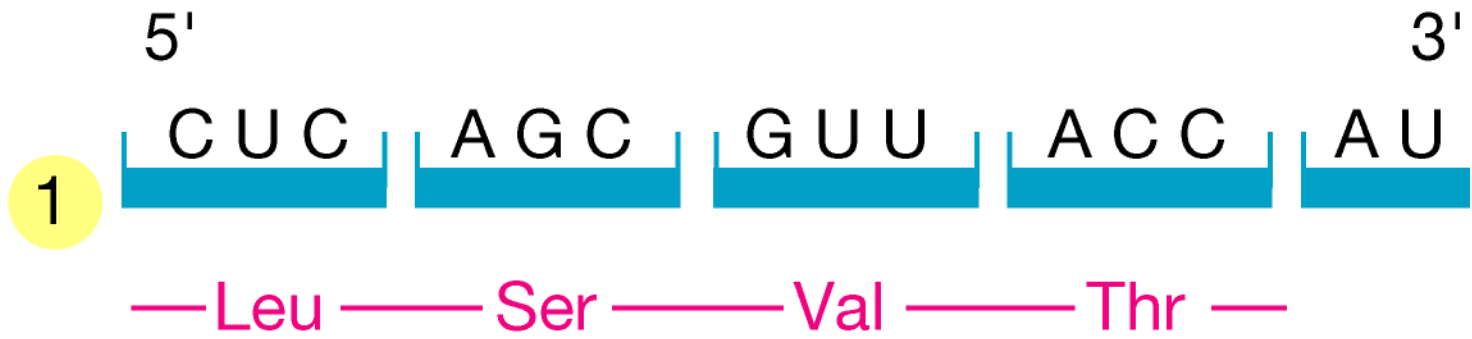


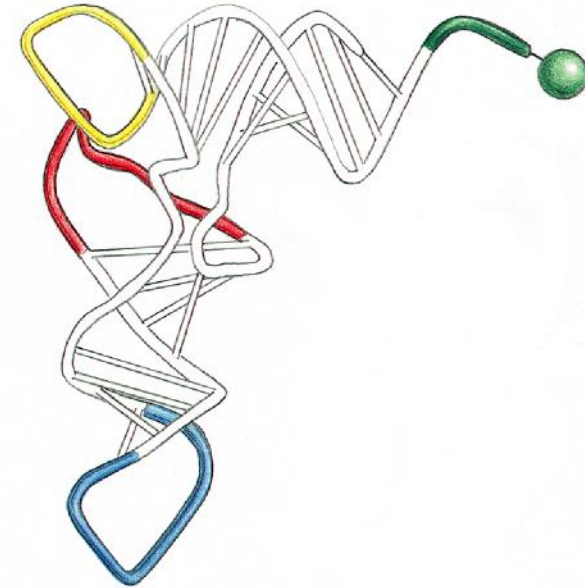
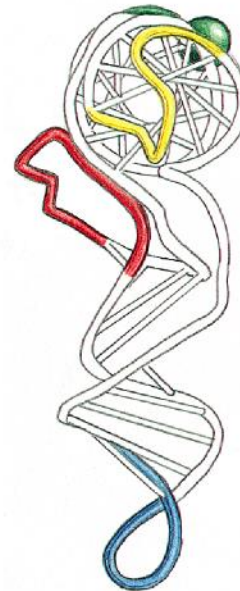
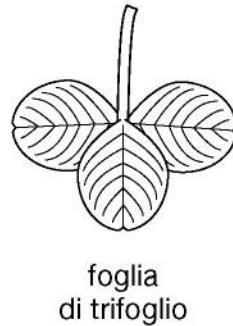
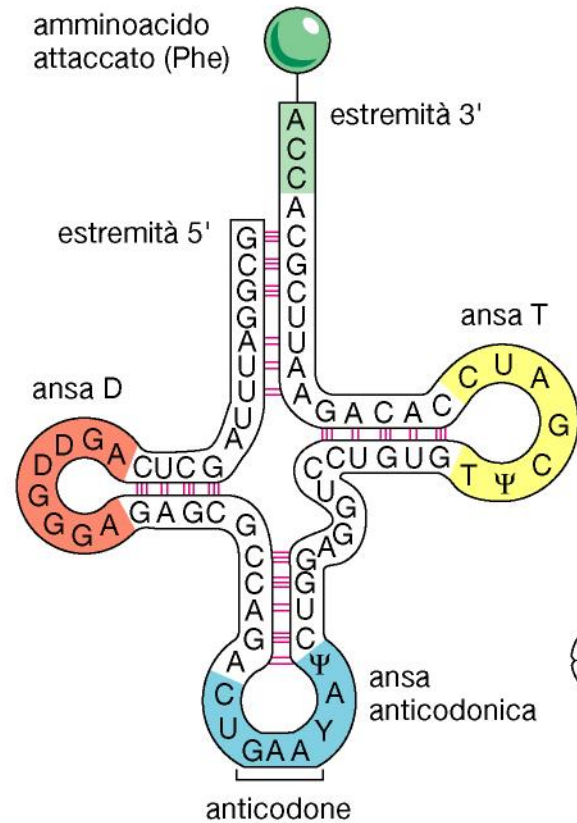
Dall'RNA alle proteine

La traduzione nei procarioti e negli
eucarioti



tRNA

adattatori molecolari che fanno corrispondere ogni amminoacido al suo codone

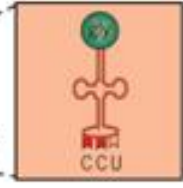
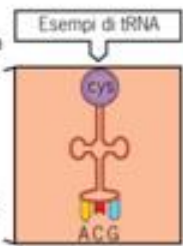


(A) (B) (C)

(D) 5' GCGGAUUUAGCUC **AGDDGGGA** GAGCGCCAGAC **CUGAAYAY** CUGGAGGUCCUGUGT **ΨCGAUC** CACAGAAUUCGCACCA 3'

anticodone

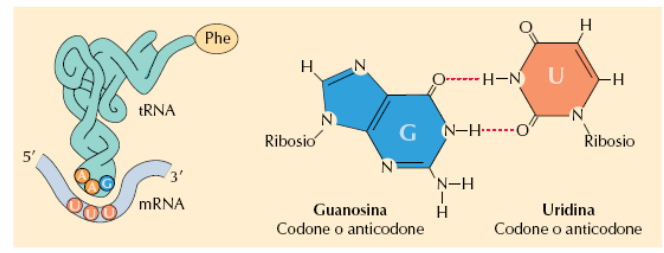
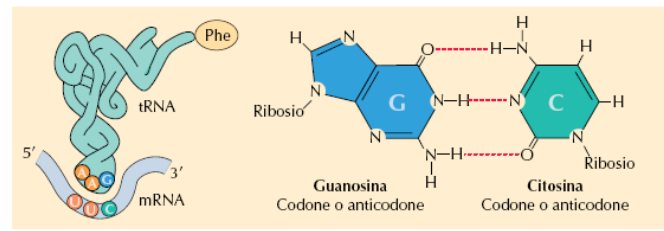
1ª lettera	U	C	A	G	2ª lettera
U	Fenilalanina	Serina	Tirosina	Cisteina	U
	Fenilalanina	Serina	Tirosina	Cisteina	C
	Leucina	Serina	stop	stop	A
	Leucina	Serina	stop	Triptofano	G
C	Leucina	Prolina	Istidina	Arginina	U
	Leucina	Prolina	Istidina	Arginina	C
	Leucina	Prolina	Glutamina	Arginina	A
	Leucina	Prolina	Glutamina	Arginina	G
A	Isoleucina	Treonina	Asparagina	Serina	U
	Isoleucina	Treonina	Asparagina	Serina	C
	Isoleucina	Treonina	Lisina	Arginina	A
	(inizio) Metionina	Treonina	Lisina	Arginina	G
G	Valina	Alanina	Acido aspartico	Glicina	U
	Valina	Alanina	Acido aspartico	Glicina	C
	Valina	Alanina	Acido glutammico	Glicina	A
	Valina	Alanina	Acido glutammico	Glicina	G
				3ª lettera	



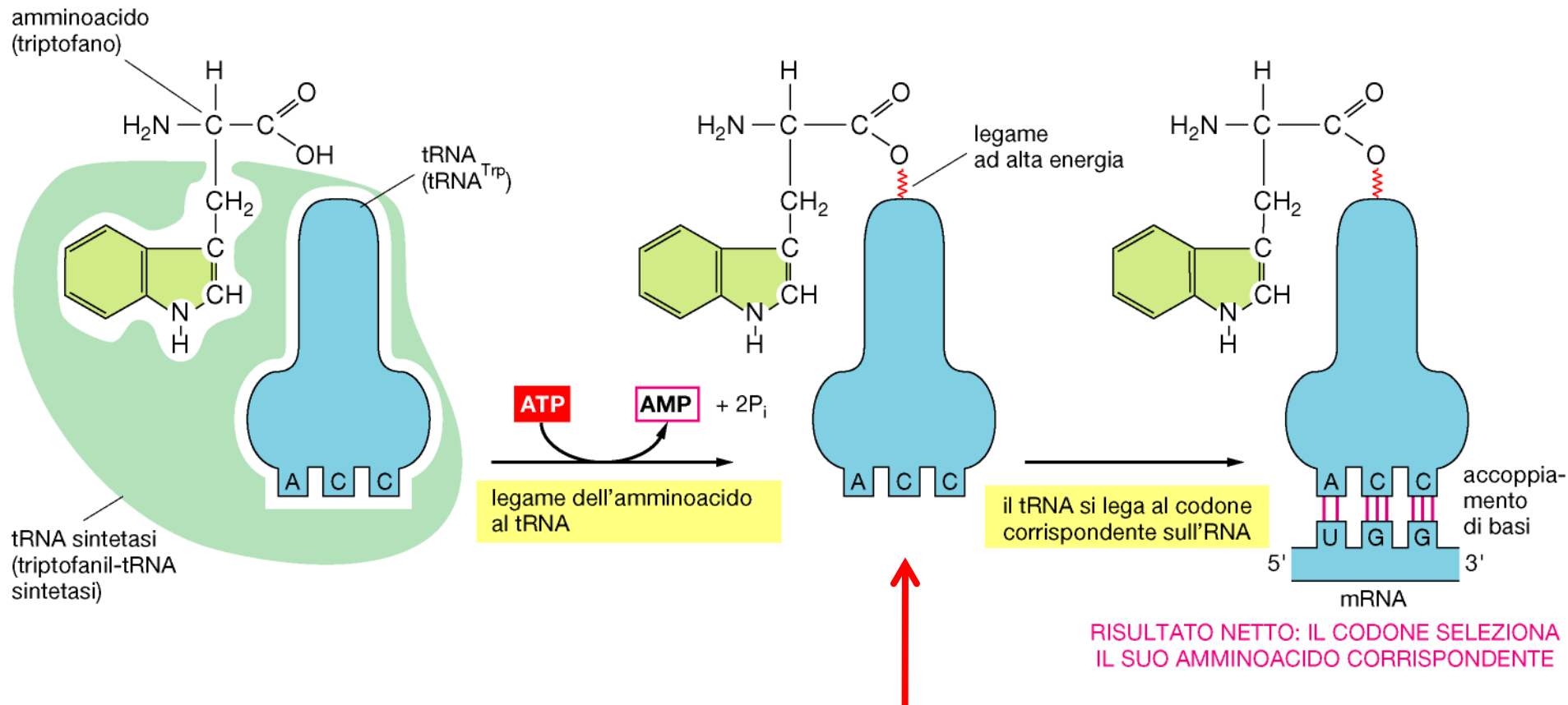
Vacillamento dell'interazione fra codoni e anticodoni

in alcuni casi il nucleotide in 5' dell'anticodone del tRNA può appaiarsi con più di un nucleotide in 3' del codone dell'mRNA, quindi più codoni possono usare lo stesso tRNA

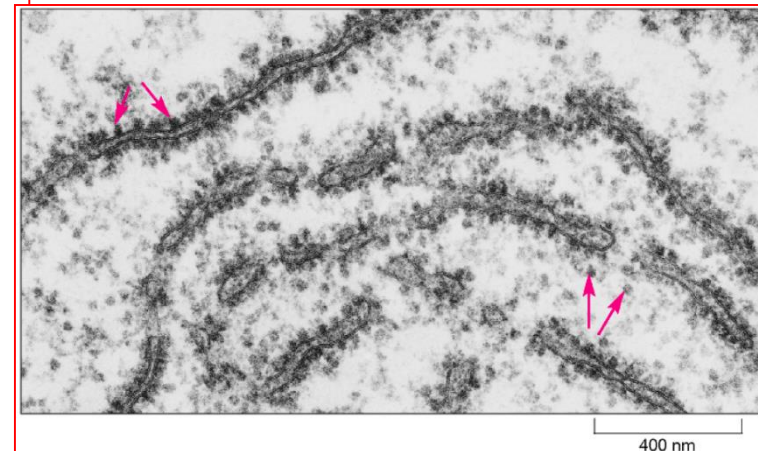
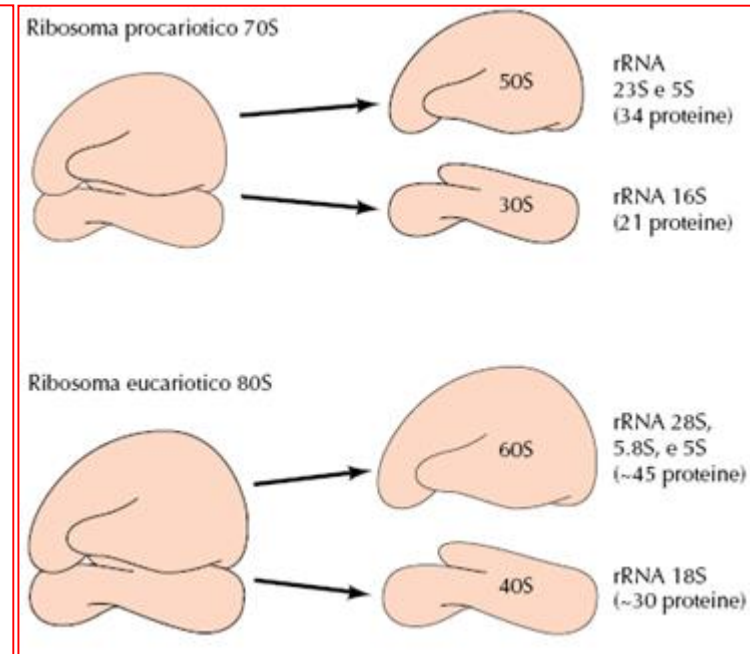
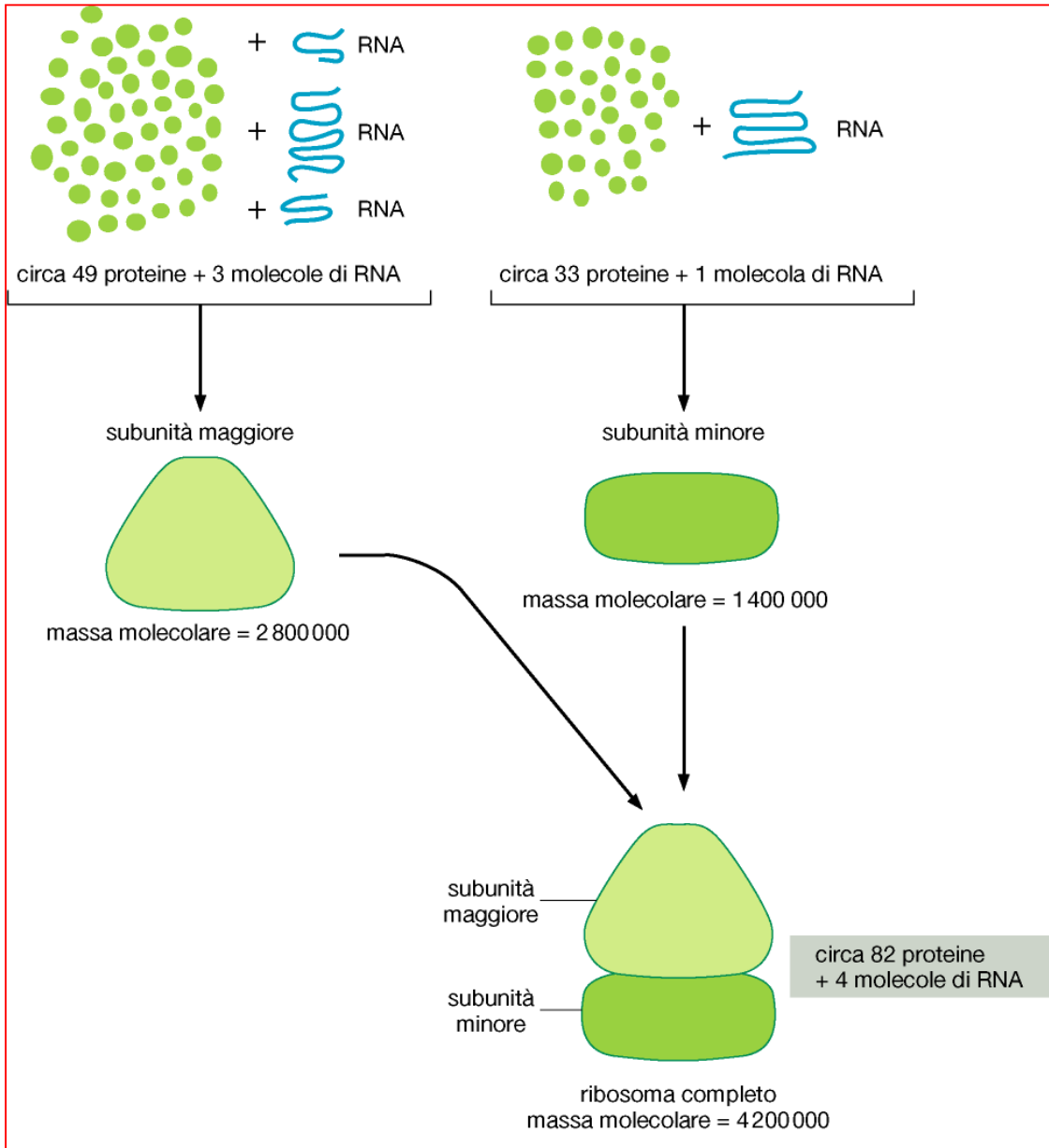
Appaiamento del tRNA fenilalanina



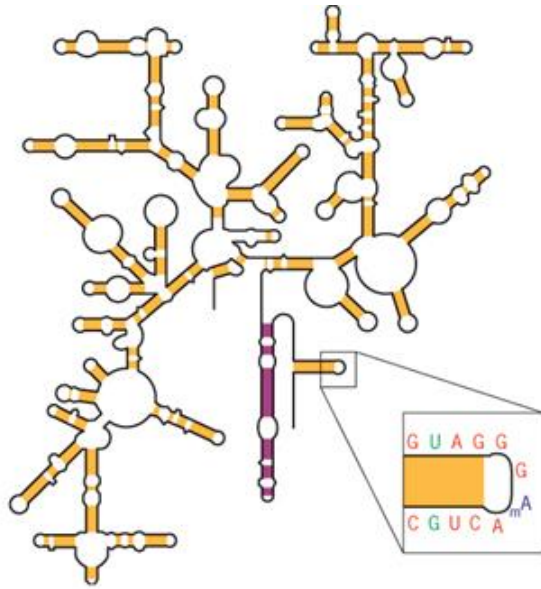
Il riconoscimento e l'attacco dell'amminoacido corretto dipendono da enzimi detti **amminoacil-tRNA sintetasi**, che uniscono con legame covalente ogni amminoacido al(i) corrispondente(i) tRNA



La decodifica dell'RNA messaggero avviene sui **RIBOSOMI**



Struttura bidimensionale di un **rRNA** batterico



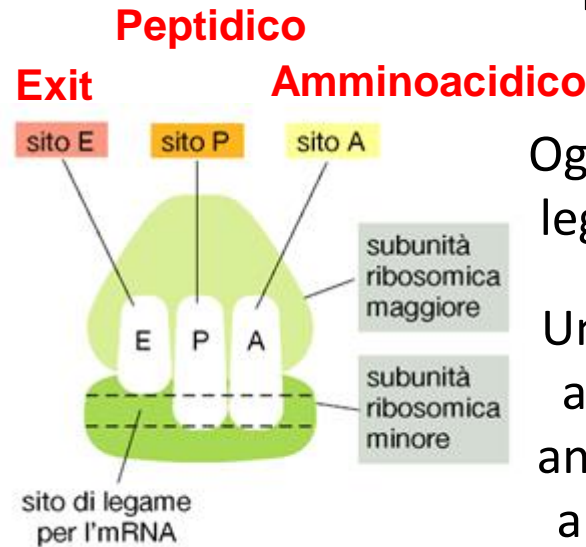
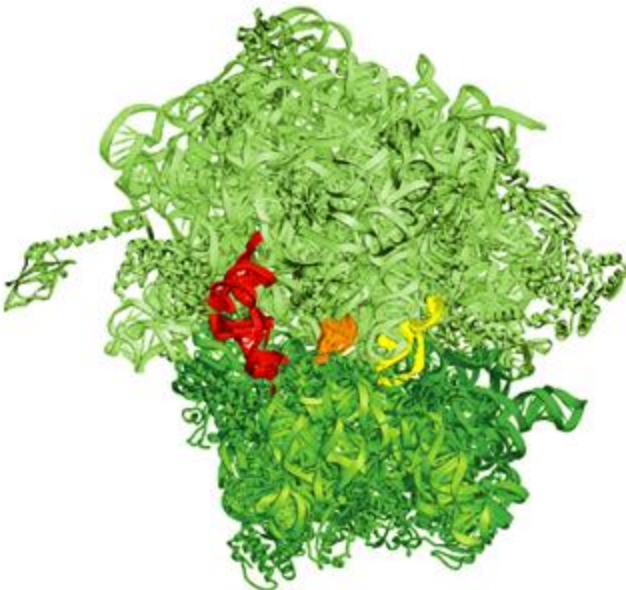
Il ribosoma è costituito per due terzi da RNA e per un terzo da proteine

Gli rRNA costituiscono il **corpo centrale** del ribosoma

Le proteine stabilizzano il nucleo centrale e ne garantiscono l'attività proteinosintetica

Le molecole di RNA che presentano attività catalitica sono dette **ribozimi**

Struttura di un **ribosoma**

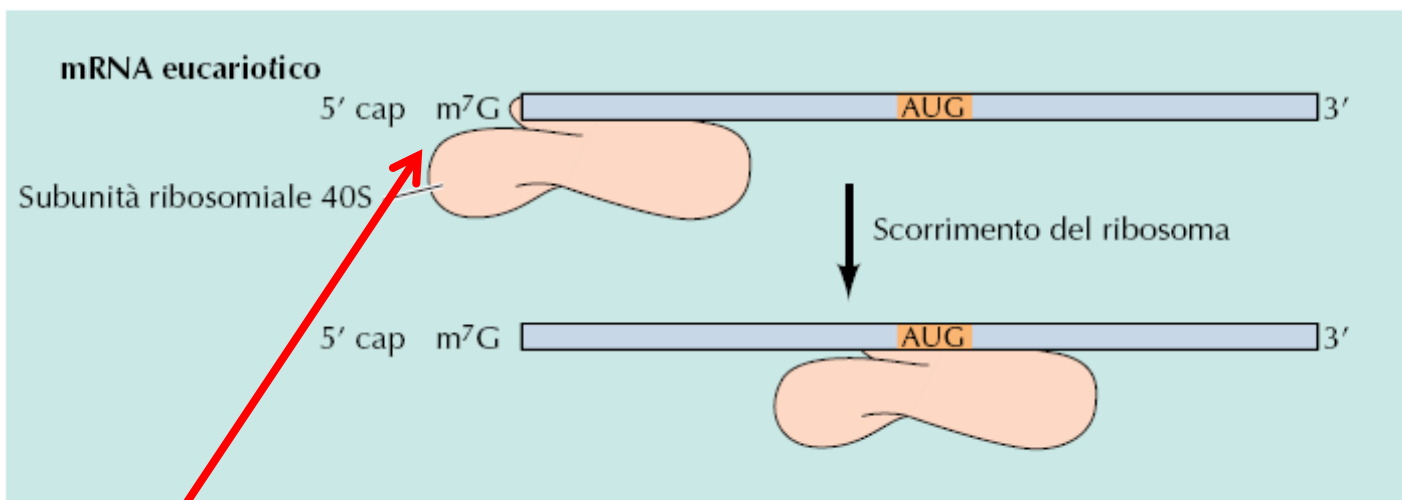
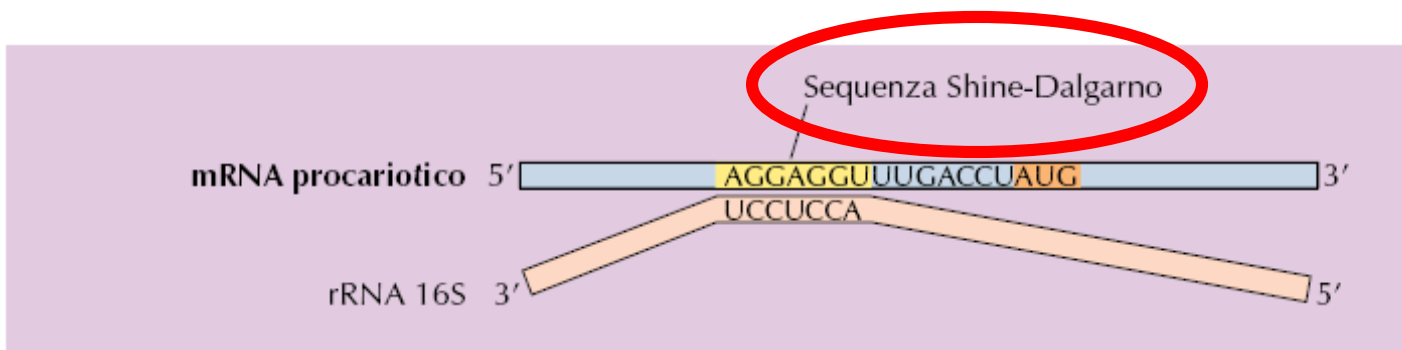
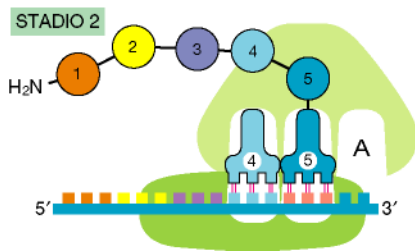
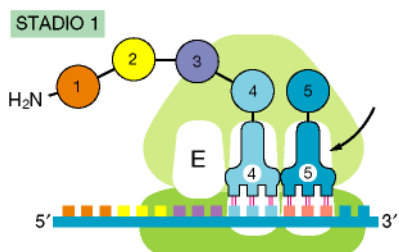
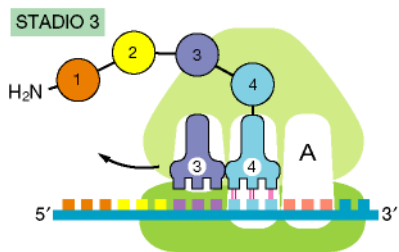
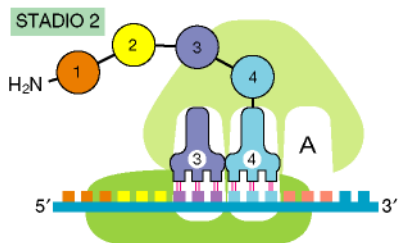
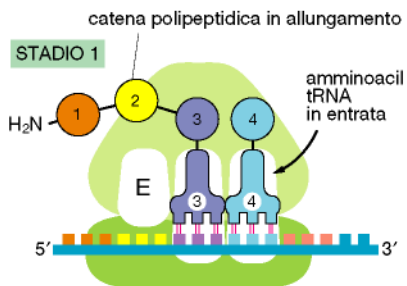


Ogni ribosoma contiene tre siti di legame per tRNA, detti **A**, **P** ed **E**

Un tRNA si associa strettamente ad A e P solo se le basi del suo anticodone sono complementari a quelle del codone dell'mRNA

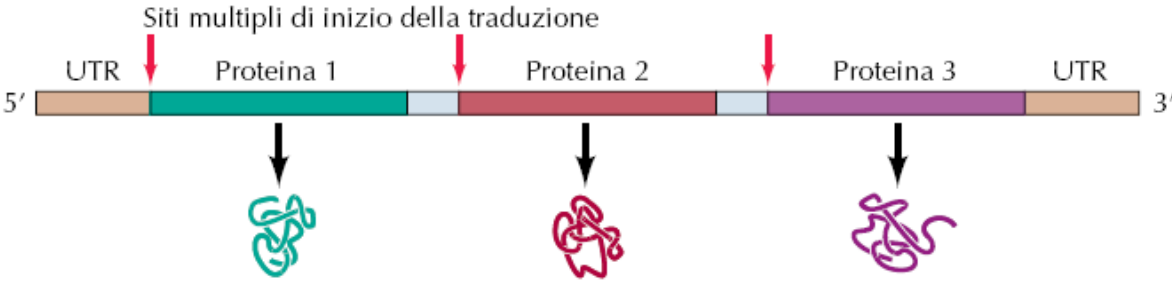
Ma come vengono segnalati i punti dove iniziare e terminare la traduzione?

Sia nei procarioti che negli eucarioti esistono segnali di inizio e fine della traduzione



Cappuccio (7-metilguanosa)

mRNA procariotico



mRNA policistronici

mRNA eucariotico

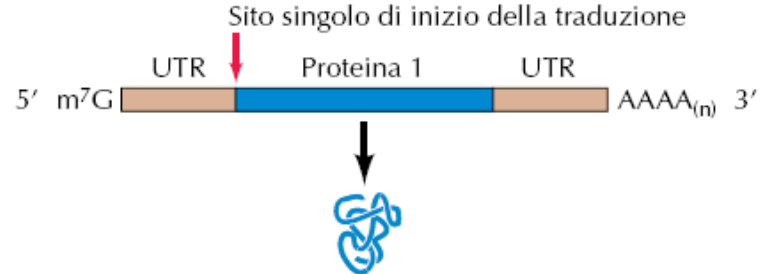
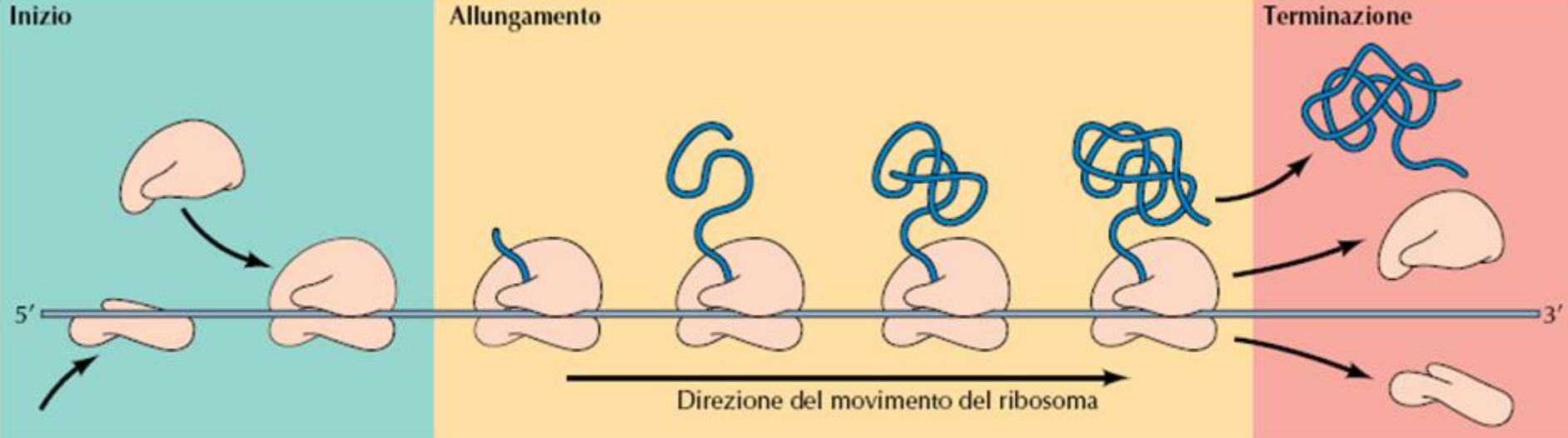


TABELLA 7.1 Fattori di traduzione

Ruolo	Procarioti	Eucarioti
Inizio	IF-1, IF-2, IF-3	eIF-1, eIF-1A, eIF-2, eIF-2B, eIF-3, eIF-4A, eIF-4B, eIF-4E, eIF-4G, eIF-5
Allungamento	EF-Tu, EF-Ts, EF-G	eEF-1α, eEF-1βγ, eEF-2
Terminazione	RF-1, RF-2, RF-3	eRF-1, eRF-3

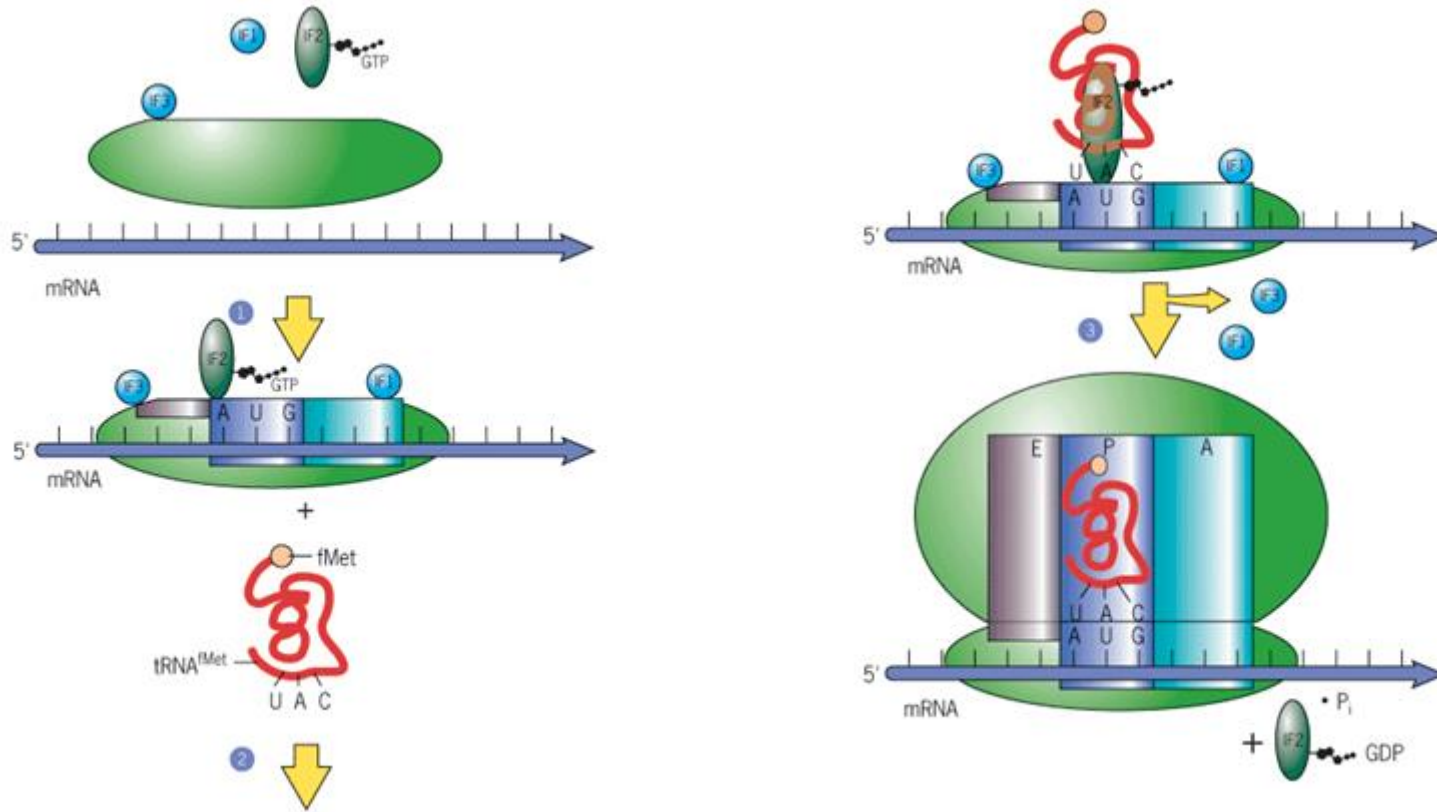


Il ribosoma lega l'mRNA sul codone di inizio

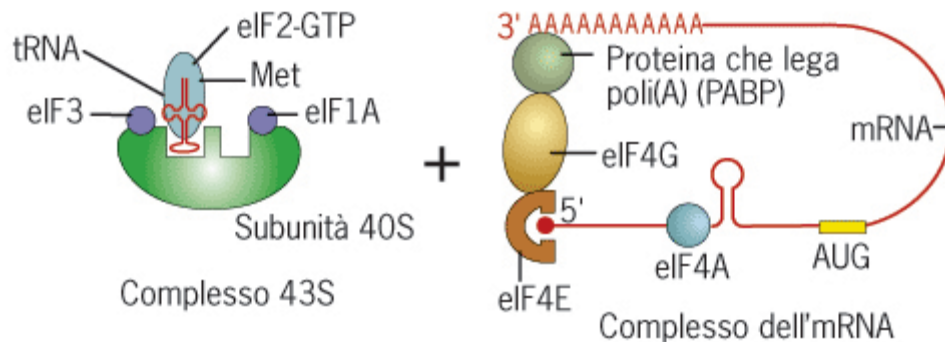
La catena polipeptidica si allunga per aggiunta successiva di amminoacidi

Quando si incontra un codone di terminazione il polipeptide è rilasciato e il ribosoma si dissocia

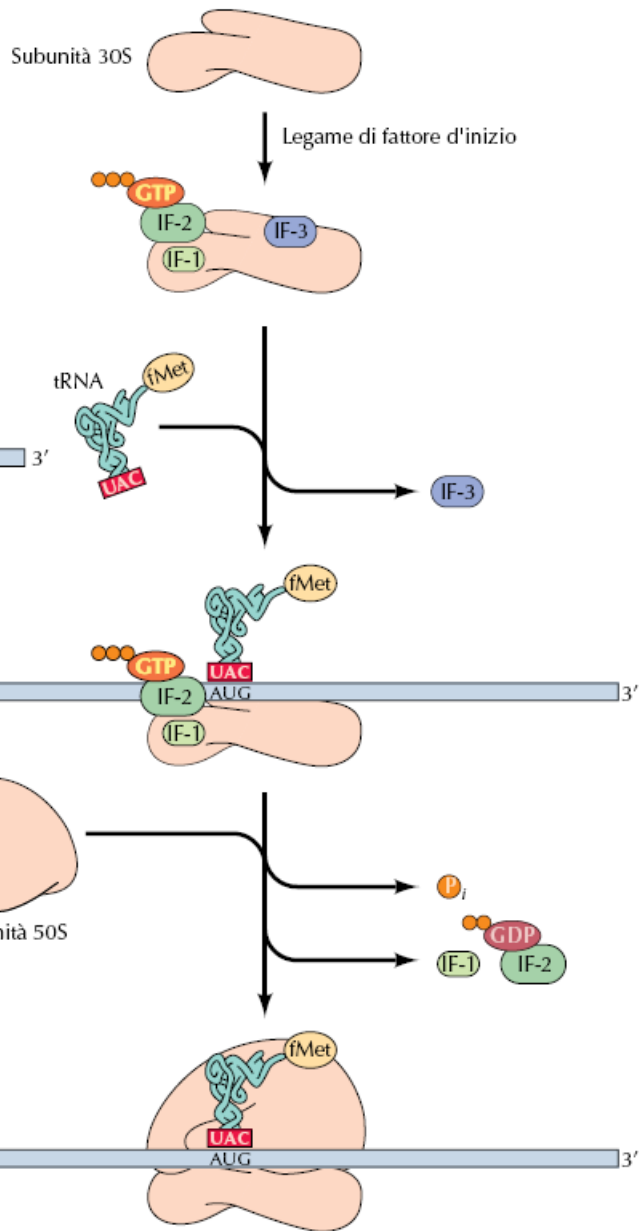
Inizio della sintesi proteica nei procarioti



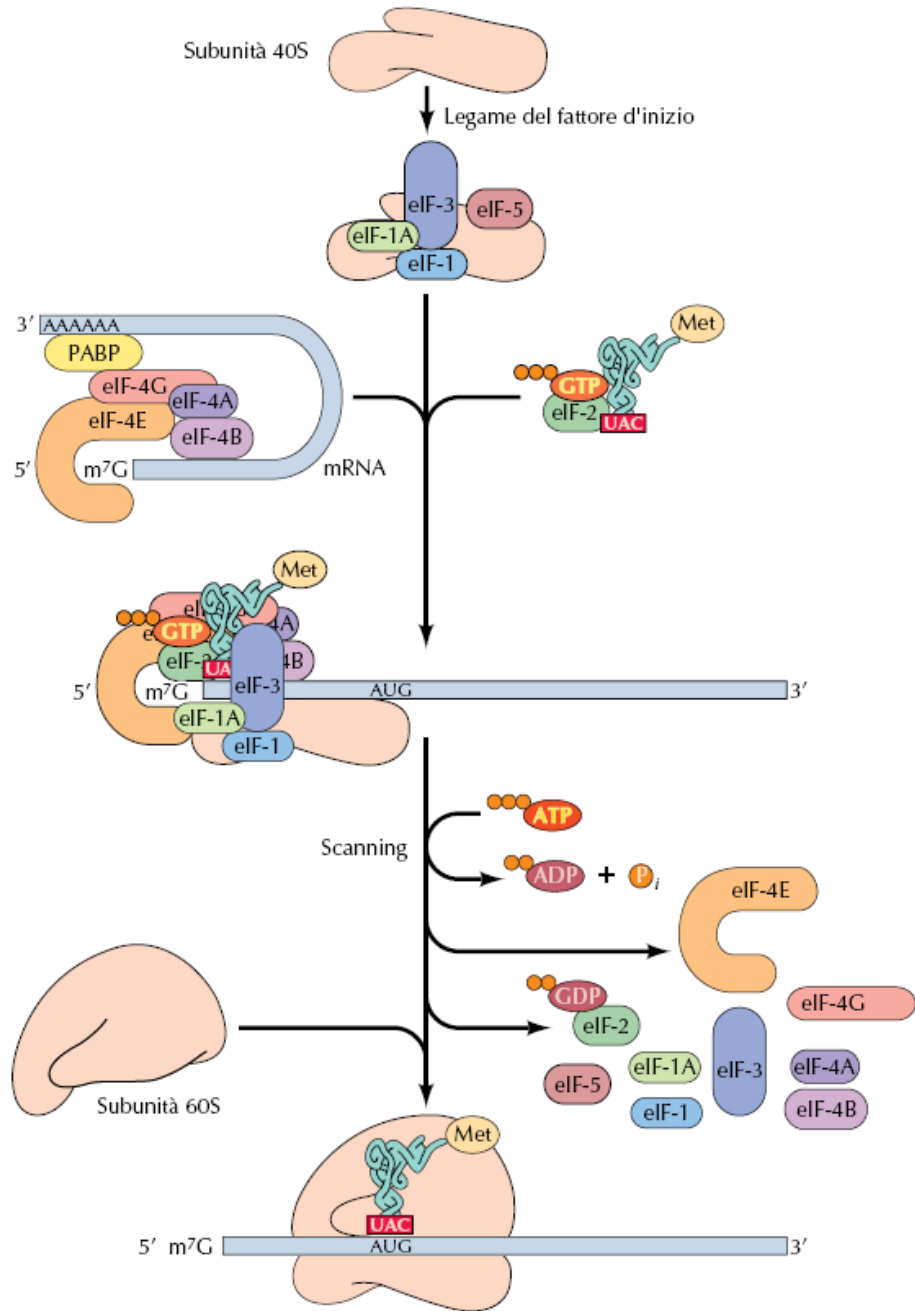
Inizio della sintesi proteica negli eucarioti



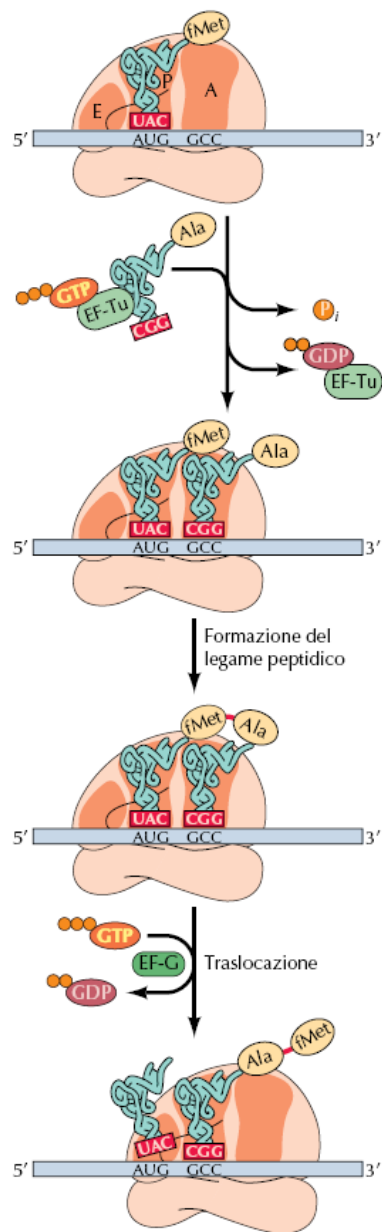
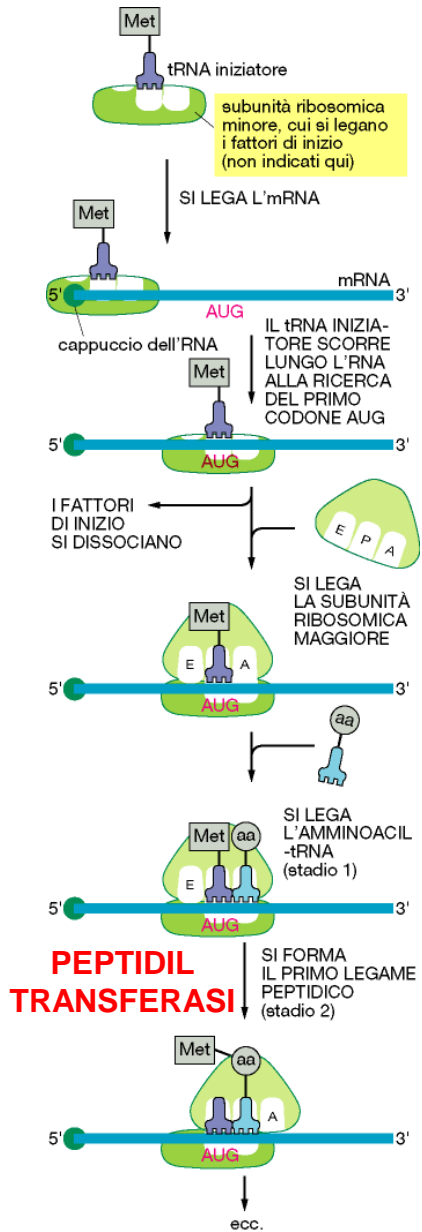
Batteri



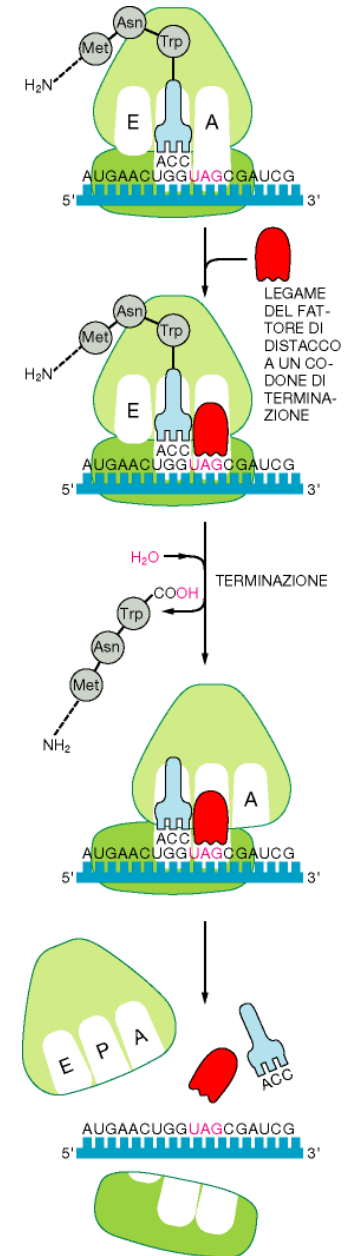
Eucarioti



Fase di allungamento

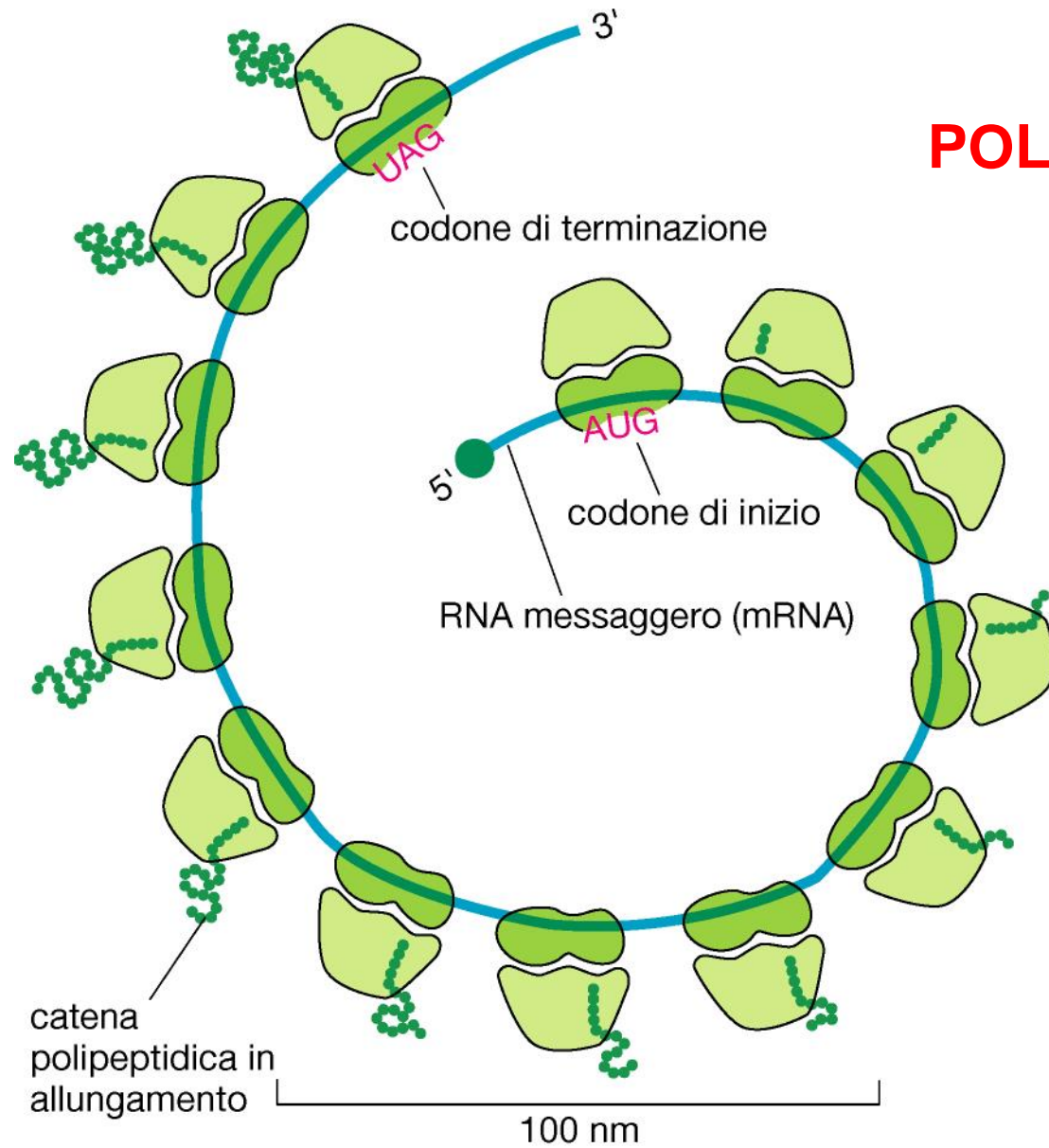


Terminazione della traduzione

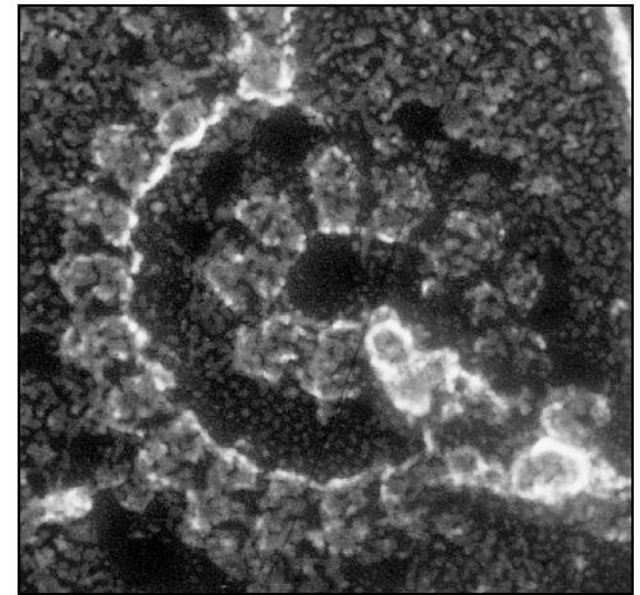


Gli mRNA sono tradotti da una serie di ribosomi multipli

POLIRIBOSOMI o POLISOMI

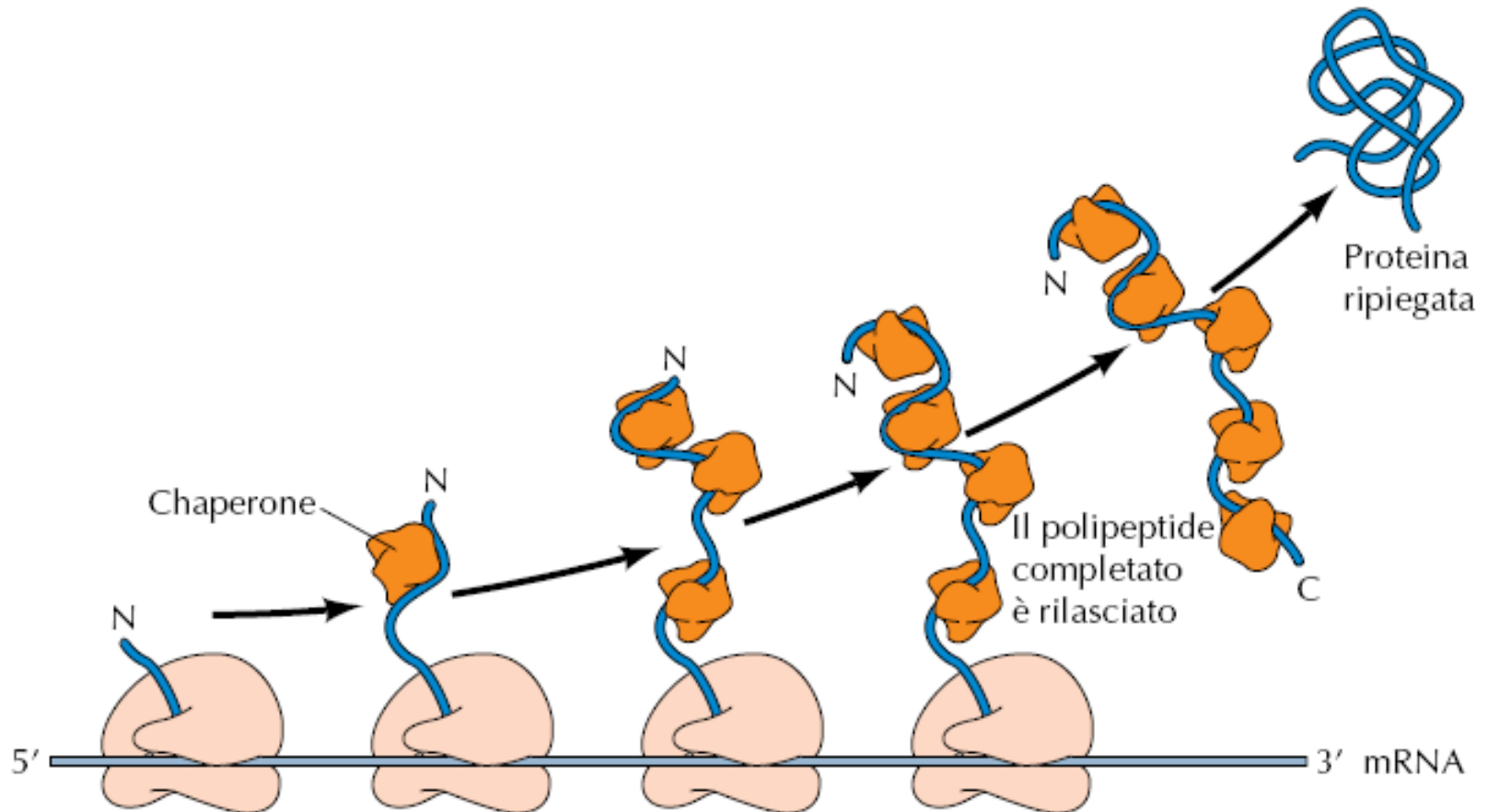


(A)



(B)

Le catene polipeptidiche assumono spontaneamente la loro conformazione tridimensionale, spesso anche man mano che vengono sintetizzate, ma alcune richiedono l'aiuto di **secondatori molecolari** (*molecular chaperons*)

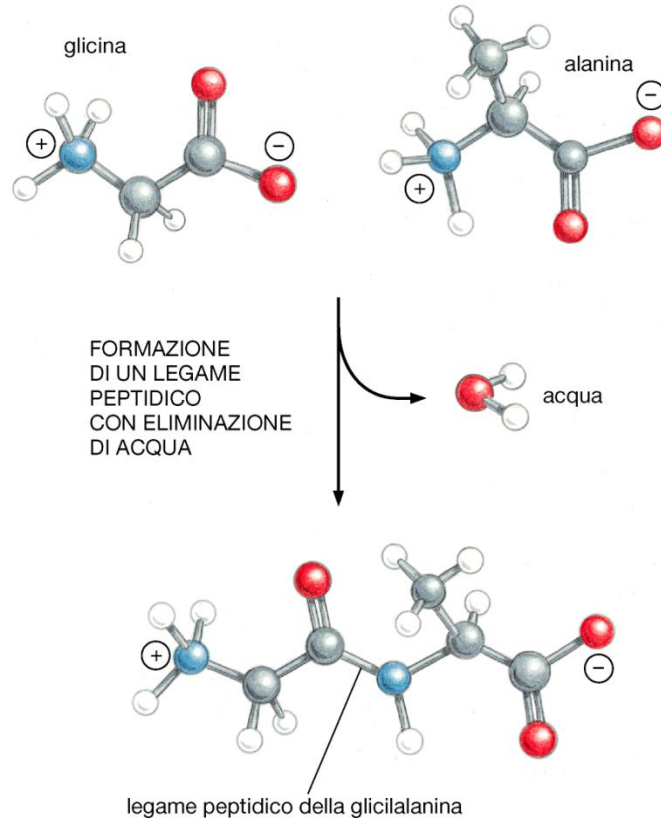


Gli inibitori della sintesi proteica procariotica si usano come **antibiotici**

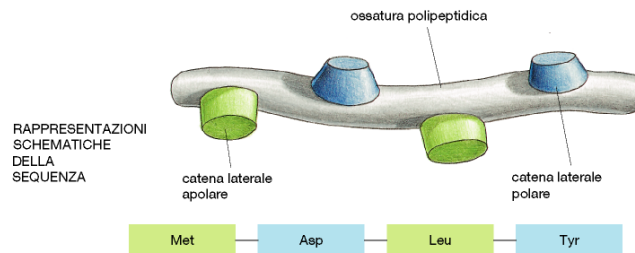
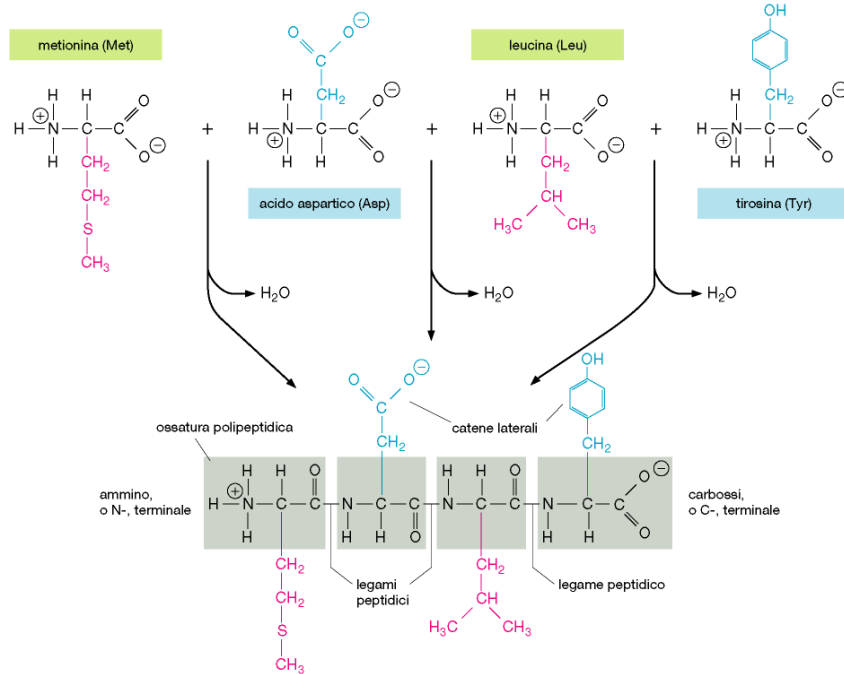
Antibiotici inibitori della sintesi proteica		
Antibiotico	Cellule bersaglio	Effetto
Streptomicina	Procariotiche	Inibisce l'inizio e causa errori di lettura
Tetraciclina	Procariotiche	Inibisce il legame degli amminoacil tRNA
Cloramfenicolo	Procariotiche	Inibisce l'attività peptidil transferasica
Eritromicina	Procariotiche	Inibisce la traslocazione
Puromicina	Procariotiche ed eucariotiche	Causa terminazione prematura della catena
Cicloesimide	Eucariotiche	Inibisce l'attività peptidil transferasica

Le proteine presentano parecchi livelli di organizzazione

Struttura primaria



Sequenza amminoacidica
Catena polipeptidica



AMMINOACIDO	AMMINOACIDO	AMMINOACIDO	CATENA LATERALE
Acido aspartico	Asp	D	negativa
Acido glutammico	Glu	E	negativa
Arginina	Arg	R	positiva
Lisina	Lys	K	positiva
Istidina	His	H	positiva
Asparagina	Asn	N	non carica, polare
Glutammina	Gln	Q	non carica, polare
Serina	Ser	S	non carica, polare
Treonina	Thr	T	non carica, polare
Tirosina	Tyr	Y	non carica, polare

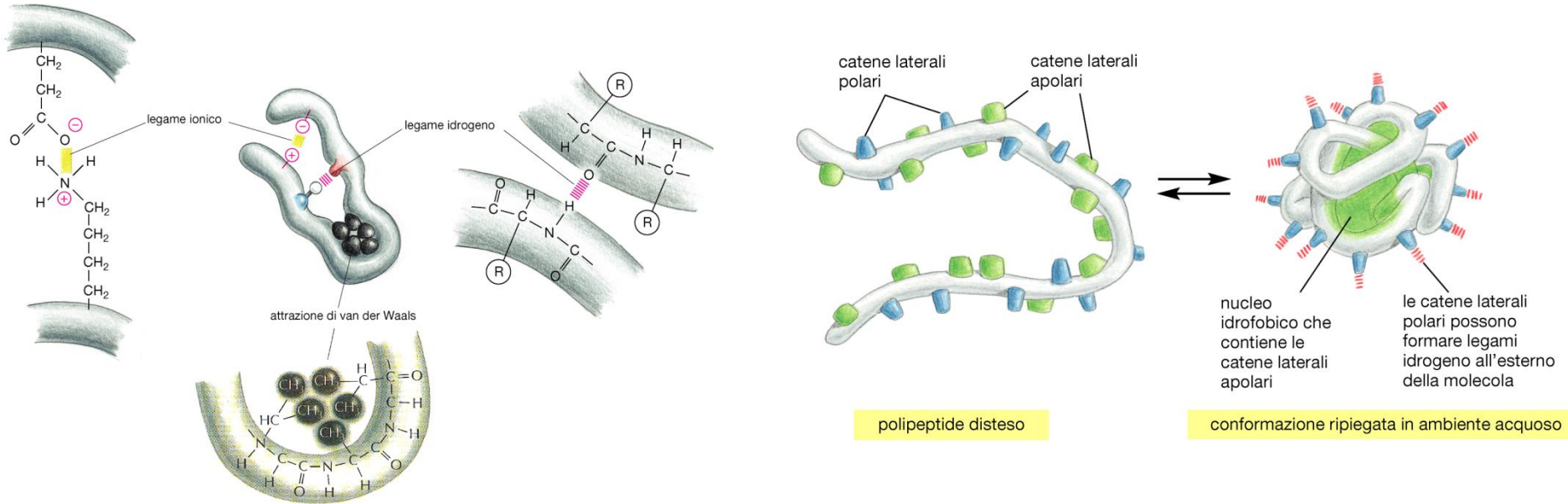
AMMINOACIDO	AMMINOACIDO	AMMINOACIDO	CATENA LATERALE
Alanina	Ala	A	apolare
Glicina	Gly	G	apolare
Valina	Val	V	apolare
Leucina	Leu	L	apolare
Isoleucina	Ile	I	apolare
Prolina	Pro	P	apolare
Fenilalanina	Phe	F	apolare
Metionina	Met	M	apolare
Triptofano	Trp	W	apolare
Cisteina	Cys	C	apolare

AMMINOACIDI POLARI

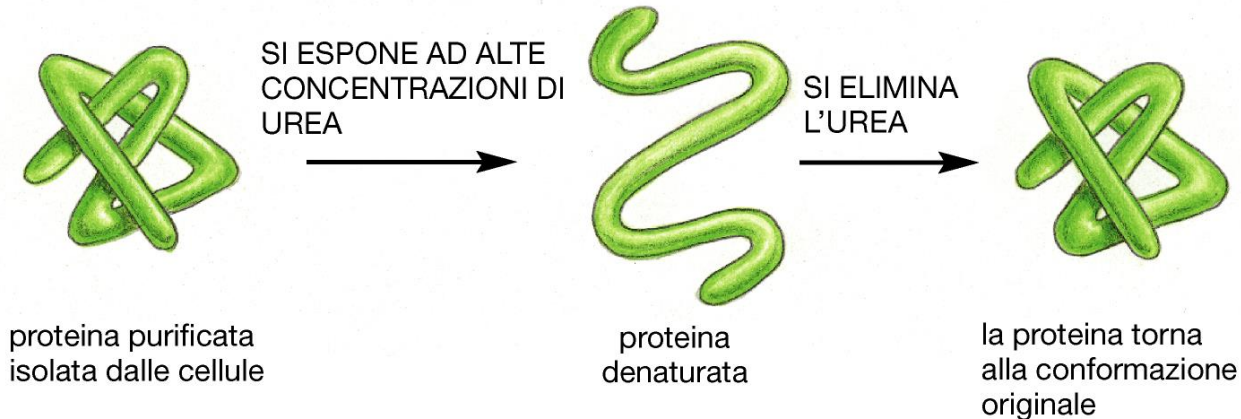
AMMINOACIDI NON POLARI

L'ordine degli amminoacidi nella catena polipeptidica ne determina la disposizione tridimensionale

Tre tipi di legami favoriscono il processo di ripiegamento nelle proteine, oltre alle forze idrofobiche



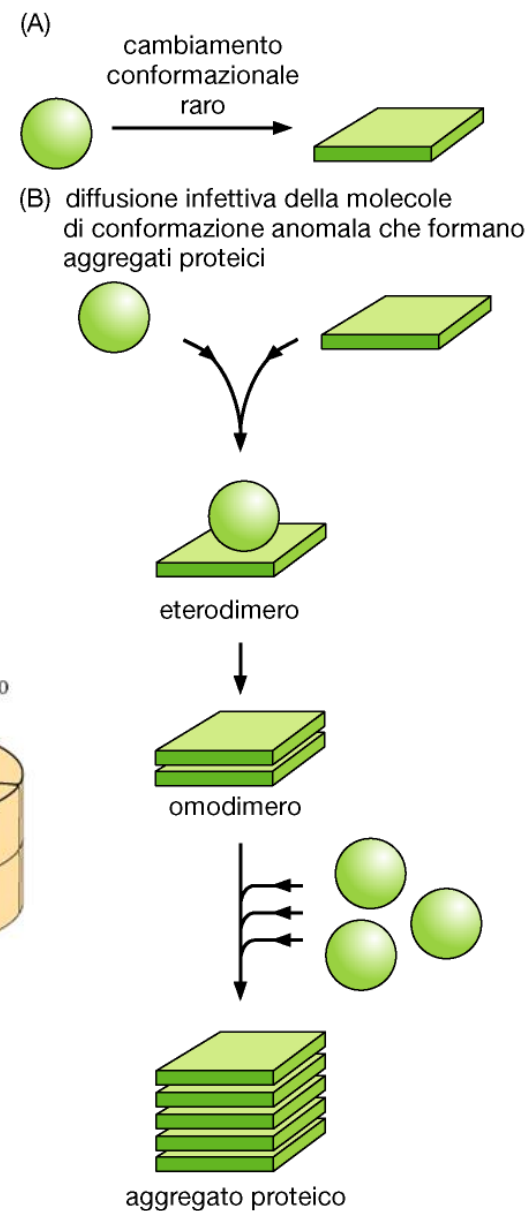
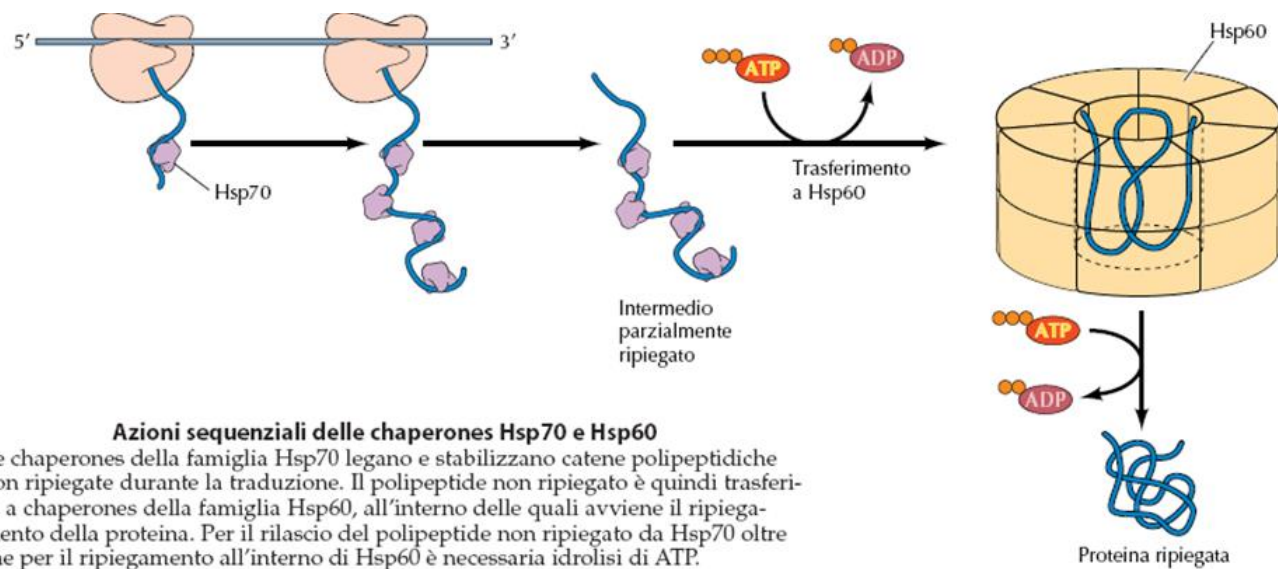
Le proteine si dispongono nella conformazione di energia minima



Un ripiegamento sbagliato delle proteine può portare alla formazione di aggregati capaci di danneggiare cellule e tessuti (Alzheimer, Huntington)

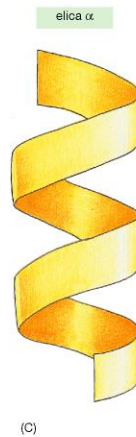
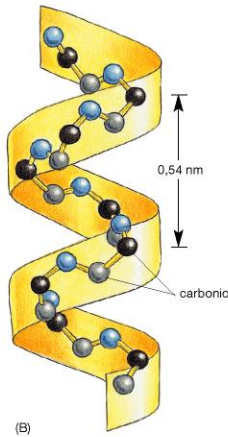
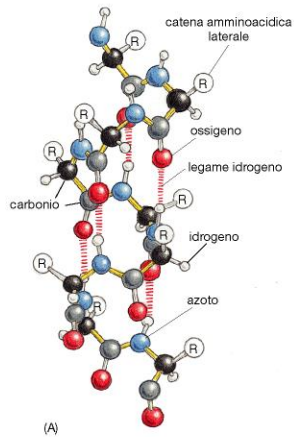
Ci sono proteine malformate capaci di indurre tale malformazione anche in proteine con normale conformazione (malattie da prioni, encefalopatia spongiforme bovina -BSE- o morbo della mucca pazza, sindrome di Creutzfeldt-Jacob)

Anche se una catena polipeptidica è in grado essa stessa di assumere la corretta conformazione, nelle cellule il ripiegamento è assistito dai secondatori molecolari, o **chaperon molecolari**



Struttura secondaria

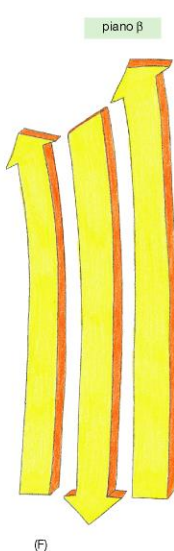
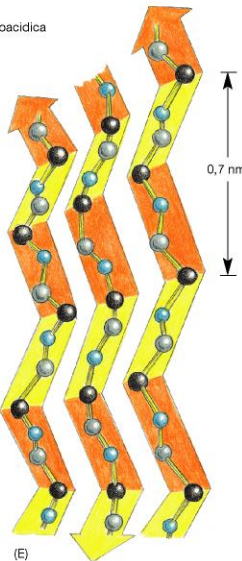
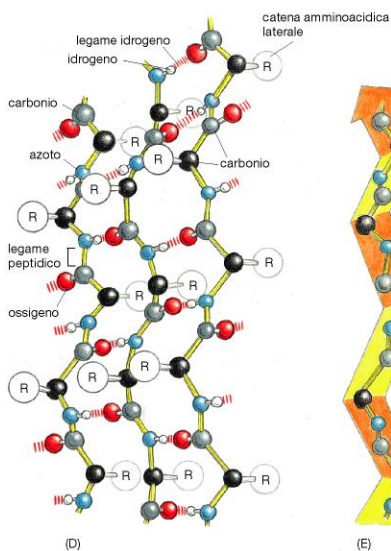
Descrive la **conformazione**, ovvero la disposizione tridimensionale degli atomi, di parti della catena polipeptidica



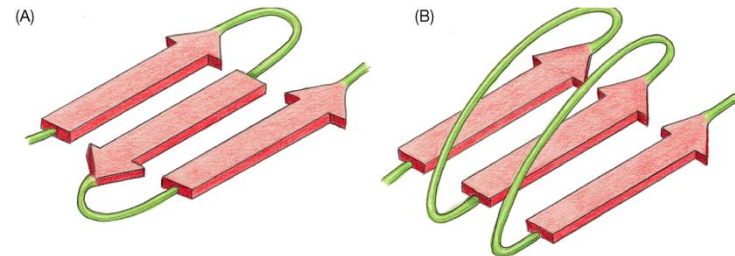
Elica α

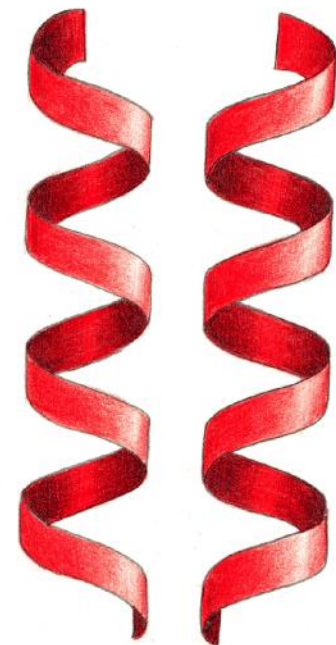
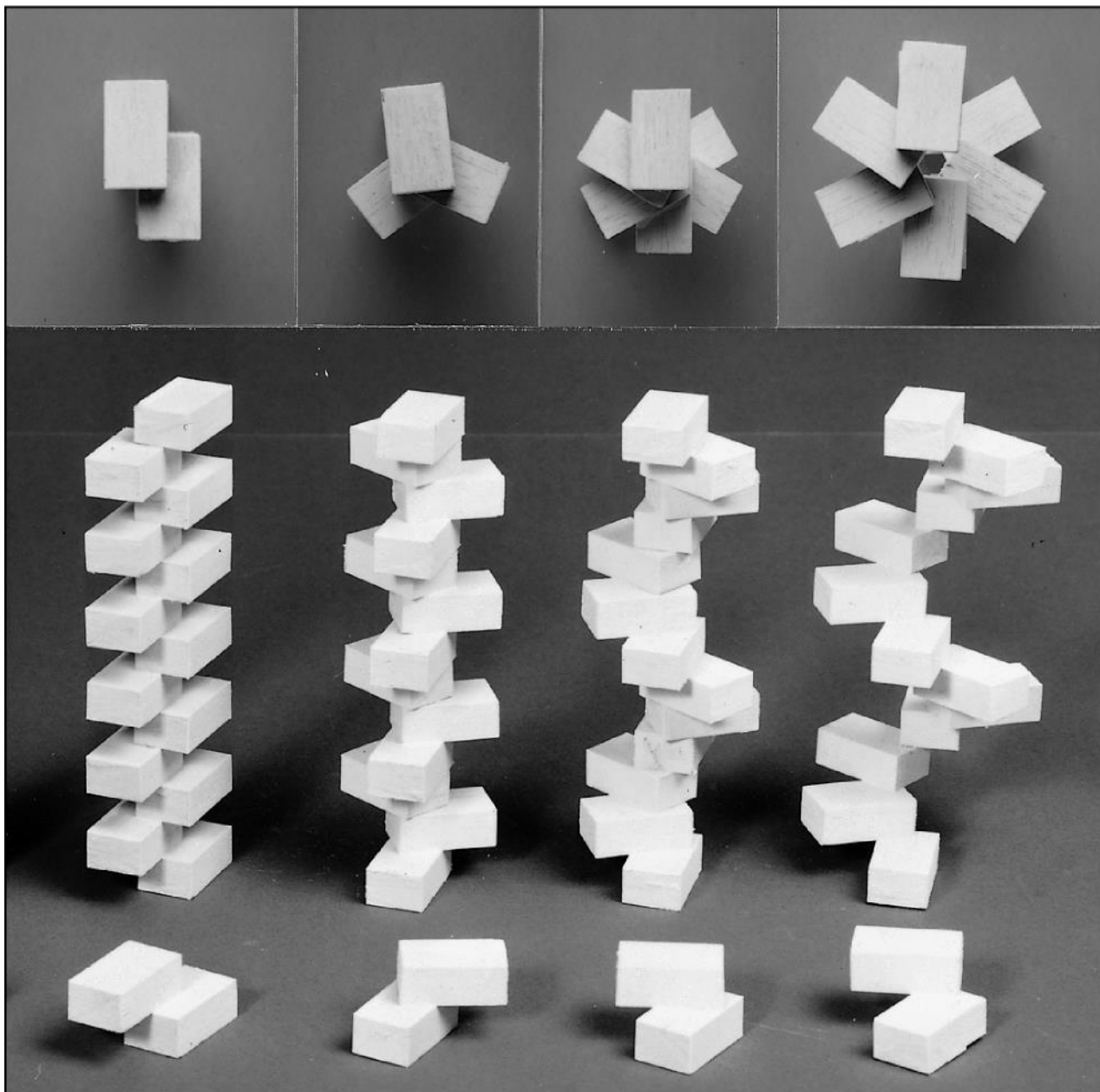
Legami idrogeno tra gruppi N-H e C=O dell'ossatura polipeptidica

- legami idrogeno tra N-H e C=O situato 4 legami peptidici più a valle;
- giro completo ogni 3,6 amminoacidi



Piano β





sinistrorsa
(E)

destrorsa

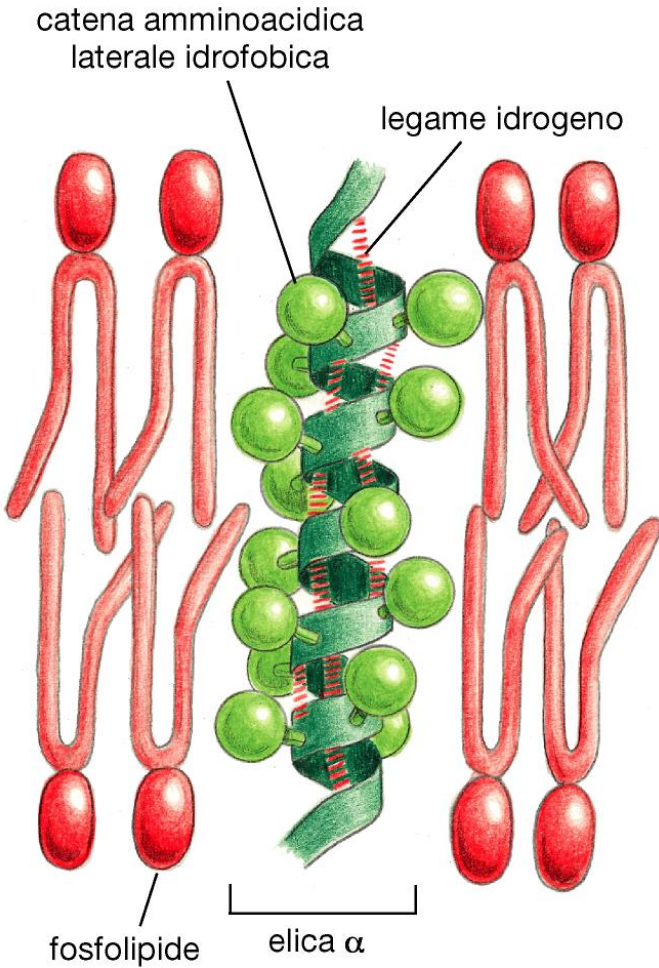
(A)

(B)

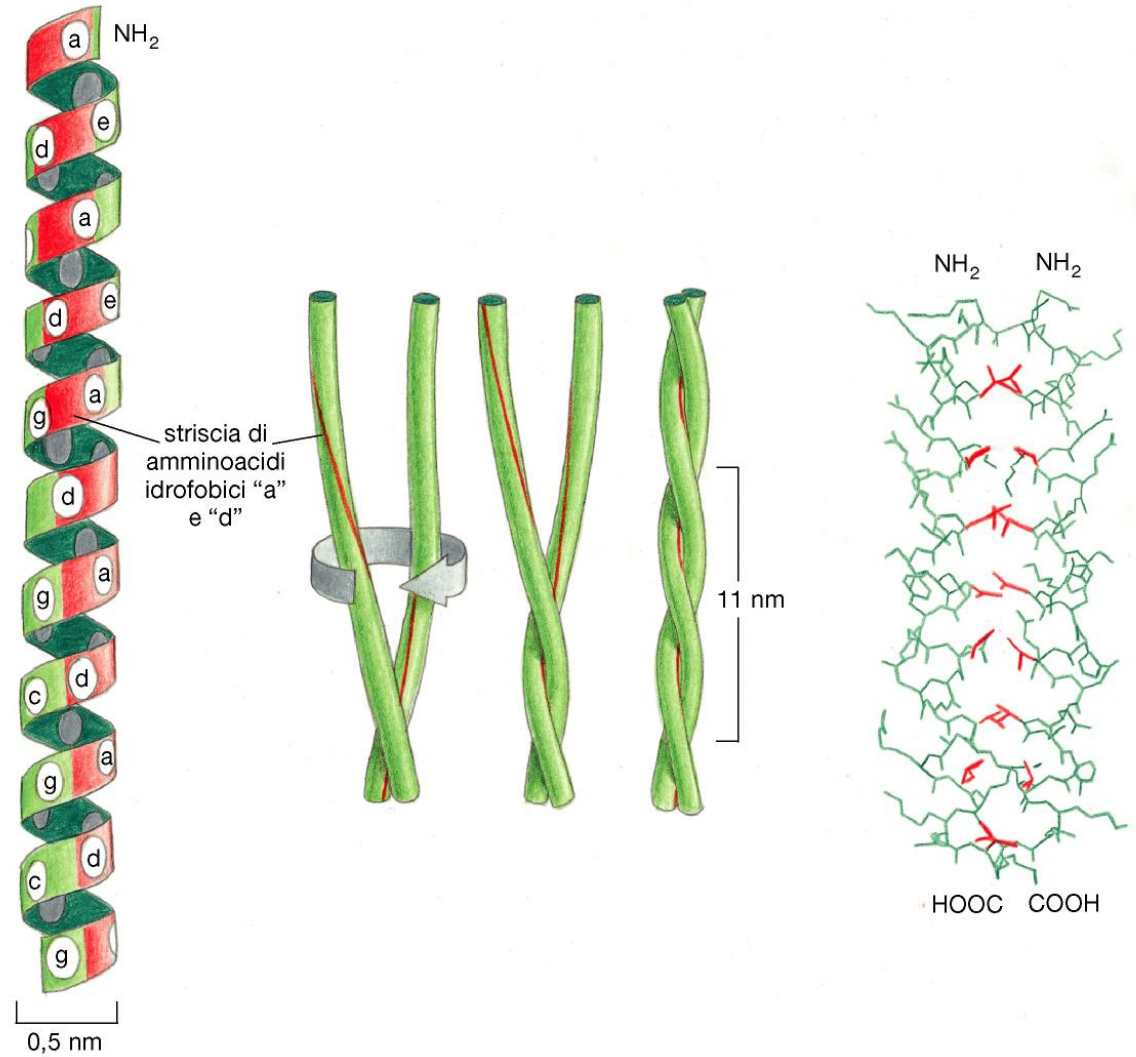
(C)

(D)

Un tratto di elica α può attraversare il doppio strato lipidico



Più eliche α avvolte su se stesse possono formare una spirale ritorta



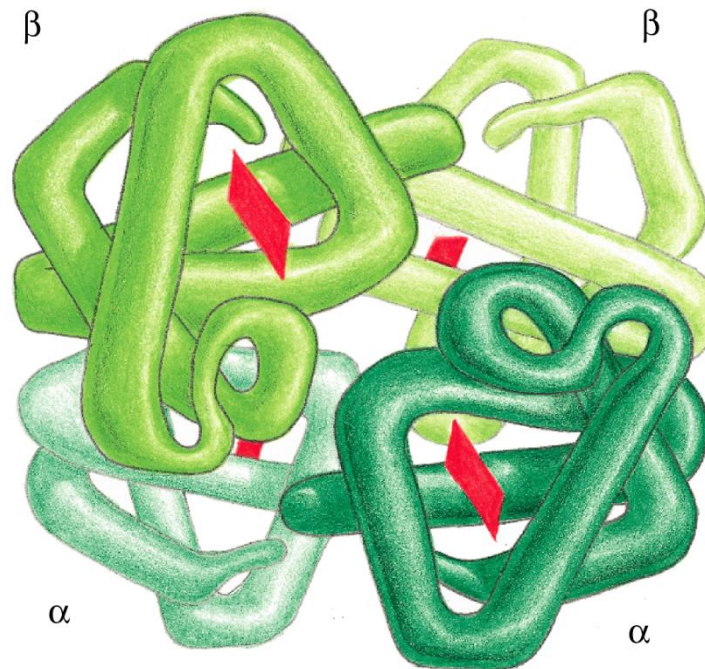
Struttura terziaria

Descrive la **conformazione** dell'intera proteina

Struttura stabilizzata da una serie di legami non covalenti tra le diverse catene laterali di una proteina

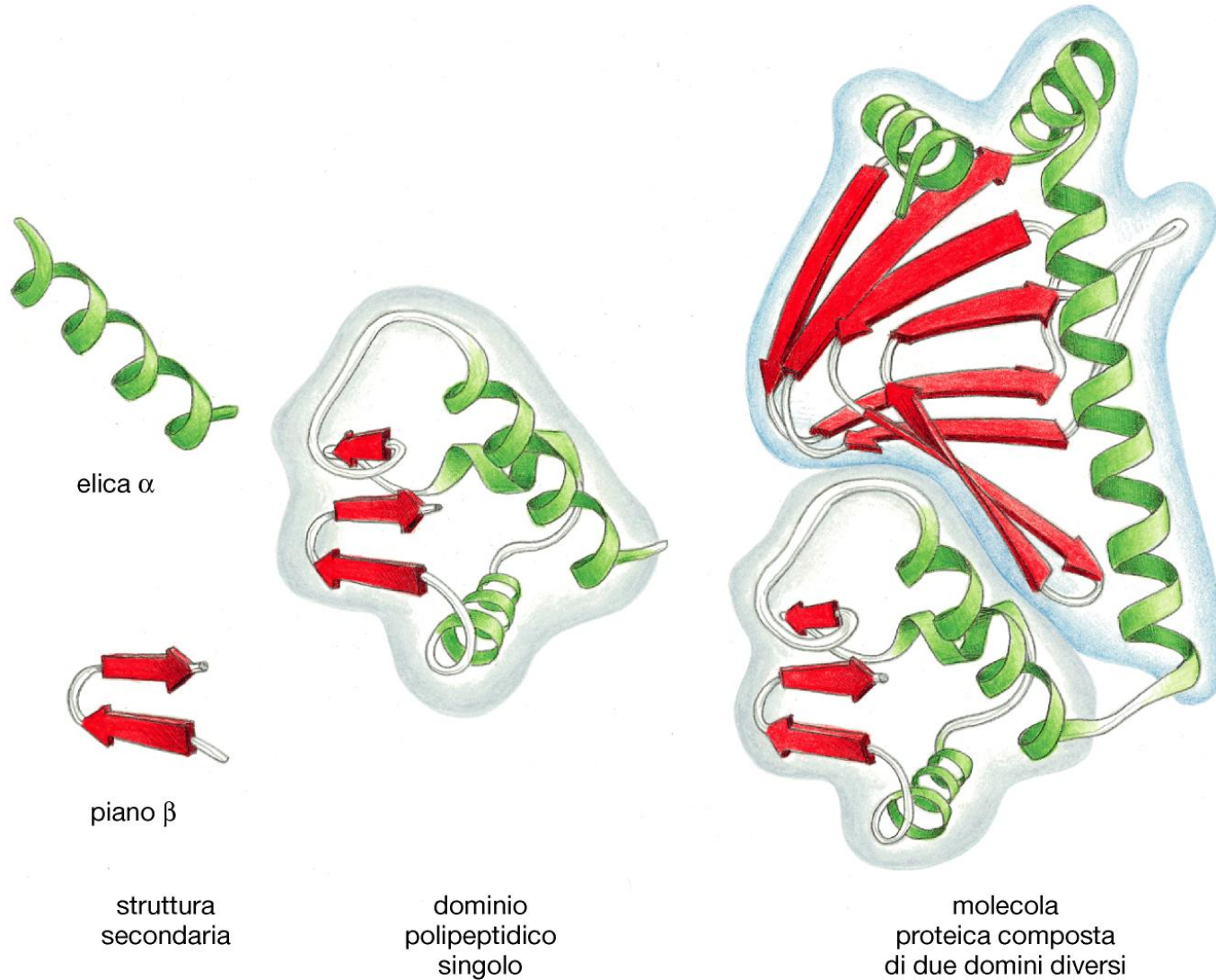
Struttura quaternaria

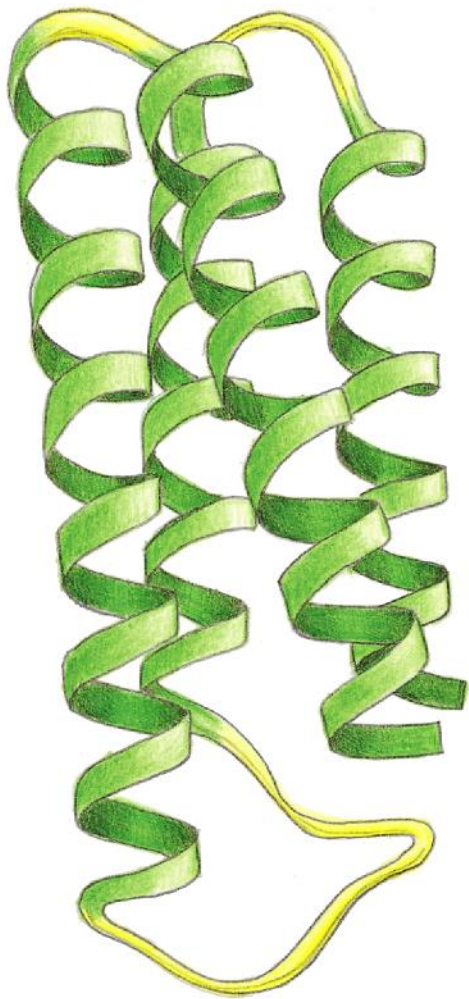
Se una molecola proteica si compone di più catene polipeptidiche



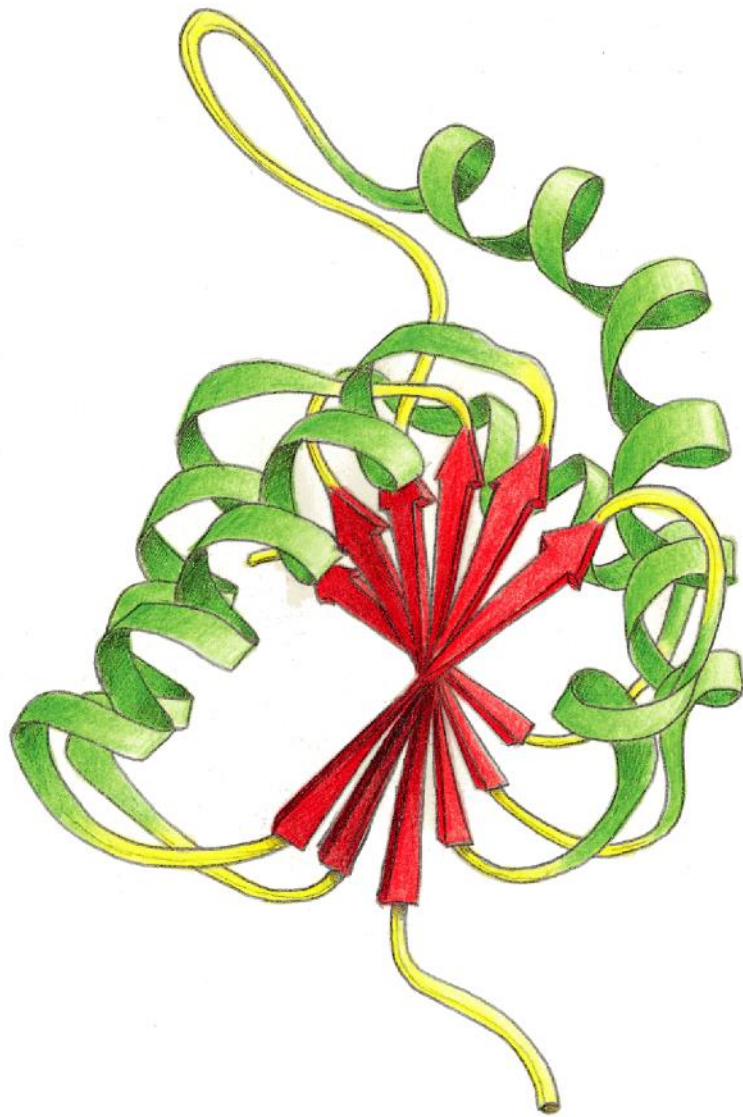
Domini proteici

Parte della catena polipeptidica che può ripiegarsi indipendentemente in una struttura compatta e stabile

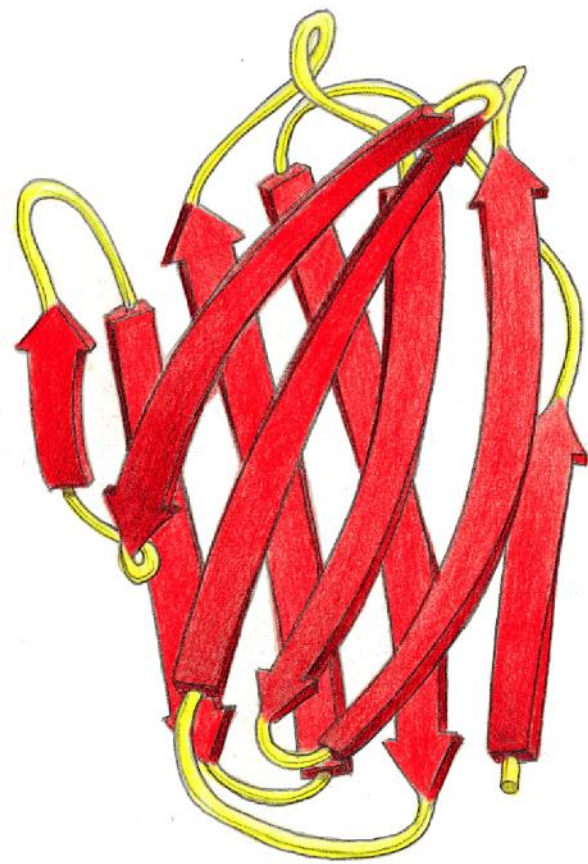




(A)



(B)

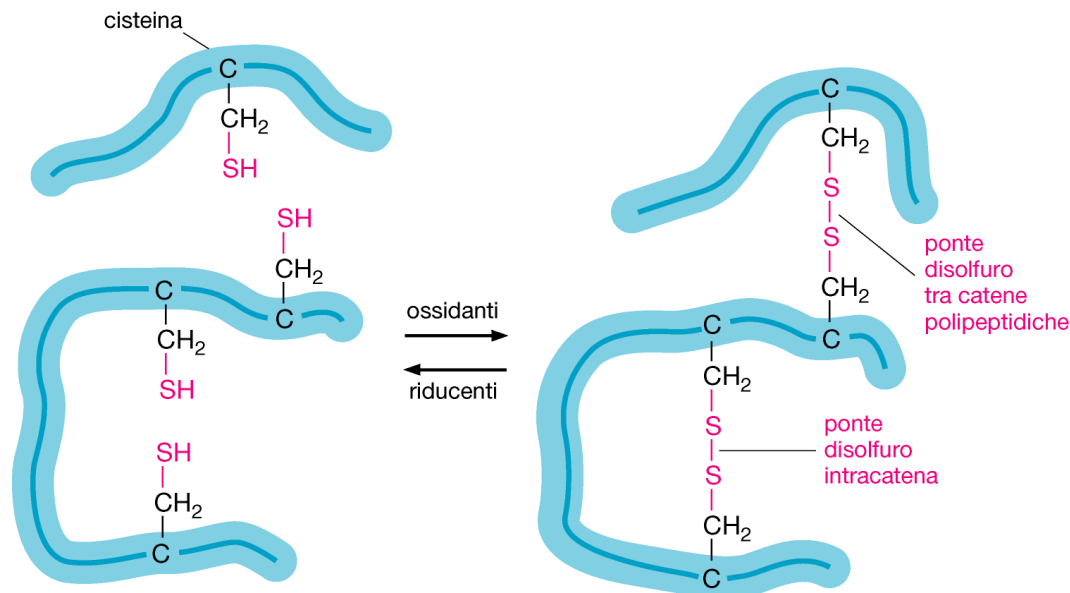


(C)

Piccole modificazioni durante l'evoluzione hanno dato origine a **famiglie di proteine** i cui membri presentano sequenza amminoacidica e forma molto simili

Spesso le molecole proteiche grandi sono formate da più catene polipeptidiche, **subunità proteiche**, che interagiscono attraverso molti legami non covalenti in una "zona" detta **sito di legame**

A volte possono essere presenti **legami-ponte di tipo covalente**, fra amminoacidi di una stessa catena o fra diverse subunità di una stessa molecola proteica. I più comuni sono i **ponti disolfuro (S-S)**. Essi fissano la disposizione spaziale più favorevole, soprattutto in proteine esposte a condizioni ambientali extracellulari



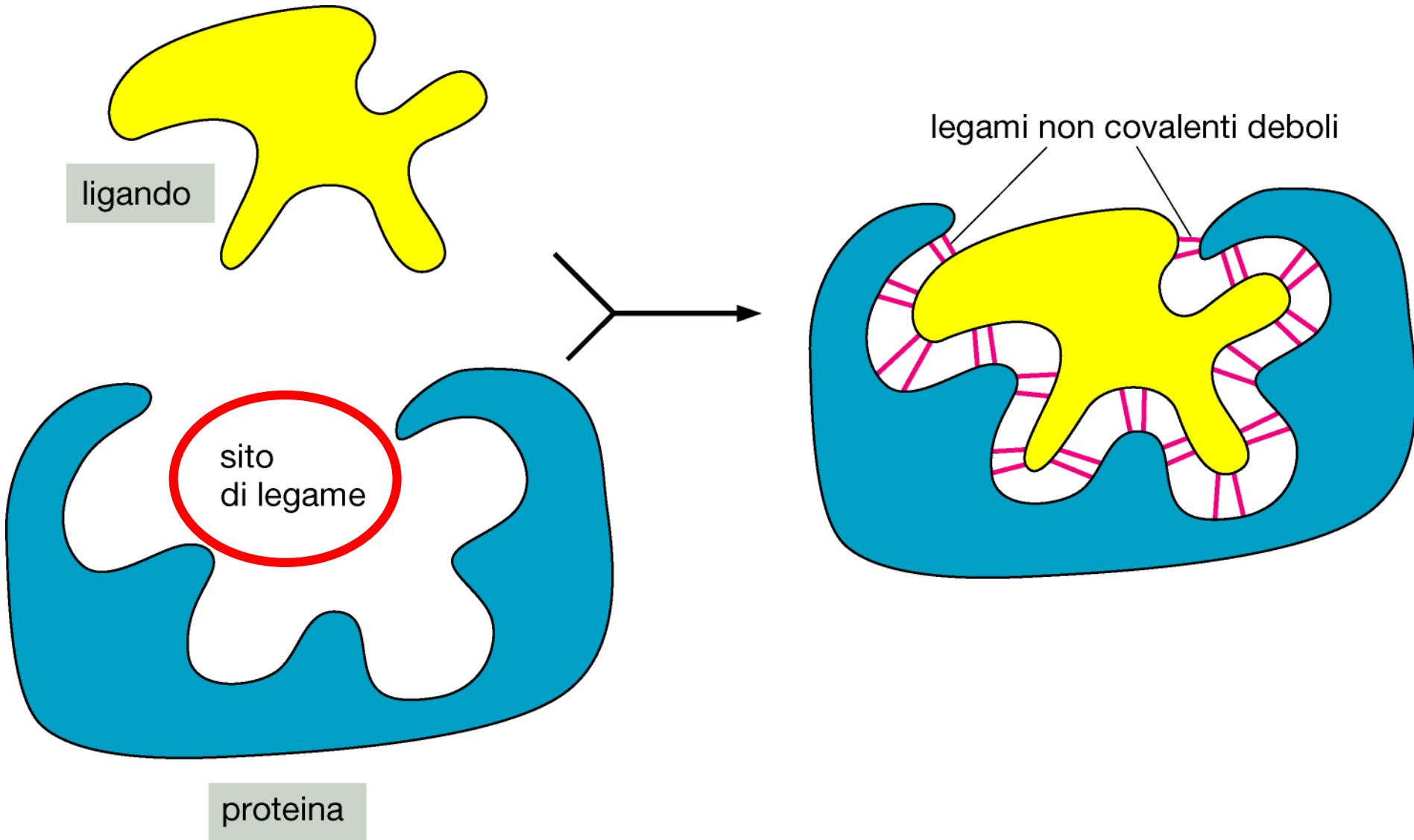
Per molte proteine si può effettuare una classificazione in base alla conformazione globale:

-Proteine fibrose, di forma allungata; ne sono esempi il collagene e l'elastina del tessuto connettivo, la cheratina dei capelli, della pelle, delle unghie e delle corna e la seta.

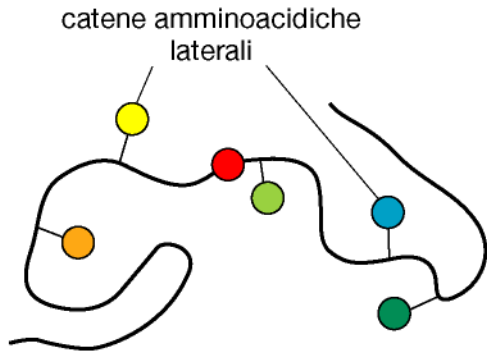
-Proteine globulari, di forma compatta; come la maggior parte delle proteine intracellulari.

Come esplicano la loro funzione le proteine?

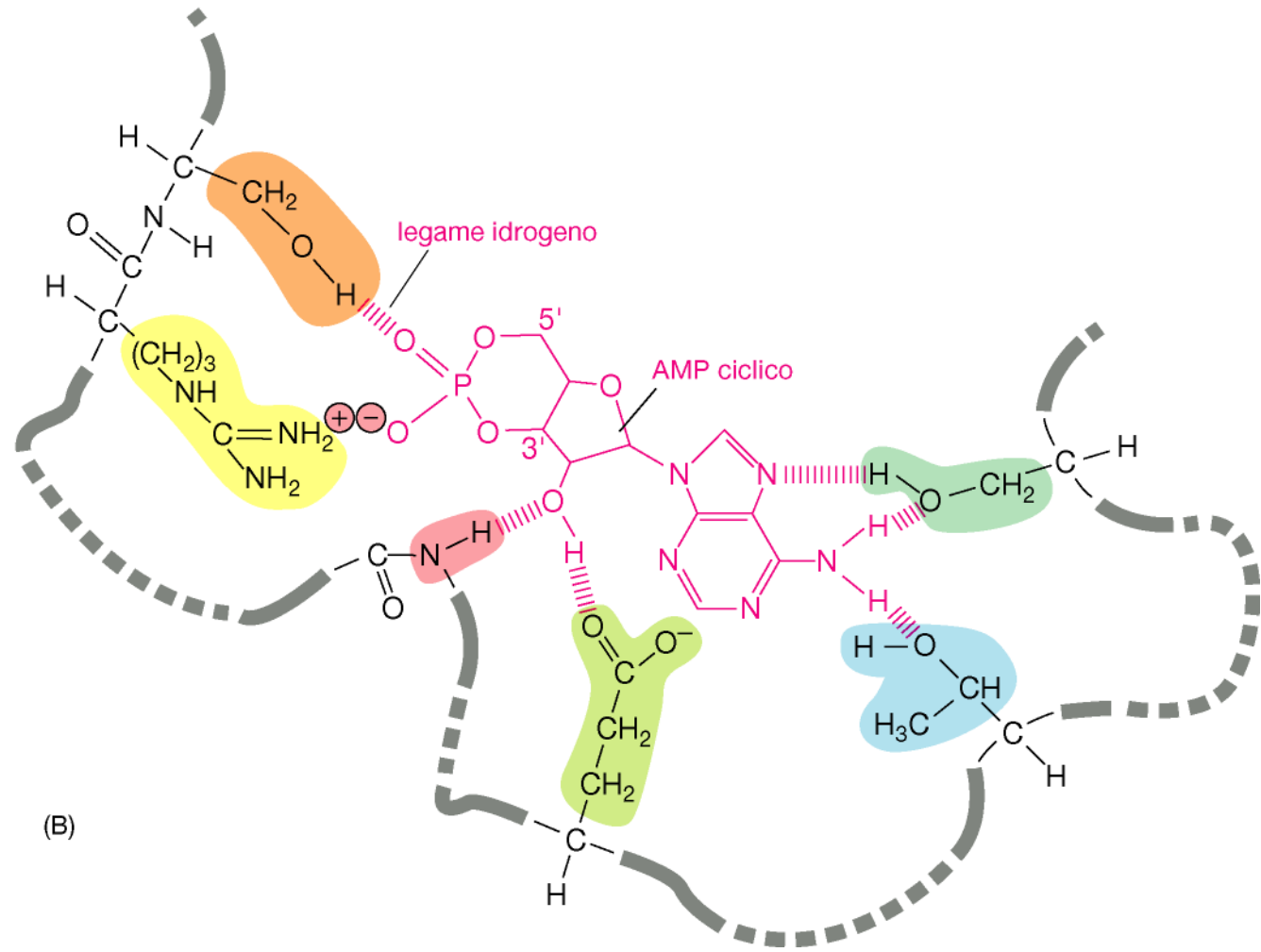
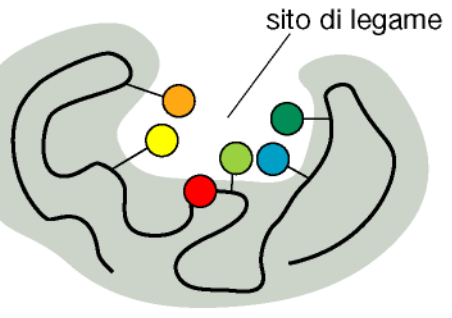
Le proteine si legano a molecole, ligandi, che possono essere ioni, piccole molecole o macromolecole, tramite legami altamente selettivi



Gli amminoacidi del sito di legame si trovano su tratti della catena molto distanti ma vengono a trovarsi vicini quando la catena si ripiega nella conformazione tridimensionale



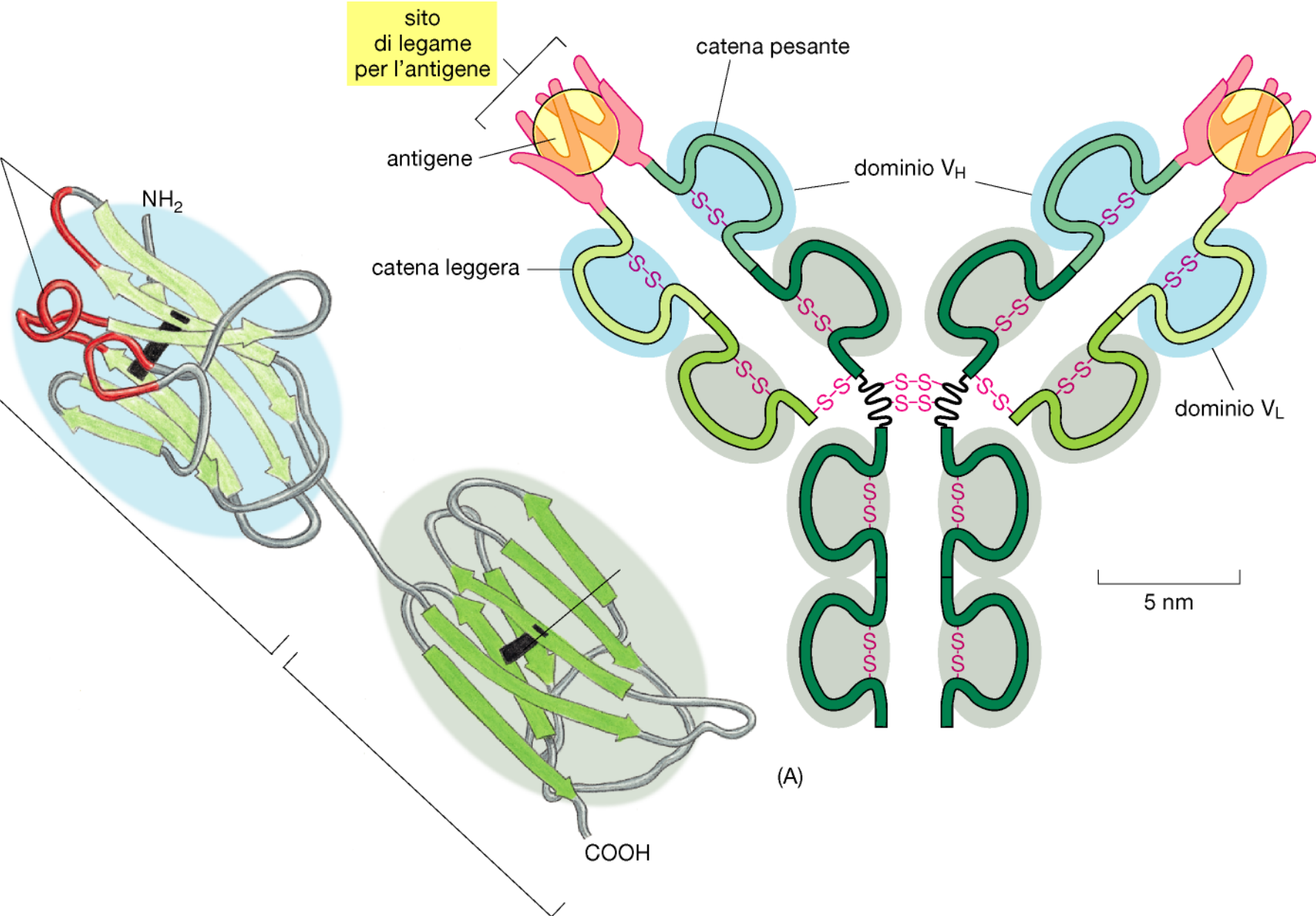
RIPIEGAMENTO



(A)

(B)

Negli anticorpi i siti di legame hanno una particolare versatilità

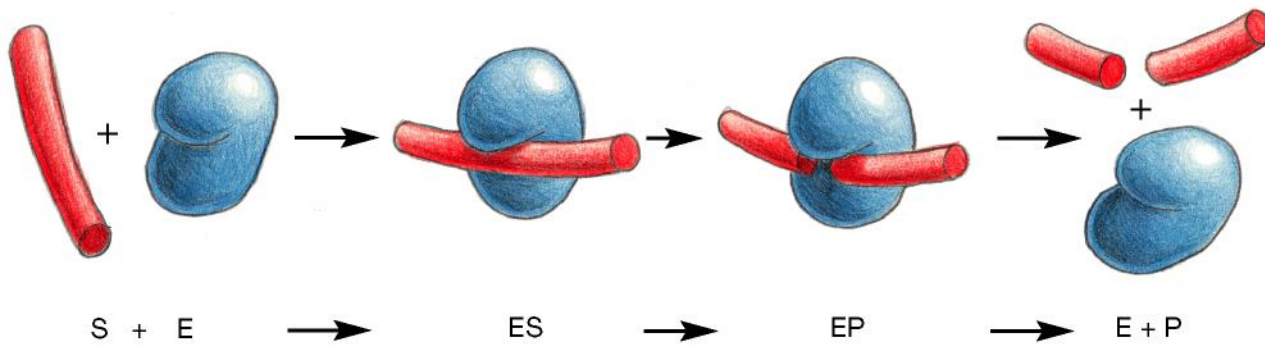


Enzimi

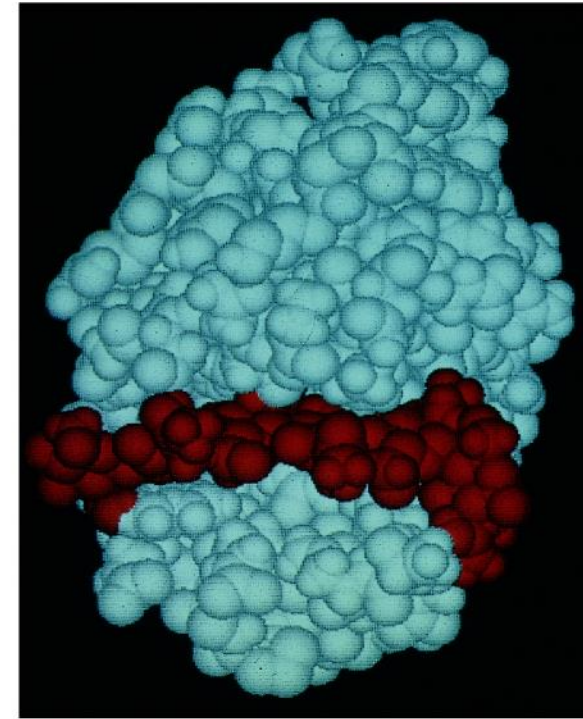
Catalizzatori potenti estremamente specifici:

si legano ai **substrati** convertendoli nei **prodotti**, catalizzando la formazione e la rottura di legami covalenti

L'esempio del **lisozima**, che recide catene polisaccaridiche mediante idrolisi



(A)

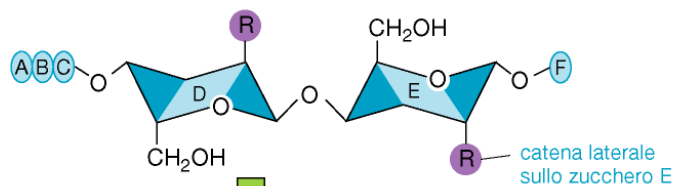


(B)

Perché avvenga la rottura del legame tra due anelli di zucchero mediante collisione con una molecola d'acqua, è necessario che la molecola polisaccaridica venga distorta e se ne alteri la geometria (**stato di transizione**)

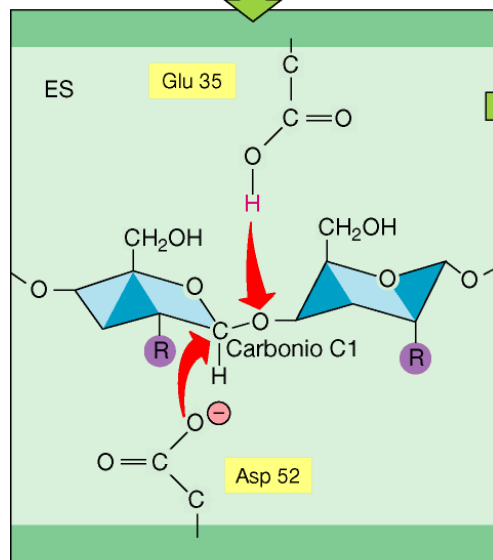
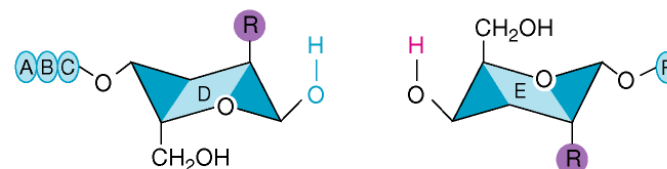
substrato

Questo substrato è un oligosaccaride di sei zuccheri, indicati con le lettere A-F. Qui è riportata solo la formula degli zuccheri D ed E in dettaglio.

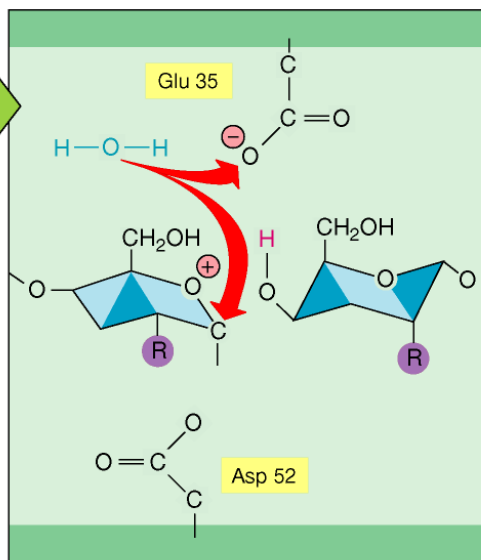


prodotti

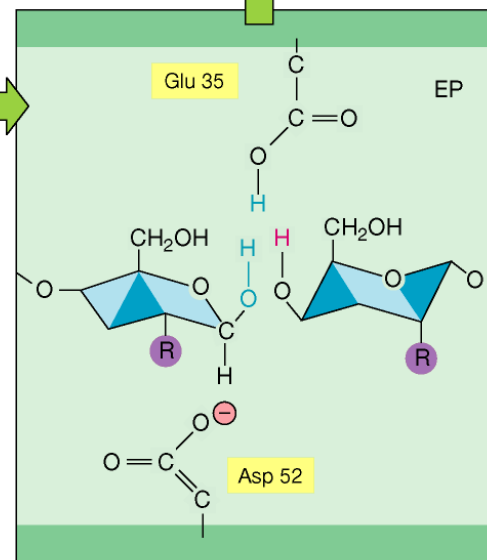
I prodotti finali sono un oligosaccaride di quattro zuccheri (a sinistra) e un disaccaride (a destra), derivanti da idrolisi.



Nel complesso enzima-substrato (ES) l'enzima induce lo zucchero D ad assumere una conformazione tesa, disponendo Glu di posizione 35 ad agire come un acido. (dona il protone H^+ che attacca il legame zucchero-zucchero più vicino, E), e preparando Asp in posizione 52 ad attaccare l'atomo di carbonio C1.

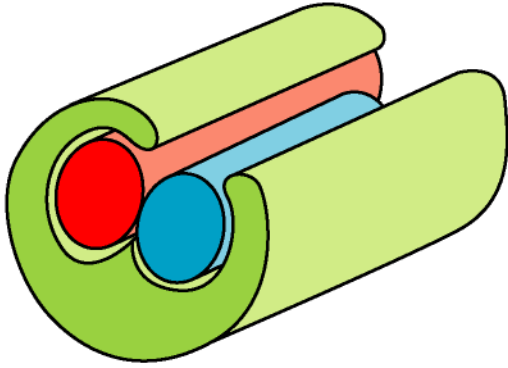


Asp 52 ha formato un legame covalente tra l'enzima e l'atomo di carbonio C1 dello zucchero D. Glu 35 polarizza una molecola di acqua (in rosso), in modo che il suo atomo di ossigeno possa attaccare il carbonio C1, spostando Asp 52.

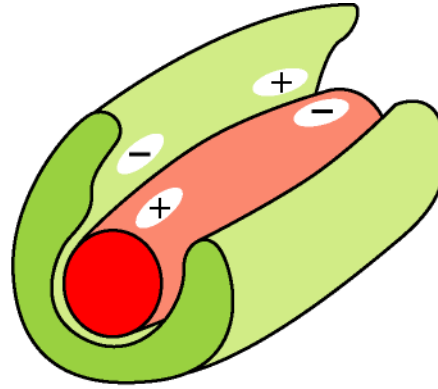


La reazione della molecola di acqua (in rosso) completa l'idrolisi, riporta l'enzima allo stato iniziale con formazione del complesso finale enzima-prodotto (EP).

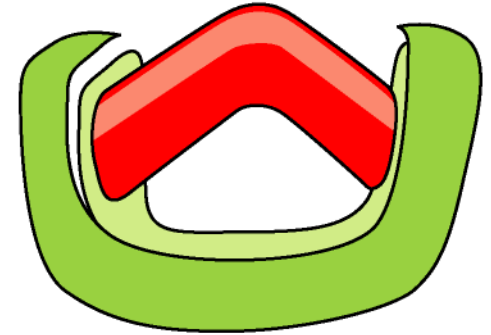
Per ridurre l'energia di attivazione di una reazione e quindi per accelerarla, un enzima può agire in vari modi:



(A) L'enzima lega due molecole substrato e le orienta in modo da favorire il verificarsi di una reazione tra loro.



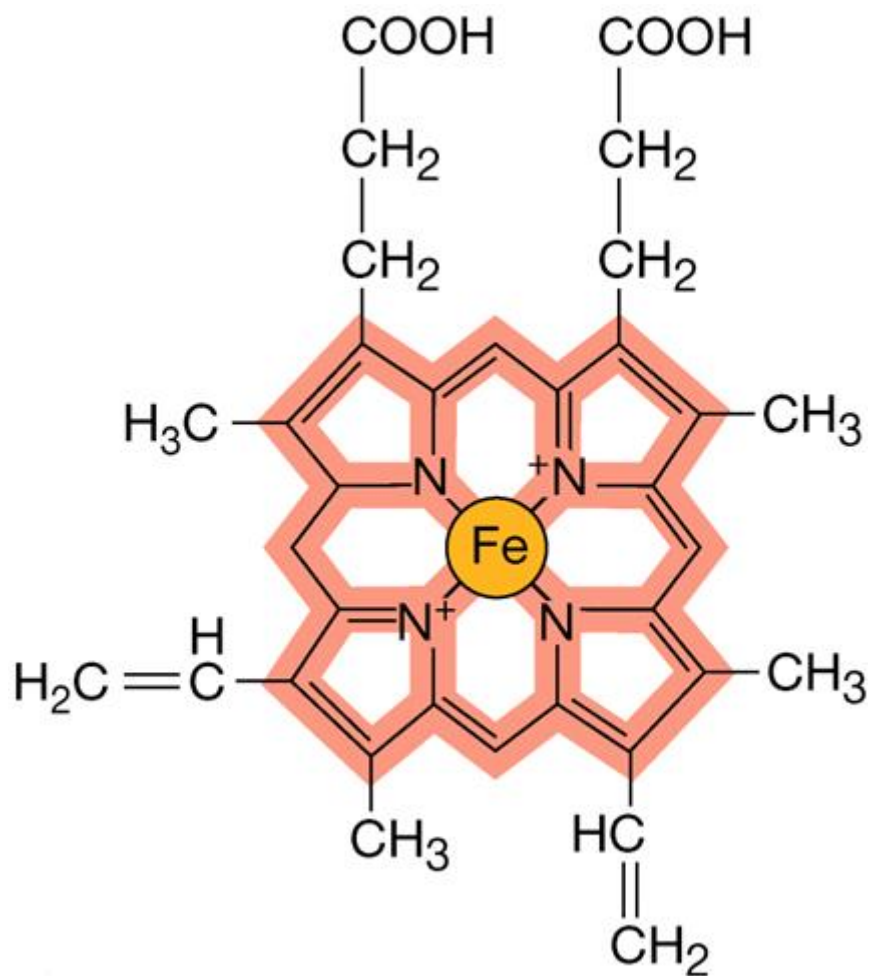
(B) Quando il substrato si lega, l'enzima provvede a redistribuire gli elettroni all'interno di esso, inducendovi cariche parziali negative e positive che favoriscono la reazione.



(C) L'enzima mette in tensione la molecola del substrato legato, inducendola a passare allo stato di transizione più favorevole per una certa reazione.

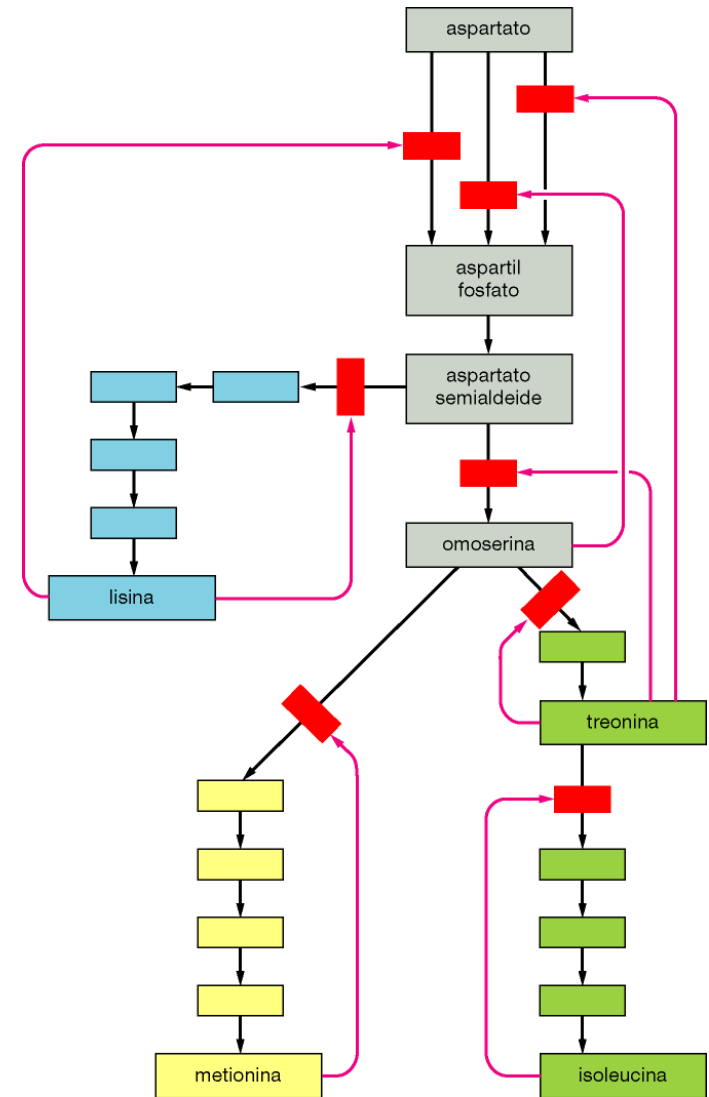
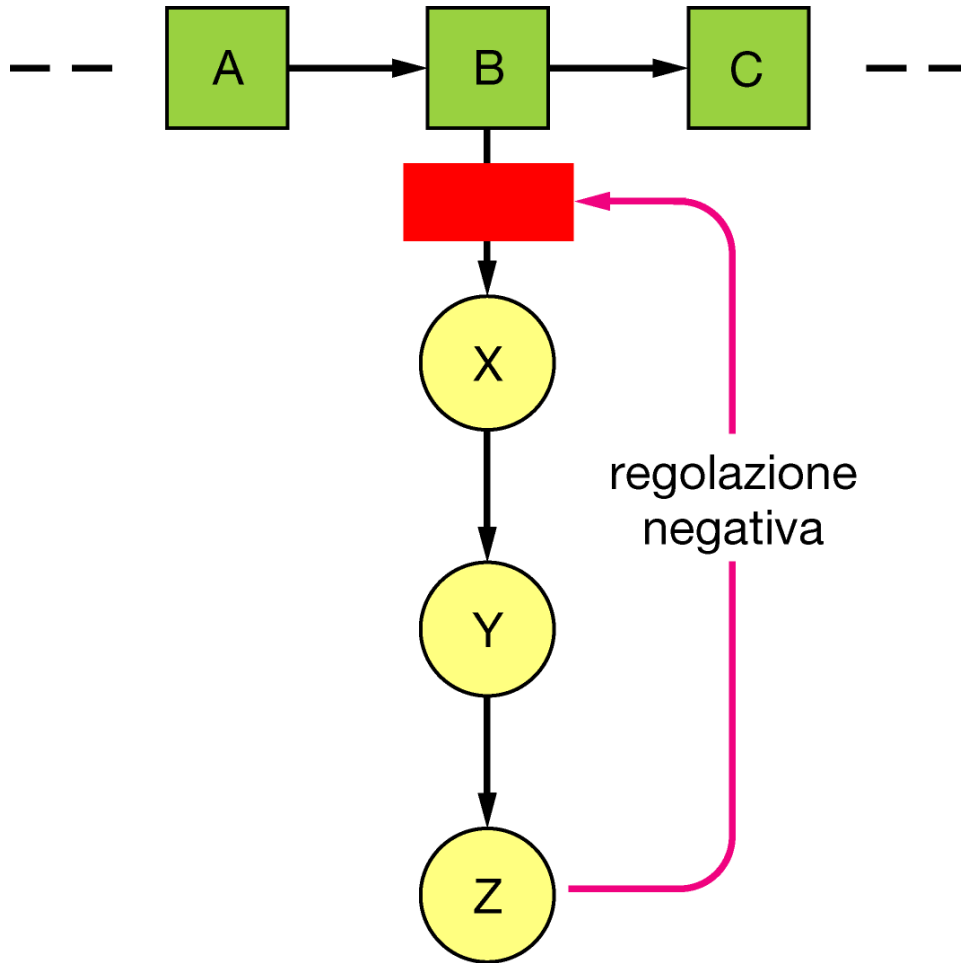
A volte le proteine necessitano di legami con **piccole molecole non proteiche** per svolgere funzioni cui gli amminoacidi non possono adempiere

EME



Come è regolata l'attività delle proteine?

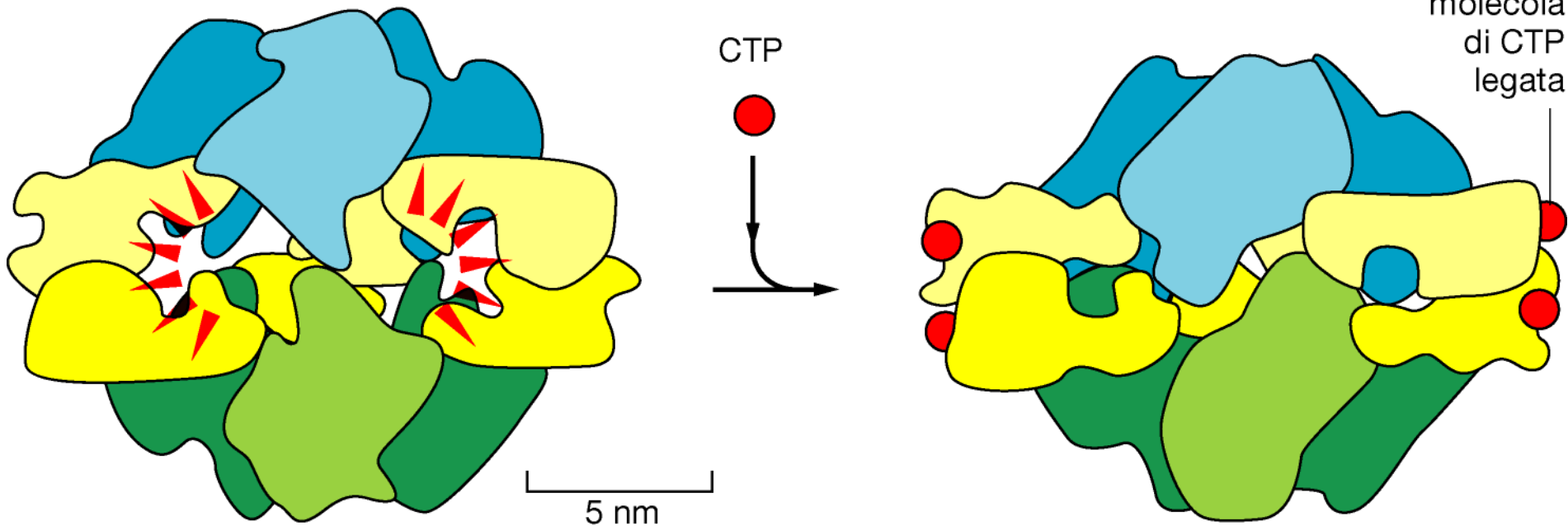
Inibizione retroattiva o **feedback**: un enzima che si trova all'inizio di una serie di reazioni chimiche, viene inibito dal prodotto di una delle reazioni finali



Quasi tutte le **proteine** sono **allosteriche**, ovvero possono assumere due o più conformazioni leggermente diverse e modificare la propria attività passando da una conformazione all'altra. Ciò è vero per enzimi, recettori, proteine strutturali e proteine motrici.

ACCESO

SPENTO



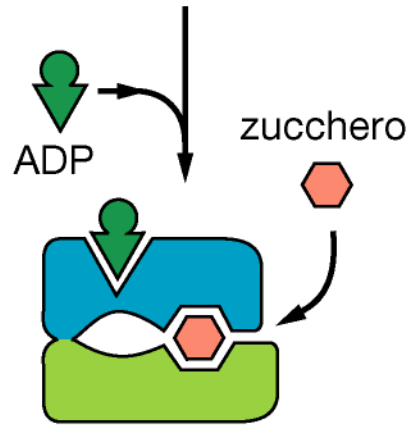
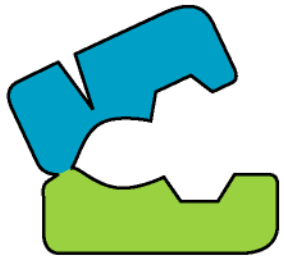
ENZIMA ATTIVO

ENZIMA INATTIVO

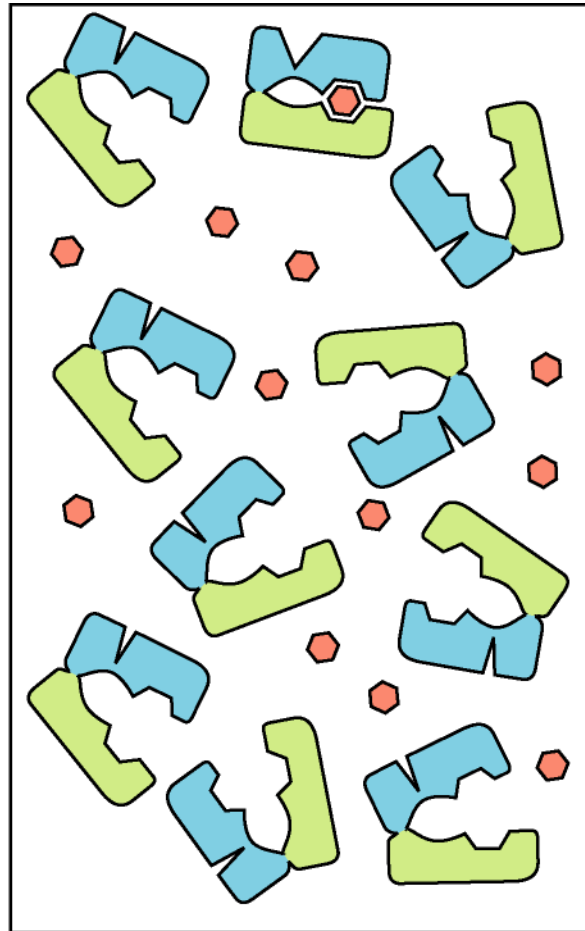
Inibizione retroattiva - cambiamento conformazionale

La presenza e l'associazione con il ligando (ADP) gioca sull'equilibrio tra la conformazione attiva (chiusa) e inattiva (aperta) dell'enzima

INATTIVO

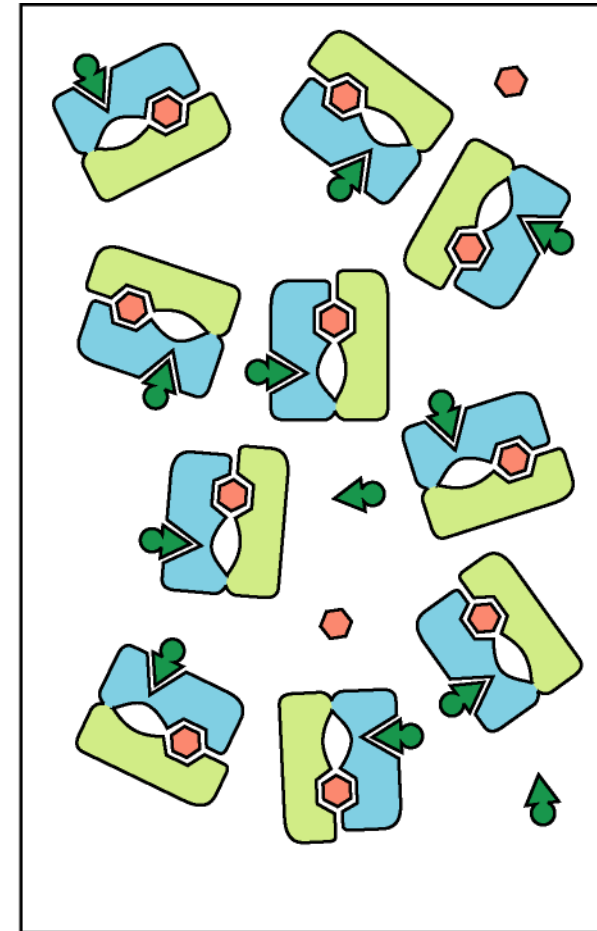


ATTIVO



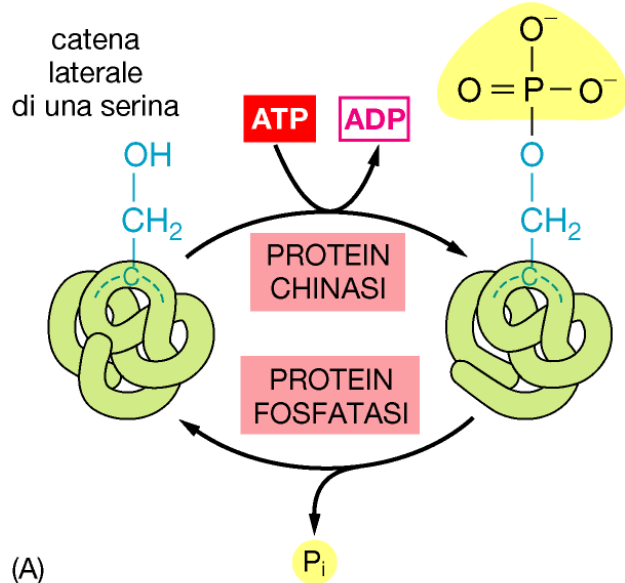
(B) 10% attivo

ADP
↓
retroazione
positiva

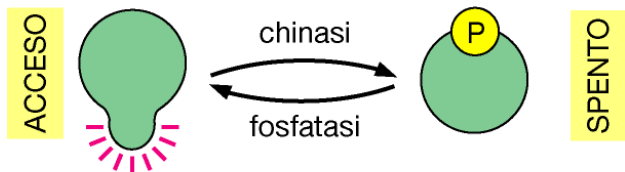


(C) 100% attivo

Anche la **fosforilazione** può indurre cambiamenti conformazionali in una proteina e di conseguenza anche nella sua attività

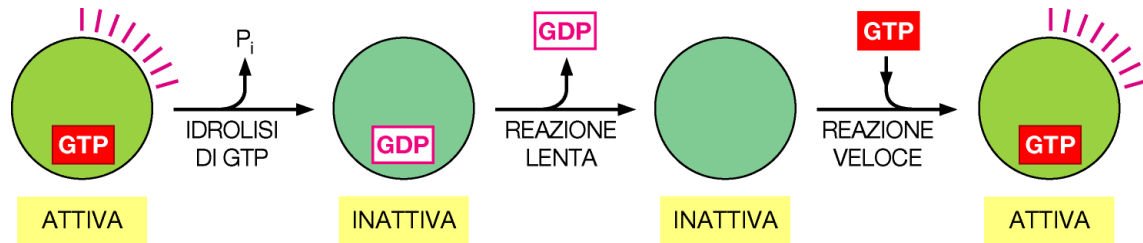


(A)

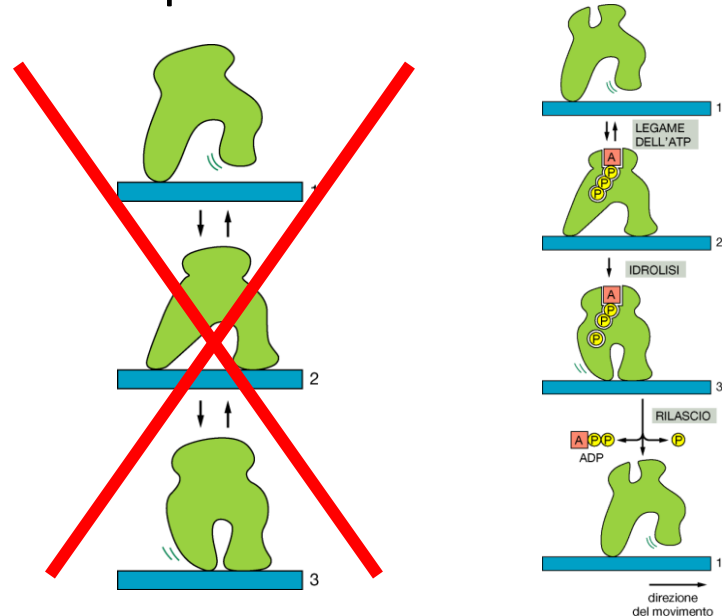


(B)

Anche le **proteine associate a GTP** sono regolate tramite un gruppo fosfato



Le **proteine motrici** mediante idrolisi di ATP, possono compiere movimenti direzionali perché l'idrolisi di ATP rende il processo irreversibile



Degradazione delle proteine

Le proteine hanno una vita media estremamente varia.

La cellula possiede vie metaboliche specializzate nella demolizione enzimatica delle proteine (**PROTEOLISI**).

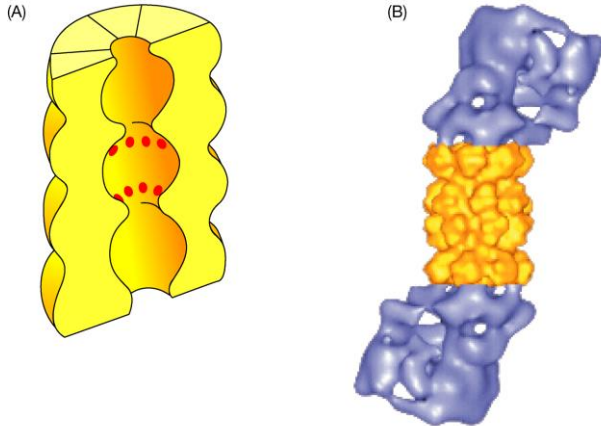
Le **PROTEASI** idrolizzano i legami peptidici tra amminoacidi.

Anche l'eliminazione di **proteine malformate** ha grande importanza per un organismo (vedi malattie neurodegenerative da accumulo di proteine malformate, quali sindrome di Huntington, di Alzheimer e di Creutzfeld-Jacob).

Quando avvengono **mutazioni nonsense**, ovvero che danno origine a codoni di stop all'interno di un gene, la maggior parte degli mRNA che le contengono vengono tradotti una sola volta prima di essere riconosciuti e selettivamente distrutti mediante **distruzione-nonsense-mediata o NMD, nonsense mediated decay**). Questo meccanismo impedisce la formazione di proteine tronche e non funzionali.

Via di degradazione ubiquitina-proteasoma

Nella cellula eucariotica le proteine poco longeve o indesiderate vengono degradate nel **proteasoma**



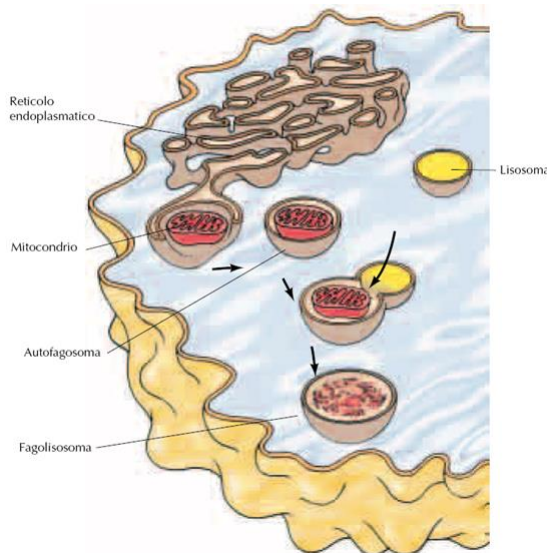
I proteasomi selezionano le proteine marcate per la distruzione mediante legami covalenti con molecole di **ubiquitina** (piccola proteina)

Via di degradazione della proteolisi lisosomiale

I lisosomi sono organelli racchiusi da membrana che racchiudono enzimi digestivi, tra cui parecchie **proteasi**

Nei lisosomi ha luogo la digestione di proteine extracellulari assunte per endocitosi ed il turnover di organelli citoplasmatici e di proteine citosoliche

Le proteine da degradare vengono inglobate nei lisosomi principalmente per **autofagia**



Nella cellula eucariotica la produzione di una proteina può essere controllata in molte fasi

