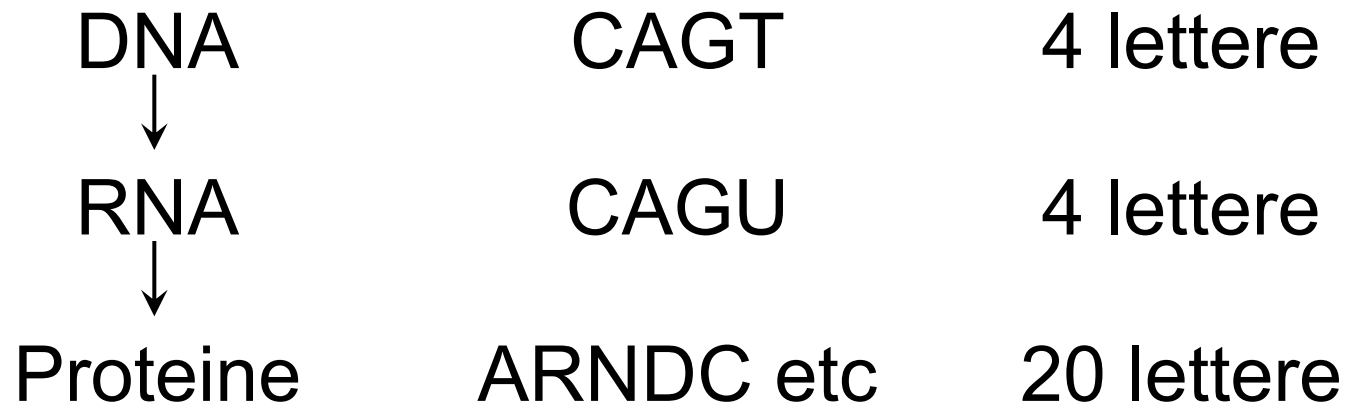


**TRADUZIONE**

# CODICE GENETICO

Dobbiamo effettuare un passaggio da un codice a 4 lettere (nucleotidi) ad un codice a 20 lettere (amminoacidi)



# Come si passa dai nucleotidi agli amminoacidi?

- Qual è la lunghezza dell'unità di codificazione?
- Qual è la sequenza di basi delle parole di codice relative a ciascuno degli aa codificati?
- Quali sono le modalità di riconoscimento tra le parole dei due linguaggi?

N° nucleotidi/a.a.

Possibilità

1

$$4^1=4$$

2

$$4^2=16$$

3

$$4^3=64$$



Minimo codice  
proponibile

# Come fa la sequenza lineare di nucleotidi ad essere tradotta in una proteina?

Ci sono solo 4 nucleotidi ma 20 aminoacidi, quindi il rapporto nucleotide-aa non è univoco

CODICE GENETICO: determina le regole mediante cui l' mRNA viene tradotto

- L' mRNA è decodificato in una serie di triplette di nucleotidi ed è letto in direzione 5' -->3'
- Ogni gruppo di tre nucleotidi consecutivi non sovrapposti si chiama CODONE, ogni CODON specifica un singolo aminoacido
- Ci sono  $4^3$ , cioè 64 possibili codoni, quindi un aminoacido può essere codificato da più di un codone. Ci sono anche 3 codoni detti di STOP, che non codificano per aa, ma dicono dove finisce la sequenza codificante
- Il codice genetico è quasi universale (solo i mitocondri differiscono leggermente)

## Second letter

		Second letter					
		U	C	A	G		
First letter	U	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UUU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UUC</div> Phenylalanine	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UCU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UCC</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UCA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UCG</div> Serine	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UAU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UAC</div> Tyrosine	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UGU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UGC</div> Cysteine	Third letter	U
		<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UUA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UUG</div> Leucine		<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px; background-color: #e91e63; color: white;">UAA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px; background-color: #e91e63; color: white;">UAG</div> Stop codon Stop codon	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px; background-color: #e91e63; color: white;">UGA</div> Stop codon		<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">UGG</div> Tryptophan
	C	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CUU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CUC</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CUA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CUG</div> Leucine	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CCU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CCC</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CCA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CCG</div> Proline	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CAU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CAC</div> Histidine	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CGU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CGC</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CGA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CGG</div> Arginine	U	
		<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CAA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">CAG</div> Glutamine		C			
A	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">AUU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">AUC</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">AUA</div> Isoleucine	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">ACU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">ACC</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">ACA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">ACG</div> Threonine	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">AAU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">AAC</div> Asparagine	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">AGU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">AGC</div> Serine	U		
	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px; background-color: #4caf50; color: white;">AUG</div> Methionine; start codon		<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">AAA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">AAG</div> Lysine		<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">AGA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">AGG</div> Arginine	C	
G	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GUU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GUC</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GUA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GUG</div> Valine	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GCU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GCC</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GCA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GCG</div> Alanine	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GAU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GAC</div> Aspartic acid	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GGU</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GGC</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GGA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GGG</div> Glycine	U		
			<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GAA</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-right: 5px;">GAG</div> Glutamic acid		C		
G	A	G	U	C	A	G	



In principio l' RNA potrebbe essere tradotto in ciascun modulo di lettura

Solo uno di questi è però usato.

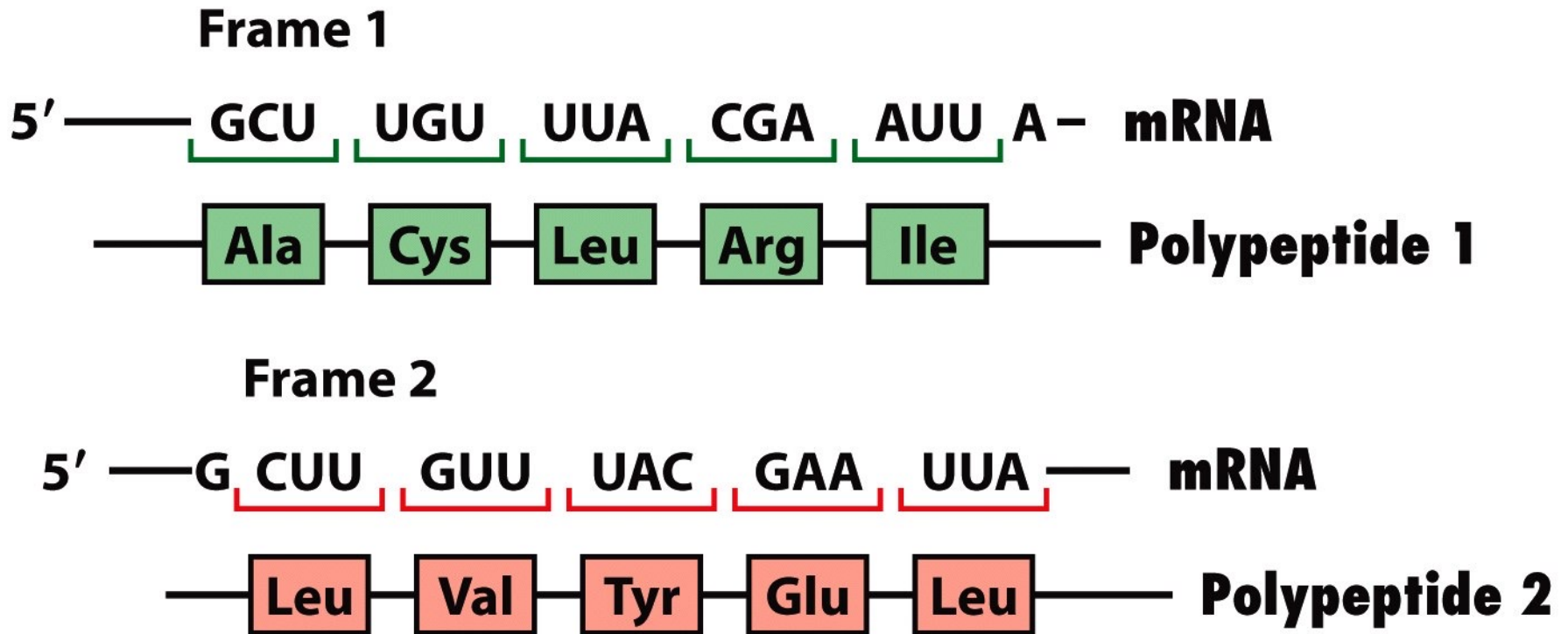


Come sono riconosciuti i codoni





**La cornice di lettura e' essenziale per una corretta decodificazione del codice genetico**

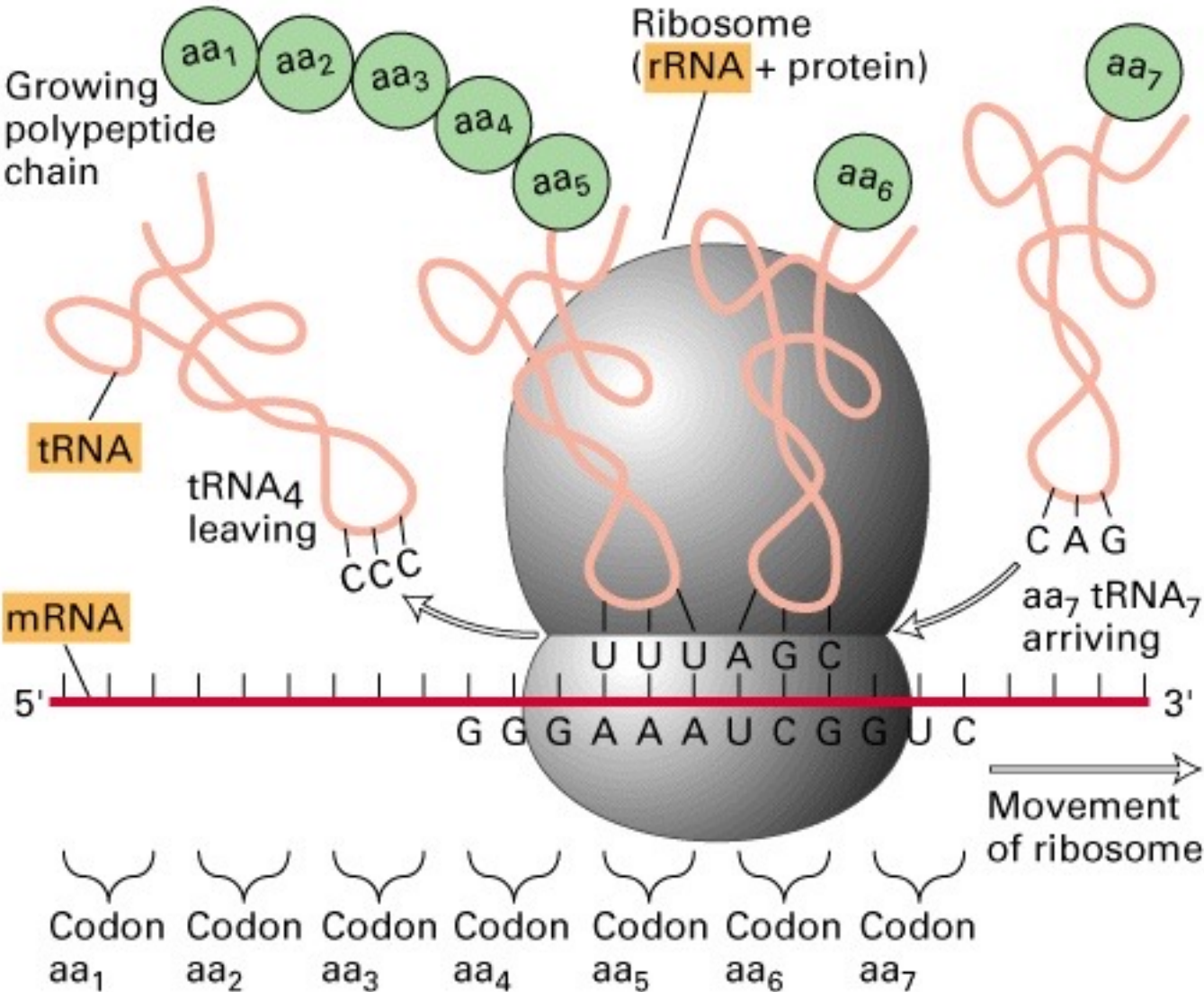


**Figure 4-18**  
*Molecular Cell Biology, Sixth Edition*  
© 2008 W. H. Freeman and Company

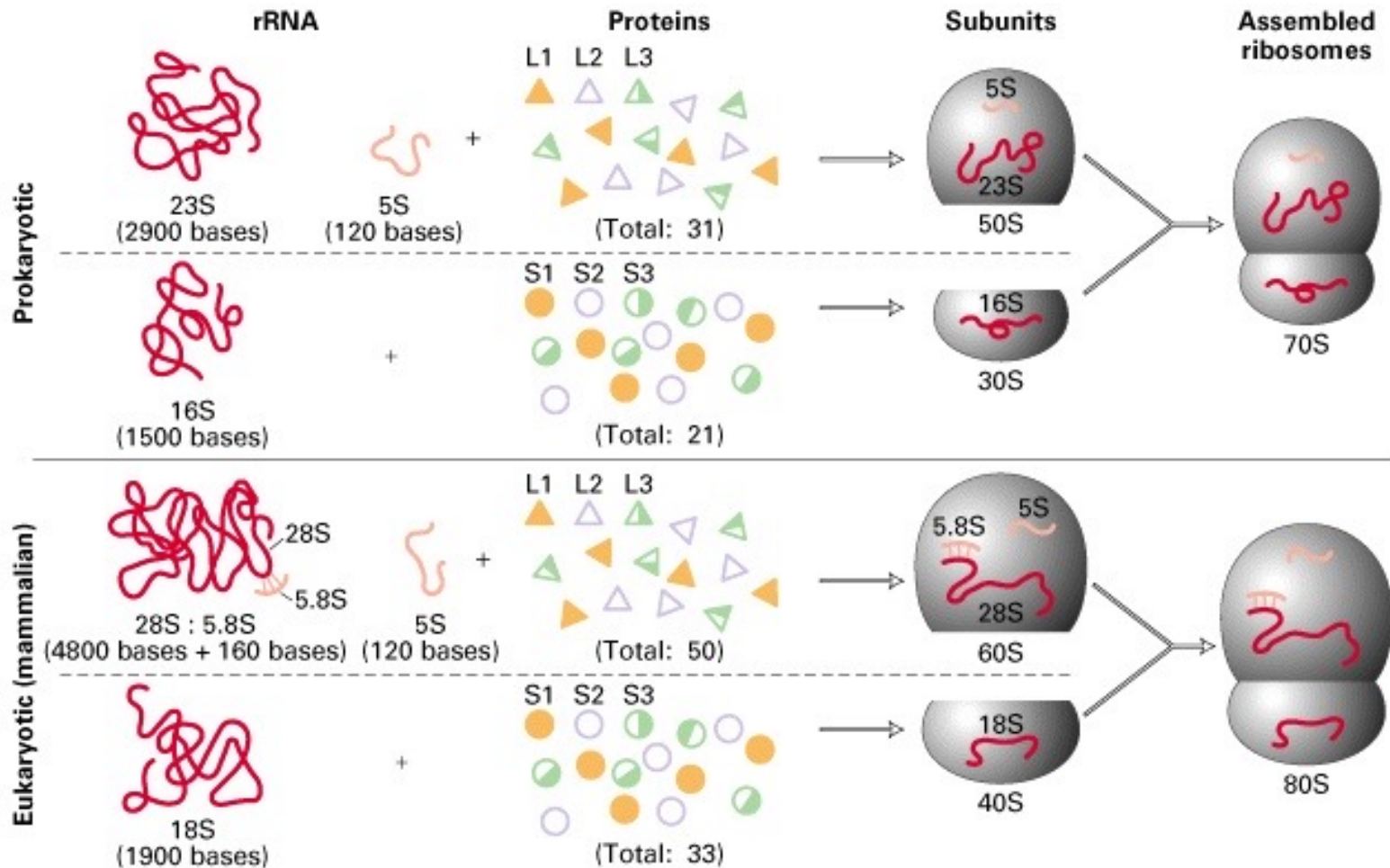
# I tre ruoli dell'RNA nella sintesi proteica

- L'RNA messaggero (**mRNA**) porta l'informazione copiata dal DNA sotto forma di una serie di “parole” di tre basi dette **CODON**
- L'RNA transfer (**tRNA**) decifra il codice, mediante uno specifico **ANTICODON**, al quale è associato un particolare **amminoacido**
- L'RNA ribosomale (**rRNA**) si associa con una serie di proteine per formare i **ribosomi**, le fabbriche che sintetizzano le proteine

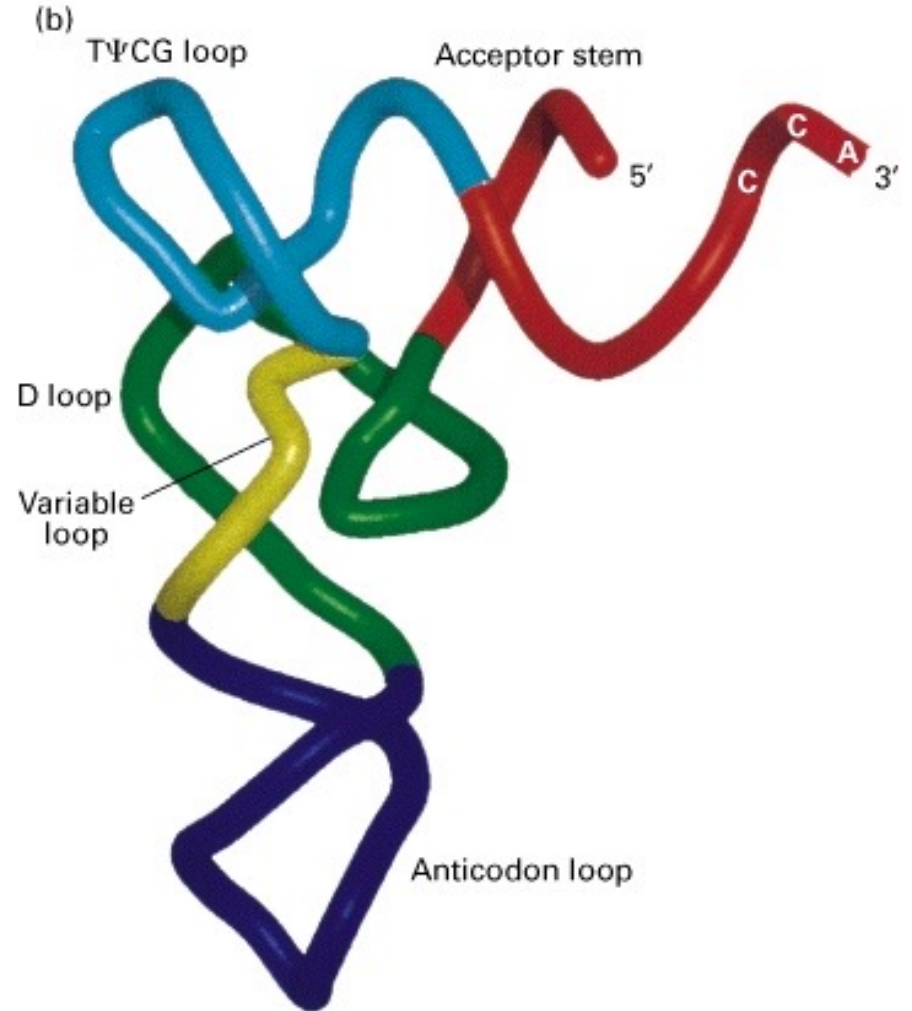
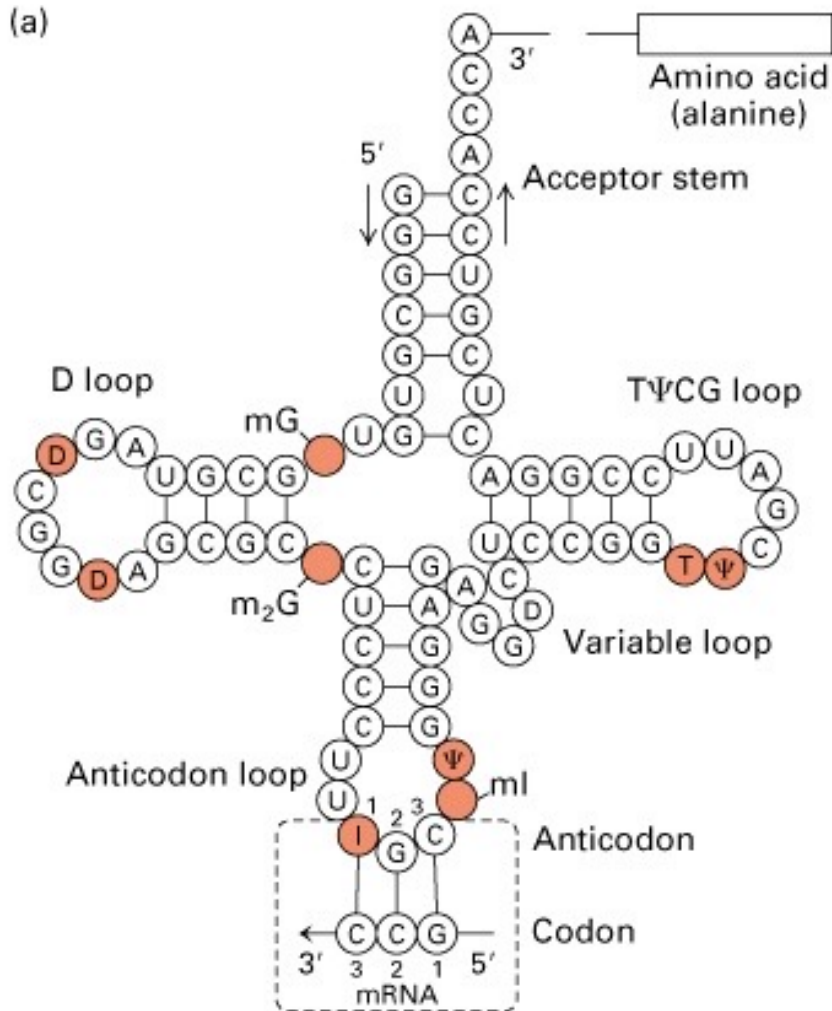
# Il ruolo dell'RNA nella sintesi proteica



# La struttura dei ribosomi nei procarioti e negli eucarioti



# La struttura tridimensionale dell'RNA evidenzia la sua funzione decodificante



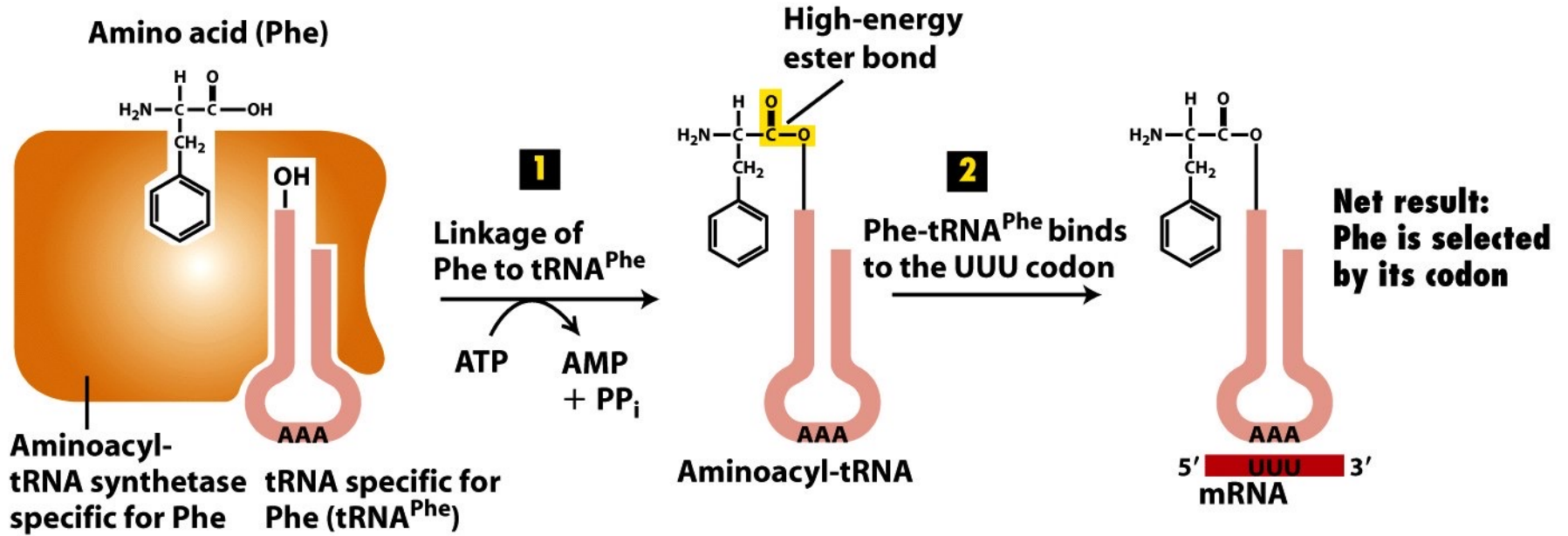
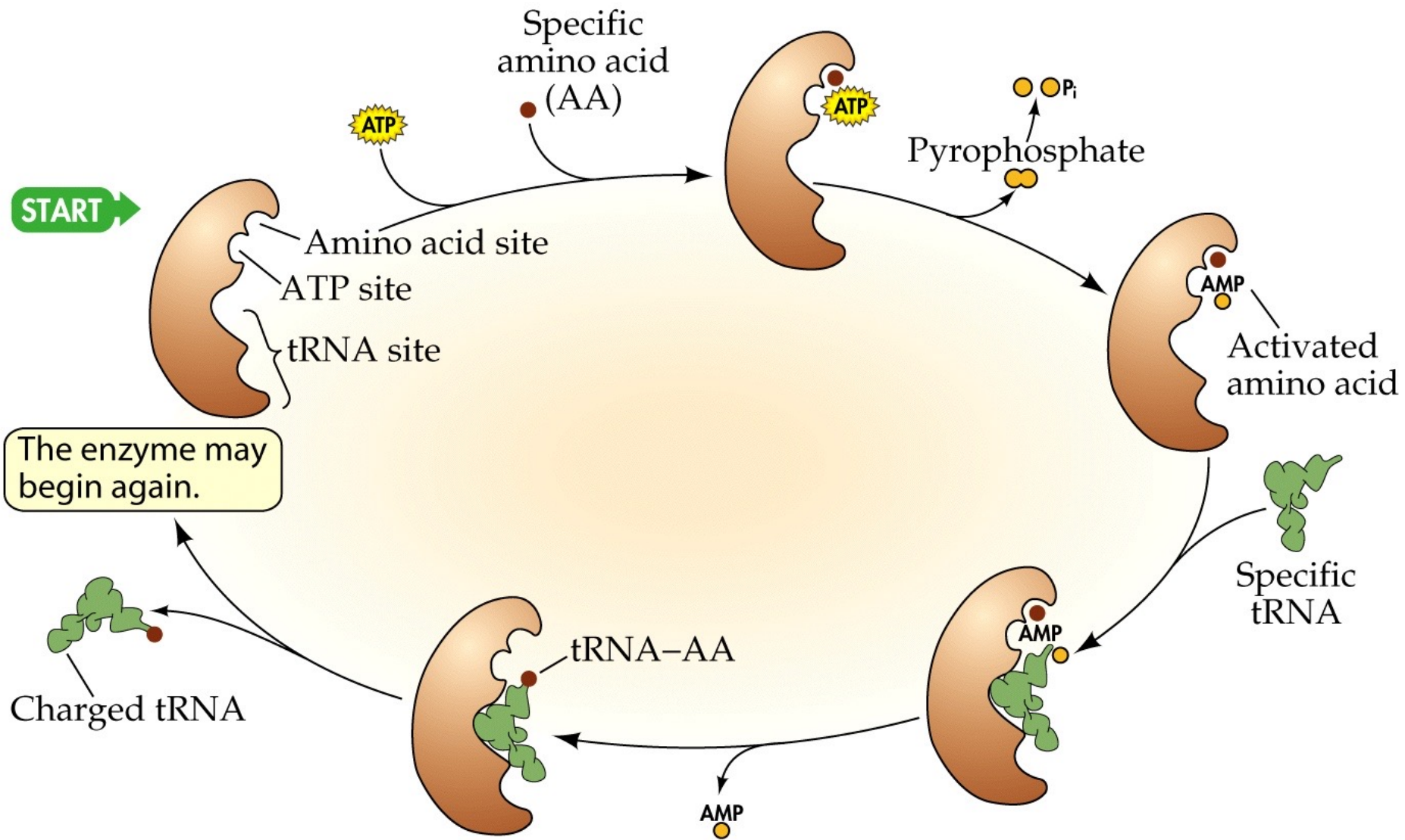


Figure 4-19  
*Molecular Cell Biology, Sixth Edition*  
 © 2008 W. H. Freeman and Company



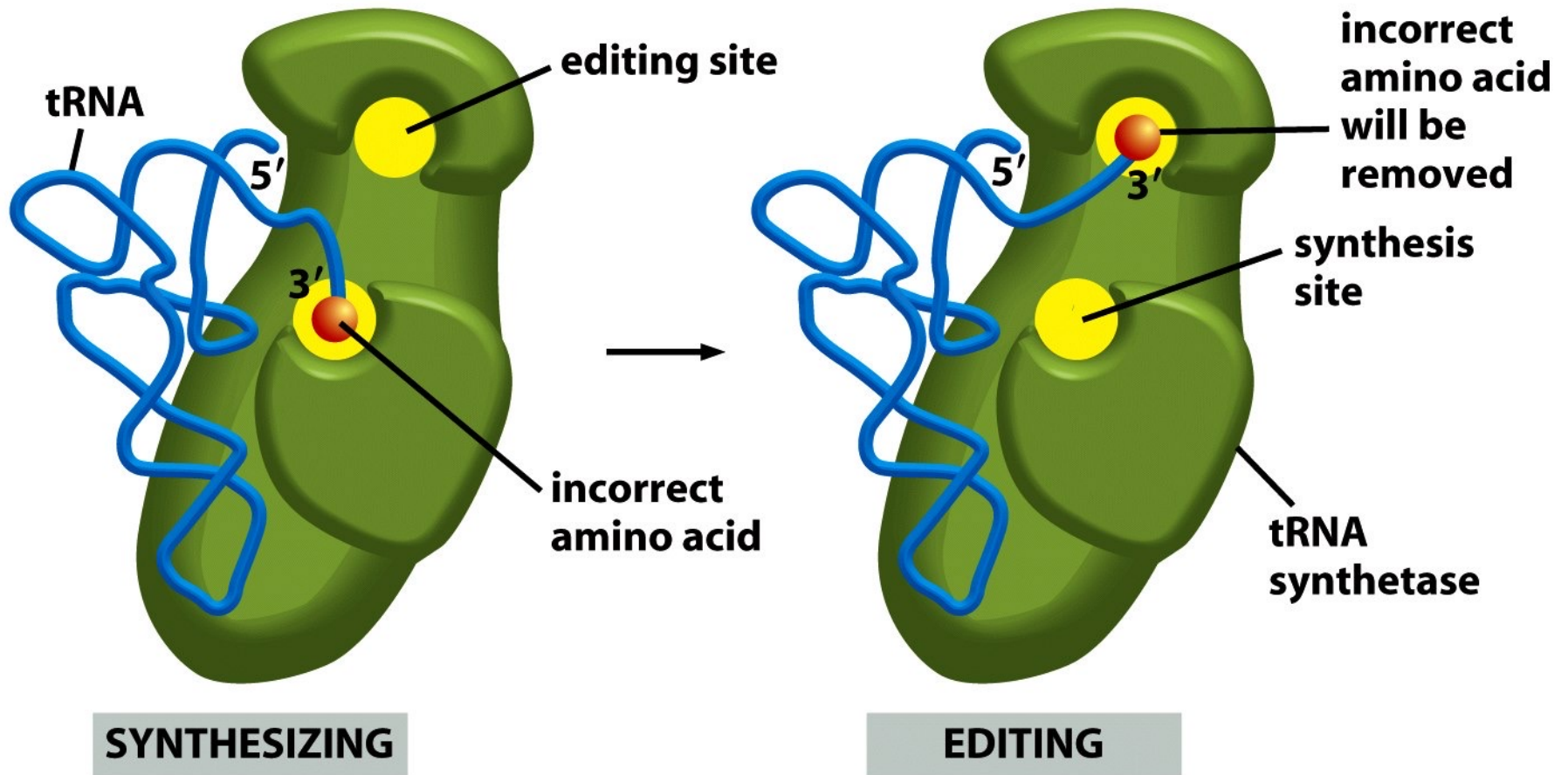


Figure 6-59a *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



Poiché il codice genetico utilizza 61 codon diversi per specificare gli amminoacidi, ci si dovrebbe aspettare che nella sintesi proteica siano coinvolti 61 diversi tRNA, alcuni con lo stesso amminoacido.

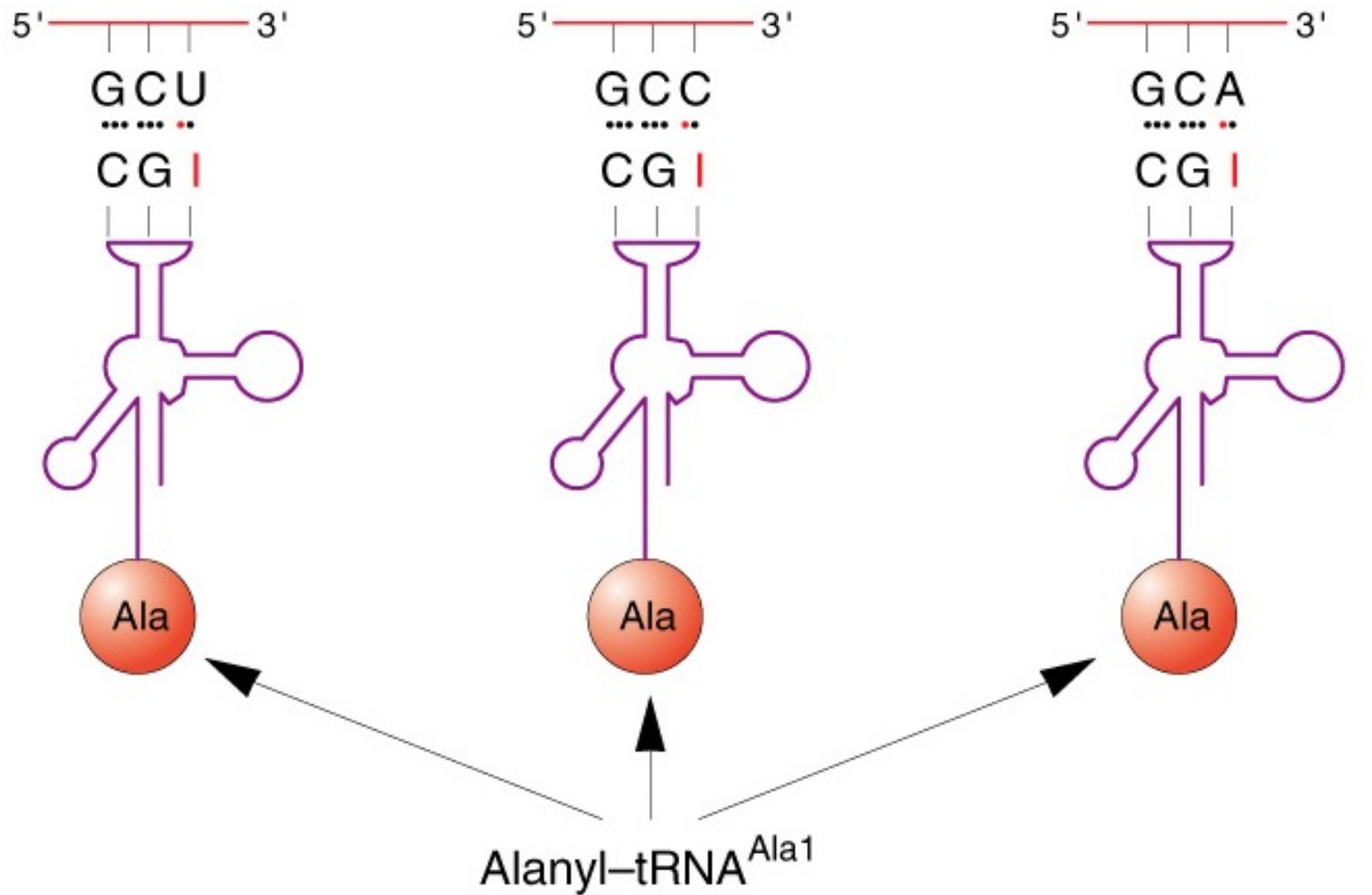
**Molti tRNA riconoscono più di un codon.**

Quindi il numero dei tRNA è molto inferiore a 61.

**Ipotesi del Vacillamento:**

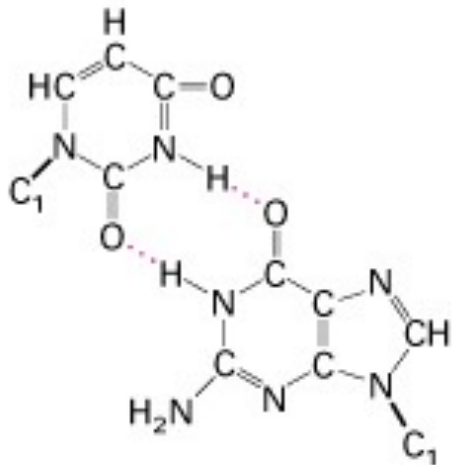
flessibilità di appaiamento tra la terza base del codon e la corrispondente base dell'anticodon

# mRNA codons



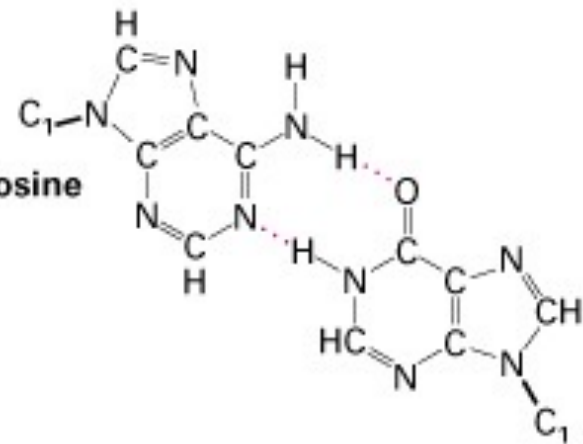
# Appaiamento non standard (tentennamento)

Uridine



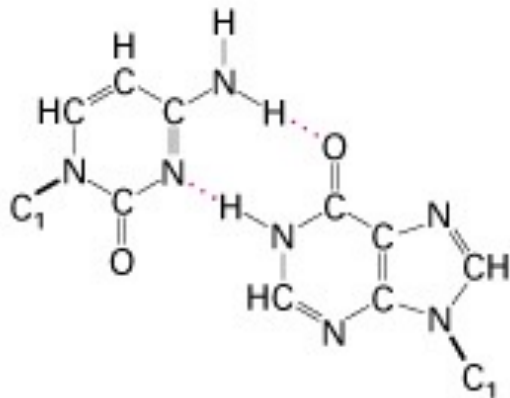
Guanine

Adenosine



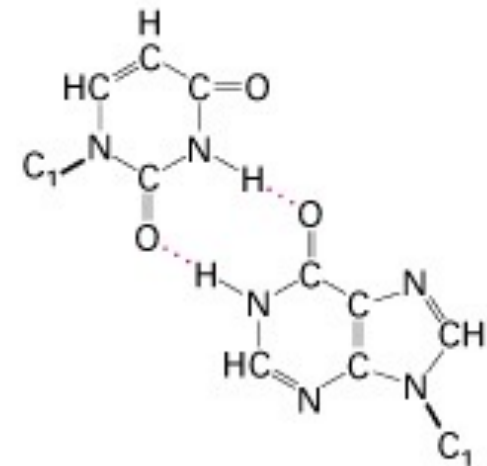
Inosine

Cytidine

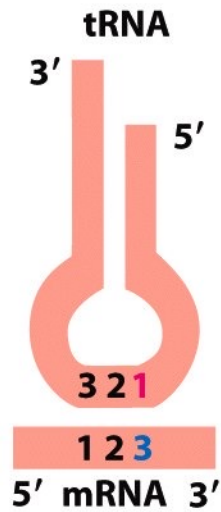


Inosine

Uridine



Inosine



If these bases are in **first**, or wobble, position of anticodon

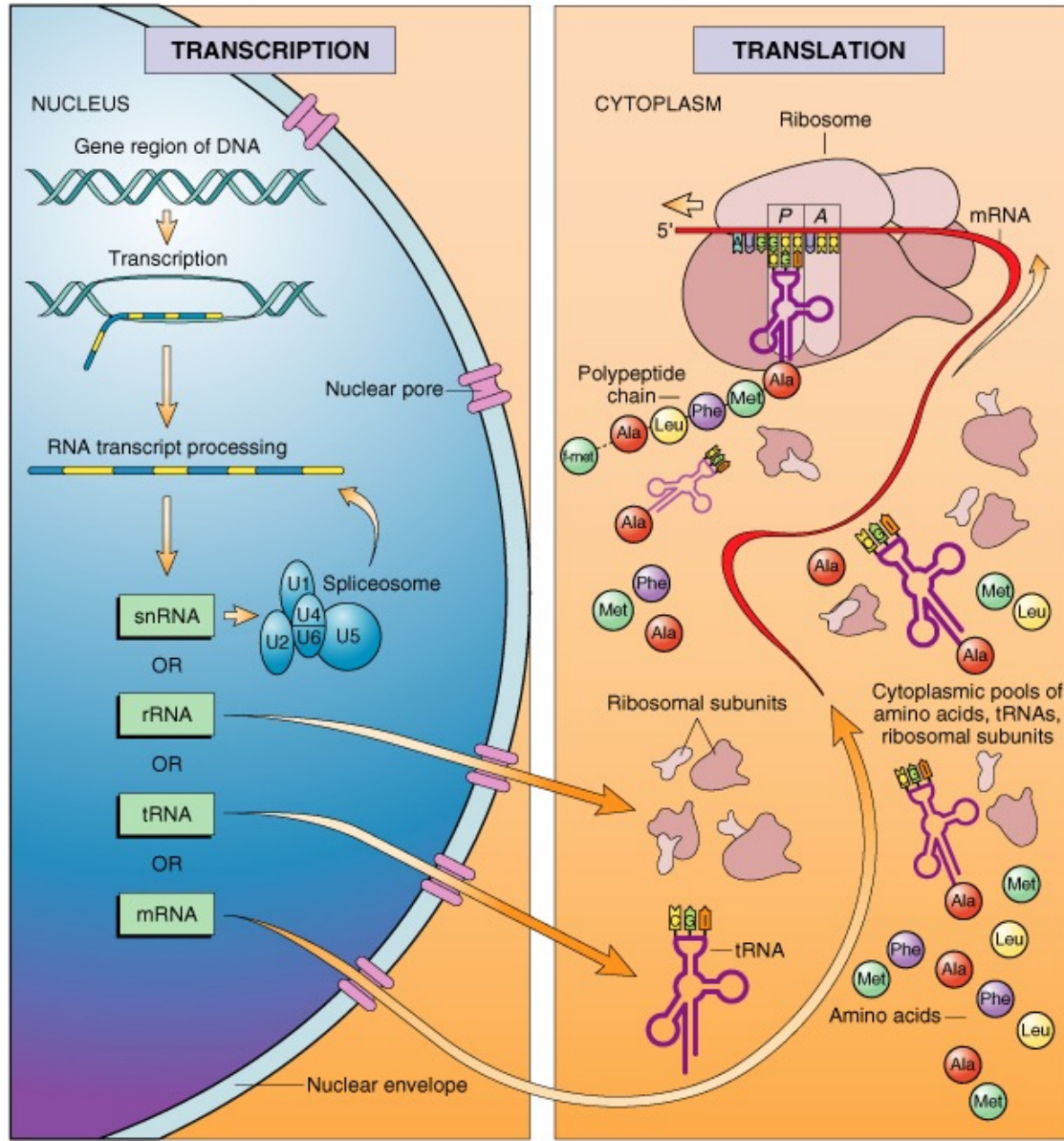
C	A	G	U	I	
G	U	C	A	C	then the tRNA may recognize codons in mRNA having these bases in <b>third</b> position
		U	G	A	
				U	



If these bases are in **third**, or wobble, position of codon of an mRNA

C	A	G	U	
G	U	C	A	then the codon may be recognized by a tRNA having these bases in <b>first</b> position of anticodon
I	I	U	G	
			I	

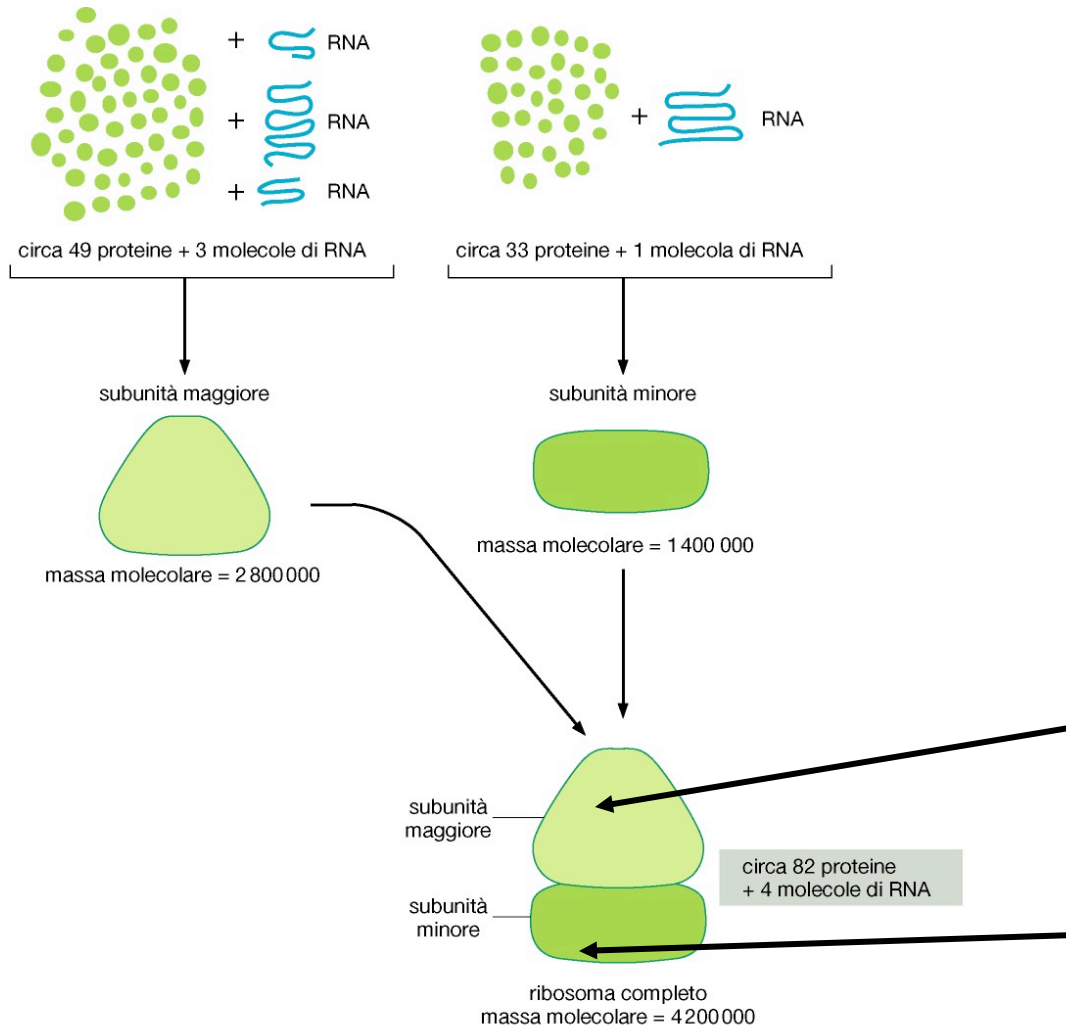
# Overview della Traduzione negli Eucarioti



# I ribosomi sono il sito della sintesi proteica

Contengono più di 50 proteine e RNA ribosomale (rRNA)

Una tipica cellula contiene milioni di ribosomi (assemblati nel nucleolo)



Catalizza la formazione del legame peptidico

Sito di legame per mRNA; appaia codone-anticodone

# IL RIBOSOMA

...è un ribozima

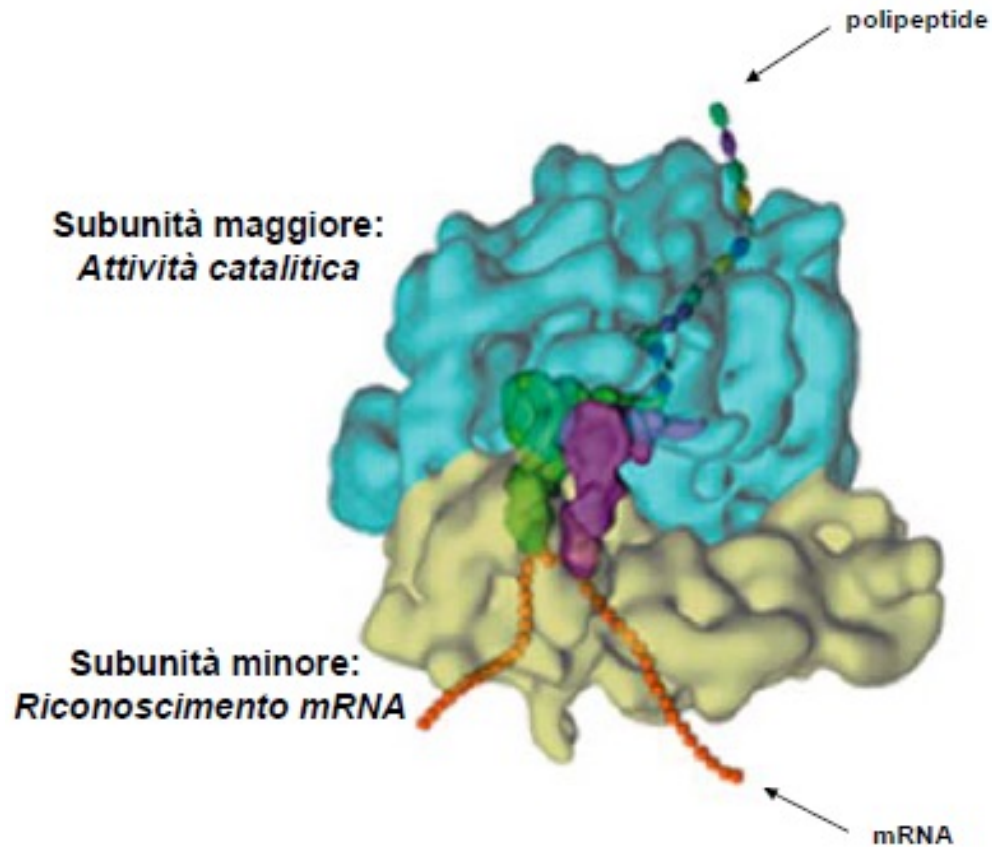
## ATTIVITA' DEL RIBOSOMA

Pepidil transferasi

GTPasi

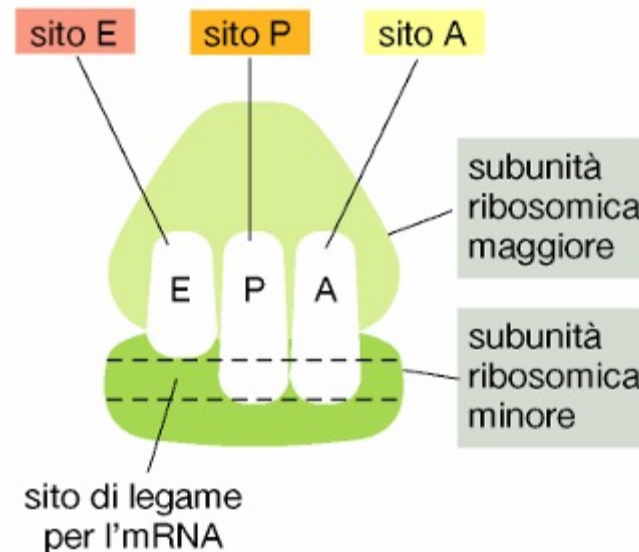
RNA elicasi

Translocation



# I ribosomi hanno 3 siti di legame per il tRNA

- 1) **A-site** (**A**mino-acyl tRNA): dove il tRNA si lega al ribosoma mediante appaiamento codone-anticodone
- 2) **P-site** (**P**eptidyl-tRNA): sito in cui il tRNA e il peptide in crescita scivolano dopo che il legame peptidico si forma in A
- 3) tRNA **E**sce al sito E



(D)



# Visione d'insieme della traduzione

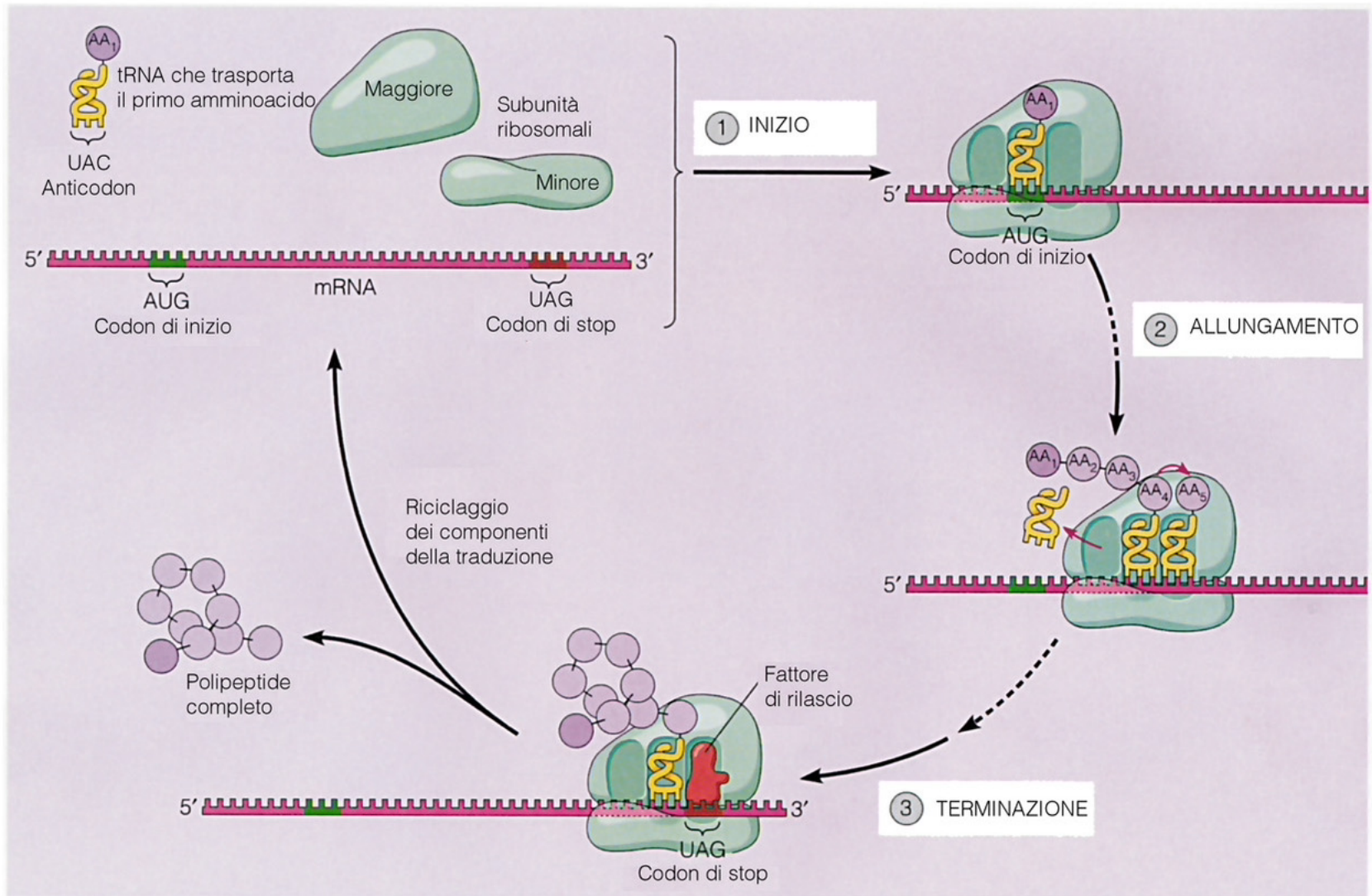


Figura 20-7

# Fasi Della Traduzione: inizio

- Attacco delle subunità ribosomali e del primo a.a. portato dal tRNA iniziatore all'mRNA
- Posizionamento sul primo codone da tradurre

	PROCARIOTI	EUCARIOTI
Subunità	30S/ 50S	40S/60S
Fattori d'inizio	Sì	Sì
tRNA iniziatore	formilmetionina	metionina
Fonte di Energia	GTP	ATP/GTP

Nei **procarioti** l'mRNA si lega alla subunità 30S nel corretto orientamento grazie al riconoscimento di una specifica sequenza di 3-9 nucleotidi, detta seq. di **Shine-Dalgarno**

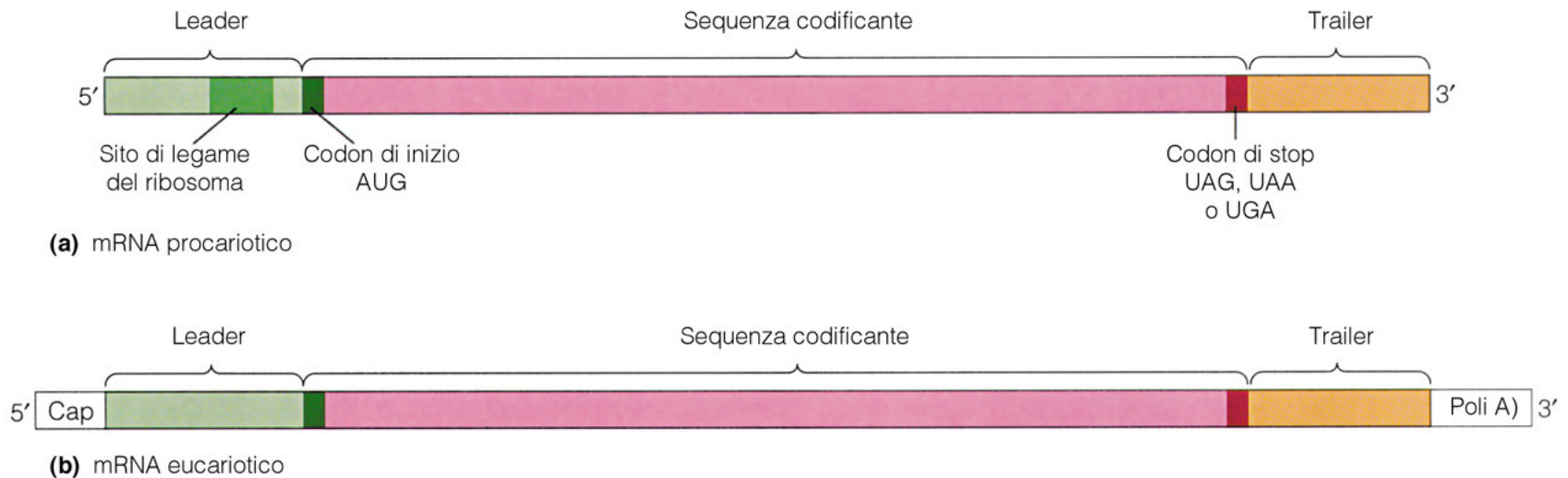


Figura 20-6

Negli **eucarioti** l'mRNA si lega alla subunità minore con il tRNA iniziatore, nel corretto orientamento, grazie alla presenza del solo **CAP**. La traduzione inizia quindi dal primo AUG che incontra.

# Procarioti

La prima fase del processo di inizio porta alla formazione di un complesso di preinizio, in cui la subunità minore del ribosoma è legata all'RNA iniziatore e al messaggero. Il corretto posizionamento del mRNA avviene grazie alla sequenza di Shine-Delgarno nell'mRNA (5'AGGAGGU3'), complementare ad una sequenza posta sull'rRNA 16S (subunità minore), che a sua volta promuove l'appaiamento codone/anticodone (fase di inizio). A questo punto la subunità maggiore si associa al complesso. L'energia per il processo è fornita dal GTP che viene idrolizzato da IF2.

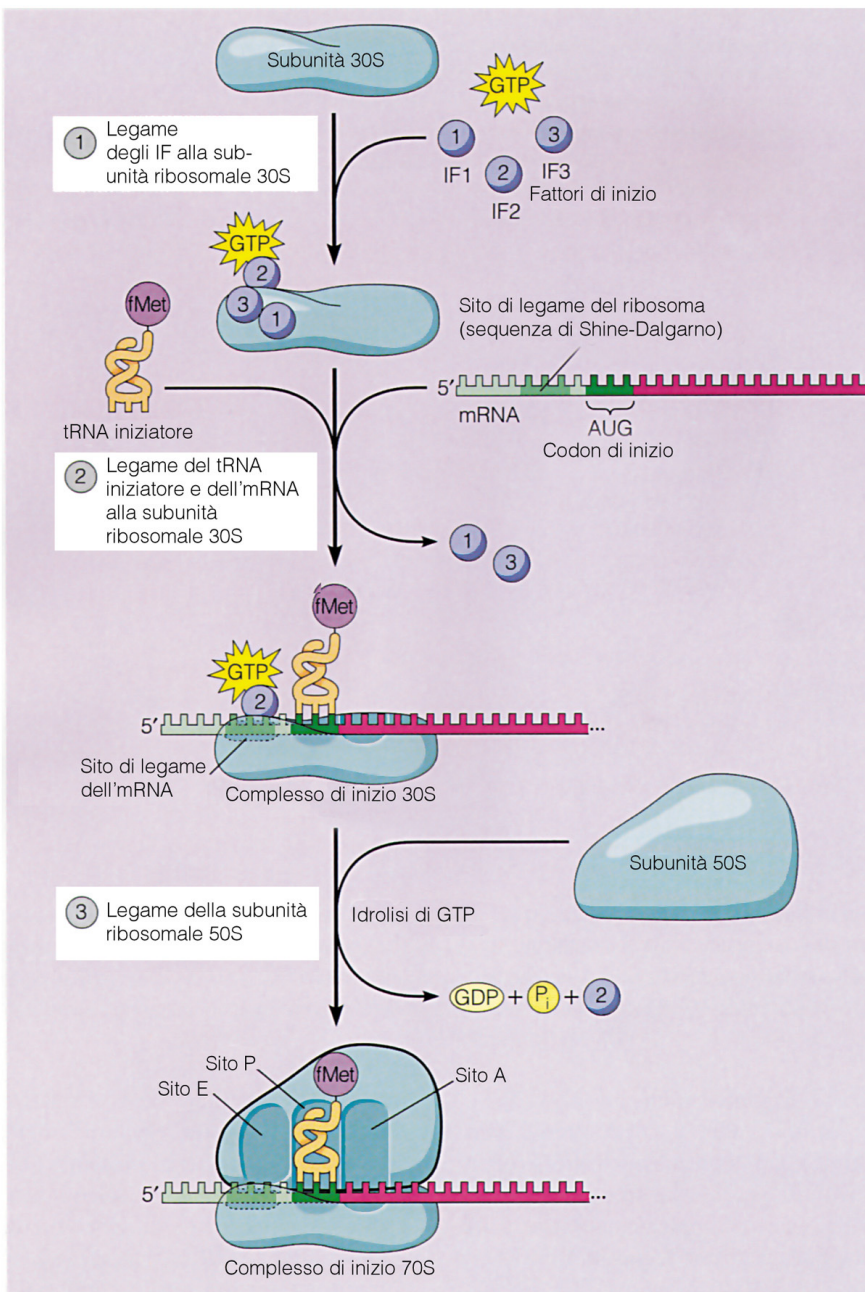
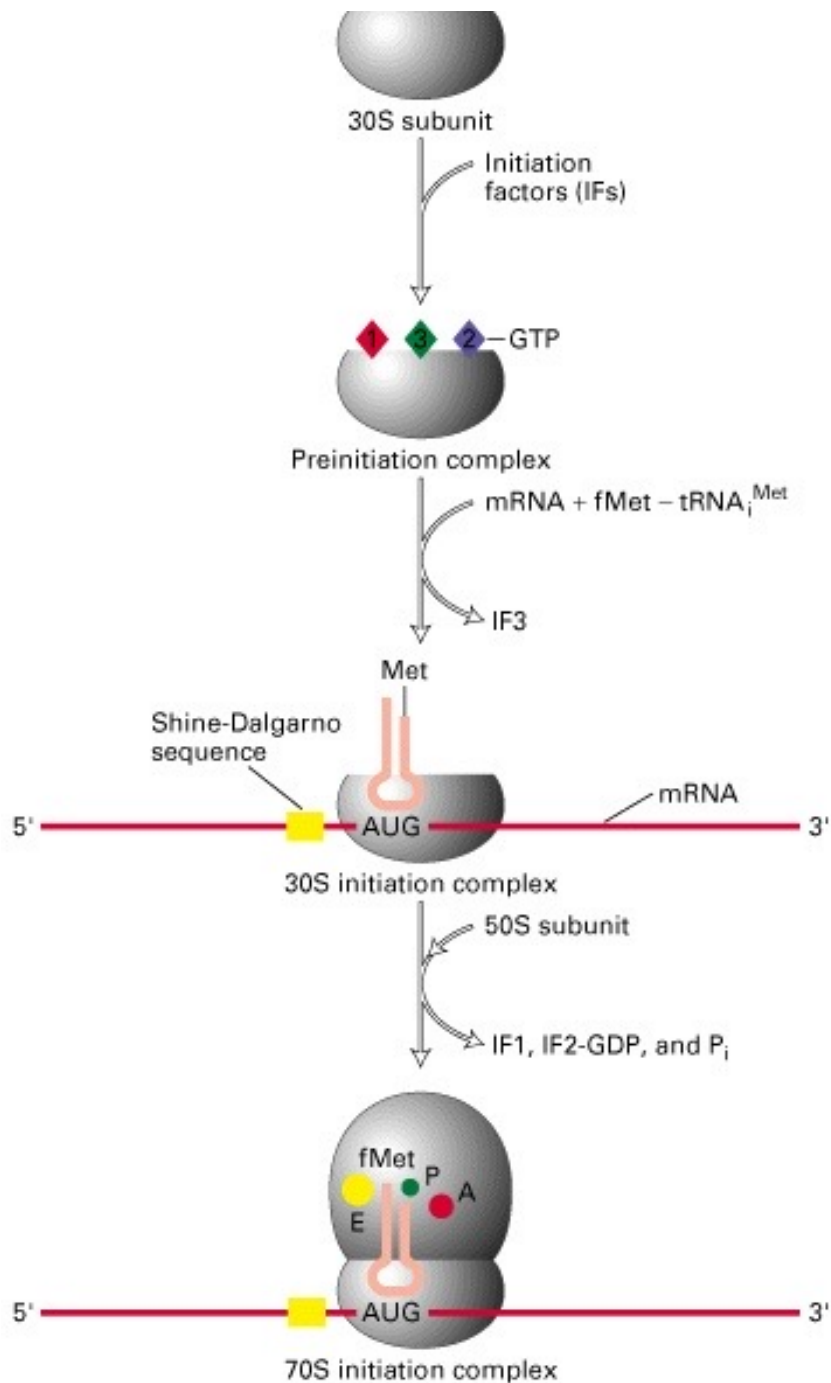


Figura 20-8



L'inizio della sintesi proteica nei batteri avviene vicino alla sequenza di Shine-Delgarno nell'mRNA

Translation initiation site is selected by basepairing between the 3-9 bp **Shine-Dalgarno** sequence in the mRNA and a sequence at the 3' end of the 16S rRNA.

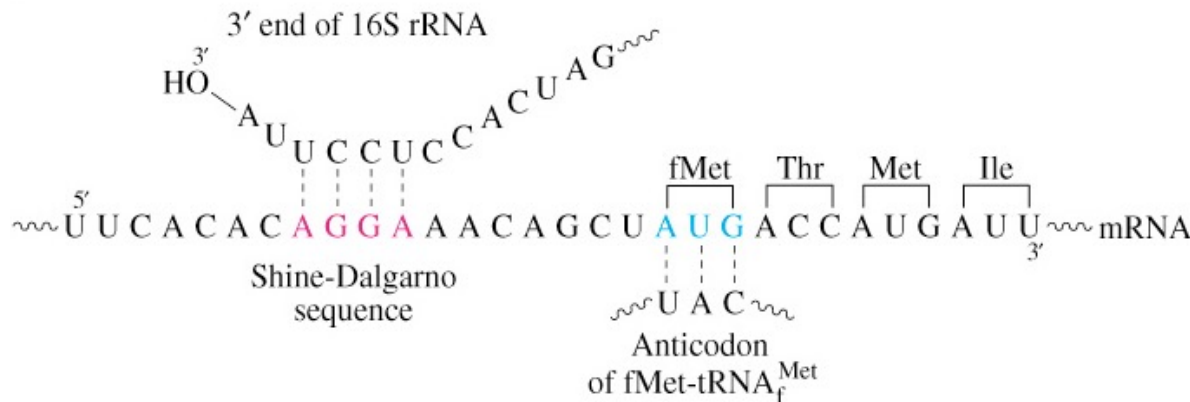
(a)



1. Anchors 30S subunit in the vicinity of the start codon

2. Counteracts secondary structure that could hinder access to the AUG codon

(b)



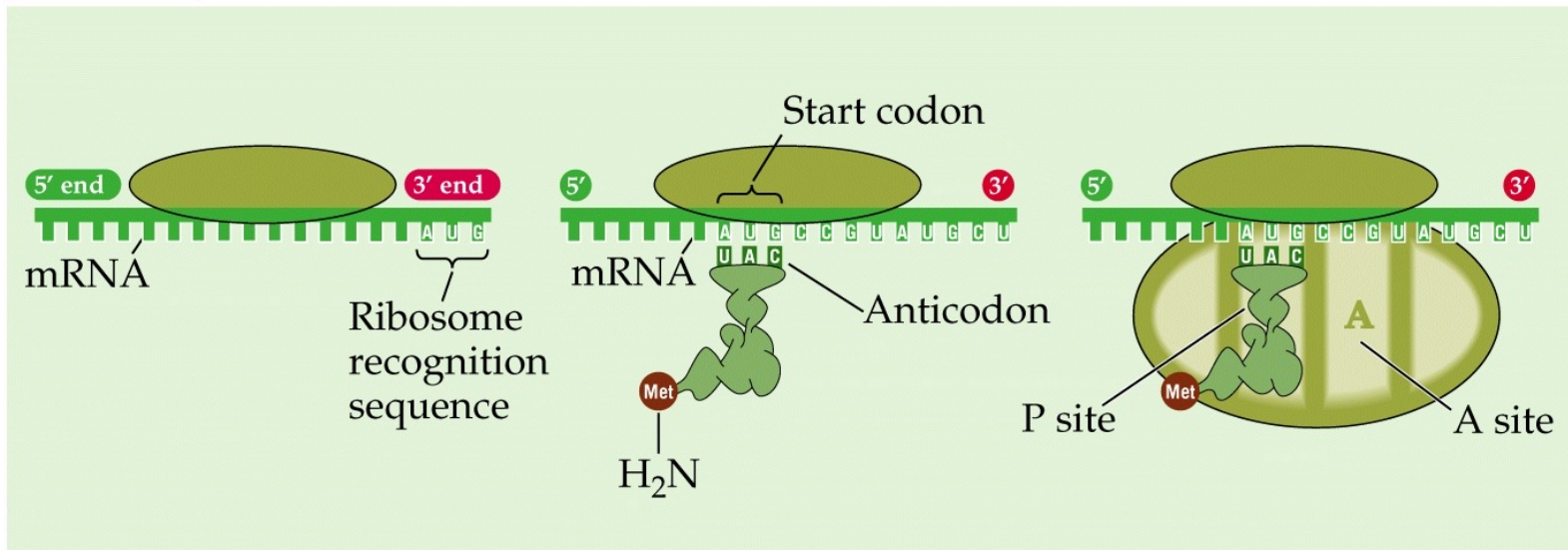
# Eucarioti

Gli mRNA eucariotici **non** posseggono la sequenza di Shine e Dalgarno. Hanno però al 5' UTR una sequenza particolare la cui consenso è GCC**Pur**CC**aug**G (sequenza di **Kozak**).

Il legame iniziale tra l'mRNA e il complesso di preinizio avviene a livello del CAP al 5' dell'mRNA. Anche la coda di poly A è importante: interagisce tramite specifiche proteine e fattori di inizio, con il CAP, determinando una circularizzazione del messaggero (stabilità e controllo?).

Il processo di inizio negli eucarioti coinvolge un gruppo di dodici fattori (chiamati eIF) e un particolare tRNA iniziatore tRNA<sup>Met</sup>, che porta una metionina non formilata.

## Initiation



<b><i>Initiation Factors</i></b>		<b><i>Activity</i></b>
<b><i>prokaryotes</i></b>	<b><i>eukaryotes</i></b>	
<b>IF3</b>	<b>eIF-1</b>	<b>Fidelity of AUG codon recognition</b>
<b>IF1</b>	<b>eIF-1A</b>	<b>Facilitate Met-tRNA<sup>iMet</sup> binding to small subunit</b>
	<b>eIF-2</b>	<b>Ternary complex formation</b>
	<b>eIF-2B (GEF)</b>	<b>GTP/GDP exchange during eIF-2 recycling</b>
	<b>eIF-3 (12 subunits)</b>	<b>Ribosome antiassociation, binding to 40S</b>
	<b>eIF-4F (4E, 4A, 4G)</b>	<b>mRNA binding to 40S, RNA helicase activity</b>
	<b>eIF-4A</b>	<b>ATPase-dependent RNA helicase</b>
	<b>eIF-4E</b>	<b>5' cap recognition</b>
	<b>eIF-4G</b>	<b>Scaffold for of eIF-4E and -4A</b>
	<b>eIF-4B</b>	<b>Stimulates helicase, binds with eIF-4F</b>
	<b>eIF-4H</b>	<b>Similar to eIF4B</b>
	<b>eIF-5</b>	<b>Release of eIF-2 and eIF-3, GTPase</b>
<b>IF2</b>	<b>eIF5B</b>	<b>Subunit joining</b>
	<b>eIF-6</b>	<b>Ribosome subunit antiassociation</b>



## Passaggi dell'inizio di traduzione

1. Formazione complesso 43S
2. Reclutamento del complesso 43S sul 5' dell'mRNA
3. Scanning del 5' UTR e riconoscimento dell'AUG
4. Formazione del complesso 80S

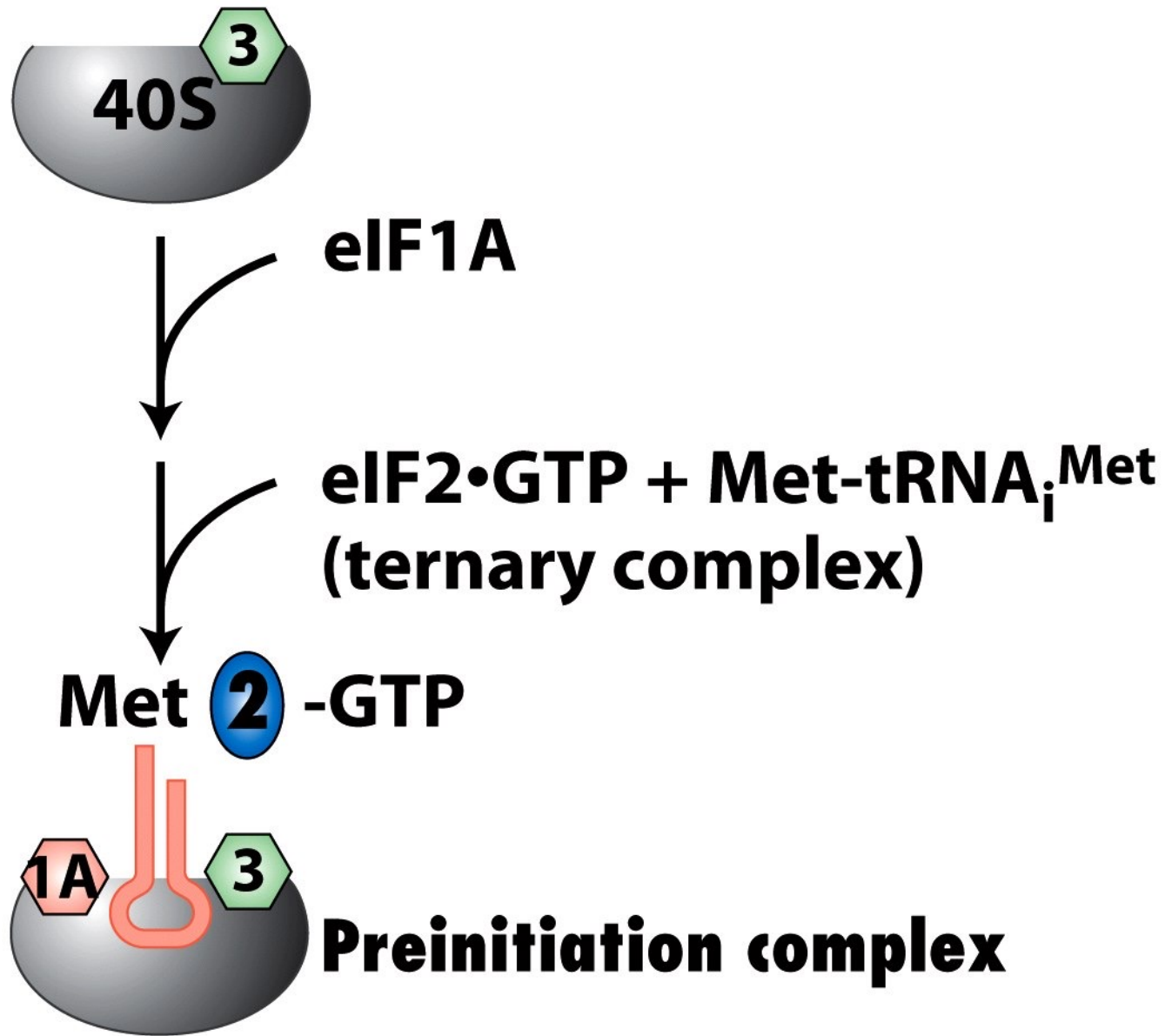


Figure 4-24 part 2  
*Molecular Cell Biology, Sixth Edition*  
© 2008 W. H. Freeman and Company

# eIF2

- 3 subunità:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$
- Subunità  $\beta$  aiuta attività di GTPasi e modula il legame tRNAi-eIF2  $\gamma$
- Subunità  $\alpha$  è un regolatore della traduzione. E' fosforilata (ser 51) da diverse chinasi in risposta a stress

# eIF2B

- 5 subunità:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$
- Fattore di scambio GDP-GTP (GEF) per eIF2
- 2 subcomplessi:  $\delta$ ,  $\epsilon$  attività catalitica  
 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  attività regolativa

# eIF3

- 10-11 subunità
- Nucleo di 5 subunità: eIF3a, b, c, i, g
- In lievito forma un complesso con eIF1, eIF2, eIF5, Met-tRNA<sub>i</sub> (MFC)
- Richiesto per il legame del 43S all'mRNA

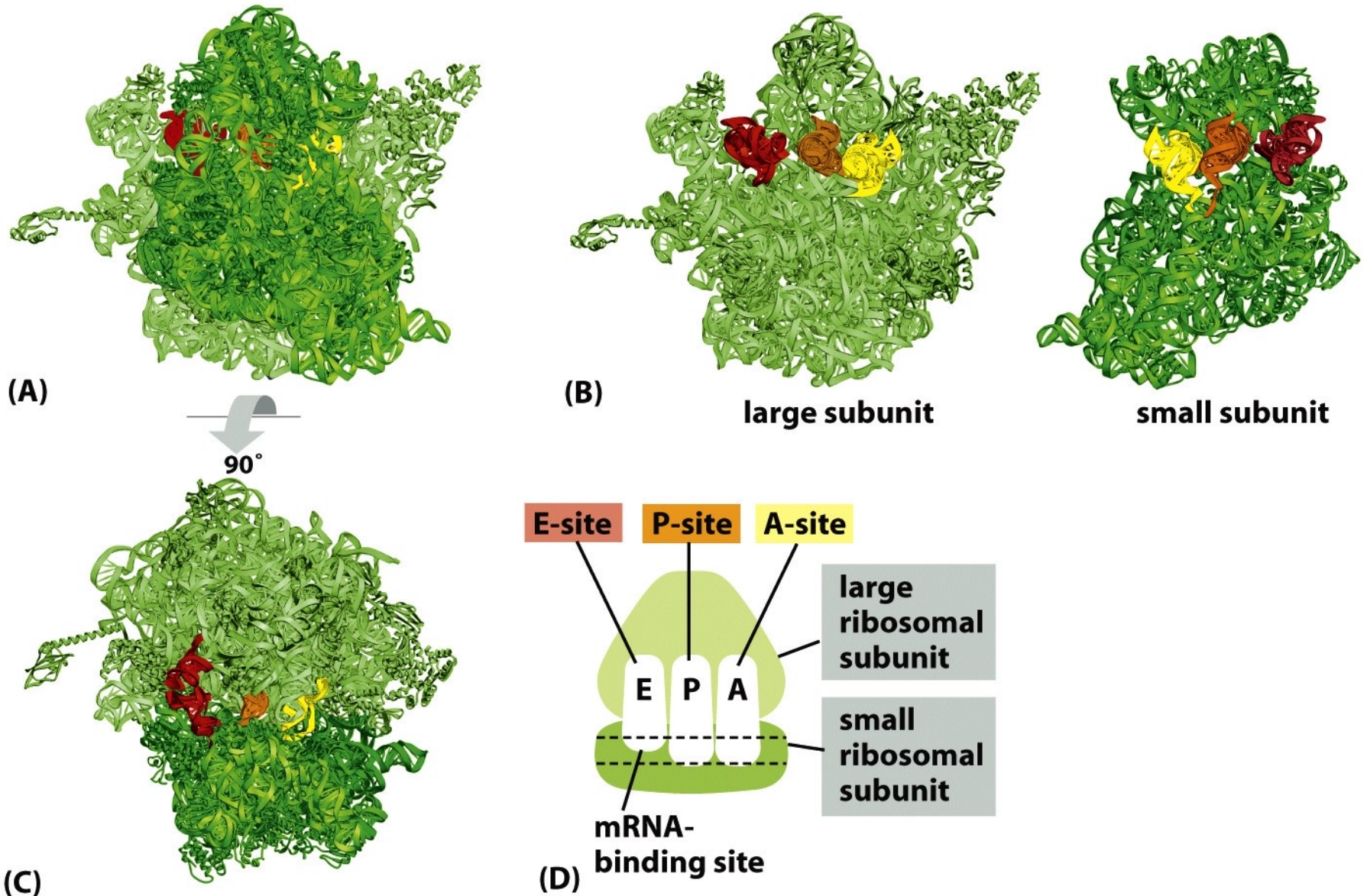
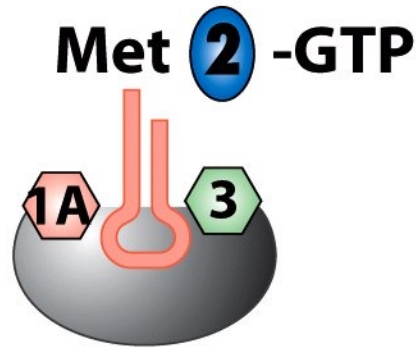
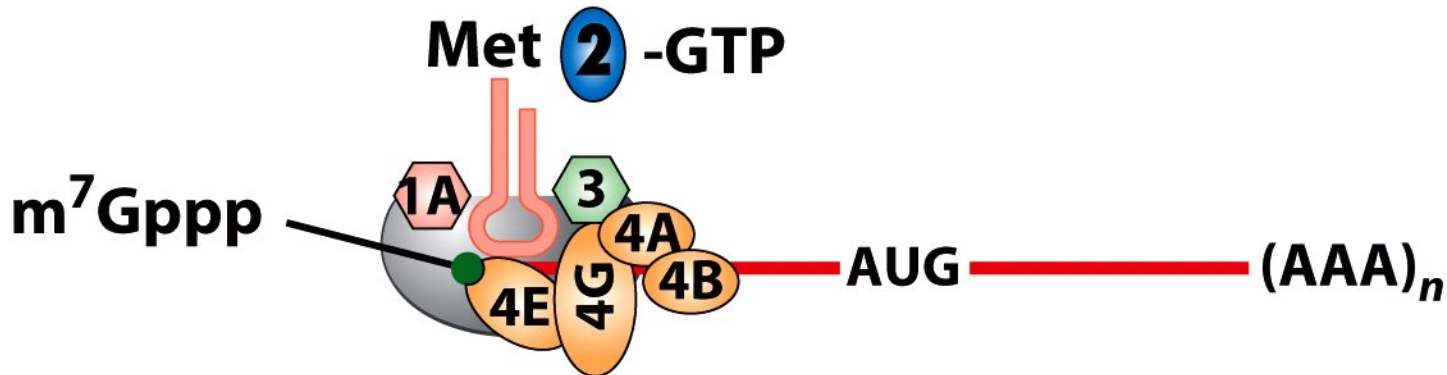


Figure 6-64 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)



## Preinitiation complex



## Initiation complex

# eIF4F

- Composto da 3 subunità

eIF4A: elicasi, aiutato da eIF4B

eIF4E: cap binding protein, regolato da fosforilazione  
e interazione con eIF4E-BP

eIF4G: adattatore, interagisce con diversi fattori

# Scanning

- 40S, ATP, eIF2, eIF4A, eIF4B, eIF4F, mRNA sufficienti per formare complesso I (non produttivo)
- eIF1, eIF1A necessari per il complesso II (scanning fino all'AUG)
- Se non ci sono strutture secondarie eIF4A, 4B, 4F non sono necessari (in vitro)



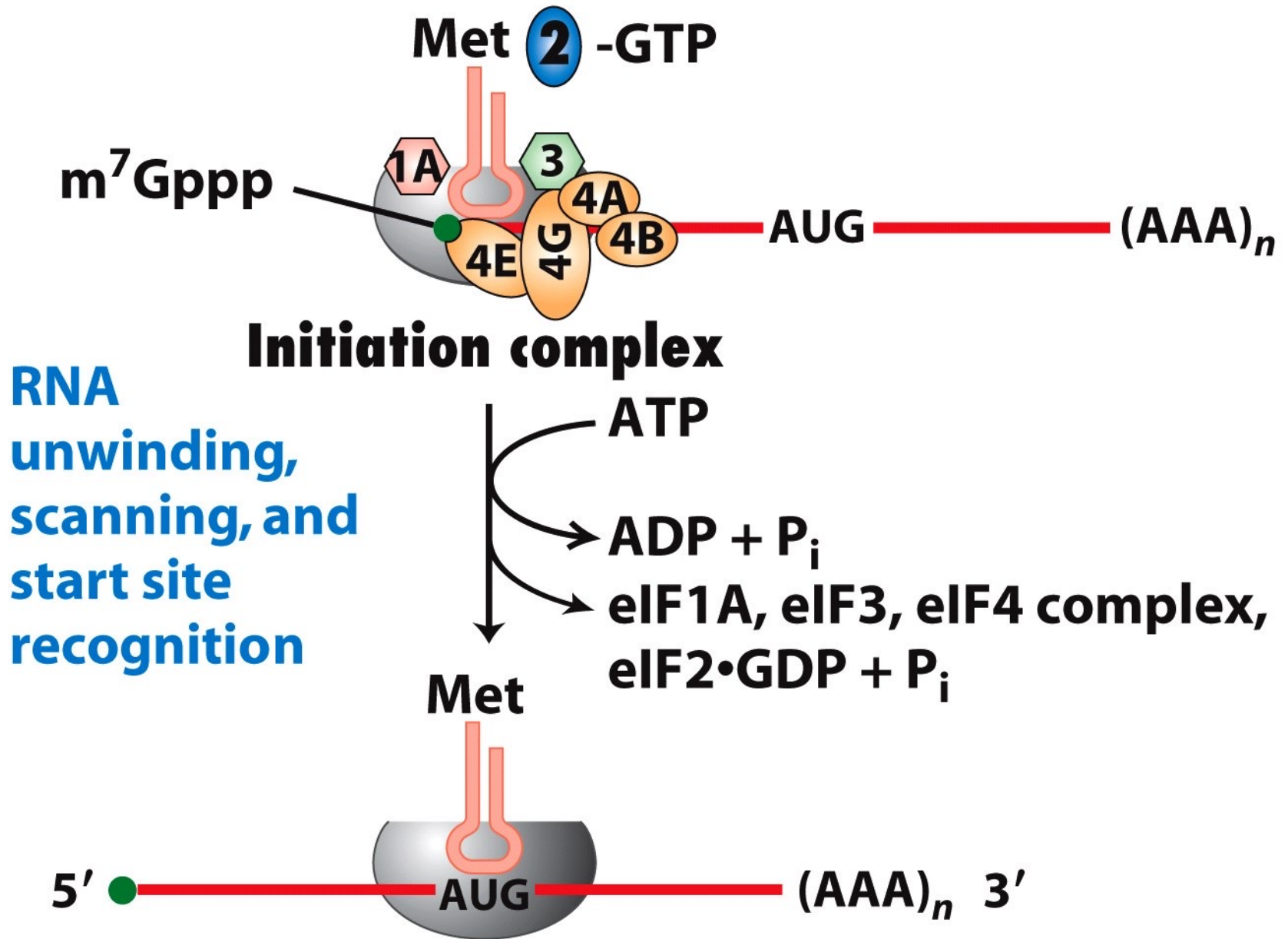


Figure 4-24 part 4  
*Molecular Cell Biology, Sixth Edition*  
 © 2008 W.H. Freeman and Company

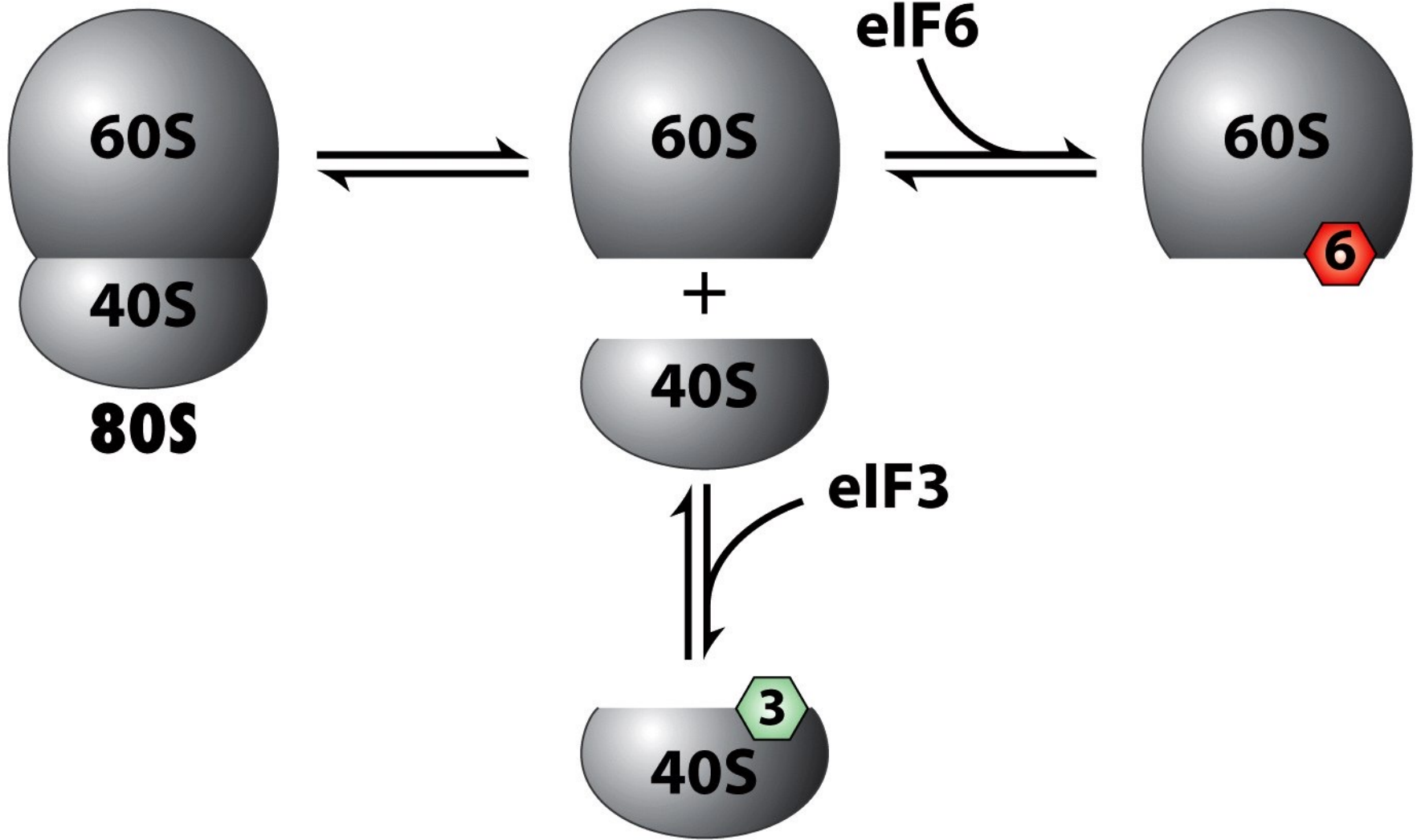


Figure 4-24 part 1  
*Molecular Cell Biology, Sixth Edition*  
© 2008 W. H. Freeman and Company

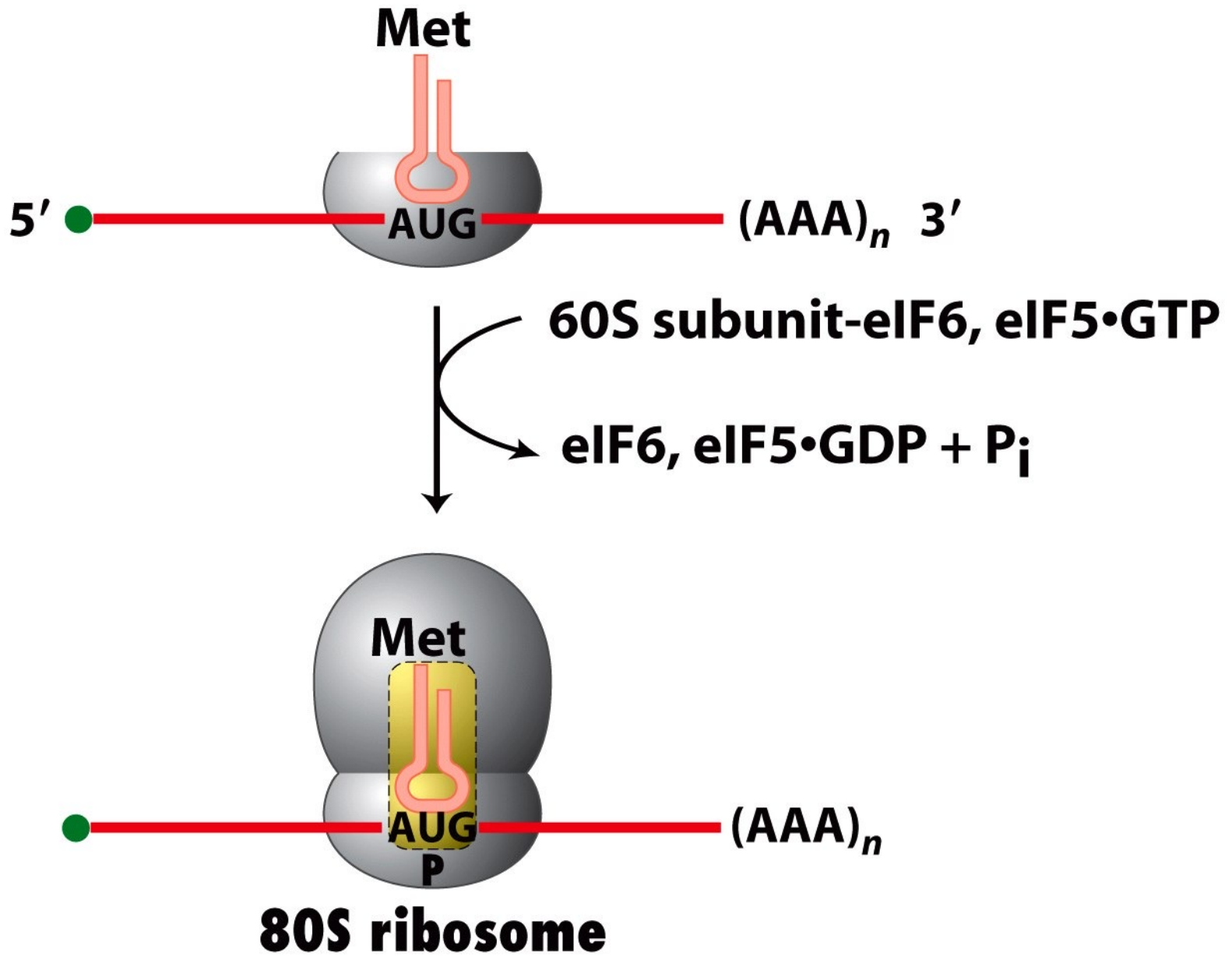


Figure 4-24 part 5  
*Molecular Cell Biology, Sixth Edition*  
© 2008 W. H. Freeman and Company

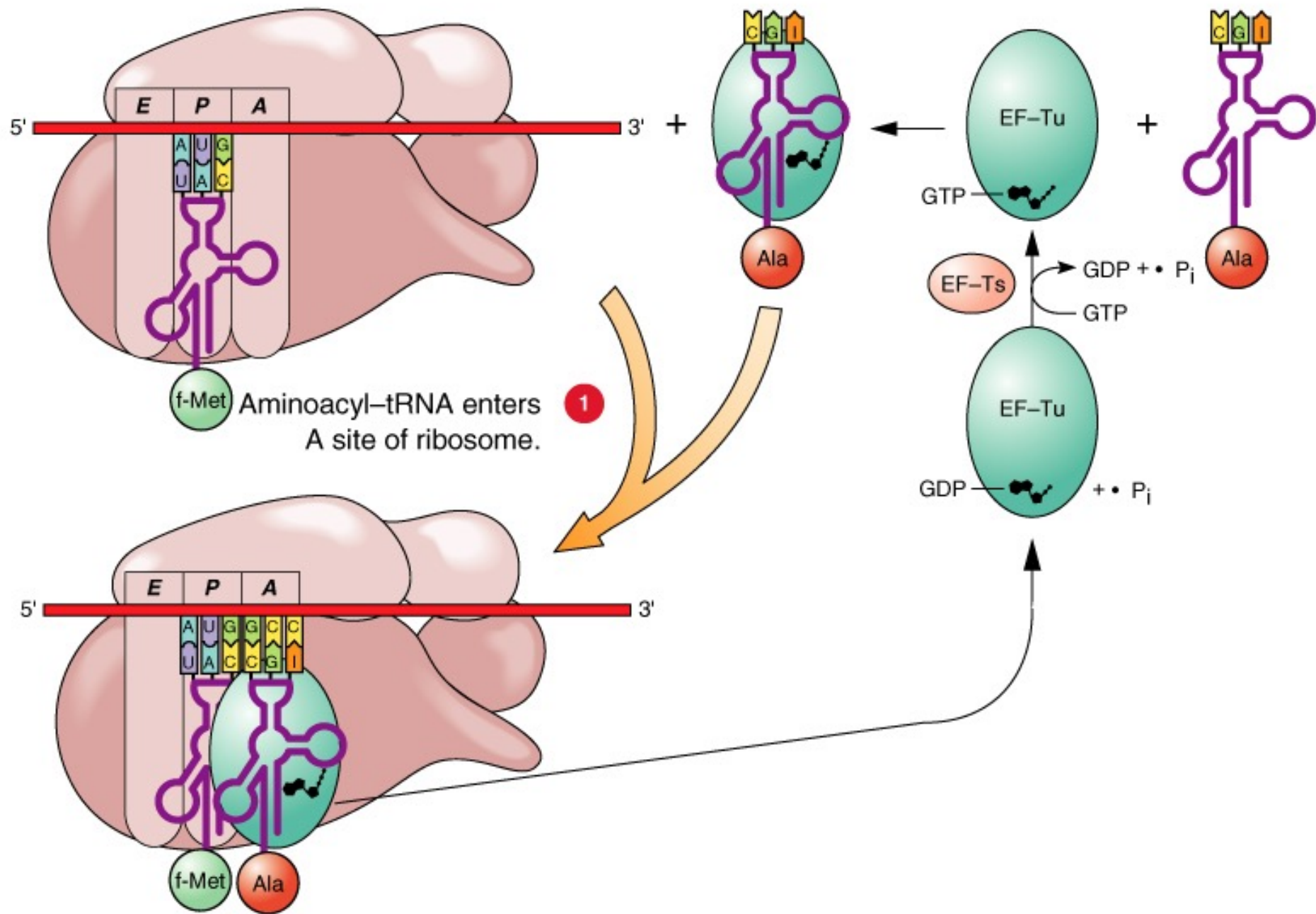
# Fasi Della Traduzione: allungamento

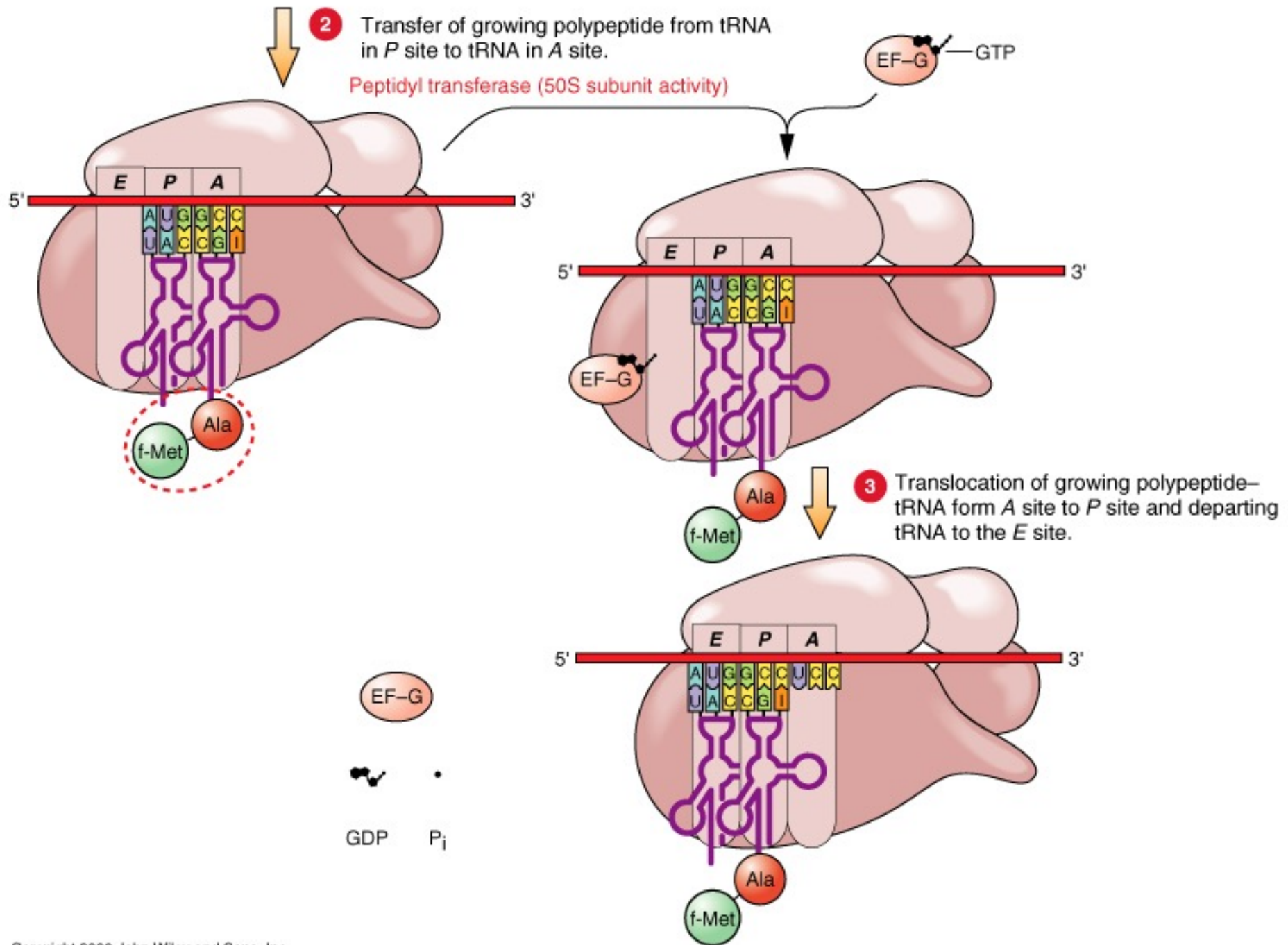
Allungamento della catena polipeptidica mediante attacco di aminoacil-tRNA e sintesi del legame peptidico.

## PROCARIOTI      EUCARIOTI

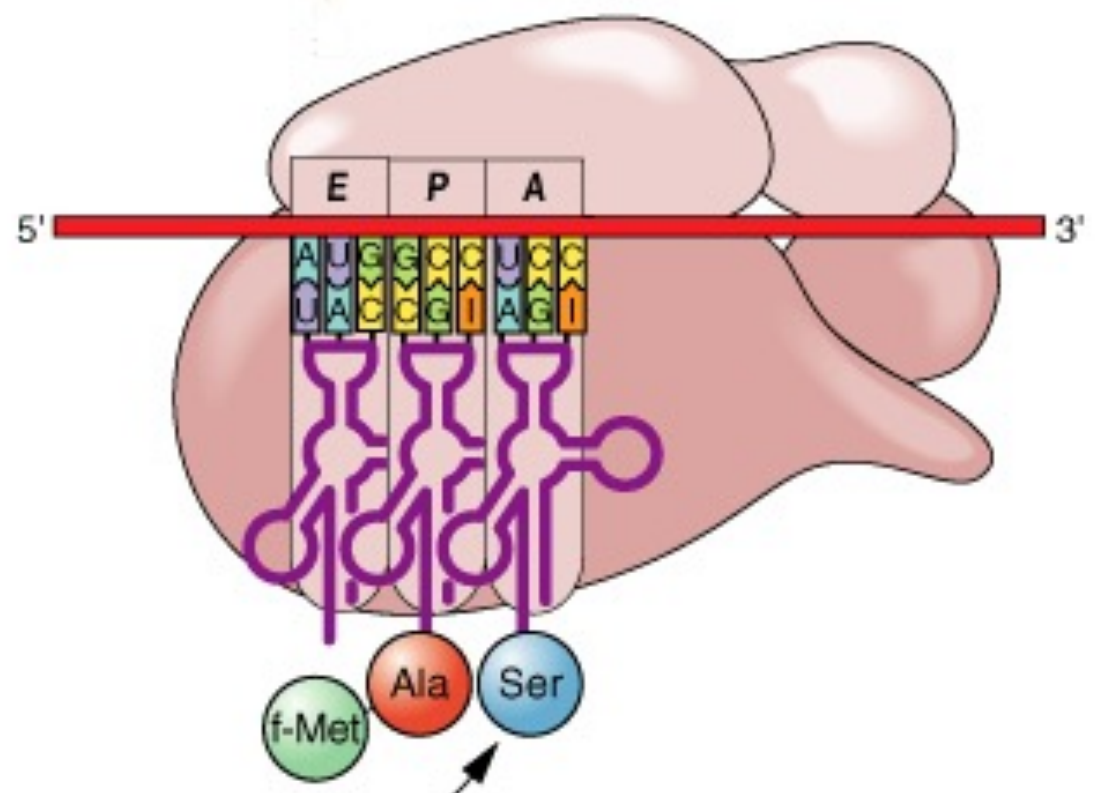
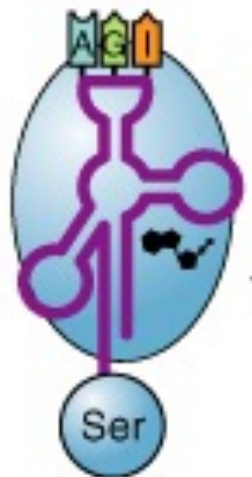
Subunità	30S/50S	40S/60S
Fattori di Allungamento	Sì	Sì
tRNA	tutti	tutti
Fonte di energia	GTP	GTP

<b>procarioti</b>	<b>eucarioti</b>	
<b>Fattori di allungamento</b>		
<b>EF-Tu</b>	<b>eEF1A</b>	<b>trasporto aa-tRNA</b>
<b>EF-Ts</b>	<b>eEF1B</b>	<b>riciclo</b>
<b>EF-G</b>	<b>eEF2</b>	<b>traslocazione</b>

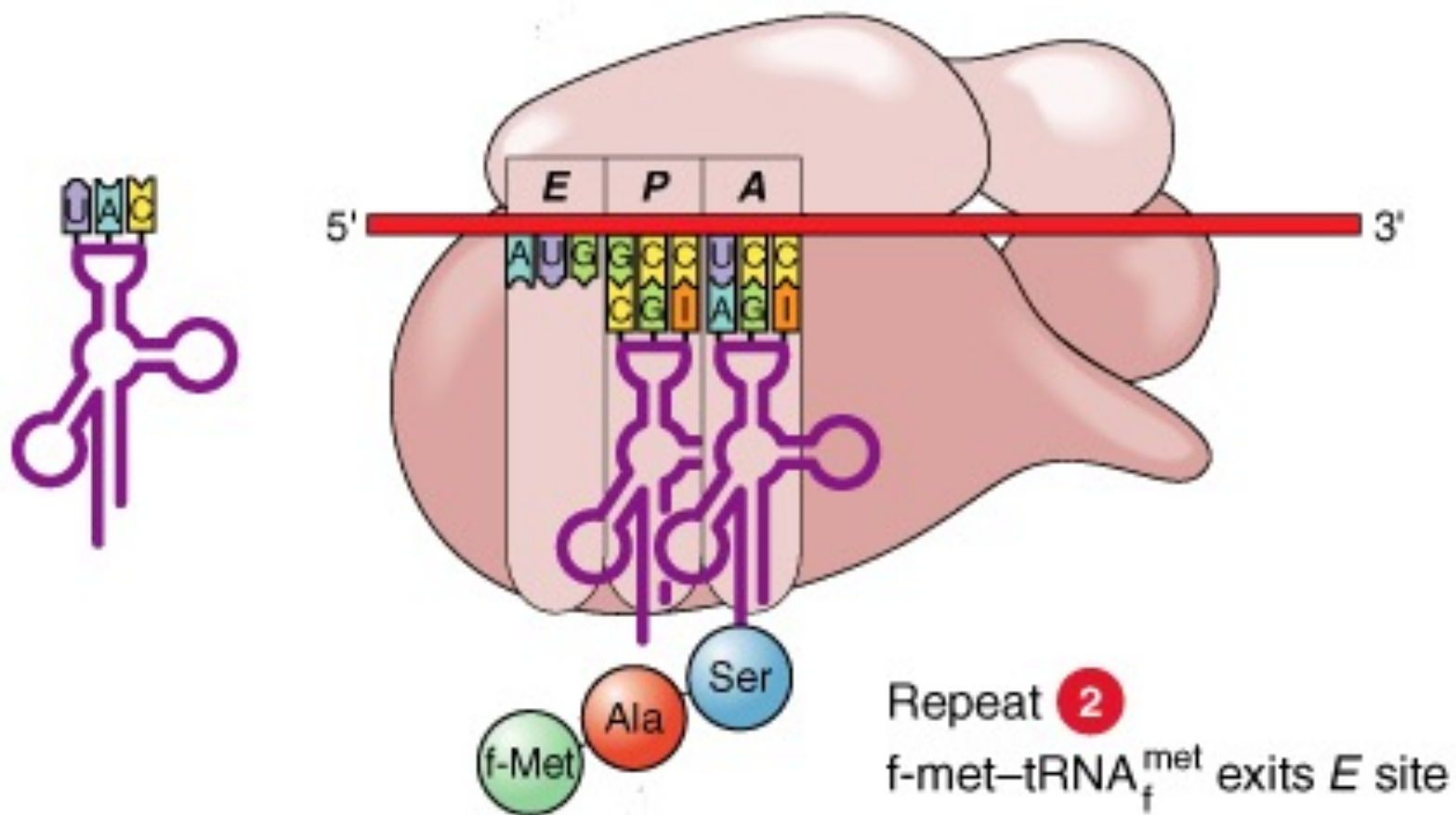


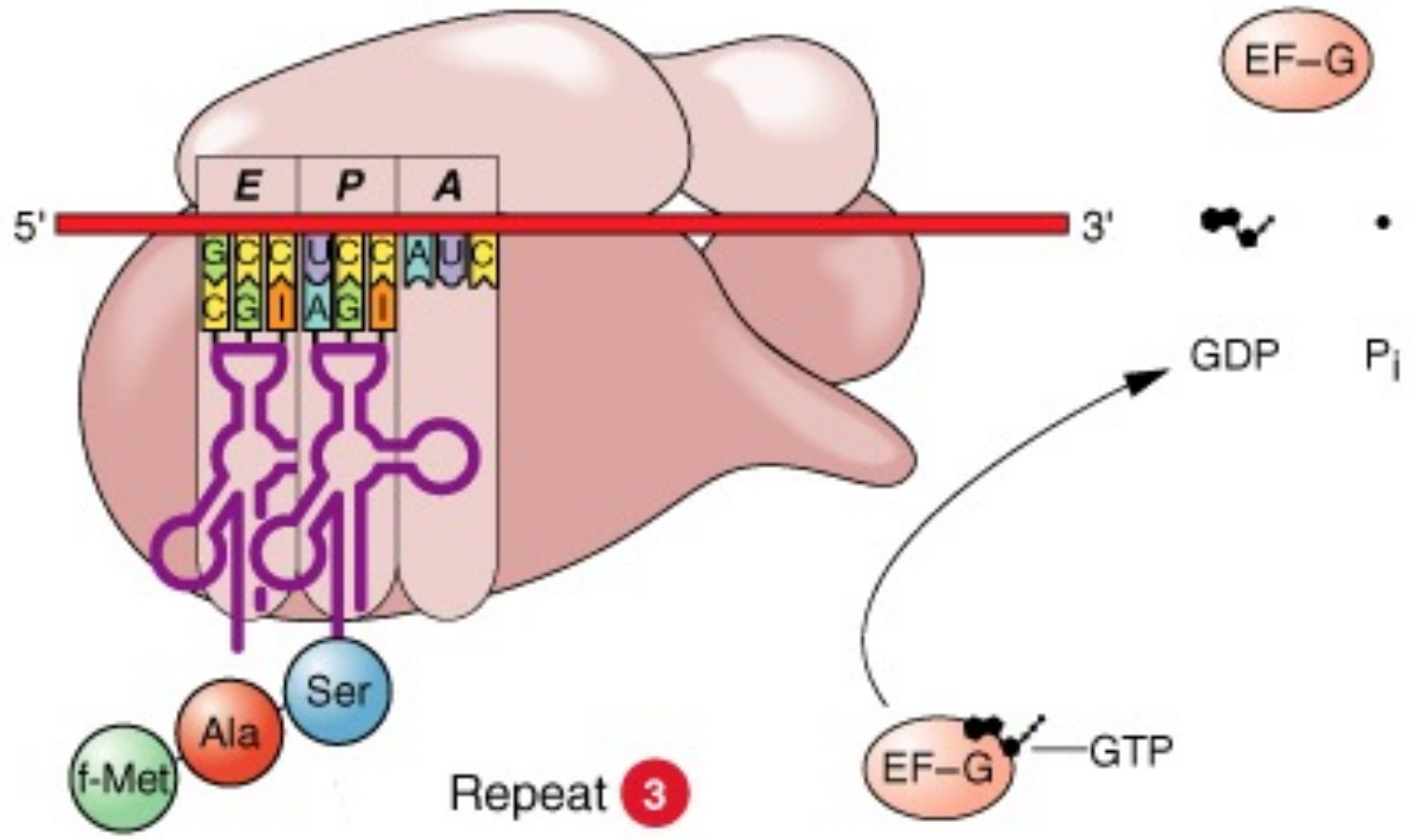


Repeat **1**



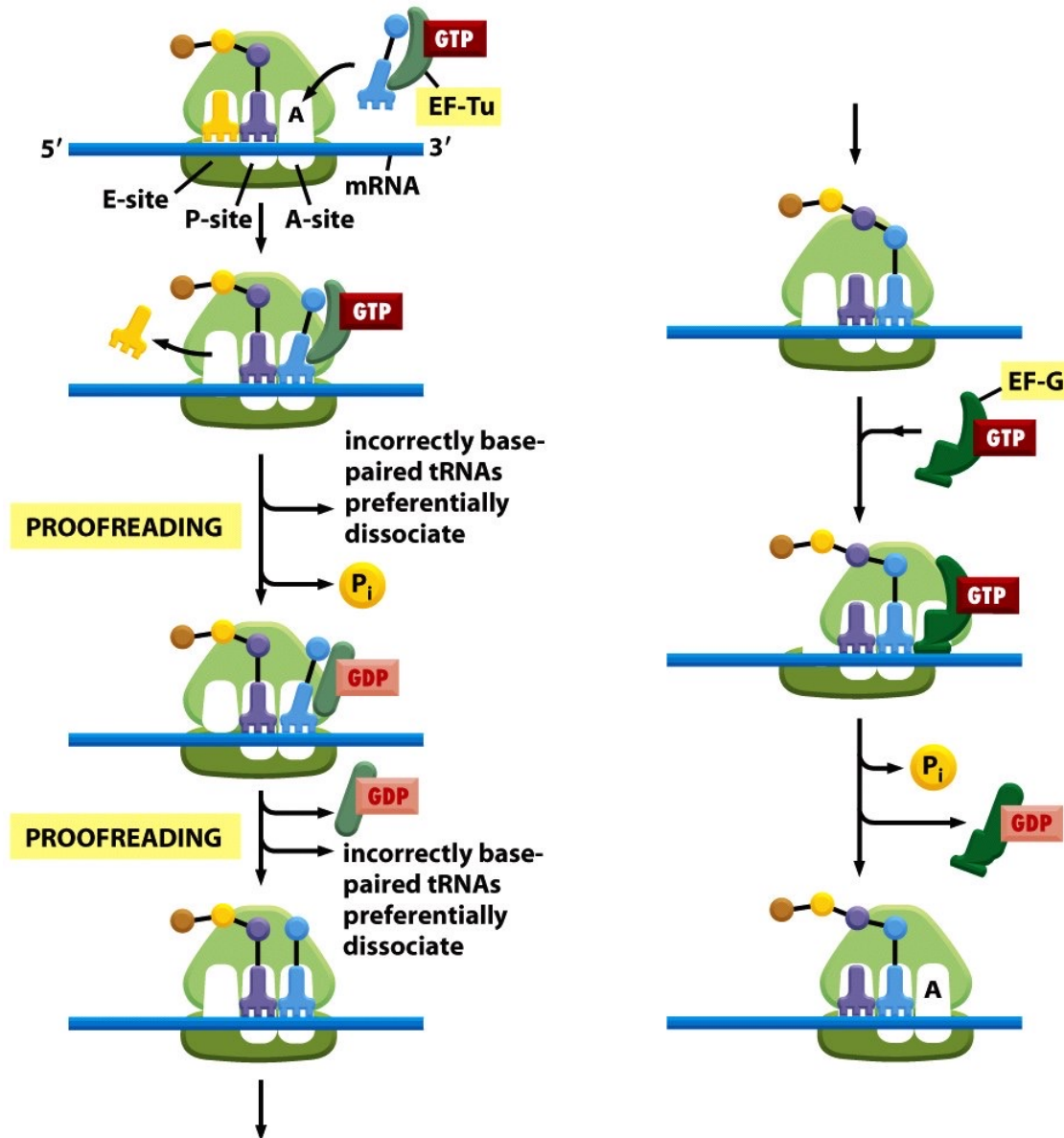






<https://www.jove.com/embed/player?id=11594&t=1&s=1&fpv=1>

# Anche nel processo di traduzione esiste un meccanismo di proofreading



Il proofreading dipende dalla presenza dei fattori di allungamento

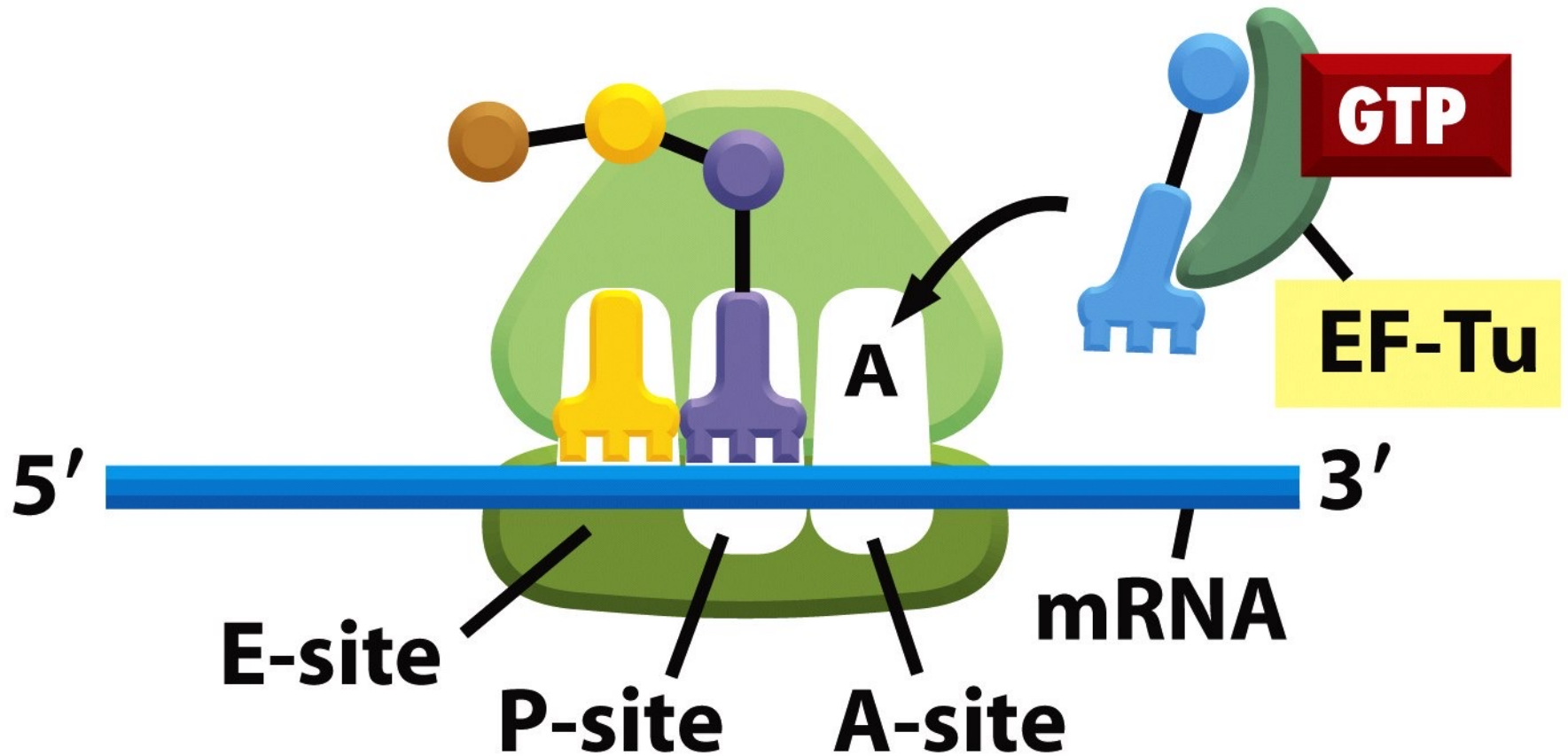
-EF-Tu ed EFG nei batteri

-EF1 e EF2 negli eucarioti

-EF-Tu o EF1 controlla la correttezza dell'appaiamento tRNA-aa (aumento dell'affinità per EF1?)

-EF-Tu o EF1 controlla la correttezza dell'appaiamento codone-anticodone

tRNA legato a EF+GTP e' curvato, questa conformazione  
Permette solo l'attacco nel sito A



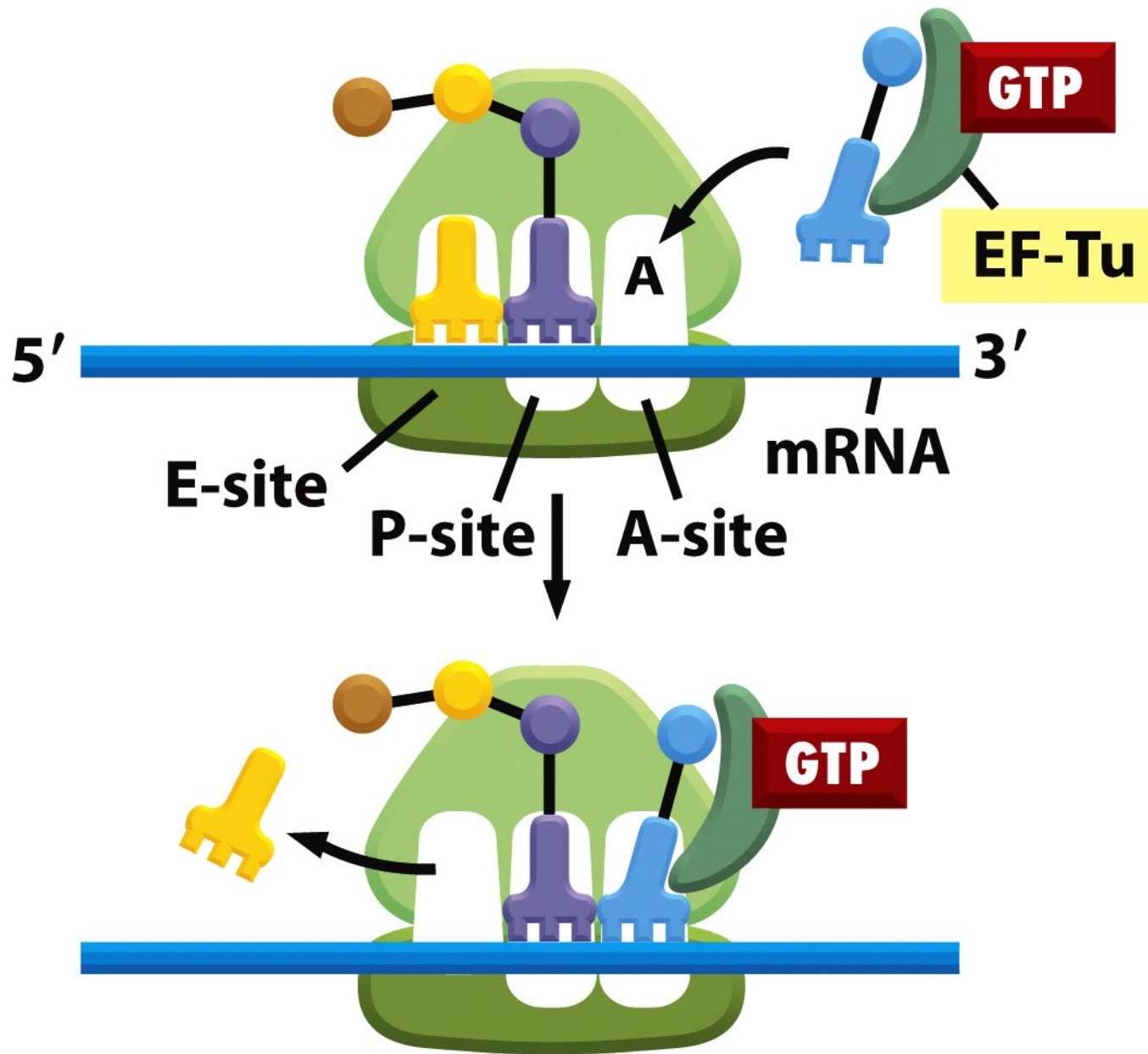
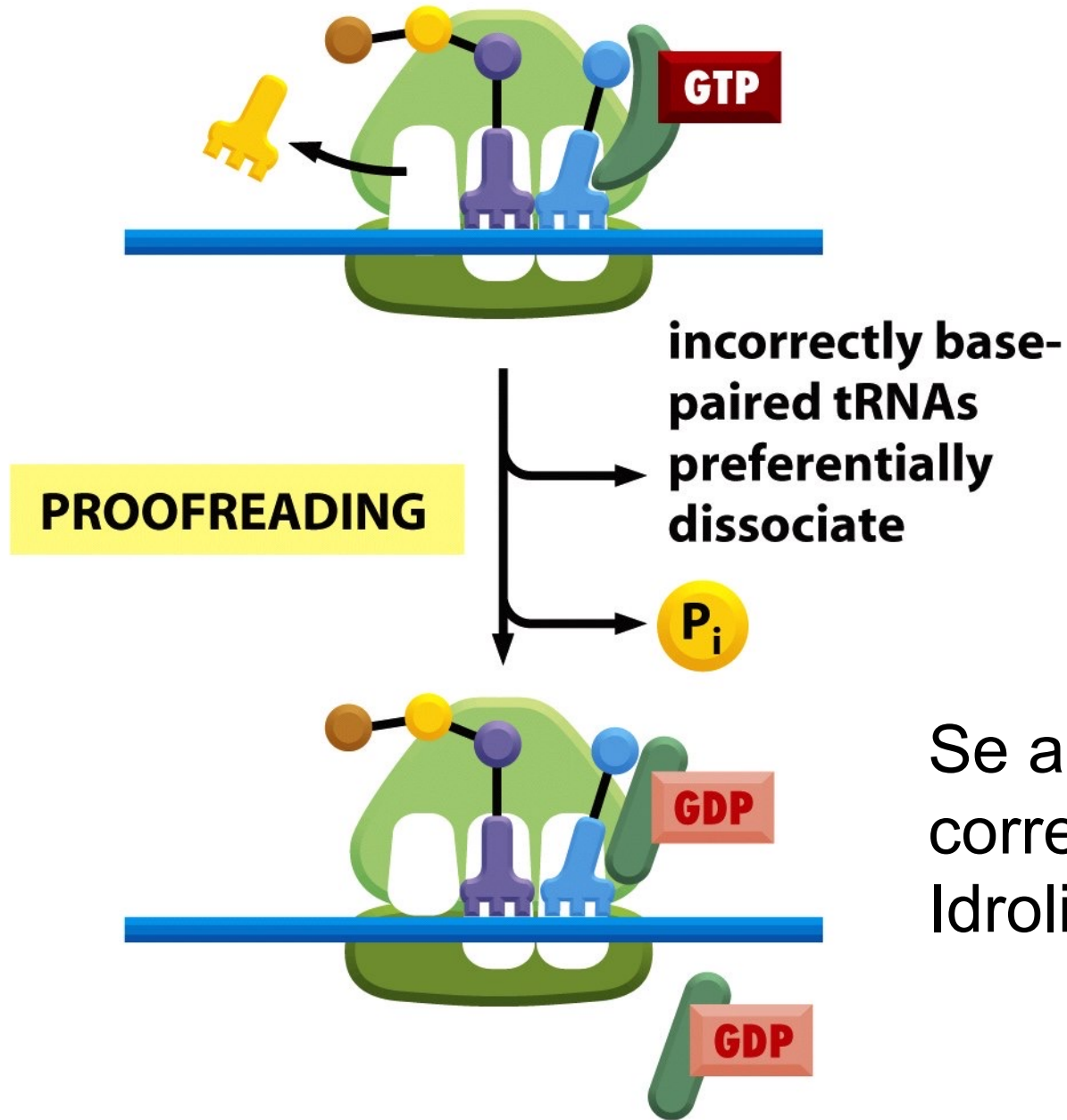
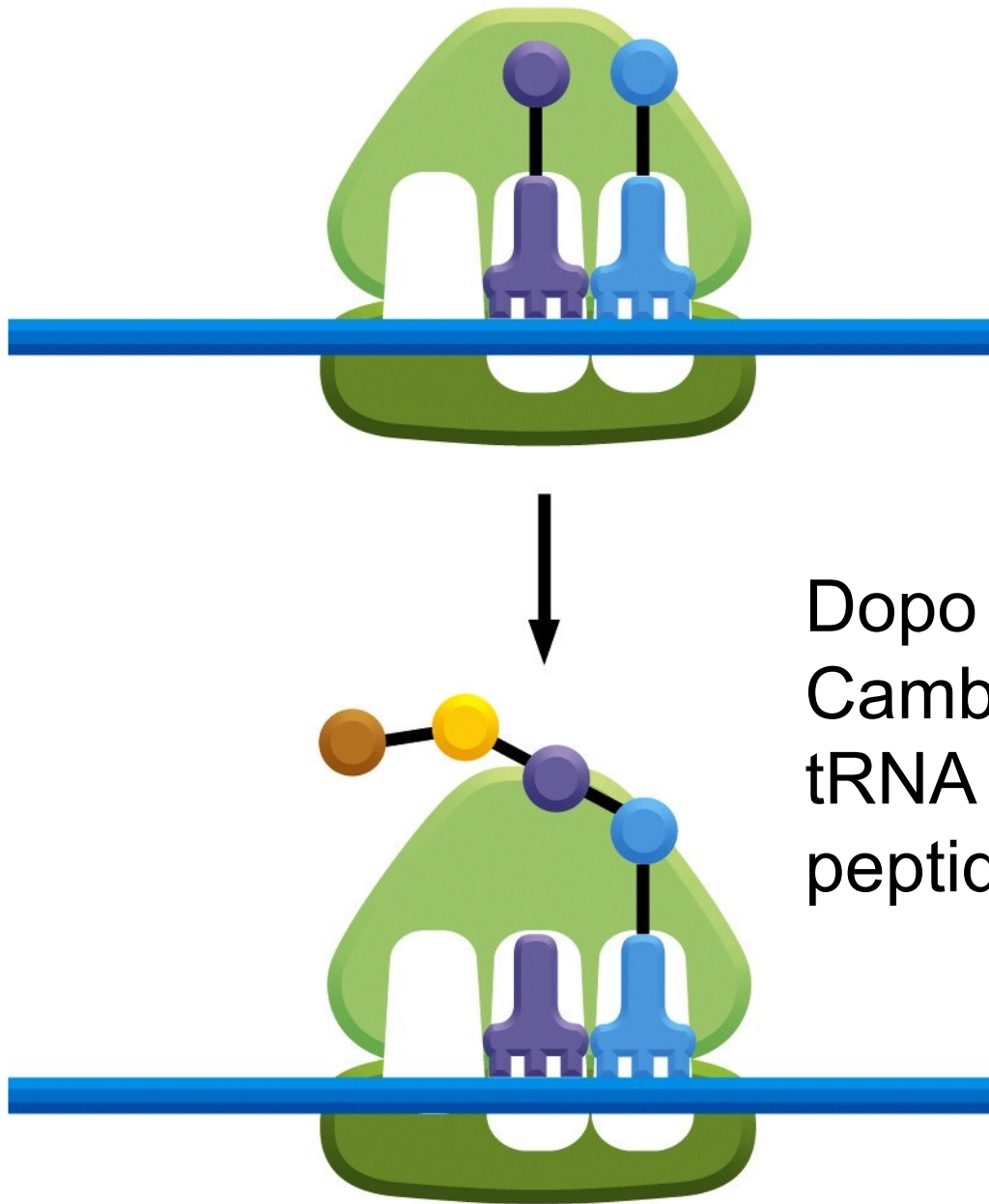


Figure 6-67 (part 2 of 7) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

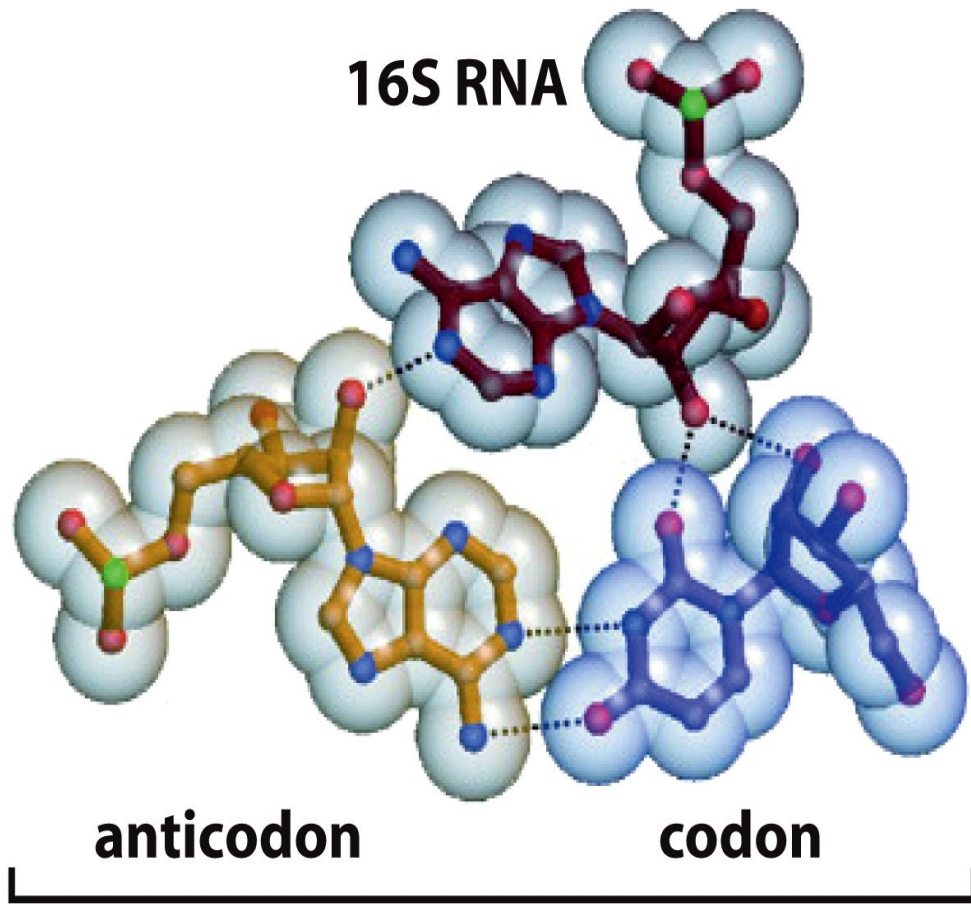


Se appaiamento  
corretto  
Idrolisi GTP





Dopo idrolisi del GDP  
Cambio conformazionale  
tRNA che permette legame  
peptidico



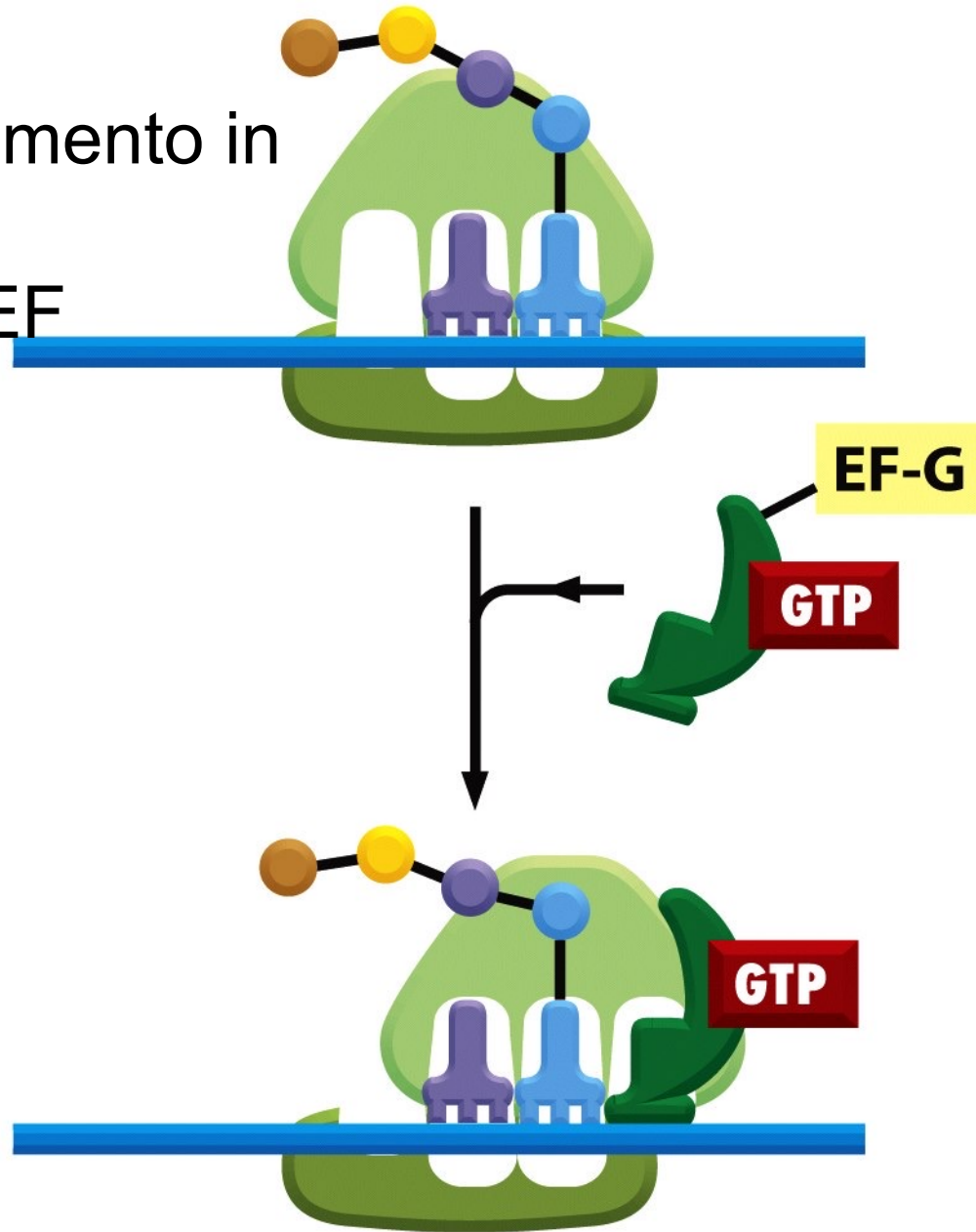
Chi determina se l'appaiamento è corretto?

Il ribosoma stesso si ripiega sul tRNA (subunità minore forma legami idrogeno con coppia Codone – anticodone)

Ulteriore meccanismo di controllo dopo idrolisi del GTP e rilascio EF

C'è un piccolo spostamento del tRNA + AA prima dell'incorporazione nella catena polipeptidica. Se l'appaiamento è corretto lo spostamento è veloce, altrimenti è più lento e questo favorisce il distacco del tRNA

Lo spostamento in  
Avanti  
Richiede EF



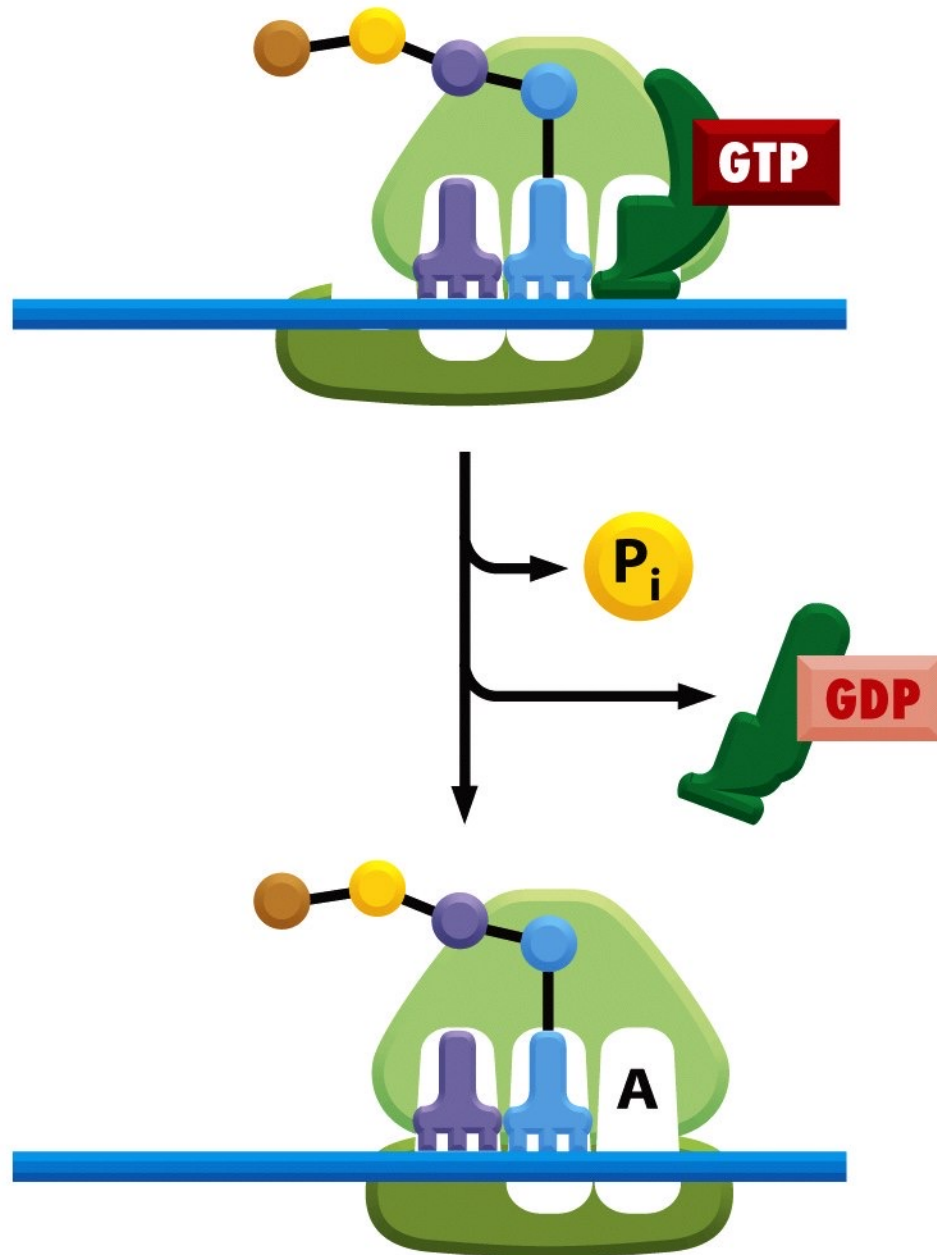


Figure 6-67 (part 7 of 7) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

# Fasi Della Traduzione: terminazione

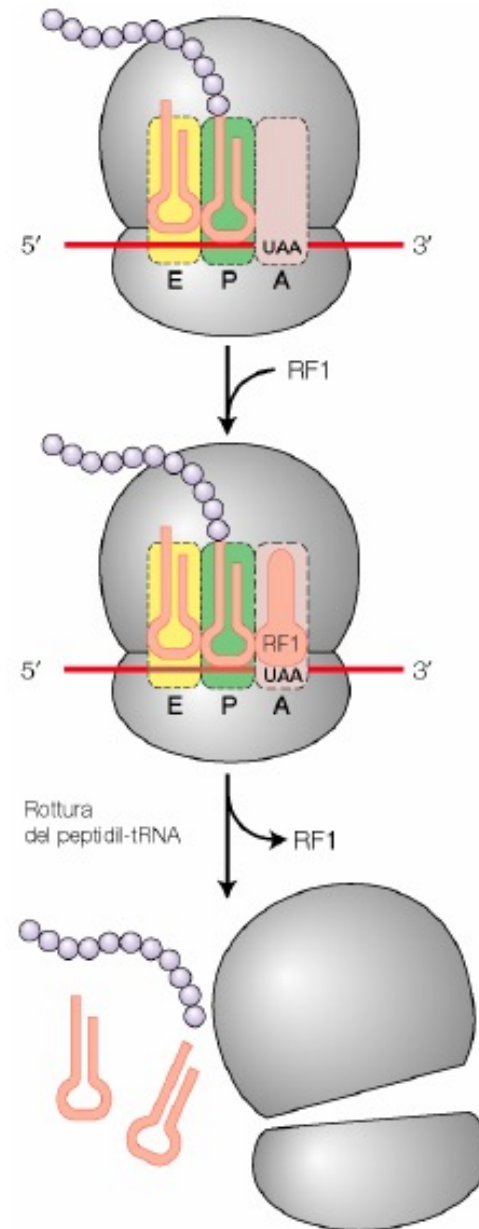
- Avviene quando il ribosoma arriva ad un codone di stop (UAA, UAG, UGA) che si colloca nel sito A
- Rilascio della catena polipeptidica e rilascio delle due subunità ribosomali

	PROCARIOTI	EUCARIOTI
Subunità	30S/50S	40S/60S
Fattori di terminazione	3	1
Fonte di energia	GTP	GTP

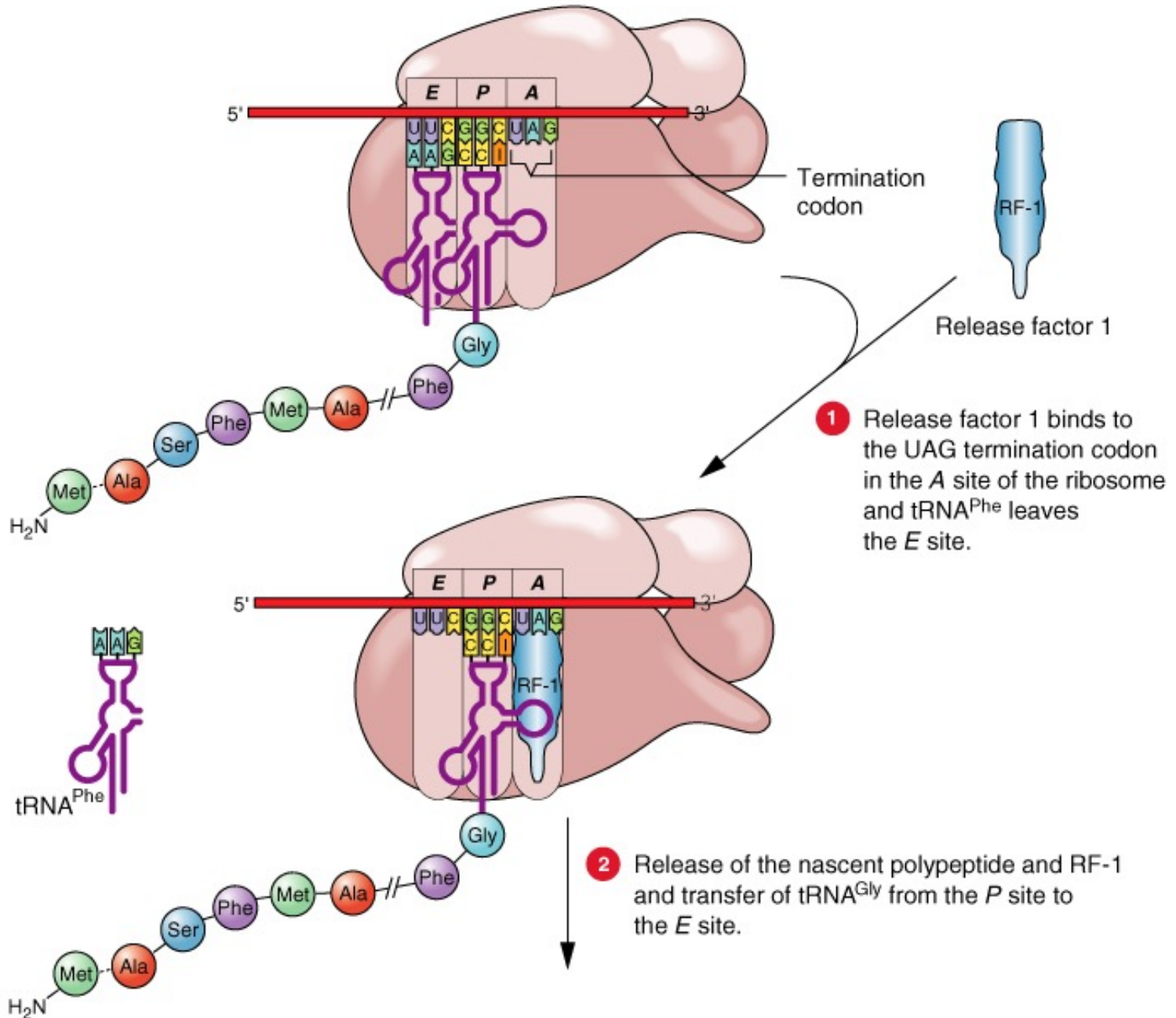
<b>procarioti</b>	<b>eucarioti</b>	
<b>Fattori di terminazione</b>		
<b>RF1</b>	<b>eRF1</b>	<b>riconoscimento UAA, UAG</b>
<b>RF2</b>	<b>“</b>	<b>riconoscimento UGA, UAA</b>
<b>RF3</b>	<b>eRF3</b>	<b>GTPase</b>
<b>RRF</b>		<b>rilascio</b>

# Codoni di terminazione

I codoni di stop non sono riconosciuti da nessun tRNA, ma piuttosto sono riconosciuti da fattori di rilascio **RF1** e **RF2**. **RF1** riconosce le triplette **UAA** e **UAG**, e **RF2** riconosce invece le triplette **UAA** e **UGA**







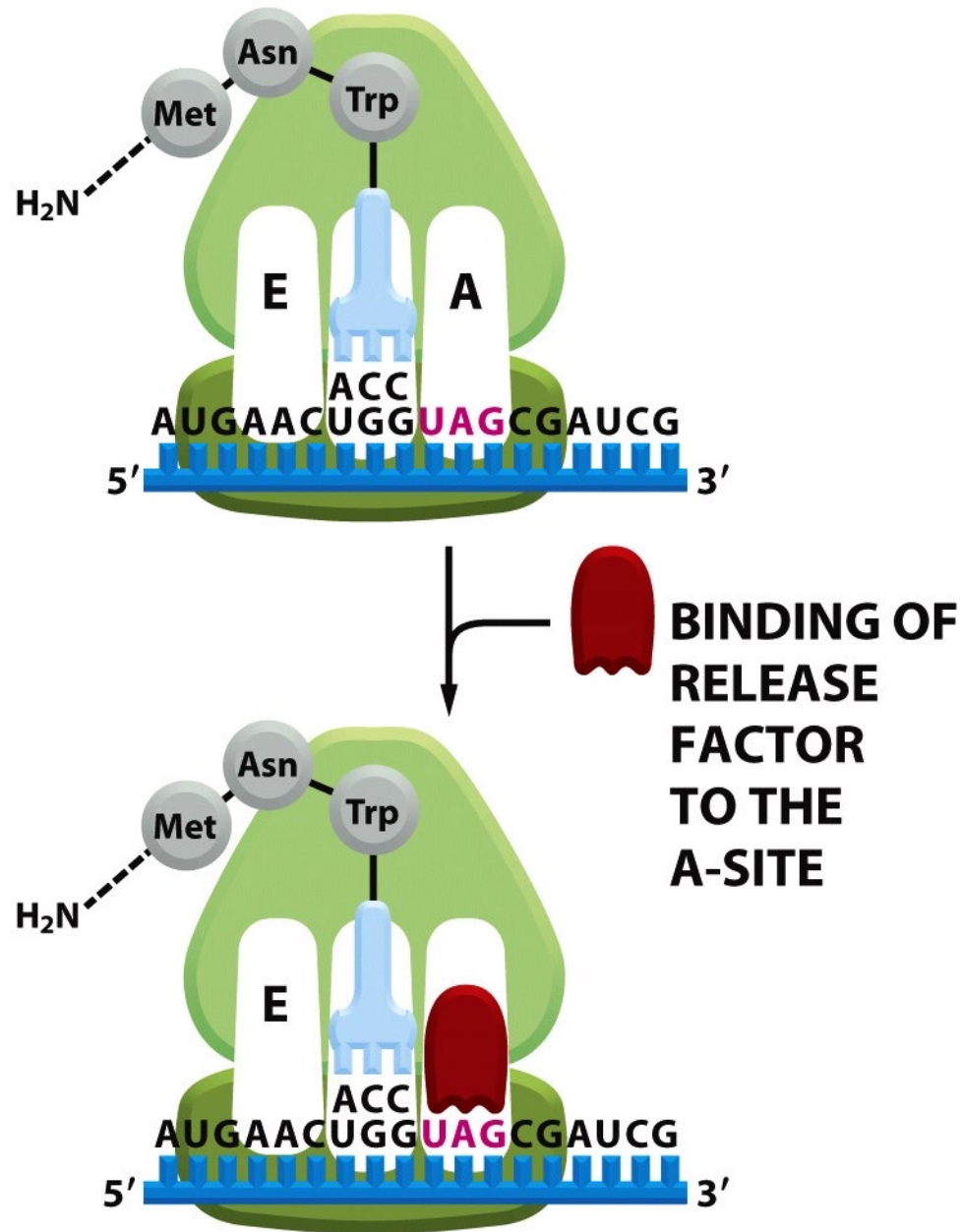


Figure 6-74 (part 1 of 3) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

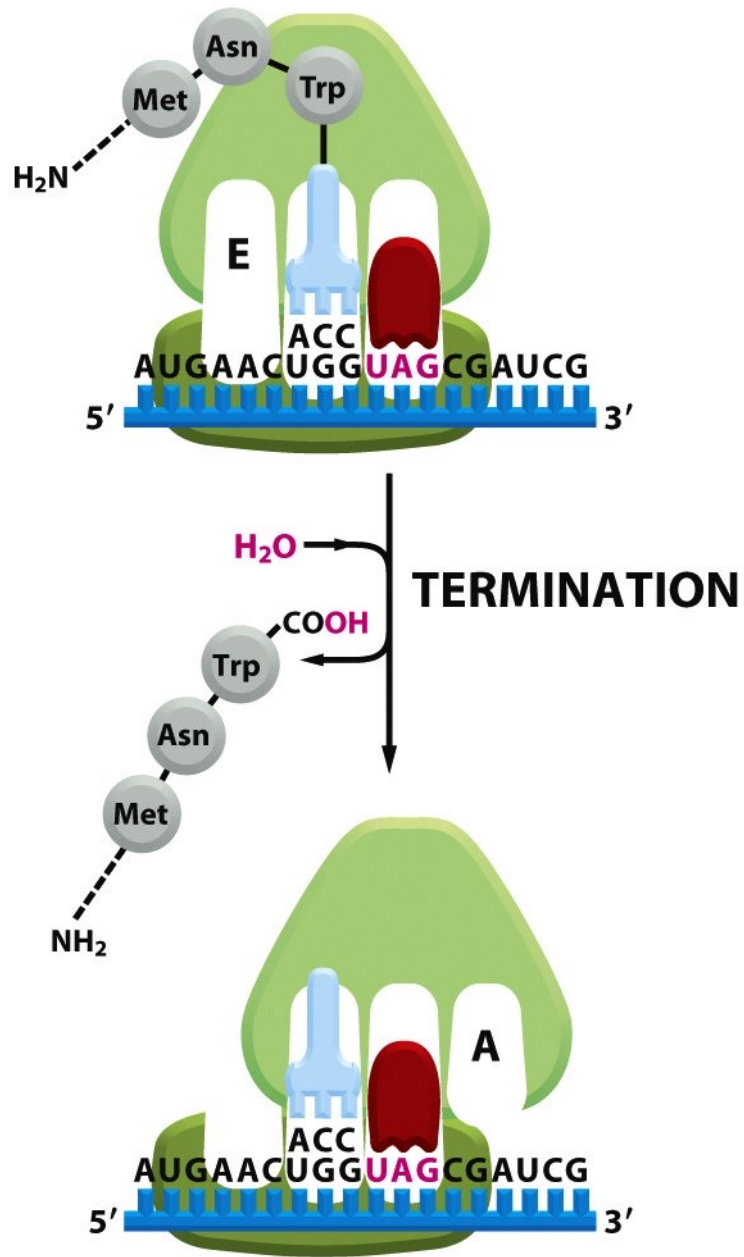


Figure 6-74 (part 2 of 3) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

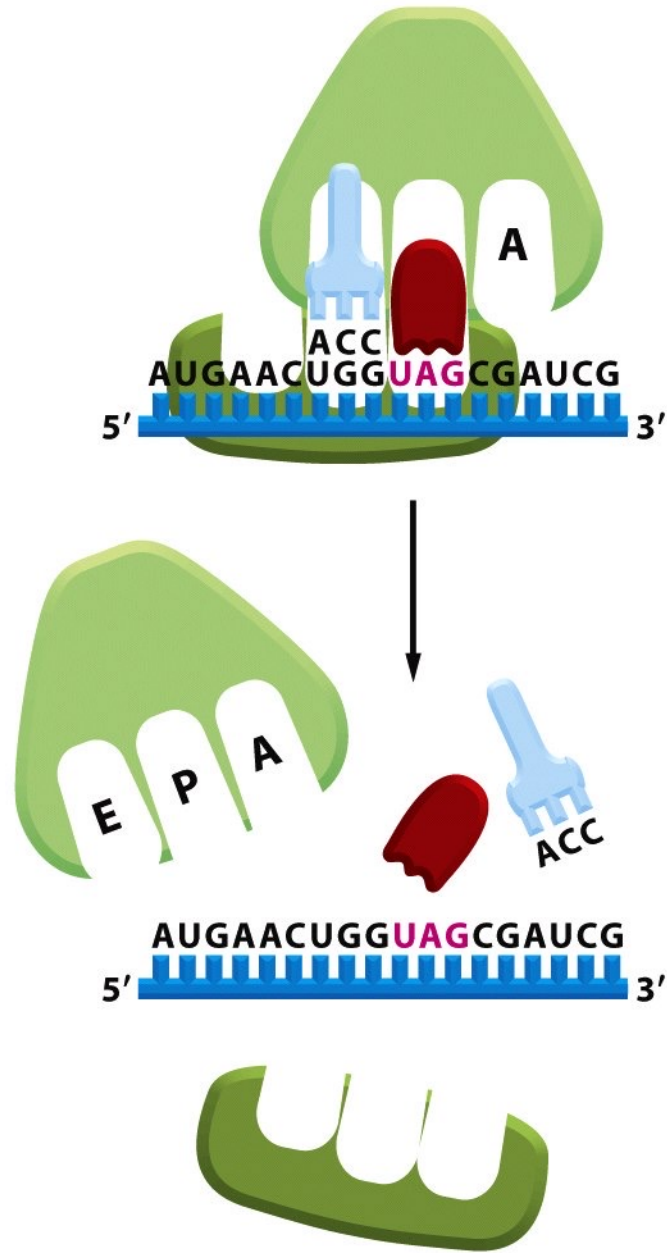
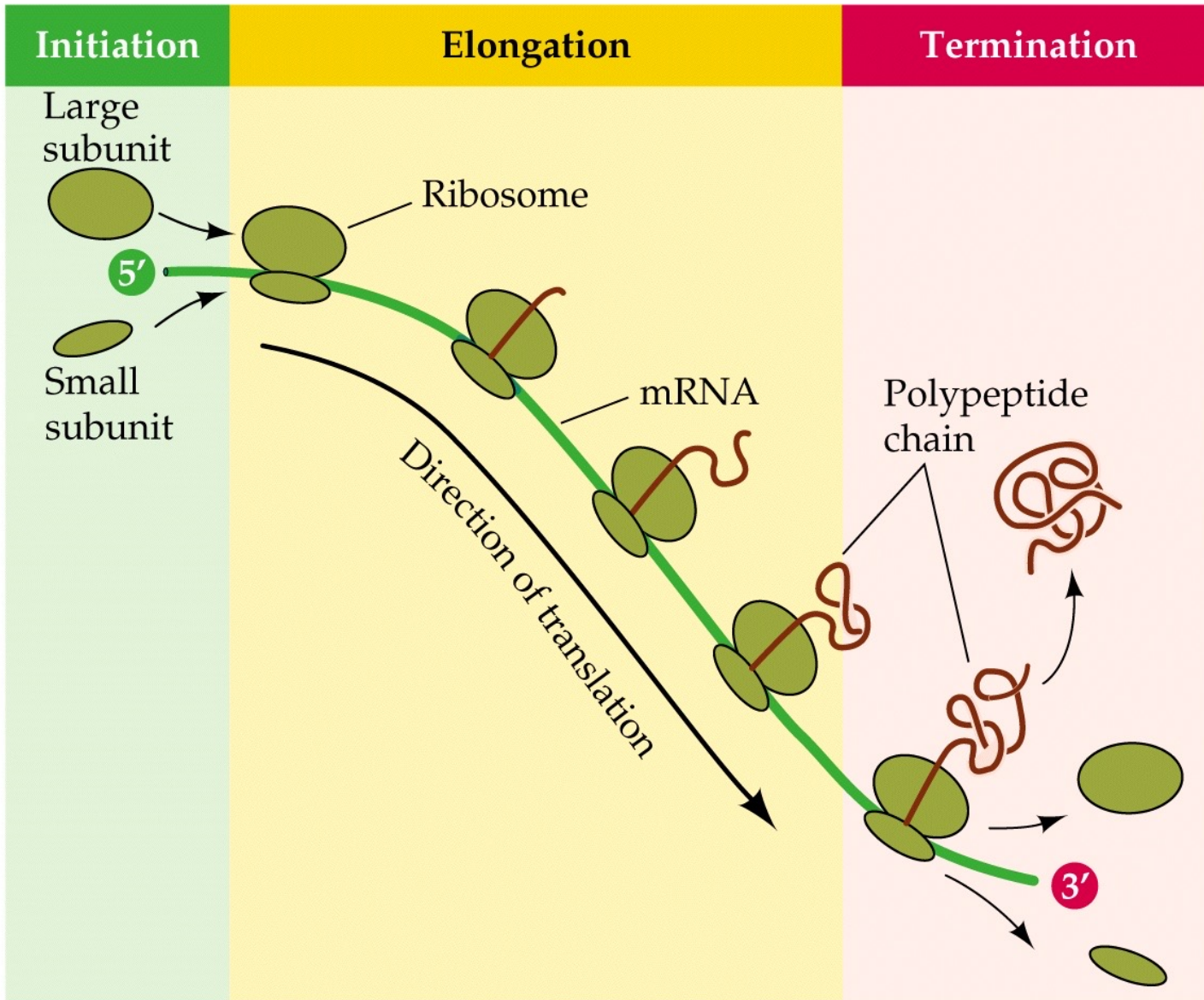
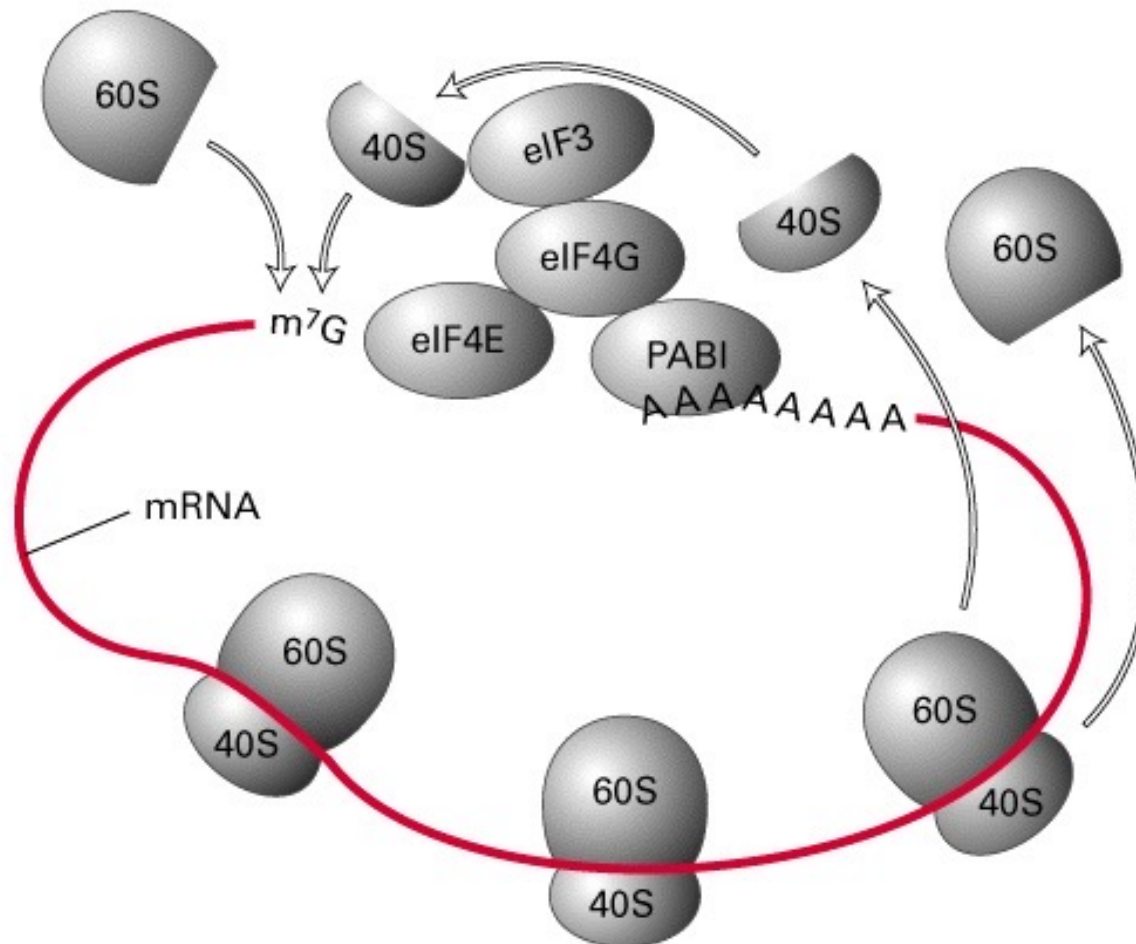


Figure 6-74 (part 3 of 3) Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)



La traduzione simultanea da parte di ribosomi multipli e il loro rapido ricambio aumenta l'efficienza della sintesi proteica



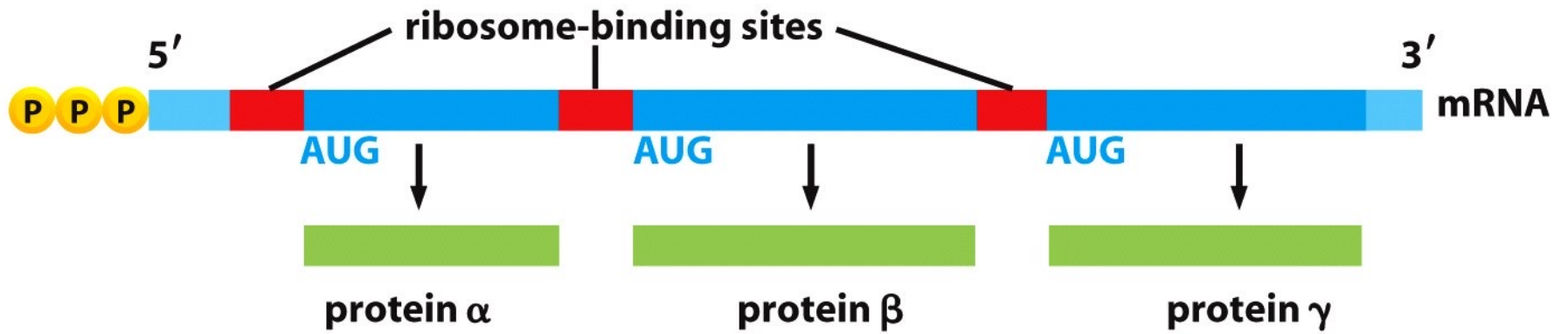


Figure 6-73 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

# Controllo della traduzione: solo mRNA con il codone di stop in posizione corretta vengono tradotti

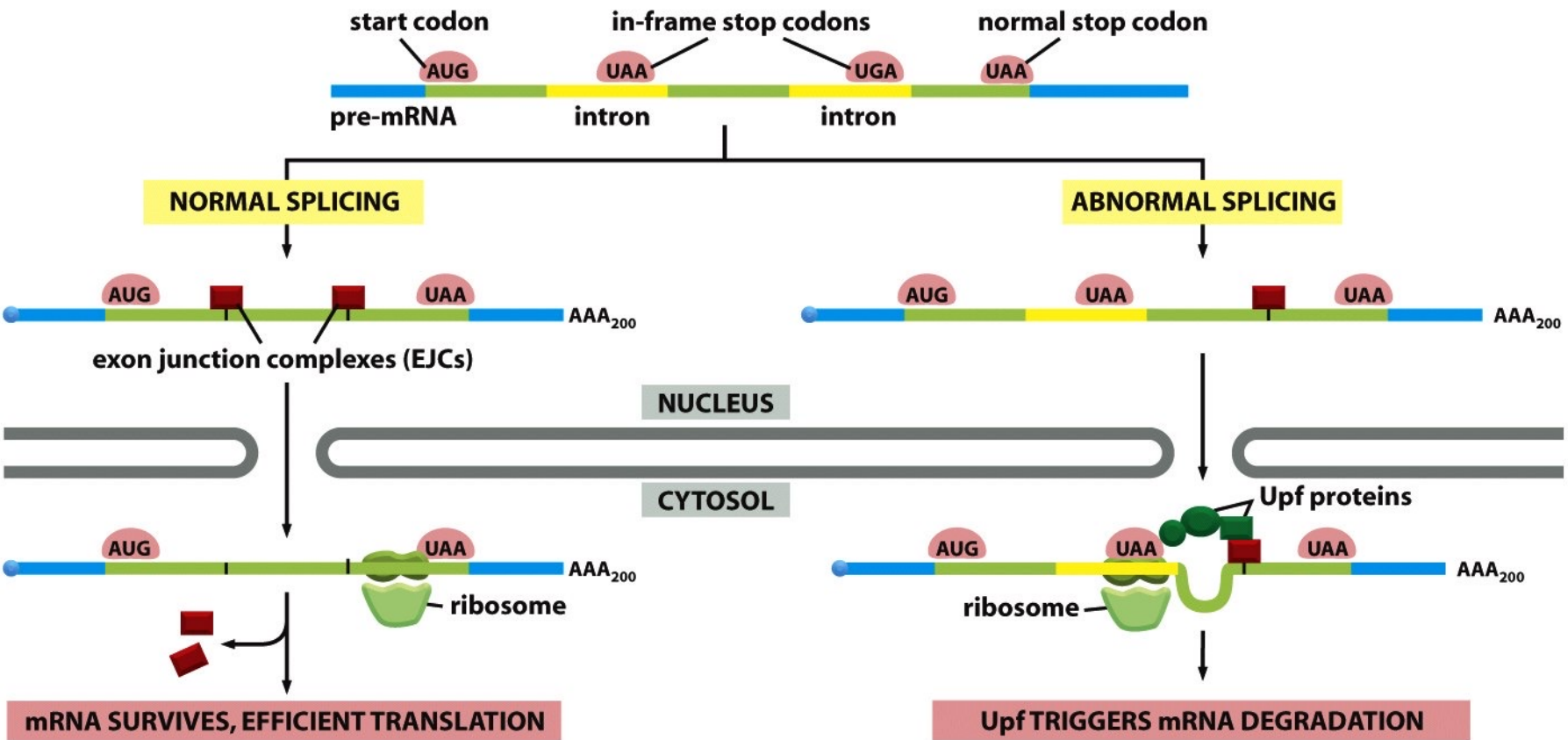


Figure 6-80 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)



# Controllo traduzionale nei batteri

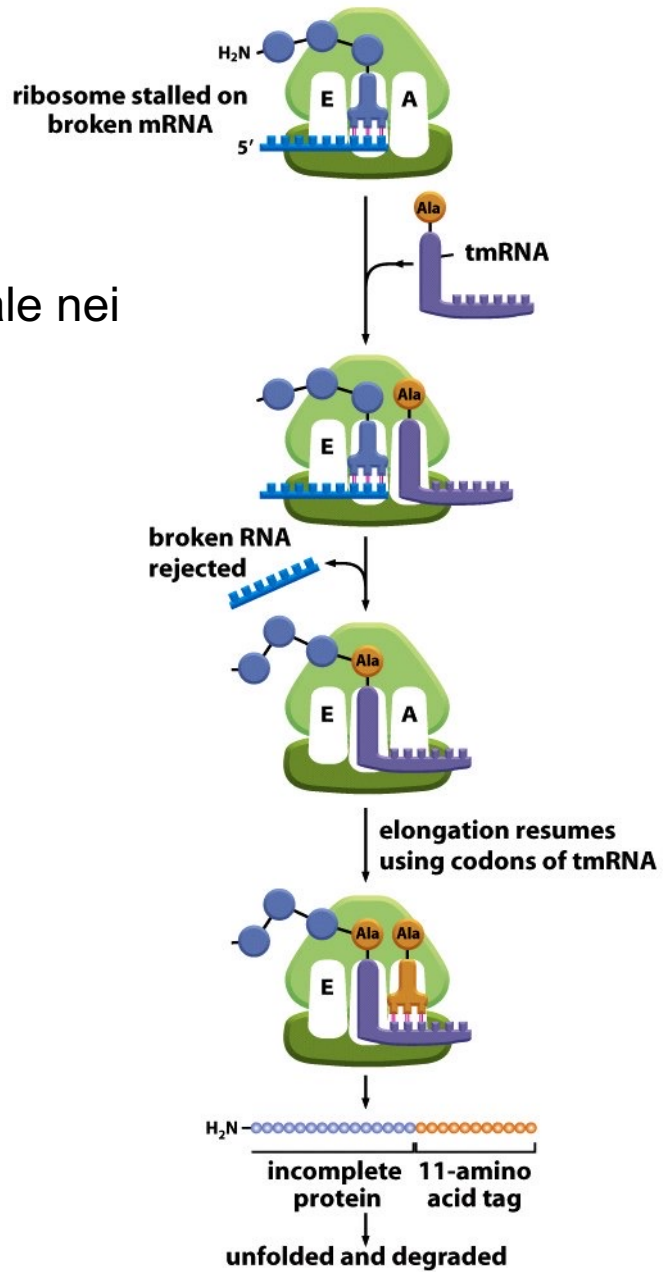


Figure 6-81 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

# Cell compartments and folding

- eukaryotes

- *cytosol* ..... protein synthesis, folding/assembly
- *extracellular* ..... proteins are exported in folded form
- *mitochondria* ..... limited protein synthesis; energy production
- *chloroplasts* ..... limited protein synthesis; light harvesting
- *endoplasmic reticulum*..... import of unfolded proteins; protein processing
- *peroxisome* ..... import of folded proteins; anab./catab. pathways
- *nucleus* ..... import of folded proteins
- *lysosome*..... import of unfolded proteins; degradation

- bacteria

- *cytosol* ..... protein synthesis, etc.
- *periplasm* ..... import and folding of periplasmic proteins
- *extracellular* ..... proteins are exported

- archaea

- *cytosol* ..... protein synthesis, etc.
- *extracellular* ..... proteins are exported

**nascent polypeptide chain**



**folding and  
cofactor binding  
(non-covalent  
interactions)**



**covalent modification  
by glycosylation,  
phosphorylation,  
acetylation etc.**



**binding to other  
protein subunits**



**mature functional protein**

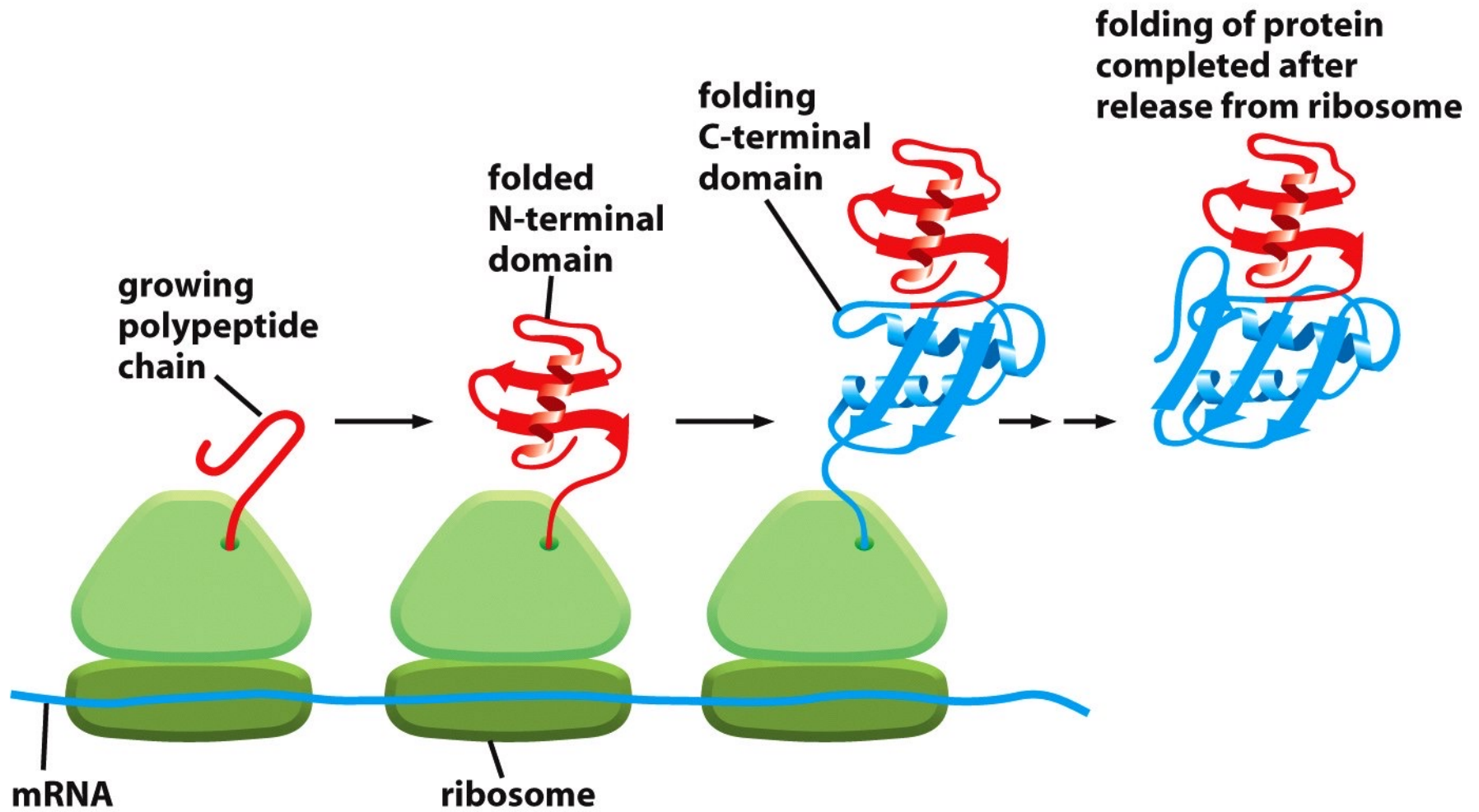


Figure 6-84 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

# Fasi del folding

- Fase veloce **"burst" iniziale**: buona parte delle **strutture secondarie** sono realizzate entro pochi millisec dall'inizio del folding.
- Guidata dal **collasso idrofobico**, che espelle molecole d'acqua dal **core della proteina** in ripiegamento (misurato con fluorescenza di ANS, CD, maggiore protezione nello scambio H/D).
- Il burst porta al **"molten globule"**, contenente buona parte della struttura secondaria attesa, e con raggio di girazione 5-15% maggiore di quello della proteina folded. Catene laterali relativamente libere.

# Fasi del folding

- Stabilizzazione delle strutture secondarie, e formazione dei proto-domini (5 - 1000 ms). Strutture ancora in parte fluttuanti; conformeri in interscambio.
- Stabilizzazione della **struttura terziaria finale**; espulsione definitiva di molecole d'acqua; formazione di tutti i legami idrogeno ... (richiede diversi secondi; a seconda della complessità della proteina).
- Il processo di folding è considerato "**gerarchico**", nella sua essenza.
- **$\Delta G$  folding** caratterizzato da valori bassi (-5, -10 kcal/mol)

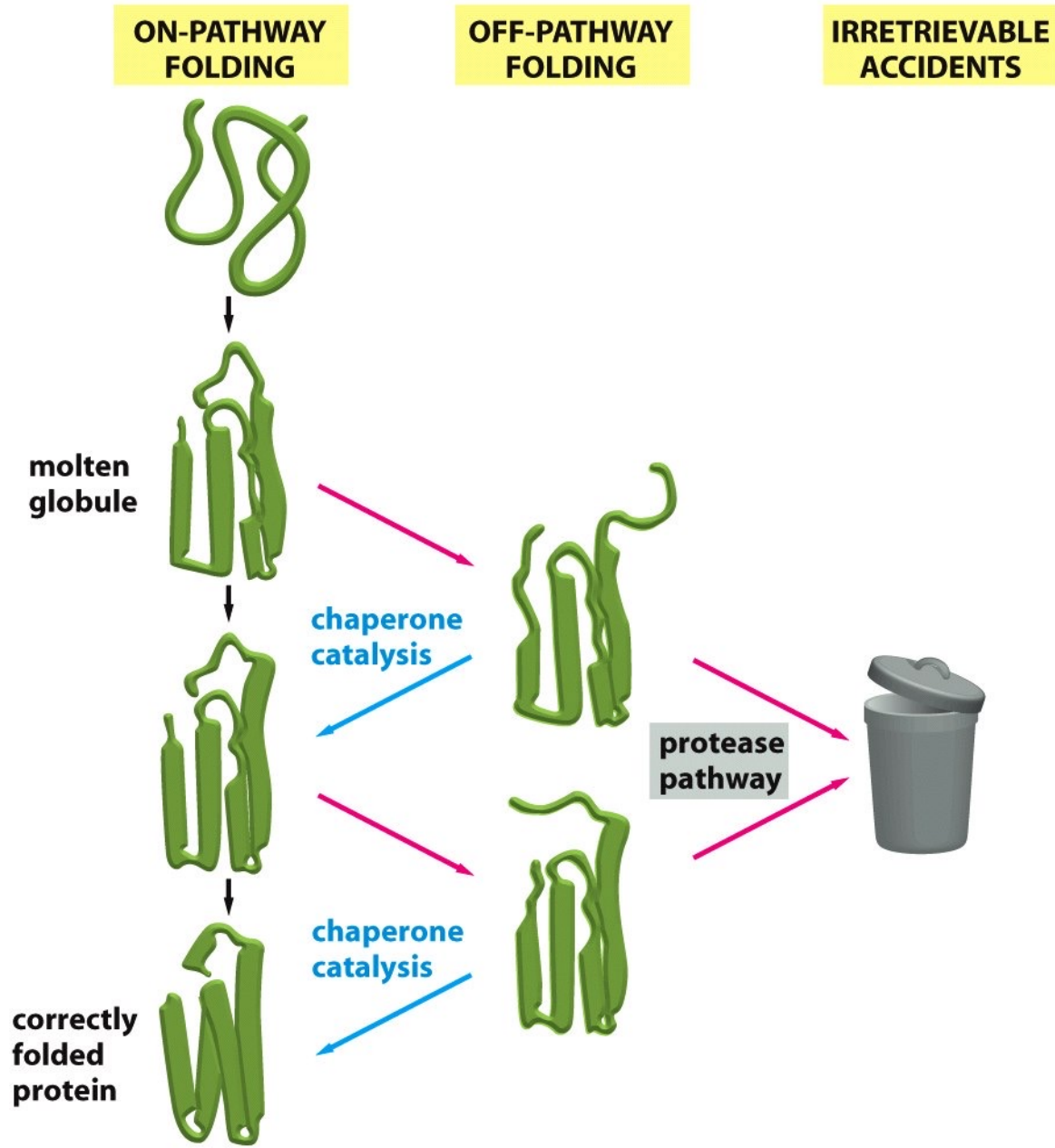
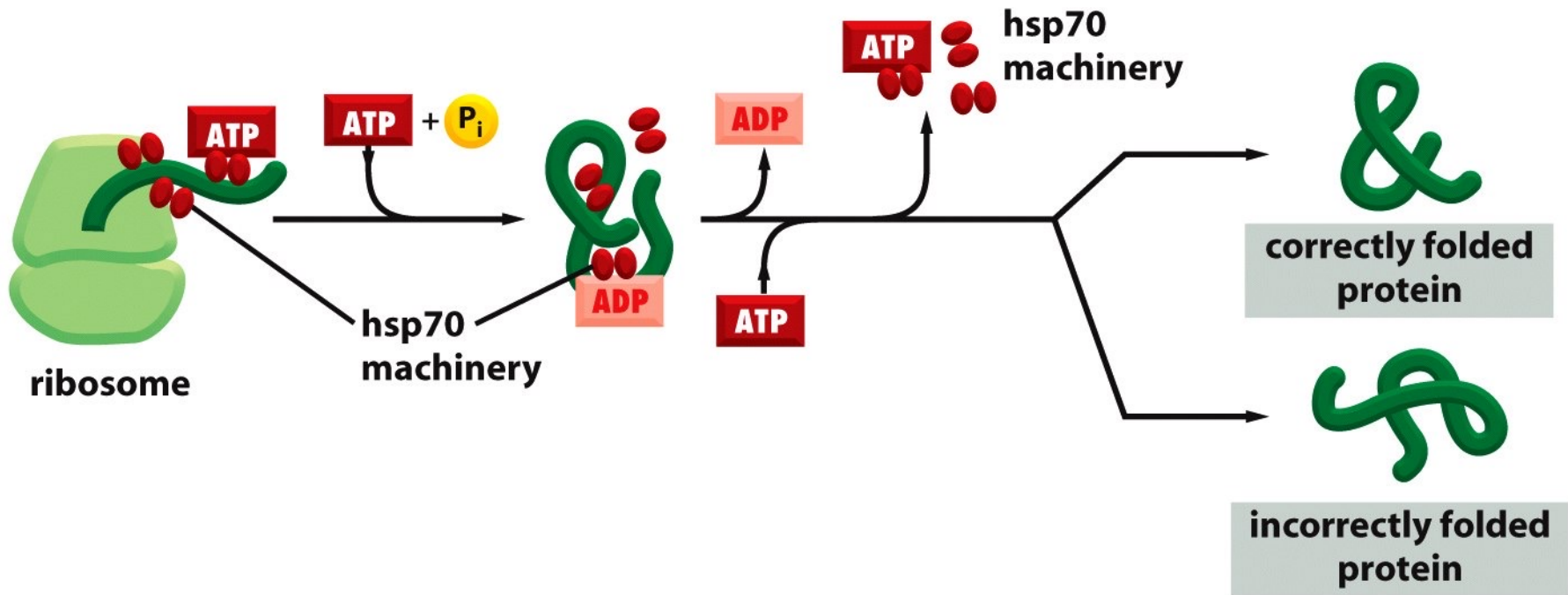


Figure 6-85 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

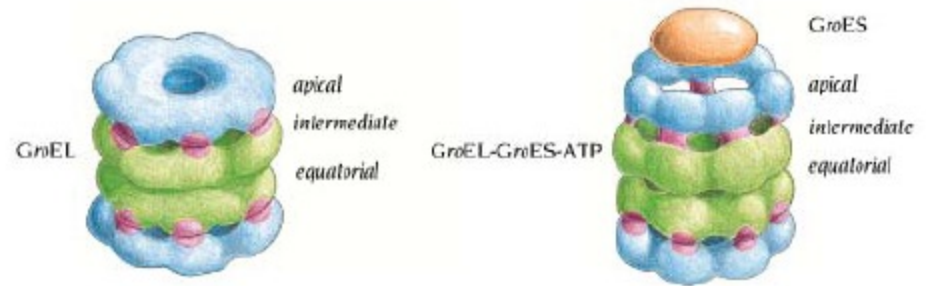
Le proteine chaperon si dividono in 2 classi principali:

- Proteine che aiutano il corretto ripiegamento mentre avviene la sintesi della catena polipeptidica (Heat Shock Protein 70)
- Proteine aiutano il corretto ripiegamento una volta che è completata la sintesi della catena polipeptidica (HSP60)





# Folding in vivo: i chaperoni

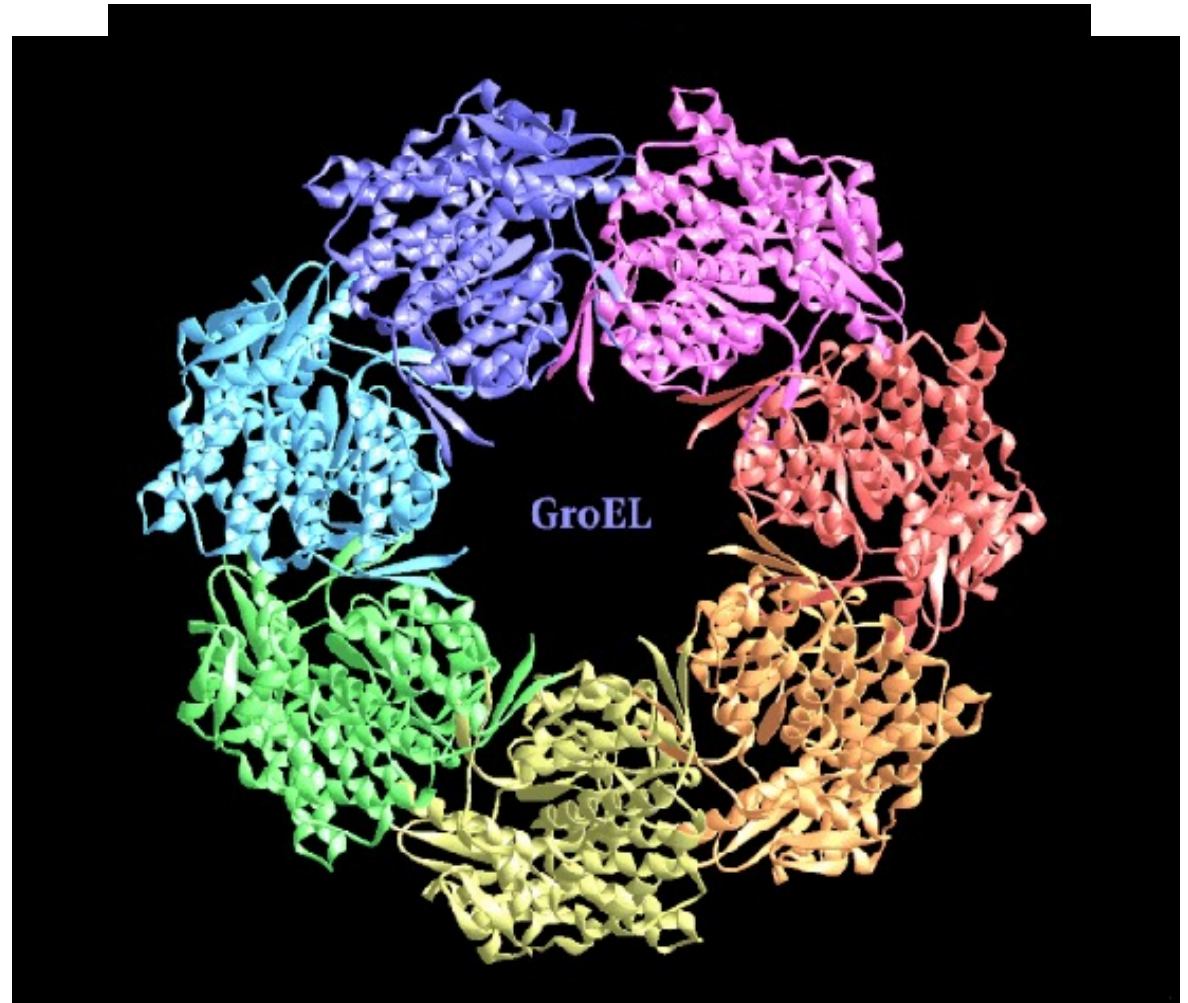
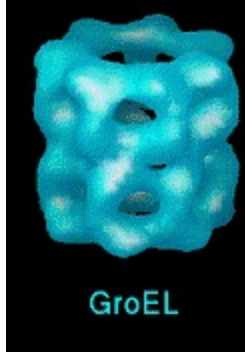


© 1999 GARLAND PUBLISHING INC.  
A member of the Taylor & Francis Group

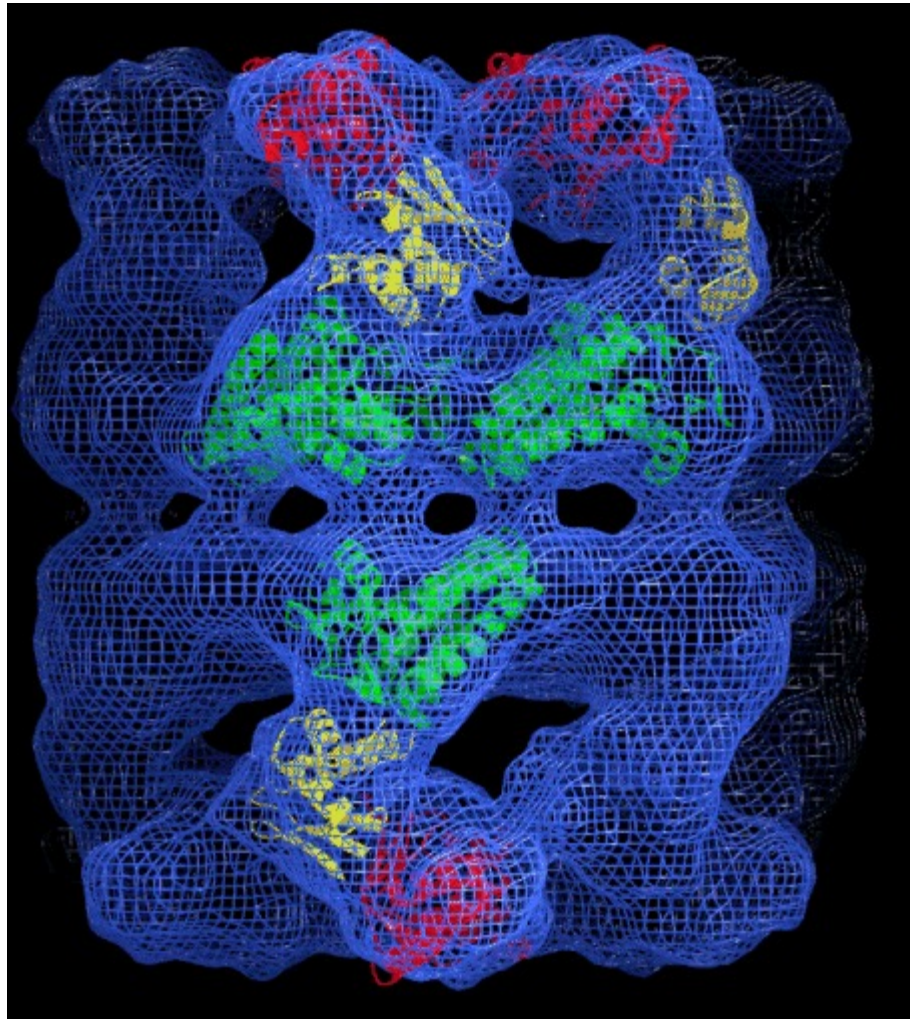
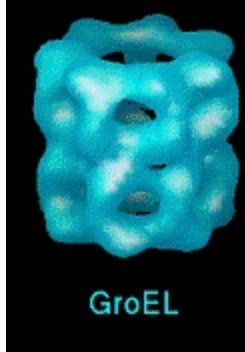
- L'efficienza del folding varia nelle proteine, ed alcune espongono nel cammino residui idrofobici.
- In vivo il folding è assistito da proteine specifiche: i chaperoni.
- Essi riducono l'aggregazione tra le proteine e facilitano il folding
- Vene sono di molti tipi, le più caratterizzate sono GroEL/GroES (Batterie)

# GroEL (hsp60) Chaperonin

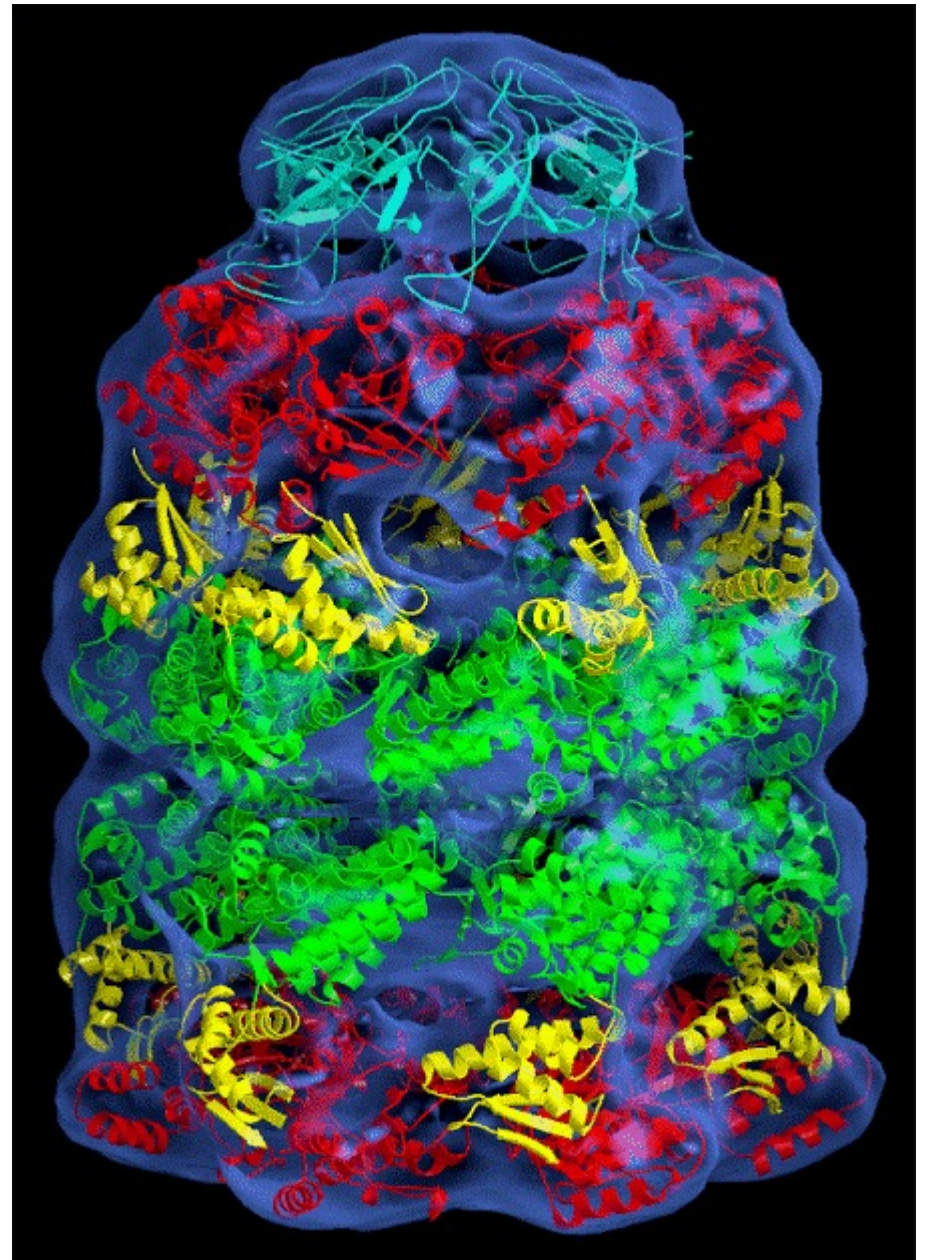
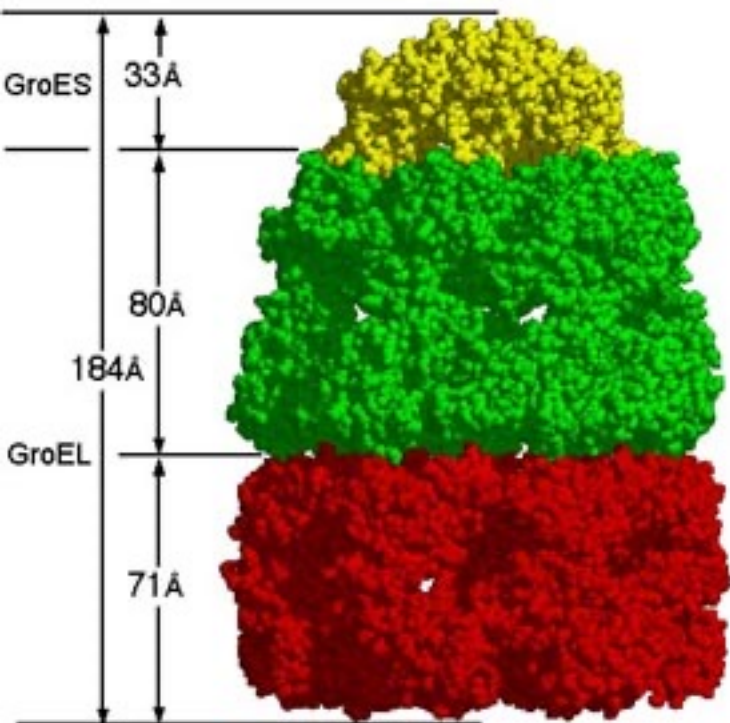
- 7-fold symmetry
- two rings



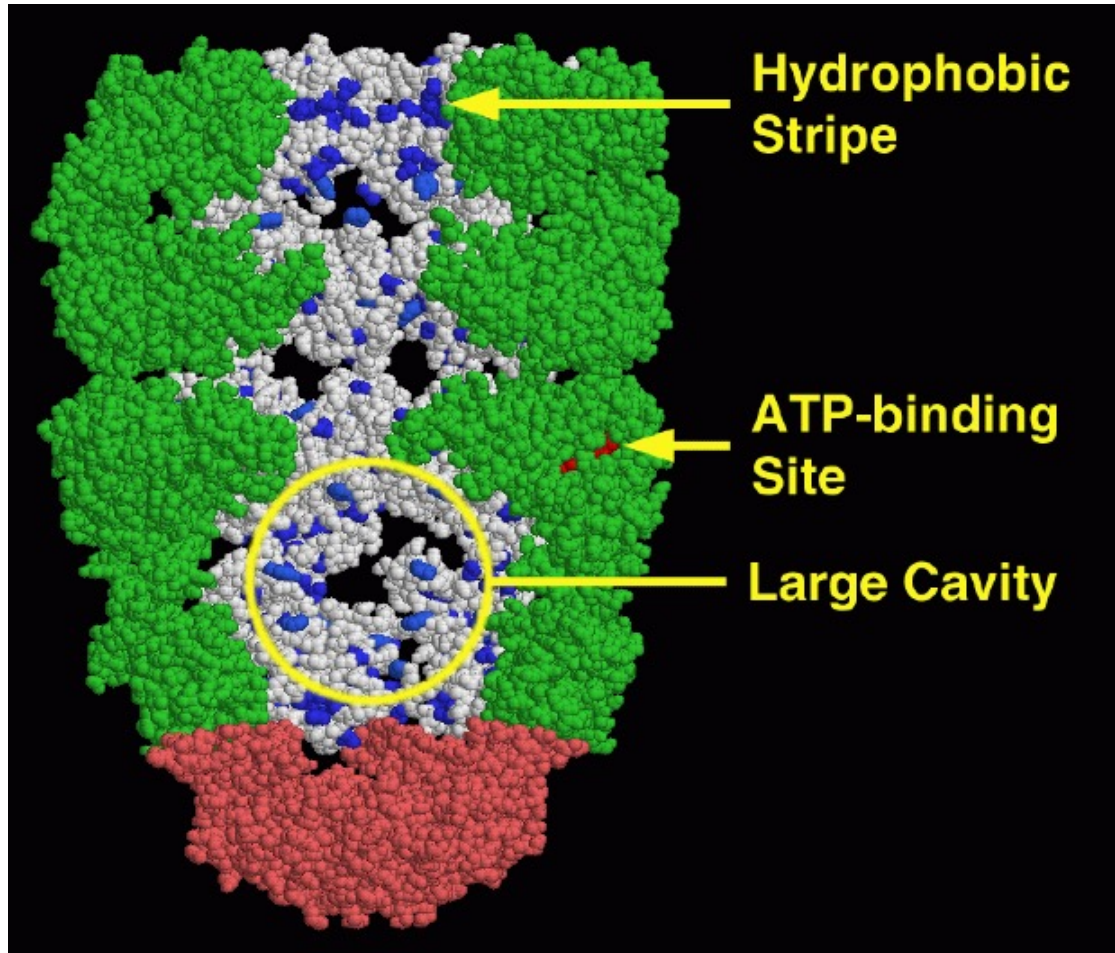
# GroEL (Hsp60)



# GroEL/GroES complex



# GroEI/GroES complex



- Free GroEL binds denatured proteins very tightly.
- GroEL undergoes an allosteric transition from its tight-binding state to a weaker binding state on the cooperative binding of nucleotides (ATP/ADP) and GroES.
- GroES modulates binding of GroEL
- 7 ATP molecules bind to GroEL
- ATP hydrolysis drives transition back to tight binding state

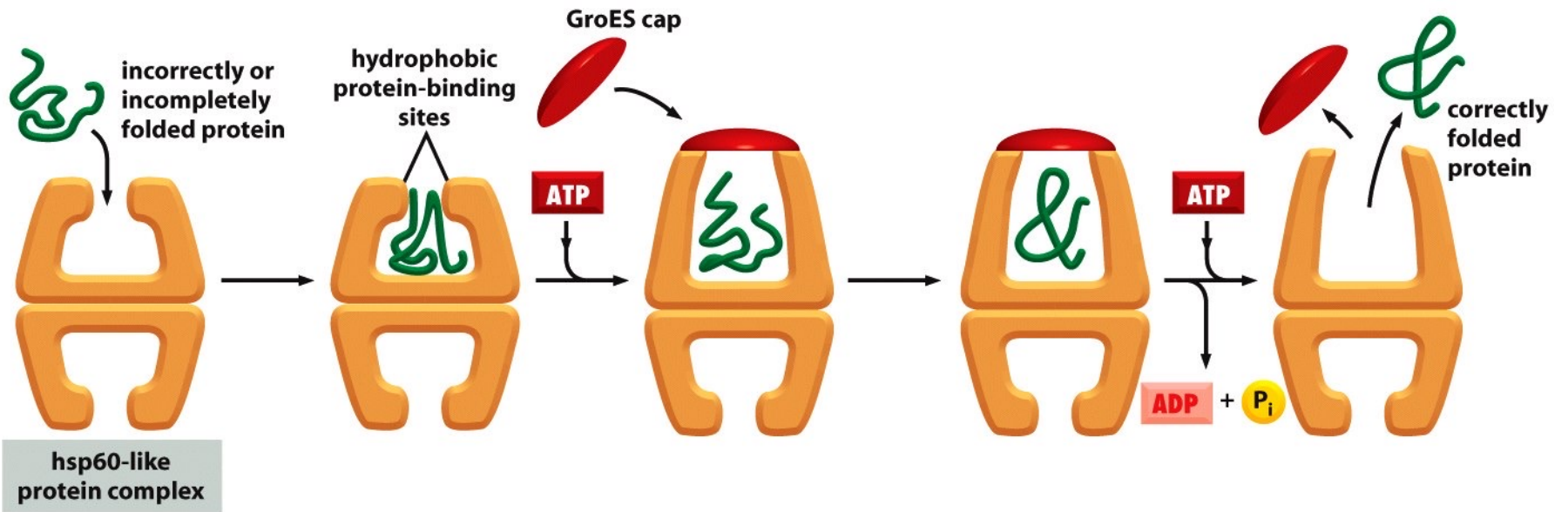


Figure 6-87a Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

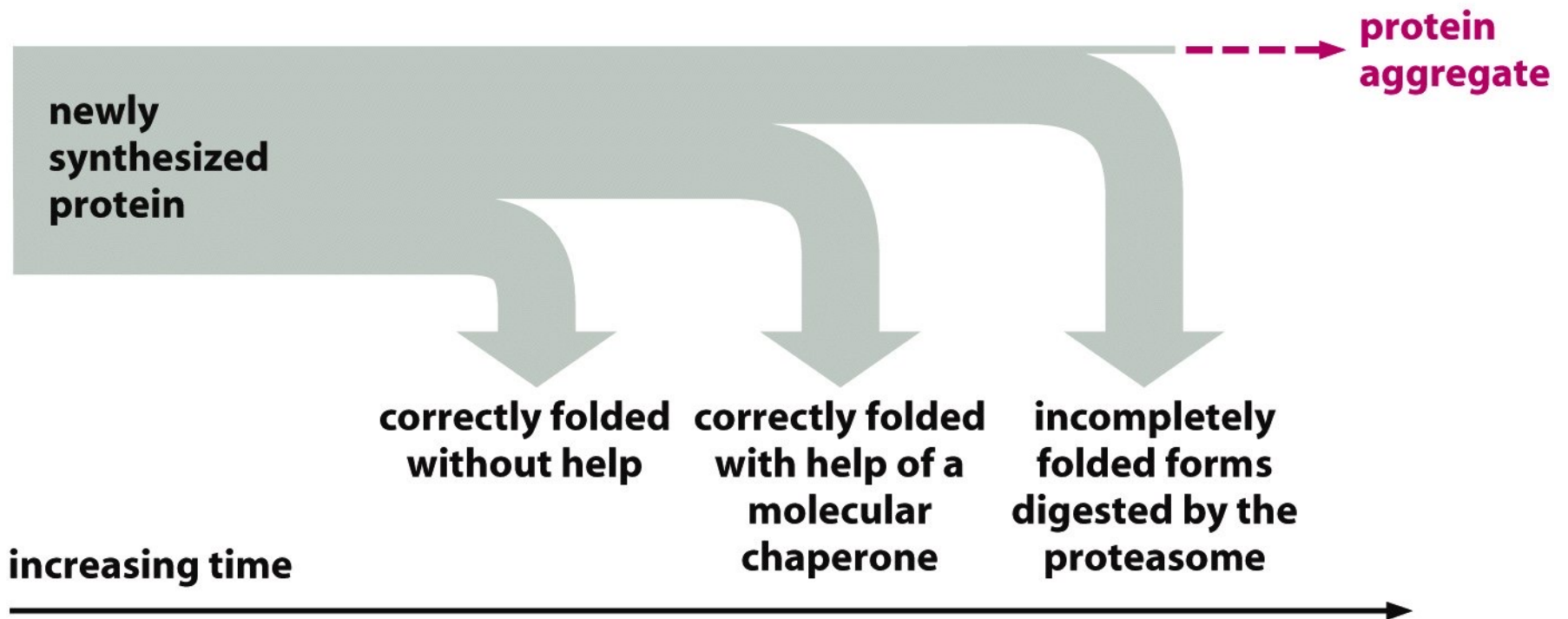
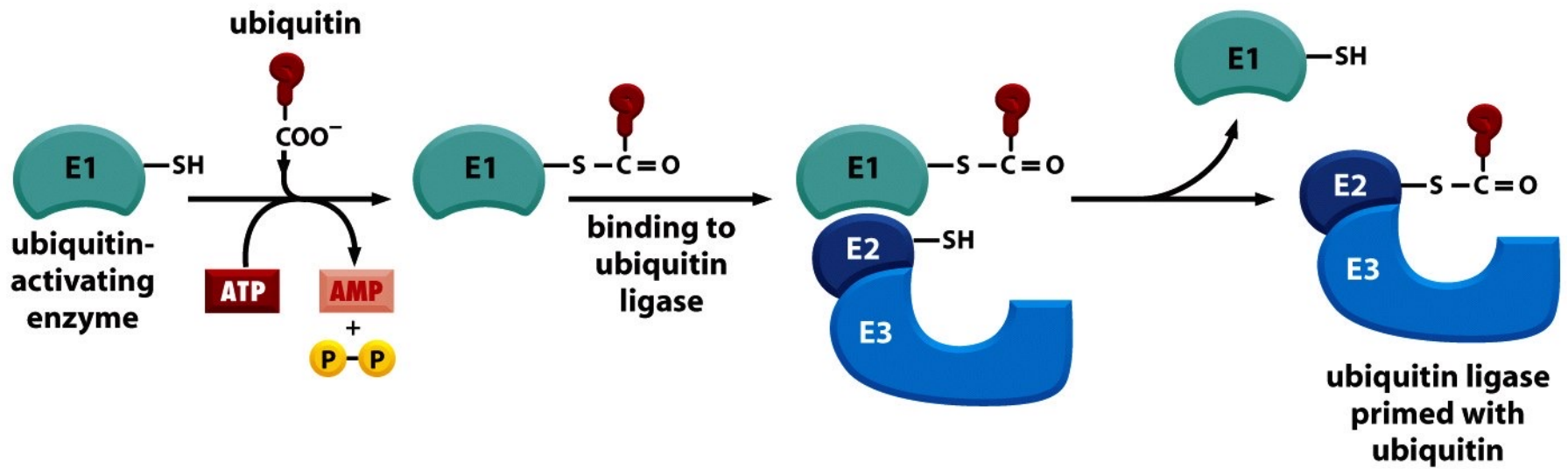


Figure 6-88 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



Ubiquitina: piccola proteina di 76 aa (8.5 kda)



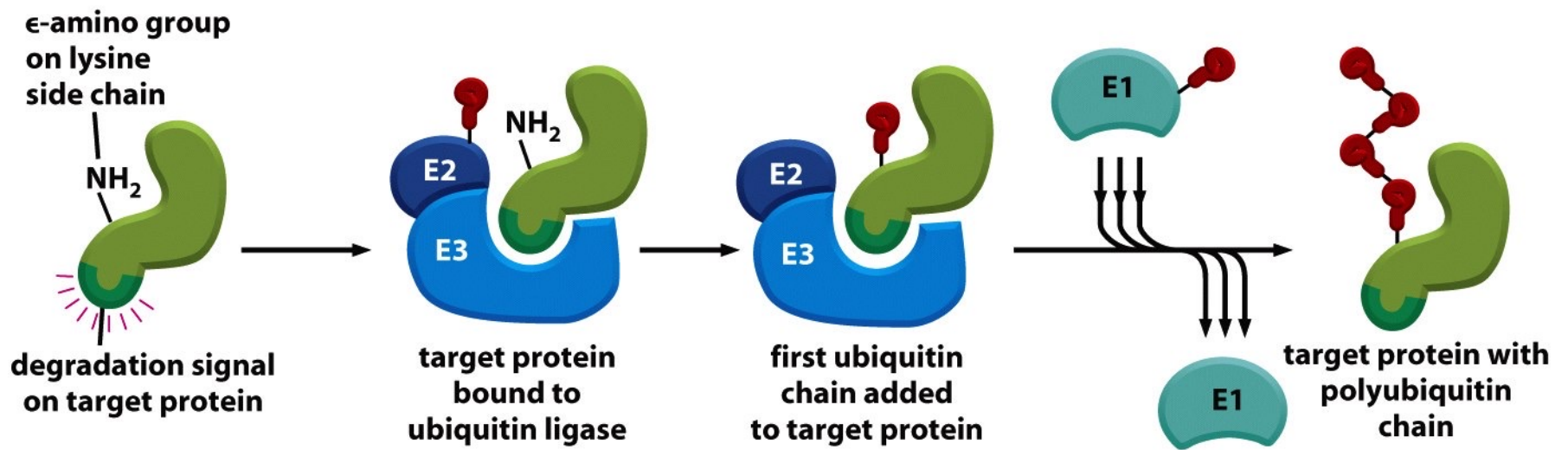
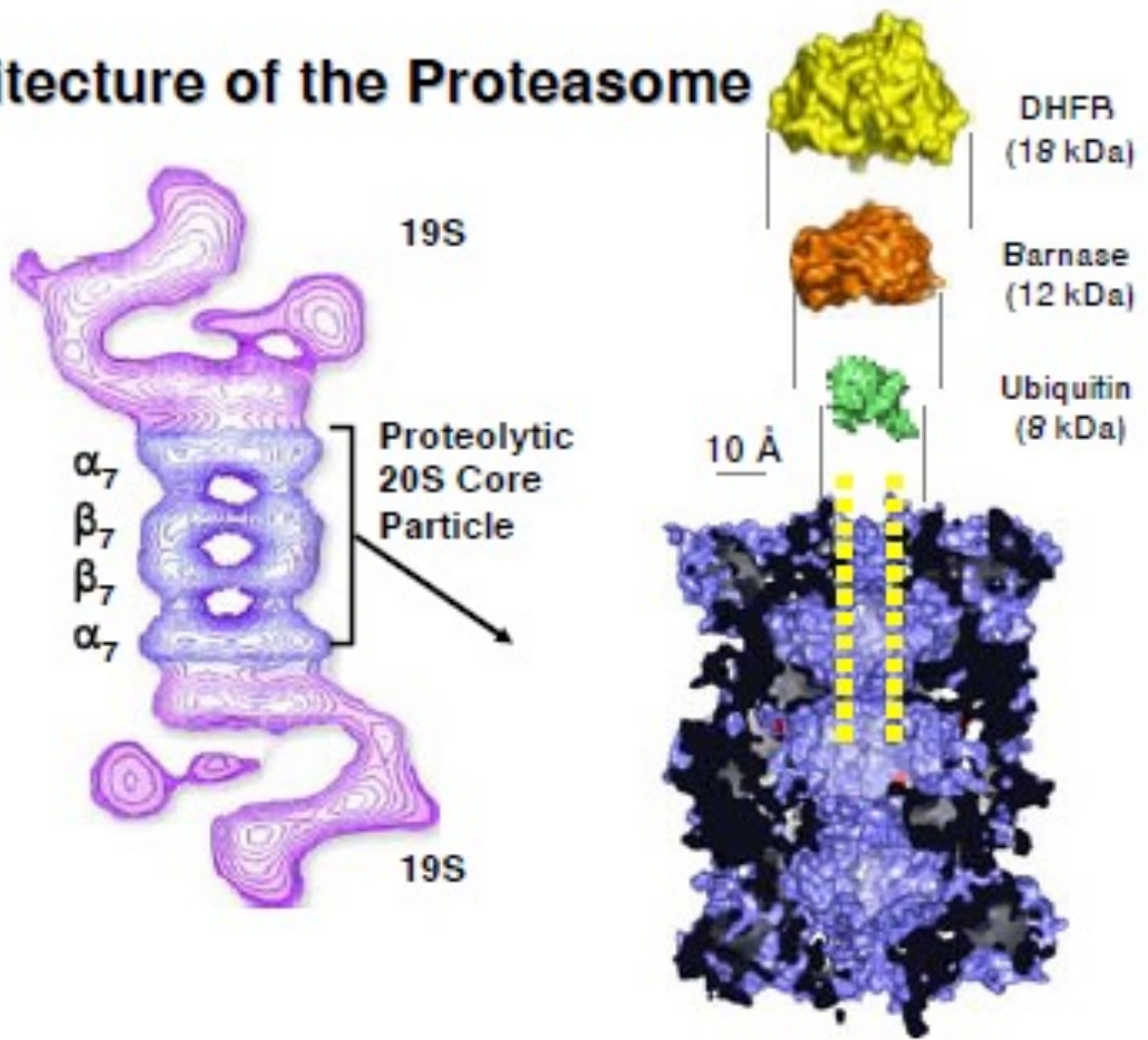


Figure 6-92c *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

# Architecture of the Proteasome



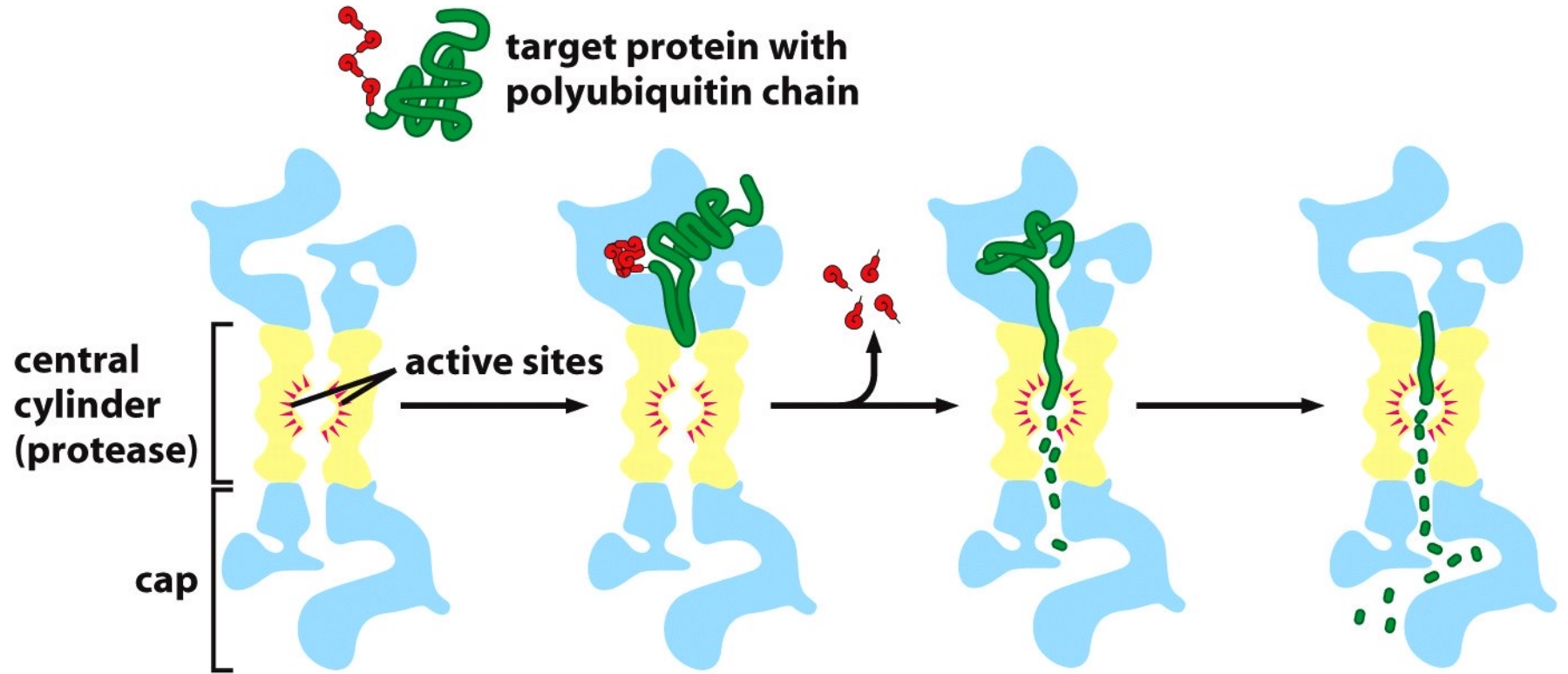


Figure 6-90 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)