintetasi attiva uno specifico amminoacido e lo lega a uno specifico tRNA.



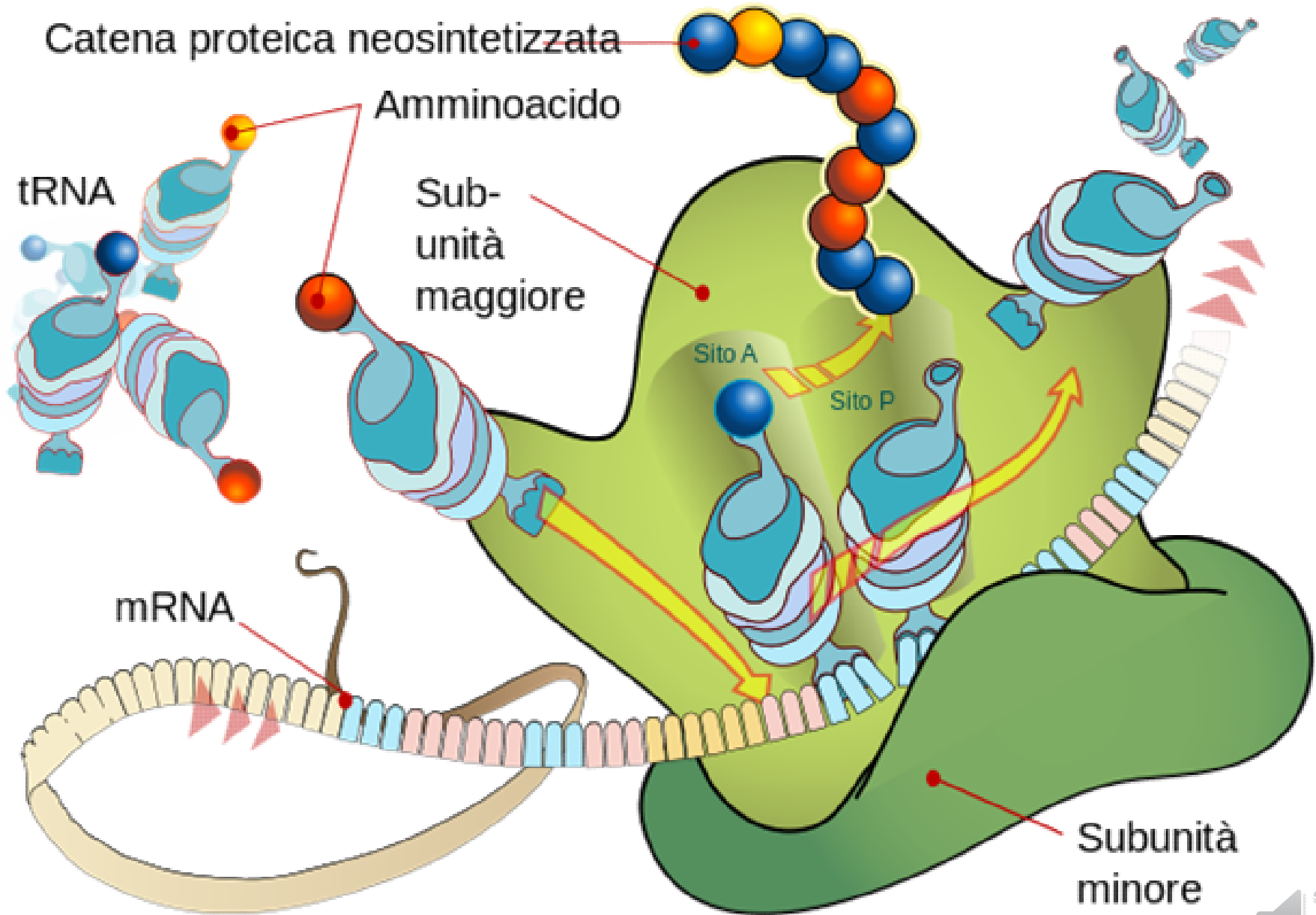
La macchina della traduzione



Durante la traduzione l'mRNA viene letto come una sequenza di triplette di basi, dette **codoni**. Ogni codone specifica l'amminoacido che deve essere aggiunto alla catena polipeptidica in via di accrescimento.

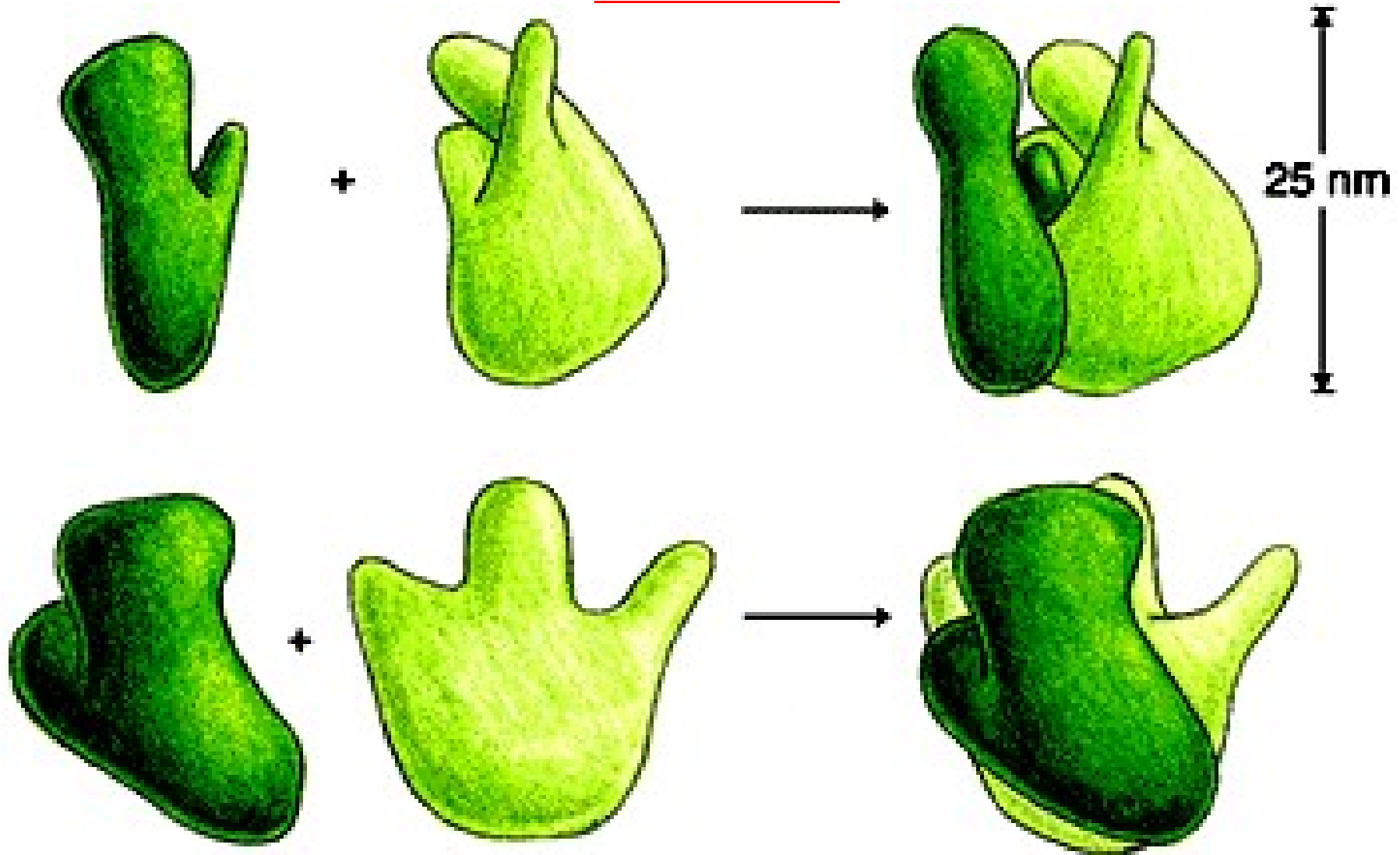


TRADUZIONE



LA TRADUZIONE DELL' mRNA

I ribosomi



subunità piccola

subunità grande

ribosoma



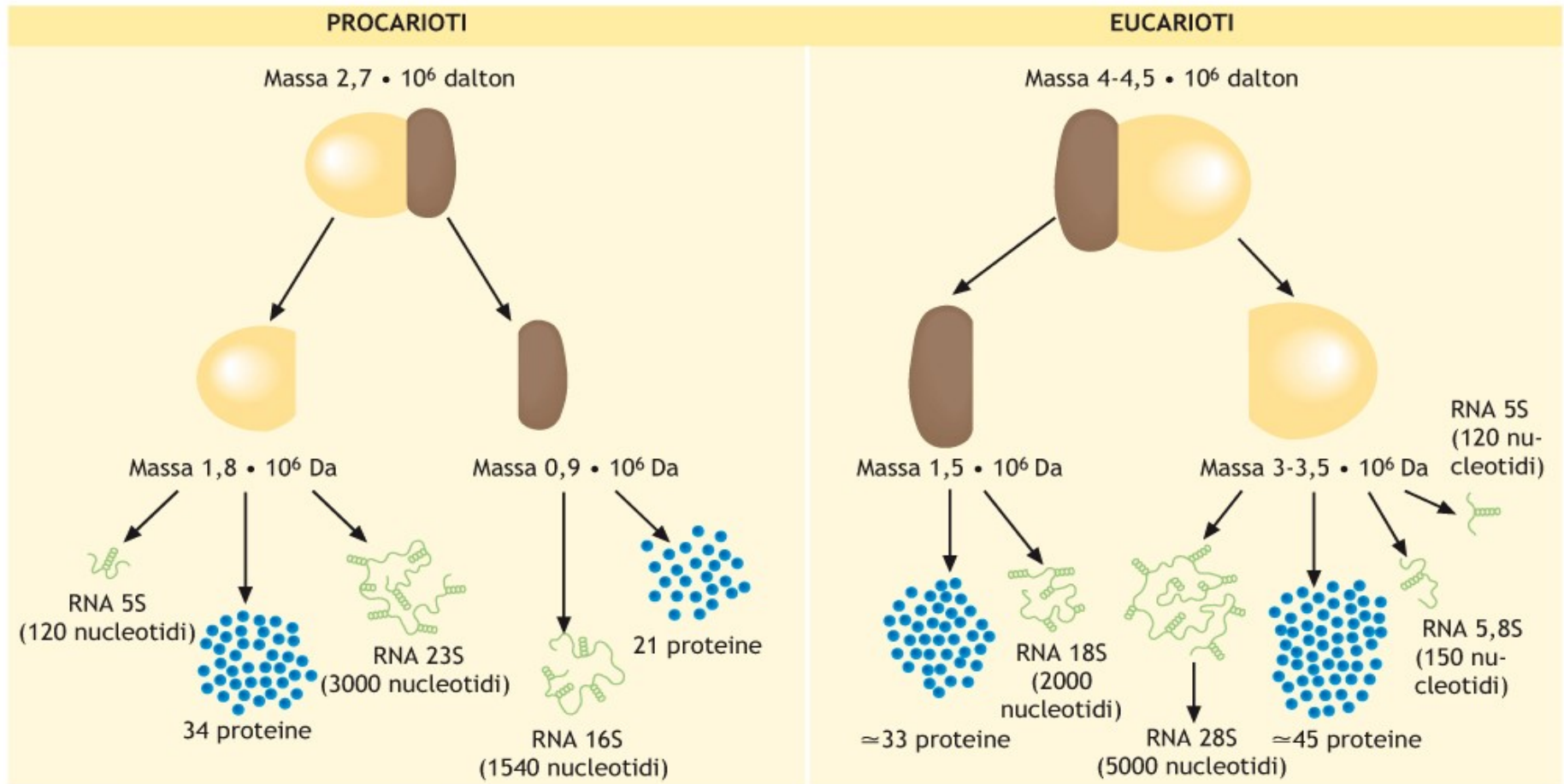


Figura 4.49 Composizione dei ribosomi di procarioti ed eucarioti.



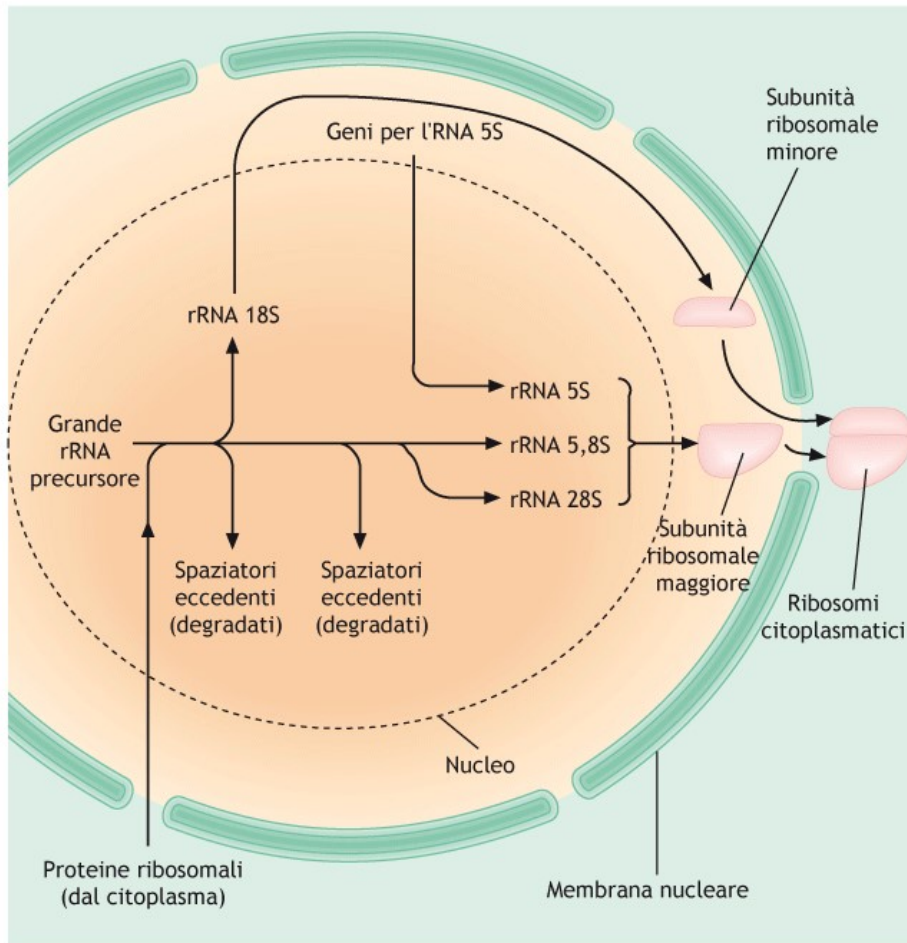
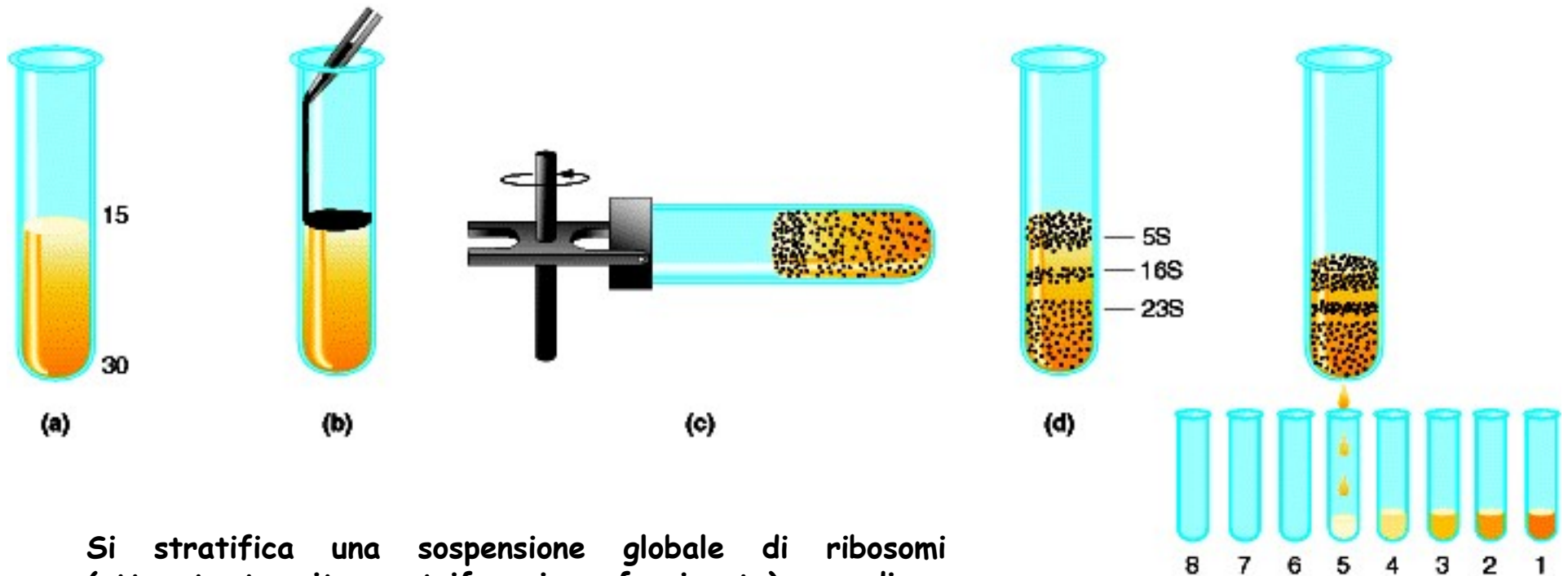


Figura 4.50 Trascrizione e maturazione dell'rRNA.



Frazionamento dei ribosomi

S = Svedberg coefficiente di sedimentazione



Si stratifica una sospensione globale di ribosomi (ottenuta tramite centrifugazione frazionata) su di un gradiente di saccarosio continuo, che aumenta di concentrazione verso il fondo.

Attraverso la centrifugazione i vari tipi di rRNA si separano in bande distinte a seconda del loro peso, e possono essere poi recuperati separatamente mediante il frazionamento.

(e)
frazionamento



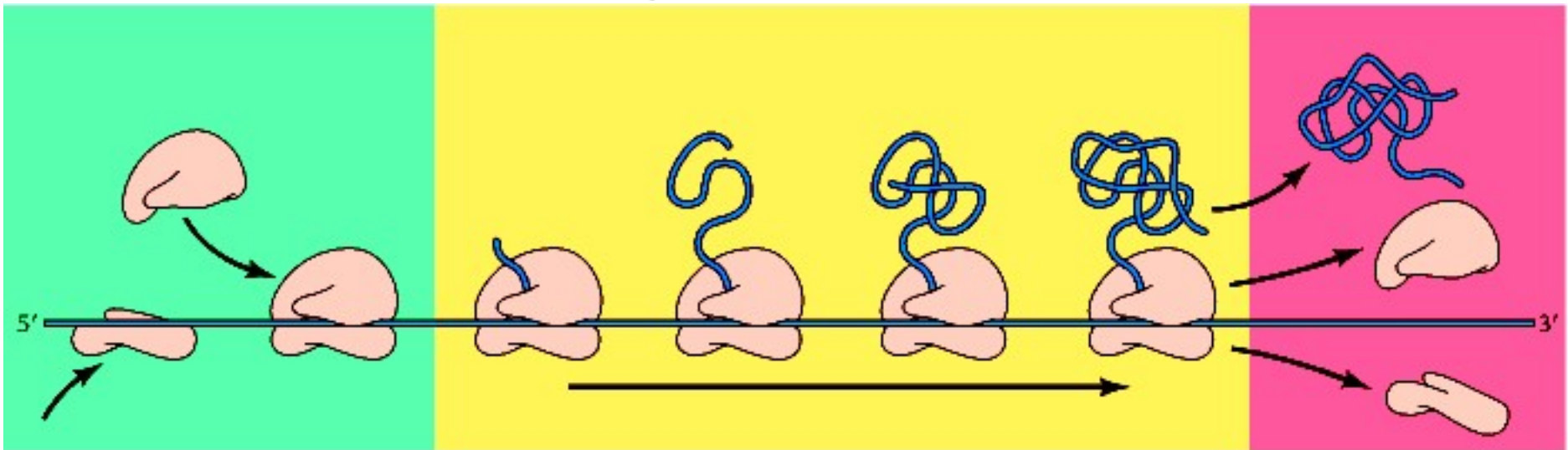
Il processo della traduzione

La traduzione viene divisa in genere in tre fasi: inizio, allungamento e termine.

Inizio

Allungamento

Termine



Il ribosoma si lega all'mRNA nel codone di inizio

La catena polipeptidica si allunga per aggiunta successiva di aminoacidi

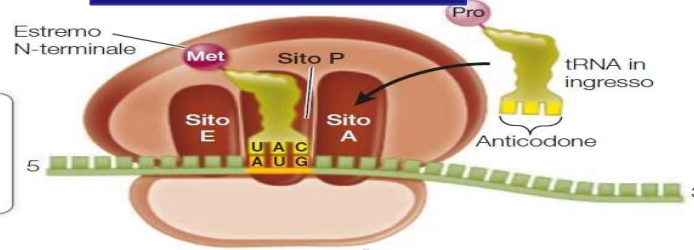
Quando si incontra un codone di stop, il polipeptide viene rilasciato e il ribosoma si dissocia



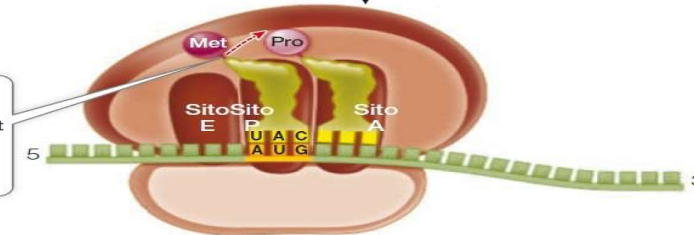
TRADUZIONE

Allungamento

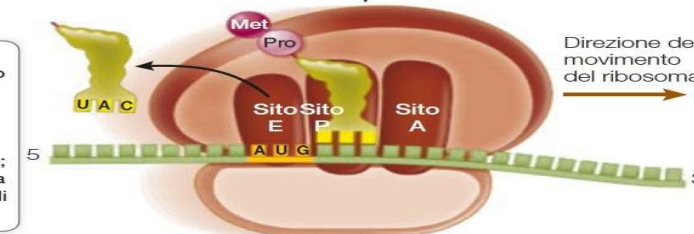
1 Riconoscimento del codone
L'anticodone di un tRNA in ingresso si lega al rispettivo codone nel sito A.



2 Formazione del legame peptidico
Pro viene unito a Met dall'attività peptidil-transferasica della subunità grande.



3 Allungamento
Il tRNA non più carico si sposta nel sito E per poi essere rilasciato, quando il ribosoma scorre in avanti di un codone; la catena polipeptidica in crescita viene quindi a trovarsi nel sito P.



4 Il processo si ripete.

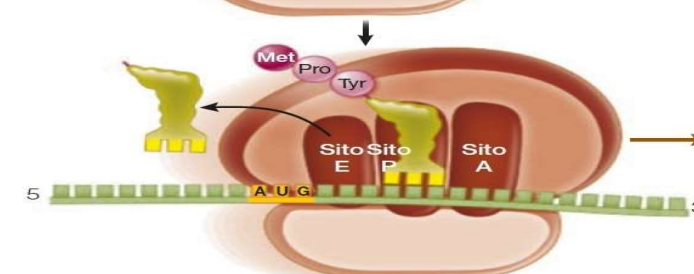
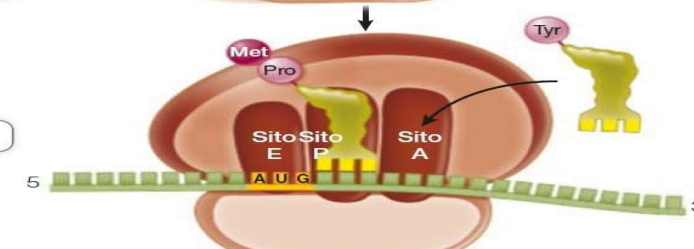


Figura 14.14 La fase di allungamento della traduzione. Mano a mano che l'mRNA viene tradotto, la catena polipeptidica si allunga.



La molecola di mRNA viene tradotta in un processo ciclico a tre stadi.

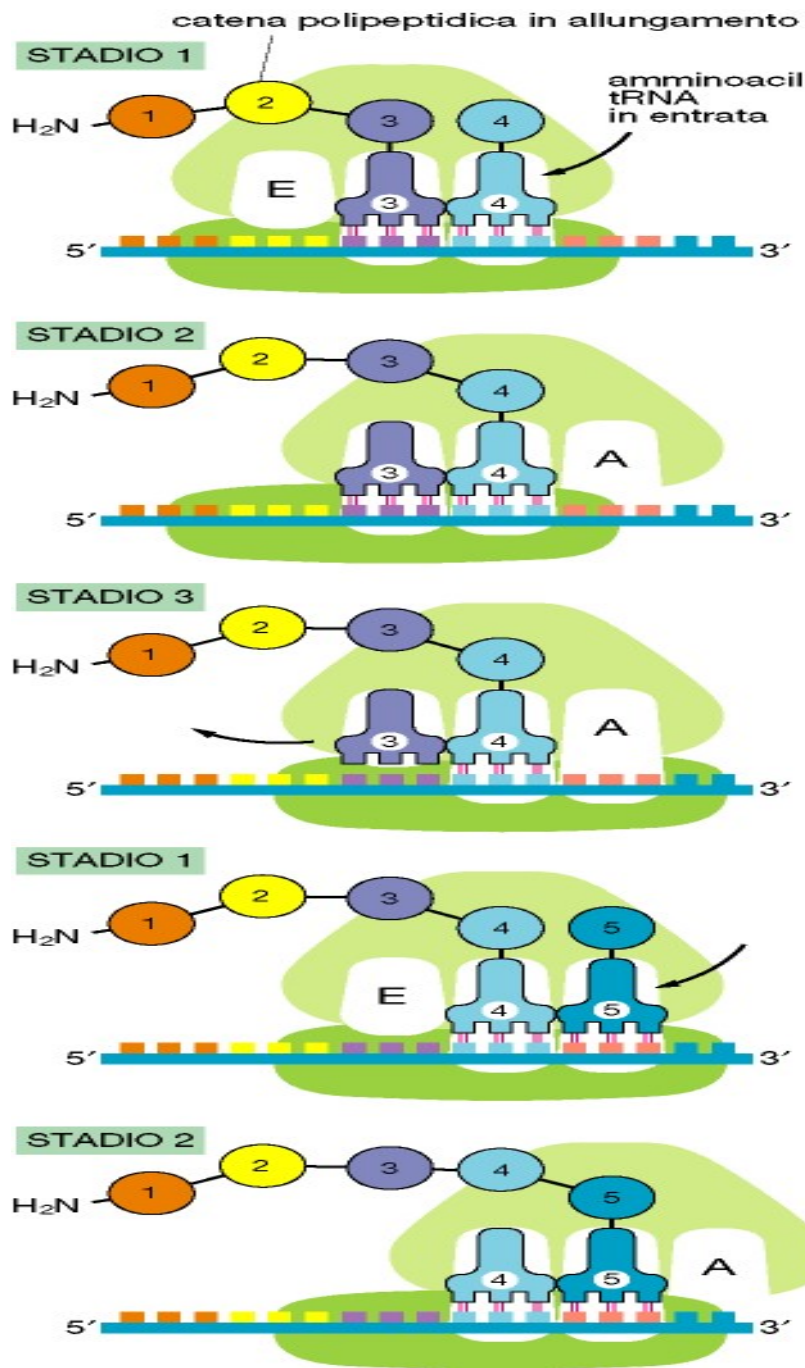
Una molecola di aminoacil-tRNA si lega al sito A libero.

Riconoscimento codone-anticodone

Formazione di un nuovo legame peptidico (3-4) grazie all'attività catalitica dell'enzima peptidil transferasi.

mRNA slitta di un tratto lungo 3 nucleotidi all'interno della subunità minore, espellendo la molecola di tRNA utilizzata e riposizionando il ribosoma per consentire il legame della molecola successiva di tRNA

L'mRNA viene tradotto in direzione 5'-3', l'estremità aminoterminale della proteina è quella sintetizzata per prima, mentre ogni ciclo aggiunge un aminoacido all'estremità carbossiterminale della catena polipeptidica. La catena polipeptidica rimane sempre legata al tRNA collocato al sito P della subunità ribosomica maggiore.



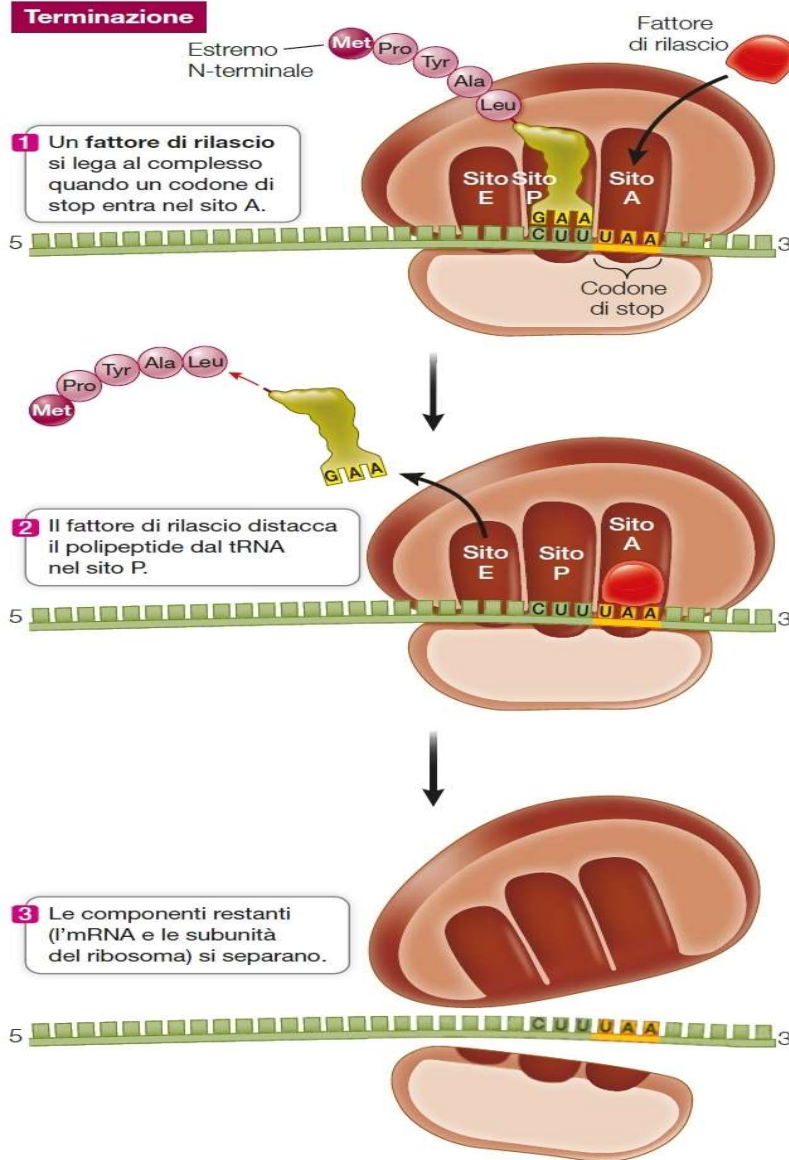


Figura 14.15 La terminazione della traduzione La traduzione dell'mRNA termina quando il sito A del ribosoma incontra un codone di stop sull'RNA messaggero.

? Cosa succede se non c'è il codone di stop?



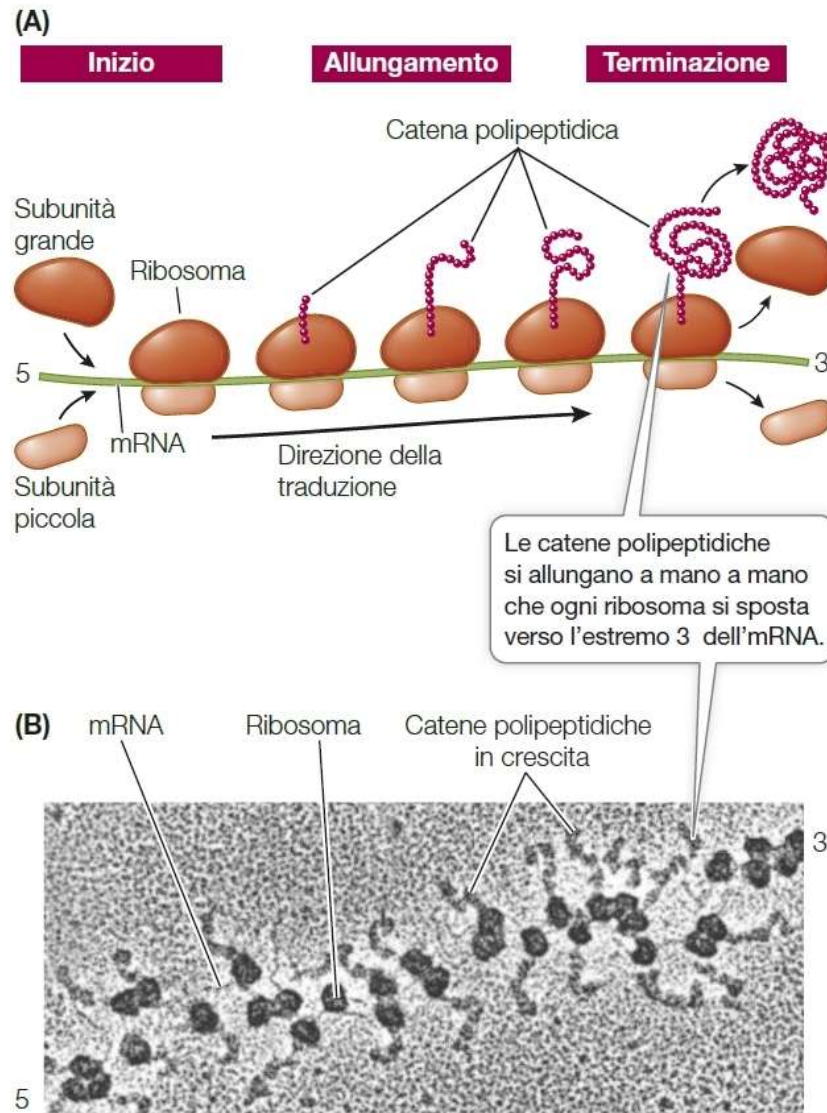


Figura 14.16 Un polisoma (A) Un polisoma consiste di più ribosomi e delle catene polipeptidiche in crescita a essi legate, che si spostano lungo la molecola di un mRNA. (B) Micrografia elettronica di un polisoma.



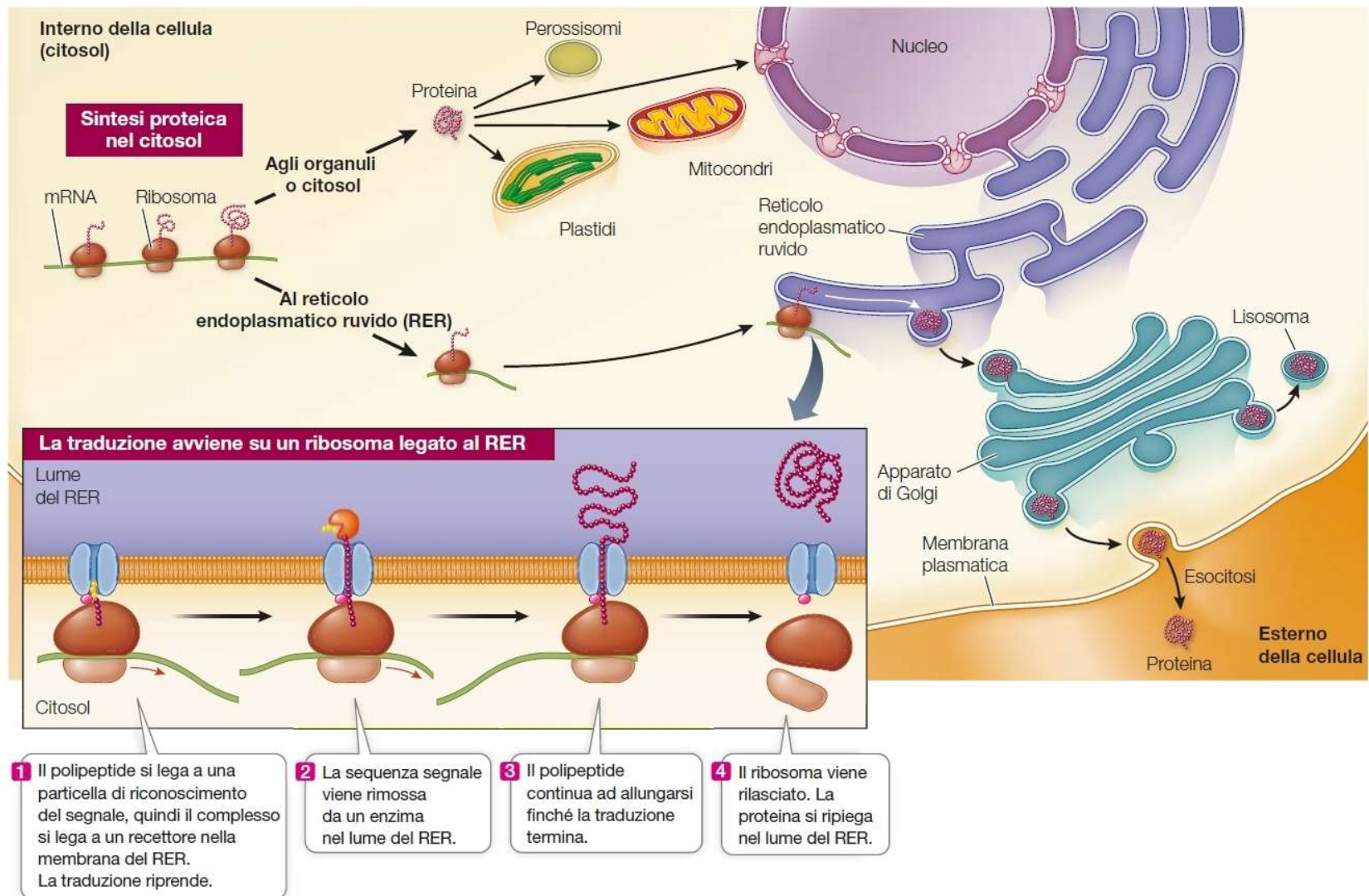


Figura 14.17 Destinazione dei polipeptidi appena tradotti all'interno di una cellula eucariotica Sequenze segnale presenti sui polipeptidi sintetizzati *ex novo* si legano a specifici recettori sulla membrana esterna degli organuli a cui sono destinate. Una volta che la proteina si è legata, il recettore forma un canale nella membrana che consente alla proteina di entrare nell'organulo.

? Che cosa succede a una proteina che non ha la sequenza amminoacidica di indirizzamento?



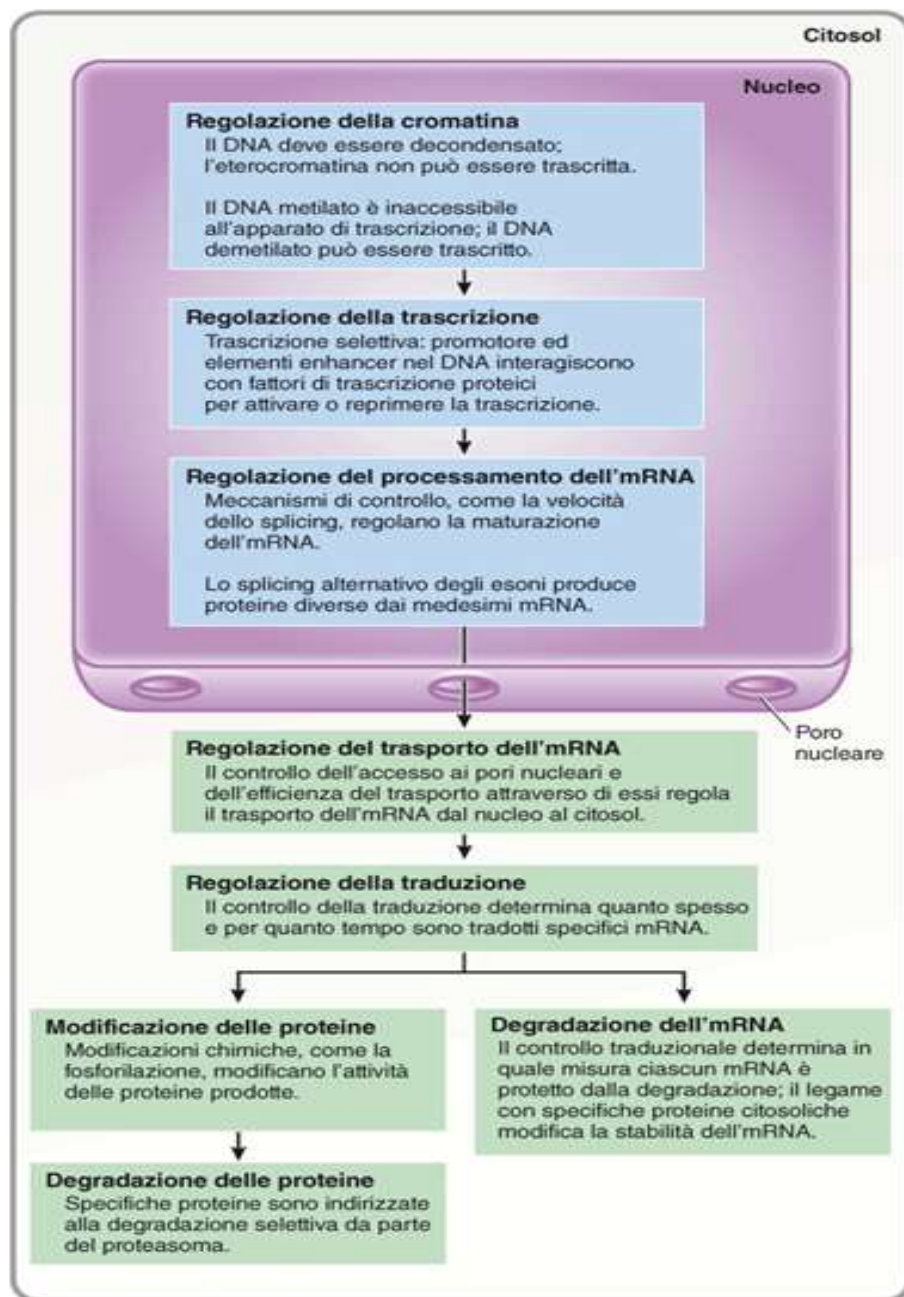
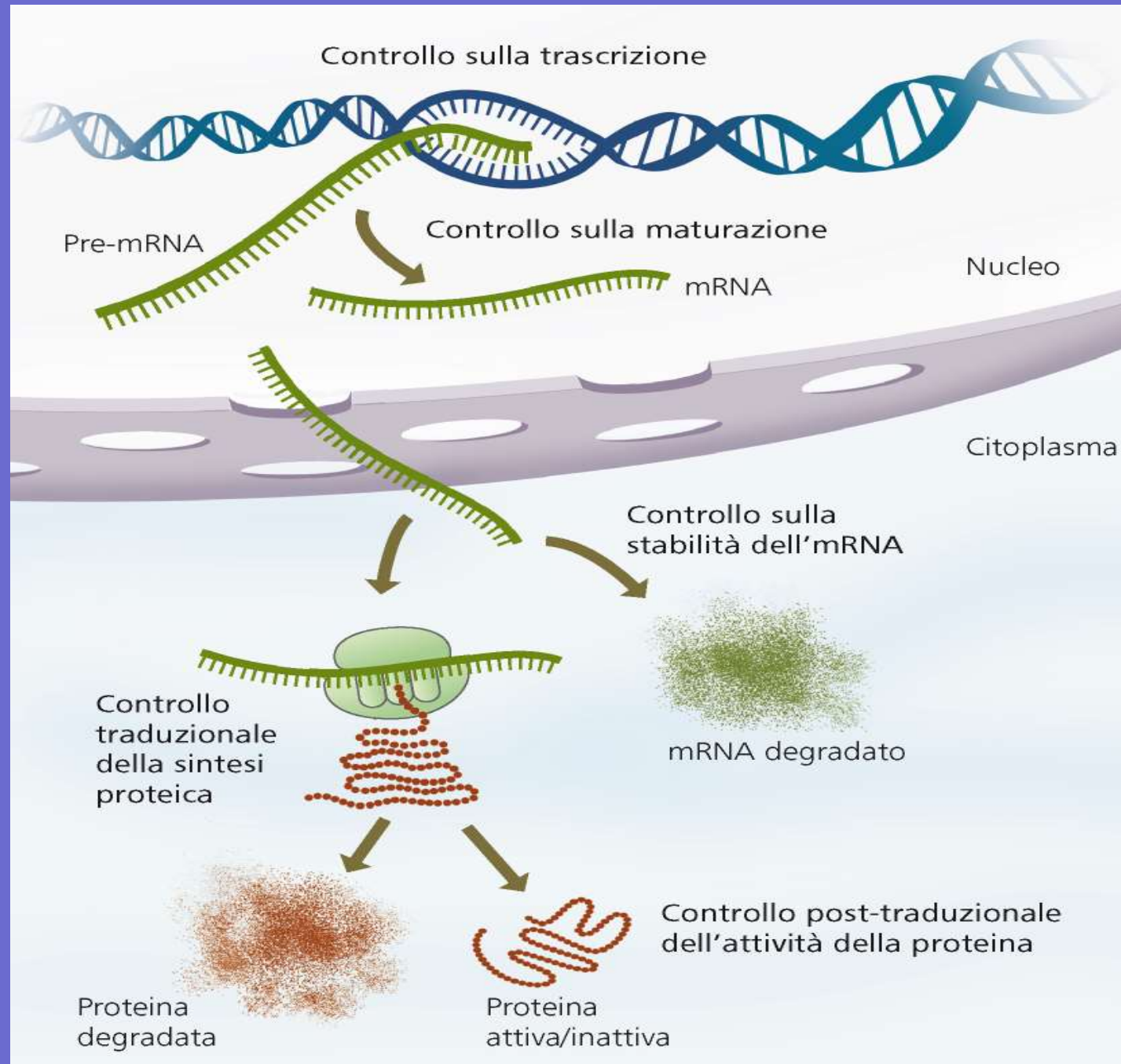


Figura 14-7 Regolazione genica nelle cellule eucariotiche

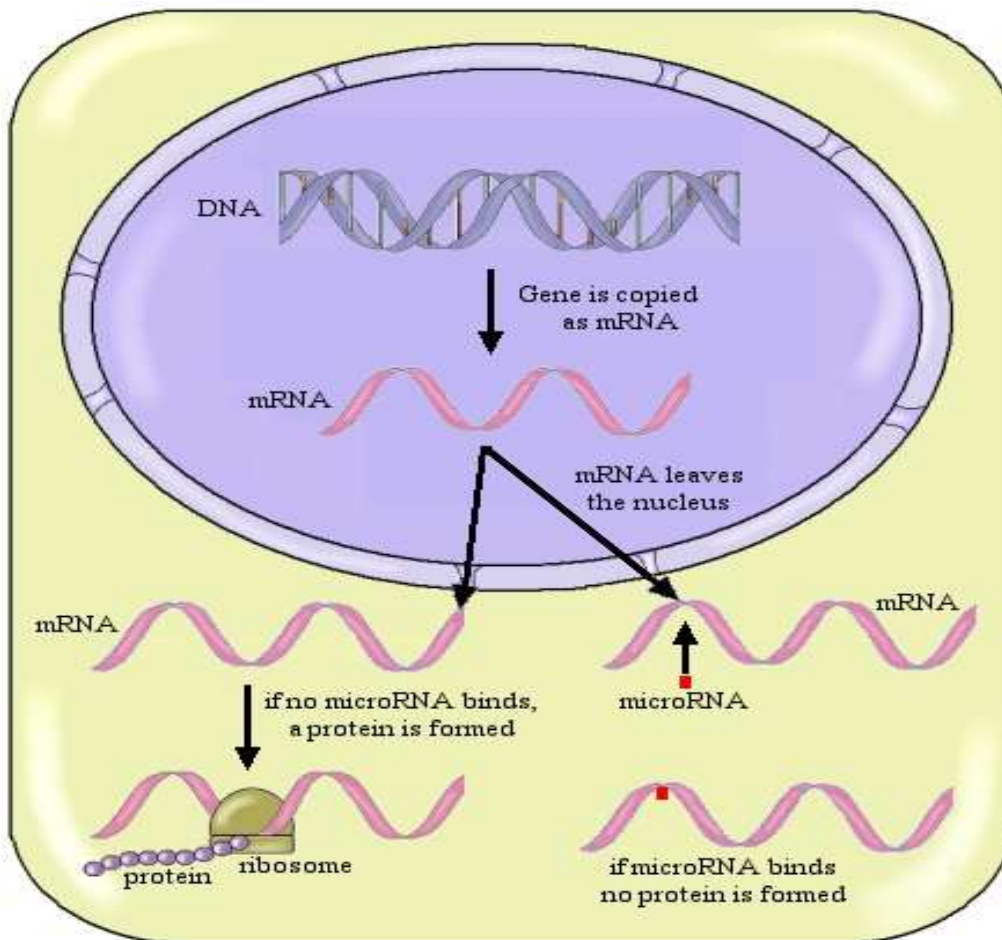


CONTROLLI SULLA TRASCRIZIONE e TRADUZIONE



microRNA :Repressione della TRADUZIONE

- ❖ Sono molecole di RNA a singolo filamento lunghe circa 20-25 nucleotidi.
- ❖ Inibiscono la traduzione delle proteine legando l'mRNA.
- ❖ Sono trascritti da geni, nel genoma sono stati identificati circa 200 geni
- ❖ Si ipotizza che Alterazioni di microRNA portani a patologie cardiache, Parkinson, tumori



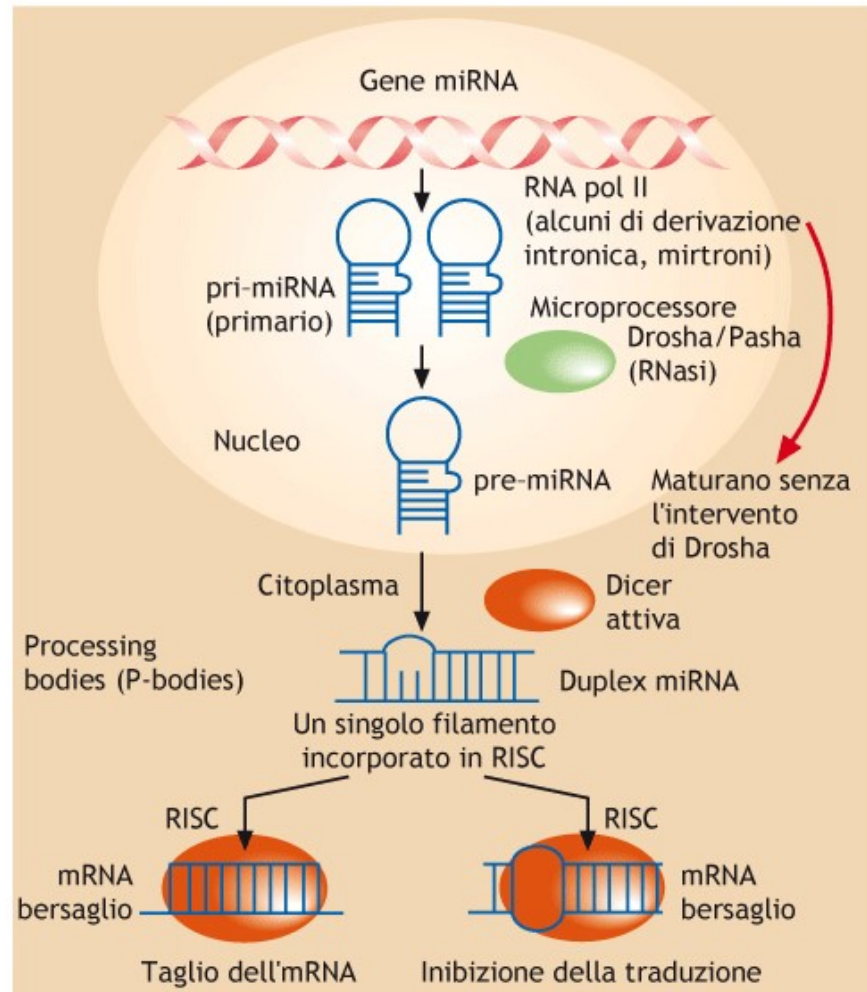


Figura 4.79 Micro(mi)RNA e silenziamento genico.



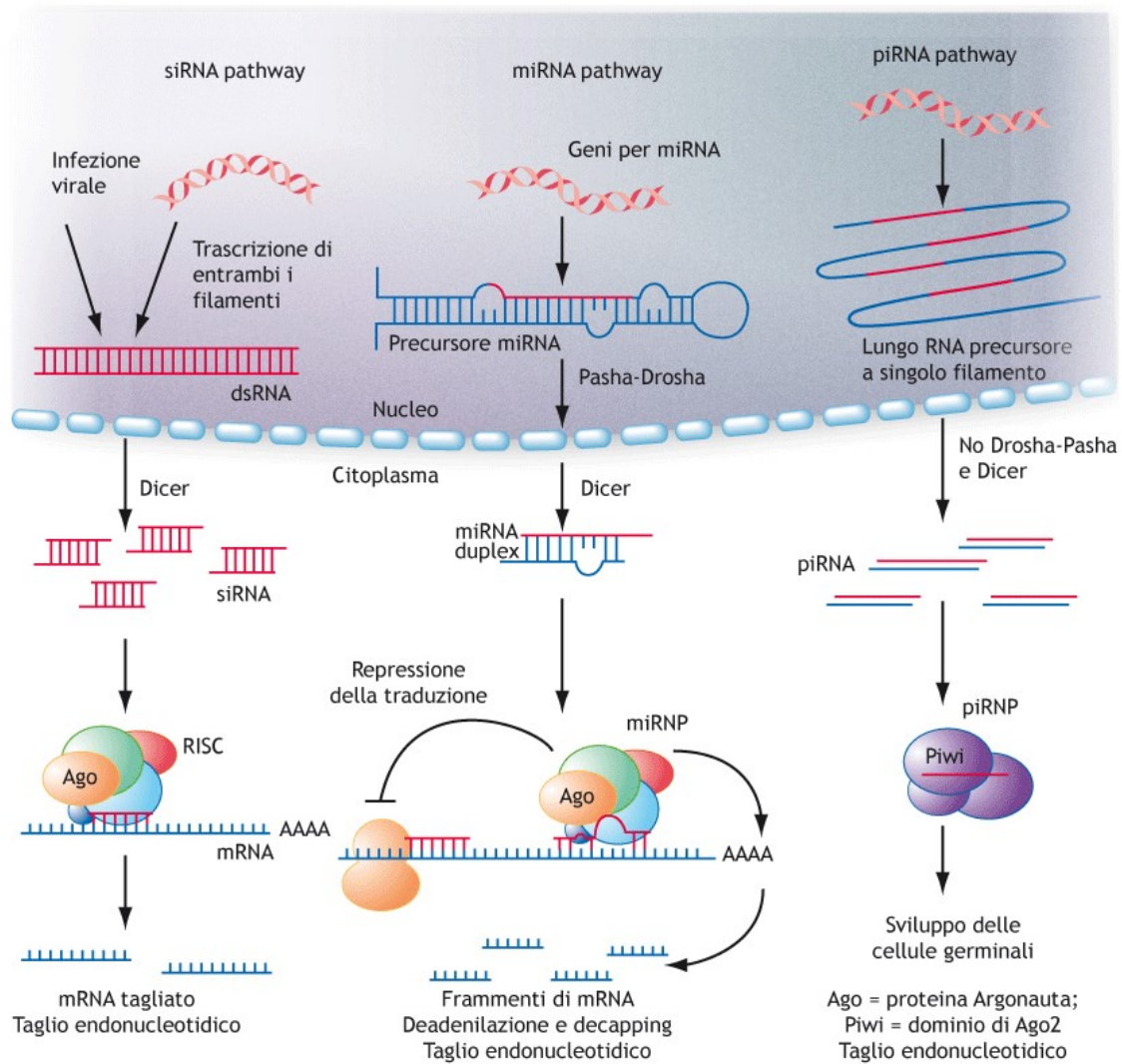
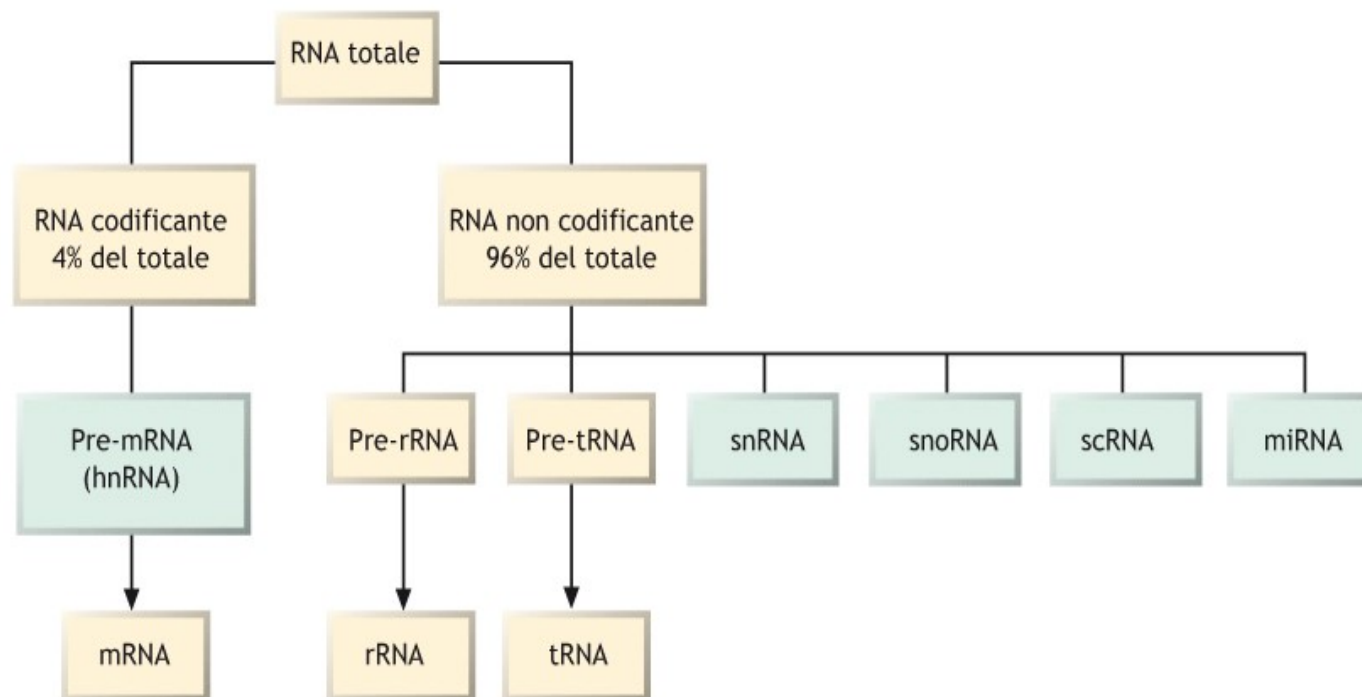


Figura 4.80 Differenze nell'attività degli siRNA, miRNA e piRNA.





■ Tutti gli organismi

■ Solo eucarioti

Figura 4.66 Trascrittoma: solo il 4% dei trascritti è tradotto.

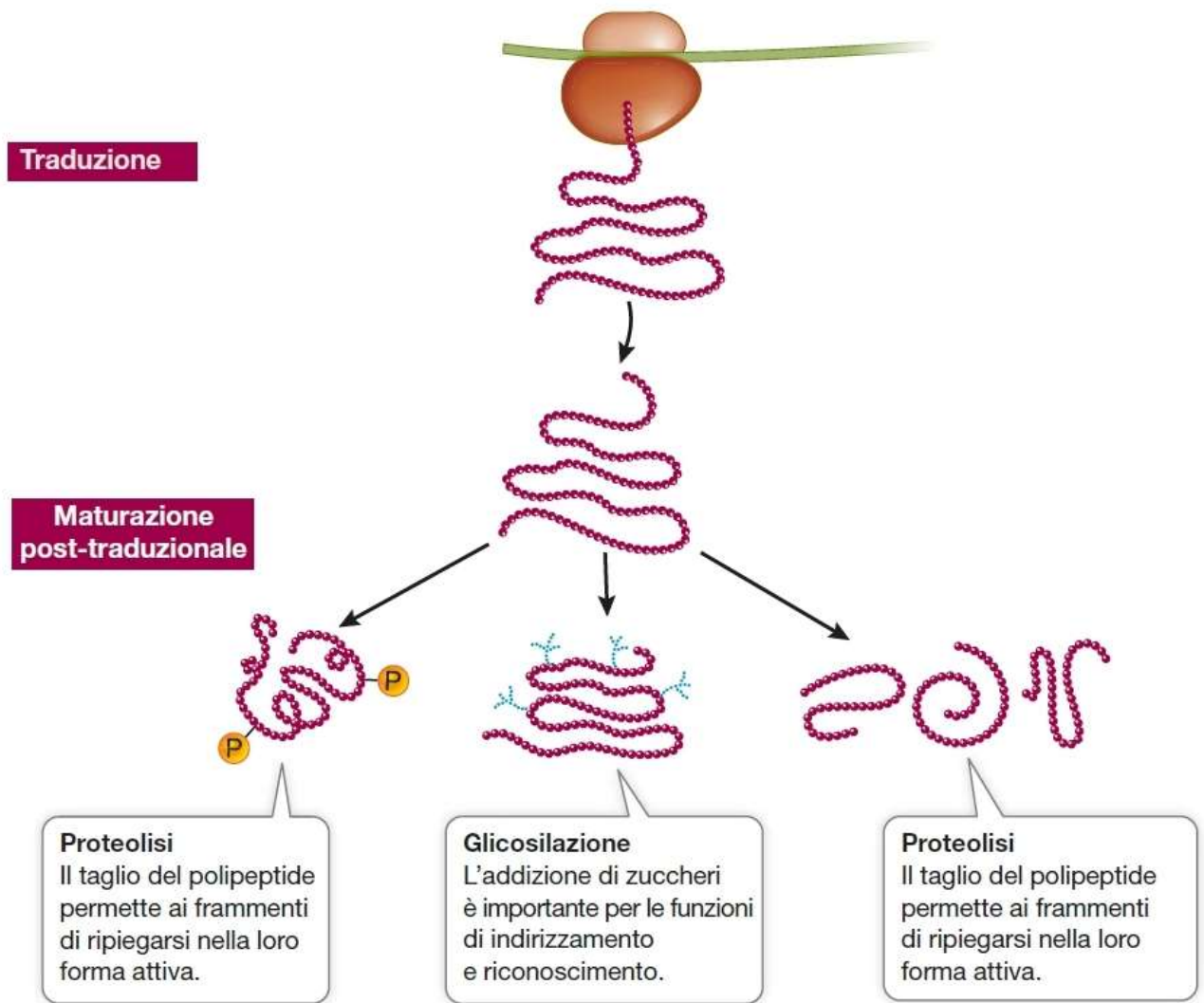


G. De Leo, S. Fasano, I
Biologia e Genetica III E
EdiSES



Figura 14.19 Modificazioni post-traduzionali delle proteine

La maggioranza dei polipeptidi deve essere modificata dopo la traduzione per poter diventare proteine funzionali.



Modificazioni post-traduzionali DELLE PROTEINE

Alcuni aa possono essere modificati chimicamente mediante il

- legame di zuccheri
- gruppi fosfato

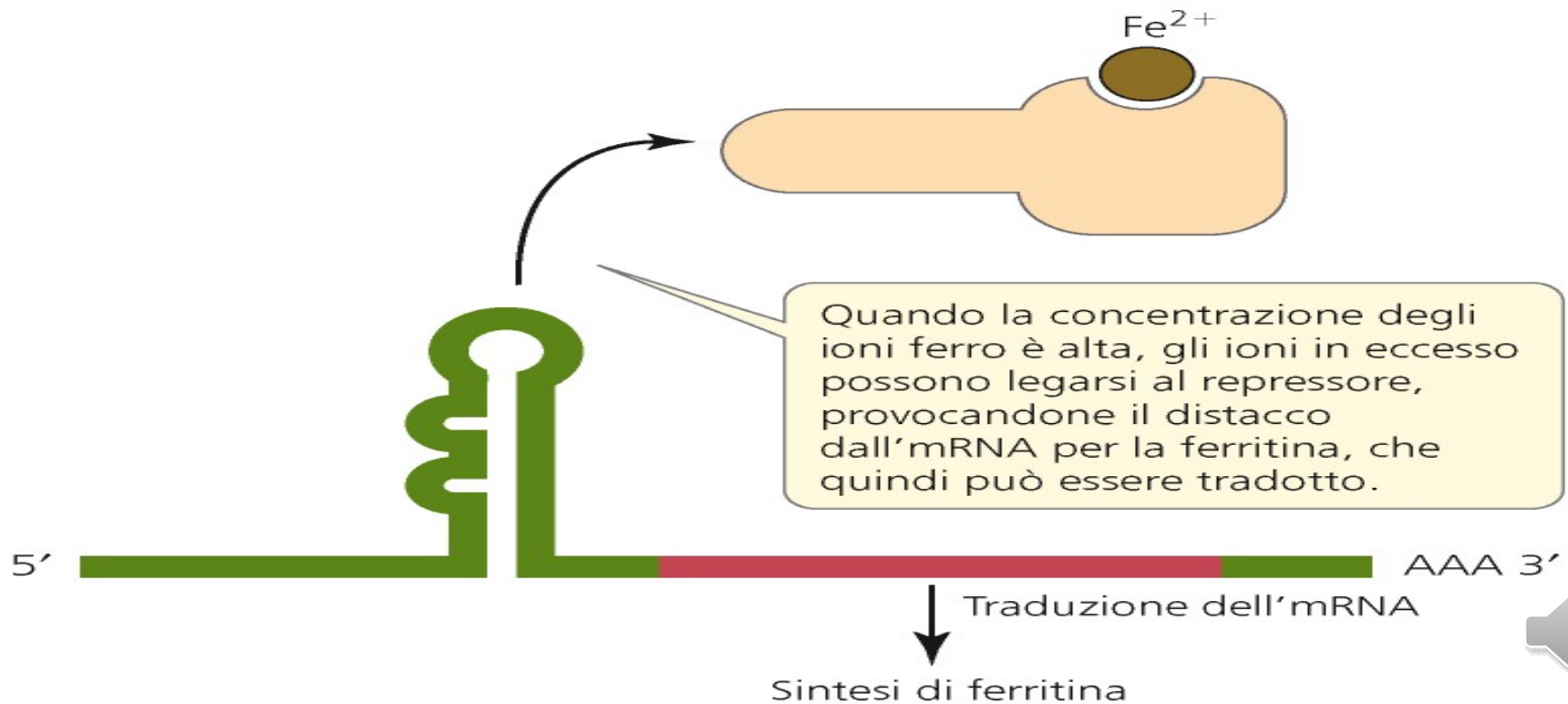
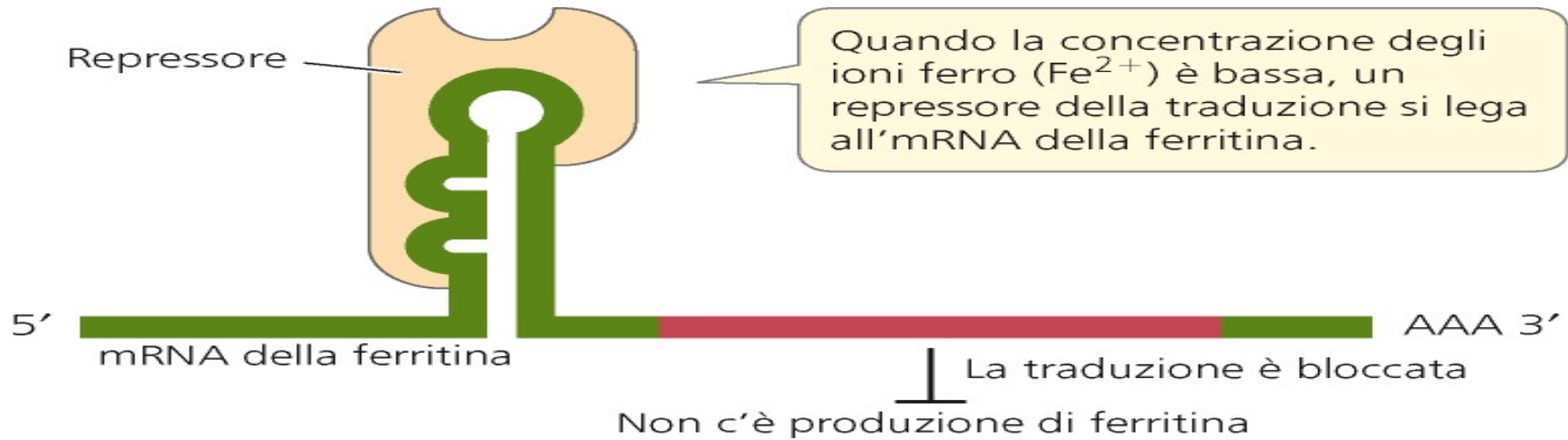
- Una catena polipeptidica può essere tagliata enzimaticamente in due o più frammenti (es: insulina)

- Due o più polipeptidi sintetizzati separatamente possono unirsi per costituire le subunità di una proteina che possiede struttura quaternaria

-Degradazione ad opera del proteosoma



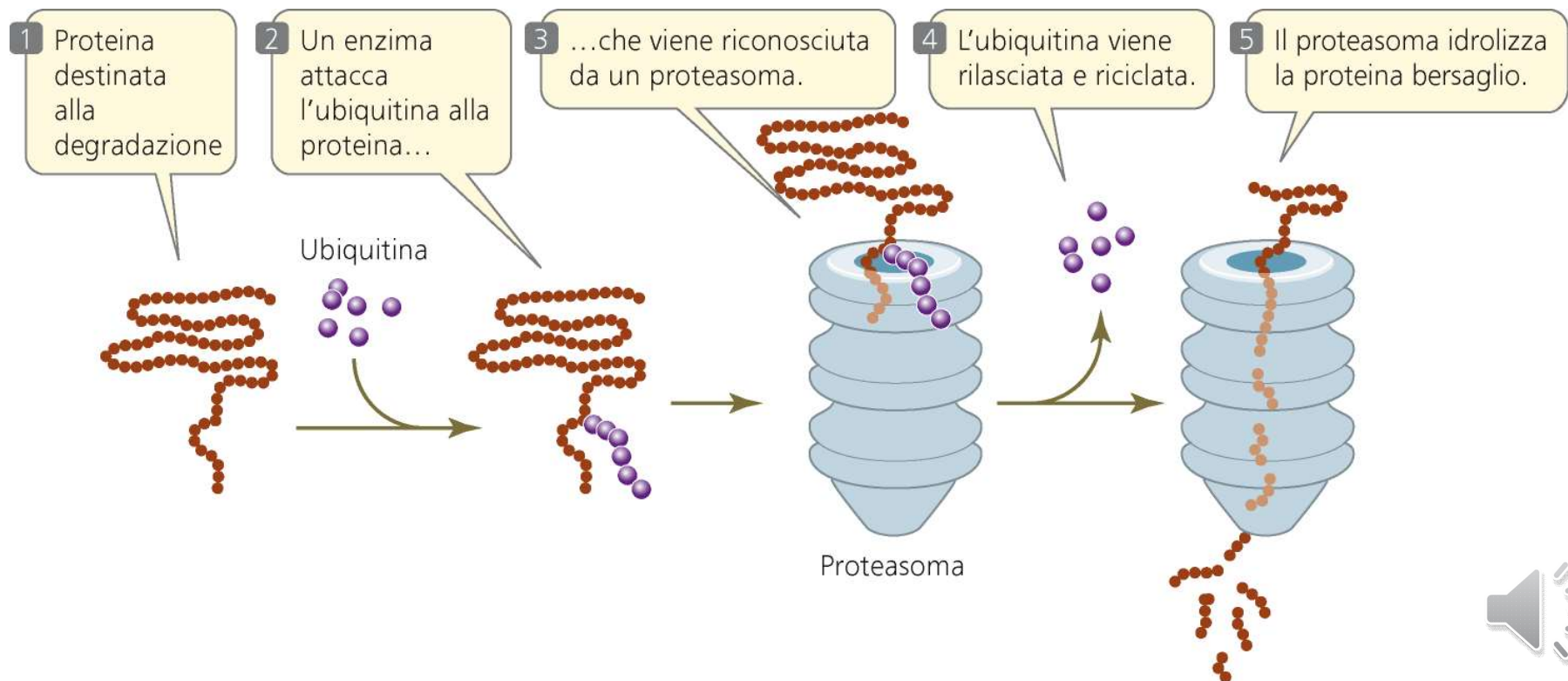
ES. Controllo della TRADUZIONE



Proteosoma e Ubiquitina

L'apparato finale di distruzione delle proteine negli eucarioti è il **proteasoma**. Presente in molte copie disperse nel **citosol** e nel **nucleo**, il proteasoma ha come bersaglio anche molte **proteine del reticolo endoplasmatico rugoso**: quelle proteine che non riescono a ripiegarsi o ad assemblarsi in modo appropriato dopo essere entrate nell'ER sono scoperte da un sistema di sorveglianza che le retrasloca nel citosol per la degradazione.

Con poche eccezioni, i proteasomi agiscono su proteine che sono state marcate in modo specifico per la distruzione dall'attacco covalente di copie multiple di una piccola proteina chiamata **ubiquitina**. L'ubiquitina si trova nella cellula libera o unita covalentemente ad un'enorme varietà di proteine intracellulari. Per la maggior parte di queste proteine, questa marcatura porta alla loro distruzione da parte del proteasoma.



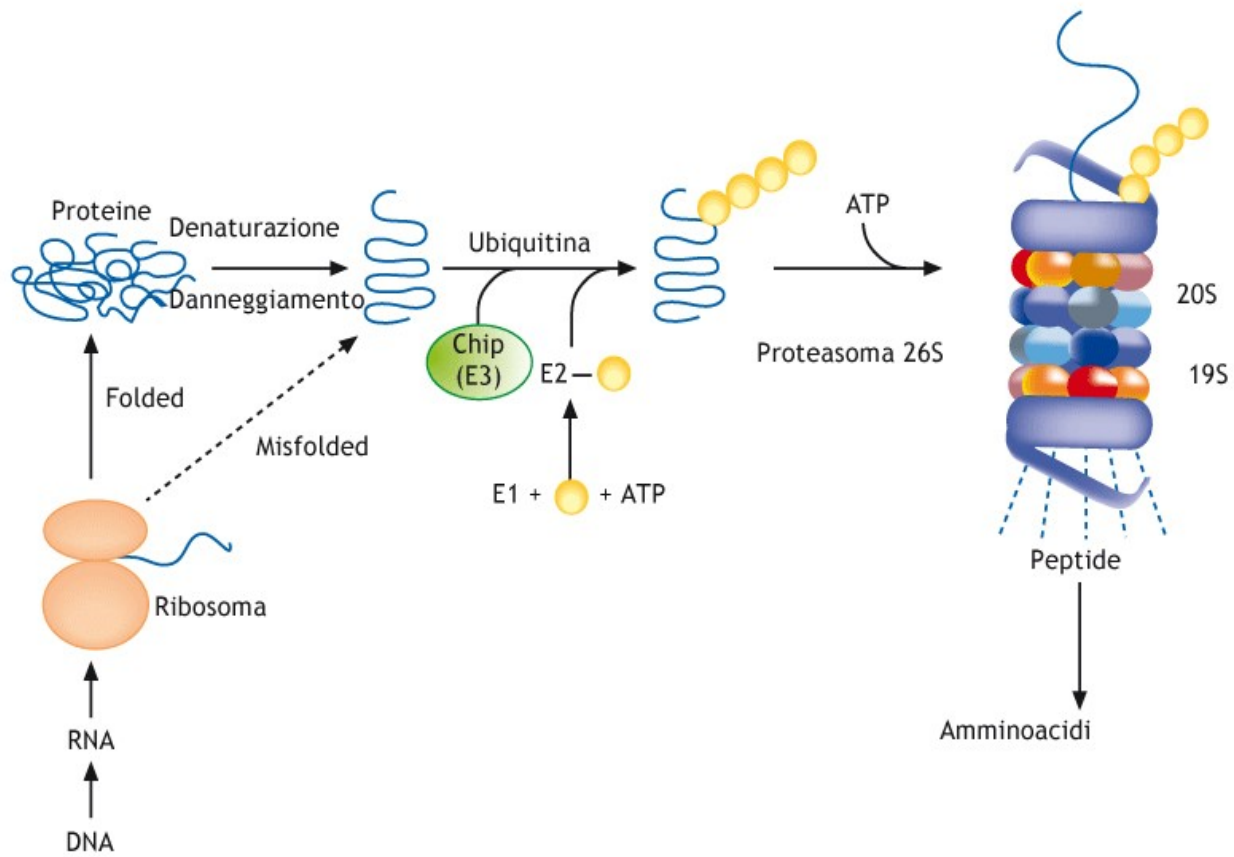


Figura 4.64 Eliminazione delle proteine “misfolded”.



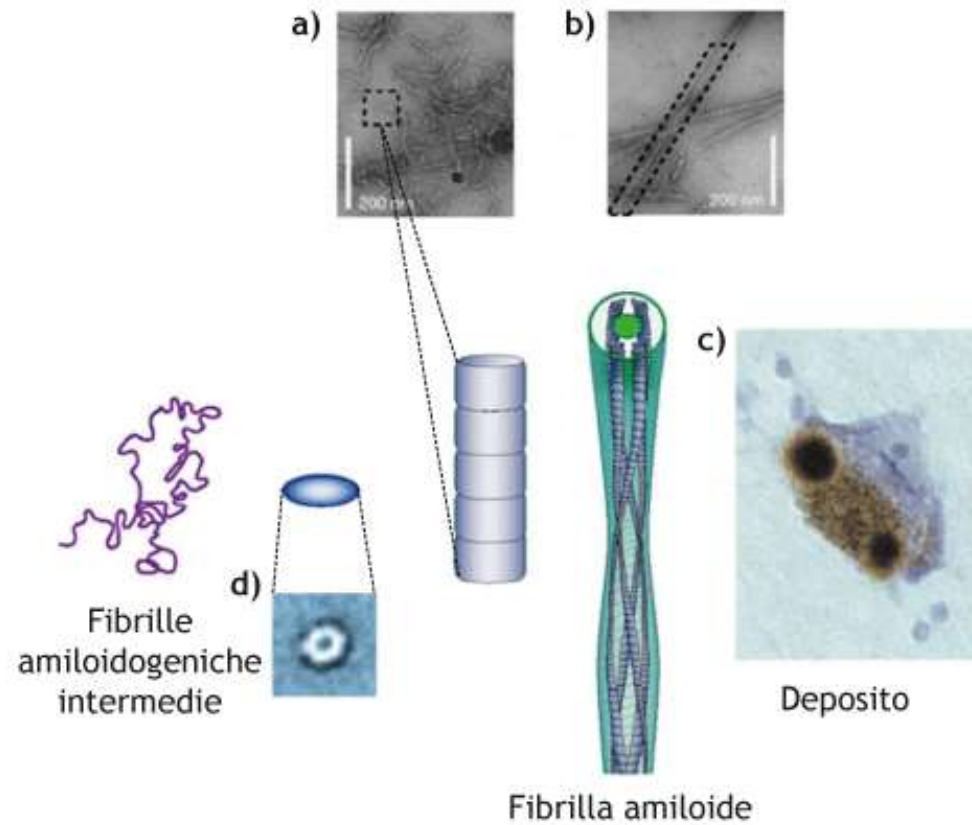


Figura I.4.2.1 Proteine “unfolded” si associano per formare piccoli aggregati solubili che si associano poi per formare protofibrille **(a)** e poi fibrille **(b)**. Le fibrille spesse formano placche (Parkinson) **(c)**. Alcuni aggregati possono formare strutture ad anello **(d)**.



Un ripiegamento non corretto delle proteine può avere conseguenze fatali

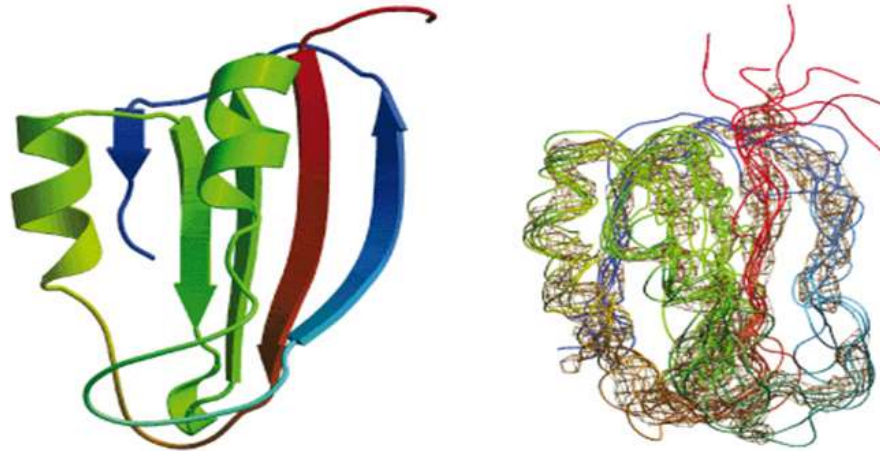
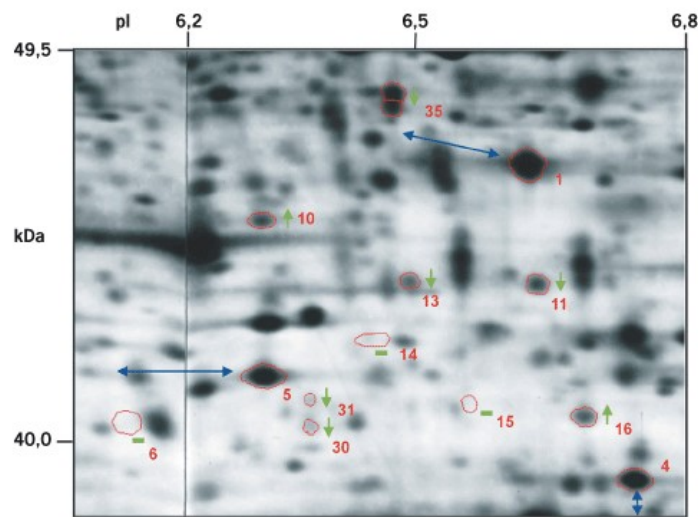
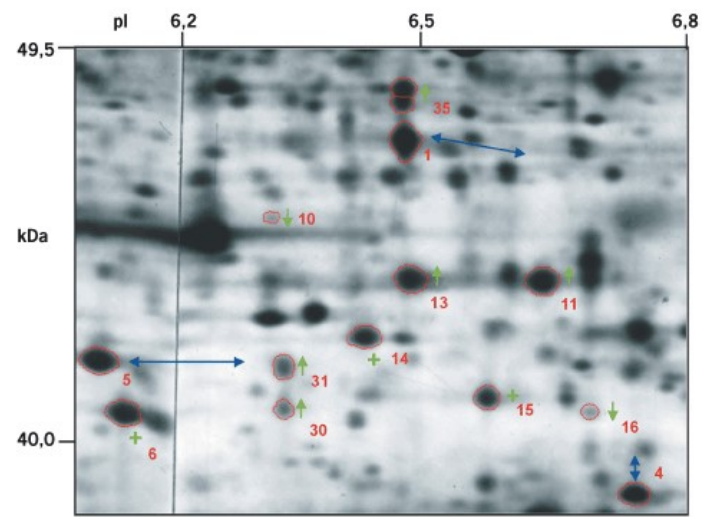


Figura 2.45 Il processo di ripiegamento. L'immagine a sinistra mostra la struttura terziaria nativa dell'enzima acil-fosfatasi. L'immagine a destra è la struttura di transizione assunta durante il ripiegamento di questo enzima prima di raggiungere la conformazione di proteina nativa. La struttura di transizione consiste di numerose linee singole, essendo un insieme di strutture strettamente correlate. L'architettura complessiva della struttura di transizione è simile a quella della proteina nativa, ma molte delle caratteristiche strutturali più fini della proteina completamente ripiegata non sono ancora emerse. La conversione dello stato di transizione nella proteina nativa comporta il completamento della formazione della struttura secondaria, l'impacchettamento più stretto delle catene laterali e l'allontanamento definitivo delle catene laterali idrofobiche dal solvente acquoso. (Da K. LINDORFF-LARSEN, ET AL., *TRENDS BIOCHEM. SCI.* 30:14, 2005, FIG. 1B. © 2005, CON IL PERMESSO DI ELSEVIER. IMMAGINE DI CHRISTOPHER DOBSON.)





(a)



(b)

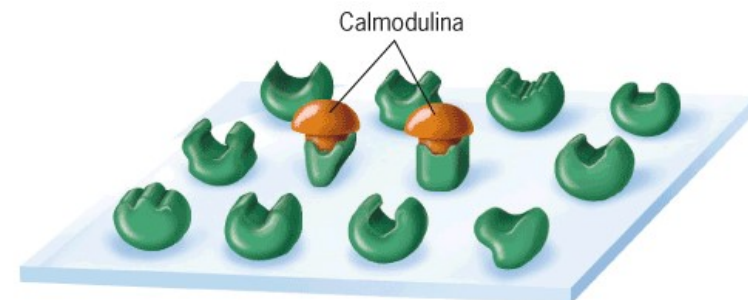
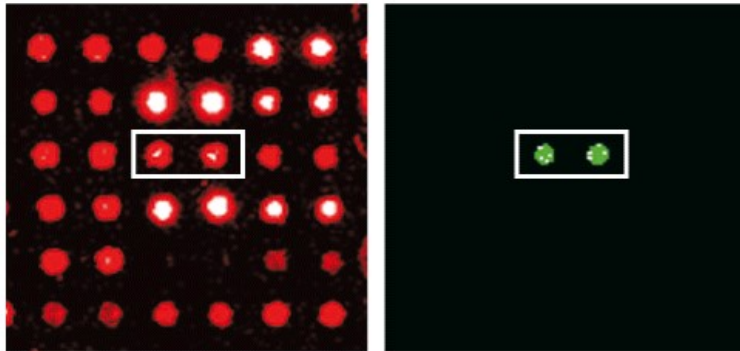
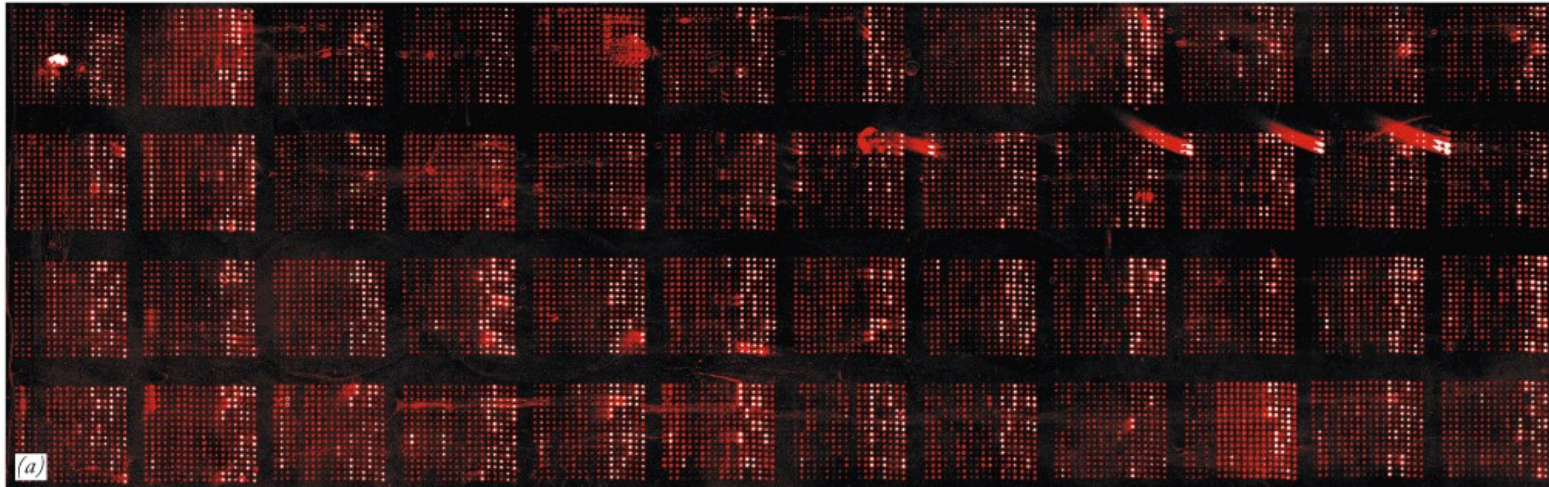
Figura 2.48 Lo studio della proteomica spesso richiede la separazione di complesse miscele di proteine. I due gel elettroforetici qui mostrati contengono proteine estratte dalla corteccia frontale dell'uomo (a) e dello scimpanzé (b). Gli spot numerati rappresentano proteine omologhe che mostrano differenze tra i due gel, come discusso

nel testo. (Nota: questa è una piccola parte del gel molto più grande, che contiene approssimativamente 8500 spot che rappresentano le proteine sintetizzate dal cervello di un primate.) (Nota: gli animali in questo studio sono morti per cause naturali.) (Da W. ENARD, ET AL., SCIENCE 296:342, FIGURE 3A, B. © 2002, RIPRODOTTA PER GENT. CONC. DI AAAS.)



Figura 2.50 Analisi globale delle attività proteiche usando dei chip proteici. (a) Questo vetrino da microscopio contiene 5800 differenti proteine di lievito, sintetizzate da cellule geneticamente modificate. Gli spot mostrano fluorescenza rossa poiché sono stati incubati con un anticorpo fluorescente che si lega a tutte le proteine dell'array. (b) L'immagine a sinistra mostra una piccola porzione dell'array proteico mostrato in a. L'immagine di destra mostra la stessa porzione dopo incubazione, in presenza di ioni calcio, con la

proteina calmodulina. I due spot fluorescenti verdi corrispondono a due proteine che legano la calmodulina. (c) Illustrazione schematica degli eventi che avvengono nella parte b, dove la calmodulina si è legata a due proteine del microarray che presentano siti di legame ad essa complementari. (A,B: DA H. ZHU, ET AL., SCIENCE 293:2101, 2001, PER GENT. CONC. DI MICHAEL SNYDER. © 2001, RIPRODOTTA CON IL PERMESSO DI AAAS.)

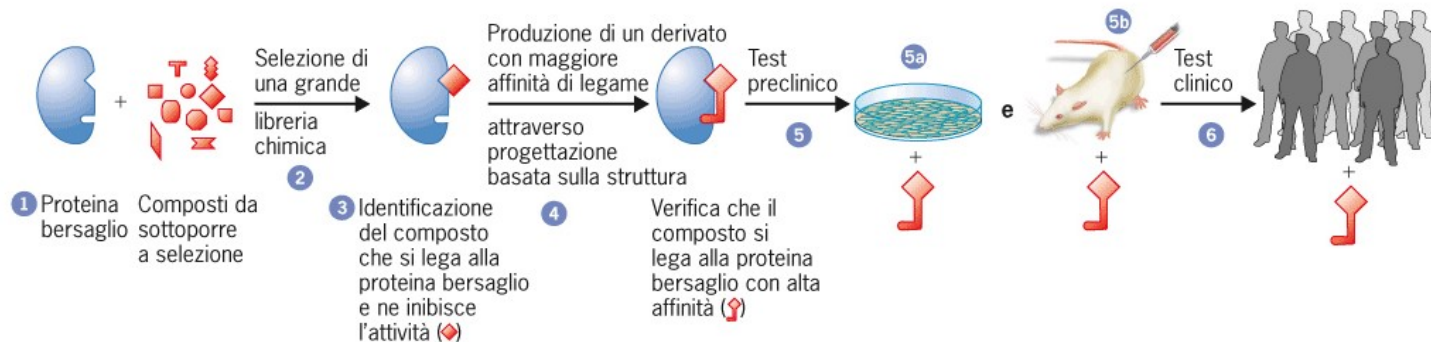


(a)

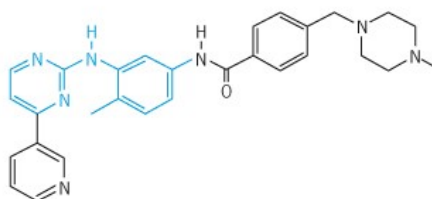
(b)

(c)

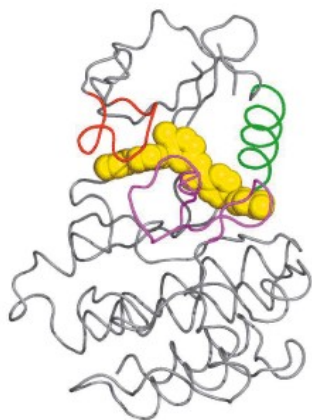




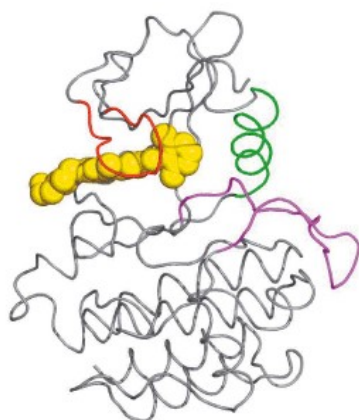
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 2.52 Sviluppo di un farmaco diretto contro una proteina, come il Gleevec.

(a) Stadi tipici nello sviluppo del farmaco. Nello stadio 1, è stato identificato il ruolo causale di una proteina (in questo caso la chinasi ABL) nella genesi di una determinata malattia, come la leucemia mieloide cronica (LMC). Questa proteina è un possibile bersaglio per un farmaco che ne inibisca l'attività enzimatica. Nello stadio 2, la proteina viene incubata con migliaia di composti, alla ricerca di quelli che la legano con ragionevole affinità e ne inibiscono l'attività. Nello stadio 3, è stato identificato uno di tali composti (es., la 2-fenilamminopirimidina nel caso di ABL). Nello stadio 4, la conoscenza della struttura della proteina bersaglio viene usata per sintetizzare derivati del composto (es., Gleevec) che mostrino una maggiore affinità di legame e possano pertanto essere usati a concentrazioni inferiori. Nello stadio 5, il composto in questione viene saggiato per la tossicità e l'efficacia *in vivo* mediante esperimenti preclinici. Gli esperimenti preclinici sono generalmente effettuati su cellule umane in coltura (stadio 5a) (es., quelle prelevate da pazienti affetti da LMC) e su animali di laboratorio (stadio 5b) (es., topi in cui sono state trapiantate cellule umane provenienti da pazienti affetti da LMC). Se il farmaco si dimostra sicuro ed efficace negli animali, viene testato in sperimentazioni cliniche (stadio 6). (b) La struttura del Gleevec. La porzione blu della molecola indica la struttura del composto 2-fenilamminopirimidina, che è stato inizialmente identificato come un inibitore della chinasi ABL. (c,d) Struttura dei complessi formati dal dominio catalitico di ABL con il Gleevec (c) e con un inibitore di seconda generazione chiamato Sprycel (d). Entrambi i farmaci sono disegnati in giallo. Il Gleevec si lega alla conformazione inattiva della proteina, mentre lo Sprycel si lega alla sua conformazione attiva. Entrambi gli eventi di legame bloccano l'attività necessaria per l'acquisizione del fenotipo canceroso da parte della cellula. Lo Sprycel è efficace contro le cellule cancerose che sono diventate resistenti all'azione del Gleevec. (c,d: DA ELLEN WEISBERG ET AL., PER GENT. CONC. DI JAMES D. GRIFFIN, NATURE REVS. CANCER 7:353, 2007 © 2007 RIPRODOTTA PER GENT. CONC. DI MACMILLAN PUBLISHERS LIMITED.)



THANK YOU

GRACIAS
ARIGATO
SHUKURIA
JUSPAXAR
DANKSCHEEN
TASHAKKUR ATU
YAQHANYELAY
SUKSAMAH
EKKHMET
MEHRBANI
PALDIYES
BOLZIN
MERCY
BIYAN
SHUKRIA
TINGKI
GOZAIMASHITA
EFCHARISTO
KOMAPSUMIDA
MAARKE
GRAZIE
MARRI
SUKSAMAH
EKKHMET
MEHRBANI
PALDIYES
BOLZIN
MERCY
BIYAN
SHUKRIA
TINGKI
GOZAIMASHITA
EFCHARISTO
KOMAPSUMIDA
MAARKE
GRAZIE
MARRI

